



**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SIÇANLARDA STREPTOZOSİN İLE OLUŞTURULAN
DİYABETTE PROBİYOTİKLERİN BÖBREK DOKUSUNDAKİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ZÜLAL YEŞİL

**HAZİRAN 2023
DENİZLİ**

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA STREPTOZOSİN İLE OLUŞTURULAN DİYABETTE
PROBİYOTİKLERİN BÖBREK DOKUSUNDAKİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZÜLAL YEŞİL

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hülya ÇETİN

Denizli, 2023

Yükseklisans tezi onay formu sayfasıdır.

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Öğrenci Adı Soyadı: Zülal YEŞİL

İmza:

ÖZET
SIÇANLARDA STREPTOZOSİN İLE OLUŞTURULAN DİYABETTE
PROBİYOTİKLERİN BÖBREK DOKUSUNDAKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Zülal YEŞİL

Yüksek Lisans Tezi, Histoloji ve Embriyoloji ABD

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Hülya ÇETİN

Haziran 2023, 99 sayfa

Toplumda görülme sıklığı giderek artan ve önemli bir halk sağlığı sorunu olan diyabet tüm dokularda olduğu gibi böbrek dokusunda da hasara sebebiyet veren endokrin, metabolik bir hastalıktır. Probiyotiklerin yeterli miktarlarda alındığında sağlığa olan faydalarından dolayı hastalıkların tedavisi ve önlenmesinde etkili olabilecekleri düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda da diyabet hastalığında probiyotiklerin etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda 34 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanılmış ve gruplar grup K, grup P, grup Dm, grup DmP ve grup PDm olmak üzere 5'e ayrılmıştır. Grup K'ya ait sıçanlara 8 hafta boyunca oral gavaj ile PBS, grup P'ye ait sıçanlara 8 hafta boyunca oral gavaj ile 0.6 mg/kg VSL#3 probiyotik takviyesi uygulanmıştır. Grup Dm'ye 50 mg/kg streptozosin intraperitoneal tek doz verilerek diyabet oluşturulmuştur. Grup PDm'deki sıçanlara çalışmanın ilk 4 haftası boyunca probiyotik takviyesi uygulanmış, daha sonra diyabet oluşturulmuş, diyabet oluşturulduktan sonraki 4 hafta boyunca probiyotik uygulamasına devam edilmiştir. Grup DmP'de yer alan sıçanlarda streptozosin (50 mg/kg intraperitoneal) ile diyabet oluşturulmuş ve sonrasında 4 hafta boyunca probiyotik uygulanmıştır. Deneyin başlangıcı ve bitiminde sıçanların kan şekeri ölçümleri yapılmış, diyabet oluşturulmak istenen sıçanlar için kan glikoz değeri 250 mg/dl kabul edilmiştir. Deneyin sonlandırılması ile sıçanlar intraperitoneal olarak 90 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin verilerek anestezi altında sakrifiye edilmiştir. Biyokimyasal değerlendirme için kan serum örnekleri ve histokimyasal analizler için böbrek dokuları elde edilmiştir. Sonuç olarak probiyotiklerin diyabetin bıraktığı hasara karşı kan glikoz seviyelerinde koruyucu etkisinin olduğunu fakat tedavi edici herhangi bir etkisi olmadığını gözledik. Diyabetin sebep olduğu serum üre ve BUN artışına karşı probiyotiklerin iyileştirici etkisi olduğu sonucuna ulaştık. Fakat kreatinin için anlamlı bir değişim göremedik. Yaptığımız histokimyasal değerlendirmelerde probiyotiklerin diyabet ile oluşan böbrek dokusundaki hasara karşı olumlu yönde etkisinin olduğunu tespit ettik. Probiyotiklerin diyabete karşı olumlu etkilerini immünohistokimyasal olarak alfa-SMA ve Bcl-2 ekspresyonları ile de gözledik.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, Diyabet, Böbrek, Sıçan,

Bu çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2021SABE018).

ABSTRACT
INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PROBIOTICS ON KIDNEY TISSUE IN
STREPTOZOCIN-INDICATED DIABETES IN RATS

YESIL, Zülal

Master Thesis, Department of Histology and Embryology

Thesis Advisor: Prof. Hülya ÇETİN (PhD)

June 2023, 99 Pages

Diabetes is an endocrine and metabolic disease that causes damage to kidney tissue as well as to all tissues. It is thought that probiotics can be effective in the treatment and prevention of diseases due to their health benefits when taken in sufficient quantities. In our study, it was aimed to investigate the effects of probiotics in diabetes. In our study, 34 male Wistar albino rats were used and they were divided into 5 groups as group K, group P, group Dm, group DmP and group PDm. Group K rats were administered PBS by oral gavage for 8 weeks, and 0.6 mg/kg VSL#3 probiotic supplement was administered to group P rats by oral gavage for 8 weeks. Diabetes was formed by administering a single intraperitoneal dose of 50 mg/kg streptozocin to Group Dm. The rats in Group PDm were given probiotic supplement during the first 4 weeks of the study, then diabetes was established, and probiotic administration was continued for 4 weeks after diabetes was established. Diabetes was induced in rats in Group DmP with streptozocin (50 mg/kg intraperitoneally), and then probiotics were administered for 4 weeks. At the beginning and end of the experiment, blood glucose measurements of the rats were made, and the blood glucose value was accepted as 250 mg/dl for the rats in which diabetes was desired. At the end of the experiment, the rats were sacrificed under anesthesia by administering 90 mg/kg ketamine + 10 mg/kg xylazine intraperitoneally. Blood serum samples were obtained for biochemical evaluation and kidney tissues for histochemical analysis. As a result, we observed that probiotics have a protective effect on blood glucose levels against the damage caused by diabetes, but have no therapeutic effect. We concluded that probiotics have a curative effect against the increase in serum urea and BUN caused by diabetes. But we did not see any significant change for creatinine. In our histochemical evaluations, we determined that probiotics have a positive effect on kidney tissue damage caused by diabetes. We also observed the positive effects of probiotics against diabetes by immunohistochemically alpha-SMA and Bcl-2 expressions.

Key Words: Probiotic, Diabetes, Kidney, Rat,

**This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects
Coordination Unit through Project number 2021SABE018.**

TEŞEKKÜR

Başta yüksek lisans eğitimim ve tez aşaması boyunca, bilgi birikimi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, yalnızca tez danışmanım olarak değil her konuda fazlasıyla yardımcı olan, bana inanan, ilgi, sevgi ve güler yüzünü hiçbir zaman eksik etmeyen örnek aldığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Hülya ÇETİN' e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana emeği geçen ve desteğini esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE' ye,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her türlü bilgiyi esirgemeyen değerli öğretim üyeleri hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Murat Serkant ÜNAL, Sayın Doç. Dr. Nazlı ÇİL, Sayın Doç. Dr. Nazan KESKİN ve klinik tecrübelerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR' a,

Laboratuvarlarının olanaklarından yararlandığım Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğr. Üyesi Sayın Doç. Dr. Ayşegül ÇÖRT DÖNMEZ'e ve istatistiksel analizlerde yardımcı olan Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Hande ŞENOL'a,

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Dr. Öğr. Üyesi Semih TAN'a, deneylerim sırasında yardımlarını esirgemeyen Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ailesine ve Veteriner Hekim Abdullah COGUPLUGİL'e,

Laboratuvar çalışmalarımında, tezimin yazılmasında ve deneylerin her aşamasında bana yardım eden İlknur LAFCI'ya, her zaman yanımda olan yüksek lisans arkadaşım İlay BOZ'a ve Pamukkale Üniversitesi Histoloji Anabilim Dalında yüksek lisans yapan diğer arkadaşlarıma, tezimin düzenlenmesinde yardımcı olan Ahmet Nejdet BAŞTÜRK'e ve manevi desteğini hep hissettiğim canım arkadaşlarıma,

Ve beni bugünlere getiren, tüm hayatım boyunca karşılıksız sevgileriyle her koşulda yanımda olan canım aileme, maddi ve manevi desteğini gördüğüm her zaman arkamda olan canım anneanneme en yürekten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
SİMGELEr VE KISALTMALAR	xiv
1.GİRİŞ	1
1.1. Amaç	3
2.KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMALARI	4
2.1.Böbreğin Genel Yapısı	4
2.2. Böbreğin Embriyolojisi	5
2.3. Böbreğin Histolojisi	7
2.3.1. Renal cisimcik ve glomerül	10
2.3.2. Proksimal tübül	11
2.3.3. Henle kulpu	12
2.3.4. Distal Tübül	13
2.3.5. Toplayıcı Tübül ve Kanallar	14
2.2. Diabetes Mellitus	15
2.2.1. Diabetes Mellitus'un tanımı ve sınıflandırılması.....	15
2.2.2. Diabetes Mellitus tanı kriterleri	15
2.2.3. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları	16
2.2.4. Tip 2 Diyabet	17
2.2.5. Diyabetik nefropati	17
2.3.PROBİYOTİKLER	18
2.3.1. Probiyotik mikroorganizmaların özellikleri	18
2.3.2. Probiyotik bakteri türleri.....	18
2.3.4. VSL#3 probiyotik	19
2.3.5. Probiyotiklerin diyabet üzerine etkileri.....	20

2.4. STREPTOZOSİN (STZ)	20
2.5. Bcl-2 (Beclin-2)	21
2.6. Alfa-SMA (Alpha-smooth muscle actin)	22
2.7. Hipotezler	22
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	24
3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi ve Gruplandırılması	24
3.2. Streptozosin İndüklenmesi	26
3.3. Probiyotik Uygulaması	26
3.4. Ağırlık Ölçümleri	27
3.5. Kan Glikoz Değeri Ölçümü	28
3.6. Deneyin Sonlandırılması, Kan ve Böbrek Dokusu Örneklerinin Alınması	28
3.7. Biyokimyasal Analizlerin Yapılması	29
3.8. Doku Takibi	31
3.8.1. Fiksasyon (Tespit İşlemi)	31
3.8.2. Dehidratasyon	31
3.8.3. Şeffaflaştırma ve Parafinizasyon	31
3.8.4. Bloklama	32
3.8.5. Kesit alma ve lama aktarma	32
3.8.6. Deparafinizasyon	32
3.9. Histokimyasal Boyamalar	33
3.9.1. Hematoksilen Eozin (H&E) boyama	33
3.9.2. Masson Trikrom (MTK) Boyama	34
3.9.3. PAS+ Boyama	34
3.9.4. Böbreklerin Histopatolojik Değerlendirilmesi	35
3.10. İmmünohistokimyasal Boyamalar	35
3.11. Bowman kapsülü bazal membran kalınlık ölçümü	37
3.12. İmmünreaktivite Değerlendirmesi	37
3.13. İstatistiksel Analiz	37
4. BULGULAR	39
4.1. Ağırlık ölçümleri	39
4.1.1. Vücut Ağırlıkları Ölçüm Sonuçları	39
4.1.2. Böbrek Ağırlıkları Ölçüm Sonuçları	42
4.2. Kan Glikoz Değerleri Sonuçları	42
4.3. Serum Analizi Sonuçları	44
4.4. Ortalama Serum Total Antioksidan Seviye (TAS), Total Oksidan Seviye (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Sonuçları	47

4.5. Bowman Kapsülü Bazal Membranı Kalınlık Ölçüm Sonuçları.....	49
4.6. Histokimyasal Boyamalar	50
4.6.1. H&E (Hematoksilen Eozin) boyama sonuçları.....	50
4.6.2. MTK (Masson Trikrom) Boyama Sonuçları.....	52
4.6.3. PAS+ Boyama Sonuçları	55
4.6.4. Böbreklerin Histopatolojik Değerlendirmesi.....	58
4.7. İmmünohistokimyasal Boyamalar.....	59
4.7.1. Bcl-2 (Beclin 2) Boyama Sonuçları.....	59
4.7.2. Alfa-SMA Boyama Sonucu.....	62
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇ	76
7. KAYNAKÇA	78
8. ÖZGEÇMİŞ	83
9. EKLER	84
8. ÖZGEÇMİŞ.....	80
9. EKLER	<u>81</u>

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2. 1: Böbreğin yapısının diyagramı (Ross ve Pawlina 2011).	5
Şekil 2. 2: A. Gelişimin 21. günü B. Gelişimin 25. günü nefrik tübül oluşumu (Sadler 2005).	6
Şekil 2. 3: A. İntermediate mezodermin sistemleri. B. 5 haftalık embriyonun pronefrotik ve mezonefrotik boşaltım tübüleri (Sadler 2005).	6
Şekil 2. 4: Metanefrik boşaltım biriminin gelişimi. Oklar, boşaltım biriminin (mavi) toplayıcı sistemle (sarı) buluştuğu noktayı göstermektedir (Sadler 2005).	7
Şekil 2. 5: H&E ile boyanmış insan fetal böbreği fotomikrografi. (Ross ve Pawlina, 2011)	8
Şekil 2. 6: Renal korpuskülde Bowman boşluğu (yıldız), Bowman kapsülünün pariyetal yaprağı (oklar) ve visseral yaprakta bulunan podosit hücreleri (yeşille sınırlı) gösterilmiştir (Eşrefoğlu 2004).	10
Şekil 2. 7: Tek katlı kübik epitelle kaplı toplama tübüleri (t), tek katlı yassı epitelle kaplı henle kulpu (oklar) (h) ve kapiller damarlar (k) (Eşrefoğlu 2004).	13
Şekil 2. 8: Sıçanda proksimal tübüller (P), geniş dital tübüller (D) ve işaretli alan makula densayı göstermektedir. Pas boyama. (Eşrefoğlu 2004).	14
Şekil 3. 1: Deney hayvanlarının kafes düzeni.....	24
Şekil 3. 2: Sıçanlara oral gavaj yöntemi ile yapılan probiyotik uygulaması.	26
Şekil 3. 3: Sıçanların ağırlık ölçümleri.	27
Şekil 3. 4: Deneyin sonlandırılması ile kan ve doku örneklerinin alınması.	28
Şekil 4. 1: Gruplara ait ortalama vücut ağırlığı değerleri (kg).....	39
Şekil 4. 2: Gruplara ait kan glikoz değeri ölçüm sonuçları (KŞ1= STZ indüklenmesinden 72 saat sonra yapılan kan glikoz ölçüm sonucunu, KŞ2=sakrifikasyondan hemen önce yapılan kan glikoz ölçüm sonucunu ifade eder).	42
Şekil 4. 3: Gruplara ait serum üre ve BUN değerleri analizlerinin sonuçları (mg/dl).....	44
Şekil 4. 4: Gruplara ait serum kreatinin değerleri analizinin sonuçları (mg/dl).	44
Şekil 4. 5: Gruplara ait ortalama TAS değerleri.....	46
Şekil 4. 6: Gruplara ait ortalama TOS değerleri.	46
Şekil 4. 7: Gruplara ait ortalama TOS ve TAS değerleri kullanılarak elde edilen OSİ değerleri. ..	47
Şekil 4. 8: Grup K'ya ait böbrek kesitleri (A ve B). Glomerül yapıları (G) (AX20, BX40) (H&E)....	49
Şekil 4. 9: Grup P'ye ait böbrek kesitleri (A ve B), glomerül yapıları (G) (AX20, BX40) (H&E). ...	49
Şekil 4. 10: A ve B grup Dm'ye ait böbrek kesitleri. Glomerül yapıları (G), infiltrasyon alanı (★), pignotik çekirdekler (↔), tübüler dilatasyon alanları (↑), tübül hücrelerinde vakuolizasyon (↔), vakuolize hücre (↔) ve Bowman boşluğunda genişleme (↓) (AX20, BX40) (H&E).	49
Şekil 4. 11: A ve B grup DmP'ye ait böbrek kesitlerinde glomerül yapıları (G), tübüler dilatasyon (↑), pignotik çekirdekler (↔) gösterilmiştir (AX20, BX40) (H&E).	50
Şekil 4. 12: Grup PDM'ye ait böbrek kesitleri (A ve B). Glomerül yapıları (G), tübüler dilatasyon (↑), pignotik çekirdekler (↔) gösterilmiştir (AX20, BX40) (H&E).	50
Şekil 4. 13: Grup K'ya ait böbrek kesiti ve bağ dokusu (†) (MTK, X40).....	51
Şekil 4. 14: Grup P'nin böbrek kesiti ve bağ dokusu (†) (MTK, X40).	51
Şekil 4. 15: Grup Dm'ye ait böbrek kesiti ve bağ dokusu (†) (MTK, X40).	52
Şekil 4. 16: Grup DmP'ye ait böbrek kesiti ve bağ dokusu (†) (MTK, X40).	52
Şekil 4. 17: Grup PDM'ye ait böbrek kesiti ve bağ dokusu (†) (MTK, X40).	53

Şekil 4. 18: Grup K'ya ait böbrek kesiti ve Bowman kapsülü bazal membranı (‡), mikrovillus yapıları (▲) (PAS, X40).....	54
Şekil 4. 19: Grup P'ye ait böbrek kesiti ve Bowman kapsülü bazal membranı (‡), mikrovillus yapıları (▲) (PAS, X40).....	54
Şekil 4. 20: Grup Dm'ye ait böbrek kesiti. Bowman kapsülü bazal membranı (‡), mikrovillus yapıları (▲), epitel dökülmesi (↔), Bowman boşluğu genişlemesi (‡) (PAS, X40).	55
Şekil 4. 21: Grup DmP'ye ait böbrek kesiti. Bowman kapsülü bazal membranı (‡), mikrovillus yapıları (▲), epitel dökülmesi (↔), Bowman boşluğu genişlemesi (‡)(PAS, X40).	55
Şekil 4. 22: Grup PDM'nin böbrek kesiti. Bowman kapsülü bazal membranı (‡), mikrovillus yapıları (▲), Bowman boşluğu genişlemesi (‡) (PAS, X40).....	56
Şekil 4. 23: Grup K'ya ait böbrek kesiti (Bcl-2, X40).....	57
Şekil 4. 24: Grup P'ye ait böbrek kesiti (Bcl-2, X40).....	57
Şekil 4. 25: Grup Dm'ye ait böbrek kesiti (Bcl-2, X40).	58
Şekil 4. 26: Grup DmP'ye ait böbrek kesiti (Bcl-2, X40).	58
Şekil 4. 27: Grup PDM'ye ait böbrek kesiti (Bcl-2, X40).	59
Şekil 4. 28: Grup K'ya ait böbrek kesiti (alfa-SMA, X40).	60
Şekil 4. 29: Grup P'ye ait böbrek kesiti (alfa-SMA, X40).	60
Şekil 4. 30: Grup Dm'ye ait böbrek kesiti (alfa-SMA, X40).	61
Şekil 4. 31: Grup DmP'ye ait böbrek kesiti (alfa-SMA, X40).	61
Şekil 4. 32: Grup PDM'ye ait böbrek kesiti (alfa-SMA, X40).	62

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2. 1: Kesin olan DM tanısı için dört kriterden biri bile yeterlidir. İzole Bozulmuş Açlık Glikozu (BAG), izole Bozulmuş Glikoz Toleransı (BGT) ve BAG+BGT için iki kriter yeterlidir (TEMĐ 2022).....	16
Tablo 2. 2: Probiyotik mikroorganizma türleri (Salminen vd 1998).....	19
Tablo 4. 1: Sıçanların haftalık vücut ağırlık ölçüm sonuçları.....	40
Tablo 4. 2: Gruplara ait ortalama böbrek ağırlıkları.	42
Tablo 4. 3: Gruplara ait kan glikoz değeri ölçüm sonuçları (mg/dl).....	43
Tablo 4. 4: Gruplara ait ortalama serum kreatinin, üre ve BUN değeri sonuçları (mg/dl).	45
Tablo 4. 5: Gruplara ait ortalama TAS, TOS ve OSİ değeri (mmol trolox eqv/l)	47
Tablo 4. 6: Grupların Bowman kapsülü bazal membranlarının kalınlık ortalamaları (µm).....	50
Tablo 4.7: Böbreklerin histopatolojik değerlendirilmesi.....	72

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABTS.....	3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
ALFA-SMA.....	Alfa düz kas aktin (Alpha-smooth muscle actin)
AKŞ.....	Açlık kan şekeri
APG.....	Açlık plazma glikozu
BCL-2.....	Beclin-2
CM.....	Santimetre
DAP.....	3,3' diaminobenzidine
DEHAB.....	Deney hayvanları araştırma birimi
DK.....	Dakika
DL.....	Desilitre
DNA.....	Deoksiribo nükleik asit
GR.....	Gram
GSH.....	Glutasyon
GST.....	Glutasyon S-transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HCl.....	Hidroklorik asit
H&E.....	Hematoksilen & eozin
HOMA-IR.....	İnsülin direncinin homeostatik modeli değerlendirilmesi
KG.....	Kilogram
LT.....	Litre
M.....	Metre
MG.....	Miligram
ML.....	Mililitre
NaCl.....	Sodyum klorür
NM.....	Nanometre
OGTT.....	Oral glikoz tolerans testi
OH.....	Hidroksit
OSİ.....	Oksidatif stres indeksi

PAP PEN.....	Hidrofobik doku sınırlama klemi
PAÜHADYEK.....	Pamukkale Üniversitesi hayvan deneyleri etik kurulu
PG.....	Plazma glikozu
PBS.....	Fosfat tamponu
SS.....	Standart sapma
STZ.....	Streptozosin
TAS.....	Total antioksidan seviye
TOS.....	Total oksidan seviye
WHO.....	Dünya sağlık örgütü
µg.....	Mikrogram
µm.....	Mikrometre
µl.....	Mikrolitre
µmol.....	Mikromol
°C	Santigrat derece

1.GİRİŞ

Diyabet, insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki hasarlar veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan kronik metabolik bir hastalıktır (TEMMD 2022). Dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu olan diyabetin, 2015 yılında 415 milyon kişiden 2040 yılına kadar 642 milyon kişiye çıkacağı bildirilmiştir ve Tip 2 diyabet bu vakaların %90-95' ini oluşturmaktadır (Shaw vd 2010). Kalpte, kan damarlarında, gözlerde, böbreklerde ve sinirlerde ciddi hasara yol açan bu endokrin hastalığın tedavi yöntemleri arasında tıbbi beslenme tedavisi de yer almaktadır. Diyabet tedavisinin önemli bir parçası olan tıbbi beslenme tedavisine uyum gösteren hastalarda glisemi kontrolü sağlanmakta ve komplikasyon riski azalmaktadır (Alphan vd 2018).

Besinlerin tedavi edici yönlerinin bilinmesi çok eski zamanlara dayanmaktadır ve Hipokrat "Besinler ilacınız, ilacınız besinler olsun." diyerek araştırmacıların dikkatini besinlerin ilaç gibi davranabileceği yönünde çekmiştir (Hasler 2022). Probiyotikler, "Yeterli miktarlarda alındığında konağın bağırsaklarında mikrobiyal dengeyi düzenleyerek, sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlanmaktadır. Probiyotiklerin diyabetin tedavisinde dokularda inflamasyonu azalttığı, kilo kontrolünde etkili olduğu, antioksidan savunmadaki olumlu rolü, pankreasta β -hücre fonksiyonlarını iyileştirmesi ile kan şekeri regülasyonunun sağlanmasındaki etkilerini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Kamarlı ve Yıldız 2017).

Böbrekler, vücudun asit ve baz dengesinin korunması, metabolik atıkların atılması, kanın süzülmesi gibi önemli görevleri olan bir organdır (Gaikwad vd 2012). Diyabetin en bilinen komplikasyonlarından biri olan diyabetik nefropatide böbreklerin fonksiyonlarını yerine getiremedikleri ve böbreğin histolojik olarak glomerül ve tübül yapılarında bozulmaların olduğu yapılan deneysel diyabet modellemelerinde gözlemlenmektedir (Gilbert ve Cooper 1999).

Sıçanlarda streptozosin (STZ) kullanılarak pankreasta beta hücrelerinin hasarından kaynaklanan Tip 2 diyabet modellemesinin oluşturulması en sık kullanılan diyabet oluşturma yöntemlerinden biridir (Zafar vd 2009). Bu modelleme kullanılarak oluşturulmuş bir çalışmada, diyabetin böbrek dokusunda bıraktığı hasarlar histopatolojik olarak incelenmiş ve yapılan gözlemler sonucunda diyabetin böbrek tübüllerinde vakuolizasyon ve dilatasyona, glomerül membranların yapılarında bozulmalara ve

kapiller yumak yapısının atrofisine, böbrek dokusunda inflamasyon alanlarının görülmesine sebep olduğu bulunmuştur (Khalil vd 2021).

Sıçanlar üzerinde STZ kullanılarak oluşturulan diyabet modellemesi çalışmasında, diyabetin böbrek dokusundaki etkileri 2., 4., 8., ve 12. haftalarda incelenmiş ve 4. haftadan itibaren böbrek dokusunda hafif inflamasyon alanları, bozulmuş glomerül yapıları ve genişlemiş Bowman boşluğu gibi hasarlar tespit edilmiş, ayrıca proksimal tübüllerde fırçamsı kenarların kaybı gözlenmiştir. Diyabetin 8. haftasındaki sıçanlarda ise piknotik çekirdek yapıları, hücrelerde vakuolizasyon ve tübüllerde dilatasyon ve artmış inflamasyon alanları ile karşılaşılmıştır. 12. haftadaki diyabetli sıçanlarda ise ileri düzeyde nefrotoksisite tespit edildiği belirtilmiştir (Zafar vd 2009).

Diyabetin böbrek fonksiyonlarındaki etkilerinin araştırılması amacıyla kan serum örnekleri alınan diyabetli fareler üzerinde yapılan bir araştırmada, 6 haftalık diyabetli fareler ile kontrol fareleri karşılaştırılmış, diyabetin serum üre ve kreatinin değerlerini önemli ölçüde yükselttiği bulunmuştur (Renno vd 2008).

Bağırsak sağlığını düzenleyerek hastalıkların tedavisi ve önlenmesi aşamasında etkili olabileceği düşünülen probiyotiklerle ilgili birçok çalışma yapılmış, probiyotiklerin anti-diyabetik etkileri değerlendirilmiştir. Probiyotik takviye olarak fermente bir süt ürünü olan kefirin verildiği bir çalışmada, STZ kullanılarak diyabet oluşturulmuş ve sıçanlar 8 hafta boyunca izlenmiştir. Diyabet oluşturulduktan 5 gün sonra açlık kan şekeri, serum kreatinin, serum üre değerleri ölçülmüş ve kontrol grubuna kıyasla artış gözlenmiştir. Aynı çalışmada önce diyabet oluşturulan ve 8 haftalık kefir takviyesi yapılan sıçanların diyabetli sıçanlara kıyasla gliseminin ve serum üre seviyesinin azaldığı; serum kreatinin seviyesinde ise anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (Punaro vd 2014).

Wang ve arkadaşlarının (2020) diyabetli fareler üzerinde 6 hafta boyunca düşük doz ve yüksek doz kompozit probiyotik takviyesini uyguladıkları çalışmalarında, probiyotik gruplarında diyabetli gruba kıyasla daha önce yükselmiş olan HbA1c ve açlık kan şekeri değerlerini düşürdüğü; böbrek indeksinde ise önemli bir farklılığın olmadığı bulunmuştur. Çalışmada böbrek dokusu histopatolojik olarak değerlendirilmiş ve diyabetle harap olmuş böbrek dokusundaki glomerüllerde görülen atrofilerin ve epitelyal dökülmelerin probiyotik takviyesi ile tersine çevirildiği sonucuna ulaşılmıştır (Wang vd 2020).

Diyabet kaynaklı böbrek hastalıklarında dokunun histopatolojik değerlendirmelerinde ilk olarak göze çarpan durumun podosit hasarı, dökülme ve

apoptoz olduğu görülmüştür ve podositlerin hasarı diyabette proteinüriyi arttıran bir durumdur (Lu vd 2021).

Sengül ve arkadaşlarının (2019) sıçanlarda yaptıkları 7 günlük çalışmalarında sisplatinin böbrek dokusunda oluşturduğu hasara karşı probiyotiklerin etkilerini incelemişler ve çalışmada Bcl-2 (Beclin-2) immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada böbrek dokusunda sisplatin ile azalan Bcl-2 ekspresyonunun probiyotik takviyesi ile arttığını tespit etmişlerdir (Sengül vd 2019).

Alfa-düz kas aktin (alfa-SMA(smooth muscle actin)), epitel ve fibroblastik hücrelerde bulunmayan miyofibroblastların belirteci olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda alfa-SMA'nın böbreklerde ekspresyonunun tübüler epitelyal-miyofibroblastlarda olduğu görülmüştür (Ren vd 2009, Jiang vd 2009). Renal proksimal tübüllerde epitelyal mezenkimal geçiş ile indüklenen hücre dışı matriksin aşırı üretimi ve aşırı birikiminin böbrek fibrozunun ilerlemesini hızlandırabileceği ve epitelyal mezenkimal geçişin sembolü olarak alfa-SMA'nın yüksek ekspresyon seviyesi belirtilmiştir (Gong vd 2016).

1.1. Amaç

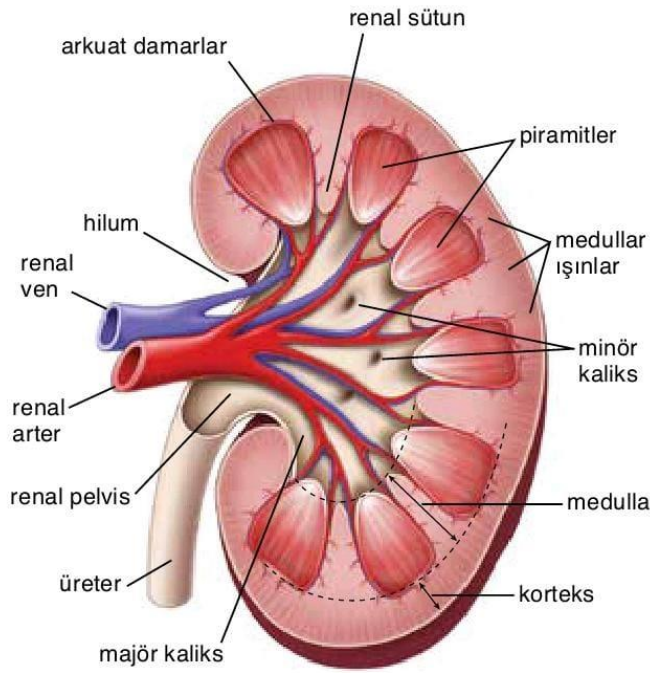
Çalışmamızda probiyotiğin diyabetin zararlı etkilerine karşı koruyucu ya da tedavi edici etkilerini değerlendirmeye çalıştık. Çalışmamızda sıçanlarda STZ ile oluşturulan diyabette VSL#3 probiyotik takviyesinin böbreklerdeki etkisini serumda biyokimyasal belirteçler, dokuda histopatolojik değişiklikler ve immünohistokimyasal olarak Bcl-2 ve alfa-SMA ekspresyon seviyesini değerlendirmeyi amaçladık.

2.KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMALARI

2.1.Böbreğin Genel Yapısı

Böbrekler, retroperitoneal pozisyonda her iki tarafta ve karın arka duvarında bulunan kırmızı renkte fasulye şeklinde organlar olup 10-12 cm uzunlukta, 5-6 cm genişlikte, 3-4 cm kalınlıktadır. Her böbreğin üst kutbunda renal fasiyaya ve adipoz dokuya gömülü bir şekilde bulunan adrenal bez vardır. Böbreğin beslenmesinde görev alan renal damarlar ve sinirlerinin yer aldığı renal pelvis adı verilen huni şekilli bir hilusu bulunmaktadır (Ross ve Pawlina 2011). Böbrekler anatomik olarak 12. torakal vertebra ile 3. lumbal vertebra arasında bulunur ve sağdaki böbrek, soldaki böbreğe göre biraz daha aşağıdadır. Erkeklerde ortalama 150 gr, kadınlarda ise 135 gr kadardır (Sancak 1991).

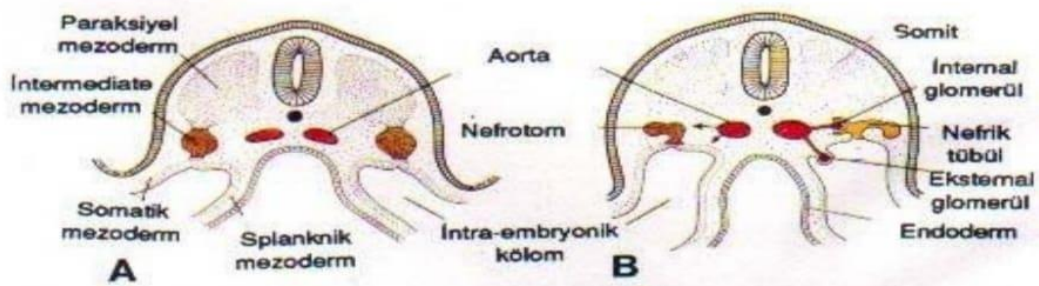
Taze halde ortadan ikiye bölünmüş bir böbrekte korteks ve medulla olarak adlandırılan iki farklı bölüm gözlemlenir (Şekil 2.1). Korteks, dışta bulunur ve kan dağılımının %90-95 'i burada bulunduğu için daha koyu kırmızımsı renktedir; medulla ise daha açık kırmızı renkli olup iç kısımda yer alır (Ross ve Pawlina 2011).



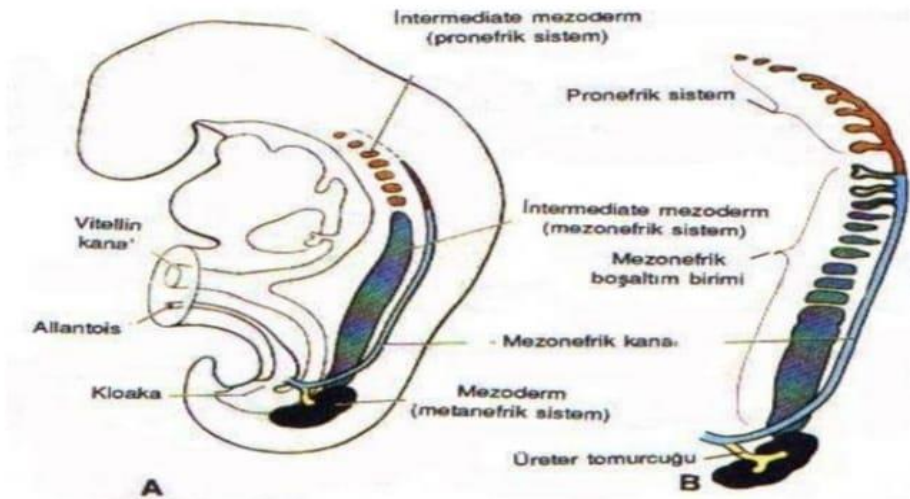
Şekil 2. 1: Böbreğin yapısının diyagramı (Ross ve Pawlina 2011).

2.2. Böbreğin Embriyolojisi

İnsanlarda dördüncü haftanın başında, ara mezodermin ventrale kayması ile ürogenital kabartı oluşur ve bu kabartıdan üriner ve genital sistemler oluşur. Embriyolojik olarak böbrekler, kranialden kaudale doğru, sırası ile pronefroz, mezonefroz ve metanefroz olarak adlandırılan birbirini takip eden üç farklı böbrek sisteminden gelişir. İnsanda pronefroz geçici ve işlevsiz olup dördüncü haftanın sonunda tamamen kaybolur. Mezonefroz, ara dönemde kısa süreli görev yapar üst torasik ve üst lumbar (L3) segmentlerin intermediate mezoderminden gelişirler. Gelişimin dördüncü haftasının başlarında mezonefrozun ilk boşaltım tübülleri oluşmaya başlar. Bu tübüllerin boyca uzaması ve S şeklinde bir halka görünümünü elde etmesi ile medial uzantılarının ucunda kapiller yumaktan oluşan glomerüller meydana gelir. Glomerülün etrafındaki mezonefrik tübüller yarım ay şeklinde genişleyerek Bowman kapsülünü, kapsül ve glomerül ise birlikte renal korpuskülü meydana getirir (Sadler 2005). Mezonefrik tübüller, mezonefrik kanala; mezonefrik kanal kaudale doğru uzayarak kloakaya açılır. Birinci trimesterin sonunda mezonefroz ortadan kaybolur fakat mezonefrik tübüller erkeklerde genital sistemin gelişiminde yer alır. Dişilerde de tamamen ortadan kaybolur (Şekil 2.2, Şekil 2.3) (Moore 2002).



Şekil 2. 2: A. Gelişimin 21. günü B. Gelişimin 25. günü nefrik tübül oluşumu (Sadler 2005).



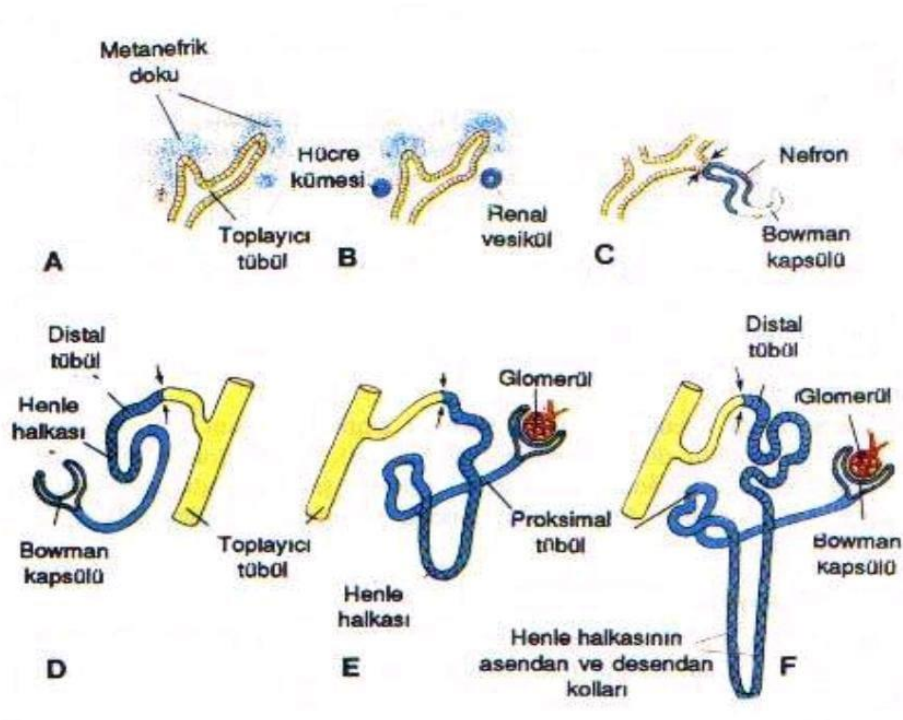
Şekil 2. 3: A. İntermediate mezodermin sistemleri. B. 5 haftalık embriyonun pronefrotik ve mezonefrotik boşaltım tübülleri (Sadler 2005).

Üriner sistemin kalıcı böbreği yani metanefroz beşinci haftada oluşur (Sadler T, 2005). Metanefrozlar, üreter tomurcuğu veya metanefrik divertikulum ve metanefrik blastem denen iki farklı yapıdan köken alır (Şeftalioğlu 1998). Bu iki yapı da mezoderm kökenli olup üreter tomurcuğundan üreter, renal pelvis, majör ve minör kaliksler ve toplayıcı kanallar gelişir. Metanefrik blastemden ise nefronlar oluşur (Sadler 2005).

Metanefrik blastem dokusu içindeki yeni oluşmuş toplayıcı tübüllerin distal uçları, metanefrik doku şapkaları ile örtülür ve bu doku şapkası içindeki hücreler mezoderm hücrelerini indükleyerek renal veya metanefrik veziküllerin oluşmasına sebep olurlar. Uzayıp S şeklini alan bu veziküllerin proksimal uçlarında glomerüller oluşur, distalinden tübüller gelişir. Tübüller ve glomerül yapısı birlikte boşaltım birimi olan nefronları oluşturur. Nefronların proksimal uçlarında glomerülü yay şeklinde saran Bowman

kapsülü oluşur. Bowman kapsülü, tübülün distal ucu ile toplayıcı kanallar arasında bağlantı kurar ve boşaltıcı tübüllerin uzayıp kısalması ile proksimal kıvrıntılı tübüller, Henle kulpu ve distal kıvrıntılı tübüller oluşur (Şekil 2.4) (Şeftalioğlu 1998).

Nefron oluşumu doğuma kadar devam eder ve 9. haftadan başlayarak idrarı oluşturmaya başlarlar. Böbreklerin işlevsel özelliklerini kazanması ve doğumdaki lobüllü görünümünün kaybolması ise doğumdan sonra olmaktadır (Sadler 2005).



Şekil 2. 4: Metanefrik boşaltım biriminin gelişimi. Oklar, boşaltım biriminin (mavi) toplayıcı sistemle (sarı) buluştuğu noktayı göstermektedir (Sadler 2005).

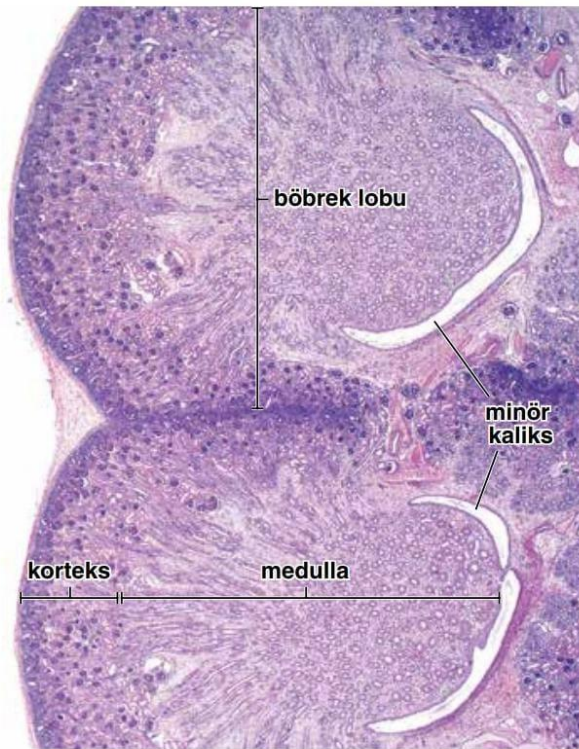
2.3. Böbreğin Histolojisi

Taze böbrek kesilip incelendiğinde korteks ve medulla denen iki farklı bölgeden oluştuğu gözlenir. Korteks, glomerüllerin varlığı ile medulladan ayırt edilirken renal korpüsküller, nefronun kıvrımlı ve düz tübüllerini, toplayıcı tübüller ve toplama kanallarını yapısında bulundurduğu bilinmektedir (Ross ve Pawlina 2011).

Böbreğin medial yüzü konkav olup medial yüzünün orta kısmında organın arterleri ve sinirlerinin girdiği, lenf damarları ve üreterin çıktığı hilum denen yapısı bulunur (Ross ve Pawlina 2011). Hilumda üreterlerin genişlemesi ile renal pelvis, renal pelvislerin dallanması ile renal kaliksler oluşur. Böbrekte genellikle iki majör kaliks, 10-12 minor

kaliks bulunur ve bu minör kalikslerin uçlarına renal papilla adı verilir. Papillaların toplama borularına bağlanması nedeni ile delikli olan yüzeylerine area cribrosa denir. Ortadan kesilmiş böbrek kesitlerinde papillalar böbreğin tepe noktasında medullar piramit (Malpighi piramidi) denen alanlarda bulunduğu görülür. Medullar piramitlerin tabanı kortekse apeksi ise kaliks minörlere bakar ve kortekse doğru uzanan damarlar nedeni ile çizgili görünümde dirler. Böbreğin kortekse komşu olan dış medullasında Henle kulpunun kalın kolları, vasa rekta ve toplayıcı kanallar bulunur. Medullar piramitlerin apeksinde bulunan iç medullada ise vasa rektalar ve Henle kulpunun ince kolları bulunur. Medullanın bazal yüzünden kortekse doğru uzanan Ferrein 'in medüller ışınları (stria medullaris) denen toplayıcı tübül ve kan damarlarının oluşturduğu ışınsal uzantılar bulunur. Medullar piramitleri birbirinden ayıran korteksin medullaya uzanmasını sağlayan kısımlara ise Bertini sütunları (renal kolon) adı verilir (Eşrefoğlu 2004).

Bir medullar piramit, etrafındaki kortikal doku ve piramitlere komşu Bertini sütunlarına bir böbrek lobu denir. Fetal böbreklerde loblar belirginken doğumdan sonra bu görüntü yavaş yavaş belirsizleşmeye başlar. İnsanlarda her bir böbrek 8-18 lob içermektedir. Merkezde bulunan bir medullar ışın ve onun etrafında bulunan bütün nefronlarından oluşan yapıya ise lobül adı verilir (Şekil 2.5) (Ross ve Pawlina 2011).

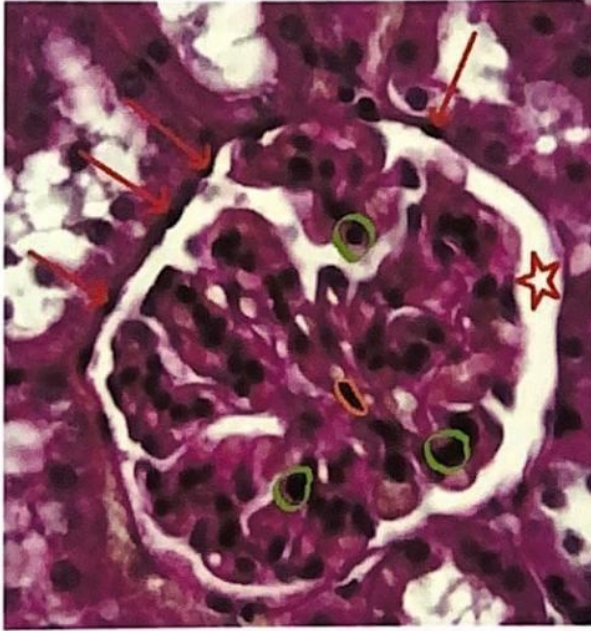


Şekil 2. 5:H&E ile boyanmış insan fetal böbreği fotomikrografı. (Ross ve Pawlina, 2011)

Her bir insan böbreği yaklaşık 2 milyon nefron içermektedir. Filtrasyon, sekresyon ve reabsorbsiyon olmak üzere 3 temel görevi olan nefronlar böbreğin yapısal fonksiyonel birimidir. Nefron, renal korpuskül (Malpighi'nin renal korpuskülü) ve renal tübül olmak üzere iki bölümden oluşur (Ross ve Pawlina 2011). Renal korpuskül, nefronun başlangıç kısmıdır ve her zaman korteks içinde bulunan bu yapı iki tabakalı Bowman kapsülü ve kapiller yumak olan glomerülden oluşmaktadır (Eşrefoğlu 2004). Kan böbrek cisimciğine afferent arteriyolle girer, glomerüler kapillerden geçer ve efferent arteriyol ile terk eder. Afferent ve efferent arteriyollerin girip çıktıkları bölge damar kutbu, damar kutbunun tam karşısındaki proksimal tübülün başladığı bölge ise idrar kutbu olarak adlandırılır (Ross ve Pawlina 2011).

Bowman kapsülü, iç (visseral) ve dış (pariyetal) yapraklardan oluşur. Pariyetal ve visseral tabakaların arasında ise Bowman boşluğu (idrar boşluğu) bulunur. Pariyetal tabaka tek katlı yassı epitel hücrelerinden oluşurken visseral tabaka podosit hücrelerinden oluşur (Şekil 2.6) (Eşrefoğlu 2004). Nefronun renal tübül bölümü ise proksimal kıvrıntılı tübül; sırası ile Henle kulpunun inen kalın kolu, inen ince kolu, çıkan ince kolu ve çıkan kalın kolu ve distal kıvrımlı tübülünden oluşmaktadır. Henle kulpunun çıkan kalın parçası distal düz tübül olarak da adlandırılır ve burada medullada ilerleyip medullar ışınları da terk edip renal korpuskülün vasküler kutbuna kadar ilerleyen distal tübülün epitel hücreleri makula densa denen özel bir yapıyı oluşturur (Ross ve Pawlina 2011).

Nefronlar, böbreğin korteksinde bulunan kortikal nefronlar ve medulla sınırında bulunan jukstamedullar nefronlar olmak üzere iki tipte bulunurlar (Eroschenko 2013).



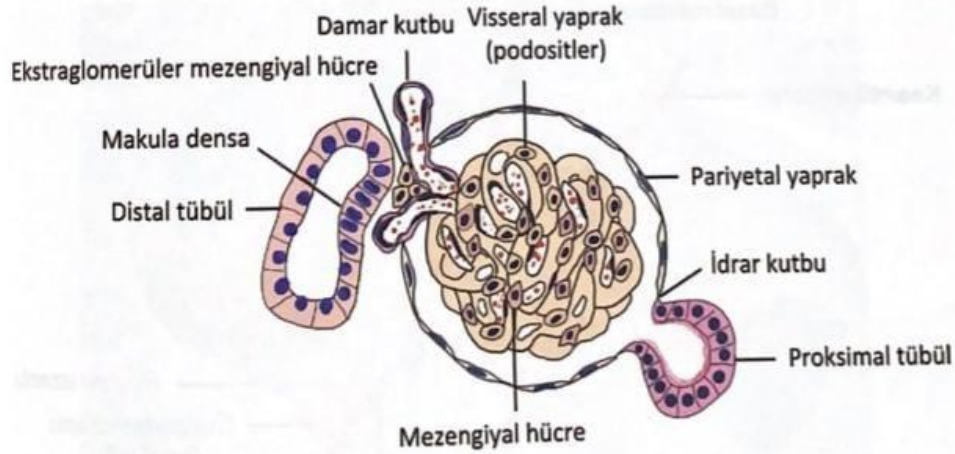
Şekil 2. 6: Renal korpuskülde Bowman boşluğu (yıldız), Bowman kapsülünün pariyetal yaprağı (oklar) ve visseral yaprakta bulunan podosit hücreleri (yeşille sınırlı) gösterilmiştir (Eşrefoğlu 2004).

2.3.1. Renal cisimcik ve glomerül

Her nefronun ilk parçası olan renal cisimcikler veya Malpighi'nin renal korpuskülleri nefronların korteks dokusunda bulunur. Yaklaşık olarak 200 µm çapındadırlar ve kapiller yumak olan glomerülden oluşurlar (Şekil 2.7) (Eşrefoğlu 2004). Glomerüllerde 3 temel bileşen bulunmaktadır:

1. Endotel hücreleri: Glomerüler filtratın süzüldüğü ilk bariyerdir ve kapillerleri pencere tiptedir. Diğer kapillerlere göre sayıca ve boyut olarak daha büyük olup diğer pencere tipteki kapillerlerde bulunan diyafram yapısı yoktur. Böylece su, üre, glikoz ve küçük proteinlere geçirgen olup negatif yüklü glikoproteinlere ise geçirgen değildir (Jançeira 1998).
2. Podositler: Filtratın oluşmasında görevli olan bu hücreler Bowman kapsülünün visseral yaprağında bulunurlar. Bu hücrelerin gövdelerinden ise pedisel adı verilen uzantılar glomerüllerin kapillerine uzanır ve bazal lamina bağlantı kurar. Burada ise oluşan mesafede filtrasyon (süzme) yarıkları oluşur.
3. Mezengial hücreler: Matrikse gömülüdürler ve glomerüldeki hücrelerin %30-40' ını oluşturan düzensiz şekilli hücrelerdir (Eşrefoğlu 2004). Bu hücrelerin özelleşmiş bir yapıda olduğu ve kasılabilen, çoğalabilen, fagositoz yapabilen, prostaglandin ve endotelin salgılayan hücreler olduğu belirtilmektedir (Kierszenbaum 2006).

Filtrasyon bariyerinin membranlarında oluşan hasarlar sonucunda filtrasyon yarıklarından glikoproteinlerin filtrata geçtiği görülür. Diyabetin komplikasyonlarından olan diyabetik nefropati glomerül bazal membranındaki bu hasardan kaynaklanmaktadır (Ross ve Pawlina 2011).



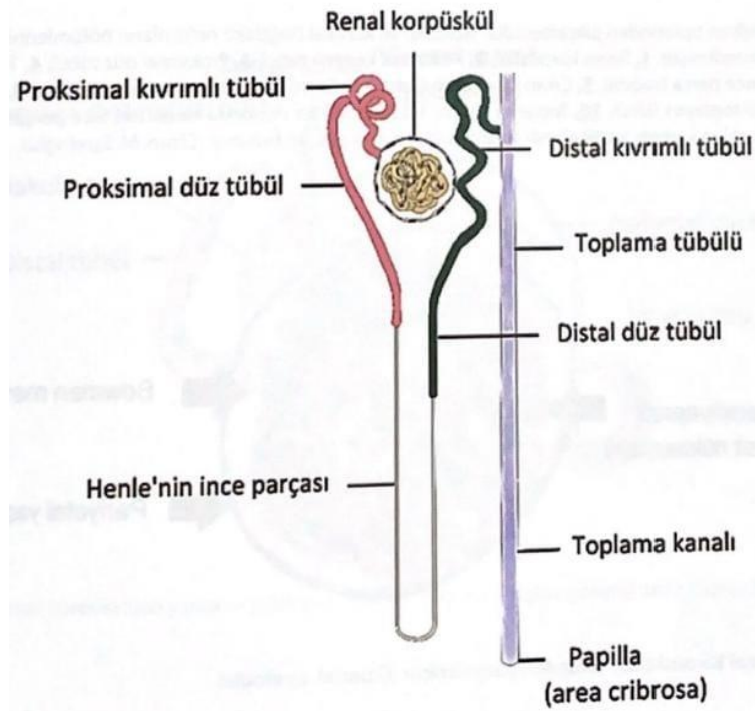
Şekil 2.7: Renal korpüskül ve hücreleri (Eşrefoğlu 2004).

2.3.2. Proksimal tübül

Nefronun en uzun bölümü olan proksimal tübül renal cisimciğin idrar kutbundan başlar ve korteksin çoğunluğunu oluşturur (Şekil 2.8). Proksimal tübülün düz olan parçası medullada; kıvrıntılı parçası ise kortekste yer almaktadır. Kübik epitele sahip olan hücrelerinin merkezinde tek bir çekirdek bulunmaktadır ve bol mitokondriyon içermesi sebebi ile eozinofilik özelliktedir. Işık mikroskobu ile incelediğinde hücrelerin apeksinde çok sayıda mikrovillus yapısının bulunduğu gözlemlenir ve içeriğindeki glikokaliksler sebebi ile PAS pozitif boyanır (Eşrefoğlu 2004). Mikrovilluslar, glikoz ve aminoasitlerin hepsinin; su ve sodyumun ise %70' inin geri emiliminde önemli rol oynar (Eroschenko 2001).

Proksimal tübülün düz parçası daha az mikrovillus içermesi sebebi ile absorpsiyon özelliği daha az gelişmiş ve içeriğindeki mitokondriyonları ise daha küçük, lizozomları ise sayıca daha azdır. Proksimal tübülün kıvrıntılı parçasında geri emilim ve su transportunu gerçekleştiren özel yapıların olduğu görülür. Fırçamsı kenarlar, zonula adherensler ve hücrelerin lateral bölgesindeki yoğun katlantılar (plikalar),

lateraldeki komşu hücrelerle sıkı kenetlenmeler (interdigitasyon), bazal membrandaki yoğun interdigitasyon ve buradaki hücrelerin bol mitokondriyon içermesi iyon taşınımının aktif olduğunun bir göstergesidir. Proksimal tübüllerde bulunan Na^+/K^+ -ATPaz transmembran proteinleri sodyumun geri emiliminde görev alırken aquaporin-1 proteini ise su kanalı görevini üstlenir (Ross ve Pawlina 2011).



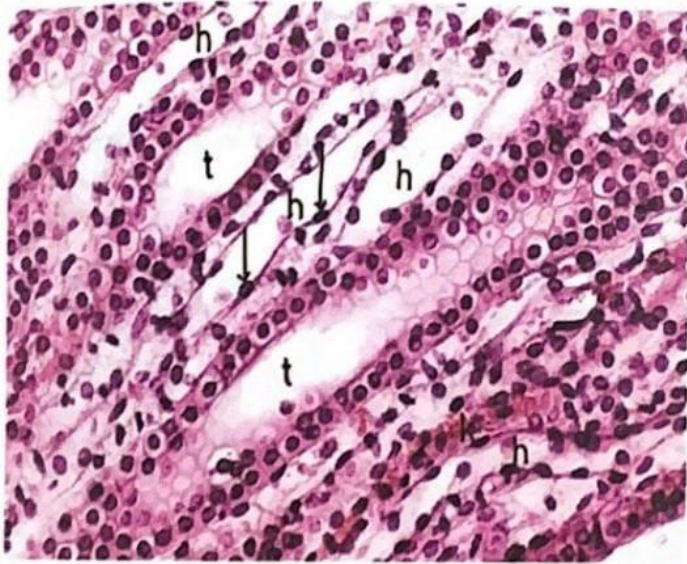
Şekil 2.8: Renal korpüskül ve renal tübül yapıları (Eşrefoğlu 2004).

2.3.3. Henle kulpu

Nefronun proksimal ve distal tübüllerini U şeklinde bir halka yaparak birbirine bağlayan Henle kulpu idrarın üretimi için önemlidir (Eroschenko 2001). Proksimal tübülün inen ince kolunda başlayan tek katlı kübik epitel Henle kulpunun inen ve çıkan ince kollarında tek katlı yassı epitel tabakasına dönüşür. Henle kulpunun çıkan kalın kolu distal düz tübül tarafından oluşturulur ve burada epitel tek katlı kübik veya alçak prizmatik epitel tabakasından oluşur, mikrovilluslar ise daha az sayıdadır (Şekil 2.7) (Ross ve Pawlina 2011). Henle kulpunda dört tip epitelin olduğu bilinmektedir. Bunlardan Tip I epitel kısa Henle kulpu olan nefronlarda bulunurken Tip II epitel uzun Henle kulpu olan nefronlarda bulunur ve daha çok mikrovillus ile organel yapılarını bulundurur. Tip III epiteller iç medulla kısmında; Tip IV epitel ise uzun kulplu nefronların çıkan ince

parçasında bulunur. Bu hücrelerde mikrovillus yapılarına daha az rastlanır (Ross ve Pawlina 2011).

Henle kulpunun inen ve çıkan kollarındaki ultrafiltrat yoğunlukları ve kolların geçirgenlikleri birbirinden farklılık göstermektedir. Henle kulpunun inen ince kolunun su geçirgenliği daha yüksekken NaCl ve üre geçirgenliği daha düşüktür ve buraya gelen ultrafiltrat izoozmotik özellik gösterir. Burada aktif iyon transportuna rastlanmaz, difüzyon gibi pasif transportlar görülür. Henle' nin çıkan ince kolunda ise durum biraz daha farklıdır, yine pasif iyon transportu vardır fakat çıkan ince kol NaCl' e burada yüksek geçirgen özellik göstermektedir, ultrafiltrat ise hipoozmotik özelliktedir (Ross ve Pawlina 2011).

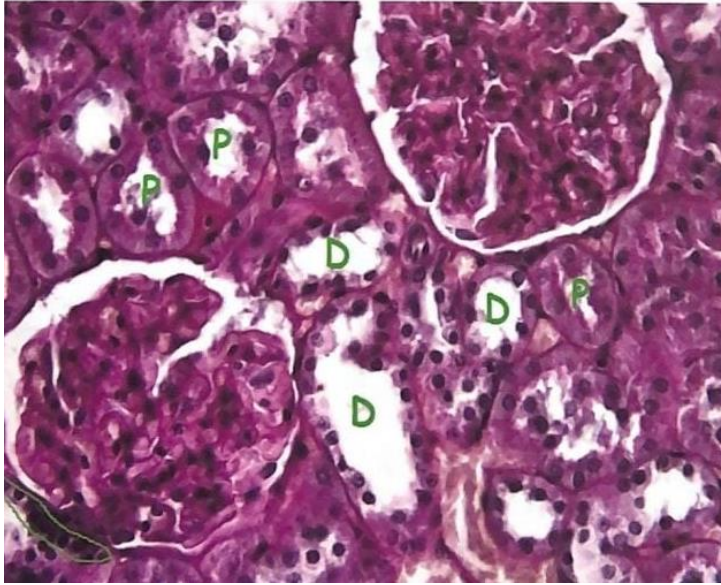


Şekil 2. 7: Tek katlı kübik epitelle kaplı toplama tübüleri (t), tek katlı yassı epitelle kaplı henle kulpu (oklar) (h) ve kapiller damarlar (k) (Eşrefoğlu 2004).

2.3.4. Distal Tübül

Proksimal tübülden daha kısa ve lümeni daha geniş olan distal tübüller Henle kulbunun çıkan ince parçasından sonra kortekse girer. Fırçamsı kenarları olmadığı için PAS boyamalarında proksimal tübüllerden ayırt edilebilirler. Distal düz tübül ve distal kıvrımlı tübülün hücreleri tek katlı kübik epitel tipinde ve nükleusları hücrenin apikal kısmında, çok sayıda görünür (Eşrefoğlu 2004). Distal düz tübülün epitel hücrelerinde Cl⁻, Na⁺ ve K⁺ gibi iyonlar taşınır. Distal kıvrımlı tübül epiteli glomerülün arter kutbuna temas ettiğinde özel bir yapı olan makula densayı oluşturur (Şekil 2.8). Distal kıvrımlı tübüllerde aldosteron varlığında Na⁺ iyonunun ve bikarbonatın emilimi, K⁺ iyonunun ve

amonyumun sekresyonu gerçekleşir. Kandaki asit baz dengesinin sağlanması açısından bu olaylar önem taşımaktadır (Ross ve Pawlina 2011).



Şekil 2. 8: Sıçanda proksimal tübüller (P), geniş distal tübüller (D) ve işaretli alan makula densayı göstermektedir. Pas boyama. (Eşrefoğlu 2004).

2.3.5. Toplayıcı Tübül ve Kanallar

Distal kıvrımlı tübüller toplayıcı tübüller, toplayıcı tübüller toplama kanalları takip eder. Geniş toplama kanallarında tek katlı prizmatik epitel görülebilirken toplayıcı tübül ve kanalların epitelleri genellikle tek katlı kübik epitel tipindedir. Renal tübülün elamanları olan toplayıcı tübül ve kanallarda iki tip hücre bulunur: Açık hücreler veya toplama borusu hücreleri bazalinde içeriye katlantı gösteren, monosilyum, mikrovillus ve sitoplazmalarında küçük, yuvarlak mitokondriyonlar bulunduran hücrelerdir. Koyu hücreler veya interkalar hücreler ise daha fazla mitokondriyon, mikrovillus, mikroplika (sitoplazmik katlantı) içerir. Bazal içe katlantılar ise bu hücrelerde görülmez (Ross ve Pawlina 2011).

2.2. Diabetes Mellitus

2.2.1. Diabetes Mellitus'un tanımı ve sınıflandırılması

Diabetes Mellitus (DM), insülin eksikliği veya insülinin etkisindeki defektler sebebi ile ortaya çıkan karbonhidrat, yağ ve proteinlerin metabolizmasındaki bozukluk ile karakterize olan bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü'nün yaptığı çalışmalar doğrultusunda 2000 yılında dünyada 171 milyon diyabetli olduğu ve 2030 yılında ise rakamların 366 milyon olacağı belirtilmiştir. Ülkemizde 1997 ve 2010 yılında 25.000 kişi üzerinde yapılan TURDEP-1 VE TURDEP-2 çalışmalarında ise 13 yılda DM prevalansının %95 arttığı görülmüştür (Alphan vd 2018).

Diyabetin klasik olarak görülen en yaygın semptomları arasında poliüri, polidipsi, polifaji veya iştahsızlık, halsizlik, ağız kuruluğu, noktüri bulunur. Daha nadir olarak görülen semptomları ise bulanık görme, açıklanamayan kilo kaybı, inatçı enfeksiyonlar, tekrarlayan mantar enfeksiyonları ve kaşıntıdır (TEMĐ 2022).

Diabetes Mellitus'un sınıflandırılması ise şu şekildedir:

1. **Tip 1 DM:** β – hücrelerin hasarı sonucu oluşan, genelde tam insülin yetersizliğine sebep olur. Otoimmün ve idiopatik olmak üzere iki farklı formu bulunmaktadır. Tüm DM' lilerin %5-10'unu oluşturur.
2. **Tip 2 DM:** Asıl sebebi insülin direnci olan DM tipidir ve tüm diyabetlilerin %90-95' ini oluşturur.
3. **Gestasyonel Diyabet (GDM):** Bazı kadınlarda gebelik sırasında oluşan diyabet tipidir.
4. **Prediyalet:** Açlık glikoz düzeyleri ve Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT) normalin üzerinde olup diyabet tanısı almayan DM gelişme riski yüksek olan kişilerde görülür.
5. **Diğer spesifik tipler:** Spesifik genetik sendromlar, ilaçlar, malnütrisyon enfeksiyon gibi sebeplerden ortaya çıkan diyabet tipidir (Alphan vd 2018).

2.2.2. Diabetes Mellitus tanı kriterleri

DM veya bozulmuş glikoz metabolizmaları için tanı kriterleri aşağıda gösterilmektedir (TEMĐ 2022):

Tablo 2. 1: Kesin olan DM tanısı için dört kriterden biri bile yeterlidir. İzole Bozulmuş Açlık Glikozu (BAG), izole Bozulmuş Glikoz Toleransı (BGT) ve BAG+BGT için iki kriter yeterlidir (TEMĐ 2022).

	DM	BAG	BGT	BAG+BGT	Yüksek Risk
APG (Açlık Plazma Glikozu) (≥8 saat açlık)	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl	<100 mg/dl	100-125mg/dl	—
OGTT (2saat sonra PG)	≥200 mg/dl	<140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	—
Anlık PG (Plazma Glikozu)	≥200 mg/dl	—	—	—	—
HbA1c	≥ %6,5	—	—	—	%5,7-6,4

2.2.3. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları

DM, akut ve kronik komplikasyonlar ile seyrederek.

1. Akut Metabolik Komplikasyonları

- A. Diyabetik Ketoasidoz: İnsülin yetersizliği sonucunda karbonhidratların kullanılmayıp vücudun yağlardan enerji sağlaması ile keton üretimi başlar. Hücre içi dehidratasyona sebep olur.
- B. Diyabetik Nonketotik Koma
- C. Hipoglisemi

2.Kronik Metabolik Komplikasyonları

Mikrovasküler ve makrovasküler olmak üzere iki gruba ayrılır.

A. Mikrovasküler komplikasyonlar

- a. Nefropati: İntrarenal ve ekstrarenal arterlerin ateroskleroza ve glomerüllerdeki değişiklikler sonucu oluşmaktadır. Mikroalbuminüri (>30 mg / gün veya 20 mcg/ dk) erken belirtisidir.
- b. Retinopati
- c. Nöropati

B. Makrovasküler komplikasyonlar

- a. Ateroskleroz
- b. Diyabetik ayak (Şanlıer vd 2019).

2.2.4. Tip 2 Diyabet

Tüm diyabetlilerin %90-95' ini oluşturan Tip 2 diyabetin genelde 30 yaş sonrasında çıktığı fakat artan obezite sorunu sebebi ile bu yaşın 10-15' e kadar düştüğü ve bu hastaların genelde obez veya fazla kilolu sağlıklı bireyler olduğu gözlemlenmektedir. Hastalıkta görülen insülin direnci, hücre-reseptör defektine bağlı olarak gelişen insülinin kullanılmama durumudur. Daha sonrasında gelişen insülin sekresyonundaki azalmada ise pankreasın kan glikoz düzeyi için yeterli miktarda insülin salgılayamadığı ve karaciğerde glikozun yapımında aşırı artışın olduğu görülür. Pankreasta beta hücrelerinin hasarına bağlı olarak insülin sekresyonunun azalması ile karaciğer, kas ve yağ dokuları yeterli miktarda glikoz alamamaktadır. Tip 2 DM' de pankreastaki adacıkların hasarından kaynaklı glukagon ve gastrointestinal sistemde ise inkretin gibi hormonların salınımlarında bozukluklar görülmektedir (TEMD 2022).

Sağlıksız beslenme alışkanlıkları, yüksek yağlı ve karbonhidratlı diyetler, özellikle intraabdominal obezite, artan sedanter davranış ve fiziksel aktivitedeki azalma, ailede diyabet öykülerinin olması, etnik köken gibi birçok risk faktörü Tip 2 DM' nin oluşmasına sebep olur (Galicia-Garcia vd 2020). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin de Tip 2 DM gibi metabolik hastalıklarda etkili olduğunu göstermektedir. Mikrobiyal disbiyozlar ve Tip 2 DM'de gördüğümüz inkretin salgılanmasındaki bozukluklar, metabolik değişiklikler ile ilişkilendirilmiştir (Moreno-Indias vd 2014). Yapılan çalışmalarda Tip 2 DM' li hastaların bağırsak mikrobiyotalarındaki patojenlerde artış olduğu görülmüştür (Wang vd 2012).

2.2.5. Diyabetik nefropati

Diyabet, böbrek yetersizliğinin sebeplerindendir ve diyabetli hastaların %10-20' si bu sebepten hayatlarını kaybetmektedirler. Diyalize giren hastaların ise %50' sinin diyabetli olduğu görülmektedir (Alphan vd 2018). Bazı diyabet hastalarının böbreklerinde, proteinüri (albüminüri), ödem ve arteriyel hipertansiyon ile kendini belli edip zamanla böbrek yetmezliğine yol açan glomerülötübüler hasarların tümüne diyabetik nefropati adı verilmiştir. Diyabetik nefropati üzerinde etkili olan faktörlerin arasında hemodinamik değişiklikler, hiperglisemi, dislipidemi, insülin direnci, hücrelerin ve moleküler yapıların değişimi gösterilmektedir (Büyükdevrim vd 2005). Tip 1 diyabetliler için diyabet süresi beş yıl ve üzeri olanlar; tip 2 diyabetlilerin ise yılda bir

albümin seviyelerinin ölçülmesi önerilmektedir (TEMD 2022). Diyabetin böbreklerde bıraktığı hasarları inceleyen histolojik çalışmalarda bazal membranda kalınlaşma, glomerüllerde atrofi ve kapiller yumağı destekleyen mezengiumda artış, renal tübüllerin epitellerinde vakuolleşme ve hücre infiltrasyonu görülmüştür (Khalil vd 2021).

2.3.PROBİYOTİKLER

Son yılların en çok araştırılan konuları arasında bulunan probiyotikler, belirli miktarlarda tüketildiğinde konakçı için yararlı etkileri bulunan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Kelime anlamı olarak 'yaşam için' anlamına gelen probiyotikler antibiyotiklerin tam tersi anlam taşımakla birlikte antibiyotik, stres, enfeksiyon, radyasyon gibi etkenlerle bozulan mikrobiyal dengeyi düzenler, otoimmün ve immünoenflamatuvar hastalıklara karşı sağlık açısından olumlu etkiler gösterir (Coşkun 2005). Probiyotik mikroorganizmalar suştan suşa farklı etkiler göstermekle birlikte bilinen en yaygın türleri Laktobasillus ve Bifidobacterium oluşturur (Uymaz 2010).

2.3.1. Probiyotik mikroorganizmaların özellikleri

Laktik Asit Bakteri Platformu (LABIP)' nun belirlemiş olduğu kriterlere göre probiyotik mikroorganizmalar şu özellikleri taşımalıdır:

- a. Orijini insan olmalıdır.
- b. Patojenik özelliklere sahip olmaması gerekmektedir.
- c. Gastrik asit ve safra tuzlarına dirençli özellikte olmalıdır.
- d. Gastrointestinal sistemde kısa periyotlar için de olsa devamlılık göstermelidir.
- e. Teknolojik süreçler için dirençli mekanizmalarının olması gerekmektedir.
- f. Antimikrobiyel bileşikler üretebilmeli ve immün yanıtı uyaramelidir.
- g. Vitamin üretimi, kolesterol asimilasyonu ve laktaz aktivitesi gibi metabolik etkinliğe sahip olmalıdır.
- h. Bağırsaklarda yer alan epitellere tutunabilme yeteneğine sahip olmalıdır (Guarner ve Schaafsma 1998; Ewaschuk ve Dieleman 2006).

2.3.2. Probiyotik bakteri türleri

Yapılan çalışmalarda sağlık açısından olumlu etkileri sebebi ile en çok tercih edilen probiyotik bakteriler Laktobasillus ve Bifidobacterium olmakla birlikte Basillus,

Pediococcus, Streptococcus, Bacteriodes türleri, küfler ve mayalar da sıkça kullanılanlar arasında yer almaktadır. Bağırsak florasının içinde zaten var olmaları sebebiyle *Laktobasillus*, *Bifidobacterium* ve *Enterobacterium* gibi laktik asit türlerinin suşları insanların beslenmesinde faydalı olan takviye edici probiyotiklerin içerisinde kullanımı yaygındır (Uymaz 2010).

Tablo 2. 2: Probiyotik mikroorganizma türleri (Salminen vd 2002).

Laktobasillus Türleri	<i>Laktobasillus acidophilus</i> , <i>Laktobasillus reuteri</i> , <i>Laktobasillus curvatus</i> , <i>Laktobasillus fermentum</i> , <i>Laktobasillus plantarum</i> , <i>Laktobasillus jonhsonii</i> <i>Laktobasillus rhamnosus</i> , <i>Laktobasillus helveticus</i>
Bifidobacterium Türleri	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium thermophilum</i>
Bacillus Türleri	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus lentus</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus coagulans</i>
Pediococcus Türleri	<i>Pediococcus cerevisiae</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>
Streptococcus Türleri	<i>Streptococcus salivarius ssp. thermophilus</i> , <i>Streptococcus intermedius</i>
Bacteriodes türleri	<i>Bacteriodes capillus</i> , <i>Bacteriodes suis</i> , <i>Bacteriodes ruminicola</i> <i>Bacteriodes amylophilus</i>
Küfler	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus oryzae</i>
Propionibacterium türleri	<i>Propionibacterium shermanii</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i>
Mayalar	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida torulopsis</i>

2.3.4. VSL#3 probiyotik

Çalışmamızda kullandığımız VSL#3 takviye edici probiyotik içerisinde 4 adet Laktobasillus, 3 adet Bifidobacterium ve 1 adet Streptococcus olmak üzere üç farklı türü ve 8 farklı suşu barındırmaktadır. *Laktobasillus plantarum* BP06, *laktobasillus acidophilus* BA05, *laktobasillus helveticus* BD08 ve *laktobasillus paracasei* BP07 olmak üzere 4 farklı laktobasillus suşunu içermektedir. Yapılan çalışmalarda ise laktobasillus suşlarının asetik asit ve laktik asit üreterek bağırsaklarda pH'ı düşürdüğü ve patojenik özellikteki mikroorganizmalara karşı antibakteriyel özellik gösterdiği bulunmuştur (Yeşilova vd 2010). VSL#3 içerisinde 3 farklı bifidobakterium suşunu barındırır:

Bifidobacterium animalis subsp. lactis BL03, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis BL04* ve *Bifidobacterium breve BB02*. Tip 2 diyabetli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada diyabetlilerin bağırsak florasında *Lactobasillus* ve *Bifobakterium* türü mikroorganizmaların sayısında azalma olduğu bulunmuştur (Cai vd 2017). Probiyotiklerin diyabet üzerine etkilerinin araştırıldığı ve VSL#3 probiyotiğın kullanıldığı bir başka çalışmada ise VSL#3 takviyesi almış farelerin diyabetten korundukları sonucuna ulaşılmıştır (Calcinaro vd 2005). VSL#3 içerisinde farklı bir tür ve suş olarak da *Streptococcustermophilus BP06* barındırır.

2.3.5. Probiyotiklerin diyabet üzerine etkileri

Günümüzde yapılan araştırmalar sonucunda probiyotiklerin antibakteriyel, antienflamatuar etkilerinin yanı sıra hastalıkların tedavisinde de kullanımları yaygınlaşmıştır. İntestinal sistemin mikrobiyal dengesini düzenleyerek hastalıklarla mücadele etmesi sebebiyle probiyotik mikroorganizmaların sağlığı iyileştirmek için gerekli olduğu görüşü yaygınlaşmıştır. Bağırsak florasını düzenleyerek probiyotik mikroorganizmaların diyabet üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, probiyotik yoğurdun STZ ile diyabet indüklenmiş sıçanlarda diyabeti önlediği, komplikasyonlarını azalttığı ve insülin direncini azalttığı gözlemlenmiştir (Yadav vd 2007). Probiyotik özellik gösteren tek maya olan *Saccharomyces cerevisia*'nın diyabetin belirteci olan HbA1c ve açlık kan şekeri değerlerinde azalmaya sebep olduğu ortaya konmuştur (Hosseinzadeh vd 2013). İçeriğinde *Streptococcustermophilus*, *laktobasillus caseii*, *laktobasillus acidophilus* ve *Breve lactis* bulunan kefir ile yapılan bir çalışmada, kefirin serum glikoz ve HbA1c seviyelerini azalttığı bulunmuştur (Ostadrhimi vd 2015). 50 tane Tip 2 diyabetli hasta üzerinde yapılan ve *Laktobasillus asidophilus 5* ile *Bifidobacterium animalis subsp. BB12'* in 6 hafta boyunca verildiği bir çalışmada ise HbA1c' in azalması ise glisemik kontrol üzerine probiyotiklerin olumlu etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Falcinelli vd 2018).

2.4. STREPTOZOSİN (STZ)

STZ, *Streptomyces archromogenes* denen mikroorganizmadan elde edilmiş kimyasal bir maddedir ve molekül formülü $C_8H_{15}N_3O_7$ dir (Dağdeviren ve Karabay 2012). STZ pankreas β -hücrelerinde harabiyete sebep olarak deney hayvanlarının diyabet olmasına sebep olur (Altan vd 2006). STZ ile oluşturulan deneysel diyabet

modelinde indüksiyon yapılmış hayvanlarda glikozüri ve hiperglisemi görülür. Hipergliseminin şiddeti ve uzunluğuna bağlı olarak kalp, göz, böbrek gibi birçok doku bu durumdan olumsuz etkilenir, bu dokularda yapısal ve fonksiyonel bozukluklar görülmeye başlar (Simmons 2006). STZ'nin deney hayvanlarına enjeksiyonundan sonra hayvanlarda kalıcı bir hiperglisemi görülür (Kim vd 2001).

STZ, pankreas β hücrelerine zarar vererek kan insülin ve glikoz konsantrasyonunu artırır. STZ'nin deney hayvanlarının metabolizmasındaki etkisi üç aşamalıdır. İlk fazda, STZ enjeksiyonunu takip eden 2 saat içinde kan glikoz düzeyi yükselir. Bu geçici bir hiperglisemi olayıdır ve karaciğerde depo halindeki glikojenin yıkımına bağlı olarak ortaya çıkar. Bu süreçte plazma insülin düzeyleri fizyolojik düzeyden daha düşüktür. İkinci faz, STZ enjeksiyonundan yaklaşık 6 saat sonra başlar ve ağır bir hipoglisemik süreç görülür. STZ'nin hayvana enjeksiyonunu izleyen 24 saat içinde bazı hayvanlarda ani ölümler görülebilmektedir. Bu hayvanların ölümlerinden ikinci fazda ortaya çıkan bu hipoglisemik sürecin sorumlu olduğu düşünülmektedir. İkinci fazda STZ enjekte edilen bu hayvanların ölmemesi için şekerli sıvı verilmesi tavsiye edilmektedir. Üçüncü faz ise hiperglisemi dönemidir. Bu fazda plazma insülin seviyeleri büyük oranda düşmekte ve düşük düzeyde devam etmektedir (Türk 2009, Atis 2010).

2.5. Bcl-2 (Beclin-2)

Apoptozun düzenleyicisi olarak bilinen Bcl-2 ailesi antiapoptik üyeleri mitokondrinin membranının dışında yer alır. Kikuchi ve arkadaşları (2002), sıçanlarda yaptıkları diyabet çalışmasında diyabetin erken evresinde böbreğin proksimal tübüllerinde Bcl-2 ekspresyonunun azaldığını göstermişlerdir. Bu çalışmada diyabetin erken döneminde yüksek glikoz seviyesinin proksimal tübüllerde apoptotik değişikliklere neden olurken glomerül ve distal tübüllerde apoptotik herhangi bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir (Kikuchi vd 2002).

Sengül ve arkadaşlarının (2019) sıçanlarda yaptıkları 7 günlük çalışmalarında sisplatinin böbrek dokusunda oluşturduğu hasara karşı probiyotiklerin etkilerini incelemişler ve çalışmada Bcl-2 immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada böbrek dokusunda sisplatin ile azalan Bcl-2 ekspresyonunun probiyotik takviyesi ile arttığını tespit etmişlerdir (Sengül vd 2019).

Li ve arkadaşları (2022) farelerde STZ ile diyabet oluşturmuş ve diyabetik böbrekler Bcl-2'nin ekspresyonuna bakılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada 12 hafta

boyunca diyabet izlenmiştir. Diyabetik böbreklerde kontrol grubuna kıyasla Bcl-2 ekspresyonunun azaldığı görülmüştür. Çalışmada diyabetli böbreklerde podosit apoptozunun arttığı ve Bcl-2'nin anti-apoptotik bir belirteç olduğu kanıtlanmıştır (Li vd 2022).

2.6. Alfa-SMA (Alpha-smooth muscle actin)

Garcia-Arroyo ve arkadaşları (2018) sıçanlarda oksonoik asit ile indüklenmiş hiperürisemide oluşan böbrek hasarına karşı 5 hafta probiyotik takviyesi verdikleri çalışmalarında alfa-SMA'yı immünohistokimyasal olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmada böbrek dokusunda arteriyol duvar alanlarının alfa-SMA ile pozitif boyandığını görmüşler ve probiyotik takviyesi ile alfa-SMA'nın böbreğin arteriyol duvarlarında ekspresyonunun azaldığı sonucuna ulaşmışlardır (Garcia-Arroyo vd 2018).

Manaer ve arkadaşlarının (2021) yüksek yağlı, şekerli diyet ve STZ indüklemesi ile oluşturdukları 6 haftalık diyabetik sıçanlarda böbrek dokuları alfa-SMA ile immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada diyabetik sıçan böbreklerine ek olarak diyabetik nefropatili insan katılımcıların da böbrek dokuları biyopsi alınarak çalışmaya dahil edilmiştir. Yapılan değerlendirmelerde diyabetik nefropatinin evreleri 2, 3 ve 4 olarak belirlenmiştir. İmmünohistokimyasal değerlendirme için alfa-SMA'nın ekspresyon seviyelerine bakılmış, diyabetik nefropatinin ilerlemesi ile alfa-SMA ekspresyonunun böbrek dokularında arttığı gözlenmiştir (Manaer vd 2021).

2.7. Hipotezler

Diyabet, dünyada mortalite ve morbiditenin önde gelen nedenlerinden biri olup dokularda nefropati, nöropati gibi ciddi hasarlar bırakabilmektedir. Beslenme alışkanlıkları hastalıklardan korunmak için kullanılan multifaktöriyel bir yöntem olarak görülebilir. Probiyotikler yeterli miktarda alındığında canlılar için olan faydaları sebebi ile diyabet gibi birçok kronik hastalığın tedavisinde veya hastalıktan korunmak için etkili bir yöntem olabileceğini öne süren çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Literatürde diyabetin böbrek dokusunda bıraktığı hasarı onarabilmek veya önleyebilmek için probiyotik ile yapılan çalışmalarda probiyotik takviyesinde birden fazla suş kullanımı, takviye süresi gibi birçok faktörün önemli olduğu vurgulanmaktadır. Probiyotiklerin diyabette oluşan böbrek dokusunun hasarına karşı

etkilerini incelemek için yapılmış birçok histolojik değerlendirme bulunmaktadır. Bu bilgiler ışığında mevcut çalışmamızda literatüre katkı sağlamak için aşağıdaki hipotezler geliştirilmiştir;

H1. Probiyotik vermenin sıçanlarda diyabetin meydana getirdiği hasara karşı herhangi bir iyileştirme ve koruyucu etkisi yoktur.

H2. Diyabet oluşturma öncesi ve diyabet sonrası da verilmeye devam eden probiyotiğin sıçanlarda histolojik ve biyokimyasal parametreler üzerinde olumlu etkileri vardır.

H3. Diyabet oluşturulduktan sonra kullanılan probiyotiğin diyabetin meydana getirdiği hasara karşı tedavi edici bir etkisi görülür.

H4. Diyabet oluşturulmadan önce kullanılan probiyotiğin diyabetin meydana getireceği hasara karşı koruyucu etkisi görülür.

H5. Probiyotik uygulamasının sağlıklı sıçanların histolojik ve biyokimyasal parametreleri üzerine olumsuz yönde etkileri vardır.

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

Mevcut çalışmamız için Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan 24.08.2021 tarihli 2021/07 sayılı toplantısında etik onay alınmıştır (PAUHDEK-2021/37). Çalışma kapsamında hayvanların bakımı, tartımı, enjeksiyon ve gavaj uygulanması ve örnek alma işlemleri Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma biriminde (DEHAB) gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal değerlendirmeler Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarı ve özel bir laboratuvarda; doku takipleri, histokimyasal ve immünohistokimyasal analizler Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılmıştır. Araştırmanın tüm aşamaları Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (PAÜHADYEK) yönetmeliğine uygun olarak yapılmıştır. Çalışmamız Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje no: 2021SABE018) tarafından desteklenmiştir.

3.1.Deney Hayvanlarının Seçimi ve Gruplandırılması

Literatürde yapılan araştırmalar temel alınarak ve bilimsel verinin güvenilirliği için deneylerde 10 haftalık, yetişkin, erkek, 250-300 gr ağırlığında olan 34 adet Wistar cinsi sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar Pamukkale Üniversitesi DEHAB'dan sağlanmış ve çalışma boyunca standart şartlar altında havalandırılmalı, sabit ısı odalarda, %50 \pm 5 nem ortamında, 12 saatlik aydınlık–karanlık siklusu bulunan laboratuvar koşullarında barındırılarak, özel hazırlanmış kafeslerde tutulmuş, veteriner hekim kontrolü altında bakılmıştır. Sıçanların beslenmesinde 8 mm'lik standart sıçan pellet yemi kullanılmıştır. İçme suyu olarak musluk suyu verilmiştir. Hayvanların istedikleri kadar yem ve su tüketmelerine izin verilmiştir (Şekil 3.1). Çalışmamızda kontrol grubu (grup K, n=5), probiyotik grubu (grup P, n=5), diyabet grubu (grup Dm, n=8),

probiyotik + diyabet grubu (grup PDm, n=8) ve diyabet + probiyotik grubu (grup DmP, n=8) olmak üzere rastgele seçilmiş sıçanların yer aldığı 5 grup oluşturulmuştur. Deney süresince grup K'ye 8 hafta boyunca haftada 5 gün boyunca oral yoldan gavaj ile 200 µl PBS (fosfat tamponlu tuz çözeltisi) verilmiştir. Yapılan literatür taramaları sonucunda grup P'ye 8 hafta boyunca haftada 5 gün oral yoldan gavaj ile hayvanların kilogramlarına göre 0.6 mg/kg VSL#3 probiyotik 400 µl PBS' de çözülürülerek hazırlanmış ve her gün taze olarak uygulanmıştır (Sang vd 2015). Grup Dm'ye çalışmanın 10. haftasında STZ uygulaması ile diyabet indüklenmiş ve enjeksiyondan 72 saat sonra sıçanların kuyruk venlerinden alınan kan örneği ticari bir glukometre ile ölçülmüş ve kan glikoz değeri 250 mg/dl ve üzerinde olanlar diyabet sayılmış, 250 mg/dl altında olanlar ise deneyden çıkarılmıştır (Alp vd 2012). Grup PDm'ye uygulamanın ilk 4 haftası boyunca probiyotik uygulaması (0.6 mg/kg VSL#3) yapılmış ve 10. haftada diyabet oluşturulmuş, kalan 4 hafta boyunca da probiyotik uygulamasına devam edilmiştir. Grup DmP'ye ise uygulamanın 10. haftasında diyabet oluşturulmuş ve bu haftadan itibaren 4 hafta boyunca probiyotik uygulaması (0.6 mg/kg VSL#3) yapılmıştır.



Şekil 3. 1: Deney hayvanlarının kafes düzeni.

3.2. Streptozosin İndüklenmesi

STZ Bostonchem markasına ait ve katalog numarası 18883-66-4, molekül formülü $C_8H_{15}N_3O_7$ olan ticari bir ürün olarak temin edilmiştir.

Tüm sıçanlar deney öncesinde tartılmış ve tüm uygulamalarda sıçanların ağırlıkları dikkate alınmıştır. Tip 2 diyabet modellemesi, yapılan literatür taramaları sonucunda STZ indüklemesi ile yapılmaya karar verilmiştir. Bir gece aç bırakılmış sıçanlara tek doz intraperitoneal olarak 50 mg/kg STZ 0.1 M soğuk sitrat tamponunda (pH= 4.5) çözdürülerek hazırlanmış ve uygulamanın karanlık ortamda yapılmasına dikkat edilmiştir. STZ'nin ikinci fazında görülen indüksiyon yapılmış hayvanların ani ölümlerinin önüne geçmek için sıçanların ilk 24 saatte tükettikleri sularına şeker ilavesi yapılmıştır. Enjeksiyondan 72 saat sonra sıçanların kuyruk veninden alınan kan örnekleri ticari bir glukometre ile ölçülmüş ve kan glikoz değerleri 250 mg/dl ve üzerinde olanlar diyabet kabul edilmiş, altında kalanlar ise gruptan çıkarılmıştır (Alp vd 2012).

Sitrat tamponu (pH= 4.5) için 0,935 gram sitrik asit monohidrat ve 1,632 gram trisodyum sitrat hassas terazi ile tartıldı ve 100 ml distile suda çözdürüldü, pH metre kullanılarak ölçümleri yapıldı. Hazırlanan sitrat tamponu (pH= 4.5), +4°C buzdolabı koşullarında saklandı.

3.3. Probiyotik Uygulaması

Çalışmamızda kullanılan VSL#3 probiyotik mikroorganizma içeren takviye edici gıda, Abdiibrahim İlaç Sanayi ve Tic.A.Ş.' e ait her kutusunda her biri 1,5 gram olan 30 saşeden oluşan toz formda bir üründür. Dondurularak hazırlanmış 8 farklı suş; *Streptococcus thermophilus* BT01, *Laktobasillus plantarum* BP06, *Laktobasillus acidophilus* BA05, *Laktobasillus helveticus* BD08, *Laktobasillus paracasei* BP07, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BL03, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BL04, *Bifidobacterium breve* BB02 içerir. VSL#3 ticari olarak her 2.5 gramında en az 450 milyar dondurularak kurutulmuş bakteri içeren saşelerden oluşan probiyotiktir.

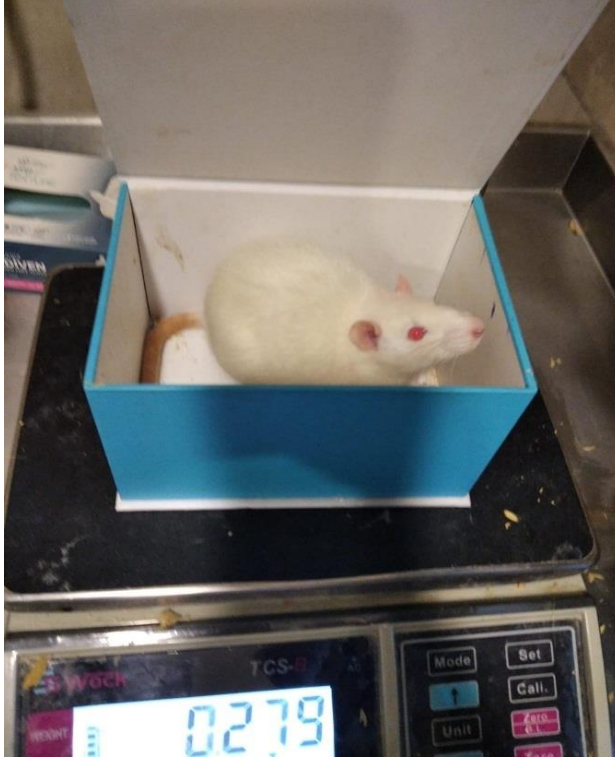
Her bir sıçana gavaj yolu ile VSL#3 (0.6 g/kg/gün) 400 µl PBS'de çözdürülerek haftada 5 gün oral yoldan verilmiştir. Uygulamalarda sıçanların ağırlıkları dikkate alınmış ve her hafta tartıda ölçümleri yapılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2: Sıçanlara oral gavaj yöntemi ile yapılan probiyotik uygulaması.

3.4. Ağırlık Ölçümleri

Deney süresince her hafta tüm sıçanların vücut ağırlıkları ölçülmüştür. Böylece probiyotik uygulamasının sıçanların vücut ağırlığını ve besin tüketimini etkileyip etkilemediğine bakılmıştır (Şekil 3.3). Aynı zamanda diyabet oluşturulmuş sıçanlarda diyabetin vücut ağırlığı üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.



Şekil 3. 3: Sıçanların ağırlık ölçümleri.

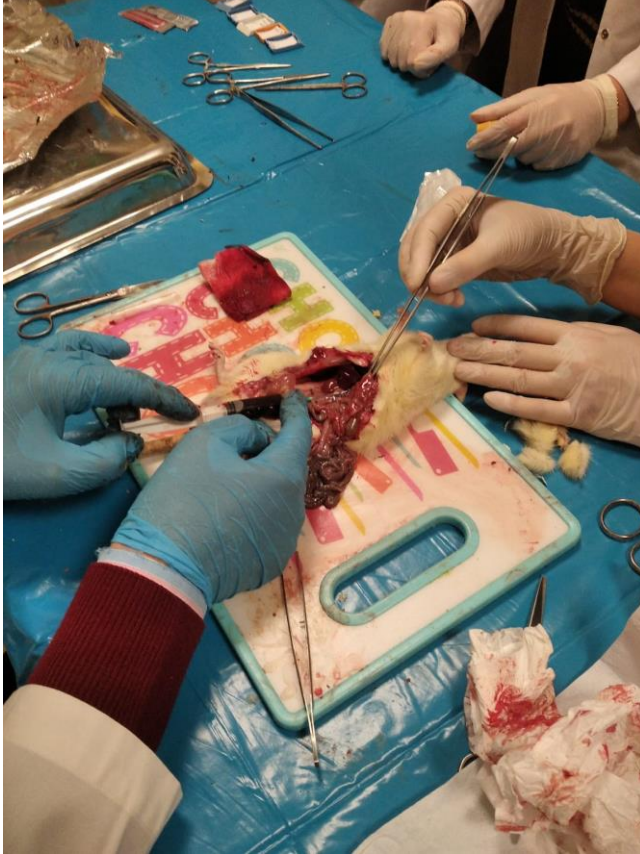
3.5. Kan Glikoz Değeri Ölçümü

Diyabet uygulamasından 72 saat sonra ve deneyin sonlanmasından 1 gün önce sıçanların lateral kuyruk veninden alınan kan örnekleri ticari bir glukometre kullanılarak ölçülmüştür.

3.6. Deneyin Sonlandırılması, Kan ve Böbrek Dokusu Örneklerinin Alınması

Gruplardaki sıçanların hepsi deney sürelerinin sonunda 1 gece (12 saat boyunca) aç bırakılmıştır. Biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi için kan örnekleri alınmış, her bir gruptaki sıçanlar rastgele seçilmiş ve 90 mg/kg ketamin+10 mg/kg ksilazin intraperitoneal verilerek anestezi ile hayvanlar uyutulmuş sonra batin ön duvarı insizyonla açılarak diyafragmadan kalbe ulaşılmış ve 5 ml'lik steril enjektörle hayvanların intrakardiyak kanları antikoagülanlı biyokimya tüplerine alınmıştır (Şekil 3.4). Sıçanların batin ön duvarı açılıp kan örnekleri alındıktan sonra böbrek dokuları da alınmış, hassas terazi kullanılarak sağ ve sol böbrekler tartılmıştır. Alınan böbrek dokuları histokimyasal ve immünohistokimyasal çalışmalarımız için %10'luk fosfat tamponlu formalinde tespiti

gerçekleştirilmiştir. Her bir sıçandan 3 ml olacak şekilde aldığımız kan örneklerinden plazmayı ayırabilmek için kan örnekleri santrifüj (3000 rpm, 10 dk) edilmiş ve ayrılan serumlar 1.5 ml'lik ependorf tüplerine konulmuştur. Elde edilen serumlar kreatinin, üre, BUN, TAS ve TOS seviyelerinin ölçümü için -80 °C'de saklanmıştır. OSİ değerleri hesaplanmıştır.



Şekil 3. 4:Deneyin sonlandırılması ile kan ve doku örneklerinin alınması.

3.7. Biyokimyasal Analizlerin Yapılması

Kreatinin, üre, BUN, TAS ve TOS seviyeleri için sıçanlardan alınan kan örnekleri sarı kapaklı jelli biyokimya tüplerine aktarılmıştır ve elde edilen serumların özel bir laboratuvarda kreatinin, üre, BUN seviye ölçümleri yapılmıştır. TOS ölçümünün prensibi örneğin içindeki oksidanların ferröz iyon şelatör kompleksinin ferrik iyon dönüşümüne sağlanması ve bunun da asidik bir ortamda kromojen ile reaksiyona girerek absorbans artışına neden olmasına dayanmaktadır. Spektrofotometrik olarak izlenen absorbans artışı örnekteki oksidan molekülleri ile doğru orantılıdır. TOS elde edilen serumlardan ticari bir kit aracılığıyla (Rel Assay Diagnostic, KM20122O) çalışılmıştır. Örnekte bulunan

oksidanların (lipitler, proteinler vb.) miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti ELISA okuyucu ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv/L başına ifade edilmiştir. TOS ölçümünde izlenen adımlar aşağıda belirtilmektedir.

1. İlk iki kuyucuğa distile su, ikinci iki kuyucuğa standart (TOS Standart) ve diğer kuyucuklara duplike olacak şekilde çalışılacak örnekler konarak kitteki plaka düzenlenir. Distile su, TOS standart ve örnekler 30 μl olacak şekilde konur.
2. Daha sonra çalışılan her kuyucuğa 200 μL Reagent 1 konur.
3. Plaka güzelce ve kibarca çalkalanır.
4. 'Absorbans 1' değerini elde etmek için 530 nm dalga boyunda okunur.
5. Daha sonra çalışılan her kuyuya 10 μL Reagent 2 konur.
6. Plaka güzelce ve kibarca çalkalanır.
7. 'Absorbans 2' değerini elde etmek için 37 °C'de 5 dk beklettikten sonra 530 nm dalga boyunda okunur.

TAS ölçümünün prensibi örneğin içindeki tüm antioksidanların mavi- yeşil 2,2'-azino-bis ABTS (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikalini renksiz redükte ABTS haline getirmesi esasına dayanmaktadır. Örneğin absorbansındaki değişiklik, onun antioksidan seviyesi ile orantılıdır. TAS ölçümü ticari bir kit aracılığıyla (Rel Assay Diagnostic, KM20112A) yapılmış, ELISA okuyucu ile spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar $\mu\text{mol Trolox Equiv/L}$ başına ifade edilmiştir. TAS ölçümünde izlenen adımlar aşağıda belirtilmektedir (Yousef ve El-Demerdash 2006, Totani vd 2007, Martinez-Campos vd 2012, Ünsal ve Ünsal 2016).

1. İlk iki kuyucuğa distile su, ikinci iki kuyucuğa standart (TAS Standart) ve diğer kuyucuklara duplike olacak şekilde çalışılacak örnekler konarak kitteki plaka düzenlenir. Distile su, TAS standart ve örnekler 10 μl olacak şekilde konur.
2. Daha sonra çalışılan her kuyucuğa 165 μL Reagent 1 konur.
3. Plaka güzelce ve kibarca çalkalanır.
4. 'Absorbans 1' değerini elde etmek için 660 nm dalga boyunda okunur.
5. Daha sonra çalışılan her kuyuya 25 μL Reagent 2 konur.
6. Plaka güzelce ve kibarca çalkalanır.
7. 'Absorbans 2' değerini elde etmek için 37 °C'de 5 dk beklettikten sonra 660 nm dalga boyunda okunur.

OSİ, oksidatif stres seviyesinin bir diğer göstergesi olarak elde edilen değerdir. Bu indeks TAS ve TOS değerleri kullanılarak aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır: $OSİ = \text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv/L}) / \text{TAS } (\mu\text{mol Trolox Eqv/L}) \times 100$

3.8. Doku Takibi

3.8.1. Fiksasyon (Tespit İşlemi)

Sıçanlardan alınan taze böbrek dokuları hızlıca hassas terazilerde tartılmış hiç bekletilmeden %10'luk formaldehitin içine alınmıştır. Dokunun yapısal, moleküler olarak korunması için küçük parçalara böldüğümüz böbrek dokuları formaldehitte 48 saat bekletilmiştir. Dokunun bölünmesi aşamasında kesit alanı çalışmaya uygun olması gözetilerek belirlenmiş, ortadan ikiye bölünmüştür. Sonrasında alınan böbrek dokuları etiketleme yapılarak doku kasetlerine konmuş ve kasetlerin kapaklarının açık kalmamasına dikkat edilmiştir. Dehidratasyon işleminden önce kasetler 30 dk akan musluk suyunda dikkatlice yıkanmıştır.

3.8.2. Dehidratasyon

Böbrek dokuları formaldehitte 48 saat bekleyip sertleştikten sonra aşağıda belirtildiği sırada artan alkol serilerinden geçirilmiş ve dokulardan su ve lipid içeren doku sıvılarının uzaklaştırılması sağlanmıştır. Dehidratasyon işlemi, dokulardaki suyun uzaklaştırılmasını ve bu sayede daha sonraki işlemlerde parafinin dokuya nüfuz etmesini sağlayan bir işlemdir.

- a. %50'lik etil alkolde 1 saat
- b. %70'lik etil alkolde 1 saat
- c. %80'lik etil alkolde 1 saat
- d. %90'lık etil alkolde 1 saat
- e. %100'lük etil alkolde 1 saat
- f. %100'lük etil alkolde 1 saat bekletme.

3.8.3. Şeffaflaştırma ve Parafinizasyon

İkiye bölünmüş böbrek dokularından su uzaklaştırma işlemi yapıldıktan sonra dokular hem alkol hem de parafinle karışabilen ksilen serisinden geçirilmiştir. Böylece böbrek dokuları şeffaflaştırma işlemi yapılarak alkolden arındırılmıştır.

- a. Ksilen 1'de 1 saat
- b. Ksilen 2'de 1 saat bekletme.

Dokular alkolden arındırıldıktan sonra sertleştirip kesit almak amaçlı parafin serisinden geçirilmiştir.

- a. 57-60°C sıcaklıkta etüvde Parafin 1'de 1 saat
- b. 57-60°C sıcaklıkta etüvde Parafin 2'de 1 gece bekletilmiştir.

3.8.4. Bloklama

Parafin 2'de 1 gece bekleyen böbrek dokuları demir 'L' bloklar kullanılarak temiz eriyik parafinin içerisine kesit almak istenen yüz tabana gelecek biçimde yerleştirilerek gömülmüştür. Gömme işlemi dokuların etiketlerinin de parafinlenip blok içerisine yerleştirilmesi ile devam etmiştir. Demir 'L' bloklar içerisindeki parafin doku blokları soğutulmuş olarak bloklardan ayrılmıştır. Mikrotomda kesit alma işlemi öncesinde ise parafin doku blokları 30 dk buzlukta bekletilmiştir.

3.8.5. Kesit alma ve lama aktarma

Histokimyasal ve immünohistokimyasal boyama işlemleri için mikrotomdan 4-5 µm kalınlığında böbrek doku kesitleri alınmıştır. Bu parafin doku kesitleri 45-50 °C olan sıcak su havuzuna alınmış immünohistokimyasal ve histokimyasal boyama için pozitif yüklü lama aktarımı yapılmıştır.

3.8.6. Deparafinizasyon

İmmünohistokimyasal ve histokimyasal boyama uygulamalarından önce lama aktarılan böbrek doku kesitleri 57-60 °C'deki etüvde 2-3 saat bekletilmiştir. Bu şekilde fazla parafinden arındırılan doku içerisindeki parafini tamamı ile uzaklaştırmak için ise preparatlar ksilen serilerinden geçirilmiştir.

- a. Giriş Ksilen 1'de yarım saat,
- b. Giriş Ksilen 2'de yarım saat bekletilmiştir.

Dokulardan parafin uzaklaştırıldıktan sonra ksilenden arındırmak için preparatlar azalan alkol serilerinden aşağıdaki sıra ile geçirilmiştir.

- a. %100'lük etil alkolde 4 dk
- b. %90'lık etil alkolde 4 dk
- c. %80'lik etil alkolde 4 dk
- d. %70'lik etil alkolde 4 dk
- e. %50'lik etil alkolde 4 dk bekletilmiştir.

Azalan alkol serilerinden geçirilen preparatlar hidrasyon için 10 dk distile su içerisinde bekletilmiş böylece dokunun kaybettiği suyu tekrar kazanması sağlanmıştır. Preparatlar hidrasyon işleminden sonra boyanmaya hazır duruma gelmiş ve her boyama için aynı işlemlerden geçmiştir.

3.9. Histokimyasal Boyamalar

3.9.1. Hematoksilen Eozin (H&E) boyama

H&E boyama prosedürü ve kapatma işlemleri aşağıda sırası ile açıklanmıştır.

- a. Hidrasyonu takiben preparatlar hematoksilen boyasında (Merk Harris Hematoksilen) 4-8 dk bekletilmiştir.
- b. Preparatlar hematoksilen boyasından arınması için akan suya batırılmış ve çıkarılmıştır. Kesitlerin boyayı alıp almadığı ışık mikroskopunda hızlıca kontrol edilmiştir.
- c. Preparatlar eozin boyasına (Mark Eozin Y solüsyonu) alınmış ve 4-6 dk burada bekletilmiştir.
- d. Preparatlar eozin boyasından arınması için akan suya batırılmış ve çıkarılmıştır. Kesitlerin eozin boyasını alıp almadığı ışık mikroskopunda hızlıca kontrol edilmiştir.
- e. Kapatma işlemi için preparatlar artan alkol serisinden %50, %70, %80, %90'lık çıkış alkollerinde 3'er dk ve %100'lük çıkış alkolünde 10 dk olacak şekilde geçirilmiştir.
- f. Çıkış alkollerinden geçirilen preparatlar çıkış Ksilen 1 ve çıkış Ksilen 2'de 10'ar dk bekletilmiştir.
- g. Ksilen 2'den tek tek alınan preparatlar bekletilmeden üzerlerine entellan damlatılarak lameller ile kapatılmıştır. Lam ve lamel arasında hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmiştir.

Boyamalardan sonra kesitler Olympus BX51 ve Olympus DP72 marka/model cihazlarla incelenmiş ve fotoğraflanmıştır. Grupların H&E boyamalarında böbreklerin patolojik bulguları değerlendirilmiş, glomerül yapılarındaki atrofiler, böbreğin distal ve proksimal tübüllerinde görülen vakuolleşmeler, küçük boyutlarda gördüğümüz infiltrasyon alanlarının olup olmadığı değerlendirilmiştir (Khalil vd 2021).

3.9.2. Masson Trikrom (MTK) Boyama

Deparafinize edilmiş preparatlar Masson Trikrom boyası (Tek Path) ile aşağıdaki sıra gözetilerek boyanmıştır.

- a. PAP pen ile sınırlandırdığımız kesitlerin her birinin üzerine Weigert Iron Hemotoksilen A solüsyonu ve B solüsyonu 6'şar damla damlatılarak 10 dk bekletilmiştir.
- b. Lamlara dökme ve yıkama işlemleri yapılmadan direkt olarak Pikrik asit alkolden 10 damla damlatılmış ve 4 dk bekletilmiştir.
- c. Lamlar distile suda 3-4 saniye yıkanmış ve Ponceau asit-fuksin solüsyonundan 10 damla damlatılmış, 4 dk bekletilmiştir.
- d. Lamlara distile suda yıkama işlemi yapılmış ve Fosfomolibdik asit solüsyonundan 10 damla damlatılmış ve 10 dk bekletilmiştir.
- e. Lamlara yıkama işlemi yapılmadan direkt olarak asetik Anilin mavisinden 10 damla damlatılmış ve 5 dk bekletilmiştir.

Artan alkol serilerinden ve çıkış ksilenlerinden geçirilen kesitlere kapatma işlemi yapılmıştır.

Boyamanın sonlanması ile kesitler fotoğraflanmış ve Masson Trikrom boyaması için böbrek dokusunda bağ dokunun ve kollajenlerin mavi renkte, çekirdeklerin siyah renkte, sitoplazmanın ise kırmızı renkte olup olmadığının kontrolleri yapılmıştır. Grupların renal histopatolojik bulgularındaki kollajen birikimleri değerlendirilmiştir (Garcia vd 2018).

3.9.3. PAS+ Boyama

Deparafinize ve boyanmaya hazır preparatlar PAS+ boyası (Histomed Medikal Lab Sist) ile aşağıdaki aşamalar gözetilerek boyandı.

- a. PAP pen ile sınırlandırdığımız kesitlerin üzerine tamamını kapatacak şekilde Asetik asit solüsyonu damlatılmış ve 3 dk bekletilmiştir.
- b. Preparatların üzerindeki solüsyon dökülmüş ve yıkamadan Alcian Blue damlatılmış ve 30 dk bekletilmiştir.
- c. Preparatlar distile sudan geçirilmiş ve Periyodik asit solüsyonu damlatılmış, 5 dk bekletilmiştir.
- d. Preparatlar distile sudan geçirilmiş ve Shiff'in kimyasalından damlatılmış, 15-20 dk bekletilmiştir.
- e. Preparatlar sıcak suda 5 dk bekletilmiş daha sonrasında ise distile sudan geçirilmiştir.

- f. Preparatlara Mayer'in Hematoksilen solüsyonundan damlatılmış ve 2 dk bekletilmiştir.
- g. Preparatlar distile sudan geçirilmiş ve Bluing solüsyonundan damlatılmış, 1 dk boyunca bekletilmiştir.
- h. Boyamanın son aşamasında ise preparatlar distile sudan geçirilmiştir.

Artan alkol serilerinden ve çıkış ksilenlerinden geçirilen preparatlar entellan ile hava boşluğu olmamasına dikkat edilerek kapatılmış, kurutulmuş ve fotoğraflanmıştır.

Yapılan PAS+ boyaması için böbrek kesitlerinde çekirdeklerin koyu mavi renkte, kollajen yapının pembe renkte, glikojenlerin koyu morumsu kırmızı renkte oldukları gözetilerek renal histopatolojik değerlendirmeler buna göre yapıldı (Demir vd 2001).

3.9.4. Böbreklerin Histopatolojik Değerlendirilmesi

Gruplara ait kesitler önyargı oluşturmamak için kodlandı ve iki araştırmacı tarafından kör olarak değerlendirildi. Böbrek dokularının semikantitatif değerlendirmesi, hasarın şiddeti önceden yayınlanmış kriterlere göre yapılmıştır (Al-Shabanah vd 2010). (i) glomerular hasar (böbrek parankimi tutulumunun %'si): yok=0, glomerüllerin %25'inden azının spesifik olmayan hasar özellikleri sergilemesi = +1, glomerüllerin %25-50'sinin spesifik olmayan hasar özellikleri sergilemesi = +2, glomerüllerin %50-75'inin spesifik olmayan hasar özellikleri sergilemesi = +3 ve glomerüllerin %75'inden fazlasının spesifik olmayan hasar sergilemesi=+4; (ii) akut tübüler nekroz (böbrek parankim tutulumunun %'si): yok=0, tüm böbrek parankim tübüllerinin %25'inden daha azı=+1, tüm böbrek parankim tübüllerinin %25-50'si = +2, tüm renal parankim tübüllerinin % 50-75'i= +3 ve tüm böbrek parankim tübüllerinin %75'inden fazlası= +4; (iii) tubulointerstisyel enflamatuvar infiltratlar: yok = 0, interstisyum içinde sınırlı lökositler = +1 ve interstisyum ve tübüler epitel hücrelerini infiltre eden lökositler = +2. Kullanılan puanlama sistemi aşağıdaki ölçeğe göre yapılmıştır: (A) nefrotoksisite yok: 0-1, (B) hafif nefrotoksisite: 2-4, (C) orta nefrotoksisite: 5-7, (D) şiddetli nefrotoksisite: 8-10 (Al- Shabanah vd 2010).

3.10. İmmünohistokimyasal Boyamalar

Dokular boyanmaya hazır hale getirildikten sonra immünohistokimyasal boyamalar için immünoenzim protokolü kullanılmış ve aşağıdaki sıra ile işlem gerçekleştirilmiştir. Bütün işlemler esnasında preparatların kurutulmamasına çok dikkat edilmiştir. Çalışmamızda immünohistokimyasal boyama için kullandığımız primer

antikorlarımız olan Bcl-2 (Elabscience E-AB-64067) ve alfa-SMA (Elabscience E-AB-34268) datasheette belirtilen oranlarda dilüe edilmiştir.

1. Distile sudan çıkarılan preparatlar sodyum sitrat tamponu kullanılarak antijen geri kazanımı (antijen retrieval) aşaması gerçekleştirilmiştir. Sitrat tamponu için 2.94 gr trisodyum sitrat ve 1 lt distile su beherde karıştırılmış, sonrasında hidroklorik asit (HCl) eklenmiş pH 6'ya getirilmiştir. Solüsyona 0.5 ml Tween 20 eklenmiş, solüsyonun homojen olduğundan emin olana kadar karıştırılmıştır. Beher içerisinde zembile yerleştirilmiş preparatlar ev tipi mikrodalgada 10 dk kaynatılmış, oda sıcaklığında ise soğutmaya bırakılmıştır.
2. PAP pen ile sınırlandırdığımız kesitlere 3 kez 5'er dk 1x fosfat tamponu (PBS) ile yıkama işlemi yapılmıştır. Bu aşamada 10:1 oranında %30'luk H₂O₂ ve 10:9 oranında absolu metanol eklenerek hidrojen peroksit solüsyonu kullanıma hazır hale getirilmiştir.
3. Boyama esnasında endojen peroksidaz aktivitesinin sıfırlanması ve kesitlerde DAB (3,3' diaminobenzidine)' ın tüm zemini boyamasını önlemek amacı ile hazırladığımız hidrojen peroksit solüsyonu tüm kesitlerin üzerini kaplayacak şekilde damlatılmış ve 20 dk bekletilmiştir.
4. PBS ile 3 kez 5'er dk olacak şekilde preparatlara yıkama işlemi yapılmıştır.
5. Sekonder kitteki (Thermo Scientific) A solüsyonu immün boyamanın blok solüsyonu olup bu aşamada dokuların üzerini kaplayacak şekilde damlatılmış ve 10 dk beklemeye bırakılmıştır.
6. Preparatlardaki A solüsyonu dökülmüş ve önceden dilüe ettiğimiz primer antikolar kesitlerin tüm yüzeyini kaplayacak şekilde damlatılmış 1 gece (12 saat) boyunca buzdolabı sıcaklığında (+4°C) bekletilmiştir.
7. Ertesi gün tüm preparatlara PBS ile 3 kez 5'er dk yıkama işlemi yapılmıştır.
8. Sekonder kitin içindeki B solüsyonu immün boyamanın sekonder antikoru olup bu aşamada kesitlerin tüm yüzeyini kaplayacak şekilde damlatılmış ve 1 saat boyunca inkübe edilmiştir.
9. Sekonder antikordan arındırılan preparatlara PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkama işlemi yapılmıştır.
10. Sekonder kitin içindeki C solüsyonu immün boyamada sekonder antikoların inkübasyonunu sağlayan enzimi içermektedir ve bu aşamada kesitlerin üzerine damlatılmış 30 dk boyunca bekletilmiştir.
11. Solüsyondan arındırılan preparatlara PBS ile 3 kez 5'er dk yıkama işlemi yapılmıştır.
12. Bu aşamada enzimatik boyama işlemine geçilmiştir ve bu işlem için kullandığımız DAB kromojen kiti (Thermo Scientific) ışığa duyarlı olup

hazırlanması ve uygulanması aşamasında ortamın karanlık olmasına dikkat edilmiş, solüsyonun bulunduğu tüp ise ışık almayacak şekilde alüminyum folyo ile kaplanmıştır. DAB kromojen kitinde bulunan DAB solüsyonundan mikropipet ile 750 µl alınmış falkon tüpüne boşaltılıp üzerine 1 damla DAB boya damlatılıp solüsyon hazırlanmıştır. Hazırlanan DAB kromojen solüsyonu kesitlerin üzeri kaplanacak şekilde damlatılmış karanlık ortamda 5-10 dk bekletilmiştir.

13. Solüsyondan arındırılan preparatlara PBS ile 3 kez 5'er dk yıkama işlemi yapılmıştır.

14. Bu aşamada zemin boyaması için hematoksilen boyası (Merk Harris' hematoksilen) kullanılmış ve preparatlar 3-5 dk boyada bekletilmiştir. Daha sonra ise boya distile suda yıkanmıştır.

Artan çıkış alkol serilerinde (%50, %70, %80, %90 ve %100'lük etil alkoller) 10'ar dk ve çıkış ksilen 1 ile çıkış ksilen 2'de 15'er dk bekletilen preparatlara entellan ile kapama işlemi yapılmıştır. Kapama işlemi sırasında lam ile lamel arasında hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmiştir.

Boyamalardan sonra kesitler Olympus BX51 ve Olympus DP72 marka/model cihazlarla incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

3.11. Bowman kapsülü bazal membran kalınlık ölçümü

Bowman kapsülü bazal membran kalınlıklarının ölçümü PAS+ boyama yaptığımız preparatlarda gerçekleştirilmiştir. Preparatlarda X40 büyütmede 5 farklı alanda görülen renal korpusküllerin Bowman kapsülü pariyetal yaprağının bazal membranında ölçümler yapılmış ve elde edilen değerlerin ortalaması alınmıştır. Ölçümlerimiz Olympus BX51 marka/model mikroskop ve Visiopharm VIS 2017.1 programı kullanılarak yapılmıştır.

3.12. İmmünreaktivite Değerlendirmesi

Preparatlarda X40 büyütmede 10 farklı alanda Image-J programı ile immünreaktivite yoğunluğu yüzdelik olarak hesaplanmıştır. Her grup için ortalamalar hesaplanarak değerlendirmeler yapılmıştır.

3.13. İstatiksel Analiz

Veriler SPSS 25. 0 paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma, ortanca (minimum- maksimum değerler) olarak verilmiştir.

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi (post hoc: Tukey testi); parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Varyans Analizi (post hoc: Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi) kullanılmıştır. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Ağırlık ölçümleri

4.1.1. Vücut Ağırlıkları Ölçüm Sonuçları

Çalışmamızda sıçanların vücut ağırlıkları ilk 4 hafta boyunca haftada bir olmak üzere ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Çalışmanın 4. haftasında çalışmaya 5 haftalık bir ara verilmek zorunda kalınmıştır. Satın alınan STZ'nin sıçanlarda diyabet oluşturmaması nedeniyle firmadan tekrar talep edilmiştir. Tedarik edilmesi beklenen STZ'nin elimize ulaşması ile deneyimizin uygulamasına devam edilmiştir. Sıçanların bu süre içerisindeki barındırma koşullarında herhangi bir fark oluşturulmadan veteriner hekim gözetiminde kontrolleri sağlanmıştır. Grafikte (Şekil 4.1) görülen 10. haftadaki hızlı kilo artışının sebebi sıçanların büyümeye devam etmesi ve çalışmamıza 5 haftalık bir ara verilmesinden kaynaklanmaktadır. Grup K ve Grup P'ye baktığımızda 1. haftadan son haftaya kadar sıçanların ortalama ağırlıklarında artış fark edilmiştir. Grup P'nin ortalama vücut ağırlığının Grup K'ye göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha az olduğunu tespit ettik.

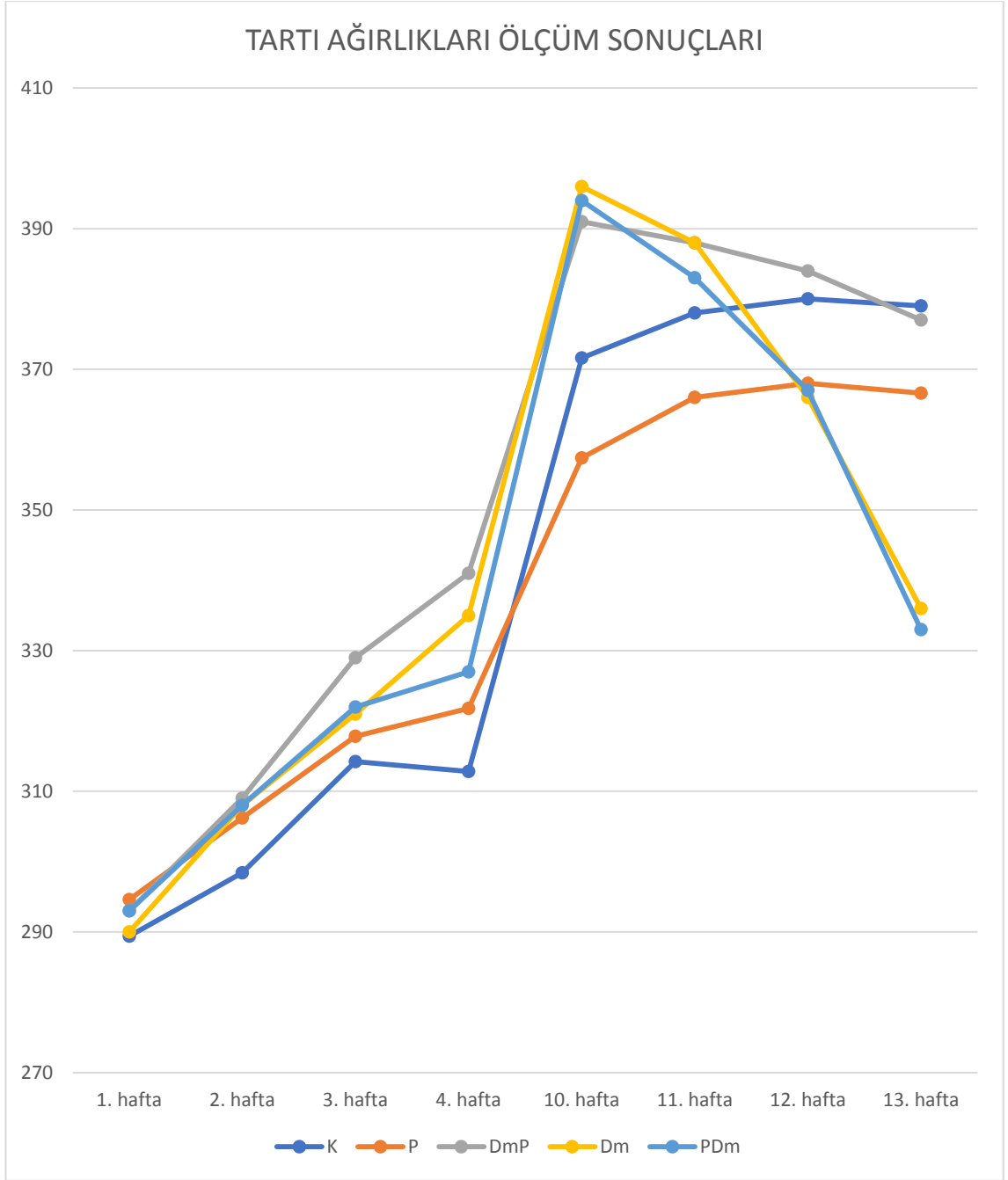
Çalışmanın ilk haftasında diyabet oluşturulup probiyotik verilmeye başlanan Grup DmP' nin 1. haftadan 10. haftaya kadar ortalama ağırlıklarında artış gözlenmiş ve 10. haftadan son haftaya kadar olan süreçte diyabet indüklenmesinden dolayı ağırlıklarının azalmaya başladığı izlenmiştir. Grup Dm'ye ait sıçanların ağırlıklarında 1. haftadan 10. haftaya kadar artış tespit edilmiş ve 10. haftadan sonra diyabet indüklemesi ile hızlı kilo kaybı görülmeye başlamıştır. Çalışmanın ilk 4 haftasında probiyotik takviyesi alan ve daha sonra diyabet oluşturulan Grup PDm'ye ait sıçanların ortalama ağırlıklarında ise ilk 10 haftada artış, diyabet oluşturulmasından sonraki haftalarda ise kilo kaybı gözlemlenmiştir (Tablo 4.1). Tüm gruplara ait sıçanların ortalama ağırlıkları haftalık olarak karşılaştırıldığında sadece 13. haftada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık

gözlenirken ($p < 0.05$) diğer haftalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p > 0.05$).

Diyabet oluşturduğumuz gruplarımız olan Dm, DmP ve PDm'de istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmasa da 4 haftalık diyabet sürecinde ağırlık kaybı olduğunu tespit ettik (Şekil 4.1). Diyabetli gruplarımız için yaptığımız değerlendirmelerde çalışma bitiminde grup DmP'ye ait vücut ağırlık ortalamasının grup Dm ve PDm ile karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek olduğu sonucuna ulaştık (Tablo 4.1).

Tablo 4. 1: Sıçanların haftalık vücut ağırlık ölçüm sonuçları (kg).

	1.hafta	2. hafta	3. hafta	4.hafta	10.hafta	11.hafta	12.hafta	13.hafta
Grup K	289.4 ±19.42	298.4 ±22.17	314.2 ±25.78	312.8 ± 34	371.6 ± 55.8	378 ± 56.67	380 ± 48.89	379 ± 46.45
Grup P	294.6 ± 25.54	306.2 ± 26.15	317.8 ± 27.79	321.8 ± 30.7	357.4 ± 43.65	366.2 ± 45.16	368 ± 47.14	366.6 ± 44.8
Grup Dm	290.38 ± 19.65	308.88 ± 21.86	321.88 ± 24.4	335.25 ± 21.91	396.75 ± 26.75	388.75 ± 31.22	366.75 ± 29.08	336.5 ± 31.13
Grup DmP	293.75 ± 24.36	309 ± 27.23	329 ± 30.47	341 ± 33.82	391.13 ± 47.32	388.5 ± 45.3	384.63 ± 48.71	377 ± 51.81
Grup PDm	293.5 ± 34.71	308.25 ± 36.99	322 ± 43.26	327.63 ± 40.81	394.5 ± 51.23	383 ± 50.94	367.75 ± 55.43	333.25 ± 51.83
p	0.996	0.965	0.94	0.597	0.513	0.911	0.919	0.188



Şekil 4. 1: Gruplara ait ortalama vücut ağırlığı değerleri (kg).

4.1.2. Böbrek Ağırlıkları Ölçüm Sonuçları

Mevcut çalışmamızda deneyin sonlandırılması ile böbreklerin ağırlıkları ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Tüm sıçanlara ait sağ ve sol böbreklerin ortalama ağırlıklarının birbirine yakın oldukları gözlenmiştir. Grupların ortalama böbrek ağırlıkları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Ancak yalnızca probiyotik verdiğimiz Grup P'ye ait ortalama böbrek ağırlığının istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diğer gruplardan daha fazla olduğu dikkat çekmektedir (Tablo 4.2).

Tablo 4. 2: Gruplara ait ortalama böbrek ağırlıkları (g).

	Grup K	Grup P	Grup Dm	Grup DmP	Grup PDm	p
Sağ Böbrek Ağırlığı	1.9 ± 0.38	2.4 ± 0.54	1.96 ± 0.63	1.61 ± 0.33	1.89 ± 0.2	0.063
Sol Böbrek Ağırlığı	1.78 ± 0.33	2.13 ± 0.45	1.67 ± 0.38	2.2 ± 0.5	1.88 ± 0.29	0.083

4.2. Kan Glikoz Değerleri Sonuçları

Çalışmamızda sıçanların kan şekeri ölçümleri diyabet indüklenmesinden 72 saat sonra ve sakrifikasyondan hemen önce ölçülerek kaydedilmiştir. Sıçanların kan şekeri glikoz değeri 250 mg/dl ve üzerinde olanlar diyabetli kabul edilmiş olup grup K ve grup P' nin değerleri beklenildiği gibi normal kan glikoz seviyesindedir. Çalışmamızın 10. haftasında diyabet oluşturduğumuz grup Dm ve grup DmP için kan glikoz değerleri 250 mg/dl' nin çok üzerinde olup bu gruplar diyabetli olarak kabul edilmiştir.

Grup Dm için yapılan STZ indüklenmesinden 72 saat sonra yapılan kan glikoz ölçümü ile sakrifikasyondan hemen önce yapılan ölçümlere bakıldığında ortalama kan glikoz değerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda probiyotik takviyesi alan grup DmP'nin ise ortalama kan glikoz değerinde artış olduğu, grup PDm' nin ise ortalama kan glikoz değerinde azalma olduğu görülmüştür. Grup PDm'ye ait diyabet indüklenmesinden 72 saat sonra yapılan kan şekeri ölçümünde ortalama kan glikoz değerinin Grup DmP'ye oranla daha düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2). Gruplar arasında diyabet indüklenmesinden 72 saat sonra yapılan ve sakrifikasyondan önce

yapılan ortalama kan glikoz ölçüm sonuçları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yaptığımızda STZ indüklemesinden 72 saat sonra yaptığımız kan glikoz ölçümlerinin ortalamasına bakıldığında grup K ve P ile DmP, Dm ve PDm grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Sakrifikasyondan hemen önce yaptığımız kan glikoz ölçümlerini gruplar arasında ikili olarak karşılaştırdığımızda grup K ve P ile gruplarımız DmP, Dm ve PDm arasında istatistiksel olarak anlamlı artış görülmüştür ($p<0.05$). Yaptığımız değerlendirme sonucunda probiyotik takviyesi alan diyabetli gruplarımızın ortalama kan glikoz seviyeleri diyabet grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olmasa da azalma olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.3).

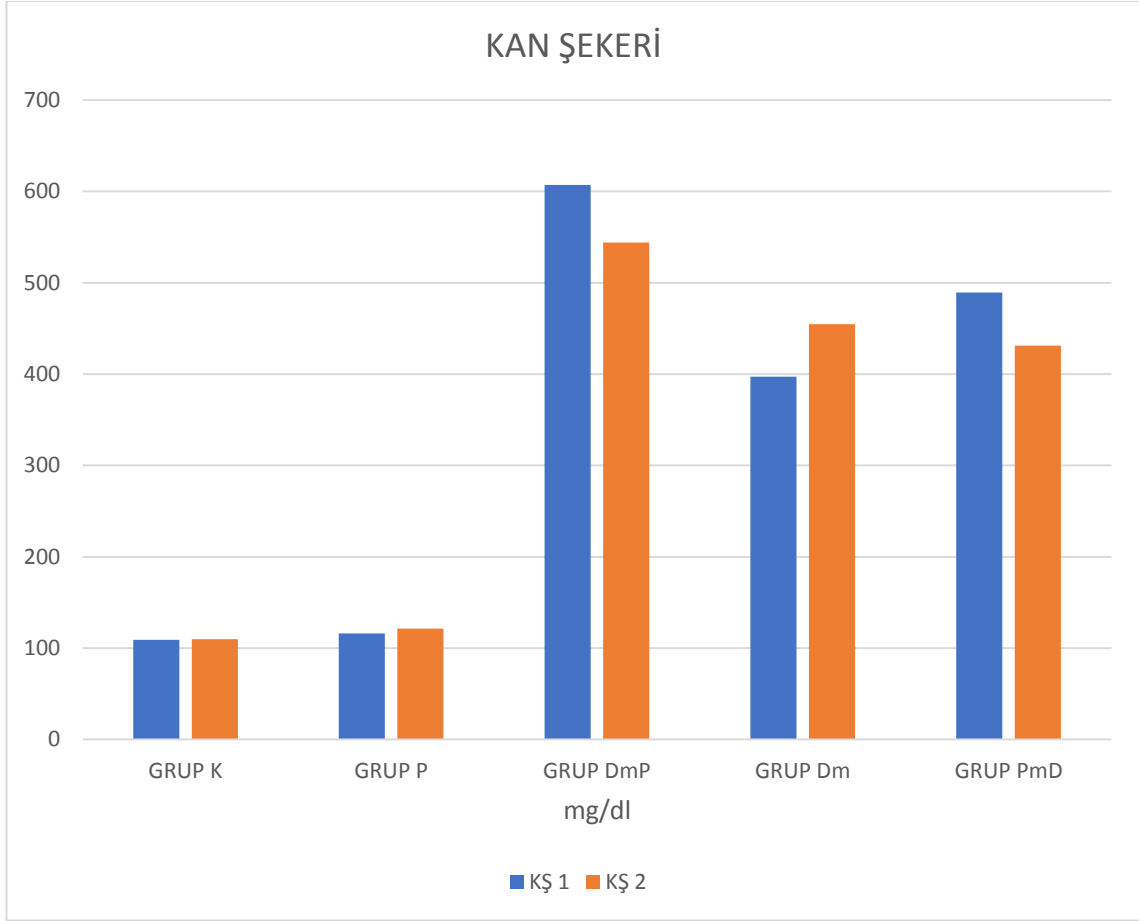
Yaptığımız değerlendirmelerde istatistiksel olarak anlamlılık olmasa da grup PDm için STZ indüklenmesinden 72 saat sonra yaptığımız kan glikoz ölçüm sonucu ile sakrifikasyondan hemen önce yaptığımız ölçüm sonucunu karşılaştırdığımızda kan glikoz seviyesinde azalmanın olduğunu tespit ettik. Grup DmP'de ise STZ indüklenmesinden 72 saat sonraki kan glikoz seviyesine göre sakrifikasyon öncesi kan glikoz seviyesinin artmış olduğunu gözledik (Tablo 4.3).

Tablo 4. 3: Gruplara ait kan glikoz değeri ölçüm sonuçları (mg/dl).

	Grup K	Grup P	Grup Dm	Grup DmP	Grup PDm	p
STZ indüklenmesinden 72 saat sonra	109.2 ± 4.55	116.2 ± 2.49	607.13 ± 94.16 ^k p, ^p p	397.13 ± 67.99 ^k p, ^p p	489.5 ± 140.13 ^k p, ^p p	0.0001*
Sakrifikasyondan önce	109.8 ± 5.97	121.2 ± 8.23	544.13 ± 126.87 ^k p, ^p p	454.75 ± 110.41 ^k p, ^p p,	431.13 ± 59.55 ^k p, ^p p	0.0001*

^kp = ($p<0.05$) Kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı (Grup K)

^pp = ($p<0.05$) Probiyotik grubu ile istatistiksel olarak anlamlı (Grup P)



Şekil 4. 2: Gruplara ait kan glikoz değeri ölçüm sonuçları (KŞ1= STZ indüklenmesinden 72 saat sonra yapılan kan glikoz ölçüm sonucunu, KŞ2=sakrifikasyondan hemen önce yapılan kan glikoz ölçüm sonucunu ifade eder).

4.3. Serum Analizi Sonuçları

Çalışmamızda sıçanlardan alınan kanların serum analizleri yapılmış ve değerlendirilmiştir. Gruplara ait ortalama serum kreatinin, üre ve BUN değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p < 0.05$). Grup K ve grup P'ye ait ortalama serum kreatinin, üre ve BUN konsantrasyonlarının birbirine yakın oldukları görülmüş olup bu ortalama değerler çalışma için beklenen seviyededir. Diyabetli gruplarımız olan grup Dm, grup DmP ve grup PmD'ye ait ortalama serum üre, kreatinin ve BUN konsantrasyonlarının kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.4).

Gruplar arasında yaptığımız ikili değerlendirmelerde üre konsantrasyonlarının ortalamasında grup K ile gruplarımız Dm ve PmD arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 4.4).

Üre konsantrasyonlarının gruplar arasında ikili değerlendirilmesinde grup P ile Dm arasında ve Dm ile DmP arasında da istatistiksel anlamlı farklılık görülmektedir ($p<0.05$) (Tablo 4.4). Grup Dm ile PDm arasında yaptığımız değerlendirmede ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da PDm'ye ait üre konsantrasyonları ortalamasının Dm'ye kıyasla daha düşük olduğunu tespit ettik (Şekil 4.3).

BUN konsantrasyonlarının ortalamalarını gruplar arasında değerlendirdiğimizde grup Dm'nin grup K ve P ile arasında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p<0.05$) (Tablo 4.4). Diyabetli gruplarımız Dm, DmP ve PDm'ye ait BUN konsantrasyonlarının ortalamalarını değerlendirdiğimizde istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da probiyotik takviyesi alan gruplarımız DmP ve PDm'ye ait BUN değerlerinin Dm'ye kıyasla daha düşük olduğu sonucuna ulaştık (Şekil 4.3).

Kreatinin konsantrasyonu bakımından grupların ortalamaları karşılaştırıldığında sadece grup P ve PDm arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4.4). Diyabetli gruplarımız olan Dm, DmP ve PDm ile grup K'nın kreatinin konsantrasyonlarını karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlılık olmasa da diyabetli grupların kreatinin değerlerinin daha yüksek olduğu sonucuna ulaştık (Şekil 4.4).

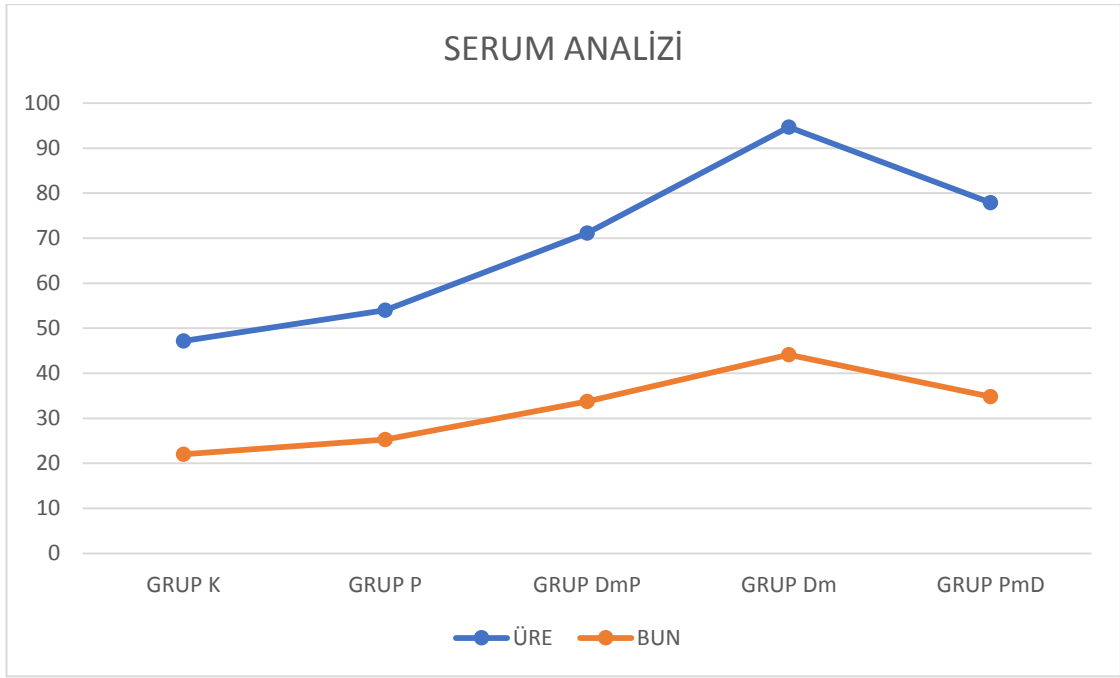
Tablo 4. 4: Gruplara ait ortalama serum kreatinin, üre ve BUN değerleri sonuçları (mg/dl).

	Grup K	Grup P	Grup Dm	Grup DmP	Grup PDm	p
Üre	47.2 ± 5.17	54 ± 16.81	94.63 ± 16.74 ^k p, ^p p	71.13 ± 1.73 ^d p	77.88 ± 5.99 ^k p	0.0001*
BUN	22.06 ± 2.38	25.26 ± 7.8	44.15 ± 7.93 ^k p, ^p p	33.74 ± 1.94	34.8 ± 2.6	0.0001*
Kreatinin	0.36 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.38 ± 0.05	0.39 ± 0.06	0.44 ± 0.07 ^p p	0.028*

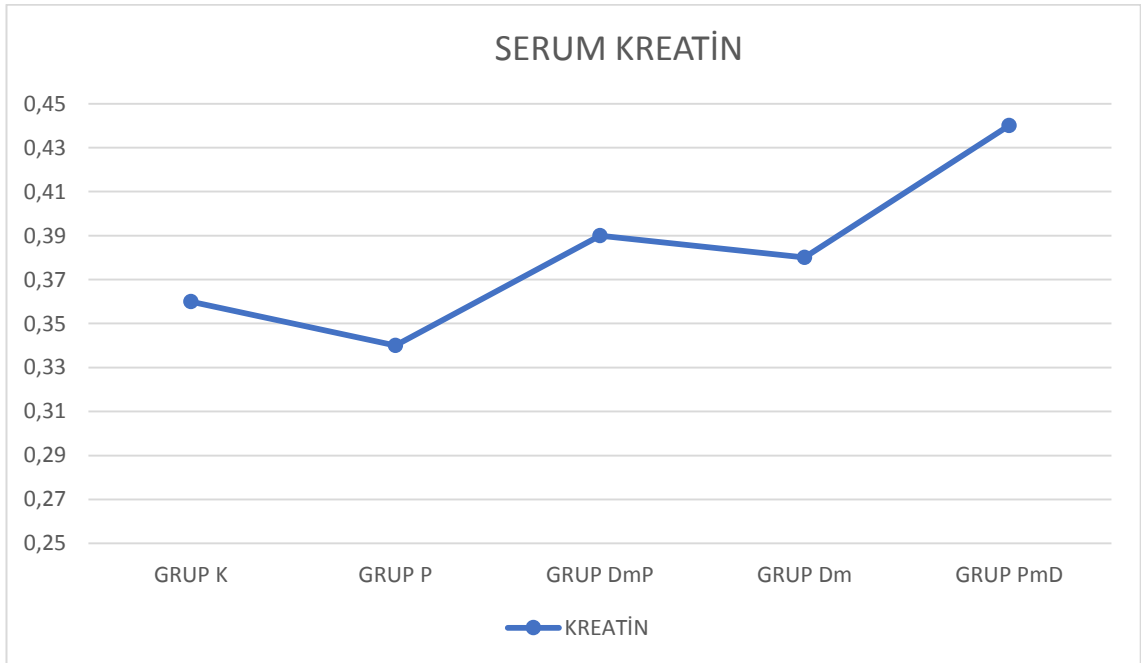
^kp = ($p<0.05$) Kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı (Grup K)

^pp = ($p<0.05$) Probiyotik grubu ile istatistiksel olarak anlamlı (Grup P)

^dp = ($p<0.05$) Diyabet grubu ile istatistiksel olarak anlamlı (Grup Dm)



Şekil 4. 3: Gruplara ait serum üre ve BUN değerleri analizlerinin sonuçları (mg/dl).



Şekil 4. 4: Gruplara ait serum kreatinin değerleri analizinin sonuçları (mg/dl).

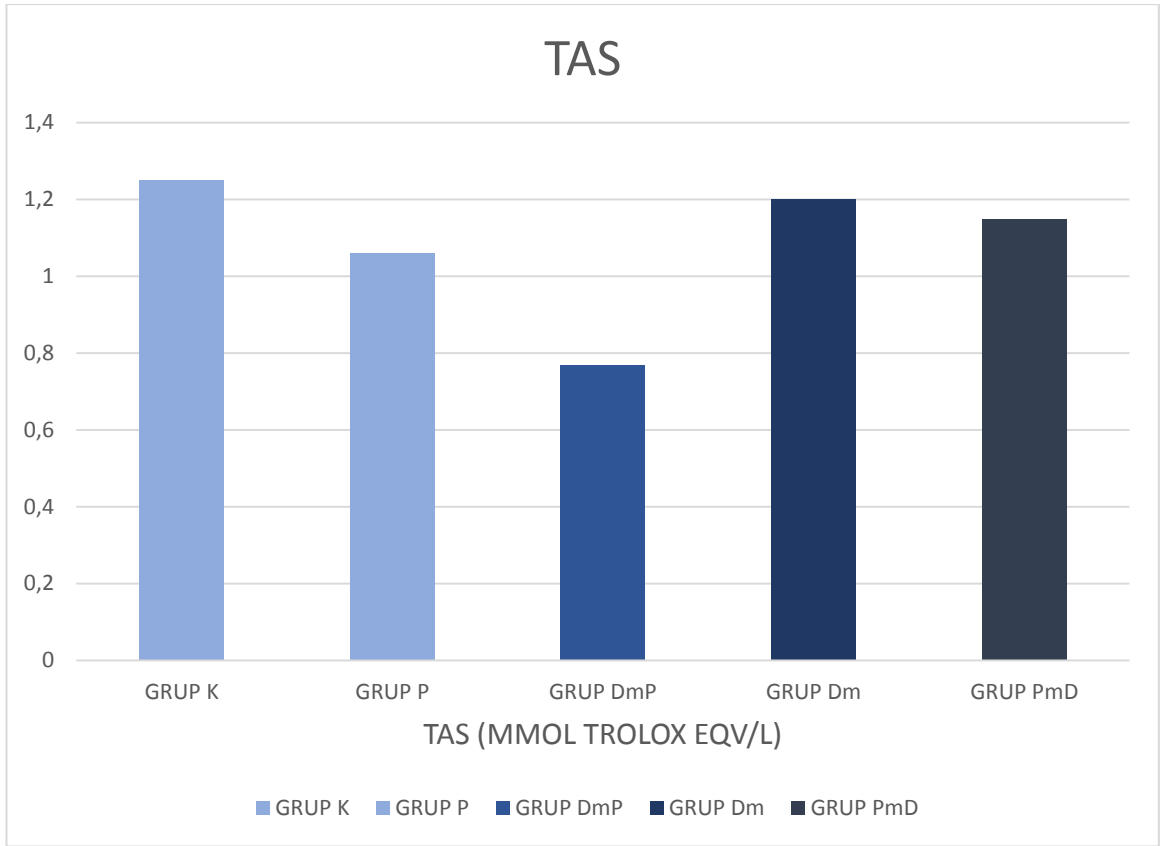
4.4. Ortalama Serum Total Antioksidan Seviye (TAS), Total Oksidan Seviye (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Sonuçları

Çalışmamızda deneyin sonlandırılması ile elde edilen kan serum örneklerinden TAS, TOS değerlendirmeleri yapılmış (Şekil 4.5, Şekil 4.6) ve OSİ değerleri (Şekil 4.7) hesaplanmıştır. Gruplar arasında TOS ve OSİ değerlerinin ortalamalarında istatistiksel anlamlı farklılık bulunamazken ($p>0.05$) TAS değerlerinin ortalamasında anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). TAS değerlerini gruplar arasında ikili olarak karşılaştırdığımızda grup K ile gruplarımız DmP, Dm ve PDm arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4.5).

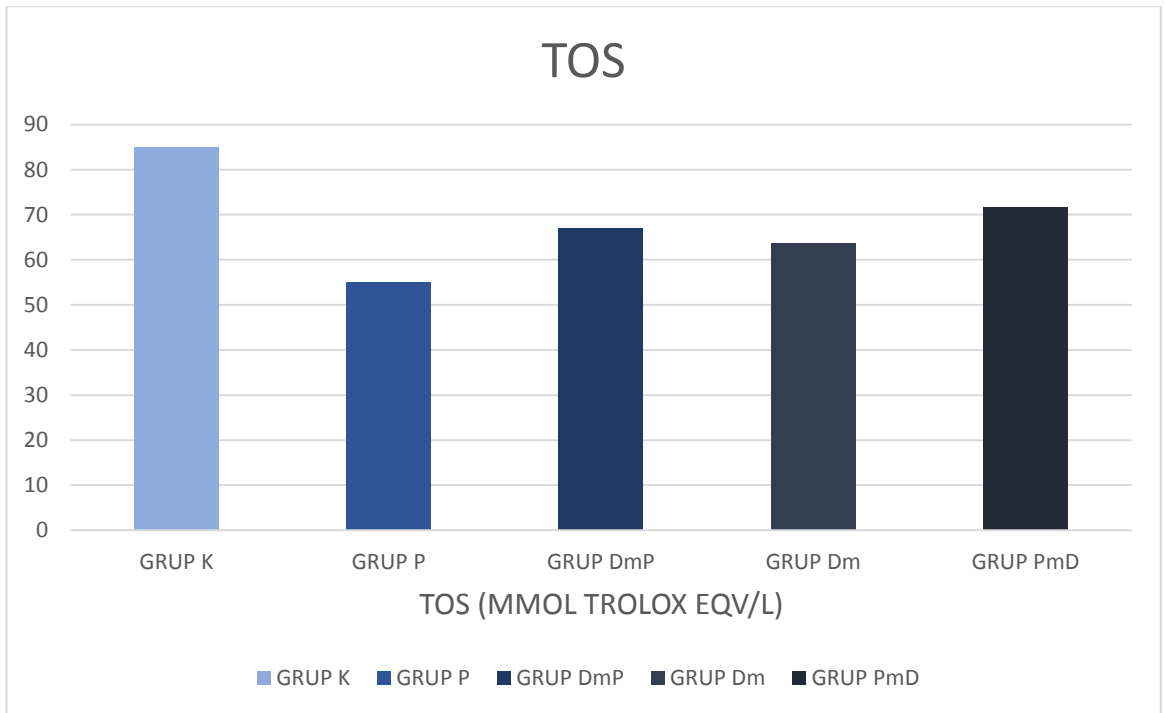
Tablo 4. 5: Gruplara ait ortalama TAS, TOS ve OSİ değerleri (mmol trolox eqv/l)

	Grup K	Grup P	Grup Dm	Grup DmP	Grup PDm	p
TAS	1.25 ± 0.35	1.06 ± 0.15	1.2 ± 0.22 ^k p	0.77 ± 0.31 ^k p	1.15 ± 0.19 ^k p	0.036*
TOS	84.98 ± 59.3	55.01 ± 24.13	63.63 ± 43.6	67.03 ± 34.18	71.78 ± 31.75	0.901
OSİ	7.23 ± 4.53	5.08 ± 1.97	5.28 ± 2.18	5.66 ± 1.03	5.72 ± 2.09	0.857

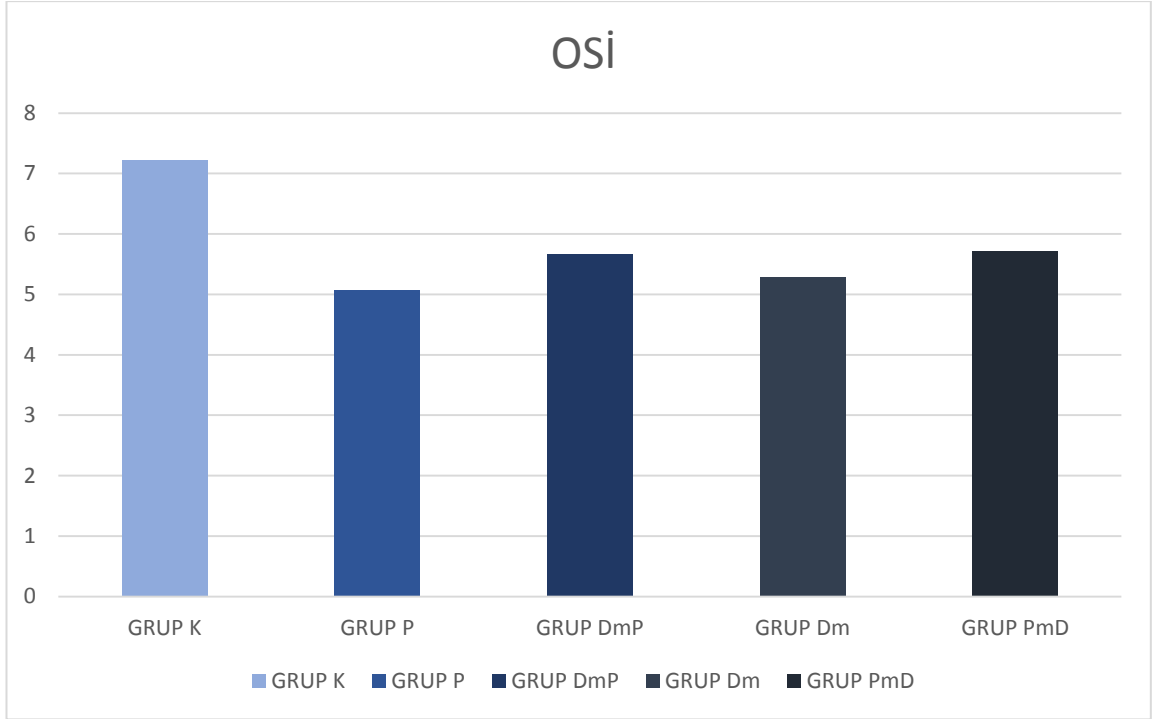
^kp = ($p<0.05$) Kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı (Grup K)



Şekil 4. 5: Gruplara ait ortalama TAS değerleri.



Şekil 4. 6: Gruplara ait ortalama TOS değerleri.



Şekil 4. 7:Gruplara ait ortalama TOS ve TAS değerleri kullanılarak elde edilen OSİ değerleri.

4.5. Bowman Kapsülü Bazal Membranı Kalınlık Ölçüm Sonuçları

Gruplarda bazal membran kalınlıklarını histokimyasal olarak PAS+ boyanan böbrek preparatlarımızda izlediğimizde diyabetli gruplarımız Dm (Şekil 4.20), DmP (Şekil 4.21) ve PDM (Şekil 4.22)'de bazal membranlarda grup K (Şekil 4.18) ve P (Şekil 4.19)'ye kıyasla kalınlaşmaların olduğunu tespit ettik.

Bowman kapsülü bazal membranlarının kalınlık ortalaması gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.05$). Grup K ve grup P'nin Bowman kapsülü bazal membranlarının kalınlık ortalamasının grup DmP, grup Dm ve grup PDM'ye oranla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır. Diyabetli gruplarımız arasında yaptığımız değerlendirmede ise en az membran kalınlığının grup DmP'ye ait olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Grup DmP ve grup PDM'ye ait Bowman kapsülü bazal membranlarının kalınlık ortalamaları arasında karşılaştırma yapıldığında grup PDM' nin ortalama membran kalınlığının daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.6).

Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında yalnızca grup P ile grup PDM arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tablo 4. 6:Grupların Bowman kapsülü bazal membranlarının kalınlık ortalamaları (μm).

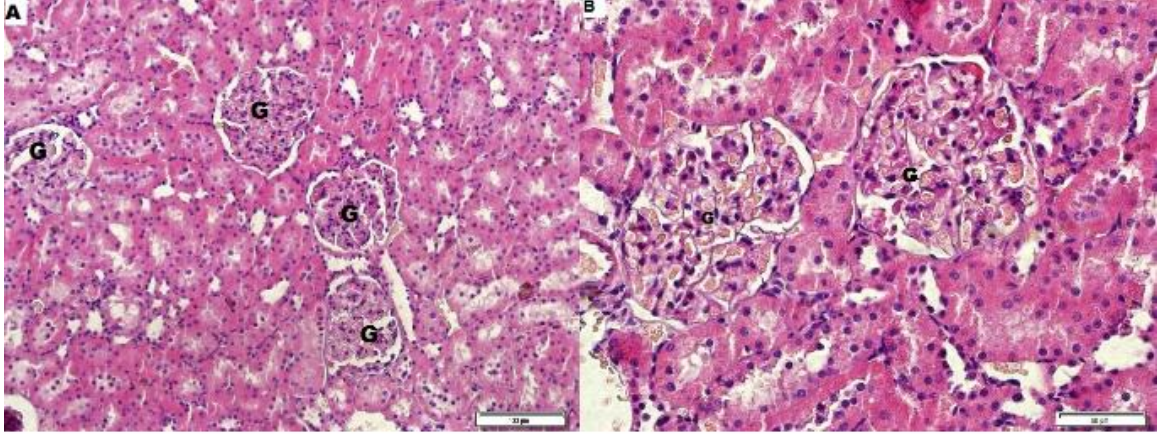
	Grup K	Grup P	Grup Dm	Grup DmP	Grup PDm	p
Bowman kapsülü bazal membranlarının kalınlık ortalamaları	2.89 \pm 0.46	2.47 \pm 0.3	3.33 \pm 0.45	3.14 \pm 0.77	3.66 \pm 0.92	0.039*

4.6. Histokimyasal Boyamalar

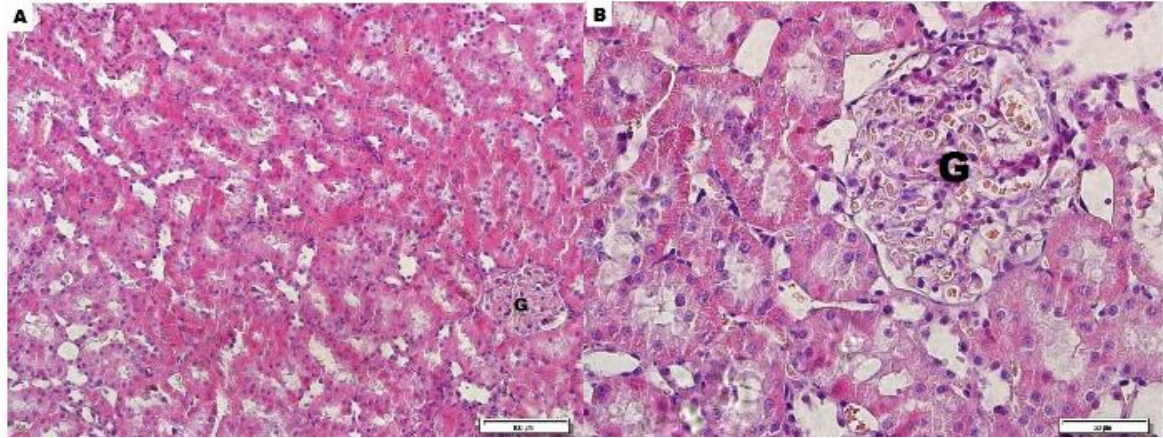
4.6.1. H&E (Hematoksilen Eozin) boyama sonuçları

Gruplara ait böbrek kesitlerinde H&E ile histokimyasal boyamalar yapılmış ve değerlendirilmiştir. Glomerül yapıları, tübüllerdeki dilatasyon, hücre vakuolizasyonu ve inflamasyon alanları incelenmiştir.

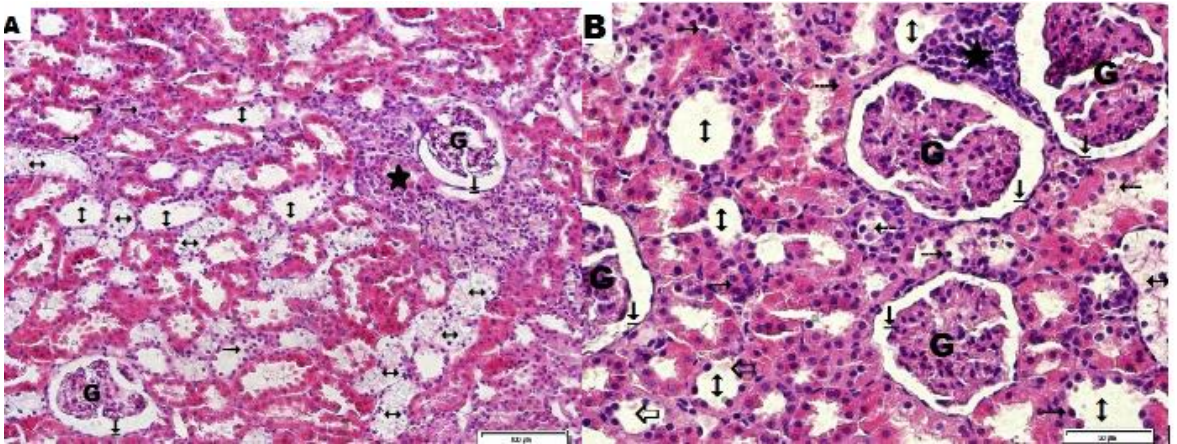
Grup K'ya ait H&E ile boyanmış böbrek kesitleri incelendiğinde normal böbrek yapılarının olduğu gözlemlenmiştir. Glomerül ve tübül yapılarında patolojik bulgulara rastlanmamıştır (Şekil 4.8). Benzer durum grup P için de gözlenmiştir (Şekil 4.9). Grup Dm'ye ait böbrek kesitlerinde diyabet kaynaklı hasara bağlı olarak inflamasyon alanları, bozulmuş glomerül membran yapıları, vakuolizasyon ve tübüllerin içerisinde dilatasyon alanlarına rastlanmıştır. Grup Dm'ye ait böbrek kesitleri Grup K ile karşılaştırıldığında Bowman boşluğunun arttığı görülmektedir (Şekil 4.10). Grup DmP'ye ait böbrek kesitlerini grup Dm'ye ait kesitler ile karşılaştırdığımızda glomerüllerin yapılarını koruduğunu fakat bazı tübüllerin yapılarında hasarlar ve pignotik çekirdekleri tespit ettik (Şekil 4.11). Grup PDm' ye ait böbrek kesitlerinde ise glomerül ve tübül yapılarının grup Dm'ye kıyasla daha düzgün olduğu fakat diyabete ait patolojik bulgular arasında yer alan tübüler dilatasyon alanlarının ve pignotik çekirdeklerin olduğu görülmektedir (Şekil 4.12).



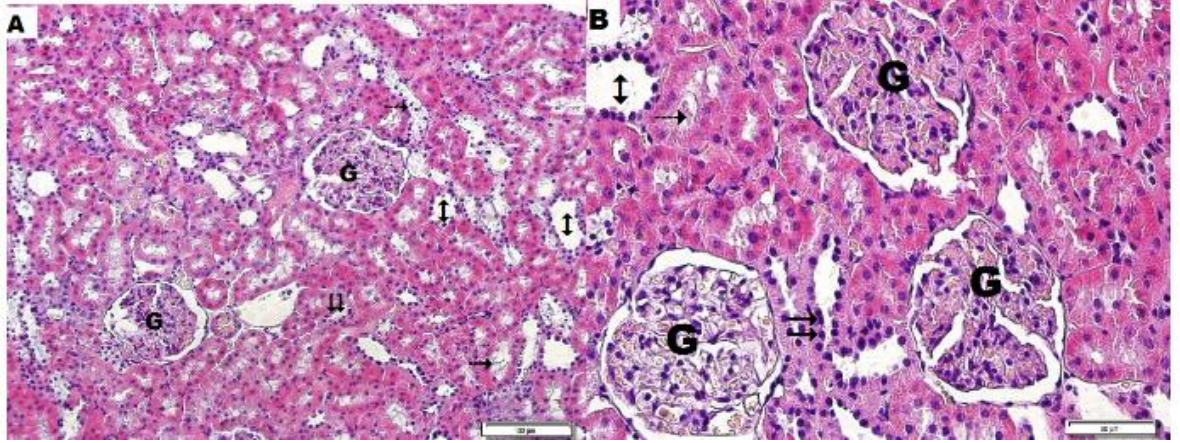
Şekil 4. 8: Grup K'ya ait böbrek kesitleri (A ve B). Glomerül yapıları (G) (AX20, BX40) (H&E).



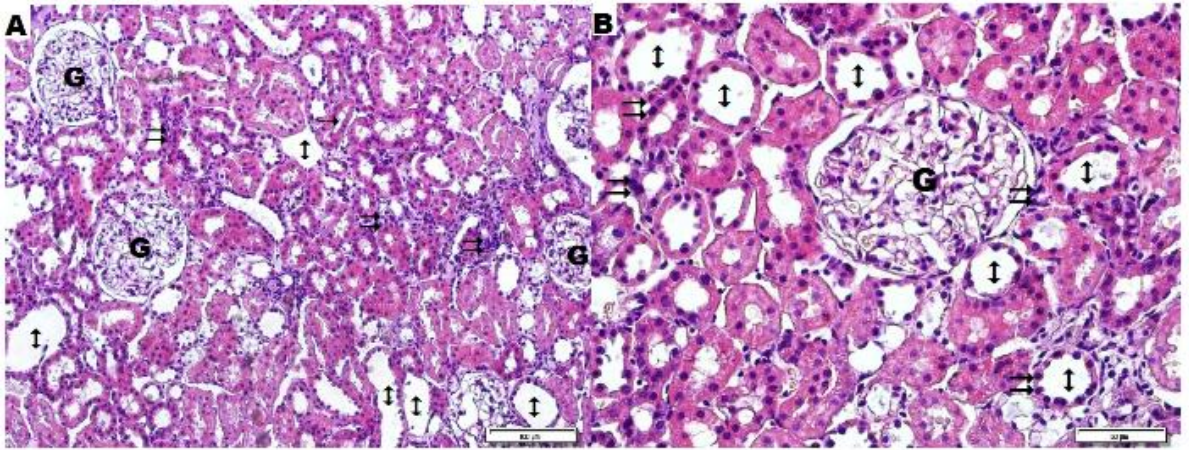
Şekil 4. 9: Grup P'ye ait böbrek kesitleri (A ve B), glomerül yapıları (G) (AX20, BX40) (H&E).



Şekil 4. 10: A ve B grup Dm'ye ait böbrek kesitleri. Glomerül yapıları (G), infiltrasyon alanı (★), pignotik çekirdekler (↔↔), tübül dilatasyon alanları (†), tübül hücrelerinde vakuolizasyon (↔), vakuolize hücre (↔) ve Bowman boşluğunda genişleme (⊥) (AX20, BX40) (H&E).



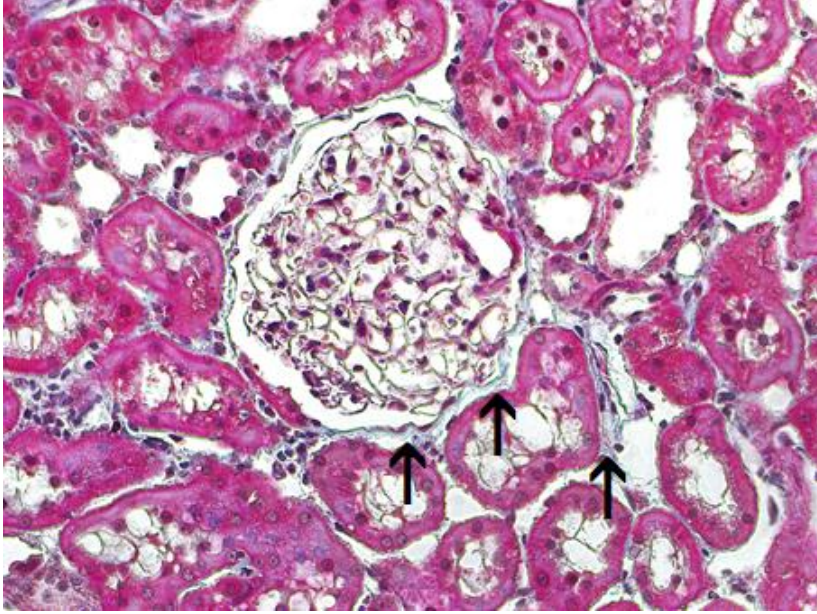
Şekil 4. 11: A ve B grup DmP'ye ait böbrek kesitlerinde glomerül yapıları (G), tübüler dilatasyon (↑), pignotik çekirdekler (↔) gösterilmiştir (AX20, BX40) (H&E).



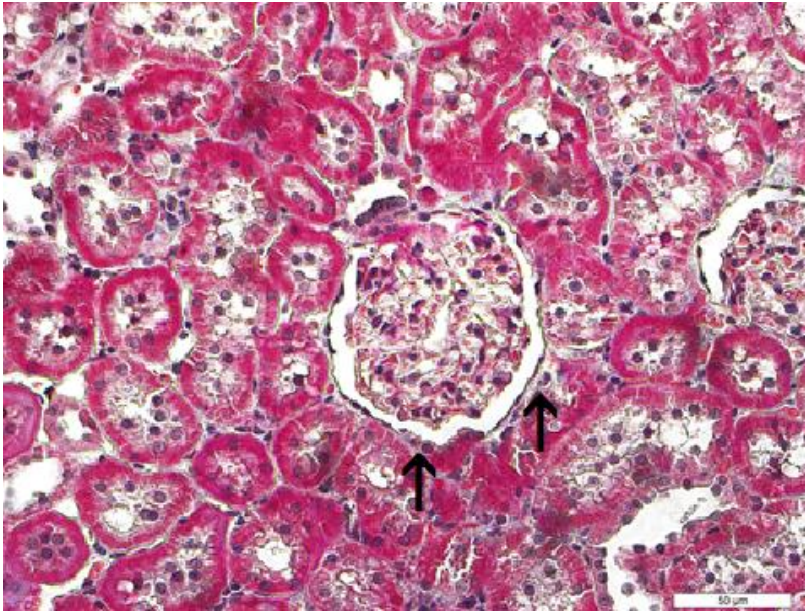
Şekil 4. 12: Grup PDM'ye ait böbrek kesitleri (A ve B). Glomerül yapıları (G), tübüler dilatasyon (↑), pignotik çekirdekler (↔) gösterilmiştir (AX20, BX40) (H&E).

4.6.2. MTK (Masson Trikrom) Boyama Sonuçları

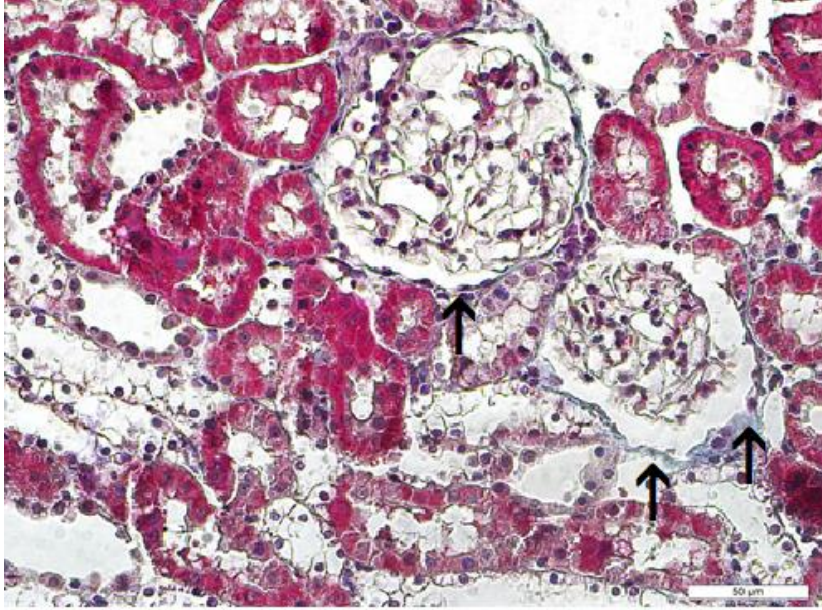
MTK boyama yapılmış preparatlarda böbrek kesitlerinin yapıları incelenmiş mavi renkte izlenen bağ dokusunun değerlendirmeleri gruplar arasında yapılmıştır. Grup K (Şekil 4.13) ve grup P (Şekil 4.14)'nin böbrek kesitleri normal histolojik görünüme sahiptir. Diyabet oluşturduğumuz gruplarımızda ise Bowman kapsülü ve tübüllerin bazal membranlarında bağ dokusunda artışlar tespit ettik. Probiyotik takviyesi alan grup DmP (Şekil 4.16) ve PDM (Şekil 4.17)'ye ait preparatlarda ise grup Dm'ye (Şekil 4.15) kıyasla bağ dokusunun artışı veya azalması ile ilgili herhangi bir çıkarımda bulunamadık.



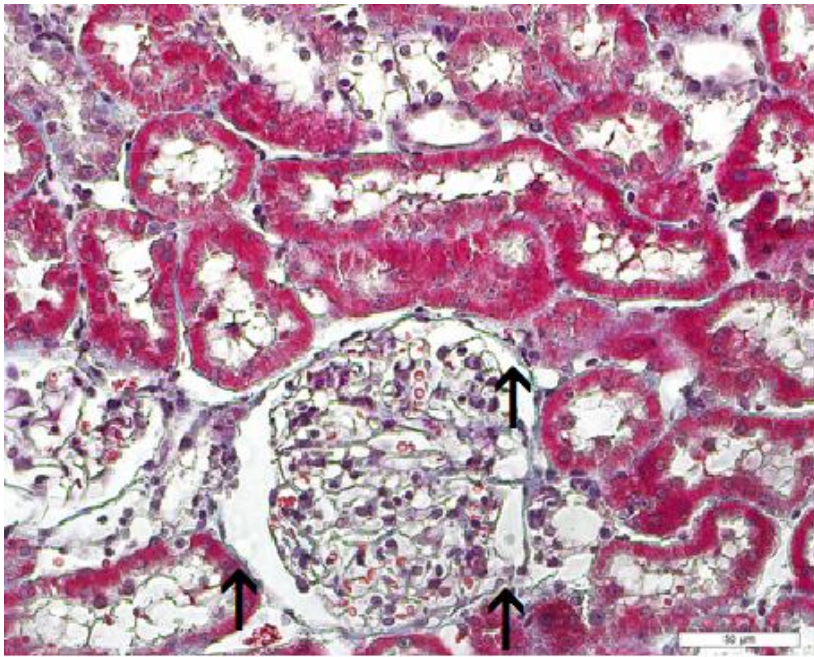
Şekil 4. 13: Grup K'ya ait böbrek kesiti ve bağ dokusu (↑) (MTK, X40).



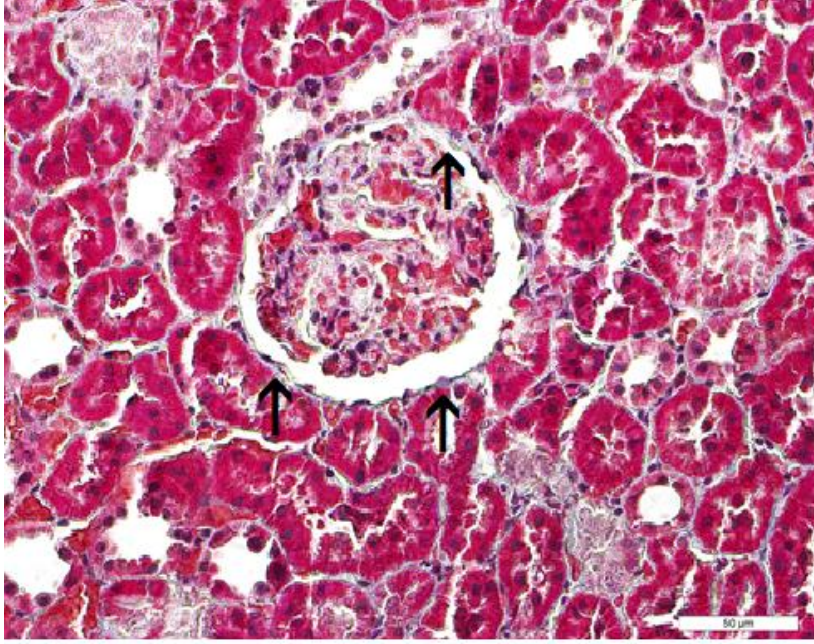
Şekil 4. 14: Grup P'nin böbrek kesiti ve bağ dokusu (↑) (MTK, X40).



Şekil 4. 15: Grup Dm'ye ait böbrek kesiti ve bağ dokusu (↑) (MTK, X40).



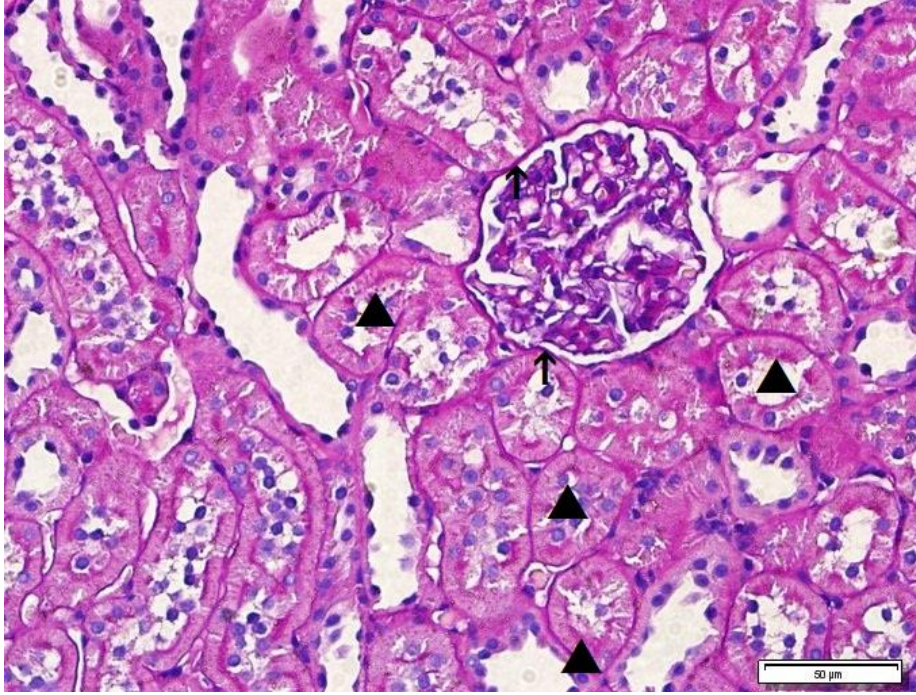
Şekil 4. 16: Grup DmP'ye ait böbrek kesiti ve bağ dokusu (↑) (MTK, X40).



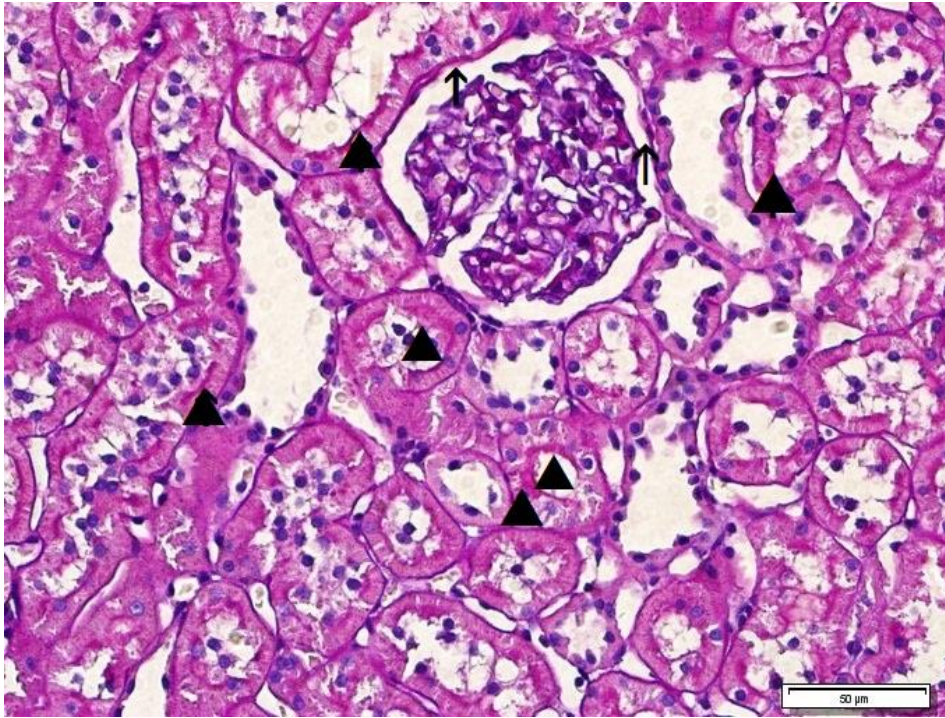
Şekil 4. 17: Grup PDM'ye ait böbrek kesiti ve bağ dokusu (↑) (MTK, X40).

4.6.3. PAS+ Boyama Sonuçları

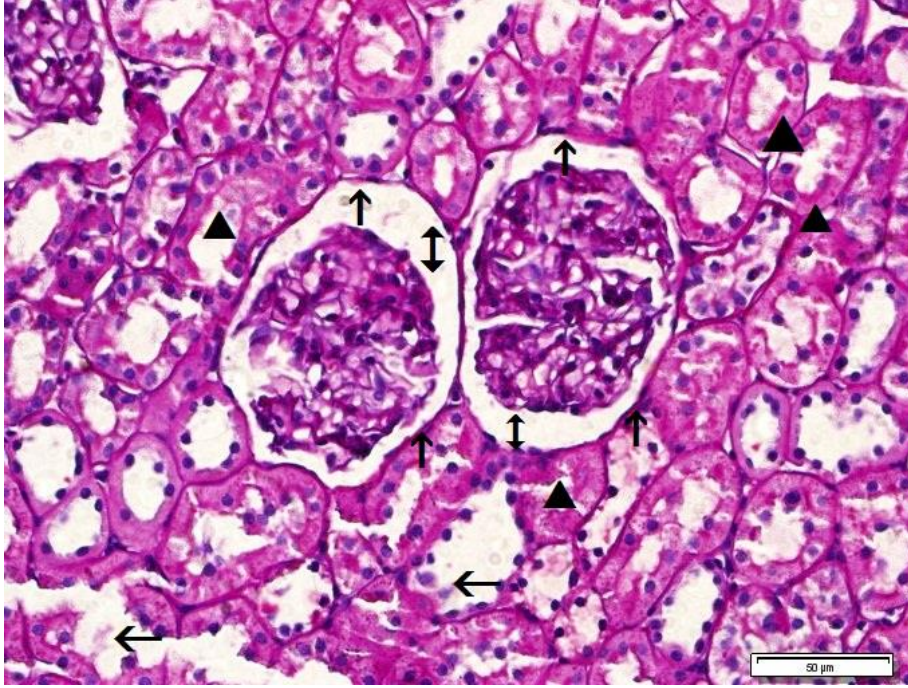
Gruplara ait PAS+ boyaması yapılmış böbrek dokuları histolojik olarak incelenmiş, proksimal tübül yapısındaki koyu pembe renkte mikrovilluslar ve bazal membran yapıları değerlendirilmeye çalışılmıştır. Gruplar arasında yaptığımız değerlendirmelerde grup K (Şekil 4.18) ve grup P'nin (Şekil 4.19) böbrek kesitlerinde böbreğe ait glomerül ve tübül yapılarının normal görünümüne sahip olduğu görülmüştür. Yaptığımız PAS+ boyamada diyabetik sıçanlara ait böbrek dokularında fırçamsı kenar kayıplarını grup Dm'de tespit ettik. Aynı zamanda diyabete ait histopatolojik bulgular arasında yer alan vakuolizasyon, tübüler dilatasyon ve tübüllerde epitel dökülmesi, pigmentik çekirdekleri, Bowman boşluğunda genişlemeyi preparatlarımızda izledik (Şekil 4.20). Grup DmP (Şekil 4.21) ve PDM (Şekil 4.22)'ye ait preparatlarda da bazal membran kalınlaşmalarını ve diyabete ait histopatolojik bulguların varlığını tespit ettik. Probiyotik takviyesi yapılan bu gruplarımıza ait preparatlarda mikrovillus yapılarının korunduğunu gözledik.



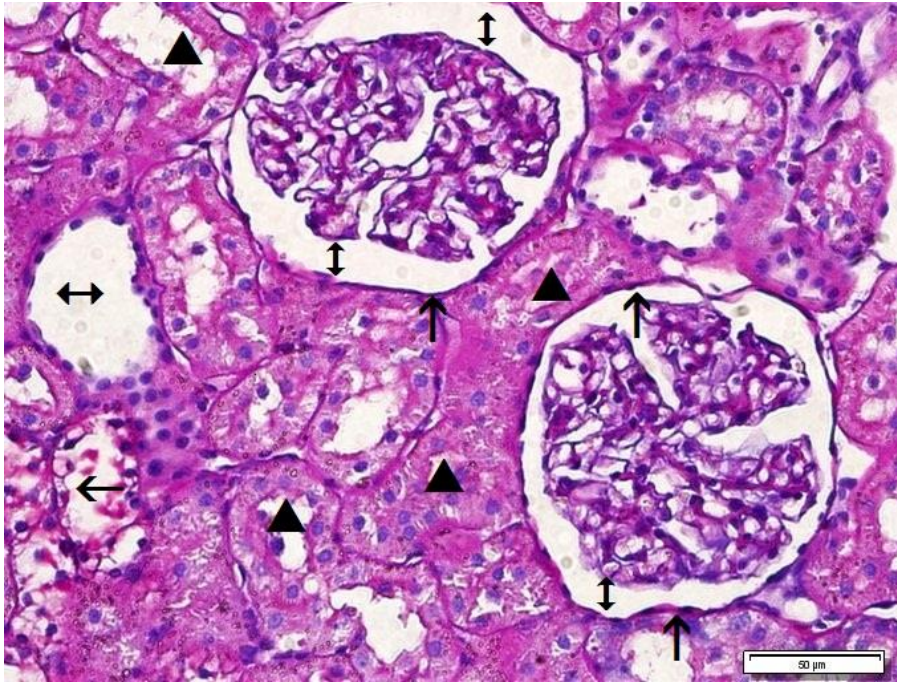
Şekil 4. 18: Grup K'ya ait böbrek kesiti ve Bowman kapsülü bazal membranı (↑), mikrovillus yapıları (▲) (PAS, X40).



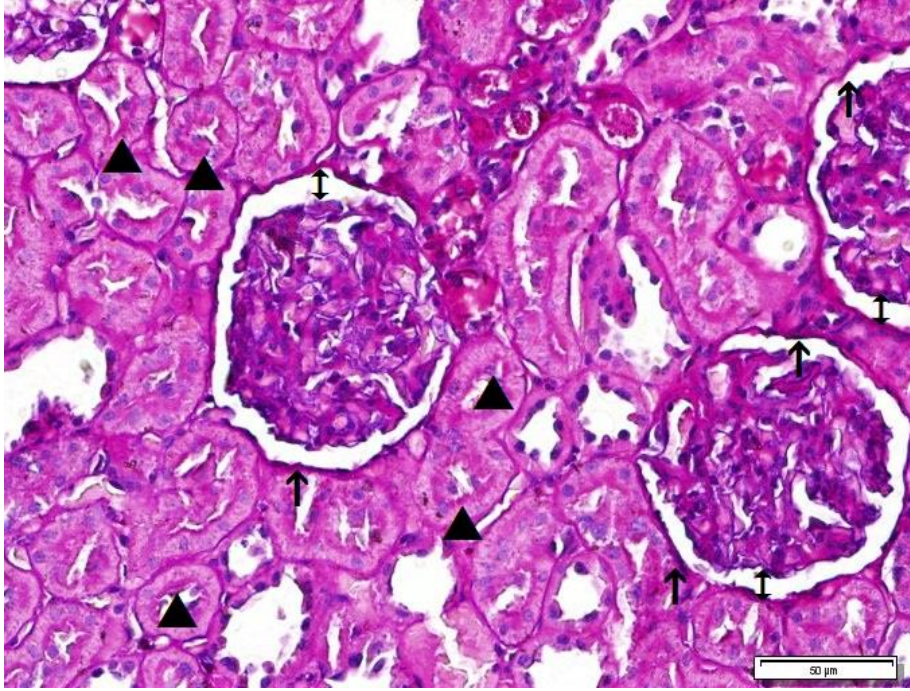
Şekil 4. 19: Grup P'ye ait böbrek kesiti ve Bowman kapsülü bazal membranı (↑), mikrovillus yapıları (▲) (PAS, X40).



Şekil 4. 20: Grup Dm'ye ait böbrek kesiti. Bowman kapsülü bazal membranı (‡), mikrovillus yapıları (▲), epitel dökülmesi (←), Bowman boşluğu genişlemesi (‡) (PAS, X40).



Şekil 4. 21: Grup DmP'ye ait böbrek kesiti. Bowman kapsülü bazal membranı (‡), mikrovillus yapıları (▲), epitel dökülmesi (←), Bowman boşluğu genişlemesi (‡) (PAS, X40).



Şekil 4. 22: Grup PDM'nin böbrek kesiti. Bowman kapsülü bazal membranı (↑), mikrovillus yapıları (▲), Bowman boşluğu genişlemesi (⋮) (PAS, X40).

4.6.4. Böbreklerin Histopatolojik Değerlendirmesi

Gruplar arasında yaptığımız böbreklerin histopatolojik değerlendirilmesinde grup K ve P'ye ait glomerüler hasar, tübüler nekroz ve tübülointerstisyel değerlendirmelerde histolojik değişiklik görülmedi. Diyabet oluşturulan sıçanların böbreklerinde (grup Dm) glomerüler hasar, tübüler nekroz ve tübülointerstisyel nekroza rastlandı. Grup Dm'ye ait 6 sıçanda hafif nefrotoksisite, 2 sıçanda ise orta nefrotoksisite gözlemlendi. Grup DmP'ye ait sıçanların 6 tanesinde hafif, 1 tanesinde orta, 1 tanesinde nefrotoksisite yoktu. Grup PDM'ye ait sıçanların 7 tanesinde hafif nefrotoksisite mevcuttu (Tablo 4.7).

Tablo 4. 7: Böbreklerin Histopatolojik Değerlendirmesi

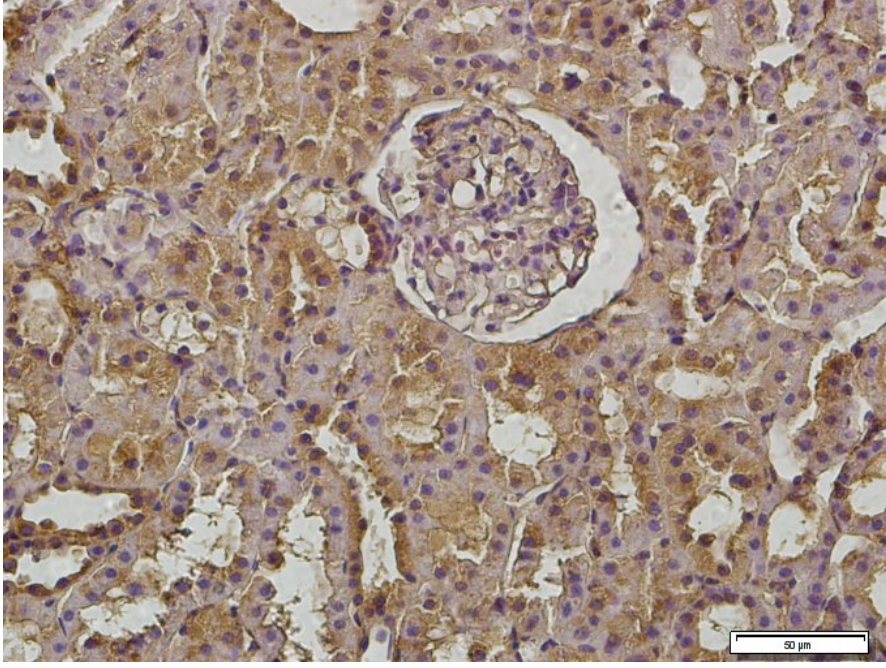
Hayvan No	Gomerüler Hasar	Tübüler Nekroz	Tübülointerstisyel İnflamasyon	Toplam Skor	Puanlama Ölçeği
K1	0	0	0	0	A
K2	0	1	0	1	A
K3	0	0	0	0	A
K4	0	0	0	0	A
K5	0	0	0	0	A
P1	0	1	0	1	A
P2	0	1	0	1	A
P3	1	0	0	1	A
P4	0	0	1	1	A

P5	0	1	1	2	B
Dm1	1	2	1	4	B
Dm2	2	1	1	4	B
Dm3	2	2	1	5	C
Dm4	1	2	1	4	B
Dm5	2	1	1	4	B
Dm6	2	1	1	4	B
Dm7	2	2	0	4	B
Dm8	2	2	1	5	C
DmP1	1	1	0	2	B
DmP2	1	1	0	2	B
DmP3	0	1	1	2	B
DmP4	2	2	1	5	C
DmP5	0	1	1	2	B
DmP6	2	0	1	3	B
DmP7	1	1	0	2	B
DmP8	0	0	1	1	A
PDm1	0	1	1	2	B
PDm2	0	1	1	2	B
PDm3	1	1	0	2	B
PDm4	1	0	1	2	B
PDm5	0	1	0	1	A
PDm6	1	0	1	2	B
PDm7	0	1	1	2	B
PDm8	1	1	0	2	B

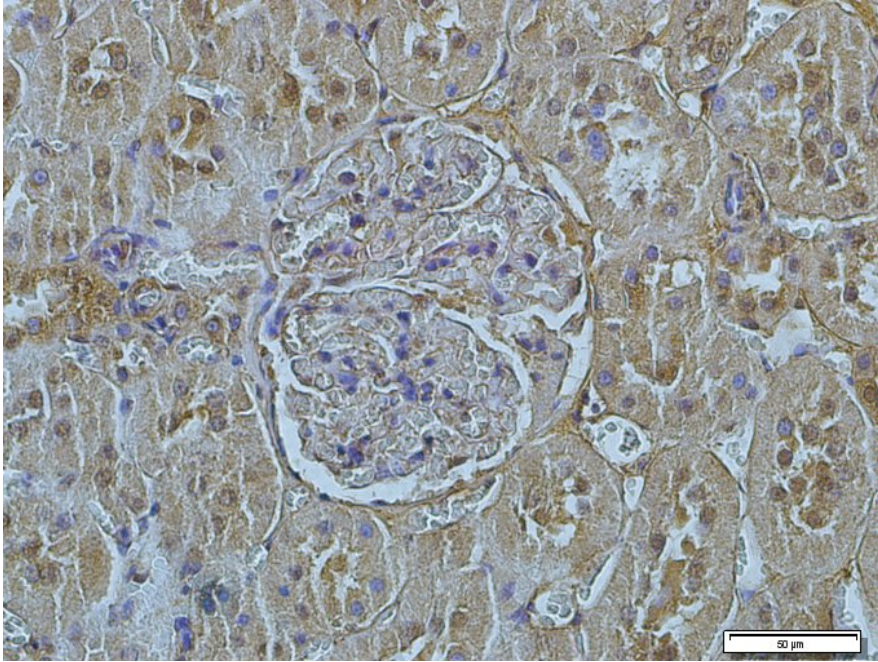
4.7. İmmünohistokimyasal Boyamalar

4.7.1. Bcl-2 (Beclin 2) Boyama Sonuçları

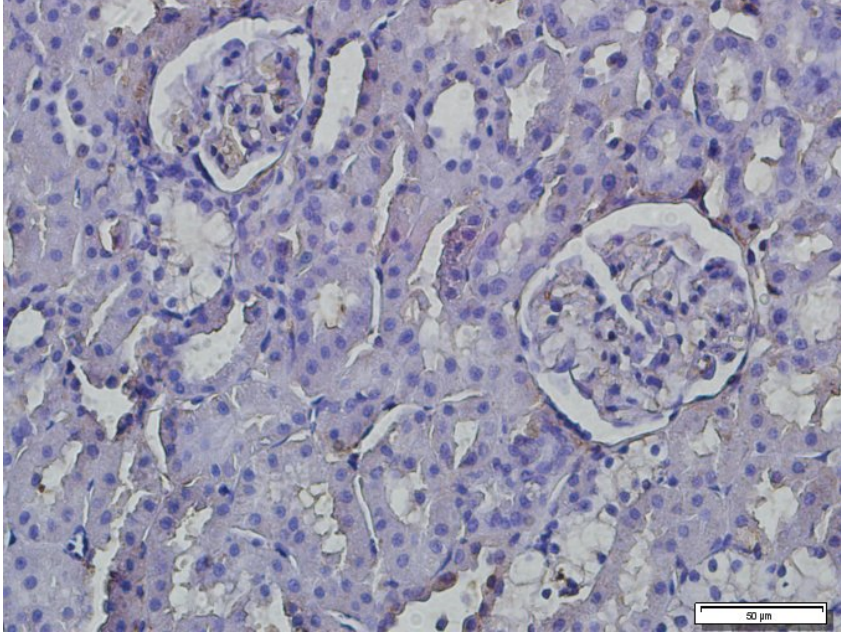
Gruplara ait böbrek kesitleri anti-apoptotik belirteç olan Bcl-2 antikoru ile muamele edildi ve immünohistokimyasal değerlendirildi. Bcl-2'nin ekspresyon alanlarını böbrek kesitlerinde glomerüllerde ve tübüllerde gördük. Gruplar arasında değerlendirmeleri yaparken ImageJ programını kullandık ve Bcl-2'ye ait ekspresyon yoğunluklarını yüzdelik olarak hesapladık. Yaptığımız değerlendirmelerde grup K (Şekil 4.23) ve grup P (Şekil 4.24)'nin normal histojik yapılara sahip oldukları ve Bcl-2 ekspresyon yüzdeliklerinin birbirine yakın oldukları sonucunu elde ettik (grup K = %14.3 ve grup P=%10.5). Grup Dm'ye ait böbrek kesitinde Bcl-2'nin ekspresyonuna immünohistokimyasal olarak boyanmasına bakıldığında tübüllerde ve glomerüllerde gördüğümüz apoptozun belirleyicisi olarak ifade edilen Bcl-2 ekspresyonunun azaldığını (%2.7) gözlemledik (Şekil 4.25). Probiyotik takviyesi alan gruplarımız DmP (%6.2) (Şekil 4.26) ve PDm (%8.6) (Şekil 4.27)'ye ait Bcl-2 ekspresyonunun grup Dm'ye kıyasla arttığı ve diyabete karşı ters etki gösterdiğini tespit ettik.



Şekil 4. 23: Grup K'ya ait böbrek kesiti (Bcl-2, X40).



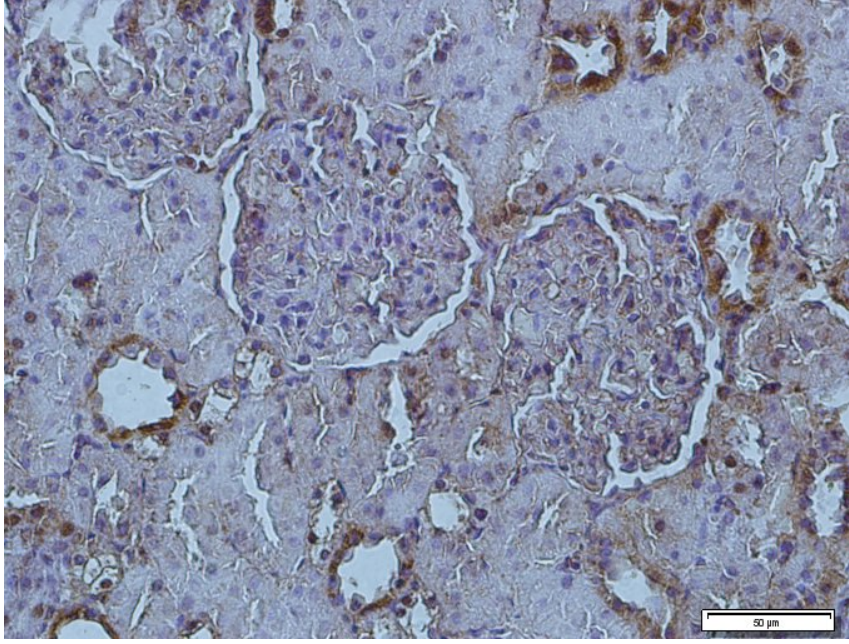
Şekil 4. 24: Grup P'ye ait böbrek kesiti (Bcl-2, X40).



Şekil 4. 25: Grup Dm'ye ait böbrek kesiti (Bcl-2, X40).



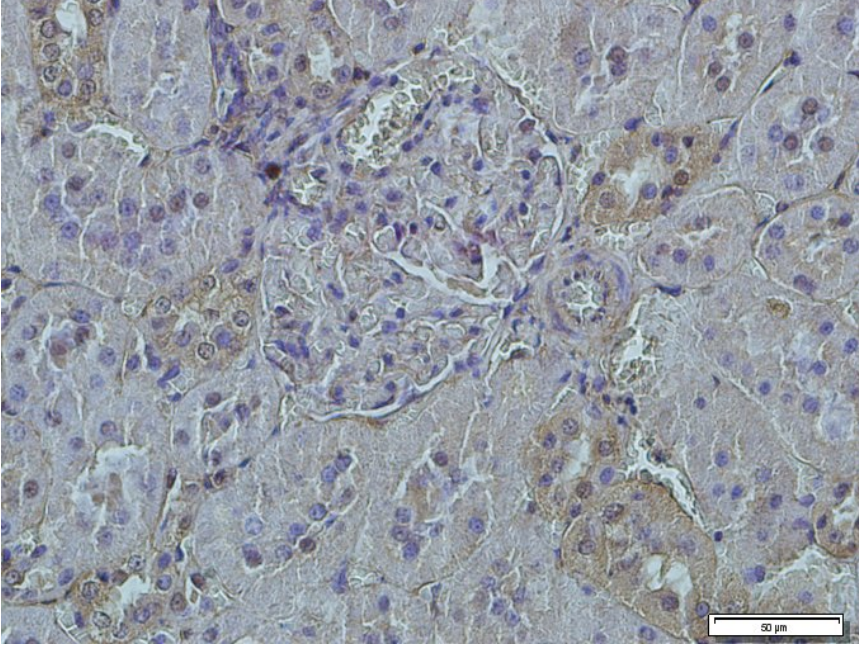
Şekil 4. 26: Grup DmP'ye ait böbrek kesiti (Bcl-2, X40).



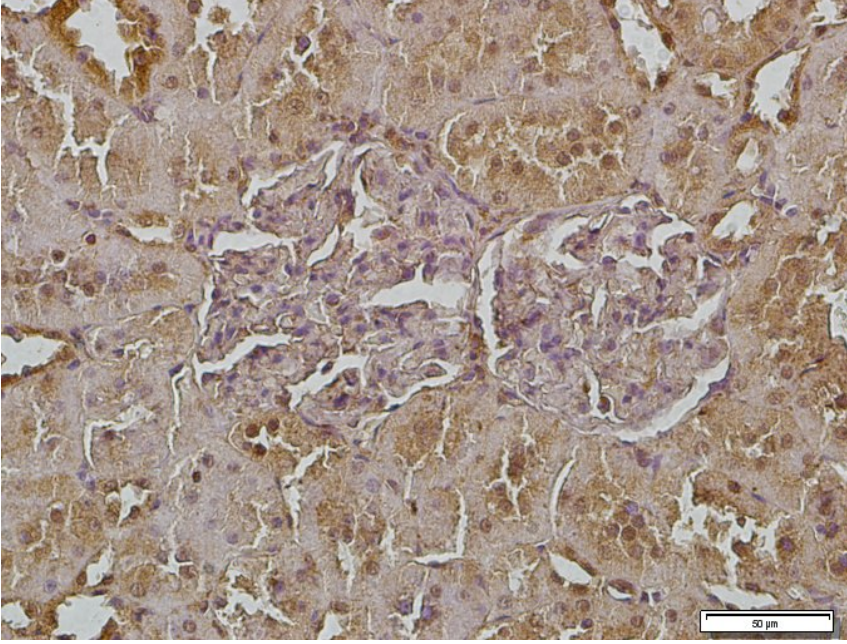
Şekil 4. 27: Grup PDm'ye ait böbrek kesiti (Bcl-2, X40).

4.7.2. Alfa-SMA Boyama Sonucu

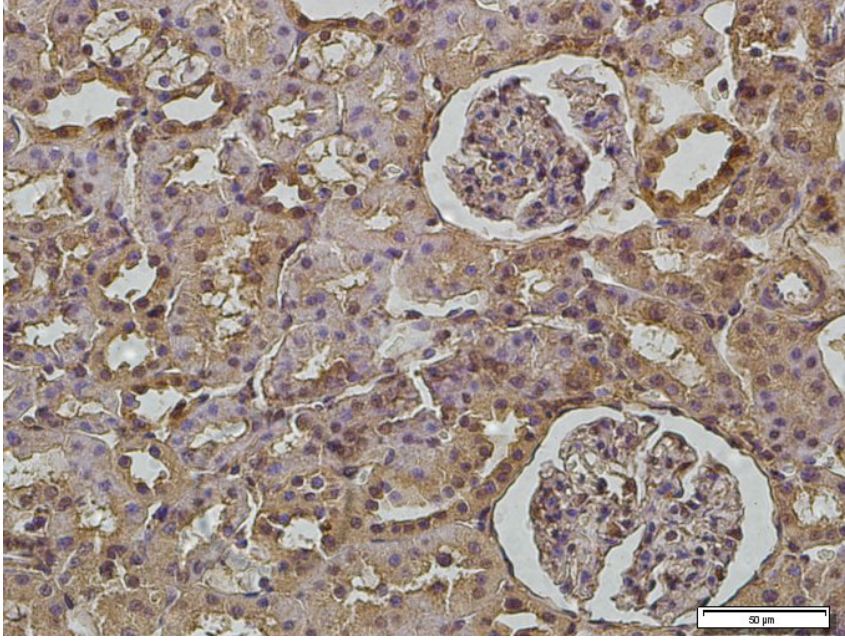
Gruplardan aldığımız böbrek kesitlerini miyofibroblastların belirteci olan alfa-SMA ile immünohistokimyasal olarak boyadık ve alfa- SMA ekspresyon seviyesini gruplar arasında değerlendirdik. Gruplar arasında yaptığımız değerlendirmelerde alfa-SMA'nın ekspresyon yoğunluğunu tespit etmek için ImageJ programından yararlandık. Grup K (Şekil 4.28) ve grup P (Şekil 4.29)'ye ait böbrek kesitlerinde immünohistokimyasal boyama yaptığımız alfa-SMA'nın boyanma yoğunluğunun grup Dm'ye kıyasla daha az olduğu sonucuna ulaştık (grup K = %3.9, grup P = %8.2 ve grup Dm = %13.3). Probiyotik takviyesi alan gruplarımızın grup Dm (Şekil 4.30)'ye oranla alfa-SMA ekspresyonunun daha düşük olduğunu tespit ettik (DmP = %8 ve PDm = %10.3) (Şekil 4.31 ve 4.32).



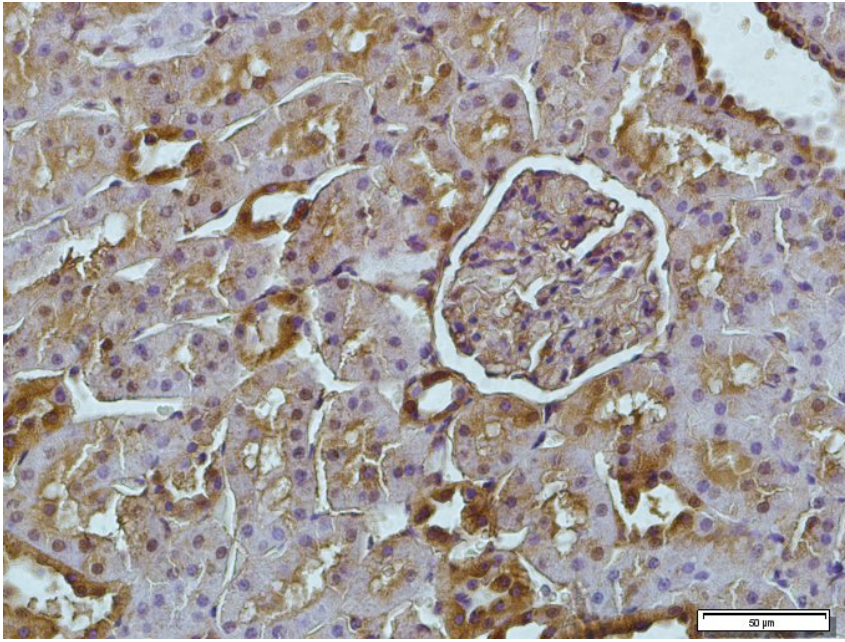
Şekil 4. 28: Grup K'ya ait böbrek kesiti (alfa-SMA, X40).



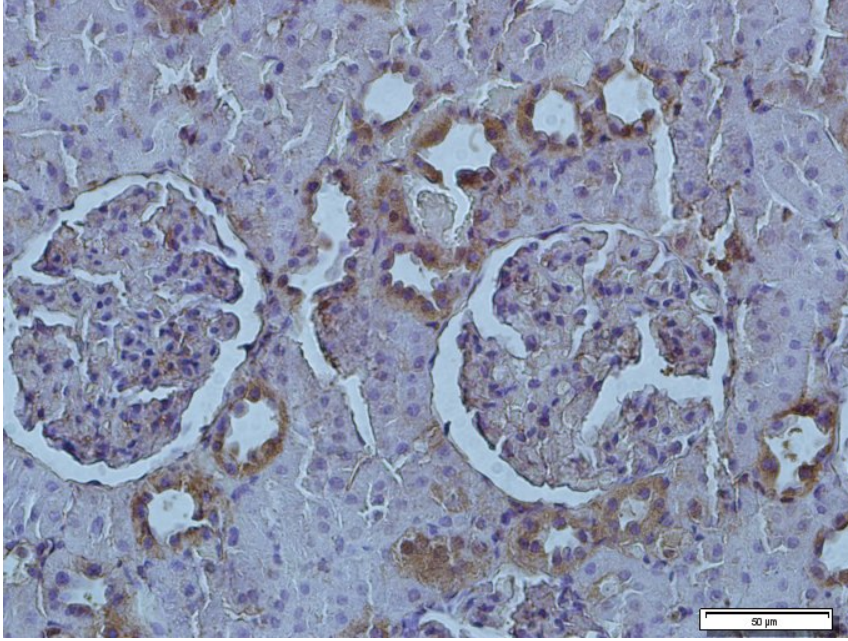
Şekil 4. 29: Grup P'ye ait böbrek kesiti (alfa-SMA, X40).



Şekil 4. 30: Grup Dm'ye ait böbrek kesiti (alfa-SMA, X40).



Şekil 4. 31: Grup DmP'ye ait böbrek kesiti (alfa-SMA, X40).



Şekil 4. 32: Grup PDM'ye ait böbrek kesiti (alfa-SMA, X40).

5.TARTIŞMA

Sağlık açısından faydalı mikroorganizmalar olarak bilinen probiyotiklerin, bağıışıklığı güçlendirme gibi etkilerinin yanı sıra insülin direncinin azaltılması, kan glikozunun düşürülmesinde de etkili olabileceği bunların da Tip 2 diyabetin önlenmesi veya tedavisi için önemli bir strateji olabileceği yapılan araştırmalar ile son zamanlarda vurgulanmaktadır (Ruan vd 2015). Probiyotiklerin diyabet gibi hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde ilk olarak mikrobiyotayı düzenlediği böylece doğal bağıışıklığı güçlendirdiği bilinmektedir. Bu sayede hastalıklarda oluşan inflamasyonun önlenildiği veya azaldığı, inflamasyon sebebi ile oluşan insülin direncinin ise bu sayede olumlu yönde etkilendiği düşünülmektedir (Kamarlı 2019). Diyabetin mikrobiyota üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda ise diyabet ile birlikte bağırsak florasında yer alan *Laktobasillus* ve *Bifidobacterium*'ların azaldığı, insülin direncini arttıran *Enterokok*ların ise arttığı görülmektedir (Cai vd 2017).

Diyabet, insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki hasarlar veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan kronik metabolik bir hastalıktır (TEMD 2022). Dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu olan diyabetin, 2015 yılında 415 milyon kişiden 2040 yılına kadar 642 milyon kişiye çıkacağı bildirilmiştir ve Tip 2 diyabet bu vakaların %90-95' ini oluşturmaktadır (Shaw vd 2018). Kalpte, kan damarlarında, gözlerde, böbreklerde ve sinirlerde ciddi hasara yol açan bu endokrin hastalığın tedavi yöntemleri arasında tıbbi beslenme tedavisi de yer almaktadır. Diyabet tedavisinin önemli bir parçası olan tıbbi beslenme tedavisine uyum gösteren hastalarda glisemi kontrolü sağlanmakta ve komplikasyon riski azalmaktadır (Alphan vd 2018).

Diyabetin bulguları arasında kilo kaybı veya kazanımı gibi durumların değişkenlik gösterdiği bilinmektedir. Farelerde yapılan STZ kaynaklı Tip 2 diyabet hastalık modelinde, *Laktobasillus plantarum* CCFM0236 takviyesinin gıda alımında azalmaya sebep olduğu ayrıca kan şekeri seviyesini de azalttığı bulunmuştur (Li vd 2016).

Probiyotikler ve vücut ağırlığı üzerine yapılan araştırmalar ise probiyotiklerin kilo kaybı veya kilo kazanımı üzerindeki etkisinin suştan suşa farklılık gösterebileceği ileri sürölmektedir. Hayvan ve insan çalışmaları üzerine yapılmış bir meta-analizde, laktobasillus bakterileri ve ağırlık kaybı incelenmiştir. Yapılan araştırmada, *Laktobasillus acidophilus*, *laktobasillus fermentum* ve *laktobasillus ingluviei* türü bakterilerin ağırlık artışına sebep olduğu bulunurken *Laktobasillus plantarum* ve *laktobasillus gasseri* türü bakterilerin ağırlık kaybına sebep olduğu bulunmuştur (Million vd 2012).

Yun ve arkadaşlarının (2009) insan anne sütünden elde edilen *Laktobasillus gasseri* BNR17 takviyesi verdikleri Tip 2 diyabetli fareler üzerinde probiyotiklerin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında ise probiyotik takviyesinin diyabette herhangi bir kilo kaybına sebep olmadığı bildirilmiştir.

VSL#3 probiyotik takviyesi yapılan 19 obez adolesanının 16 hafta boyunca izlendiği bir araştırmada VSL#3' ün bireylerde toplam yağlanmada ve gövde yağlanmasında artışa sebep olduğu bulunmuştur (Jones vd 2018).

Yapılan araştırmalar tek suş yerine birden fazla suşun kombinasyonunun daha etkili olduğunu göstermektedir. Ratna Sudha ve arkadaşlarının (2019) 12 hafta boyunca yaptığı ve *Laktobasillus salivarius* UBL5-22, *laktobasillus plantarum* UBLP-40, *laktobasillus casei* UBLC-42, *laktobasillus asidophilus* UBLA-34, *Bifidobacterium breve* UBBR-01 ve *Bacillus coagulans* Unique IS2 suşlarını içeren probiyotik takviyesinin kullanılmasının bireylerde vücut ağırlığında azalmaya sebep olduğu bulunmuştur (Sudha vd 2019). Bizim alışmamızda kullandığımız probiyotik takviyesi VSL#3, 8 farklı suştan oluşmaktadır. Sadece probiyotik verdiğimiz grubumuz olan grup P'ye ait ortalama vücut ağırlığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha az kilo artışı olduğunu gözledik. Bu verilerimiz Sudha ve arkadaşlarının (2019) ve Million ve arkadaşlarının (2012) yaptığı çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda diyabetli gruplarımız arasında yaptığımız değerlendirmelerde gruplarda 4 haftalık diyabet sürecince ağırlık ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmasa da azalmaların olduğunu tespit ettik. Probiyotik takviyesinde bulunduğumuz gruplarımız DmP ve PDm ile grup Dm'ye ait ağırlık ortalamalarını karşılaştırdığımızda probiyotik takviyesinin kılounun kaybı veya kazanımı üzerine spesifik bir etkisini göremedik. Fakat diyabetli gruplarımız için yaptığımız değerlendirmelerde çalışma bitiminde grup DmP'ye ait vücut ağırlık ortalamasının grup Dm ve PDm ile karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek olduğunu gördük. Elde ettiğimiz bu sonuca dayanarak diyabet ile birlikte uygulan probiyotik takviyesinin diyabette görölen kilo kaybının hızını azalttığını düşünöyoruz.

Lu ve arkadaşlarının (2021) deve sütünden elde edilen kompozit probiyotik takviyesinin diyabetli fare modelleri üzerinde etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, diyabetli farelerin böbrek ağırlıklarının arttığı, yüksek doz ve düşük doz probiyotik takviyesi ile böbrek ağırlıklarında anlamlı olmamakla birlikte diyabetli modellere göre azalmanın olduğunu bulmuşlardır.

Sengül ve arkadaşlarının (2019) sıçanlarda yaptıkları 7 günlük çalışmalarında sisplatinin böbrek dokusunda oluşturduğu hasara karşı probiyotiklerin etkilerini incelemişler ve çalışmada sıçanların böbrek ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranları değerlendirilmiştir. Düşük ve yüksek doz probiyotik takviyesi verilen sıçanlarda böbreklerin vücut ağırlığına oranı değerlendirildiğinde düşük doz probiyotik takviyesi verilen grubun değerlerinin kontrole yakın olduğu fakat yüksek doz probiyotik takviyesi alan grupta bu oranın daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Sengül vd 2019).

Mevcut çalışmamızda gruplara ait böbreklerin ortalama ağırlıklarını değerlendirdik. Yaptığımız değerlendirmelerde diyabetin böbrek ağırlığı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı sonucuna ulaştık. Sadece probiyotik takviyesi alan grup P'ye ait böbrek ağırlıklarının anlamlı olmasa da yüksek olduğunu gördük fakat probiyotik takviyesini diyabetli gruplarımızda değerlendirdiğimizde probiyotiklerin böbrek ağırlığında azalma veya artma gibi bir etkisinin olmadığını gözledik.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda probiyotiklerin glisemik kontrol üzerine etkileri sıkça araştırılmaktadır ve probiyotiklerin inflamatuvar yanıtı düzenleyip oksidatif stresi azalttığı, glisemik kontrolü düzenleyebileceği düşünülmektedir (Miraghajani vd 2017).

Tek suş yerine birden fazla suş karışımının etkili olabileceğini gösteren çalışmalardan biri olan Razmpoosh ve arkadaşlarının (2019) yapmış olduğu *Laktobasillus acidophilus*, *Laktobasillus casei*, *Laktobasillus rhamnosus*, *Laktobasillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum* olmak üzere 7 farklı türde bakteri içeren probiyotik karışımının bireylere 6 hafta uygulanması ile açlık kan glikozunun plasebo grubuna göre ortalama 13,8±9,6 mg/dl azaldığı bulunmuştur.

Kobyliak ve arkadaşlarının (2018) 53 hasta üzerinde yaptıkları 8 haftalık çalışmalarında gruplar plasebo (n=22) ve probiyotik (n=31) olmak üzere ayrılmış ve *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Laktobasillus*, *Laktococcus* cinsi bakterileri içeren probiyotik karışımının desteği ile hastalarda insülin direncinin (HOMA-IR) %6,85' ten %5,13' e düştüğü sonucuna ulaşılmıştır.

Ejtahed ve arkadaşlarının (2012) 30-60 yaşları arasındaki tip 2 diyabetli 60 hasta üzerinde yaptığı bir çalışmada gruplardan birine 6 hafta boyunca *Laktobasillus*

acidophilus La5 ve *Bifidobacterium lactis Bb12* içeren probiyotik yoğurt verilmiş, kontrol grubuna ise normal yoğurt verilmiştir. Probiyotik katkılı yoğurt tüketenlerin normal yoğurt tüketenlere göre açlık kan glikozu ve HbA1c değerlerinin düştüğü bulunmuştur. Çalışmanın başlangıcında ortalama 145,1±44,8 mg/dl olan açlık kan glikozunun 6 haftalık takviyeden sonra ortalama 132,5±43,4 mg/dl'ye düştüğü saptanmıştır (Ejtahed vd 2012).

Probiyotiklerin glisemik kontrol üzerine etkisinin araştırıldığı ve 17 kliniğin çalışmaya dahil edildiği (n=1105) bir meta-analizde probiyotik tüketiminin plaseboya göre açlık kan glikozunu ortalama 5,6 mg/dl ve HOMA-IR değerini 0,48 mg/dl oranında istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur (Ruan vd 2015).

Ostadrhimi ve arkadaşlarının (2015) 35-65 yaş arasında 60 diyabetli hasta üzerinde yaptıkları plasebo kontrollü klinik çalışmalarında, 8 hafta boyunca hastalara içeriğinde *Streptococcus termophilus*, *Laktobasillus caseii*, *Laktobasillus acidophilus* ve *Breve lactis* bulunduran kefir verilmiştir. Hastaların çalışmanın başında ve çalışmanın sonunda açlık kan glikoz ve HbA1c seviyeleri ölçülmüştür. Probiyotik takviyesi alan hastaların açlık kan glikozu seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma görülmüş olup HbA1c seviyelerinde anlamlı olarak azalmanın olduğu tespit edilmiştir (Ostadrhimi vd 2015).

Khalil ve arkadaşlarının (2021) sıçanlarda diyabet modellemesi oluşturarak 7 gün boyunca probiyotikli yoğurt verdikleri çalışmalarında kan glikoz seviyeleri değerlendirilmiştir. Probiyotik takviyesi alan diyabetli sıçanlar ile diyabet grubu karşılaştırıldığında, probiyotik takviyesi alan sıçanların kan glikoz seviyesinde %29.75 oranında bir azalma olduğu tespit edilmiştir (Khalil vd 2021).

Wang ve arkadaşları (2020) diyabetli fareler üzerinde 6 hafta boyunca düşük doz ve yüksek doz kompozit probiyotik takviyesini uyguladıkları çalışmalarında gruplar arasında AKŞ, HbA1c ve OGTT seviyelerinde değerlendirmeler yapmışlardır. Çalışmada diyabetli farelere 6 hafta boyunca haftada 1 kez oral olarak içeriğinde 10 farklı *Laktobasillus* suşu ve 4 farklı maya suşu bulunduran probiyotik takviyesinde bulunulmuştur. Gruplar arasında yapılan glisemi değerlendirmelerinde diyabetli fareler ile karşılaştırıldığında probiyotik alan grupların OGTT sonuçlarının eğrinin altında kaldığı; AKŞ ve HbA1c seviyelerinde azalmaların olduğu görülmüştür. Yüksek doz probiyotik alan gruplarda bu farkın daha belirgin olduğu ifade edilmiştir (Wang vd 2020).

Çalışmamızda deneysel diyabet modeli oluşturduğumuz sıçanlarda yaptığımız kan glikoz ölçüm sonuçlarını gruplar arasında değerlendirdiğimizde istatistiksel olarak anlamlılık olmasa da grup PDM'ye ait STZ indüklenmesinden hemen sonra yaptığımız

kan glikoz ölçüm sonucu ile çalışma bitiminde yaptığımız ölçüm sonucu arasında azalmanın olduğunu tespit ettik. Grup DmP'de böyle bir azalmanın olduğunu göremedik. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık olmasa da probiyotik takviyesini diyabetten önce alan grubumuzda gördüğümüz kan glikoz seviyesindeki azalma sebebiyle probiyotiklerin kan glikoz seviyesi için koruyucu etkisi olduğu yönünde oluşturduğumuz hipotezimizi doğruladığımızı düşünüyoruz. Grup DmP için yaptığımız değerlendirmelerde STZ indüklenmesinden 72 saat sonraki kan glikoz seviyesine göre sakrifikasyon öncesi kan glikoz seviyesinin artmış olması sebebi ile probiyotiklerin diyabette kan glikoz seviyesinde tedavi edici etkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Glastras ve arkadaşlarının (2016) STZ ile diyabet oluşturulmuş fareler üzerinde yaptıkları çalışmalarında, diyabetin böbrek fonksiyonları üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve diyabetin 32. haftasında yaptıkları serum analizi sonucunda idrar albümin/kreatinin oranında ve serum kreatinin değerlerinde artışların olduğunu gözlemlemişlerdir.

STZ ile diyabetin oluşturulduğu bir çalışmada, 15 gün boyunca diyabetli sıçanlara *Laktobasillus plantarum KU985438* ve *Laktobasillus rhamnosus KU985439* ile fermente edilmiş yoğurtlar oral gavaj yöntemi ile verilmiş ve üre, kreatinin değerleri karşılaştırılmıştır. Çalışmada diyabetik sıçanların üre ve kreatinin konsantrasyonlarının sırası ile %147.2 ve %94.2 oranlarında arttığı, gıda takviyesi almış sıçanların üre ve kreatinin değerlerinin ise önemli ölçüde normalleşme gösterdiği bulunmuştur (Negm El-dein vd 2022).

Punaro ve arkadaşları (2014) kefirin antidiyabetik etkilerini araştırmak amacıyla STZ ile diyabet oluşturdukları sıçanlara probiyotik takviyesi olarak 8 hafta boyunca kefir uygulamışlar ve çalışmalarında sıçanların renal fonksiyonlarını serum kreatinin ve üre konsantrasyonları üzerinden değerlendirmişlerdir. Çalışmada diyabet grubu ile diyabetik kefir grubu karşılaştırıldığında kreatinin için pek bir farklılık bulunamamışken serum üre konsantrasyonunun azaldığı görülmüştür (Punaro vd 2014).

Çalışmamızda sıçanlardan alınan kanların serum analizleri yapılmış ve değerlendirilmiştir. Gruplara ait ortalama serum kreatinin, üre ve BUN değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p < 0.05$). Gruplarımıza ait üre konsantrasyonlarının gruplar arasında ikili değerlendirmeler yapıldığında grup K ile gruplarımız Dm ve PDm arasında; grup P ile grup Dm arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Diyabetli gruplarımıza ait ortalama üre konsantrasyonlarını grup K ve P ile karşılaştırdığımızda daha yüksek olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu sonucuna ulaştık. Çalışmamızda yaptığımız analizlerle grup Dm ile grup DmP'ye ait ortalama üre konsantrasyonları

karşılaştırıldığında grup DmP'nin üre konsantrasyonunun daha düşük seviyede olduğunu gördük ($p<0.05$). İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da grup PDM'nin ortalama üre konsantrasyonunun Dm'ye ait ortalama üre konsantrasyonundan daha az olduğu sonucuna ulaştık. Çalışmamızda yaptığımız değerlendirmeler probiyotik takviyesinin diyabet ile artan üre konsantrasyonunu azaltan etkisi olduğunu kanıtlayan çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Gruplarımız arasında BUN konsantrasyonlarının ortalamalarını değerlendirdiğimizde grup Dm'nin grup K ve P ile arasında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p<0.05$). Diyabetli gruplarımız Dm, DmP ve PDM'ye ait BUN konsantrasyonlarının ortalamalarını değerlendirdiğimizde istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da probiyotik takviyesi alan gruplarımız DmP ve PDM'ye ait BUN değerlerinin Dm'ye kıyasla daha düşük olduğu sonucuna ulaştık.

Kreatinin konsantrasyonu bakımından gruplarımızın ortalamaları karşılaştırıldığında sadece grup P ve PDM arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p<0.05$). Grup PDM'nin kreatinin seviyesinin daha yüksek olduğunu gözledik. Diyabetli gruplarımız olan Dm, DmP ve PDM ile grup K'nın kreatinin konsantrasyonlarını karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlılık olmasa da diyabetli grupların kreatinin değerlerinin daha yüksek olduğu sonucunu elde ettik.

STZ pankreasın beta hücrelerini harabiyete sebep olur ve hiperglisemi bu sebepten oluşur (Bell ve Hye 1983). Hipergliseminin bir sonucu olarak dokularda reaktif oksijen radikalleri üretimi artar, bu da oksidatif strese sebep olur. Diyabette, antioksidan enzim seviyelerinin azalması da oksidatif stres oluşturabilmektedir (Lipinski 2001).

Diyabet ile ilgili antioksidan-oksidan dengesini değerlendirmek için yapılan çalışmalarda diyabetin bu dengeyi bozduğu kabul edilen bir gerçek olup diyabette antioksidan enzimlerin artmasının veya azalmasının sebepleri arasında diyabet süresinin uzunluğu, enzim çalışması yapılan doku, çalışılan enzimin türü gibi birçok faktör olabilmektedir (Kleczkowski vd 2003).

Düzgüner ve Kaya'nın (2007) deneysel diyabet modeli çalışmalarında antioksidan enzimlerin diyabette azaldığı ve bunun sebebinin hiperglisemi kaynaklı oluşan hücredeki lipid peroksidasyonun artışı olduğu tespit edilmiştir. Glikolizasyonda oluşan lipid peroksitler ve serbest radikaller, antioksidan-oksidan dengesini bozar ve antioksidanları inaktive eder (Düzgüner ve Kaya 2007).

Çalışmamızın bitiminde yaptığımız TAS ve TOS değerlerinin ortalamasında sadece TAS değeri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulduk ($p<0.05$). TAS değerlerini gruplar arasında ikili olarak karşılaştırdığımızda grup K ile diyabetli gruplarımız DmP, Dm ve PDM arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit ettik

($p < 0.05$). Yaptığımız değerlendirmeler sonucunda diyabetli gruplarımıza ait TAS değerlerinin kontrol grubuna kıyasla daha düşük olması sebebiyle diyabette antioksidanların azaldığını ve diyabetin antioksidan-oksidan dengesini bozduğunu tespit ettik. Diyabetli gruplarımız arasında yaptığımız değerlendirmede probiyotik takviyesinin diyabet ile azalan antioksidan seviyelerine herhangi bir etkisini göremedik.

Çalışmamızda grupların TOS değerlerini gruplar arasında karşılaştırdığımızda anlamlı olarak farklılıklar göremedik. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da sadece probiyotik alan grubumuz P'ye ait TOS değerinin gruplar arasında en az seviyede olması probiyotiklerin antioksidan etkisini desteklemektedir.

Diyabette lipid peroksidasyonunun hücrede artması ile glomerül membran permeabilitesinde bozukluk oluşur ve diyabetin böbrek dokusunda patolojik etkileri görülmeye başlar. Gilbert ve Cooper'ın (1999) çalışmalarında diyabetik böbreklerde bazal membranın kalınlaşması ve mezengial matriksin artışı görülmüştür. Böbreklerin fonksiyonlarındaki hasarın asıl sebebi ise diyabetin sebep olduğu tübüler atrofi, tübüler dilatasyon, epitelyal dökülmeler ve nekroz benzeri hasarlardır.

Glastras ve arkadaşlarının (2016) yapmış oldukları 32 haftalık diyabetli fareler üzerindeki çalışmada diyabetli farelerin böbrek dokularındaki tübüler atrofiler, inflamasyon alanları ve bazal membranın kalınlaşması veya buruşması gibi histopatolojik bulgular PAS+ boyama ile gösterilmiştir. Çalışmada yüksek doz STZ ve yüksek yağlı diyet verilen farelerin böbrek tübüllerinde tübüler vakuolizasyon ve dilatasyona sıkça rastlandığı görülmüştür (Glastras vd 2016).

Ketani ve arkadaşları (2015), STZ ile sıçanlar üzerinde deneysel diyabet modellemesi oluşturmuşlardır. Deney diyabetin 7, 14 ve 21. günlerinde sonlandırılmış böbrek dokuları histokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Diyabetik böbrek kesitlerinde yapıtları PAS+ boyamada diyabet ile birlikte fırçamsı kenar kayıpları görülmüş aynı zamanda diyabetin tübüllerde epitel dökülmesine sebep olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Ketani vd 2015).

Vardı ve arkadaşlarının (2005) STZ ile oluşturdukları diyabetik rat modelinde, böbrek dokusu histokimyasal ve immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. 8 haftalık diyabetli sıçanların böbrek tübüllerinde hücre vakuolizasyonu ve Bowman aralığında belirgin bir artış gözlenmiştir. Çalışmada yaptıkları PAS+ boyama ile kapiller bazal membranındaki kalınlaşmaları göstermişlerdir (Vardı vd 2005).

STZ indüklemesi ile oluşturulan 6 haftalık diyabetik sıçanlarda böbrek dokuları MTK ile histokimyasal olarak değerlendirilen çalışmaya diyabetik sıçan böbreklerine ek olarak diyabetik nefropatili insan katılımcıların da böbrek dokuları biyopsi alınarak çalışmaya dahil edilmiştir. Yapılan değerlendirmelerde diyabetik nefropatinin evreleri 2,

3 ve 4 olarak belirlenmiş MTK boyama yapılan böbrek dokularında nefropatinin ilerlemesi ile kollajen birikiminin artışı mavi renkte lekenlenmenin artması ile tespit edildiği belirtilmiştir (Lu vd 2021).

Wang ve arkadaşları (2020) diyabetli fareler üzerinde 6 hafta boyunca düşük doz ve yüksek doz kompozit probiyotik takviyesini uyguladıkları çalışmalarında böbrek dokusunu histopatolojik olarak değerlendirmişlerdir. Diyabetli böbrek dokularında gördükleri glomerüllerdeki atrofilerin, tübüllerdeki epitel dökülmelerinin ve Bowman kapsülündeki genişlemenin probiyotik takviyesi ile tersine çevrildiği sonucuna ulaşmışlardır (Wang vd 2020).

Punaro ve arkadaşlarının (2014) STZ ile diyabet oluşturdukları sıçanlarda 8 hafta boyunca uygulanan kefir takviyesinin böbrek dokusunda antidiyabetik etkilerini inceledikleri çalışmalarında, diyabetik renal tübüllerde glikojen birikimi olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada 8 haftalık kefir takviyesi alan diyabetli grubun renal tübüllerindeki glikojen birikiminin diyabetik tübüllere kıyasla daha az olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Punaro vd 2014).

Khalil ve arkadaşlarının (2021) sıçanlarda diyabet modellemesi oluşturarak 7 gün boyunca probiyotikli yoğurt verdikleri çalışmalarında böbrek dokuları histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada diyabetli sıçanların böbrek dokusunda tübüllerin epitelinde vakuolizasyonlar, tübüllerde dilatasyon ve infiltrasyon alanları görülmüştür. 7 gün boyunca probiyotik yoğurt takviyesi alan diyabetli sıçanların böbrek dokularında ise diyabete ait histopatolojik bulguların arasında yer alan renal tübüllerin epitelinde vakuolizasyonlar ve inflamasyon alanlarının devam ettiği sonucuna ulaşılmıştır (Khalil vd 2021).

Yapılan çalışmalarda diyabetik böbrek dokusunda elde edilen histopatolojik bulgulara benzer olarak biz de diyabetli böbrek dokularımızda tübüler atrofilere, dilatasyona, hücrelerde vakuolizasyona, pignotik çekirdeklere, epitelyal dökülmelere, bazal membran kalınlaşmasına ve inflamasyon alanlarına rastladık. Çalışmamızda diyabetin Bowman kapsülünün bazal membran kalınlığına etkilerini görmek için PAS+ boyama yöntemine ek olarak membranların kalınlıklarını ölçtük ve istatistiksel analizlerini yaptık. Gruplarımız arasında yaptığımız analizler sonucunda Bowman kapsülü bazal membranlarının ortalama kalınlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulduk ($p < 0.05$). Diyabetli gruplarımıza ait böbreklerin Bowman kapsülü bazal membran kalınlıklarında artış olduğunu tespit ettik. Probiyotik tedavisi verilen diyabet grubumuzun bazal membran kalınlaşmasının diğer diyabetli gruplarımızdan daha az olduğunu gözledik.

Ketani ve arkadaşlarının (2015) yaptıkları çalışmaya paralel olarak diyabetin böbrek dokusundaki etkilerini incelemek için kullandığımız PAS+ boyama yöntemi ile yaptığımız histokimyasal değerlendirmeler sonucunda diyabetin böbrek dokusunda fırçamsı kenarlarda azalmaya sebebiyet verdiğini gözlemledik.

Vardı ve arkadaşlarının (2005) diyabetli böbrek dokularında gördükleri Bowman boşluğundaki genişlemeleri yaptığımız histokimyasal değerlendirmeler sonucunda preparatlarımızda biz de gözlemledik. Çalışmamızda yapmış olduğumuz diyabetli sıçanlara probiyotik takviyesi ile Bowman boşluğundaki genişlemelerin ve glomerüllerdeki atrofilerin azaldığını tespit ettik. Elde ettiğimiz bu bulgular Wang ve arkadaşlarının (2020) çalışmaları ile paralellik göstermektedir.

Lu ve arkadaşlarının (2021) böbrek dokusunda yaptıkları MTK' nın diyabetik nefropatinin ilerlemesi ile mavi lekelenmenin arttığını tespit ettikleri çalışmalarına benzer olarak çalışmamızda yaptığımız MTK boyamanın histokimyasal değerlendirilmesinde diyabet ile preparatlarımızda mavi lekenmenin arttığını tespit ettik. Fakat hastalık modelimizin diyabetik nefropatiye kadar ilerlememesi sebebi ile mavi lekelenmeleri daha az yoğunlukta gördüğümüzü düşünmekteyiz. Bu değerlendirmeler sonucunda diyabetik böbreklerde kollajen birikiminin arttığı sonucuna ulaşmış bulunmaktayız.

Apoptozun düzenleyicisi olarak bilinen Bcl-2 ailesi antiapoptik üyeleri mitokondrinin membranının dışında yer alır. Kikuchi ve arkadaşları (2002), sıçanlarda yaptıkları diyabet çalışmasında diyabetin erken evresinde böbreğin proksimal tübüllerinde Bcl-2 ekspresyonunun azaldığını göstermişlerdir. Bu çalışmada diyabetin erken döneminde yüksek glikoz seviyesinin proksimal tübüllerde apoptotik değişikliklere neden olurken glomerül ve distal tübüllerde apoptotik herhangi bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir (Kikuchi vd 2002).

Sengül ve arkadaşlarının (2019) sıçanlarda yaptıkları 7 günlük çalışmalarında sisplatinin böbrek dokusunda oluşturduğu hasara karşı probiyotiklerin etkilerini incelemişler ve çalışmada Bcl-2 immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada böbrek dokusunda sisplatin ile azalan Bcl-2 ekspresyonunun probiyotik takviyesi ile arttığını tespit etmişlerdir (Sengül vd 2019).

Li ve arkadaşları (2022) farelerde STZ ile diyabet oluşturmuş ve diyabetik böbrekler Bcl-2'nin ekspresyonuna bakılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada 12 hafta boyunca diyabet izlenmiştir. Diyabetik böbreklerde kontrol grubuna kıyasla Bcl-2 ekspresyonunun azaldığı görülmüştür. Çalışmada diyabetli böbreklerde podosit apoptozunun arttığı ve Bcl-2'nin anti-apoptotik bir belirteç olduğu kanıtlanmıştır (Liv d 2022).

Bu çalışmalara benzer (Kikuchi vd 2002, Li vd 2022) şekilde çalışmamızda yaptığımız immünohistokimyasal boyamalarla Bcl-2 ekspresyonunun diyabetik böbreklerde azaldığını gördük. Sengül ve arkadaşlarının (2019) çalışmasına paralel olarak probiyotik takviyesi verdiğimiz diyabetli gruplarımızda ekspresyon düzeyinin diyabet grubuna göre Image-J programı ile yaptığımız değerlendirmeler sonucunda arttığını gözledik. Özellikle distal tübüllerde Bcl-2 ekspresyon yoğunluğunun daha fazla olduğunu gözledik.

Garcia-Arroyo ve arkadaşları (2018) sıçanlarda oksonoik asit ile indüklenmiş hiperürisemide oluşan böbrek hasarına karşı 5 hafta probiyotik takviyesi verdikleri çalışmalarında alfa-SMA'yı immünohistokimyasal olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmada böbrek dokusunda arteriyol duvar alanlarının alfa-SMA ile pozitif boyandığını görmüşler ve probiyotik takviyesi ile alfa-SMA'nın böbreğin arteriyol duvarlarında ekspresyonunun azaldığı sonucuna ulaşmışlardır (Garcia-Arroyo vd 2018).

Manaer ve arkadaşlarının (2021) yüksek yağlı, şekerli diyet ve STZ indüklemesi ile oluşturdukları 6 haftalık diyabetik sıçanlarda böbrek dokuları alfa-SMA ile immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada diyabetik sıçan böbreklerine ek olarak diyabetik nefropatili insan katılımcıların da böbrek dokuları biyopsi alınarak çalışmaya dahil edilmiştir. Yapılan değerlendirmelerde diyabetik nefropatinin evreleri 2, 3 ve 4 olarak belirlenmiştir. İmmünohistokimyasal değerlendirme için alfa-SMA'nın ekspresyon seviyelerine bakılmış, diyabetik nefropatinin ilerlemesi ile alfa-SMA ekspresyonunun böbrek dokularında arttığı gözlenmiştir (Manaer vd 2021).

Çalışmamızda alfa-SMA'nın immünohistokimyasal değerlendirmelerini yaptık ve diyabet ile alfa-SMA ekspresyonunun böbrek dokusunda arttığını tespit ettik. Yaptığımız değerlendirmelerin diğer çalışmalarla (Garcia-Arroyo vd 2018, Lu vd 2021) paralel olduğunu ve probiyotik takviyesi alan diyabetli gruplarımızda alfa-SMA ekspresyonunun azaldığını gözledik.

6.SONUÇ

Çalışmamızda sıçanlara uyguladığımız diyabet indüklemesi ve probiyotik takviyesinin böbrek dokusunda etkilerini değerlendirdik. Yaptığımız vücut ağırlığı ölçüm sonuçlarını karşılaştırdığımızda sıçanlarda 4 haftalık diyabet süresinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diyabetin vücut ağırlığında azalmalara sebep olduğunu gördük fakat diyabette probiyotik takviyesinin kilonun kaybı veya kazanımında herhangi bir etkisinin olmadığını düşünüyoruz. Elde ettiğimiz bulgulara dayanarak diyabet ile birlikte uygulanan probiyotik takviyesinin diyabette oluşan hızlı kilo kaybını önlediği sonucuna ulaştık. Böbrek ağırlıklarını değerlendirdiğimizde diyabet ve probiyotiğin böbrek ağırlığı üzerine herhangi bir etkisi olmadığını tespit ettik.

Çalışmamızda deneysel diyabet modeli oluşturduğumuz sıçanlarda yaptığımız kan glikoz ölçüm sonuçlarını gruplar arasında değerlendirdiğimizde istatistiksel olarak anlamlılık olmasa da diyabetten önce probiyotik takviyesi alan grubumuzda azalma; diyabet ile birlikte probiyotik alan grubumuzda da artış tespit ettik. Elde ettiğimiz bulgulara dayanarak probiyotiğin diyabette koruyucu etkisinin olduğu fakat tedavi edici bir etkisinin olmadığı sonucuna ulaştık.

Çalışmamızda sıçanlardan alınan kanların serum analizleri yapıldı ve değerlendirildi. Gruplara ait ortalama serum kreatinin, üre ve BUN değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulduk ($p < 0.05$). Diyabet ile birlikte üre, kreatinin ve BUN değerlerinin arttığını gördük. Diyabetli gruplarda yaptığımız değerlendirmelerde probiyotiklerin diyabet ile artan üre konsantrasyonunu düşürdüğünü tespit ettik. Diyabet ile birlikte probiyotik takviyesi alan grubumuzda bu azalma istatistiksel olarak anlamlıydı. Bu sonuca dayanarak diyabette artan üre konsantrasyonunda probiyotiklerin tedavi edici etkisinin koruyucu etkisine kıyasla daha fazla olduğunu tespit ettik. BUN konsantrasyonlarının ortalamalarını gruplar arasında değerlendirdiğimizde diyabette artan BUN seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da probiyotik takviyesi ile azaldığı sonucuna ulaştık. Kreatinin konsantrasyonlarını değerlendirdiğimizde ise diyabet ile kreatinin seviyesinin arttığını fakat probiyotiklerin herhangi bir etkisinin olmadığını gördük.

Çalışmamızda serum kan örneklerinden elde ettiğimiz TAS ve TOS değerlerinden sadece TAS için istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit ettik ($p<0.05$). Diyabet gruplarında TAS'ı azaltmıştır fakat TOS için herhangi bir tespite bulunamadık. Probiyotığın diyabet ile azalan TAS seviyesine herhangi bir etkisini göremedik. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da sadece probiyotik takviyesi alan grubumuzda TOS seviyesinin en düşük olması probiyotiklerin antioksidan etkisini göstermektedir. Yaptığımız TAS TOS analizlerini dokuda değil de kan serum örneklerinden yapmamız sebebi ile sağlıklı sonuçlar elde edemediğimizi düşünüyoruz.

Çalışmamızda böbrek dokularını H&E, MTK ve PAS+ boyamalarla histokimyasal, Bcl-2 ve alfa-SMA antikoları ile immünohistokimyasal olarak değerlendirdik. Yaptığımız histokimyasal değerlendirmelerde diyabet ile birlikte böbrek dokusunda tübüler ve glomerüler atrofilere, tübüler dilatasyona, hücrelerde vakuolizasyona, bazal membran kalınlaşmasına, epitel dökülmelerine, fırçamsı kenar kayıplarına, Bowman boşluğunda genişlemelere ve inflamasyon alanlarına rastladık. Çalışmamızda Bowman kapsülü bazal membranını PAS+ boyama yöntemi ve membran kalınlıklarını ölçerek değerlendirdik. Diyabet ile Bowman kapsülü bazal membranın kalınlığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış olduğunu tespit ettik ($p<0.05$).

Böbrek dokusu preparatlarımızda yaptığımız değerlendirmelerde probiyotiklerin diyabet ile gördüğümüz histopatolojik bulguları azalttığını gözlemledik. Probiyotikler böbrek dokusunda diyabette oluşan glomerül atrofilerini, Bowman boşluğundaki genişlemeleri, inflamasyon alanlarını azaltmıştır.

Çalışmamızda yaptığımız immünohistokimyasal boyamalar ile böbrek dokularında Bcl-2 ve alfa-SMA'nın ekspresyon düzeylerini değerlendirdik. Böbrek dokusunda diyabet ile birlikte Bcl-2'nin ekspresyonu azalırken probiyotik takviyesi ile ekspresyon seviyesinin artma eğiliminde olduğunu gördük. Çalışmamızda Bcl-2'nin ekspresyonunu distal tübüllerde daha fazla gördük. Alfa-SMA için yaptığımız immünohistokimyasal değerlendirmelerde ise diyabette alfa-SMA ekspresyonun arttığı sonucuna ulaştık. Probiyotik alan diyabetli gruplarda ise alfa-SMA ekspresyonu azalma eğilimindeydi.

Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edememe sebebimizin gruplardaki sıçan sayısının yetersiz olmasına bağlıyoruz. Deney süremizin kısıtlı olması sebebi ile diyabet hastalığı ve probiyotik takviyesi süreleri kısa tutulmuş, bu durumun da sonuçlarımıza yansıdığını düşünüyoruz. Bu nedenle denek sayılarının daha fazla ve süre bakımından daha uzun probiyotik takviyesi verilerek değerlendirilecek çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

7.KAYNAKÇA

Al-Shabanah OA, Aleisa AM, Al-Yahya AA, Al-Rejaie SS, Bakheet SA, Fatani AG, et al.

Increased urinary losses of carnitine and decreased intramitochondrial coenzyme A in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Nephrol Dial Transplant*. 2010; 25: s. 69-76.

Alp, H., Varol, S., Celik, M. M., Altas, M., Evliyaoglu, O., Tokgoz, O., Tanrverdi, M. H., & Uzar, E. (2012). Protective effects of beta glucan and gliclazide on brain tissue and sciatic nerve of diabetic rats induced by streptozosin. *Experimental Diabetes Research*, 2012.

Alphan ME, (2013). "Diabetes Mellitus ve Beslenme Tedavisi", Hastalıklarda Beslenme Tedavisi, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, s.385-415.

Bell, R. H., & Hye, R. J. (1983). Animal models of diabetes mellitus: Physiology and pathology. *Journal of Surgical Research*, 35(5), s 433-460.

Büyükdevrim A.S, Büyükbeşe M.A, Davutoğlu M. (2005) Diyabetik nefropati. Klinik moleküler patogenezi klasik ve moleküler tedavi. Turgut yayıncılık, İstanbul, s 136–342.

Cai, X., Wang, L., Wang, X., & Liu, S. (2017). Effect of high dietary fiber low glycemic index diet on intestinal flora, blood glucose and inflammatory response in T2DM patients. *Biomedical Research (India)*, 28(21), s 9371-9375.

Calcinaro, F., Dionisi, S., Marinaro, M., Candeloro, P., Bonato, V., Marzotti, S., Corneli, R. B., Ferretti, E., Gulino, A., Grasso, F., De Simone, C., Di Mario, U., Falorni, A., Boirivant, M., & Dotta, F. (2005). Oral probiotic administration induces interleukin-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Diabetologia*, 48(8), s 1565-75.

Chen, H. W., Yang, M. Y., Hung, T. W., Chang, Y. C., & Wang, C. J. (2019). Nelumbo nucifera leaves extract attenuate the pathological progression of diabetic nephropathy in high-fat diet-fed and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(3).

Dunne, C. 2001. Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder. *Inflamm. Bowel Dis.*(7), s 136-145.

Duzguner, V., & Kaya, S. (2007). Effect of zinc on the lipid peroxidation and the antioxidant defense systems of the alloxan-induced diabetic rabbits. *Free radical biology & medicine*, 42(10), 1481–1486.

- Ejtahed, H. S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari-Jafarabadi, M., & Mofid, V. (2012). Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition*, 28(5), s 539-43.
- Eroschenko V. P., Di Fiore M. S. DiFiore's atlas of histology with functional correlations: Lippincott Williams & Wilkins, 2013, s. 477-488.
- Eşrefoğlu M, özel histoloji, 2021, 3. baskı ISBN yayınları, sf 170-174.
- Ewaschuk, J. B. and Dieleman, L. A. (2006). Probiotics and prebiotics in chronic inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastroenterology*. (12), s 5941-5950.
- Falcinelli, S., Rodiles, A., Hatef, A., Picchiatti, S., Cossignani, L., Merrifield, D. L., Unniappan, S., & Carnevali, O. (2018). Influence of Probiotics Administration on Gut Microbiota Core A Review on the Effects on Appetite Control, Glucose, and Lipid Metabolism. *Journal of Clinical Gastroenterology*, (52), s 50-56.
- Gaikwad K, D. P. (2012). A review on some nephroprotective medicinal plants. *Int J Pharm Pharm Sci* 3, s 2451-2454.
- Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 17), S 6275.
- García-Arroyo, F. E., Gonzaga, G., Muñoz-Jiménez, I., Blas-Marron, M. G., Silverio, O., Tapia, E., Soto, V., Ranganathan, N., Ranganathan, P., Vyas, U., Irvin, A., Ir, D., Robertson, C. E., Frank, D. N., Johnson, R. J., & Gabriela Sánchez-Lozada, L. (2018). Probiotic supplements prevented oxonic acid-induced hyperuricemia and renal damage. *PLoS ONE*, 13(8).
- Gilbert, R. E., & Cooper, M. E. (1999). The tubulointerstitium in progressive diabetic kidney disease: More than an aftermath of glomerular injury? *Kidney International*, 56(5).
- Glastras, S. J., Chen, H., Teh, R., McGrath, R. T., Chen, J., Pollock, C. A., Wong, M. G., & Saad, S. (2016). Mouse models of diabetes, obesity and related kidney disease. *PLoS ONE*, 11(8). eo16131.
- Gómez, G. I., & Velarde, V. (2018). Boldine improves kidney damage in the goldblatt 2K1C model avoiding the increase in TGF- β . *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7). 1864.
- Hasler CM. (2002). Functional foods: benefits, concerns and challenges – a position paper from the American Council on Science and Health. *J Nutr*; 132: s 3772- 3781.
- Hosseinzadeh, P., Javanbakht, M. H., Mostafavi, S. A., Djalali, M., Derakhshanian, H., Hajianfar, H., Bahonar, A., & Djazayeri, A. (2013). Brewer's yeast improves glycemic indices in type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Preventive Medicine*, 4(10).
- Junqueira L. Carneiro J (Çeviri: Y. Aytakin, S. Solakoğlu). *Temel Histoloji*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 332-344, 2006; s. 294-305.
- Jiang T, Zhou QS, Pi L, et al. . Role of angiotensin II and JAK2 signal pathway in transdifferentiation of renal tubular cells in mice after acute ischemic followed by reperfusion. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2009;38:s 466–471.
- Jones, R. B., Alderete, T. L., Martin, A. A., Geary, B. A., Hwang, D. H., Palmer, S. L., & Goran, M. I. (2018). Probiotic supplementation increases obesity with no detectable effects on liver fat or gut microbiota in obese Hispanic adolescents: a 16-week, randomized, placebo-controlled trial. *Pediatric Obesity*, 13(11). S 705-14.

- Kamarlı Altun, H. & Akal Yıldız, E. (2017). Relationship Between Prebiotics-Probiotics and Diabetes Mellitus . *Turkish Journal of Life Sciences* , 2 (1) , 149-156 .
- Ketani, M.A., Kadiroğlu, B., Karakoç Z. Deneysel Diyabetin Sıçan Böbreklerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler Üzerine Melatoninin İyileştirici Etkileri. *Dicle Üniv Vet Fak Derg* 2015: :2(1): 30-37.
- Khalil, N.A., Eltahan, N.R., Elaktash, H.M., Aly, S. and Sarbini, S.R., 2021. Prospective evaluation of probiotic and prebiotic sup-plementation on diabetic health associated with gut micro-biota. *Food Bioscience* 42: 101149.
- Kikuchi Y, Nonoguchi H, Machida K, et al. Regulation of The Apoptosis-related Genes, Bax and Bcl2, in the Early Stage of Diabetes Mellitus. *Nephrology* 2002; 7: s 294-302.
- Kierszenbaum AL. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Demir R (Çeviri Editörü). 2006. 1. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık: 366–390.
- Kleczkowski M, Klucinski W, Sikora J, Zdanowicz M, Dziekan P. Role of antioxidants in protection against oxidative stress in cattle non-enzymatic mechanisms (Part 2). *Pol J Vet Sci*. 2003; 6(4):301-308.
- Kim, I. Y., Kim, S. S., Lee, H. W., Bae, S. S., Ha, H. K., Jung, E. S., Lee, M. Y., Han, M., Rhee, H., Seong, E. Y., Lee, D. W., Lee, S. B., Lovett, D. H., & Song, S. H. (2018). The two isoforms of matrix metalloproteinase- 2 have distinct renal spatial and temporal distributions in murine models of types 1 and 2 diabetes mellitus. *BMC Nephrology*, 19(1).
- Kobyliak, N., Falalyeyeva, T., Mykhalchyshyn, G., Kyriienko, D., & Komissarenko, I. (2018). Effect of alive probiotic on insulin resistance in type 2 diabetes patients: Randomized clinical trial. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 12(5).s 617-24.
- Li, A., Yi, B., Han, H., Yang, S., Hu, Z., Zheng, L., Wang, J., Liao, Q., & Zhang, H. (2022). Vitamin D-VDR (vitamin D receptor) regulates defective autophagy in renal tubular epithelial cell in streptozotocin-induced diabetic mice via the AMPK pathway. *Autophagy*, 18(4). s 877-90.
- Li, X., Wang, N., Yin, B., Fang, D., Jiang, T., Fang, S., Zhao, J., Zhang, H., Wang, G., & Chen, W. (2016). Effects of *Lactobacillus plantarum* CCFM0236 on hyperglycaemia and insulin resistance in high-fat and streptozotocin-induced type 2 diabetic mice. *Journal of Applied Microbiology*, 121(6). s 1727-36.
- Lipinski, B. (2001). Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 15(4), s 203-10.
- Lu, L., Zhong, Z., Gu, J., Nan, K., Zhu, M., & Miao, C. (2021). ets1 associates with KMT5A to participate in high glucose-mediated EndMT via upregulation of PFN2 expression in diabetic nephropathy. *Molecular Medicine*, 27(1), s
- Manaer, T., Yu, L., Nabi, X. H., Dilidaxi, D., Liu, L., & Sailike, J. (2021). The beneficial effects of the composite probiotics from camel milk on glucose and lipid metabolism, liver and renal function and gut microbiota in db/db mice. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1).
- Million M, Angelakis E, Paul M, et al. Comparative metaanalysis of the effect of *Lactobacillus* species on weight gain in humans and animals. *Microb Pathog* 2012; 53:s 100-108.
- Moore K. L., Persaud T. V. N., Torchia M. G. *Before We are Born E-Book: Essentials of Embryology and Birth Defects with STUDENT CONSULT Online Access: Elsevier Health Sciences*. 2015, s. 175-180

- Moreno-Indias, I., Cardona, F., Tinahones, F. J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2014). Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 5, Issue APR).
- Negm El-Dein, A., Ezzat, A., Aly, H. F., Awad, G., & Farid, M. (2022). Lactobacillus-fermented yogurt exerts hypoglycemic, hypocholesterolemic, and anti-inflammatory activities in STZ-induced diabetic Wistar rats. *Nutrition Research*, 108, s 22-32.
- Ostadrahimi, A., Taghizadeh, A., Mobasser, M., Farrin, N., Payahoo, L., Beyramalipoor Gheshlaghi, Z., & Vahedjabbari, M. (2015). Effect of probiotic fermented milk (Kefir) on glycemic control and lipid profile in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Iranian Journal of Public Health*, 44(2), s 228-237.
- Punaro, G. R., Maciel, F. R., Rodrigues, A. M., Rogero, M. M., Bogsan, C. S. B., Oliveira, M. N., Ihara, S. S. M., Araujo, S. R. R., Sanches, T. R. C., Andrade, L. C., & Higa, E. M. S. (2014). Kefir administration reduced progression of renal injury in STZ-diabetic rats by lowering oxidative stress. *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*, 37(1), s 53-60.
- Ratna Sudha, M., Ahire, J. J., Jayanthi, N., Tripathi, A., & Nanal, S. (2019). Effect of multi-strain probiotic (UB0316) in weight management in overweight/obese adults: A 12-week double blind, randomised, placebo-controlled study. *Beneficial Microbes*, 10(8), s 855-66.
- Razmpoosh, E., Javadi, A., Ejtahed, H. S., Mirmiran, P., Javadi, M., & Yousefinejad, A. (2019). The effect of probiotic supplementation on glycemic control and lipid profile in patients with type 2 diabetes: A randomized placebo controlled trial. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 13(1), s 228-37.
- Ren, X., Guan, G., Liu, G., & Liu, G. (2009). Irbesartan ameliorates diabetic nephropathy by reducing the expression of connective tissue growth factor and alpha-smooth-muscle actin in the tubulointerstitium of diabetic rats. *Pharmacology*, 83(2), s 80-87.
- Renno, W. M., Abdeen, S., Alkhalaf, M., & Asfar, S. (2008). Effect of green tea on kidney tubules of diabetic rats. *The British journal of nutrition*, 100(3), 652–659.
- Ross M. H., Pawlina W. (2011) Histology a text and atlas 6th edition. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business; s. 698-719.
- Ruan, Y., Sun, J., He, J., Chen, F., Chen, R., & Chen, H. (2015). Effect of probiotics on glycemic control: A systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *PLoS ONE*, 10(7), e0132121.
- Salminen SJ, Gueimonde M, Isolauri E. Probiotics that modify disease risk. *J Nutr* 2005;135: s. 1294-1298.
- Sadler TW. Langman's Medical Embryology, Lippincott Williams & Wilkins (Wolters Kluwer), Baltimore, MD, USA, 2012, s. 313-326.
- Sang, L. X., Chang, B., Wang, B. Y., Liu, W. X., & Jiang, M. (2015). Live and heat-killed probiotic: Effects on chronic experimental colitis induced by dextran sulfate sodium (DSS) in rats. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(11), 20072–20078.
- Sengul, E., Gelen, S. U., Yildirim, S., Çelebi, F., & Çinar, A. (2019). Probiotic bacteria attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 9(3), s 116-112.
- Şeftalioğlu A. (1998). Genel&Özel İnsan Embriyolojisi. 3.Baskı, Ankara, Tıp&Teknik Yayıncılık: s. 328–334.

- Vardı, N. , Iraz, M. , Öztürk, F. , Uçar, M. , Gül, M. , Eşrefoğlu, M. & Otlı, A. (2005). Deneysel Diyabetin Sıçan Böbreklerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler Üzerine Melatoninin İyileştirici Etkileri . *Journal of Turgut Ozal Medical Center* , 12 (3) , 145-152.
- Wang, Y., Dilidaxi, D., Wu, Y., Sailike, J., Sun, X., & Nabi, X. hua. (2020). Composite probiotics alleviate type 2 diabetes by regulating intestinal microbiota and inducing GLP-1 secretion in db/db mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 125.
- Yadav, H., Jain, S., & Sinha, P. R. (2007). Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats. *Nutrition*, 23(1), s 62-68.
- Yun, S. I., Park, H. O., & Kang, J. H. (2009). Effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 on blood glucose levels and body weight in a mouse model of type 2 diabetes. *Journal of Applied Microbiology*, 107(5), s 1681–1686.
- Zafar, M., Naeem-ul-Hassan Naqvi, S., Ahmed, M., & Kaimkhani, Z. A. (2009). Altered Kidney Morphology and Enzymes in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *International Journal of Morphology*, 27(3), 783-90.

8.ÖZGEÇMİŞ

02.02.1997 tarihinde Aydın Söke'de dünyaya gelen Zülal YEŞİL ilk ve orta öğrenimini Hürriyet İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini Aydın Süleyman Demirel Anadolu Lisesi'nde tamamlamıştır. 2020 yılının Haziran ayında Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nü bitirmiştir. 2020 yılının Eylül ayında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır. 2023 yılının Haziran ayında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimini tamamlamıştır.

9.EKLER