



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.  
2013; 27 (1): 27 - 32  
http://www.fusabil.org

Tuncay KULOĞLU  
Nevin KOCAMAN

Fırat Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi,  
Histoloji Embriyoloji  
Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

### Enalapril Uygulanan Diyabetik Sıçan Böbrek Dokularında TRPM2 Kanal İmmünreaktivitelerinin Belirlenmesi

**Amaç:** Diyabet hayat boyu süren, hastanın yaşam kalitesini azaltan, morbiditesi ve mortalitesi yüksek kronik metabolik bir hastalıktır. Bu çalışmada streptozotosin (STZ) ile oluşturulan diyabetik sıçan modelinde böbrek hasarı üzerine enalaprilin etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla apoptotik süreçte etkili olan melastatine bağlı transient receptor potential 2 (TRPM2) iyon kanallarının immünreaktivitesi belirlendi.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada 21 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan 3 gruba ayrıldı. Kontrol (Grup I) grubundaki deney hayvanlarına deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Diyabetik (Grup II) gruba 60 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0,1 M fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4.5) çözülürerek intraperitoneal yolla uygulandı. Grup III'teki sıçanlara diyabet oluşuktan sonra 10 hafta süre ile 5 mg/kg/gün enalapril oral yoldan verildi. Deneyin 10. haftasında tüm gruplardaki sıçanlar dekapite edildi. Böbrek dokuları %10'luk formaldehite alındı ve parafin bloklar hazırlandı. 5 µm 'lik parafin kesitlere avidin-biyotin peroksidaz metodu uygulanarak TRPM2 iyon kanalı immünreaktivitesi değerlendirildi. İmmünreaktivitenin şiddeti ve yaygınlığı +1 zayıf, +2 orta dereceli, +3 şiddetli olarak skorlanıp semi-kantitatif olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopik incelenmesinde, TRPM2 immünreaktivitesi, kontrol grup böbrek dokularında hafif şiddetli (+1) iken diyabetik böbrek dokusunda oldukça yaygın ve şiddetli (+3) olarak gözlemlendi. Tedavi grubundaki böbrek dokularında ise immünreaktivite orta dereceli +2 şiddetinde ayırt edildi.

**Sonuç:** Bu çalışmanın sonuçları enalapril uygulamasının, apoptotik süreçte ve diyabetik nefropati gelişiminde etkili olduğu düşünülen TRPM2 kanal immünreaktivitesini azaltarak diyabetik renal hasara karşı koruyucu etki sağladığını gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabetik nefropati, enalapril, TRPM2, immünohistokimya.

#### Determination of Renal TRPM2 Channels Immunoreactivities in Enalapril Administrated Diabetic Rats

**Objective:** Diabetes is a lifetime metabolic disease which reduces quality of life and increases morbidity and mortality. In this study, it was aimed to investigate the effects of enalapril on renal damage in Streptozotocin (STZ) induced diabetic rat model. For this purpose, immune reactivity of melastatine-depended Transient Receptor Potential-2 (TRPM2) ion channels which have important effects on apoptotic process, were determined.

**Material and Methods:** A total of 21 adult- Wistar Albino male rats were divided into 3 groups. The rats in the first group were used as control. The second group of rats were injected a single dose of 60 mg/kg STZ intraperitoneally, dissolved in phosphate-citrate buffer (pH:4.5), whereas third group of rats were the enalapril administered group (5 mg/kg/day oral for 10 weeks) following diabetes. All rats were decapitated at the end of 10 weeks. Renal tissue were placed into the 10% formaldehyde and embedded in paraffin blocks. The avidin-biotin-peroxidase method was applied into the 5 µm paraffin section to evaluate TRPM2 channels immune reactivity. The intensity of TRPM2 channels immune reactivity was scored semiquantitatively as follows: low +1, moderate +2, strong +3.

**Results:** In light microscopic examination, TRPM2 immunoreactivity was found slightly increased (+1) in control group whereas, diabetic group showed widespread and intensive immune reactivity (+3). Treatment group was expressed moderate (+2) TRPM2 channels.

**Conclusion:** The results of this study showed enalapril administration provided a protective effect against diabetic renal damage by reducing TRPM2 channel immune reactivity, in which thought to has a role in apoptotic process and diabetic nephropathies.

**Key Words:** Diabetic neuropathy, enalapril, TRPM2, immunohistochemistry.

#### Giriş

Diyabetes mellitus (DM), insidansı giderek artan, endokrin ve metabolik bir hastalık olup insulinin tam eksikliğine, kısmi eksikliğine veya periferik dokulardaki insulün direncine bağlı olarak meydana gelmektedir (1). Karbonhidrat metabolizmasının bozulması sebebiyle alınan besinlerin organizmada enerjije

Geliş Tarihi : 01.05.2013  
Kabul Tarihi : 04.06.2013

#### Yazışma Adresi Correspondence

Nevin KOCAMAN  
Fırat Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi,  
Histoloji Embriyoloji  
Anabilim Dalı,  
Elazığ -TÜRKİYE

drkocaman@gmail.com

çevrilememesinden dolayı hiperglisemi ataklarıyla seyreden bir hastalık olarak karşımıza çıkar (2).

Kardiyovasküler, serebrovasküler ve nefrotik komplikasyonlar diyabetin en önemli mortalite ve morbidite nedenleri arasındadır (3). Diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarından olan diabetik nefropati (DNP) son dönem böbrek yetmezliğinin de en sık nedenlerinden biridir (4). Diyabetik nefropati patogeneğinde renal hipertrofi, hemodinamik ve metabolik faktörler yanında oksidatif stres, önemli bir yer tutmaktadır (5).

TRPM2 kanalları ilk olarak Drosophila türü sirke sineklerinin göz hücrelerinde bulunmuştur (6). Bu kanalların varlığı başta beyin ve kemik iliği olmak üzere böbrek, bağırsak, karaciğer, akciğer, testis, prostat, pankreas, iskelet kası, lökositler ve arka kök gangliyonları gibi pek çok doku ve hücrede tespit edilmiştir (7). TRPM2 kanalları ya direkt olarak plazma zarındaki  $Ca^{+2}$  giriş kanalları gibi davranarak ya da  $Ca^{+2}$  giriş kanallarının düzenlenmesi için itici güç olan, zar potansiyelini değiştiren sitozolik serbest  $Ca^{+2}$  kanallarında değişime yardımcı olarak, etkilerini gösterirler (8).

Metabolizma sonucu üretilen  $H_2O_2$ 'nin hücre içerisine girmesi sonucu TRPM2 kanalları aktive olur. Bu kanalların aktivasyonunun hücre içine  $Ca^{+2}$  iyon girişini artırdığına inanılmaktadır (9-10). Hücre içi  $Ca^{+2}$  iyonu artışı hücrenin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin bozulmasından, hücre ölümüne kadar varabilen çeşitli patofizyolojik olayların başlamasına sebep olmaktadır (11). Aktif TRPM2 katyon kanallarının açılması üzerinde, üç hücre dışı etkenin rol oynadığı bilinmektedir. Bunlar; Oksidatif stres, ADPR (ADP Riboz) / NAD + (Nikotinamid Adenin Dinükleotid) metabolizması ve tümör nekroz faktör alfa dır (9).

Enalapril ve bu gruptaki diğer antihipertansif ilaçlar, anjiyotensin-II'ye anjiyotensin-II'ye hidrolize eden dönüştürücü enzim Anjiyotensin Konverting Enzimi (ACE) inhibe ederler. Anjiyotensin II, AT1 reseptörlerine bağlanarak, vazokonstriksiyon, su ve tuz dengesi ve diğer nörohumoral sistemlerin kontrolünü sağlamasının yanında reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, hücrel hipertrofi, hücrel hiperplazi ve apoptozise de neden olur (12). ACE inhibitörleri, aynı zamanda, güçlü bir vazodilatatör olan bradikinin aktive ettiği için vazodilatasyona sebep olurlar. Hem güçlü bir vazokonstriktör olan anjiyotensin-II'nin azalması, hem de bradikinin artması yoluyla böbrek ve kalp üzerindeki yükü azaltarak olumlu yönde etki ederler (13). ACE inhibitörleri antioksidan etkilidirler ve Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz enzimini inhibe ederek okside LDL düzeyini düşürürler. Bu azalma başta ateroskleroz olmak üzere serbest radikal aracılı pek çok patolojinin engellenmesini sağlayabilir (14-16). Bu bilgiler serbest radikal aracılığı ile kalp ve böbrek gibi pek çok organda hasara neden olabilen diyabette antioksidan, antiproliferatif, antihiperplazik ve antiapoptotik etki gösterebilen ACE inhibitörlerinin, apoptotik yolda etkili

olan TRPM2 kanalları üzerine ne gibi etkiler yapabileceğini göstermesi bakımından da önem arz etmektedir (11, 12, 17).

### Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (FÜHADEK) etik kurul kararı ile Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinden (FÜDAM) temin edilen 21 adet erişkin, Wistar tipi erkek sıçanlar kullanıldı. 21 °C oda ısısında 12 saat ışık (7:00–19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00–7:00) tutulan sıçanlar her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Tüm sıçanlar aynı ortamda gözetim altında tutuldu ve aynı standart sıçan yemi verilerek ad libitum su, yiyecek alımları sağlandı.

Çalışmada her grupta 7 sıçan olmak şartıyla 3 grup oluşturuldu. Grup I (n:7) kontrol olarak kullanıldı. Bu gruptaki deney hayvanlarına deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Grup II (n:7) diyabetik grup (DM). Bu gruptaki sıçanlara 60 mg/kg tek doz Streptozotocin 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. Grup III (n:7) tedavi grubu (Dm+ENA). Bu grupta yer alan sıçanlara diyabetin başlangıcından itibaren 10 hafta süresince 5 mg/kg/gün enalapril oral olarak uygulandı.

Kontrol grubuna çalışmanın başından itibaren hiçbir uygulama yapılmadı. Tüm deneklerin deneyin başlangıcı ve sonundaki ağırlık değişimleri ve glukoz düzeyleri kaydedildi.

Diyabet oluşturulacak gruba 60 mg/kg olacak şekilde tek doz streptozotocin (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0.1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4.5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. 72 saat sonra, 12 saat açlık takiben kuyruk veninden alınan kanın glukometre cihazındaki ölçümü yapıldı. Ölçüm sonucu açlık kan glukoz düzeyi 250 mg/dl'yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi.

Deneyin 10 haftasında tüm gruplardaki sıçanlar ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) anestezisi altında dekapite edildi. Sıçanların böbrek dokuları hızla çıkarılıp %10 formaldehitte tespit edilip ardından histokimyasal incelemeler için parafin bloklar hazırlandı.

Parafin bloklardan polilizinli lamlara 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinizasyonun ardından dokular dereceli alkol serilerinden geçirilerek antijen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750 W) 7+5 dakika olmak üzere toplam 12 dakika kaynatıldı. Zemin boyasını önlemek için Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulamasını takiben 60 dakika primer antikor (Rabbit poliklonal Anti-TRPM2 antibody (Ab-11168), abcam, Chambridge, UK) ile muamele edildi. Daha sonra sekonder antikor ile 30 dakika (Donkey anti-goat IgG-B, sc-2042), Streptavidin Alkaline Phosphatase ile 30 dakika (TS-060-AP, Lab Vision Corporation, USA) inkübe edildi. Fast Red Substrate System (TA-125-AF, Lab Vision Corporation, USA) uygulamasını takiben Mayer's

hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular, PBS (Phosphate Buffered Saline) ve distile sudan geçirilip uygun kapatma solusyonu ile kapatıldı. Preparatlar Olympus B X50 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı ve şiddeti esas alındı. Sitoplazmik immün boyanmanın yaygınlığı 0'dan +3'e kadar semi-kantitatif olarak skorlandı (Tablo 1).

**İstatistiksel Analiz:** Verilerin değerlendirmesinde SPSS 21.0 paket istatistik programı kullanıldı. Sayısal değişkenler ortalama  $\pm$  standart hata olarak ifade edildi. Bağımsız gruplarda farklılığın değerlendirilmesinde Kruskal Wallis testi sonrasında, Bonferroni düzeltilmeli post hoc Mann-Whitney U testi kullanılırken, bağımlı gruplarda ortalamaların istatistiksel anlamlılık düzeyleri wilcoxon testi ile değerlendirildi.  $p < 0.05$  değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### Bulgular

Tablo 1 de tüm gruplarda başlangıç ve final vücut ağırlıkları verilmiştir. Kontrol grubu final ağırlıkları başlangıç değerine göre anlamlı artış göstermekteyken, DM ve Dm+ ENA gruplarında anlamlı düşme saptanmıştır.

**Tablo 1.** Başlangıç ve final vücut ağırlıkları

	Kontrol (n=7)	DM (n=7)	Dm+ ENA (n=7)
Başlangıç vücut ağırlığı (gr)	198 $\pm$ 10	190 $\pm$ 13	195 $\pm$ 8
Final vücut ağırlığı (gr)	230 $\pm$ 11 <sup>a</sup>	161 $\pm$ 10 <sup>a</sup>	163 $\pm$ 14 <sup>a</sup>

Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol gruplarına göre anlamlı farklılık vardır ( $p < 0.05$ ).

Başlangıç ve final glukoz değerleri karşılaştırıldığında kontrol grubunda anlamlı fark görülmezken DM ve Dm+ ENA gruplarında anlamlı artış tespit edilmiştir (Tablo 2). TRPM2 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu elde edilen TRPM2 kanal immünreaktivitelere ait semikantitatif değerler Tablo 3 de verilmiştir.

**Tablo 2.** Başlangıç ve final kan-glukoz değerleri

	Kontrol (n=7)	DM (n=7)	Dm+ ENA (n=7)
Başlangıç kan-glukoz değerleri(mg/dl)	94 $\pm$ 8	91 $\pm$ 9	102 $\pm$ 9
Final kan- glukoz değerleri (mg/dl)	100 $\pm$ 4	434 $\pm$ 31 <sup>a</sup>	429 $\pm$ 28 <sup>a</sup>

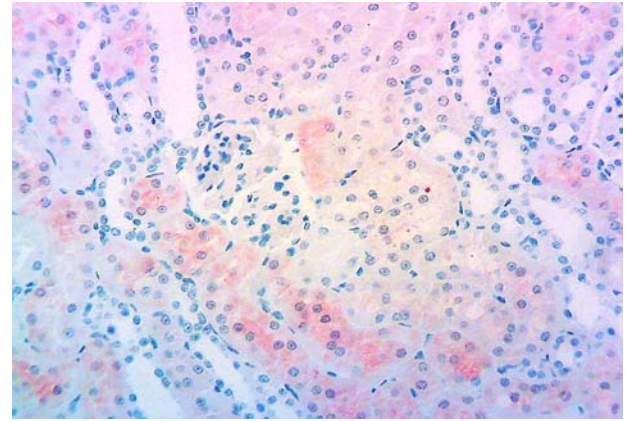
Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı ( $p < 0.001$ ).

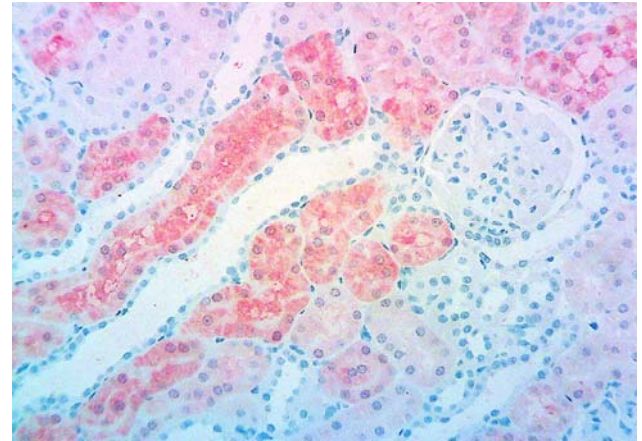
**Tablo 3.** İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Az
+2	Orta
+3	Şiddetli

TRPM2 immünreaktivitesi grup I'e ait böbrek dokusunda +1 (Şekil 1) şiddetinde tesbit edilirken, grup II'ye ait böbrek dokularında proksimal ve distal tübüller başta olmak üzere +3 şiddetinde ve yaygınlığında (Şekil 2) ayırt edildi. Enalapril uyguladığımız Grup III'e ait böbrek dokularında TRPM2 yaygınlığı ise diyabetik gruba kıyasla azalmıştı ve +2 (Şekil 3) pozitifliğinde değerlendirildi. Hatta yer yer kontrol grubuna yakın şiddette olan alanların varlığı da gözlemlendi.

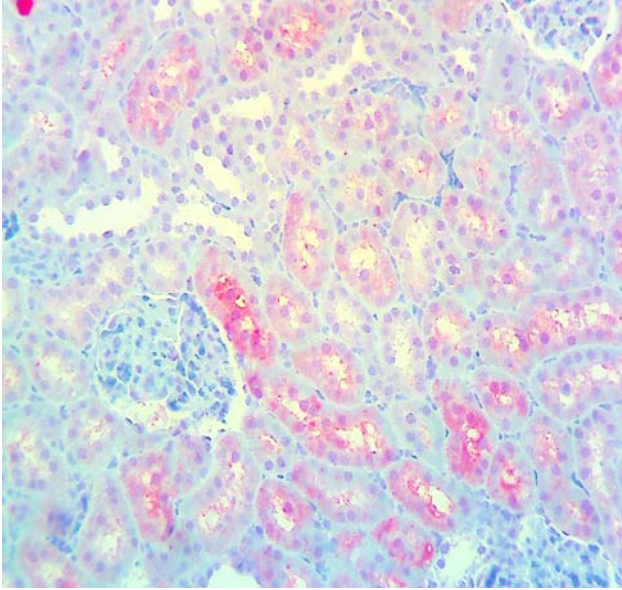


**Şekil 1.** Kontrol TRPM2 kanal immün reaktivitesi x20



**Şekil 2.** DM TRPM2 kanal immünreaktivitesi x20





**Şekil 3.** Dm+ ENA. TRPM2 kanal immün reaktivitesi x20

### Tartışma

Diyabetik nefropati, başka bir renal hastalığı, kalp yetersizliği, üriner sistem enfeksiyonu veya hematürisi olmayan diyabetik bireylerde saptanan; kalıcı albuminüri, glomerüler filtrasyon hızında azalma ve kan basıncında yükseklik olarak tanımlanabilir (4).

Diyabetik nefropati, tip 1 ve tip 2 diyabetli hastalarda son dönem böbrek hastalığının dünyadaki en önemli nedenlerinden biridir (18). Morbidite ve mortalitesi yüksek olan diyabetes mellitus hedef organları arasında böbrekler önemli bir yer tutmaktadır (19). Anjiyogenezis, glomerüler geçirgenlik artışı ve albuminüri diyabetik nefropati oluşum sürecine katkıda bulunan etkenlerden bazılarıdır (20). Enalapril, erken teşhis edilen diyabetik nefropatinin kronik böbrek yetmezliğine ilerleyişini durdurmaya yardımcı olabilen, antiproliferatif ve antioksidan etkili güvenli ve ucuz bir ACE inhibitörüdür (21). Diyabet, klinik olarak polidipsi, poliüri, polifaji ve kilo kaybı gibi semptomlar ile ortaya çıkabilir. Çoğunlukla semptomlar ağır değildir. Glukoz ve metabolitlerinin, renal parankimadaki lokal renin angiotensin sistemini aktive ederek angiotensin II'nin artmasına neden olduğu ve devamında angiotensin tip 1 reseptörleri vasıtasıyla DNP gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (22). Angiotensin I'in angiotensin II'ye dönüşümünde rol oynayan Anjiyotensin konverting enzimin inhibisyonu güçlü bir vazokonstriktör olan Anjiyotensin II düzeyinde azalmaya neden olur. Bu azalma, arter ve venüllerde vazodilatasyon oluşturarak total periferik damar direncini ve kan basıncını düşürür (23). AT 1 reseptör aktivasyonu ayrıca NADPH oksidaz oluşumunu ve süperoksit ( $O_2^-$ ) yapımını da uyarmaktadır.  $O_2^-$ , özellikle tip 1 DM'de yapımı artan nitrik oksit (NO), çeşitli reaksiyonlar sonucu peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) radikalini oluşturur. NO'nun fonksiyonunun bozulması ve serbest oksijen radikal

oluşumunun artması endotelial, mezangial ve interstisyel hücrelerin proliferasyonuna yol açmaktadır (17). Diyabetik nefropatinin patolojik özellikleri arasında glomerüllerde diffüz mezangial matris artışı, eksüdatif lezyonlar ve / veya segmental nodüler skleroz sayılabilmektedir (18). ACE inhibitörü ve Anjiyotensin 1 reseptör blokerleri tedavisi ile yapılan klinik çalışmalarda proteinürinin azaldığı ve DNP gelişiminin yavaşladığı bilinmektedir (24-25).

Oksidatif stresin ve inflamasyonun son dönem böbrek yetmezliğinde ve önemli morbidite ve mortalite sebebi olan kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde rol oynadığı göz önüne alındığında geliştirilecek antioksidan ve antiinflamatuvar tedavilerin bu hastalarda ne kadar hayati bir önem arzettiği bir kez daha ortaya çıkmaktadır. Kronik böbrek hastalarında en fazla kullanılan ACE inhibitörleri ve anjiyotensin reseptör blokerlerinin oksidatif stres üzerine olan olumlu etkileri birçok çalışma ile tesbit edilmiştir (26).

Oksidatif stres, ADPR/NAD<sup>+</sup> metabolizma bozukluğu ve tümör nekroz faktör alfa; TRPM2 kanallarının açılmasına neden olarak hücre içi  $Ca^{+2}$  iyonlarının artışı sağlamaktadır (9). TRPM2,  $H_2O_2$  aracılı endotel hücreci ölümünde anahtar moleküldür (27). Bu süreçte hücre içi  $Ca^{+2}$  iyonu artışı hücre ölümüne kadar varabilen patofizyolojik olayların başlatıcısıdır (11).  $Na^+$  ve  $Ca^{+2}$  iyonlarına geçirgen melastatine bağlı "transient receptor potential 2 (TRPM2)" katyon kanallarının ya  $Ca^{+2}$  ile uyum içinde olan ADP-riboz tarafından, ya da oksidatif stres aracılığıyla  $H_2O_2$ 'i kanalların enzimatik Nudix bölgesine bağladığı ve devamında da ADP-riboz pirofosfataz'ın aktive olduğu rapor edilmiştir. Bu enzimin aktivasyonu sonucunda da TRPM2 kanallarının açıldığı gözlenmiştir. Bu durum hücre içi  $Ca^{+2}$  iyonlarının artışına yol açabilir (28). Yapılan bir çalışmada, radyasyona bağlı oluşan DNA hasarına karşı hücresel cevapta TRPM2 kanallarının aktivasyonunun önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir (29). Enalapril, reaktif oksijen sistemine etki ederek serbest radikalleri azaltmaktadır (30). Diyabetik nefropatili ratlarda yapılan bir çalışmada, ACE inhibitörlerinin renal NADPH oksidazı inhibe ettiği ve proteinüriyi azalttığı gösterilmiştir (16). TRPM2 kanalları hücrede serbest radikallerin ve dolayısıyla oksidatif stresin artışına bağlı olarak aktive olabilmektedir (31).

Bu çalışmada kontrol grubu ratlarda normal büyüme devam ederken, DM grubunda anlamlı oranda ağırlık kaybı olduğu gözlemlenmiş ve enalapril tedavisinin ağırlık kaybını değiştirmedığı tespit edilmiştir. Bu bulgular ağırlık kaybını işaret eden tip 1 diyabetle ilgili bilinenlere uyumludur (32).

Bu çalışmada diyabetik böbrek dokularındaki TRPM2 katyon kanalı immünreaktivitesinin, iyon alışı verişlerinin oldukça aktif olduğu tübüler alanlarda yoğun olarak tespit edilmesi yukarıda anlattığımız mekanizmalarla gelişmemekte ve literatür bilgileriyle uyumluluk göstermektedir. Glukoz ve metabolitleri, renal parankimdeki lokal renin angiotensin sistemini aktive edip angiotensin Tip (AT) 1 reseptörlerini artırmaktadır

(22). AT 1 reseptör aktivasyonu NADPH oksidaz oluşumunu ve süperoksit ( $O_2^-$ ) yapımını uyarması sonucunda diyabetik böbrekte oksidatif stres ve inflamasyon artmaktadır (17, 26). İnflamasyonun mediyatörü olan TNF alfa, oksidatif stres ve  $NAD^+$ , TRPM2 kanallarının açılmasını sağlayarak neticede hücre içi  $Ca^{+2}$  düzeyini artırır (9). Bu durum, hücrelerin hasarlanması ve ölmesi sürecine giden mekanizmaları başlatması bakımından da anlamlı olduğunu göstermektedir.

Enalapril uygulanan böbrek dokularındaki TRPM2 immünreaktivitesinin düşük bulunması, antiproliferatif, antioksidan ve antiapoptotik olan enalaprilin uygulandığı sıçanlarda diyabetik böbrek dokularında, oksidan

sistemlerle aktive olan TRPM2 kanallarının, aktivasyonunun engelleyebileceği sebebiyle olabilir.

Sonuç olarak bu çalışma ile diyabetik nefropati gelişiminde TRPM2 kanallarının apoptotik süreçte etkili

olduğunu ve diyabete bağlı hasar oluşmuş sıçan böbrek dokularında enalapril uygulamasının TRPM2 kanal aktivitesini dolayısıyla apoptotik sürece gidişi azaltarak tedavide etkili olabileceği görülmüştür. Yapılan bu çalışma ile bu TRPM2 kanallarının daha fazla detaylı irdelenmesi gereken bir konu olduğuna ve üzerinde değişik ajanlar uygulanarak uygulanmasına bağlı elde edilen sonuçlar ile yeni tedavi protokollerinin geliştirilebileceği kanaatine varılmıştır.

## Kaynaklar

- Joslin EP, Kahn CR, Weir GC. Joslin's Diabetes Mellitus. 14th edition, Boston: Lippincott, 2005.
- Jeejeebhoy KN, Chu RC, Marliss EB, Greenberg GR, Bruce-Robertson A. Chromium deficiency, glucose intolerance, and neuropathy reversed by chromium supplementation, in a patient receiving long-term total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* 1977; 30: 531-538.
- Tuzun M. Endokrinoloji El Kitabı. İzmir: Ege Üniversitesi, 2004.
- Karsıdağ K. Diabetin Kronik Komplikasyonları. İç Hastalıkları. Birinci Baskı, İstanbul: Medical Network & Nobel, 2007.
- Evrankaya R. Diabetik Nefropati, Endokrinoloji Metabolizma ve Diabet. Birinci Baskı, İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2006.
- Nishida M, Hara Y, Inoue R, Mori Y. TRP channels: formation of signal complex and regulation of cellular functions. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 2003; 121: 223-232.
- Hecquet CM, Malik AB. Role of H(2)O(2)-activated TRPM2 calcium channel in oxidant-induced endothelial injury. *Thromb Haemost* 2009; 101: 619-25.
- Nilius B. TRP channels in disease. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1772: 805-812.
- Hara Y, Wakamori M, Ishii M, et al. LTRPC2  $Ca^{2+}$ -permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol Cell* 2002; 9: 163-173.
- Wehage E, Eisfeld J, Heiner I, et al. Activation of the cation channel long transient receptor potential channel 2 (LTRPC2) by hydrogen peroxide. A splice variant reveals a mode of activation independent of ADP-ribose. *J Biol Chem* 2002; 277: 23150-23156.
- Lange I, Yamamoto S, Partida-Sanchez S, et al. TRPM2 functions as a lysosomal  $Ca^{2+}$ -release channel in beta cells. *Sci Signal* 2009; 19: 23
- Çağlar S, Çetin A, Uzuner F, et al. The role of AT1 receptor, Ras and NAD(P)H oxidase on p38 MAPK phosphorylation by angiotensin II stimulation in primary cultured vascular smooth muscle cells. *Turk J Biochem* 2012; 37: 407-416.
- Atlas SA. The renin-angiotensin aldosterone system: pathophysiological role and pharmacologic inhibition. *J Manag Care Pharm* 2007; 13: 9-20.
- Berry C, Anderson N, Kirk AJ, Dominicczak AF, McMurray JJ. Renin angiotensin system inhibition is associated with reduced free radical concentrations in arteries of patients with coronary heart disease. *Heart* 2001; 86: 217-220.
- Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol* 2005; 4: 5.
- Onozato ML, Tojo A, Goto A, Fujita T, Wilcox CS. Oxidative stress and nitric oxide synthase in rat diabetic nephropathy: effects of ACEI and ARB. *Kidney Int* 2002; 61: 186-194.
- Li JH, Huang XR, Zhu HJ, Johnson R, Lan HY. Role of TGF-beta signaling in extracellular matrix production under high glucose conditions. *Kidney Int* 2003; 63: 2010-2019.
- Tomino Y, Cooper ME, Kurtz TW, Shimizu Y. 2012. Experimental models of type-2 diabetic nephropathy. *Exp Diabetes Res* 2012; 21: 891-897.
- King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21: 1414-1431.
- Zhang X. Therapeutic effects of calcium dobesilate on diabetic nephropathy mediated through reduction of expression of PAI-1. *Exp Ther Med* 2013; 5: 295-9.
- Gopinath S, Ganesh BA, Manoj K, Rubiya. 2 year followup of patients with diabetes mellitus nephropathy showing albuminuria reversal following angiotensin converting enzyme inhibitors. *Indian J Endocrinol Metab* 2012; 16: 447-449.
- Vidotti DB, Casarini DE, Cristovam PC, Leite CA, Schor N, Boim MA. High glucose concentration stimulates intracellular renin activity and angiotensin II generation in rat mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286: 1039-1045.
- Donckier JE, Massart PE, Hodeige D, et al. Additional hypotensive effect of endothelin-1 receptor antagonism in hypertensive dogs under angiotensin-converting enzyme inhibition. *Circulation* 1997; 96: 1250-1256.

24. Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group. *N Engl J Med* 1993; 329: 1456-1462.
25. Parving HH, Lehnert H, Brochner-Mortensen J, et al. Effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Ugeskr Laeger* 2001; 163: 5519-5524.
26. Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension* 2003; 42: 1075-1081.
27. Sun L, Yau HY, Wong WY, et al. Role of TRPM2 in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cell apoptosis in endothelial cells. *PLoS One* 2012; 7: 43186.
28. Naziroglu M, Uguz AC, Ismailoglu O, et al. Role of TRPM2 cation channels in dorsal root ganglion of rats following experimental spinal cord injury. *Muscle Nerve* 2013; doi: 10.1002/mus.23844
29. Masumoto K, Tsukimoto M, Kojima S. Role of TRPM2 and TRPV1 cation channels in cellular responses to radiation-induced DNA damage. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1830: 3382-3390
30. Küçüksu M. Metabolik Sendrom Olusturulmuş Ratlarda Enalapril Maleate'ın Ghrelin ve Obestatin Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2009.
31. Miller BA. The role of TRP channels in oxidative stress-induced cell death. *J Membr Biol* 2006; 209: 31-41.
32. Abacı A, Böber E, Büyükgebiz A. *Tıp 1 Diyabet. Güncel Pediatri* 2007; 5: 1-10.