

DeneySEL Araştırma

DeneySEL Diyabetik Sıçan Böbrek Dokusunda TRPV1 ve TRPM2 Kanallarına Losartanın Etkileri

Gökhan ARTAŞ^{al}, Tuncay KULOGLU²

¹Fırat Üniversitesi Hastanesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

ÖZET

Amaç: Hücrenin canlılığını koruyabilmesi ve hücreSEL fonksiyonların devam ettirilmesinde iyon kanalları önemli role sahiptir. Bu çalışmada deneySEL diyabet oluşturulan sıçanların böbrek dokusundaki transient reseptör potansiyel vanniloid (TRPV1) ve transient reseptör potansiyel melastatin 2 (TRPM2) kanallarına losartanın etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, 24 adet 8-10 haftalık Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları 4 eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmadı. Tampon grubuna sadece fosfat-sitrat tamponu intraperitoneal (i.p) olarak enjekte edildi. Diyabet grubuna 50 mg/kg streptozotosin (STZ) fosfat-sitrat tamponunda çözülürerek i.p olarak uygulandı. Diyabet + losartan grubuna ise 50 mg/kg STZ i.p olarak uygulanmasından sonra diyabetin oluşumunu takiben losartan 10 mg/kg/gün oral olarak verildi. Deney sonunda sıçanlar dekapite edildi ve böbrek dokuları çıkartıldı. Rutin takip işlemi ile dokular parafin bloklara gömüldü. Bloklardan alınan kesitlere TRPV1 ve TRPM2 immünreaktivitesi için avidin-biotin-peroksidaz yöntemi uygulandı.

Bulgular: TRPV1 immünreaktivitesi kontrol ve tampon grubunda glomerüllerde +3 yaygınlığında gözlemlendi. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında diyabet grubunda TRPV1 immünreaktivitesinde azalma izlendi ve +1 yaygınlığında değerlendirildi. Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında losartan grubunda TRPV1 immünreaktivitesinde değişiklik gözlemlenmedi. TRPM2 immünreaktivitesi ise kontrol ve tampon grubunda tübüllerde +1 şiddetinde izlendi. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında diyabet grubunda TRPM2 immünreaktivitesinde artış gözlemlendi ve +3 şiddetinde değerlendirildi. Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında losartan grubunda TRPM2 immünreaktivitesinde azalma vardı.

Sonuç: DeneySEL diyabetin sıçan böbrek dokusunda TRPV1 immünreaktivitesini azalttığı, TRPM2 immünreaktivitesini arttırdığı gözlemlendi. Bu sonuçlar diyabetik nefropatinin patofizyolojik mekanizmasına TRPV1 ve TRPM2 kanallarının katılabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, Böbrek, TRPV1, TRPM2, Losartan.

ABSTRACT

The Effects of Losartan on TRPV1 and TRPM2 Channels at Diabetic Rat Kidney Tissue

Objective: Ion channels have important roles in maintaining cell viability and cellular functions. The aim of this study is to determine the effects of losartan on TRPV1 and TRPM2 ion channels at experimental diabetes mellitus kidney tissues in rats.

Material and Method: We used 24 male 8-10 weeks old Wistar albino rats. Rats were divided into 4 groups. No application was made to control group. To buffer group, only phosphate-citrate buffer was injected intraperitoneally. To diabetic group 50 mg/kg streptozocin (STZ) that was dissolved in phosphate-citrate buffer was injected. In diabetes + losartan group, 50 mg/kg STZ was injected and losartan was given 10 mg/kg/day orally after development of diabetes. Finally rats were decapitated and kidney tissues were removed. With routine procedures, tissues were embedded in paraffine blocks. For TRPV1 ve TRPM2 immunoreactivity "avidin-biotin-peroxidase" method was applied.

Results: TRPV1 immunoreactivity was at +3 diffusiveness in glomeruli at control and buffer group. In comparison with control group, TRPV1 immunoreactivity was decreased at diabetic group as +1 diffusiveness. There was no alteration at TRPV1 immunoreactivity between diabetic group and losartan group. TRPM2 immunoreactivity was observed +1 intensity in tubules at control and buffer group. In comparison with control group, TRPM2 immunoreactivity was increased at diabetic group as +3 intensity. In comparison with diabetic group, TRPM2 immunoreactivity was decreased at losartan group.

Conclusion: We observed that diabetes decreases TRPV1 immunoreactivity, increases TRPM2 immunoreactivity at rat kidney tissue. These results suggest that TRPV1 and TRPM2 channels can participate to pathophysiological mechanisms of diabetic nephropathy.

Key Words: Diabetes mellitus, Kidney, TRPV1, TRPM2, Losartan.

Diyabetes Mellitus (DM) tüm ülkelerde en yaygın olarak görülen kronik hastalıktır. Dünya genelinde görülme sıklığı hızlı bir artış göstermektedir (1). Amerika Birleşik Devletleri'nde ölüm nedenleri

arasında kadınlarda altıncı, erkeklerde beşinci sıradadır (2). Hastaların yaklaşık %50'si kardiyovasküler hastalıklardan, %10-20'si böbrek yetmezliğinden ölmektedir (3).

^a Yazışma Adresi: Dr. Gökhan ARTAŞ, Fırat Üniversitesi Hastanesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye
Tel: 0 424 2333555
Gelis Tarihi/Received: 02.04.2014

e-mail: gartas79@yahoo.com
Kabul Tarihi/Accepted: 23.05.2014

DM hem makrovasküler (kardiyovasküler) hem de mikrovasküler (retinopati, nefropati ve nöropati) komplikasyonlar ile ilişkilidir (4, 5). Diyabetik nefropati DM'un en önemli komplikasyonlarından biri olup patogenezinin hemodinamik faktörler, metabolik faktörler, oksidatif stres ve renal hipertrofi sorumlu tutulmaktadır. Böbrek hücreleri diyabetik nefropati sürecinde mekanik yüklenme, proteinüri, hiperglisemi, glikozillenmiş proteinler, sitokinler, hormonlar, kemokinler ve adezyon molekülleri gibi birçok ekstraselüler sinyaller alır (6).

DM'da oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun arttığı ve oksidatif stresin diyabetin etiolojisinde ve ilerlemesinde önemli olduğu bilinmektedir (7).

Hücre zarında bulunan iyon kanallarından biride oksidatif stres ile aktifleşebilen transient reseptör potansiyel melastatin 2 (TRPM2) kanallarıdır (8). Bu kanallar sodyum ve potasyuma geçirgen olmasının yanı sıra hücreye kalsiyumun (Ca^{+2}) girmesinde de önemli bir role sahiptir (9). TRPV1 renal pelviste düşük basınç baroreseptörü olarak işlev görmek ve mekanouyarıya karşı renal afferent C liflerinden nöropeptid salınımını düzenlemektedir (10). TRPV1'i aktive eden ilaçların ve/veya TRPV1 tarafından aktive edilen süreçlerin böbrekleri iskemik hasardan korucuyu etki gösterdiği bildirilmiştir (11).

Anjiotensin 1 (AT1) reseptör blokörü olarak bilinen losartanın AT2 bağımlı NADPH oksidaz aktivasyonunu azaltarak antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (12).

Bu çalışmada deneysel diyabetik sıçan böbrek dokusunda TRPV1 ve TRPM2 immünreaktivitesi üzerine losartanın etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM) temin edilen 24 adet erişkin erkek Wistar Albino cinsi 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. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Tüm sıçanlar aynı ortamda gözetim altında tutuldu ve aynı standart sıçan yemi verilerek add-libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. 24 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar her grupta 6 hayvan olacak şekilde 4 eşit gruba ayrıldı.

Kontrol grubu: Bu gruba deney süresi olan 6 hafta boyunca hiçbir uygulama yapılmadı.

Tampon grubu: Bu gruba sadece 0,1 M fosfat-sitrat tamponu i.p olarak enjekte edildi.

Diyabet grubu: Bu gruba 50 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0,1 M fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. Açlık kan glukoz

düzeyi 250 mg/dl'yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi.

Diyabet + losartan grubu: Bu gruba 50 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0,1 M fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) çözdürülerek i.p olarak uygulanmasından sonra diyabetin oluşumunu takiben deney süresi olan 6 hafta boyunca losartan 10 mg/kg/gün oral olarak uygulandı.

Tüm gruplardaki sıçanlar 6 haftalık deney sonunda ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından sıçanların böbrek dokuları hızla çıkarıldı. Böbrek dokuları % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Dokular daha sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirilip parafin bloklara gömüldü.

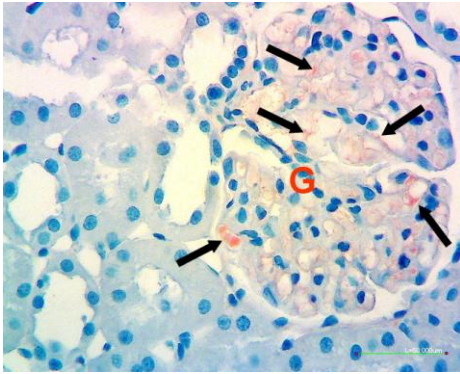
Parafin bloklardan 4–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) 7+5 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğutmak için bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksit blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block, TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanan dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilue edilen primer antikolar (Rabbit Anti-TRPV1/VR1 Polyclonal Antibody, Bs-1931R, Bioss, Inc. USA, Rabbit Anti-TRPM2 Polyclonal Antibody, Bs-2888R, Bioss, Inc. USA) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus

BX 50 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

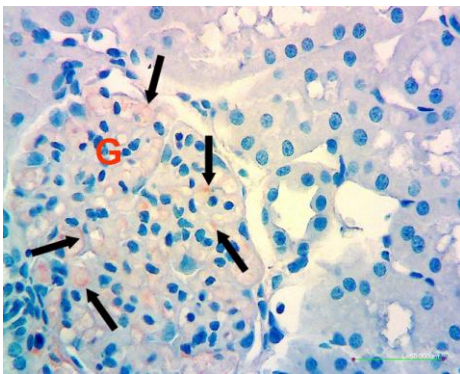
İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın şiddeti ve yaygınlığı esas alındı. Sitoplazmik immün boyanmanın şiddeti ve yaygınlığı 0'dan +3'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (0:Yok, +1:Az, +2:Orta, +3:Şiddetli).

BULGULAR

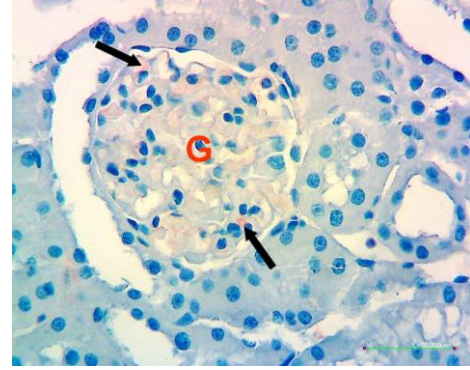
TRPV1 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TRPV1 immünreaktivitesi kontrol ve tampon grubunda böbrek dokusunda glomerüllerde +3 yaygınlığında gözlemlendi. (Şekil 1, 2). Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında diyabet grubunda TRPV1 immünreaktivitesinde belirgin bir azalma gözlemlendi ve +1 yaygınlığında değerlendirildi (Şekil 3). Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında losartan grubunda TRPV1 immünreaktivitesinde herhangi bir değişiklik gözlemlenmedi ve +1 yaygınlığında izlendi (Şekil 4).



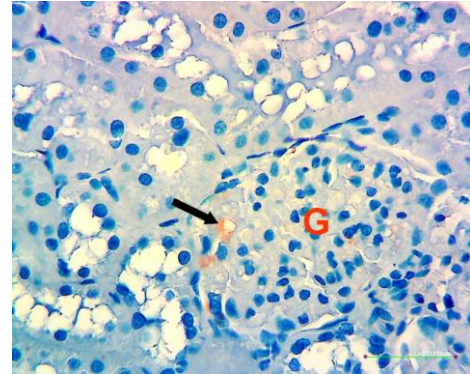
Resim 1. Kontrol grubu böbrek dokusunda TRPV1 immünreaktif hücreler (→), G: Glomerül.



Resim 2. Tampon grubu böbrek dokusunda TRPV1 immünreaktif hücreler (→), G: Glomerül.

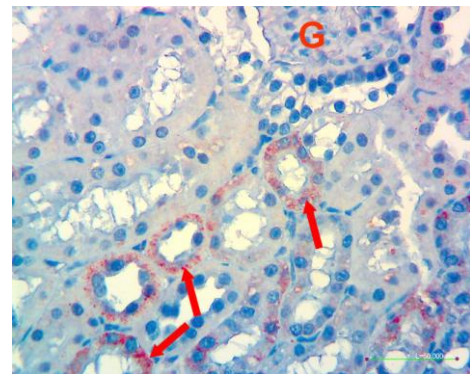


Resim 3. Diyabet grubu böbrek dokusunda azalmış TRPV1 immünreaktif hücreler (→), G: Glomerül.

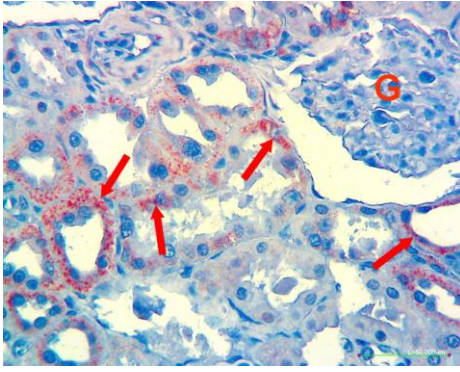


Resim 4. Diyabet + losartan grubu böbrek dokusunda TRPV1 immünreaktif hücreler (→), G: Glomerül.

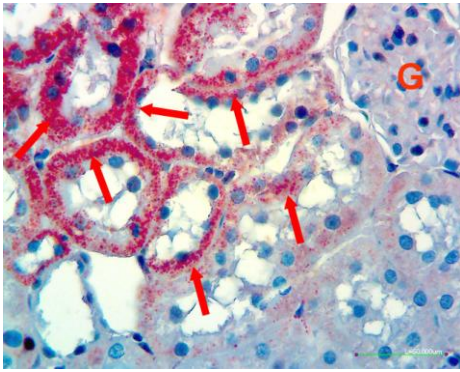
TRPM2 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TRPM2 immünreaktivitesi kontrol ve tampon grubunda böbrek dokusunda glomerüllerde gözlemlenmezken tübüllerde +1 şiddetinde izlendi. (Şekil 5, 6). Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında diyabet grubunda TRPM2 immünreaktivitesinde belirgin bir artış gözlemlendi ve +3 şiddetinde değerlendirildi (Şekil 7). Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında losartan grubunda TRPM2 immünreaktivitesinde belirgin bir azalma vardı ve +1 şiddetinde gözlemlendi (Şekil 8).



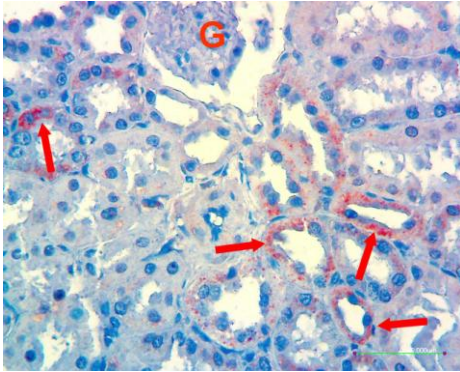
Resim 5. Kontrol grubu böbrek dokusunda TRPM2.



Resim 6. Tampon grubu böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktif hücreler (→), G: Glomerül.



Resim 7. Diyabet grubu böbrek dokusunda artmış TRPM2 immunreaktif hücreler (→), G: Glomerül.



Resim 8. Diyabet + losartan grubu böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktif hücreler (→), G: Glomerül.

TARTIŞMA

Diabetes Mellitus insülin sekresyonu, insülinin etkisi veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Diyabetteki kronik hiperglisemi özellikle göz, böbrek, sinir, kalp ve kan damarları gibi bazı organlarda ve dokularda uzun dönemde hasar, disfonksiyon ve yetmezliğe neden olur (13). Diyabetin başta gelen hedefi böbreklerdir ve böbrek yetmezliği bu hastalığa bağlı ölüm nedenleri arasında miyokardiyal enfarktüstten sonra ikinci sırada gelmektedir (14).

Diyabet Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'nin üretiminde artış, antioksidan savunma

mekanizmalarının yetersizliği ve sonuçta artmış oksidatif stresle ilişkilidir (15). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, artmış lipid peroksidasyonun ve serbest oksijen radikallerinin, birçok hastalığın patogenezinde rol aldığını göstermiştir. Lipid peroksidasyonu sonucu hücre zarının yapısı ve akışkanlığı bozularak, kalsiyum hücre içine girer. Hücre içi Ca^{+2} artması sonucu proteazlar aktive olup hücre iskeletinde hasar meydana gelir (16, 17).

TRP kanalları, renal Ca^{+2} -Mg iletimi, kan basıncının düzenlenmesi, tat, koku ve sesin algılanması, gen ekspresyonu ve salgılanması, apoptozis gibi önemli hücresel süreçlerde ve yaygın olarak bilinen 2. haberci mekanizmada, iyon giriş çıkışı gibi birçok mekanizmada rol oynar (18, 19).

TRPM2, hidrojen peroksid (H_2O_2) aracılı endotel hücreleri ölümünde anahtar moleküldür (20). Bu süreçte hücre içi Ca^{+2} iyonu artışı hücre ölümüne kadar varabilen patofizyolojik olayların başlatıcısıdır (21). Özellikle oksidatif stres ürünüyle aktive olması, iskemik çalışmalarda bu kanalın önemini arttırmış ve yapılan çalışmalar TRPM üzerinde yoğunlaştırılmıştır (22, 23).

Oksidatif stres, TRPM2 iyon kanallarının açılmasına neden olup intraselüler Ca^{+2} iyonlarının artışını sağlamaktadır (24, 25). Son dönem böbrek yetmezliğinde oksidatif stres önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir. Kronik böbrek hastalarında kullanılan anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve anjiyotensin reseptör blokerlerinin oksidatif stresi azaltmaya yönelik olumlu etkileri tesbit edilmiştir (26).

Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deneysel diyabet oluşturulan sıçan böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesinde artış gözlemlendi. Diyabetik grup ile karşılaştırıldığında losartan verilen tedavi grubunda TRPM2 immünreaktivitesinde azalma izlendi.

Yapılan çalışmalarda deneysel diyabetik böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesinin arttığı gösterilmekle beraber tedavide kullanılan enalaprilin böbrekte TRPM2 immünreaktivitesini azalttığı, bu etkinin enalaprilin antioksidan etkisine bağlı olduğu vurgulanmıştır (27, 28). Losartanın antioksidan etkisi bilinmektedir (12). Çalışmamızda losartan verilen grupta TRPM2 immünreaktivitesinin azalması losartanın antioksidan etkisine bağlı olabilir.

TRPV1, nonspesifik iyon kanalı olup kapsaisine spesifik bir reseptör olduğu bilinmektedir (29). TRPV1'in rat beta hücrelerinden ve nöronlardan salındığı gösterilmiştir (30). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kapsaisin tarafından aktive edilen TRPV1 düzeyinin oksidatif hasarı takiben yükselme eğiliminde olduğu bildirilmiştir (31). TRPV1'i aktive eden ilaçların ve/veya TRPV1 tarafından aktive edilen süreçlerin böbrekleri iskemik hasardan korucuyu etki gösterdiği bilinmektedir (11). Zira kapsaisin gibi

TRPV1 agonistlerinin akut iskemi-reperfüzyon hasarında ve oluşan inflamatuvar yanıtı baskılamada koruyucu bir rol oynadığı gösterilmiştir (32, 33).

Bununla birlikte TRPV1 aktivasyonunun, adipogenez ve obeziteyi önlediği, endotel aracılı vazorelaksasyonu düzelttiği, hipertansiyon gelişimini engellediği ve vasküler lipid birikimini azaltarak aterosklerotik süreci zayıflattığı görülmüştür (34-37).

Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deneysel diyabet oluşturulan sıçan böbrek dokusunda TRPV1 immünreaktivitesinde belirgin olarak azalma gözlemlendi. Diyabetik grup ile karşılaştırıldığında losartan verilen tedavi grubunda TRPV1 immünreaktivitesinde herhangi bir değişiklik izlenmedi. Diyabetik gruptaki TRPV1 immünreaktivitesindeki azalmanın diyabetik

nefropatide artan oksidatif hasarı engellemeye yönelik koruyucu bir özelliği olabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada kontrollerle karşılaştırıldığında, STZ ile oluşturulmuş DM'lu sıçan böbrek dokusundaki TRPV1 immünreaktivitesinde belirgin bir azalma, TRPM2 immünreaktivitesinde ise artış gözlenmiştir. Diyabette böbrek dokusunda belirlenen TRPV1 ve TRPM2 immünreaktivitesindeki bu değişiklikler diyabetik nefropatinin patofizyolojik mekanizmasına iyon kanallarının da katılabileceğini düşündürmektedir. Gelecekte daha ileri ve kapsamlı çalışmalarla, diyabette iyon kanalları ile ilişkili patofizyolojik mekanizmalar aydınlatılabildiği takdirde, diyabetik nefropatiyi önlemek amacıyla iyon kanallarıyla ilişkili tedavi yaklaşımları da denenebilecektir.

KAYNAKLAR

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 5th edition. Update. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2012.
2. Go AS, Mozaffarian D, Roger V, et al. American heart association statistics committee and stroke statistics subcommittee. Heart disease and stroke statistics – 2013 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2013; 127: 6-245.
3. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas. 5th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2011.
4. Campos C. Chronic hyperglycemia and glucose toxicity: pathology and clinical sequelae. *Postgrad Med* 2012; 124: 90-7.
5. Rahman S, Rahman T, Ismail AA, Rashid AR. Diabetes-associated macrovasculopathy: pathophysiology and pathogenesis. *Diabetes Obes Metab* 2007; 9: 767-80.
6. Evrankaya R. Diabetik nefropati. Özata M ve Yönm A. (ed), *Endokrinoloji metabolizma ve diabet. Birinci Baskı. İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2006; 359-66.*
7. Pitkanen OM, Martin JM, Hallman M, Akerblom HK, Sariola H, Andersson SM. Free radical activity during development of insulin-dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Sci* 1992; 50: 335-9.
8. Nazıroğlu M, Lückhoff A. Effects of antioxidants on calcium influx through TRPM2 channels in transfected cells activated by hydrogen peroxide. *J Neurol Sci* 2008; 270: 152-8.
9. Nishida M, Hara Y, Inoue R, Mori Y. TRP channels: formation of signal complex and regulation of cellular functions. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 2003; 121: 223-32.
10. Feng NH, Lee HH, Shiang JC, Ma MC. Transient receptor potential vanilloid type 1 channels act as mechanoreceptors and cause substance P release and sensory activation in rat kidneys. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 294: 316-25.
11. Rayamajhi S, Contractor T, Wang DH. The potential of TRPV1 agonists for treating ischemia/reperfusion-induced renal injuries. *Curr Opin Investig Drugs* 2009; 10: 963-70.
12. Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T, et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest* 1996; 97: 1916-23.
13. Arslan M. Diabetes mellitusta tanı ve sınıflandırma. İliçin G, Biberöğlu K, Süleymanlar G, Ünal S (editors). 2. Baskı, 2003; 2279-82.
14. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Temel Patoloji, Çevikbaş U (editors). İstanbul Nobel Tıp Kitabevi, 2003; 635-55.*
15. Van Dam PS, Bravenboer B. Oxidative stress and antioxidant treatment in diabetic neuropathy. *Neuroscience Research Communications* 1997; 21: 41-8.
16. Gutteridge JMC, Halliwell B. *Antioxidants in nutrition, health, and disease. First edition, New York, Oxford University Press 1994.*
17. Halliwell B. Oxidants and central nervous system: Some fundamental questions. Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke? *Acta Neurology Scandinavica* 1989; 126: 23-33.
18. Clapham DE. TRP channels as cellular sensors. *Nature* 2003; 426: 517-24.
19. Miller BA. The role of TRP channels in oxidative stress-induced cell death. *J Membr Biol* 2006; 209: 31-41.
20. Sun L, Yau HY, Wong WY, Li RA, Huang Y, Yao X. Role of TRPM2 in H₂O₂-induced cell apoptosis in endothelial cells. *PLoS One* 2012; 7: 43186.
21. Lange I, Yamamoto S, Partida-Sanchez S, Mori Y, Fleig A, Penner R. TRPM2 functions as a lysosomal Ca²⁺ release channel in beta cells. *Sci Signal* 2009; 2: 23.
22. Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA. Transient Receptor Potential cation channels in disease. *Physiol Rev* 2007; 87: 165-217.
23. Alexander SP, Mathie A, Peters JA. *Guide to Receptors and Ion Channels, 1st edition. Br J Pharmacol* 2004; 141: 1-126.
24. Hara Y, Wakamori M, Ishii M, et al. LTRPC2 Ca²⁺-permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol Cell* 2002; 9: 163-73.
25. Lange I, Yamamoto S, Partida-Sanchez S, Mori Y, Fleig A, Penner R. TRPM2 functions as a lysosomal Ca²⁺-release channel in beta cells. *Sci Signal* 2009; 19: 23.
26. Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension* 2003; 42: 1075-81.

27. Kuloğlu T, Kocaman N. Enalapril Uygulanan Diyabetik Sıçan Böbrek Dokularında TRPM2 Kanal İmmunreaktivitesinin Belirlenmesi FÜ Sağ Bil Tıp Derg 2013; 27: 27-32.
28. Toklu HZ, Kwon OS, Sakarya Y. The effects of enalapril and losartan on mechanical ventilation-induced sympathoadrenal activation and oxidative stress in rats. J Surg Res 2014; doi: 10.1016.
29. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. Nature 1997; 389: 816-24.
30. Akiba Y, Kato S, Katsube K, et al. Transient receptor potential vanilloid subfamily 1 expressed in pancreatic islet beta cells modulates insulin secretion in rats. Biochem Biophys Res Commun 2004; 321: 219-25.
31. Nazıroğlu M, Cığ B, Özgül C. Neuroprotection induced by N-acetylcysteine against cytosolic glutathione depletion-induced Ca²⁺ influx in dorsal root ganglion neurons of mice: role of TRPV1 channels. Neuroscience 2013; 242: 151-60.
32. Ueda K, Tsuji F, Hirata T, Takaoka M, Matsumura Y. Preventive effect of TRPV1 agonists capsaicin and resiniferatoxin on ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. J Cardiovasc Pharmacol 2008; 51: 513-20.
33. Tsagogiorgas C, Wedel J, Hottenrot, et al. N-octanoyl-dopamine is an agonist at the capsaicin receptor TRPV1 and mitigates ischemia-induced acute kidney injury in rat. PLoS One 2012; 7: e43525.
34. Yang D, Luo Z, Ma S, et al. Activation of TRPV1 by dietary capsaicin improves endothelium-dependent vasorelaxation and prevents hypertension. Cell Metab 2010; 12: 130-41.
35. Zhang LL, Yan Liu D, Ma LQ, et al. Activation of transient receptor potential vanilloid type-1 channel prevents adipogenesis and obesity. Circ Res 2007; 100: 1063-70.
36. Ma L, Zhong J, Zhao Z, et al. Activation of TRPV1 reduces vascular lipid accumulation and attenuates atherosclerosis. Cardiovasc Res 2011; 92: 504-13.
37. Lee J, Saloman JL, Weiland G, Auh QS, Chung MK, Ro JY. Functional interactions between NMDA receptors and TRPV1 in trigeminal sensory neurons mediate mechanical hyperalgesia in the rat masseter muscle. Pain 2012; 153: 1514-24.