Etlik Vet Mikrobiyol Derg, 2026; **37 (1):** 54-60
doi: https://doi.org/10.35864/evmd.1953299

Özgün Araştırma
Original Article

Sitotoksik konsantrasyonda glukoz uygulanan NRK-52E hücre hattında glutatyonun nekrotik ve otofajik yolaklara etkisi

Sedat Çetin[1*], Sadiye Yüzer[2]

[1] *Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Veterinerlik Bölümü, Laborant ve Veteriner Sağlık Programı, Ankara, Türkiye*
[2] *Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye*

Geliş Tarihi / Received: 19.05.2026, **Kabul Tarihi** / Accepted: 24.06.2026

Özet: Bu çalışma, diyabetik stres oluşturmak amacıyla sitotoksik düzeyde glukoz uygulanan böbrek hücre hattında, diyabete bağlı komplikasyonların gelişiminde önemli rol oynayan prooksidan/antioksidan dengenin glutatyon uygulamasıyla nekrotik ve otofajik yolaklar üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla planlanmıştır. Ayrıca elde edilen bulgular doğrultusunda glutatyonun diyabetik komplikasyonların azaltılmasındaki olası koruyucu etkisinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Çalışmada NRK-52E hücre hattı *in vitro* koşullarda kültüre edilmiştir. Glukozun IC_{50} değeri ile glutatyonun proliferatif etkili dozunun belirlenmesi amacıyla MTT canlılık analizi gerçekleştirilmiştir. MTT canlılık testine göre; glukozun sitotoksik dozu 250 Mm, glutatyonun proliferasyonu artıran dozu ise 250 µM olarak tespit edildi. Deney grupları; kontrol, yüksek glukoz, glutatyon ve yüksek glukoz+glutatyon olacak şekilde oluşturulmuştur. Yirmi dört saatlik inkübasyon sürecinin ardından hücreler toplanmış ve Trizol yöntemi kullanılarak RNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen RNA örneklerinden cDNA sentezlenmiş, ardından nekrotik ve otofajik yolaklarla ilişkili genlerin ekspresyon düzeyleri RT-qPCR yöntemiyle analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarında, glutatyon uygulanan grupta otofajik ve nekrotik gen ekspresyonlarında belirgin bir değişiklik gözlenmezken, yüksek glukoz uygulanan gruplarda bu genlerin ekspresyon düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte glutatyon uygulamasının, artmış gen ekspresyonlarını azaltarak kontrol grubuna yaklaştırdığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Glutatyon, Hücre kültürü, Nekrozis, Otofaji, Yüksek glukoz.

The effect of glutathione on necrotic and autophagic pathways in NRK-52E cell line in which glucose at cytotoxic concentration was applied

Abstract: This study was designed to investigate the effects of glutathione administration on necrotic and autophagic pathways in a renal cell line exposed to cytotoxic concentrations of glucose to induce diabetic stress, with particular emphasis on the prooxidant/antioxidant balance, which plays a critical role in the development of diabetes-related complications. Furthermore, the study aimed to determine whether glutathione has a significant protective effect in reducing diabetic complications based on the obtained findings. NRK-52E cells were cultured under in vitro conditions. The IC_{50} value of glucose and the proliferative dose of glutathione were determined using the MTT cell viability assay. According to the MTT viability test, the cytotoxic dose of glucose was determined to be 250 µM, and the proliferation-enhancing dose of glutathione was also determined to be 250 µM. Experimental groups were established as control, high glucose, glutathione, and high glucose + glutathione. Following 24 hours of incubation, the cells were collected and RNA isolation was performed using the Trizol method. Subsequently, cDNA synthesis was carried out, and the expression levels of necrotic and autophagic genes were analyzed by RT-qPCR. According to the results of the analysis, no significant alteration was observed in the expression levels of autophagic and necrotic genes in the glutathione-treated group. However, these genes were upregulated in the high-glucose groups. In addition, glutathione treatment reduced the increased gene expression levels and brought them closer to those observed in the control group.

Keywords: Autophagy, Cell culture, Glutathione, High glucose, Necrosis,

Giriş

Diyabetes mellitus (DM), yalnızca metabolik bir bozukluk olmanın ötesinde, uzun dönemli etkileri nedeniyle sağlık sistemleri üzerinde giderek artan bir yük oluşturmaktadır. Hastalığın kontrol altına alınamadığı durumlarda gelişen kronik hiperglisemi, başta pankreas olmak üzere karaciğer ve böbrek gibi hedef organlarda zamanla ilerleyici yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açabilmektedir. Bu durum, diyabet yönetiminde yalnızca metabolik parametrelerin düzenlenmesinin yeterli olmadığını, aynı zamanda organ hasarını önlemeye yönelik bütüncül

Yazışma adresi / Correspondence: *Sedat Çetin, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Veterinerlik Bölümü, Laborant ve Veteriner Sağlık Programı, Ankara, Türkiye e-posta: sedatcetin@aybu.edu.tr*

ORCID IDs of the authors: *[1]0000-0002-6102-8571 • [2]0000-0001-5064-5075*

yaklaşımların da önem taşıdığını göstermektedir. Bu bağlamda güncel tedavi stratejileri, kısa dönemli glisemik kontrolün yanı sıra uzun vadeli komplikasyonların azaltılması ve organ fonksiyonlarının korunmasını hedeflemektedir (TEMD, 2024).

Glutatyon (GSH), glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşan bir tripeptit olup, hücre içi antioksidan savunma sisteminin en önemli non-enzimatik bileşenlerinden biri olarak kabul edilmektedir GSH, proteinlerin oksidatif hasara uğramasını önlemek amacıyla onları indirgenmiş (redükte) halde tutarak yapısal bütünlüklerini korur. Bu sayede proteinlerin ve özellikle enzimlerin fonksiyonel aktivitelerinin devamlılığı sağlanır (Karagöz, 2023).

Glutatyonun önemli görevlerinden biri, hemoglobinin oksidasyon sonucu methemoglobine dönüşümünü engellemektir. Bunun yanı sıra, eritrosit membranlarını H_2O_2 kaynaklı hasarlara karşı korur; göz lensi proteinlerini oksidatif değişimlerden muhafaza eder ve lökositleri fagositoz sırasında oluşan reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı destekler. Glutatyon, hücre içi redoks dengesinin korunmasında görev alarak reaktif oksijen türlerini nötralize eden önemli bir non-enzimatik antioksidandır. Bu süreçte, GSH-Px enzimi aracılığıyla GSH, H_2O_2'ye elektron vererek onu indirger ve kendisi oksitlenerek glutatyon disülfit (GSSG) formuna dönüşür. Oluşan okside glutatyon (GSSG) ise glutatyon redüktaz (GSH-R) enzimi sayesinde yeniden indirgenerek GSH formuna çevrilir. Bu döngü, hücresel redoks dengesinin sürdürülmesinde temel bir mekanizma olarak işlev görmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Otofaji, hücre içerisinde bulunan büyük moleküllerin ve organellerin lizozomlarla birleşerek yıkıma uğratıldığı bir hücresel süreçtir (Arslan ve ark., 2011). GSH mekanizmasının otofaji üzerindeki etkileri tam olarak açıklığa kavuşmamış olsada, son yıllarda yapılan çalışmalar GSH düzeylerindeki değişimlerin otofajik hücre ölümü üzerinde etkili olduğunu göstermektedir (Seo ve ark., 2011). Plazma GSH düzeyinin azalması, hücre içi reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına yol açmakta; artan ROS düzeyi ise otofajik hücre ölümünü aktive etmektedir. Bunun yanı sıra ROS, ferritin salınımını uyararak "ferritinofaji" olarak adlandırılan süreçte ferritinin yıkımına neden olmaktadır (Lv ve ark., 2019).

Nekroz ise kontrolsüz ve programlanmamış bir hücre ölüm şekli olarak tanımlanmaktadır. Hipoksi ve toksik ağır metallere maruz kalma gibi çeşitli faktörler nekrotik hücre ölümünü tetikleyebilmektedir (Coşkun ve Özgür, 2011). Hücre içerisindeki ROS düzeyinin artması hem apoptoz hem de nekroz mekanizmalarını aktive etmektedir. GSH seviyelerindeki azalma, ROS üretimini artırarak nekrotik ve apoptotik süreçleri desteklemektedir. Reseptör etkileşimli protein kinazlar olan Ripk1 ve Ripk3, nekroz ile ilişkili temel düzenleyiciler arasında yer almaktadır. Ripk1 inhibitörü olarak bilinen nekrostatin-1'in, azalmış GSH düzeylerine bağlı gelişen nekroza karşı hücreyi koruyabildiği bildirilmiştir (Xu ve ark., 2007). GSH azalmasına bağlı olarak artan ROS düzeyi; Bax artışı, Bcl-2 azalması, sitokrom c salınımı ve kaspaz aktivasyonu gibi olayları tetikleyerek nekrotik hücre ölüm sürecini başlatmaktadır (Lv ve ark., 2019).

Nekroz, hücre organellerinin bütünlüğünün bozulması sonucunda inflamatuar mediyatörlerin açığa çıkmasına yol açan ve "nekroinflamasyon" olarak da adlandırılan bir hücre ölüm mekanizmasıdır (Tonnus ve ark., 2021). Kimyasal ve fiziksel etkenlerin yanı sıra hipoksi ve yetersiz beslenme gibi durumlar nekrotik süreci tetikleyebilmektedir. Özellikle mitokondride reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı, nekroz gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Nekrozun başlangıcında görev alan Poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) enziminin aşırı aktivasyonu, NAD düzeylerinin azalmasına neden olmakta; buna bağlı olarak ATP üretiminin düşmesi hücre ölümünü ve inflamatuar yanıtı artırmaktadır (Xu ve ark., 2018). İnflamasyonun şiddetlenmesiyle birlikte sitokin ve interferon (IFN) salınımı artmakta, yükselen IFN düzeyleri ise reseptör etkileşimli protein kinaz 1 ve 3'ün (Ripk1 ve Ripk3) aktivasyonunu destekleyerek nekrotik süreci uyarmaktadır (Thapa ve ark., 2013). Bunun yanında ROS seviyelerindeki yükselme ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) salınımı da Ripk1 ve Ripk3 proteinlerini aktive ederek nekroz mekanizmasının ilerlemesine katkı sağlamaktadır (Zhang ve ark., 2017).

Bu çalışmada, sitotoksik düzeyde glukoz uygulanarak diyabetik stres oluşturulan böbrek hücre hattında, diyabete bağlı komplikasyonların gelişiminde önemli rol oynayan prooksidan/antioksidan dengenin glutatyon uygulamasıyla nasıl değiştiği araştırılmıştır. Ayrıca glutatyonun nekrotik ve otofajik yolaklar üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve elde edilen bulgular doğrultusunda diyabetik komplikasyonların azaltılmasında potansiyel bir koruyucu etkisinin bulunup bulunmadığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hücre Kültürü

NRK-52E hücre serisi *in vitro* koşullarda RPMI 1640 medyumda; %10 FBS, %1 L-glutamin, %1 penisilin/streptomisin, %95 nem ve %5 CO_2 inkübatör

ortamında haftada iki-üç kez düzenli pasajları yapılarak çoğaltıldı.

Sitotoksisite (MTT Canlılık Testi)

NRK-52E hücrelerinin uygun koşullarda çoğaltılabilmesi amacıyla hücre ekimleri 96 kuyucuklu plaklara gerçekleştirildi. Her bir kuyucuğa 8000 hücre olacak şekilde ekim yapıldı ve hücreler, 37°C sıcaklık ile %5 CO_2 içeren inkübatör ortamında 24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda hücrelerin bulunduğu ortam uzaklaştırıldı ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan GSH uygulamaları için her biri en az dört tekrar içerecek şekilde deney grupları oluşturuldu.

MTT analizi için her kuyucuğa 9 µl RPMI-1640 besiyeri ve 1 µl MTT çözeltisi (PBS içerisinde çözündürülmüş dimetiltiyazol tetrazolyum bromür) eklendi. Plaklar, formazan kristallerinin oluşabilmesi amacıyla 37°C ve %5 CO_2 koşullarında yeniden inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında oluşan formazan kristallerinin çözündürülmesi için hücre lizis çözeltisi hazırlandı ve kuyucuklara 1 µl Triton-X, 10 µl HCl ve 89 µl izopropil alkol içeren karışım ilave edildi. Kristaller tamamen çözüldükten sonra örneklerin optik yoğunluk değerleri ELISA cihazında 570 nm dalga boyunda ölçüldü. Elde edilen sonuçlarda kontrol grubunun hücre canlılığı %100 kabul edilerek değerlendirme yapıldı.

RT-qPCR için çalışma gruplarını oluşturulması

Çalışma grupları için ise 25 cm^2 flasklara, flask başına 10^6 hücre ekimi yapıldı. Ekimden sonra hücrelerin yapışması için bir gece inkübe edildi. İnkübasyondan sonra hücrelerin üzerindeki medyumlar atılarak çalışma gruplarına göre yeni medyum içinde çalışma gruplarına göre uygulamalar gerçekleştirildi. Çalışma grupları; Kontrol (K), GSH (Glutatyon), YG (Yüksek Glukoz) ve YG+GSH (Yüksek glukoz+Glutatyon) olmak üzere 4 grup olarak belirlendi.

cDNA sentezi

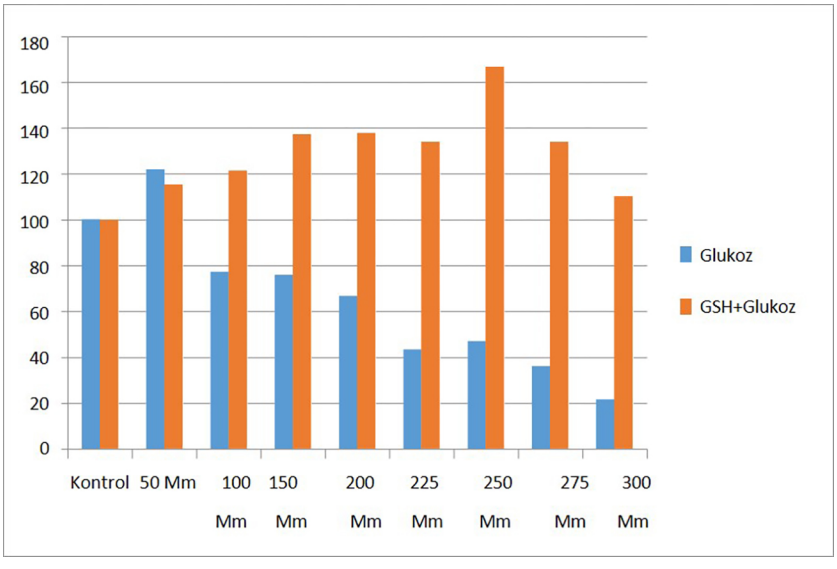
Bu çalışmada otofajik genler olan Atg5, Atg3, Sqstm ve nekrotik genler olan Ripk1 ve Ripk3 ait ekspresyon düzeyleri incelendi. RNA izolasyonunun ardından, gen ekspresyon analizlerinin gerçek zamanlı PCR (RT-PCR) yöntemiyle gerçekleştirilebilmesi amacıyla tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezi yapıldı. cDNA sentezinde WizScript marka (Cat No: W2211) kit kullanıldı ve işlemler protokol doğrultusunda gerçekleştirildi.

İstatistiksel analiz

Her bir örnek için üç tekrarlı Gerçek Zamanlı PCR analizi gerçekleştirildi ve Ct (cycle threshold) değerleri, amplifikasyon eğrisinin logaritmik fazının başlangıcı esas alınarak belirlendi. Gen ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesinde $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar, kontrol geni olarak kullanılan Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) ekspresyonuna göre normalize edilerek artış veya azalış kat sayıları (fold change) üzerinden analiz edildi.

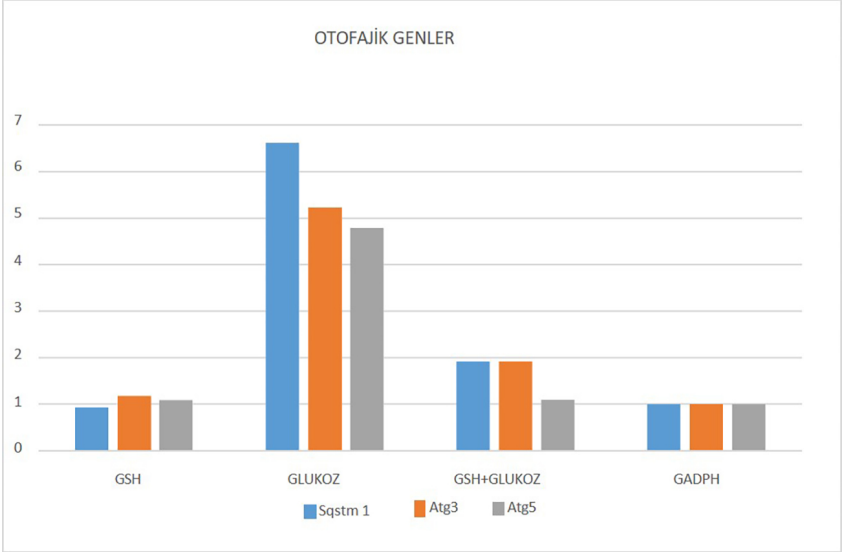
Bulgular

MTT Sonuçları



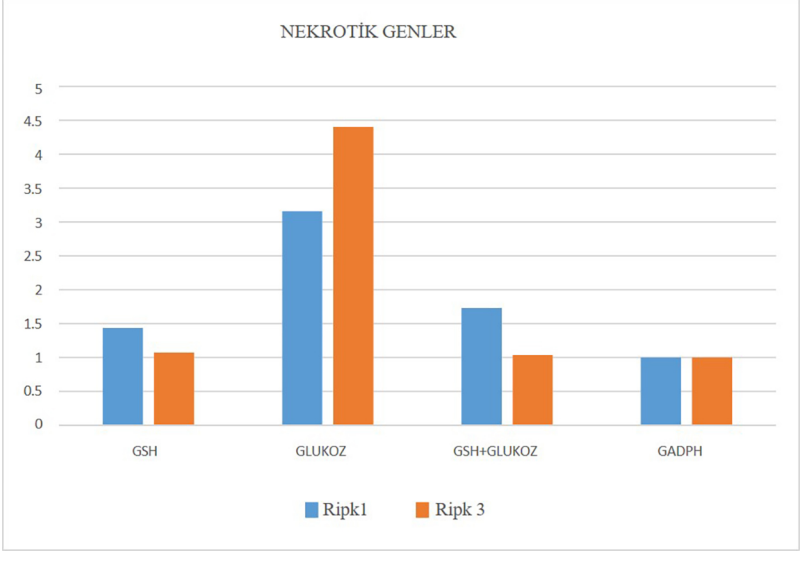
Şekil 1. MTT Sonuçları

MTT hücre canlılık analizinde kontrol grubu %100 canlı kabul edilerek değerlendirme yapıldı. MTT canlılık testine göre, glikozun sitotoksik dozu 250 Mm, glutatyonun proliferasyonu artırıcı dozu ise yine 250 µM olarak belirlenmiştir. Hücrelere farklı konsantrasyonlarda glukoz uygulanmış, ayrıca proliferasyonu artırdığı belirlenen 250 µM GSH dozu da deney gruplarına uygulanmıştır. Elde edilen MTT sonuçlarına göre, GSH uygulamasının 50 mM glukoz grubu dışında kalan tüm dozlarda hücre canlılığını artırdığı belirlenmiştir.



Şekil 2. Real Time-PCR sonuçlarına göre NRK-52E hücre hattına ait otofajik gen ekspresyon sonuçları

Gerçek zamanlı PCR sonuçlarına göre, sitotoksik konsantrasyonda glukoz uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla Sqstm gen ekspresyonunun 6,6 kat, Atg3 gen ekspresyonunun 5,2 kat ve Atg5 gen ekspresyonunun ise 4,8 kat arttığı belirlenmiştir. Yalnızca GSH uygulanan grupta ise Sqstm, Atg3 ve Atg5 gen ekspresyon düzeylerinde kontrol grubuna göre belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. GSH ve glukozun birlikte uygulandığı grupta ise, yalnızca glukoz uygulanan gruba kıyasla otofajik aktivitenin önemli ölçüde azaldığı ve değerlerin kontrol grubuna yaklaştığı tespit edilmiştir.



Şekil 3. Real time-PCR sonuçlarına göre NRK-52E hücre hattına ait gen ekspresyon sonuçları

Gerçek zamanlı qPCR analiz sonuçlarına göre, glukoz uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla Ripk1 gen ekspresyonunun 3,1 kat, Ripk3 gen ekspresyonunun ise 4,3 kat arttığı belirlenmiştir. Yalnızca GSH uygulanan grupta ise Ripk1 ve Ripk3 gen ekspresyon düzeylerinde kontrol grubuna göre belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. GSH ve glukozun birlikte uygulandığı grupta ise Ripk1 ve Ripk3 gen ekspresyon seviyelerinin kontrol grubuna yakın değerlere gerilediği tespit edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Diabetes mellitus; insülin salınımındaki yetersizlik, insülin etkisinde azalma veya her iki durumun birlikte görülmesi sonucunda gelişen ve kronik hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Hastalık sürecinde karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında meydana gelen bozukluklar zamanla çok sayıda sistemik komplikasyonun ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Sürekli takip ve tedavi gerektiren diyabet, yaşam kalitesinde azalma, iş gücü kaybı ve sağlık harcamalarında artış gibi sonuçları sebebiyle küresel düzeyde önemli bir sağlık problemi olarak değerlendirilmektedir (Abou-Seif ve ark., 2004; Andian ve Burçak 2005).

Antioksidan özellik gösteren glutatyon (GSH), tiyol grubu içeren ve memelilerin birçok dokusunda yaygın olarak bulunan önemli bir hücresel savunma molekülüdür. Hücre içi redoks dengesinin korunmasında görev alan GSH, oksidatif stresin değerlendirilmesinde güçlü bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir (Franco ve ark., 2007). Başlıca antioksidan savunma sistemlerinden biri olan GSH, diyabete bağlı yüksek glukoz düzeylerinin oluşturduğu serbest radikaller ve oksidatif strese karşı hücre ve dokuların korunmasında önemli rol oynamaktadır (Franco ve ark., 2007; Yur ve ark., 2013).

Koo ve ark. (2016), HEI-OC1 işitsel hücre hattında sisplatin uygulanmasına karşı glutatyonun hücreleri koruyucu özelliğinin araştırmışlar. Glutatyonun hücreleri doza bağlı olarak hem koruyucu etkisi hem de tedavi edici özelliği olduğunu bildirmişlerdir. Yine Yur ve ark. (2013) deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlara besinsel olarak glutatyon uygulamasının ratların pankreas hücrelerine faydalı etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir.

Oksidatif stres hipotezine göre, reaktif oksijen türleri (ROS) ile serbest radikallerin oluşum hızı ve organizmanın antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengesizlik, diyabetin kronik komplikasyonlarının gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle antioksidan savunma sistemlerinin desteklenmesi ve bozulan redoks dengesinin antioksidanlar lehine düzenlenmesiyle diyabete bağlı komplikasyonların azaltılabileceği düşünülmektedir (Memişoğulları, 2005).

Yapılan çalışmalarda, diyabetli bireylerde GSH düzeylerinin sağlıklı kişilerden anlamlı şekilde düşük olduğu rapor edilmektedir. Yeterli bir GSH kaynağının, oksidatif strese karşı koruma sağlayarak, diyabetteki bozulmuş böbrek ve sinir fonksiyonlarını önleyebileceğini veya geciktirebileceğini bildirmişlerdir (Abou-Seif ve Youssef, 2004; Kulkarni ve ark.i 2014).

Çeşitli *in vivo* ve *in vitro* araştırmalar, oksidatif stresin DNA hasarına neden olduğunu ortaya koymuştur. Diyabetik bireylerde oksidatif DNA hasarının önemli göstergelerinden biri olan 8-OHdG düzeylerinin, doku ve vücut sıvılarında arttığı rapor edilmiştir (Park ve ark., 2001; Andican ve Burçak, 2005).

Yaycı ve ark. (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise, yüksek glukoz uygulanan böbrek hücre hattında GSH'ın kaspaz aracılı yolaklar üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırma sonuçlarında, GSH uygulamasının yüksek glukoza bağlı gelişen apoptozu kısmen azalttığı, ancak oksidatif DNA hasarı üzerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı belirtilmiştir.

Yeterli düzeyde GSH varlığının, oksidatif strese karşı koruyucu etki göstererek diyabete bağlı gelişen böbrek ve sinir fonksiyon bozukluklarının önlenmesine veya geciktirilmesine katkı sağlayabileceği bildirilmiştir (Abou-Seif ve Youssef, 2004).

Bu çalışmada, sitotoksik konsantrasyonda glukoz uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla otofaji ile ilişkili genlerden Sqstm ekspresyonunun 6,6 kat, Atg3 gen ekspresyonunun 5,2 kat ve Atg5 gen ekspresyonunun ise 4,7 kat arttığı belirlenmiştir. Elde edilen bu bulgular, yüksek glukoz uygulanan hücrelerde otofajik mekanizmaların aktive olduğunu göstermektedir. Yalnızca GSH uygulanan grupta ise Sqstm, Atg5 ve Atg3 gen ekspresyonlarında kontrol grubuna göre belirgin bir değişiklik saptanmamıştır. GSH ve glukozun birlikte uygulandığı grupta ise ilgili gen ekspresyon düzeylerinin yalnızca glukoz uygulanan gruba göre kontrol değerlerine yaklaştığı ve buna bağlı olarak otofajik aktivitenin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

Nekrotik yolaklarla ilişkili gen ekspresyonları değerlendirildiğinde, glukoz uygulanan grupta kontrol grubuna göre Ripk1 geninde 3,1 kat, Ripk3 geninde ise 4,3 kat artış meydana geldiği belirlenmiştir. Sadece GSH uygulanan grupta Ripk1 ve Ripk3 gen ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik gözlenmezken, GSH+glukoz uygulanan grupta bu genlerin

ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna yakın değerlere gerilediği saptanmıştır. Bu sonuçlar, GSH uygulamasının yüksek glukozun indüklediği nekrotik ve otofajik süreçleri baskılayıcı etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

Yur (2022) ve ark tarafından yapılan çalışmada yüksek oranda glukoz ilave edilen BHK-21 hücre hattına GSH'ın oksidatif DNA hasarı ve antioksidan sistem üzerine etkilerini incelemişler. Araştırma sonucunda yüksek glukoz uygulanan hücrelere uygulanan glutatyonun hücresel düzeyde bu dozlarda koruyucu etkisi gözlenmemiştir. Ancak glutatyon uygulanan guruplarda, uygulanan glutatyon dozlarının da hücreler üzerine toksik olmadığını bildirmişlerdir.

Diyabetik nefropati hastalarında, GSH'ın Vitamin E ve Vitamin C ile birlikte kullanımının daha etkili olduğu ve bu antioksidanların birbirlerinin etkilerini güçlendirdiği bildirilmiştir (Kulkarni ve ark., 2014). Diyabet tedavisinde antidiyabetik ilaçlara ek olarak antioksidan bileşiklerin veya antioksidan özellik gösteren antidiyabetik ajanların kullanılmasının, oksidatif stresin olumsuz etkileriyle mücadelede yararlı olabileceği belirtilmektedir (Memişoğulları, 2005). Ayrıca birçok çalışma, oksidatif stres ve serbest radikal kaynaklı hücresel hasara karşı GSH uygulamasının koruyucu etkiler sağladığını ortaya koymuştur (Nagata ve ark., 2001).

Sonuç olarak bu çalışmada, sitotoksik konsantrasyonda glukoz uygulanarak diyabetik stres oluşturulan böbrek hücre hattında, diyabete bağlı komplikasyonların gelişiminde önemli rol oynayan prooksidan/antioksidan dengenin, glutatyon uygulaması sonrasında nekrotik ve otofajik yolaklarla ilişkili genler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Elde edilen bulgulara göre, yüksek glukoz uygulanan hücrelere GSH ilavesinin otofajik ve nekrotik süreçleri baskılayarak değerleri kontrol grubuna yaklaştırdığı belirlenmiştir. MTT analiz sonuçları ise, 50 mM glukoz grubu dışında kalan tüm gruplarda GSH uygulamasının hücre canlılığını artırdığını göstermiştir. Bu sonuçlar, glutatyonun hücreler üzerinde hem koruyucu hem de tedavi edici özelliği ortaya konuldu.

Finansal Kaynak: Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL 2022-9893 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.

Kaynaklar

Abou-Seif MA, Youssef A. (2004) Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. Clin Chim Acta. 346 (2), 161-70.

Arslan DO, Korkmaz G, Gözüaçık D. (2011) Otofaji ve hücresel stres yanıtı ve ölüm mekanizması. Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2(4),184-194.

Andian G, Burçak G. (2005) Oxidative damage to nuclear DNA in streptozotocin-diabetic rat liver. Clin Exp Pharmacol Physiol. 32 (8), 663-666.

Coşkun G, Özgür H. (2011) Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması. AKTD. 20(3),145-158.

Franco R, Schoneveld OJ, Pappa A, Panayiotidis MI. (2007) The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases. Arch Physiol Biochem. 113(4-5), 234-58.

Karabulut H, Gülay MŞ. (2016) Antioksidanlar. Mehmet Akif Ersoy Üniv Vet Fak Derg. 1(1), 65-76.

Karagöz B. (2023) Ülserli sıçanlarda tek başına anjiyotensin-1 reseptör blokajı ile anjiyotensin-1reseptör-neprilisin inhibisyonu kombinasyonunun gastroproteksiyon açısından karşılaştırılması Yüksek lisans tezi. Erzurum Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Koo DY, Lee SH, Lee S, Chang J, Jung HH, Im GJ. (2016) Comparison of the effects of lipoic acid and glutathione against cisplatin-induced ototoxicity in auditory cel. Int J Pediatr Otorhinolaryngology. 91,30-36. doi.org/10.1016/j.ijporl.2016.10.008.

Kulkarni R, Acharya J, Ghaskadbi S, Goel P (2014) Thresholds of oxidative stress in newly diagnosed diabetic patients on intensive glucose-control therapy. PLoS One. 9(6), e100897. doi.org/10.1371/journal.pone.0100897.

Lv H, Zhen C, Liu J, Yang P, Hu L, Shang P (2019) Unraveling the potential role of glutathione in multiple forms of cell death in cancer therapy. Oxid Med Cell Longev. 2019,1-16. doi.org. 10.1155/2019/3150145.

Memişoğulları R. (2005) Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi. 7(3), 30-39.

Nagata J, Kijima H, Hatanaka H, Asai S. (2001) Reversal of cisplatin and multidrug resistance by ribozyme-mediated glutathione suppression. Biochem Biophys Res Commun. 286 (2), 406-413. doi.org/10.1006/bbrc.2001.5399.

Park KS, Kim JH, Kim MS, Kim JM, Kim SK. (2001) Effects of insulin and antioxidant on plasma 8-hydroxyguanine and tissue 8-hydroxydeoxyguanosine in streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes. 50(12), 2837-41.

Seo G, Kim SK, Byun YJ, Oh E, Jeong SW, Chae GT, Lee SB. (2012). Hydrogen peroxide induces Beclin 1-independent autophagic cell death by suppressing the mTOR pathway via promoting the ubiquitination and degradation of Rheb in GSH-depleted RAW 264.7 cells.Free Radic Res. 45(4), 389-399. doi.org 10.3109/10715762.2010.535530.

TEMD (2024) Diyabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. Ankara. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. ISBN: 978-625-99759-2-4.

Thapa RJ, Nogusa S, Chen P,Maki JL, Lerro A, Andrake M, Rall GF, Degterev A, Balachandran S (2013). Interferon-induced RIP1/RIP3-mediated necrosis requires PKR and is licensed by FADD and caspases. Proc Natly Acad Scı USA. 110 (33),109-118.

Tonnus W, Belavgeni A, Beuschlein F, Eisenhofer G, Fassnacht M, Krois M, Krone N, Reincke M, Bornstein LA (2021) The role regulated necrosis in endocrine diseases. Nat Rev Endocrinol. 17(8), 497-510. doi.org. 10.1038/s41574-021-00499-w.

Xu X, Chua CC, Kong J, Kostrzewa RM, Kumaraguru U, Hamdy RC,Chua BHL. (2007) Necrostatin-1 protects

against glutamate-induced glutathione depletion and caspase-independent cell death in HT-22 cells. Journal of Neurochemistry.103(5), 2004-2014. doi. org 10.1111/j.1471-4159.2007.04884.x

Xu T, Ding W, Taring MA, Wang Y, Wan Q, Li M, Wang J. (2018) Molecular mechanism and therapy application of necrosis during myocardial injury. J Cell Mol Med. 22(5), 2547-57.

Yur F, Dede S, Karaca T, Yeğin SC, Değer Y, Özdemir H. (2013) The effect of glutathione treatment on the biochemical and immunohistochemical profile in streptozotocin-induced diabetic rats. J Membr Biol. 246(6), 427-433.

Yur F, Dede S, Çetin S, Taspinar M, Usta A. (2022) In vitro evaluation of glutathione implementation on oxidative DNA damage and oxidant status in high glucose conditions. Eurasian J Vet Sci. 38(4), 242-247. doi.org 10.15312/EurasianJVetSci.2022.388

Yaycı G, Dede S, Usta A, Yüksek V, Çetin S. (2021) In vitro evaluation of the effect of glutathione on caspase system and oxidative DNA damage in high glucose condition. Eskişehir Technical University Journal of Science and Technology C-Life Sciences and Biotechnology. 10 (6),132-137.

Zhang Y, Su SS, Zhao S Yang Z, Zong C, Chen X, Cai Q, Yang Z, Huang Ş, Wu R, Han J. (2017). RIP1 autophosphorylation is promoted by mitochondrial ROS and is essential for RIP3 recruitment into necrosome. Nat Commun. 8(8), 1-14. doi. org. 10.1038/ncomms14329.