

Deneysel Diyabetin Sıçan Böbrek Dokusunda Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler

The Histologic Alterations in Rat Kidneys Induced By Experimental Diabetes

Dr. Tuncay KULOĞLU,^a
Dr. Dürrin Özlem DABAK^a

^aHistoloji ve Embriyoloji AD,
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Elazığ

Geliş Tarihi/Received: 12.08.2008
Kabul Tarihi/Accepted: 25.11.2008

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimince 20- 06- 2006 / 1309 no' lu proje ile desteklenmiştir.

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Dürrin Özlem DABAK
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji AD, Elazığ,
TÜRKİYE/TURKEY
dozlemdabak@firat.edu.tr

ÖZET Amaç: Erken dönemde böbreklerde oluşabilecek değişikliklerin diyabetik nefropati açısından önemli olabileceği varsayımıyla, bu çalışmada streptozotosin ile oluşturulan diyabetin 2., 4. ve 6. haftasında sıçan böbrek dokusuna olan etkilerinin incelenmesi amaçlandı. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada 54 adet erişkin Wistar tipi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar çalışmanın 2., 4. ve 6. haftasının her birinin sonunda, her bir gruptan 6'şar tanesi dekapite edilmek üzere; kontrol (n= 3 x 6), intraperitoneal 0,1 M Fosfat-sitrat verilen (tampon) kontrol (n= 3 x 6) ve intraperitoneal 50 mg/kg streptozotosin verilen diyabetik (n=3x6) olmak üzere 3 ana gruba ayrıldı. Deney sonunda sıçanlar dekapite edildi ve böbrek dokuları çıkartıldı. Rutin ışık mikroskobu takibi yapılarak dokular parafin bloklara gömüldü. Parafin kesitler Hematoksilen-eozin, Masson trikrom, toluidin mavisi, Periyodik asit schiff ile boyandı ve ışık mikroskobunda incelenerek fotoğraflandı. **Bulgular:** Histolojik incelemelerde, kontrol grupları arasında herhangi bir farklılık gözlenmedi. Diyabetik gruplarda, böbrek dokusunda başta glomerüller ve tübüller olmak üzere, diyabetin altıncı haftasına doğru gittikçe artan bazı histopatolojik değişiklikler gözlemlendi. Bu değişiklikler, glomerüllerde hipertrofi, mezangial matriks ve hücre artışı, glomerül kapillerlerinin bazal membranlarında kalınlaşma, tübül epitellerinin fırçamsı kenarlarında ayrılma ve bozulmalar ile Armani-Ebstein lezyonlarıydı. **Sonuç:** Bu çalışmada, deneysel diyabette sıçan böbrek dokusunda, diyabetin süresi ile orantılı olarak gittikçe artan bazı histopatolojik değişiklikler şekillendiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Deneysel diabetes mellitus; böbrek; sıçan

ABSTRACT Objective: We studied on the effect of the streptozotocin-induced diabetes mellitus on kidney tissues of rats at 2nd, 4th and 6th weeks after induction of diabetes to determine the importance of the alterations that occur in the kidneys in the early phase of the diabetic nephropathy. **Material and Methods:** Fifty-four adult male Wistar rats were used in this study. Rats were divided into mainly 3 groups as; control group (n= 3 x 6), control group to which 0.1 M phosphate-sitrate was given intraperitoneally (n= 3 x 6) and diabetic group to which 50 mg/kg streptozotocin was given intraperitoneally (n= 3 x 6). Six rats from each group were decapitated at the end of the 2nd, 4th and 6th weeks and the kidneys of the rats were removed. Tissue samples were processed by using routine paraffin techniques. Paraffin sections were stained using Haematoxylin and eosin, Masson thrichrom, toluidine blue, Periodic acid-schiff, and the specimens were examined under the light microscope. **Results:** There was no difference between the control groups in the histological examination. However, towards the 6th week of the experiment, histopathologic changes gradually increased in the diabetic group, such as glomerular hypertrophy, increment in mesangial matrix and cells, thickening of basement membrane of the glomerular capillaries, detachment and degeneration of the brush border of the tubular epithelium and Armani- Ebstein lesions. **Conclusion:** In this study, we determined that histopathologic changes in the kidney tissues of rats gradually increased in proportion with the duration of experimental diabetes.

Key Words: Diabetes mellitus, experimental; kidney; rats

Diabetes mellitus (DM), metabolik anormalliklerin görüldüğü, gelişen ve sanayileşen ülkelerde morbidite ve mortaliteye neden olan bir hastalıktır.¹ İnsanların fiziksel aktivitelerinin azalması ve obezitenin artması ile DM insidansı ve prevalansında ciddi anlamda bir artış olmuştur.²

DM, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasının kronik bir hastalığı olup, hatalı glukoz kullanımına yol açan, defektif ya da eksik insülin salgısı ile karakterizedir. Bu durum hiperglisemi ile sonuçlanır.³ Tip 1 DM ve Tip 2 DM'nin rölatif olarak en sık görülen mikrovasküler komplikasyonu diyabetik nefropatidir. Bir grup diyabetik hasta böbreğinde, etyopatogenezi açıklıkla çözümlenememiş mekanizmalardan kaynaklanan, klinikte değişik karakterde proteinüri (albüminüri), arteriyel hipertansiyon, yumuşak ve yaygın ödemler ve zamanla böbrek yetersizliği ile sonuçlanan glomerülütübüler lezyonların bütününe diyabetik nefropati ismi verilmiştir. Işık mikroskobu düzeyinde, kabaca; bazal membran kalınlaşması, glomerüllerde kapiller yumağı destekleyen hücre ve matriks artışı, santral mezangiumda Periyodik Asit Schiff (PAS) ile boyanan nodüler lezyonlarla tanımlanan "Kimmelstiel-Wilson böbreği" bu sendromun patognomonik tablosunu oluşturmaktadır.⁴

Diyabetik nefropati, diyabete bağlı mortalite ve morbiditenin en önde gelen nedenidir. Gelişmiş ülkelerde her yıl ilk kez renal replasman tedavisine başlayan hastaların üçte birinde tanı diyabetik nefropatidir. Yine bu ülkelerde son dönem böbrek yetmezliği nedeni ile ilk kez diyalize giren hastaların yaklaşık yarısında etiyojoloji DM'dir.⁵

Streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda kan glukoz düzeyinin yükseldiği erken dönemlerde böbreklerdeki yapısal değişimlerin diyabetik nefropati açısından önemli olabileceği ve bu durumun histopatolojik açıdan incelenmesi gerekliliği varsayımıyla daha önceki çalışmalardan farklı olarak, bu çalışmada STZ uygulamasından 2, 4 ve 6 hafta sonraki dönemde DM'nin sıçan böbrek dokusuna olan etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmayla ilgili olarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındı ve "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" prensiplerine uyularak hayvan haklarının korunmasıyla ilgili gereken titizlik gösterildi.

Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜDAM)'nden temin edilen erişkin, 54 adet Wistar tipi erkek sıçan kullanıldı. Tüm sıçanlar aynı ortamda gözetim altında tutuldu ve aynı standart sıçan yemi verilerek "ad libitum" su, yiyecek alımları sağlandı. Sıçanlar çalışmanın 2., 4. ve 6. haftasının her birinin sonunda, her bir gruptan 6'şar tanesi dekapite edilmek üzere; "kontrol" (n= 3 x 6), intraperitoneal 0,1 M Fosfat-sitrat verilen "tampon kontrol" (n= 3 x 6) ve intraperitoneal 50mg/kg streptozotosin verilen "diyabetik" (n= 3 x 6) olmak üzere 3 ana gruba ayrıldı. Tüm sıçanlar 12 saat aç bırakıldıktan sonra ilk tartımları yapıp, kuyruk venlerinden kan örnekleri alınarak bazal kan glukoz düzeyleri tespit edildi. Kontrol grubuna deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Tampon kontrol grubuna sadece 0.1 M Fosfat-sitrat tamponu i.p olarak tek doz enjekte edildi. Diyabetik gruba 50 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0.1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4.5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. İntraperitoneal STZ uygulamasından 72 saat sonra, 12 saat açlık sonrasında kuyruk veninden alınan kanın glukometre cihazındaki (GlukoDr süper sensor, All Medicus co. Ltd.-Korea) ölçümü sonucu açlık kan glukoz düzeyi 250 mg/dL'yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Deney sürelerine göre tüm gruplardaki sıçanlar deney sonlarında 12 saat açlık sonrası son tartımları yapıp açlık kan glukoz düzeylerine bakılarak, i.p (75 mg/kg) xylazine + (10 mg/kg) ketamin anestezisi altında dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından sıçanların böbrek dokuları hızla çıkarılıp %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Dokular daha sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirilip parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5-6 mm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E), Masson Trikrom, Toluidin mavisi ve PAS

metodları ile boyandı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenip fotoğraflandı. Değişiklikler, histopatolojik durumlarına göre yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak değerlendirildi. Maksimum skor 21 olarak belirlendi. Her bir sıçan için skorlama yapıldı ve her grup için ortalama değerler saptandı.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama \pm standart hata olarak belirlendi. Vücut ağırlıkları ve kan glukoz değerlerinin istatistiksel anlamlılık düzeyleri student *t* ve ANOVA testi ile belirlendi. Histolojik değerlendirme sonuçları one sample Kolmogrov-Smirnov testi ile analiz edildi. Gruplar normal dağılım gösterdiğinden dolayı verilerin analizi için parametrik istatistik yöntemleri kullanıldı. One-way ANOVA

testi yapıldı ve post hoc karşılaştırmalar için Bonferroni testi kullanıldı. $p < 0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Verilerin analizi için SPSS 12.0 İstatistik paket programı kullanıldı.

BULGULAR

VÜCUT AĞIRLIKLARI VE KAN-GLUKOZ DEĞERLERİ

Sıçanların deneyin başlangıcı ve 2., 4. ve 6. haftasının sonundaki vücut ağırlıkları ile kan glukoz değerleri aritmetik ortalama \pm standart hata olarak sırasıyla Tablo 1, Tablo 2 ve Tablo 3'te verildi.

Diyabetin 2., 4. ve 6. haftasındaki sıçanların ağırlıklarında deneyin sonunda kontrol gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma meydana geldi. Tampon kontrol gruplarında ise kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik görülmedi.

TABLO 1: STZ uygulamasının 2. haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları ile kan-glukoz değerleri.

	Kontrol ₂ (n= 6)	Tampon kontrol ₂ (n= 6)	Diyabet ₂ (n= 6)
Başlangıç vücut ağırlığı (g)	198 \pm 10	191 \pm 5	190 \pm 13
Final vücut ağırlığı (g)	230 \pm 11	233 \pm 6	161 \pm 10 ^a
Başlangıç kan-glukoz değerleri(mg/dL)	94 \pm 8	104 \pm 6	91 \pm 9
Final kan- glukoz değerleri (mg/dL)	100 \pm 4	108 \pm 7	434 \pm 31 ^a

Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

^aKontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı ($p < 0.001$).

TABLO 2: STZ uygulamasının 4. haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları ile kan-glukoz değerleri.

	Kontrol ₄ (n= 6)	Tampon kontrol ₄ (n= 6)	Diyabet ₄ (n= 6)
Başlangıç vücut ağırlığı (g)	189 \pm 6	193 \pm 6	232 \pm 17
Final vücut ağırlığı (g)	259 \pm 9	273 \pm 13	210 \pm 15 ^b
Başlangıç kan-glukoz değerleri(mg/dL)	94 \pm 8	99 \pm 6	84 \pm 8
Final kan- glukoz değerleri (mg/dL)	104 \pm 2	104 \pm 4	452 \pm 40 ^a

Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

^aKontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı ($p < 0.001$).

^bKontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı ($p < 0.05$).

TABLO 3: STZ uygulamasının 6. haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları ile kan-glukoz değerleri.

	Kontrol ₆ (n= 6)	Tampon kontrol ₆ (n= 6)	Diyabet ₆ (n= 6)
Başlangıç vücut ağırlığı (g)	197 \pm 5	192 \pm 4	234 \pm 9
Final vücut ağırlığı (g)	308 \pm 6	296 \pm 3	197 \pm 4a
Başlangıç kan-glukoz değerleri(mg/dL)	103 \pm 9	95 \pm 6	115 \pm 14
Final kan- glukoz değerleri (mg/dL)	111 \pm 6	102 \pm 4	471 \pm 33a

Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

^aKontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı ($p < 0.001$).

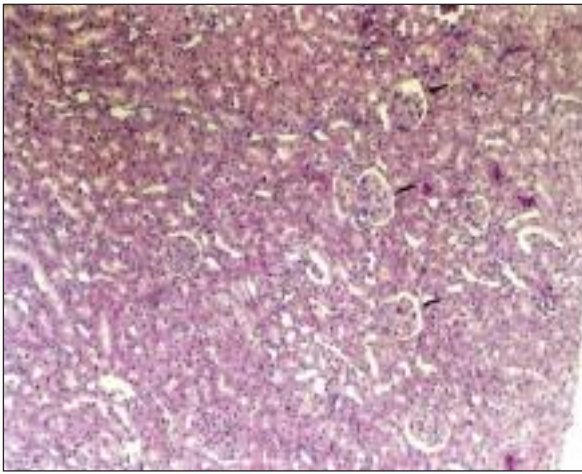
Diyabetin 2. , 4. ve 6. haftasındaki sıçanların kan glukozunun kontrollere göre anlamlı olarak yükseldiği belirlendi. Tampon kontrol gruplarında ise kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik görülmedi.

HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

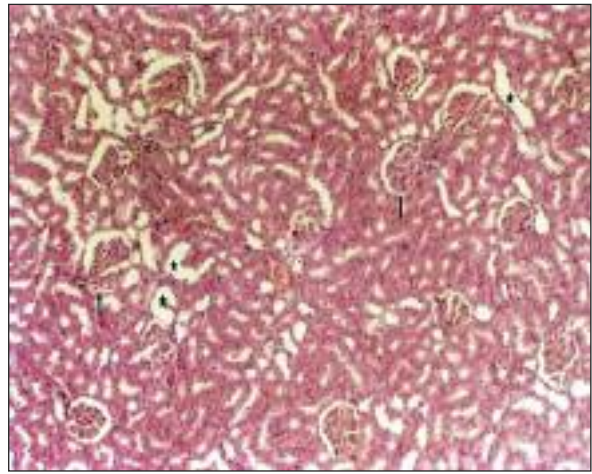
Işık mikroskobu incelemelerinde, kontrol ve tampon kontrol grupları arasında herhangi belirgin bir farklılık gözlenmedi. Kontrol grubuna ait böbrek dokularında, glomerül ve tübül yapıları normal olarak izlendi (Resim 1). Diyabetin ikinci haftasında hafif bir tübül dilatasyon, dördüncü ve altıncı haftalarında ise glomerüllerde Bowman mesafe-

sinde daralma ve tübüller dilatasyon gibi bazı histopatolojik değişiklikler belirlendi (Resim 2, 3, 4).

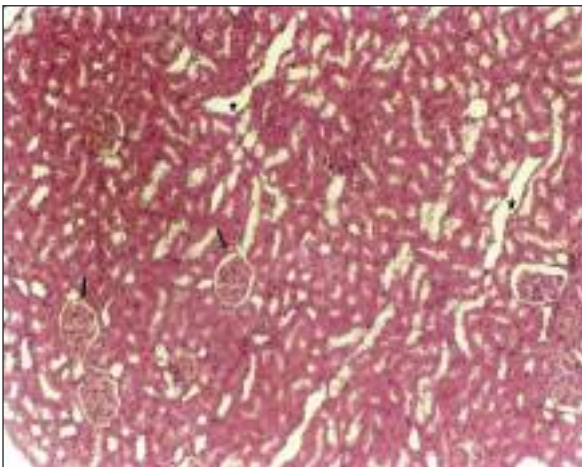
Diyabetin ikinci haftasında, kontrollerle karşılaştırıldığında sadece bazı glomerüllerde daha bariz olan hafif bir mezanjiyal matriks artışı izlendi (Resim 5a, 5b). Diyabetin dördüncü haftasında ise glomerüllerde hipertrofi ve mezangial matriks artışı belirgin bir görünümdeydi. Ayrıca glomerül kapillerlerinin bazal membranları bazı glomerüllerde belirgin olarak kalınlaşmıştı ve Bowman mesafesinde daralma dikkati çekti, ancak bu durum en belirgin olarak altıncı haftada gözlemlendi (Resim 6, 7 ve 8). Öyleki altıncı haftada bazı glomerüllerin etrafında daralmış olan Bowman



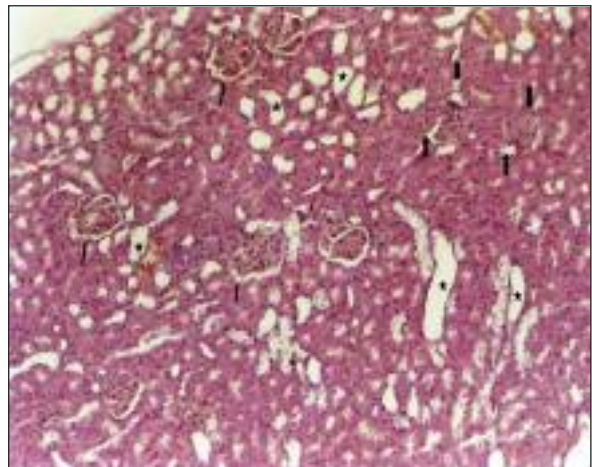
RESİM 1: Kontrol grubunda normal böbrek histolojisi. Glomerüller (→). (HE, x4)



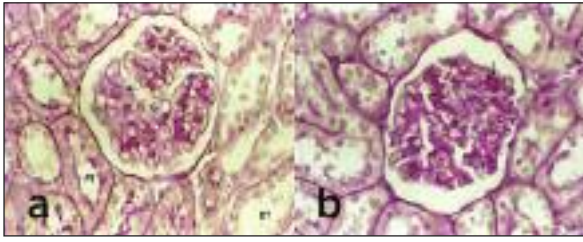
RESİM 2: Diyabetin II. haftasında böbrek dokusu. Glomerüller (→) ve tübül dilatasyon (★). (HE, x 4)



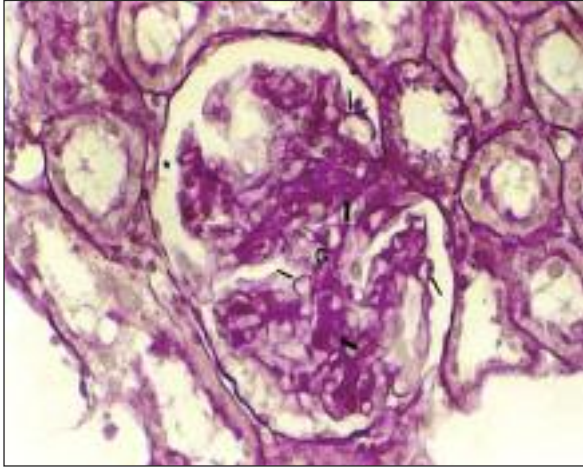
RESİM 3: Diyabetin IV. haftasında böbrek dokusu. Glomerüllerde Bowman mesafesinde daralma (→) ve tübül dilatasyon (★). (HE, x 4)



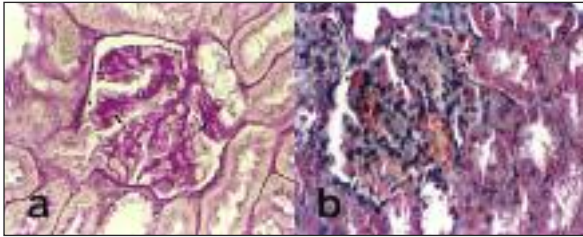
RESİM 4: Diyabetin VI. haftasında böbrekte glomerüllerde Bowman mesafesinde daralma (→), ayırt edilemeyen glomerüller (⬆) ve tübül dilatasyon (★). (HE, x 4)



RESİM 5: (a) Kontrol grubunda bir glomerül (G), proksimal (PT) ve distal (DT) tübüller, mezangial matriks (→). (b) Diyabetin II. haftasında bir glomerülden (G) hafif mezangial matriks artışı (→). (PAS, x 20)



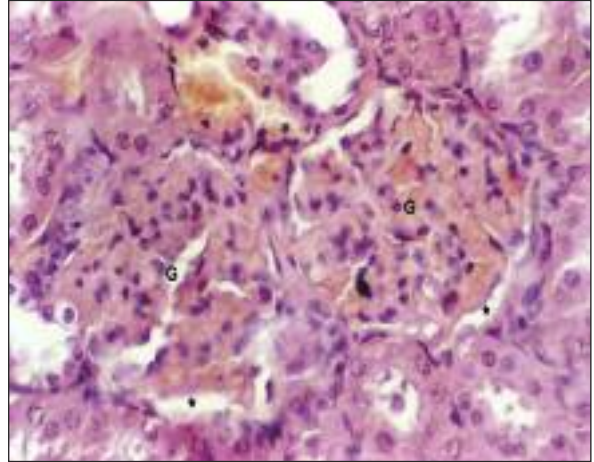
RESİM 6: Diyabetin IV. haftasında hipertrofik bir glomerülden (G) kapiller bazal membran kalınlaşması (→) ve mezangial matriks artışı (↑), Bowman mesafesi (★). (PAS, x 20)



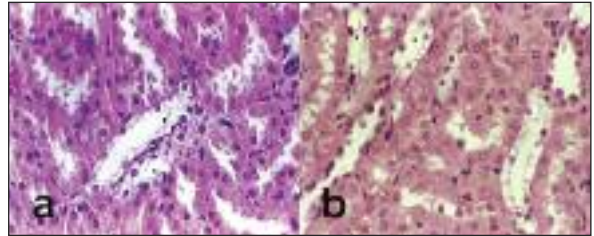
RESİM 7: (a) Diyabetin VI. haftasında bir glomerülden mezangial matriks artışı (↑) PAS X 20. (b) diğeri bir glomerülden mezangial hücre artışı (→), Bowman kapsülünün pariyetal yaprağında kalınlaşma (↑) ve Bowman mesafesinde daralma (★). (Masson Trikrom, x 20)

mesafesi nedeni ile küçük büyütmelemlerde glomerül yapıları neredeyse seçilememekteydi (Resim 4). Aynı şekilde glomerüllerde mezangiyal matriks ve hücre artışı da en belirgin olarak altıncı haftada gözlemlendi (Resim 7a ve 7b). Ayrıca diyabetin altıncı haftasında bazı glomerüllerde Bowman kapsülünün pariyetal yaprağındaki kalınlaşma da belirgindi (Resim 7b).

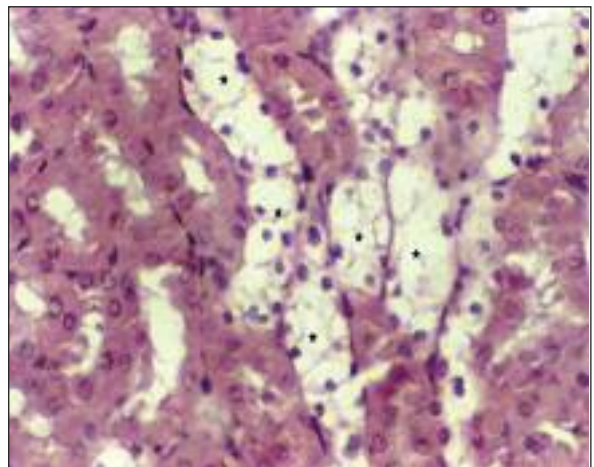
Diyabetin ikinci haftasında böbrek tübüllerinde, az sayıda tübül kesitinde gözlenen dilatasyon ve glukojenik vakuolizasyon dışında belirgin bir histolojik değişiklik izlenmedi (Resim 2, 9a). Böbrek korteksinde diyabetin ikinci haftasından



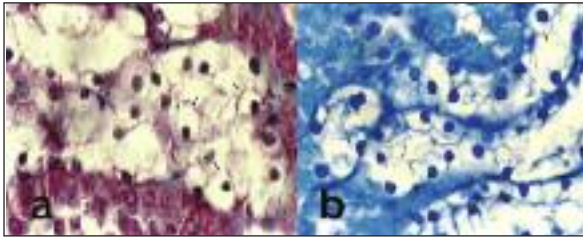
RESİM 8: Diyabetin VI. haftasında böbrek korteksinde glomerüllerde (G), Bowman mesafesinde ileri derecede daralma (★). (HE, x 20)



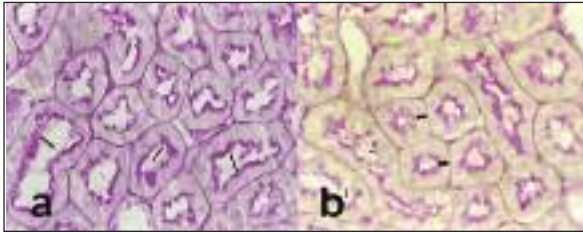
RESİM 9: (a) Diyabetin II. haftasında ve (b) diyabetin IV. haftasında böbrek tübüllerinde glikojenik vakuolizasyon (Armani-Ebstein lezyonları) (★). (HE, x 20)



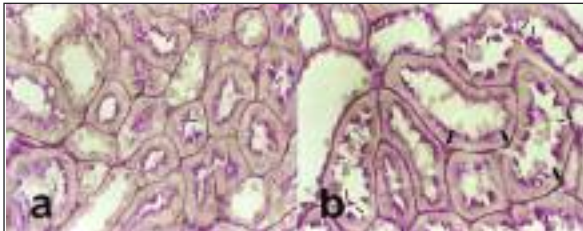
RESİM 10: Diyabetin VI. haftasında böbrek tübüllerinde Armani-Ebstein lezyonları (★) yoğun olarak izlenmekte. (HE, x 20)



RESİM 11: Dişabetin VI. haftasında Armani-Ebstein lezyonlarında şeffaf görünümlü tübül hücreleri (→). (a) Masson Trikrom, x 40. (b) Toluidin Mavisi, x 40.



RESİM 12: (a) Kontrol grubunda tübül epiteli ve fırçamsı kenarın (→) görünümü. (b) Dişabetin II. haftasında az sayıda tübül kesitinde fırçamsı kenarda ayrılma ve bozulmalar (→). Tübül bazal membranı (↑). (PAS, x 20)



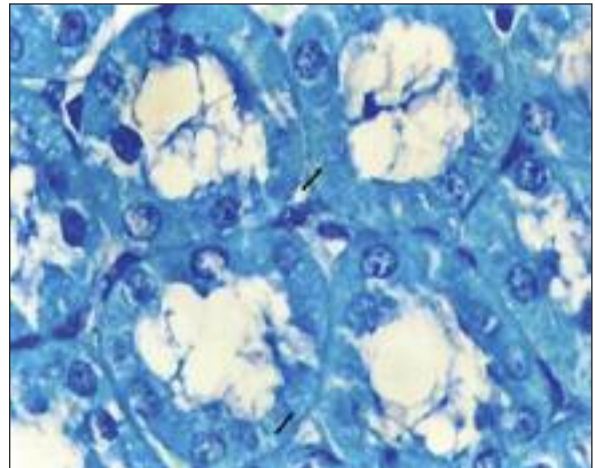
RESİM 13: (a) Dişabetin IV. haftasında ve (b) VI. haftasında tübül kesitlerinde, fırçamsı kenarda ayrılma ve bozulmalar (→). (b) Tübül bazal membranında kalınlaşma (↑). (PAS, x 20)

itibaren gözlenen ve dişabetin dördüncü haftasında daha belirgin olan glukojenik vakuolizasyonu gösteren, şeffaf görünümlü tübüller (Armani-Ebstein lezyonları) dikkati çekti (Resim 9a ve 9b). Armani-Ebstein lezyonları en yoğun olarak dişabetin altıncı haftasında gözlendi (Resim 10). Farklı boyamalarda da glikojen birikimine bağılı olarak şeffaf görünümlü, boya almamış hücre sitoplazması belirgin olarak izlendi (Resim 11).

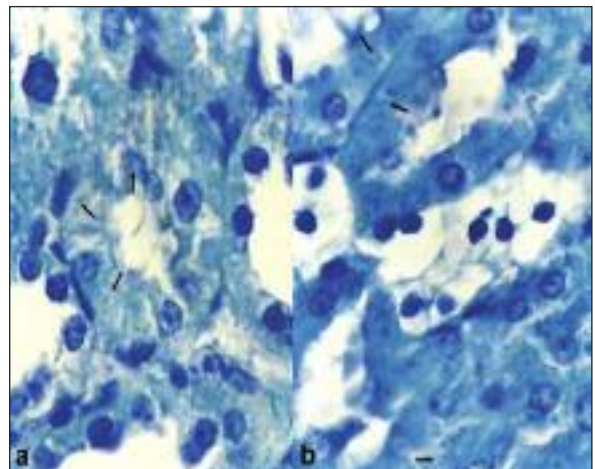
Kontrollerle karşılaştırıldığında (Resim 12a), tübül epitellerinin fırçamsı kenarlarında, dişabetin ikinci haftasından (Resim 12b), başlayarak, dişabetin altıncı haftasına doğru giderek artan ayrılma ve bozulmalar belirlendi (Resim 13). Ayrıca dişabetin

altıncı haftasında, tübül bazal membranlarında kalınlaşma dikkati çekti (Resim 13b). Kontrollerle karşılaştırıldığında (Resim 14), dişabetin dördüncü haftasından (Resim 15a) itibaren, bazı tübüllerin epitel hücre sitoplazmalarında toluidin mavisi boyama yöntemi ile belirgin halde ve fazla sayıda koyu boyanmış, farklı irilikte tanecikler dikkati çekti. Bu tanecikler böbrek tübül hücrelerinin sitoplazmalarında en yoğun olarak dişabetin altıncı haftasında gözlendi (Resim 15b).

Tüm gruplarda belirlenen histolojik değişikliklere ait veriler Tablo 4'te gösterildi. Histolojik bulguların her grup için aritmetik ortalama \pm stan-



RESİM 14: Kontrol grubunda böbrek tübül hücrelerinin sitoplazmasında çok seyrek izlenen granül benzeri tanecikler (→). (Toluidin Mavisi, x 40)



RESİM 15: Dişabetin IV. haftasında (a) ve VI. haftasında (b) böbrek tübül hücrelerinin sitoplazmasında granül benzeri tanecikler (→). (Toluidin Mavisi, x 40)

TABLO 4: STZ uygulamasının 2, 4 ve 6. haftalarında böbrek dokusunda belirlenen histolojik değişiklikler.

	Kontrol (n=6)				Tampon Kontrol (n=6)				Diyabet2 (n=6)				Diyabet4 (n=6)				Diyabet6 (n=6)			
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3*
Bowman mesafesinde daralma	6				6				6				3	3			3	3		
Mezangial matriks artışı	6				6				1	5			1	4	1		2	4		
Glomerüler hipertrofi	6				5	1			5	1			2	2	2		1	3	2	
Tübüler dilatasyon	6				6				2	4			3	3			1	3	2	
Glukojenik vakuolizasyon (Armani-Ebstein lezyonları)	6				6				5	1			5	1			1	5		
Tübül epiteli fırçamsı kenarında ayrılma ve bozulmalar	5	1			5	1			3	3			3	3			3	3		
Tübül epiteli hücre sitoplazmalarında tanecikler	6				6				5	1			3	3			1	5		

*: (0): yok, (1): hafif, (2): orta, (3): şiddetli

dart hata değerleri: Kontrol grubu: 1.1 ± 0.1 , tampon kontrol grubu: 1.3 ± 0.2 , diyabet₂ grubu: 4.5 ± 0.8 , diyabet₄ grubu: 11.6 ± 1.2 ve diyabet₆ grubu: 17.6 ± 1.4 olarak tespit edildi. Kontrol ve tampon kontrol grupları arasında bir farklılık belirlenmedi. Kontrol grupları ile diyabet₄ ve diyabet₆ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$) bir farklılık vardı. Bunun yanı sıra kontrol grupları ve diyabet₂ grubu arasında ise bir farklılık olmakla birlikte bu fark anlamlı değildi ($p = 0.18$). Diyabet₄ ile diyabet₆ grubu, diyabet₂ grubu ile karşılaştırıldığında ($p < 0.001$) ve diyabet₆ grubu, diyabet₄ grubu ile karşılaştırıldığında ($p = 0.001$) aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

TARTIŞMA

Bu çalışmada deneysel diyabet modeli, Streptomyces achromogenes tarafından üretilen ve aynı zamanda pankreas beta hücrelerine toksik etkili bir antibiyotik olan STZ ile oluşturulmuştur.⁶

Diyabetin başta gelen hedefi böbreklerdir ve böbrek yetmezliği, diyabete bağlı ölüm nedenleri arasında miyokard infarktüsünden sonra ikinci sırada yer almaktadır.³ Etiyolojisi ve patogenezi henüz tam anlamıyla aydınlatılamamış bir bilmece yumağı olan diyabetik nefropati, son dönem böbrek yetersizliğinin önemli bir nedeni olup, nefropati sıklığı diyabet süresi uzadıkça artış göstermektedir.^{4,7} Tip 1 ve Tip 2 diyabette gözlenen böbrek değişiklikleri arasında belirgin bir fark olmayıp, diyabetik nefropatide her iki tipte de glomerüler ve interstisyel lezyonların gelişmesi ortak bulgudur.^{8,9}

Deneysel ve klinik bulguların çoğu, diyabetin komplikasyonlarının, metabolik dengesizliklerin, özellikle de hipergliseminin sonucu olduğunu göstermektedir. Hiperglisemi ile uzun süreli diyabetin komplikasyonları arasında bağlantı kuran birçok mekanizma araştırılmıştır. Araştırmalar, hiperglisemi kontrolü ile diyabetin komplikasyonlarının gelişmesinin geciktirilebildiğini göstermektedir.³ Sürekli hipergliseminin böbreklerde kalıcı ve giderek yaşamsal tehlike oluşturan yapısal değişikliklere yol açtığı bilinmektedir. Ancak hiperglisemiyi nefropatinin başlaması için vazgeçilmez bir faktör olarak kabul etmek yerine, şayet nefropati gelişecekse, bu faktörü, patolojiyi şiddetlendiren bir etken olarak değerlendirmek daha uygun görünmektedir.⁴ STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, insülin ile hiperglisemi kontrolü sağlandığında, glomerül bazal membran kalınlaşması ve mezanjial matriks artışı gibi diyabetik nefropati bulgularının önlenemediği bildirilmiştir.^{10,11} Diyabetik nefropati, böbreğin bütün bölümlerini kapsayan yapısal değişiklikleri içerir, ancak en karakteristik değişiklikler glomerüller ve damarlarda belirlenmiştir.¹² En önemli glomerüler lezyonlar, kapiller bazal membran kalınlaşmaları, diffüz glomerüloskleroz ve nodüler glomerülosklerozdur. Diffüz glomerüloskleroz, mezanjial hücre proliferasyonu ve beraberinde mezangial matrikste diffüz artış olarak tanımlanabilir ve her zaman bazal membran kalınlaşması ile ilişkilidir.³ Bu çalışmada da, diyabetin dördüncü haftasından itibaren glomerüllerdeki diffüz mezanjial artış ve kapiller bazal membran kalınlaşmaları belirgin bir biçimde gözlenmiştir.

Diyabetik nefropatinin erken dönemde; glomerül ve tübüllerde hipertrofi, tübüler vakuolizasyon, glomerül ve tübül bazal membranlarında kalınlaşma, glomerüllerde mezanjiyal matriks ve hücre artışı gibi histopatolojik değişiklikler gösterdiği bilinmektedir.¹³⁻¹⁵ Çalışmamızda da ışık mikroskopu düzeyinde glomerüllerde hipertrofi ve PAS (+) mezanjiyal matrikste artış, tübüller vakuolizasyon ve tübül bazal membranlarında kalınlaşma gözlenmesi literatür bilgileri ile uyum göstermektedir.

Bu çalışmada, semikantitatif olarak yapılan histolojik değerlendirmede diyabetin 4. ve 6. haftasında böbrekte, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı histopatolojik değişikliklerin meydana geldiği belirlenmiştir ($p < 0.001$). Diyabetin 2. haftasında da kontrollere göre bir farklılık olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bulgularla birlikte, böbrek dokusunda diyabetin 6. haftasındaki değişikliklerin 4. haftadaki değişikliklere göre de istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olması, muhtemelen hastalığın şiddet ve süresi ile ilişkili olabilir ($p < 0.001$). Nitekim, diyabetteki mezangial matriks artışı daha önceki çalışmalarda diyabetin şiddet ve süresine göre derecelendirilmiştir.^{13,16} Çalışmamızda, glomerüllerde mezanjiyal matriks ve hücre artışı da altıncı haftada en yüksek düzeyde gözlenmiştir. Diyabette mezanjiyal matriks artışı, hiperglisemi sonucu oluşan ileri glikasyon son ürünleri (İGSÜ)'nin, hücresel ve hemodinamik faktörler gibi birçok mekanizma ile ilişkili bir durumdur.¹⁷ İkinci hafta ile karşılaştırıldığında, altıncı haftada Armani-Ebstein lezyonlarının da bariz bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Kontrol altına alınmayan glukozürisi olan hastalarda, tübüller epitelde glukozun reabsorbe edilerek, glikojen olarak depolandığı bilinmektedir.³ Günümüzde Armani-Ebs-

tein lezyonlarının bir hastalık belirtisi olmaktan çok, tübüller sıvıda yüksek yoğunluktaki glukozun geri emilimi sonucu glikojen birikiminin bir işareti olduğu anlaşılmıştır.⁴

Diyabetik nefropati patogeneğinde İGSÜ'nün rolü olabileceği düşünülmektedir.¹⁸ İGSÜ renal glomerüler bazal membranın artmış geçirgenliğinden de sorumludur ve bu geçirgenlik mikroalbuminüri ve makroalbuminüriye neden olur.¹⁹ Çalışmamızda, bazı tübüllerin epitel hücre sitoplazmalarında toluidin mavisi boyama yöntemi ile belirgin halde izlenen koyu boyanmış, farklı irilikte taneciklerin, özellikle diyabetin dört ve altıncı haftasında daha fazla sayıda oldukları dikkati çekmiştir. Araştırmalar, İGSÜ peptidlerinin glomerüllerden kolaylıkla filtre edildiğini ve proksimal kıvrıntılı tübüllerde reabsorbe edilerek, endolizozomal sistem tarafından metabolize olduğunu göstermektedir.^{20,21} Vardı ve ark. bu taneciklerin İGSÜ peptidleri ile yüklenen tübüller lizozom yoğunluklarındaki artışlara bağlı olarak gözlenebileceklerini bildirmişlerdir.²² Diyabetli hastalarda arteriyoller hyalin ve intima kalınlaşma alanlarında da İGSÜ belirlenmiştir.¹⁸

Sonuç olarak, STZ ile oluşturulan DM'nin sıçan böbrek dokusuna erken dönemlerde olan etkilerinin incelendiği bu çalışmada, diyabetin erken dönemlerinden başlayarak böbrek dokusunda başta glomerüller ve tübüller olmak üzere, gittikçe artan oranda histopatolojik değişiklikler meydana geldiğinin gözlenmesinin, diyabetik nefropati mekanizmaları ile ilişkilendirilebilecek önemli ve yararlı bir bulgu olabileceği düşünülebilir.

Teşekkür

İstatistiksel değerlendirmelerdeki kıymetli katkılarından dolayı Yrd.Doç.Dr. Süleyman Oktar'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Hawa MI, Picardi A, Costanza F, D'Avola D, Beretta Anguissola G, Guglielmi C, et al. Frequency of diabetes and thyroid autoantibodies in patients with autoimmune endocrine disease from Cameroon. *Clin Immunol* 2006;118(2-3):229-32.
2. Songer TJ, Zimmet PZ. Epidemiology of type II diabetes: an international perspective. *Pharmacoeconomics* 1995;8(Suppl 1):1-11.
3. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. [Pancreas]. *Temel Patoloji*. In: Çevikbaş U, translation ed. 6th ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2000. p. 511-7.
4. Büyükdavir M, Büyükbese MA, Davutoğlu M. [Diabetic nephropathy]. *Klinik moleküler patogenezi klasik ve moleküler tedavi*. 1st ed. İstanbul: Turgut Yayıncılık; 2005. p.119-36.
5. Altınparmak MR, Apaydın S. [Diabetic nephropathy]. In: Yenigün M, Altuntaş Y, eds. *Her Yönüyle Diabetes Mellitus*. 2nd ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2001. p.337-402.
6. Bolzán AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin. *Mutat Res* 2002;512(2-3):121-34.
7. Tuğrul A. [Diabetic nephropathy]. *Trakya Univ Tıp Fak Derg* 2002;19(2):113-21.
8. Dalla Vestra M, Saller A, Bortoloso E, Mauer M, Fioretto P. Structural involvement in type 1 and type 2 diabetic nephropathy. *Diabetes Metab* 2000;26 Suppl 4:8-14.
9. White KE, Marshall SM, Bilous RW. Are glomerular volume differences between type 1 and type 2 diabetic patients pathologically significant? *Diabetologia* 2007;50(5):906-12.
10. Rasch R. Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment. The mesangial regions. *Diabetologia* 1979;16:243-8.
11. Rasch R. Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment. *Diabetologia* 1979;16(5):319-24.
12. Osterby R, Asplund J, Bangstad HJ, Nyberg G, Rudberg S, Viberti GC, et al. Neovascularization at the vascular pole region in diabetic glomerulopathy. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14(2):348-52.
13. Cortes P, Dumler F, Goldman J, Levin NW. Relationship between renal function and metabolic alterations in early streptozotocin-induced diabetes in rats. *Diabetes* 1987;36(1):80-7.
14. Sanai T, Sobka T, Johnson T, el-Essawy M, Muchaneta-Kubara EC, Ben Gharbia O, et al. Expression of cytoskeletal proteins during the course of experimental diabetic nephropathy. *Diabetologia* 2000;43(1):91-100.
15. Tucker BJ, Collins RC, Ziegler MG, Blantz RC. Disassociation between glomerular hyperfiltration and extracellular volume in diabetic rats. *Kidney Int* 1991;39(6):1176-83.
16. Hirose K, Osterby R, Nozawa M, Gundersen HJ. Development of glomerular lesions in experimental long-term diabetes in the rat. *Kidney Int* 1982;21(5):689-95.
17. Nishikawa T, Edelstein D, Brownlee M. The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications. *Kidney Int* 2000;77(Suppl):S26-30.
18. Nishino T, Horii Y, Shiiki H, Yamamoto H, Makita Z, Bucala R, et al. Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end products within the vascular lesions and glomeruli in diabetic nephropathy. *Hum Pathol* 1995;26(3):308-13.
19. Rose G. High-risk and population strategies of prevention: ethical considerations. *Ann Med* 1989;21(6):409-13.
20. Gugliucci A, Bendayan M. Reaction of advanced glycation endproducts with renal tissue from normal and streptozotocin-induced diabetic rats: an ultrastructural study using colloidal gold cytochemistry. *J Histochem Cytochem* 1995;43(6):591-600.
21. Gugliucci A, Bendayan M. Renal fate of circulating advanced glycated end products (AGE): evidence for reabsorption and catabolism of AGE-peptides by renal proximal tubular cells. *Diabetologia* 1996;39(2):149-60.
22. Vardı N, İraz M, Gül M, Öztürk F, Uçar M, Otlu A. [Improving effects of aminoguanidine on the histologic alterations in rat kidneys in diabetes]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2006;26(6):599-606.