

Deneysel Diabetes Mellitusda Böbreklerin İnce Yapısı ve Selenyumunun Düzeltici Etkileri

THE ULTRASTRUCTURE OF KIDNEYS ON EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS AND THE IMPROVING EFFECTS OF SELENIUM

Birkan YAKAN*, Mukaddes EŞREFOĞLU*

* Dr.Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, ERZURUM

ÖZET

Çalışmamızda, streptozotocinle oluşturduğumuz diabetin sıçan böbreğinde meydana getirdiği patolojik ultrastrüktürel değişiklikleri incelemeyi amaçladık. Diabete bağlı olarak gelişen en belirgin patolojik değişiklik glomerüller ve tübüler bazal membran kalınlaşması ve mezengial hücrelerde artıştır. Tübülüs hücrelerinin sitoplazmalarında glikojen birikimi, artmış vakuoller ve lizozomlar başlıca bulgularımızdır. Uyguladığımız selenyumun, bu bulgulardan bazal membran kalınlaşması hariç diğerleri üzerine olumlu düzeltici etkilerini izledik.

SUMMARY

In this study we aimed to investigate the renal ultrastructural pathological alterations in streptozotocin-induced diabetic rats. The major findings resulting from diabetes mellitus were the thickening of glomerular and tubular basement membranes and the proliferation of the mesangial cells. The other findings we observed were glycogen accumulation and increased vacuoles and lysosomes in the cytoplasm of the tubular cells. We observed the positive improving effects of selenium on these findings except the thickening of basement membranes.

Anahtar Kelimeler: Streptozotocin diabeti, Böbrek, Selenyum

T Klin Tıp Bilimleri 1995, 15: 255-259

Key Words: Streptozotocin diabetes, Kidney, Selenium

T Klin J Med Sci 1995, 15: 255-259

Diabetik nefropati, diabetin geç komplikasyonlarından biridir. Bu komplikasyon nodüler veya diffüz nefropati olarak gelişebilir. Daha sık görülen diffüz diabetik nefropatide glomerül bazal membranında kalınlaşma ve mezengiumda genel bir artış ön plandadır. Nodüler nefropati ise Periyodik asit schiff (PAS) pozitif materyalin glomerülün periferinde birikimi ile karakterize olup Kimmelsteel Wilson lezyonu adını alır (1.2).

Deneysel diabet oluşturmak üzere yaygın şekilde kullanılan streptozotocin, bir streptomyces türünden elde edilen diabetojenik bir ajandır. Etkisini pankreasta beta hücrelerini selektif ve irreversibl olarak harabederek gösterir (3). Streptozotocin'in diabetojenik sellüler etkisinde böbrekte ve pankreasta suksinil kolin sentetaz aktivitesini inhibe etmesi rol oynar (4). Karaciğer ve böbrek üzerine toksik etkisi vardır (3).

Geliş Tarihi: 13.10.1994

Yazışma Adresi: Mukaddes ŞEREFOĞLU
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji ABD
25240, ERZURUM

Böylece, morfolojik olarak böbrekte tübülüs hücrelerinde emilim ve madde geçişine bağlı olarak mikrovillularda, bazal membran kapantılarında veya mitokondrium gibi organellerde veya hücresele düzeyde glomerüllerde değişim beklenebilir (5-9). Biz de sıçanlar üzerinde yaptığımız bu çalışmamızda streptozotocin kullanarak oluşturduğumuz diabet sonucunda böbrekte meydana gelen ultrastrüktürel değişiklikleri ve selenyumun bu değişiklikler üzerindeki etkisini incelemeyi amaçladık.

MATERYEL VE METOD

Çalışmamızda Wistar Albino türü 16 erişkin sıçan deney hayvanı olarak kullanıldı. Hayvanlar üç gruba ayrıldı. 1.gruptaki hayvanlar kontrol grubu olarak normal beslendi. 2. ve 3. gruptaki hayvanlara diabet oluşturmak üzere 60 mg/kg Streptozotocin intraperitoneal olarak uygulandı. Diabet oluşturulmuş grubun birine sodyum selenit uygulandı. Sodyum selenit hayvanların içme suyuna katıldı. Bütün hayvanlar 25.günde açılarak bilateral olarak böbrekleri çıkarıldı. Örnekler glutaraldehit ve osmiumla tespit edildi. Alkol dehidratasyonundan sonra araldid CY212 ile enklüzyon yapıldı. Kesitler kurşun sitrat ve uranil asetat ile boyanarak JEOL 100SX modeli elektron mikroskopta incelendi.

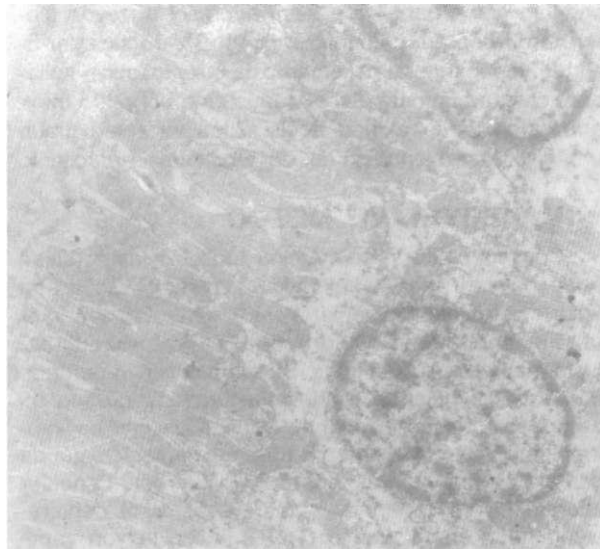
BULGULAR

Kontrol Grubu: Bu sıçanlardan alınan kesitlerde böbrek cisimciği bilinen yapısında gözlemlendi. Bu şekilde cisimcik, glomerül kapiller yumağı ve çevresinde Bowman kapsülünün tek katlı yassı epiteliyle döşeli visseral ve parietal yaprakları ve Bowman mesafesinden oluşuyordu. Visseral yaprak üzerinde kapiller bazal membrana yakın yerleşmiş, ayaklı çıkıntılar ile dikkat çeken, genellikle irregüler nükleuslu podositler gözleniyordu. Glomerülde interkapiller mesafede, bazen de vasküler kutupta glomerülün dışında podositleri anımsatan ancak bazal membranla sarılı yıldız şeklinde mezengial hücreler izlenebiliyordu.

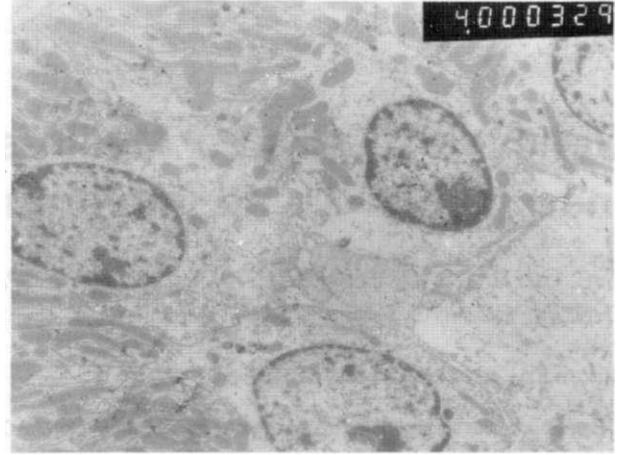
Proksimal tübül, tek katlı apikal yüzeyleri bol miktarda mikrovillus içeren hücreler ile alttaki bazal membrandan oluşuyordu. Her proksimal tübül hücresi tek, oval, ökromatik bir nükleusa sahipti. Hücrelerin bazal sitoplazmaları plazma membran katlantıları ve bunların arasında yerleşmiş olan çubuk şeklinde mitokondriyumlarla doluydu (Şekil 1). Hücrelerin apikal sitoplazmalarında yer yer vakuoler yapılar gözleniyordu.

Distal tübül, bir lümen çevresinde yerleşmiş küboidal hücreler ve alttaki bazal membrandan oluşuyordu. Hücrelerin apikalinde genellikle proksimal tübül hücrelerine oranla daha kısa ve seyrek mikrovilluslar vardı. Distal tübül hücrelerinin bazalinde proksimal tübül kadar sık ve derin olmasa da plazma membran katlantıları ve bunların arasında çubuk şeklinde, bazen de oval şekilli, hücre uzun eksenine paralel yerleşimli mitokondriler gözleniyordu (Şekil 2).

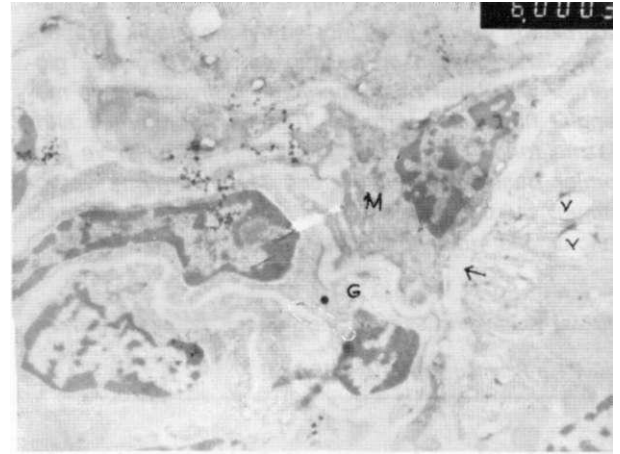
Diabet Grubu: Preparasyonlarımızda diabet oluşturulan hayvanlardan aldığımız böbreklerin kesitlerinde bazal membranda kalınlaşma izlendi. Mezengial hücrelerde kontrol gruba oranla sayıca artma belirgindi. Glo-



Şekil 1. Kontrol grubu. Proksimal tübülX5000



Şekil 2. Kontrol grubu. Distal tübülX4000

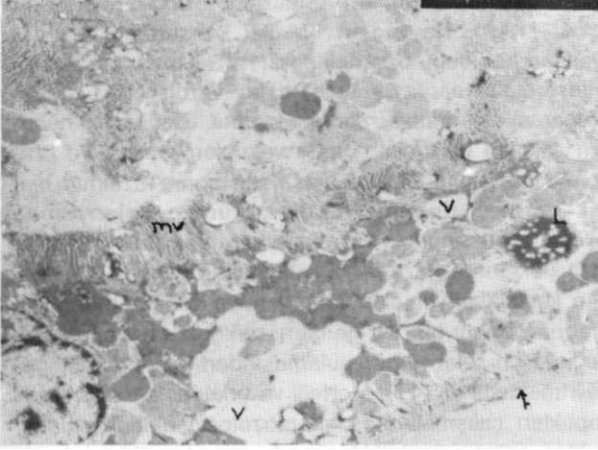


Şekil3. Diabet grubu. Kalınlaşmış bazal membran okla işaretli. Mezengial hücrelerde artış (M) ve sitoplazmalarında glikojen (G) birikimi, tübülüs hücrelerinin bazalinde artmış vakuoller (V).X6000

merül çevresinde izlenen podositlerin bazılarının sitoplazmalarında yoğun glikojen birikimi gözlemlendi (Şekil 3).

Proksimal tübül hücrelerinde diabetle gelişen en belirgin değişim, sitoplazmalarındaki yoğun vakuoller ve yer yer oldukça iri, bazen yoğun, bazen heterojen görülen yapılarıdır. Değişik büyüklükteki vakuoller hem apikal hem de bazal sitoplazmada izleniyordu. Yüzeyde yer alan mikrovilluslar yer yer düzensizdi. Bazal plazma membran katlantılarının derinlikleri azalmıştı. Tübülüs hücrelerinin de bazal membranı kalınlaşmıştı (Şekil 4). Sitoplazmada glikojen granülleri dikkat çekmekteydi.

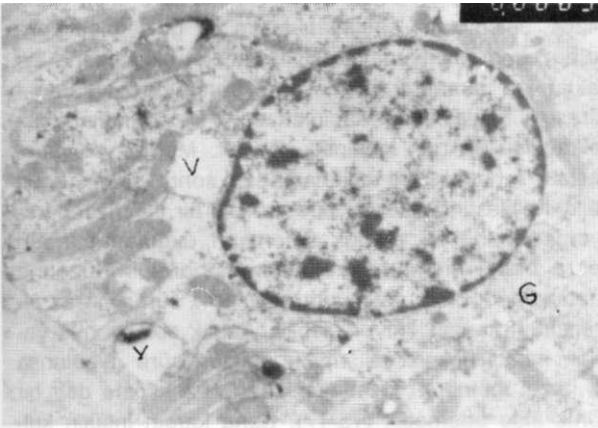
Distal tübül hücrelerinde diabet sonucu oluşan en belirgin değişiklik sitoplazmalarındaki glikojen birikimidir. Hücrelerin sitoplazmasında proksimal tübülde olduğu gibi artmış vakuoler yapılar mevcuttu (Şekil 5). Bazal membran kalınlaşması bazı bölgelerde iyice belirgindi.



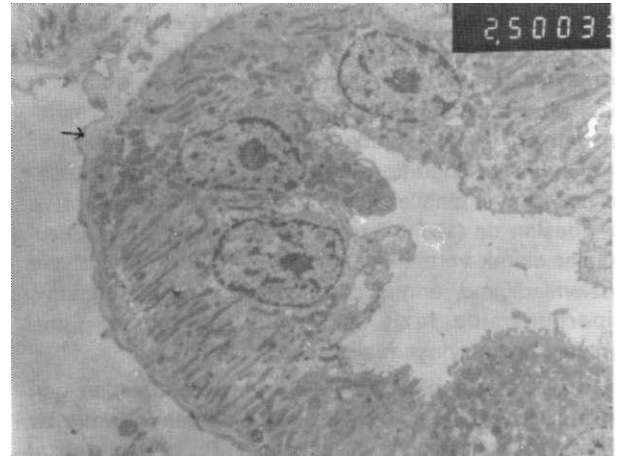
Şekil 4. Diabet grubu. Proksimal tübül. Kalınlaşmış bazal membran okla işaretli. Hücre içinde çeşitli büyüklükte vakuoller (V) ve lizozomlar (L), apikalde mikrovilluslarda düzensizlik (mv) izleniyor.X4000



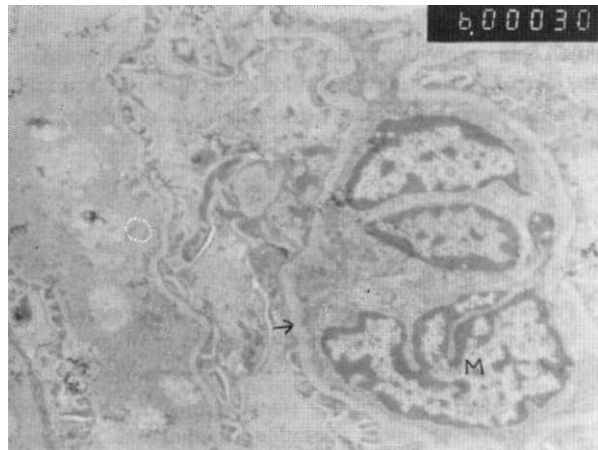
Şekil 7. Selenyum uygulanmış diabet grubu. Proksimal tübül. Bazal membran kalın (okla işaretli), bazı hücrelerin sitoplazmalarında az miktarda vakuoller (V) ve seyrek lizozomlar (L) izlenmekte.X2500



Şekil 5. Diabet grubu. Distal tübül. Hücrelerin sitoplazmalarında yoğun glikojen birikimi (G), artmış vakuoleryapılar (V).X8000



Şekil 8. Selenyum uygulanmış diabet grubu. Distal tübül. Bazal membran yer yer kalın (okla işaretli). Hücrelerin sitoplazmalarında lizozomal yapılar yok, vakuoller seyrek.X2500



Şekil 6. Selenyum uygulanmış diabet grubu. Bazal membran kalınlığını korumakta (okla işaretli). Mezengial hücrelerde (M) glikojen birikimi azalmış.X6000

Selenyum uygulanmış diabetik sıçanların böbreklerinden hazırlanan preparatlarda, glomerüldeki podositler veya mezengial hücreler çevresindeki bazal membran kalınlığını korumaktaydı. Bazal membranla sarılı gruplar halinde gözlenen mezengial hücreler oldukça sıkı ancak sitoplazmalarındaki glikojen içeriği azalmıştı (Şekil 6).

Proksimal tübülde selenyum uygulanmasından sonra, bazal membran kalınlaşması yer yer devam ediyordu. Çoğu tübül hücresinde görülmemekle birlikte bazılarının apikal sitoplazmasında vakuoler yapılar izleniyordu. Bu hücrelerin sitoplazmalarında yer yer seyrek lizozomal yapılarla rastlanıyordu (Şekil 7).

Selenyum uygulanmış grupta distal tübül hücrelerinde glikojen içeriğinin azaldığı gözlemlendi. Vakuoler yapılar diabetik gruba oranla seyrekti. Ancak bazal membran kalınlığını korumaktaydı (Şekil 8).

TARTIŞMA

Diabetin böbrekte yaptığı değişiklikler insanda ve çeşitli diabetojenik ajanlar kullanarak deney hayvanlarında incelenmektedir (5,6,8,10,11). Patolojik olgularda veya deneysel diabetik nefropatide glomerüller veya tübüler bazal membran kalınlaşması çeşitli araştırmacılarca belirtilmektedir (2,6,7,10-13). Bazal membranda izlenen bu kalınlaşmaya bazal membranda ve mezengial matriksde tip IV ve tip V kollagen birikimi, artmış hidrok-siprolin ve hidrosilizin aktivitesinin sebep olduğu savunulmaktadır (2,11,14). Diabetin direkt bir sonucu olarak bazal membran elemanlarının sentezinde de bir bozukluk olması söz konusudur (2). Makino ve arkadaşları (1992) son yıllarda yaptıkları çalışmalarında mezengial matriksin periferik glomerül bazal membranına doğru genişlemesinin glomerül bazal membranındaki kalınlaşmanın bir sebebi olabileceğini belirtmektedirler (13). Biz de preparasyonlarımızda hem glomerüller hem de tübüler bazal membran kalınlaşmasını streptozotocinle yaratılan diabette gördük. Bu kalınlaşma, yaratılan koşullardaki fibril sentezi ve matriks artışının aktivasyonuna bağlı olmalıdır (11,12,14). Diğer taraftan, artan glikoz transportuna bağlı olarak deney grubuna ait preparasyonlarımızda hem glomerüller (mezengial hücreler) hem de tübüler hücrelerde glikojen veya ilişkili vakuoller yapıları izledik. Ayrıca diabetik grupta gözlediğimiz in globüler ve çoğu kere heterojen yoğunluktaki yapıların lizozomlar olabileceğini düşündük. Nitekim Orci ve arkadaşları da (1971) benzer görünümdeki yapıları lizozomlar olarak yorumlamaktadır (8). Kanımızca diabette gözlemlediğimiz artmış olan lizozomal yapılar uzamış hiperglisemide fazla miktardaki glikojenin eliminasyonunu kolaylaştırmaya yönelik olmalıdır.

Glukoz böbrekte özellikle proksimal tübülden geri emilmektedir. Diabetle birlikte tübül hücreleri artmış bir glukoz konsantrasyonu ile karşılaşır. Bu nedenle distal tübül hücreleri de glukoz geri emilimine katılır. Ancak hücrede glukozun glikojen şeklinde birikiminin mekazi-ması kesin olarak açıklanmamıştır. Ancak artan madde geçişine bağlı olarak normalde apikal ve bazal hücre membranlarında mikrovilluslar veya membran katlantıları şeklinde bir artma beklenirken, genelde yapılan çalışmalarda tübülüs hücrelerinde mikrovilluslarda seyreklik veya düzensizlik, bazal membran katlantılarında kısalma ve azalma tarif edilmektedir (5,6). Biz de özellikle proksimal tübülslerde mikrovilluslarda düzensizlik ve bazal katlantılarda boyca kısalma izledik. Kanımızca bu görünüm diabete bağlı patolojiden kaynaklanmaktadır. Diabetik grupta izlediğimiz mezengial hücre artışı da patolojiktir. Nitekim Evan ve arkadaşları (1984) ile Makino ve arkadaşları (1992) mezengial matriks ve hücre artışında aynı görüşü savunmaktadırlar (6,12).

Selenyum E vitamini gibi antioksidan özelliği olan bir elementtir (1,15). Glutatyon peroksidazın bir komponentidir ve oksijen metabolizmasının kontrolünde, özel-

likle H2O2'nin yıkımının katalizlenmesinde önemli rol oynar (1,16). Hayvanları bir dizi kanserojen ve viral ajandan koruduğu bilinmektedir (1). Selenyumun diabeti iyileştirdiğini saptayan çalışmalar vardır (15,17). Biz preparasyonlarımızda diabetli grupta izlediğimiz hücre için glikojen birikimini, yoğun vakuoler yapıları ve lizozomları selenyum uygulamasından sonra azalmış olarak gördük. Kanımızca, bu görünüm selenyumun iyileştirici etkisinden ve diabetin yarattığı bazı morfolojik bozuklukların en azından başlangıçta reversibl olmasından kaynaklanıyor olmalıdır. Nitekim çeşitli araştırmacılar diabete bağlı olarak gelişen pek çok ultrastrüktürel değişikliğin selenyum uygulamasından sonra düzeldiğini belirtmektedir (15,17). McNeill ve arkadaşları sıçanlarda yaptıkları çalışmalarında streptozotocin diabeti oluştuktan sonra uyguladıkları sodyum selenat'dan olumlu sonuçlar elde etmişlerdir. Çalışmalarında selenyumun plazma glukozunu normal seviyeye düşürdüğü ve hayvanların aşırı yeme ve içme isteklerini düzenlediği bildirilmektedir. Bu şekilde selenyum *in vivo* verildiğinde Vanadium gibi insülin benzeri etki yapmaktadır (17). Kanımızca, selenyumla sağlanan bizim de gözlemlediğimiz bu düzelme selenyumun insülin benzeri etkisinden kaynaklanıyor olmalıdır. Bu etkinin selenyum uygulama süresine bağlı olması kaçınılmazdır. Biz çalışmamızda selenyum 25 gün kullandık. Ancak, McNeill ve arkadaşları 7 haftalık bir uygulamadan sonra selenyumun belirgin iyileştirici etkisini elde etmişlerdir (17). Preparasyonlarımızda 25 günlük selenyum uygulamasından sonra bazal membran kalınlaşmasında bir düzelme saptayamadık. Bu, selenyum uygulama süresinin az olmasından kaynaklanıyor olabilir. Ancak selenyumla yapılan bulabildiğimiz çalışmalarda uzun süre uygulansa da bazal membran kalınlaşmasının düzeldiğine dair bir görüş elde edemedik (15-17). Buna karşın insülin kullanılan deney gruplarında bazal membranda normal görünüm sağlanabilmektedir (6). Kanımızca, selenyumun etkisi insülininden kısmen de olsa ayrıcalık göstermekte, daha çok E ve C vitaminleri gibi antioksidan olma özelliğinden kaynaklanmaktadır. Nitekim E ve C vitaminleri gibi selenyumun da verilmesinin kanser, kardiovasküler, inflamatuvar hastalıklar ve diabetin komplikasyonlarından korunma ve tedavilerinde etkili olduklarını savunan çalışmalar vardır (15).

KAYNAKLAR

1. Foster DW. Diabetes Mellitus. In: Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, eds. Harrison's principles of internal medicine. New York: McGrawHill, 1991:1754.
2. Beisswenger PJ, Spiro RG. Human glomerular basement membrane: chemical alterations in diabetes mellitus. Science 1970; 168:596-8.
3. Kayaalp O. Tıbbi Farmakoloji. İstanbul: Feryal Matbaa, 1993:2560.

4. Boquist I, Ericsson I. Inhibition by streptozotocin of the activity of succinyl CoA synthetase in vitro and in vivo. *FEBS Lett* 1986; 196(2):341-3.
5. Rash R. Tubular lesions in streptozotocin diabetic rats. *Diabetologica* 1984; 27:32-7.
6. Evan AP, Mong AS, Connors BA, Aronoff GR, Lutt FC. The effect of alloxan induced diabetes on the kidney. *The Anatomical Record* 1984; 208:33-47.
7. Onarlıoğlu B, Gürsoy E. Deneysel diabetes mellitusda böbreklerin ince yapısı. *Doğa Tr J Med Science* 1990; 14:409-15.
8. Orci L, Stauffacher W. Glycogenosomes in renal tubular cells of diabetic animals. *J Ultrastr Res* 1971; 36:499-503.
9. Yakan B. Deneysel diabetes mellitusda böbrek histolojisi ve selenyum ile E vitamini'nin yarattığı düzeltici etkileri. *A Ü Tıp Bülteni* 1993; 25(3):593-601.
10. Carlson EC, Surerus KK. SEM studies of acellular glomerular basement membrane in human diabetic glomerulopathy. *The Anat Rec* 1986; 216:349-58.
11. Faik RJ, Scheinman JI, Mauer SM, Michael AF. Polyantigenic expansion of basement membrane constituents in diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983; 32(2):34-9.
12. Jones CW, West MS, Hong DT, Jonesson D. Peripheral glomerular basement membrane thickness in the normal and diabetic monkey. *Laboratory Investigation. U.S Canadian division of the int. academy of pathology* 1984; 51(2):193-8.
13. Makino H, Yamashi Y, Hironaka K, Ota Z. Glomerular extracellular matrices in rat diabetic glomerulopathy by scanning electron microscopy. *Virchows Arch B Cell Pathol* 1992; 62(1):19-24.
14. Reddi AS. Metabolism of glomerular basement membrane in the short and long term streptozotocin diabetic rats. *Arch Int Physiol Biochem* 1986; 94(3):205-8.
15. Crary EJ, McCarthy MF. Potential clinical applications for high-dose nutritional antioxidants. *Med Hypotheses* 1984; 3(1):77-98.
16. Dohi T, Kawamura K, Morita K, Okomoto H, Tsujimata A. Alterations of the plasma selenium concentrations and the activities of tissue peroxide metabolism enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Horm Metab Res* 1988; 20(11):671-5.
17. Mc Neill HJ, Delgatty HL, Botell ML. Insulin like effects of sodium selenat in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 1991; 40(12):1675-8.