

## OCTREOTIDE'NİN YENİDOĞAN STREPTOZOTOCİN DİYABETİK SIÇAN BÖBREĞİ VE IGF-1 DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ \*

Matem TUNÇDEMİR, Melek ÖZTÜRK

**Background and Design.-** It has been shown by the studies that somatostatin and its analogues (octreotide) have a useful effect on the treatment of diabetes and its complications. In this study 4 groups of newborn Wistar rats were prepared. 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> Group; Neonatal STZ (n-STZ)-diabetic group (100 mg/kg, single dose, i.p. on the second day of birth). 2<sup>nd</sup> Group; Octreotide treated n-STZ-diabetic group (200 µg/kg/day, i.p., from 12.week to 18.week). 3<sup>rd</sup> Group; Octreotide treated non diabetic group (200 µg/kg/day, i.p., from 12.week to 18.week). 4.Group; Control group. In all STZ treated groups (1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> group) while a significant increase in the blood glucose compared to healthy controls until 12<sup>th</sup> week.

**Results.-** A decrease in the blood glucose levels of octreotide treated diabetic group have been observed. Kidney weights were increased in STZ diabetic groups compared to healthy control groups. A significant increase in octreotide treated diabetic groups was determined. Serum IGF-1 levels were found decreased in octreotide treated diabetic group. Glomerule sizes increased in STZ diabetic groups compared to controls. There were basal membrane thickening and significant increase in mesangial matrix and mesangial cells in the diabetic groups. Renal tissue IGF-1 immunoreactivity on the kidney tubules of the control group was found higher than the diabetic group. IGF-1 immunoreactivity was generally seen on the glomerules of the STZ-diabetic group. In Octreotide treated nSTZ-diabetic group weaker IGF-1 immunoreaction observed at glomerules and tubules compared to nSTZ-diabetic and healthy control group. The microalbuminuria levels of the treated diabetic group were found reduced when compared with the diabetic group.

**Conclusion.-** We observed that the dose of octreotide and the period has an important contribution for prevention and improvement of nephropathy and prevent the renal tissue damage. on the newborn STZ-diabetic rats.

Tunçdemir M. Sc. M, Öztürk M. Effects of octreotide on kidney and IGF-1 levels in the neonatal streptozotocin diabetic rats. Cerrahpaşa J Med 2002; 33: 117-123.

**D**iyabetes Mellitus (DM)'un uzun dönemli komplikasyonlarından olan diyabetik nefropati, erken dönemde glomerül ve tubül epitellerinde hipertrofi, glomerül ve tubül bazal membranlarının kalınlaşması, glomerül mezangiumunda ekstrasellüler matriks elemanlarının birikmesi ile ilgili yapısal değişimleri içerir.<sup>1,2</sup> DM ile ilişkili çeşitli deneysel modellerde böbrek boyutunda, glomerular filtrasyon hızında, renal kan akımında ve böbrek fonksiyonlarında belirgin bir artışa bağlı olarak böbrek lezyonlarında, idrar ile albümin atılımında artış olduğu bildirilmiştir.<sup>3,4,5</sup> Glomerül hemodinamiğindeki ciddi değişimlerin sonucu ortaya çıkan mikroalbuminüri IDDM ve NIDDM'li hastalarda renal hasarların erken bir bulgusu olarak kabul edilir.<sup>6,7</sup>

Diyabetik nefropatinin gelişmesindeki önemli nedenlerden birinin de insülin benzeri büyüme faktörü-1 (Insulin Like Growth Factor-1=IGF-1) olduğu öne sürülmüştür.<sup>8,9,10</sup> Bir çok organın büyüme ve gelişmesinde görev alan IGF-1'in hedef organlardan birisi de böbreklerdir. Diyabete bağlı renal hipertrofiye renal doku IGF-1 konsantrasyonunda hızlı bir artış olduğu gösterilmiştir.<sup>11,12,13</sup>

Somatostatin ve analoglarının diyabet ve komplikasyonlarının tedavisinde yararlı bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Deneysel diyabet çalışmalarında, somatostatin analoglarının kan glukoz düzeylerini etkilediği, diyabetin başlangıcında gözlenen renal doku IGF-1 birikiminin ve buna bağlı olarak renal hipertrofinin önlenebileceği ileri sürülmüştür.<sup>14,15,16,17</sup>

\* *Anahtar kelimeler:* Yeni doğan STZ-diyabeti, Renal IGF-1, Octreotide. *Key words:* Neonatal STZ-diabetes, Renal IGF-1, Octreotide; *Alındığı Tarih:* 14 Aralık 2001; M.Sc.Matem Tunçdemir, Prof.Dr.Melek Öztürk: İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı; *Yazışma Adresi (Address):* Prof.Dr.Melek Öztürk, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 34303 Cerrahpaşa, İstanbul.

Bu çalışmada Tip II diyabetine en yakın model olan yenidoğan STZ diyabetik sıçanlarda, somatostatin analogu olan octreotide uygulamasının renal hipertrofi, serum IGF-1 düzeyleri ve renal doku IGF-1 immunreaktivitesinin dağılımı üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçladık.

## YÖNTEM VE GEREÇLER

Çalışmada, yeni doğan sıçanlardan oluşan 4 adet deney grubu oluşturuldu. Laktasyonun sona ermesinden sonra aynı gruba ait yavru hayvanlar 6. haftada cinsiyetleri tayin edilerek dişi ve erkek sıçanlar ayrı kafeslere alındılar. Doğumu izleyen 2. günde 1. ve 2. gruba streptozotocin (STZ, Sigma, St. Louis, MO) 100 mg/kg intraperitoneal (i.p) olarak tek doz uygulandı (18). 1.grup yeni doğan STZ diyabetik grup olarak ayrıldı (n=7). 2. gruba 12. haftadan itibaren serum fizyolojik ile sulandırılan 200 µg/kg dozunda octreotide (Sandostatin, Sandoz, İstanbul) 6 hafta süre ile her gün i.p olarak uygulandı (n=10). 3.gruptaki diyabetik olmayan sağlıklı sıçanlara 12 haftadan itibaren 6 hafta her gün 200µg/kg octreotide i.p. olarak uygulandı (n=8). 4.grup diyabetik olmayan sağlıklı kontrol grubu olarak ayrıldı. 12.haftadan itibaren yalnızca serum fizyolojik (%0.9 NaCl) i.p. uygulandı (n=7). Tüm gruplardaki hayvanlar içinde %21 protein bulunan sıçan yemleriyle serbest olarak beslendiler. Her gün taze içme suyu verildi.

*Kan glukoz, Vücut ağırlığı:* Deney süresince tüm grupların haftalık kan glukoz ve vücut ağırlık değerleri ölçüldü. Deney hayvanları bir gece önceden aç bırakıldılar ve ertesi sabah kuyruk venlerinden alınan kan örneklerinden kan glukoz düzeyi ölçümleri glikostiksler kullanılarak glukometre ile yapıldı (Glukostix, Bayer, Ames Glucometer II Model 5550).

*Mikroalbuminüri:* 6.,12. ve 18. haftalarda tüm gruplardaki hayvanlardan her biri bir gece öncesinden metabolizma kafeslerine alındı ve 24 saatlik idrar örnekleri toplandı. Toplanan bu idrardan mikral test ile (Micral-Test II, Böhringer-Mannheim, İstanbul) mikroalbuminüri düzeyleri ölçüldü. Mikroalbuminüri düzey ölçümü değerlendirilmesi, idrar içindeki stripin renk reaksiyonuna göre strip üzerinde bulunan aralıklardan 4 değer belirlenerek yapıldı (50, <50, 20,<20 mg/l). İstatistiksel değerlendirmede Bonferroni düzeltmesi kullanıldı.<sup>19</sup>

*Serum IGF-1:* Deney sonunda; hayvanların eter anestezisi altında toraksı açılıp sağ ventriküle girilerek kan örnekleri alındı ve santrifüjde serumlarına ayrıldı. Bu serum örneklerinden IGF-1 düzeyleri RadioImmunoAssay (RIA) yöntemiyle ölçüldü.<sup>20</sup>

*Işık mikroskopi:* Böbrek dokuları Bouin solüsyonunda tespit edilip rutin ışık mikroskopi takip yöntemleri kullanılarak parafine gömüldü. 3-5 µ kalınlığında alınan parafin kesitler Hematoksilen+Eosin (H+E) ve Periodik Asit Schiff (PAS) boyaları ile boyandı.

*Immunohistokimya:* PLL (poly-L-Lysine) kaplanmış lamlara alınan doku kesitlerine Dr. J. Pell tarafından hediye edilen (Babraham Enstitüsü, Cambridge, İngiltere) poliklonal IGF-1 antikoruna (1/500) ile Zymed-Histostain SP Kiti (95-9943) kullanılarak streptavidinbiotin-peroksidaz yöntemi ile immunohistokimyasal boyama yapıldı.<sup>21</sup>

*Böbrek ağırlığı:* Deney bitiminde eter anestezisi altındaki hayvanların sağ böbrekleri çıkarıldı, serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra ağırlık ölçümleri yapıldı.

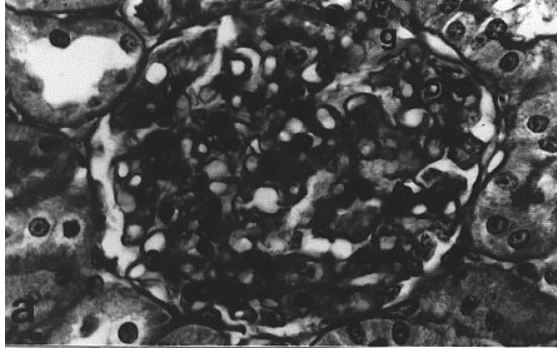
*Glomerul boyutu:* PAS boyası yapılan böbrek kesitlerinde glomerül boyut ölçümü oküler mikrometresi (Beck Kassel,CBS, px8) ile x40 objektif büyütmesi kullanılarak rastgele alanlardan seçilen 30 adet düzgün şekilli glomerül üzerinde çap ölçülerek yapıldı.

*İstatistik:* Çalışma süresince tüm gruplardaki hayvanların kan glukoz ve vücut ağırlık ölçümlerinin, çalışma bitiminde tüm gruplardaki hayvanlardan alınan böbreklerin ağırlıklarının ve ayrıca serum IGF-1 düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde tek yönlü ANOVA ve çoklu grup kıyaslama testi kullanıldı.

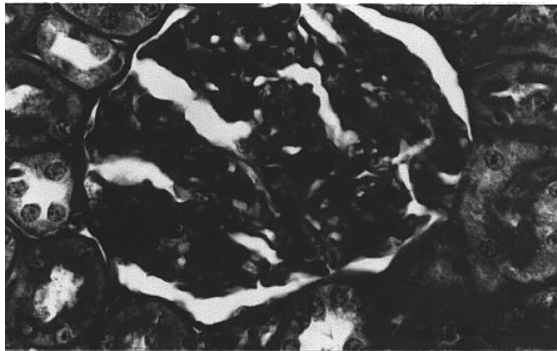
## BULGULAR

*Morfolojik Bulgular:* Kontrol grubu (Şekil 1.a) ile kıyaslandığında YD-STZ-diyabetik gruba ait böbrek kesitlerindeki en önemli bulgu glomerül bazal membran kalınlaşması idi. Ayrıca glomerüller mezangial matriksteki ve hücrelerdeki artış, glomerüllerde segmental veya global bozulmalar ile çok sayıda hipertrofik glomerüller saptandı (Şekil 1.b,c). Octreotide uygulaması yapılan YD-STZ diyabetiklerde de yer yer diyabetik grupta gözlenen glomerül ve tübül dejenerasyonlarına rastlanmasına rağmen

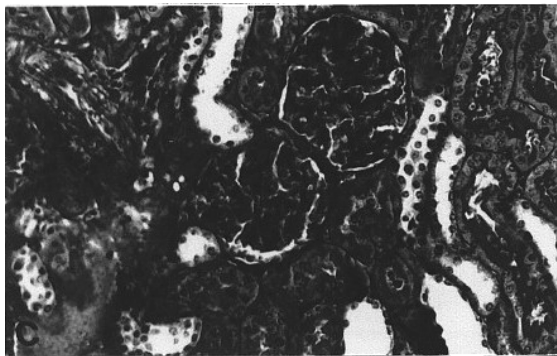
sağlıklı kontrol grubuna benzer görüntüler de saptandı (Şekil 1.d). Octreotide uygulanan diyabetik olmayan sıçan grubuna ait böbrek kesitlerinde ise bazı glomerüllerde dejenerasyon gözlenmesine rağmen genelde kontrole yakın görüntü saptandı.



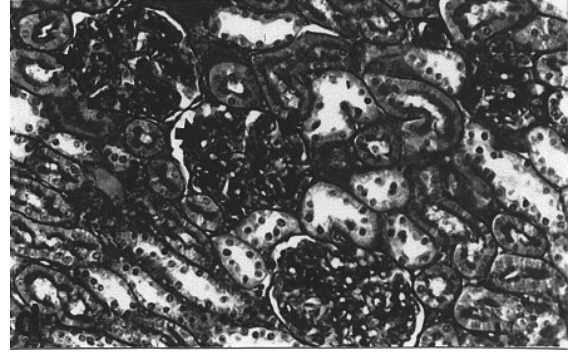
Şekil 1a.



Şekil 1b.



Şekil 1c.



Şekil 1d.

**Şekil 1.** a.Sağlıklı kontrol grubuna ait glomerül (g). b. YD-STZ-diyabetik gruba ait glomerül bazal membran, bowman kapsülü bazal membran kalınlaşması (↑), mezangial matriks artışı (m) ve segmental görünüm. c. YD-STZ-diyabetik gruba ait glomerülde bazal membran kalınlaşması, mezangial matriks ve hücre artışı ile birlikte belirgin tubul dilatasyonu, d. Octreotide uygulanan STZ-diyabetik grupta, fokal alanlarda hipertrofik glomerül (h), kontrole yakın görünümdeki glomerüller (→). (Boya: PAS+HI) (a,b: x 100, c,d: x 40)

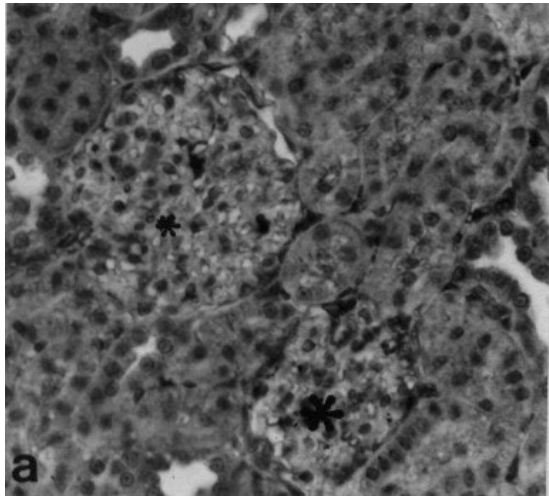
**İmmunohistokimya:** Sağlıklı kontrol gruba ait böbrek dokularında, glomerüllerin çoğunda IGF-1 immunreaksiyonunun çok zayıf olduğu (Şekil 2.a), YD-STZ-diyabetik grupta ise IGF-1 immunreaktivitesi özellikle glomerüllerde belirgin olarak gözlemlendi (Şekil 2.b). Bu grupta, glomerül içi bazı epitel, endotelial ve mezangial hücreler şiddetli IGF-1 immunreaktivitesi göstermekte idi. Tedavili YD-diyabetik gruba ait böbrek kesitlerinde; diyabetik ve sağlıklı kontrol gruplarına oranla hem medüller hem de kortikal alanlarda glomerül ve tubüllerde zayıf IGF-1 immunreaktivitesi gözlemlendi (Şekil 2.c). Octreotide uygulanan diyabetik olmayan sıçan grubuna ait glomerüllerde ise bazı glomerüllerde hiç immunreaksiyon gözlenmezken bazılarında oldukça zayıf IGF-1 immunreaksiyonu gözlemlendi (Şekil 2.d).

**Kan glukoz, vucut ağırlığı ve böbrek ağırlığı:** 6.haftada ölçülen kan glukoz düzeyleri incelendiğinde YD-STZ-diyabetik grupların (1. ve 2.grup) kan glukoz düzeyleri diyabetik olmayan (3. ve 4.grup) gruplardan anlamlı olarak yüksekti ( $p<0,001$ ). 18. haftada YD-STZ-diyabetik gruba ait kan glukoz düzeyleri diğer

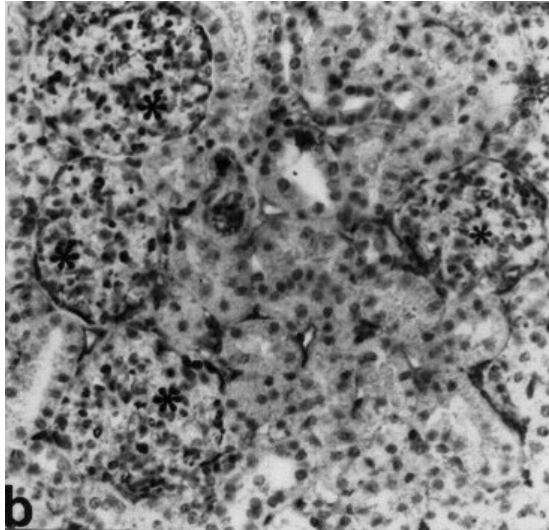
gruplardan anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p<0.001$ ). Tedavili YD-STZ-diyabetik gruba ait kan glukoz değerleri diyabetiklerden daha düşük, kontrole yakın gözlemlendi.

YD-STZ-diyabetik gruba ait sıçanların vücut ağırlıkları sağlıklı kontrol grubuna yakın bir artış gösterirken, octreotide uygulanan her iki grupta (2. ve 3. gruplar) kilo artışı sağlıklı kontrole göre daha az bulundu.

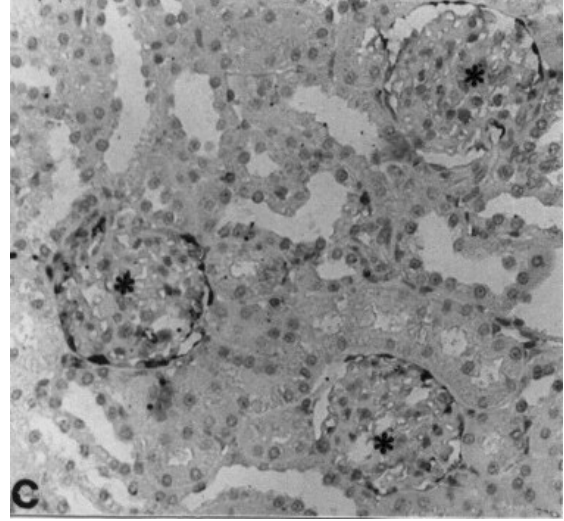
YD-STZ-diyabetik grubuna ait böbrek ağırlıkları tüm gruplardan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0.001$ ) (Tablo I).



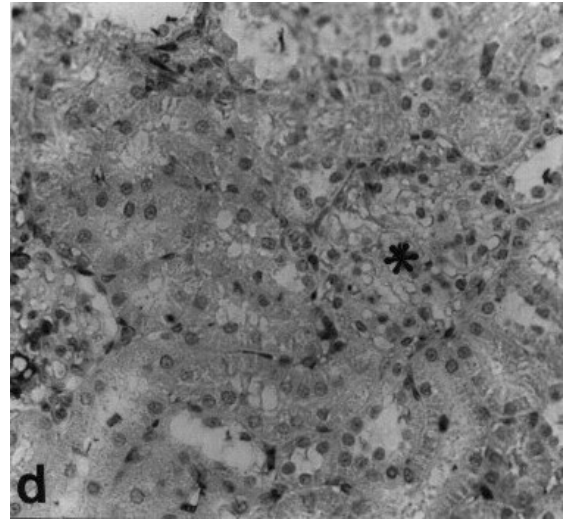
Şekil 2a.



Şekil 2b.



Şekil 2c.



Şekil 2d.

**Şekil 2.** Streptavidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi ile Poliklonal IGF-1 antikorunu (1:500) kullanılarak yapılan immun boyama ile, a.Sağlıklı kontrol grubuna ait glomerüllerde (\*) IGF-1 immunreaksiyonu zayıf olarak, b. YD-STZ-diyabetik grup IGF-1 immunreaktivitesi özellikle glomerüllerde (\*) belirgin olarak, c. Octreotide uygulanan YD-STZ-diyabetik sıçan grubunda glomerüllerde kontrole benzer (\*) IGF-1 immunreaksiyonu, d. Octreotide uygulanan diyabetik olmayan sıçan grubunda glomerüllerde (\*) çok zayıf IGF-1 immunreaksiyonu görülmekte. (Zıt Boya: Hematoksilen) ( a,b,c,d: x 40)

**Tablo I:** Çalışma gruplarına ait istatistiksel değerler. (\*\*\*) p<0.001)

	Kontrol (n:7)	YD-STZ-Diabet. (n:7)	YD-STZ+ Octr.(n:10)	Octreotid (n:8)
Kan Glukoz ( mg/dl )	71.14 ± 13.40	233.14±34.00***	101.20 ± 10.50	88.50 ± 13.00
Vücut Ağırlığı ( g )	222.43±18.10***	203.71 ± 10.70	173.90 ± 16.40	180.37 ± 22.10
Böbrek Ağırlığı( mg )	704.28 ± 134.60	901.43±136.30***	574.00 ± 57.10	552.50 ± 100.10
Serum IGF-1 (ng/ml)	1467.14±378.80***	787.14 ± 35.90	646.25 ± 256.60	793.75 ± 232.20
Mikroalbuminüri (mg/l)	< 20	≤ 50***	≤ 20	< 20
Glomerul Çap(μ)	85.00±3.40	103.70±8.80***	88.10±6.50	84.40±4.30

**Mikroalbuminüri:** Mikroalbuminüri ölçüm ve değerlendirmesinde; 6., 12., ve 18. haftalar için 3 kıyaslama kombinasyonu yapıldı. Mikral test kiti içerisinde belirtilen <20–0 aralıkları normal değer olarak kabul edildi. YD-STZ-diyabetik grupta tüm ölçümlerde mikroalbuminüri düzeyi (50,<50) açısından bir değişme olmazken, octreotide uygulanan YD-STZ-diyabetik grupta 12.haftaya göre 18. haftada mikroalbuminüri düzeylerinde anlamlı bir düşme olduğu saptandı (p<0.001). Diğer gruplar arasında mikroalbuminüri düzeylerinde bir fark bulunmadı (Tablo I).

**Glomerul Boyutu:** Glomerül boyutları açısından gruplararası kıyaslamalarda YD-STZ-diyabetik kontrol grubuna ait glomerüllerin tüm grublardan daha büyük oldukları, hem sağlıklı kontrol hem de octreotide uygulanan diyabetik olmayan hayvanlarından (3. ve 4.grup) daha büyük glomerüller içerdikleri saptandı (Tablo I).

**Serum IGF-1:** Sağlıklı kontrol grubuna ait serum IGF-1 düzeyleri diğer tüm gruplardan yüksek bulundu. STZ uygulanan gruplarda ise (1, 2.grup) serum IGF-1 düzeylerinin düştüğü gözlemlendi (P<0.001) (Tablo:I).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Çeşitli insan ve deneysel diyabet çalışmalarında uzun süre etkili somatostatin analogu olan octreotide (SMS) uygulaması ile renal hipertrofinin önlenebileceği öne sürülmektedir.<sup>13,15,16,22,23</sup> Diyabetik renal hipertrofiye GH ve büyüme faktörlerinin etkili olduğu, GH, IGF-1 reseptörleri, IGF'ye bağlanan proteinlerin (IGFBP'ler) IGF-1'in aktivitelerine etkisi olduğu gösterilmiştir.<sup>16,24</sup>

Diyabetiklerin morbidite ve mortalitesinde önemli bir yeri olan diyabetik nefropati, diyabetin ciddi bir komplikasyonu olması nedeniyle erken tanısı oldukça önem kazanmaktadır. Diyabete bağlı renal tutulum da çoğunlukla glomerüloskleroz, mezangial hücrelerde ve mezangial matrikste belirgin bir artış gözlenir. Glomerül ve tubül bazal membranlarının kalınlaşmaları da nefropatinin en önemli bulgularından biridir. Diyabetik glomerüloskleroz glomerül içinde ekstrasellüler matriks komponentlerinin birikimi ile karakterizedir.<sup>7</sup> Daha önceki çalışmalarda; diyabetin erken dönemlerinde mezangial matriks birikimi ile ortaya çıkan matriks genişlemesi diyabetin süresine ve şiddetine göre derecelendirilmiştir.<sup>1,4</sup> STZ-diyabetik hayvanlarda diyabetin erken döneminde ekstrasellüler matrikste kollagen Tip IV, fibronektin, laminin artışında, hipergliseminin esas rol oynadığı bir çok çalışma ile gösterilmiştir.<sup>25</sup>

Çalıştığımız yenidoğan STZ-diyabet modelinde diyabetik grubun deney süresince gözlenen kan glukoz düzeyleri Tip II diyabet modeline uygun düştüğünü gösterdi.<sup>18,26,27</sup> Ayrıca diyabetik gruba ait morfolojik bulgularımızda; glomerül bazal membranında belirgin kalınlaşma ile birlikte mezangial hücre artışı ve matriks birikimine bağlı olarak glomerül boyutlarında belirgin bir artış saptandı. Bu morfolojik bulgular diyabetik nefropati için en erken bulgu olarak kabul edilen<sup>5,28</sup> mikroalbuminüri tespiti ile desteklendi.

Diyabetik nefropatinin başka bir önemli bulgusu olan böbrek ağırlığındaki artış ve renal doku hipertrofinin diyabetiklerde erken dönemde ortaya çıktığını gösteren çalışmalar vardır.<sup>29</sup> Çalışmamızda, özellikle yenidoğan STZ-diyabetik gruba ait sıçanların böbrek ağırlıklarının sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslandığında daha fazla olduğu, aynı şekilde glomerül boyut

ölçümleri ile YD-STZ-diyabetik grupta sağlıklı kontrol grubuna göre glomerül boyutlarının artmış olduğu gözlemlendi. Bu bulgular diğer diyabet modellerinin bulguları ile uyumlu idi.<sup>16,30</sup>

Diyabette böbrek büyümesinin başlangıcı hücrel hipertrofi ve hiperplazi ile açıklanır. Flyvbjerg ve arkadaşları<sup>9</sup> diyabetiklerde böbrek büyümesinde IGF-1'in etkisi olduğunu ve diyabetik sıçanlarda diyabetin indüksiyonundan 2 gün sonra IGF-1'in renal doku konsantrasyonunun ciddi oranlarda yükseldiğini bildirmişlerdir. Renal dokuda IGF-1 konsantrasyonunda ki hızlı artışın glomerüler filtrasyon hızında ve renal plazma akımında akut artışlara neden olması ile renal hipertrofiyi teşvik ettiği gösterilmiştir.<sup>8,10,16,31</sup> Renal dokudaki IGF-1 artışının dolaşımdan gelen IGF-1'in reseptörlerine bağlanmasından daha çok, IGF-1'in renal dokuda lokal üretimini ile ortaya çıktığını gösteren çalışmalar vardır.<sup>32,33,34</sup> Daha sonraki günlerde IGF-1 konsantrasyonunun bazal düzeylere düştüğü yada bazal düzeylerin üzerinde seyrettiği gösterilmiştir.<sup>9,13,29,31,33</sup>

Normal de IGF-1'in glomerülde ve toplayıcı kanallarda sentezlenip Henle kulpunun ince kolunda, distal toplayıcı tubülde, kortikal ve medullar toplayıcı kanallarda lokalize olduğunu gösteren çalışmalar vardır.<sup>11,24,29,35</sup>

Çalışmamızda yenidoğan-STZ-diyabetik sıçanların 18.haftadaki böbrek kesitlerinde özellikle glomerüllerde belirgin olarak IGF-1 immünpozitifliği gözlenirken, tubüllerin bazılarında çok zayıf IGF-1 immünreaksiyonu saptandı. Bu bulgu YD-STZ-diyabetik sıçan grubunda saptadığımız glomerül boyutundaki artışın bir nedeni olarak düşünüldü. Çalışmamızdaki sağlıklı kontrol sıçanların böbrek dokularında IGF-1 immünreaksiyonu özellikle böbrek tubüllerinde daha şiddetli iken glomerüllerin çoğu negatif reaksiyon göstermekte idi. Somatostatin analogu uygulaması ile YD-STZ-diyabetik gruplarda glomerüllerdeki IGF-1 sentezinin etkilendiği, glomerül IGF-1 ekspresyonunun kontrole yakın olduğu gözlemlendi. Bu bulgu octreotide uygulanan YD-STZ-diyabetik gruba ait glomerül boyutunun diyabetik gruptan daha küçük saptanmasıyla paralellik göstermekteydi. Bu sonuçlar octreotide'nin özellikle glome-

rüllerdeki renal IGF-1 sentez ve/veya birikimini engellemiş olduğunu ortaya koymaktadır.

Diyabetik sıçanlarda serum IGF-1 düzeylerinin sağlıklı sıçanlara oranla azaldığını götseren çalışmalar vardır.<sup>9,36</sup> Çalıştığımız diyabet modelinde de; YD-STZ-diyabetik grupta serum IGF-1 düzeylerinin, sağlıklı kontrol grubuna oranla azaldığı tespit edildi. Octreotide uygulanan hem diyabetik hem de sağlıklı gruplarda serum IGF-1 düzeyi sağlıklı kontrollerden daha düşük bulundu. Bu bulgu morfolojik olarak da renal dokuda IGF-1 azlığı ile paralel bulundu. Bu bulgu octreotide'in direkt yada indirekt olarak büyüme hormonu (GH) üzerinden hem böbrekteki hem de diğer dokulardaki IGF-1 üretimini engellediğinin bir belirtisi olarak kabul edildi.

Octreotide uygulaması ile kısa süreli deneysel diyabette GH sekresyonunun tamamen baskılandığı, renal doku IGF-1 konsantrasyonundaki artışın engellendiği, renal hipertrofi ve albüminürinin düzeldiğini gösteren çalışmalar vardır.<sup>16,31,37,38</sup> Ayrıca somatostatin analogunun kan glukoz düzeylerinde ve böbrek ağırlığında bir azalmaya, vücut ağırlığında da artışa neden olduğu gösterilmiştir.<sup>37</sup> Bu çalışmalara paralel olarak çalıştığımız deneysel diyabet modelinde, YD-STZ-diyabetik sıçanlara octreotide uygulamasının başladığı 12. haftadan itibaren hayvanların kan glukoz, 18. haftada mikroalbuminüri düzeylerinde belirgin bir azalma saptarken, böbrek ağırlıklarında ve glomerül boyutlarında diyabetik gruba oranla belirgin bir azalma olduğunu gözledik. Ayrıca bu gruplarda hipertrofik glomerüllere diyabetik gruba oranla daha az rastlanması, octreotide'nin renal dokuda IGF-1 üretimini baskılayarak, renal ve glomerüler hipertrofiyi ve nefropati gelişimini önlediğini göstermektedir. Bu bulgu octreotide'in direkt yada indirekt olarak GH üzerinden hem böbrekteki hemde diğer dokulardaki IGF-1 üretimini engellediğinin bir belirtisi olarak kabul edildi.

Sonuç olarak, çalışmada kullandığımız somatostatin analogu octreotide (SMS 201-995)'nin yenidoğan STZ-diyabet modelinde, kullanılan doz ve süre içerisinde diyabetik nefropa-

tinin ilerlemesini yavaşlatmada ve renal doku hasarını düzeltmede etkili olduğu saptandı.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: T-324/301096

## ÖZET

Somatostatin ve analoglarının (Octreotide-SMS 201-995) diyabet ve komplikasyonlarının tedavisinde yararlı etkiye sahip olduğu çeşitli çalışmalarla bildirilmiştir. Çalışmamızda yeni-doğan (YD) Wistar sıçanlardan oluşan 4 grup kullanıldı. Doğumun 2. günü (YD:2) 1. ve 2. grup YD-STZ-diyabetik grup (100 mg/kg, tek doz, i.p., doğumun 2. günü), 2.grup; Octreotide tedavili YD-STZ-diyabetik grup (200 µg/kg/gün, i.p., 12.haftadan itibaren 6 hafta), 3.grup; Octreotide uygulanan diyabetik olmayan grup (200µg/kg/gün, i.p., 12.haftadan itibaren 6 hafta), 4.grup; sağlıklı kontrol olarak ayrıldı. STZ uygulanan gruplarda 12.haftaya kadar sağlıklı kontrole göre kan glukozunda belirgin artış gözlenirken, octreotide uygulanan diyabetik grupta kan glukoz düzeyi düştü. YD-STZ-diyabetik grupta böbrek ağırlıklarında sağlıklı kontrol grubuna kıyasla artış saptandı. Octreotide uygulanan diyabetik grupta ise diyabetik gruba kıyasla böbrek ağırlıkları azaldı. STZ-diyabetik gruplarda serum IGF-1 düzeylerinin octreotide uygulanan diyabetik grupta düştüğü saptandı. Glomerül boyutlarının YD-STZ-diyabetiklerde sağlıklı kontrole kıyasla arttığı gözlemlendi. Diyabetik gruplarda bazal membran kalınlaşması, mezangial matriks ve mezangial hücre artışı gözlemlendi. Diyabetik grupta glomerüllerde kuvvetli IGF-1 immunpozitifliği gözlemlendi. Tedavili YD-STZ-diyabetik grupta, diyabetik ve sağlıklı kontrol gruplarına oranla glomerüllerde ve tübüllerde oldukça zayıf IGF-1 immunpozitifliği, sağlıklı kontrol grubunda tübüllerde IGF-1 pozitif immunreaksiyonu saptandı. Mikroalbuminüri düzeyi diyabetik gruba kıyasla tedavili diyabetik grupta azaldı.

Sonuç olarak; Octreotide uygulamasının YD-STZ-diyabet modelinde diyabetik nefropatinin ilerlemesini yavaşlattığı ve renal doku hasarını düzelttiği tespit edildi.

## KAYNAKLAR

1. 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: 80-87.
2. Tucker BJ, Collins RC, Ziegler MG, Blandz RC. Disassociation between glomerular hyperfiltration and extracellular volume in diabetic rats. *Kidney Int* 1991; 39: 1176-1183.
3. Cha T, Thara Y, Yamato E, Yoneda H, Ikegami H, Noma Y, Shima K, Ogihara. Renal handling of glycosylated albumin in non-insulin-dependent diabetes mellitus with nephropathy. *Diabetes Res* 1991;12:149-156.
4. Hirose K, Qsterby R, Nozawa M, Jorgen H, Gundersen G. Development of glomerular lesions in experimental long-term diabetes in the rat. *Kidney Int* 1982;21:689-695.
5. Gambaro G, Cavazzana AO, Luzi P, Precoi A, Borsatti A, Crepaldi G, Marchi E, Venturini AP, Baggio B. Glycosaminoglycans prevent morphological renal alterations and albuminuria in diabetic rats. *Kidney Int* 1992; 42: 285-291.
6. Mogensen CE, Christensen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin dependent patients. *N Eng J Med* 1984;311:89-93.
7. Lehmann R, D.Schleicher E. Molecular mechanism of diabetic nephropathy. *Clin. Chim. Acta.* 2000; 297: 135-144.
8. Flyvbjerg A, Frystyk J, Marshall SM. Additive Increase in kidney insulin-like growth factor 1 and initial renal enlargement in uninephrectomized-diabetic rats. *Horm Metab Res* 1990; 22; 516-520.
9. Flyvbjerg A, Bornfeldt KE, Marshall SM, Arnquist HJ, Orskov H. Kidney IGF-I mRNA initial renal hypertrophy in experimental diabetes in rats. *Diabetologia* 1990; 33;334-338.
10. Flyvbjerg A. Role of growth hormone, insulin-like growth factors (IGFs) and IGF-binding proteins in the renal complications of diabetes. *Kidney Int* 1997; 52 (suppl 60): S12-S19.
11. Feld S, Hirschberg R. Insulinlike growth factor-I and the kidney. *Trends Endocrinol Metab* 1996; 7: 85-93.
12. Hirschberg R. IGF-I and the kidney. *J Lab Clin Med* 1993; 122: 636-638.
13. Orskov H, Flyvbjerg A, Frystyk J, Grønbaek H, Foegh M, Harris AG. IGF-I and acute renal hypertrophy: inhibition by somatostatin analogues. *Transplantation Proceedings* 1993; 25(N2):2061-2062.
14. Karshima T, Schally Aw. Superactive somatostatin analog decreases plasma glucose and glucagon levels in diabetic rats. *Peptides* 1998;9:561-565.
15. Serri O, Beauregard H, Brazeau P, Abribat T, Lambert J, Harris A, Vachion L. Somatostatin analogue, octreotide, reduces increased glomerular filtration rate and kidney

- size in insulin dependent diabetes. *JAMA* 1991;265 (N7): 888-892.
16. Flyvbjerg A, Marshall SM, Frystyk J, Hansen KW, Harris AG, Qrskov H. Octreotide administration in diabetic rats: Effects on renal hypertrophy and urinary albumin excretion. *Kidney Int* 1992; 41: 805-812.
  17. Flyvbjerg A, Hill C. And Logan A. Pathophysiological role of growth factors in diabetic kidney disease; focus on innovative therapy. ;*TEM* 1999; 10: 267-272.
  18. Altuğ T, Gürel A, İkitimur E, Kuşçu B, Doğruman H, Yeşildere T, Büyükdere S. Sıçanlarda neonatal dönemde farklı dozlarda streptozotocin uygulanmasının böbrek kisti ve tümörü oluşturma etkileri. *Endokrinolojide Yönelişler* 1996; 6: 136-139.
  19. Sounders BD, Trappe RG. *Basic & Clinical Biostatistics*. 2. ed. Appleton & Lange, London.1994
  20. Lee P, Baker B, Liu F, Kwan E, Hintz R. A homologous radioimmunoassay for rat insulin like growth factor-1 (IGF-1); implications for studies of human IGF-1 physiology. *J Clin.Endoc. and Metab* 1998;81:2002-2005.
  21. Öztürk M. Işık Mikroskopides İmmünoışaretleme Yöntemleri. Uygulamalı Ultrastrüktürel İmmunohistokimya Kurs Kitapçığı. Yazarlar: Yılmaz S, Öztürk M. 6-8 Mayıs 1998, İstanbul.
  22. Hammerman MR. New treatments for acute renal failure: growth factors and beyond. *Curr Opin Nephrol Hypertens*1997; 6: 7-9.
  23. Rubinger D, Weiss O, Zarfati D, Popovtzer MM, Raz I. The effect of low dose octreotide administration on renal function and on gene expression of IGF-1 axis components in experimental diabetes mellitus. *J Endocrinol* 1998;159:133-140.
  24. Evan AP, Henry DP, Connors B, Summerlin P, Lee WH. Analysis of insulin-like growth factors (IGF)-1, and-II, type II IGF receptor and IGF-binding protein-2 mRNA and peptide levels in normal and nephrectomized rat kidney. *Kidney Int* 1995;48:1517-1519.
  25. Parving HH, Andersen AR, Smidt UM, Hommel E, Mathiesen ER, Svendsen PA. Effect of antihypertensive treatment on kidney function in diabetic nephropathy *BMJ* 1987;294:1443-1447.
  26. Öztürk M, Kaya F, Toparlak T, Tunçdemir M, Akkan AG, Yılmaz S, Şatıroğlu G. The effect of AICA-riboside treatment on pancreatic  $\beta$  cell in neonatal streptozotocin induced diabetic rat. 13. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, Bildiriler Kitabı.(1-4 Eylül 1997, ODTÜ-Ankara), s:335-340.
  27. Portha B, Blondel O, Serades P, McEvoy R, Grioux MH, Kergoat M, Bailbe D. The rat models of non-insulin dependent diabetes induced by neonatal streptozotocin. *Diabetes&Metab* 1989;15:61-75.
  28. Walker JD, Close CF, Jones SL, Ratfertery M, Keen H, Vibert G C, Qsterby R. Glomerular structure in type -1 (insulin -dependen -1) diabet patients with normo and microalbuminuria .*Kidney Int* 1992;41:741-749.
  29. New JP, Canavan JP, Flyvbjerg A, Haman G, Bilaus RW, Marsahall JM. Renal enlargement and insulin -like growth factor-1 accumulation in the wistar rat model of experimental diabetes is not prevented by angiotensin convertin enzyme inhibition. *Diabetologia* 1996;39:166-171.
  30. Stackhouse S, Miller PL, Park SK, Meyer TW. Reversal of glomerular hyperfiltration and renal hypertrophy by blood glucose normalization in diabetic rats .*Diabetes* 1990;39:989-995.
  31. Fervanze FC, Tsao T, Hoffman AR, Rabkin R. Regional changes in the intrarenal insulin-like growth factor-I axis in diabetes. *Kidney Int* 1997;51: 811-818.
  32. Rabkin R, Brody M, Lu LK, Chan C, Shaheen Am, Gillett N. Expression of the genes encoding the rat renal insulin-like growth factor1 system. *J Am Nephrol* 1995;6:1511-1518.
  33. Sugimoto H, Shikata K, Makino H, Ota K, Ota Z. Increased gene expression of insulin - like growth factor-1 receptor in experimental diabetic rat glomeruli. *Nephron* 1996;72:648-653.
  34. Tsao T, Wang J, Fervenza FC, Vu TH, Jin IH, Hoffman AR, Rabkin R. Renal growth hormone Insulin like growth factor 1 system in acute renal failure . *Kidney Int* 1995.;47: 1685 –1668.
  35. Miyatake N, Shikata K, Wada J, Sugimoto H, Takahashi S, Makino H. Differential distribution of insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding proteins in experimental diabetic rat kidney. *Nephron* 1999;81;317-323.
  36. Busiguina S, Chowen JA, Argente J, Torres-Aleman I. Specific alterations of the insulin-like growth factor 1 system in the cerebellum of diabetic rats. *Endocrinology* 1996;137:4980-4987.
  37. Gronbaek H, Vogel I, Osterby R, Lancrangan I, Flyvbjerg A, Orskov H. Effect of octreotide, captopril or insülin on renal changes and UAE in long-term experimental diabetes. *Kidney Int*. 1998;53:173-180.
  38. Raz I; Rubinger D, Popovtzer M, Gronbeak H, Werss O, Flyvbjerg A. Octreotide prevents the early increase in renal insulin-like growth factor binding protein 1 in streptozotocin diabetic rats. *Diabetes* 1998;47:924-930.