



DENEYSEL DİYABETTE İNSÜLİNİN BÖBREK DOKUSU ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ EFFECTS OF INSULIN ON KIDNEY TISSUE IN EXPERIMENTAL DIABETES

SAYI

1

CILT

1

Gökhan Cüce¹, Hatice Nur Şeflek¹, Seda Çetinkaya¹, Tahsin Murad Aktan¹, Selçuk Duman¹, Mehmet Tuğrul Yılmaz², Mustafa Büyükmumcu²

¹ Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD

² Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Anatomi ABD

Cuce G, Şeflek HN, Çetinkaya S, Aktan TM, Duman S, Yılmaz MT, Büyükmumcu M. Effects of Insulin on Kidney Tissue in Experimental Diabetes. ISJMS 2015;1(1):8-12.

ABSTRACT

We investigated the effect of insulin therapy on renal damage in experimentally induced diabetic rats. In this study 21 male Sprague-Dawley rats were used. The rats were divided into 3 groups, diabetic (n = 7), diabetic + insulin therapy (n = 7), and control (n = 7). Statistically significant differences were identified in the evaluation of histopathological findings between all groups. Histopathological findings showed an expansion of the mesangial matrix, a reduction in the range of Bowman's space, disintegration of tubular epithelium, distortion and loss of brush-edge epithelial tubules, and presence of Armani Ebstein lesions in the diabetic group. Disintegration of tubular epithelium, desquamated epithelial cells in the tubule lumen and presence of Armani Ebstein lesions were observed in the Diabetes +Insulin therapy group. There was a smaller expansion of the mesangial matrix and reduction in the range of Bowman's space in the Diabetes+Insulin group when compared to the diabetes only group. 0.5 U / kg of insulin therapy has protective effects on diabetic nephropathy, but this dose is low, and we suggest using higher doses of insulin in investigating the effects of insulin therapy on diabetic nephropathy.

Key Words: Diabetes mellitus, insulin, kidney

ÖZET

Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, insülin tedavisinin böbrekte oluşması muhtemel hasar üzerine etkisinin araştırıldı. Çalışmada 21 adet erkek Sprague- Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar; Kontrol (n=7), Diyabet (n=7) ve Diyabet+ İnsülin (n=7) olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Histopatolojik bulguların değerlendirilmesinde tüm grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi. Diyabet grubunda ise mezangial matriks artışı ile birlikte Bowman aralığında azalma, parçalanmış tubul epiteli, tübül epiteli fırçamsı kenarında bozulma ve dökülmeler ile Armani Ebstein lezyonları gözlemlendi. Diyabet+ İnsülin grubunda ise parçalanmış tübül epiteli, tübül lümenine dökülmüş epitelyum hücreleri ve Armani Ebstein lezyonları gözlemlendi. Bu grupta mezangial matriks artışı ve Bowman aralığında azalmanın Grup 2'ye göre daha hafif olduğu tespit edildi. 0.5 IU/kg insülin dozunun diyabette oluşan nefropatiye etkisinin olduğunu fakat dozun düşük kaldığını ve bu tür çalışmaların farklı insülin dozları kullanılarak yapılmasının uygun olabileceğini önermekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, insülin, böbrek

1. Giriş

Diabetes Mellitus, insülin üretimi veya etkisiyle ilgili bozukluklar sonucu gelişen ve hiperglisemi ile nitelendirilen metabolik bir hastalıktır (1). Beslenme alışkanlıkları ve yaşam tarzının değişmesi nedeniyle diyabet görülme sıklığı günümüzde hızlı bir şekilde artmaktadır. 1985 yılında dünya genelinde 30 milyon olan diyabetli hasta sayısı, 2003 yılında 194 milyon olarak kaydedilmiştir. 2025 beklentisi ise 333 milyondur (2). Deneysel ve klinik çalışmalar sonucu hipergliseminin serbest radikal oluşumunu artırdığı ve oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir (3).

Diabetes mellitus yaşam boyunca insülin kullanmayı gerektirmektedir (4). Diabetes mellitus tip 1 (insüline bağımlı) ve tip 2 (insüline bağımlı olmayan) olmak üzere iki gruba ayrılır (5).

Deney hayvanlarına çeşitli kimyasal ilaçlar (STZ, alloxan) verilerek, deneysel tip 1 diyabet oluşturulmaktadır. Bu ilaçlar pankreatik beta hücrelerinde kalıcı hasar oluşturmaktadır (6).

Deneysel diyabetli sıçanlarda ve diyabetli vakalarda, lipid peroksidasyonunun ve serbest oksijen radikallerinin arttığı bildirilmiştir. Oksidatif stres, diyabetin etiolojisinde görev alan ve hastalığı şiddetlendiren bir faktör olarak kabul edilmektedir (7). Diyabetin komplikasyonlarının (anjyopati, retinopati, nöropati, nefropati) gelişmesinde oksidatif stres miktarının ve protein glikozilasyon miktarlarının artmasının etkili olduğu bildirilmiştir (8).

Diyabetli hastalarda nefropati görülme sıklığı %30-40 oranındadır. Glomerul, tübüller ve tübülo interstisyel yapılarda değişikliklerle karakterize olan böbrek hasarının oluşması en önemli komplikasyonlardan biri olarak kabul edilmektedir. Hipergliseminin tetikleme sonucu serbest oksijen radikallerinin artmasının, oksidan-antioksidan dengenin bozulmasına neden olduğu ve ve açığa çıkan oksidatif stresin gelişim mekanizmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Oksidan-antioksidan dengesinin, oksidan kapasitenin lehine bozulması, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin oluşum miktarlarını artırdığı ve doku hasarına sebebiyet verdiği ifade edilmektedir (9).

Diyanette bozulan bu dengenin sağlanması için diyabetli gruplara antioksidan ve çeşitli ilaçlar verilerek böbrek dokusunun histolojik yapısının araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır (7, 8, 10, 11, 12). Eker ve ark (2003) insülin lispro ile regüler insan insülinin karşılaştırıldığı bir çalışmada kan parametrelerini incelemişler (4), Delibaş ve ark (2003) ise diyabetli erkek ratlarda insülin ve gliklazid tedavisinin hipokampüste lipid peroksidasyonuna olan etkisini araştırmışlardır (13). Adewole ve ark (2007) insülin tedavisi uyguladıkları diyabetli ratların pankreaslarını incelemişlerdir (14).

Literatür taramamızda insülin tedavisi yapılan ratların böbrek dokularının histolojik olarak incelendiği bir çalışma olmamasından yola çıkarak çalışmamızda deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, diyabetin başlangıcından itibaren 30 gün insülin kullanımının böbrekte oluşması muhtemel hasar üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

2. Gereç ve Yöntemler

5 aylık erkek sıçanlar kontrol, diyabet ve diyabet+insülin (n=7) olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Tüm gruplar 30 gün boyunca 20-22 derecede 12 saat karanlık/aydınlık barınaklarda sıçan pelet yemiyle beslendi.

Kontrol grubu: 1.Grup: Bu gruba sadece % 0,9'luk serum fizyolojik 50 mg/kg i.p olarak verildi.

2.Grup (Deneysel diyabet grubu): % 0,9'luk serum fizyolojik içinde çözülmüş STZ 50 mg/kg i.p olarak tek enjeksiyonla verildi. Bir hafta sonra sıçanların kuyruk venasından alınan bir damla kandan glukometre ile kan glikoz seviyeleri ölçüldü. Kan glikoz seviyesi 270 mg/dl ve üstü olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi (15).

3.Grup (Diyabet + insülin grubu): pH'ı 4,5 olan 0,01 M sodyum sitrat tamponunda çözülmüş STZ 50 mg/kg ip olarak tek enjeksiyonla verildi. Bir hafta sonra sıçanların kuyruk venasından alınan bir damla kandan glukometre ile kan glikoz seviyeleri ölçüldü. Kan glikoz seviyesi 270 mg/dl ve üstü olan sıçanlara s.c günlük kristalize insülin (0.5 IU/kg) tedavisi uygulandı (14).

30 gün sonunda sıçanlara yüksek doz Ketalar-Rompun ötenazi yapıldı ve sağ böbrekleri çıkarıldı. Dokular %10'luk formalin içinde tespit edildi ve rutin histolojik takip yapıldı. Tüm böbrek dokularından 5 µ kalınlığında parafin kesitler alındı. Bu kesitlere PAS ve Hematoksilin Eozin (HE) boyaması yapıldı.

Preparatlar mezangial matriks artışı, bowman aralığı, fırçamsı kenar, parçalanmış tübül epiteli ve Armani Ebstein lezyonları açısından değerlendirildi.

Histopatolojik değişikliklerin derecesine göre yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak değerlendirildi (9). Maksimum skor:15 olarak belirlendi. Kan glukoz değerleri Oneway Anova Tukey Testi ile değerlendirildi. Histopatolojik değerler Kruscal Wallis testi ile değerlendirildi.

3. Bulgular

Grup 1'de normal böbrek histolojisi gözlemlendi (Resim 1 ve Resim 2). Grup 2'de ise mezangial matriks artışı ile birlikte Bowman aralığında azalma (Resim 3), parçalanmış tübül epiteli, tübül epiteli fırçamsı kenarında bozulma ve dökülmeler, Armani Ebstein lezyonları gözlemlendi (Resim 4).

Grup 3'te ise parçalanmış tübül epiteli, tübül lümenine dökülmüş epitelyum hücreleri ve Armani Ebstein lezyonları gözlemlendi. Bu grupta mezangial matriks artışı ve Bowman aralığında azalmanın Grup 2'ye göre hafiflediği tespit edildi.

Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 arasında kan glukoz seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 1).

Tablo 1: Çalışma sonu gruplar arası kan glukoz seviyelerinin karşılaştırılması.

Grup	N	Ortalama±SE	P
Grup 1	7	99,14±2,98 ^a	0,02*
Grup 2	7	542,71±21,03 ^b	
Grup 3	7	457,28±25,55 ^c	

Farklı sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (P<0,05).

Histopatolojik bulguların derecelerinin (Tablo 2) değerlendirilmesinde Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 3).

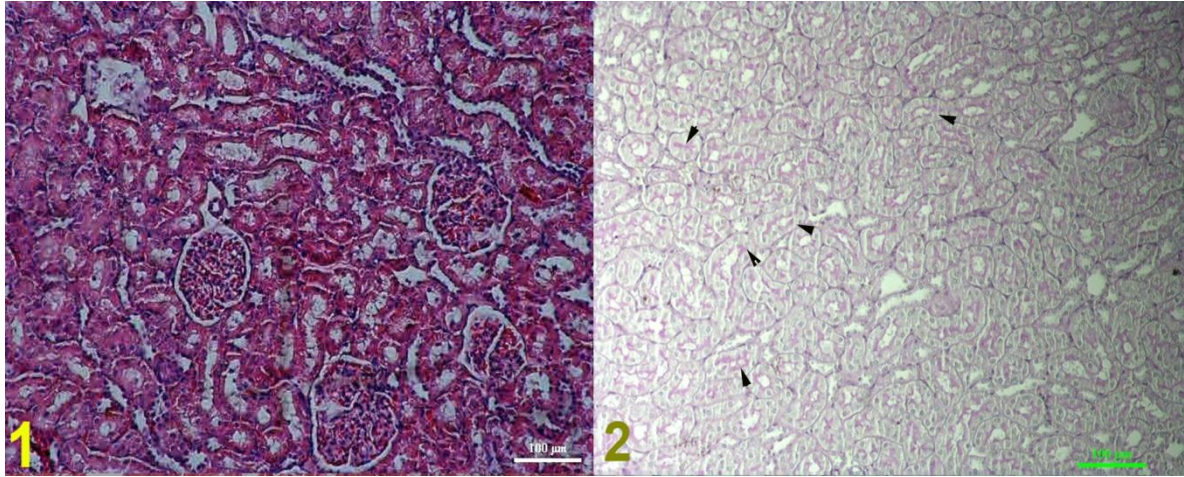
Tablo 2: Gruplar arasında böbreklerdeki histolojik değişikliklerin derecelendirilmesi

	Grup 1				Grup 2				Grup 3			
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Mezangial matriks artışı	7				3	3	1	1	6			
Bowman aralığında azalma	7				4	2	1	1	6			
Fırçamsı kenarda bozulma, dökülmeler	5	2			1	5	1		3	4		
Parçalanmış tübül epiteli	7				1	4	2		2	5		
Armani Ebstein lezyonları	7				3	3	1		2	5		

Tablo 3: Histopatolojik Değerlerin İstatistiksel Analizi

Grup	N	Ortalama±SE	P
Grup 1	7	0,28±0,18 ^a	<0,001
Grup 2	7	9,14±0,63 ^b	
Grup 3	7	6,71±0,42 ^c	

Farklı sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (P<0,05).

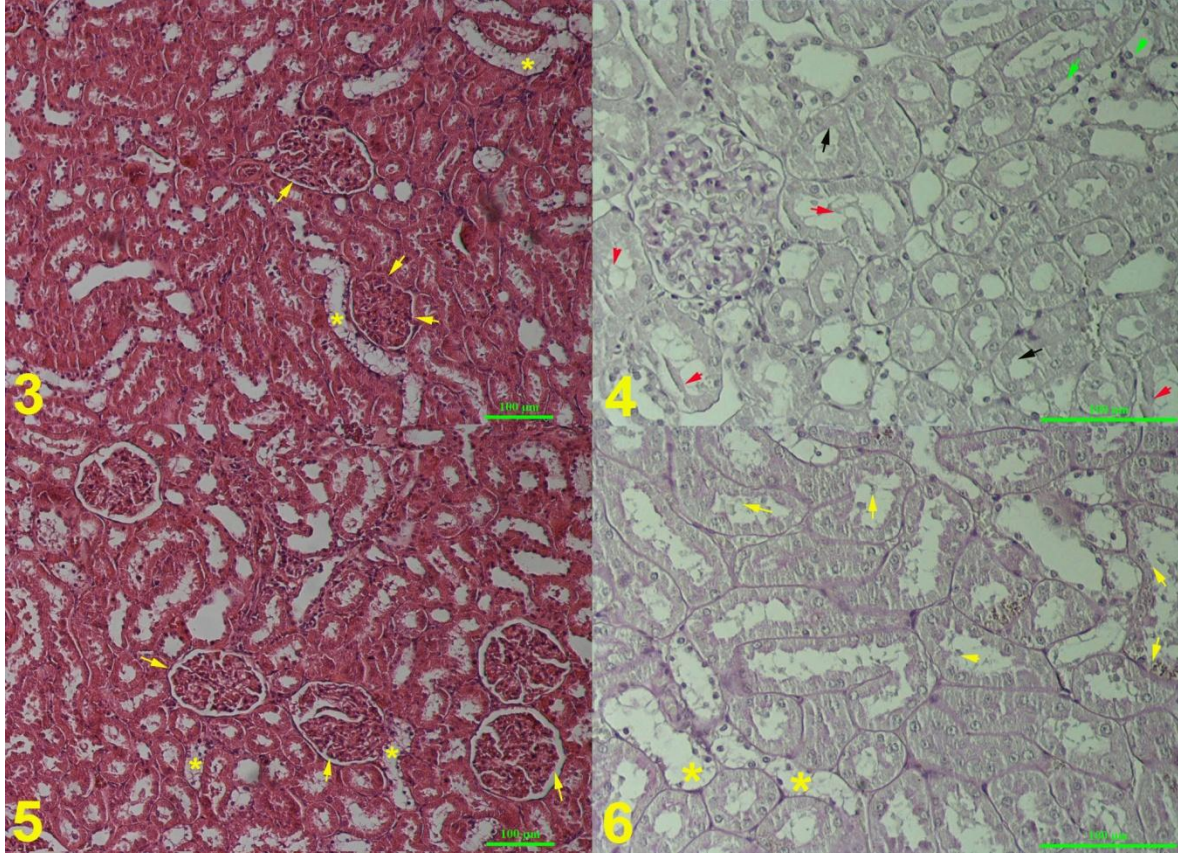


Resim 1: Kontrol grubunda normal böbrek histolojisi gözlenmektedir. H-E. Resim 2: Kontrol grubunda tübül epitelinin fırçamsı kenarı gözlenmektedir (PAS).

4. Tartışma

Öztürk ve ark (2005) streptozotosin ile 8 hafta boyunca diyabet oluşturdukları sıçanlarda Bowman kapsülünün parietal yaprağında ve kapiller bazal membranda kalınlaşma ile (PAS+) mezangial matrikste artış kaydetmişlerdir (6). Vardı ve ark (2005), STZ ile diyabet oluşturdukları sıçanlarda kortekste, özellikle de korteksin medullaya yakın olan alanlarında tübül epitel hücrelerinin sitoplazmasında PAS(+) glikojen birikimi olduğunu belirtmişlerdir. Diyabet grubunda kontrol grubuna göre glomerüler bazal membran kalınlaşması olduğunu ve hidropik değişikliklerden hücre şişmesi ve intrasitoplazmik vakuolizasyon tespit etmişlerdir (9). Bizim bulgularımız arasında gözlenmeyen bu histopatolojik değişikliklerin Öztürk ve ark (2005) ile Vardı ve ark (2005)'nin çalışma süresinin 60 gün bizim ise 30 gün olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Doğan ve ark (2011) deneysel diyabette, böbrekte tüm dokunun geneline yayılmış değişiklikler ile birlikte, en belirgin yapısal bozuklukların glomerüllerde gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında deneysel diyabet grubunda Bowman idrar aralığında daralma, diffüz mezangial matrikste artış ve tübüllerde dilatasyon gözlemişlerdir. Bu değişikliklere ek olarak tübül epitelyum fırçamsı kenarında bozulmalar, tübül bazal membranında kalınlaşma, şeffaf görümlü tübüller (Armani-Ebstein lezyonları) ve tübül lümenine dökülmeler olduğundan bahsetmişlerdir. 4 haftalık diyabet oluşturdukları çalışma süresi sonucu elde ettikleri bulgular bizim çalışma sonuçlarıyla uyumludur (12). Dönder ve ark (2012) yaptıkları çalışmada diyabet grubuna ait böbrek dokularında kortekste değişiklikler olarak glomerüllerde hipertrofi ve mezangial



Resim 3: Diyabetli grupta Mezangial matriksi artışı ve Bowman aralığında azalma (oklar) ve Armani Ebstein lezyonları (*) gözlenmektedir (H-E). **Resim 4:** Diyabetli grupta tübül epitelinde fırçamsı kenarda bozulmalar (siyah oklar), lümenine dökülen epitelyum parçaları (kırmızı oklar) ve Armani Ebstein lezyonları (yeşil oklar) gözlenmektedir (PAS). **Resim 5:** Mezengial matriks artışı ve Bowman aralığındaki azalmanın gerilediği (oklar) ve Armani Ebstein lezyonları (*) gözlenmektedir (H-E). **Resim 6:** Parçalanmış tübül epitel ve tübül lümenine dökülmüş epitelyum hücreleri (siyah oklar) ve Armani Ebstein lezyonları (*) gözlenmektedir (PAS).

matriks artışı kaydetmişlerdir. Ayrıca tübül epitelinde hasar, şeffaf görünüme sahip tübüller (Armani-Ebstein lezyonları) ve dilatasyon gözlediklerini belirtmişlerdir. Bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak 6 haftalık diyabetin sonucunda oluştuğunu düşündüğümüz Bowman kapsülü parietal yaprağının bazı glomerüllerde kalınlaştığını gözlemlemiştir (7). Turgut ve ark (2010) Alloxan ile ratlarda diyabet oluşturmuşlar, diyabet grubunda mezangial matriks genişlemesi, glomerüloskleroz, Bowman aralığında daralma, proksimal tübüllerin epitelinde fırçamsı kenarlarında bozulma, kapiller bazal membran kalınlaşması, retiküler fibril artışı, tübül epitelde hidropik değişiklikler ve vakuolizasyon gözlediklerini belirtmişlerdir. Diğer bir grupta da alloxan ile diyabet oluşturmuşlar ve 4 haftalık i.p 3 g/kg insülin tedavisi uygulamışlardır. Bu grupta kapiller bazal membran kalınlaşmasının, proksimal tübüllerde epitelin fırçamsı kenarlarında hasarın, tübül epitelde hidropik değişikliklerin ve tübül epitelde vakuolizasyonun sadece diyabetik gruba göre daha az gözlendiğini belirtmişlerdir (11). Tübül epitelde hidropik değişikliklerin ve tübül epitelde vakuolizasyonun farklı bir kimyasalla diyabetin indüklenmesi ile oluşabileceğini düşünmekteyiz, insülin tedavisi ise bulguları hafifletmiştir.

Yapılan bir çalışmada streptozotisin (STZ) ile diyabet oluşturulan ratlarda 30 gün süre ile 3 IU/gün s.c insülin verilmesinin kan glukoz seviyesinde anlamlı bir değişikliğe sebep olmadığı belirtilmiştir (16). Başka bir çalışmada ise 4 IU/kg/gün olarak tek dozda her gün s.c uygulanan insülinin kan glukoz seviyesini düşürdüğünü belirtmişlerdir (13). Çalışmamızda materyal metotta belirttiğimiz 0.5 IU/kg/gün insülin dozunun örnek aldığımız Adewole ve ark'nın (2007) çalışmalarında (14) ve bizim çalışmamızda kan glukoz seviyesi düşmüş, ayrıca nefropati komplikasyonlarında görülen yapısal değişikliklerde de hafiflemeye sebep olmuştur.

Diğer çalışmalarda diyabette gözlenen nefropati bizim çalışmamızda da gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda 0.5 IU/kg/gün uygulanan insülin kan glukoz seviyesini düşürmüş fakat kontrol grubunun kan glukoz seviyesine yaklaştıramamıştır. Ayrıca gruplar arasındaki histopatolojik skorun anlamlı olarak farklı çıkması, mezangial matriks artışı ve Bowman aralığı bulgularından kaynaklanmıştır. 0.5 IU/kg/gün insülin dozunun diyabette oluşan nefropatiye etkisinin olduğunu fakat dozun düşük kaldığını ve bu tür çalışmaların farklı insülin dozları kullanılarak yapılmasının uygun olacağını önermekteyiz.

Kaynakça ve Notlar

1. Şilhan KAL, Gürel MS, Kiremitçi Ü, Erdemir A. Diyabetes Mellitusta Görülen Deri Bulguları. İstanbul Tıp Dergisi. 2008;1:77-81.
2. Ökmen E. İlaç salınımlı stentler diyabetik hastalarda koroner arter hastalığının tedavisini değiştirdi mi? Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2008;16,(3):198-204.
3. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. Turk J Biochem. 2006; 31 (2); 51–6.
4. Eker H, Hekimsoy Z, Sözmén B, Arslan L. Comparison of insulin lispro and regular human insulin in treatment of patients with diabetes mellitus. T Klin J Med Sci. 2003, 23:471-75.
5. Haas LB. Pathophysiology of diabetes mellitus. Nurse Pract Forum. 1998;9(2):42-45.
6. Öztürk F, Iraz M, Eşrefoğlu M, Kuruş M, Gül M, Otlu A. Deneysel Diyabetin Sıçan Böbreklerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 12(1) 1-4 (2005).
7. Dönder E, Ünal M, Dabak DÖ, Kuloğlu T, Özkan Y. Benfotiamin ve C Vitamini'nin Deneysel Diyabetik Sıçan Böbrek Dokusundaki Değişiklikler Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Fırat Tıp Dergisi. 2012; 17(4): 189-95.
8. Vardı N, Iraz 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; 26:599-606.
9. Vardı N, Iraz M, Öztürk F, Uçar M, Gül M, Eşrefoğlu M, Otlu A. Deneysel Diyabetin Sıçan Böbreklerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler Üzerine Melatoninin İyileştirici Etkileri. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2005;12(3):145-52.
10. Kuloğlu T, Dabak DÖ. Deneysel Diyabetin Sıçan Böbrek Dokusunda Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2009;29(6):1441-9.
11. Turgut F, Çarlıoğlu A, Alkan R, Akdeniz D, Haltaş H, Balçık ÖŞ et al. The Protective Effect of Erdosteine on Renal injury in Diabetic Rats. Turkish Nephrology, Dialysis and Transplantation Journal. 2010;19(3):157-16.
12. Doğan MM, Dönder E, Kuloğlu T, Dabak DÖ. Deneysel diyabetin sıçan böbrek dokusunda meydana getirdiği değişiklikler üzerine enalapril ve losartan'ın etkilerinin incelenmesi. Fırat Tıp Dergisi. 2011; 16(2): 46-50.
13. Delibaş N, Kılınç İ. The Effect of Insulin and Gliclazide Treatment on Hippocampal Oxidant-Antioxidant System in Streptozotocin Diabetic Rats. T.rk Klinik Biyokimya Derg. 2003;1:33-39.
14. Adewole SO, Ojewole JA. Insulin-induced immunohistochemical and morphological changes in pancreatic beta- cells of streptozotocin-treated diabetic rats. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 2007;29(7):447-55).
15. Cuce G, Kalkan SS, Esen HH. Evaluation of TGF beta1 expression and comparison the thickness of different aorta layers in experimental diabetes. Bratisl Lek Listy. 2011; 112 (6): 318-22.
16. Noyan T, Balahoroğlu R, Kömüroğlu U. The Effects of Vitamin A, E, and C Combined Insulin Treatments on the Antioxidant Enzymes in the Diabetic Rats. Türk Klinik Biyokimya Derg. 2004; 2(3): 113-119.

Sorumlu Yazar:

Gökhan Cüce
Necmettin Erbakan Üniversitesi
Meram Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji ABD
email: gokhancuce@gmail.com

Geliş Tarihi: 25 Temmuz 2014

Kabul Edildiği Tarih: 15 Kasım 2014

Çıkar Çatışması

Hiç bir yazarın açıklayacağı finansal ilişkisi veya beyanı yoktur.