

1.GİRİŞ VE AMAÇ

1.1 Diyabetin tanımı

Diabetes Mellitus insülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak veya göreceli azlığı sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik hiperglisemik bir metabolizma hastalığıdır. Klinik olarak polidipsi (çok su içme), poliüri (çok idrar çıkarma), polifaji (çok yemek yeme), pruritus, kilo kaybı gibi klasik belirtiler ve hastalığa spesifik retinopati, nöropati, nefropati gibi komplikasyonlar ile tanınabilir. Normalde kan glukoz düzeyi, pankreasta bulunan Langerhans adacıklarındaki β hücrelerinden salgılanan insülin adlı hormonla regüle edilmektedir. İnsülin kan glukoz düzeyini düşürür. Ör: Yemekten sonra kan glukoz değerleri yükseldiği zaman, insülin pankreastan salgılanarak glukoz düzeyini normale döndürür. Diyabetli hastalarda insülin yokluğu veya yetersiz salınımı hiperglisemiye neden olur. Bu da glukozun idrarla bir miktar atılmasına yol açar. Yüksek glukoz düzeyleri zaman içerisinde çeşitli organların yapı ve fonksiyonlarında bozukluklara neden olur (1).

1.2. Diyabetin tarihçesi

Diabetes Mellitus'un ilk tarifine milattan 1500 yıl öncelerine ait Ebers papirüslerinde rastlanmaktadır. Bu papirüslarda bol su içme ve bol idrardan bahsedilmektedir. Daha sonraki yıllarda Hippokrates, Galen, Bharadwajne Atreya adlı ünlü hekimlerin M.Ö 600 yıllarında derledikleri bir tıp kitabında "Madhume" denilen bir hastalık bugünkü diyabet tanımına çok uymaktadır. M.Ö. 150 yıllarında Kapadokyalı Aretaeus diyabet adını verdiğimiz bu hastalığı açıkça tarif etmiştir. Aretaeus, özellikle çok su içme ve çok idrara çıkmayı vurgulayarak hastalığı erime hastalığı olarak izah etmeye çalışmıştır. 1674 yılında Thomas Willis adlı bir anatomist ilk kez diyabetik hastaların idrarının tatlı olduğunu göstermiştir. 18. yüzyılda William Cullen "Diabetes" kelimesinin yanına ballı anlamına gelen "Mellitus"u ekledi. 1815'te Chevrueil idrardaki bu şekerin glukoz olduğunu açıklamıştır. 1800'lü yılların sonunda cerrah olan Frederick Banting ile tıp öğrencisi olan Charles Best ilk kez terapötik olarak aktif insülini üretmişler. 1970'li yıllarda Danimarka'da Nova ve Leo firmaları saflaştırılmış ve antikor oluşturmeyen insülin tiplerini geliştirdiler. Günümüzde ise "Rekombinant DNA" teknolojisiyle tamamen sentez ürünü olan insan insülini üretilmektedir (1,2).

1.3. Diyabetin Dünyadaki ve Türkiye'deki Sıklığı

Diabetes Mellitus toplumda çok sık görülen bir hastalıktır. Çağımızda diyabet, şiddetli rüzgârın körüklediği dev bir saman alevi gibi, tüm dünyayı önlenemez bir şekilde

kasıp kavurmaktadır. Bir ülkenin gelişmiş ya da azgelişmiş olması; bireyin genç ya da yaşlı olması, hasta sayısının artmasını önlememektedir. 2025 yılı için Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) öngörüsü, dünyadaki diyabetli sayısının 300 milyona ulaşacağı doğrultusundadır. Bu sayının yüksekliği de, insanlığın sağlık açısından nasıl bir risk altında bulunduğunu göstermektedir. Diabetes Mellitus ülkemizde de giderek artan bir insidansda seyretmektedir. Gerçektende TURDEP (The Turkish Diabetes Epidemiology Study) çalışmasında Türkiye'de 20 yaş üzeri nüfusun %7.2'si diyabetik, %6.7'sinin ise glikoz intoleransı olduğu saptanmıştır (3).

1.4.Diyabetin sınıflaması

Diabetes Mellitus American Diabetes Association'nın (ADA) klasifikasyonuna göre çeşitli alt gruplara ayrılmıştır.

1- Tip 1 Diabetes mellitus (DM): Pankreasta salgılanan endojen insülin eksikliğine veya yokluğuna bağlı olarak gelişir. Herhangi bir yaşta ortaya çıkabilir. Tedavisinde mutlak insülin verilmesi gerekir.

2- Tip 2 DM: Toplumda en fazla görülen tiptir. Poliüri, polidipsi, polifaji, pruritus, kilo kaybı gibi klasik belirtiler ile ortaya çıkarsa da çoğu zaman uzun sürebilen asemptomatik bir dönemi mevcuttur. Bu yüzden tanı konulan hastaların çoğunluğunda kronik komplikasyonların geliştiği görülmüştür. Tedavisinde oral antidiyabetikler kullanılır.

3-Diğer spesifik diyabet tipleri:

a) β hücrelerinin genetik defektleri: MODY (maturity-onset diabetes of the young) ve mitokondriyal diyabet oluşur. MODY-1; 12. kromozomdaki hepatik transcription factor hepatosit nukleer factor (HNF)-1 alfa mutasyonu. MODY-2; 7. kromozomdaki glukokinaz gen mutasyonu. MODY-3; 20. kromozomdaki hepatik transcription factor HNF-4 alfa gen mutasyonu. Mitokondriyal diyabette mitokondriyal DNA nokta mutasyonu gösterilmiştir.

b) İnsülin etkisinde genetik defektler: İnsülin reseptör mutasyonları ile birlikte görülen hafif hiperglisemiden ağır diyabete kadar değişen metabolik bozukluklardır.

c) Endokrin pankreas hastalıkları: Pankreasa diffüz olarak zarar veren her türlü durumda diyabet gelişebilir. Ör: Pankreatit, travma, kistik fibrozis, hemakromasitozis, enfeksiyon, pankreatektomi ve pankreas karsinomu gibi.

d) Endokrinopatiler: Büyüme hormonu (GH), kortizol, glukagon, epinefrin gibi bazı hormonlar insülinin etkisini antagonize ederler. Bu hormonların aşırı salgılanması sonucu

gelişen Akromegali, Cushing sendromu, Glukoganoma ve Feokromositoma diyabete neden olabilir.

e) İlaç ve kimyasallara bağlı diyabet: Vacor ve Pentamidine; β hücrelerinde kalıcı dejenerasyona neden olur. Nikotik asit ve glukokortikoidler insülin salgılanmasını bozabilir.

f) Enfeksiyonlar: Kongenital Rubella, Coxackievirus, Cytomegalovirus, Adenovirus ve kabakulak virusları diyabet oluşumuna yolaçabilir.

g) İmmun diyabetin nadir formları: Merkezi sinir sistemini tutan otoimmün bir hastalık olan Stiff-man sendromu, Sistemik Lupus Eritromatozis, gibi hastalıkların seyri esnasında diyabet gelişebilir.

h) Diyabet ile ilişkili olabilen diğer genetik hastalıklar: Down sendromu, Klinefelter sendromu, Turner sendromu gibi kromozom anomalilerinin olduğu hastalıklarda bu hastalığın sıklığı da artar.

g) Malnutrisyonla ilgili Diabetes Mellitus: Bununda iki tipi mevcuttur.

-Fibrokalküloz pankreatik diabette; pankreasta fibrozis ve ekzokrin kanallarda taş oluşumu vardır.

-Protein yoksunluğu diabeti; beslenme bozukluğu olan genç erişkinlerde görülür.

4- Gestasyonel diyabet: İlk kez hamilelikleri sırasında ortaya çıkan diyabetiklerdir (1,4,5).

1.5.Diyabette tanı kriterleri

1- Diyabet semptomları ve kan glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dl olması, günün herhangi bir saatinde öğüne bakılmaksızın ölçülebilen plazma hiperglisemi değeri, poliüri, polidipsi, polifaji.

2- Açlık plazma glukoz düzeyi ≥ 126 mg/dl: En az 8 saatlik tam açlık sonrası.

3- Oral glukoz tolerans testi sırasında 2. saat plazma glukoz düzeyi ≥ 200 mg/dl.

Açıklanamayan kilo kaybı gibi kriterlerle diyabet tanısı konulur (1). Diabetes Mellitus'da yeni tanı yöntemleri: Başlıca 4 gruptur:

1-İmmunolojik testler: Preklinik dönemde tip-1 diyabetin teşhisinde değerlendirilir (6,7).

-Adacık antikoru (ICA)

-İnsülin antikoru (IAA)

-Glutamik asit dekarboksilaz antikoranları

2-Periferik insülin direncini belirleyen testler:

-Kan insülin, glukoz ve C peptid oranları

- Hiperinsülinemik öglisemik klemp testi (HECT)
- Minimal model
- İnsülin tolerans testi (ITT)
- İnsülin supresyon testi (IST)
- Homeostasis model assesment (HOMA)
- Continious infusion of glucose with model assesment
- 3- Beta hücre stimülasyon testleri:
 - İntravenöz glukoz tolerans testi (IVGTT)
 - Glukagon testi
 - Standart mixt meal ile C peptid uyarı testi
 - Hiperglisemik klemp testi
- 4-Diğer testler:
 - Kapiller bazal membran kalınlığının ölçümü
 - Glukoz taşıyıcılarının ölçümü
 - Amylin (İslet Amiloid Polipeptid-IAPP) ölçümü

1.6.Diabetes Mellitus'un komplikasyonları

Diabetes Mellitus'un akut komplikasyonları:

- 1- Diyabetik ketoasidoz,
- 2- Hiperozmolar nonketotik koma,
- 3- Hipoglisemi,
- 4- Laktik asidoz.

Diabetes Mellitus'un kronik komplikasyonları:

- 1- Diyabetik mikroanjyopati ve makroanjyopati,
- 2- Diyabetes mellitusun gastrointestinal, ürolojik, reproduktif, kardiyak komplikasyonları,
- 3- Diyabetik retinopati,
- 4- Diyabetik nöropati,
- 5- Diyabetik nefropati,
- 6- Diyabetik ayak (1).

1.7.Diyabetik nefropati

Diyabetli hastalarda, diyabetik nefropati önemli bir mortalite nedenidir. Gelişmiş ülkelerde renal replasman ünitelerinde tedavi gören son dönem böbrek yetersizliği

hastalarının 1/3'ünü diyabetikler oluşturur. Bu, gelişmiş ülkelerdeki son dönem böbrek yetersizliğinin en sık nedeninin diyabetik nefropati olduğu anlamına gelir. Avrupa ve Amerika'daki Tip-1 diyabetli hastaların % 30-50'inde, Tip-2 diyabetlilerin % 5-15'inde diyabetik nefropati gelişir (8).

Tip-1 ve tip-2 diabetin en sık görülen mikrovasküler komplikasyonudur. Diyabetik bir hastada üç ila altı ay arasında en az iki idrar tahlilinde günlük 300 mg ve üzerinde albuminüri saptanması veya günlük 500 mg proteinüri saptanması ile diyabetik nefropati tanısı konur. Uygun şekilde tedavi edilemeyen hastalarda zaman içerisinde böbrek fonksiyonları bozulur. Hipertansiyon genellikle bu sendroma eşlik eder. Diyabetik nefropatiyi semptomların görülmediği prelinik dönem ve klinik belirtilerin ortaya çıktığı klinik dönem olmak üzere iki evreye ayırabiliriz.

Diyabetik nefropati; aşağıda belirtilen 5 evreden oluşmaktadır.

1-Hipertrofi ve hiperfiltrasyon dönemi: Devamlı hiperfiltrasyonun ve renal hipertrofinin ön plana çıktığı, fakat henüz albuminürinin normal sınırlarda olduğu zaman dilimidir. Hayvan modellerinde diabetin daha başlangıç döneminde böbrekte protein sentezinin arttığı ve böbrek hacminin arttığı bildirilmiştir.

2-Sessiz dönem: Klinik belirti vermeyen kalıcı renal hipertrofi ve hiperfiltrasyonun gözlemlendiği devredir. Glomerül bazal membranında kalınlaşma, mezangiyum hacminde artma gözlenir.

3-Mikroalbuminüri dönemi: İdrarla atılan günlük albumin miktarı 30-300 mg'a yükselmiştir. Böbrekte glomeruler bazal membran kalınlaşması, mezangiyumda artış, filtrasyon yüzeylerinde kalınlaşma gibi histolojik değişiklikler gözlenir.

4-Aşık nefropati dönemi: Hastaların hemen hepsinde hipertansiyon ve idrarlarında 300 mg/gün üzerinde albumin vardır. Diabetik nefropatide rastlanılan histopatolojik değişiklikler saptanır.

5-Son dönem böbrek yetmezliği: Giderek şiddetini arttıran ağır böbrek yetmezliği, üremi ve aşık proteinüri gözlenir. Genel replasman tedavisi başlanmalıdır (9).

İlk üç devre prelinik, son iki devre ise klinik belirtilerle seyredir. Hemodinamik değişiklikler ve glomerül hipertrofisi sıçanlarda streptozotocinle oluşturulan deneysel diyabette de gösterilmiştir. İleri glikolizasyon son ürünlerinin artışı ile ilişkili metabolik defekte bağlı olarak GBM'da kalınlaşma ve mezangiyal matriks artışı meydana gelir. Glomerül hipertrofisi ile ilişkili hemodinamik etki de glomerül sklerozunun gelişiminde rol oynar (10).

1.7.1.Diyabetik nefropatide ışık mikroskopik bulgular: Diyabetik nefropatili hastaların böbreklerinde ister Tip-1 isterse Tip-2 diabet olsun, aynı histolojik değişikliklere rastlanılır. Diyabetik nefropatide böbrek boyutları artmıştır. Işık mikroskopisinde aşağıdaki bulgulara rastlanılır.

Glomerülün interkapiller nodüler lezyonu: Bu nodüller iyi sınırlanmış eozinofilik ve PAS pozitif yapılar olup çevresel glomerül lobunun merkezine yerleşmişlerdir. Bu nodüllerin mezangiyumdan kaynaklandıkları bilinmektedir. Bu histolojik görünüm ağır proteinüri, hipertansiyon, böbrek yetmezliği gibi bulgularla beraber olur.

Diffüz glomerül lezyonları: Bu lezyon daha sık görülür. Kapiller kıvrımları da tutan mezangiyum matriksinde genişleme ve kapillerlerin duvarı kalınlaşma izlenir. Diffüz glomerül lezyonu ve nodüller birlikte görülebilir.

Eksudatif lezyon: Bowman kapsülü boşluğunda yer alan, yuvarlak, homojen, eozinofilik yapılar olup bazen kapiller kıvrımları çepeçevre sarmıştır, bazen de Bowman kapsülü boyunca yerleşiktirler.

Arteriyel lezyon: Afferent ve efferent arteriyol tutulumu görülür. Arteriyollerde tüm damar duvarını tutan ve zamanla duvarın yerini alan hiyalinizasyon izlenir. Efferent arteriyoldeki lezyon diyabete özgüdür ve bazen saptanabilen ilk bulgudur.

Tubulus ve interstisyum: İnsülinin devreye girmesi ile birlikte azalmakla birlikte; aşırı glukozürlü hastalarda görülen kortikomedüller bölgenin tubül hücrelerinde glikojen birikimi ile tanımlanan patolojik değişikliklere rastlanılır. Bu değişikliklere "Armani-Ebstein" lezyonu denir.

1.7.2.Diyabetik nefropatide immunopatolojik bulgular: Diyabetik hastaların böbrek biopsilerinin immunfloresan incelemelerinde glomerül bazal membranında ve Bowman kapsülü ve tubüllerin dış yüzeylerinde IgG, IgM, albumin ve fibrinojen birikimi gösterilmiştir. Ayrıca mezangiyumda tip IV ve tip V kollajen, laminin, fibronektin ve fetal böbrekte ekspresse edilen antijenler gösterilmiştir.

1.7.3.Diyabetik nefropatide elektron mikroskopik bulgular: Diyabette en erken görülen elektron mikroskopik bulgu, glomerül bazal membran kalınlaşması ve mezangium artışıdır. Bu değişiklikler hastalığın ilerlemesi ile daha belirgin olur (11,12).

Tip-1 DM'in başlangıcından itibaren aylar içerisinde kapiller duvarda kalınlaşma izlenir. Nodüler böbrek hastalığında bazal membranda düzensiz kalınlaşmalar gözlenir. Diyabetik nefropatinin bütün evrelerinde elektron yoğun olmayan depolanma vardır. Glomerül

filtrasyon değeri normalin % 20'ne ininceye kadar ayaksı çıkıntılarda değışiklik görülmez. Daha sonra ayaksı çıkıntılarda yapışma ve genişleme görülür. Eksudatif lezyon EM'da ince granüler elektron yoğun materyal olarak görülür. Tip-1 DM'li hastalarda böbrek fonksiyonu ile böbrek morfolojisi arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Böbreklerin büyük olması böbrek hasarının göstergesidir. İlerlemiş böbrek hastalıklarında glomerül bazal membran kalınlığı ile idrarla protein atılımı arasında ilişki gösterilmiştir. İdrarda albumin atılımı 30 mg/dk'nın üstünde olan Tip-1 Diyabetik nefropatilerde mezangiyum volümü belirgin olarak artmıştır (1).

1.8.Diyabetik nefropatiyi önleme çalışmaları

Diyabetik nefropati son dönem böbrek yetersizliğinin ve dolayısıyla hemodializ periton diyalizi gibi hem hastaların yaşam kalitesini çok düşüren, hem de devlet açısından oldukça maliyeti yüksek olan işlemlerin en sık nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durumda klinisyen tarafından diyabetli hastaların tedavileri düzenlenirken; ilk planda hipergliseminin kontrolünün yanısıra, uzun dönem komplikasyonlarının engellenmesi de göz önüne alınmalıdır. Çünkü kontrollü diyabetiklerde komplikasyonların gelişme oranı, kontrolsüz diyabetiklere göre daha düşüktür.

Somatostatin ve analoglarının diyabet ve komplikasyonlarının önlenmesinde/ tedavisinde yararlı etkiye sahip oldukları bildirilmiştir. Deneysel hayvan çalışmalarında, somatostatin analoglarının kan glukoz düzeyini etkilediği, diyabetin başlangıcında gözlenen renal doku IGF-1 birikimini ve buna bağlı olarak renal hipertrofinin önlenebileceği ileri sürülmüştür (13,14,15,16,17,18).

1.9.Octreotide ve Diyabetik Nefropati

Octreotide asetat siklik bir oktapeptid olup, somatostatin adlı doğal hormonun analogudur. Growth hormona, somatostatinden daha potent inhibitör etki gösterir. Aynı zamanda somatostatin gibi GnRH'a yanıt LH'nu baskılar, splannik kan akışını azaltır, ayrıca serotonin, gastrin, vazo aktif intestinal peptid, sekretin, motilin ve pankreatik polipeptid salınımını inhibe eder.

Uzun etki süreli somatostatin preparatı olan octreotide; deneysel ve klinik tedavide kullanılmaktadır. Deneysel diyabette 7 günlük bir octreotide tedavisi, başlamakta olan böbrek hipertrofini ve böbrek IGF-1 birikimini tamamen ortadan kaldırmaktadır (20). Somatostatin analoglarının uzun süreli deneysel diyabette böbreklerde gözlemlenen morfolojik ve fonksiyonel değışikliklerin tedavisine etkileri incelenmiştir. Diyabetin başlamasından sonra 6

ay gibi uzun süren çalışmalarda octreotide'nin böbrek ağırlığında, böbrek IGF-1 düzeylerinde ve albumin atılım hızındaki artışları, tedavi edilmemiş deneklere kıyasla istatistiksel olarak azalttığı bildirilmiştir (15,20). Igarashi ve arkadaşları (21) somatostatinin, STZ-diyabetik tek böbrekli sıçanlarda erken dönem bulgularından böbrek hipertrofini ve hiperfiltrasyonunu azalttığını bildirmişlerdir. Diyabetik nefropatinin gelişmesinde önemli nedenlerden birinin insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) olduğu ileri sürülmektedir (22-24). Birçok organın büyüme ve gelişmesinde görev alan IGF-1'in hedef organlarından biri de böbreklerdir. Diyabete bağlı renal hipertrofide renal doku IGF-1 konsantrasyonunda hızlı bir artış olduğu bildirilmektedir (25-27). Somatostatin ve analoglarının diyabet ve komplikasyonlarının tedavisinde yararlı etkiye sahip olduğu bildirilmektedir.

Tip 1 diyabetik çocuklar puberteye (ergenliğe) girdiklerinde diyabetik nefropati çok hızlı bir şekilde ortaya çıkmakta ve bundan puberte esnasında oluşan büyüme hormon (GH) artışının sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Gerçekten de günümüzde diyabetik böbrek hastalığının erken döneminde IGF-1 gibi mediatörler ve GH üzerinde çok durulmaktadır. Bu anlamda son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda GH ve IGF-1 diyabetli hastalardaki böbrek bozukluklarını arttırdığı gösterilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda GH/IGF-1 aksının inhibe edilmesinin renal hipertrofiyi tamamen yada parsiyel olarak önlediği gösterilmiştir. Bu tip araştırmalar, GH ve IGF inhibe edici ajanların (örn:Octreotide gibi uzun etkili somatostatin analogu) kullanılmasının diyabetin uzun dönem komplikasyonlarının önlenmesinde faydalı olacağını göstermektedir. Yapılan çalışmalarda uzun etkili somatostatin analogu olan Octreotid'in Streptozotosin (STZ) ile diyabetik hale getirilmiş ratlarda metabolik kontrolü etkilemeden IGF-1'i azaltarak böbrek boyutundaki büyümeyi önlediği gösterilmiştir (28).

1.10. Epidermal Büyüme Faktörü ve Diyabetik Nefropati

Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) ilk kez 1962 yılında Stanley Cohen tarafından erkek farelerin submandibular bezinden elde edilmiştir (29,30,31,32). Cohen çalışmaları sırasında sinir büyüme faktörü'nü (NGF) izole ederken oluşan ekstrenin sinir büyüme faktöründen farklı etkide olduğunu gözlemlemiş ve elde ettiği bu etken maddeye epitelyal ve mezotelyal kökenli hücrelerin gelişimini hızlandırması nedeniyle 'Epidermal Büyüme Faktörü' adını vermiştir (30).

EGF; alanin, fenilalanin ve lizin dışında tüm aminoasitleri içeren, 53 aminoasitli 3 disülfid bağlı tek zincirli bir polipeptittir (33,34,35,36).

EGF; normal hücre gelişiminde, onkogenesizde ve yara iyileşmesinde etkili bir mitojenik proteindir. EGF en yüksek konsantrasyonda tükrük bezleri, glandula vezikuloza, karaciğer, testis ve böbrek gibi organlarda bulunur.

EGF hücre sel düzeyde etkisini gösterebilmek için reseptörüne bağlanarak hücre içi olayların tetiklenmesini sağlar. EGF reseptörleri (EGF-R) distal tubüllerin bazal membranlarında, proksimal tubüllerde, glomerülün pariyetal yaprağını oluşturan hücrelerde ve endotelde tanımlanmıştır (37,38,39).

Yapılan çalışmalarda EGF'nin diyabetle ilişkili böbrek büyümesinin patogene zinde rol oynayabileceği gösterilmiştir (40). Abban ve arkadaşları (41) EGF'nün yenidoğan farelerin böbrek dokusunda çoğalmayı ve farklanmayı uyardığını göstermişlerdir.

1.11.Deneysel diyabet nasıl oluşturulur?

Diyabetli hastaların zaman içerisinde böbrek tutulumu kaçınılmazdır. Genellikle aşikar proteinüri geliştikten 7 yıl sonra son dönem böbrek yetmezliği meydana gelmektedir. İnsanlarda oluşan diyabetik nefropatilerin daha etraflıca araştırılması ve bu araştırmalar sonucunda mümkün olduğunca önlenebilmesi amacıyla araştırmacılar sık sık deneysel hayvan modellerine başvur maktadırlar. Deneysel hayvan modellerinde de hastalığın seyri sırasında görülen diyabetik nefropati ve diğer komplikasyonların geliştiği gözlenmiştir. Öztürk ve arkadaşları (42) deneysel diyabette oluşan komplikasyonları bildirmişlerdir.

Deneysel diyabet oluşturmak amacıyla sıklıkla Alloksan ve Streptozotosin kullanılmaktadır. Bu kimyasal ajanlar pankreatik β hücrelerinde harabiyet meydana getirerek etki göstermektedirler. Alloksanın ve streptozotosinin meydana getirdiği metabolik bozukluğu daha önce Szkudelski ve arkadaşları (43) bildirmişlerdir. Alloksan hidrofilik ve unstabl maddedir. Nötral pH'da ve 37° C'ta yarılanma ömrü 1,5 dakika olup, yarılanma ömrü daha düşük sıcaklıklarda uzamaktadır (44).

Diyabetojenik bir ajan olan alloksan parenteral, intravenöz (İV), intraperitoneal (İP) veya subkutanöz (SC) olarak uygulanmaktadır. Sıklıkla kullanılan İV dozu hayvan başına 65 mg/kg'dır. Eğer alloksan İP veya SC yoldan uygulanacaksa efektif dozu en az 2-3 kat daha fazla olmalıdır (43). Alloksan'ın İP uygulanmasında hayvan başına 150 mg/kg'dan düşük olan dozlar diyabet oluşturmada yetersiz kalmaktadır (45,46).

Streptozotocin *Streptomyces achromogenes*'den sentezlenmektedir. Hem Tip-1 hem de Tip-2 diyabet oluşturmada kullanılan bir başka diyabetojenik ajandır. Tip-1 diyabet oluşturmak için sıklıkla tek doz 40-60 mg/kg veya daha yüksek dozlar İV yoldan

uygulanmaktadır (47). STZ aynı zamanda İP olarak benzer dozlarda kullanılabilir. STP'nin 40 mg/kg'dan düşük olan İP dozu ineftiftir (45).

Bu çalışma planlanırken bu bilgileri kendimize çıkış noktası olarak aldık. STZ kullanılarak diyabetik hale getirilen ratlarda diyabetik nefropatinin kan glukozunun kontrolü yanında (insülin aracılığıyla) antiproliferatif bir ajan olan uzun etkili somatostatin analogu Ocreotide ve Epidermal Growth Faktör'ün (EGF) diyabetik nefropatiyi tam olarak veya kısmen önleyip önlemediği ve ortaya çıkan histopatolojik değişikliklerin ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelenmesi amaçlandı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Nefronun Histolojisi

Böbreklerin yapısal ve fonksiyonel birimleri nefronlardır. Her böbrekte yaklaşık olarak 2 milyon nefron bulunur. Nefronlar kanın temizlenmesi ve idrar yapımından sorumludurlar. Kollektör tubüller ise idrarın konsantre edilmesinden sorumludurlar ve ekzokrin salgı bezlerindeki salgı kanallarının analogudurlar.

Renal korpüskül ve tubüller sistemlerinden oluşmuştur. Renal korpüsküller nefronun başlangıcını oluştururlar. Glomerüller, 10-20 adet kapillerlerin oluşturduğu bir kapiller ağ ile, bunun etrafını saran iki tabakalı epitelyal kılıf olan Bowman kapsülünden oluşmuştur. Bowman kapsülü, glomerüler kapillerlerden filtre edilen ultrafiltratın olduğu, nefronun başlangıç kısımlarıdır. Glomerüler kapillerlerin kanı afferent arteriyol tarafından sağlanır ve efferent arteriyollere drene edilir. Bu da böbrek tubüllerine yeni bir kapiller ağ sağlamaktadır. Bowman kapsülünde 2 tabakalı epitelyal kılıf bulunur. Kapsülün iç tabakası olan visseral tabaka glomerülün kapillerlerini örter. Dış tabakası ise renal cisimciğin en dıştaki sınırını oluşturur ve Bowman kapsülünün pariyetal tabakası adını alır. Bowman kapsülünün pariyetal tabakası ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşmuştur. Embriyonik gelişim esnasında pariyetal tabaka epiteli nisbeten değişmeksizin kalırken, içteki visseral tabaka büyük ölçüde modifiye olur. İçteki tabaka hücrelerinin gövdelerinden birkaç uzantı şekillenir ve bu hücrelere podosit denir. Her bir uzantı pedisel denilen çok sayıda sekonder uzantı oluşturur. Pediseller glomerülün kapillerleriyle sarılı durumdadır (48). Bowman kapsülünün pariyetal tabakasında, afferent arteriyolun girdiği ve efferent arteriyolun çıktığı yer damar kutbu olarak bilinir. Bunun karşı tarafında proksimal kıvrımlı tubülün (PKT) başlangıcı olan kısım ise idrar kutbu olarak bilinir.

Nefronun Bowman kapsülünden sonra devam eden kısımları ise tubüllerdir. Nefronun bu bölümü yapısına , lokalizasyonuna ve duvar kalınlığına göre adlandırılır. Ör: proksimal tubül, distal tubül, henle ansı gibi.

Proksimal kıvrımlı tubül (PKT): Bowman kapsülünün idrar kutbundan başlar. Oldukça kıvrımlıdır ve daha sonra meduller yollara doğru düzleşir, pars rekta (PDT) oluşur. Reabsorbsiyonun hem başladığı hem de önemli bir bölümünün gerçekleştiği yerdir. Ultrafiltratın Bowman kapsülünden geçtiği kısımdır. Buradaki küboidal hücreler ayrıntılarla

donatılmış yüzey özelleşmeleri ile ilişkili olarak madde geri emilimi ve sıvı transportu işlemlerini karşılıklı olarak gerçekleştirirler. Bu hücrelerdeki özelleşmeler şunlardır:

- a) Fırçamsı kenar: Oldukça uzun, yanyana paketlenmiş, düz mikrovillus yapılarından oluşmuştur.
- b) Junktiyonel kompleks: Tubül lümeninin intersellüler bölgesinde komşu hücreler arasında dar, sıkı bağlantı ve zonula adherens tipi esas bağlantılar bulunur.
- c) Plika veya kıvrımlar: Hücrelerin yan yüzeylerinde geniş, düzleşmiş oluşumlar, bitişik hücrelerde de benzer oluşumlar lokalizedir.
- d) Bazal interdijitasyonlar: Bitişik hücrelerde yoğun interdijitasyonlar bulunur.
- e) Bazal çizgilenme: Bazal katlantılarda, dikine yerleşmiş mitokondriyonlardan dolayı oluşmuştur.

İyi tesbit edilmiş histolojik kesitlerde bazal striasyon ve apikal çizgili kenar PKT'ün diğer tubüllerden ayırıldılmasına yardımcı olur. PKT hücrelerinin en tabanında, 6 nanometre (nm) kalınlıkta bantlar halinde mikrofilamentlerin bulunmasından dolayı interdijitasyonlar oluşmuştur. Aktin filamentleri, bazolateral ekstrasellüler aralıktaki tubül bazal laminasından peritübüler kapillere doğru olan sıvı hareketinin düzenlenmesinde rol oynarlar. PKT, hergün 150 lt. sıvının veya ultrafiltratın % 80'ni reabsorbe eder.

PKT hücrelerinde bulunan 2 büyük protein sıvının geri emilmesinden sorumludur.

1-Na/K-ATPaz pompaları: Plazma membranındaki lateral kıvrımlarda transmembran proteinleri lokalizedir. Sodyumun geri emilmesinden sorumludurlar ki; major sürükleyici güç PKT'den suyun geri emilmesidir. Barsak ve safra kesesi epitelindeki gibi, sodyumun lateral intersellüler aralığa aktif transportla sürüklenmesi olayıdır. Sodyumun aktif transportunu takiben klor iyonları da pasif difüzyonla elektrokimyasal nötralizasyona uğrarlar. Sodyum klorürün lateral intersellüler aralıkta birikmesi bir osmotik gradient yaratır bu da suyun lümeden intersellüler bölgeye çekilmesini sağlar. Bu intersellüler bölme sıvıdan dolayı şişer, lateral katlantılar bu şişmeye olanak sağlar.

2-Aquaporin-1: PKT'de bulunan ve su kanalı gibi fonksiyon gören 30 kDa ağırlığında olan bir transmembran proteinidir. Bu kanallardaki suyun hareketi enerjiye ihtiyaç duymaz. İmmunohistokimyasal metotlarla bu proteinlerin varlığı gösterilmiştir. İntersellüler kompartmanda sıvı artışı hidrostatik basıncı artırır, muhtemelen tubül hücrelerinin bazalinde bulunan aktin filamentlerinin kontraksiyonları yardımıyla, isoozmotik sıvıyı tubülün bazal membranından renal doku içerisine sürükler. Burada sıvı peritübüler kapiller ağ vasıtasıyla

damar içine geri emilir. PKT'den aynı zamanda aminoasitler, glikoz, polipeptidler geri emilir. Tıpkı barsaklarda olduğu gibi, PKT iyi gelişmiş bir glikokaliksle kaplanmış mikrovilluslara sahiptir. Glikokaliks; kimi ATPaz, kimi peptidaz ve yüksek konsantrasyonda disakkaridaz ihtiva eder. Aminoasit ve monosakkaritlere ilaveten, ultrafiltrat aynı zamanda küçük peptidleri ve disakkaritleride içerir. Bunlar tubül lümeninden içeriye alınmadan önce glikokaliks içinde ileri sindirime uğrarlar ve sonuçta aminoasit ile monosakkaritlere dönüşürler. Tıpkı barsaklarda olduğu gibi aminoasit ve glikoz geri emilimi de aktif sodyum transportuna bağlıdır. Proteinler ve büyükpeptidler PKT'le endositozla alınırlar: PKT hücrelerinde mikrovillusların arasında derin tubüller girintiler, invajinasyonlar vardır. Ultrafiltrattaki proteinler tubül lümenine ulaştığı zaman invajinasyonların plazma membranında kaplı bulunan glikokalikse bağlanır. Sonra bu endositik veziküller, invajinasyondan tomurcuklanır ve tubül hücrelerinin apikal sitoplazmasında (büyük-protein-içeren) erken-endozomlar eriyerek birleşir. Erken endozomlar, lizozomlara dönüşür ve endositik proteinler, asithidrolaz enzimiyle parçalanır. Lizozomun degradasyonu ile üretilen aminoasitler, intersellüler kompartman ve interstisyel bağdoku yoluyla sirkulasyondaki maddeler tekrar kullanılır. PKT aynı zamanda, bikarbonat iyonlarının geri emilmesi yoluyla ve peritübüller kapiller dolaşımdan elde edilen eksojenik organik asit-bazların spesifik olarak lümene salgılanması yoluyla, ultrafiltratın pH'nın düzenlendiği bölümdür.

Proksimal düz tubül (PDT): Böbreğin medullasına doğru inerken proksimal düz tubüller henle loop'unun kalın inen kolunu meydana getirir. Proksimal düz tubül hücreleri (Henle ansının inen kalın kolu gibi) geri emilim için çok spesifik değildir. Daha az gelişmiş, daha kısa fırçamsı kenar ve daha az kompleks lateral-bazolateral oluşumlar bulunur. Bu hücrelerde mitokondriyonlar daha küçük olup sitoplazmada rastgele dağılım göstermektedir. Apikal invajinasyonlar ve endositik veziküller, lizozomlar daha azdır.

Henle ansı: Nefronun U harfi şeklindeki parçasıdır. Proksimal düz tubül, ince inen kol, çıkan ince kol ve distal düz tubülün oluşturduğu yapıya denir. Bazı nefronlarda ince inen ve ince çıkan kollar oldukça kısadır. Kortikal nefronlarda olduğu gibi kıvrım yeri distal düz tubül tarafından oluşturulur. İnce segmentin uzunluğu, nefronların korteks-medulladaki lokalizasyonuna göre değişir. Jukstaglomerüler nefronlarda oldukça uzun iken; kortikal nefronlarda daha kısadır. Bunun yanısıra çeşitli tipte hücreler bulunur. Işık mikroskopik olarak biri diğerine göre daha yassı şekilli olan en az 2 tip hücre ayırtetmek mümkündür. Elektron mikroskopik incelemelerde ise 4 farklı tipte epitel hücresi ortaya çıkarılmıştır.

a-Tip I epitel hücresi: Kısa kollu nefronlarda ince inen ve ince çıkan kollarda bulunur. İnce ve basit bir epitel içerir. Az organel içeren, komşu hücrelerle interdijitasyonları olmayan hücrelerdir.

b-Tip II epitel hücresi: Uzun kollu nefronların ince inen kollarında bulunan yüksek boylu hücrelerdir. Organelden zengin hücrelerdir ve kısa-künt mikrovilluslara sahiptirler. Komşu hücrelerle arasında uzanan lateral interdijitasyonlar çeşitlilik gösterir.

c-Tip III epitel hücresi: Medullanın iç kısımlarında ince inen kolda bulunur. Basit yapıdadırlar ve tip II hücrelerden daha az miktarda mikrovilluslara sahiptirler. Lateral interdijitasyonlar bulunmaz.

d-Tip IV epitel hücresi: Uzun-kollu nefronların büküm/kıvrım yerlerinde bütünüyle ince çıkan kolun her yanında bulunan alçak boylu, yassılaştırmış, mikrovillus içermeyen hücreler olup, organelden fakirdirler.

İnce segmentteki hücrelerin görevleri yeteri kadar açık olmamasına karşın, bu segmentin idrarın konsantre edilmesinde ters-akım-değişim sistemi (Countercurrent-exchange-system) fonksiyon görür. Mikrovillus, mitokondrion ve hücrel interdijitasyonların azalması gibi morfolojik değişiklikler, muhtemelen bu oluşumların aktif veya pasif rollerini yansıtır. Henle ansının ince inen ve ince çıkan kolları farklı yapısal ve fonksiyonel özellikler gösterir. Çalışmalarda, ince inen kola dahil olan ultrafiltratın ve ince çıkan kolu terkeden ultrafiltratın osmolarite açısından dramatik değişikliklere uğradığı gözler önüne serilmiştir. İnce inen kola dahil olan ultrafiltrat izo-osmotik iken; ince çıkan kolu terkeden ultrafiltrat plazmadan hipotoniktir. Bu değişiklik sudan fazla daha fazla tuzun geri emilmesiyle elde edilir.

Distal düz tubül (DDT): Aynı zamanda Henle ansının çıkan kalın kolu olarak bilinir. İnce çıkan kolun devamıdır. Distal düz tubüller medullaya doğru tırmanır ve kortekse dahil olurlar. Meduller yolların içindeyken orijin aldıkları renal korpüskülün yakınına ulaşırlar. Daha sonra distal düz tubül meduller yoldan ayrılır, ilişkili olduğu renal korpüskülün damar kutbu ile temas eder. Bu noktada glomerülün afferent arteriyolu ile temas eden distal düz tubül epitel hücreleri modifiye olarak makula densayı oluşturur. Distal düz tubül daha sonra renal korpüskülü terkeder ve distal kıvrımlı tubül haline döner. Distal kıvrımlı tubül kortikal labirente lokalizedir. Bu kısa tubülün fonksiyonları şunlardır:

a- Na^+ un geri emilmesi ve K^+ un Na^+ karşı ultrafiltrata sekrete edilmesi,

b- HCO_3^- iyonunun geri emilmesi (idrarın asidifikasyonunu sağlamak için, hidrojen iyonları ile dönüşümlü olarak gerçekleşir),

c-Amonyanın amonyum iyonuna dönüşmesi (daha sonra üre siklusuna katılır ve amonyağın toksik etkileri etkisizleştirilmiş olur),

Aldosteron, böbreküstü bezinden salgılanır ve anjiotensin II'in uyarısı altında salıverilir. K^+ sekresyonu ve Na^+ un geri emilmesini artırır. Bu etkiler sonucu kan volümü, kan Na^+ konsantrasyonundaki artışa yanıt olarak artar.

Distal kıvrımlı tubüller (DKT): PKT'lere nazaran daha az kıvrımlıdırlar. Böylelikle histolojik kesitlerde kortikal labirent içinde daha az sayıda distal tubül profiline rastlanır. Sonlarına doğru DKT'ler meduller yollardaki kollektör kanallara açılır.

Kollektör tubüller: Kortikal labirentte başlar ve meduller yollarda toplayıcı kanallara birleşir. Kortekste bulunan kollektör kanallara kortikal kollektör kanallar denir. Burayı terk ederek medullaya geçenlere ise meduller kollektör kanallar denir. Bu kanallar piramidin tepesine doğru ilerler, daha geniş çaplı (200 μm) Bellini kanallarını veya papiller kanalları oluşturur. Bunlarda minör kalikslere açılır. Minör kalikslere açılma yerine area kribroza denir.

Kortikal ve meduller CT'ler basit epitelden oluşmuştur. Kollektör tubüllerde ve kortikal kollektör kanallarda yassılaştırmış hücreler, bazende yassıdan kübiğe doğru şekilli hücreler görülür. Meduller kollektör kanallar küboidal hücrelerden oluşur, ancak kanal boyu arttıkça hücrelerin boyları silindirikleştiği görülür. Kollektör tubüller ve kollektör kanallar, proksimal ve distal tubüllerden ışık mikroskopunda hücre sınırlarının görülmesi nedeniyle kolaylıkla ayırđedilir. Burada 2 farklı hücre tipi bulunur:

a-Açık hücreler (CD hücre): Esas hücrelerdir. Soluk renkli boyanan bu hücreler, komşuluğundaki hücrelerden daha fazla interdijitasyona ve gerçek bazal katlantılara sahiptirler. Tek bir silyum vardır ve göreceli olarak daha kısa mikrovilluslara sahiptirler. Küçük, yuvarlak mitokondrionlar bulunur. Bu hücrelerde ADH-ilişki su kanalları ve AQP-2 oldukça yoğundur. Bazolateral membranlarında AQP-3 ve AQP-4'de mevcuttur.

b-Koyu hücreler (interkalat hücreler, IC): Daha küçük hücrelerdir. Mitokondrionlar çoktur ve sitoplazmaları daha yoğundur. Apikal yüzeylerinde mikroprika, sitoplazmik katlantılar ve mikrovilluslar bulunur. Scanning elektron mikroskop (SEM) ile mikroprikalar rahatlıkla gözlenebilir. Bazal katlantılar göstermez, fakat komşu hücrelerle bazalde lokalize interdijitasyonlar vardır. Apikal sitoplazmada çeşitli sayıda veziküller bulunur. Kollektör kanalların hücreleri dış medulladan iç medullaya geçtiği yerde giderek uzun boylu olur ve renal papilla bölgesinde bu hücreler silindirikleşir. Koyu renkli hücrelerin sayısı, papillaya yaklaşırken hiçbir kalmayacak şekilde, dereceli olarak azalır (49).

2.2.Böbreğin süzücü aparatı:

Renal korpüskül böbreğin süzücü aparatını ihtiva eder. Renal korpüskül ortalama 200 µm çapında, yuvarlak bir oluşumdur. Glomerüler kapiller yumakla, onu çevreleyen visseral ve pariyetal yapraktan oluşan bir Bowman kapsülünden oluşmuştur. Filtrasyon aparatı veya süzücü membran 3 bölümden meydana gelmiştir.

1-Glomerüler kapiller endoteli: Bunlar çok sayıda fenestratalara sahiptirler. Fenestrata çapları 70-90 nm arası değişir. Glomerüler kapiller yumaktaki kapillerlerin fenestrataları diaframsızdır. Glomerüler kapiller endotel hücreleri büyük oranda AQP-1 su kanallarına sahiptir. Bu da suyun hızlı bir şekilde epitele doğru hareket etmesine izin verir.

2-Glomerüler bazal membran (GBM): Podositlerin ve endotelin arasında bulunan 300-350 nm kalınlıkta bir yapıdır. GBM kalınlığından dolayı peryodik-asit-schiff (PAS) ile boyanan histolojik kesitlerde göze çarpar. Filtrasyon bariyerinin önemli bir komponentidir. GBM; fiziksel bir bariyer ve iyon-seçici süzücü gibi rol oynar. GBM; tip IV kollajen, sialoprotein ve laminin, fibronektin, entaktin gibi glikoproteinler, ilaveten özellikle heparan sülfat gibi glikozaminoglikan ve proteoglikanları ihtiva eder. Bu bileşenler GBM'nın özellikle çeşitli bölümlerinde lokalizedir. Kollajen tip IV her 3 tabakada da bulunur.

Lamina rara interna: Kapiller endotelinin hemen bitişiğidir. Tıpkı heparan sülfat gibi polianyonlardan zengindir. Bu polianyonlar özellikle (-) yüklü moleküllerin geçişini engeller. Burada bulunan laminin endotel ve epitel hücrelerinin GBM'na kaynaşması ve tutunmasını sağlar (9).

Lamina rara eksterna: Podositlerin yanında, hemen bitişiğindedir. Moleküler özellikleri tıpkı lamina rara internaya benzer.

Lamina densa: Bazal laminanın 2 adet lamina rarası arasında tıpkı bir sandviç gibi eriyerek birleşmiş bölümüdür. Burada tip IV kollajen fiziksel bir bariyer teşkil edecek şekilde tertiplenme gösterir. Sialoproteinler, GBM'nın, podositlerin ve endotel hücrelerinin yapışmasından sorumludur. GBM, içerdiği polianyonik proteoglikanlar (heparan sülfat) ve anyonik sialoglikoproteinlerden dolayı negatif yüke sahiptir. Bu nedenle albumin gibi anyonik moleküller GBM'dan geçemez. GBM yaklaşık olarak 70.000 dalton veya yarıçapı 3,6 nm'den daha büyük proteinlerin (albumin, hemoglobin vg) geçişini sınırlar. Albumin her zaman olmamakla birlikte, bazen idrarda bulunabilir. Bu da bize albuminin ölçüsü ile filtrasyon bariyerindeki por çapının etkili bir ilişkisi olduğunu gösterir. Filtrasyon bariyerinin sınırlı sayıda protein geçişine izin verme kabiliyetine karşın; hergün çeşitli miktarlarda protein

bariyerden geçmektedir. Anlamlı miktarlarda hemoglobinin veya albuminin idrarda bulunması GBM'nin bir fiziksel veya fonksiyonel hasarına bağlıdır. Lamina rara interna ve eksternadaki polianyonik glikozaminoglikanlar 70.000 daltondan küçük katyonik partiküllerin ve moleküllerin GBM'nin her iki yanına geçişini sınırlar. Pediseller ve filtrasyon yarıklarının membranları tarafından oluşturulan dar yarıklar serbest diffüzyon ve sıvı hacmi için fiziksel bir bariyer olarak rol oynar. Filtrasyon yarıklarındaki membranlarda bulunan glikoproteinler ve pedisellerdeki glikokaliks muhtemelen GBM'nin lamina rara' sındaki glikozaminoglikanlara benzer tarzda rol oynamaktadırlar. Son olarak kapiller endotelinin fenestrataları kan hücrelerinin hareketini sınırlar ve kanda diğer oluşan elementlerin kapillerlerden olan hareketini sınırlar. İlâveten bu yapısal bariyer, glomerüler kapillerlerin içindeki akış oranı ve kan basıncında da etkilidir. Basit yassı epitel Bowman kapsülünün pariyetal tabakasının oluşturur. Renal korpüskülün idrar kutbunda, bu epitel PKT'ün küboidal epiteline dönüşür. Visseral ve pariyetal tabakalar arasındaki boşluğa Bowman aralığı denir. Bu aralık renal korpüsküldeki aparatın filtrasyon yolu ile üretilen ultrafiltratın içine süzüldüğü kaptır. Renal korpüskülün idrar kutbunda, PKT'ün lümeni ile devamlılık gösterir.

3-Bowman kapsülünün visseral tabakası: Visseral epitel hücreleri veya podositler diye bilinen özelleşmiş tipte hücreler bulunur. Bu hücreler glomerüler kapillerlerin arasında uzanırlar. Podositler embriyolojik gelişim sırasında gelişen nefronların kör sonlarının tübüllerin sonuna doğru invaginasyonu ile 2 tabakalı epitelyal kılıf şeklinde meydana gelirler. İçteki tabaka visseral tabakadır ve bu bölgede gelişmekte olan kapiller ağın içinde uzanmaktadır. Dış tabakayı oluşturan hücreler (pariyetal tabaka) yassı şekillidirler. Sonuçta bu yuvarlağımsı yapı glomerülleri kuşatır. Embriyolojik gelişim esnasında podositlerden değişik sayıda uzantılar çıkar. Bu uzantılara pedisel veya foot proçes denir. SEM incelemede açıkça görülebilen bu sekonder uzantılar, komşu podositlerin uzantıları ile içiçe kenetlenmişlerdir. Foot proçeslerin interdigitasyonlarının arasında uzanan boşluklara filtrasyon yarıkları denir. Bunlar yaklaşık olarak 25 nm genişlikte olup, ultrafiltratın kandan Bowman aralığına geçişine olanak sağlar. Foot proçeslerde filtrasyon yarıkların görülmesine ve şeklinin düzenlenmesine yardımcı olan aktin filamentleri bulunur. Pencere kapillerlerin diaframalarına benzer ince membranların varlığı gibi başka faktörlerde maddelerin geçişine etki edebilir. Bundan dolayı filtrasyon aygıtı semi-permeable bariyer olarak kabul edilir. İki tane birbirinden farklı hücresel tabaka ile bir tane ekstrasellüler tabakadan ibarettir (49).

2.3.Mezangiyum: Renal korpüskülde mezangial hücre diye anılan bir grup hücre daha bulunmaktadır. Bu hücrelerle, bunların içinde buldukları ekstrasellüler matrikse mezangiyum denir. Kendilerini çoğunlukla glomerüler kapillerlerin bitişiğinde ve glomerulun damar seyri sırasında belli ederler. Mezangial hücreler, tıpkı perisitler gibi, glomerüler kapillerlerin bazal laminaları tarafından örtülüdürler. Bu hücrelerin hepsi renal korpüskülün yapısına katılmazlar, bazıları renal korpüskülün dışında, sadece damar kutbunda yer alırlar. Bu hücreler Lacis hücreleri olarak bilinir. Lacis hücreleri jukstaglomerüler aparatın bir bölümünü teşkil eder. Fonksiyonları henüz yeterince açıklanmamış olan bu hücrelerin bilinen başlıca görevleri şunlardır.

a-Fagositoz: GBM'da artık maddelerin ve toplanan proteinlerin uzaklaştırılmasından, glomerüler filtrenin artıklardan temizlenmesinden sorumludurlar.

b-Yapısal destek: Epitelyal bazal membranın olmadığı veya kısmen az olduğu yerlerde podosit hücrelerine desteklik sağlar.

c-Salgılama: İnterlökin-1 (IL-1) ve platelet-derived-growth-factor (PDGF) gibi çeşitli maddeleri sentezler ve salgılar. Bu iki madde glomerüler hasarda yanıt olarak etkili rol oynarlar.

Mezangiyum glomerül bazal membranına benzer, PAS (+) bir glikoprotein olan matriks ile matriks içerisine gömülmüş, yıldız şeklinde mezangiyal hücrelerden oluşur. Mezangiyal matriks GBM ile aynı biyokimyasal komponentleri içerir. Mezangiyal hücreler perisitlerin analogudur, fagositoz yaparlar ve kontraktildirler. Proliferasyon yetenekleri vardır, mezangiyal matriks ve kollajen yaparlar (9).

Mezangiyal hücrelerin primer görevlerinin GBM'nın temizlenmesi olduğuna inanılmaktadır. Klinikte bazal membranlarında anormal protein komplekslerinin biriktiği böbrek hastalıklarında, mezangiyal hücrelerin proliferasyonu gösterilmiştir. İçerdikleri aktin filamentlerinden dolayı kontraktil hücrelerdir. Bu da glomerüler kan akışının düzenlenmesinde de rol oynayabileceklerini gösterir.

Embriyolojik olarak, mezangiyal hücreler ve jukstaglomerüler hücreler düz kas hücrelerinin öncüllerinden gelişmektedirler. Mezangial hücreler açık bir şekilde fagositoz yaptıkları halde, mono-nükleer-fagositik sistem veya kemikiliği kökenli monosit öncüllerinden gelişmedikleri düşünülmektedir (49).

2.4.Juksta Glomerüler Aparat (JGA): Makula densa, Jukstaglomerular hücreler (JGH) ve ekstraglomerüler mezangiyal hücrelerden oluşmuştur. Renal korpüskülün damar kutbunda, nefronun distal düz tubüllerinin terminal kısmında, ekstraglomerüler mezangiyal hücrelerin hemen bitişiğinde ve direkt olarak afferent ve efferent arteriyollerin bitişiğinde bulunmaktadır. Nefronun distal düz tübülünün bu bölgede ihtiva ettiği hücelere makula densa denilmektedir. Işık mikroskopik bir görünümde, makula densa hücrelerinin hemen daha sıkı ve diğer distal tübül hücrelerinden daha büyük oldukları dikkati çekmektedir. Bu hücrelerin çekirdekleri toplanmış vaziyette görülür. Aynı bölgede afferent arteriyolün düz kas hücreleri de modifiye olur. Bunlar düz kas hücrelerinin tersine yuvarlak çekirdeklidirler. Sitoplazmalarında sekretuar granüller bulunan bu hücelere jukstaglomerüler hücreler (JGH) denir. İçerdikleri salgı granülleri spesifik boyalarla ışık mikroskopunda ortaya konulabilir. JGA, Renin-Anjiyotensin-Aldosteron-sistemi aracılığıyla kan basıncını düzenler. Bazı fizyolojik-patolojik koşullarda; jukstaglomerüler hücreler, Renin-Anjiyotensin-Aldosteron-sisteminin aktive edilmesinden sorumludurlar. (Düşük sodyum alımı veya kanamaya bağlı kan volümü/ basıncı düşüklüklerinde)

Bu sistem sodyum homeostazisinde ve renal hemodinamizmin sağlanmasında önemli rol oynamaktadır. Bu hücrelerin sitoplazmalarında renin içeren salgı granülleri bulunmaktadır. Bunlar modifiye olan düz kas hücrelerinde sentezlenip, depolanıp, salıverilirler. Renin sirkülasyonda α 2-globulin yapısında bulunan anjiyotensinojeni katalizler ve bir dekapeptid olan anjiyotensin-I'in oluşmasını sağlar. Daha sonra anjiyotensin-I; akciğerlerdeki kapiller endotel hücrelerinde bulunan anjiotensin dönüştürücü enzim (A.C.E) aracılığıyla aktif bir oktapeptid olan anjiyotensin-II'ye dönüşür.

Anjiyotensin-II böbreküstü bezindeki zona glomeruloza tabakasından aldosteron denilen hormonun sentezini ve salınımını uyarır.

Aldosteron, kollektör kanallarda sodyumun geri emilmesini arttırıcı rol oynar ve beraberinde suyun geri emilimini de artar, böylelikle kan volümünün ve basıncının yükselmesini sağlar.

Anjiyotensin-II, aynı zamanda güçlü bir vazokonstriktör olup, renal ve vasküler sistemik kontrolün sağlanmasında düzenleyici rol oynar.

Jukstaglomerüler aparat; hem bir endokrin organ gibi kan hacminin ve kompozisyonunun sağlanmasında fonksiyon görür, hem de kan kompozisyonunun ve hacminin algılayıcısı gibi görev görür. Kan hacmi azaldığı zaman veya kandaki sodyum

konsantrasyonu azaldığı zaman, JGH'den renin salımınının uyarıldığına inanılır. Bu hücreler makula densadaki sodyumklorür konsantrasyonu ile denetlenir ve JGH'den parakrin bir etki ile renin salınımı regüle edilir. Kan hacmi arttığı zaman afferent arteriyol'deki JGH'ler yeteri kadar gerilince, bu stimulus henle ansındaki feed-back eylemi durur, renin sekresyonu durur.

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3. 1. Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanları

Bu çalışmada; Dicle Üniversitesi Etik Kurul onayı alındıktan sonra Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (DÜSAM) elde edilen, daha önce hiçbir çalışmada kullanılmamış 250-300 gr ağırlığında 40 adet erişkin erkek Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı.

Sıçanlar, DÜSAM'da 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamın sağlandığı ve aspiratörlerle sürekli havalandırılan 21-23 ° C'lik odada tutuldular. Beş ayrı kafeste, ad-libitum standart pelet sıçan besi yemi ile beslendiler. Su gereksinimleri için, günlük değiştirilen taze musluk suyu kullanıldı.

3. 2. İlaç uygulaması

DÜSAM'dan alınan 40 adet sıçan (n=8) beş gruba ayrıldı. Deney başlangıcında her gruptaki sıçanların tartıları alındı. Kontrol grubu dışında kalanlar, gecedan aç bırakıldılar. Ertesi gün sabah bu sıçanlara deneysel diyabet oluşturmak amacıyla STZ hayvan başına 65 mg/kg dozunda IP yoldan uygulandı. İlaç uygulamasını takiben 48 saat sonra sıçanların kuyruk veninden kapiller kan örnekleri alınarak glukoz oksidaz yöntemiyle otomatik şeker ölçüm cihazı (One Call) kullanılarak kan glukoz düzeylerine bakıldı. Kan glukoz düzeyleri 250 mg/dl'yi aşan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Diyabetik sıçanlara günde 2 kez, 4 IU NPH insan insülini İP uygulandı. İlaç uygulama protokolüne göre deney hayvanları 5 gruba ayrıldı.

Grup-1: Kontrol : Bu gruptaki erkek sıçanların (n=8) tartıları alındıktan sonra, % 0,9'lük serum fizyolojik 1 ml IP yoldan uygulandı. Sıçanlar kafeslerine alındı.

Grup-2: Diyabetik grup (STZ): Bu gruptaki erkek sıçanların (n=8) tartıları alındıktan sonra, hayvanlar kafeslerine alındı. Gecedan aç bırakılan sıçanlara sabahleyin Streptozotosin 65 mg/kg dozunda IP yoldan birkez uygulandı. İlaç uygulamasını takiben 48 saat sonra sıçanların kan glukoz düzeylerine bakıldı. Kan glukoz düzeyleri 250 mg/dl'yi aşanlar diyabetik olarak kabul edildi.

Grup-3: Diyabetik+ Octreotide grubu (STZ+Oct): Bu gruptaki erkek sıçanların (n=8) tartıları alındıktan sonra, hayvanlar kafeslerine alındı. Gecedan aç bırakılan sıçanlara sabahleyin Streptozotosin 65 mg/kg dozunda IP yoldan birkez uygulandı. İlaç uygulamasını takiben 48 saat sonra kan glukoz düzeylerine bakıldı. Kan glukozunun yükselmesini takiben, sıçanlara Octreotide 400 µg/kg/gün dozunda IP yoldan 1 ay boyunca uygulandı.

Grup-4: Diyabetik+EGF grubu (STZ+EGF): Bu gruptaki erkek sıçanların (n=8) tartıları alındıktan sonra, hayvanlar kafeslerine alındı. Gecedan aç bırakılan sıçanlara sabahleyin Streptozotosin 65 mg/kg dozunda IP yoldan birkez uygulandı. İlaç uygulamasını takiben 48 saat sonra sıçanların kan glukoz düzeylerine bakıldı. Kan glukozunun yükselmesini takiben, EGF hayvan başına 2 µg/gün 1 ml serum fizyolojik içinde çözünerek IP yoldan uygulandı. EGF uygulamasına, sıçanların kan glukoz düzeyi yükseldikten 10 gün sonra başlandı ve 20 gün boyunca ilaç uygulamasına devam edildi (50).

Grup-5: Diyabetik+ Octreotide+ EGF grubu (SOE): Bu gruptaki erkek sıçanların (n=8) tartıları alındıktan sonra, hayvanlar kafeslerine alındı. Gecedan aç bırakılan sıçanlara sabahleyin Streptozotosin 65 mg/kg dozunda IP yoldan birkez uygulandı. İlaç uygulamasını takiben 48 saat sonra kan glukoz düzeylerine bakıldı. Kan glukozunun yükselmesini takiben, Octreotide 400 µg/kg/gün dozunda IP yoldan 1 ay boyunca ve EGF hayvan başına 2 µg/gün 1 ml serum fizyolojik içinde çözünerek IP yoldan 10.günden itibaren, 20 gün boyunca uygulandı.

Tüm hayvanlar deney süresince içeriğinde % 21 protein bulunan standart sıçan yemleriyle serbest olarak beslendiler ve taze içme suyu verildi.

3.3. Histolojik Yöntem

Deney aşamasının başlamasından 1 ay sonra tüm gruptaki sıçanlar Ketamin anestezisi (Sodyum Pentobarbital, hayvan başına 30-60 mg/kg intraperitoneal olarak) altında kardiyak kan örnekleri alındıktan sonra sakrifiye edildiler. Ötenazi sağlandıktan sonra hızlı bir şekilde sıçanların karın boşlukları açıldı ve böbrekleri çıkartılarak böbrek ağırlıkları hassas terazide tartıldı. Dokular küçültülerek ışık mikroskopik inceleme için % 10 Nötral formalin ve Bouin solüsyonuna, transmission elektron mikroskopik inceleme için % 2.5'lık tamponlanmış Gluteraldehit solüsyonu içine konuldu (51).

3.3.1. Işık Mikroskobu İçin Preparat Hazırlanması:

Nötral formalin solüsyonunda 24 saat fikse edildikten sonra dokular akar suda 24 saat yıkandı. Daha sonra sırasıyla %70, 80, 90, 96 ve % 100'lük etanol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi yapıldı. Bouin solüsyonunda bekletilen dokular ise direkt olarak dereceli alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra dokular herbiri 15 dakikadan olmak üzere toplam 45 dakika ksilolde şeffaflaştırıldı. 58 °C'lik etüvde 1'er saat olmak üzere iki ayrı parafin banyosundan geçirilerek taze parafinde blok yapıldı. Parafin bloklardan 4-6 mikrometre (µm) kalınlığında kesitler alındı. Lam üzerine alınan parafin kesitler 37 °C'ye ayarlanmış etüv

içinde 24 saat bekletildi. Daha sonra böbrek kesitleri ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek rutin boyamamız olan Hematoksilen-Eozin (H&E) ile, ayrıca Peryodik-Asit-Shiff (PAS) ve Heidenhein'in Azan modifikasyonu ile boyandı (52). Işık mikroskobu altında değerlendirildi ve mikrofotografları alındı.

3.3.2.Elektron Mikroskobu İçin Takip ve Grid Hazırlanması:

Deney çalışma gruplarından elde edilen böbrek dokuları, elektron mikroskobik inceleme için yeterli olan ebatlarda küçültülerek % 2,5'luk tamponlanmış gluteraldehit içerisinde birkaç gün tesbit edildiler.

Tesbitten sonraki birinci gün; böbrek dokuları tampon solüsyonlarda herbiri 15 dakika olmak üzere 3 kez yıkandılar. Daha sonra 2 saat boyunca osmiyum tetraoksit içinde bekletildiler. Osmiyum tetraoksitten çıkarılan dokular, herbiri 10 dakika olmak üzere, 2 kez tamponlu solüsyonlarda yıkandılar. Daha sonra dokular sırasıyla % 30'luk, % 50'lik alkol içerisinde, herbiri 15 dakika olmak üzere, 2'er kez bekletildiler. En son olarak % 70'lik alkole alınan dokular bütün gece burada bekletildiler.

İkinci gün; uranil asetat solüsyonunda dokular 2 saat boyunca buzdolabında bekletildiler. Buzdolabından çıkarılan dokular, herbiri 30 dakika olmak üzere 2 kez % 90'lık alkolde ve % 100'lük alkolde bekletildiler. İkişer kez, 30 dakikalık propilen oksit aşamasından sonra dokular, Propilen oksit+Araldit (1:1) solüsyonuna bırakıldılar ve bir gece boyunca buzdolabında bekletildiler.

Uranil boyama solüsyonunun hazırlanışı:

% 70'lik alkol-----50 ml

Uranil asetat-----0,25 gr

Fosfotungistik asit-----0,5 gr

Bu karışım iyice eritildikten sonra filtre kağıdından süzülür.

3. gün; dokular oda ısısında, rotatorda, saf araldit içerisinde 2 saat boyunca çevrildiler. Bu sürenin sonunda dokular gömme kapsülleri içerisine gömüldüler. Gömülen dokular 45° C'ta ayarlanmış etüve bırakıldılar. Etüvün ısısı 24 saat sonra 60° C'ta yükseltildi. Etüvün kapağı açılmaksızın 24 saat daha beklendi. Üçüncü günün sonunda yine etüvün kapağı açılmaksızın, etüvün ısısı düşürüldü ve oda ısısına gelmesi sağlandı. Artık dokular etüvden çıkarılarak, yarı ince kesitleri alınmaya hazır hale geldiler. Yarı ince hazırlanan kesitler lam üzerine alınarak Toluidin mavisi ile boyandılar. Yarı ince kesitler OlympusCX21 ışık mikroskobunda değerlendirilerek böbrek glomerullerinin yerleri tesbit edildi. İstenilen bölgenin dışında kalan

yerler trim cihazı ile trimlenerek, glomerul bölgesinin kesitlerde kalması sağlandı. İnce kesitler LEİCA ultracut R ultramikrotomunda kesilerek bakır gridler üzerine alındı. Gridlere alınan ince kesitler 1 gün boyunca oda ısısında bekletildiler. Ertesi gün Uranil asetat içinde 40 dakika bekletildiler. Ardından 3 kez distile su ile yıkandılar. Daha sonra Kurşun Sitrata içinde 5 dakika bekletilir, 3 kez distile su ile yıkandılar. Kontrast boyanan ince dokular JEOL-1010 elektron mikroskopunda incelendi ve mikrografları alındı.

3.4.Vücut Ağırlığı: Çalışma kapsamındaki deney hayvanlarının vücut ağırlıkları, çalışma başlangıcında, 1.hafta, 2.hafta, 3.hafta ve 4.hafta olmak üzere toplam 5 kez ölçüldü. Bu değerlerin sonuçları Grafik-1’de gösterilmiştir.

3.5.Kan Glukoz Düzeyleri Ölçümü: Deney hayvanlarının kan glukoz değerleri, çalışmanın başlangıcında (bazal), 48 saat sonra, 3.hafta ve 4.hafta olmak üzere toplam 4 kez, ratların kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz oksidaz yöntemiyle otomatik şeker ölçüm cihazı (One Call) kullanmak suretiyle, glukoz düzeylerine bakıldı. Bu değerlerin sonuçları Grafik-2’de gösterilmiştir.

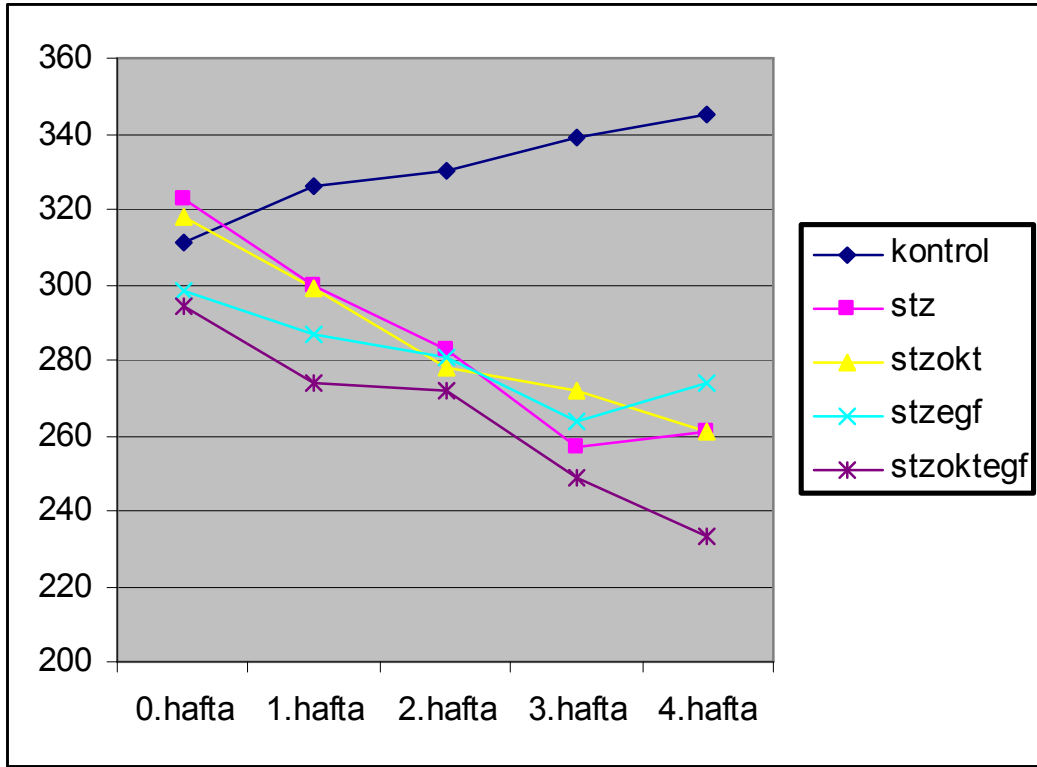
3.6.Böbrek Ağırlıkları: Deneyin sonlandırılması esnasında hayvanların batınından çıkarılan böbrek dokuları temizlenip, hassas terazide tartıldı. Daha sonra dokular küçültülerek tesbit solüsyonlarına alındı. Bu değerlerin sonuçları Grafik-3’de görülmüştür.

3.7.İstatistiksel Analiz: Çalışma kapsamındaki deney hayvanlarının vücut ağırlıklarının istatistiksel analizleri Mann-Whitney Test ile değerlendirildi. Deney hayvanlarının kan glukoz değerlerinin istatistiksel analizi Independent Sample Test ile değerlendirildi. Tüm deney hayvanlarına ait total vücut ağırlıklarının zamana bağlı değişimi ile kan glukoz düzeylerinin zamana bağlı değişimi Tablo-1’de, böbrek ağırlıklarının değerleri Tablo-2’de gösterilmiştir. İstatistiksel analizleri Mann-Whitney Test ile değerlendirildi.

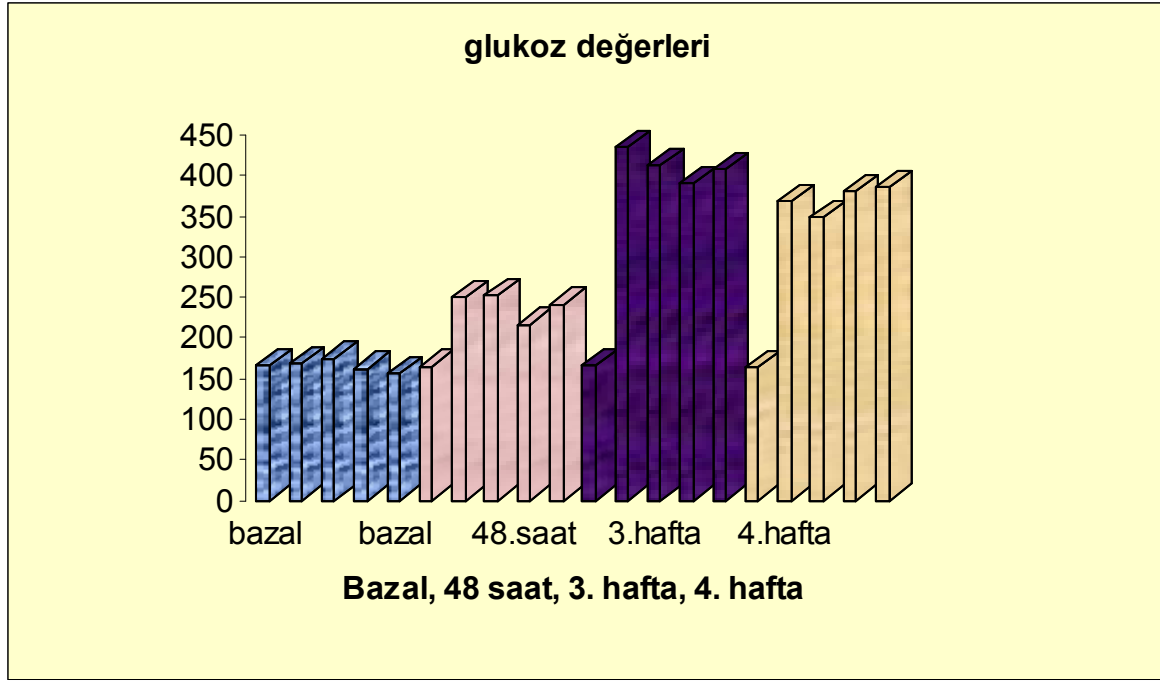
4. BULGULAR:

4.1. Morfometrik Bulgular: Diyabet oluşturulan ratların vücut ağırlıkları çalışma başlangıcında kontrol grubundan farklı değildi (kontrol gurubu 311± 34, STZ gurubu 323±31, STZ+OCT grubu 318±38, STZ+EGF gurubu 292 ±25, STZ+OCT+EGF gurubu 294±37). Çalışmanın ilerlemesiyle vücut ağırlığı kontrol grubu ratlarda artarken, diyabet oluşturulan tüm ratlarda zamanla azaldı. Çalışmanın 2. ve 4. haftasında diyabetik hale getirilen tüm gruplardaki ratların vücut ağırlığı ortalaması kontrol grubuna bakışla anlamlı olarak düşüktü ($p<0.01$). Çalışma kapsamındaki ratların vücut ağırlıklarının çalışma başlangıcında ve zamana bağlı değişimleri tablo-1'de topluca gösterilmiştir. Yine çalışma kapsamındaki tüm ratların vücut ağırlıklarında ortaya çıkan zamana bağlı değişimler Grafik-1'de de gösterilmiştir. Streptozotosin uygulanan tüm ratlarda (STZ, STZ+OCT, STZ+EGF ve STZ+OCT+EGF) uygulamadan 48. saat, 3. hafta ve 4. hafta sonrasındaki kan glukoz düzeyleri %0.9 SF uygulanan kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek ($p=0.000$) bulundu. Tüm ratlara ait kan glukoz düzeylerinin zamana bağlı değişimi Tablo-1'de gösterilmiştir.

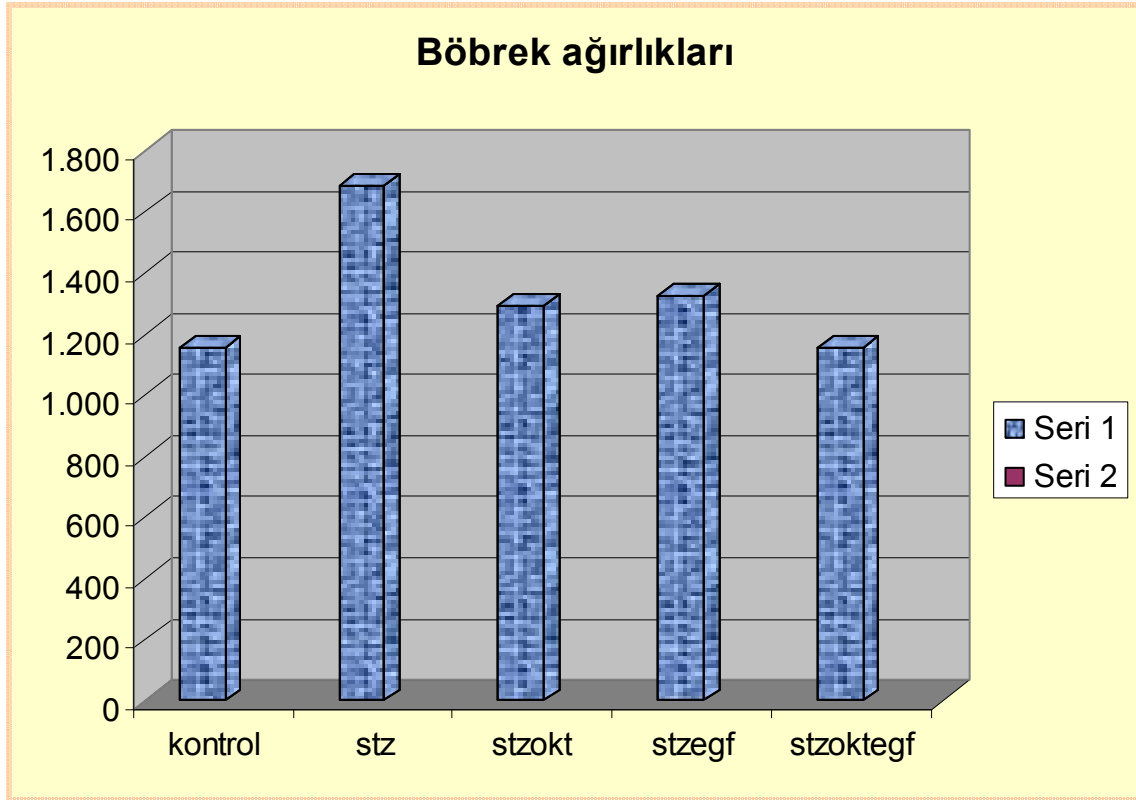
Çalışma kapsamındaki ratların böbrek ağırlıkları ve istatistiksel karşılaştırmaları Tablo-2'de verilmiştir. Buna göre STZ grubunun ortalama böbrek ağırlığı kontrol grubuna bakışla anlamlı ölçüde yüksek bulundu ($p<0.001$). Yine STZ+OCT ve STZ+EGF uygulanan sıçan grubunun ortalama böbrek ağırlığı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek idi ($p<0.02$). Buna karşılık STZ+OCT+EGF uygulanan gurubun ortalama böbrek ağırlığının ise kontrol grubuna benzer olduğu belirlendi.



Grafik-1: Çalışma kapsamındaki ratların vücut ağırlıklarındaki zamana bağlı değişimler.



Grafik-2: Çalışma kapsamındaki ratların kan glukoz düzeyindeki zamana bağlı değişimler:



Grafik-3: Çalışma kapsamındaki ratların böbrek ağırlıkları.

Çalışma zamanı	Kontrol	STZ	STZ+OCT	STZ+EGF	STZ+OCT+EGF	P değeri
Bazal	311±34	323±31	318±38	298±25	294±37	AD
1.Hafta	326±34	300±31	299±51	287±24	274±45	AD
2.Hafta	330±23	282±38	278±49	281±28	272±49	AD
3. Hafta	339±36	257±39	272±65	264±36	249±57	0.01
4. Hafta	345±37	261±57	261±76	274±35	233±63	0.01
Bazal	166±11	168±14	174±9	162±8	156±10	AD
48. Saat	165±10	249±36	252±21	216±32	241±37	0.000
3.Hafta	166±9	435±52	413±72	390±93	408±84	0.000
4. Hafta	163±9	368±113	348±76	380±86	385±81	0.000

Tablo-1: Çalışma kapsamındaki ratların vücut ağırlıkları ve kan glukoz düzeylerindeki zamana bağlı değişimleri ve istatistiksel karşılaştırmaları.

Kontrol	STZ	STZ+OCT	STZ+EGF ^b	STZ+OCT+EGF
1.15±0.12	1.68±0.26 ^a	1.29±0.11 ^b	1.32±0.13	1.15±0.99

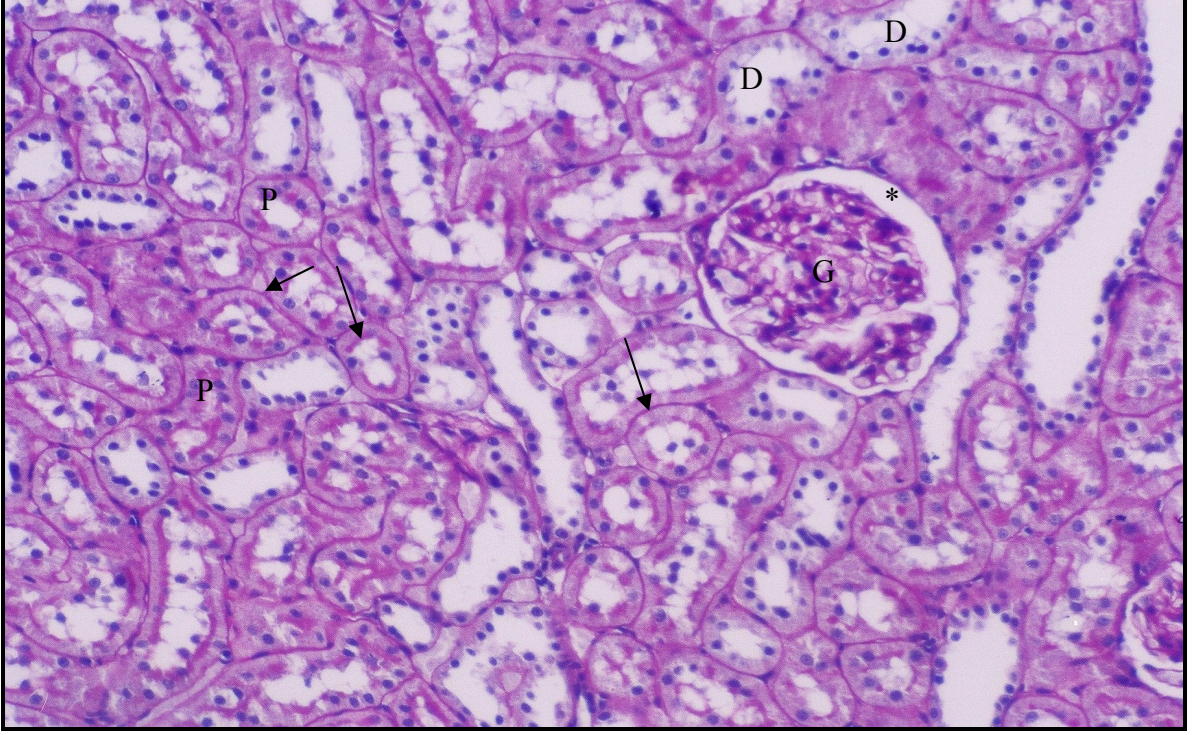
Tablo-2: Çalışma kapsamındaki ratların böbrek ağırlıkları ve istatistiksel karşılaştırmaları.

a: $p < 0.001$, Kontrol ve STZ

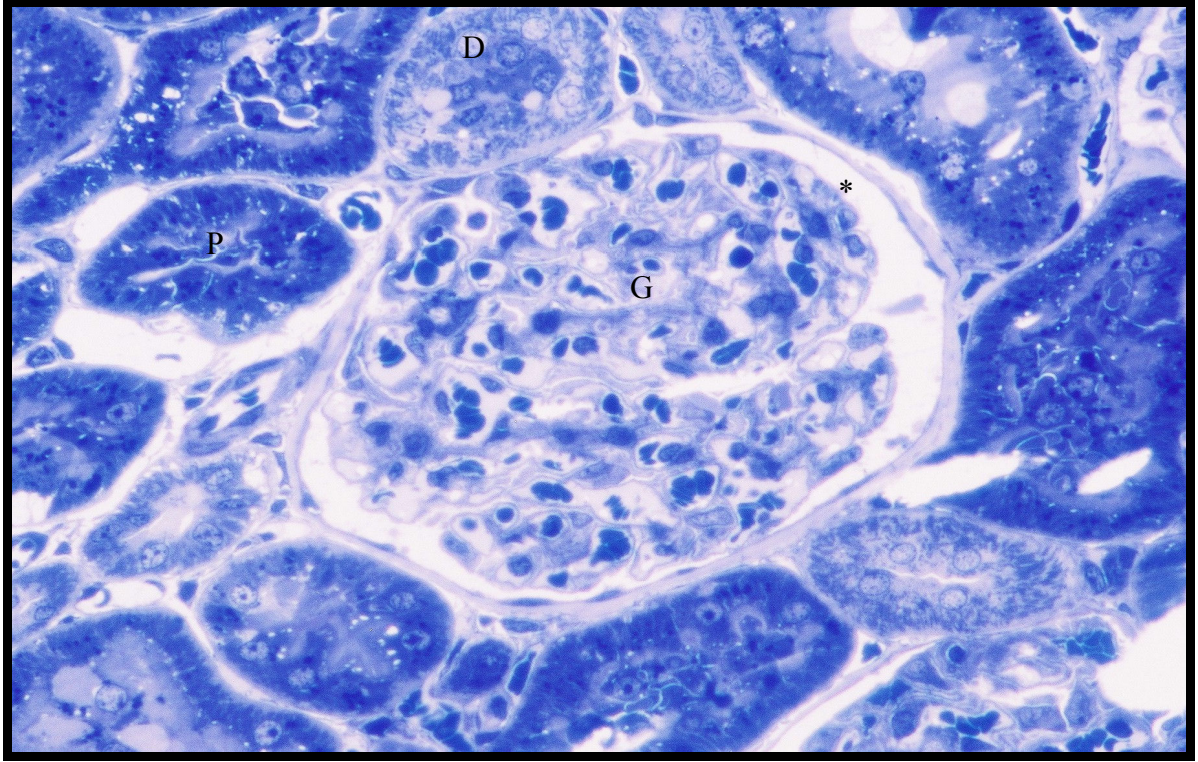
b: $p < 0.02$ Kontrol ve STZ+OCT ile $p < 0.02$ Kontrol ve STZ+EGF

4.2. Işık Mikroskopik Bulgular:

4.2.1.Kontrol grubu: Kontrol grubundan elde edilen böbrek kesitlerinin incelenmesinde normal histolojik yapılar izlendi (Resim-1,2).



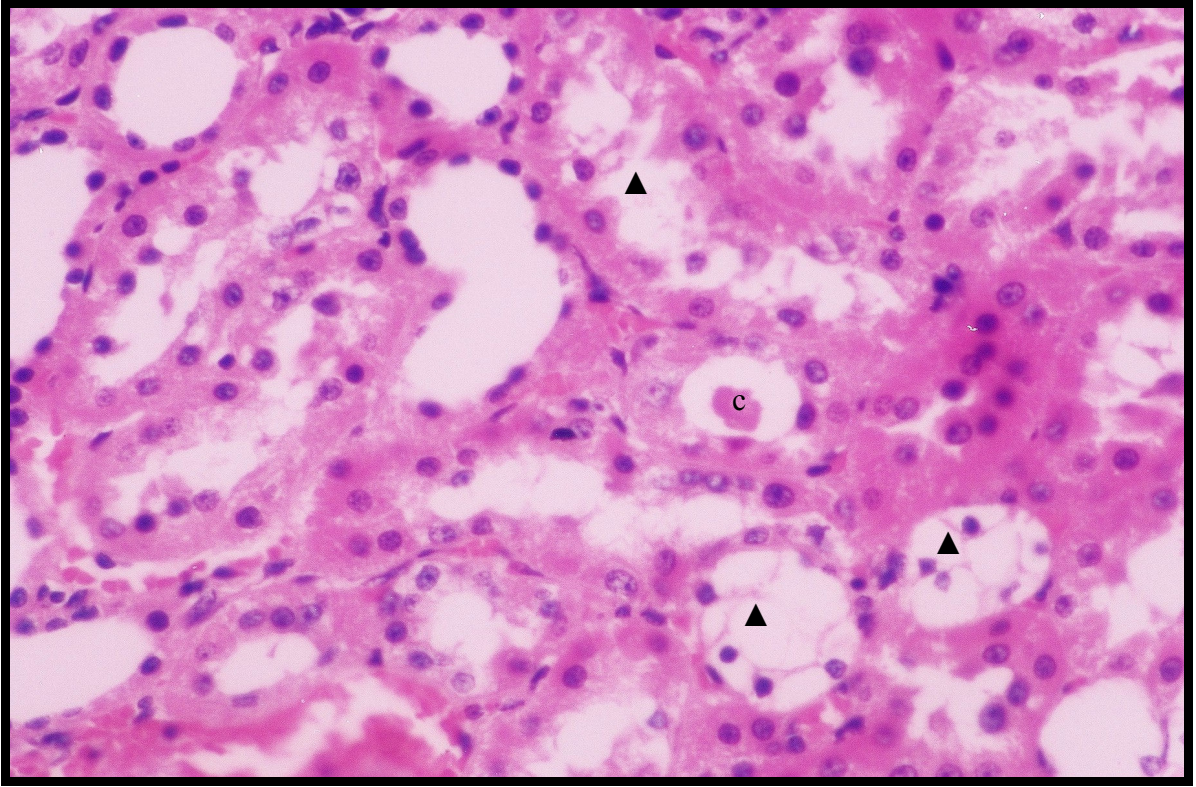
Resim-1: Kontrol grubu normal böbrek histolojisi. G: Glomerül, P: Proksimal tubül, D: Distal tubül, oklar: Tubül bazal membranı, *: Bowman aralığı, (PAS, Orijinal büyütme X 82).



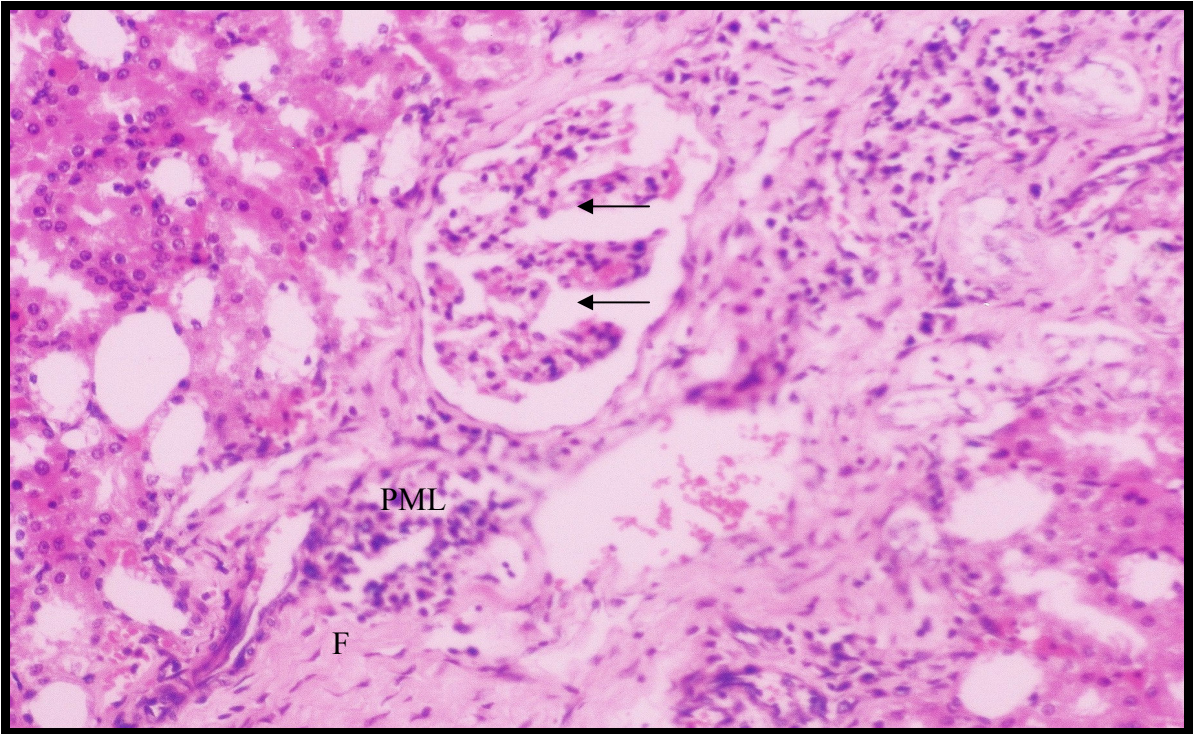
Resim-2: Kontrol grubu böbrek yarı ince plastik kesitinde glomerül ve tubüllerin normal görünümü. G: Glomerül, P: Proksimal tubül, D: Distal tubül, *: Bowman aralığı, (Toluidin mavisi, orijinal büyütme X 164).

4.2.2.STZ grubu: Streptozotosin ile diyabet oluşturulan grupta, bazı tubül epitellerinde hidropik değişiklikler gösteren hücre şişmesi ve sitoplazmanın soluklaşması (Resim-3,5), bazılarında da vakuolizasyon izlendi (Resim 9). PAS Hemalun ile boyanan kesitlerde, STZ grubu kontrollerle kıyaslandığında belirgin bir bazal membran kalınlaşması izlendi (Resim-6,7). Bazı tubül epitellerinde mikrovillus kaybı ve lümende cast materyali (protein birikimi) saptandı (Resim-3,6). STZ grubunda, özellikle korteksin medullaya yakın bölümlerindeki tubül epitellerinin sitoplazmasında PAS (+) reaksiyon veren farklı çaplarda vakuoller şeklinde glikojen birikimi dikkat çekiciydi. Bazı tübüller neredeyse tamamen glikojenle dolmuştu (Resim-7,8).

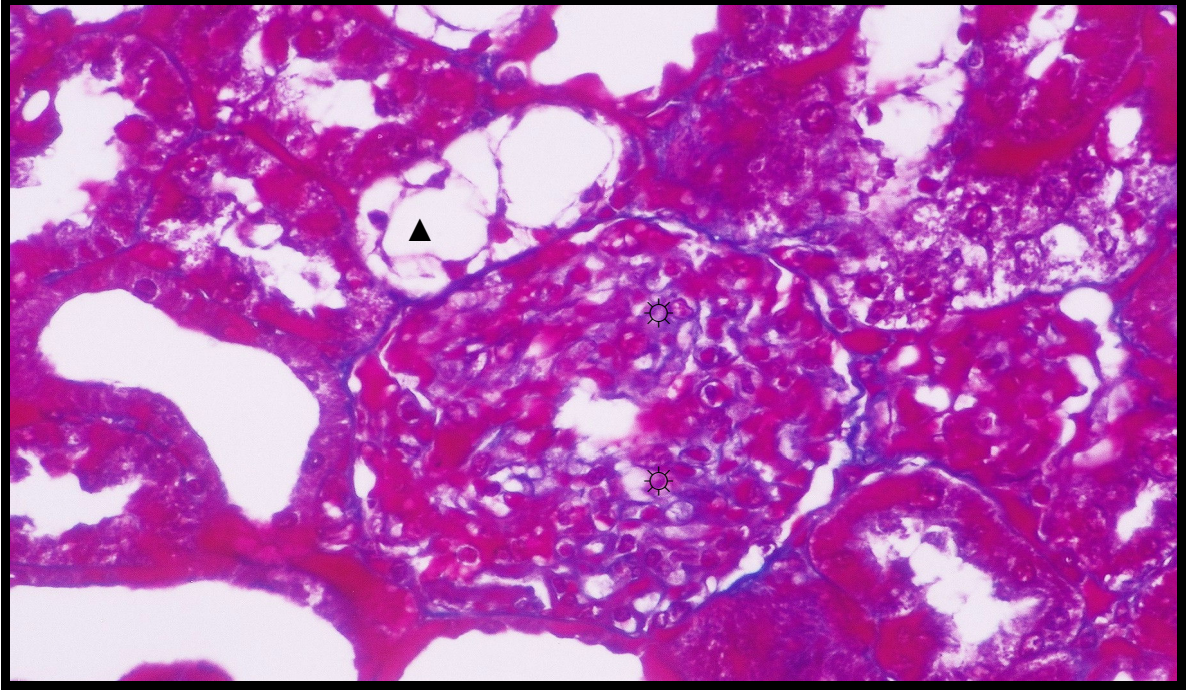
Kontrol grubunda glomerüller normal histolojik görünümde izlenirken (Resim-1,2) STZ grubunda glomerüllerin çoğunda Bowman mesafesi izlenemeyecek kadar daralmıştı ve bazılarında da kapiller lümenleri seçilemedi. Kesitlerin çoğunda glomerül kapiller bazal membranında kalınlaşma, mezengial matrikste artış ve hücre proliferasyonu izlendi (Resim-5,7). Ayrıca glomerüllerde segmental veya global bozulmalar ile polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu saptandı (Resim-4).



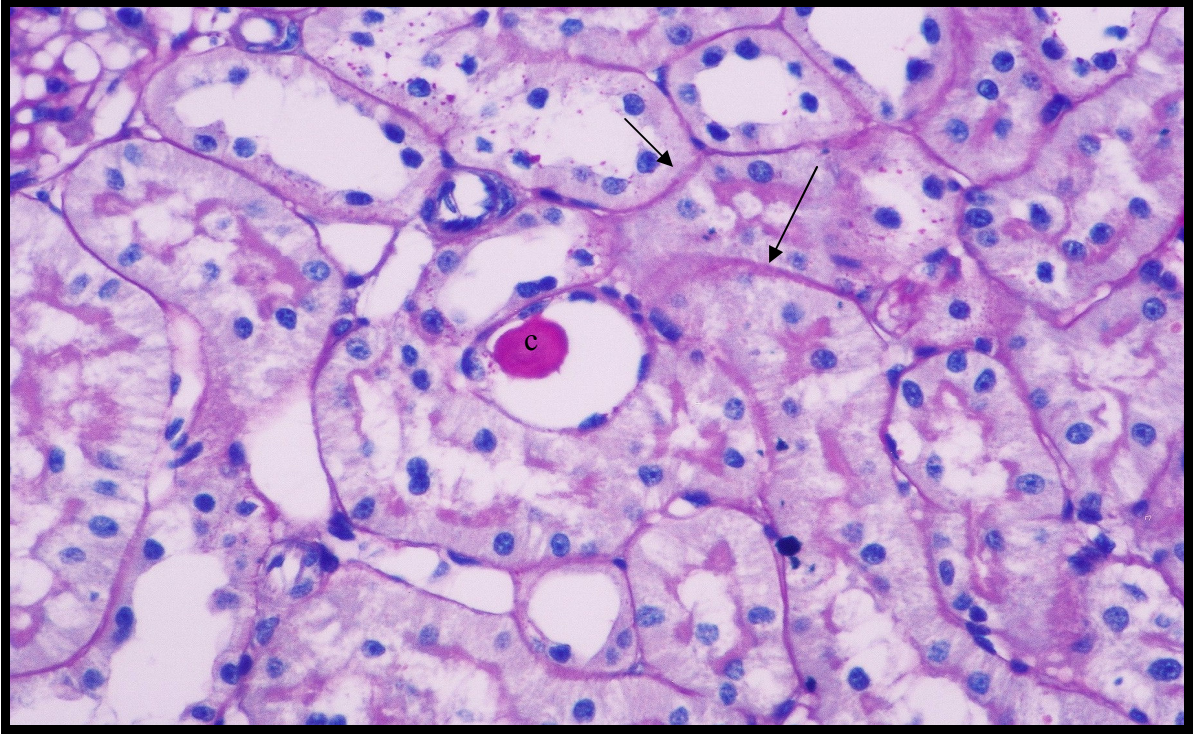
Resim-3: STZ grubu böbrek tübül epitelinde hidropik değişiklikler ve tübül lümeninde protein birikimi izlenmektedir. ▲:Distal tübül epitelinde ödem , c: Proksimal tübül lümeninde protein birikimi (H&E, orijinal büyüme X 164).



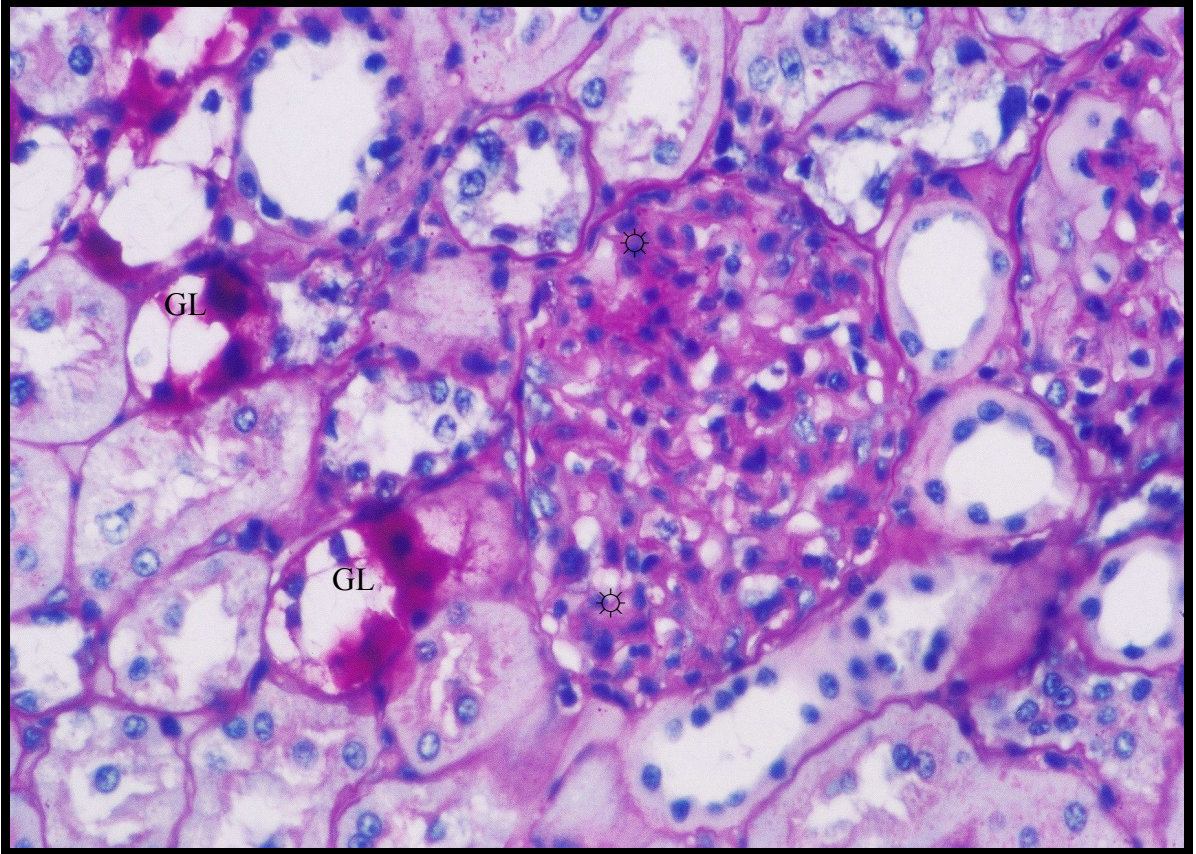
Resim-4: STZ grubu böbrek glomerülünde segmental görünüm, interstisyel bağdoku artışı ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu izlenmektedir. PML: Polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu, F: Fibrozis, Oklar: Glomerülde segmental görünüm (H&E, orijinal büyütme X 82).



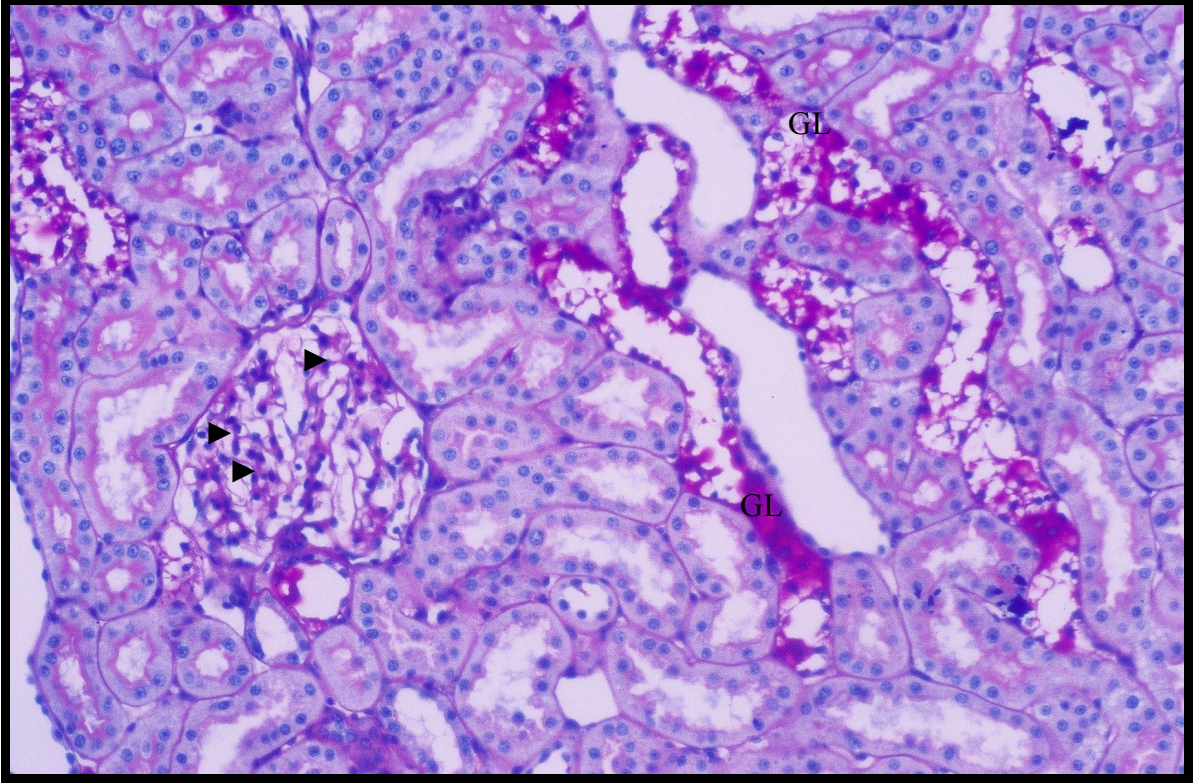
Resim-5: STZ gruba ait hipertrofik glomerül, mezengial matriks ve hücre artışı ile birlikte tübüllerde hidropik değişiklikler. ▲:Distal tübül epitelinde ödem, ☼: Staz, (Heidenhein'nın Azan modifikasyonu, orijinal büyütme X 164).



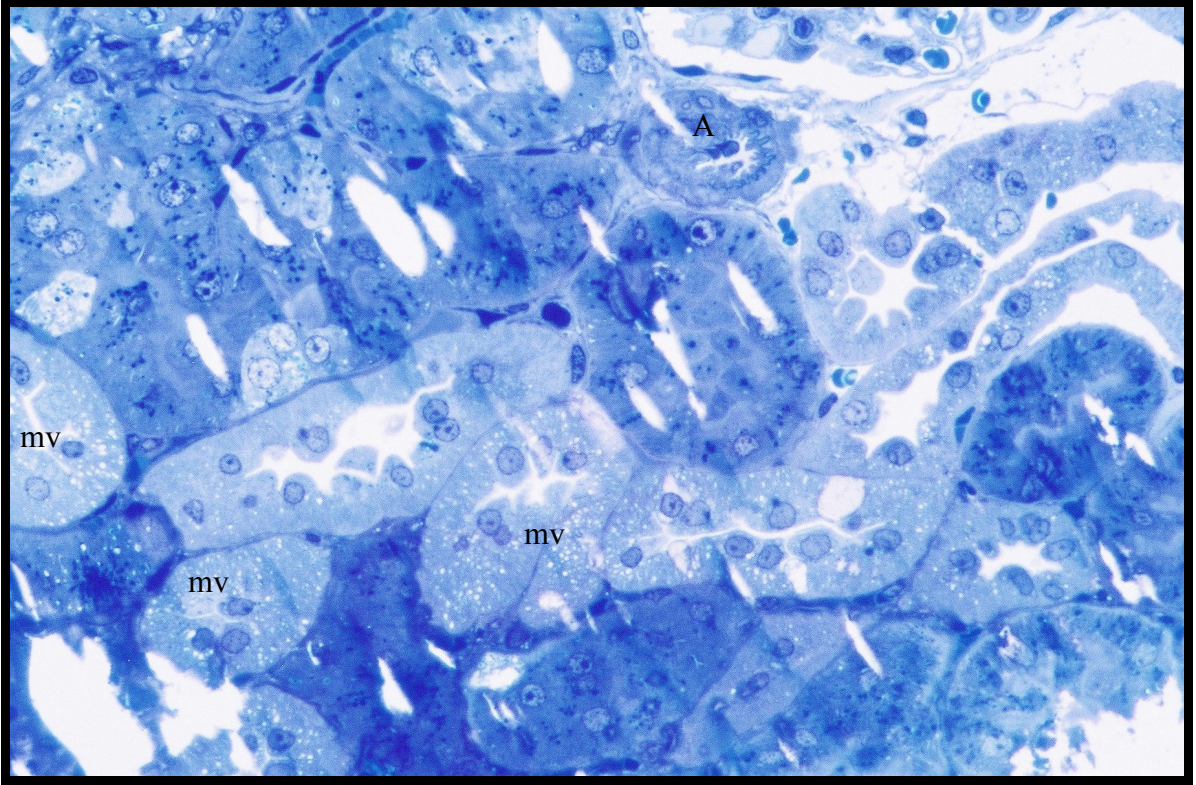
Resim-6: STZ gruba ait tubül bazal membran kalınlaşması ve tubül lümeninde protein birikimi. c:Protein birikimi, oklar: Tubüllerin bazal membranında kalınlaşma, (PAS, orijinal büyütme X 164).



Resim-7: STZ grubunda dikkat çeken glikojenle dolu tubüller. Bowman kapsülü bazal membran kalınlaşması, mezengial matriks artışı ve hücre artışına bağlı hipertrofik glomerülde ayırtedilemeyen Bowman mesafesi. ☼: Glomerül kapillerlerinde staz, GL: Tubül epitel hücrelerinde glikojen birikimi , (PAS, orijinal büyütme X 164).

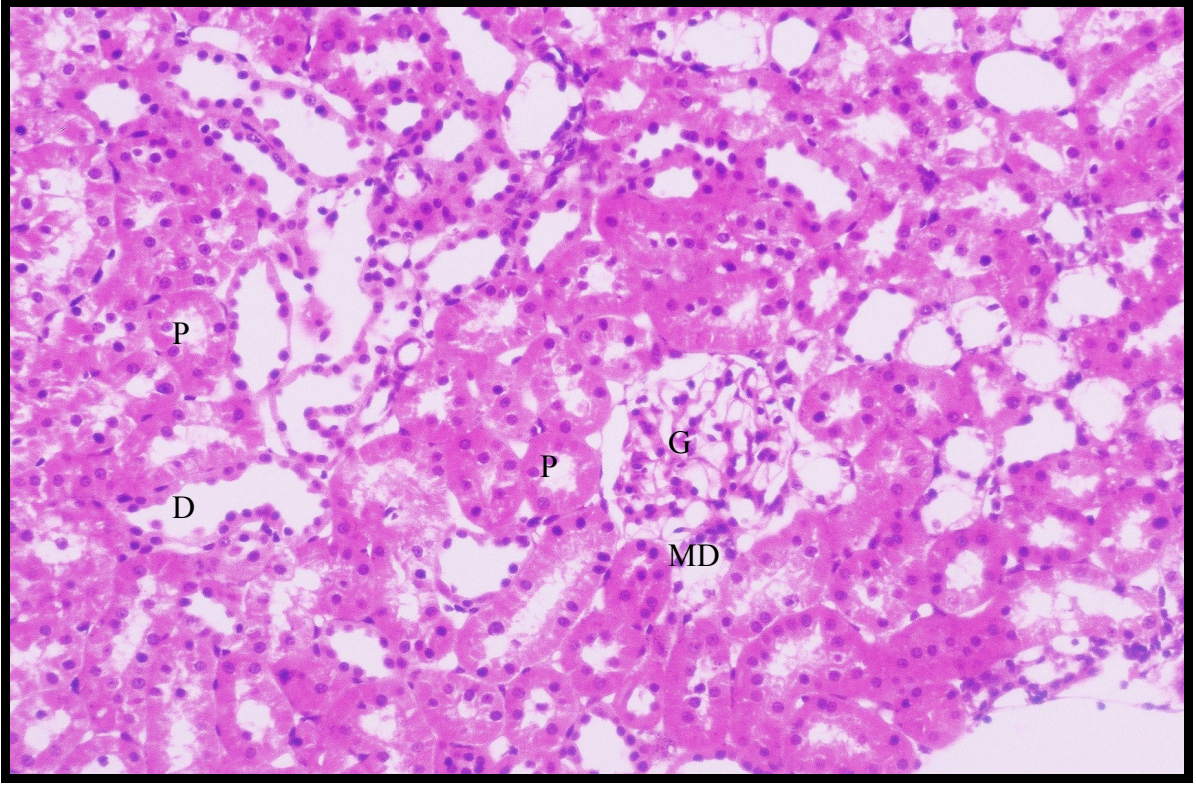


Resim-8: STZ gruba ait glikojenle dolu tubüllerin yanı sıra, glomerül kapiller dilatasyonu dikkati çekmektedir. ►:Glomerül kapillerinde dilatasyon , GL:Tübül epitel hücrelerinde glikojen birikimi, (PAS, orijinal büyütme X 82).

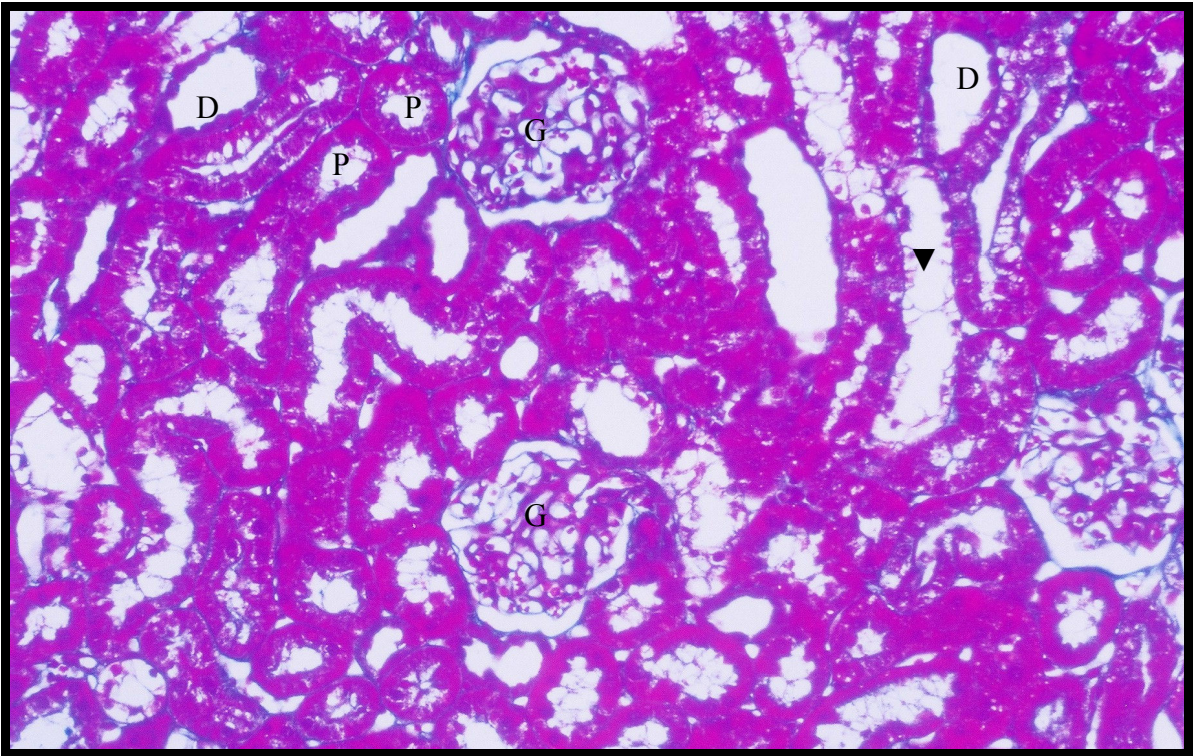


Resim-9: STZ grubu yarı ince plastik kesitlerinde tübül epitel hücrelerinde yoğun multiveziküler oluşumlar. A: Arteriol, mv: Çok sayıda vezikül, (Toluidin mavisi, orijinal büyütme X 164).

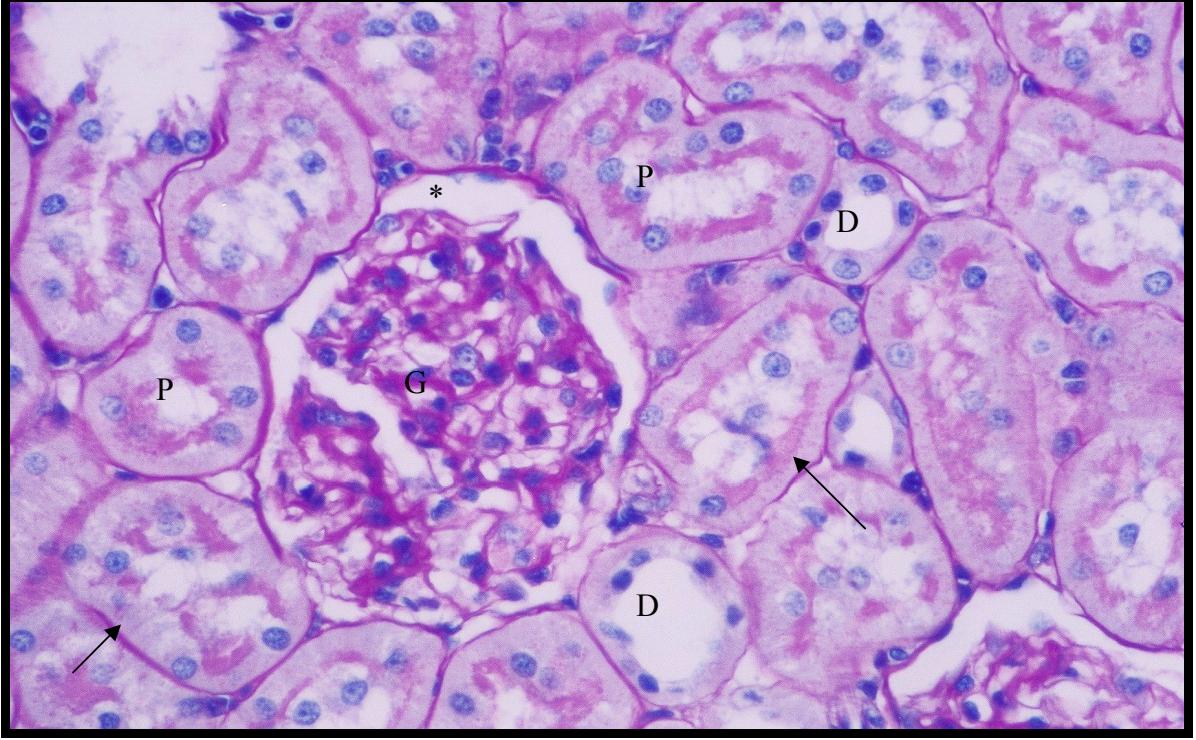
4.2.3.OCT grubu: Octreotide asetat uygulaması yapılan STZ diyabetiklerde yer yer gözlenen glomerül-tübül dejenerasyonları ve bazal membran kalınlaşmasına rastlanmasına rağmen kontrol grubuna yakın görüntüler izlendi (Resim-10,11,12,13,14).



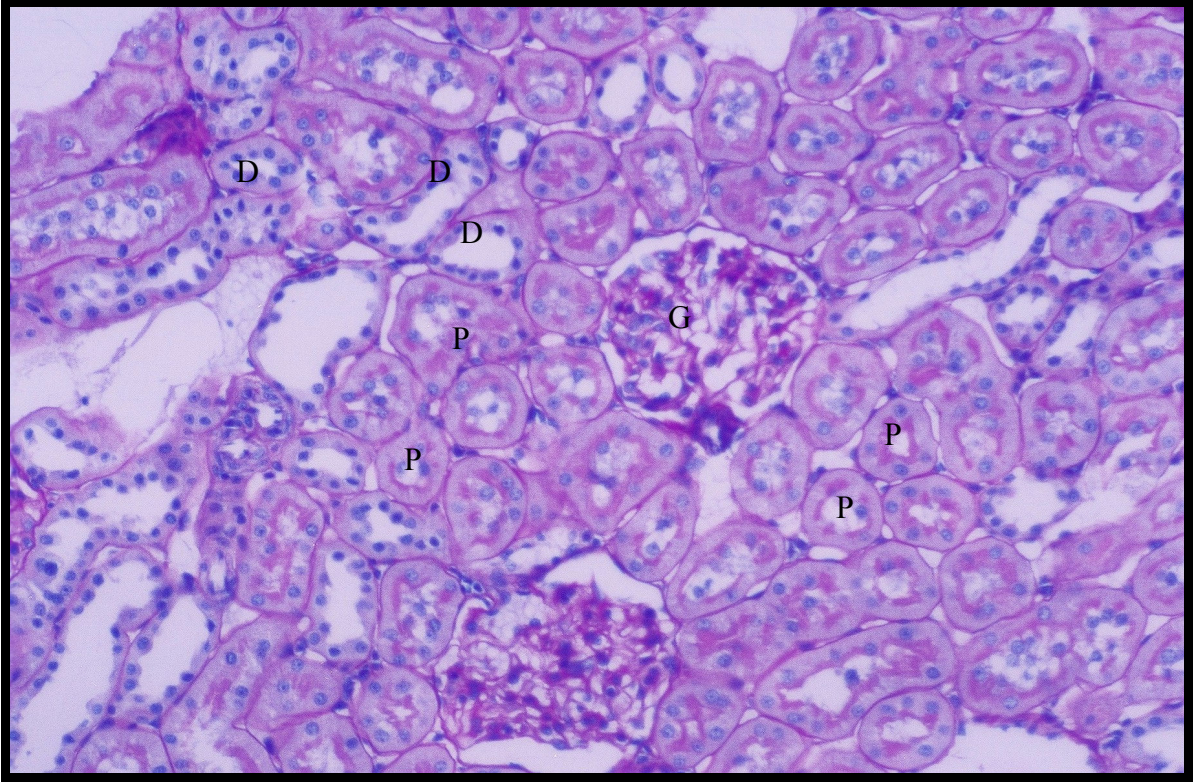
Resim-10: OCT grubu böbrek kesitinde, hidropik değişiklikler gösteren tübül sayısında azalma. G: Glomerül, MD: Makula densa, P: Proksimal tübül, D: Distal tübül, (H&E, orijinal büyütme X 82).



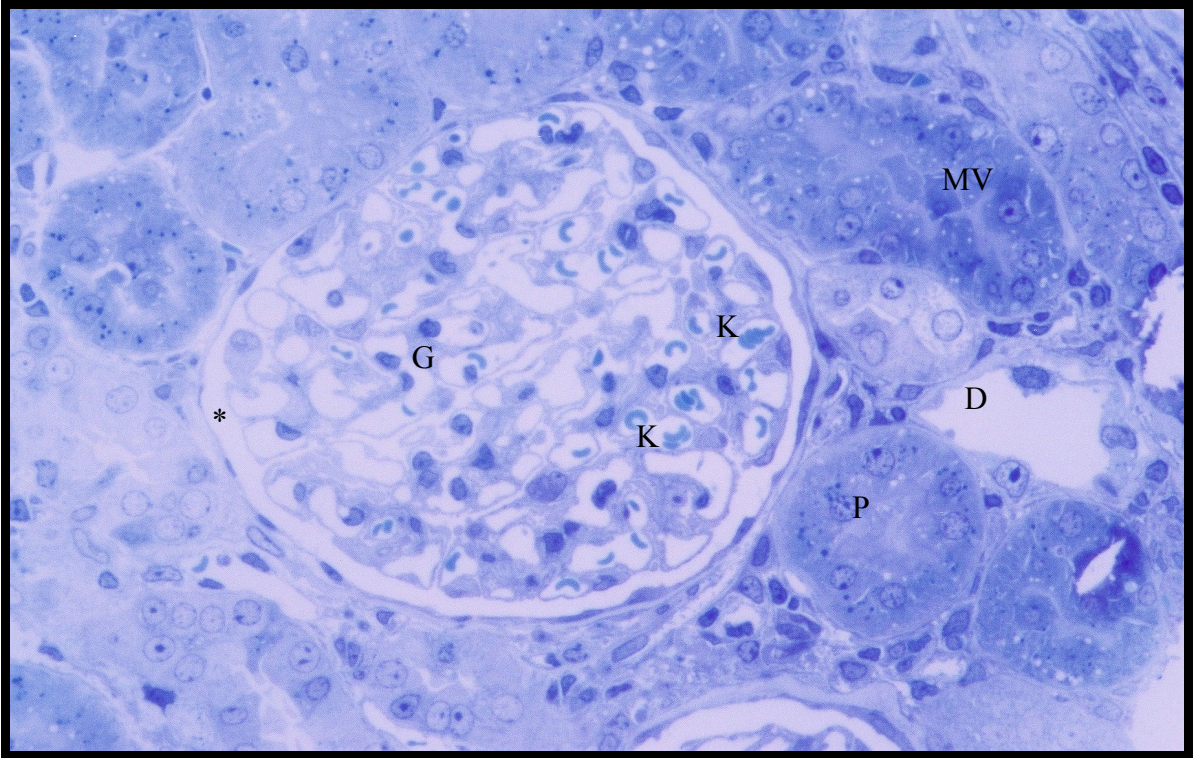
Resim-11: OCT grubu böbrek kesitinde minimal düzeyde glomerül ve tübüller dejenerasyon izlenmektedir. G: Glomerül, D: Distal tübül, P: Proksimal tübül, ▼: Tübul lümeninde hidropik değişim, (Heidenhein'nın Azan modifikasyonu, orijinal büyütme X 82).



Resim-12: Octreotide uygulanan gruba ait glomerül bazal membran kalınlaşması ve bazı tübüllerde mikrovillus kaybı. G: Glomerül, P: Proksimal tübül, D: Distal tübül, *:Bowman aralığı, Oklar: Tübüllerin bazal membranında kalınlaşma, (PAS, orijinal büyütme X 164).

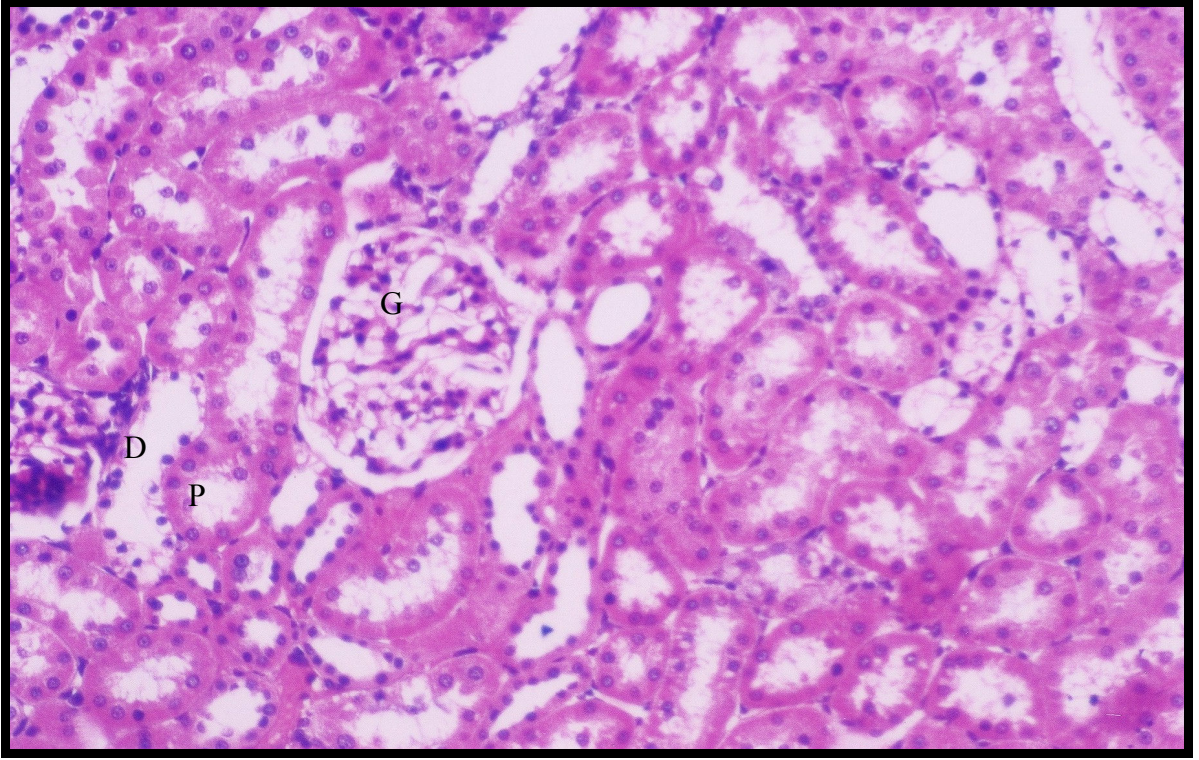


Resim-13: Octreotide uygulanan grupta kontrole yakın görünümdeki glomerül ve tübüller yapılar izlenmektedir. G: Glomerül, P: Proksimal tübül, D: Distal tübül, (PAS, orijinal büyütme X 82).

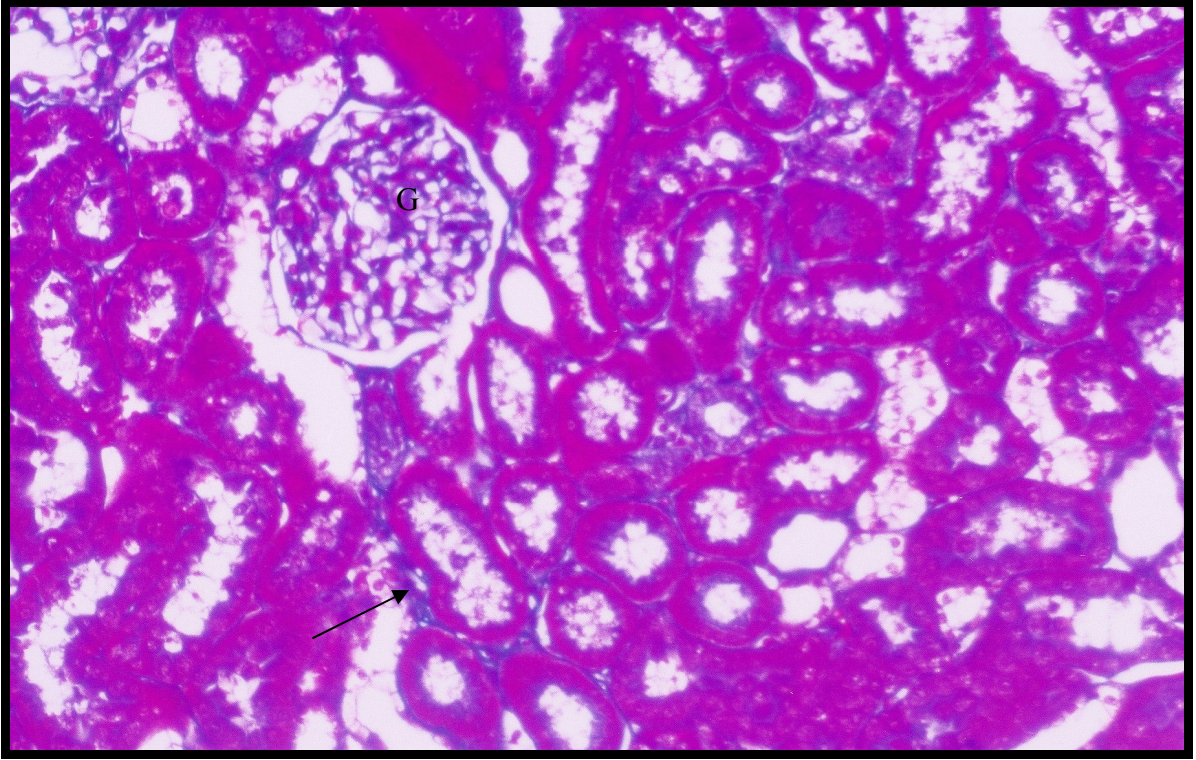


Resim-14: Octreotide uygulanan gruba ait yarı ince plastik kesitlerde, kontrole yakın glomerül yanı sıra tubül epitel hücrelerinde multiveziküler oluşumlar seçilmektedir. G: Glomerül, P: Proksimal tubül, D: Distal tubül, *: Bowman aralığı, K: Kapiller, MV: Çok sayıda vezikül, (Toluidin mavisi, orijinal büyütme X 164).

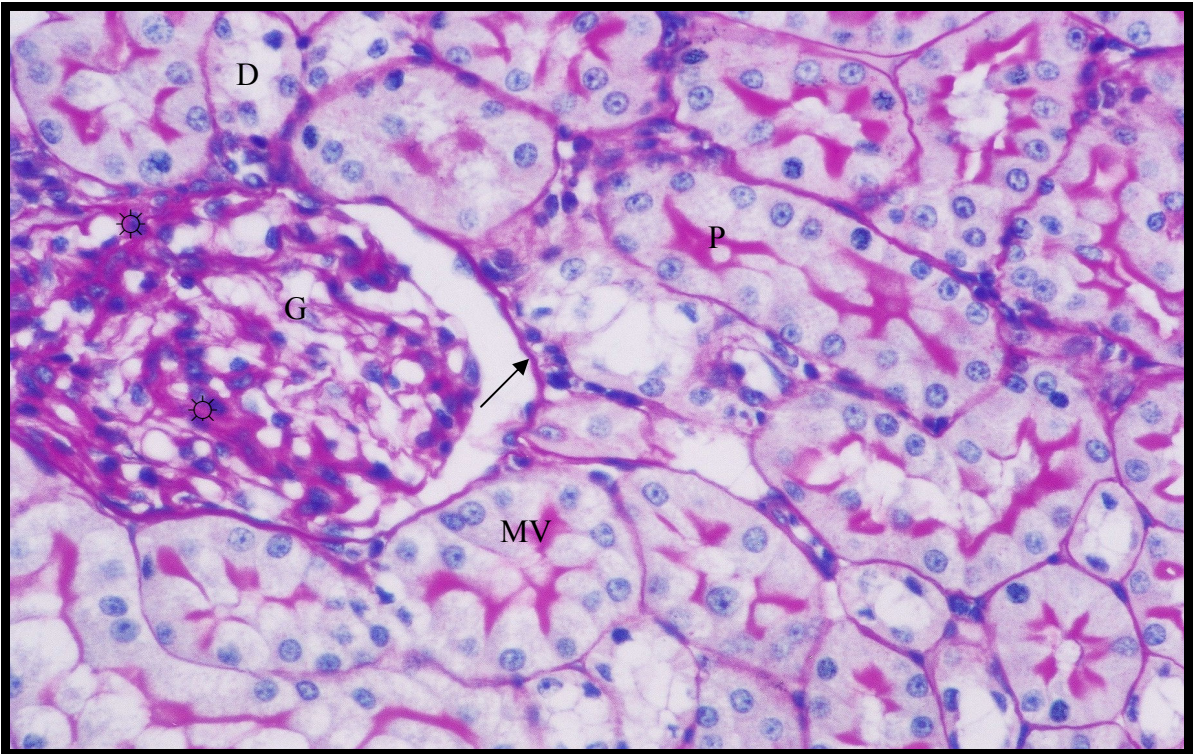
4.2.4. EGF grubu: STZ uygulaması ile diyabetik hale getirilen ve EGF uygulanan hayvanlardan elde edilen böbrek kesitlerinde; tubül epitel hücrelerinde minimal düzeyde hidropik değişiklikler (Resim-15,16), yanı sıra Bowman kapsülü pariyetal yaprağı ile tubüllerin bazal membranında kalınlaşma görülmesine rağmen, genelde kontrole yakın görünüm saptandı (Resim-17,18).



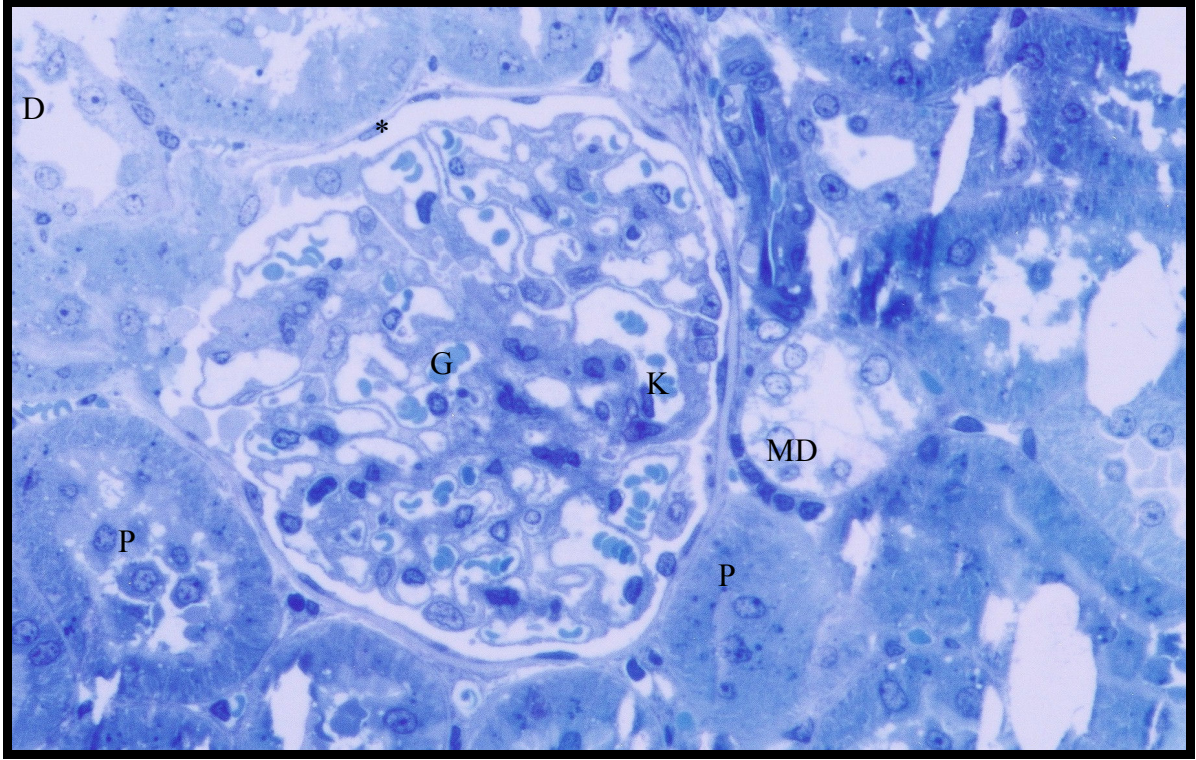
Resim-15: EGF uygulanan gruba ait böbrek kesitinde, kontrole benzer görünüm izlenmektedir. G: Glomerül, P: Proksimal tubül, D: Distal tubül, (H&E, orijinal büyütme X 82).



Resim-16: EGF grubu proksimal tubüllerde hacim artışına paralel olarak interstisyel dokuda azalma. G: Glomerül, ok: İnterstisyel doku, (Heidenhein'nın Azan modifikasyonu, orijinal büyütme X 82).

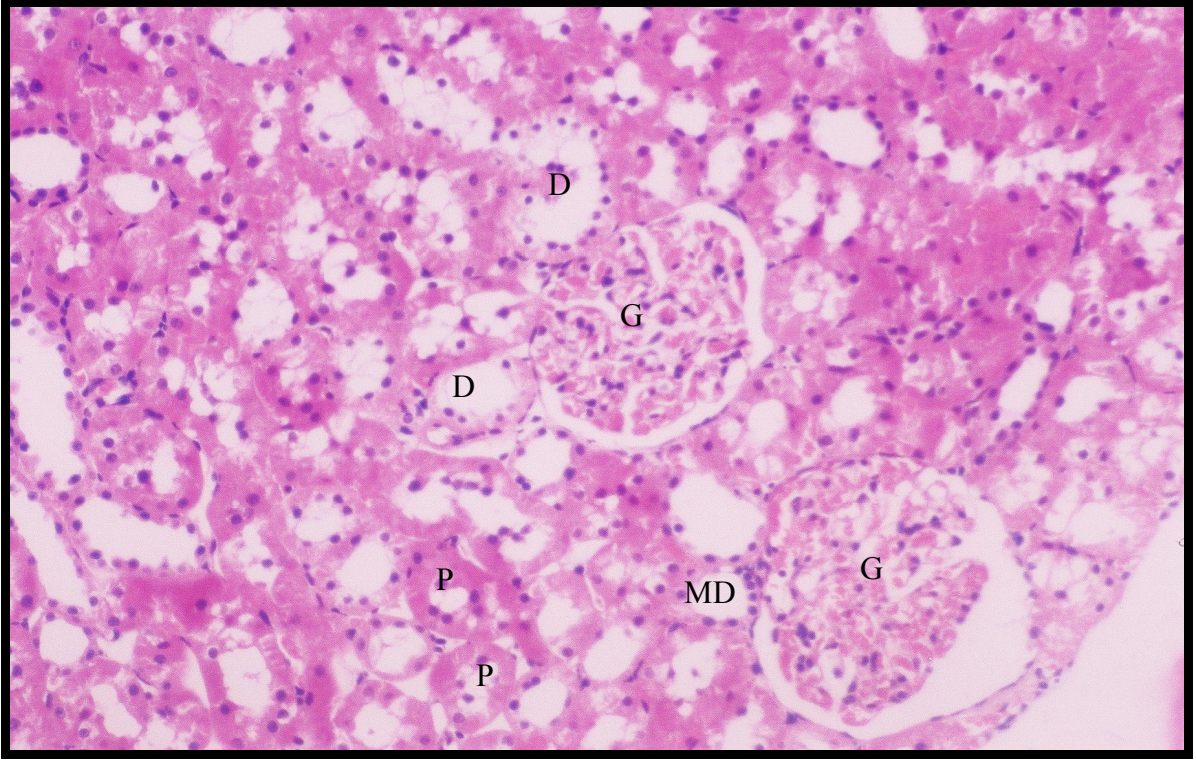


Resim-17: EGF grubunda glomerül bazal membranı ve Bowman kapsülü kalınlaşması yanı sıra mikrovillus yapısı belirgin olarak seçilmektedir. G: Glomerül, P: Proksimal tubül, D: Distal tubül, ok: Bowman kapsülünün pariyetal tabakasında kalınlaşma, ☉: Staz, MV: Mikrovillus, (PAS, orijinal büyütme X 164).

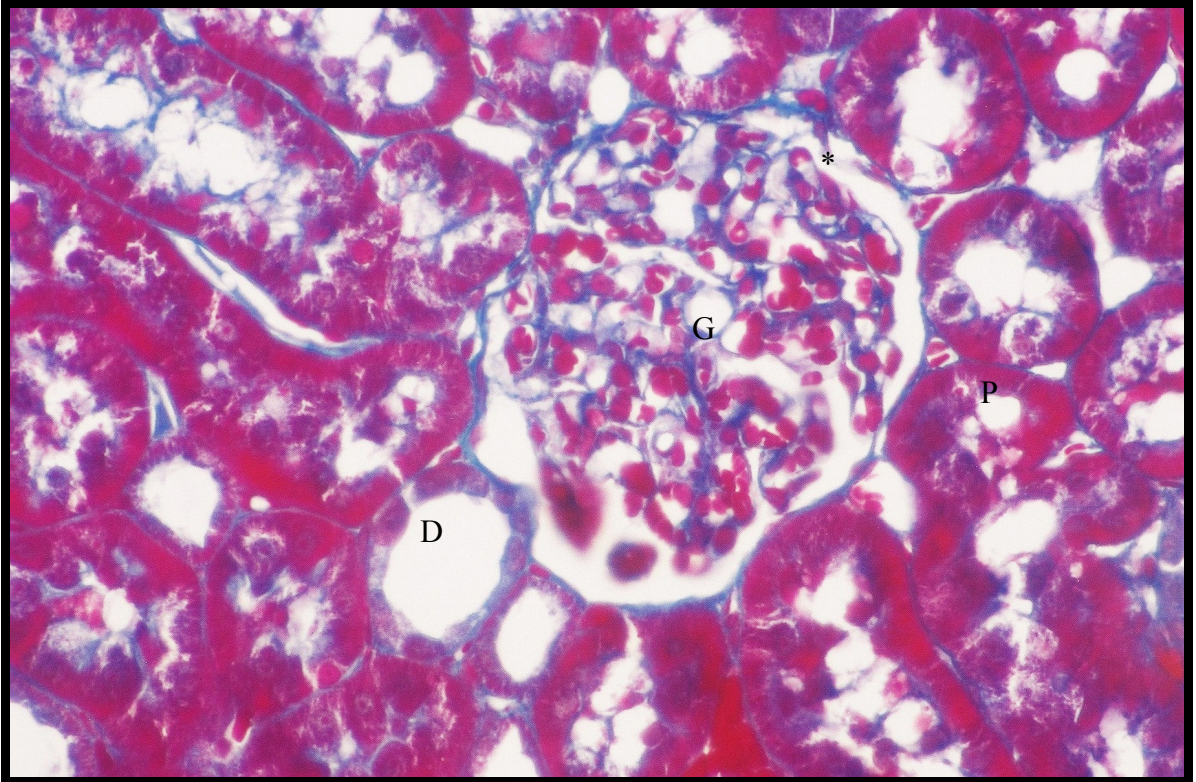


Resim-18: EGF uygulanan gruba ait yarı ince plastik kesit. Glomerül kapillerlerinde dilatasyon dışında kontrole yakın görünüm. G: Glomerül, P: Proksimal tubül, D: Distal tubül, MD: Makula densa, K: Kapiller, *:Bowman aralığı, (Toluidin mavisi, orijinal büyütme X 164).

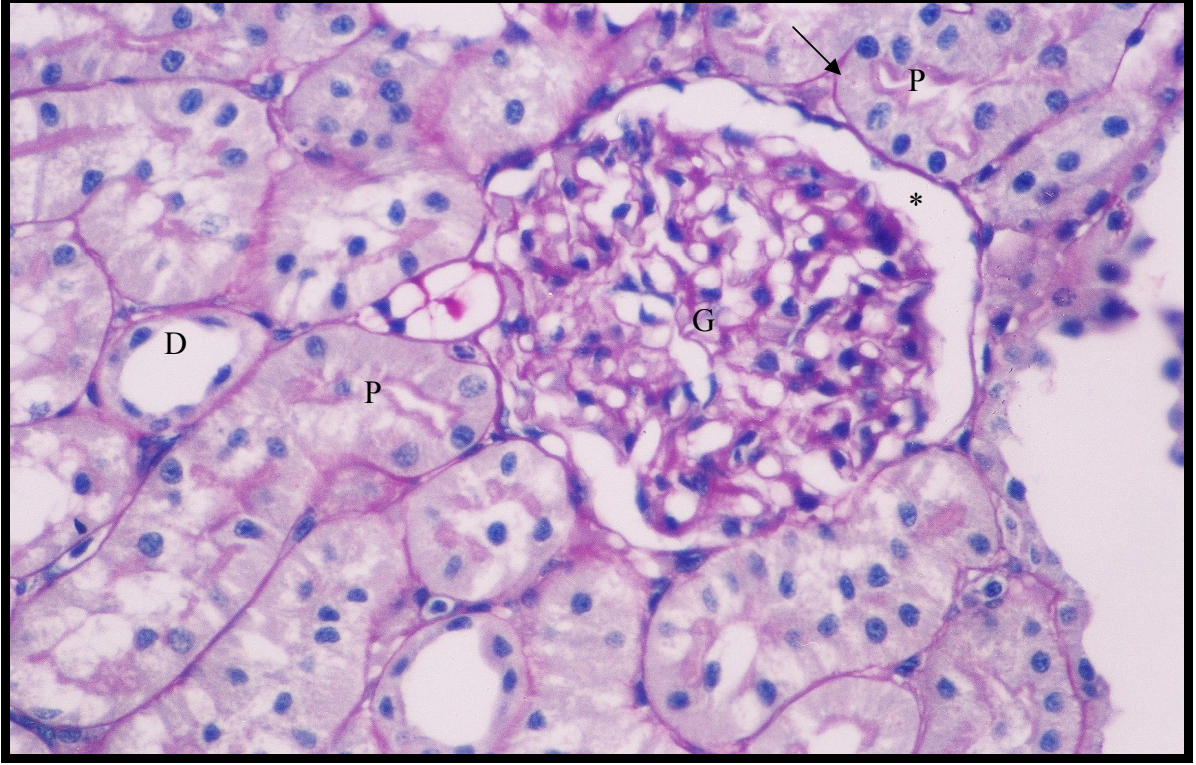
4.2.5.SOE grubu: Octreotide asetat ve epidermal growth faktör'ün birlikte uygulandığı STZ diyabetiklerde; gerek tubül ve gerekse glomerül görünümleri kontrol grubuyla hemen hemen aynıydı (Resim-19,20,21,22).



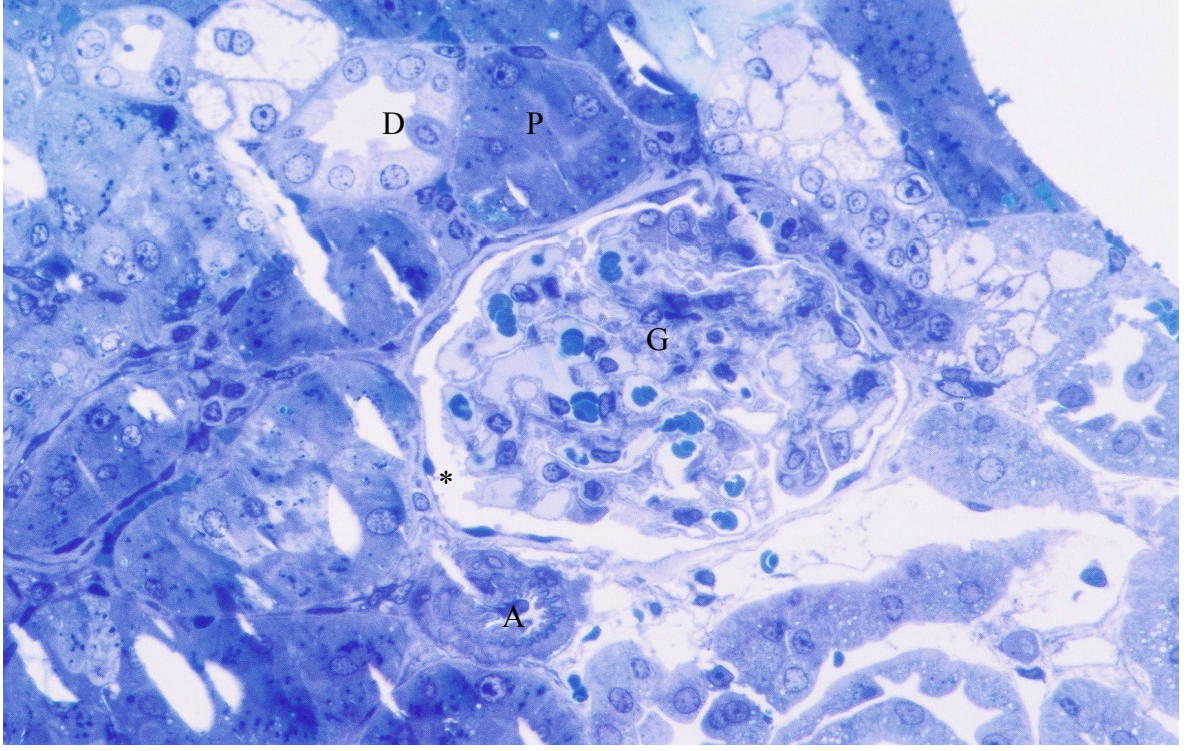
Resim-19: SOE grubu böbrek kesitinde kontrol grubuna benzer görünüm. G: Glomerül, P: Proksimal tubül, D: Distal tubül, MD: Makula densa, (H&E, orijinal büyütme X 82).



Resim-20: SOE grubu böbrek kesitinde glomerül kapillerlerinde hiperemi izlenmektedir. G: Glomerül, P: Proksimal tubül, D: Distal tubül, *:Bowman aralığı, (Heidenhein'nın Azan modifikasyonu, orijinal büyütme X 164).



Resim-21: SOE grubuna ait normale yakın böbrek dokusu. G: Glomerül, P: Proksimal tubül, D: Distal tubül, *:Bowman aralığı, Ok: Tubül bazal membranı, (PAS, orijinal büyütme X 164).

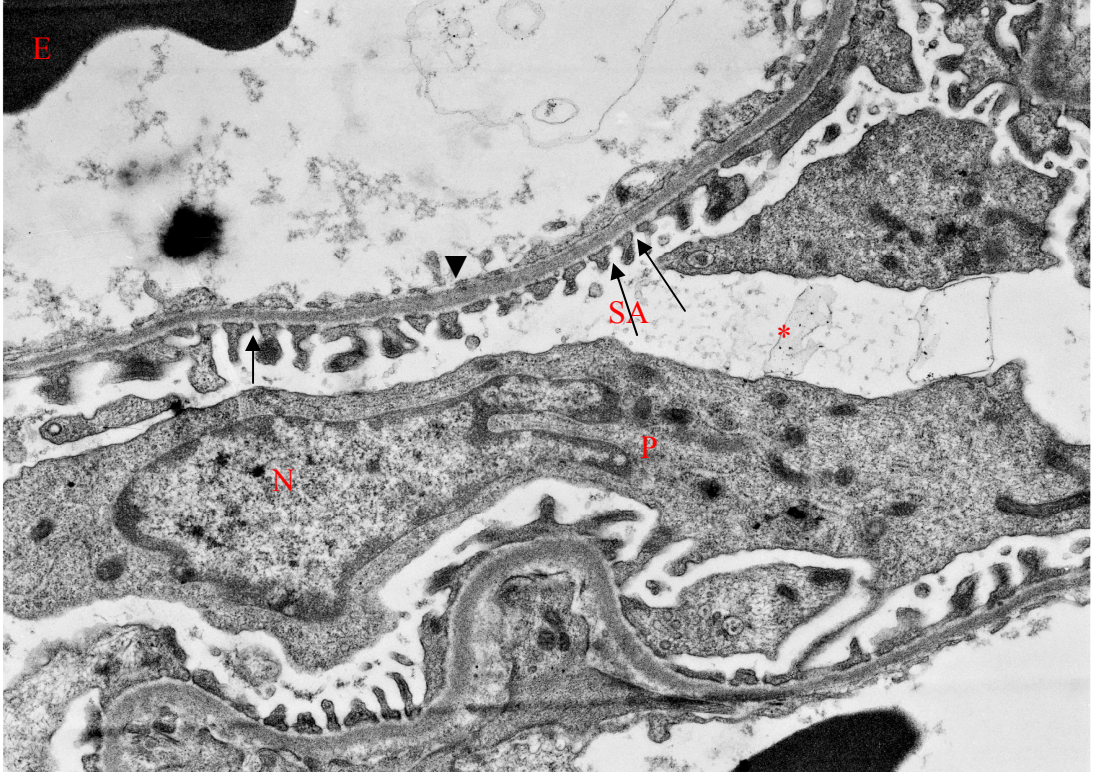


Resim-22: SOE grubu yarı ince plastik kesitinde kontrol grubuna benzer görünüm. G: Glomerül, P: Proksimal tubül, D: Distal tubül, *:Bowman aralığı, A: Arteriol, (Toluidin mavisi, orijinal büyütme x41).

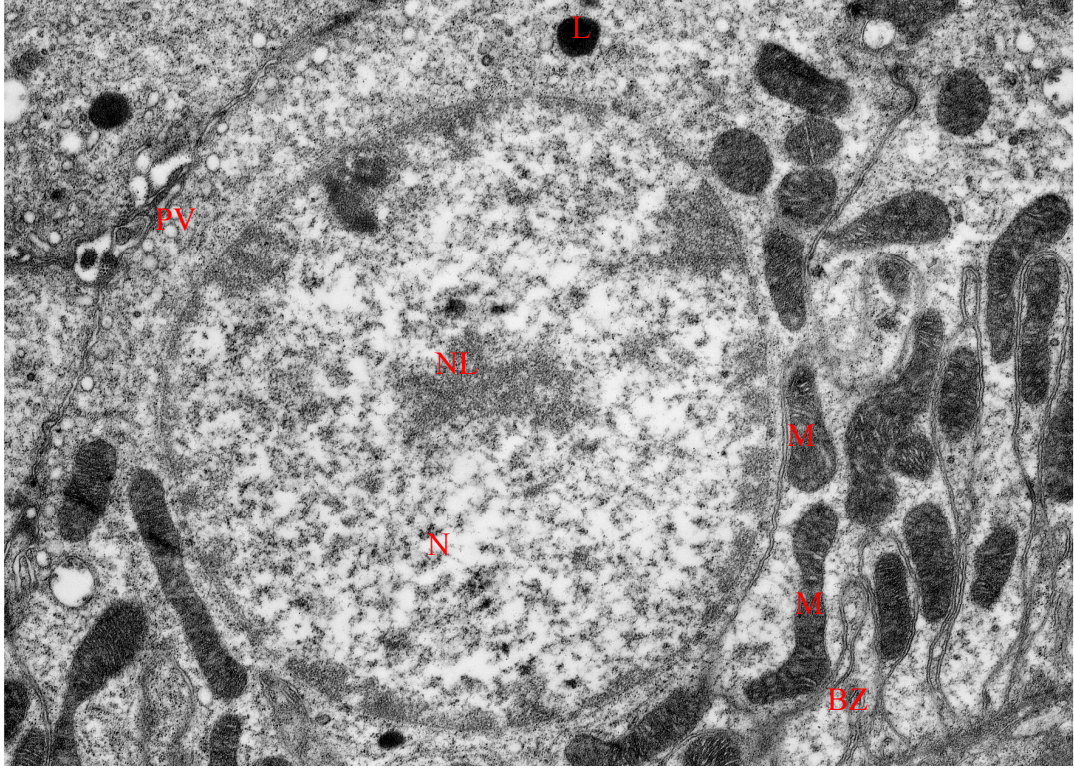
4.3. Transmisyon Elektron Mikroskopik Bulgular:

1-Kontrol Grubu TEM Bulguları:

Kontrol grubu böbrek ince kesitlerinde böbreğin süzücü membranına ait podosit çekirdeği, süzme aralıkları, kapiller endotelindeki fenestratalar, Bowman mesafesi ve kapiller lümeninde eritrositler normal histolojik yapıda izlendi (Resim-23). Tubüler alandan tesbit edilen diğer elektron mikrograflarda proksimal tubül epitel bazal membranı, çekirdek, çekirdekçik, mitokondrionlar ile proksimal tubül epitel (PTE) hücreleri arasındaki makula adherensler normal izlendi (Resim-24).



Resim-23: Kontrol grubu glomerular yapının normal görünümü. N: Podosit çekirdeği, Oklar: Süzme aralıkları, *: Bowman mesafesi, E: Eritrosit, ▼: Endotel fenestrataları, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X7000).

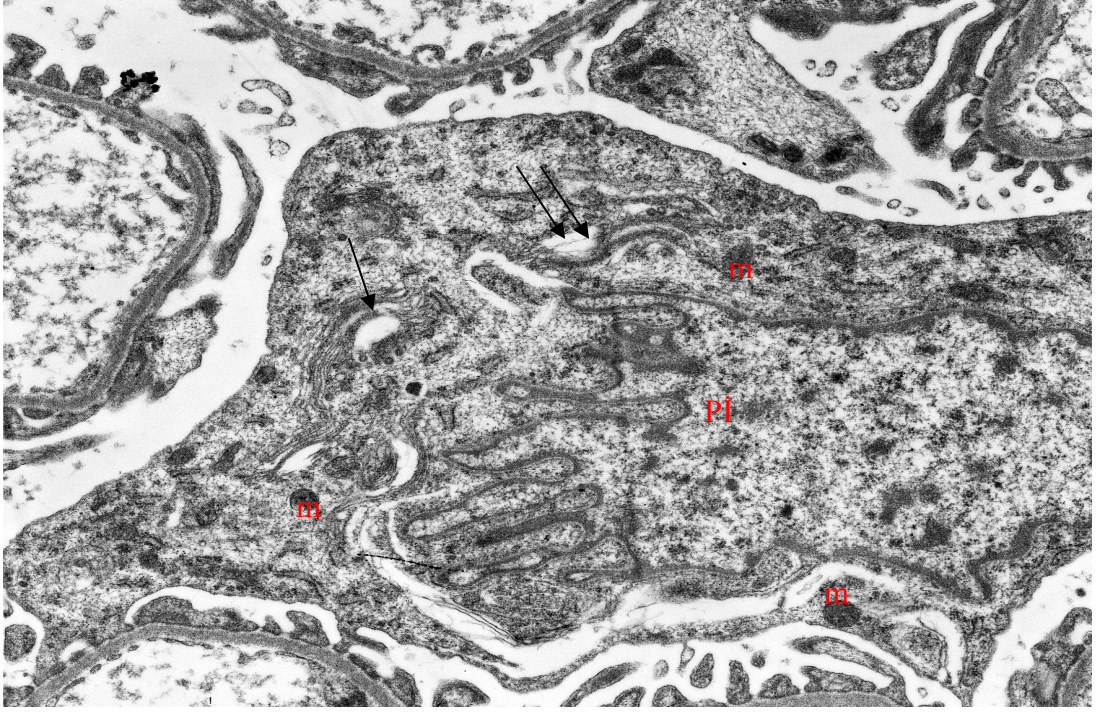


Resim-24: Kontrol grubu proksimal tubül görünümü. N: PTE çekirdeği, NL: PTE çekirdekçisi, M: Mitokondrion, L: Lizozom, PV: Pinostatik vezikül, BZ: Bazal katlantı, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 7000).

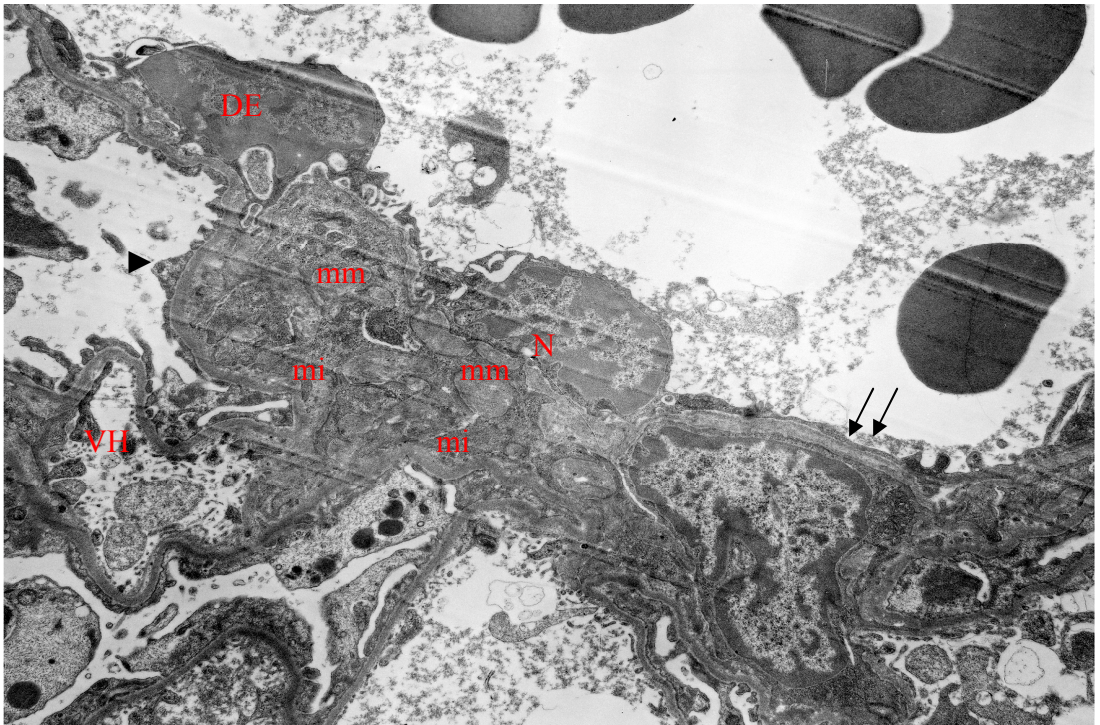
2-Streptozotosin Grubu TEM Bulguları:

Glomerul ince yapısında; podositlerin nukleusunda invaginyasyon, Golgi sisternalarında ve tubuluslarında dilatasyon, elektron yoğun izlenen mitokondrionlar (Resim-25) yanısıra pedisel ve kapiller fenestratalarında belirgin obliterasyon gözlenmesi dikkat çekiciydi (Resim-26). Glomerulde dikkati çeken diğer bir bulgu bazal membranın lamina densasında kalınlaşma ile endotelde mikrovillus transformasyonu (endotel serbest yüzeyinde mikrovillus şekillenmesi) idi (Resim-27).

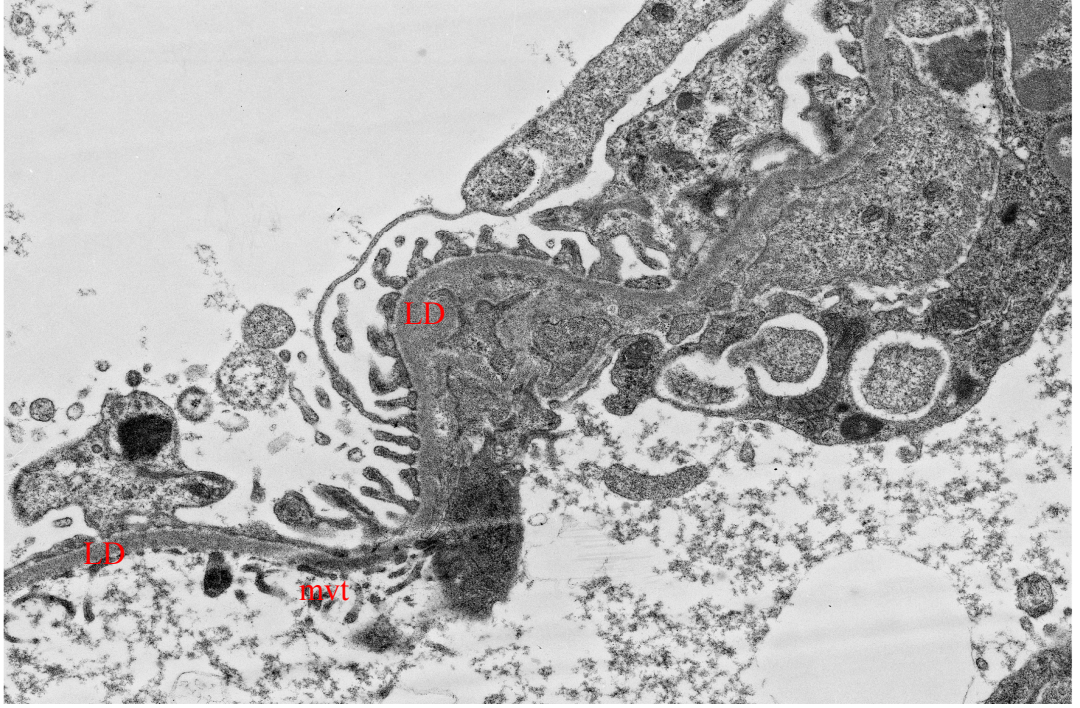
Glomerular alandaki bu değişimlerden başka, iki ayrı tubül epitel hücresine ait elektronmikrografta apikal sitoplazmada ve diğer tubül epitel hücresinin bazal labirentinde ödem saptandı. Ayrıca bazal membran olağandan daha inceydi, bazal membranın hemen altında multiveziküler ve multilameller cisimciklerin varlığı dikkat çekiciydi (Resim-28).



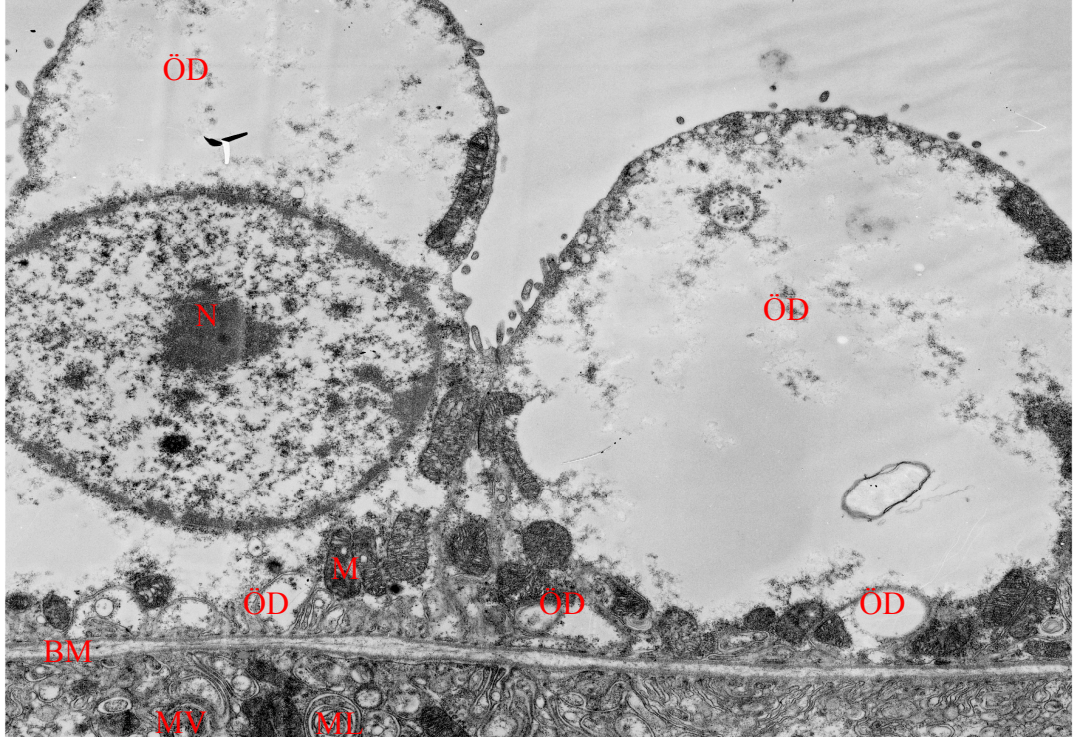
Resim-25: STZ grubu podosit nukleusunda belirgin invaginasyon, Golgi sisternalarında belirgin açılma, GER tubuluslarında dilatasyon ve mitokondrionlarda elektron yoğun görünüm. Çift ok: Dilate GER tubulusları, Pİ: Podosit çekirdeğinde invaginasyon, G: Golgi sisternaları, m: Mitokondrionlar, (Uranil asetat-Kurşun sitrat,Büyütme X 7000).



Resim-26: STZ grubu pedisel ve kapiller fenestrasyonlarında obliterasyon ile mezengial interpozisyon izlenmektedir. ►: Kapiller obliterasyonu, Çift ok: Pedisel epitel hücre obliterasyonu, mm: Mezangiyal matriks, mi: Mezangial interpozisyon, N: Endotel çekirdeği, VH: Villöz hipertrofi, DE: Dejenere endotel, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 3000).



Resim-27: STZ grubu glomerular yapıda bazal membranın lamina densasında kalınlaşma ve endotelde mikrovillus transformasyonu. LD: Lamina densada kalınlaşma, mvt: Mikrovillus transformasyonu, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 7000).



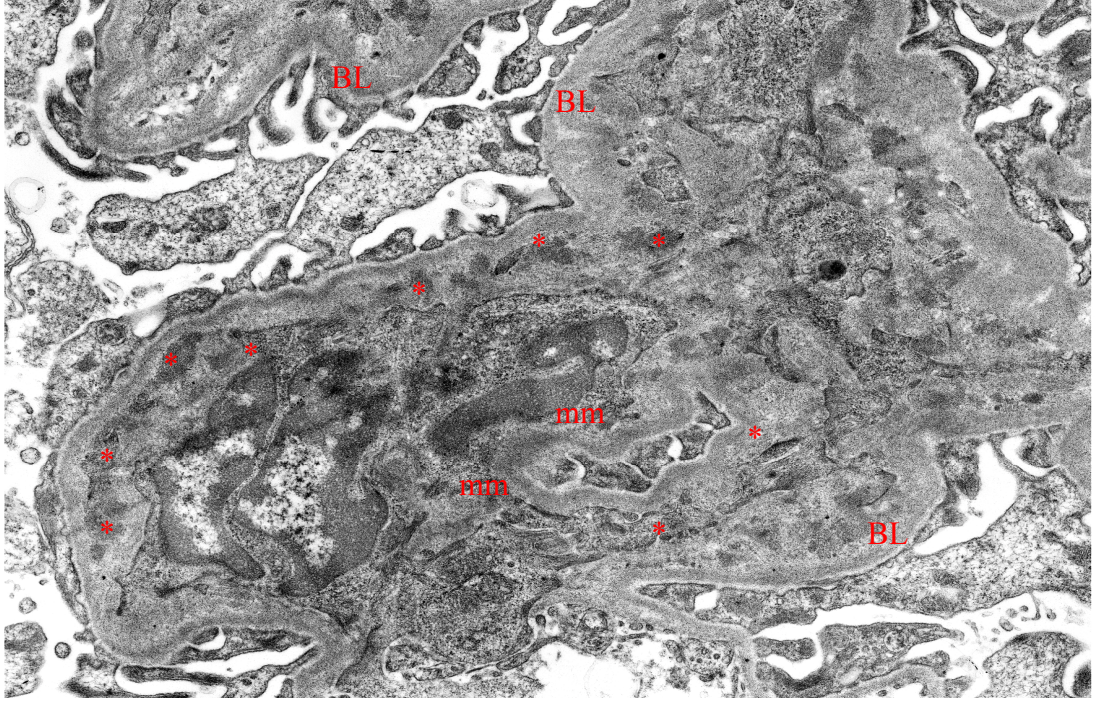
Resim-28: STZ grubu böbrek kesiti: İki ayrı tubül yapısına ait elektronmikrografta, apikal sitoplazmada ve diğer tubül epitel hücrelerinin bazal labirentinde ödem izlenmektedir. Tubül bazal membranı daha ince gözlenmektedir. N: Tubül epitel hücresi çekirdeği, ÖD: Ödem, M: Mitokondrion, ML: Multilameller cisimcikler, MV: Multiveziküler cisimcikler, BM: Bazal membran, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X4000).

3-Octreotide grubu TEM Bulguları:

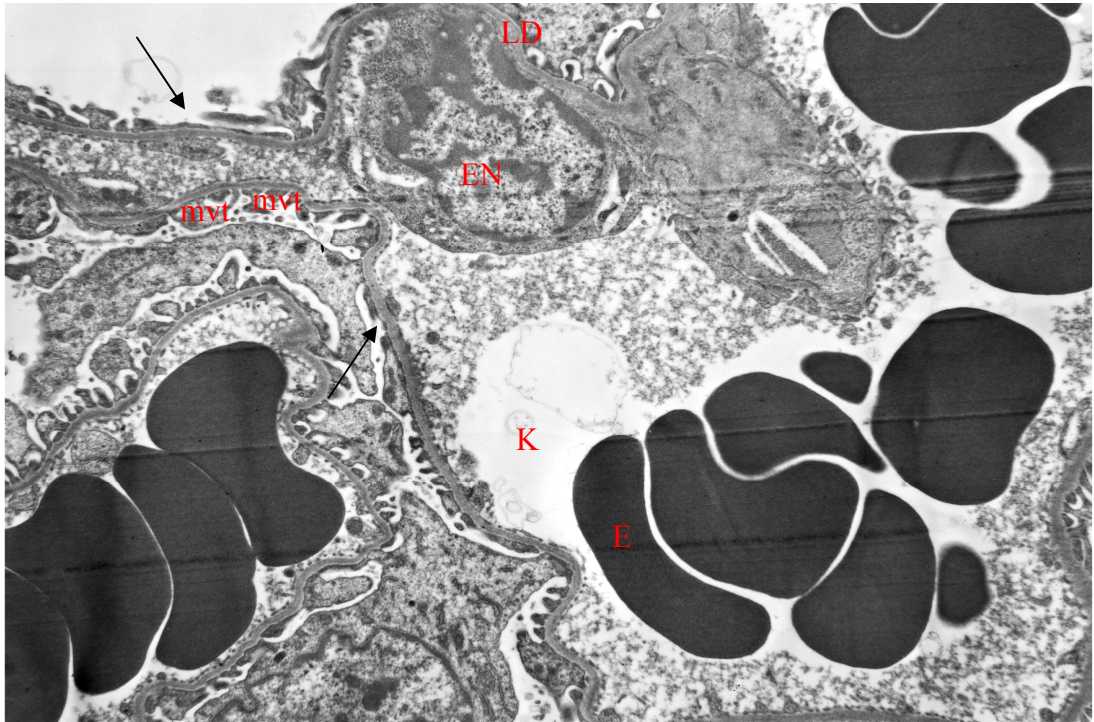
Streptozotosin ile diyabetik hale getirilen ve Octreotide asetat uygulaması yapılan deney hayvanlarının glomerullerinde, mezengial matriks artışı ve subendotelial lokalizasyon gösteren elektron yoğun birikimler izlendi. Ayrıca glomerular bazal laminada belirgin kalınlaşma dikkat çekmekteydi (Resim-29).

Diğer bir böbrek kesitinde ise, podosit hücrelerinde hafif derecede mikrovillus transformasyonu (foot proçeslerin birbirine yapışarak mikrovillus oluşturması ve foot proçeslerin süzme fonksiyonunu yitirmesi olayı), kapiller fenestralarında yer yer obliterasyon ve lamina densada lamelizasyon görüldü (Resim-30).

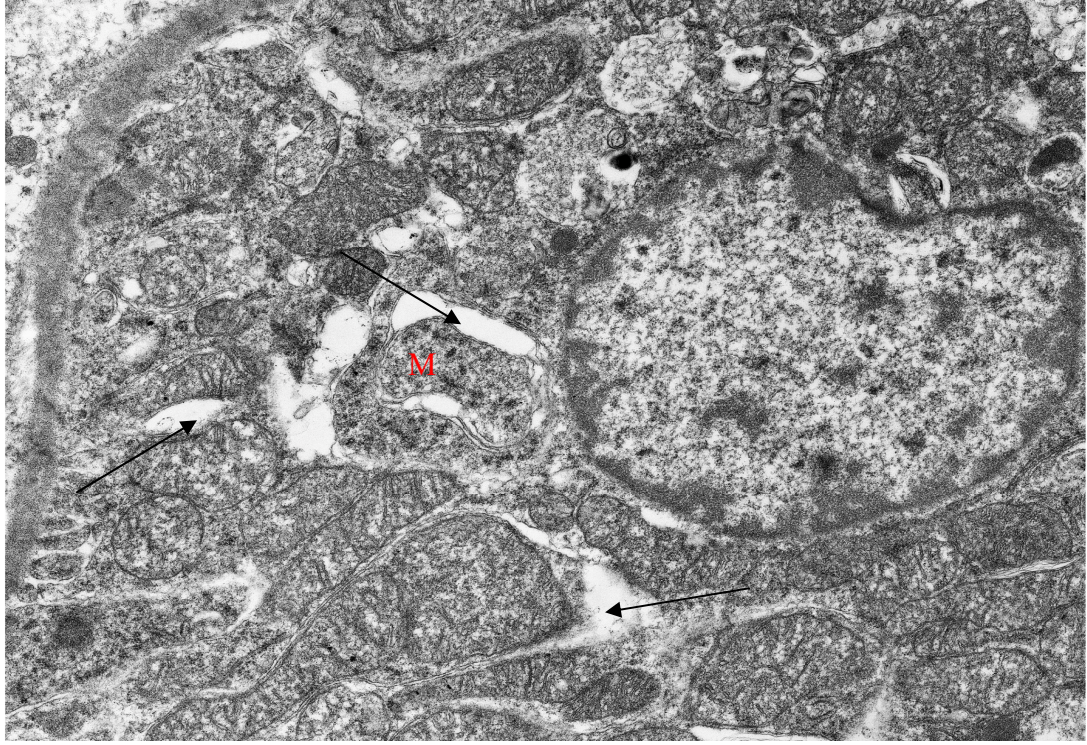
Tubular alandan alınan elektronmikrograflarda, proksimal tubül hücreleri arasındaki intersellüler aralıkta genişleme izlendi (Resim-31)



Resim-29: OCT grubu glomerular yapıda mezengial matriks artışı, subendotelial elektron yoğun birikimler ve glomerular bazal laminada belirgin kalınlaşma izlenmektedir. Mm: Mezengial matriks, *: Elektron yoğun birikimler, BL: Bazal laminada kalınlaşma, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 7000).



Resim-30: OCT grubu podosit hücrelerinde hafif derecede mikrovillus transformasyonu, kapiller fenestratalarda yer yer obliterasyon ve lamina densada lamelizasyon. LD: Lamina densa, EN: Endotel hücresi çekirdeği, K: Kapiller, E: Eritrosit, Ok: Kapiller fenestratalarında obliterasyon, mvt: Mikrovillus transformasyonu, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 3000).



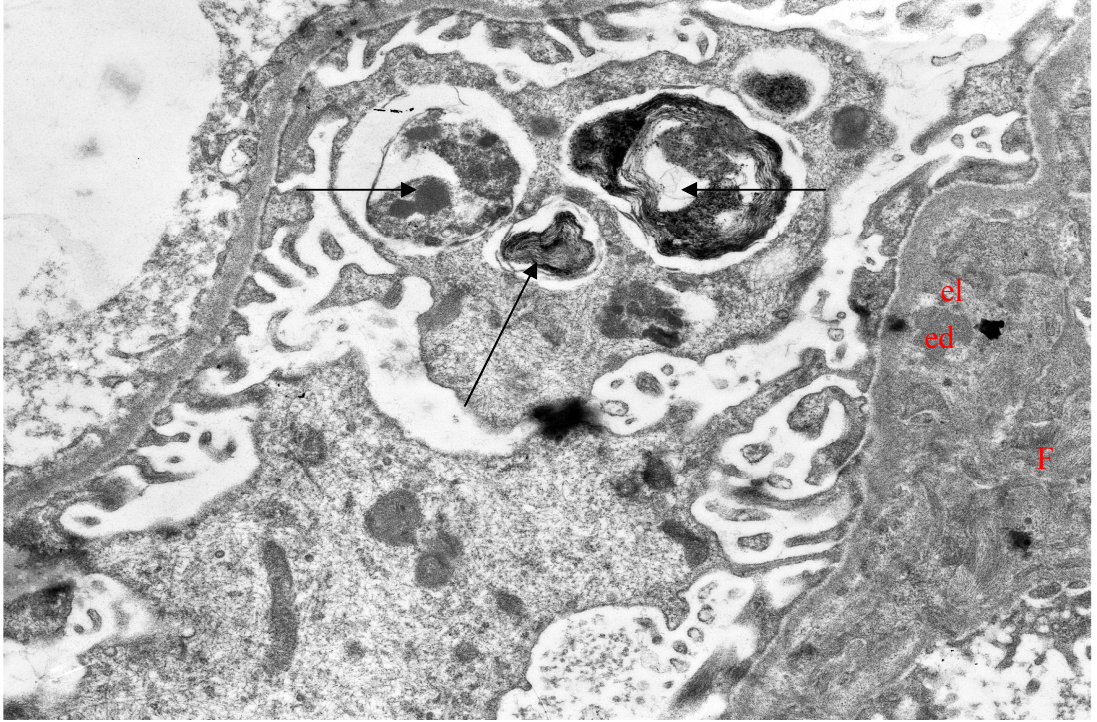
Resim-31: OCT grubu proksimal tubül epitel hücreleri arasındaki intersellüler aralıkta genişleme. Oklar: Proksimal tubül epitel hücreleri arasındaki genişleme, M: Tubüler kristaya sahip dev mitokondrion, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 7000).

4-Epidermal Growth Faktör Grubu TEM Bulguları:

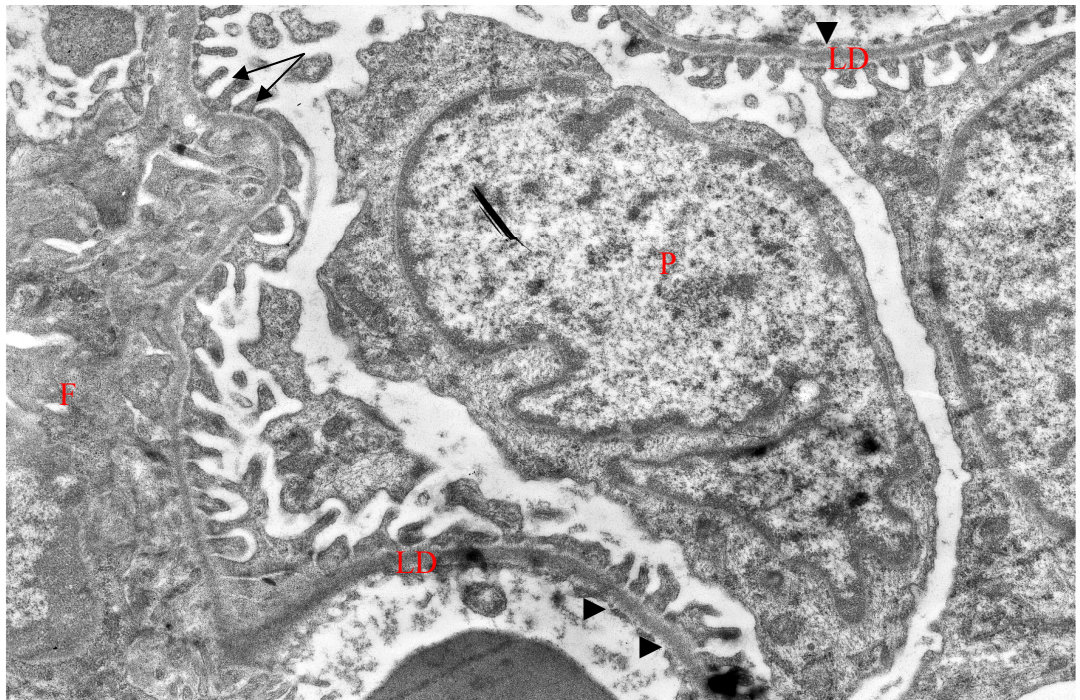
Streptozotosin ile diyabetik hale getirilen ve Epidermal Growth Faktör uygulanan deney hayvanlarının glomerul ince yapısında, podositler tarafından fagosit edilmiş apoptotik cisimciklerin yanısıra mezengiumda elektron yoğun ve elektron lüsent birikimler dikkat çekiciydi (Resim-32).

Glomerular alandan tesbit edilen diğer elektron mikrograflarda; pedisel ve kapiller fenestrataların normale yakın olduğu ancak lamina densada yer yer kalınlaşma olduğu saptandı (Resim-33).

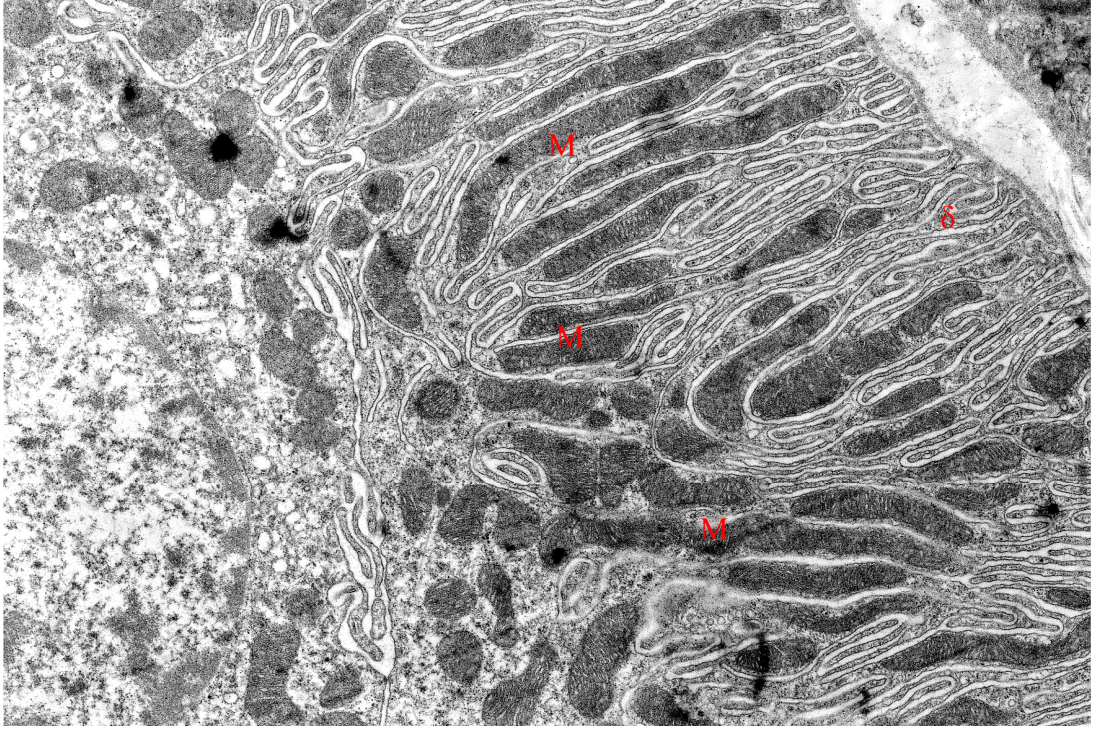
Tubular alandan alınan elektronmikrograflarda, proksimal tubül epitel hücrelerinin bazal labirentli görünümü ile vertikal oryantasyon gösteren mitokondrionlar belirgin şekilde izlendi (Resim-34).



Resim-32: EGF grubu glomerular yapı. Mezengiumda elektron yoğun, elektron lüsent ve fibriller yapı izlenmektedir. Ayrıca podositler tarafından fagosite edilmiş apoptotik cisimcikler görülmektedir. Oklar: Apoptotik cisimcikler, ed: Elektron yoğun materyal, el: Elektron lüsent materyal, F: Fibriller yapı, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 7000).



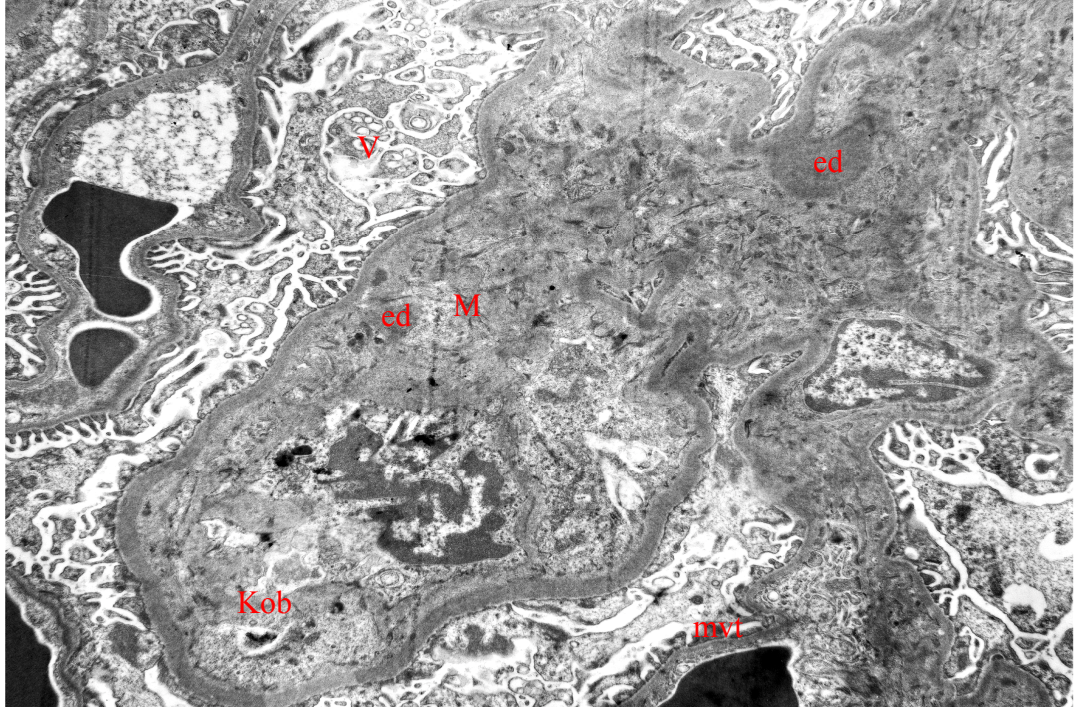
Resim-33: EGF verilen deney hayvanlarından elde edilen glomerul yapısı. Pedisel ve kapiller fenestrataların yapısı normale yakın, yer yer lamina densada kalınlaşma. P: Podosit çekirdeği, F: Fibriler yapı, ►: Kapiller fenestrata, Oklar: Pediseller, LD: Lamina densa, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 7000).



Resim-34: EGF grubu proksimal tubül bazal labirentlerinde vertikal oryantasyon gösteren mitokondrionlar. δ : Bazal labirent, M: Mitokondriyon, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 7000).

5-SOE Grubu TEM Bulguları:

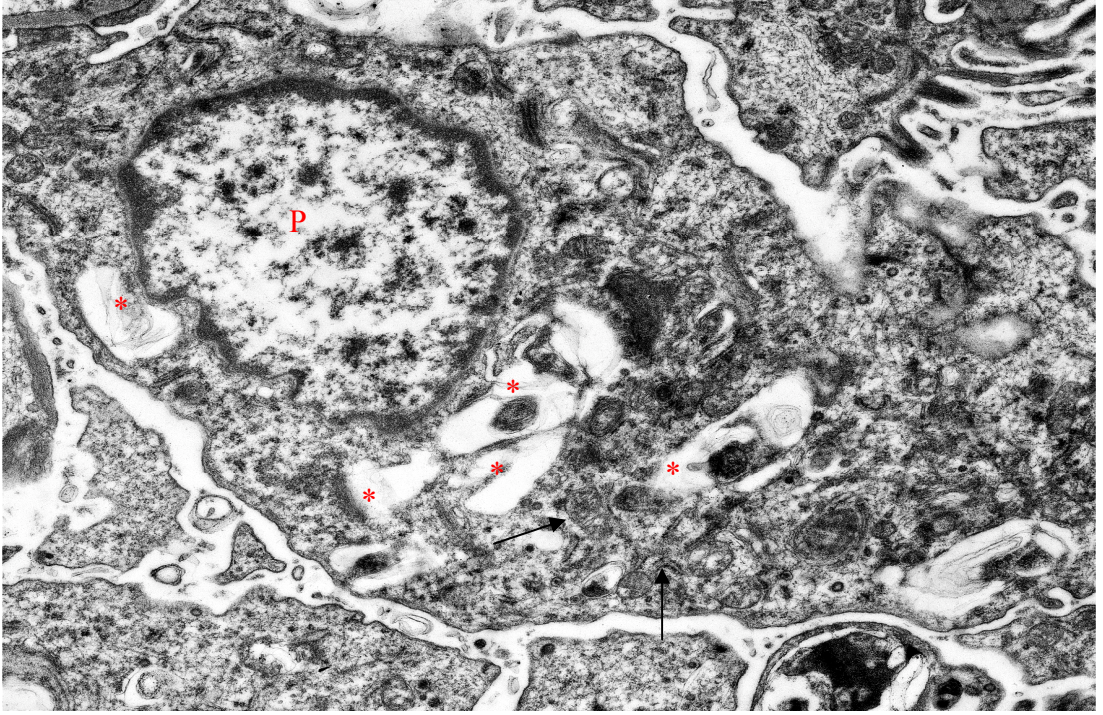
Streptozotosin ile diyabetik hale getirilen, Octreotide ve Epidermal Growth Faktör verilen deney hayvanları glomerullerinde; podosit hücrelerinde proliferasyon, sitoplazmada vakuolleşme ve mikrovillus transformasyonu izlendi (Resim-35,36,37). Ayrıca mezengial matrikste artış, elektron yoğun birikim saptandı (Resim-38). Kapiller endotelinde proliferasyon, mikrovillus transformasyonu ve yaygın vakuolleşmelerle birlikte kapiller obliterasyon gözlemlendi (Resim-35,36). Bazal laminanın normale yakın görünümde olduğu tesbit edildi (Resim-35).



Resim-35: SOE grubu glomerul yapısı. Podosit ve kapiller endotelinde mikrovillus transformasyonu yanısıra bazal laminanın normale yakın görünümü. M: Mezengiyum, ed: Elektron yoğun birikim, mvt: Epitelde mikrovillus transformasyonu, V: Pedisellerde vakualizasyon, Kob: Kapiller obliterasyon, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 3000).



Resim-36: SOE grubu podosit ve endotelde proliferasyon ile kapiller obliterasyonu. Ayrıca mezengial matrikste artış ve elektron yoğun birikim izlenmektedir. E: Hipertrofik endotel hücresi, KÖ: Kapiller ödem, M: Mezengiyum, (Uranil-asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 3000).



Resim-37: SOE grubu podosit sitoplazmasında vakuolleşme. P: Podosit çekirdeği, *: Podositlerdeki düzensiz şekilli vakuolleşme, Oklar: Dilate GER tubulusları, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 7000).



Resim-38: SOE grubu glomerul matriksinde elektron yoğun birikim ve glomerular bazal membranda kalınlaşma. GBM: GBM'da kalınlaşma, *: Mezengial matriks içerisinde elektron yoğun birikimler, (Uranil asetat-Kurşun sitrat, Büyütme X 7000).

5. TARTIŞMA

Diabetes Mellitus, insülin yokluğu veya mevcut insülinin aktivite gösterememesine bağlı olarak gelişen sistemik bir metabolizma hastalığıdır.

Deneysel Diabetes Mellitus, hayvan modellerinde genellikle Langerhans adacığı β hücrelerine toksik etkisi olan alloksan ve streptozotosin verilmesiyle oluşturulmaktadır (28,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62).

Çalışmamızda, sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan deneysel diyabet modeli ve bunlara uygulanan EGF, Octreotide ve her iki analogun kombine kullanıldığı hayvan modellerinde renal glomeruler ve tubüler yapı değişiklikleri incelendi.

Diyabetik nefropatide erken dönemde böbrek ağırlığında artış olduğu bilinmektedir (28). Nitekim bu konuda yapılan çalışmalarda, böbrek ağırlığının ilk haftada % 20 ve 6. haftanın sonunda % 100 arttığı rapor edilmiştir (63). Çalışmamızda, özellikle STZ-diyabetik diğer gruba ait sıçanların böbrek ağırlıkları kontrol grubu ile kıyaslandığında daha fazla olduğu gözlemlendi. Bu bulgu literatür bilgileriyle uyum göstermekteydi (28,58,59). Çam ve ark.(60) ve Aksoy ve ark. (64) 4 ve 6 haftalık deney sonunda diyabetik sıçanların vücut ağırlıklarında azalma olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda daha önce yapılan çalışmalara uyumlu olarak, diyabet grubundaki sıçanların kilo kaybettiğini saptadık. Octreotide uygulaması yapılan grupta total vücut ağırlığında diyabetik gruba oranla belirgin bir azalma olduğunu gözledik. Bu bulgu Octreotide'in direkt ya da indirekt olarak GH üzerinden diğer dokulardaki IGF-1 üretimini engellediğinin bir belirtisi olarak kabul edildi.

Özcan ve ark. (65) alloksan ile sıçanlarda oluşturdukları tip-1 diyabet sonrasında glomeruler skleroz, intraglomeruler mezengial hücre artışı, tubüler atrofi, dilatasyon ve vakuoller dejenerasyon izlemişlerdir. Öztürk ve ark. (55) streptozotosin ile diyabet modeli oluşturdukları sıçan böbreklerinde PAS (+) mezengial matrikste artış, kapiller bazal membranda kalınlaşma, Bowman kapsülü pariyetal yaprağında kalınlaşma izlemişler. Çalışmamızda STZ verilen grupta izlediğimiz ışık mikroskobu düzeyindeki glomerüllerdeki yapısal değişiklikler (Resim 3,4,5,6,7,8,9) literatür bilgileri ile paralellik göstermektedir (66).

Diyabette böbrek tubüllerinde glikojen depolandığı bir gerçektir, ancak depolanma mekanizması henüz bilinmemektedir. Tubül hücreleri hem bazal hem de luminal alandan artan glukoz konsantrasyonuna maruz kalırlar. Normalde, glukoz geri Emilimi proksimal ilk kısımdan (67) ve az miktarda nefronun distal kısmının (68) luminal yüzünden gerçekleşmektedir. Hiperglisemide ise, glukozun önemli bir kısmı distal tubüllerden geri

emilime uğrayabilmektedir (69). Renal tübül hücreleri, glukoz seviyesinin renal eşiğin üzerine çıkmasıyla aşırı miktarda rezorbe edilen glukozu, glikojen şeklinde biriktirirler (56,70). Buna karşın PAS ile boyanmış parafin kesitlerde glikojen birikimine rastlanmadığına dair çalışmalar da mevcuttur (65). Bizde çalışmamızda STZ-diyabetik grubun korteksin medullaya yakın bölümlerinin tübül epitel hücrelerinde farklı çap ve büyüklükte yoğun PAS (+) glikojen birikimine rastladık (Resim7,8).

Octreotide, Octreotide-EGF analogunun birlikte verildiği gruplarda ise tübüler glikojen birikimi diyabet grubuna göre azalmıştı (Resim 12,13,17,21). Kanımızca bu azalma hipergliseminin azalmasına bağlıdır.

Çalışmamızda STZ verilen grubun tübül lümenlerinde izlediğimiz protein birikimi (Resim 6) teyit eden raporlar da mevcuttur (53,62).

Özcan ve ark. (65) alloxan ile sıçanlarda oluşturdukları tip-I diyabet sonrasında tübüler atrofi, dilatasyon, vakuoler dejenerasyon ve çeşitli çapta tanecikler izlemişlerdir. Vardı ve ark. (56) streptozotosin ile tip-I diyabet oluşturdukları sıçan böbreklerinde hidropik değişiklikleri gösteren hücre şişmesi ile intrasitoplazmik vakuolizasyon tesbit etmişler. Evan ve ark. (62) streptozotosin uygulaması sonucu sıçan böbrek tübüllerinde atrofi, dilatasyon ve proksimal tübüllerde fırçamsı kenarda belirsizlik izlemişler. Biz çalışmamızda streptozotosin ile diyabetik yaptığımız sıçan böbrek tübüllerinde vakuoler dejenerasyon, dilatasyon ve fırçamsı kenarda silinme izlememize karşın tübüler atrofi ve tübül epitel hücrelerinin sitoplazmasında da farklı çapta tanecikler izlemedik.

Çalışmamızda, sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde ışık mikroskopik çalışmanın yanısıra, renal glomeruler ve tübüller ultrastrüktürel değişiklikleri de inceledik.

Yakın zamanlarda, gerek hayvan deney modellerinde gerekse insan biopsi materyallerinde yapılan ince yapı düzeyindeki araştırmalar, glomeruler değişiklikler üzerinde yoğunlaştırılmıştır. Diyabette, glomerulde izlenen başlıca yapısal değişiklikler bazal lamina kalınlaşması, mezengial hücre artışı, endotel hücre sitoplazmasında yer alan fenestratalardaki düzensizlik ve pedisellerde erime özellik gösteren bulgulardır (57,60,61,62,65,71). Glomerul ince yapı düzeyindeki bulgularımız önceki araştırmacıların bulguları ile uyumludur.

Daha önce yapılan çalışmalarda diyabette gelişen glomeruler bazal membran (GBM) kalınlığının tip IV kollajen, laminin ve fibronektin sentezindeki artıştan dolayı meydana geldiği gösterilmiştir (60,72,73,74). Diyabetik nefropatide GBM kalınlaşması nedeni,

ekstrasellüler matriksin üretimi ve yıkımı arasındaki dengesizlikten kaynaklanmaktadır (75,76). Diyabetik sıçan ve farelerin glomerular mezengiumda tip IV kollajen ve laminin biriktiği immunofloresan tekniklerle ortaya konulmuştur (72,74). Diyabette erken değişikliklerden birisi glomerular bazal membranda heparan sülfat proteoglikan miktarının azalmasıdır (77). Bunun nedeni hiperglisemi'nin heparan sülfat proteoglikan sentezini baskılaması sonucudur (78). Çalışmamızda, STZ ile oluşturulan böbreklerin GBM'da kalınlaşma çok belirgin olmasına karşın (Resim 27), Oct ve SOE gruplarında nisbi bir kalınlaşma (Resim 29,33,38) izlendi.

STZ ile diyabet oluşturulan böbreklerin glomerular alanlarından alınan elektronmikrograflarda rastladığımız diğer bir bulgu kapiller obliterasyonu ve mikrovillus transformasyonudur. Bu bulgular literatürlerde yer alan bulgularla benzerlik göstermektedir (53,62).

Daha önce yapılan çalışmalardan (53,76) farklı olarak, çalışmamızın EGF grubu böbrek podosit hücrelerinde apoptotik cisimcikler ve mezengiumda eletron yoğun birikimler saptadık (Resim-32).

Deneysel diyabet modelinde, tubül hücrelerinde izlenen yapısal değişiklikler; tubül bazal lamina kalınlaşmaları, bazal katlantıların boylarında kısalma, mitokondriyonların krista yapılarında bozulma, intramitokondriyal taneciklerin artışı ve hacim büyümeleri, sitoplazmalarında artmış vakuoler görünüm ve proksimal tubül hücrelerinde mikrovillus kayıpları şeklindedir (54,57,60,62,65). Bizim STZ grubundaki bulgularımız literatür bulgularıyla uyumluydu.

Çalışmamızda, Octreotide, EGF ve her iki analogun kombine uygulandığı STZ diyabetiklerde de yer yer diyabetik grupta gözlenen tubül dejenerasyonlarına rastlanmasına rağmen kontrol grubuna benzer görüntüler saptandı (Resim 31,34,39).

SONUÇ:

- a- Diyabetik grupta izlenen glomerul ve tubül dejenerasyonuna EGF'nin kısmen etkili olduğu,
- b- Çalışmada kullandığımız somatostatin analogu octreotide'nin STZ diyabet modelinde, diyabetik nefropatinin ilerlemesini yavaşlattığı ve renal doku hasarını düzeltmede etkili olduğu,
- c- Diyabetik grupta gözlenen böbrek hasarını önlemede octreotide ve EGF kombinasyonunun daha etkin olduğu kanaatine varıldı.

6.KAYNAKLAR:

- 1- Yenigün M, Altuntaş Y., Her Yönüyle Diabetes Mellitus, 2. baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul: 2001: 3-6, 51-62, 383-389, 285-513
- 2- Hatemi H: Diabetes Mellitus'un tarihçesi: Aktüel tıp dergisi: 1996, 7:479-499
- 3- Satman I, Yılmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, Bastar I, Tutuncu Y, Sargin M, Dinccag N, Karsidag K, Kalaca S, Ozcan C, King H. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP): Diabetes Care 2002; 25(9):1551-6
- 4- American Diabetes Association; Diabetes care; 27 (suppl.1) 5-10,2004
- 5- Satman I, Sağlam H,. Diabetes Mellitus ve ilgili sorunların tedavisi: 4.baskı, Türkiye: 2004: 5-7
- 6- Palmer JP. Predicting IDMM: Diabetes Rewieus 1991;1:1039-1057
- 7- Toumiletto J, Zimmet P, Mackay IR et all. Antibodies to glutamic acid decarboxylase as predictors of IDMM before clinical onset of disease: Lancet 1994; 343: 133-135
- 8- Herman WH. Eye disease and nephropaty in NIDMM: Diabetes care 1990; 13: 24-29
- 9- Büyükdeyrim SA, Büyükmeşe MA, Davutoğlu M., Diyabetik Nefropati, Klinik, Moleküler Patogenez, Klasik ve Moleküler Tedavi, 1. baskı,Turgut Yayıncılık, İstanbul :2005: 84-89, 114-128, 481-485
- 10- Böhle A,Wehrmann M, Bogenschutz O, Batz C, Muller GA. The pathogenesis of chronic renal failure in diabetic nephropaty: investigation of 488 cases of diabetic glomerulosclerosis: Pathol Res Prac 1991; 187:251-259
- 11- Farquar A, MacDonald MK, Ireland JT. The role of fibrin deposition in diabetic glomerulosclerosis: A light, electron and immunoflorecence microscopy study: J Clin Pathol 1972; 25:657-667
- 12- Kimmelsteil P, Kim OJ, Beres J. Studies on renal biopsy specimen, with the aid of the electron microscope:I. Glomeruli in diabetes: Am J Clin Pathol 1962; 38:270-296
- 13- Karshima T, Schally Aw. Superactive somatostatin analog decreases plasma glucose and glucagon levels in diabetic rats: Peptides 1998; 9:561-565
- 14- Serri O, Beauregard H, Brazeau P, Aribat 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

- 15- Flyvbjerg A, Marshall SM, Frystyk J, Hansen KW, Harris AG, Orskov H. Octreotide administration in diabetic rats: Effects of renal hypertrophy and urinary albumin excretion: *Kidney Int* 1992; 41:805-812
- 16- Flyvbjerg A, Hill C. And Logan A. Pathophysiological role of growth factors in diabetic kidney disease; focus on innovation therapy: *TEM* 1999; 10:267-272
- 17- Nergiz Y. Yüksek dozda aspirin verilen farelerin böbreklerinde meydana gelen histopatolojik değişiklikler: *D.Ü.Tıp Fakültesi Dergisi* 1985;12(2-3):39-49
- 18- Nergiz Y, Bilgin UY, Çetiner A. Gentamisin'in böbrekler üzerine toksik etkisi: *D.Ü.Tıp Fakültesi Dergisi* 1989; 16 (1): 92-100
- 19- Nergiz Y, Ketani A, Akdağ Z, Ersay A, Çelik S. Effect of low-intensity microwave radiation on rat kidney: An ultrastructural study: *Turk J Med Sci* 2000; 30: 223-227
- 20- Flyvbjerg A, Schuller AG, van Neck JW, Groffen C, Orskov H, Drop SL. Stimulation of hepatic insulin-like growth factor-binding protein-1 and -3 gene expression by octreotide in rats: *J Endocrinol* 1995; 147:545-551
- 21- Igarashi K, Nakazawa Ai, Tani N, Yamazaki M, Ito S, Shibata A. Effect of a somatostatin analogue (SMS 201-995) on renal function and urinary protein excretion in diabetic rats: *J Diabet Complications* 1991; 5:181-183
- 22- 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
- 23- Flyvbjerg A, Bornfeld KE, Marshall SM, Arnquist HJ, Orskov H. Kidney IGF-1 mRNA initial renal hypertrophy in experimental diabetes in rats: *Diabetologia* 1990; 33:334-338
- 24- 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):12-19
- 25- Feld S, Hirschberg R. Insulin like growth factor-1 and the kidney: *Trends Endocrinol Metab* 1996; 7:85-93
- 26- Hirschberg R. IGF-1 and the kidney: *J Lab Clin Med* 1993; 122:636-638
- 27- Orskov H, Flyvbjerg A, Frystyk J, Gronbaek H, Foegh M, Harris AG. IGF-1 and acute renal hypertrophy: Inhibition by somatostatin analogues: *Transplantation Proceeding* 1993; 25(N2):2061-2062
- 28- Tunçdemir M, Öztürk M. Octreotide'nin yenidoğan streptozotocin diyabetik sıçan böbreği ve IGF-1 düzeyleri üzerine etkileri: *Cerrahpaşa J Medicine* 2002; 33 (2): 117-123

- 29- Carpenter G, Cohen S: Epidermal growth factor: Annular Rewiew Biochemistry 1979; 48: 193-216
- 30- Cohen S. Epidermal growth factor receptor: Angew Chemistry Ed. Engl 1987; 26:717-722
- 31- Savage CR, Inogoomi R, Cohen S: The primary structure of epidermal growth factor: Endocrinology 1972; 247:7612-21
- 32- Taylor JM., Mitcheet WM., and Cohen S. Regulation of testicular function by insulin and transforming growth factor: BJ Biol. Chemistry 1972; 247: 5928-34
- 33- Starkey Hr, Cohen S, Orth ND. Epidermal growth factor: Identification of a new hormone in human urine: Science 1975; 189: 800-802
- 34- Brayer JA, Cohen S. The epidermal growth factor precursor isolated from kidney membrane: Nature 1990; 265:16564-70
- 35- Salid M. Epidermal growth factor receptor: Annu. Rev. Physiol 1985; 51:67-70
- 36- Leslie B. Mouse prepro-epidermal growth factor synthesis by the kidney and other tissues: Nature 1985; 313:228-31
- 37- Fervanee Fc, Tsao T, Rabkin R. Response of intrarenal insulin-like growth factor-I axis to acute ishcemic injury and treatment with growth hormone and epidermal growth factor: Kidney Int 1996; 49(2):344-54
- 38- Nakopolou L, Stefanaki K, Boletis J. Immunohistochemical study of epidermal growth factor receptor in various types renal injury: Nephrol Dial. Transplant 1994; 9(7):764-9
- 39- Chailier P, Briere N. Mitogenic effects of EGF/TGF alpha and immunolocalization cognate receptor in human fetal kidneys: Biofactors 1998; 7(4):323-35
- 40- Gilbert RE, Cox A, McNally PC, Wu LL, Dziadek M, Cooper ME, Jerums G. Increased epidermal growth factor in experimental diabetes related kidney growth in rats: Diabetologia 1997; 40: 778-785
- 41- Abban G, Görgün M, Erdoğan D, Erbaş D. Epidermal growth faktörünün yenidoğan farelerin böbrek gelişimi üzerine etkisinin ince yapı düzeyinde incelenmesi: PA.Ü.T.F. Dergisi 2001; 7:38-42
- 42- Öztürk Y, Altan V.M, Arı N. Diabetic complication in experimental models. Turk Journal of Medical Sciences 1998; 22:331-341
- 43- Szkudelski T. The mechanism of alloksan and streptozotocin action in β cells of the rat pancreas: Physiol Re 2001; 50:536-546

- 44- Lenzen S, Munday R. Thiol-group reactivity, hydrophilicity and stability of alloxan, its reduction and its N-methyl derivatives and a comparison with ninhydrin: *Biochem Pharmacol* 1991; 42: 1385-1391
- 45- Katsumata K, Katsumata K, Jr., Katsumata Y. Protective effect of diltiazem hydrochloride on the occurrence of alloxan-or-streptozotocin-induced diabetes in rats: *Horm Metab Res* 1992; 24:508-510
- 46- Katsumata K, Katsumata Y, Ozawa T, Katsumata K, Jr. Potentiating effects of combined usage of three sulfonylurea drugs on the occurrence of alloxan diabetes in rats: *Horm Metab Res* 1993; 25: 125-126
- 47- Ganda OP, Rossi AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes: *Diabetes* 1976; 25:595-603
- 48- Junqueira LC, Carneiro J., *Basic Histology Text & Atlas*, 10.th edition, Lange Medical Books, Mc Graw Hill: 2003: 383-401
- 49- Michail H.Ross, Gordon I. Kaye, Wojciech Pawlina., *Histology A Text and Atlas*. 4.th edition, USA: 2002: 607-615,
- 50- Görgün, M., D Erdoğan, M. Çam. G. Abban, "EGF'nin Diabetteki Böbrek İnce Yapı Değişimlerine Etkisi", 4. *Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi*, 8-11 Eylül, Diyarbakır, 103,1998
- 51- Reynolds G., *Handbook of histological techniques*, 2 nd edition, Department of Histology, London: 1990: 5-36
- 52- Demir R., *Histolojik Boyama Teknikleri*, 1.baskı, Ankara: 72 , 184
- 53- Gross ML, Ritz E, Schoof A, Adamczak M, Koch A, Tulp O, Parkman A, El-Shakmak A, Szoba A, Amann K. Comparison of renal morphology in the streptozotocin and the SHN/N-cp models of diabetes: *Laboratory Investigation* 2004; 84: 452-464
- 54-Rasch R. Tubular lesions in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 1984; 27:32-37
- 55-Öztürk F, Iraz M, Eşrefoğlu M, Kuruş M, Gül M, Otlu A. Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler: *İnönü Üni. Tıp Fak. Dergisi* 2005; 12 (1): 1-4
- 56-Vardı N, Iraz M, Öztürk F, Uçar M, Gül M, Eşrefoğlu M, Otlu A. Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatonini iyileştirici etkileri: *İnönü Üni. Tıp Fak. Dergisi* 2005; 12 (3): 145-152

- 57-Onarlıoğlu B, Grsoy E. Deneysel diabetes mellitus'da bbreklerin ince yapısı: Dođa-Tr. J. of Medical Sciences 1990; 14: 409-415
- 58-Thulesen J, Poulsen SS, Jorgensen PE, Nexo E. Adrenergic blockade in diabetic and uninephrectomized rats: Effects on renal size and on renal and urinary contents of epidermal growth factor: Nephron 1999; 81: 172-182
- 59-Wassef L, Kelly JD, Gilbert ER. Epidermal growth factor receptor inhibition attenuates early kidney enlargement in experimental diabetes: Kidney International 2004; 66: 1805-1814
- 60-Çam M, Yavuz Ö, Güven A, Ercan F, Bukan N, Üstündađ N. Protective effects of melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats: J Pineal Res 2003; 35: 212-220
- 61-Erensoy N, Yılmazer S, Öztrk M, Matem T, Uysal Ö, Hsrev H. Effects of ACE inhibition on the expression of type IV collagen and laminin in the renal glomeruli in experimental diabetes: Acta Histochemica 2004; 106: 279-287
- 62-Evan PA, Mong AS, Connors AB, Aronoff GR, Luft FC. The effects of alloxan-induced diabetes on the kidney: The Anatomical Record 1984; 208: 33-47
- 63-Seyer-Hansen K. Renal hypertrophy in streptozotocin-diabetic rats: Clin Sci Mol Med 1976; 51: 551-555
- 64- Aksoy N, Vural H, Sabuncu T et al. Effects of melatonin on oxidative-antioxidative status of tissues in streptozotocin-induced diabetic rats: Cell Biochemistry and Function 2003; 21: 121-125
- 65-Özcan O, Kkner A, Karaz E, Dađdeviren A. Sıçanlarda alloksanın neden olduğu diabetes mellitus'da bbrekte ince yapı değişiklikleri: GATA Blteni 1992; 34: 747-758
- 66- Rasch R, Norgaard JOR. Renal enlargement: Comparative autoradiographic studies of ³H- Timidine uptake in diabetic and uninephrectomized rats: Diabetologia 1983; 40: 280-287
- 67- Robbins SL. The reversibility of glycogen nephrosis in alloxan-treated diabetic rats: Am J Med Sci 1950; 219: 376-381
- 68- Schmidt U, Guder WG. Sites of enzyme activity along the nephron: Kidney 1976; 9: 524-526
- 69- Bayer HV, Haeberte DA, Van Liew JB, Hare D. Glomerular tubular balance of renal D-glucose transport during hyperglycosemia: Pflgers Arch 1980; 384:39-47

- 70- McCance KL, Huether Se,. Pathophysiology the biologic basis for diseases in adults and children: In: McCane KL., Altered cellular and tissue biology. Second edition. Mosby 1994: 73
- 71- Bulut HE, Onarlıoğlu B, Kaloğlu C, Özdemir Ö, Ayan S. Effects of experimental diabetes and insulin treatment on rabbit renal morphology: A quantitative and qualitative study: Turk J Med. Sci 2001; 31: 209-216
- 72- Haffernan S, James V, Zilkens R, Kirwan P et al. Changes of extracellular matrix in a baboon model of insulin dependent diabetes: studies using electron microscopy and X-ray diffraction technique: Diabetes Res Clin Pract 1996; 34: 65-72
- 73- Park IS, Kiyomoto H, Abboud SL, Abboud HE. Expression of transforming growth factor-beta and type IV collagen in early streptozotocin-induced diabetes: Diabetes 1997; 46: 473-480
- 74- Striker GE, Eastman RD, Striker LJ. Diabetic nephropathy. Molecular analysis of extracellular matrix and clinical studies update: Nephrol Dial Transplant 1996; 11 (Suppl. 5): 58-61
- 75- Funabiki K, Makito Y, Yamamoto M, Shike T, Fukui M, Sumiyoshi Y, Tomino Y. Dissociated expression of collagen type IV subchains in diabetic kidneys of KKAY mice: Nephron 1998; 80: 208-213
- 76- Tamsma JT, Van den Born J, Bruijn JA et al. Expression of glomerular extracellular matrix components in human diabetic nephropathy: decrease of heparan sulphate in the glomerular basement membrane: Diabetologia 1994; 37: 313-320
- 77- Kanwar YS, Veis A, Kimura JH et al. Characterization of heparan sulfate proteoglycan of glomerular basement membranes: Proc Natl Acad Sci USA 1984; 81: 762-766
- 78- Yaotita E, Oguri K, Okayama E et al. Isolation and characterization of proteoglycans synthesis by cultured mesangial cells: J Biol Chem 1990; 265: 522-531