

DENEYSEL DİABETES MELLİTUS'DA BÖBREK HİSTOLOJİSİ VE SELENYUM İLE E VİTAMİNİNİN YARATTIĞI DÜZELTİCİ ETKİLER

Dr. Birkan YAKAN (x)
Dr. Adnan ERİM (xx)

ÖZET :

Bu çalışmada, sıçanlarda streptozotosin ile yaratılan deneysel diabette, böbreklerin yapısı ve selenyum ile E vitamininin düzeltici etkisi araştırıldı. Diabetik böbrekte glomerulda PAS pozitif materyalle dolu mezangial hücreler sayıca arttı. Selenyum ve E vitamininin birlikte uygulanması durumunda PAS pozitif boyanan mezangial hücrelerde sayıca azalma gözlemlendi. Ayrıca diabetli böbrekte glomeruldeki bazal membranlarda kalınlaşma vardı. Ancak E vitamini ve selenyum etkisiyle glomerul bazal membran kalınlaşmasında bir geriye dönüş saptanamadı. Tubuluslarda ise, glomerule yakın distal tubuluslarda daha belirgin olmak üzere hem distal hem de proksimal tubuluslarda diabet ile PAS pozitif materyal birikimi arttı. E vitamini ve selenyumun beklenen düzeltici etkisi, proksimal ve distal tubuluslarda da saptanamadı.

GİRİŞ

Diabet, insanlarda ve deney hayvanlarında fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olmaktadır (1,3,4,5,7,12,16,17,18). Böbreklerde oluşan değişiklikler ise diffüz glomeruloskleroz, nodüler glomeruloskleroz, eksudatif lezyonlar, benign nefrakleraz olarak da bilinen arteriolaskleroz ve bakteriyel üriner enfeksiyonlardır (5,7). Antioksidan etkiye sahip E vitamininin yüksek dozlarda muskuler distrofi, menapoz sendromu, diabet, sekleroderma, infertilite ve kanserin önleminde gittikçe artan bir öneme sahip olduğu bildirilmektedir (2). Yine selenyumun memelilerde büyüme ve fertilite için gerekli bir eser element olduğu ve antioksidan olarak E vitaminiyle birlikte kullanıldığında laboratuvar hayvanlarında kanser oluşumunu engellediği bildirilmektedir (6).

Biz de deneysel olarak sıçanlarda streptozotosin ile yaratılan diabette böbreklerde gelişen yapısal bozukluğu ve E vitamini ile selenyumun bu bozuklukta etkilerini araştırmayı amaçladık.

(x): Atatürk Üniv. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji B. An. Dah. Y. Doç. Dr.

(xx): Atatürk Üniv. Tıp Fak. Patoloji Ana Bilim Dalı Arş. Görv.

MATERYEL VE METOD

Çalışmamızda İ.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezi (DETAM)'nde yetiştirilen Wistar albino türü 16 erişkin erkek sıçan denek olarak kullanıldı.

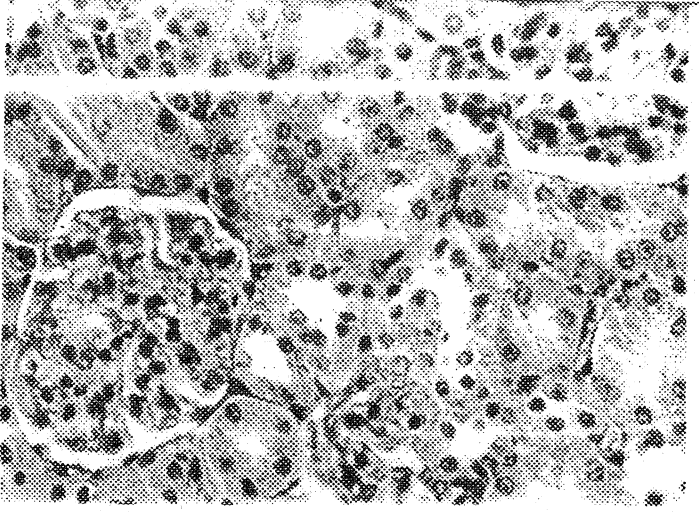
Hayvanlar 4 gruba ayrıldı. 1. gruptaki hayvanlar normal beslendi. 2,3 ve 4. gruptaki hayvanlara diabetes yaratmak üzere 60 mg/kg streptozotisin intraperitoneal olarak enjekte edildi.

Diabetes yaratılan bu hayvanlardan diabetes kontrolü oluşturmak üzere 2. grup ayrıldı. 3. grupta diabetes yaratılan hayvanlara her gün içme suyu ile 2 ppm. sodyum selenit verildi. 4. grupta ise diabetes yaratılan hayvanlarda 1,4,7,11,14,18 ve 21. günlerde intraperitoneal yolla E vitamini ve yukarıda belirtildiği şekilde sodyum selenit verildi. Bütün hayvanlar 25. günde açılarak iki taraflı böbrekleri alındı. Böbreklerin birer tanesi elektron mikroskopi için ayrılıp diğer tekleri Bouin solusyonunda fiks edildikten sonra rutin yöntemle parafin bloklar elde edildi. 3-5 mikron kalınlığındaki parafin kesitlerine genel görünümü incelemek için Haematoxylin Eosin (Hem-eo) boyası, glikojen ve bazal membran yapısını saptayabilmek için Periodic acid Schiff (PAS) reaksiyonu uygulandı. Elde edilen preparasyonlar Olympus Vanox fotomikroskopuyla incelenip mikrofotografıları alındı.

BULGULAR

Sağlıklı kontrol grubu kesitlerinde böbrekler bilinen histolojik yapıdaydı. Glomerul ve tubuluslarda herhangi bir patoloji saptanamadı (Resim 1,2). 2,3 ve 4. grup deneklerde böbreklerde Hem. -eo. boyama yöntemiyle belirgin bir yapı değişikliği saptanamadı. Ancak PAS reaksiyonu ile böbrek cisimciklerinin glomerulünde kapiller bazal membranlarında kalınlaşma ve sağlıklı kontrol grubuna göre sayıca artış gösteren mezengial hücrelerin bazılarının sitoplazmasında PAS pozitif materyal birikimi saptandı. Böyle PAS pozitif sitoplazmalı hücrelerin çoğu uzantılı yapıdaydı ve az kromatinli oval bir nükleusa sahipti. Bazı glomerullerde böyle PAS pozitif sitoplazmalı hücre gruplarından oluşmuş belirgin boyanmış gölgeler izleniyordu (Resim 3). Proksimal tubulus epitel hücrelerinin sitoplazmasında yine PAS pozitif materyal birikimi gözlemlendi (Resim 4). Bundan başka özellikle glomerullere yakın distal tubuluslarda yer yer lümeni dolduracak şekilde ve tubulus hücrelerinin sitoplazmalarında PAS pozitif boyanan materyal vardı (Resim 5).

3. grup deneklerde 2. grup deneklerde olduğu gibi glomerul kapiller yumağının bazal membranında kalınlaşma ve proksimal tubulus epitel hücrelerinin sitoplazmasında PAS pozitif boyanan granüler yapılar görüldü. Yine 2. grup deneklere benzer şekilde glomerullere yakın distal tubuluslarda yer yer lümeni dolduran ve bazen de bu kadar yoğun olmayan sitoplazmik PAS pozitif boyanan materyaller izlendi. Ancak mezengiumda PAS pozitif materyal içeren hücreler 2. gruba oranla daha azdı (Resim 6).



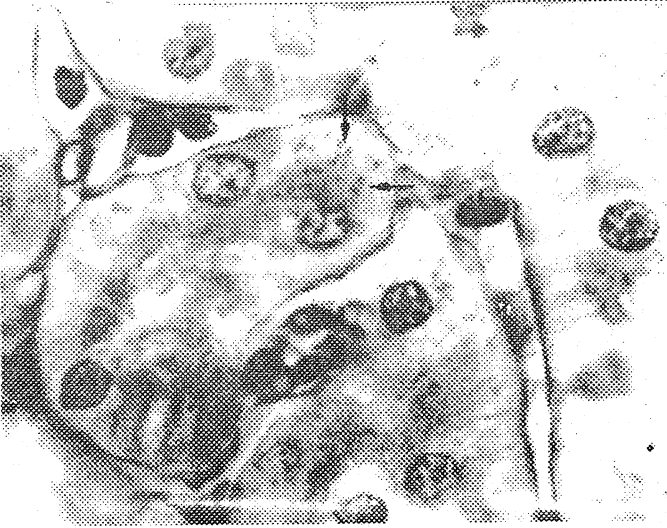
Resim 1. Sağlıklı kontrol grubunda böbrek. Hem.-eo.x 500



Resim 2. Sağlıklı kontrol grubunda böbrek. Papanicolaou x 500



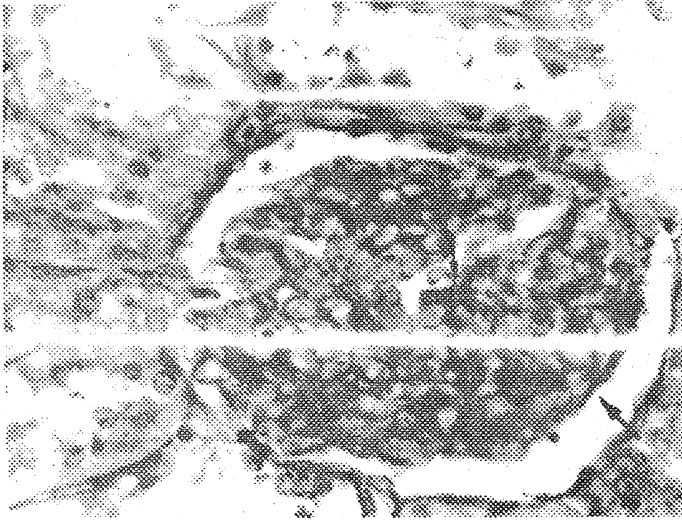
Resim 3. Diabetik böbrekte glomerul kapiller bazal membranında kalınlaşma (ince ok) ve sitoplazmalarında PAS pozitif materyal birikimi saptanan mezengial hücreler (kalın ok). PAS reaksiyonu x 500



Resim 4. Diabetik böbrekte proksimal tubulus epitel hücresinin apikal sitoplazmasında PAS pozitif materyal birikimi (oklar). PAS reaksiyonu x 1250



Resim 5. Glomerule yakın distal tubulusta PAS pozitif materyal birikimi.
PAS reaksiyonu x 625



Resim 6. Selenyum verilen diabetli grupta böbrek glomerulünde mezengial hücreler
(ince ok) ve kapiller bazal membranında kalınlaşma (kalın ok). PAS reaksiyonu x 1250

4. grup deneklerde glomerul kapiller yumağının bazal membranında kalınlaşma ve proksimal tubulus epitel hücrelerinin sitoplazmasında PAS pozitif boyanan granüler yapılar saptandı. Glomerullere yakın distal tubuluslarda 2. ve 3. grup deneklere benzer şekilde PAS pozitif reaksiyon gözlemlendi. Ancak mezenteriyumda PAS pozitif materyal içeren hücreler 3. grup deneklerde olduğu gibi 2. gruba oranla daha azdı (Resim 6).

TARTIŞMA

Böbreklerin fonksiyonlarından biri olan glomeruler filtrasyon, basit fiziksel bir olaydır. Tubuler reabsorbsiyon, enerji ve oksijen harcanmasını gerektiren aktif bir olaydır. Tubuler sekresyon ise organizmadan yabancı maddelerin uzaklaştırılması esasına dayanan asit-baz dengesini sağlamaya yönelik bir fonksiyondur. (8,9,10,12,13,14).

Diabetin etkisiyle kandan artan glukoz düzeyinin böbreklerde glomerul kapiller endotel bazal membranında dejenerasyona (1,3,4,7,10,12,16,18) ve kaniller permeabilite artışına sebep olduğu (9) ileri sürülmektedir. Böylece tubulus hücreleri, artmış glukoz konsantrasyonuna karşı hem bazal hem de apikal taraflarından glukoz etkisindedir. Fakat böbrek tubulus hücrelerinde glukozun glikojen şeklinde birikmesinin ve sentezlenmesinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir (17). Normal olarak glukoz, proksimal tubulusun pars contorta'sında ve pars recta'sının başlangıç kısmında reabsorbe edilir (8,10,11,12) ve ancak küçük bir miktar nefronun distal parçası tarafından absorbe edilir (8,11,17) ve normal olarak düşük glukoz konsantrasyonu luminal taraftan sağlanır. Normal olarak idrarda glukoz bulunmaz, ultrafiltrat içindeki glukozun hepsi reabsorbsiyona uğrar. Ancak patolojik şartlarda fazla miktarda glukozun ultrafiltrasyonu ile tubulusun maksimum emilim kapasitesi aşıldığı zaman idrarda glukoz görülür. Hiperglisemi etkisiyle glukozun nefronun distal parçasından daha fazla alındığına inanılır (17).

Biz de preparasyonlarımızda deneysel olarak diabet yaratılmış tüm deneklerde proksimal tubulus epitel hücrelerinin sitoplazmasında ve distal tubulusun glomerule yakın bölümündeki hücrelerinde PAS pozitif materyal birikimi saptadık. Bu birikim artan glukoz konsantrasyonuna bağlıdır (7,17).

Patolojik koşullarda glukoz birikiminin önce proksimal tubuluslarda belirmesi, giderek patolojinin devam etmesi durumunda distal tubuluslarda da görülmesi beklenir. E vitamini ve selenyumun diabetik patolojiyi düzelttiği bildirilmektedir (2,6). Bu çalışmada 25 günlük bir periyodla her gün selenyum ve ayrıca E vitamini verilmesine karşın bu hayvanlardan hazırlanan preparasyonlarda E vitamini ve selenyumun beklenen düzeltici etkisini proksimal ve distal tubuluslarda saptayamadık.

Diabetin böbreklerde yarattığı diğer bir morfolojik bozukluk da glomerul bazal membranının kalınlaşmasıdır (1,4,7,10,12,16,18). Bu kalınlaşmanın glomerul bazal membran materyalinin sentezindeki bozukluktan ve bazal laminada tip 4 kollagenin birikiminden kaynaklandığı söylenmektedir (1,7,10,16). Biz de

preparasyonlarımızda diabet yaratılan tüm gruplarda bu gözlemi saptadık. Ancak deneklerimizde E vitamini ve selenyum etkisiyle diabette gelişen glomerul bazal membran kalınlaşmasında bir geriye dönüş saptanamadı.

Diabette böbreklerde etkilenen ilk yapının mezengial hücreler olduğu (9,10,18), mezengial hücrelerin glomeruler filtrasyona ve bazal membran yoğunluğuna bağlı yapısal değişiklikler gösterdikleri bildirilmektedir (10). Ayrıca mezengial hücrelerin glomeruler filtrasyon sırasında bazal membranı temizlerken sayıca artış gösterdikleri de bildirilmektedir (10,13). Biz de preparasyonlarımızda genelde uzantılı, bazan toparlak gözlenen mezengial fagosit hücrelerin sitoplazmasında diabetle PAS pozitif materyal birikimi saptadık. Bu hücreler bazan tek tek, bazan da birkaçı bir arada bulunuyordu. Çoğu kere küçük büyütülmelerle PAS pozitif hücre grupları belirgin boyanan adacıklar şeklinde görülmüyordu. Kanımızca bu görünüm diabetik böbrekte izlenen Kimmelstiel-Wilson lezyonlarına uymaktadır (5,7). Ancak biz, hem E vitamini hem de E vitamini ve selenyum birlikte uygulanmış deney gruplarında sadece mezengial hücrelerde diabette gelişen PAS pozitif gruplarında sadece mezengial hücrelerde diabette gelişen PAS pozitif materyal birikiminde bir azalma saptayabildik. Kanımızca mezengial hücrelerde E vitamini ve selenyumla gelişen bu geriye dönüş, bu maddelerin düzeltici etkilerinden (2,6) kaynaklanıyor olmalıdır. Ayrıca selenyum ve E vitaminin düzeltici etkisinin diabette ilk etkilenen mezengial hücrelerde görülmesi doğaldır (9,10).

Ancak yapısal bozukluk ve düzeltici etkinin kesin saptanmasında sadece ışık mikroskopik verilerin yeterli olmayacağı açıktır. Bu konuda ultrastrüktürel verilere de büyük ölçüde gereksinim vardır. Nitekim bu deneysel çalışmamız ultrastrüktürel düzeyde sürdürülmektedir.

SUMMARY

RENAL HISTOLOGY IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS AND THE PROTECTIVE EFFECTS OF SELENIUM AND VITAMIN E

The renal morphology after experimental diabetes mellitus in rats following streptozotocin administration and the protective effects of selenium and vitamin E were studied. In the diabetic kidney glomeruli PAS positive mesangial cells were frequent in number whereas these cells were few in the selenium and vitamin E groups. The thickening of capillary basement membranes in the glomeruli were seen in both diabetic and selenium and vitamin E groups. The tubular changes which were also seen in all groups consisted of PAS positive material in the lumen and epithelial cell surfaces.

KAYNAKLAR

1. Beisswenger, P.J., Spiro, R.G.: Human Glomerular Basement Membrane Chemical Alteration in Diabetes Mellitus Science, 168: 596-598, 1970.

2. Bertram, J.S, et all.: Rationale and strategies for chemoprevention of cancer in humans. *Cancer Res* 47: 3012, 1987.
3. Campos, A., Mauer, S.M., Michael, A.F., Vernier, R.L., Brown, D.M., and Kim, Y.: Shwartzman Reaction in Streptozotocin-Induced diabetic Rats, *Lab. Invest.* 50: 565-570, 1984.
4. Carlson, E.C., and Surerus, K.K.: SEM Studies of Acellular Glomerular Basement Membrane in Human Diabetic Glomerulopathy, *The Anat. Rec.* 216: 349-358 (1986).
5. Chandrosama, P., and Taylor, C.R.: *Concise Pathology*, First edition, Prentice Hall International Inc. 1991. p. 723.
6. Clement, I.P.: Selenium inhibition of chemical carcinogenesis, *Fed. Proc.* 44: 2573, 1985.
7. Cotran, R.S., Kumar, V., and Robbins, S.L.: *Robbins Pathologic Basis of Disease*, W.B. Saunders Company, 1989, p. 1002-1004.
8. Erkoçak, A.: Özel Histoloji 5. Baskı Rekfo, İzmir, 1984, S. 129-157.
9. Ewan, A.P., Mong S.A., Connors, B.A., Aronoff, G.R. and Luft, F.C.: The Effect of Alloxan, and Alloxan-Induced Diabetes on the Kidney *The Anat Rec* 208: 33-47 (1984)
10. Fawcett, D.W.: Bloom and Fawcett. A textbook of Histology Eleventh edition W.B. Saunders Company, 1986 p. 755-762.
11. Guyton, A.C.: Textbook of medical physiology. Eighth edition. W.B. Saunders Company 1991, Philadelphia-London-Toronto-Mexico-City-Rio de Janerio, Sydney-Tokyo-Hong Kong, p. 290- 297.
12. Jones, C.W. West, M.S., Hong, D.T., and Jonasson, O.: Peripheral Glomerular Basement Membrane Thhickness in the Normal and Diabetic Monkey. *Lab. Invest.*, 50: 193-198, 1984.
13. Junquera, L.C., Carneiro, J and Contopoulos, A.N.: *Basic Histology*, Fourth edition, Lange Medical Publications, 1983, p. 397-414.
14. Kelly, D.E., Wood, R.L., and Enders, A.C.: *Bailey's Textbook of Microscopic Anatomy*. Eighteenth Edition. Williams and Wilkins Baltimore. London, 1984, p. 645-676.
15. Leeson, T.S., Leesson, C.R., and, Paparo, A.A.: *Text/Atlas of Histology*. First edition. W.B. Saunders Company. Philadelphia. London-Toronto-Montreal-Sydney-Tokyo. 1988. p. 538-559.

16. Onarlıoğlu, B., Gürsoy, E.: Deneysel Diabetes Mellitusda Böbreklerin İnce Yapısı, Doğa-Tr, J. of Med. Scien. 14 (1990). 409-415.
17. Rasch, R.: Tubular lesions in streptozotocin-diabetic rats. Diabetologia (1984) 27: 32-37.
18. Uygun, M., Seçkin, İ., Şatıroğlu, G., Yilmazer, G.: Allöksan Uygulamasıyla Diabet Oluşturulmuş Wistar Tipi Erkek Sıçanların Glomerul Hücrelerinde Görülen Ultrastrüktürel Değişiklikler IX. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, Kongre Kitabı. İstanbul, 1989, s. 55.