

DENEYSSEL DİYABETİK NEFROPATİDE ENALAPRİL VE L-KARNİTİN ETKİLERİ

EFFECTS OF ENALAPRİL AND L-CARNITINE IN EXPERIMENTAL DIABETIC NEPHROPATHY

Saniye Şen, Sedat Üstündağ, Ömer Yalçın*

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji BD, *Patoloji ABD, Edime

ÖZET

Diabetik nefropati (DN) oluşmasında hiperglisemi, anjiotensin II ATİ reseptör aktivasyon ve oksidatif stres artışı, hücre içi ATP azalması önemli rol alır. Çalışmamızda, streptozosin (STZ) ile diyabet oluşturulan rotlarda anjiotensin /converting enzim inhibitörü (ACEi) olan Enalapril (EN) ve L-Karnitin (LK) in DNye etkileri araştırıldı. Dokuz ratlık gruplarda, sağlıklı (SK) ve hastalıklı (HK) kontrol dışındakilere içme suyu ile 2.5 mg/kg gün EN ve 100 mg/kg/gün LK altı hafta verildi. Çalışma sonunda 24 saatlik idrar toplandı, kardiyak ponsiyonla kan alınarak ratlar kurban edildi. Kanda; eritrosit sayısı (Er), hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), plazmada; glukoz, HbA1C, üre, kreatinin (pKr), ürik asit (UA), PO4, Ca²⁺, Na⁺, K⁺, albumin (Alb) ve Er içi antioksidan enzim olarak süperoksit dismutase (SOD) ve lipid peroksidasyon ürünü (ROS) malonyl dialdehid (MDA) ölçüldü. İdrarla atılan glukoz (UG), albumin (UAE) ve N-acetyl-B-D glukozaminidase (NAG) incelendi. Böbrek dokusu ışık mikroskopunda ve immunohistokimyasal Tip IV kollajen birikimi incelendi. STZ ile glukoz, HbA1c, UG, UAE, NAG (P<000), üre, pKr (P<.005) artışı ile DN oluştu. HK grubuna göre, EN grubunda UG (P<.000), NAG, idrar volümü ve PO4 düşük (P<.05), Albyüksek (P<.05) ve LK grubunda Er, Hb yüksek, UG, NAG ve idrar volümü düşük (P<.05) bulundu. SK'e göre MDA değeri HK grubunda anlamsız arttı, EN ve LK grubunda değişmedi. DN bulguları olan glomerüler ve tubuler bazal membranda kalınlaşma ve tip IV kollajen birikimi HK'da belirgin, EN'de orta, LK grubunda hafif derecede bulundu. Bulgularımız, ACEi'ne benzer şekilde LK'in DN gelişimini azaltıcı etki yaptığını düşündürmektedir.

SUMMARY

Hyperglycemia, increased angiotensin II ATİ reseptör activity, oksidatif stress, decreasing intracellular ATP play an important rol in occurrence diabetic nephropathy (DN). In our study, effects of angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEi) as enalapril (EN), and L-Carnitine (LC) were investigated on DN in streptozotocin-induced diabetic rats. Except healthy, patient control (HK, PK) groups, 2.5 mg/kg/day EN and 100 mg/kg/day LC were given in a water for six weeks. After 24 hrs urine collection, blood with-drawn by cardiac puncture then, rats were sacrificed. Erythrocytes count (Er), hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct) in blood; and glucose, HbA1c, urea, creatinine (pCr), uric acid (UA), PO4, Ca²⁺, Na⁺, K⁺, albumin (Alb) in plasma; superoxide dismutase enzyme (SOD) as an antioxidant, malonyl dialdehyde (MDA) as lipid peroxidation product (ROS) were measured in erythrocyte were measured. Daily excretion of urinary glucose (UG), albumin (UAE), N-acetyl-b-D-glucosaminidase (NAG) were measured. Fractional Na⁺ (FANA) excretion and GFR were calculated. Immunohistochemical kollajene type IV accumulation and renal histopathology were investigated on light microscopy. After STZ injection DN was established with increased glucose, HbA1c, UG, UAE, NAG (P<.000), urea, pKr (P<005). According to PK group, lower UG (P<000), NAG, urine volume, PO4, and higher Alb (P<05) in EN group, higher Er, Hb, lower urine volume, UG, NAG (P<.05) in LC groups were found. According to HK, nonsignificant increased MDA in PK, unchanged in EN and LC groups were found. Tubulo-glomerular basal membrane thickness and accumulation tip IV kollajen as DN findings significant in PK, moderate EN, and mild degree in LC group were found. Our findings suggests that, LC have protective effect on diabetic nephropathy like ACEi.

Anahtar Kelimeler: Deneysel Diabetik Nefropati, Oksidatif Stres, Enalapril, L-Karnitin

Key Words: Experimental Diabetic Nephropathy, Oxidative Stress, Enalapril, L-Carnitine.

GİRİŞ

Diyaliz hastalarının % 25-44'unu DN'liler oluşturmaktadır (1), insuline bağımlı diyabetes Mellitus (IDDM) lülerin % 3(M0'ında DN gelişmektedir (2). Diyabetes Mellitus (DM) da organ bozulma mekanizması tam açıklanamamıştır. Hiperglisemi, genetik yatkınlık, hipertansiyon, insülinin yetersizliği ve/ya artışı, çevresel etmenler organ hastalanmalarında rol alırlar. Glukoz ve enzimatik-nonenzimatik reaksiyon ürünlerinin proteinlerin terminal aminlerinde değişiklikle oluşturdukları glukozlanma son ürünleri (AGE's), dislipidemi ve ROS artışları (1-3) da önemlidir. Hiperglisemiye bağlı hemodinamik değişimle ultrafiltrat ve UAE artışı (4), matriks metalloproteinazların inhibisyonuyla matriks proteinlerinde yıkımın azalması (5) glomerüloskleroza kolaylaştırır. Hiperglisemi (6), intrarenal anjiotensin (Ang) II ATİ reseptör aktivasyon artışı (7) ile yapımı artan ROS'un mezangial hücreleri uyarması, mezangial matriks protein sentezini hızlandırmaktadır. İnsanlarda ve deneysel diyabetik hayvanlarda kan basıncını düşürmeyen dozlarda da ACEi ile proteinüri ve DN gelişiminin azalması (1), antioksidan kapasitenin artması (8) Ang II nin hemodinamik değişiklikler dışı etkilerle de DN gelişimi etkilediğini göstermektedir.

Hiperglisemiyle hücre içinde artan Ca^{2+} un ATP konsantrasyonunu azalttığı, gliseminin düzeltilmesi ve kalsiyum kanal blokerleri (KKB) ile Ca^{2+} artışının gerilediği, ATP nin arttığı gözlenmiştir. Diyabetteki doku bozulmalarının ATP düşüşüne bağlı yetersiz oksidasyonla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (9). Deneysel DM çalışmalarında, Na/K ATPaz ve Ca/Na ATPaz pompalarında bozukluk, doku ve hücrelerde yağ asitleri ve acil KoA artışı, ATP m azaldığı gözlenmiştir (10). Yüksek doz Karnitin'le ile DM oluşturulan radardaki kalp kas hücresinin düşük ATP konsantrasyonunun arttığı, fonksiyonlarının düzeldiği bildirilmiştir (11). Uzun zincirli yağ asitlerini mitokondriyal matrikse taşıyarak ATP üretiminde önemli rol alan Karnitin, üremideki ATPase inhibisyonunu da düzeltmekte (12) ve Er hücre duvarındaki peroksidasyon ve ROS oluşumu azaltarak yıkımını azaltmaktadır (13). Ayrıca, iyonik Fe^{**} i bağlayarak Haber-Weiss reaksiyonuyla oluşan lipid peroksidasyonu azaltmaktadır (14). Oksidatif stresin DN gelişimine katkısı nedeniyle deneysel DN de L-Karnitin tedavisinin etkilerini inceleyerek renoprotektif özellikleri bilinen ACEi ile karşılaştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya 4.5-5 aylık Sprague-Dawley cinsi 51 dişi rat alındı. Ağırlıkları ölçülerek (215-310 g) SK grubu dışındakilere IDDM oluşturmak için periton içine (İ.P.) 50 mg/kg STZ verildi. 48 saat sonra kan glukozu 3 250 mg/dl olanlar DM kabul edildi, beşinde DM oluşmadı. Diyabetiklerin 12'si HK grubu olarak alındı. 12'sine 2,5 mg/kg/gün EN ve 13'üne 100 mg/ kg/gün LK 6 hafta içme suyu ile verildi. Çalışmanın son 24 saati metabolik kafesde

idrara toplandı. Ağırlıkları ölçülen ratlar, 50 mg/kg İM ketaminle uyutuldu. Kardiyak ponksiyonla kan alınarak sakrifiye edilip böbrekleri çıkarıldı.

Aynı gün kanda, Er, Hb, Hct ile plazmada HbA1C ölçüldü. Plazma, Er ve idrar örnekleri - 70 C °de toplandı. Plazmada; glukoz, , üre, pKr, ÜA, Alb, Ca^{2+} , Na^{+} , K^{+} , Er içi SOD ve MDA ölçüldü. Son 24 st.lık idrar volümü, kreatinin (uKr), UG, UAE ölçülerek 100'er gram ağırlığa düşen mg değer hesaplandı. Üriner NAG aktivitesi ölçülerek NAG U/mmol.uKr hesaplandı. İdrarla atılan fraksiyonel Na^{+} (FANA) ve endojenik kreatinin klirensi ile GFR hesaplandı. Aynı taraf böbrek dokuları % 10'luk formalin solüsyonuna alındı. Hazırlanan kesitler periodik asit schiff (PAS) ve immünohistokimyasal tip IV kollajen boyanarak (DAKO-N1536) ışık mikroskopun (İM) da incelendi.

İstatistik Yöntem: Tüm grupların verileri SPSS 8.0 programına yüklendi. Değerler ort. \pm standart deviyasyon (SD) olarak alındı. SK ve tedavi gruplarının verileri *Mann-Whitney U Testi* kullanılarak karşılaştırıldı. Hasta gruplarında veriler arası ilişki incelemesinde *Pearson Korelasyon Analizi Testi* kullanıldı. P < 0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma süresince diyabetik radarın 10'u öldü (3 HK, 3 EN, 4 LK). Çalışma grubları 9'ar ratla tamamlandı. HK grubunda bir, EN grubunda ve LK gruplarında ikişer rat genel durumları bozulduğundan 4-6 hafta arasında sakrifiye edildi. Grupların verilerinin karşılaştırılmasında, (tablo-I) yaş, çalışma öncesi-sonrası kiloları ve çalışma süreleri farksız bulundu. SK grubuyla karşılaştırıldığında; hasta gruplarında belirgin derecede kan glukoz ve HbA1C artışı ile IDDM oluştuğu, anlamlı derecede idrar volümü, UG, UAE, NAG artışı ve HK grubunda anlamlı derecede ulaşan GFR artışı ile DN'nin geliştiği gözlemlendi. HK grubunda, üre, ÜA, K^{+} , pKr, PO4, Ca^{2+} değerlerinde artış, Alb de düşüş, EN grubunda üre, pKr, LK grubunda üre, pKr, K^{+} ve Alb'de artış anlamlı bulundu. HK grubuna göre ise; EN grubunda kanda Alb, PO4 yüksek, idrar volüm, UG, NAG düşük LC grubunda Er sayısı ve Hb yüksek, idrar volümü, UG ve üriner NAG düşük bulundu. EN grubuna göre, LC grubundaki kan glukoz ve pKr değeri yüksek (P<05) bulundu.

Üç hasta grubundaki veriler arası ilişki incelemesinde; glukoz ile Na^{+} (r: .458, P: .005); HbA1c ile hastalık süresi (r: .596, P: .000); UG ile idrar volümü (r: .608, P: .000), PO4 (r: .564, P: .000), ÜA (r: .369, P: .027), NAG (r: .536, P: .001), FANA (r: .432, P: .009); UAE ile NAG (r: .548, P: .001) ve FANA (r: .416, P: .013); idrar NAG aktivitesi ile ÜA (r: .423, P: .010), Na^{+} (r: .506, P: .002), PO4 (r: .334, P: .047), UG (r: .536, P: .001) ve FANA (r: .653, P: .000); FANA ile hastalık süresi (r: .423, P: .011), Na^{+} (r: .503, P: .002), PO4 (r: .402, P: .017), UG (r: .432, P: .009); SOD ile ağırlık (r: .391, P: .018) ve MDA (r: .491, P: .002); MDA ile K^{+} (r: .349, P: .037) pozitif ilişkili bulundu. SOD ile ÜA (r: -.376, P: .024), Er(r: -.471,

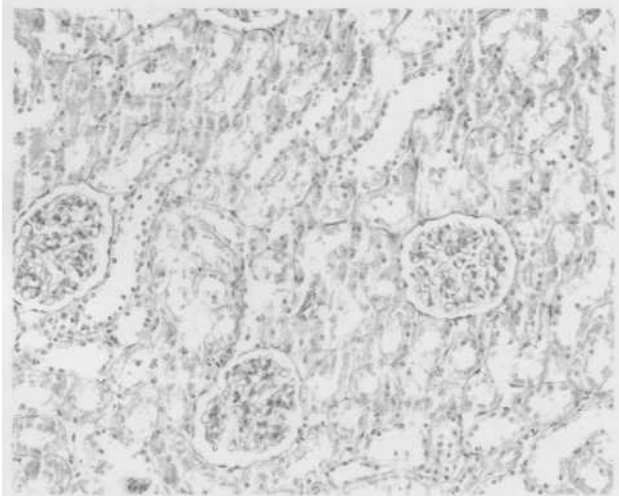
P:004), Hb (r: -.689, P:000), Hct (r: -.617, P:000), MDA ile Er (r: -.484, P:003) negatif ilişkili bulundu.

Renal doku incelemesinde; SK grupta glomerüller ve tubuler bazal membran (GBM-TBM) in düzenli yapısının korunduğu, glomerüller mezangial ve interstisyel alanda minimal tip IV kollajen biriktimi gözlendi (**Resim 1-2**). HK grubunda GBM ve TBM da yer yer belirginleşen kalınlaşma ve flu görünüm, glomerüllerde daha fazla olan belirgin derecede mezangial ve interstisyel kollajen birikimi gözlendi (**Resim 3-4**). EN grubunda, GBM ve TBM da yer yer kalınlaşma, flu görünüm ve orta derecede glomerüller ve yer yer interstisyel bölgede kollajen birikimi gözlendi (**Resim 5-6**). LK grubunda, GBM ve TBM da minimal kalınlaşma ile düzenliliğinin korunduğu, glomerüllerde ve interstisyel bölgelerde hafif-orta derecede kollajen IV birikimi görüldü.

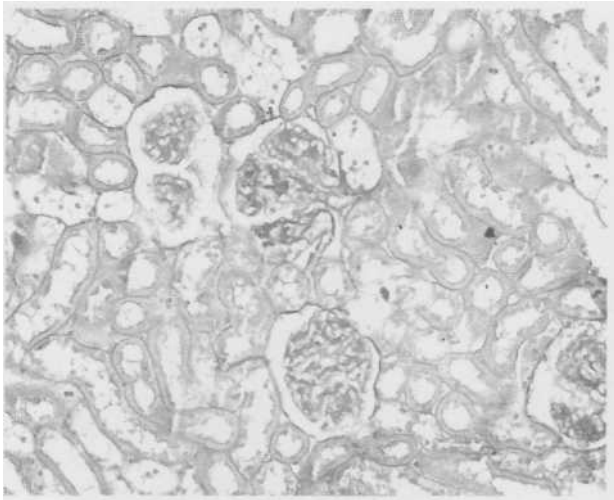
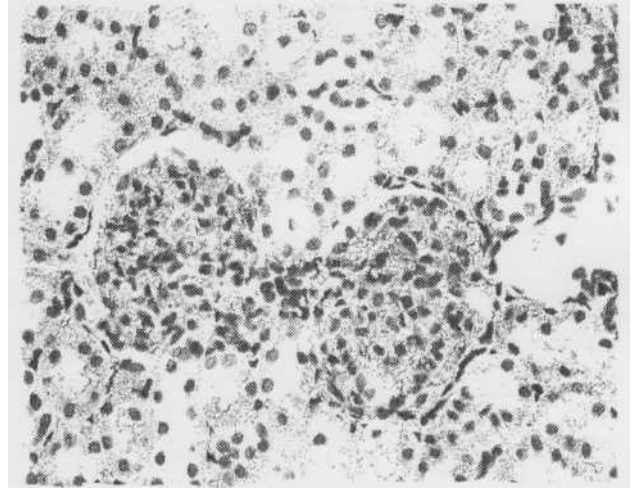
(**Resim 7-8**).

TARTIŞMA

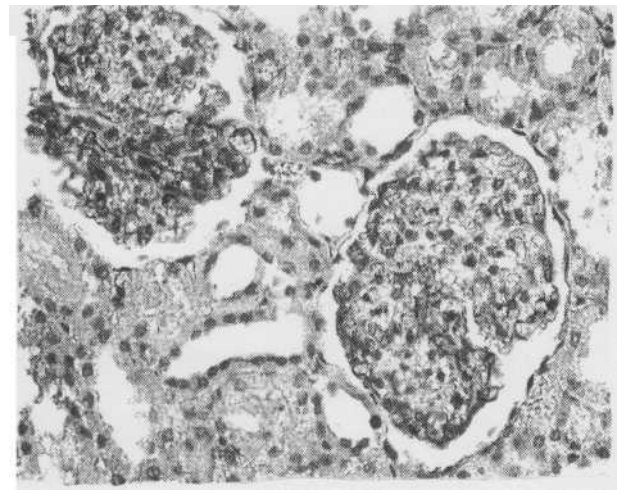
Çalışmamızda, diyabet oluşturulan ratlarda glukozüriye eşlik eden açık albuminüri ve kanda üre, sK_r, PO₄ artışı ile renal fonksiyonel bozukluk düzeyinde DN gelişmiştir. İdrarda UAE ile birlikte proksimal tubuler hücre lizozomal kaynaklı NAG (15) ve HK grubunda anlamlı derecede ulaşan kan ÜA artışı (16) glomerüllerin yanısıra tubullerin de bozulduğunu ve DN nin diffüz şekilde geliştiğini göstermektedir. Albuminüriye bağlı tubuler hücre metabolik aktivite artışı, tubuler fonksiyon ve/ya yapısal bozuklukla idrar NAG aktivitesi artmakta (15), tubuler fonksiyon bozukluğu ile atılımı bozulan ÜA kanda yükselmektedir (16). Diyabetik grupların idrar volümleri ve HK grubunda anlamlı derecede ulaşan GFR artışı, hipergliseminin yol açtığı hemodinamik değişikliklerin renal bozulmada önemli rol aldığını düşündürmektedir (17). Özellikle IDDM'de, hiperlisemiyle kan volümü ve fenal kanlanma artışı



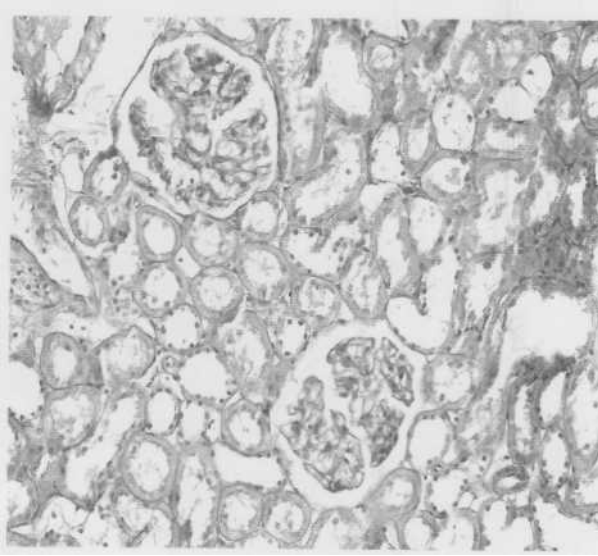
Resim 1



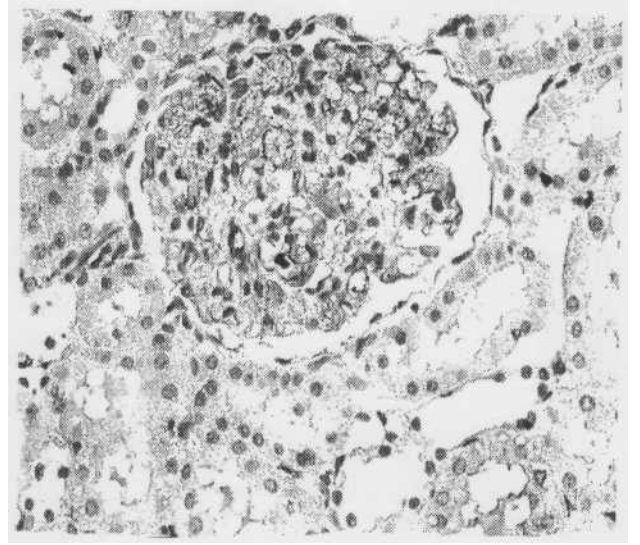
Resim 3



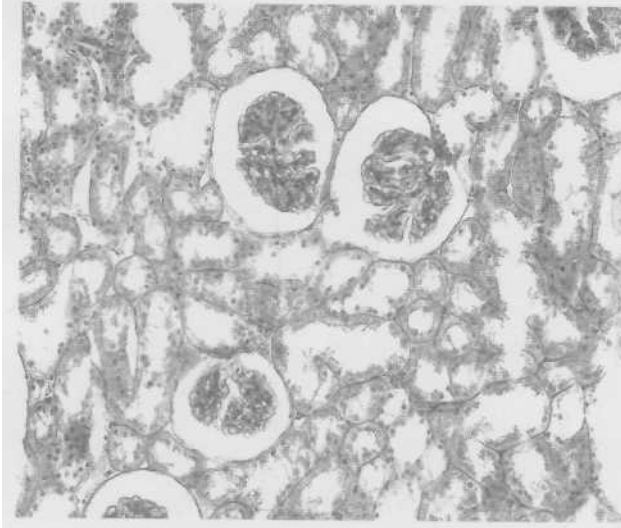
Resim 4



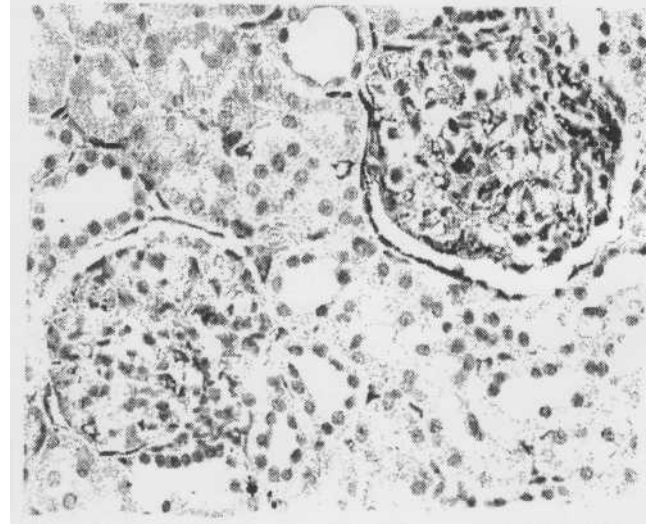
Resim 5



Resim 6



Resim 7



Resim 8

intraglomerüler ve kapiller hidrolik basıncı yükselterek GFR'nı artırmaktadır (4). Hidrostatik basınç artışı, kapiller duvar elektrik yükünü bozarak albumin'in ultrafiltrata geçişini artırır. Antijenik yapıdaki albumin, glomerüler ve tubuler duvarın bozulması hızlandırır (18). Kan glukozu, kan basıncının düzenlenmesi ve GFR'nın düşürülmesiyle albuminüri azalmakta, DN gelişimi yavaşlamaktadır (19). Ayrıca, hiperglisemide glukolizasyonla protein ve aminoasitlerin fonksiyon ve yapısı değişmekte, değişime uğrayan albumin mezangial hücreleri uyararak DN gelişimini hızlandırmaktadır (3). Bu nedenle K-V hastalık oluşumu ve nefropati gelişiminde risk etmeni olan albuminüri (18) DN'nin gelişim evresi olarak da değerlendirilmektedir (20). Diyabetik ratlarda, NAG ve FANA ile pozitif doğrusal ilişkili olan UAE nun

parankimal, bozukluğu daha fazla olan HK grubunda yüksek olması bu görüşü desteklemektedir.

Çalışmamızda, kân basıncını düşürücü olmayan dozda ACEi ile kan glukozu ve GFR değişmeden albuminüri ve renal bozulmanın azalması, ang II nin hemodinamik etkilerinden farklı yolla da DN gelişiminde rol aldığını göstermektedir (7,21). Diyabette artan lokal ang II ATİ reseptör aktivasyonu NAD(P)H oksidazı uyararak süperoksit ((V) yapımını artırır. NO ile reaksiyona girerek oluşturduğu okside NO (ONOO), mezangial hücreleri aktive ederek proliferasyonuna ve TGF-b mRNA yapımıyla kollajen ve fibronektin sentezi ile mezangial ve interstisyel matriksi artışına yol açmaktadır (22). Çalışmamızda da diyabetik ratlarda tip-IV kollajen birikimiyle, glomerül

Tablo-I: Çalışma gruplarının verilerinin karşılaştırılması

VERİ	SK (n:9)	HK (n:9)	EN (n:9)	LC (n:9)
İlk Kilo g	254 ± 9	258 ± 37	266 ± 27	255 ± 36
Son Kilo g	252 ± 7	219 ± 41 ^c	238 ± 29	226 ± 41
İdrar ml/gün	12,4 ± 4,2	108,9 ± 16,1 ^d	70,7 ± 45,4 ^{e/x}	69,2 ± 35,2 ^{d/x}
Glukoz mg/dl	139 ± 15	498 ± 43 ^d	437 ± 81 ^d	529 ± 55 ^d
HbA1c %	1,6 ± 0,3	9,1 ± 2,5 ^d	8,9 ± 3,1 ^d	9,0 ± 2,3 ^d
Üre mg/dl	40 ± 8	72 ± 24 ^d	62 ± 34 ^a	100 ± 103 ^c
pKr mg/dl	0,6 ± 0,1	0,76 ± 0,1 ^c	0,7 ± 0,1 ^a	1,1 ± 1,1 [*]
ÜA mg/dl	1,4 ± 0,3	2,9 ± 0,7 ^d	2,2 ± 1,5	2,5 ± 1,1
PO4 mg/dl	5,4 ± 1,3	7,7 ± 1,4 ^{c,b}	6,1 ± 1,7 ["]	6,6 ± 1,6
Ca ²⁺ mg/dl	10,5 ± 0,4	11,5 ± 1,4 ^b	11,0 ± 1,1	11,0 ± 1,0 ^x
Na ⁺ mEq/L	141 ± 4	143 ± 2	140 ± 8	140 ± 4
K ⁺ mEq/L	4,2 ± 0,5	5,7 ± 0,4 ^d	5,0 ± 1	5,0 ± 0,8 ^a
Alb mg/dl	5,1 ± 0,6	4,1 ± 0,7 ^b	5 ± 1,2 ["]	4,4 ± 0,7 ^a
Er X10 ⁴	718 ± 69	677 ± 79	711 ± 79	768 ± 97 ^x
Hb g/dl	13,2 ± 1,2	13,2 ± 1,6	13,7 ± 1,5	15,1 ± 2,8 ^x
Hct %	39,7 ± 5,0	39,0 ± 3,6	38,8 ± 2,9	42,8 ± 7,2
GFR µ ² dkzioog	198 ± 66	302 ± 135 ^a	302 ± 194	287 ± 122
UG mg/100 g	8,4 ± 4,3	2236 ± 969 ^d	967 ± 574 ^{d/y}	1344 ± 629 [^]
UAE mg/100 g	0,9 ± 0,3	25 ± 30,3 ^d	10,6 ± 7 ^d	16 ± 19,3 ^d
NAG u/mmolKr	0,18 ± 0,8	3,27 ± 1,8 ^d	1,31 ± 1,1 ^{a/x}	1,77 ± 0,9 ^{d/x}
FANA %	3,0 ± 0,2	5,08 ± 3,2	3,1 ± 1,6	3,5 ± 1,8
SOD U/g Hb	6638 ± 606	6248 ± 1742	6385 ± 905	5763 ± 1611
MDA nmol/g Hb	3147 ± 536	3457 ± 1320	3143 ± 817	3057 ± 874

SK ve hasta grupları; a: P<.05, b:<01, c:<.005, d:<.000; HK ve tedavi; x: P<.05, y: <.000

fonksiyonunu bozan mezangial matriks artışına benzer şekilde intertisyel matriks artışının olduğu gözlenmiştir. HK grubunda belirgin derecede EN grubunda yer yer orta derecede ve özellikle LK grubunda hafif derecede olan glomerüller ve tubuler BM kalınlaşmalar ile DN değişiklikleri gözlenmiştir.

Kısa süre önce bildirilen çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulan ratların böbrek dokusunda artmış olan lipid peroksidasyon ürünleri MDA, H2O2 ve

nitrotirozin'in ACEi ve anjiotensin reseptör blokleri (ARB) ile azaldığının gözlenmesi, Ang II ATİ reseptörlerinin hemodinamik değişiklik dışı etkilerle de DN gelişimine katıldığını göstermektedir. Glisemi ve kan basıncında değişme olmadan DN gelişiminin azalması, ATİ reseptörlerinin, oksidatif stresi artırdığını düşündürmektedir (23). Çalışmamızda da SK grubuna benzer şekilde EN ve LK gruplarında düşük olan lipid peroksidasyonun renal bozukluk fazla

olan HK grubunda anlamlı derecede olmamakla birlikte artmış olması bu düşünceyi desteklemektedir. Lipid peroksidasyonu azaltıcı etkiye sahip olan LK (12) ve EN tedavisi ile GFR değeri düşmeden renal bozulma ve tip IV kollajen birikiminin azalması, oksidatif stresin DN gelişimiyle ilişkili olduğunu, ang H'nin ROS oluşumunu uyararakta DN gelişimine katıldığı görüşünü desteklemektedir (22). Diyabetik rat izole af. arterioldeki asetil koline vazodilatör yanıt azalmasının, O₂" i metabolize eden SOD infizyonu ile düzelmesi de oksidatif stresle NO salınım ve fonksiyonunun bozulduğunu düşündürmektedir (24). Diyabet oluşturulan ratların dokularında lipid peroksidasyon ürünlerinin artması, antioksidanların azalması, E ve C vitamini

tedavisiyle glomerül çapı, mezangial hücre sayısı ve TGF- β yapımının azalması oksidatif stresin DN oluşumundaki önemini göstermektedir (25). Çalışmamızda da EN ile glisemi ve GFR'de anlamlı değişiklik olmadan UG ve NAG'da anlamlı UAE da anlamsız olmakla birlikte belirgin azalma olması ve lipidperoksidasyonda artış olmaması ACEi'lerinin renoprotektif etkilerinde, hemodinamik etkilerine ek olarak oksidatif stresi önleyici özelliklerinin olduğu görüşünü desteklemektedir.

Karnitin, insanda başlıca karaciğer, daha az beyin, böbrekte yapılı ve böbrekle metabolize edilir. Uzun zincirli yağ asitlerinin ATP'nin üretildiği mitekondrial matrikse ve metabolitlerin sitozole taşınmasında rol alan Karnitin diyabetlilerde azalmaktadır (26). Diyabetik ratlardaki kardiyak Karnitin konsantrasyon düşüklüğü, plazma lipidlerinde artma, kalp fonksiyonlarındaki bozulma (27) ve nöron Na/K ATPazındaki defektin (28) Karnitin tedavisi ile düzeldiği bildirilmiştir. Karnitin'in, kalp kasında lipid-esterlerinin birikimi ve ROS yapımını önleyerek ATP artırıp kalp fonksiyonlarını düzelttiği düşünülmektedir (29). Ayrıca, ROS yapımını katalize eden Fe⁺⁺ le kompleksler oluşturarak lipid peroksidasyonunu azaltmaktadır (14). E vitamini yapımında rol alan askorbik asitin LK yapımında kofaktör olması nedeniyle Karnitin tedavisi E ve C vitamini artışına da yol açabilir (24). Böylece, karnitin tedavisi, ATP artışı ile hücre duvar lipid peroksidasyonunu azaltırken (12), antioksidan kapasiteyi artırarak da doku bozulmasını azaltmış olabilir. Gençlere oranla yaşlı ratlardaki lipid peroksidasyonun artması ve antioksidan etkiye sahip olan olan SOD, glutatyon ve katalaz, C ve E vitaminlerinin azalması ve karnitin tedavisi ile düzelmesi bu görüşü desteklemektedir (24). Keza, diyabetik hastalarda, hücre içi Ca²⁺ un arttığı ve ATP'nin azaldığı, glukoz regülasyonu ve KKB ile Ca²⁺ un düştüğü, ATP'nin yükseldiği, doku bozulmalarının azaldığı gözlenmiş ve diyabetteki organ bozulmalarında ATP düşüklüğünün sorumlu olabileceği bildirilmiştir (9).

Çalışmamızda, LK tedavisine alınan ratlarda HK grubuna oranla idrar volümü, UG, NAG atılımında anlamlı, UAE de anlamsız ancak belirli derecede düşme olmasının yanı sıra diyabetik histopatolojik değişikliklerin azaldığı gözlenmiştir. Glisemide azalma olmadan anlamlı derecede olmamakla birlikte lipid peroksidasyonda düşüklük olması Karnitin'in ROS yapımını azaltarak DN oluşumunu yavaşlattığını düşündürmektedir (12, 13). MDA ile pozitif ilişkili olan SOD'daki azalma, bu peroksidasyon düşüşüne paralel antioksidan aktivite azalmasından kaynaklanmış olabilir. LK tedavisi ile Er ve Hb değerinde yükselmeye gözlenen genç hücrelerdeki artış ve/ya membran lipid peroksidasyonunun azalmasıyla yaşamı uzamış Er'lerin antioksidan gereksiniminin azalması da SOD'ı düşürmüş olabilir (13). Bu düşünceyi destekler şekilde MDA ile Er sayısı ve SOD ile Er, Hb ve Hct negatif ilişkili bulunmuştur. LK tedavisi ile Er içi ATP artışı ile hücre duvarındaki lipid peroksidasyon azalmaktadır (12). LK tedavisinin diyaliz hastalarında Er frajilitesini azaltarak ve ömrünü uzattığı, MDA'ı düşürürken SOD'ı artırdığı tarafımızdan gözlenmiştir (13). LK tedavi grubundaki renal doku ve fonksiyonel bozulmanın daha az olması, diyabetteki organ bozulmalarında etkili olduğu bildirilen ATP düşüşünün önlenmesinden kaynaklanmış olabilir. Zira, GFR da değişiklik olmadığı halde renal fonksiyonlarda düzelme olması hemodinamik etkiyle açıklanamaz. Bazal membranlardaki bozulmanın EN grubuna oranla daha az olması, LK'nin lipid peroksidasyonu önleyici etkisinin yanında, E ve C vitamininin kullanımını azaltarak antioksidan kapasiteyi artırmasından kaynaklanmış olabilir (24). Bunların yanısıra ATP konsantrasyonunun düşüşüne yol açtığı bildirilen Ca²⁺ un HK grubunda artmasına karşı, tedavi gruplarında artmaması dokuların daha az bozulmasında rol almış olabilir.

Özetle, çalışmamızda diyabet oluşturulan ratlarda, glisemi ve GFR değişmeden, renal fonksiyon, histopatolojik değişiklikler ve kollajen birikimiyle gözlenen DN oluşumu ve lipid peroksidasyonunun Enalapril benzer şekilde Karnitin tedavisiyle azaldığı gözlenmiştir. Bulgularımız, hemodinamik değişikliklerin yanı sıra hiperglisemide lipid peroksidasyon artışı ve antioksidanların azalmasının diyabetik nefropati gelişmesinde önemli rol aldığını, diabetik nefropati gelişiminin önlenmesinin araştırılması amacıyla antioksidanlarla ilgili çalışmaların yararlı olacağını düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Parving H-H, Osterby R, Ritz E. Diabetic Nephropathy. In Brenner BM (editor). *The kidney*, 6th edn. Philadelphia: WB Saunders; 2000. pp. 1731-73
2. Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK, Kreiner S, Deckert T: Diabetic Nephropathy in Type 1 (Insulin-dependent diabetes: An epidemiological study. *Diabetologia* 1983; 25: 496-501
3. Horie K, Miyata T, Maeda K, et al. Immunohistochemical colocalization of glycoxidation products and lipid peroxidation products in diabetic renal glomerular lesions. *J Clin Invest* 1997; 100: 2995-3004
4. Hashimoto Y, Ideura T, Yoshimura A, Koshikawa S. Autoregulation of renal blood flow in streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 1989; 38: 1109-13
5. McLennan SV, Fisher E, Marthell SY, et al. Effects of glucose on matrix metalloproteinase and plasmin activities in mesangial cells: Possible role in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2000; 58 (77): S-80-S-87
6. Catherwood MA, Powell LA, Anderson P, McMaster D, Sharpe PC, Trimble E. Glucose-induced oxidative stress in mesangial cells. *Kidney Int* 2002; 61: 599-608
7. Leehey DJ, Singh AK, Alavi N, Singh R. Role of angiotensin II in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2000; 58 (77): S-93-S-98
8. Tang Z, Shou I, Wang LN, Fukui M, Tomino Y. Effects of antihypertensive drugs or glycemic control on antioxidant enzyme activities in spontaneously hypertensive rats with diabetes. *Nephron* 1997; 76: 323-30
9. Massry SG, Smogorzewski M. Role of elevated cytosolic calcium in the pathogenesis of complications in diabetes mellitus. *Miner Electrolyte Metab* 1997; 23: 253-60
10. Tahiliani AG, McNeill JH. Diabetes-induced abnormalities in the myocardium. *Life Sci* 1986; 38: 959-74
11. Piepper GM, Murray WJ. In vivo and in vitro intervention with L-Carnitine prevents abnormal energy metabolism in isolated diabetic rat heart: chemical and phosphorous-31 NMR evidence. *Biochim Med Metabol Biol* 1987; 38: 111-20
12. Arduini A, Tyurin V, Tyuruna Y, Martelli EA, Molajoni F, Federici G. Acyl-trafficking in membrane phospholipid fatty acid from the acyl-L-carnitine pool to membrane phospholipids in intact human erythrocytes in hemodialysis patients. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 187: 353-358
13. Şen S, Yüksel M, Üstündağ S. Diyaliz hastalarında eritropoietin ve L-karnitin tedavisinin anemi, eritrosit yaşam ve osmotik frajiliteye etkisi. *Türk Nefrol Diyal Transplant* 2001; 10: 109-14
14. Arduini A. Carnitine and its acetyl esters as secondary antioxidants? *Am Heart J* 1992; 123: 1726-27
15. Miralles JM, Velasco J, Villabona V, Sanchez-Bernal C, Perez N, Corrales JJ, Garcia Diez LC, Villar E. Prospective study of the enzymatic activities in urine of N-acetyl-beta-D-glucosidases, alpha and beta-Dglucosidases, alpha-L and beta-D-fructosidases, and beta-Dgalactosidase in type I diabetes mellitus with early nephropathy. *Diabetes Complications* 1993; 7:199-203
16. Messerli FH, Frohlich ED, Dreslinski GR, et al. Serum uric acid in essential hypertension: An indicator of renal vascular involvement. *Ann Intern Med* 1980; 93: 817-21
17. Vallon V, Richter K, Blantz RC, Thompson S, Osswald H. Glomerular Hyperfiltration in experimental diabetes mellitus: Potential role of tubular reabsorption. *J Am Soc Nephrol* 1999; 100: 2569-76
18. Pedrinelli R. Microalbuminuria in essential hypertension. A marker of systemic vascular damage? *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 379-98
19. Parving H-H, Hovind P, Rossing K, Andersen S. Evolving strategies for renoprotection: diabetic nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 10: 515-22
20. Adler SG, Kang S-W, Feld S, et al. Glomerular mRNAs in human type 1 diabetes: Biochemical evidence for microalbuminuria as a manifestation of diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2001; 60: 2330-36
21. Uchiyama-Tanaka Y, Matsubara H, Nozawa Y, et al. Angiotensin II signaling and HB-EGF shedding via metalloproteinase in glomerular mesangial cells. *Kidney Int* 2001; 60: 2153-63
22. Schoonmaker GC, Fallet RW, Carmines PK. Superoxide anion curbs nitric oxide modulation of afferent arteriolar ANG II responsiveness in diabetes mellitus. *Am J Physiol (Renal Physiol)* 2000; 278: F302-F309
23. Onozato ML, Tojo A, Goto A, Fujita T, Wilcox CS. Oxidative stress and nitric oxide synthase in rat diabetic nephropathy: Effects of ACEi and ARB. *Kidney Int* 2002; 61:186-94
24. Schnackenberg CG, Wilcox C. The SOD mimetic tempol restores vasodilation in afferent arterioles of experimental diabetes. *Kidney Int* 2001; 59: 1859-64
25. Craven PA, Derubertis FR, Kagan VB, Melhem M, Studer RK. Effects of supplementation with vitamin C or E on albuminuria, glomerular TGF-beta, and glomerular size in diabetes. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1405-14
26. Tamamoğullan N, Siliğ Y, Uçağasıoğlu S, Atalay A. Carnitine deficiency in diabetes mellitus complications. *J Diab Compl* 1999;13:251-3
27. Terada R, Matsubara T, Koh N, Nakamura J, Hotta N. Effects of propionyl-L-carnitine on cardiac dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 1998; 357: 185-91
28. Cameron NE, Cotter MA. Neurovascular effects of L-carnitine treatment in diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 1997; 319:239-244
29. Rodrigues B, Xiang H, McNeill JH. Effect of L-Carnitine treatment on lipid metabolism and cardiac performance in chronically diabetic rats. *Diabetes* 1998; 37: 1358-64