

Diyabetik Ratlarda Karaciğer, Böbrek ve Pankreas Hasarında Zofenoprilin Etkisi

The Effect of Zofenopril on Pancreas, Kidney and Liver of Diabetic Rats

ÖZ

AMAÇ: Oksidatif stres, sistemik bir hastalık olan diyabetin komplikasyonların önemli bir kısmından sorumludur. Antioksidan bir ajan olan zofenoprilin oksidatif hasara bağlı komplikasyonları azalttığı bilinmektedir. Çalışmamızın amacı alloxanla diyabeti indüklenen ratlarda karaciğer, böbrek ve pankreas hasarı üzerine zofenoprilin etkilerini ışık mikroskopu altında değerlendirmektir.

GEREÇ ve YÖNTEMLER: Ratlar: kontrol grubu (n=6), zofenopril verilen grup (50 mg/kg/gün oral; n=6), alloxan verilen grup (120 mg/kg tek intraperitoneal enjeksiyon; n=6), alloxan+zofenopril verilen grup (50 mg/kg gün oral zofenopril; n=6) ve insülin+alloksan verilen grup olarak 5 gruba ayrıldı. Ratlara %0,9'luk NaCl solüsyonunda çözülmüş alloxanın taze hazırlanarak verilmesi yoluyla diyabet indüklendi. Zofenopril 4 hafta boyunca 50 mg/kg/gün dozda oral yolla verildi.

BULGULAR: Tedavi sonrası ışık mikroskopu ile yapılan değerlendirmede zofenoprilin böbrekte diyabet kaynaklı histopatolojik değişikliklerde düzelmeye sağladığı; ancak pankreas ve karaciğerde önemli bir histolojik değişime oluşturmadığını gözlemlendi.

SONUÇ: Sonuç olarak, KBH'lı hastanın uygun bakım ve sevk yönetimi hayat kurtarıcıdır. KBH farkındalığı ve yönetim kalitesini arttırmak için yeni stratejiler geliştirilmelidir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Zofenopril, Alloxan, Diyabet, Morfolojik değişiklik, Antioksidan etki, Rat

ABSTRACT

OBJECTIVE: Oxidative stress is responsible for some important complications of diabetes mellitus. Zofenopril, which has an antioxidant effect, may decrease the oxidative stress of the diabetic microenvironment. The aim of our study was to evaluate the effect of zofenopril in the liver, pancreas and kidney of alloxan-induced diabetic rats.

MATERIAL and METHODS: Rats were divided into five groups: control group (n=6), rats treated with zofenopril (50 mg/kg/day, orally four weeks; n=6), rats exposed to alloxan (120 mg/kg single dose intraperitoneal injection, n=6), rats administered alloxan+zofenopril (n=6) and rats administered insulin plus alloxan.

RESULTS: After one month, we observed histological improvement in the kidneys but not in the pancreas and liver.

CONCLUSION: In conclusion, zofenopril may be effective on the renal complications of diabetes mellitus.

KEY WORDS: Zofenopril, Alloxan, Diabetes, Morphological changes, Antioxidant effect, Rat

Ayşe ÇARLIOĞLU¹

Derya AKDENİZ²

Rabia ALKAN²

Ebru UZ³

Hacer HALTAS⁴

Faruk TURGUT⁵

Sema UYSAL⁵

- 1 Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye
- 2 Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
- 3 Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nefroloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye
- 4 Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
- 5 Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye



Geliş Tarihi : 04.12.2013

Kabul Tarihi : 21.12.2013

Yazışma Adresi:

Derya AKDENİZ

Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi,

İç Hastalıkları Anabilim Dalı,

Ankara, Türkiye

Tel : +90 312 203 55 55

E-posta : deryaakdeniz1@gmail.com

GİRİŞ

Diyabet ciddi bir oksidatif stres nedenidir. Oksidatif hasar bazı diyabetik komplikasyonlardan sorumludur (1). Reaktif oksijen radikalleri enfeksiyonlara karşı immün cevap oluşturmada önemlidir. Ancak aşırı oksidatif stres vasküler hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır (2-4). Diyabetik hastalarda vasküler hastalık insidansı yüksektir. Diyabette serbest radikal aktivitesinin de arttığı gösterilmiştir (5-6). Serbest radikal kaynaklı hasarı önlemede normal düzeylerdeki antioksidan defans mekanizması yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle doğal kaynaklı antioksidan kullanımı umut verici olabilir. Plant materyallere ait bazı antioksidanlar deneysel olarak ispatlanmış ve oksidatif strese karşı etkin ajanlar olarak yaygın şekilde kullanılmıştır (7-9).

Zofenopril bir anjiotensin-konverting enzim (ACE) inhibitörüdür. Zofenopril bir ön ilaçtır; vücutta hidrolize uğrayarak zofenaprilata dönüşür. Zofenoprilat kimyasal yapı olarak sülfidril (SH) grubu içermesiyle karakterizedir. Yapılan çalışmalarda sülfidril grubu içeren bir ACE inhibitörü olan zofenoprilin nonsuperoksid serbest radikal temizleyici olarak etkin olduğunu; SH grubu içermeyenlerin ise inaktif olduğu gösterilmiştir (10).

Ayrıca yapılan çalışmalar diyabeti takiben oksidatif strese bağlı organ hasarı (karaciğer, böbrek, pankreas) olduğunu göstermiştir.

Hepatobiliyer hastalıkların başlıca bilinenleri nonalkolik yağlı karaciğer hastalığına bağlı inflamasyon, nekroz ve fibrozis, siroz, hepatosellüler karsinom, hepatit C, akut karaciğer yetmezliği ve kolelitiazistir (11). Diyabetik hastalarda ölüm nedenlerinden biri de sirozdur. Hepatositlerde lipid birikimi ve reaktif oksijen radikallerine bağlı oksidatif stress diyabetli hastalarda hepatosellüler karsinom insidansını artırır. Oksidatif stres DNA hasarı ve hücre ölümüne neden olur (12). Bazı çalışmalarda diyabetik farelerin hepatositlerinde sitoplazmik alterasyonlar gözlenmiş ve onkositik hücreler olarak adlandırılmıştır (11,13,14).

Pankreastaki ciddi metabolik değişiklikler ve oksidatif düzensizlikler de diyabetin patogeneğinde önemli rol oynar (15). Diyabetik ratların pankreas adacık hücrelerinde oksidatif stres markerlarında artış gözlenir (16). Bir çalışmada pankreas adacık hücrelerinde beta hücre nekrozu, makrofaj ve lenfosit infiltrasyonunun belirgin olduğu insülit ve yapısal distorsiyon görülmüştür. İleri dönemlerde nekroz sonrası kalan boyut olarak küçük ve neredeyse tamamen nonbeta hücrelerden oluşan adacık hücrelerinde inflamasyonda giderek azalma izlenmiştir (17). Nonbeta hücre degranüle olur ve kademeli olarak sayıca azalır (18).

Diyabetik nefropati patogeneğinde reaktif oksijen radikallerinin rol almasından dolayı renal glomerüllerin oksidatif strese özellikle duyarlı olduğuna dair güçlü bir inanış

vardır. Diyabette ve diyabetik nefropatide vitamin E ve C gibi antioksidanlar yeni tedavi modaliteleri olarak düşünülmektedir (20,21). Diyabetle indüklenen temel histolojik değişiklikler (glikojen birikimi, şişme ve vakuolizasyon) glomerül ve tübül bazal membranında ve epitel hücrelerinde saptanmıştır (22).

Bu çalışmada ratlarda karaciğer, böbrek ve pankreasta diyabetle indüklenen hasarda zofenoprilin etkilerini araştırdık.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

İlaçlar

Zofenopril distile suda çözülerek 50 mg/kg/gün dozunda oral olarak verildi.

Hayvanlar

Çalışmaya 180-220 gr arası 30 adet Wistar tipi, dişi albino rat dahil edildi. Hayvanlar Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi lokal etik komitesi tarafından kabul edilen Hayvan Laboratuvarı Bakım ve Kullanım şartlarına uygun olarak siklik olarak 12 saat aydınlık 12 saat karanlık odalarda tutuldu ve ratlar su içme, yeme ve libido açısından özgür bırakıldı.

Diyabetin İndüklenmesi

Ratlarda diyabet yeni hazırlanmış %0,9'luk NaCl solüsyonunda çözünmüş 120 mg/kg alloxanın tek intraperitoneal (i.p.) enjeksiyon olarak verilmesiyle indüklendi. Diyabetin indüklenmiş olup olmadığı glukoz indikatör stikler kullanılarak glukozüri testiyle belirlendi (23,24). Zofenopril 4 hafta boyunca günlük periyodlarla diyabetik ratlara verildi.

Referans İlaç

Çinko insülin; insülinle tedavi verilen ratlara kesilecekleri zamana kadar i.p. enjeksiyonla 4 hafta boyunca uygulandı (25).

Çalışma Planı

Ratlar random olarak beş gruba ayrıldı. Her grup 6 rat içerecek şekilde düzenlendi.

- Grup 1: Sadece su alan kontrol grubu normal ratlar
- Grup 2: 4 hafta 50 mg/kg günlük zofenopril verilen normal ratlar
- Grup 3: 120 mg/kg tek intraperitoneal enjeksiyon alan alloxan alan ratlar
- Grup 4: 4 hafta oral zofenopril 50mg/kg dozunda verilen diyabetik ratlar
- Grup 5: İnsülin alan diyabetik ratlar (3 mg/kg dozunda 4 hafta boyunca intraperitoneal enjeksiyon)

Dört haftanın sonunda tüm ratlar üretran anestezisi altında kesilerek karaciğer, böbrek ve pankreasları çıkarıldı. Çıkarılan organlar longitudinal olarak ikiye ayrıldı. Bir parçası histopatolojik değerlendirme için %10 formalinle fikse edilirken diğer parça analiz edilene kadar -70 C'de saklandı.

Histopatolojik Değerlendirme

Rat pankreas, böbrek ve karaciğer örnekleri %10 nötral formaldehitte fikse edildi, dereceli etanolle dehidrate edildikten sonra parafin mum içine gömüldü. Mumdan arındırıldıktan sonra 4 mikrometrelik kesitler elde edildi. Bu 3-4 mm'lik kesitler boyandıktan sonra tekrar mumdan arındırılarak rehidrate edildi. Daha sonra kesitler Hematoksilen-Eosinle boyandı. Karaciğer için sinusoidlerde dilatasyon varlığı, hepatosellüler vakuolizasyon ve spotty nekroz; böbrek için glomerüloskleroz varlığı, Bowman aralığında daralma, kapiller bazal membranda kalınlaşma, mezangial matriks genişlemesi, retiküler fibrillerde artış, tübül epitelde hidropik değişiklikler ve vakuolizasyon, proksimal tübül epitelinde H glikojen birikimi; pankreas içinse adacık hücre atrofisi ve konturlarında düzensizleşme, sitoplazmik kısımda vakuolizasyon ve PAS pozitif adacık hücreleri varlığı ile piknotik hücreler histolojik hasar olarak kabul edildi.

İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS for Windows 13.0 istatistik paket programı kullanıldı. En az anlamlı farkla gruplar arası farkları histopatolojik ve morfolojik farkların

belirlenmesinde ANOVA ve Post-Hoc multiple comparison test (LCD) kullanıldı (Bonferroni). Sonuçlar ± standart sapma olarak sunuldu ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

Karaciğer Dokusunda Histopatolojik Bulgular

Karaciğer dokusundaki histolojik değişikliklerin derecelendirilmesi ve özeti Tablo I'de verilmiştir. Grupların hiçbirinde portal alanda fibrozis gözlenmedi. Fakat diyabete bağlı olarak sinusoidlerde dilatasyon, hepatosellüler makroveziküler vakuolizasyon ve spotty nekroz izlendi. Kontrol grubundaki ratlarda minimal makroveziküler vakuolizasyon ve sinusoidlerde dilatasyonla beraber normal karaciğer parenkim alanları ve portal alanlar izlendi. Kontrol grubunda spotty nekroz görülmedi. Zofenopril grubu kontrol grubuna çok benzeyen histopatolojik özelliklere sahipti. Zofenopril tedavisinden sonra vakuolizasyon ve spotty nekroz oldukça azalmış olarak gözlemlendi. Spotty nekroz oranındaki azalma istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Ancak insülin tedavisi alan ratlarda tedavi sonrası spotty nekrozda artış izlendi. Karaciğer dokusundaki değişiklikler Tablo I'de özetlenmiştir.

Tablo I: Alloksanla hiperglisemi indüklenen ratlarda zofenoprilin karaciğer üzerine etkileri.

Karaciğer	Kontrol				Alloksan				Alloksan insülin				Alloksan zofenopril			
	DY	H	O	Ş	DY	H	O	Ş	DY	H	O	Ş	DY	H	O	Ş
Sinüzoidal dilatasyon	2	4	-	-	-	1	2	3	-	1	2	3	-	-	3	3
Sitoplazmik vakuoller	2	4	-	-	-	-	3	3	-	1	2	3	-	2	4	-
Odaksal nekroz	6	-	-	-	4	2	-	-	4	-	2	-	4	2	-	-

DY: Değişiklik yok, **H:** hafif, **O:** orta, **Ş:** şiddetli. Tabloda yer alan sayısal veriler belirtilen patolojik bulguyu gösteren rat sayısını ifade etmektedir.

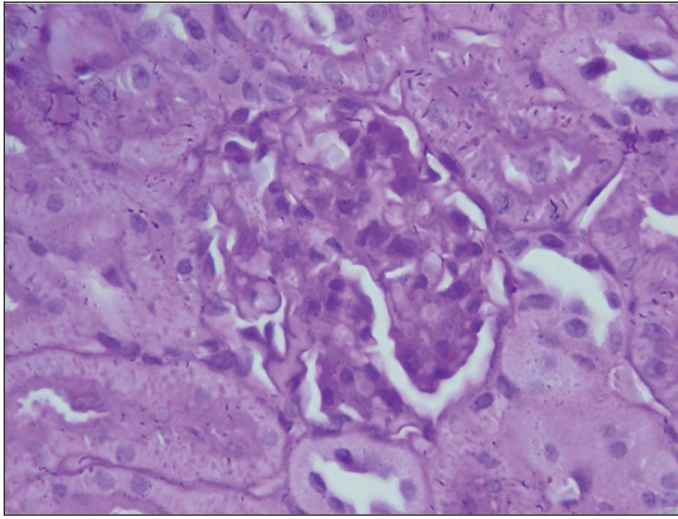
Tablo II: Alloksanla hiperglisemi indüklenen ratlarda zofenoprilin böbrek üzerine etkileri.

Böbrek	Kontrol			Alloksan			Alloksan insülin			Alloksan zofenopril		
	H	O	Ş	H	O	Ş	H	O	Ş	H	O	Ş
Glomerüloskleroz	5	-	-	-	2	4	-	2	4	1	5	-
Bowman mesafesinde daralma	5	-	-	-	4	2	3	2	1	5	1	-
Kapiller bazal membranda kalınlaşma	-	-	-	1	2	3	5	-	-	5	-	-
Mezangial matriks artışı	-	-	-	-	1	5	1	5	-	2	4	-
Retiküler lif artışı	5	-	-	-	1	5	1	2	3	1	3	2
Tübül epitelinde hidropik dejenerasyon	-	-	-	1	-	5	2	4	-	6	-	-
Tübül epitelinde sitoplazmik vakuol	-	-	-	-	-	6	2	4	1	4	1	1
Tübül epitel hücrelerinde glikojen varlığı	-	-	-	-	1	4	-	2	-	1	-	2
Proksimal epitelde fırçamsı kenarda bozulma	-	-	-	-	1	5	5	-	-	3	1	1

DY: Değişiklik yok, **H:** hafif, **O:** orta, **Ş:** şiddetli. Tabloda yer alan sayısal veriler belirtilen patolojik bulguyu gösteren rat sayısını ifade etmektedir.

Böbrek Dokusunda Histopatolojik Bulgular

Diyabet böbrekte glomerüloskleroz, Bowman aralığında daralma, kapiller bazal membranda kalınlaşma, mezangial matriks genişlemesi, retiküler fibrillerde artış, tübüler epitelde hidropik değişiklikler ve vakuolizasyon, tübüler epitel ve renal proksimal tübül fırça kenarda H glikojen birikimine neden olur. Kontrol ve zofenopril grubunda minimal glomerüloskleroz, Bowman aralığında daralma ve az retiküler fibril artışı dışında bir değişiklik izlenmedi (Şekil 1-4). Zofenopril veya insülin tedavisinden sonra tübüler epitelde hidropik değişiklikler ve vakuolizasyon, tübüler epitel ve renal proksimal tübül fırça kenarda H glikojen birikimi anlamlı derecede azaldı ($p<0.05$).

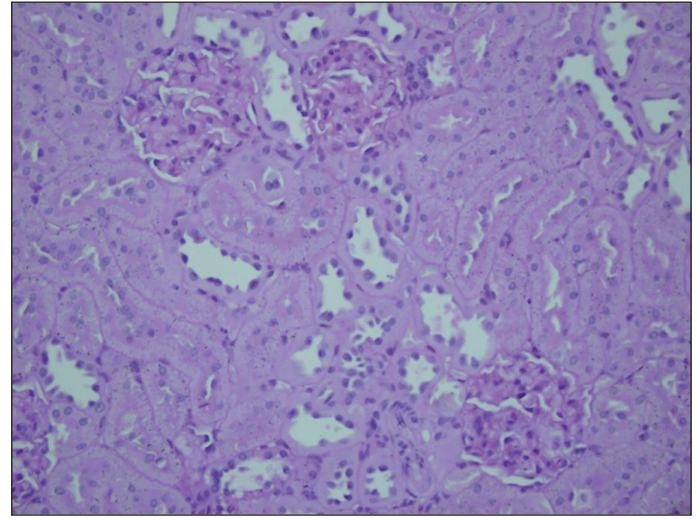


Şekil 1: Alloxan-Zofenopril verilen grupta Bowman mesafesinde hafif daralma. PASx400.

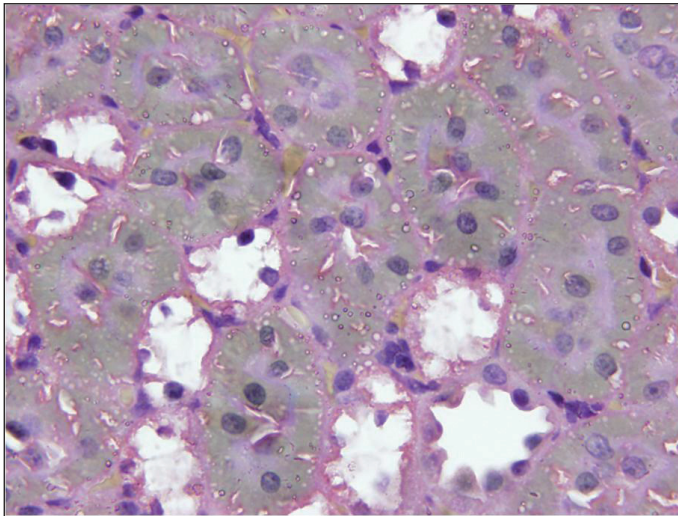
Ek olarak zofenopril tedavisinden sonra mezangial matriks genişlemesi de azaldı ($p<0.05$) ancak insülin tedavisinden sonra anlamlı bir azalma olmadı ($p>0.05$). Böbrekte olan histolojik değişiklikler Tablo II'de özetlenmiştir.

Pankreas Dokusunda Histopatolojik Bulgular

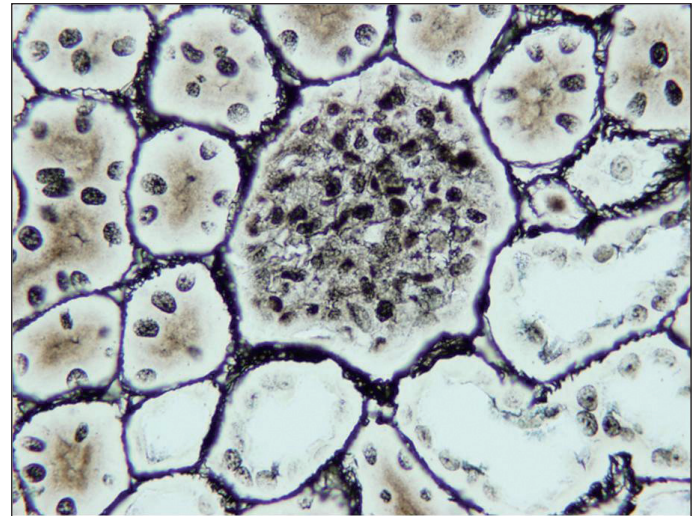
Kontrol ve zofenopril grubunda bazı değişiklikler gözlemlendi. Diyabetik olan grupta pankreas adacık hücre atrofisi ve konturlarında düzensizleşme, sitoplazmik kısımda vakuolizasyon ve PAS pozitif adacık hücreleri varlığı ile piknotik hücreler olduğu gözlemlendi. Ekzokrin komponentte herhangi bir değişiklik yoktu. Zofenopril tedavisinden sonra adacık hücre atrofisi ve konturlarında düzensizleşmede düzelleme izlendi ancak bu düzelleme istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmedi ($p>0.05$; Tablo III).



Şekil 2: Alloxan-Zofenopril verilen grupta izlenen az sayıda skleroz glomerül. PASx1000.



Şekil 3: Alloxan-Zofenopril verilen grupta glomerüllerde kapillerlerdeki retikülün liflerinde hafif artış ve kalınlaşma. Retikülün x1000.



Şekil 4: Alloxan-Zofenopril verilen grupta tübül epitelinde azalmış vakuoller, Armani-Ebstein lezyonları. Masson Trichrom x1000.

Tablo III: Alloksanla hiperglisemi indüklenen ratlarda zofenoprilin pankreas üzerine etkileri.

Pankreas	K+Z				A				A+İ				A+Z			
	DY	H	O	Ş	DY	H	O	Ş	DY	H	O	Ş	DY	H	O	Ş
Adacık boyutlarında küçülme ve kontur düzensizliği	6	-	-	-	1	1	-	4	-	4	1	1	-	5	-	1
Sitoplazmik vakuol ve PAS + adacık hücreleri	6	-	-	-	2	1	-	3	2	2	2	-	3	2	-	1
Piknotik hücreler	6	-	-	-	1	5	-	-	-	5	1	-	3	1	2	-

DY: Değişiklik yok, H: hafif, O: orta, Ş: şiddetli. Tabloda yer alan sayısal veriler belirtilen patolojik bulguyu gösteren rat sayısını ifade etmektedir.

TARTIŞMA

Diyabetes mellitus pankreas beta hücrelerinin kalıcı harabiyeti ile karakterizedir. Bu harabiyet degranülasyona ve insülin sekresyonunda azalmaya neden olur (26). Alloksanın diyabetojenik etkisi reaktif oksijen radikallerinin artışıyla indükleyerek beta hücrelerinde sitotoksositeye neden olması ve bu yolla insülin sentez ve salınımını azaltmasına bağlıdır (27). Diyabette karaciğer, böbrek ve hemapoetik sistem elemanları gibi bazı organlarda hasara neden olur (28). Bu çalışmanın amacı, alloksanla diyabet indüklenmiş ratlarda karaciğer, böbrek ve pankreastaki histopatolojik etkilerin ışık mikroskopisi altında değerlendirilmesidir. Daha önce diyabeti indüklenmiş ratlarda karaciğer böbrek ve pankreastaki histolojik etkileri araştıran bir çalışma yoktur.

Alloksanla indüklenmiş diyabette azalmış antioksidan enzim düzeyleri ve artmış lipid peroksidasyonu olduğu bilinmektedir (29,30). Sülfidril grupları tek başına antioksidan etkiye sahiptir (31) ve bunu hidrojen vererek ya da elektron transport sistemi ile yapabilirler (31,32). Sülfidril gruplarının oksijen radikal temizleyici etkisi muhtemel karbon kaynaklı radikal üretimi ile ilişkilidir. Bu açıdan bakıldığında sülfidril grubu içeren ajanların süperoksid radikallerinden çok genel radikal temizleyiciliğinde etkin olduğu düşünülmektedir (31,32). Cominacini ve ark. zofenoprilatin doz bağımlı olarak intrasellüler reaktif oksijen radikali oluşumunu, okside LDL tarafından indüklenen süperoksid oluşumu ve endotel hücrelerinde TNF alfa üretimini azalttığını göstermişlerdir (33). Zofenoprilat doz bağımlı olarak insan umbilikal ven endotel hücrelerinde vasküler cell adezyon molekülü (Vcam-1), intersellüler cell adezyon molekülü (Icam-1), okside LDL tarafından üretilen e-selektin ve TNF alfa salınımını azaltır. Çalışmamızda, alloksanla indüklenen ratlarda karaciğer, böbrek ve pankreasta morfolojik değişiklikler olduğunu, bu değişikliklerin SH grubu içeren zofenopril verilmesiyle ($p<0.05$) ve insülin tedavisiyle ($p<0.05$) böbrek dokusunda gerilediğini gözlemledik. Karaciğer ve pankreasta da histolojik düzelme görülmeyle beraber karaciğerde spotty nekrozdaki değişme hariç diğer bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmada zofenoprilin diyabetik rat organlarında oksidatif stresi engelleyebileceği ya da azaltılabileceği görüldü.

Diyabetin karaciğer üzerindeki etkileri hepatositlerde hipertrofi ve otofajik vakuollerin görülmesi gibi ultrastrüktürel değişikliklerdir. Hepatosit nükleusu genellikle genişlemiş bazen irregüler konturlu ve intranükleer inklüzyonlar içeren bir görünümde olur. Diyabetik grupta sitoplazmik değişiklikler azalmış glikojen granülleri ve az gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum olarak görülür (11-14). Çalışmamızda ışık mikroskopisi altında diyabetik ratların hepatositlerinde yaygın dejenerasyon izlendi. Hiçbir grupta perisinüsoidal fibröz ve kollejanöz materyal artışı izlenmedi. Daha önce yapılmış bir çalışmada diyabetik karaciğerde fibrozis izlendiği rapor edilmiştir (11). Fakat bazı yazarlar da diyabetik karaciğerde görülen fibrozisin direkt olarak diyabete bağlı olmadığını ancak çalışılan rat soyundaki karaciğer vasküler anomalilerinden ve genetik predispozisyon kaynaklandığını iddia etmişlerdir (34,35).

Diyabetik nefropati öncelikle proteinlere artmış glomerüler permeabilite ile başlar, mikroalbuminuri ve azotemiye ilerler ve sonunda renal yetmezlikle sonuçlanır. Bu değişikliklere glomerüler bazal membran kalınlaşması, mezangial matriks genişlemesi, glomerüloskleroza ilerleyen glomerüler hipertrofi, tübülointerstisyel fibroz, glomerüler alanda büyük proteinoz birikimler, glomerüllerde hyalin damlacıklar ve tübüllerde hyalin silendirler, arteriolar hyalinosis ve tübüler dilatasyon gibi mikrodeğişiklikler de eşlik eder (36-38). Diyabette tübüler böbrek patolojisinde ilk aşık lezyon tübüler epitelde glikojen birikimidir (22). Diyabetik böbrekte erken değişiklikler olarak mezangial genişleme, ekstrasellüler matriks proteinlerini birikimi ve değişen mezangial hücre proliferasyonu sayılabilir (39).

Bütün bu çalışmalara rağmen diyabet kaynaklı nefropatideki glomerüler ve tübüler değişikliklerin nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Çalışmamızda, diyabetik ratlarda böbrekte glomerüloskleroza varlığı, Bowman aralığında daralma, kapiller bazal membranda kalınlaşma, mezangial matriks genişlemesi, retiküler fibrillerde artış, tübüler epitelde hidropik değişiklikler ve vakuolizasyon, tübüler epitelinde ve proksimal tübüler epitelde firca kenarda H glikojen birikimi izlendi. Kontrol ve zofenopril grubunda minimal glomerüloskleroza, Bowman aralığında daralma ve az retiküler fibril artışı dışında bir değişiklik izlenmedi. Zofenopril veya insülin tedavisinden sonra tübüler

epitelde hidropik değişiklikler ve vakuolizasyon, kapiller bazal membranda kalınlaşma, tübüler epitel ve renal proksimal tübül fırça kenarda H glikojen birikimi anlamlı derecede azaldı ($p<0,05$). Ek olarak zofenopril tedavisinden sonra mezangial matriks genişlemesi de azaldı ($p<0,05$). Ancak insülin tedavisinden sonra anlamlı bir azalma olmadı ($p>0,05$). Bu çalışmada alloxanla diyabeti indüklenen ratların böbreklerinde oral tedaviyle verilen zofenoprilin koruyucu etkisi olduğu görüldü. Diyabetik nefropatide ACE inhibitörlerinin koruyucu etkisi biliniyor olmasına rağmen antioksidan yönü de bulunan zofenoprille ilgili ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kronik insülin enjeksiyonu uygulanmasının Langerhans adacık hücrelerinde inflamatuvar lezyon oluşumunu tetiklediği bilinmektedir (40, 41) Başka çalışmalarda insülin antiserum eklenmesi durumunda Langerhans adacık hücrelerinde diffüz inflamasyon olduğu bulunmuştur (42). Elektron mikroskopik incelemede mitokondri ve Golgi komplekslerinde dejeneratif değişikliklerle beraber diyabet olan grupta beta hücre granüllerinde relatif bir azalma görülmüştür. Bizim çalışmamızda, diyabetik grupta adacık hücre atrofisi ve konturlarında düzensizlik, sitoplazmik bölgede vakuolizasyon ve PAS pozitif adacık hücreleri ve piknotik hücreler gözlemlendi. Ekzokrin komponent histolojik ve fonksiyonel olarak etkilenmemiştir. Zofenopril tedavisi ile adacık hücre atrofisi ve kontur düzensizliğinde iyileşmeler olmakla beraber klinik açıdan anlamlı oranda değildi ($p>0,05$).

SONUÇ

Çalışmamızda, zofenoprille tedavi edilen diyabetik ratların böbreklerinde histolojik anomaliler azalmıştı. Bu etki zofenoprilin antioksidan etkisinden kaynaklanabilir. Pankreas ve karaciğerdeki etkiler minimaldi. Mevcut çalışma alloxanla diyabeti indüklenen ratlarda zofenoprilin pankreas, karaciğer ve böbrekteki etkileri ile ilgili kullanışlı bir öngörü vermiştir. Ancak eksperimental diyabette zofenoprilin etki mekanizmasını aydınlatmak için moleküler düzeyde ve daha çok rat katılarak yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Nasri H, Baradaran A, Ardalani MR, Mardani S, Momeni A, Rafieian-Kopaei M: Bright renoprotective properties of metformin: Beyond blood glucose regulatory effects. *Iran J Kidney Dis* 2013; 7(6): 423-428
2. Ali DK, Oriowo M, Tovmasyan A, Batinic-Haberle I, Benov L: Late administration of Mn porphyrin-based SOD mimic enhances diabetic complications. *Redox Biol* 2013; 1(1): 457-466
3. Konior A, Schramm A, Czesnikiewicz-Guzik M, Guzik TJ: NADPH Oxidases in Vascular Pathology. *Antioxid Redox Signal* 2013 Nov 1. (Epub ahead of print)

4. Gradinaru D, Borsa C, Ionescu C, Margina D: Advanced oxidative and glycoxidative protein damage markers in the elderly with type 2 diabetes. *J Proteomics* 2013; 92: 313-322
5. Mishra N, Singh N: Blood viscosity, lipid profile, and lipid peroxidation in type-1 diabetic patients with good and poor glycemic control. *N Am J Med Sci* 2013; 5(9): 562-566
6. Mihailidou C, Papavassiliou AG, Kiaris H: A crosstalk between p21 and UPR-induced transcription factor C/EBP homologous protein (CHOP) linked to type 2 diabetes. *Biochimie* 2014; 99: 19-27
7. Battacharya SK, Satyan KS, Ghosal S: Antioxidant activity of glycowithanolides from *Withania somnifera*. *Indian J Exp Biol* 1997; 35(3): 236-239
8. Ilavarasan R, Mohideen S, Vijayalakshmi M, Manonmani G: Hepatoprotective effect of *Cassia angustifolia* Vahl. *Indian J Pharm Sci* 2001; 63: 504-507
9. Manonmani G, Anbarasi K, Balakrishna K, Veluchamy G, Shyamala Devi CS: Effect of *Terminalia arjuna* on the antioxidant defense system in alloxan induced diabetes in rats. *Biomedicine* 2002; 22: 52-61
10. Pasini AF, Garbin U, Nava MC, Stranieri C, Pellegrini M, Boccioletti V, Luchetta ML, Fabrizzi P, Lo Cascio V, Cominacini L: Effect of sulfhydryl and non-sulfhydryl angiotensin-converting enzyme inhibitors on endothelial function in essential hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2007; 20(4): 443-450
11. Balazs M, Halmos T: Electron microscopic study of liver fibrosis associated with diabetes mellitus. *Exp Pathol* 1985; 27: 153-162
12. Tolman, KG, Fonseca V, Tan MH, Dalpiaz A: Narrative review: Hepatobiliary disease in type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2004; 141: 946-956
13. Kume E, Fujimura H, Matsuki N, Ito M, Aruga C, Toriumi W, Kitamura K, Doi K: Hepatic changes in the acute phase of streptozotocin (SZ)-induced diabetes in mice. *Exp Toxicol Pathol* 2004; 55(6): 467-480
14. Lenk SE, Bhat D, Blakeney W, Dunn WA Jr: Effects of streptozotocin-induced diabetes on rough endoplasmic reticulum and lysosomes of rat liver. *Am J Physiol* 1992; 263: E856-E862
15. Baynes JW, Thorpe SR: Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999; 48(1): 1-9
16. Ihara Y, Toyokuni S, Uchida K, Odaka H, Tanaka T, Ikeda H, Hiai H, Seino Y, Yamada Y: Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic beta-cells of GK rats, a model of type 2 diabetes. *Diabetes* 1999; 48: 927-932
17. Bernard C, Della Zuana O, Ktorza A: Interaction between environment and genetic background in type 2 diabetes: Lessons from animal models. *Med Sci (Paris)* 2013; 29(8-9): 791-799
18. Marchetti P, Bugliani M, Boggi U, Masini M, Marselli L: The pancreatic beta cells in human type 2 diabetes. *Adv Exp Med Biol* 2012; 771: 288-309

19. Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J: Antioxidant defense system in diabetic kidney: A time course study. *Life Sci* 1997; 60: 667-679
20. Cunningham JJ: Micronutrients as nutraceutical intervention in diabetes mellitus. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 7-10
21. Kedziora-Kornatowska K, Szramd S, Kornatowski T, Szadujkis-Szadurski L, Kedziora J, Bartosz G: Effect of vitamin E and vitamin C supplementation on antioxidative state and renal glomerular basement membrane thickness in diabetic kidney. *Nephron Exp Nephrol* 2003; 95(4): e134-143
22. Vardı N, Iraz M, Öztürk F, Uçar M, Gül M, Eşrefoğlu M, Otlu A: Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkileri. *İnönü Üniv Tıp Fak Dergisi* 2005; 12: 145-152
23. Traisma HS, Greenwood RD: A comparative clinical evaluation of a new proprietary method for urine testing in juvenile diabetics. *Clin Pediatr (Phila)* 1973; 12(6): 357-359
24. Jaouhari JT, Lazrek HB, Jana M: The hyperglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan induced hyperglycemic rats. *J Ethnopharmacol* 2000; 69(1): 17-20
25. Bora PS, Srivastava LM, Bhatt SD: Metabolic and histopathological effects of STZ induced diabetes in rats: Effect of propranolol and insulin. *Indian J Exp Biol* 1985; 23(1): 23-26
26. Junod A, Lambert AE, Atanfacher W, Renold AE: Diabetogenic action of streptozotocin. Relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest* 1969; 48(11): 2129-2139
27. Sakurai K, Katoh M, Someno K, Fujimoto Y: Apoptosis and mitochondrial damage in INS-1 cells treated with alloxan. *Biol Pharm Bull* 2001; 24(8): 876-882
28. Sabu MC, Smitha K, Kuttan R: Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. *J Ethnopharmacol* 2002; 83(1-2): 109-116
29. Roy S, Sehgal R, Padhy BM, Kumar VL: Antioxidant and protective effect of latex of *Calotropis procera* against alloxan-induced diabetes in rats. *J Ethnopharmacol* 2005; 102(3): 470-473
30. Sepici-Dincel A, Açıkgöz Ş, Çevik C, Sengelen M, Yeşilada E: Effects of in vivo antioxidant enzyme activities of myrtle oil in normoglycaemic and alloxan diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol* 2007; 110(3): 498-503
31. Makri OE, Ferlemi AV, Lamari FN, Georgakopoulos CD: Saffron administration prevents selenite-induced cataractogenesis. *Mol Vis* 2013; 19: 1188-1197
32. Maldonado PD, Alvarez-Idaboy JR, Aguilar-González A, Lira-Rocha A, Jung-Cook H, Medina-Campos ON, Pedraza-Chaverrí J, Galano A: Role of allyl group in the hydroxyl and peroxy radical scavenging activity of S-allylcysteine. *J Phys Chem B* 2011; 115(45): 13408-13417
33. Mak IT, Freedman AM, Dickens BF, Weglicki WB: Protective effects of sulfhydryl-containing angiotensin-converting enzyme inhibitors against free radical injury in endothelial cells. *Biochem Pharmacol* 1990; 40: 2169-2175
34. Cominacini L, Pasini A, Garbin U, Evangelista S, Crea AE, Tagliacozzi D, Nava C, Davoli A, LoCascio V: Zofenopril inhibits the expression of the adhesion molecules on endothelial cells by reducing reactive oxygen species. *Am J Hypertens* 2002; 15: 891-895
35. Brůha R, Dvořák K, Petrář J: Liver disorders in diabetic patients. *Vnitr Lek* 2013; 59(7): 546-550
36. Latry P, Bioulac-Sage P, Echinard E, Gin H, Boussarie L, Grimaud JA, Balabaud C: Perisinusoidal fibrosis and basement membrane-like material in the livers of diabetic patients. *Hum Pathol* 1987; 18: 775-780
37. Gruden G, Perin PC, Camussi G: Insight on the pathogenesis of diabetic nephropathy from the study of podocyte and mesangial cell biology. *Curr Diabetes Rev* 2005; 1(1): 27-40
38. Fioretto P, Bruseghin M, Barzon I, Arboit M, Vestra MD: Diabetic nephropathy: An update on renal structure. *Int Congr Ser* 2007; 1303: 51-59
39. Yousef WM, Morsey MD, Waheed MMA, Ghanayeem NM, Omar AH: Effect of some calcium channel blockers in experimentally induced diabetic nephropathy in rats. *IJPT* 2004; 3: 45-56
40. Geoffroy K, Troncy L, Wiernsperger N, Lagarde M, El Bawab S: Glomerular proliferation during early stages of diabetic nephropathy is associated with local increase of sphingosine-1-phosphate levels. *FEBS Lett* 2005; 579: 1249-1254
41. Karabay G, Erdoğan D, Take G, Karasu Ç: Deneysel diyabette probukol uygulanmasının endokrin pancreas dokusuna etkisinin ultrastrüktürel olarak incelenmesi. *Uludağ Üniv Tıp Fak Dergisi* 2005; 31: 5-8
42. Chatenoud L, You S, Okada H, Kuhn C, Michaud B, Bach JF: 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: Immune therapies of type 1 diabetes: New opportunities based on the hygiene hypothesis. *Clin Exp Immunol* 2010; 160(1): 106-112