

Benfotiamin ve C Vitamininin Deneysel Diyabetik Sıçan Böbrek Dokusundaki Değişiklikler Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Emir DÖNDER¹, Mehmet ÜNAL¹, Dürrin Özlem DABAK², Tuncay KULOĞLU², Yusuf ÖZKAN^{a3}

¹Fırat Üniversitesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

²Fırat Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

³Fırat Üniversitesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Elazığ, Türkiye

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Streptozotosin (STZ) ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde Benfotiamin ve Vitamin C'nin sıçan böbrek dokusundaki apoptotik değişiklikler üzerine koruyucu etkileri incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 28 adet 6 haftalık Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 7 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir işlem yapılmadı. Diğer 3 gruba 50 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0,1 M sodyum sitrat tamponunda çözülürülerek intraperitoneal olarak verildi. Diyabetik grup; sadece kan şekeri takibi yapıldı. DM + Benfotiamin grubuna; benfotiamin 70 mg/kg/gün ve DM + Vitamin C grubuna Vitamin C (900 mg/kg/gün) 6 hafta süreyle oral olarak verildi. Deney sonrası sıçanlar dekapite edilerek böbrek dokuları çıkarıldı. Böbrek dokularına Hematoksilin-Eozin ve TUNEL boyama yapıldı.

Bulgular: Benfotiamin grubuna ait böbrek dokularında, diyabetik grubdan daha az miktarda glomerüllerde mezengial matriks artışı ve hipertrofi gözlemlendi. Vitamin C grubuna ait böbrek dokularında glomerüllerde diyabetik gruptakine benzer bir şekilde belirgin mezengial matriks artışı ve glomerüller hipertrofi gözlemlendi. Vitamin C grubuna ait böbrek dokusunda tübüllerde ise diyabetik gruba karşılaştırıldığında daha az belirgin oranda tübüler dilatasyon, tübül epitellerinde ayrılmalar ve glukojenik vakuolizasyon izlendi. Ancak bu düzelmeye Benfotiamin grubu ile karşılaştırıldığında daha az belirgindi. Kontrol grubu ile kıyaslandığında diyabetik grupta belirgin olarak artmış TUNEL pozitifliği tespit edildi. Benfotiamin ve Vitamin C gruplarında ise TUNEL pozitifliğinin diyabetik gruba göre anlamlı olarak azalmış olduğu gözlemlendi.

Sonuç: DM'nin yol açtığı hücre hasarına bağlı olarak gelişen böbrek fonksiyon bozukluklarına karşı Benfotiamin ve C Vitamininin koruyucu etkilerinin olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Diabetes Mellitus, Benfotiamin, C Vitamini, Apoptozis, Böbrek.

ABSTRACT

The Investigation of Effects of Vitamin C and Benfothiamine on Alterations in The Experimental Diabetic Rat Kidney Tissues

Objective: The protective effects of Benfothiamine and Vitamin C against apoptotic changes in streptozotosin (STZ) induced experimental diabetic rats were investigated.

Materials and Methods: Twenty eight rats were included in the study. The rats were divided into 4 groups as 7 rats in each group. Control group, had no intervention throughout the study. To induce diabetes mellitus (DM) other 3 groups were administered 0.1 M STZ in sodium citrate buffer intraperitoneally. DM group, received no other medication until the end of the study. DM + Benfothiamine group received 70 mg/kg/day Benfothiamine by oral route for a period of 6 weeks. DM+Vitamin C group received 900 mg/kg/day Vitamin C by oral route for a period of 6 weeks. In the end of the experiment, rats were decapitated, renal tissues were obtained and stained with hematoxylin-eosin and Tunel paints.

Results: DM+Benfothiamine group showed mesangial matrix hypertrophy in glomerules, although the increasement was less than the DM group. DM+Vitamin C group also showed increased mesangial matrix and glomerular hyperthrophy. DM+Vitamin C group showed less significant tubuler dilatation, dissociation of tubuler epithelium, and glucogenic vacuolization. This protective effect was not as much as the DM+Benfothiamine group. When compared to control group, DM group had significantly increased Tunel positivity. DM+Benfothiamine and DM+Vitamin C group showed decreased Tunel positivity in comparasion to the DM group.

Conclusion: Benfothiamine and Vitamin C were found to have protective effects on the renal dysfunction induced by DM.

Key Words: Diabetes Mellitus, Benfothiamine, Vitamin C, Apoptosis, Kidney.

Diyabet Mellitus insülin sekresyonu, insülinin etkisi veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize, metabolik bir hastalıktır. Diyabetteki kronik hiperglisemi özellikle gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları gibi bazı organlarda uzun dönemde hasar, disfonksiyon ve yetmezliğe neden olur (1).

Diyabetik nefropati, başka bir renal hastalığı, kalp yetersizliği, üriner sistem enfeksiyonu veya hematürisi olmayan diyabetik bireylerde saptanan kalıcı albuminüri, glomerüler filtrasyon hızında azalma ve kan basıncında yükseklik olarak tanımlanır (2).

Diyabetik nefropati dünyada ve ülkemizde son

^a Yazışma Adresi: Dr. Yusuf ÖZKAN, Fırat Üniversitesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Elazığ, Türkiye
Tel: 0 424 2333555

e-mail: dryusufozkan@hotmail.com

dönem böbrek yetersizliği (SDBY) nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır. ABD’de düzenli diyaliz tedavisine giren hastaların % 40’ını DM’ ye bağlı SDBY oluşturmaktadır. Ülkemizde de Türk Nefroloji Derneği 2005 verilerine göre diyaliz hastaları arasında DM % 25,3 ile SDBY nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır (3).

Diyabetik nefropati patogenezinin hemodinamik faktörler, metabolik faktörler ve oksidatif stres sorumlu tutulmaktadır (4). Oksidatif stresin diyabetin etiolojisinde rol oynadığı ve diyabetin ilerlemesine yol açtığı, deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabeti bulunan olgularda serbest oksijen radikalleri ile lipid peroksidasyonunun arttığı tespit edilmiştir (5).

Diyabet ve diyabete bağlı oluşan komplikasyonların reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini belirten çalışmalarda; nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizması değişiklikleri sonucu oluşan metabolik stres, sorbitol yol aktivasyonu, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu görülen doku hasarının serbest radikal oluşumunu artırdığı vurgulanmaktadır (6).

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada benfotiaminin yüksek konsantrasyonlarda böbrek hücrelerinde direk antioksidan etkileri olduğu gösterilmiştir (7). Benfotiamin vitamin B1’in yağda çözünen şeklidir (8). Benfotiamin yüksek glikoz düzeyinin zararlarına karşı koruyucu role sahiptir (9). Reaktif oksijen ürünleri üzerinde benfotiaminin baskılayıcı özelliğe olduğunu gösteren çalışmalar vardır (10, 11).

Vitamin C (askorbik asit) suda çözünen vitaminlerdendir. Vitamin C antioksidan savunma sisteminde ve apoptozisde önemli rol oynamaktadır (12, 13). Genel olarak metal iyonlarla katalize edilen reaksiyonların yokluğunda Vitamin C en önemli plazma antioksidanıdır (14). Yapılan deneysel diyabetik çalışmalarda Vitamin C’nin kan glukoz düzeyini değiştirmeden böbrek dokusunda iyileştirici etkileri olduğu görülmüştür (15). Bu çalışmamızda diyabetik sıçan böbrek dokusunda antioksidan etkileri bilinen Benfotiamin ve Vitamin C’nin iyileştirici etkilerinin histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma öncesi Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu’ndan onay alındı.

Deneylerde en az 8 haftalık erişkin Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Bu sıçanlar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi’nden temin edildi. Deney hayvanları Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi (FÜDAM) Hayvan Laboratuvarı’nda sıcaklığı 22–25 derece arasında olan bir ortamda, 12 saat ışık altında ve 12 saat karanlık ortamda takip edildi.

Diyabet İndüksiyonu

Diyabet oluşturulması planlanan 21 adet sıçanda bu amaçla 26 gauge’lık insülin enjektörüyle 50 mg/kg dozunda STZ (Streptozotosin Zanosar, Pharmacia, France) intraperitoneal yolla 0,4ml (0,1M) sodyum sitrat tamponu içinde (ph: 4,5) çözülürerek intraperitoneal enjeksiyon yöntemiyle tek doz olacak şekilde uygulandı. Yetmiş iki saat sonra sıçanların kuyruk veninden kan alınarak, glukometre cihazında ölçüm yapıldı. Açlık kan glukozu 250 mg/dl’yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Kan şekeri ölçüm işlemi Clever Chek, TD-4222 ile yapıldı. Sıçanların açlık kan glukoz seviyelerini belirlemek için kan örnekleri, 8-10 saatlik açlık sonrasında sabah 09.00-10.00 civarında alındı.

Deney Gruplarının Oluşturulması

Hayvan çalışmaları, toplam 28 adet sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Sıçanlar; kontrol, diyabetik, diyabet+Benfotiamin ve diyabet+Vitamin C grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Kontrol Grubu (n= 7): Altı haftalık çalışma süresince herhangi bir işlem yapılmadı.

Diyabetik Grup (n=7): Diyabet oluşturulduktan sonra herhangi bir tedavi verilmedi.

Diyabet + Benfotiamin Grubu (n=7): Diyabet oluştuktan sonra 6 hafta boyunca Benfotiamin (70 mg/kg/gün, Sigma, B9636 S-Benzoylthiamine O-monophosphate [Benfotiamine] Sigma-Aldrich Corporation St. Louis, USA.) oral olarak verildi.

Diyabet + Vitamin C Grubu (n=7): Diyabet oluştuktan sonra 6 hafta boyunca Vitamin C (900 mg/kg/gün Redoxon efervesan tablet, 1000 mg, 10 adet, Roche) oral olarak verildi.

Çalışmaya alınan tüm grupların, çalışmanın başlangıcında ve sonunda kan glukoz düzeyleri ölçüldü ve kaydedildi.

Örneklerin Alınması

Bütün gruplardaki sıçanlar deney sonunda ketamin (75 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) i.p. uygulanarak anestezi altında dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından sıçanların böbrek dokuları hızla çıkarıldı. Çıkarılan böbrek dokuları histolojik çalışma için boin solüsyonunda tespit edildi. Böbrek dokuları yağ dokularından arındırıldıktan sonra tartıldı.

Histolojik Çalışma

Bütün gruplardan alınan böbrek dokuları, boin solüsyonunda 24 saat boyunca tespit edildikten sonra musluk suyu altında yıkandı. Yıkamadan sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirildi. Daha sonra böbrek dokuları parafin bloklara gömüldü. Bu parafin bloklar içinden 5-6 Mm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen – Eozin (H&E) yöntemiyle bo-

yandı. Elde edilen preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenip fotoğraflandı.

Tunel Metodu

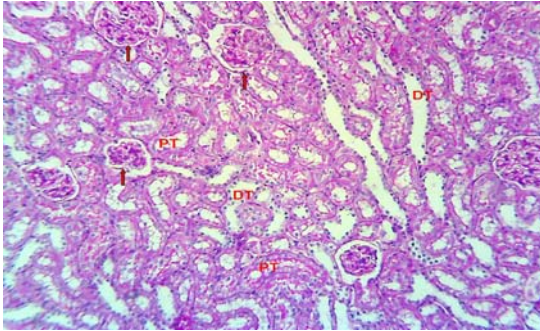
Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında olacak şekilde elde edilen kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoze uğrayan hücreler belirlendi.

Elde edilen preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. Tunel boyama işleminin değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanan çekirdekler normal, kahverengi nükleer şekilde boyanan hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Tunel boyamanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı esas alındı. Tunel boyamanın yaygınlığı 0'dan +4'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı.

BULGULAR

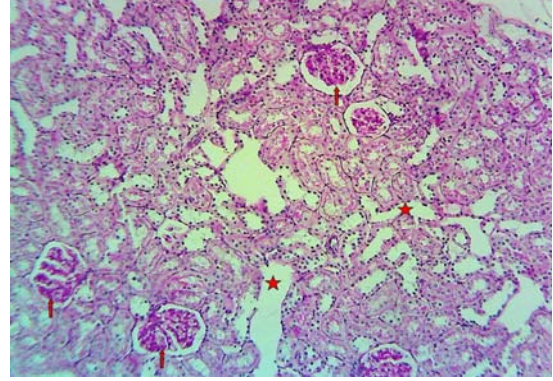
Histolojik Bulgular

Işık mikroskobu incelemelerinde kontrol grubuna ait böbrek dokularında, glomerül ve tübül yapıları normal olarak izlendi (Resim 1).

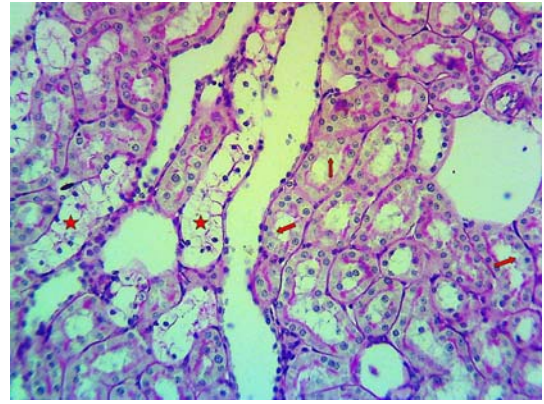


Resim 1. Kontrol grubunda normal böbrek histolojisi. Glomerül (→), Proksimal tübül (PT), Distal tübül (DT). PAS X 100.

Diyabet grubuna ait böbrek dokularında kortekste glomerüllerde hipertrofi, mezangial matriks artışı belirgin olarak görüldü. Tübüllerde ise dilatasyon, tübül epitellerinde ayrılma ve bozulmalar ile glukojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görümlü tübüller (Armani-Ebstein lezyonları) gözlemlendi. Ayrıca bazı glomerüllerde Bowman kapsülünün pariyetal yaprağındaki kalınlaşma belirgin olarak izlendi (Resim 2, 3).

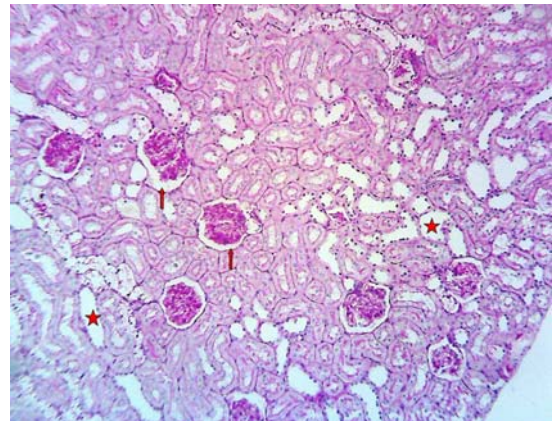


Resim 2. Diyabetik gruba ait böbrek dokusunda glomerüllerde mezangial matriks artışı ve hipertrofi (→), tübül dilatasyon (*). PAS X 100.

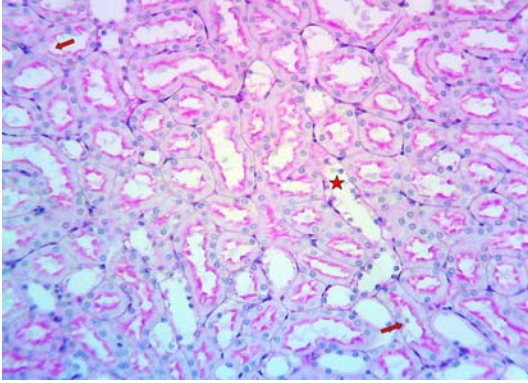


Resim 3. Diyabetik gruba ait böbrek dokusunda tübül epitellerinde ayrılma ve bozulmalar (→), glukojenik vakuolizasyonu (*). PAS X 200.

Benfotiamin grubuna ait böbrek dokularında glomerüllerde mezangial matriks artışı ve hipertrofi gözlenmesine rağmen, diyabetik grupla karşılaştırıldığında daha az belirgin olarak izlendi. Benfotiamin grubuna ait böbrek dokusu tübüllerinde ise tübül dilatasyon, tübül epitellerinde ayrılma ve bozulmalar ile glukojenik vakuolizasyonun diyabetik grupla karşılaştırıldığında belirgin olarak azaldığı gözlemlendi (Resim 4, 5).

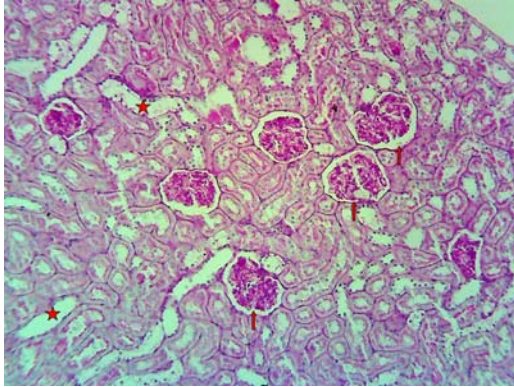


Resim 4. Benfotiamin grubuna ait böbrek dokusunda glomerüllerde mezangial matriks artışı ve hipertrofi (→), tübül dilatasyon (*). PAS X 100.

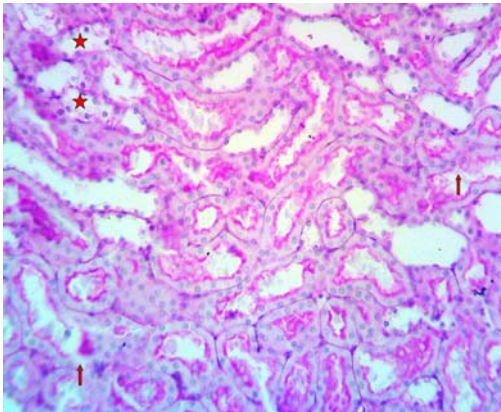


Resim 5. Benfotiamin grubuna ait böbrek dokusunda tübül epitellerinde ayrılma ve bozulmalar (→), glukojenik vakuolizasyonu (*). PAS X 200.

Vitamin C grubuna ait böbrek dokularında glomerüllerde diyabetik gruptakine benzer bir şekilde belirgin mezengial matriks artışı ve glomerüler hipertrofi gözlemlendi. Vitamin C grubuna ait böbrek dokusunda tübüllerde ise diyabetik grupla karşılaştırıldığında daha az belirgin oranda tübül dilatasyon, tübül epitellerinde ayrılmalar ve glukojenik vakuolizasyon izlendi. Ancak bu düzelme Benfotiamin grubu ile karşılaştırıldığında daha az belirgindi (Resim 6, 7).



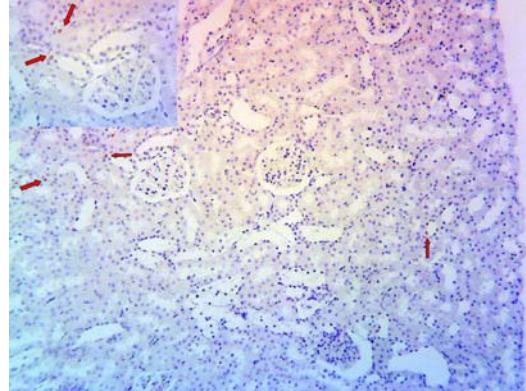
Resim 6. Vitamin C grubuna ait böbrek dokusunda glomerüllerde mezengial matriks artışı ve hipertrofi (→), tübül dilatasyon (*). PAS X 100.



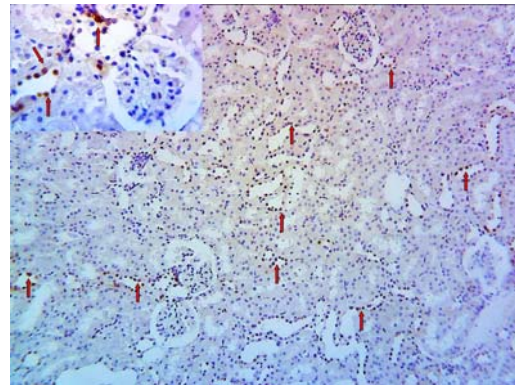
Resim 7. Vitamin C grubuna ait böbrek dokusunda tübül epitellerinde ayrılma ve bozulmalar (→), glukojenik vakuolizasyonu (*). PAS X 200.

TUNEL Boyama Bulguları

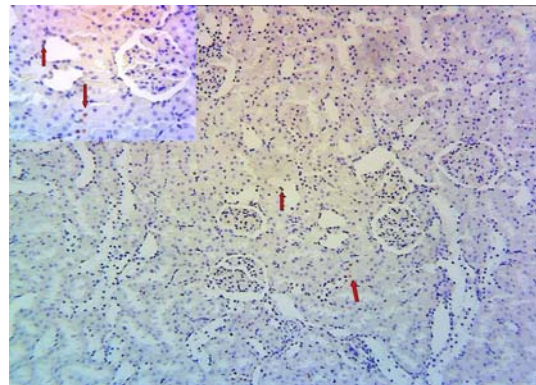
Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan Tunel boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; Tunel pozitifliği kontrol grubunda +1 yaygınlığında gözlemlendi (Resim 8). Kontrol grubu ile kıyaslandığında diyabetik grupta belirgin olarak artmış Tunel pozitifliği dikkati çekti ve +4 olarak değerlendirildi (Resim 9). Benfotiamin ve vitamin C gruplarında ise Tunel pozitifliği diyabetik gruba göre anlamlı olarak azalmış olup kontrol grubuna benzerdi ve +1 olarak değerlendirildi (Resim 10, 11).



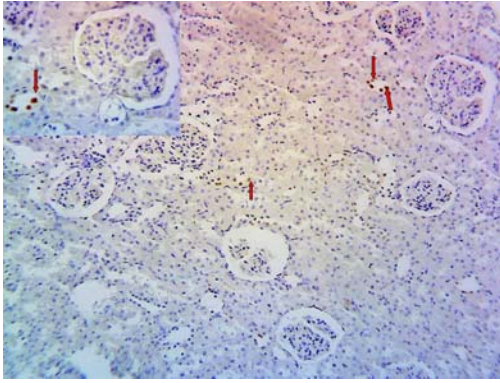
Resim 8. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TUNEL pozitif hücreler (→) X 100.



Resim 9. Diyabetik gruba ait böbrek dokusunda +4 yaygınlığında TUNEL pozitif hücreler (→) X 100.



Resim 10. Benfotiamin grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TUNEL pozitif hücreler (→) X 100.



Resim 11. Vitamin C grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TUNEL pozitif hücreler (→) X 100.

TARTIŞMA

Diabetes Mellitus (DM), mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarla seyreden kronik bir hastalıktır (1). Diyabetik nefropati dünyada ve ülkemizde son dönem böbrek yetersizliği (SDBY) nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır (3). Diyabetik Nefropatide en önemli glomerüler lezyonlar, kapiller bazal membran kalınlaşmaları, diffüz glomerüloskleroz ve nodüler glomerülosklerozdur.

Diffüz glomerüloskleroz, mezengial hücre proliferasyonu ve beraberinde mezengial matrikste diffüz artış olarak tanımlanabilir ve her zaman bazal membran kalınlaşması ile ilişkilidir (16). Son dönem böbrek yetmezliğinde (SDBY) pro-oksidanlar ile antioksidanlar arasında bulunan denge oksidatif stresin artması yönüne kaymıştır. Bu yüzden son zamanlarda SDBY hastalarında oksidatif stres ve antioksidanlarla ilgili çalışmalar önem arz etmektedir (17). Deneysel olarak diyabet yapılan sıçanlarda ve diyabet hastalarında oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun arttığı tespit edilmiştir (5).

Benfotiamin vitamin B1'in yağda çözünen şeklidir (8). Benfotiamin yüksek glukoz düzeyinin zararlarına karşı koruyucu role sahiptir (9). Reaktif oksijen ürünleri üzerinde benfotiaminin baskılayıcı özellikte olduğunu gösteren çalışmalar vardır (10, 11). Yüksek glukoz düzeyine bağlı oluşan apoptozis benfotiamin tarafından önlenir (18). Diyabetik sıçanlarda benfotiaminin çok sayıda oksijen türünü normale getirdiği belirlenmiştir (19). Ayrıca Streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan farelerde oksidatif zararlı etkileri azalttığı gösterilmiştir (20).

Çalışmamızda DM grubu sıçanların böbrek dokularında PAS boyaması sonucu glomerüllerde hipertrofi, mezengial matriks artışı belirgin olarak görüldü. Tübül-lerde dilatasyon, tübül epitellerinde ayrılma ve bozulmalar ile glukojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görümlü tübüller gözlemlendi. Ayrıca bazı glomerüllerde Bowman kapsülünün pariyetal yaprağında belirgin kalınlaşma izlendi.

Çalışmamızda Benfotiamin verilen sıçanların böbrek dokularında mezengial matriks artışı ve hipertrofi gözlenmesine rağmen, diyabetik grupla karşılaştırıldığında daha az belirgin olarak izlendi. Böbrek dokusu tübüllerinde ise tübüller dilatasyon, tübül epitellerinde ayrılma ve bozulmalar ile glukojenik vakuolizasyonun diyabetik grupla karşılaştırıldığında belirgin olarak azaldığı gözlemlendi.

Balakumar ve ark. (21) yaptıkları çalışmada deneysel diyabet modelinde benfotiamin, fenofibrat ve lisinopril kullanımının glomerüllerdeki diyabet kökenli patolojik değişiklikleri azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca, benfotiamin ve fenofibratın eş zamanlı kullanımının iki ilaçtan birinin tek başına veya lisinopril tedavisiyle kıyaslandığında, glomerüller kapiller boyutu düzelterek ve mezengial genişlemeleri azaltarak patolojik değişiklikleri belirgin olarak azalttığını göstermişlerdir. Bizim bulgularımızda Balakumar ve ark.'nın bulguları ile uyumlu idi.

Vitamin C antioksidan savunma sisteminde ve apoptozisde merkezi rol oynar (12, 13). Genel olarak metal iyonlarla katalize edilen reaksiyonların yokluğunda Vitamin C en önemli plazma antioksidanıdır. Bu yüzden Vitamin C in vitro antioksidan deneylerinde antioksidan seçenек olarak kullanılır (14). Yapılan deneysel diyabetik çalışmalarda Vitamin C'nin kan glukoz düzeyini değiştirmeden böbrek dokusunda iyileştirici etkileri görülmüştür (15).

Lee ve ark. (15) yaptıkları çalışmada diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre daha fazla glomerüler genişleme, skleroz ve tübülointerstisyel fibrozis tesbit etmişlerdir. Vitamin C verilen sıçanlarda ise etkili bir şekilde diyabete bağlı glomerüler ve tübülointerstisyel lezyonların azaldığını tesbit etmişlerdir.

Çalışmamızda Vitamin C verilen sıçanların böbrek dokularında glomerüllerde diyabetik gruptakine benzer şekilde belirgin mezengial matriks artışı ve glomerüler hipertrofi gözlemlendi. Yine bu sıçanların böbrek dokusunda tübüllerde ise diyabetik grupla karşılaştırıldığında daha az belirgin oranda tübüller dilatasyon, tübül epitellerinde ayrılmalar ve glukojenik vakuolizasyon izlendi. Ancak bu düzeltme Benfotiamin grubu ile kıyaslandığında daha az belirgindi.

Oksidatif streste kalsiyum düzeyleri ve mitokondrial membran potansiyeli değişmektedir. Bu değişiklik mitokondrilerde ve DNA'da hasara sebep olarak hücreyi apoptozise götürmektedir (22). Hücrenin hasara uğraması ve apoptozise gitmesi esnasında mitokondri membran potansiyelinde oksidatif stresin katıldığı bazı değişiklikler olur. Bu değişiklikler sonrasında sitokrom c, sitozole salınır. Sitokrom c'nin sitozole salınması Bcl-2 ailesinin apoptozisi engelleyici üyeleri (Bcl-2, Bcl-XL) tarafından durdurulabilir. Bu esnada Bcl-2'nin pro apoptotik üyeleri (Bax, Bak, Bad) sitokrom c salınmasını artırmak için çalışırlar. Hücrenin ölmesi ile yaşaması bu dengeyle bağlantılıdır. Bu proteinlerden

proapoptotik olanların artışı hücreyi ölüme sürükler (23-28).

Zhang ve ark.'nın (29) yaptıkları çalışmada hiperglisemide serbest radikal üretimindeki artışın diyabet komplikasyonlarının gelişiminde rol aldığını, oksidatif stres artışının apoptozise yol açtığını ve apoptozisin diyabetik nefropati gelişiminde etkili olabileceğini göstermişlerdir.

Çalışmamızda apoptotik hücrelerin belirlenmesi amacıyla Tunel yöntemi ile boyanan preparatların ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; böbrek dokusunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM grubunda apoptotik hücrelerde anlamlı bir artış vardı. DM+Benfotiamin ile DM+Vit. C grubunda ise DM

grubu ile kıyaslandığında apoptotik hücrelerde anlamlı bir azalma vardı. Bu da muhtemelen Benfotiamin ve Vitamin C'nin antioksidan özelliklerine bağlı olarak oksidatif strese azalmaya yol açarak apoptozisi engellemesine bağlı olabilir.

Sonuç olarak; DM'nin yol açtığı hücre hasara bağlı olarak gelişen böbrek fonksiyon bozukluklarına karşı Benfotiamin ve C vitamininin koruyucu etkilerinin olduğu gözlemlendi. Çalışmamız benfotiamin ve vitamin C'nin diyabetin kronik komplikasyonlarını önlemek ya da geciktirmek için tedavi seçenekleri arasında olabileceğini göstermektedir. Bu konuda daha ileri ve ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The 2001 Bethesda System. Terminology for reporting cervical cytology. *JAMA* 2002; 287: 2114-9.
- Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2011; 1: 62-9.
- Karşıdağ K, Diyabetin Kronik Komplikasyonları. Büyüköztürk K. (editors), İç Hastalıkları. Birinci Baskı, Medical Network & Nobel 2007; 551-64.
- Türkiye'de Nefroloji – Diyaliz ve Transplantasyon, Registry 2005. Türk Nefroloji Derneği Yayınları. İstanbul; Art Ofset 2006; 5-7.
- Özata M, Yörem A. (editors), Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet. 1. Baskı. İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2006; 275-427.
- Pitkanen OM, Martin JM, Hallman M, Akerblom HK, Sariola H, Andersson SM. Free radical activity during development of insulin-dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Sci* 1992; 50: 335-9.
- Boynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999; 48: 1-9.
- Schmid U, Stopper H, Heidland A, Schupp N. Benfotiamine exhibits direct antioxidative capacity and prevents induction of DNA damage in vitro. *Diabetes Metab Res Rev* 2008; 24: 371-7.
- Woelk H, Lehl S, Bitsch R, Köpcke W. Benfotiamine in treatment of alcoholic polyneuropathy: an 8-week randomized controlled study (BAP I Study, Alcohol 1998; 33: 631-8.
- Bakker SJ, Heine RJ, Gans Ro Thiamine may indirectly act as an antioxidant. *Diabetologia* 1997; 40: 741-2.
- Gadua S, Emanuelli C, Linthout SV, Grainai G, Todaro M, Meloni M. et al. Benfotiamine accelerates the healing of ischaemic diabetic limbs in mice through protein kinase B/Akt-mediated potentiation of angiogenesis and inhibition of apoptosis. *Diabetologia* 2006; 49: 405-20.
- Marchetti V, Menghinini R, Rizza S, Vivanti A, Feccia T, Laura D. et al. Benfotiamine counteracts glucose toxicity effects on endothelial progenitor cell differentiation via Akt/FOXO signaling. *Diabetes* 2006; 55: 2231-7.
- Chen L, Jia RH, Qui CJ, Ding G. Hyperglycemia inhibits the uptake of dehydroascorbate in tubular epithelial cell. *Am J Nephrol* 2005; 25: 459-65.
- Serbecic N, Beutelspacher SC. Vitamins inhibit oxidant induced apoptosis of corneal endothelial cells. *Jpn J Ophthalmol* 2005; 49: 355-62.
- Kang SA, Jang YJ, Park H. In vivo dual effects of vitamin C on Paraquat-induced lung damage: dependence on released metals from the damaged tissue. *Free Radic Res* 1998; 28: 93-107.
- Lee EY, Lee MY, Hong SW, Chung CH, Hong SY. Blockade of oxidative stress by vitamin C ameliorates albuminuria and renal sclerosis in experimental diabetic rats. *Yonsei Med J* 2007; 48: 847-55.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Temel Patoloji, Prof. Dr. Uğur Çevikbaş (editors), Nobel Tıp Kitabevi İstanbul, 2003; 7: 635-55.
- Francesco L, Bernard C, Kai-Uwe E, Peter S, Christoph W, Carmine Z. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome, Consensus Paper. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1272-80.
- Beltramo E, Berrone E, Buttiglieri S, Porta M. Thiamine and benfotiamine prevent increased apoptosis in endothelial cells and pericytes cultured in high glucose. *Diabetes Metab Res Rev* 2004; 20: 330-6.
- Hammes HP, Du X, Edelstein D, Taguchi T, Matsumura T, Ju Q, et al. Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy. *Nat Med* 2003; 9: 294-9.
- Wu S, Ren J. Benfotiamine alleviates diabetes-induced cerebral oxidative damage independent of advanced glycation end-product, tissue factor and TNF-alpha. *Neurosci Lett* 2006; 394: 158-62.
- Balakumar P, Chakkarwar VA, Singh M. Ameliorative effect of combination of benfotiamine and fenofibrate in diabetes-induced vascular endothelial dysfunction and nephropathy in the rat. *Mol Cell Biochem* 2009; 320: 149-62.
- Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaslanma. *Cerrahpasa J Medicine* 2004; 35: 159-69.
- Lee JI, Lee KS, Paik YH, Nyun Park Y, Han KH, Chon CY, et al. Apoptosis of hepatic stellate cells in carbon tetrachloride induced acute liver injury of the rat: analysis of isolated hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2003; 39: 960-6.
- Hojman E, Rocha VL, Keller SMI, Rosenstein RE, Pecci A. Involvement of Bax protein in the prevention of glucocorticoid-induced thymocytes apoptosis by melatonin. *Endocrinology* 2004; 145: 418-25.

26. Ramachandran A, Madesh M, Balasubramanian KA. Apoptosis in the intestinal epithelium: its relevance in normal and pathophysiological conditions. J Gastroentrol Hepatol 2000; 15: 109-20.
27. Nagata S. Apoptosis by death factor. Cell 1997; 88: 355-65.
28. Wang X. The expanding role of mitochondria in apoptosis. Ganas Dev 2001; 15: 2922-33.
29. Öniz H. Apoptoz: ölmeye yatmak. Sağlık Bakanlığı Tepecik Eğitim Hastanesi Dergisi 2004; 14: 1-20.
30. Zhang G, Khanna P, Chan LL. Diabetes-induced apoptosis in rat kidney. Biochem Mol Med 1997; 61: 58-62.

Gönderilme Tarihi: 27.06.2012