

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**SİKLOSPORİN NEFROTOKSİSİTESİ OLUŞTURULAN RATLARDA CİLOSTAZOL
VE DİLTİAZEM'İN ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. M. FATİH YÜZBAŞIOĞLU

DR. MUSTAFA GÖKSU
UZMANLIK TEZİ

KAHRAMANMARAŞ/2011

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tezimin hazırlanması aşamasında yakın destek ve ilgisini esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren değerli hocam ve tez danışmanım

Doç. Dr. Mehmet Fatih YÜZBAŞIOĞLU'na,

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinde yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. İlhami Taner KALE, Prof. Dr. Fikret EZBERCİ ve Doç. Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU'na,

Değerli çalışma arkadaşlarım, Dr.Ahmet ÖNDER, D.Hüsamettin YÜZER, Dr.Abdülkadir CİĞER, Dr.Çağlayan DENİZ, Dr.Serdar YORMAZ, Dr.Eyüp PİRCANOĞLU, Dr.Nazmi ÖZER, Dr.Onur PEKER'e,

Bu çalışmam sırasında emeklerini ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Harun ÇIRALIK'a, Doç. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ'a

Biyokimyasal incelemeleri yapan Doç.Dr. Metin KILIÇ'a,

Uzmanlık eğitimim süresince her türlü sıkıntımı paylaşan, büyük bir özveriyle bana destek olan sevgili eşim ve çocuklarıma,

Sonsuz teşekkürler...

Dr. Mustafa GÖKSU

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER	III
TABLolar DİZİNİ.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
KISALTMA LİSTESİ	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 BÖBREĞİN YAPISI VE FONKSİYONLARI.....	3
2.2 AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ	5
2.3 İSKEMİK AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ	6
2.4 SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ VE BÖBREK	8
2.5 SERBEST RADİKALLER.....	9
2.5.1 Serbest Radikallerin Etkileri	10
2.5.2 Membran Lipitlerine Etkileri.....	11
2.5.3 Proteinlere Etkileri	11
2.5.4 Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri.....	11
2.6 ANTİOKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMALARI	11
2.6.1 ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	13
2.6.2 ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDANLAR.....	15
2.7 ÇALIŞMADA KULLANILAN ETKEN MADDELER	18
2.7.1 Siklosporin A.....	18
2.7.2 Cilostazol.....	21

2.7.3. Diltiazem	22
3. MATERYAL METOD	23
3.1 Deney Hayvanları	23
3.2 Deneysel Model	23
3.3 Kullanılan İlaçlar	27
3.4 Biyokimyasal İnceleme Yöntemleri	27
3.5 İstatistik	28
4. BULGULAR	29
4.2 MDA Değerleri Üzerine Etkiler	29
4.2 SOD Değerleri Üzerine Etkiler	31
4.3 Kan CAT Değerleri Üzerine Etkiler	32
4.4 Serum Üre Değerleri	34
4.5 Serum AST Değerleri	37
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ	43
KAYNAKLAR	44

TABLolar DİZİNİ

Tablo I. Antioksidanlar	13
Tablo II. Deney gruplarının MDA değerleri	29
Tablo III. MDA'nın çoklu karşılaştırılması	29
Tablo IV. Deney gruplarının SOD değerleri	31
Tablo V. SOD'un çoklu karşılaştırılması	32
Tablo VI. Deney gruplarının CAT değerleri	33
Tablo VII. CAT'un çoklu karşılaştırılması	33
Tablo VIII. Üre'nin gruplar arasında karşılaştırılması.....	35
Tablo IX Üre'nin çoklu karşılaştırılması	35
Tablo X. AST'nin gruplar arasında karşılaştırılması	37
Tablo XI. AST'nin çoklu karşılaştırılması	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. CsA'nın kimyasal formülü	18
Şekil 2. Cilostazol'un kimyasal yapısı	21
Şekil 3. Diltiazem'in kimyasal yapısı	22
Şekil 4. İntraperitoneal enjeksiyonun yapılması	26
Şekil 5. Oral ilaç verilmesi	26
Şekil 6. Median laparotomi insizyonu	26
Şekil 7. Sol renal eksplorasyon	26
Şekil 8. Renal pedikülün klempelenmesi	26
Şekil 9. İntrakardiyak kan örneği alınması.....	26
Şekil 10. MDA'nın gruplar arasında karşılaştırılması	30
Şekil 11. SOD'un gruplar arasında karşılaştırılması.....	32
Şekil 12. CAT'ın gruplar arasında karşılaştırılması.....	34
Şekil 13. Üre'nin gruplar arasında karşılaştırılması.....	36
Şekil 14. AST'nin gruplar arasında karşılaştırılması.....	38

KISALTMA LİSTESİ

I/R: İskemi reperfüzyon

ABY: Akut böbrek yetmezliği

SOD: Süperoksit dismutaz

SOR: Serbest oksijen radikalleri

ATN: Akut tübüler nekroz

KBH: Kronik böbrek hastalığı

SDBY: Son dönem böbrek yetmezliği

GFR: Glomerüler Filtrasyon Hızı

O_2^- : Süperoksit radikali

H_2O_2 : Hidrojen peroksit

GSH: Glutatyon

OH^- : Hidroksil radikali

CsA: Sikloporin A

DNA: Deoksiribo nükleik asit

MDA: Malondialdehit

CAT: Katalaz

AST: Aspartat Aminotransferaz

IFN: Interferon gama

TNF: Tümör Nekroz Faktör alfa

ÖZET

SİKLOSPORİN NEFROTOKSİSİTESİ OLUŞTURULAN RATLARDA CİLOSTAZOL VE DİLTİAZEM'İN ETKİLERİ

Kalsinörin inhibitörleri organ transplantasyonlarında yaygın olarak kullanılan immünsupresif ilaçlardır. Kalsinörin inhibitörlerinin kullanımını sınırlayan önemli yan etkileri mevcuttur. Bu etkilerden en önemlisi nefrotoksisitedir.

Bu çalışmamızda kalsinörin inhibitörlerinden olan Siklosporin A (CsA)'ya bağlı nefrotoksositeye karşı Cilostazol ve Diltiazem'in etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmamızda 56 adet wistar cinsi rat Sham, Kontrol, Cilostazol, Diltiazem, CsA, CsA-Diltiazem, CsA-Cilostazol grubu olmak üzere 7 grup oluşturuldu. Gruplara İ/R (İskemi/Reperfüzyon) oluşturulduktan sonra, Cilostazol 10 mg/kg/gün oral, Diltiazem 5 mg/kg/gün intraperitoneal ve CsA 10 mg/kg/gün intraperitoneal dozunda 7 gün verildi. Bu dönemin sonunda ratlara relaparotomi yapılarak kan örnekleri alındı. Bu örneklerden biyokimyasal (Malondialdehit (MDA), Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Blood Ürea Nitrojen (BUN), Aspartat Aminotransferaz (AST) analizler yapıldı. Sonuçlar birbirleriyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Çalışmamızın sonunda CsA verilen ratlarda CAT ve SOD seviyelerinde anlamlı azalma ve MDA seviyelerinde anlamlı artış tespit edilirken tedaviye Cilostazol ve Diltiazem ilavesi ile bu artışlarda belirgin azalma tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Siklosporin, İskemi/Reperfüzyon, Cilostazol, Diltiazem

ABSTRACT

THE EFFECTS OF CILOSTAZOL AND DILTIAZEM ON RATS WITH CYCLOSPORIN INDUCED NEPHROTOXICITY

Calcineurin inhibitors are widely used immunosuppressive drugs for organ transplantations. Calcineurin inhibitors have important side effects that limit their usage. The most important side effect is nephrotoxicity.

In this study, we aimed to evaluate effects of cilostazol and diltiazem against nephrotoxicity induced by Cyclosporin A (CsA) which is one of the calcineurin inhibitors. We had 7 groups (Sham, Control, Cilostazol, Diltiazem, CsA, CsA-Diltiazem, CsA-Cilostazol) of 56 wistar type rats. After the formation of I/R (ischemia / reperfusion), Cilostazol 10 mg/kg/day oral, Diltiazem 5 mg/kg/day intraperitoneal and CsA 10 mg/kg/day intraperitoneal doses were given for 7 days. At the end of this period, blood samples were obtained from rats by relaparotomy. Biochemical analysis (malondialdehit, superoxide, catalase, BUN, AST) were done with these samples. The results were statistically compared with each other.

At the end of our study, while a significant decrease in levels of CAT and SOD, significant increase in levels of MDA were obtained in rats given CsA, and significant decrease of increments were obtained by addition of Cilostazol and Diltiazem to treatment.

Keywords: Cyclosporin, Ischemia / Reperfusion, Cilostazol, Diltiazem

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik böbrek hastalığı (KBH), nefronların kronik ve irreversibl olarak sayı ve fonksiyonlarında azalma ile sonuçlanan ve sıklıkla son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) götüren, pek çok etyolojik sebebi olan bir klinik durum olarak adlandırılır. SDBY ise endojen renal fonksiyonun irreversibl kaybı ve glomeruler filtrasyon hızının 15 ml/dk' nın altına düşmesi ile karakterizedir. KBH genellikle kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve birlikte bulunduğu tüm nedenlere bağlı mortalite için bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. KBH artan insidansı, yüksek maliyeti ve kötü klinik sonuçları açısından önemli bir halk sağlığı problemidir. KBH'da üremiden korunmak için hemodiyaliz, periton diyalizi veya transplantasyon gibi renal replasman tedavilerinin uygulanması gerekir.^{1,2} Böbrek transplantasyonu SDBY olan hastalarda en iyi ve ekonomik tedavi yöntemidir. Başarılı bir transplantasyon sürekli hemodiyaliz veya sürekli periton diyaliz uygulamasının ve buna bağlı birçok sorunun önüne geçebilmektedir. Ayrıca sosyal hayata daha rahat ve etkin bir katılım ve yaşam sürelerinin belirgin bir şekilde artmasını sağlamaktadır.¹⁻³

Böbrek transplantasyonu ile ilgili ilk girişimler 1906'da Mathieu Jaboulay tarafından gerçekleştirilmiştir. Jaboulay, keçi ve domuz böbreklerini, KBH olan hastaların kollarındaki damarları ile yaklaşık 1 saat fonksiyon görecektir şekilde birleştirmiştir. İnsanlarda ilk başarılı böbrek nakli 1954 yılında John Merrill, Joseph Murray ve Hartwell Harrison tarafından ikiz kardeşler arasında bir böbrek nakli operasyonu ile gerçekleştirilmiştir.^{4,5} İmmünrejeksiyon mekanizmalarının anlaşılması ile immüsupresiflerin geliştirilmesini sağlamıştır. Başarılı böbrek transplantasyonunda en önemli faktörlerden biri kullanılan immüsupresif ilaçlardır. 1960'ların başında Azatioprin, 1980'lerin başında Siklosporin A (CsA) ve antilenfositik globulinlerin geliştirilmesi ile allogreft sağkalımı uzamış ve rejeksiyon sıklığında belirgin olarak azalma görülmeye başlanmıştır. Renal transplantasyon da kullanılan immüsupresif tedavi rejimleri hızlı gelişim göstermektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda, etkin ve seçici ilaçlar kullanıma girmeye başlamıştır. Tedavi protokollerinin yalnızca immüsupresif etkinlik değil, aynı zamanda yaratabilecekleri morbidite açısından da dikkatle değerlendirilmeleri gerekmektedir. Artık tedavi protokollerinde spesifik immüsupresyon hedeflenmektedir. Böylece rejeksiyon oranları azaltılırken, immüsupressif ilaçlara bağlı olarak gelişebilecek olumsuzlukların önlenmesi sağlanmış olacaktır. Transplantasyon sonrası görülen bu olumsuzluklar arasında hipertansiyon, hiperlipidemi, transplantasyon sonrası gelişen diabetes mellitus, osteoporoz, enfeksiyonlar, ilaç toksisiteleri, kozmetik yan etkiler ve malignite gelişimi vardır. Bu nedenle transplantasyon sonrası doğru immüsupresif ilaç kullanımı ile

allogreft ve hasta sağ kalımını artırmanın yanında yaşam kalitesini artırmak da mümkün olabilecektir.^{1,6}

Modern immüsupresif ilaç tedavi protokollerinden yer alan ilaçlardan bir tanesi kalsinörin inhibitörlerinden CsA'dır. CsA fungus kökenli siklik bir polipeptiddir. CsA'nın immüsupresif etkileri; sitoplazmik reseptör proteinleri ile birleşerek kompleks bir yapı geliştirmesiyle oluşur. CsA, sitoplazmik reseptörü siklofilin ile kalsinörünü inhibe eder. Kalsinörünün inhibe edilmesiyle T hücrelerini aktive eden bazı önemli sitokin genlerinin ekspresyonu bozulur. Böylece başta IL-2 olmak üzere IL-4, Interferon-gama (IFN) ve Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF)'nın gen transkripsiyonunu engellenir ve T hücrelerinin olgunlaşmasını ve aktivasyonunu sağlayan sitokinlerin sentezi yapılamaz. Sonuçta T hücrelerinin inaktivasyonu organ transplantasyonu için gereken immüsupresyon büyük ölçüde sağlanmış olur.^{7,8}

CsA organ transplantasyonlarında yaygın olarak kullanılan bir ilaç olmakla birlikte klinik kullanımını sınırlayan önemli yan etkileri mevcuttur. Bunlar arasında en önemlisi ve en yaygın görüleni nefrotoksisitedir. CsA'ya bağlı nefrotoksisite akut böbrek yetmezliği, subakut böbrek yetmezliği veya kronik nefropatiye yol açabilir. CsA nefrotoksisitesinin oluşmasındaki temel mekanizma doza bağlı olarak böbrek kan akımında ve filtrasyon hızında azalma ile reversibl renal vazokonstriksiyondur. Ayrıca CsA'nın kullanımının önemli bir yan etkisi de hipertansiyondur.⁸⁻¹¹

Renal transplantasyon sonrası böbrekte İskemi/Reperfüzyon hasarı (İ/R) oluşabilmektedir. Renal transplantasyon işlemi sırasında transplante edilecek greftin İ/R hasarına değişen düzeylerde maruz kalması ve immüsupresif olarak kullanılan CsA'nın oluşturduğu nefrotoksisite, postoperatif dönemde buna bağlı greft fonksiyon gecikmelerine ve greft kayıplarına neden olabilmektedir. Dolayısıyla İ/R hasarının önlenmesinde ve kullanılan CsA'nın oluşabilecek nefrotoksisitenin engellenilmesine yönelik girişimlerin greft fonksiyonlarına ve greft yaşam süresine olumlu etkileri olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle renal transplantasyon sırasında renal İ/R hasarından korunmak ve CsA nefrotoksisitesinin önlenmesine yönelik uygun tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. İ/R hasarını önlemek için çeşitli ajanlarla çok çeşitli araştırmalar yapılmıştır.⁸

Bu çalışmamızda böbrek dokusunda oluşturulan İ/R hasarının yaratacağı hasara ve oluşturulan CsA nefrotoksisitesine karşı antiplatelet, vazodilatör ve antitrombotik etkilerinden dolayı Cilostazol ve vazodilatör etkisinden dolayı Diltiazem maddelerinin olası etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 BÖBREĞİN YAPISI VE FONKSİYONLARI

Böbrekler vertebral kolonun her iki tarafında, renal fasiyanın (Gerota fasiyası) ön ve arka yapraklarının arasındaki retroperitoneal boşlukta yer alan organlardır. Erişkin böbreği 10–14 cm uzunluğunda, 5–7 cm genişliğinde ve 2,5–3 cm kalınlığındadır. Ağırlığı kadınlarda yaklaşık 135, erkeklerde 150 gr'dır.

Her bir böbreğin anterior ve posterior yüzeyleri, medial ve lateral kenarları, superior ve inferior kutupları vardır. Her böbreğin medial kesiminde renal hilus denilen ve içinden renal arter, renal ven, renal pelvis, üreter, lenfatik ve sinirlerin geçtiği bir yapı bulunur. Renal hilus içinde renal arterler ve sinirler girerken, renal venler, lenfatikler ve üreter böbreği buradan terkeder. Sağ böbrek üstte sürrenal bez, üst ve önde karaciğer, hilus seviyesinde duodenum, alta ve lateral kenarda kolon ile komşudur. Sol böbrek ise üstte sürrenal bez, önde mide, dalak, pankreas, jejunum ve desendan kolon ile komşudur. Her iki böbrek arkada diafragma, kuadratus lumborum ve psoas kaslarına yaslanır.^{12 13}

Her bir böbrek aortadan köken alan renal arterler ile kanlanır. Böbreğin kan akımı normalde kalp debisinin %22'si kadar veya yaklaşık dakikada 1100 ml'dir. Renal arter hilustan böbreğe girdikten sonra önce interlobar daha sonra arkuat arterlere ayrılır. Arkuat arterlerden dik olarak interlobüler arterler çıkar. Bu arterlerden glomerüle giden afferent arterioller köken alır. Glomerülü oluşturan kapillerler birleşerek efferent arteriollerini oluşturur. Efferent arterioller daha sonra dallanarak tübülüsleri saran, böbrekteki 2. kapiller ağ sistemi olan peritübüler kapiller ağı oluşturur. Peritübüler kapillerlerden gelen kan venöz sisteme dökülür. Oradan sırası ile arteriyel sistemle paralel olarak interlobüler ven, arkuat ven, interlobar ven ve renal veni takip eder. Renal venler ise inferior vena kavaya drene olurlar.¹⁴

Böbrek sagittal olarak kesildiğinde dışta korteks, içte medulla olmak üzere 2 kısımdan oluşur. Medulla, medüller piramit ismi verilen 10–18 adet piramidal yapıdan oluşur. Piramitlerin tabanları kortikomedüller bölgede bulunurken, tepe kısımları kaliks içine kadar uzanır. Kaliks içine açılan bu kısımlara papilla ismi verilir. Korteks böbreğin dış kısmının yanı sıra medüller piramitler arasında da yer alır ve bu kısma Bertini'nin böbrek kolonları denir.¹⁴

Böbrekte idrar oluşumunu sağlayan en küçük yapısal ve anatomik birim nefrondur. Her bir böbrekte, her birinin idrar yapabilme fonksiyonu olan yaklaşık 1 milyon nefron bulunur. Gelişimini tamamlayan bir böbrekte yeni nefron yapılamaz. Bu nedenle yaşlanma,

böbrek hastalıkları veya travma nedeniyle kaybedilen nefronların yerine yenileri yapılamaz. Yaşlanma ile %10–40 arasında nefron kaybedilir ama geride kalan nefronlar kendini bu duruma adapte edebilir.¹⁴

Her bir nefron sıvının kandan filtre edildiği bir glomerül ve filtre edilmiş sıvının sonunda idrara dönüştüğü uzun ve yer yer kıvrıntılı tübülden oluşur. Glomerül, diğer kapiller ağlar ile karşılaştırıldığında, daha yüksek hidrostatik basınca (60 mmHg kadar) sahip, dallanan ve anastomoz yapan kapiller bir ağdan oluşmuştur. Glomerül kapillerleri, epitel hücreleri ile örtülmüştür ve tüm glomerül Bowman kapsülü ile sarılmıştır. Tübülüsler ise filtre edilen sıvının idrara dönüştüğü proksimal ve distal tübülsler, Henle kulpu ile toplayıcı kanallardan oluşan kısımdır. Glomerüller, proksimal ve distal tübülsler ve dış korteksteki nefronların Henle kulpları kortekste; toplayıcı kanallar, Henle kulpları ve vasa rectalar medüllada bulunur. Nefronlar böbrek dokusunda ilerledikleri derinliğe göre, kortikal ve jukstaglomerüler olmak üzere 2 tiptir. Glomerülden filtre edilen sıvı sırasıyla proksimal tübül, Henle kulpu, distal tübül ve toplayıcı kanallardan geçer, renal papillaların içinden böbrek pelvisine boşalır. Her böbrekte her biri 4000 nefrondan idrar toplayan 250 kadar çok geniş toplayıcı kanal vardır.¹⁴

Nefronların temel işlevi istenmeyen maddeleri plazmadan temizlemektir. Bunun için kullanılan mekanizmalar glomerüler filtrasyon, tübüler reabsorpsiyon ve tübüler sekresyondur. Glomerüler filtrasyon mekanizmasıyla glomerüldeki kanın plazmasının bir bölümü (yaklaşık 1/5'i) glomerüler membrandan filtre edilir. Tübüler reabsorpsiyon ile filtre edilen sıvı, tübüllerde ilerlerken su ve diğer gerekli maddeler reabsorbe edilir. İstenmeyen maddeler geri emilmez ve idrar oluşumuna katkıda bulunur. Tübüler sekresyon ile de plazmadaki bazı maddeler tübüleri döşeyen epitel hücrelerince doğrudan tübüler sıvı içine sekrete edilir.^{14, 15}

Böbreğin temel fonksiyonlar:

1) Ekskretuar fonksiyonlar; idrar oluşumu

Artık maddelerin eliminasyonu: Metabolik artık maddeler (üre, ürik asit gibi).

Ekzojen maddeler (ilaçlar, toksinler ve metabolitleri).

Su dengesinin korunması: Total vücut suyunun korunması, plasma osmolalitesinin korunması.

Elektrolit ve asit baz dengesinin korunması: Sodyum, klorür, kalsiyum, fosfat, potasyum, magnezyum ve asit-baz dengesinin korunması.

2) Metabolik Fonksiyonlar

Hormonlar ve benzeri maddelerin sentezi: Renin, D vitamini, eritropoetin, prostoglandinler, kallikrein-kinin, büyüme faktörleri.

Peptid yapılı hormonların yıkımı ve katabolizması: İnsülin, glukagon, parathormon, kalsitonin, prolaktin, büyüme hormonu, vazopressin, gastrointestinal hormonlar.

Düşük molekül ağırlıklı proteinlerin katabolizması: Hafif zincirler, mikroglobulin.

Diğer metabolik fonksiyonlar: Glukoneogenez, lipid metabolizması.¹⁴

2.2 AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

Akut Böbrek Yetmezliği (ABY), saatler, günler ya da haftalar içerisinde gelişen Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFR)'daki azalma sonucu kan üre azotu ve diğer üremik toksinlerin vucutta birikmesi ile karakterize bir klinik sendromdur. GFR'deki azalma önceden herhangi bir böbrek hasarı olmayan bireylerde oluşabileceği gibi, önceden kronik bir böbrek bozukluğu olan bireylerde de akut alevlenme şeklinde ortaya çıkabilmektedir. Böbrek yetmezliğinin ağırlığına ve süresine bağlı olarak, metabolik asidoz, su ve elektrolit dengesinin bozulması gibi metabolik bozukluklar da tabloya eklenebilir. Hastaneye yatırılan tüm hastaların yaklaşık %5'inde ve yoğun bakım ünitelerindeki hastaların %30'unda ABY gelişmektedir.^{1, 16-19}

Gelişmiş ülkelerde yapılan çalışmalarda insidansının 200 milyon kişi/yıl ve diyaliz ihtiyacı 50 milyon kişi/yıl olarak saptanmıştır.¹⁸

Günümüzde ABY patofizyolojik mekanizmalarına göre prerenal (prerenal azotemi), renal (intrinsik) ve postrenal olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır.

Prerenal azotemi, gerçek hipovolemi veya bir hastalık sonucu oluşan düşük kalp debisi, sistemik vazodilatasyon ya da intrarenal vazokonstriksiyon nedeniyle oluşan renal hipoperfüzyona bağlı gelişir.

Renal ABY, böbreğin büyük damarlar hastalıkları, mikrovasküler hastalıklar, glomerüller hastalıklar, tübülointersitisyel hastalıklar, iskemik ve Akut Tubuler Nekroz (ATN)'ye bağlı olarak gelişir. Hastane şartlarında ABY'nin en sık nedeni ise %50'ye yakın oranı ile ATN'dir. İskemik ATN özellikle postoperatif dönemlerde ve travma sonrası gelişmektedir. Yoğun bakım servislerinde ise sepsis en önemli nedendir.

Postrenal ABY, idrar akımının anatomik olarak engellenmesine bağlı gelişir. İdrar akımının sağlanması için her iki üriner sistemde de tıkanıklık olmaması gerekmektedir. Erkeklerde daha sık gelişmektedir. Bunun sebebi erkek üretrasının daha uzun olması ve prostat patolojileridir. Akut obstrüksiyon üriner sistemde ciddi basınç artışına yol açıp gomerüler filtrasyonun hızla azalmasına neden olur.¹⁶⁻²⁰

2.3 İSKEMİK AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

İskemik ABY özellikle yatan hastalarda yüksek mortalite ve morbiditeye sebep olan genel bir problemdir. İskemik ABY en sık majör kardiyovasküler cerrahi uygulanan, şiddetli travma, kanama, sepsis ve böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda gelişmektedir. İskemik ABY, prerenal nedenlere, intrarenal mikrovasküler vazokonstriksiyon veya obstrüksiyondan dolayı renal hipoperfüzyona bağlı olarak ortaya çıkar. İskemik ABY, hipoperfüzyonun renal parankimal hücrelerde ve özelliklede tubuler hücrelerde harabiyet oluşturması, renal hücrelerin onarılması ve rejenerasyonunu gerektirdiğinden, renal perfüzyon normale getirilirse bile olayın düzelmesinin 1–2 haftalık bir süreyi gerektirmesi prerenal ABY'den farklılık göstermektedir. İskemik ABY ileri formlarında bilateral renal kortikal nekroza yol açmasından dolayı, geri dönüşümsüz böbrek yetmezliğine yol açabilmektedir.²¹

Morfolojik çalışmalar, iskeminin proksimal tübüllerin distal segmentlerini irreversibl olarak hasara uğrattığını bununla birlikte kısa süreli (<30 dk) iskemiden sonra daha fazla proksimal segmentler reversibl hasardan etkilendiğini göstermiştir. Proksimal tübüllerin distal segmentleri hücre ölümüne uğrayarak tübül lümenine dökülür. Bu dökülme GFR'daki düşüşün temeli olduğu kabul edilir. Distal tübüller proksimal tübüllerden daha az duyarlıdır. Proksimal tübüllerin ve distal tübüllerin hipoksik hasara bu ayrımsal duyarlılığı bu hücre tiplerindeki prooksidan ve antioksidan hücresel savunma sisteminin başlamasına veya kaybına bağlı olabilir. Böbrek tübül hücresinin I/R hasarının sonucu olarak ölümünün nekroz ve apoptozisi içerdiği bilinmektedir.²²

İskemik ABY'nin gelişmesinde iskemik hasar dışında birçok faktör rol almaktadır. İskemik hasar sırasında gelişen bir dizi hücre içi metabolik olay çeşitli şekillerde hücre ölümüne yol açabilir. Bu metabolik olaylar sonucunda gelişen ATP eksikliği, hücre içi pH değişiklikleri, serbest radikallerin artması, apoptotizis ve hücre içi kalsiyum miktarının artması hücre ölümüne sebep olur.²³

Prerenal ATN nedenleri (kalp debisinin azalması, hipovolemi ve sistemik vazodilatasyon) preglomerüler vazokonstriksiyon oluşturarak GFR'nin azalmasındaki en

önemli sebep olarak gözükmektedir. Preglomerüler vazokonstriksiyon mekanizması baroreseptörlerin aktive olması ile başlar. Nörohormonal cevabın uyarılması ile renin anjiyotensin aldosteron sistemi aktive olur. Sempatik sinir sistemi de aktive olur ve vazopressin salgılanması artar. Aferent ve eferent arteriyollerde vasküler rezistans artar. Glomerüler plazma akımı %30–50 oranında azalır. Katekolaminlerin, anjiyotensin II' nin ve endotelinin seviyeleri artar. Bunun sonucunda vazokonstriksiyon gelişir. Preglomerüler sebepler sonucu makula densaya ulaşan solütlerin miktarının artması ile “tübüloglomerüler feedback” mekanizması da aktive olur ve bu aktivasyon da vazokonstriksiyonun devam etmesine sebep olur. İskemik böbrekte vazokonstriktör maddelerin etkisine karşı aşırı bir hassasiyet ve vazodilatatör maddelerin etkisine karşı da bir direnç söz konusudur.

Oksijenlenmenin bozulması ile artan intraselüler kalsiyum birikiminin aferent arteriyollerdeki direnç artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Kalsiyum kanal blokerlerinin kaybolan otoregülasyonu düzeltmesi ve renal sinir innervasyonuna olan sensitiviteyi azaltması bir kanıt olarak sunulmaktadır. Ayrıca intraselüler kalsiyum intraselüler proteazları ve fosfolipazları da aktive ederek hücre nekrozuna sebep olur.²¹⁻²⁴

ABY'nin başlangıcındaki iskemik olay düzelse bile kan akımı bozuklukları ATN geliştikten sonra da devam etmektedir. Reperfüzyon sırasında kan akımında %40–50 oranında azalma devam eder. Gelişen intersitisyel ödem kan akımını, medulladaki damarlara bası uygulayarak daha da bozabilmektedir. Plazmanın damar dışına kaçağı sonrası hemokonsantrasyon gelişir ve dolaşım daha da bozulur. Bu durum lökositlerin endotel hücreleri ile karşılaşması olasılığını artırmaktadır. Bu olayları takiben lökosit adhezyonu ve infiltrasyonu ile vazokonstriksiyon ve lokal kan akımındaki azalma (konjesyon) bir kısır döngü halinde devam eder. Sonuçta GFR'de azalma ile birlikte subletal hasardan apoptozise ve nekroza kadar gidebilen bir tablo gelişir.²²

İskemik böbrekte gelişen çeşitli tübüler hasarlar da, ATN gelişiminde ve ATN' nin sürmesinde rol oynamaktadır. Tübüler hücrelerde izlenen bu değişiklikler proksimal tübül hücrelerinin fırçamsı kenarlarının ve bu hücrelerin bazal membrandan koparak tübül lümenine dökülmesine ve tübül lümeninin tıkanmasına sebep olur. Tübül tıkanması sonucu net transglomerüler kapiller basıncı azalır ve bunun sonucunda GFR de azalır.

CsA tübüler toksisite de ATN'de görülebilmektedir ve her iki ilaç akut ve kronik nefrotoksisiteye yol açabilir. Klasik olarak ATN morfolojik bulgularını CsA toksisitesinde izlemek çok olası değildir. CsA afferent ve efferent glomerüler arteriyollerde vazokonstriksiyona neden olur.

İskemik böbrek hasarında gelişmesinde ve ilerlemesinde inflamasyon da etkili faktörlerden biridir. İskemik böbrek hasarında inflamasyonu başlatan en önemli faktör, tübüler hasar sonucu tübül hücrelerinden inflamasyonu tetikleyen TNF- α , IL-6, IL-1 α , ve TGF- β gibi sitokinlerle, monosit kemoatraktan protein-1, interlökin-8 kemokinlerin salgılanmasıdır. Ayrıca tübül hücreleri İ/R hasarı sırasında ICAM-1 gibi adhezyon moleküllerini eksprese ederler. İ/R hasarı sırasında komplement sistemi de aktive olur. Lökotrienler ve platelet aktive edici faktör gibi faktörler de salgılanır. Bu faktörler nötrofillerin hasarlanmış alana taşınmalarına yardımcı olur. Bu olaylar gelişirken, yukarıda belirtildiği gibi, endotel hücreleri de aktive olur ve endotel hücreleri üzerinde integrinler eksprese edilmeye başlanır. Endotel ve lökositler arasındaki adhezyon sonrası lökositler hasarlı bölgeyi infiltre ederler. Kemokinler, reaktif oksijen türevleri ve IL-1, TNF- α gibi sitokinler de lökositleri bu bölgeye çekerler.²³

İskemik böbrek hasarında, renal perfüzyonun bozulması sonucu oluşan ve böbrek fonksiyonlarının bozulmasına neden olan tübüler hasarın yan sıra, reperfüzyon sağlandıktan sonra ortaya çıkan serbest radikaller de önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle proksimal tübül hücrelerinin metabolik açıdan yoğun olmaları, ATN sırasında mitokondriyal hasar ve intrasitoplazmik kalsiyum artışı nedeniyle oksidatif moleküller fazla miktarlarda oluşur. Hücre hasarı sırasında oluşan süperoksitten, yoğun miktarlarda hidrojen peroksit oluşur. Hidrojen peroksit normalde su molekülüne çevrilebildiği halde hasarlı hücrelerde hidroksil radikallerine de dönüşebilir. Hidroksil radikalleri, serbest oksijen radikal oluşumuna ve lipid peroksidasyonuna sebep olur. Hücre proteinlerinin okside olmasıyla, mitokondri membranını bozarak Deoksiribo Nükleik Asit (DNA)'te hasara neden olur. Sonuçta hücre zedelenmesine yol açar.²²⁻²⁵

Önceki çalışmalarda böbrek dokusu veya idrarda artmış oksidan hasar ürünlerinin saptanması ve/veya serbest oksijen radikalleri inhibitörleri verilmesi ile koruyuculuğun deneysel olarak gösterilmesi ile serbest oksijen radikallerinin nefropati patogenezinde rolü olduğu gösterilmiştir.²⁵

2.4 SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ VE BÖBREK

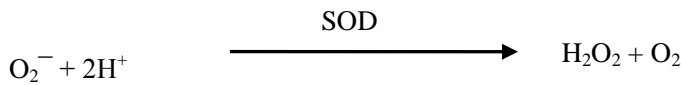
Son yıllarda yapılan hayvan çalışmalarında serbest oksijen radikallerinin, İ/R hasarı ve böbrek allogreft rejeksiyon patogenezinde önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir. CsA gibi immünsupresif ilaçlar, nitrik oksit inhibisyonu aracılığıyla dolaylı vazokonstriksiyon etki göstererek böbrekte oksidatif strese yol açarlar. Böbrek İ/R ve nefrotoksisite sırasında SOR üretiminde yer alan mekanizmalar halen tam olarak anlaşılamamıştır. Deneysel renal allogreft

ve rejeksiyon çalışmalarında Nikotinamid Adenin Dinükleotid Hidroksifosfat (NADPH) ve özellikle ksantin oksiredüktaz faaliyetleri, SOR üretimi bulguları ile birlikte arttığı gösterilmiştir. İ/R ve nefrotoksisite hayvan modellerinde, antioksidan özelliği olan çeşitli ajanların SOR azalttığı ve aynı zamanda antioksidan enzimleri koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir²⁶.

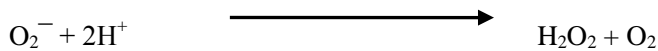
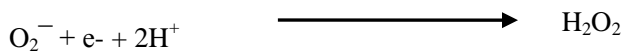
2.5 SERBEST RADİKALLER

Bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllere serbest radikaller denir. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında olduğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşabilmektedir. Biyolojik sistemde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Canlılığın devamının zorunlu bir parçası olan oksijen radikalleri sayısız enzimatik reaksiyon ve biyolojik fonksiyonlar için gereklidirler²⁷⁻³⁰. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen, eşleşmemiş 2 tane elektronu ile biyolojik sistemlerdeki önemli bir serbest radikaldir. Oksijenin bu 2 tane elektronu nedeniyle diğer serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girer. En önemli serbest oksijen radikalleri; oksijenin kendisi, süperoksid, hidrojen peroksid, geçiş metallerinin iyonları ve hidrosil radikaldir.²⁸⁻³⁰

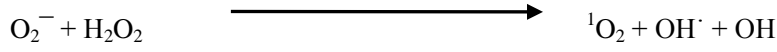
Süperoksid radikali (O_2^-) hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir. Süperoksid, zayıf etkili bir serbest radikaldir. Asıl önemi, hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali, SOD aracılığıyla H_2O_2 ve oksijene çevrilir.^{28, 29, 31}



H_2O_2 , süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir.

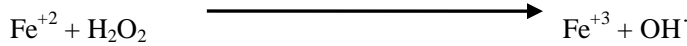


Süperoksit grubundan daha zayıf etkili olan hidrojen peroksit, dokularda bulunan katalaz, peroksidaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz kılınır.^{28, 30 31}



Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin dismutasyonu ile olur. Bu reaksiyon, spontan gerçekleşir ya da SOD enzimi tarafından katalizlenir. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluştururlar.

H_2O_2 bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir oynar. Çünkü Fe^{+2} veya diğer geçiş metallerinin varlığında oluşan reaksiyon, süperoksit radikalının varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturur.^{28, 30}



Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali büyük olasılıkla reaktif oksijen türlerinin en güçlüsüdür. Hidroksil radikali büyük molekül yapısı ve elektronegativitesi nedeni ile DNA, karbonhidrat, lipitler ve proteinler gibi moleküller ile reaksiyona girer. Bu yapılarda oksidatif hasara yol açar.^{27-30, 32}

2.5.1 Serbest Radikallerin Etkileri

İnsan vücudunda enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı, ozon ve azot dioksit, kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyarıların etkisi ile daha fazla serbest oksijen radikali üretilmektedir. Bunun sonucunda, vücuttaki hücre sistemlerinde metabolik, yapısal ve fonksiyonel bozukluklar olur. Bu durum hücre hasarı ya da ölümüyle sonlanabilir. Serbest radikallerden etkilenebilecek başlıca hücresel komponentler lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi önemli bileşiklerdir.^{28, 33}

Süperoksit radikali ve hidroksil radikali sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran permeabilitesi artar. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer aminoasit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede reaktif oksijen türlerinin ve serbest

radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. İskemi sonrasında reperfüzyon da reaktif oksijen türlerinin artışına bağlı olarak iskeminin oluşturduğu hücre hasarını artırır.^{28,33}

2.5.2 Membran Lipitlerine Etkileri

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipitlere yaptığı etkidir. Bu etki lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır. Hücre membranları poliansatüre yağ asitlerinden ve kolesterolden zengindir ve kolaylıkla oksidan radikallerden etkilenirler. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Lipit peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Serbest radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna "nonenzimatik lipit peroksidasyonu" denir. Nonenzimatik lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına neden olur.^{27-30, 32}

2.5.3 Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastır. Serbest radikallerin proteinlerde yaptığı hasarın büyüklüğü; aminoasit kompozisyonların, protein konformasyonuna, aminoasitlerin lokalizasyonuna ve hasar gören proteinin tamir yeteneğine bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir.^{27-29, 32}

2.5.4 Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri

DNA yapısında oksidatif hasara sebep olan pek çok faktör vardır. İyonize radyasyon, artmış oksijen konsantrasyonu, ksantin oksidaz ve çeşitli kimyasallar aşırı radikal oluşumuna yol açarak direkt hasara veya DNA tamir enzimlerini etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar.^{27-30, 32}

2.6 ANTIOKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMALARI

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için organizmada birçok koruyucu mekanizmalar gelişmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri olarak adlandırılır. Antioksidanlar, endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı olmak

üzere başlıca iki ana gruba ayrılırlar. Antioksidanlar, hücrenin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler. Tablo I de bazı enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar gösterilmektedir.

Antioksidanlar farklı şekillerde etki edebilirler. Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir. Antioksidan enzimler bu tip bir etki gösterirler.

Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya bastırıcı etki adı verilir. A vitamini ve flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir. Hemoglobin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

Etkilerini serbest radikallerin oluşturdukları hasarı onararak göstermelerine ise onarıcı etki denir.²⁸

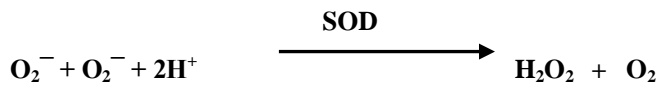
ANTIÖKSİDANLAR	
ENZİMATİK	NONENZİMATİK
Primer:	<i>Vitamin E</i>
<i>Süperoksit dismutaz</i>	<i>Vitamin C</i>
<i>Glutasyon peroksidaz</i>	<i>Flavonoidler</i>
<i>Glutasyon transferaz</i>	<i>Butillenmiş hidroksianizol</i>
<i>Katalaz</i>	<i>Butillenmiş hidroksitoluen</i>
Sekonder:	<i>Ebselen</i>
<i>NADPH-Kinon oksidoredüktaz</i>	<i>Karoten</i>
<i>Glutasyon S-transferaz</i>	<i>Ürat</i>
<i>Epoksit hidrolaz</i>	<i>Seruloplazmin</i>
<i>Glukronil transferaz</i>	<i>Transferrin</i>
<i>Sulfonil transferaz</i>	<i>Albumin</i>
<i>Glutasyon redüktaz</i>	<i>Haptoglobin</i>
<i>Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz</i>	<i>Metallotiyonein</i>
<i>6-fosfoglukonat dehidrojenaz</i>	<i>Bilirubin</i>
<i>İzositrat dehidrojenaz</i>	<i>Deferoksamin</i>
<i>Okside glutasyon ve konjugat taşıyıcıları</i>	<i>Melatonin</i>

Tablo I: Antioksidanlar

2.6.1 ENZİMATİK ANTIÖKSİDANLAR

2.6.1.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)

Oksijen tüketen tüm organizmalarda yaygın olarak bulunan metalloproteinlerden olan SOD, süperoksitin, H₂O₂ ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Bu reaksiyon kendiliğinden de meydana gelebilir. Fakat SOD ile katalizlendiğinde reaksiyon hızı 4000 kat artar.



SOD'nin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korur. Lipit peroksidasyonunu inhibe eder. Yüksek

pO₂'ye maruz kalan hücrelerde SOD enziminin arttığı belirlenmiştir. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit anyonu üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intraselüler süperoksit seviyesi düşük tutulur.^{28, 33, 34}

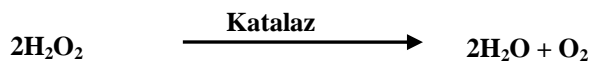
2.6.1.2 Glutasyon Peroksidaz

Selenyum bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki farklı yapıda olan glutasyonperoksidaz enzimleri, H₂O₂ ve organik peroksidlerin detoksifikasyonunda rol oynar. Özellikle eritrosit membran bütünlüğünün devamı için glutasyon peroksidaz çok önemlidir.

Diğer antioksidanlarla birlikte glutasyon peroksidaz, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de glutasyon peroksidaz oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. Glutasyon peroksidaz aktivitesindeki azalma, H₂O₂ artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açmaktadır.²⁸

2.6.1.3 Katalaz

Katalaz, tüm hücre tiplerinde genellikle kan, kemik iliği, karaciğer peroksidomları ve diğer dokuların subsellüler organellerinin iç kısmında değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Görevi, hidrojen peroksidi, oksijen ve suya parçalamaktır. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak, bu enzim, bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir.



Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksid ve metil, etil, hidroperoksidler gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük molekülü lipid hidroperoksidlerine ise etki etmez.^{28, 34}

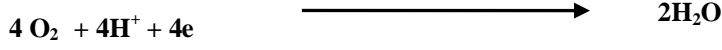
2.6.1.4 Glutasyon-S-Transferazlar

Başta araşidonik asid ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı Selenyum bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.

Bu enzimler katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Hem detoksifikasyon yaparlar, hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır.^{28, 34}

2.6.1.5 Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz

Mitokondriyal sitokrom oksidaz solunum zincirinin son enzimi olup, aşağıdaki reaksiyonla süperoksidi detoksifiye eder.



Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyon olup, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır. Ancak, süperoksid üretimi çoğu zaman bu enzimin kapasitesini aşar. Bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin zararlı etkilerine engel olurlar.^{28, 34}

2.6.2 ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDANLAR

2.6.2.1 Glutasyon (GSH)

Çok önemli bir antioksidan olan glutasyon, karaciğer başta olmak üzere pek çok dokuda sentezlenebilen bir tripeptiddir. Glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelir. Sentezinde glutamil sistein sentaz ve sentaz enzimleri katalizördür. Glutasyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur.

Glutasyonun en önemli işlevleri şöyle sıralanabilir:

1. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır.
2. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve aminoasitlerin membranlardan transportunu sağlar.
3. Proteinlerdeki sülfhidril gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur. Böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller.
4. Gliksilaz insülin transhidrogenaz gibi bazı enzimlerin koenzimidir.^{28, 29, 35}

2.6.2.2 E Vitamini

E vitamini tokoferol yapısındadır. Vitamin E nin biyolojik olarak en aktif formu α -tokoferoldür ve biyolojik membranlar içinde bulunan yağda çözünen bir bileşiktir. Mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında α -tokoferol yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Vitamin E (α -tokoferol) çok güçlü bir antioksidandır, hücre

membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini, serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu, vitamin E vasıtasıyla sonlandırılabilir. Vitamin E; okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve glutasyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir. Vitamin E ve C verilmesinin, yaşlı kişilerde ortalama kan lipid peroksit konsantrasyonlarında bir azalma sağladığı saptanmıştır.

Glutasyon peroksidaz ile vitamin E, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Glutasyon peroksidaz oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken vitamin E peroksitlerin sentezini engeller.

Vitamin E selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. Vitamin E selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır^{28, 34}

2.6.2.3 C Vitamini

Vitamin C (askorbik asit) organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar. Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan C vitamini, semidehidroaskorbat radikal ürünü üzerinden kolaylıkla dehidroaskorbik aside okside olur. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler.

C vitamini diğer bir özelliği de antioksidan etkisi yanında prooksidan etki de göstermesidir. Çünkü C vitamini, ferri (Fe^{+3}) demiri, ferro (Fe^{+2}) demire indirgeyen süperoksit radikali dışındaki tek sellüler ajandır. Bu yolla askorbat, proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek, Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye uygun olan ferro demire dönüştürür, yani süperoksit üretimine katkıda bulunur. Bu özelliğinden dolayı C vitamini, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir pro-oksidan olarak değerlendirilir.³⁴

2.6.2.4 Karotenoidler

Vitamin A'nın ön maddesi olan β -karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü saptanmıştır. Singlet O_2 uzaklaştırıcı olarak bilinen en güçlü karotenoid likopendir.²⁸

2.6.2.5 Melatonin

Melatonin, karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur. Melatoninin lipofilik olmasından dolayı hücrenin hemen bütün organallerine ve hücre çekirdeğine ulaşabilir ve böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. MEL'in antioksidan etkileri genel olarak incelendiğinde, adezyon moleküllerinin ve proinflatuvar sitokinlerin sentezini azaltmasını da içeren oldukça geniş spektruma sahip bir antioksidan olduğu görülebilir. MEL gibi güçlü bir antioksidanın, patogenezinde serbest radikal hasarı olduğuna inanılan Alzheimer hastalığı, sepsis, İ/R, ultraviyole radyasyonuna bağlı eritem, demir ve eritropoetin uygulaması ve tardiv diskinezi gibi patolojilerde, klinik kullanıma da girdiği bildirilmektedir.^{28, 36, 37}

2.6.2.6 Ürik asit

Pürin metabolizmasında son ürün olarak oluşan ürik asit, normal plazma konsantrasyonunda urat, hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijen için güçlü bir temizleyicidir. Fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca vitamin C oksidasyonunu engelleyici etkisi vardır.^{28, 37}

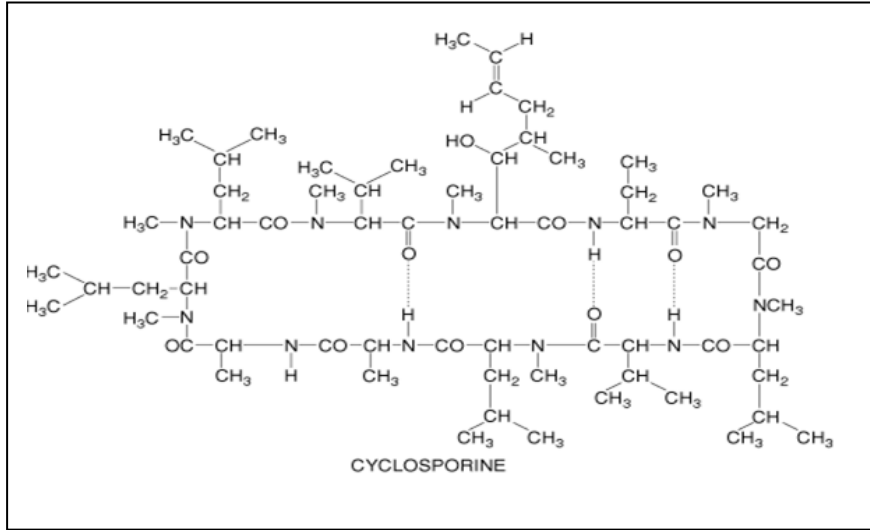
Ayrıca plazmadaki bilirubin, sistin, seruloplazmin, laktoferrin ve transferrininde radikal tutucu etkileri mevcuttur.^{28, 37}

2.7 ÇALIŞMADA KULLANILAN ETKEN MADDELER

2.7.1 Siklosporin A

1972’de Borel ve arkadaşlarının izole edilmiş bir toprak mantarının yaptığı fungal metabolitlerden CsA’yı bulması ve daha sonra bu ajanın, dikkate değer immünsupresif özelliklerinin olduğunun gösterilmesi, transplantasyonlar konusunda yeni bir çığır açmıştır. CsA transplantasyonda ilk kez Calne ve arkadaşları tarafından 1978 yılında kullanılmıştır.³⁸

CsA, Beauveri Nivea adlı fungustan elde edilen, 11 aminoasitli hidrofobik, lipofilik, siklik bir polipeptiddir. Açık kimyasal formülü aşağıda görüldüğü gibidir.



Şekil 2. CsA'nın kimyasal formülü

CsA transplant rejeksiyonu engelleyici etki mekanizması, hem humoral hem de hüresel mekanizmalar üzerinden olmaktadır. CsA'nın asıl hedefi, yardımcı T hücresi popülasyonudur. Ancak B hücrelerine de az da olsa bir direkt etkisi söz konusudur. CsA lenfoid hücre proliferasyon evresinin indikasyonunu engeller. Erken mitojenik tetik mekanizmaları etkiler. Sitoplazmaya geçen CsA, reseptörü olan siklofiline bağlanarak kalsinörin isimli enzimin aktivitesini ve bu yolla nükleer faktör (NF-ATc) aktivasyonunu engeller. Böylece başta IL-2 olmak üzere IL-4, Interferon-gama (IFN-), Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF-)'nin gen transkripsiyonu ve IL-2 Reseptör (IL-2R) ekspresyonu engellenmektedir. Bu sayede lenfosit proliferasyonu da engellenmektedir.⁷

CsA ince bağırsağın üst kısımlarından %30 oranında emilir ve bu oran böbrek aktarımı yapılan hastalarda ilk birkaç hafta sonunda %60'a kadar çıkabilir. Biyoyararlanımı üzerine

yiyecek alımının etkisi tartışmalıdır. Suda çözünürlüğünün çok düşük olması nedeniyle oral formları zeytinyağı ve ethanolden oluşan solüsyonlarda hazırlanmıştır. CsA'nın kan hücreleri ile plazma arasındaki dağılımı da sıcaklık ve konsantrasyona bağlıdır. Vücut sıcaklığında CsA'nın %70'i eritrositlerde, %20'si ise plazmada bulunur. Sıcaklık düştüğünde eritrosit içi CsA konsantrasyonu artar. CsA'nın dokular arası dağılımını araştıran çalışmalar, CsA'nın en çok yağ dokusunda biriktiğini göstermiştir. CsA'nın %99'u karaciğerde metabolize edilir ve oluşan 17 metaboliti safra yoluyla atılır. Bu nedenle karaciğer ve safra sistemi bozukluklarında atılımı azalır. Eliminasyon yarı ömrü 19–40 saattir. İdrarla atılımı çok azdır.

Transplantasyon merkezlerinin neredeyse herbirinde farklı tedavi şeması uygulanmaktadır. Transplantasyon sonrasında 14 mg/kg dozu ile başlayıp birinci yılın sonunda 5 mg/kg'a azaltarak kullanan merkezler bulunmasına rağmen, günümüzde başlangıç dozunun düşük 5–10 mg/kg tutulması eğilimi gözlenmektedir. İlaç etkileşiminde temel mekanizma, CsA'nın karaciğerde sitokrom p-450 mikrozomal enzimi aracılığı ile metabolize edilmesine dayanır. Bu enzimi uyaran ilaçlar, CsA'nın metabolizmasını hızlandıracağından kan düzeyini azaltırken, enzimin etkinliğini azaltanlar ise kan CsA düzeyini artırırlar. Etkileşimler listesi giderek genişlemekle birlikte CsA düzeyini arttırdığı gösterilenler; ketokonazol, eritromisin, diltiazem, nikardipin ve verapamildir. CsA düzeyini azaltanlar ise fenitoin, rifampin, koniazid, IV sülfamidin-trimetoprim'dir.

Amfoterisin, aminoglikozidler, melfalan, ko-trimaksazol ve mannitol de nefrotoksisitesini arttıran ilaçlardır.⁸

CsA; böbrek, karaciğer, akciğer, kalp ve kemik iliği transplantasyonlarında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.

CsA'nın ayrıca transplantasyon dışı kullanım alanları mevcuttur. Özellikle otoimmün hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. CsA'nın en etkili olduğu otoimmün hastalıklar içinde üveititis, psöriazis, romatoid artrit, nefrotik sendrom ve diabetes mellitus yer alır.⁸

CsA'nın en önemli yan etkilerinden biri nefrotoksisitedir. Renal transplantasyon hastalarında böbrek biyopsilerinin %50'sinde CsA'ya bağlı değişikliklere rastlanılmaktadır. CsA'nın diğer bir önemli yan etkisi de hipertansiyondur. Hipertansiyonun, renal vazokonstriksiyon ve böbrek kan akımında azalma sonucu oluştuğu düşünülmektedir.⁸⁻¹⁰ CsA'nın immüsupresif bir ilaç olarak kullanılması bazı kanserlerin oluşumuna yol açabilir. Bu gelişen malignitelerin başında lenfomalar, renal karsinomlar ve deri kanserleri gelir. CsA'nın hepatotoksik etkisi de bulunmaktadır.^{8,9}

2.7.1.1 Siklosporin A Nefrotoksisitesi

CsA'nın kullanılmaya başlanması sonucu, solid organ transplantasyonu sonrası erken dönemde greft sağ kalım oranları önemli ölçüde iyileşme göstermiştir. Ancak uzun vadede aynı oranda başarı görülmemiştir. Uzun vadede allogreft başarısızlığın nedeni kısmen klinik eksikliği, kısmen CsA yan etkilerine bağlı olabilir.^{10, 11, 39}

Akut CsA nefrotoksisitesi, azalmış börek kan akımı sonucu GFR'nda azalma ve artmış renal vasküler direnç ile karakterizedir. Renal vasküler dirençin artışında, endotelden nitrik oksitin sentez ve salınmasında azalma, endotelin aktivite ve anjiyotensin II seviyelerindeki artmanın etkili olduğu gösterilmiştir. CsA nefrotoksisite, CsA plazma düzeyinin böbrek damarları üzerinde doğrudan toksik etkileri ve sistemik etkileri sonucu oluşur. CsA'nın afferent preglomerular arteriyol içinde güçlü vazokonstriksiyon oluşturduğu deneysel olarak gösterilmiştir.^{9, 10, 39}

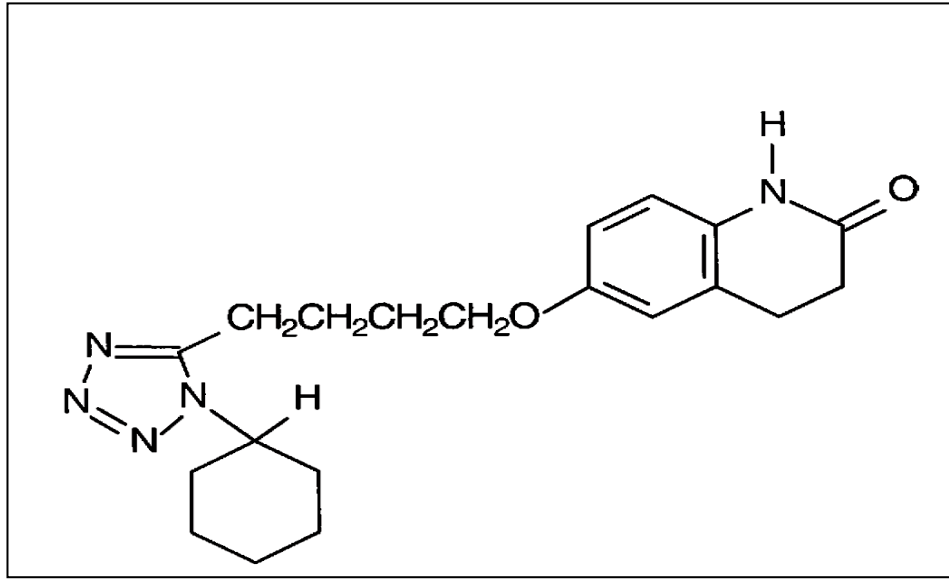
Akut CsA nefrotoksisite tedavi başlangıcından hemen sonra oluşur. Serum üre değerinin artışı ve arteriyal hipertansiyonda artış ile kendini gösterir. Erken postranplant dönemde, ATN ve hemolitik üremik sendromda da benzer bulgular görülebilir. Bütün bu durumlarda klinik olarak akut rejeksiyon ile potansiyel toksik CsA etkileri ayırt etmek zor olabilir. Akut CsA toksisitesini, greft işlevi geciktiren veya klinik fonksiyon bozukluğuna yol açan diğer nedenlerden ayırt etmek için böbrek biyopsisi yapılması gerekebilir. Her ne kadar CsA'nın böbrekte oluşturduğu histolojik ve ultrastrüktürel değişiklikler spesifik değilse de rejeksiyona ait değişikliklerden bazı bakımlardan ayırdedilmesi mümkün olabilmektedir.^{38, 39}

Kronik CsA nefrotoksisitesi, fonksiyonel hemodinamik mekanizmalarda yapısal değişikliklere yol açabilir. Klinik olarak kronik nefrotoksisite, böbrek fonksiyon bozukluğu ve son evre böbrek yetmezliğine yol açabilir. Kronik CsA nefrotoksisitesinde en önemli histolojik lezyon tubulointerstisyel lezyonlar ve arteriyollerin patolojik yapısal değişiklikleridir. Histolojik olarak, kronik nefrotoksisitede afferent arteriol düz kas hücrelerinde vakuolizasyon oluşur. Bu vakuollü hücreler ve nekroz, arteriyollerin dış adventisyal yönü boyunca damar duvarlarının segmental kalınlaşmasına neden olur. Bu histolojik değişiklikler ve ilaca bağlı nefrotoksisite için tipiktir. İlaça bağlı nefrotoksisitenin son aşamalarında hipoksi, glomerül ve tubulointerstisyumda geri dönüşümsüz hasara yol açabilir. Fokal segmental glomeruloskleroz, tübüler atrofi ve interstisyel fibrozis de ilaca bağlı nefrotoksisitenin daha ileri aşamalarda bulunabilir.^{9, 39}

Sonuç olarak, CsA nefrotoksisite bir realitedir, oluşan intersitisyel fibrozis ve arterioller hyalinozis, kronik allogreft nefropatisi ile azalmış renal fonksiyona yol açar. Böbrek yetmezliği, transplant böbreklerde greft kaybı, kardiyovasküler komplikasyonlar ve erken mortalitenin önemli bir faktörüdür.^{10, 11, 39}

2.7.2 Cilostazol

Cilostazol 2-oksokinolon türevidir. Açık formülü 6-[4-(1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)butoxy] -3,4-dihydro-2(1H)-quinolinone'dır^{40, 41}.



Şekil 2. Cilostazol'un kimyasal yapısı⁴¹

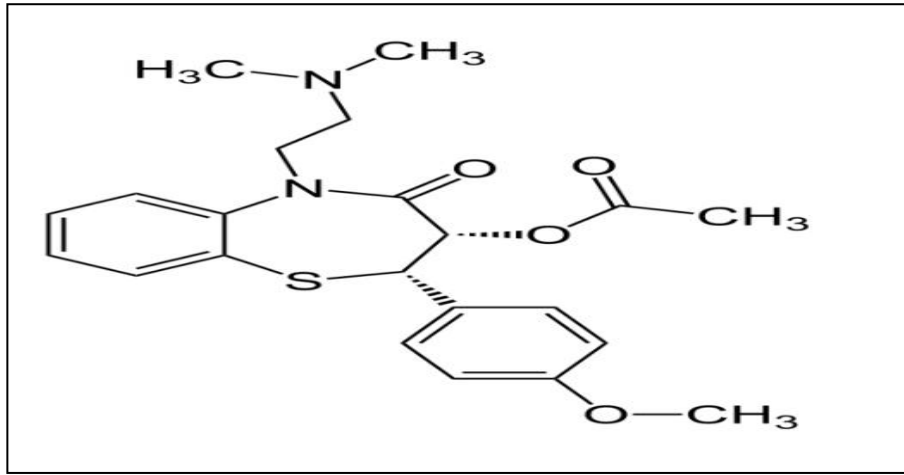
Cilostazol, fosfodiesteraz III enziminin selektif inhibitörüdür. Antiplatelet, vazodilatötör ve antitrombotik etkilidir. Siklik adenosin monofosfat fosfodiesteraz inhibe olunca cAMP yıkımı baskılanır, cAMP yoğunluğunun artışıyla fosfolipaz ve siklooksijenaz enzimleri inhibe olur. Sonuçta tromboksan A₂ üretimi ve trombosit agregasyonu inhibe olur. Yapılan in vitro çalışmalarda Cilostazolun kuvvetli trombosit agregasyonu inhibasyonunun insanların yanı sıra tavşan, köpek ve farelerde de olduğu gösterilmiştir.⁴⁰⁻⁴²

Aynı mekanizmayla düz kas hücrelerinde artan cAMP düzeyleri sayesinde hücre içi depolardan kalsiyum salınımını inhibe eder. Bu olay vazodilatasyonla sonuçlanır. Cilostazol yararlı etkilerini, vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu engelleyerek ve periferik kanın dolaşımını artırarak göstermektedir.⁴⁰⁻⁴²

Yapılan çalışmalarda Cilostazol'un doza bağı olarak arterlerde vazodilatator etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu etkilerinin özellikle femoral ve vertebral arterlerde fazla olmak üzere böbrek kan akımında da etkisi olduğu gösterilmiştir.

Cilostazol oral yoldan absorbe edilir ve maksimum plazma düzeyine 3–4 saatte ulaşır. Plazma proteinlerine %95 oranında bağlanır. Cilostazol ve aktif metabolitlerinin eliminasyon yarı ömürleri 11 ile 13 saat civarındadır. Sitokrom P450 ile metabolize edilir. Monohidroksi-cilostazol ve dihidro-cilostazol olmak üzere iki major metaboliti vardır. Eliminasyonu primer idrar yolu ile (%74), küçük bir miktarı dışkı ile atılmaktadır.^{40, 41}

2.7.3. Diltiazem



Şekil 3. Diltiazem'in molüküler yapısı

Diltiazem, benzodiazepin türevi bir kalsiyum kanal blokeridir. angina pectoris, hipertansiyon ve supraventriküler aritmilerin tedavisinde kullanılır. Arteriyollerde damar tonüsü ve periferik damar rezistansını azaltarak vazodilatasyona yol açar ve antihipertansif etki gösterir.^{43,44} Diltiazem yavaş kalsiyum kanallarını inhibe ederek vasküler düz kas ve miyokard hücrelerine kalsiyum girişini engeller; böylece koroner ve periferik arteriyollerdeki tonusu azaltır.^{44,45} Diltiazem'in yan etkileri genellikle iyi tolere edilebilir ve yan etki insidansı %2'den azdır. En çok rastlanan yan etkiler Diltiazem'in vazodilatör etkilerinden kaynaklanan etkilerdir ve bunlar yüz damarlarındaki genişlemeyle oluşan yüzde kızarıklık (flushing), baş ağrısı, baş dönmesi, yorgunluk, sinus bradikardisi, konstipasyon, birinci derece A-V bloğu, ayak bileği ödemi, hipotansiyondur. Diltiazem oral alımdan sonra hemen hemen tamamen absorbe olur. Diltiazem önemli derecede ilk geçiş metabolizmasına uğrar ve oral biyoyararlanımı yalnızca %40 civarındadır. Hızlı salınım yapan formülasyonlarında plazma pik konsantrasyonuna (C_{max}) 1,5 saatte ulaşır. Diltiazem %80-90 civarında plazma

proteinlerine ve genellikle de albumine bağlanır. Diltiazem büyük oranda CYP3A4 enzimi tarafından metabolize edilir. Diltiazem'in %70'i idrarla, %17'si feçesle atılır. Diltiazem'in ortalama yarılanma ömrü 4,5 saattir (2 saat ile 11 saat arasında değişmektedir). Diltiazem diğer ilaçlarla birlikte oral uygulandığında, metabolizması inhibe olabilir ve eliminasyonu uzayabilir ve bundan dolayı da Diltiazem ve metabolitleri vücutta birikebilir.^{44,46}

3. MATERYAL METOD

3.1 Deney Hayvanları

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Biyokimyasal analizler Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Deneylerde kullanılan ratlar Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarından temin edildi. Bu çalışmada toplam 56 adet 250–300 gr ağırlığında Wistar albino erkek rat kullanıldı. Deney öncesi tüm hayvanlar standart yem ve su ile beslendi. 56 adet wistar albino tipi rat rastgele örnekleme yöntemiyle 7 gruba ve her grupta sekiz adet rat olacak şekilde ayrıldı. Ratlar çalışma süresince uygun ısı, ışık ve karanlık koşullarda, kontrol edilen ve rahatça ulaşılabilecekleri gıda ve su bulunan özel olarak hazırlanmış kafeslerde sekizli gruplar halinde tutuldu. Sıçanlar operasyon öncesi 12 saat aç bırakıldılar. Hiç bir hayvana antibiyotik uygulanmadı.

3.2 Deneysel Model

Çalışmanın yapılacağı gün ratlar araştırma laboratuvarına getirildi ve tartıldılar. Çalışmaya dahil edilen deneklerin hepsinin anestezisi intraperitoneal olarak 60 mg/kg ketamin (Ketalar®, Eczacıbaşı, Türkiye) verilerek sağlandı. Ratlara anestezi uygulandıktan sonra, ısıtıcı lamba altında sırtüstü yatar pozisyonda masaya yatırıldı. Karın tüyleri cilde hasar vermemeye özen gösterilerek tıraş edildi. Her bir ratın karın bölgesi povidon iyot ile temizlendikten sonra 15 numara bistüri kullanılarak 4 cm uzunluğunda üst orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı (Şekil 6). Laparotomi yapıldıktan sonra ratların barsakları ıslak gazlı bez yardımıyla uzaklaştırılmasının ardından böbreklere ulaşıldı (Şekil 7). Sol böbrek arter ve venine küçük atravmatik vasküler klemp yerleştirilerek renal iskemi sağlandı (Şekil 8). Arter pulsasyonlarının tamamen kesildiğinden emin olundu, sıvı ve ısı kaybını önlemek için açıkta kalan karın bölgesi üzerine ılık serum fizyolojik ile ıslatılmış spanç konuldu. 60 dakikalık iskemi süresi sonunda klempler açıldı. Renal arter ve vende akımın devam ettiğinden emin

olunduktan sonra batın tekrar suture edilerek kapatıldı. 7 gün boyunca gruplarına göre oral veya intraperitoneal olarak deneyde kullanılan ilaçlar ratlara verildi (Şekil 4-5). 7. günün sonunda her bir rat tekrar karın bölgesi povidon iyot ile temizlendikten sonra 15 numara bistüri kullanılarak eski insizyon skarından 4 cm uzunluğunda üst orta hat insizyonu ile relaparotomi yapıldı. Biyokimyasal incelemeler için intrakardiyak kan örneği alınarak deney sonlandırıldı (Şekil 9).

3.2.1. Çalışma Grupları:

Ratlar eşit sayıda (n=8) ve rastgele olarak 7 deney grubuna ayrıldı.

Grup I (Sham grubu): Bu gruptaki deneklere orta hat laparotomisini takiben böbrek iskemize edildi, ancak iskemi işlem uygulanmadan altmış dakika beklendikten sonra batın kapatıldı. Deney sırasında herhangi bir etken madde uygulanmadı. Yedinci gün sonunda tekrar orta hat laparotomisi yapılarak kan örnekleri alındı.

Grup II (Kontrol grubu): Bu gruptaki deneklere orta hat laparotomisini takiben batın organları sağ tarafa alınarak sol böbrek arter ve venine küçük atravmatik vasküler klemp yerleştirilerek renal iskemi sağlandı. Arter pulsasyonlarının tamamen kesildiğinden emin olduğu, 60 dakikalık iskemi süresi sonunda klempler açıldı. Renal arter ve vende akımın devam ettiğinden emin olunduktan sonra batın tekrar suture edilerek kapatıldı. Yedinci gün sonunda tekrar orta hat laparotomisi yapılarak kan örnekleri alındı. Deney sırasında herhangi bir etken madde uygulanmadı.

Grup III (Cilostazol grubu): Bu gruptaki deneklere orta hat laparotomisini takiben batın organları sağ tarafa alınarak sol böbrek arter ve venine küçük atravmatik vasküler klemp yerleştirilerek renal iskemi sağlandı. Arter pulsasyonlarının tamamen kesildiğinden emin olduğu, 60 dakikalık iskemi süresi sonunda klempler açıldı. Renal arter ve vende akımın devam ettiğinden emin olunduktan sonra batın tekrar suture edilerek kapatıldı. Yedi gün boyunca orogastrik tüp yoluyla 10 mg/kg/gün dozunda Cilostazol verildi. Yedinci gün sonunda tekrar orta hat laparotomisi yapılarak kan örnekleri alındı.

Grup IV (Diltiazem grubu): Bu gruptaki deneklere orta hat laparotomisini takiben batın organları sağ tarafa alınarak sol böbrek arter ve venine küçük atravmatik vasküler klemp yerleştirilerek renal iskemi sağlandı. Arter pulsasyonlarının tamamen kesildiğinden emin olduğu, 60 dakikalık iskemi süresi sonunda klempler açıldı. Renal arter ve vende akımın devam ettiğinden emin olunduktan sonra batın tekrar suture edilerek kapatıldı. Yedi gün boyunca intraperitoneal yolla 5 mg/kg/gün dozunda Diltiazem verildi. Yedinci gün sonunda

tekrar orta hat laparotomosi yapılarak kan örnekleri alındı.

Grup V (CsA grubu): Bu gruptaki deneklere orta hat laparotomisini takiben batın organları sağ tarafa alınarak sol böbrek arter ve venine küçük atravmatik vasküler klemp yerleştirilerek renal iskemi sağlandı. Arter pulsasyonlarının tamamen kesildiğinden emin olundu, 60 dakikalık iskemi süresi sonunda klempler açıldı. Renal arter ve vende akımın devam ettiğinden emin olunduktan sonra batın tekrar suture edilerek kapatıldı. Yedi gün boyunca intraperitoneal yolla 10 mg/kg/gün dozunda CsA verildi. Yedinci gün sonunda tekrar orta hat laparotomosi yapılarak uygulanarak kan örnekleri alındı.

Grup VI (CsA + Cilostazol grubu): Bu gruptaki deneklere orta hat laparotomisini takiben batın organları sağ tarafa alınarak sol böbrek arter ve venine küçük atravmatik vasküler klemp yerleştirilerek renal iskemi sağlandı. Arter pulsasyonlarının tamamen kesildiğinden emin olundu, 60 dakikalık iskemi süresi sonunda klempler açıldı. Renal arter ve vende akımın devam ettiğinden emin olunduktan sonra batın tekrar suture edilerek kapatıldı. Yedi gün boyunca intraperitoneal yolla 10 mg/kg/gün dozunda CsA ve orogastrik tüp yoluyla 10 mg/kg/gün dozunda Cilostazol verildi. Yedinci gün sonunda tekrar orta hat laparotomosi yapılarak uygulanarak kan örnekleri alındı.

Grup VII (CsA + Diltiazem grubu): Bu gruptaki deneklere orta hat laparotomisini takiben batın organları sağ tarafa alınarak sol böbrek arter ve venine küçük atravmatik vasküler klemp yerleştirilerek renal iskemi sağlandı. Arter pulsasyonlarının tamamen kesildiğinden emin olundu, 60 dakikalık iskemi süresi sonunda klempler açıldı. Renal arter ve vende akımın devam ettiğinden emin olunduktan sonra batın tekrar suture edilerek kapatıldı. Yedi gün boyunca intraperitoneal yolla 10 mg/kg/gün dozunda CsA ve 5 mg/kg/gün dozunda Diltiazem verildi. Yedinci gün sonunda tekrar orta hat laparotomosi yapılarak kan örnekleri alındı.



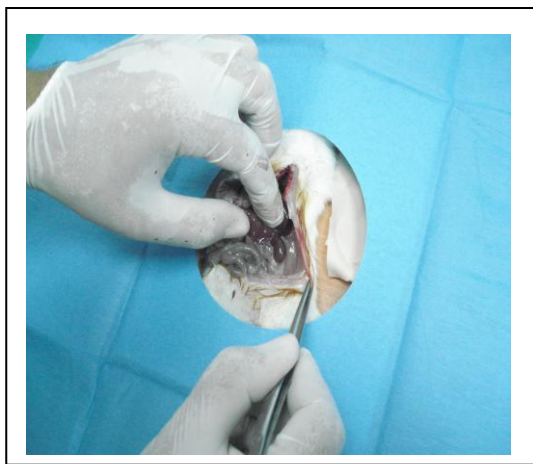
Şekil 4. İntraperitoneal enjeksiyonun yapılması



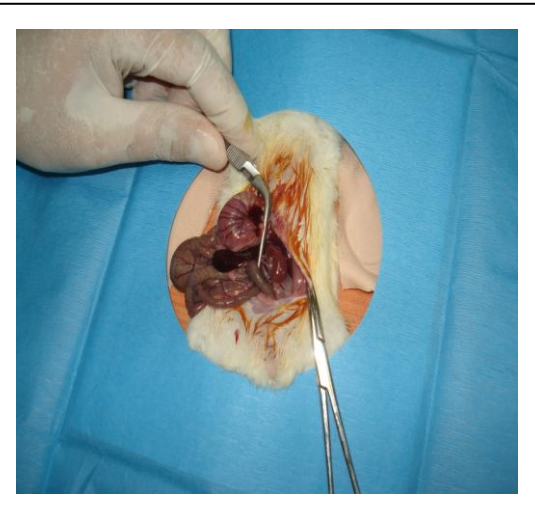
Şekil 5. Oral ilaç verilmesi



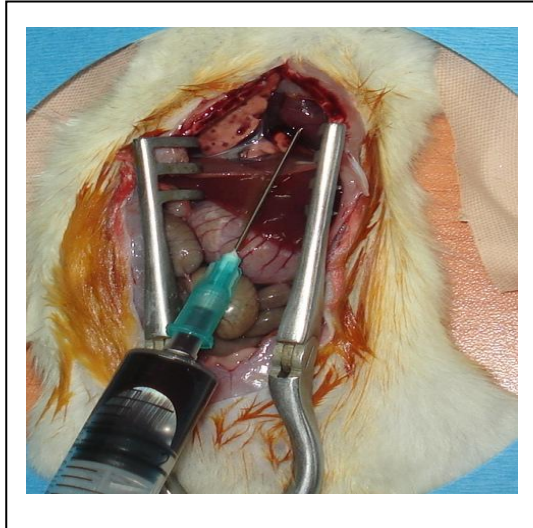
Şekil 6. Median laparotomi insizyonu



Şekil 7. Sol renal eksplorasyon



Şekil 8. Renal pedikülün klemlenmesi



Şekil 9. intrakardiyak kan örneği alınması

3.3 Kullanılan İlaçlar

Çalışmada kullanılan ilaçlar şunlardır: CsA (SANDIMMUN 50 mg/ml ampul, Novartis İlaç Sanayi); Cilostazol (PLETAL 100 mg tablet, Abdi İbrahim İlaç Sanayi); Diltiazem (DİLTİZEM-L 25 mg ampul, Mustafa Nevzat İlaç Sanayi).

3.4 Biyokimyasal İnceleme Yöntemleri

Tüm kan örnekleri, ratlardan alındıktan sonra içerisinde etilen diamin tetra asetat (EDTA) içeren 5 ml vakutainer tüplere konuldu. Plazmanın ayrışması için kan örnekleri 3500 devirde 10 dk boyunca +4 °C’de santrifüj edildi. Plazma ayrıldıktan sonra eritrosit sedimentinin üzerindeki yumuşak tabaka dikkatli bir şekilde ayrıldı. Eritrositler, plazma kalıntılarından ayrılmak için % 0,9 NaCl çözeltisi kullanılarak toplam 3 kez yıkandı. Her işlemden sonra eritrosit-salin karışımı 3500 devirde 10 dakika boyunca 4 °C’de santrifüj edildi. Biyokimyasal çalışmanın parametrelerini ölçmek için, hemolizatlar yıkanmış hücrelerden hazırlandı. Daha sonra kan örneklerinden SOD, CAT, MDA ve plazma örneklerinden Üre ve AST düzeyleri ölçüldü.

3.4.1 BUN, AST ölçümü: Elde edilen plazma örnekleri kolorimetrik ve kinetik yöntemlerle hazır kit kullanılarak (Human, Almanya) spektrofotometrik olarak ölçülüp standart eğri ile kıyaslanarak değerlendirildi.

3.4.2 CAT aktivitesi: Beutler metoduna göre spektrofotometrik olarak 230 nm dalga boyunda hidrojen peroksit yoğunluğunun azalması esasına dayanan bir yöntemdir. Ölçüm ortamında 1 M Tris HCl, 5 mM Na₂ EDTA tampon solüsyonu (pH 8.0), 1 M fosfat tampon solüsyonu (pH 7.0) ve 10 mM H₂O₂ solüsyonundan bulunmaktaydı. Ölçülen CAT aktivitesi kanda U/ml ifade edildi.

3.4.3 SOD aktivitesi: Fridovich tarafından tanımlanan yöntem kullanılarak ölçüldü. Bu yöntemde göre SOD oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin H₂O₂ ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Buna göre ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin p-iodonitrotetrazolium moru ile reaksiyona girerek oluşturduğu kırmızı renkli formazon boyasının 505 nm’de vermiş olduğu optik dansitenin spektrofotometrik okunması esasına dayanmaktadır. Ölçüm ortamında 0,01 M fosfat tamponu (pH:7.0), 3-siklohexilamino-1-propanesulfonik asit (CAPS) tampon solüsyonu (50 mM CAPS, 0.94 mM EDTA, doymuş NaOH) pH 10.2, substrat solüsyonu (0.05 mM ksantin, 0.025 mM INT) ve 80 U/L ksantin oksidaz bulunmaktadır. SOD aktivitesi U/ml olarak tanımlandı.

3.4.4 MDA ölçümü: Plazma örneklerinde lipid peroksidasyon düzeyi MDA ölçümü ile Ohkawa ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı. Buna göre aerobik şartlarda pH 3,4'de tiyobarbütirik asit (TBA) ile örneğin 90–95 °C'de bekletilmesi sonucu oluşan lipid peroksidasyonunun ikincil ürünü olan MDA'nın TBA ile pembe renkli karışım oluşturması esasına dayanmaktadır. Oluşan renk şiddeti ortamdaki MDA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Sonuç spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okunmak suretiyle hesaplanmaktadır. Plazmada sonuçlar U/ml olarak verildi.

3.4.5 Protein ölçümü: Lowry yöntemine göre homojenatların 1/50 dilüe edilmesiyle spektrofotometrik olarak çalışıldı. Standart olarak kullanılan bovin serum albuminin seri dilüsyonlarından elde edilen standart eğri göz önüne alınarak protein düzeyleri hesaplandı.

3.5 İstatistik

Verilerin analizi SPSS 15.0 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Veriler değerlendirilirken frekans dağılımları, ortalamaları, standart sapmaları, minimum ve maksimum değerleri kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uyumu Kolmogorov-Smirnov Z testi ile kontrol edildi. Araştırmada, Gruplar Arasında fark olup olmadığını karşılaştırmak için, One-Way ANOVA (Varyans Analizi) veya Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırılmalarda, gruplar arasında fark bulunduğu durumlarda, farkın hangi gruplar arasında olduğunu bulmak için Tukey HSD testi uygulandı. İhtimali (P) $\alpha=0,05$ 'ten küçük olan değerler önemli ve gruplar arasında fark vardır, büyük olan değerler önemsiz ve gruplar arasında fark yoktur, şeklinde kabul edildi.

4. BULGULAR

4.2 MDA Değerleri Üzerine Etkiler

MDA değerleri incelendiğinde 4,27 nmol/mg protein ile 23,37 nmol/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir (Tablo II).

Tablo II. MDA'nın gruplar arasında karşılaştırılması

MDA	Mean	SD	Min	Max	Mean Rank	P	Fark
Grup K	16,89	4,48	13,02	23,37	34,60	0,001	D-S D-K SD-S SD-K SH-K C-K
Grup C	10,35	1,37	8,59	11,97	16,67		
Grup SD	9,31	1,03	8,09	10,58	10,80		
Grup D	9,28	1,77	6,20	10,91	12,33		
Grup SH	10,28	2,33	6,85	12,43	17,00		
Grup CS	12,47	6,00	4,25	19,56	22,00		
Grup S	16,09	3,06	11,50	21,39	33,50		
Total	12,24	4,27	4,25	23,37			

K-Kontrol Grubu SD- Siklosporin + Diltiazem SH- Sham S- Siklosporin
C- Cilostazol D- Diltiazem CS- Cilostazol + Siklosporin

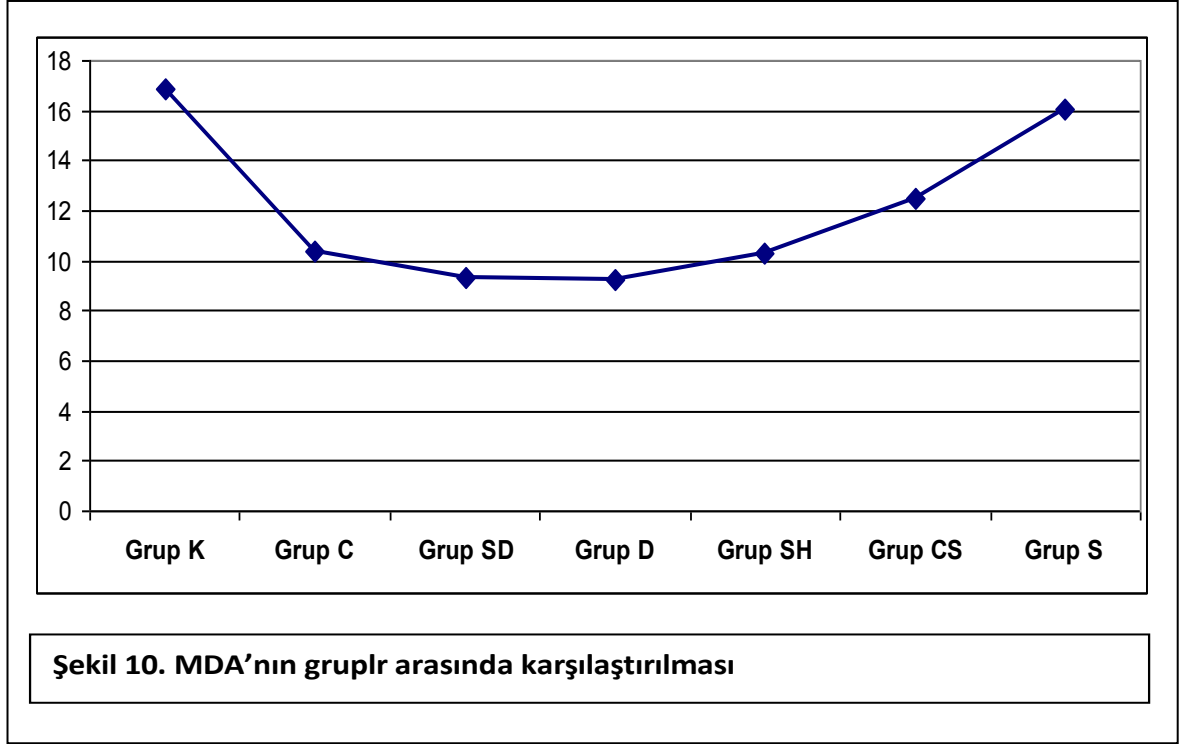
Gruplar arasında; MDA değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur (p<0,05). (Tablo III)

Tablo III. MDA'nın çoklu karşılaştırılması

MDA	Alt Setler		
	1	2	3
D Grubu	9,28		
SD Grubu	9,31		
SH Grubu	10,28	10,28	
C Grubu	10,35	10,35	
CS Grubu	12,47	12,47	12,47
S Grubu		16,09	16,09
K Grubu			16,89

Gruplar arasındaki farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için çoklu karşılaştırma yapılmış. Grup Diltiazem ile Grup CsA, Grup Diltiazem ile Grup Kontrol, Grup CsA-Diltiazem ile Grup CsA, Grup CsA-Diltiazem ile Grup Kontrol, Grup Sham ile Grup Kontrol ve Grup Cilostazol ile Grup Kontrol arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

MDA değerleri yönünden, en düşük Diltiazem grubunda, en yüksek Kontrol grubunda olduğu bulunmuştur.(Şekil 10)



4.2 SOD Değerleri Üzerine Etkiler

Tespit edilen SOD değerleri incelendiğinde 67.55 nmol/mg protein ile 199,04 nmol/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. (Tablo IV)

Tablo IV. SOD'un Gruplar Arasında Karşılaştırılması

SOD	Mean	SD	Min	Max	Mean Rank	P	Fark
Grup K	78,30	6,09	68,09	87,59	15,50	0,001	K-S C-S SD-S D-S SH-S CS-S
Grup C	81,38	5,38	75,18	91,13	20,75		
Grup SD	88,30	6,18	80,50	96,45	31,57		
Grup D	79,02	5,76	69,68	85,28	16,58		
Grup SH	77,90	3,84	72,16	82,27	14,42		
Grup CS	79,37	7,95	67,55	87,06	18,17		
Grup S	130,47	37,94	89,26	199,04	40,86		
Total	88,57	23,77	67,55	199,04			

K-Kontrol Grubu	SD- Siklosporin + Diltiazem	SH- Sham	S- Siklosporin
C- Cilostazol	D- Diltiazem	CS- Cilostazol + Siklosporin	

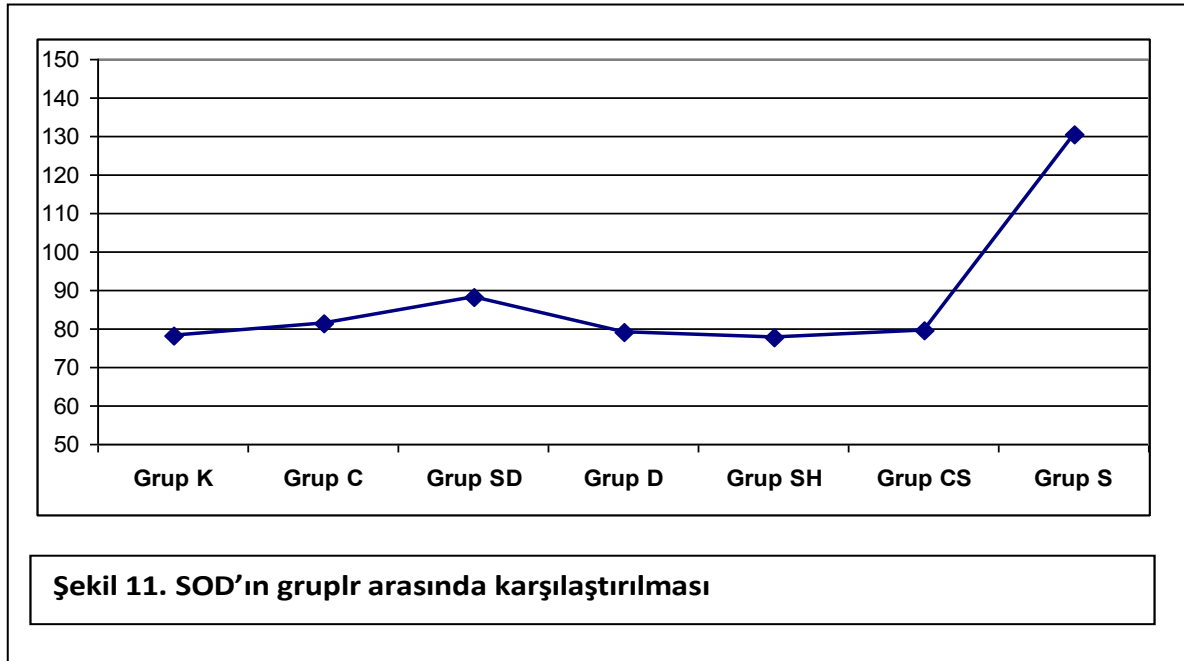
Gruplar arasında; SOD değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$).

Tablo V. SOD'un çoklu karşılaştırılması

Kan SOD	Alt Setler	
	1	2
SH Grubu	77,90	130,47
K Grubu	78,30	
D Grubu	79,02	
CS Grubu	79,37	
C Grubu	81,38	
SD Grubu	88,30	
S Grubu		

Gruplar arasındaki farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için çoklu karşılaştırma yapılmış, CsA grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). CsA ile Kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

SOD değerleri yönünden, en düşük Grup Sham, en yüksek Grup CsA olduğu bulunmuştur.(Şekil 11)



Tespit edilen CAT değerleri incelendiğinde 23.03 nmol/mg protein ile 87.89 nmol/mg protein arasında değişen değerler elde edilmiştir. (Tablo VI)

Tablo VI. CAT'ın gruplar arasında karşılaştırılması

Katalaz	Mean	SD	Min	Max	Mean Rank	P	Fark
Grup K	43,69	11,46	33,45	64,93	18,42	0,004	K-CS C-CS SD-CS D-CS
Grup C	40,21	13,82	23,03	55,85	16,60		
Grup SD	35,00	8,50	25,77	51,55	10,36		
Grup D	43,45	11,77	25,63	56,13	20,25		
Grup SH	49,68	6,73	42,46	60,85	25,83		
Grup CS	66,70	13,59	45,70	87,89	38,50		
Grup S	49,56	5,89	42,04	56,55	27,06		
Total	46,90	13,42	23,03	87,89			

K-Kontrol Grubu	SD- Siklosporin + Diltiazem	SH- Sham	S- Siklosporin
C- Cilostazol	D- Diltiazem	CS- Cilostazol + Siklosporin	

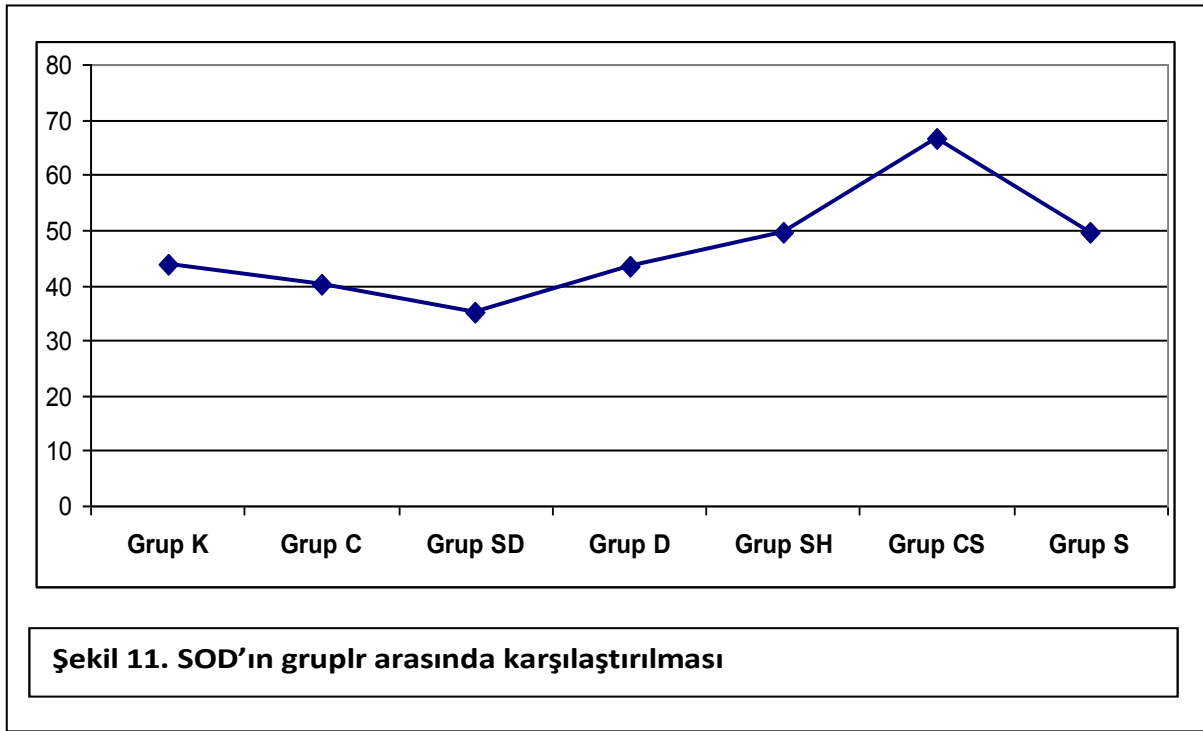
Gruplar arasında; Katalaz değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). (Tablo VII)

Tablo VII. CAT'ın çoklu karşılaştırılması

CAT	Alt Setler	
	1	2
SD Grubu	35,00	
C Grubu	40,21	
D Grubu	43,45	
K Grubu	43,69	
S Grubu	49,56	49,56
SH Grubu	49,68	49,68
CS Grubu		66,70

Gruplar arasındaki farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için çoklu karşılaştırma yapılmıştır. Grup Cilostazol-CsA ile Grup Sham ve Grup CsA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0,05$), Grup Cilostazol-CsA ile diğer gruplar (Grup Sham, Grup CsA hariç) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

Katalaz değerleri yönünden, en düşük Grup CsA-Diltiazem, en yüksek Grup Cilostazol-CsA olduğu bulunmuştur.(Şekil 11)



4.4 Serum Üre Değerleri

Serum Üre değerleri incelendiğinde 55 ile 124 mg/dl arasında değişen değerler saptandı. Ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandığında en düşük ortalama değer 61,75±6,20 mg/dl ile Kontrol grubunda olduğu saptandı. Ortalama en büyük değer ise 98.70 ±13,16 mg/dl ile CsA grubu olduğu tespit edilmiştir. (Tablo VIII)

Tablo VIII. Üre'nin gruplar arasında karşılaştırılması

ÜRE	Mean	SD	Min	Max	P	Fark
Grup K ¹	61,75	6,20	55	75	0,000	K-D K-C K-SD K-S SH-SD SH-S CS-SD CS-S
Grup C ²	83,43	10,71	67	100		
Grup SD ³	92,50	13,15	78	111		
Grup D ⁴	81,84	9,07	70	98		
Grup SH ⁵	72,00	9,79	62	88		
Grup CS ⁶	72,77	10,94	59	87		
Grup S ⁷	98,70	13,16	85	124		
Total	80,49	15,60	55	124		

1- Kontrol Grubu	3- Siklosporin + Diltiazem	5- Sham	7- Siklosporin
2- Cilostazol	4- Diltiazem	6- Cilostazol + Siklosporin	

Gruplar arasında; üre değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur (p<0,05).

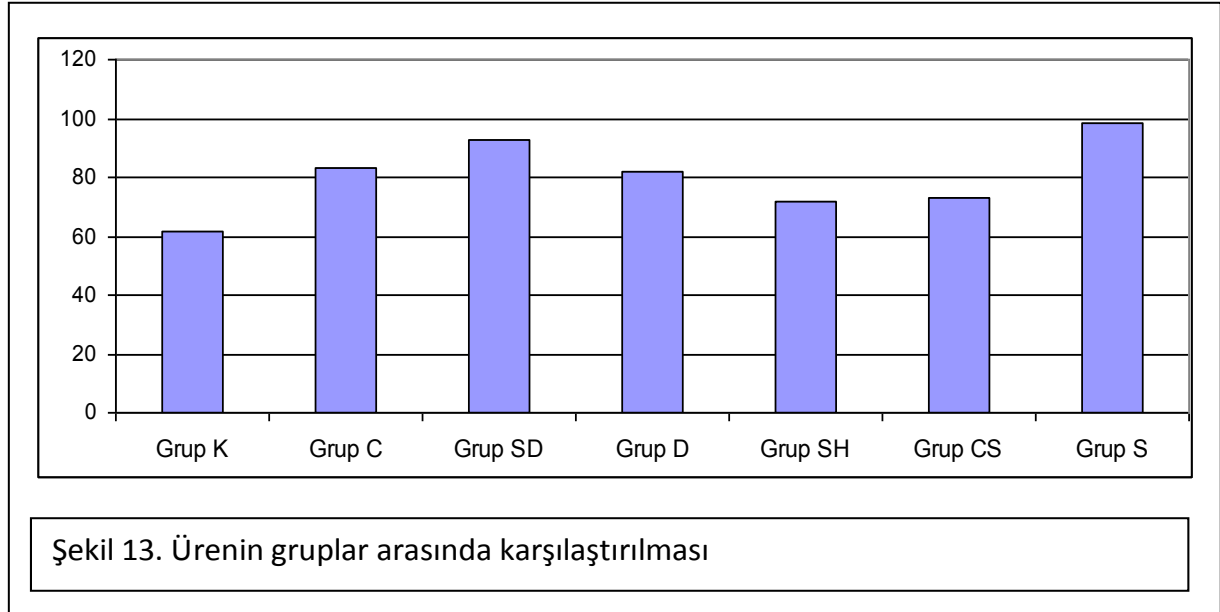
Tablo IX Üre'nin çoklu karşılaştırılması

ÜRE	Alt Setler		
	1	2	3
Grup K	61,75		
Grup SH	72,00	72,00	
Grup CS	72,77	72,77	
Grup D		81,84	81,84
Grup C		83,43	83,43
Grup SD			92,50
Grup S			98,70

Gruplar arasındaki farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için çoklu karşılaştırma yapılmış. Grup Kontrol ile Grup Diltiazem, Grup Cilostazol, Grup CsA-Diltiazem ve Grup CsA arasında, Grup Sham ile Grup CsA-Diltiazem ve Grup CsA arasında,

Grup Cilostazol-CsA ile Grup CsA-Diltiazem ve Grup CsA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

Üre değerleri yönünden, en düşük Grup Kontrol, en yüksek Grup CsA olduğu bulunmuştur.



4.5 Serum AST Değerleri

Deney gruplarındaki tüm deneklerin serum AST seviyeleri hesaplandığında 70 -595 U/L arasında değişen değerler tespit edilmiştir. (Tablo X)

Tablo X. AST'nin gruplar arasında karşılaştırılması

AST	Mean	SD	Min	Max	P	Fark
Grup K ¹	224,00	71,97	133	322	0,003	SD-D S-D
Grup C ²	238,88	62,77	168	371		
Grup SD ³	318,29	127,27	168	525		
Grup D ⁴	103,00	17,20	84	133		
Grup SH ⁵	253,75	141,87	133	567		
Grup CS ⁶	141,17	73,20	70	217		
Grup S ⁷	304,50	174,98	112	595		
Total	227,70	126,00	70	595		

Gruplar arasında; AST değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

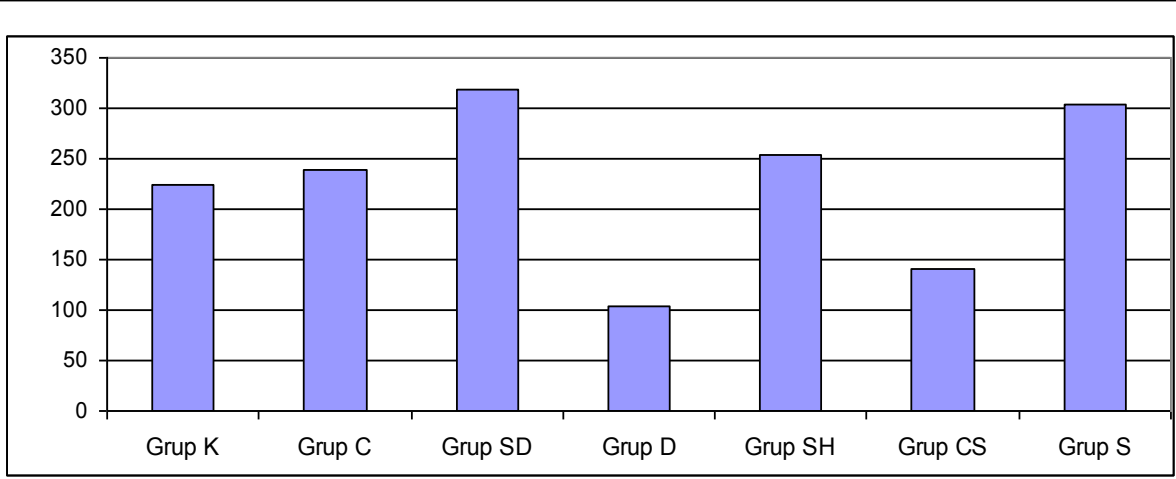
Tablo XI. AST'nin çoklu karşılaştırılması

AST	Alt Setler		
	1	2	3
Grup D	103,00		
Grup CS	141,17	141,17	
Grup K	224,00	224,00	224,00
Grup C	238,88	238,88	238,88
Grup SH	253,75	253,75	253,75
Grup S		304,50	304,50
Grup SD			318,29

Gruplar arasındaki farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için çoklu

karşılaştırma yapılmış, Diltiazem grubu ile CsA grubu ve Sikloporin-Diltiazem grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

AST değerleri yönünden, en düşük Grup Diltiazem, en yüksek Grup CsA-Diltiazem olduğu bulunmuştur.



Şekil 14. AST'nin gruplar arasında karşılaştırılması

5.TARTIŞMA

SDBY artan insidansı ve prevalansı, yüksek maliyet ve kötü klinik sonuçları nedeniyle dünya genelinde bir halk sağlığı problemi oluşturmaya devam etmektedir. SDBY'nin en etkin tedavi yöntemi renal transplatasyondur.⁴⁷ Özellikle kalsinörin inhibitörlerinin kullanımı ile birlikte transplantasyon alanında önemli gelişmeler elde edilmiştir. Günümüzde bir çok transplantasyon merkezinin tedavi protokollerinde kalsinörin inhibitörleri kullanılmaktadır. Kalsinörin inhibitörlerinin akut rejeksiyon oranlarını azalttığı kanıtlanmıştır ancak aynı zamanda postoperatif dönemde greft fonksiyon gecikmelerine, uzun dönemde ise greft kayıplarına neden olabilmektedir.^{3, 10, 11, 39, 48}

Renal transplantasyonda İ/R hasarı günümüzün en önemli problemlerinden biridir. İ/R süresinin uzaması, gecikmiş greft fonksiyonu ve azalmış greft ömrü ile sonuçlanabilir.

Transplantasyon sonrası İ/R hasarı oluşan böbreğin, kalsinörin inhibitörlerinden CsA'nın renal kan akımını azaltarak ve güçlü vazokonstriksiyon etki ile nefrotoksisiteye yol açması transplantasyonda çözülmesi gereken en önemli sorunlardandır. Dolayısıyla İ/R hasarının önlenmesi ve kullanılan CsA'nın oluşabilecek yan etkilerinin engellenmesine yönelik çalışmaların greft yaşam süresine olumlu etkileri olacağı düşünmekteyiz. CsA'nın renal toksik etkilerini açıklamak üzere deneysel ve klinik çalışmalarla desteklenen birçok mekanizma öne sürülmektedir.^{9, 23, 49}

Organizmada SOR'lerinin lipitler, proteinler ve DNA üzerindeki etkileri sonucu oluşan oksidatif hasara karşı bir takım savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Savunma mekanizmalarının yetersiz kalması durumunda moleküler hasar meydana gelir. Serbest oksijen radikalleri çok reaktif olmaları nedeni ile direkt olarak ölçülememekte, lipid peroksidasyonu sırasında açığa çıkan daha stabil moleküllerin ölçümü yapılmaktadır. Lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak en sık kullanılan ve doku hasarı konusunda fikir veren bu moleküllerden birisi MDA'dır.⁵⁰ Yapılan çeşitli çalışmalarda CsA'ya bağlı nefrotoksisitede lipit peroksidasyonun artması sonucu böbrek fonksiyon kaybının geliştiği gösterilmiştir⁵¹.

Kim ve arkadaşlarının, bir çalışmada Kontrol grubunda plazma MDA düzeyleri (1.89±0.10 nmol/mg) nmol/mL iken böbrek transplantasyonu yapılmış hastalar üzerinde yaptığı transplantasyon hastaların plazma MDA (2.33±0.13 nmol/mg) olarak yüksek olarak bulunmuştur (p>0.05)⁵². Biz de çalışmamızda SOR hasarını göstermek ve çalışmada kullanılan ilaçların hasarı azaltmadaki etkilerini karşılaştırmak için kanda MDA düzeylerini

çalıştık.

Çalışmamızda tespit edilen en yüksek MDA değeri Kontrol ve CsA grubunda ($16,89 \pm 4,48$ nmol/mg / $16,09 \pm 3,06$ nmol/mg) görüldü. En düşük MDA değeri ise Diltiazem grubunda ($9,31 \pm 1,03$ nmol/mg) görüldü. Diltiazem ile CsA, Diltiazem ile Kontrol, CsA-Diltiazem ile CsA, CsA-Diltiazem ile Kontrol, Sham ile Kontrol ve Cilostazol ile Kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Sham ile Kontrol grupları arasında MDA'nın anlamlı olarak fark bulunması İ/R'na bağlı olabileceğini, CsA grubunda ve Kontrol grubunda belirgin derecede MDA'nın artmasının ise İ/R'na ilaveten CsA'nın oluşturduğu nefrotoksisiteye bağlı olabileceği düşüncesindeyiz. Diltiazem, Cilostazol, CsA-Diltiazem grubunda MDA değerlerinin belirgin derecede düşük olmasının Diltiazem ve Cilostazol'un oluşturduğu etkiye bağlı olabilir. Fakat CsA-Diltiazem, Diltiazem ve Cilostazol grubunun, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen ($p < 0,05$), Cilostazol ile CsA arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Bu nedenle Cilostazol'un etkinliğinin olmasına rağmen, diltiazemin etkinliğinin daha belirgin olduğunu söyleyebiliriz.

SOR hasarına karşı organizmada en önemli korunma sistemi antioksidan savunma sistemidir. Bu sistemin başında enzimatik antioksidan mekanizmalar gelir. Enzimatik endojen antioksidan özelliği olan SOD ve CAT organizmayı SOR'lerinin zararlı etkilerine karşı koruyucu özellik gösterirler. SOD, süperoksiti hızlıca hidrojenperoksite katalizler. H_2O_2 ise katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından su ve oksijene indirgenir. Özellikle diğer enzimatik radikal temizleyicilerin aktivitelerinde azalmanın söz konusu olduğu klinik durumlarda SOD aktivitesinin arttığı çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir. Bu enzimlerin seviyelerinin ölçümü serbest radikal aracılı hasar konusunda ve hasarlanmanın engellenmesinde indirek bilgi verir.^{27, 32}

Çalışmamızda antioksidan etki oluşumunu göstermek amacıyla SOD ve CAT düzeylerini ölçtük. Elde ettiğimiz SOD değerleri incelendiğinde beklendiği gibi en düşük değer Sham grubunda ($77,90 \pm 3,84$ nmol/mg), en yüksek değer CsA grubunda ($130,47 \pm 37,94$ nmol/mg) olduğu görüldü. CsA grubunun ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu bulgularla SOD tüketiminin Diltiazem ve Cilostazol tarafından etkili bir şekilde düşürüldüğü görülmektedir. Bu etkinin CsA nefrotoksisitesini önlemede her iki ilacında etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

Tespit edilen CAT deęerleri incelendięinde en dūřuk deęerin CsA-Diltiazem ($35,00 \pm 8,50$ nmol/mg) grubunda olduęu gōrōldō. Cilostazol-CsA ile Sham ve CsA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p > 0,05$), Cilostazol-CsA ile Kontrol, Diltiazem, CsA-Diltiazem ve Cilostazol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduęu bulunmuřtur ($p < 0,05$). Cilostazol, Diltiazem ve CsA-Diltiazem gruplarının dōzeylerinin Kontrol grubuna gōre dūřuk olduęu fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadıęı gōrōldō ($p < 0,05$). CsA grubu ve Diltiazem gruplarının Sham grubuna gōre beklenenin aksine CAT dōzeyleri dūřuk olarak tespit edilmiřtir.

Cilostazol halen Klodikasyon İntermittan tedavisinde, periferik damar hastalıklarında ve diyabetik hastalarda kullanılmaktadır⁴¹. Cilostazol ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda fokal serebral iskemide nōroprotektif etkilerinin olduğu gōsterilmiřtir⁴¹. İzumi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada cilostazol'un serebral kan akımını arttırdığı gōsterilmiřtir⁵³. İba ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Cilostazol'un intestinal İ/R hasarına karşı etkili olduğunu gōstermiřlerdir.⁵⁴

Çalışmamızda Cilostazol ile Kontrol grubu arasında MDA değerleri yōnunden istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Cilostazol grubunda MDA değeri ($10,35 \pm 1,37$ nmol/mg) Kontrol grubunda MDA değeri ($16,8 \pm 4,48$ nmol/mg) bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu sonuca gōre Cilostazol, MDA değerini anlamlı derecede azaltmıştır. Cilostazol-CsA grubunda MDA değeri ($12,47 \pm 6,00$), CsA grubunda MDA değeri ($16,09 \pm 3,06$ nmol/mg) olarak bulunmuştur. Cilostazol, Cilostazol-CsA grubuna benzer Őekilde MDA değerini dūřürmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. SOD değerlerine incelendiğinde Cilostazol, Sham ve Kontrol gruplarına yakın değerler gōrōlmüřtür. İstatistiksel olarak anlamlı bir yōkseliř tespit edilmemiştir. Cilostazol-CsA grubu CsA grubuna gōre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı derecede dūřürmüřtür ($p < 0,05$). Bu sonuçlarla Cilostazol grubunun MDA değerlerini ve SOD değerlerini CsA ile birlikte kullanıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede dūřürmüřtür. Bu etki her ne kadar CAT değerlerinde gōrōlememiř olsa da yinede Cilostazol olumlu etkileri olabileceğini dūřündürmektedir.

Diltiazem, benzodiazepin tōrevi bir kalsiyum kanal blokeridir. Angina pektoris, hipertansiyon ve supraventrikōler aritmilerin tedavisinde başarı ile kullanılmaktadır. Arteriyollerde damar tonōsü ve periferik damar rezistansı azaltarak vazodilatasyona yol açar ve antihipertansif etki gōsterir.⁴³ Yapılan çeşitli çalışmalarında transplantasyon sonrası, kalsiyum antagonistlerinin renal plazma kan akımında azalma ve GFR da dūřmeyi Őnledięi bildirilmiştir.⁹ Ayrıca yapılan alışmalar Diltiazem'in transplantasyon sonrası akut bōbrek

yetmezliği yanı sıra akut rejeksiyon ataklarının sıklığını azalttığını göstermiştir.⁵⁵ Becker ve arkadaşlarının yaptığı bir aışmada renal İ/R reperfüzyon sonrası Diltiazem'in takrolimus toksisitesini azalttığını göstermişlerdir.⁵⁶ Ural M ve ark., yaptığı çalışmada CsA nefrotoksisitesinde verapamil ve vitamin C'nin birlikte kullanılmasının toksisitenin önlenmesinde etkili olabileceğini göstermişlerdir.⁵⁷ Bizde alışmamızda Diltiazem'in CsA nefrotoksisitesindeki etkilerini araştırdık. Çalışmamızda Diltiazem grubunda MDA değereri CsA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur($p<0,05$), Diltiazem-CsA grubu ile CsA grubu arasında da anlamlı derecede düşüktür($p<0,05$). SOD değereleri açısından yapılan değerlendirmede CsA grubuna göre Diltiazem grubunda belirgin artış görölmüştür($p<0,05$). Aynı şekilde Diltiazem-CsA grubunda da CsA grubuna göre belirgin yükselme mevcuttur($p<0,05$). Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde Diltiazem grubunun MDA değerlerinin düşük ve SOD değerlerinin istatistiksel olarak yüksek olması Diltiazem'in İ/R hasarı sonrası ortaya çıkan SOR'lerini antioksidan özelliğinin etkisiyle ortadan kaldırdığı ve bu sayede CsA toksisitesini önlemede etkili olabileceği düşündürmektedir.

Çalışmamızda ratlardan alınan kan örneklerinde Üre ve AST seviyelerini araştırdık. Üre böbrek fonksiyonlarının göstergesi olduğundan AST ise böbrek İ/R hasarının ve CsA'nın sistemik etkilerini inceleyebilmek amacıyla çalışıldı. Çalışmamızdaki AST değerleri incelendiğinde, en düşük AST değerlerinin Diltiazem grubunda olduğu göröldü ($p<0,05$). Diltiazem grubunun CsA grubuna ve CsA-Diltiazem grubuna göre belirgin düşük olması Diltiazem'in tek başına etkili bir şekilde İ/R hasarının sistemik etkileri azalttığını söyleyebiliriz.

Serum Üre değerleri incelendiğinde 55 ile 124 mg/dl arasında değişen değerler saptandı. Ortalama en büyük değerin $98.70 \pm 13,16$ mg/dl ile CsA grubu olduğu tespit edilmiştir. Üre değerleri incelendiğinde CsA içeren gruplarda anlamlı derecede yüksek olduğu görölmektedir. Bunun CsA'nın nefrotoksik etkisinden kaynaklandığı söylenebilir. CsA-Diltiazem ve CsA-Cilostazol gruplarında Üre değerlerinin CsA gruplarından düşük olması Diltiazem ve Cilostazol'un olumlu etkilerinden kaynaklanabilir.

6. SONUÇ

Organ transplantasyonu sonrası rejeksiyonun önlenmesi için immünespresif kullanılması zorunludur. Çalışmamızda CsA verilen ratlarda SOD ve CAT seviyelerinde artma ve MDA seviyesinde artış tespit edilmiştir.

Çalışmamızın sonunda CsA verilen ratlarda CAT ve SOD seviyelerinde ve MDA seviyelerinde anlamlı artış tespit edilirken tedaviye Cilostazol ve Diltiazem ilavesi ile bu artışlarda belirgin azalma tespit edildi. Bir kalsiyum kanal blokeri olan Diltiazem ve Cilostazol CsA'nın glomeruler SOR üretimi ve lipid peroksidasyonu üzerindeki etkisini azaltarak nefrotoksik etkilerini geri döndürebilir ve kronik CsA nefrotoksitesini önlemede alternatif bir tedavi olabilir. Diltiazem ile Cilostazol arasında tercih yapmak gerekirse çalışmamızdaki sonuçların ışığında Diltiazem özellikle hipertansif hastalarda iyi bir alternatif olmayı sürdürecektir gibi görünmektedir. Ancak daha çok hayvan ve insan çalışmalarıyla ilaçların en yüksek antioksidan etkiyi gösterdiği ilaç dozunun tespitine ve farklı kombinasyonları sonrası etkilerinin tespitine ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Karl Skorecki JG, Barry M. Brenner: Chronic Renal Failure: Harrison's Principles of internal Medicine. Onbeşinci baskı. The McGraw-Hill Companies USA. 2004; 1551-1572.
2. Levin A, Hemmelgarn B, Culleton B. Guidelines for the management of chronic kidney disease. Canadian Medical Association Journal. 2008; **179**(11): 1154.
3. Pesavento T. Kidney Transplantation in the Context of Renal Replacement Therapy. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 2009; **4**(12): 2035.
4. Morris PJ. Transplantation — A Medical Miracle of the 20th Century. New England Journal of Medicine. 2004; **351**(26): 2678-80.
5. Murray J. Human organ transplantation: background and consequences. Science. 1992; **256**(5062): 1411.
6. Türkmen A. Böbrek Transplantasyonunda İmmunosüpresif Tedavi Yaklaşımı. Türkiye Klinikleri Journal of Nephrology. 2003; **1**(1): 63.
7. Ayna TK, Çiftçi HŞ. İmmünesüpresif İlaçların Etki Mekanizmaları. Gaziantep Tıp Dergisi. 2009; **15**(3): 42-7.
8. Gölbaşı Z, Aydoğdu S. Siklosporin-a. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences. 1991; **11**: 171-6.
9. Naesens M, Kuypers D, Sarwal M. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 2009; **4**(2): 481.
10. Kyriakides G, Miller J. Use of cyclosporine in renal transplantation. 2004: Elsevier; 2004. p. S167-S72.
11. Fellström B. Cyclosporine nephrotoxicity. Transplantation Reviews. 2004; **36**: S220-S3.
12. Skandalakis J CG, Colborn G. et al., Böbrekler ve Üreterler Cerrahi Anatomi. Çeviri Ed. Başaklar AC. Palme yayıncılık. Ankara 2008.11 ed; 2.cilt 1291-1311
13. Moore KL. The abdomen. Clinically Oriented Anatomy. Üçüncü baskı. Satterfield TS (ed) Williams&Wilkins Baltimore 1992 S-.
14. Guyton A. Böbrekler ve Vücut Sıvıları, Fizyoloji, Ed. A Kazancıgil, Güven Kitabevi Yayınları. 1978; **1**: 349-50.
15. Tisher C. Structure and Function of Kidneys: Cecil Textbook of Medicine. Yirmibirinci baskı. Goldman L, Bennet JC (ed). WB Saunders Company Philadelphia, Pennsylvania 2000, S. 532-539.
16. Lameire N, Wim Van Biesen M, Vanholder R. Acute renal failure. The Lancet. 2005; **365**(9457): 417-30.
17. Kıyıkım AA. Akut Böbrek Yetmezliği Nedenlerine Genel bakış Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi. 2006; **15**: 5-12.
18. Çeliker H. Akut Böbrek Yetmezliği Epidemiyolojisi. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi. 2006; **15**: 1-4.
19. Bicik Z, Ersan S. Akut renal yetmezlik. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon

Dergisi. 1999; **3**: 113-7.

20. Schrier R, Wang W, Poole B. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. *Journal of Clinical Investigation*. 2004; **114**(1): 5-14.
21. Brady HR BB. Acute Renal Failure. *Harrison's Principles of Internal Medicine* Fauci AS BE, Isselbacher KJ, ed. al. The McGraw-Hill Companies. Ondördüncü baskı. USA 2004;1504-1513.
22. Koç M, Arıkan H, Odabaşı Z. İskemik ve Toksik Akut Tübüler Nekroz Patofizyolojisi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 2006; **15**: 13-24.
23. Lien Y, Lai L, Silva A. Pathogenesis of renal ischemia/reperfusion injury: lessons from knockout mice. *Life sciences*. 2003; **74**(5): 543-52.
24. Lameire N, Vanholder R. Pathophysiology of ischaemic acute renal failure. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*. 2004; **18**(1): 21-36.
25. Ichikawa I, Kiyama S, Yoshioka T. Renal antioxidant enzymes: their regulation and function. *Kidney Int*. 1994; **45**(1): 1-9.
26. Araujo M, Welch W. Oxidative stress and nitric oxide in kidney function. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2006; **15**(1): 72.
27. Erden M. Serbest Radikaller. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1992; **12**: 201-7.
28. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya. 1995.
29. Valko M, Leibfritz D, Moncol J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2007; **39**(1): 44-84.
30. McCord J. The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American journal of medicine*. 2000; **108**(8): 652-9.
31. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Veterinerlik Fakültesi Dergisi*. 2004; **15**: 91-6.
32. Kavas G. Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1989; **9**: 1-8.
33. Cuzzocrea S, Riley D, Caputi A. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacological reviews*. 2001; **53**(1): 135.
34. Valko M, Rhodes C, Moncol J. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*. 2006; **160**(1): 1-40.
35. Konukoğlu D, Akçay T. Glutatyon Metabolizması ve Klinik Önemi. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1995; **15**(4): 214-8.
36. Yazıcı C, Köse K. Melatonin: Karanlığın anioksidan gücü. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2004; **13** (2): 56-65.
37. Göksel Ş, Yeğen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*. 2009; **22** (3).
38. Çamsarı T, Karakuzu M. Siklosporine Bağlı Nefrotoksisite. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1988; **8**(5): 368-72.
39. Busauschina A, Schnuelle P, Van Der Woude F. Cyclosporine nephrotoxicity.

Transplantation Reviews. 2004; **36**: S229-S33.

40. Okuda Y, Kimura Y, Yamashita K. Cilostazol. Cardiovascular Drug Reviews. 1993; **11**(4): 451-65.
41. Liu Y, Shakur Y, Yoshitake M. Cilostazol (Pletal®): A Dual Inhibitor of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase Type 3 and Adenosine Uptake. Cardiovascular Drug Reviews. 2001; **19**(4): 369-86.
42. Weintraub W. The vascular effects of cilostazol. The Canadian journal of cardiology. 2006; **22**(Suppl B): 56B.
43. Aronson JK. Calcium channel blockers. In: Aronson JK, editor. Meyler's Side Effects of Cardiovascular Drugs. Oxford, United Kingdom; 2009. p. 99-104.
44. Buckley M, Grant S, Goa K, McTavish D, Sorkin E. Diltiazem a reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use. Drugs. 1990; **39**(5): 757-806.
45. Varis T, Backman J, Kivistö K. Diltiazem and mibefradil increase the plasma concentrations and greatly enhance the adrenal-suppressant effect of oral methylprednisolone&ast. Clinical Pharmacology & Therapeutics. 2000; **67**(3): 215-21.
46. Buckley M, Grant S, Goa K. Diltiazem a reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use. Drugs. 1990; **39**(5): 757-806.
47. Sever M.Ş. Türkiye'de Böbrek Transplantasyonu Sorunları ve Çözüm Önerileri. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 2008; **17**: 3-8.
48. Kırkpantur A, Yılmaz M, Yenicesu M. Renal Transplantasyon Uygulanan Hastalarda İmmünsupresif Tedavinin Monitorizasyonu Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi. 2009; **18**: 35-47.
49. Olyaei A, de Mattos A, Bennett W. Immunosuppressant-induced nephropathy: pathophysiology, incidence and management. Drug Safety. 1999; **21**(6): 471-88.
50. Paller M, Hoidal J, Ferris T. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. Journal of Clinical Investigation. 1984; **74**(4): 1156.
51. Satyanarayana P, Chopra K. Oxidative stress-mediated renal dysfunction by cyclosporine A in rats: attenuation by trimetazidine. Renal failure. 2002; **24**(3): 259-74.
52. Kim Y, Mun K, Lee S. Oxidative damage in renal transplant patients. Transplant Proc 2000; **32**: 1777-8.
53. Yuzawa I, Yamada M, Fujii K. An oral administration of cilostazol before focal ischemia reduces the infarct volume with delayed cerebral blood flow increase in rats. Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases. 2008; **17**(5): 281-6.
54. Iba T, Kidokoro A, Fukunaga M. Comparison of the protective effects of type III phosphodiesterase (PDE3) inhibitor (cilostazol) and acetylsalicylic acid on intestinal microcirculation after ischemia reperfusion injury in mice. Shock. 2006; **26**(5): 522.
55. Mehrens T, Thiele S, Suwelack B. The beneficial effects of calcium channel blockers on long-term kidney transplant survival are independent of blood- pressure reduction. Clin Transplantation 2000; **14**(257-261).
56. Becker G, Witzke O, Baltes A. Diltiazem minimizes tubular damage due to FK506-mediated nephrotoxicity following ischemia and reperfusion in rats. Transplant Immunology.

1996; **4**(1): 68-71.

57. Ural M, Özgüner M, Şenal D. Siklosporin A'nın sıçanlarda oluşturduğu nefrotoksisiteye Vitamin C ile Vitamin E'nin ve verapamilin etkilerinin ışık mikroskopunda değerlendirilmesi. SDÜ Tıp Fak Derg. 2005; **12**(4): 28-35.