

T.C.
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı

**YENİDOĞAN RATLARDA AMİKASİNE BAĞLI DENEYSEL
BÖBREK HASARI VE ANTİOKSİDANLARIN ROLÜ**

Dr. ASLIHAN KARA

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. HASAN ÇETİN

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından “1456-TU-06” proje numarası ile desteklenmiştir.**

T.C.
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı

**YENİDOĞAN RATLARDA AMİKASİNE BAĞLI DENEYSEL
BÖBREK HASARI VE ANTİOKSİDANLARIN ROLÜ**

Dr. ASLIHAN KARA

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. HASAN ÇETİN

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından “1456-TU-06” proje numarası ile desteklenmiştir.**

ÖNSÖZ

Asistanlığım boyunca çalışmalarında ve bu tezi tamamlamamda büyük ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve görüşlerinden yararlandığım, değerli tez hocam Yrd. Doç. Dr. Hasan Çetin'e içtenlikle teşekkür ederim.

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ihtisas eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve eğitimimde emeği geçen başta Anabilim Dalı Başkanımız sayın hocam Prof. Dr. Ahmet Rıfat Örmeci'ye ve diğer öğretim üyesi hocalarım sayın Prof. Dr. Bahattin Tunç, Prof. Dr. Ali Ayata, Prof. Dr. Duran Canatan, Prof. Dr. Tansu Sipahi, Prof. Dr. Selmin Karademir, Doç. Dr. Faruk Öktem, Doç. Dr. Bumin Nuri Dünder, Doç. Dr. Mustafa Akçam, Yrd. Doç. Dr. Hasan Çetin, Yrd. Doç. Dr. Şeref Olgar ve Yrd. Doç. Dr. Nihal Dünder'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı değerli hocam Doç Dr. Faruk Öktem'e, Patoloji A.B.D.'dan Yrd. Doç. Dr. İbrahim Metin Çiriş'e, Biyokimya A.B.D.'dan Doç. Dr. İrfan Altuntaş'a, Mikrobiyoloji A.B.D.'dan Yrd. Doç. Dr. Selçuk Kaya'ya ve projemize desteklerinden dolayı SDÜ BAP yönetim birimine teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma, beni destekleyen sevgili eşim ile beni yetiştiren ve her konuda yanımda olduklarını hep hissettiren çok değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Aslıhan KARA

2007-İSPARTA

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	3
İÇİNDEKİLER	4
KISALTMALAR	6
ŞEKİLLER DİZİNİ	8
TABLolar DİZİNİ	9
1. GİRİŞ	10
2. GENEL BİLGİLER	11
2. 1. Renal Embriyoloji ve Fizyoloji.....	11
2. 1. 1. Renal Kan Akımı.....	11
2. 1. 2. Renin-Anjiotensin Sistemi.....	12
2. 1. 3. Kininler.....	12
2. 1. 4. Prostaglandinler.....	13
2. 1. 5. Renal sinirler ve Adrenerjik sistem.....	13
2. 1. 6. Glomerüler Filtrasyon.....	13
2. 1. 7. Tubüler Fonksiyon.....	14
2. 1. 8. Üriner konsantrasyon ve dilüsyon.....	14
2. 2. Yenidoğanda Akut Böbrek Yetmezliği.....	14
2. 2. 1. Nefrotoksisite.....	17
2. 2. 1. 1. Aminoglikozitler.....	18
2. 2. 1. 1. 1. Amikasin.....	22
2. 2. 1. 1. 2. Oksidatif hasar ve Antioksidanlar.....	23
2. 2. 2. 1. Serbest Oksijen Radikalleri.....	24
2. 2. 2. 1. 1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Böbrek.....	29
2. 2. 2. 1. 2. Serbest Oksijen Radikalleri-Antioksidan Savunma Sistemleri.....	30
2. 2. 2. 1. 2. 1. Superoksit Dismutaz.....	32
2. 2. 2. 1. 2. 2. Katalaz.....	34
2. 2. 2. 1. 2. 3. Glutasyon peroksidaz.....	35
2. 2. 2. 1. 2. 4. IGF-1.....	35
2. 2. 2. 1. 2. 5. Nitrik oksit.....	36
2. 2. 2. 1. 2. 6. Eritropoietin.....	37
2. 2. 2. 1. 2. 7. E vitamini.....	38
3. MATERYAL VE METOD	41
3. 1. Deney Hayvanları.....	41
3. 2. Kullanılan İlaçlar.....	41
3. 3. Hayvan Çalışmaları ve Uygulama Şemaları.....	41
3. 4. Kullanılan Malzemeler ve Aletler.....	42
3. 5. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	43
3. 6. Kullanılan Çözeltiler.....	44
3. 7. Böbrek Dokusunun Homojenizasyonu.....	45
3. 8. SOD Aktivitesinin Ölçümü.....	45
3. 9. GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü.....	47
3. 10. Katalaz Aktivitesinin Ölçümü.....	47

3. 11. Lipid Peroksidasyonunun Tayini.....	48
3. 12. IGF-1 Aktivitesinin Ölçümü.....	48
3. 13. NO Aktivitesinin Ölçümü.....	49
3. 14. Doku Amikasin Düzeyi Ölçümü.....	49
3. 15. Histopatolojik Değerlendirme.....	49
3. 16. İstatiksel Analiz.....	50
4. BULGULAR.....	51
4. 1. Biyokimyasal Sonuçlar	51
4. 2. Histopatolojik Değerlendirme	54
5. TARTIŞMA.....	58
ÖZET.....	69
SUMMARY.....	70
KAYNAKLAR.....	71

KISALTMALAR

ABY	: Akut böbrek yetmezliği
ACE	: Anjiotensin-konverting enzim
ADH	: Antidiüretik hormon
AGA	: Gestasyon haftasına göre uygun tartılı
BHA	: Butylated hidroksiyanisol
BHT	: Butylated hidroksitoluen
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CAPE	: Kafeik asit fenil esterleri
CAT	: Katalaz
COX	: Siklooksijenaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EPO	: Eritropoietin (Hemopoietik büyüme faktörü)
ESBL	: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
FENa ⁺	: Fraksiyonel Na ⁺ itrahi
GFR	: Glomerül filtrasyon oranı
GH	: Büyüme hormonu
GSH	: Redükte glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
GST	: Glutatyon-S-transferaz
HE	: Hematoksilen-eozin
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IGFBP-3	: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3
İ.p.	: İntraperitoneal
İ.v.	: İntravenöz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
MDA	: Malonildialdehit
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
MRSA	: Metisiline dirençli Staphylococcus aureus
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NAS	: N-asetilsistein
NBT	: Nitroblue tetrazolium
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentetaz
O ₂ ⁻	: Süperoksit
PAE	: Post antibiyotik etki
PDA	: Patent duktus arteriosus
PGE ₂	: Prostaglandin E2
PGs	: Prostaglandinler
PGSI	: Prostaglandin sentez inhibitörleri

PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
RAA	: Renin anjiotensin aldesteron
RAS	: Renin-anjiotensin sistem
RBF	: Renal kan akımı
RNA	: Ribonükleik asit
ROO•	: Lipit peroksil radikali
ROT	: Reaktif oksijen türevleri
RTA	: Renal tübüler asidoz
RVR	: Renal vasküler rezistans
SD	: Standart deviasyon
SGA	: Gestasyon haftasına göre düşük doğum tartılı
SOD	: Süperoksit dismutaz
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
TBA	: Tiyobarbitürik asit
t1/2	: Yarılanma ömrü
VLBW	: Çok düşük doğum ağırlıklı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 : Aminoglikozitlerin etki mekanizması	19
Şekil 2 : Moleküler oksijenden reaktif ara ürünlerin oluşumu.	26
Şekil 3 : Serbest oksijen radikali oluşum ve yıkımında temel enzimatik reaksiyonlar	34
Şekil 4 : Glutatyonun okside ve redükte formları arasındaki dönüşümü	35
Şekil 5 : NOS aracılı NO oluşumu	36
Şekil 6 : E vitamininin moleküler yapısı	38

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 : Yenidoğanda ABY Nedenleri	15
Tablo 2 : Prerenal ve renal akut böbrek yetmezliğinin ayırt edilmesinde yararlanılan başlıca indeksler	17
Tablo 3 : Aminoglikozit dozları	20
Tablo 4 : Serbest oksijen radikalleri	25
Tablo 5 : Serbest oksijen radikalleri kaynakları	26
Tablo 6 : Patogenezinde serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu düşünülen böbrek hastalıkları	29
Tablo 7 : Tedavide kullanılabilen antioksidanlar	32
Tablo 8 : Histopatolojik değerlendirme	49
Tablo 9 : Yenidoğan ratların doğum ağırlığı ve çalışma sonu vücut ağırlıkları tabloda gösterilmiştir. (mean±SD)	51
Tablo 10 : Çalışma gruplarında saptanan biyokimyasal parametreler toplu olarak verilmiştir (mean ± SD).	52
Tablo 11 : Çalışma gruplarının böbreklerinin histopatolojik değerlendirme sonuçları	55

1. GİRİŞ

Böbrek fonksiyonları yaşla ilgili farklılıklar gösterir. Atılımı böbrekten olan antibiyotiklerin serumdaki yarı ömürleri yenidoğanlarda daha fazladır. Prematüre bebeklerde kalp, böbrek, akciğer sorunlarının görülme sebebi; organ sistemlerinin yeterince gelişmemesidir.

Aminoglikozitler, günümüzde klinik uygulamalarda sık olarak kullanılmaktadır. Böbrek fonksiyonları normal kişilerde yarılanma ömrü ($t_{1/2}$) 1.5 - 3.5 saattir. Yaklaşık % 99'u idrardan atılırken kalanı dışkı ve tükürük ile elimine olur. Alınan dozun % 90'ı 24 saatte idrara geçerken yeniden emilim ve sekresyon siklusu ile böbrek dokusunda eliminasyon yarı ömrü 30-700 saattir. Çoğu Gram (-) aerobik çomaklara karşı etkilidirler. Aminoglikozidlerin güvenli kullanılabileceği aralık çok dardır ve kullanımlarındaki en önemli kısıtlayıcı özellik toksisitesidir. En sık nefrotoksisite, ototoksisite, nöromuskuler blokaj meydana gelir. Nefrotoksisite tüm aminoglikozidlerde gelişebilen bir yan etkidir ve kullanımları renal toksisite nedeni ile sınırlanmaktadır.

Amikasin, yenidoğan bebeklerdeki enfeksiyon tedavisinde sıklıkla başvuru ancak nefrotoksik etkisinden çekinilen bir ilaçtır. Amikasine bağlı gelişen böbrek hasarının mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte deneysel çalışmalar serbest oksijen radikallerinin toksisitede rol oynadığını öne sürmektedir. Aminoglikozitler, vankomisin ve sisplatin gibi çeşitli nefrotoksik ilaçlara bağlı gelişen böbrek hasar modellerinde, serbest oksijen radikallerinin hücre ölümüne neden olabildiği ve nefrotoksik etki oluşumunda oksidatif stresin ön planda olduğu gösterilmiştir (4-10). Aynı zamanda yapılan çalışmalarda antioksidanların kullanımı ile nefrotoksisitenin azaldığı gösterilmiştir. Yenidoğan enfeksiyonlarında sık olarak kullanılan Amikasinin toksisitesinin önlenmesinde antioksidanların kullanımı konusunda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle biz bu çalışmada, kullanım gerekliliği yaygın olmasına rağmen özellikle nefrotoksik etkileri nedeni ile kullanımı sınırlanan amikasine bağlı olumsuz renal etkilerin oluşmasında, tübüler hasar ve bunun üzerine oksidatif hasarın rolünün belirlenmesini ve Eritropoietin, E vitamini gibi antioksidanların kullanımının histopatolojik ve biyokimyasal düzeylerdeki olası koruyucu etkileri ile salınan büyüme faktörlerini deneysel olarak neonatal rat böbreklerinde değerlendirmeyi planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Renal Embriyoloji ve Fizyoloji

Yenidoğan dönemi, doğumu izleyen ilk dört haftalık süreyi içeren ve organizmanın intrauterin hayattan dış ortama uyum sağlamaya çalıştığı bir geçiş dönemidir. Yenidoğan böbreği de bu dönemde gelişimini sürdürür ve doğumda düşük olan böbrek fonksiyonları giderek artar ve normale ulaşır. Yenidoğan bebeklerde böbrek yetmezliğinin tanı, takip ve tedavisinin daha iyi yapılabilmesi için gelişmekte olan böbreğin normal fizyolojisinin iyi bilinmesi gerekir.

Fetal böbrek, pronefroz, mezonefroz ve metanefrozdan oluşan üç mezodermik yapıdan gelişir. İlk nefron 8. haftada oluşur. Nefrogenz 34-35. haftaya kadar devam eder. 35. haftadan doğuma kadar ise nefronların sadece büyüklüğünde artış meydana gelir. Doğumda jukstamedüller nefronlar yüzeyel nefronlardan daha matürdür. Her bir böbrekte total nefron sayısı 600.000 ile 1.2 milyon arasında değişmektedir (1,11,13). Fetal büyümede duraklama nefron sayısında azalmaya neden olur ve doğum ağırlığı ile total nefron sayısı arasında pozitif korelasyon tanımlanmıştır (2,11). Prematür doğan bebeklerde nefrogenz, tüm nefronlar tamamlanana kadar doğumdan sonra da devam eder (1,12).

2.1.1. Renal Kan Akımı

Fetüste renal kan akımı doppler USG ile değerlendirilebilir ve 25. gebelik haftasında 20 ml/dk iken 40. haftada 60ml/dk'nın üzerine çıkar ve erişkin düzeyine 2 yaş civarında ulaşır. Yenidoğanda renal kan akımı özellikle korteks iç kısmı ve medullada fazladır. Dış kortekse renal kan akımı maturasyon tamamlandıkça artmaktadır (1,11,92).

İntrarenal kan akımını etkileyen primer faktör maturasyondaki artış ve doğumla birlikte gerçekleşen kardiyak output ve ortalama arteriyel kan akımında artışla birlikte renal vasküler direncin azalmasıdır. Afferent ve efferent arteriyollerin direnci arasındaki denge renal vasküler direnci, renal kan akımını, glomerüler kapiller basıncı ve glomerüler filtrasyon hızını belirler (1).

Erken gelişimde yüksek oranda aktif olan vazokonstriktör renin-anjiotensin sistem (RAS) ve renal sempatik sinir sistemi arasındaki dengedeki değişiklikler ve nitrik oksidi (NO) içeren vazodilatör hümorale faktörlerin renal vasküler direncin azaltılması ve renal kan akımının artırılmasını ayarladığına inanılmaktadır (1).

2.1.2. Renin-Anjiotensin Sistemi

RAS'ın tüm komponentleri fetal metanefritik böbrekte mevcuttur. Erişkin ve yenidoğanda renin içeren hücrelerin çoğu jukstamedüller aparatında lokalizedir. Fetusta bu lokalizasyon dışında renin, arkuat ve interlobuler arterlerde ve glomerülde de bulunur (10,92,93,94).

Plazma renin aktivitesi fetus ve yenidoğanın gestasyon yaşıyla ters orantılıdır, 30 haftalıkta 60 ng/ml/saat iken termde 10-20 ng/ml/saat'e düşer. Plazma renin aktivitesi infantlarda (38-44 hf) erişkinlerden 3-5 kat fazladır. Fetusta plazma renin aktivitesindeki değişiklikten erişkinlerde gözleendiği gibi benzer birçok uyarı (artmasından volümdeki düşme veya hipoksi, azalmasından volüm artışı veya β adrenerjik antagonist uygulanması veya prostoglandin sentetaz inhibitörleri uygulanması) sorumludur (1,95).

Yenidoğanlardaki yüksek plazma renin aktivitesi düzeyleri genellikle dolaşımdaki anjiotensin II düzeyleri ve aldosteron ile ilişkilidir. Bu yüksek düzeyler vücut yüzeyiyle ilişkili olarak yüksek oranda sekresyon veya düşük metabolik klirens hızını yansıtabilir. Bu yüksek seviyelerin nedeni aldosterona end organ cevapsızlığı ile ilişkili olabilir (1).

2. 1. 3. Kininler

Bradikininler, proteolitik enzim olan kallikrein ile protein prekürsörü olan kininojenden gelişen potent vazodilatör peptitlerdir. Kininler bir karboksipeptidaz olan kininaz I tarafından inaktive edilir. ACE inhibitörleri sadece anjiotensin II üretimini azaltmakla kalmayıp kininlerin yıkımını da önlerler (1).

2. 1. 4. Prostaglandinler

Prostaglandinler (PGs) özellikle artmış vazokonstriktör aktivite sırasında renal kan akımı ve GFR'nin devamına katkıda bulunur. PGs'ler ile RAS ve kinin sistemi arasında kompleks bir etkileşim mevcuttur.

Prostaglandinlerin üriner ekskresyonu fetusta yüksektir, bu da yüksek oranda olan renal sentezini yansıtmaktadır. Prematüre infantlarda PGE₂ ve prostasiklin metabolitlerinin üriner ekskresyonu, term infantlardan 5 kat, büyük çocuklardan 20 kat fazladır (1,11,97).

2. 1. 5. Renal sinirler ve Adrenerjik sistem

Fetüsteki renal vasküler yatak, renal sinir stimülasyonuna yenidoğan ve erişkinlerden daha az reaktiftir (1,11). Ancak erişkin hayvanlarda yapılan çeşitli çalışmalara ters olarak, fetal ve yenidoğan böbreğinde renal sinir stimülasyonu noradrenerjik yolağı aktive etmekte, norepinefrin de renal vazodilatasyonu sağlayan β_2 adreno reseptörleri stimüle etmektedir; renal adrenerjik sistemin maturasyonu renal β -adreno reseptör cevabındaki down regülasyon ile ilişkilidir (1).

Dolaşımdaki katekolamin seviyeleri (özellikle norepinefrin), doğumdan hemen önce ve doğumun hemen sonrasında oldukça yüksek olup, yaşamın ilk birkaç günü içinde erişkin değerlerine düşmektedir. Yüksek plazma katekolamin seviyeleri afferent arteriolar tonusun artışıyla direkt olarak ilgiliyken, indirekt olarak yenidoğan böbreğinde yüksek RVR'ın idamesi için renin ve anjiyotensin II salınımını sağlayarak efferent rezistansı artırır (1,11).

2. 1. 6. Glomerüler Filtrasyon

Fetüste ilk glomerüler filtrasyonun başlaması 9 ile 12 gestasyon haftaları arasında olur. GFR gestasyonel yaş ile koreledir, fetusun inutero olması veya prematür doğması ile GFR etkilenmektedir (1).

Yaşamın ilk 4 ayında GFR, vücut yüzeyi ve böbrek ağırlığı ile orantılı olarak hızla artar. Daha sonra yavaş bir artış ile 2 yaşına kadar erişkin değerlerine ulaşır. Prematüre infantlarda GFR'deki postnatal artış, fullterm yenidoğanlara göre geriden seyredir (1,100).

Glomerüller böbreğin nefrojenik zonunda oluşur. Maturasyonla birlikte bu glomerüller renal korteksin daha derin zonlarına göç ederler. Doğumda jukstamedüller kortekste daha fazla matür glomerül vardır ve yüzeysel kortekste yeni oluşmuş glomerüllerden daha fazla filtrasyon oranına sahiptirler. GFR renal kan akımına benzer şekilde sentrifugal olarak maturasyona uğrar. İdrar oluşumu ise plazmanın glomerüler kapiller membrandan ultrafiltrasyonu ile başlar (1).

2. 1. 7. Tubüler Fonksiyon

Tamamen diferansiye olmuş bir böbrek genellikle reabsorptif bir organdır. Ancak bazı iyonlar ve maddeler bazı nefron segmentleri tarafından iki yönlü transporta uğrar. Sodyum, bikarbonat, fosfat, aminoasitler ve glukoz reabsorbe edilirken, hidrojen iyonları sekrete edilir ve potasyum ile organik asitler ise hem reabsorbe hem de sekrete edilir. Genel olarak fullterm bebeklerin böbrekleri onların gelişim evrelerine uygun metabolik ihtiyaçlarına cevap verecek nitelikteyken pretermelerde bu sağlanamayabilir (1).

2. 1. 8. Üriner konsantrasyon ve dilüsyon

Fetal idrar fetal plazmaya göre daha hipotoniktir. 12-24 saat sıvı kısıtlamasından sonra en yüksek idrar osmolaritesi prematüre ve zamanında doğanlarda 500 mOsm/kg'a ulaşır ve bu değer erişkin ve çocukların %60'ı kadardır. Medüller osmotik farklılıklar konsantrasyon kapasitesini etkilemektedir ve henle kulpunun medulladaki penetrasyonuna bağlıdır (1,11).

Prematür bebekler 35 gebelik haftasından küçük iseler, su diürezinde idrar osmolaritesini 70 mOsm/kg'a kadar düşürebilirler. Otuzbeşinci gebelik haftasından büyük çocuklar ise, 50 mOsm'a indirebilirler. Prematür bebeklerde belirgin yüksek osmolar klerens vardır. Bu durumda bebek erişkinlere göre daha fazla dilüe edemez (1,11).

2.2. Yenidoğanda Akut Böbrek Yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği (ABY) ani olarak gelişen ve sıklıkla geriye dönüşümlü olan böbrek fonksiyon bozukluğudur. Yenidoğan bebeklerde ABY'nin diğer yaş gruplarından daha fazla olduğu (%8-24 arasında) söylenebilir (11,14,15). Akut böbrek

yetmezliği nonoligürik, oligürik veya anürik olabilmektedir. Zamanında doğan bebeklerde ABY'lerin %60'ı nonoligürik, %25'i oligürik ve %15'i anürik olarak görölmektedir (11,16).

Akut böbrek yetmezliği nedenlere göre prerenal, renal ve obstrüktif üropati olarak sınıflandırılabilir. Yenidoğan bebeklerde ABY %85 prerenal nedenlerle gelişmekte, %11'i renal, %3 kadarı da obstrüktif üropati nedenleriyle ortaya çıkmaktadır (Tablo 1) (11,17).

Tablo 1. Yenidoğanda ABY Nedenleri:

Prerenal nedenler

Sistemik hipovolemi

- Dehidratasyon
- Kanama
- Septik şok
- Nekrotizan enterokolit
- Cerrahi sonucu sıvı kaybı

Renal hipoperfüzyon

- Kalp yetmezliği
- Solunum yetmezliği
- Asfiksi
- İndometazin, ACE inhibitörü

Renal nedenler

Konjenital anomaliler

- Konjenital displazi
- Renal agenezis
- Polikistik böbrek
- Deny Drash sendromu

Annenin ilaç kullanımı

- ACE inhibitörleri
- Siklooksijenaz inhibitörleri

Akut tubüler nekroz (uzun iskemi, nefrotoksinler)

Akut kortikal nekroz

Hemoglobinüri, Miyoglobüri

Renal vasküler tromboz

Nefrotoksinler (aminoglikozit, indometazin, amfoterisin B, metisilin, asiklovir, siklosporin,...)

Obstrüktif nedenler

Konjenital malformasyonlar

- Üreterosele
- Posterior uretral valv
- Vezikoüreteral reflü
- Megaüreter
- Üreteropelvik darlık
- Prune-belly sendromu

Dışardan bası yapan nedenler

- Sakrokoksigeal teratom
- Hematokolpos

İntrensek obstrüksiyon

- Mantar topu
- Taş

Nörojenik mesane

- Asfiksi
- Spinabifida

Renal ABY hafif tubüler fonksiyon bozukluğu, akut tubüler nekroz, renal enfarkt ve kortikomedüller nekroz ile seyredebilir. Genellikle geri dönüşümlü olup rejenerasyon olur. Renal hemodinamde değişiklik sonucu vazokonstriktör hormonlarda artma, RAA, epinefrin, norepinefrin, endotelin, adozin, vazokonstriktör prostaglandin, vazopressin zedelenmeden sorumludur. Ayrıca nefron yapısında ve fonksiyonunda değişiklik, glomerüler kapiller permeabilitede azalma, intratubüler obstrüksiyon ve tubüloglomerüler kaçış gözlenir (11,18).

Tübüler epitel hücreleri içinde mitokondrilerde kalsiyum birikimi, fosfolipaz aktivitesinde artma mitokondrial fonksiyon kaybına yol açar. Hücre iskeletinin yıkılması, polaritede değişiklik, hücre fırçamsı kenarının yok olması, hücreler arası bağlantının kaybolması gözlenir. Olayın devamlılığı geri dönmeyen doku zedelenmesine yol açabilir (11,18).

2. 2. 1. Nefrotoksisite

Yenidoğan bebeklerde ilaçların böbrekten itrahi son derece yavaştır. Bu nedenle hızla renal sitotoksisite ve vazokonstriksiyonla proksimal tubülüs hücrelerinde zedelenme gelişebilir. Bu çocuklarda ABY genellikle nonoligüriktir (11,19). Zamanında doğan bebeklerde idrar miktarı ne olursa olsun serum kreatinin düzeyinin 1.5 mg/dl üzerinde olması ve günde 0.3 mg/dl artış göstermesi ABY kabul edilir (11,15,20,21).

Yenidoğanlarda ABY'de idrar miktarının izlemi önemlidir. Bebeklerin %30 kadarı doğum odasından çıkmadan, %50- 92'si ise ilk 24 saat içinde idrar yapar. İdrar yapmayan bir bebekte bilateral renal agenezis, posterior üretral valv, kortikal nekroz ihtimali tanıları mutlaka düşünülmelidir (11,22).

Yenidoğanda 10 ml/kg/gün gibi az idrar çıkartımı oligüri kabul edilir. Saatlik idrar izlemi oligüri izlminde daha uygun olup 0.5-1 ml/kg/saat oligüri sınırı kabul edilir (11,17,20).

Akut böbrek yetmezliği tanısı konulduktan sonra prerenal, renal, postrenal ayrımı yapılması gerekir (11,22).

Tablo 2: Prerenal ve renal akut böbrek yetmezliğinin ayırt edilmesinde yararlanılan başlıca indeksler

	Prerenal	Renal
İdrar osmolalitesi	>400	<400
İdrar Na ⁺	<40	>40
İdrar üre: Plazma üre oranı	>20	<10
İdrar osmolarite: Plazma osmolarite oranı	>2	<1
Fraksiyonel Na ⁺ itrahi (FENa ⁺)	<2	>3
Renal yetmezlik indeksi	<1.5	>6
İdrar analizi	-	proteinüri

$$FeNa^+ = (\text{İdrar Na} / \text{plazma Na}) \times (\text{plazma kreatinin} / \text{idrar kreatinin}) \times 100$$

$$\text{Böbrek yetmezliği indeksi} = (\text{idrar Na} / \text{idrar kreatinin}) \times \text{plazma kreatinin}$$

Renal hasar; kliniğe oligoanüri, ABY, hipotansiyon, hematüri, RTA, nefrokalsinozis veya nefrolitiyazis, poliüri, anormal plazma elektrolit konsantrasyonu veya kardiyak aritmi şeklinde yansıyabilir.

Aminoglikozitler, amfoterisin B, indometazin, ACE inhibitörleri, tolazolin, nöromusküler bloke edici ajanlar, radyokontrast maddeler en çok nefrotoksisiteye neden olan ilaçlardır (11,19). Nefrotoksisite renal iskemiden veya direkt toksisiteden veya her ikisinden birden kaynaklanabilir. Direkt sitotoksisite ilacın konsantrasyonu veya renal tübül hücrelerdeki metaboliti ile ilgilidir ve bu da plazma serbest ilaç konsantrasyonu, GFR ve tübül transporta bağlıdır.

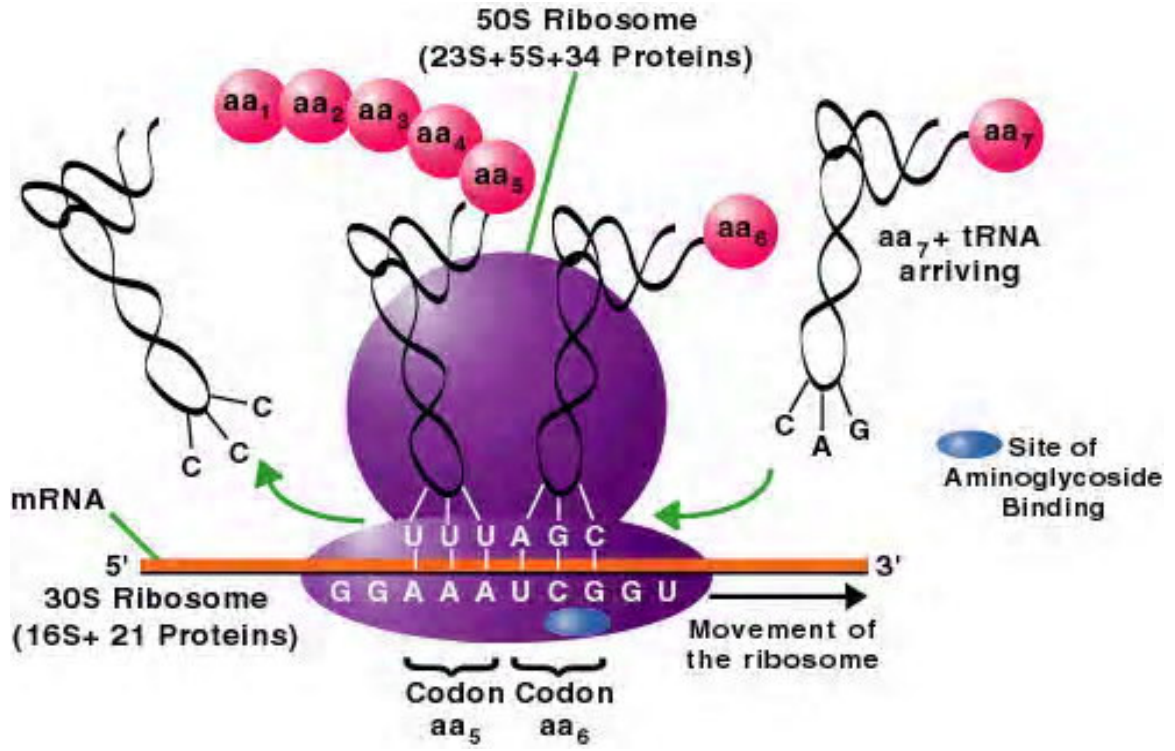
2. 2. 1. 1. Aminoglikozitler

İlk kez 1944 yılında *Streptomyces griseus*'tan streptomisin izole edilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır. Sonra sırasıyla diğer *Streptomyces* türlerinden neomisin, kanamisin, paromamisin, tobramisin elde edilmiştir. Sonrasında 1972 yılında amikasin kanamisinden elde edilmiştir (23).

Yapı ve etki mekanizması

Kimyasal olarak merkezi aminosiklitol halkasına glikosilik bağlarla bağlı iki ya da daha fazla aminoşekere oluşmuşlardır. Aminoglikozidler bakterilerin protein sentezini inhibe ederek etkili olan bakterisidal antibiyotiklerdir. Yapılarının polar oluşu nedeniyle bakteri hücrelerine ancak aktif transportla girebilirler. Aminoglikozidler konsantrasyona bağlı bakterisidal etki (doz arttıkça öldürme gücü artar) ve post antibiyotik etkileri (PAE) (doz arttıkça PAE artar) nedeniyle günde tek doz kullanım için uygundur. Günlük doz bir seferde uygulanır. Bu durumda toksik etkilerin artmadığı saptanmıştır.

Aminoglikozidler, Gram-negatif bakterilerin tedavisinde etkili ajanlar olup, en önemli yan etkileri nefrotoksisite (doza bağlı; doz arttıkça toksisite artar), ototoksisite ve nöromusküler blokajdır. Bir aminoglikozid olan amikasinin, nefrotoksisite riskini etkileyen faktörler arasında, ilacın dozu, tedavi süresi, genetik yatkınlık, yaş, daha önce aminoglikozid kullanımı olup olmadığı ve diğer nefrotoksik ilaçlarla birlikte kullanımı yer almaktadır. Nefrotoksisite genellikle ilacı kesince düzelmesine karşın ototoksisite irreverzibldir (23).



Şekil 1: Aminoglikozitlerin etki mekanizması

Farmakokinetik - Farmokodinamik

Oral yoldan alındıklarında emilimleri çok zayıftır. Kas-içi uygulamada emilim iyidir ve 30-90 dakikada serum tepe düzeyine ulaşırlar. Ekstraselüler alanda hızla yayılırken dokulara girişi yeterli olmamaktadır. Santral sinir sistemi, solunum yolları, prostat ve göz içinde seviyeleri istenen seviyenin altında iken idrarda, böbrek dokusunda, iç kulak endolenf ve perilenf sıvısında yoğunlaşırlar. BOS geçişleri inflamasyon varlığında bile çok yeterli değildir. İntratekal verilince ventrikül içine ulaşamazlar. Sinovyal sıvıya, kemiğe, peritona iyi geçerken safraya geçişleri yetersizdir. Yağ dokusuna giremezler. Vücuttan metabolize olmadan idrarla atılırlar. Böbrek fonksiyonları normal kişilerde yarılanma ömrü ($t_{1/2}$) 1.5-3.5 saattir. Yaklaşık %99'u idrardan atılırken kalanı dışkı ve tükürük ile elimine olur. Alınan dozun %90'ı 24 saatte idrara geçerken yeniden emilim ve sekresyon siklusu ile böbrek dokusunda eliminasyon yarı ömrü 30-700 saattir. Böbrek yetmezliği olanlarda değişik şekillerde doz ayarlama şemaları geliştirilmiş olsa da bu hastalarda aminoglikozid seviyelerini izlemek en iyi

yöntemdir. Günde tek doz aminoglikozid uygulaması önemli bir adım olarak gündeme gelmiştir. Bu uygulama üç önemli temele dayanmaktadır:

1. Aminoglikozidlerin bakterisidal etkisi konsantrasyona bağlıdır. Aminoglikozidlerin tepe konsantrasyonu/minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) oranı yükseldikçe öldürme hızı da artar.
2. Aminoglikozidler Gram (-) çomaklar için önemli düzeyde post-antibiyotik etki (PAE) gösterirler. MİK değeri altında bile üreme bir süre daha inhibe edilir. Bu sürenin 1-13 saat arasında değişebildiği belirlenmiştir.
3. Aminoglikozidle karşılaşan bakterilerin bir kısmı temas sonrası bir süre (6-16 saat) antibiyotığın hücre içine girişini sağlayan aktif sistemlerini yavaşlatarak adaptif direnç oluşturur. Günde tek doz uygulama bu direnç gelişimini de engeller. Bu nedenlerle günde tek doz aminoglikozid uygulaması oldukça etkin bulunmuştur. Ayrıca bu uygulamanın toksik etkileri de azaltılabileceği düşünülmüştür. Uygulamada geleneksel uygulama kadar etkili, daha ekonomik ve uyumu daha kolay bulunmuştur (23).

Aminoglikozid Dozu

Aminoglikozidlerin klasik dozları tablo 3’de verilmiştir. Yükleme dozu renal fonksiyondan bağımsızdır ve hızla tedavi edici düzeylere ulaşmak amacıyla verilir. Tedavi başlangıcında ilk 48 saatte ve 3-4 günde bir aminoglikozidlerin etkin kan düzeyinin sağlanması ve toksisitenin izlenmesi açısından yüksek ve düşük düzeyleri ölçülmelidir. Yüksek düzeyi dozdan 30 dakika sonra, düşük düzeyi ise ikinci dozdan önce alınan serum örneklerinde ölçülür (24).

Tablo 3: Aminoglikozit dozları

	Yükleme dozu (mg/kg)	Toplam (mg/kg)	Bölünmüş doz
Gentamisin	2	5.1	1.7 x 3
Tobramisin	2	5.1	1.7 x 3
Netilmisin	2	6	2 x 3
Amikasin	7.5	15	7.5 x 2
Streptomisin	7.5	15	7.5 x 2
İzepamisin	-	8-15	-

Antimikrobiyal Aktivite

Çoğu Gram (-) aerobik çomaklara karşı etkilidirler. Enterobacteriaceae ailesi, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* cinsi bakteriler değişen oranlarda aminoglikozidlere duyarlıdır. Gram pozitiflere etkinlikleri daha kısıtlı da olsa stafilokok, streptokok, *Listeria spp.* ve enterokok enfeksiyonlarında kombinasyonlarda etkili bulunmuşlardır (23).

Direnç

Gram (-) çomaklarda direnç ya ribozomal yapıda mutasyonla, ya hücre geçirgenliğinde azalma ile (*P.aeruginosa*, *E.coli*, *S.aureus*, *Salmonella*) ya da en sık olarak enzimatik olarak aminoglikozidlerin yıkılmasıyla olur. Bu direnç kromozomal, plazmid, transpozon kaynaklı olarak gelişebilir (23,25).

Klinik Kullanım

Çok farklı alanlarda kullanılmaktadırlar. Sepsis başta olmak üzere ağır enfeksiyonlarda, ampirik başlangıç tedavisinde bir beta laktamla kombinasyonları kullanılır. Febril nötropenik hastanın ampirik tedavisinde de ilk kombinasyonda bulunurlar. *Pseudomonas aeruginosa*'nın etken olduğu ciddi enfeksiyonlarda mutlaka tedaviye eklenmeleri gerekir. İntraabdominal enfeksiyonlarda antianaerobik ajanlarla kombine olarak kullanılabilirler. Üriner sistem enfeksiyonlarında monoterapi olarak kullanılabilirler. Endokardit profilaksisi için ürogenital ve intestinal sistem girişimlerinde beta laktamlarla birlikte uygulanabilirler (23).

Amikasin sıklıkla diğer aminoglikozidlere dirençli bakterilerle gelişen enfeksiyonlarda ve atipik mikobakteri enfeksiyonlarında kullanılmaktadır (23,24).

Doz

Tedavi için önerilen önce bir yükleme dozunu takiben idameye geçilmesi ve idame tedavisi sırasında aminoglikozid seviyelerinin takip edilerek doz ayarlaması yapılmasıdır. Kısa süreli tedavide, genç, renal fonksiyonları normal hastalarda izlemin gerekliliği yoktur. Fakat diğer, özellikle riskli gruptaki hastalarda izlem önerilmektedir. Serum tepe düzeyi, 30 dakika süren damar içi infüzyonu takiben 30. dakikada, kas içi injeksiyon sonrası 1 saatte alınmalıdır.

Aminoglikozidlerin kan seviyelerinin monitorize edilmesi pratikte çok kullanılan bir yöntem değildir. Klinik kullanımda en pratik yaklaşım kreatinin seviyeleri ile dozun hesaplanmasıdır. Pratikte kreatinin miktarıyla verilecek doz ya da dozlar arası

süre kabaca hesaplanabilir. Dozlar arası süre (*Dozlar arası süre*: Serum kreatinin seviyesi x 8) uzatılabilir ya da verilecek doz azaltılabilir (*Verilecek doz*: Normalde önerilen doz/Serum kreatinin seviyesi) (23).

Yan Etkiler

Aminoglikozidlerin güvenli kullanılabileceği aralık çok dardır ve kullanımlarındaki en önemli kısıtlayıcı özellik toksisiteleridir. En sık nefrotoksisite, ototoksisite, nöromuskuler blokaj meydana gelir. Nefrotoksisite tüm aminoglikozidlerde gelişebilen ve aminoglikozid kullanımında %5-10 oranında saptanabilen bir yan etkidir. (23,24,25). Aminoglikozitler tromboksan B₂ ile yönetilen renal vazokonstrüksiyona neden olurlar ve özellikle ilaçları absorbe edip lizozomda depolayan proksimal tubülden direkt hücresel toksisite yaparlar. Böylelikle tubüler nekroz, tubüler atrofi, intratubüler myeloid cisimler ve interstisyel nefrit gelişebilir (1). Serum üre, kreatinin artışı, proteinüri ve genelde non-oligürik böbrek yetmezliği gelişir. Toksik etki özellikle proksimal tubülusta izlenir ve hücre içi fosfolipaz aktivitesini engellediğinden toksisite gelişmektedir. Erken dönemde silendir yapıları görülebilir. Oligürik dönem gelişirse geri dönüşüm olmayabilir. Daha erken evreler geri dönüşümlüdür. Nefrotoksik etki en fazla gentamisin kullanımıyla, daha sonra sırasıyla tobramisin, amikasin ve netilmisin tedavisi sırasında ortaya çıkar. Nefrotoksik etkiyi artıran, hastaya ve tedavi şekline ait bazı özellikler vardır. Şöyle ki; aminoglikozidin serum düzeyi fazla ise, tedavi süresi 10 günü aşarsa, furosemid gibi bazı diüretiklerle birlikte kullanılırsa, sikloserin, amfoterisin B, vankomisin, sefalotin gibi diğer nefrotoksik ilaçlarla birlikte kullanılırsa nefrotoksik etki daha fazla ortaya çıkar. Diğer yandan yaşlılarda, böbrek ve karaciğer yetmezliği olanlarda, dehidratasyon durumunda nefrotoksik etki artar. Bu nedenlerle özellikle toksisite yönünden yüksek riskli hastalarda aminoglikozid serum düzeyinin izlenmesi gerekir. FDA risk kategorisinde D grubunda yer alırlar ve gebelikte kullanımları önerilmez (1,23,24,25).

2. 2. 1. 1. 1. Amikasin

Pseudomonas türleri, Escherichia coli, indol pozitif ve negatif Proteus türleri, Klebsiella-Enterobacter-Serratia türleri, Acinetobacter (Mima-Herellea) türleri ve Citrobacter türleri gibi gram negatif bakteriler duyarlı suşlarının neden olduğu ciddi enfeksiyonların kısa süreli tedavisinde endikedir. Klinik çalışmalar, amikasinin

septisemi (neonatal sepsis dahil), ciddi solunum yolu enfeksiyonları, kemik ve eklem, santral sinir sistemi (menenjit dahil), cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, intraabdominal enfeksiyonlar (peritonit dahil), yanık ve postoperatif enfeksiyonlarda (post-vasküler cerrahi dahil) ve komplike ve tekrarlayan üriner sistem enfeksiyonlarında etkili olduğunu göstermiştir. Yapılan klinik çalışmalarda, özellikle Proteus rettgeri, Providencia stuartii, Serratia marcescens ve Pseudomonas aeruginosa gibi gentamisin ve/veya tobramisine dirençli gram-negatif mikroorganizmalar nedeniyle gelişmiş enfeksiyonların tedavisinde amikasin ile iyi sonuçlar alınmıştır.

Ototoksisite (baş dönmesi, vertigo, tinnitus, kulakta uğuldama ve işitme kaybı) veya nefrotoksisite belirtileri tedavinin kesilmesini veya doz ayarlamasını gerektirir. Topikal olarak uygulandığında hızla ve tamamen absorbe olur. Bu nedenle dar veya geniş çaplı cerrahi alanlarda amikasinin topikal uygulanması sonucu işitme kaybı, böbrek yetersizliği ve nöromusküler blok gelişebildiği bildirilmiştir. Amikasin, gebe kadınlarda fetusa zarar verebilir, plasentaya geçer; süt veren anneler de dikkatle kullanılmalıdır.

2. 2. 2. Oksidatif hasar ve Antioksidanlar

Organizmada normal fizyolojik şartlarda veya herhangi bir patolojik olay sonucunda oluşan serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması oksidatif stresi gösterir. Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir (59). Canlılar oksidatif hasara karşı enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle korunur. Hücre seviyesinde etkili olan enzimatik antioksidan sistemler içerisinde süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz yer alır (28,29).

Serbest radikaller, dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunan atom veya moleküllerdir. Hem organik hem de inorganik moleküller halinde bulunurlar. Eğer elektron çiftleşmemiş ise molekül daha reaktif duruma gelir ve kararsızlaşır.

Serbest radikaller, yapıları, fiziksel ve kimyasal özellikleri, hücresel kaynakları, rol oynadıkları tepkimeler ve etkileri ile çeşitli klinik durumların patogenezinde rol oynarlar. Hücre membranlarındaki doymamış yağ asitlerinden

hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlayan lipid peroksidasyonu oksidan stresin en tipik göstergesidir (30,31,32,33,34).

Serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki hassas dengenin, prooksidan ve oksidan maddelerin lehine kayması oksidan stresin gelişmesine yol açar. (35,36,37,38,39).

Serbest radikaller çeşitli kimyasal olayların sonucu olarak vücutta sürekli olarak ortaya çıkmaktadırlar. Bunların en etkili olanları; tekli oksijen, hidroperoksitler ve süperoksit anyonlardır. Serbest radikallere karşı doğal antioksidan savunma sistemleri arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksit ve melatonin vardır. Bunların yanı sıra E vitamini (alfa tokoferol), C vitamini, beta karoten, flavanoidler, koenzim Q ve A vitamini de antioksidan faktörlerdir. Demir taşıyıcı protein olan transferrin, laktoferrin ve seruloplazmin vücut sıvılarında demir ve bakırı bağlayarak oksidatif hasarı önlerler (35,59,60). Oksidatif strese; organizmanın antioksidan savunma sistemini oluşturan enzimlerin adaptif cevap ile uyarıldıkları bilinmektedir. Ayrıca oksidatif stres karşısında enzim inaktivasyonunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (36,37,38,39).

2. 2. 2. 1. Serbest Oksijen Radikalleri

Kimyasal bileşikler iki veya daha çok elementin kimyasal bağ yapmasıyla meydana gelir. Kimyasal bağlar tek moleküler yörüngeyi paylaşan ve birbirine zıt yönde dönen bir çift elektrondan oluşan kararlı yapılardır. Bu bağ negatif yüklü elektronlarla sarılmıştır. Elektronların düzeni bileşiğe kararlılık sağlar. Dış yörüngesinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük, çok etkin element veya bileşiklere “serbest radikaller” adı verilir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden türeyen serbest oksijen radikalleridir. Oksijen atomu toplam sekiz elektron içerir. Bu elektronlar öyle dağılmışlardır ki bunlardan dış yörüngede bulunan iki tanesi eşleşmemiştir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar (26,57,58,59).

Çok reaktif olan bu yapılar, kararlı duruma geçme eğiliminde oldukları için, tek elektronlarını çiftlemek üzere başka moleküllerle reaksiyona girdiklerinde, onların

yapılarını değiştirebilirler. Bir serbest radikal çiftlenmemiş elektronunu radikal olmayan bir moleküle verebilir veya tek elektronunu çiftlemek üzere, diğer molekülden bir elektron alabilir. Böylece bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürür. Bu olay, bir zincir reaksiyon olarak, radikalın başka bir radikalle birleşmesi veya antioksidanlar tarafından kırılana kadar devam eder (26).

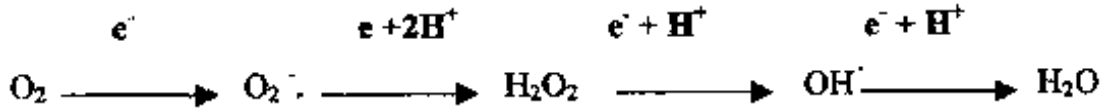
Serbest oksijen radikallerine ek olarak, serbest elektronları bulunmadığı halde reaksiyonlarda bu şekilde davranabilen maddeler de bulunmaktadır. Kimyasal reaksiyonlar sırasında serbest radikalleri serbestleştirir (hidrojen peroksit (H_2O_2) yada hipoklorik asit) yada doğrudan sitotoksik etki (hipoklorik asit yada kloramin R-NHCl) gösterir. Tablo 4' de radikal olan ve olmayan reaktif oksijen türevleri (ROT) yer almaktadır.

Tablo 4: Serbest oksijen radikalleri

Radikaller	Radikal olmayanlar
Superoksit radikali	Hidrojen peroksit
Hidroksil radikal	Lipidhidroperoksit
Alkoksil radikal	Hipoklorik asit
Peroksil radikal	R-NH ₂

Oksijen merkezli serbest radikaller veya serbest radikallerin indirgenme ürünleri olan ROT; hücrelerde dopamin ve adrenalin oksidasyonu, pürin katabolizması, aerobik metabolizma gibi normal kimyasal reaksiyonlar sırasında üretilen oldukça toksik bileşiklerdir. Ayrıca radyasyon, sigara gibi çevresel faktörler ve hiperglisemi gibi normal metabolizmada gözlenen bazı değişiklikler de ROT bileşik sentezinde artışa neden olmaktadır. Superoksit radikali oksijenin kendisine bir elektron transferiyle redüksiyonu sonucu oluşur. Superoksit radikali doğada genellikle redüktiftir ve belirgin özelliği H_2O_2 kaynağı olmasıdır. Süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalitik olarak H_2O_2 'e indirgenir. H_2O_2 düşük toksisiteye sahip, oksidan ancak reaktif olmayan bir üründür, fakat kolayca hücrel membranlara penetre olabilir. Özellikle geçiş metal iyonlarının (demir, bakır) varlığında O^{2-} ve H_2O_2 ferik demiri ferröz hale getirerek, serbest oksijen radikallerinden en reaktif ve hasar verici özelliğe sahip olan OH

radikalini oluşturmak için kolayca parçalanabilir. Bu reaksiyon “Fenton Reaksiyonu” olarak bilinir (27).



Şekil 2: Moleküler oksijenden reaktif ara ürünlerin oluşumu.

Redükte glutatyon (GSH), organik sistemlerde antioksidan fonksiyonları etkileyen en önemli biyolojik moleküllerden birisidir. Glutatyonla birlikte glutatyon bağımlı sistem “glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon-S-transferaz (GST)”, katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD); toksik serbest radikalleri etkin bir şekilde toplarlar (82).

Organizmada serbest radikaller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile endojen ve eksojen kaynaklardan oluşabilmektedir. Tablo 5’de serbest oksijen radikallerinin endojen ve eksojen kaynaklarından bazıları sıralanmıştır (59).

Tablo 5 : Serbest oksijen radikalleri kaynakları

Endojen kaynaklar	Eksojen kaynaklar
Mitokondriler (solunum zinciri)	Radyasyon
Hücre zarı (prostoglandin sentezi)	İlaçlar
Sitokrom P-450	Sigara, Alkol, Uyuşturucu
Aktive lökositler (fagositoz)	Metal iyonları
Mikrozomal elektron taşıma zinciri	
Oksidan enzimler	

Serbest Oksijen Radikalleri-Oksidatif Stres

Serbest oksijen radikalleri yapısal özellikleri nedeni ile lipid, protein ve nükleik asit gibi hücre bileşenlerini okside etme kapasitesine sahiptir. Özellikle hücre membran yapısında bulunan doymamış yağ asitleri oksidasyona duyarlıdır ve bunların oksidasyonu lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olur. Bir

reaksiyon zincirinin başlaması, diğer reaksiyon zincirlerinin başlamasına ve şiddetlenmesine neden olur ve bunun sonucunda yaygın peroksidasyon, membran lipid tabakasının yapısal bütünlüğünde bozulma, membran geçirgenliğinde artma, iyon transportunda bozulma ve son olarak lizis ortaya çıkar. Hücre ölümüne kadar giden bir süreç bu şekilde tamamlanır. Fizyolojik koşullarda serbest oksijen radikalleri dolaşımında bulunmakta ve hücrel redoks sistemleri ve antioksidanlar aracılığı ile yüksek oranda kontrol altında tutulabilmektedirler. Buna rağmen dolaşımında oksiradikallerin artması ve hücrel redoks homeostazın zayıflamasında oksidatif stres oluşmakta bu da tümörögenezise neden olmaktadır. ROT bileşiklerinin neden olduğu oksidan stresin diyabet, kanser, ateroskleroz, ilaçlara bağlı nefrotoksisite gibi birçok olayın patogenezinde ve komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynadığı kabul edilmektedir (40).

Membran Lipitlerine Etki

Membran lipidleri oksidanların en önemli hedeflerindedir. Hücre membranı serbest radikaller için kritik bir bariyerdir, çünkü serbest radikaller hücre komponentleri ile etkileşim için bu bariyeri geçmek zorundadırlar. Membran lipid peroksidasyonu sonucu membran bütünlüğü bozulması ile membran proteinleri, reseptörleri ve ayrıca bunlara bağlanan enzimler inaktive olurlar. Lipid peroksidasyonu, yağların özellikle poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif oksijen bağımlı yıkımı olarak tarif edilir ve dallanan bir zincir reaksiyonudur. Olayda genelde bir enzim varlığı gerekli olmamasına rağmen demir, bakır gibi metaller tarafından katalizlenir. Lipid peroksidasyonu, hücre zarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinin alfa-metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıyla başlatılmaktadır (26,27,40). Hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıyla yağ asidi lipid radikali halini alır. Yapıda molekül içi çift bağların yer değiştirmesi ve ardından moleküler oksijenle etkileşim sonucunda lipid peroksil radikali ortaya çıkar. Bunlar da yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de lipid hidroperoksitlerine dönüşmektedirler. Lipid hidroperoksitleri yıkılarak biyolojik olarak aktif yapılar olan aldehit ve karbonil bileşiklerine dönüşürler. Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi

gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (59,64,65,66,67).

Proteinler Üzerine Etki

Serbest radikaller proteinler üzerine olan hasar yapıcı etkilerini proteinlerde serbest radikal birikimi yaparak gösterir. Doymamış bağ ve sülfüt içeren moleküllerin serbest radikaller ile reaktivitesi yüksek olduğundan fenilalanin, tirozin, triptofan, histidin, metionin gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Bunun sonucunda özellikle sülfür ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Bu reaksiyon sonucu albümin ve immünglobulin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur ve normal fonksiyonlarını yerine getiremezler (41). Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerde fragmentasyon ve çapraz bağlanmalar meydana gelebilir. Bunlar da protein fonksiyonlarında bozulmalara yol açabileceği gibi, immun sistemi uyarabilecek antijenik değişiklikler de oluşturabilirler.

DNA Üzerine Etki

Serbest radikaller deoksiribonükleik asiti (DNA) etkileyerek hücrede mutasyona yol açarlar. Hidroksil gibi serbest radikal bileşikleri DNA bazları üzerine de geri-dönüşümsüz değişikliklere neden olurlar. Bunlardan en önemlileri timin ile hidroksil radikalının oluşturduğu ürün olan timin glikol ve guanin ile hidroksil radikalının oluşturduğu ürün olan 8-hidroksi guanindir. Bu DNA ürünleri onarım enzimleri ile elimine edilir ve idrarla atılır. Direkt etkinin yanında DNA'da tamir defektleri oluşturarak da hasara yol açabilirler. Oluşan bu serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyonlara ve ölüme yol açarlar. Sitotoksisite büyük oranda ya nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozomal değişikliklere, ya da DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır (83,84).

Karbonhidratlar Üzerine Etki

Özellikle monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bir okzoaldehit olan gliokzil de DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliğinden dolayı antimitotik etki gösterir. Yine superoksit ve hidrojen peroksinin in vitro olarak

hyaluronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir (42). Serbest radikaller prostoglandin oluşumu gibi hücresele reseptör fonksiyonlarını da değiştirmektedir (43).

2. 2. 2. 1. 1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Böbrek

Son yıllarda yapılan hayvan çalışmalarında serbest oksijen radikallerinin akut-kronik ve/veya immün ve immün olmayan böbrek hastalarında patofizyolojik önemi saptanmıştır. Tablo 6’da patogeneizde serbest oksijen radikallerinin rolü gösterilmiş böbrek hastalıkları yer almaktadır (44).

Tablo 6: Patogeneizde serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu düşünölen böbrek hastalıkları

Glomeröler hastalık

- Minimal değişim hastalığı
- Membranöz glomerülopati
- Nötrofil bağımlı hasar, antiglomeröler bazal membran nefriti

Akut böbrek yetmezliği

- Postiskemik
- Toksik: sisplatin, gentamisin, vankomisin, amikasin
- Kontrast nefropati, miyoglobininüri/hemoglobininüri, radyasyon

Obstruktif nefropati

Pyelonefrit

İlerleyici böbrek yetmezliği

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 patogeneizde rolü olduğu gösterilmiştir (44). Çeşitli iskemi ve inflamasyon modellerinde reaktif oksijen partiküllerinin glomeröler hasara neden olduğu bilinmektedir (44).

2. 2. 2. 1. 2 Serbest Oksijen Radikalleri-Antioksidan Savunma Sistemleri

ROT' lerinin düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı sınırlandırmak için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir (45,46,59,61,62,63). Kontrol mekanizmasının temel amacı serbest radikallerin aşırı yapılmasını önlemek, aynı zamanda da sağlam olan komşu hücreleri korumaktır. Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalın meydana gelişini engelleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim olanlar ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilirler. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (45,46).

Antioksidan Etki Tipleri:

- a. Toplayıcı etki
- b. Bastırıcı etki
- c. Onarıcı etki
- d. Zincir kırıcı etki

Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denir. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya “bastırıcı etki” denir. Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak (hemoglobin gibi) zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denmektedir (85).

A) Endojen (Doğal) Antioksidanlar:

1. Enzimler

- Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi
- Superoksit dismutaz
- Katalaz

- Glutasyon peroksidaz
- Glutasyon-S-transferaz

2. Enzim olmayanlar

- Lipid fazda bulunanlar
 - Alfa-tokoferol, Beta-karoten
- Sıvı fazda (hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar
 - Askorbik asit, Ürat, Sistein, Seruloplazmin, Transferin, Laktoferrin, Miyogloblin, Hemogloblin, Ferritin, Albumin, Bilirubin, Glutasyon
- Hem sıvı hem de lipid fazda bulunanlar
 - Melatonin

B) Ekzojen Antioksidanlar

- Ksantin Oksidaz İnhibitörleri: Allopürinol, oksipürinol, folik asit, pterin, aldehit, tungsten
- İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz inhibitörleri: Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar
- Rekombinant superoksit dismutaz
- Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları: Mannitol, albumin
- Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferrioksamin, seruloplazmin
- Soya Fasülyesi İnhibitörleri: Ksantin dehidrogenazın proteolitik etki sonucu ksantin oksidaza dönüşümünü inhibe ederler

C) Gıda Antioksidanları:

- Butylated hidroksitoluen (BHT)
- Butylated hidroksiyanisol (BHA)
- Sodyum benzoat
- Ethoksikuin
- Propil galat

- Fe-superoksit dismutaz

Normalde oksidan stres mevcut antioksidanlar tarafından dengelenmektedir. Dengenin bozulması durumunda doku hasarı ve/veya hastalık gelişebilir. Oksidanlarla mücadelede temel stratejiler oksidanları arttırıcı etkenlerden uzaklaşmak, tetiklenen biyokimyasal olayları engellemek, oksidan salgılayan hücreleri etkisizleştirmek ve antioksidan kullanmaktır. Oksidan moleküllerle mücadelede en önemli mekanizma, belirli düzeyi aşmış oksidanlara doğrudan etki ederek onları inaktif hale getiren antioksidanlardır. Tablo 7’ de tedavide kullanılabilen antioksidanlar yer almaktadır (44).

Tablo 7: Tedavide kullanılabilen antioksidanlar

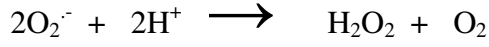
-
- Rekombinant Superoksit dismutaz (SOD)
 - Demir şelatörleri: Desferrioksamin
 - Ksantin oksidaz inhibitörleri: Allopurinol
 - E, C, A vitamini-Beta karoten
 - Tiol grubu. NAS, metionin, glutathion,
 - Probukol
 - Trimetazidin
 - Anjiyotensin enzim inhibitörleri
-

ROT bileşiklerinin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemlerini kullanırlar. Antioksidan bileşenlerin bazıları hücre tarafından sentez edilirken, bazıları da dışarıdan, diyetle alınmaktadır.

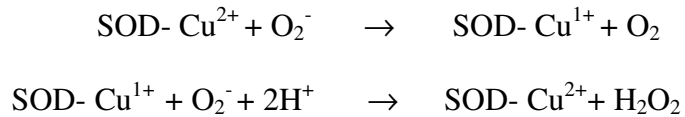
2. 2. 2. 1. 2. 1. Superoksit Dismutaz

Antioksidan enzimler organizmanın savunmasında oksidatif strese karşı yaşamsal öneme sahiptirler. Süperoksit radikalının ortadan kaldırılmasında bu enzim sisteminin en önemlisi SOD’ dur. İlk olarak 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanan SOD yapısında bakır, çinko ve manganez içerdiğinden metalloenzim olarak adlandırılır. Superoksidin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene

dönüşümünü katalizler ve superoksit düzeylerini kontrol etmede önemli bir rol oynar. Katalizlediği reaksiyon şu şekildedir:



Katalizlediği bu reaksiyon spontan olarak meydana gelebilir. Fakat SOD aracılığı ile reaksiyon hızı 4000 kat artar. Sitoplazmada dimerik, bakır ve çinko içeren (Cu-Zn-SOD) ve mitokondride tetramerik, manganez içeren (Mn-SOD) izomeri mevcuttur. Cu-Zn-SOD 21 no'lu kromozomda, Mn-SOD 6 no'lu kromozomda lokalizedir (47). Cu-Zn-SOD siyanidile inhibe edilirken, Mn-SOD inhibe olmaz. Her iki SOD'un katalizlediği reaksiyon aynıdır (48). Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni katabolize eden hücreleri superoksit serbest radikalinin zararlı etkilerine karşı korumaktadır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder (49). SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO₂ artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda superoksit üretimi olmasına rağmen, intraselüler superoksit düzeyleri düşük tutulur. SOD'un ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür (50). SOD'un süperoksit anyonuna etkisi şu şekilde olmaktadır; süperoksit anyonu, Cu²⁺ ve bir arginin rezidüsünün guanido grubuna bağlanır, bu bağlanma sonucunda süperoksitten bir elektron Cu²⁺'a transfer olurken Cu¹⁺ ve moleküler oksijen meydana gelir, ikinci bir süperoksit anyonu Cu¹⁺'dan bir elektron, bağlanma ortağından ise iki proton alarak H₂O₂ oluştururken, enzim tekrar Cu²⁺ formuna dönmüş olur (51).



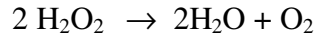
SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intraselüler öldürülmesinde de rol oynar. Bu nedenle, SOD granülosit fonksiyonu için çok önemlidir. Lenfositlerde de granülositlerden daha fazla miktarda SOD bulunmaktadır (52). SOD aktivitesindeki genetik ya da sonradan meydana gelmiş değişiklikler ile hastalığa karşı hassasiyet ya da direncin birbiriyle ilişkili olabileceği bazı araştırmacılar tarafından kaydedilmiştir.

Bazı araştırmacılara göre, polimorfonükleer lökosit (PMNL) tarafından artmış süperoksit salınımı, PMNL'lerin azalmış süperoksit toplayıcı aktivitesinden sorumlu

olabilir. Cu-Zn-SOD aktivitesi prematürelere ve yaşlıların eritrositlerinde, psöriazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur (53,54).

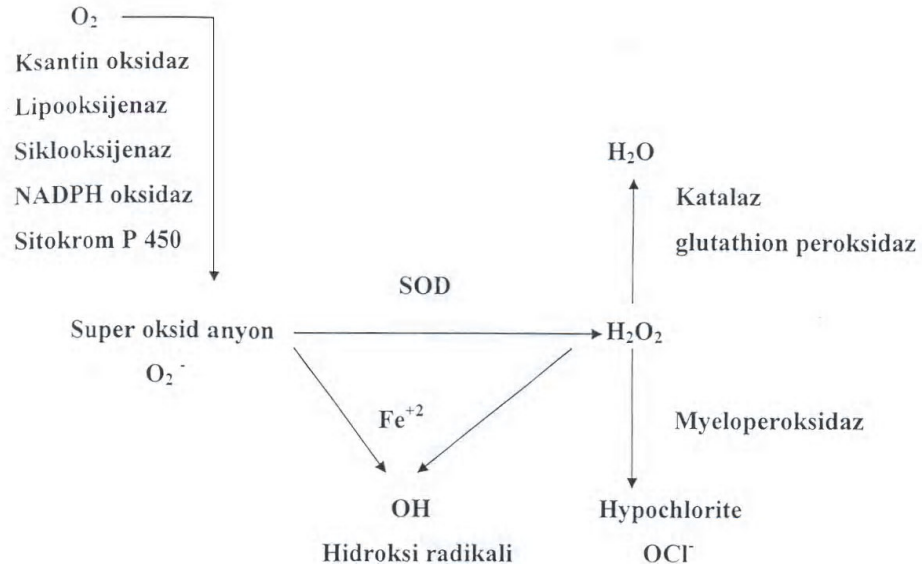
2. 2. 2. 1. 2. 2. Katalaz

Leew ve arkadaşları (55) tarafından ilk kez 1901 yılında tabiatта saptanmasının ardından, 1937 yılında Sumner ve Dounce (56) tarafından karaciğerde bulunduğu gösterilmiştir. Glikoprotein yapısında bir hemoproteindir. Enzimin molekül ağırlığı 240.000 daltondur. Dört adet hem grubu içeren bir hemoprotein yapısında olan katalazın (CAT) doku aktiviteleri farklılıklar gösterir. En yüksek aktivite karaciğer ve böbrekte saptanırken, en düşük aktivite destek dokusunda izlenmektedir. Dokularda esas olarak mitokondri ve peroksizom partiküllerine bağlı olarak bulunurken, sitoplazma ve endoplazmik retikulumda da aktivitesi mevcuttur. Hidrojen peroksitin aşırı arttığı ortamlarda aktivite göstererek, moleküler oksijen ve suya parçalanmasını sağlar.



Serbest oksijen radikali oluşum ve yıkımında temel enzimatik reaksiyonlar şekil 3’de gösterilmektedir.

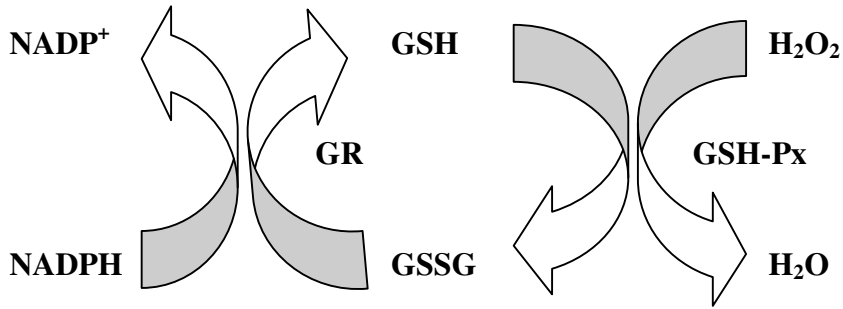
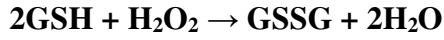
Şekil 3: Serbest oksijen radikali oluşum ve yıkımında temel enzimatik reaksiyonlar



2. 2. 2. 1. 2. 3. Glutasyon peroksidaz

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GSH-Px enzimi hücrelerin stoplazmalarında (sitozolde) bulunur ve zararlı hidroksit asitlerinin olumsuz etkilerini azaltır. 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. Redükte glutasyonun (GSH) -SH grubundan, su oluşturmak için hidroksil radikali ya da hidrojen peroksitle birleşmek üzere hidrojen çıkartmasını sağlar. GSH-Px glutasyonu okside hale getiren reaksiyonu katalizler. Glutasyon aynı zamanda, inflamatuvar hadiselerde rol alan lökotrien sentezinde önemli role sahiptir. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksid düzeylerinin yükselmesine ve hücre hasarına yol açmaktadır (77,78). GSH-Px'in, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. GSH-Px aktivitesi düşük olan makrofajlarda başlatılan solunum patlamasını takiben, hidrojen peroksit salınımının arttığı gösterilmiştir (86). Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır (87).

Oluşan reaksiyonlar şu şekildedir:



Şekil 4: Glutasyonun okside ve redükte formları arasındaki dönüşümü. (GSH: Redükte Glutasyon, GSSG: Okside Glutasyon, GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz, GR: Glutasyon Redüktaz, H₂O₂: Hidrojen Peroksit)

2. 2. 2. 1. 2. 4. IGF-I

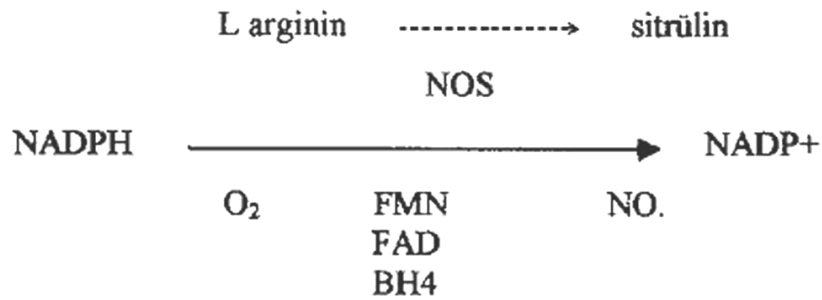
IGF-I, 70 aminoasitten oluşan, tek zincirli ve üç intramoleküler disülfid köprüsü içeren bir yapıdır. IGF-I'in molekül ağırlığı 7649 daltondur. IGF-I primer olarak karaciğer tarafından üretilir.

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF), fetal ve çocukluk evresi boyunca normal gelişimde esas rol oynar. Fizyolojik olarak IGF-I büyüme hormonunun etkisinden sorumlu majör mediatördür. Erişkin dönemde ise bu sistem hücre metabolizmasında rol oynadığı gibi, hücre proliferasyonu ve apoptozisin önlenmesi gibi fonksiyonların regülasyonunda da rol alır. Bununla birlikte bozulmuş stimülasyon malign büyümenin gelişimi ve progresyonuna katkıda bulunabilir (71). IGF-I, mitojenik ve antiapoptotik etkiye sahip olan peptid yapıda bir hormondur. İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3) ise apoptozisi uyararak IGF-I'in mitojenik etkisini inhibe eden antiproliferatif etkiye sahip bir proteindir (72). Bir çok tümör tipinde serum IGF-I düzeylerinin yükseldiği ve IGFBP-3 seviyelerinin ise düştüğü tespit edilmiştir (73,74).

2. 2. 2. 1. 2. 5. Nitrik oksit

Günümüzde nitrik oksit (NO) vasküler endotelde sürekli olarak salındığı, böylece vasküler tonusun regülasyonunda önemli rolü olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca hem birçok fizyolojik fonksiyonun gerçekleşmesi için gereklidir ve antioksidan savunmaya katkıda bulunur, hem de aşırı üretim durumunda serbest oksijen radikalleri ile peroksinitritlere dönüşerek patolojik durumlara neden olabilir (75). Nitrik oksit, periferde olduğu kadar santral sinir sisteminde de önemli biyolojik aktivitesi olan çok kısa ömürlü serbest radikal bir gazdır (76).

Tek sayıda elektron içeren ve renksiz gaz şeklinde bulunan inorganik bir serbest radikaldir. NO, vertebralılarda sitokrom P-450 redüktaz homoloğu olan ve nitrik oksit sentaz (NOS) olarak adlandırılan enzimlerce enzimatik olarak oluşturulur. NO, NOS tarafından L-argininin L-sitrüline dönüşümü esnasında üretilir.



Şekil 5: NOS aracılı NO oluşumu.

NO, konsantrasyonuna ve orijinine bağlı olarak proinflatuar veya antiinflatuar etki gösterebilir. NO'in biyolojik sıvılardaki yarılanma ömrü oldukça kısa olup hemen nitrit ve nitrata dönüşür. Hemen hemen her hücre tarafından üretilir ve her hücre üzerine etkinlik gösterir. Bu nedenle, NO genel aracı bir moleküldür. Diğer serbest oksijen radikalleri her konsantrasyonda zararlı iken, NO düşük konsantrasyonlarda kan basıncı ve sindirim sisteminin düzenlenmesinden konak savunması ve özgül olmayan immüniteye kadar bir çok önemli fizyolojik olayların düzenlenmesinde rol oynar. Ancak, uygunsuz yerde ve aşırı miktarda üretildiğinde, bir çok patolojik durumun ortaya çıkmasına neden olur. NO, homeostatik vazodilatasyon ve kan akımının düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. Bununla birlikte aşırı NO salınımı vasküler komplikasyonlara yol açmaktadır.

Nitrik oksit sentazın (NOS) üç izoenzimi vardır.

1. Nöronal NOS (tip I, nNOS) → nöral iletide foksiyon görür.
2. Endoteliyal NOS (tip III, eNOS) → böbreklerde bulunur.
3. İndüklenebilir NOS (tip II, iNOS) → normal şartlar altında bulunmaz.

Nitrik oksit sentezinin, insanda vasküler tonüsün düzenlenmesinde önemli rol oynadığı, kan basıncı ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde kesin bir role sahip olduğu bilinmektedir. Nitrik oksit, Fe-S proteinlerinden demiri çıkararak yerine kendisi bağlanır, böylece Fenton reaksiyonunu stimüle eder. Nitrik oksitin süperoksit dismutaz enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit oluşur. Vasküler tonüsün düzenlenmesi için süperoksit ve nitrik oksit arasındaki fizyolojik dengenin önemli olduğu ileri sürülmektedir.

2. 2. 2. 1. 2. 6. Eritropoietin

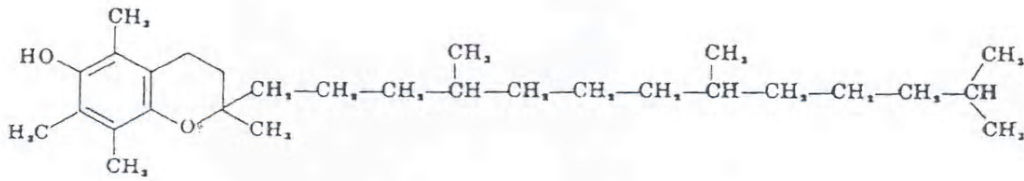
Hemopoitik büyüme faktörü eritropoietin (EPO), 165 amino asitten oluşan, molekül ağırlığı yaklaşık 34.000 dalton olan bir glikoproteindir. Eritropoietin, böbrek yetmezliğine bağlı anemi tedavisinde 1986 yılından beri tüm dünyada, yaygın olarak kullanılmaktadır ve son 10 yılda böbrek yetmezliği tedavisinde sağlanan en önemli gelişmedir. Epo, beyin ve kalbin iskemik durumunda multifonksiyonel sitokin olarak bilinmektedir. EPO reseptörleri böbrekte geniş bir alanda eksprese edilmektedir. Sınırlı sayıda deneysel çalışmada EPO'nun akut renal yetmezlikte tubüler hücre ölümünü azalttığı ve iskemik reperfüzyon hasarı azalttığı gösterilmiştir (79).

Eritropoietin, antiapoptotik, antioksidan olup, endoteliyal prekürsörler hücrelerin mobilizasyonunu artırır, ayrıca anjiogenezise katkısı vardır (81,96).

Eritropoietin tedavisi üremik hastalarda bozulmuş trombosit fonksiyonlarını olumlu etkileyebilir, hematokrit yükseldiği için uzamış kanama zamanını kısaltabilir; ancak bu durum tromboembolik olaylara eğilimi artırabilir. Bazı çalışmalarda EPO tedavisinin arteriyovenöz fistül veya greft tıkanması gibi trombotik olayları artırdığı bildirilmiştir (80).

2. 2. 2. 1. 2. 7. E vitamini

Vitamin E ilk kez Evans ve Bishop tarafından 1922 yılında tanımlanmıştır. Önceleri X, daha sonra antisterilite vitamini, 1936 yılında buğday tohumundan elde edildikten sonra ise tokoferol olarak isimlendirilmiştir. E vitamini hidroksi 6-kroman türevidir. Bunlar doğada yan zinciri doymuş olan tokoferoller (alfa, beta, gamma, lambda) ve yan zinciri doymamış olan tokoferoller halinde bulunur.

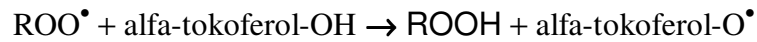


Şekil 6: E vitamininin moleküler yapısı

Tokoferoller içinde en geniş doğal dağılımı ve en büyük biyolojik aktiviteye sahip olan D- α -tokoferoldür. Çözülebilir bir lipit fenolik antioksidandır ve özellikle doymamış bitkisel yağlarda, fındık, badem, ceviz ve yeşil sebze ve meyvelerde zengin olarak bulunur. Kızartma, kaynatma ve saklama sırasında önemli ölçüde parçalanır. Anne sütünde oldukça fazla miktarda bulunur. Diyetle yağda çözünmüş olarak bulunduğu için, yağ sindirimi sırasında açığa çıkar ve emilir. Emilebilmesi için yağ emiliminin ve safra asitlerinin normal olması gereklidir. Emiliminde selenyumun da yeterli miktarda olması gerekmektedir. E vitamini selenyum kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır. Bağırsaktan absorpsiyonu ince bağırsak epitel hücrelerince herhangi bir taşıyıcı protein olmadan kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla olur. Önce şilomikron yapısına dahil olur. Şilomikronlar lipoprotein

lipaz aracılığı ile hidroliz olurken E vitaminin bir bölümü dokulara taşınır. Kalan E vitamini ise, şilomikron kalıntıları ile birlikte karaciğer tarafından alınıp, hepatik kökenli çok düşük dansiteli lipoprotein aracılığı ile tekrar dolaşıma salınır veya yüksek dansiteli lipoproteine transfer olur. E vitamini sıklıkla LDL' nin (düşük dansiteli lipoprotein) dış tabakasında ve kromonal halkası sulu faza yönelmiş şekilde lokalizedir. Ortalama bir LDL partikülünde 6 tane α -tokoferol molekülü vardır. E vitamini yağ dokusunda depolanır. Normal durumunda plazma konsantrasyonu 0.4-0.5 mg/dl kadar olup plazmadaki total lipid düzeyinde meydana gelen değişiklikler E vitamini oranının yükselmesine neden olur. E vitaminin yarılanma ömrü 44 saat olarak belirlenmiştir ve dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur (70). En yüksek E vitamini konsantrasyonları, mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında bulunur. Sitozol ve peroksizomda ise daha az miktarlarda bulunur (43).

Biyolojik sistemlerde çok önemli bir antioksidan olan alfa tokoferol, membranların lipid tabakaları arasında bulunur ve bu bölgede yapısal rol oynar. lipid peroksidasyonunun erken aşamalarında biomembranlardaki serbest radikal toplayıcı aktivitesi sonucu hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyarak, lipid peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E, süperoksit, hidroksil radikalleri, tekli oksijen, lipid peroksil radikalleri ve diğer radikal örneklerini indirger (68,69). Hücre solunumu ve nükleik asit sentezinde yer alır. E vitamini zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinir. Yapısındaki fenolik hidroksi grubuna sahip aromatik halka kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği buradan kaynaklanır. Lipid peroksil radikalini (ROO^{\bullet}) parçalayarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırır. Otoksidasyonun başlatıcısı olan peroksit ve hidroperoksit radikallerini inhibe eder. Lipid peroksidasyonunu engelleyerek, hücre zarında oluşacak olan hasarı ve LDL' in modifikasyonunu önler.



Oluşan tokoferoksil radikali glukronik asitle konjuge edilerek safra yoluyla atılır. E vitamini okside olduktan sonra askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir. Lipid peroksidasyonunun bir ölçüsü olarak solunum havası ile

atılan pentan miktarı kullanılır. Diyetle E vitamini verilisinin pentan çıkışını, yani lipit peroksidasyonunu önemli oranda azalttığı kaydedilmiştir.

Tokoferolün antioksidan etkisi, yüksek oksijen konsantrasyonlarında daha belirgindir. En yüksek oksijen kısmi basıncına maruz kalan lipit yapılarında, örneğin eritrosit membranları ve solunum sistemi membranlarında yoğunlaşma eğilimindedir. Eritrositleri de hemolize karşı korur. Prematür bebeklerde eksikliğine bağlı hemolitik anemi gösterilmiştir. Antioksidan etki ile DNA hasarını ve malign değişimleri azaltır. Antioksidanların diyetle alınmasının birçok hastalığın riskinin azalmasıyla ilişkili olduğuna dair epidemiyolojik çalışmalardan, hayvan deneylerinden ve in vitro deneylerden elde edilmiş kanıtlar her geçen gün artmaktadır. E vitamini diğer yağda eriyen vitaminler kadar depolanamaz, bu sebeple gereğinden fazla alındığında birkaç gün içerisinde dışkı ve idrar yoluyla vücuttan atılır. Ancak yüksek dozlarda alındığında bulantı ve ishal yapabilir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada doğum ağırlıkları 4-7 gram arasında değişen, yenidoğan Wistar albino cinsi ratlar Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvan Laboratuvarları'ndan temin edilerek kullanılmıştır (n=35). Ratlar standart laboratuvar şartları olan 23 ± 2 °C sabit oda sıcaklığında, % 60 ± 5 nem oranında ve 12 saat gece, 12 saat gündüz şartlarında, annelerinin yanında anne sütü ile beslendi. Anneleri ise standart yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) ve yeteri kadar (ad libitum) su ile beslendi. Daha sonra bu deneysel çalışma için ratlar randomize olarak dört gruba ayrıldı.

3.2. Kullanılan İlaçlar

Amikasin: Eczacıbaşı İlaç Şirketi (Amikozit flakon 0.5 g/2ml)

Eritropoietin: Santa Farma İlaç Şirketi (Eprex şişe 2000 IU/ml)

E vitamini: Aksu Farma İlaç Şirketi (Evigen ampul 300 IU/2ml)

Amikasin, Eritropoietin, E vitamini serum fizyolojik ile doz ayarlaması yapılarak enjektörle yenidoğan ratlara intraperitoneal (ip) olarak uygulandı.

3.3. Hayvan Çalışmaları ve Uygulama Şemaları

Grup 1: (Kontrol): Steril apirojen serum fizyolojik doğumdan 3 gün sonra günde iki kez yarım saat ara ile ip olarak 3 gün boyunca (4, 5 ve 6. günlerde) uygulandı. (n=8)

Grup 2: (Amikasin): Amikasin dozundan yarım saat önce ip serum fizyolojik uygulanması sonrası, Amikasin 1200 mg/kg günde bir kez ip olarak 3 gün süre ile (4, 5 ve 6. günlerde) uygulandı. (n=8)

Grup 3: (E vitamini +Amikasin): E vitamini 150 mg/kg/gün amikasin dozundan yarım saat önce (4, 5 ve 6. günlerde) ip olarak uygulandı. (n=9)

Grup 4: (Eritropoietin + Amikasin): Eritropoietin 300 IU/kg/gün amikasin dozundan yarım saat önce (4, 5 ve 6. günlerde) ip olarak uygulandı. (n=10)

3 gün uygulanan enjeksiyonlar sonrasında postnatal 7. günlerinde ortalama ağırlıkları 10 ± 2 gram olan ratlar kesildi. Eter ile anestezi uygulanmasının ardından yapılan kesimde, her iki böbrek dokusu hızlıca eksize edilerek, sağ böbreğin yarısı ışık mikroskopunda rutin histopatolojik inceleme için formaldehit solusyonuna; sağ böbreğin diğer yarısı ile sol böbreğin tümü, dokuda IGF-1, MDA, CAT, SOD, NO, glutatyon peroksidaz ve amikasin düzeyi ölçümünde kullanılmak üzere fosfat tamponu içine kondu. Doku örnekleri 0.25 M sukroz içeren pH 7.3 olan 3 ml tris-HCl buffer içinde analizin yapıldığı tarihe kadar -20°C 'de muhafaza edildi.

3.4. Kullanılan Malzemeler ve Aletler:

1- Soğutmalı santrifüj	: Eppendorf MR5415 (Almanya)
2- Santrifüj	: Jouan B4İ (Fransa)
3- Derin dondurucu	: Uğur (Türkiye)
4- Hassas terazi	: Scaltec SPB 33 (İsviçre)
5- Vorteks	: Nüve NM 100 (Türkiye)
6- Otomatik pipetler	: Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa)
7- Spektrofotometre	: Shimadzu UV 1601 (Japonya)
8- Sonikatör	: Bandelin Sonoplus (Almanya)
9- pH metre	: Hanna Instruments (Portekiz)
10- Manyetik karıştırıcı	: Nüve (Türkiye)
11- Homojenizatör	: Ultra Turrax T25 HSP 70 (Almanya)
12- Biyokimya analizörü	: Roche/Hitachi Modular P800 (Almanya)
13- Aoroset	: Max Planck – Ring 2 66205 (Almanya)
14- Eliza	: EL _X 808 Ultra Microplate Reader Bio Tek Instruments inc
15- Eliza	: EL _X 50 Auto Strip Washer Bio Tek Instruments inc
16- Mikroskop	: Olympus BH-2

3.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler:

SOD Tayini İçin Kullanılanlar:

- Potasyum dihidrojen fosfat, Merck (Almanya)
- Disodyum hidrojen fosfat dihidrat, Merck (Almanya)
- CAPS, Sigma (Almanya)
- Iodonitrotetrazolyum violet, Sigma (Almanya)
- Ksantin, Merck (Almanya)
- Ksantin oksidaz, Sigma (Almanya)
- Titripleks III, Merck (Almanya)

GSH-Px Tayini İçin Kullanılanlar:

- Potasyum dihidrojen fosfat, Merck (Almanya)
- Disodyum hidrojen fosfat dihidrat, Merck (Almanya)
- Glutasyon redüktaz, Fluka (İsviçre)
- β -NADPH, Sigma (Almanya)
- Glutasyon-redükte, Sigma (Almanya)
- Kümen hidroperoksit, Sigma (Almanya)
- Titripleks III, Merck (Almanya)

Katalaz Tayini İçin Kullanılanlar:

- Potasyum dihidrojen fosfat, Merck (Almanya)
- Disodyum hidrojen fosfat dihidrat, Merck (Almanya)
- Hidrojen peroksit, Merck (Almanya)

Lipit Peroksidasyonu İçin Kullanılanlar:

- Trikloroasetik asit (TCA), Merck (Almanya)
- Tiyobarbitürik asit (TBA), Merck (Almanya)

IGF-1 Tayini İçin Kullanılanlar:

- IGF-1 ELİZA, KAPB2010 kit , Biosource (Belçika)

NO Tayini İçin Kullanılanlar:

- Nitrat / Nitrit Colorimetric Assay kit, 780001, Cayman (USA)

Amikasin Düzeyi İçin Kullanılanlar:

- Amikasin kit, Multigent (USA)

3.6. Kullanılan Çözeltiler:

SOD Tayini İçin Kullanılanlar:

• CAPS tamponu (pH: 10.2), 40 mM: 8.85 gr CAPS tartılıp 400 ml distile suda çözülüp pH'ı 10.2'ye ayarlandıktan sonra hacmi 1000 ml'ye tamamlandı. 0.94 mM EDTA (0.36 gr) tartılıp CAPS tamponuna katıldı.

• Ksantin çözeltisi (0.05 mM): 7.6 mg ksantin tartıldı ve hacmi 40 mM CAPS tamponu (0.94 mM EDTA içeren; pH: 10.2) ile 1000 ml'ye tamamlandı. Çözelti, 0.025 mM 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolyum klorür (INT) içermektedir ve +2 / +8 °C'da muhafaza edildiğinde 10 gün süreyle kararlıdır.

• Ksantin oksidaz çözeltisi (80 U/L): 56 µl ksantin oksidaz standardından alınır, 10 ml distile su ile seyreltilir. Çözelti, günlük hazırlanır.

GSH-Px Tayini İçin Kullanılanlar:

• Kümen hidroperoksit çözeltisi (0.18 mM): Kümen hidroperoksitten 1.62 µl alınır, 50 ml distile su ile seyreltilir. Çözelti, günlük hazırlanır.

• Glutasyon çözeltisi (4 mM): 0.0614 gr glutasyon tartılır ve hacmi 50 mM fosfat tamponu (pH: 7.2 olan ve 4.3 mM EDTA içeren) ile 50 ml'ye tamamlanır.

• Glutasyon redüktaz ($\geq 0,5$ U/L): 10 µl glutasyon redüktaz alınır, 10 ml distile su ile seyreltilir. Bundan 50 µl çekilip, 50 mM fosfat tamponu (4.3 mM EDTA içeren ve pH: 7.2 olan) ile 50 ml'ye seyreltilir. Çözelti, günlük hazırlanır.

- β -NADPH çözeltisi (0.34 mM): 0.0116 gr β -NADPH tartılıp hacmi 50 mM fosfat tamponu (pH: 7.2 olan ve 4.3 mM EDTA içeren) ile 50 ml'ye tamamlanır.

Lipit Peroksidasyonu Tayini İçin Kullanılanlar:

- TCA çözeltisi (% 10): 10 gr TCA tartılıp, bir miktar distile suda eritilir ve son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

- TBA çözeltisi (% 0.67): 0.67 gr TBA tartılıp, bir miktar distile suda eritilir ve son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

Katalaz Tayini İçin Kullanılanlar:

- 50 mM fosfat tamponu: 2.7218 gr KH_2PO_4 ve 5.3397 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 500 ml distile suya tamamlanır.

- 30 mM hidrojen peroksit için: 0.34 ml % 30'luk hidrojen peroksit, 100 ml fosfat tamponu ile dilüe edildi.

3.7. Böbrek Dokusunun Homojenizasyonu:

Böbrek doku örnekleri hassas terazide tartılıp, 1/10 oranında fosfat tamponu ile dilüe edildi. Daha sonra homojenizatörle 9600 devir/dk'da 1 dakika süreyle mekanik olarak homojenize edildi. Burada parçalanan numuneler 30 saniye süreyle sonifikasyon işlemine tabi tutuldular. Bu süre sonunda elde edilen % 10'luk homojenatlar, +4°C'de 10 dakika süreyle 5000 g'de santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi. Bu süpernatantlarda protein, doku amikasin ve MDA düzeyleri ile GSH-Px, SOD, CAT, NO ve IGF-1 aktiviteleri çalışıldı.

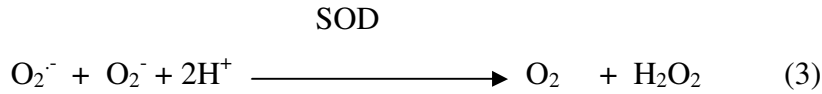
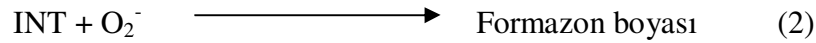
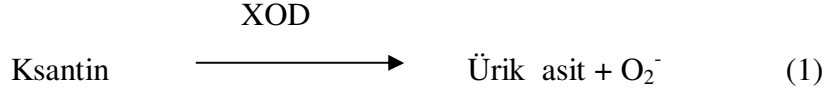
3.8 SOD Aktivitesinin Ölçümü:

Deneyin prensibi Sun ve arkadaşlarının metoduna dayanmaktadır (88).

Deneyin Prensibi:

SOD çeşitli yollarla ortaya çıkan süperoksit (O_2^-) radikalinin H_2O_2 'ye dismutasyonu reaksiyonunu katalizler. Ksantin-ksantin oksidaz (XOD) sistemi tarafından üretilen O_2^- radikallerinin (reaksiyon 1), 2-(4-iyodofenil)-3-4-(4-nitrofenol)-

5-fenil tetrazolyum klorit (INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazon boyasının (reaksiyon 2), 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin spektrofotometrik olarak okunması esasına dayanmaktadır. Bu reaksiyona dayanan optik dansitedeki azalmadan yararlanarak, reaksiyonun % inhibisyonu belirlendi.



Deneyin Yapılışı: 25 µl homojenattan alındı ve % inhibisyonun % 30-60 arasında olması için örnekler dilüe edilmedi. 0.025 ml homojenata, 0.850 ml 0.05 mM ksantin çözeltisi (0.025 mM INT içeren) ve 40 mM'larlık CAPS (0.94 mM'lık EDTA içeren) ilave edildi. 0.125 ml ksantin oksidaz (80 U/L) ilave edildikten hemen sonra 505 nm'de 37 °C'de 30 saniyelik gecikme fazının ardından, havaya karşı başlangıç absorbansı (A₁) ve 3 dakika sonra da son absorbans (A₂) okundu.

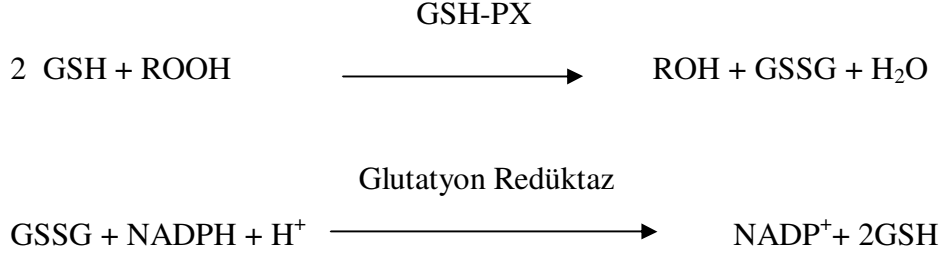
$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \frac{\Delta A(\text{numune})/\text{dk}}{\Delta A(\text{kör})/\text{dk}} \times 100$$

Standart (5.2 U/mL) çalışılarak hazırlanan % inhibisyon-konsantrasyon grafiğinden yararlanılarak konsantrasyonlar saptandı. Enzim aktivitesi U/ml olarak bulundu. Bu değerler homojenizasyon sırasındaki dilüsyon katsayısı ile çarpılıp dokunun protein değerine bölünerek U/gr birimi şeklinde sonuçlar verildi (88).

3.9. GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü:

Deneyin prensibi Paglia ve Valentine'nin metoduna dayanmaktadır (89).

Deneyin Prensibi: Glutasyon peroksidaz, kümen hidroperoksid ile glutasyonun oksidasyonunu katalizler. Okside glutasyon, NADPH varlığında glutasyon redüktaz tarafından indirgenir. Bu arada NADPH, NADP⁺ ye oksitlenir.

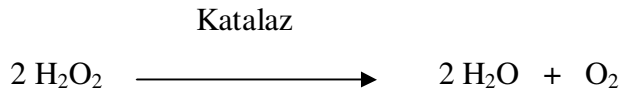


NADPH'nin azalmasına bağlı olarak 340 nm'de meydana gelen absorbans değişimi ölçülerek enzim aktivitesi hesaplandı.

Deneyin yapılışı: Bir deney tüpünde 1 ml; glutasyon (4 mM), glutasyon redüktaz (≥ 0.5 U/L) ve β -NADPH (0.34 mM) çözeltilerini içeren reaktif ile 20 μ l numune karıştırılıp, ölçümden hemen önce 40 μ l kümen hidroperoksid (0.18 mM) ilave edildi. Enzim aktivitesini ölçmek için 340 nm'deki absorbans değişimi hesaplandı. U/L cinsinden bulunan enzim aktivitesi, homojenizasyon esnasındaki dilüsyon katsayısı ile çarpıldıktan sonra doku protein değerine bölünerek sonuçlar U/gr birimi olarak ifade edildi.

3.10. Katalaz Aktivitesinin Ölçümü:

Aebi metoduna dayalı olarak yapıldı (90).



Deneyin Prensibi: Hidrojen peroksidin CAT tarafından parçalanması temeline dayalı UV spektrofotometrik yöntem ile CAT aktiviteleri tayin edilmiştir.

Hazırlanan homojenat, fosfat tamponuyla 10 kat dilüe (0.2 ml homojenat + 1.8 ml fosfat tamponu) edildi. 2 ml'lik bu dilüe homojenat üzerine taze hazırlanan ve 30 mM H₂O₂ içeren fosfat tampon çözeltisinden 1 ml eklendi. 240 nm'de ilk 30 saniye içinde 15'er saniyelik absorban azalması bulunarak, k değeri aşağıdaki şekilde hesaplandı:

$$k = 2.3 / \Delta t \times (\log A_1/A_2) \times (a / b)$$

A₁: 240 nm'deki başlangıç absorbanı (t₁=0)

A₂: 240 nm'deki 15. sn'deki absorbanı (t₂=15)

a: dilüsyon faktörü

b: homojenatın protein miktarı

3.11. Lipit Peroksidasyonunun Tayini:

Lipit peroksidasyon ürünlerinden olan MDA, Draper ve Hadley'in çift kaynatmalı tiyobarbitürik asit reaktivitesi metodu kullanarak ölçüldü (91).

Deneyin prensibi: Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek, 532 nm'de maksimum absorban veren renkli bir kompleks oluşturur.

Deneyin yapılışı: 0.5 ml serum, üzerine 2.5 ml % 10'luk TCA eklenerek karıştırıldı. 15 dakika kaynatılıp soğutuldu. 5000 devir/dk'da 10 dakika santrifüj edildi. 2 ml süpernatant alınıp, üzerine 1ml % 0.67'lik TBA eklendi. Tüpler karıştırıldıktan sonra 15 dakika kaynatıldı ve hemen soğutuldu. 532 nm'de absorbanları, numune yerine distile su konularak hazırlanan köre karşı okundu.

Sonuçlar, MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki ekstinsiyon katsayısından ($1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$) yararlanılarak nanomol/mg protein olarak hesaplanıp, µmol/gr protein olarak ifade edildi.

3.12. IGF-1 Düzeyinin Ölçümü:

50 µl homojenatın üzerine 400 µl IGF-1 solüsyonu konuldu, vortexlenerek 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Sonra 4°C'de 2 dakika santrifüj edildi. 100 µl süpernatantın üzerine 50 µl nötralizan solüsyon konularaktan 90 dakika oda

sıcaklığında orbital shakerda inkübe edildi. Yıkama sonrası 30 dakika oda sıcaklığında tekrar inkübe edilerekten üzerine stop solusyonu eklendi ve reaksiyon durduruldu. Son basamak olarak ultra mikropate reader cihazında okutuldu.

3.13. NO Aktivitesinin Ölçümü:

50 µl homojenattan alınarak, Nitrat standart ve assay buffer ile 200 µl'ye tamamlanıp miliplora konuldu ve 3 saat inkübasyon sonrası değerler ultra mikropate reader cihazında okutuldu.

3.14. Doku Amikasin Düzeyi Ölçümü:

Amikasinin böbrek kortikal akümülyasyonu Aoroset cihazı (Max Planck – Ring 2 66205, Almanya) kullanılarak ölçüldü.

3.15. Histopatolojik Değerlendirme

Işık mikroskopunda değerlendirme için böbrek dokusu %10 formaldehit içinde fikse edildikten sonra parafine gömüldü. Doku kesitleri 5µm inceliğinde alınarak hematoksilen-eosin ile boyandı. Kesitler tedavi rejimlerinden habersiz, kör, olarak bir patolog tarafından değerlendirildi. Işık mikroskopu olarak Olympus BH-2 marka mikroskop kullanıldı. Dokular vakuoler dejenerasyon, tübüler dilatasyon ve nekroz açısından değerlendirildi. Tüm histopatolojik parametreler Tablo 8' de görüldüğü gibi derecelendirildi.

Tablo 8: Histopatolojik değerlendirme

Histopatolojik bulgular	Derece
Değişiklik izlenmedi	-
Hafif dejeneratif değişiklikler, tek hücre nekrozu, az sayıda dilatasyon, silendir, inflamatuvar infiltrasyon ve ödem	+
Orta derecede değişiklikler	++
Ciddi derecede etkilenme	+++

3.16. İstatiksel Analiz:

İstatistiksel değerlendirmeler Statistical Package for Social Sciences 11.0 (SPSS 11.0) paket programı kullanılarak yapıldı. Grupların birbiriyle karşılaştırılması için nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart deviasyon (SD) olarak ve ortanca (minimum-maksimum) olarak verildi. P değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Yenidoğan ratların çalışma başlangıcında vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında tüm gruplar benzer olarak ölçüldü. Çalışma boyunca rat kaybı olmadı. Çalışma bitiminde, yapılan tartı kontrolünde ağırlık artışları arasında fark saptanmadı.

Tablo 9: Yenidoğan ratların doğum ağırlığı ve çalışma sonu vücut ağırlıkları tabloda gösterilmiştir. (mean±SD)

	Doğum ağırlığı	Çalışma sonu ağırlığı
Kontrol	4.65±0.70 gram	11.60±1.10 gram
Amikasin	5.45±0.55 gram	13.68±2.34 gram
Amikasin + E vit.	4.70±0.71 gram	11.35±1.78 gram
Amikasin + EPO	5.15±0.62 gram	12±0.57 gram

4.1. Biyokimyasal Sonuçlar

Böbrek dokusunda amikasin düzeyleri kontrol grubu hariç tüm gruplarda anlamlı olarak yüksek saptandı ($P<0.05$). Kontrol grubu hariç amikasin uygulanan tüm gruplarda amikasin düzeyi birbirlerine yakın olup, istatistiki fark göstermemekteydi.

Amikasin uygulanan grupta böbrek MDA düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo 10, Grafik 1, $P<0.05$). E vitamini ve eritropoietin uygulanan grupta amikasin grubu ile karşılaştırıldığında böbrek MDA düzeylerinde anlamlı düşüş saptandı ($P<0.05$).

Amikasin uygulanan grupta böbrek NO düzeylerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı idi ($P<0.05$). E vitamini ve eritropoietin uygulanan grupta amikasin grubu ile karşılaştırıldığında NO değerlerinde anlamlı düşüş saptandı ($P<0.05$).

Amikasin uygulanan grupta, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da SOD değeri kontrol grubuna göre yüksek saptandı. E vitamini uygulanan grubun, SOD değerleri anlamlı olarak düşük iken, EPO grubundaki SOD değerleri belirgin olarak yüksek saptandı.

Amikasin uygulanan grupta GPX değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. E vitamini uygulanan grupta amikasin grubu ile

karşılaştırıldığında böbrek GPX değerlerinde anlamlı artış saptandı ($P<0.05$). EPO verilmesiyle GPX’de anlamlı artış saptanmadı.

Katalaz aktivitesinin amikasin grubu ve E vitamini veya EPO tedavi grubunda elde edilen değerleri arasında anlamlı değişiklik saptanmadı (Tablo 10, $P>0.05$).

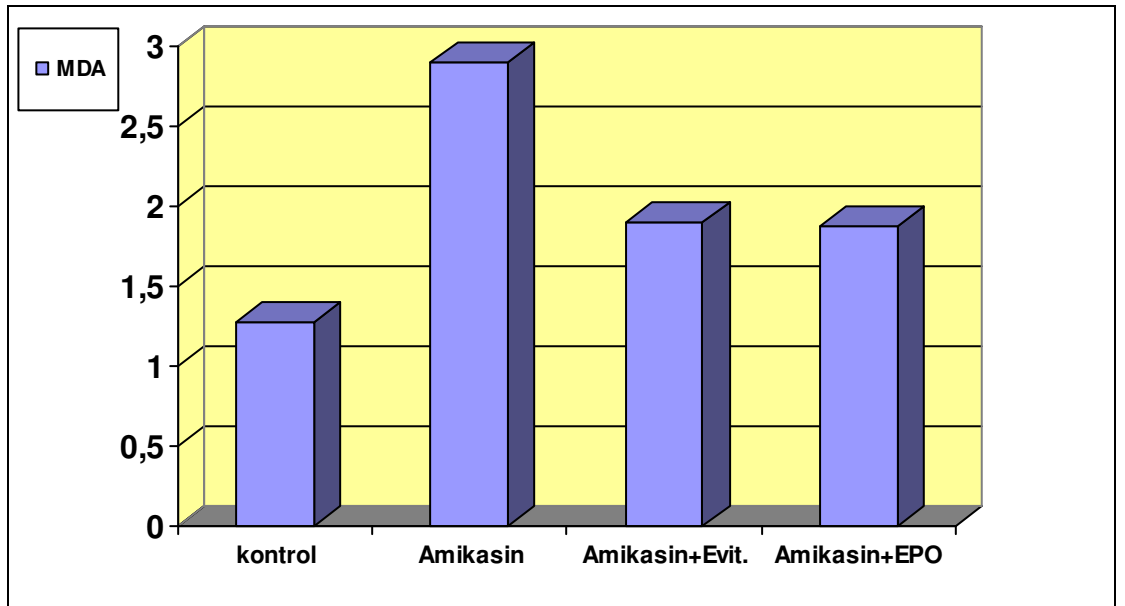
IGF-1 değerleri ise, amikasin, eritropoietin ve E vitamini uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($P<0.05$).

Tablo 10: Çalışma gruplarında saptanan biyokimyasal parametreler toplu olarak verilmiştir (mean \pm SD).

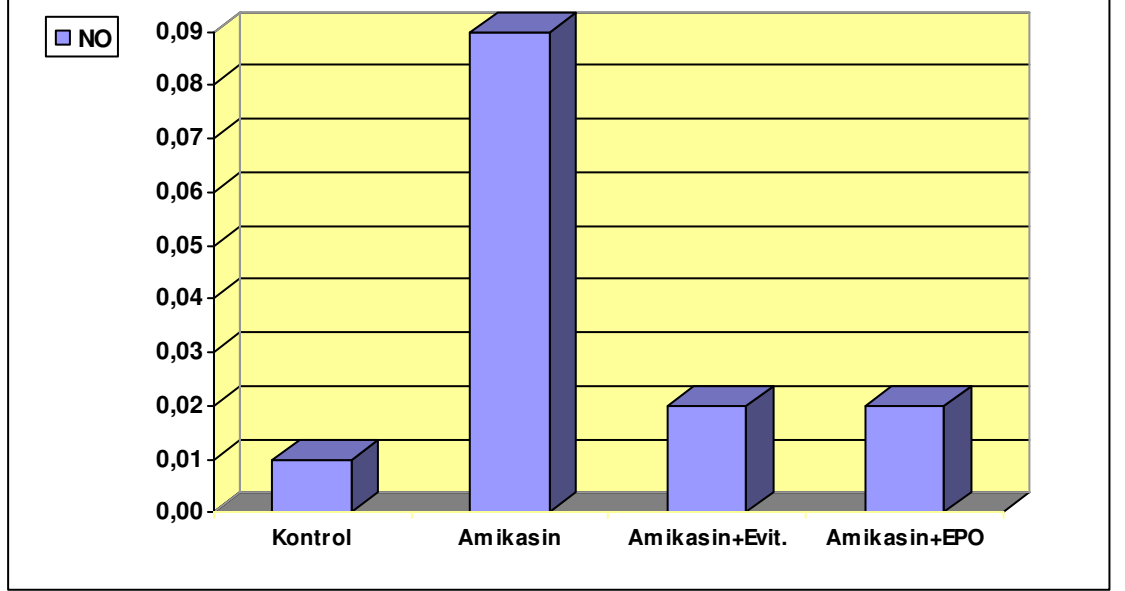
	Kontrol	Amikasin	Amikasin + E vitamini	Amikasin + Eritropoietin
MDA (nmol/mg protein)	1.28 \pm 0.13	2.90 \pm 0.76 ^a	1.90 \pm 0.70 ^c	1.87 \pm 0.49 ^d
NO (mikromolar/prot)	0.01 \pm 0.008	0.09 \pm 0.07 ^a	0.02 \pm 0.01 ^c	0.02 \pm 0.02 ^c
SOD (U/g protein)	6.51 \pm 1.08	7.31 \pm 1.28	6.03 \pm 0.74	7.69 \pm 1.76
GPX (U/gr protein)	5.96 \pm 1.29	3.71 \pm 1.22 ^b	4.80 \pm 0.27 ^c	3.89 \pm 0.69 ^b
CAT (k/g protein)	1.67 \pm 0.91	1.78 \pm 0.54	1.95 \pm 1.02	1.73 \pm 0.98
IGF-1 (ng/mlprot)	1.09 \pm 0.07	1.39 \pm 0.13 ^b	1.30 \pm 0.10 ^b	1.25 \pm 0.25 ^b
Amikasin	0.1 \pm 0.000	60.01 \pm 3.72 ^a	56.65 \pm 3.57 ^a	58.60 \pm 3.10 ^a

kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ^a: $P<0.001$, ^b: $P<0.05$
amikasin grubu ile karşılaştırıldığında ^c: $P<0.05$, ^d: $P<0.001$

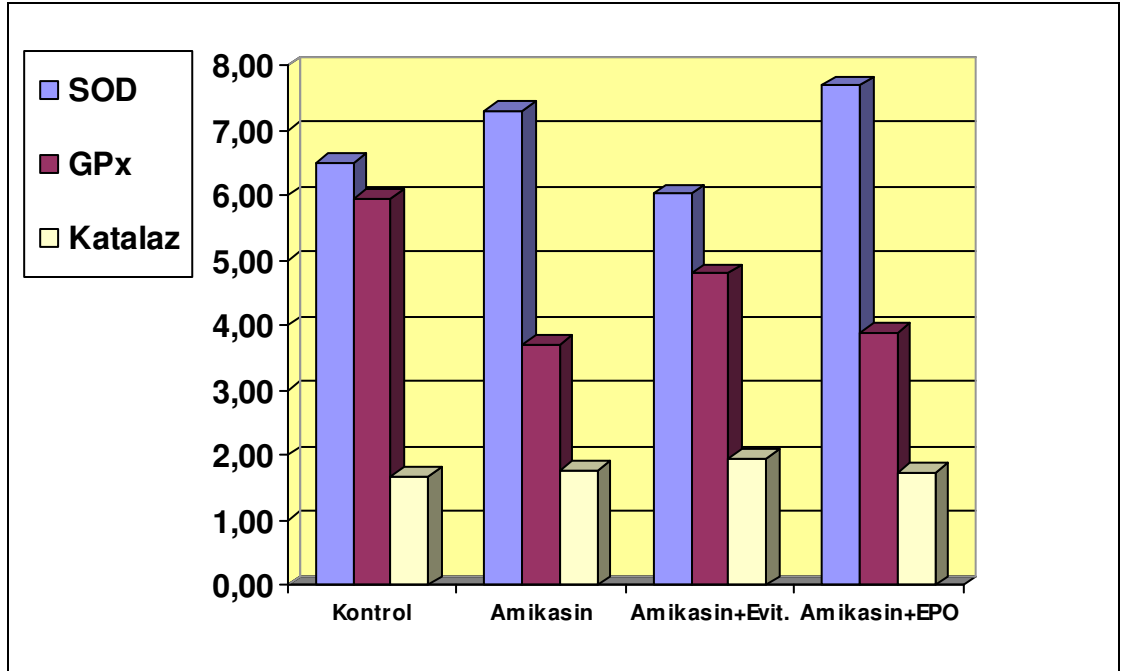
Grafik 1: Grupların MDA değerlerinin karşılaştırmalı grafiği



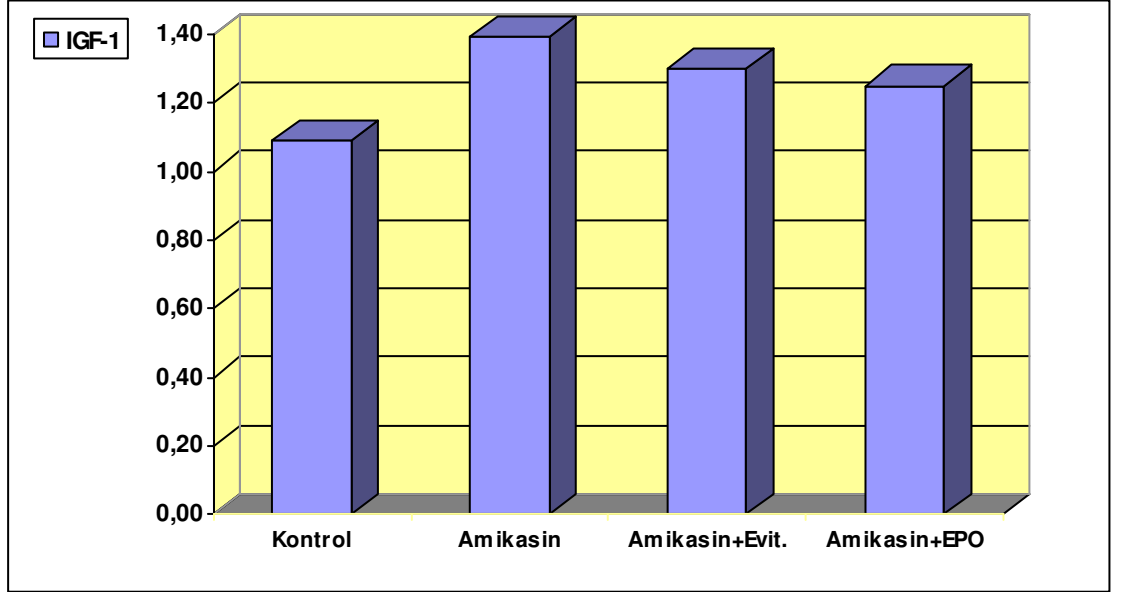
Grafik 2: Grupların NO değerlerinin karşılaştırmalı grafiği



Grafik 3: Grupların SOD, GPx ve Katalaz değerlerinin karşılaştırmalı grafiği



Grafik 4: Grupların IGF-1 değerlerinin karşılaştırılmağı grafiği

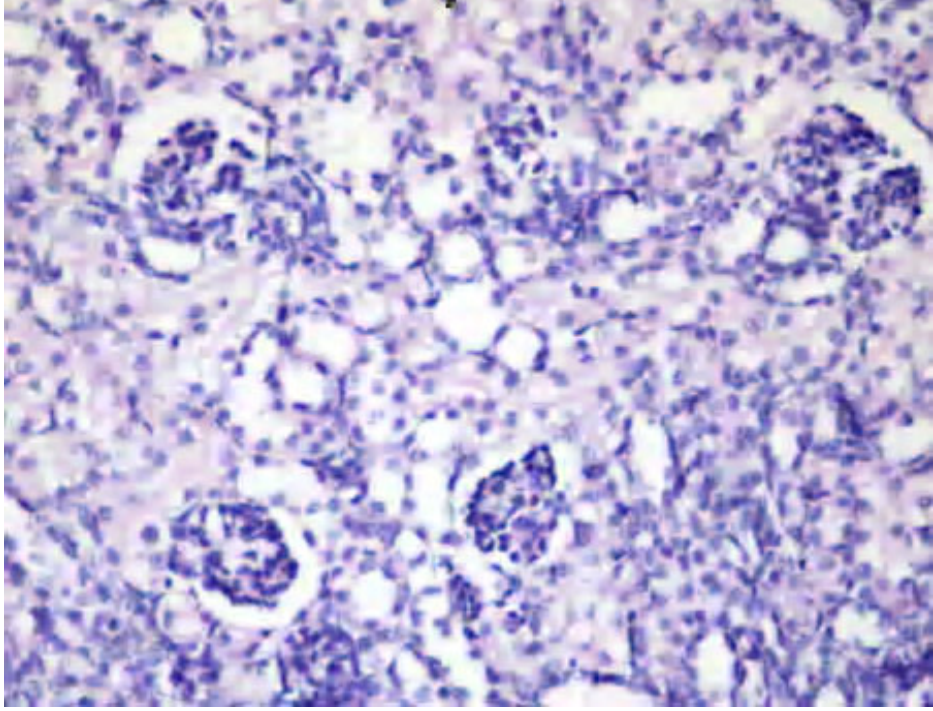


4.2. Histopatolojik Değerlendirme

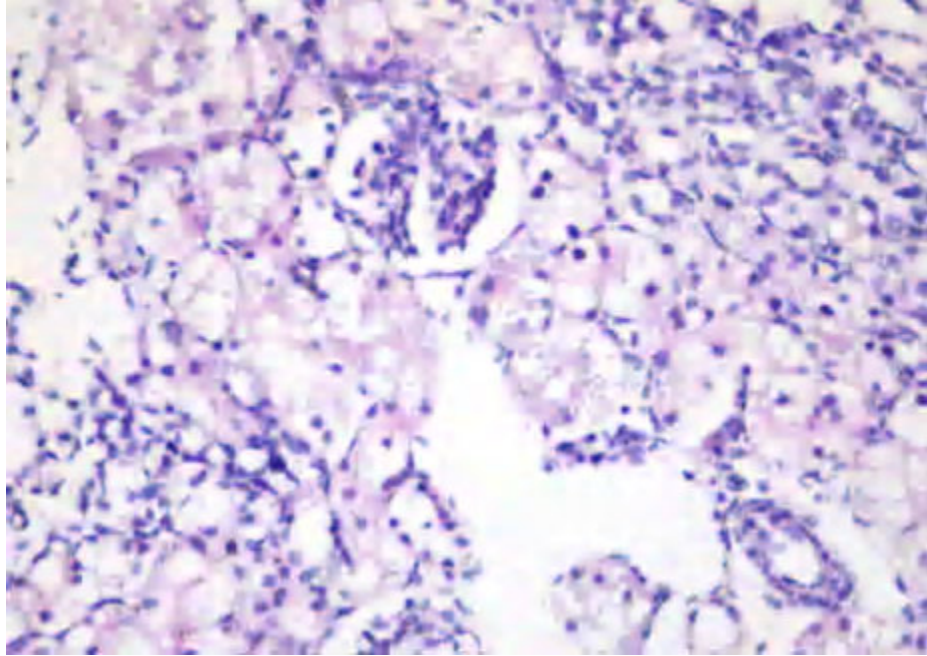
Kontrol grubunun böbreklerinin histolojik incelemesinde tübüler ve glomerler yapılar normal olarak değerlendirildi (Resim1). Amikasin uygulanan toksisite grubunda belirgin yapısal değişiklikler, tübüler epitelyal nekroz, tübüler dilatasyon, vakuoler dejenerasyon ve interstisyel ödem izlendi (Resim 2). E vitamini uygulaması ile histopatolojik değişikliklerin azaldığı gözlenirken (Resim 3), Eritropoietin uygulanan grupta düzelmenin daha belirgin olduğu izlendi (Resim 4). Histopatolojik değişiklikler Tablo 11'de özetlenmektedir.

Tablo 11: Çalışma gruplarının böbreklerinin histopatolojik değerlendirme sonuçları

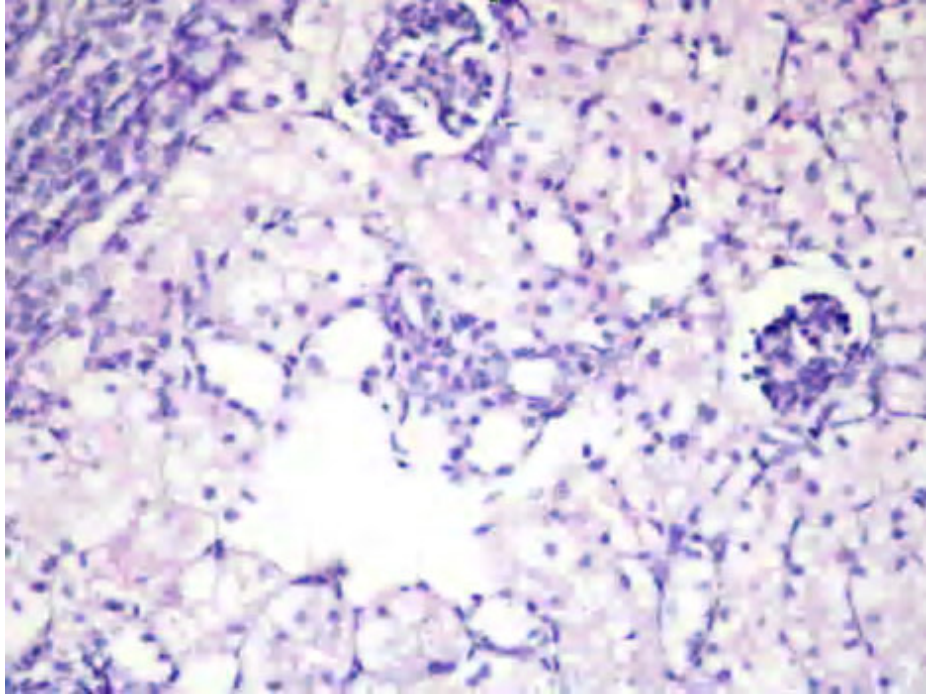
Histopatolojik parametreler	Kontrol	Amikasin	Amikasin + E vitamini	Amikasin + E PO
Tübüler nekroz	-	+	-	-
Tübüler dilatasyon	-	+++	++	+
Tübüler epitelyal desquamasyon	-	+	-	-
Tübüler vakuolizasyon	-	+++	++	+
Tübüler atrofi	-	-	-	-
Tübüler silendir	-	+	-	-
İnterstisyel inflamasyon	-	-	-	-
İnterstisyel ödem	-	+++	++	+



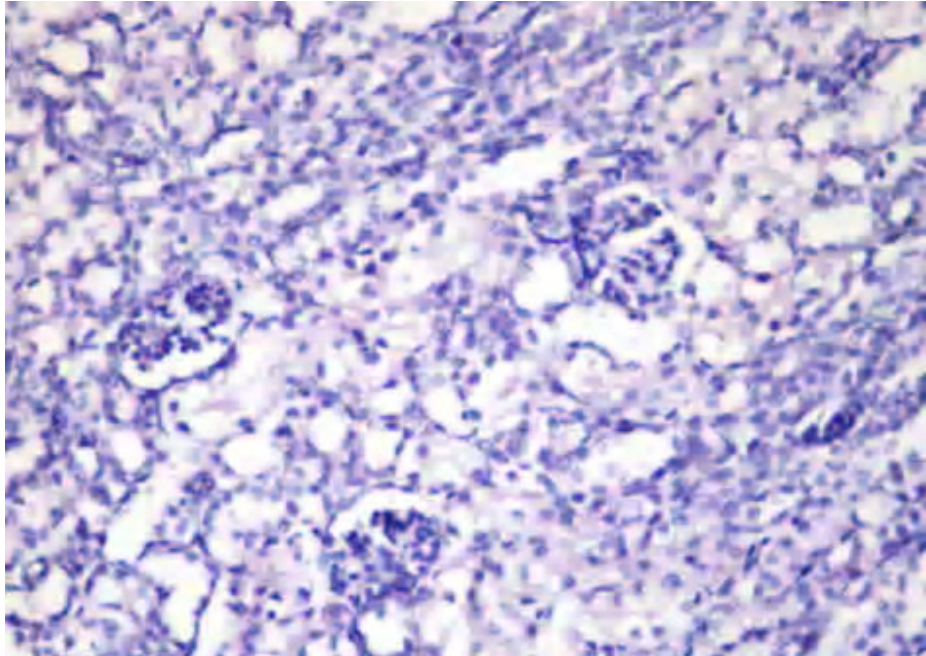
Resim1 (Kontrol): Böbrek normal görünümde (HE, 40X).



Resim 2 (Amikasin): Tubüler nekroz ve belirgin tübüler dilatasyon görülmekte (HE, 400X).



Resim 3 (Amikasin + E vitamini): Tubüllerde dilatasyon, proksimal tubüllerde vakuolizasyon ve normal yapıda glomerüller görülmekte. İnterstisyel alanda inflamasyon ise yok (HE, 400X).



Resim 4 (Amikasin + EPO): Tubüllerde hafif dilatasyon, normal yapıda glomerüller görülmekte (HE, 400X).

5. TARTIŞMA

Aminoglikozitler, gram (-) enfeksiyonların önlenmesinde etkili olan antibiyotikler olarak uzun zamandır bilinmektedir. Yüksek bakteriyal etkinlik, hızlı etki, düşük rezistans, beta laktam antibiyotiklerle sinerjistik etki ve düşük maliyet gibi etkilerine rağmen aminoglikozitlerin nefrotoksik etkileri ve yüksek renal hasar insidansı nedeniyle klinik kullanımları sınırlanmaktadır. Aminoglikozit antibiyotiklerin nefrotoksik yan etkileri bir çok deneysel hayvan çalışmasında dökümanite edilmiştir. Biz bu deneysel çalışmada, yenidoğan ratlarda amikasinine bağlı gelişen nefrotoksisitede tübüler hasar gelişiminde oksidatif hasarın rolünü ve antioksidan etkileri bilinen E vitamini ve EPO'nun amikasin ile birlikte kullanımının histolojik ve biyokimyasal düzeylerdeki etkilerini saptamayı planladık. Bu amaçla, oksidatif hasardaki biyokimyasal belirteçler (MDA, NO) ve antioksidan enzimler (SOD, GPX, CAT) ile gelişen ve büyüyen yenidoğan böbreğinde etkili olan bir büyüme faktörü IGF-1 düzeyi çalıştık. Histopatolojik değişiklikleri göstermek için ışık mikroskopunda böbrek morfolojisini değerlendirdik.

Literatürde aminoglikozitlerin nefrotoksisitelerine ait bir çok çalışma mevcuttur. El Mouedden ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada dişi Wistar cinsi ratlara 40 mg/kg amikasin 10 gün uygulanması sonrası tübüler apoptozis ve kortikal proliferatif yanıt gözlenmiş. Yine aynı çalışmada gentamisinin 10 mg/kg dozu ile karşılaştırıldığında amikasinin daha güvenli olduğu ve gentamisinde nekroz gözlenirken amikasinde nekrozun izlenmediği bildirilmiş (101).

Yenidoğanların özellikle de pretermelerin düşük glomerüler filtrasyon oranına sahip olduğu bilinmektedir. Nefrotoksik ilaçlar pediatrik hastaların tedavisinde toksik etkilerine rağmen kullanılmaktadır. Klein ve arkadaşları nefrotoksik ilaç olan gentamisin ve amikasinini yenidoğan, 6-8 günlük ve adult ratlara 7 gün boyunca farklı dozlarda (5-20-40 mg/kg/gün) uygulanması ile doza bağlı hasar oluşturmuş ve gentamisinin amikasinden daha nefrotoksik olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada yenidoğan ratların nefrotoksisiteye daha rezistan olduğunu bildirmişlerdir (106).

Provoost ve arkadaşları da yaptığı çalışmada amikasin ve gentamisinini genç ve erişkin ratlara uygulamışlar, bu çalışmada da genç ratların proksimal tübüllerinde erişkin ratlara göre daha az hasar ve histopatolojik değişiklik saptanmış. Her iki grupta da aminoglikozidin renal uptake'ı benzer bulunmuş, ancak genç ratlarda böbrekteki aminoglikozid konsantrasyonu erişkin ratlardan anlamlı olarak az bulunmuş. Bu farkın genç ratlarda vücut ağırlığına oranla yaş böbrek ağırlığının relatif olarak fazla olmasına bağlandığı bildirilmiş (107).

Çalışmalarda; bazılarında tek doz uygulama, bazılarında ise uzun süreli tedavi (14 gün- 28 gün) ile nefrotoksisite araştırılmıştır. Farklı doz uygulamalarıyla histopatolojik olarak nefrotoksisite geliştiğini bildiren çalışmalar vardır (108,109,110,116,117). Tübül nefrotoksin olan aminoglikozidlerin glomerüler endotelyum hasarını, endotelyal fenestrelere çapını ve yoğunluğunu azaltarak yaptıkları bilinmektedir. Luft ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptığı netilmisin, tobramisin ve amikasin karşılaştırmalı çalışmada insan dozunun 10 ve 25 katı dozlarda uygulanması ile glomerüler hasar tespit edilmiştir (104).

Farklı yayınlarda aminoglikozitlerin tek doz ve bölünmüş dozlarda kullanımıyla oluşan toksisite de değerlendirilmiştir. Blaser ve arkadaşlarının insanlar üzerinde yaptığı klinik çalışmada aminoglikozitlerin günde tek doz uygulanmasıyla bölünmüş dozlarda uygulanması arasında klinik ve bakteriyolojik etkinliği üzerinde istatistiksel fark saptamamışlardır (112). Langhendries ve arkadaşlarının insanlar üzerinde yaptığı çalışmada günde tek doz amikasin uygulamasını, günde 2 doz uygulama rejimi ile karşılaştırılmış. Tüm hastalarda normal ve benzer GFR artışları izlenmiş (105). Mendoza ve arkadaşları da amikasinin tek doz uygulanması üzerine yaptıkları çalışmada amikasin düzeyleri, etkinlik ve renal toksisite açısından bölünmüş dozlarda kullanım arasında anlamlı fark saptamamışlar ve günde tek doz uygulamanın nazokomial enfeksiyon riskini azaltacağını vurgulamaktadırlar (113). Bu nedenle günde tek doz uygulama daha ekonomik, daha az hizmet süresi, daha az infüzyon materyaline ihtiyaç göstermesi ve daha az stres oluşturması nedeniyle uygun gibi görünmektedir.

Bu çalışmamızda patogenez ve önleyici tedavilerinin başarısını değerlendirmeyi amaçladığımız için, öncelikle toksisitenin oluşturulmuş olması gerekmektedir. Yenidoğan ratlarda toksik doz ile ilgili net bir veri olmadığı için

çalışmaya başlamadan önce yenidoğan ratlarda amikasinin nefrotoksik dozunu belirleyebilmek için bir ön çalışma yaptık. Yenidoğan ratlara 3. günden itibaren 3 gün boyunca 450-600-750 ve 1200 mg/kg'lık dozlarda amikasin uyguladık. 450-600-750 mg/kg uygulanan grupta histopatolojik olarak tubüler hasar oluşmazken 1.2 gr/kg dozda uygulanan grupta nefrotoksisite oluşturduk. Biz de genç böbreklerin nefrotoksisiteye daha rezistan olduklarını göz önünde tutarak 1.2 gr/kg/gün günde tek doz olacak şekilde 3 gün amikasin uyguladık.

Toksik, iskemik ve immün aracılı böbrek doku hasarlarında sorumlu mekanizma olarak giderek artan oranlarda serbest oksijen radikalleri suçlanmaktadır. Amikasin toksisitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda oksidatif strese bağlı böbrek doku hasarının, sorumlu patogenetik mekanizmalardan biri olduğu belirtilmektedir (4-10). Serbest oksijen radikalleri hücrelerde lipid peroksidasyonunu indükler ve oksidatif dejenerasyon sırasında lipid peroksidasyonunun bir indikatörü olarak tanımlanan MDA oluşur. Birçok ilaç ve benzeri maddeler aminoglikozitlerin renal hasarını önlemek amacıyla kullanılmıştır (6,8,9,10,114,118).

Serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki hassas dengenin, prooksidan ve oksidan maddelerin lehine kayması oksidan stresin gelişmesine yol açar. Oksidatif stres, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanmaktadır. Reaktif oksijen radikallerinin ilaca bağlı nefrotoksisitenin patofizyolojisinde rol oynadığı bilinmektedir ve bu oluşan toksisite oksidatif stresle açıklanmaktadır. Lipid peroksidasyonu ise membran yapı ve fonksiyonunun bozulmasına bağlı ortaya çıkmaktadır. Çalışmalar oksidatif stres hasarında lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA ve NO'in artışı vurgulamaktadırlar. Parlakpınar ve arkadaşları yaptığı deneysel çalışmalarda amikasin ile indüklenen böbrek hasarına karşı melatonin (114) ve CAPE'nin (119) koruyucu etkilerini değerlendirmişler melatonin ve CAPE'nin antioksidan enzim düzeylerini artırdığı ve lipid peroksidasyonunu azalttığını MDA değerleriyle göstermişlerdir. Yine Parlakpınar ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada aminoguanidinin fareler üzerinde amikasin ile oluşturulan nefrotoksisiteye karşı koruyucu etkisi değerlendirilmiş ve aminoguanidinin amikasinin nefrotoksik etkisini azalttığı gösterilmiştir. Amikasin ile

hasar hem kortikal hem de tübüler düzeyde saptanmış, aminoguanidin verilen grupta ise hasarın anlamlı olarak azaldığı görülmüştür (118). Çetin ve arkadaşlarının çalışmasında vankomisine bağlı oluşan nefrotoksisite MDA artışı ile gösterilmiştir (96). Vardı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gentamisinin neden olduğu nefrotoksisitede Caffeik asit phenil esterlerinin (CAPE) tübüler nekrozu önlediği gösterilmiş ve gentamisin grubunda MDA seviyesinde belirgin artış gözlenmiştir (121). Karahan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gentamisinle oluşturulan nefrotoksisitede lycopenin koruyucu etkisini göstermişler. Gentamisin grubunda MDA'da belirgin artış gözlenmiştir (125). Nakas-Icindic ve arkadaşlarının ratlarda yaptığı bir çalışmada gentamisin ile akut tübüler nekroz oluşturulan grupta kontrol grubuna göre plazma nitrik oksit seviyelerine ve böbrek hasarının istatistiksel olarak yüksek olduğu ancak plazma nitrik oksit seviyesi ile böbrek hasarının derecesi arasında korelasyon olmadığı bildirilmiş (127). Çelik ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vankomisin ile oluşturulan nefrotoksisitede amrinonun koruyucu etkisi değerlendirilmiş. Vankomisin ile MDA değerlerinin arttığı gözlenmiştir (128). Yağmurca ve arkadaşları yapmış olduğu bir çalışmada CAPE'nin doksorubisin ile oluşturulan nefrotoksisitede lipit peroksidasyonunu değerlendirmişler ve doksorubisin uygulanan grupta renal dokuda NO ve MDA düzeyleri yüksek bulunmuş (129). Shimede ve arkadaşlarının çalışmasında ratlarda sisplatin ile oluşturulan nefrotoksisitede capsaisinin nefrotoksisiteyi ve lipit peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiş (133). Abdel-Naim ve arkadaşlarının çalışmasında ratlarda gentamisinle indüklenen nefrotoksisitede gentamisin MDA'yı belirgin arttırdığı saptanmıştır (138).

Yaptığımız bu çalışmada da lipit peroksidasyonu, hücre membran komponentlerinin serbest radikal hasarı sonucu ortaya çıkan MDA ve NO ölçümü ile monitorize edildi. Amikasin uygulanan ratların böbrek dokularında MDA konsantrasyonlarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yükseldiği saptandı. Yine amikasin uygulanan grupta kontrol grubuna göre böbrek NO değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlıydı. E vitamini ve eritropoietin uygulamaları ile böbrek dokusunda MDA ve NO düzeylerindeki artışın amikasin grubuna göre anlamlı derecede ($p < 0.05$) azaldığı gösterildi. Bu azalma muhtemelen serbest oksijen radikalleri için eliminasyon kapasitesini arttırıcı etkisine bağlı olabilir. Çalışmamızda gösterildiği üzere, amikasin alımı ile böbrek MDA ve NO düzeyinin artması ve iki önemli antioksidan madde alımı ile böbrek MDA'sında ve NO'de azalma

olması, amikasin nefrotoksisitesinden sorumlu mekanizmalardan birinin oksidatif strese bağlı doku hasarı olduğunu güçlü bir şekilde desteklemektedir. Literatür eşliğinde ele alındığında MDA ve NO düzeylerindeki bu değişiklikler yenidoğan ratlarda amikasin ile oluşturulan nefrotoksisite patogenezinde serbest radikal hasarının önemli bir mekanizma olarak rol oynadığını vurgulamaktadır.

Yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar olmakla birlikte genelde oksidatif hasarda antioksidan enzim (GPX, CAT, SOD) düzeylerinin azalma gösterdiği gözlenmiştir. Vardi ve arkadaşları ve Parlakpınar ve arkadaşları gentamisin ile oluşan nefrotoksisitede CAPE uygulanması ile renal hasarın azaldığını göstermişlerdir (121,6). Karahan ve arkadaşları yaptığı çalışmada gentamisinle oluşturulan nefrotoksisitede gentamisin grubunda GPX ve CAT aktivitesinde azalma göstermişlerdir (125). Ali ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise curcuminin gentamisinin oluşturduğu nefrotoksisiteyi azalttığı bildirilmiş. Gentamisin uygulanması ile SOD konsantrasyonu azalmış (126). Çelik ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vankomisin ile oluşturulan nefrotoksisitede amrinonun koruyucu etkisi değerlendirilmiş. Vankomisin grubunda SOD ve GPX aktivitesi düşük bulunmuş. (128). Öktem ve arkadaşları yapmış olduğu bir çalışmada CAPE'nin lityum ile oluşturulan nefrotoksisitede lipit peroksidasyonunu değerlendirmişler ve vankomisin uygulanan grupta renal dokuda MDA yüksek; SOD, katalaz ve GPX düzeyleri düşük bulunmuş (123).

Bizim çalışmamızda, amikasin verilen grupta, sadece GPX düzeylerindeki azalma anlamlıydı. E vitamini grubundaki GPX artışın anlamlı olduğu görüldü. SOD ve katalaz düzeylerindeki değişikliklerin kontrol grubuna göre anlamlılık kazanmadığı görüldü.

Yapılan 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 (44). Bu nedenle değişik çalışmacılar farklı antioksidanlar uygulayarak bu hasarlanmayı azaltmayı yada önlemeyi hedefleyen çalışmalar planlamışlardır. Vardi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gentamisinin neden olduğu nefrotoksisitede Caffaik asit phenil esterlerinin (CAPE) tubüler nekrozu önlediği gösterilmiştir (121). Parlakpınar ve arkadaşları yaptığı deneysel çalışmalarda

amikasin ile indüklenen böbrek hasarına karşı melatoninin (114) ve CAPE'nin (119) koruyucu etkilerini değerlendirmişler melatonin ve CAPE'nin antioksidan enzim düzeylerini artırıp, lipid peroksidasyonunu azaltarak nefrotoksisite gelişimini engellediğini göstermişlerdir. Yine Öktem ve arkadaşlarının vankomisin ile yaptıkları nefrotoksisite çalışmasında hem E vitamini ile hemde N asetil sistein vererek nefrotoksisite gelişiminin engellendiği bildirilmektedir (102).

Bizim çalışma modelimizde antioksidan olarak E vitamini ve EPO'yu seçmemizin asıl nedeni, bu iki biyolojik ürünün aynı zamanda yenidoğan yoğun bakım ünitelerindeki bebeklerde farklı amaçlarla halen tedavi şemalarında yer alıyor olmasıdır. Bu deneysel çalışmamızda E vitamini uygulanması biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde MDA ve NO'yu amikasin grubuna göre azaltarak değiştirmekte ve antioksidan enzimlerden GPX'i artırarak oksidatif hasarı engellemektedir.

E vitamini uyguladığımız grupta histopatolojik değişiklikler değerlendirildiğinde nefrotoksisite engelleyici etkisinin mevcut olduğu, E vitamini uygulanmasıyla histopatolojik olarak tübüler dilatasyon, vakuolizasyon ve interstisyel ödem saptanırken, amikasin grubuna göre tübüler hasarın azaldığı gözlemlendi ancak EPO grubuna göre histopatolojik düzelmelerin daha az olduğu saptandı.

E vitamini ile elde edilen bu sonuç literatürde Öktem ve arkadaşlarının elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir (102). Kadkhodae ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 100 mg/kg vitamin E, 200 mg/kg vitamin C'nin birlikte kullanımının gentamisininden neden olduğu nefrotoksisitede koruyucu olduğu bildirilmiştir (135). Kadkhodae ve arkadaşlarının yaptıkları benzer bir çalışmada da ratlarda gentamisine oluşturulan nefrotoksisitede 100 mg/kg vitamin E ve 200 mg/kg vitamin C uygulanması sonrası böbrek SOD aktivitesi spektrofotometrik olarak ölçülmüş. Gentamisin uygulanan grupta SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düştüğü; vitamin E ile vitamin E ve C'nin kombine uygulanımının SOD aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (137). Abdel-Naim ve arkadaşlarının çalışmasında ratlarda gentamisine indüklenen nefrotoksisite sonrası 3 gün uygulanan vitamin E (250 mg/kg) ve/veya probukolün (60 mg/kg) nefrotoksisiteyi azalttığı bildirilmiştir, E vitamininin MDA'nın artışı hafiflettiği ve SOD aktivitesindeki düşüşü azalttığı saptanmıştır (138).

Vitamin E uygulamasının oksidatif hasar ilişkili böbrek hasarında faydalı etkiler gösterdiği aminoglikozit dışı toksik ve ilaç çalışmalarında da gösterilmiştir. Bu çalışmalardan birinde, yüksek doz (1000mg/kg) vitamin E ve selenyum uygulamasının sisplatin ile indüklenen böbrek dokusundaki oksidatif hasarı engellediği, klinikte bu ilaca bağlı nefropati gelişimine karşı koruyucu olabileceği belirtilmektedir (139). Ajith ve arkadaşlarının çalışmasında sisplatin ile oluşturulan nefrotoksisitede 250 ve 500 mg/kg dozlarda E vitamini ve C vitamini uygulanması sonrası 500 mg/kg dozunda uygulandığında her iki vitaminin nefrotoksisiteyi anlamlı azalttığı bildirilmiş ve vitamin C'nin vitamin E'den daha nefroprotektif olduğu bulunmuş (140). Ocak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ratlarda vankomisinle meydana getirilen nefrotoksisitede vitamin E, vitamin C, asist ve CAPE uygulanmasının nefrotoksisiteyi azalttığı, en etkili sonucun 1000 mg/kg dozda uygulanan E vitamini ile elde edildiği bildirilmiştir. Vankomisinle katalaz aktivitesi anlamlı olarak düşerken, artmış renal MDA ve NO'in bu ajanlarla azaldığı bildirilmiş (143). Kalaiselvi ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptığı bir çalışmada NAC ve vitamin E (50 mg/kg İP) uygulanmasının adriamisine bağlı toksisiteyi azalttığı, adriamisin uygulaması sonrası SOD, katalaz, GPX azalırken MDA'nın arttığı, NAC ve vitamin E uygulanmasıyla lipid peroksidasyonunun belirgin azaldığı ve nekrozu önlediği bildirilmiş (144). Görgün ve arkadaşlarının çalışmasında domuzlara adriyamisin uygulanması ile oluşturulan nefrotoksisitede E vitamininin koruyucu olduğu ve adriyamisinin oluşturduğu degeneratif değişiklikleri azalttığı bildirilmiştir (147). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da amikasin uygulanmasıyla GPX değerlerinde azalma meydana gelmiş ve özellikle E vitamini uygulanması ile GPX düşüşünün istatistiki olarak engellendiği gözlenmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız bir diğer antioksidan madde olan Eritropoietin böbrek yetmezliğine bağlı anemi tedavisinde 1986 yılından beri tüm dünyada kullanılmaktadır, ve son 10 yılda böbrek yetmezliği tedavisinde sağlanan en önemli gelişmedir. Eritropoietin tedavisi böbrek yetmezliği olan hastalarda yaşam kalitesini, egzersiz kapasitesi ve toleransını artırmıştır ve anemi tedavisi dışında da iştah artışı, kognitif fonksiyonlar ve seksüel fonksiyonlarda, uzamış kanama zamanını kısaltma ve sol ventrikül hipertrofisinde gerileme gibi olumlu etkileri de vardır. Eritropoietin tedavisi ile hastaların kan transfüzyonu ihtiyacı azalmıştır; bunun sonucu kan

transfüzyonuna ait komplikasyonlar ve renal transplantasyon öncesi hastanın immun sisteminin uyarılması önlenmiştir (148).

EPO aynı zamanda doku oksijenasyonunu onaran endotelial hücre mitogenezi ve angiogenezi stimüle eder. Hematopoietik faktör eritropoietin (EPO), beyin ve diğer dokularda fizyolojik bir rol oynadığı bilinmektedir. EPO reseptörleri böbrekte glomerül, mezengial ve tubüler epiteliyal hücrelerde bulunmaktadır. EPO'nun hayvan modellerinde sistemik şok ve sisplatin ile oluşturulan nefrotoksisitede faydalı olduğu gösterilmiştir. İnvitro çalışmalarda EPO'nun proksimal tubüler hücrelerde proliferasyon ve hücre ölümünde direkt etkisi olduğu gösterilmiştir (103).

Bu deneysel çalışmamızda EPO uygulanması ile biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde, MDA ve NO'yu amikasin grubuna göre anlamlı ölçüde azaltarak değiştirmekte ancak antioksidan enzimler üzerinde amikasin grubuna göre anlamlı değişiklik göstermemektedir. Histopatolojik değerlendirmede ise EPO uygulanmasıyla renal hasarın E vitamini grubuna göre daha belirgin düzeldiği gözlemlendi.

EPO renal kortekste kapiller ve tubüler hücrelerle direkt kontakt halinde olan fibroblast benzeri hücrelerden salınır. EPO renotropik sitokin gibi görev yapar. Normal böbrek EPO'ya cevapsızken ABY'de olduğu gibi EPO'nun sitokin etkisi başlar (120). Literatürde EPO'nun nefrotoksisitedeki koruyucu etkisine dair çok az çalışma vardır. Yalçın ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada rekombinant insan eritropoietinin sisplatinle oluşturulan nefrotoksisitede histopatolojik olarak yapılan değerlendirmede koruyucu olduğu bildirilmiş (122). Vankomisine bağlı nefrotoksisite gelişen ratlarda oksidatif hasarlanmanın anlamlı olduğu ve EPO'nun antioksidan olarak hasarın düzelmesinde önemli rol oynadığı Çetin ve arkadaşları tarafından vurgulanmıştır (96). Vaziri ve arkadaşları sisplatin nefrotoksisitesinde EPO'yu 100 Ü/kg dan 6 gün boyunca uygulamışlar. EPO'nun kreatin klirensini anlamlı artırdığını ve tubüler proliferasyonu arttırdığını göstermişlerdir (115). Bagnis ve arkadaşlarının çalışmasında sisplatin nefrotoksisitesi ile oluşturulan ABY'de EPO'nun 100 U/kg/gün IP 9 gün uygulanmasının bulguları histolojik ve fonksiyonel olarak düzelttiği gösterilmiştir (130). Lee ve arkadaşları siklosporin A toksisitesinde haftada 3 gün 100 ü/kg EPO uygulanmasıyla böbrekteki inflamasyonu ve apoptozisi azalttığını bildirmişlerdir. Noiri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise doksorubisin ile oluşturulan kardiyorenal hasarda

darbopoietinin etkinliğini değerlendirmişler ve hasarı azalttığını bildirmişler (134). Saenko ve arkadaşlarının çalışmasında ratlarda doksorubisin ile oluşturulan oksidatif strese eritropoietinin böbreklerdeki hasarı azalttığı, glutasyon miktarını normale getirdiğı gösterilmiş (124). Goldforb ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ratlarda radyokontrastla oluşturulan nefropatide EPO'nun tedavi öncesi 24 saat ve 2 saat önce sırasıyla 3000 ve 600 ü/kg verilmesiyle renal disfonksiyonu önlediğı bildirilmiş (111).

Bu çalışmada dokular için büyüme faktörü olan IGF-1 değerlendirildiğinde, amikasin toksisite grubunda yüksek olmasının yanısıra, antioksidan tedavi gruplarında biyokimyasal ve histopatolojik açıdan göreceli olarak düzelme saptanmış olmasına rağmen, IGF-1 yüksekliğı devam etmiştir.

IGF-1 büyüme faktörü olarak rol alan bir hormondur. Bu etkileri invitro ve invivo olarak gösterilmiştir. IGF-1 reseptörleri aynı zamanda karaciğer, böbrek, yağ dokusu, kas, nöron, kartilaj gibi birçok dokuda mevcuttur ve metabolizmanın regülasyonu, büyüme ve diferansiyasyonda rol oynamaktadır. IGF-1 de intrasellüler Ca^{+2} 'u artırmaktadır (131).

Zha ve arkadaşları IGF-1'in böbrekte inflamatuvar hücrelerin renal infiltrasyonu azaltarak, fibrojenik faktörlerin sentezini süprese ederek ve ekstrasellüler matriks proteinlerin akümüasyonunu baskılayarak renal hasarı azaltabileceğini bildirmişlerdir (136). Baer ve arkadaşları (132) IGF-1'in invivo olarak renal hasarlanmayı azaltmada etkili olmadığını vurgulamasına karşın, Bridgewater ve arkadaşları (145) ise IGF-1 uygulamasının glomerül bazal membranındaki podositlerde apoptozu inhibe ettiğini göstermiştir. Maestri ve arkadaşları ratlarda immünsüpresif ilaçlarla (siklosporin) oluşturulan nefrotoksisite tedavisinde IGF-1'i araştırmışlar. IGF-1 ile tedavi edilen grupta kontrol grubuna göre daha iyi BUN ve kreatinin değerleri saptanmış ve IGF-1'in nefrotoksisitede kullanılabilirliğini vurgulamışlardır (146). Harris ve arkadaşlarının çalışmasında böbreğin iskemi-reperfüzyon ve toksinlerle hasarına cevapları hiperplazi ve tübüler epiteliyal hücrelerin onarımıyla olduğı vurgulanmaktadır ve böbrek nefrogenezis ve renal gelişim sırasında ve akut hasarlanma sonrası renal rejenerasyonda lokal olarak büyüme faktörlerini ürettikleri vurgulanmaktadır. Büyüme faktörleri programlanmış hücre ölümünü akut hasarlanmada azaltmaktadır. Onarımda da protein ve lipid biosentezini başlatarak hücresel onarımı devam ettirmektedir. Hücresel

onarımına ek olarak, büyüme faktörleri hücre ve ekstrasellüler matriksin yeniden oluşumunu ve hücre-hücre bağlantısını sağlamaktadır. Akut hasarda salınan faktörler heparin binding epidermal büyüme faktörü, hepatosit büyüme faktörü, IGF-1, transforming büyüme faktörü β , asidik fibroblast büyüme faktörüdür (141). Eksojen IGF-1'in deneysel akut böbrek yetmezliğinde düzelme sağladığı bazı yayınlarda bildirilmiştir. Fuchs ve arkadaşlarının çalışmasında radyokontrast nefropatisinde IGF-1 uygulanmasının herhangi bir yararı olmadığı bildirilmiştir (142). Yasuda ve arkadaşları çalışmasında eksojen IGF-1 uygulanmasının ratlarda p-21 ekspresyonunu arttırdığını ve sisplatinle bağlı akut böbrek hasarını hafiflettiğini göstermişler (98). Kornhauser ve arkadaşlarının çalışmasında akut böbrek yetmezliği olan yenidoğanlarda serum ve idrar IGF-1 ve TNF değerlerine bakmışlar. Asfiktik yenidoğanlarda ABY olan ve olmayan infantlarda IGF-1 ve TNF- α değerlerini değerlendirmişler ve renal hasar ve onarımında bir marker olup olmadığını araştırmışlar. 10'u ABY'li, 10'u ABY'si olmayan 20 fullterm asfiktik yenidoğan almışlar. Bunları 13 normal, sağlıklı yenidoğanlarla karşılaştırmışlar. Tüm asfiktik hastaların kontrol grubundan daha düşük serum IGF-1 değerlerine sahip olduğunu görmüşler. Serum IGF-1 'in ABY'li hastalarda daha düşük kaldığını bildirmişler (99). Ancak bu çalışmada serum IGF-1 bakılmışken bizim çalışmamızda doku IGF-1 çalışıldı.

Bizim çalışmamızda da amikasin, E-vitamini ve eritropoietin uygulanması sonrası, gelişen bir doku olan böbrekte diğer çalışmalarda öne sürüldüğü üzere onarım fazında etkili olduğunu düşündüğümüz IGF-1 sekresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek kaldığını tespit ettik.

Sonuç olarak IGF-1 ile elde edilen bilgilere bakıldığında böbrek doku hasarı ile IGF-1 düzeyleri arasındaki bağlantıda çelişkiler vardır. Genel olarak doku hasarı ve tamir sürecinde IGF-1 artışı mevcuttur. Bizim çalışmamızda da nefrotoksisite gelişmesinin IGF-1 böbrek doku miktarında artış ile birlikte olduğunu saptadık. Diğer çalışmalarda renal hasarlanmada doku IGF-1 düzeyini değerlendiren çalışma yoktur. Bizim çalışma grubunda serum IGF-1 düzeylerini de planlamamıza rağmen, yavru ratlardan yeterli serum elde edemediğimiz için doku IGF-1 ile serum IGF-1 ilişkisini ortaya koyamadık.

Histopatolojik olarak bu çalışmada; amikasin grubunda interstisyel ödem, tubüler epitelyal hücre vakuolizasyonu ve deskuamasyonu, tubüler dilatasyon ve nekroz açık morfolojik değişiklikler olarak izlendi. Bu bulgular amikasin uygulamasının kortikal tubüler hücrelerin ağır dejenerasyonuna neden olduğunu göstermektedir. Bu aynı zamanda amikasinin yüksek oranda böbrekler tarafından ve temel olarak da proksimal tubüler seviyede tutulumu ile açıklanabilir. Bu değişikliklerin amikasin ile birlikte EPO uygulanan ratlarda belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir. Örneğin bu ratlarda tubüler nekroz gözlenmezken, tubüler dilatasyon ve interstisyel ödem hafif düzeyde gözlenmektedir. E vitamini uygulaması ile histopatolojik olarak iyileşme saptansa da EPO uygulanan grup kadar belirgin düzelmeler saptanamamıştır. Bu farklılıklar uyguladığımız dozlarla ilişkili olabilir. Çünkü literatürde E vitamini ile çok düzelmeler olduğu belirtilmektedir.

Sonuç olarak, yenidoğan ratlarda amikasine bağlı nefrotoksisite mekanizmalarından birisi oksidatif hasardır. Çünkü amikasin uygulanması sonrası hasar geliştiği histopatolojik olarak da kanıtlanan grupta MDA ve NO düzeyinin anlamlı artışı yanısıra antioksidan enzimlerden GPX de düşüşün kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir. Antioksidan ilaç olarak uyguladığımız E vitamini ve EPO'nun her ikisinde düzeltici etkilerinin olduğunu düşünmekteyiz. Her ne kadar EPO ile elde edilen histopatolojik düzelmeler E vitamini ile elde edilenden daha iyi olsa da, E vitamini ile de oksidatif hasar göstergeleri olan MDA ve NO'da düzelmeler olduğu aynı zamanda antioksidan enzim düzeylerinden SOD ve GPX'de anlamlı değişiklik sağlanması etkili olduğunu göstermektedir. E vitamini ve EPO'nun renal koruyucu etkilerinin sonuçlarının yorumlanmasında uygulama dozları ve sürelerinin etkisi olabilir. Çalışmayı ratlardaki yenidoğan süreci olan 7.günlerde sonlandırmayı planladığımız için 3 günlük tedavi süresi uyguladık. Bundan sonraki çalışmalarda yenidoğan döneminde başlayan bu hasarın tedavisini biraz daha uzun tutarak (10-14 gün) hem biyokimyasal hem de histopatolojik tablonun yeniden değerlendirilmesi planlanabilir. Yaptığımız ingilizce literatür taramasında yenidoğan ratlarda yapılan benzer bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu çalışmamızın sonraki çalışmalara ışık tutacağı kanısındayız.

ÖZET

Yenidoğan ratlarda amikasinine bağlı deneysel böbrek hasarı ve antioksidanların rolü

Amaç: Bu çalışmada yenidoğan ratlarda amikasin nefrotoksisitesinde oksidatif tubüler hasarın rolünün belirlenmesi ve antioksidanların kullanımı ile histopatolojik ve biyokimyasal etkilerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmaya 35 Wistar Albino cinsi yenidoğan rat alındı ve 4 gruba şu şekilde ayrıldı. (i) kontrol (Grup 1); (ii) amikasin uygulanan (Grup 2); (iii) amikasin + vitamin-E uygulanan (Grup 3); ve (iv) amikasin + EPO uygulanan (Grup 4). Kontrol grubuna intraperitoneal serum fizyolojik, 2. gruba ise 1200 mg/kg amikasin uygulandı. Üçüncü gruba amikasin dozundan yarım saat önce 150 mg/kg E vitamini, dördüncü gruba ise amikasin dozundan yarım saat önce 300 IU/kg/gün EPO günde iki kez intraperitoneal olarak 3 gün süre ile uygulandı. Enjeksiyonların bitiminden bir gün sonra eter ile anestezi uygulanarak kesim yapıldı. Kesim sonrası çıkarılan böbrek dokularında MDA, NO ile SOD, GPX ve CAT enzim aktiviteleri, IGF-1 ve amikasinsin düzeyleri saptandı. Ayrıca böbrek dokusunun histopatolojik incelemesi yapıldı.

Bulgular: Böbrek dokusunda amikasin düzeyleri kontrol grubu hariç tüm gruplarda anlamlı olarak yüksek olarak bulundu. Böbrek MDA ve NO düzeyi amikasin verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Amikasin grubu ile karşılaştırıldığında E vitamini ve eritropoietin verilmesi ile böbrek MDA ve NO düzeylerinde saptanan azalma istatistiki olarak anlamlı bulundu. GPX değerleri amikasin grubunda kontrol grubuna göre istatistiki olarak düşük saptandı. E vitamini grubunda GPX değerlerindeki artış istatistiki olarak anlamlıydı. Bununla birlikte, SOD ve CAT değerlerinde gruplar arasında istatistiki farklılık yoktu. IGF-1 değerlerinde amikasin, eritropoietin ve E vitamini uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı artış tespit edildi. Histopatolojik olarak amikasin uygulanan grupta belirgin yapısal değişiklikler, tubüler epitelyal nekroz, tubüler dilatasyon, vakuoler dejenerasyon ve interstisyel ödem izlendi. Eritropoietin uygulaması ile histopatolojik değişikliklerin belirgin düzeldiği gözlenirken, E vitamini uygulamasında düzelmelerin daha az olduğu izlendi.

Sonuç: Amikasin nefrotoksisitesinden sorumlu önemli mekanizmalardan biri oksidatif strese bağlı gelişen tubülointerstisyel hasardır. Bu hasar biyokimyasal ve renal histopatolojik bulgular ile desteklenmiştir. EPO ve E vitamini gibi antioksidanlar yenidoğanlarda amikasinine bağlı gelişen nefrotoksisitede yararlı renoprotektif ajan olabilirler.

Anahtar sözcükler: amikasin, eritropoietin, E vitamini, oksidatif hasar

SUMMARY

Amikacin Induced Renal Damage and the Role of Antioxidants on Neonatal Rats

Objective: In this study, we aimed to investigate the role of oxidative tubular damage on amikacin induced nephrotoxicity and to evaluate the effects of antioxidants on biochemical and histopathological changes on neonatal rats.

Material and Methods: 35 newborn Wistar Albino rats were divided into four groups as follows: (i) control (Group 1); (ii) amikacin treated (Group 2); (iii) amikacin + vitamin-E treated (Group 3); and (iv) amikacin + EPO treated (Group 4) . Intraperitoneal serum physiological was administered to control and 1200 mg/kg amikacin to the second group. 150 mg/kg vitamin E was given intraperitoneally to the third group before 30 minutes before the administration of amikacin twice daily and 300 IU/kg/day EPO to the fourth group in the same way for three days. One day after completion of the injections, the rats were cut down after giving anesthesia (via ether). Malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), enzyme activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), catalase (CAT) with insulin like growth factor-1 (IGF-1) and amikacin levels were studied in the kidney tissue; and the kidneys were also examined for any histopathological changes.

Results: In renal tissue, amikacin levels were significantly high in all groups except the control group. Tissue MDA and NO levels were statistically higher in amikacin-treated group than the control. MDA and NO levels were decreased with the administration of vitamin E and EPO and the difference was statistically significant. GPX levels were statistically low in amikacin group compared with the controls. The levels of GPX, in vitamin E group, were increased significantly. However, SOD and CAT levels were not significantly different in none of the groups. IGF-1 values in amikacin, EPO and vitamin E groups were significantly higher than the control group. By histopathological investigations, clear histomorphological changes such as tubular epithelial necrosis, tubular dilatation, vacuolar degeneration and edema were seen in amikacin treated group. Histopathological improvements observed with erythropoietin administration were evident, but imperceptible with vitamin E.

Conclusion: One of the important mechanisms of amikacin nephrotoxicity is tubulointerstitial injury related to oxidative stress. This injury is supported with biochemical and renal histopathological findings. Vitamin E and EPO, as antioxidants, can to be useful renoprotective agents for ameliorating amikacin induced nephrotoxicity in neonates.

Key Words: amikacin, erythropoietin, vitamin E, oxidative injury

KAYNAKLAR

1. Mhairi G, MacDonald, Martha D, Mullett, Mary M.K, Seshia. Avery's Neonatology. Pathophysiology and management of the Newborn.; 6th edition. Renal Disease. 42:980-1065.
2. Merlet-Bnichou C, Leroy B, Gilbert T, et al: Retard de croissance intrauterine et deficit en nephrons, Med Sci. 1993;9:777.
3. Savin VJ, Beason-Griffin C, Richardson WP: Ultrafiltration coefficient of isolated glomeruli of rats aged 4 days to maturation. Kidney Int. 1985;28:926.
4. Rybak MJ, Frankowski JJ, Edwards DJ, Albrecht LM. Alanine aminopeptidase and β 2-microglobulin excretion in patients receiving vancomycin and gentamicin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1987;31(10):1461-1464.
5. Cuzzocrea S, Mazzon E, Dugo L, Serraino I, Di Paola R, Britti D, De Sarro A, Pierpaoli S, Caputi A, Masini E, Salvemini D. A role for superoxide in gentamicin –mediated nephropathy in rats. Eur. J. Pharmacol. 2002;450(1):67-76.
6. Parlakpınar H, Taşdemir S, Polat A, Bay-Karabulut A, Vardı N, Uçar M, Acet A. Protective role of caffeic acid phenethyl ester (cape) on gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. Toxicology. 2005;14;207(2):169-177.
7. Özen S, Akyol O, Iraz M, Söğüt S, Özügürlü F, Özyurt H, Odacı E, Yıldırım Z. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. J. Appl. Toxicol. 2004;24(1):27-35.
8. Maldonado PD, Barrera D, Rivero I, Mata R, Medina-Campos ON, Hernandez-Pando R, Pedraza-Chaverri J. Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. Free Radical Biology Medicine. 2003;35(3):317-324.
9. Parlakpınar H, Taşdemir S, Polat A, Bay-Karabulut A, Vardı N, Uçar M, Yanılmaz M, Kavaklı A, Acet A. Protective effect of chelerythrine on gentamicin-induced nephrotoxicity. Cell Biochem Funct. 2006;24(1):41-48.
10. Yanagida C, Ito K, Komiya I, Horie T. Protective effect of fosfomycin on gentamicin-induced lipid peroxidation of rat renal tissue. Chemico-Biological Interactions. 2004;148(3):139-147.
11. Murat Yurdakök, Gülşen Erdem. Böbrek ve işlevleri Türk Neonatoloji Derneği, Neonatoloji kitabı. 80:681-693.
12. Rennie JM, Robertson NRC (eds). Textbook of Neonatology. (3rd ed). Edinburg: Churchill Livingstone. 1999.

13. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology (10th ed). Philadelphia: WB Saunders. 2000.
14. Moghal NE, Brocklebank JT, Meadow SR. A review of acute renal failure in children: incidence, etiology and outcome. Clinical Nephrology. 1988;49:91-95.
15. Stapleton F, Jones D, Gren R. Acute renal failure in neonates : incidence, etiology and outcome. Clinical Nephrology. 1987;1:314-320.
16. Grylack L, Medani C, Hultzen C, et al. Nonoliguric acute renal failure in the newborn: a prospective evaluation of diagnostic indices. Am J Dis Child. 1982;136:518-520.
17. Gouyon JB, Guingard JP. Management of acute renal failure in newborns. Pediatric Nephrology. 2000;14:1037-1044.
18. Seri I, Evans J, Tukassay T. Renal insufficiency and acute renal failure. In : Avery GB, Fletcher MA, Mc Donald MG (eds). Neonatology (17th ed). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 1988:1158-1164.
19. Adreoli SP, Renal failure in the newborn infant. In Polin RA, Yoder MC, Berg FD (eds). Workbook in Practical Neonatology Philadelphia: WB Saunders. 2000:322-337.
20. Karlowics MG, Adelman RD. Nonoliguric and oliguric acute renal failure in asphyxiated term newborns. Pediatric Nephrology. 1955;9:718-722.
21. Toth-Heyn PA. The stressed neonatal kidney: from pathophysiology to clinical management of neonatal vasomotor nephropathy. Pediatric Nephrology. 2000;14:227-239.
22. Guignard JP, Dukker A. Clinical neonatal nephrology. In: Barratt TM, Avner ED, Harmon WE (eds). Pediatric Nephrology (4th ed). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 1999:1051-1066.
23. Aygün G. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. 2002;31:39-54.
24. Prof. Dr. Hakan Leblebicioğlu. Aminoglikozidlerin Klinik Kullanımı.
25. Türk enfeksiyon web sitesi.
26. Del Maestro R. Trace elements, micronutrients and free radicals. Dreosti IE(ed). Humano Press Inc. Clifton. 1991;25-51.
27. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. Mayo Clin Proc. 1988;63(4):381-389.
28. Kuş İ, Zararsız İ, Yılmaz H. R, Türkoğlu A. Ö, Pekmez H, Sarsılmaz M. The protective effects of melatonin hormone against exposure of Formaldehyde-induced oxidative damage in prefrontal cortex of rats. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2004;13(2):1-7.

29. Akyol Ö. Beyin tümörlerinde doku SOD,CAT ve GSH-Px aktiviteleri. Uzmanlık tezi, Ankara Üni. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara 1994;12-18.
30. Dormandy T L. An approach to free radicals. *Lancet*. 1983;322:1010-1013.
31. Gutteridge J M C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry*. 1995;41:1819-1828.
32. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr*. 1993;57:715-725.
33. Hruszkewycz A M. Lipid peroxidation and mt DNA degeneration. A hypothesis. *Mutation Research*. 1992;275:243-248.
34. Reiter R J. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *Faseb*. 1995;9:526-533.
35. Cross C E, Halliwell B, Borish E T, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Int Med*. 1987;107:526-545.
36. Asayama K, Nakane T, Uchida H, et al. Serum antioxidant status in streptozosin-induced diabetic rat. *Horm Metab Res*. 1994;26:617-620.
37. Corrocher R, Casaril M, Bellisola G, et al. Severe impairment of antioxidant system in human hepatoma. *Cancer*. 1986;58:1658-1662.
38. Mantha S V, Prasad M Kaka J, Prasad K. Antioxidant enzymes in hypercholesterolemia and effects of vitamin E in rabbits. *Atherosclerosis*. 1993;101:135-144.
39. McCoy R N, Hill K E, Ayon M A, Stein J H, Burk R F. Oxidant stress following renal ischemia: Changes in the glutathione redox ratio. *Kidney Int*. 1988;33:812-817.
40. Young SG, Parthasarathy S. Why are low density lipoproteins atherogenic?. *West J Med*. 1994;160(2):153-164.
41. Freeman BA, Crapo TD. Biology of disease free radicals and tissue injury. *Laboratory Invest*. 1982;47(5):412-425.
42. Maxwell SRJ. Prospect for use of antioxidant therapies. *Drugs*. 1995;49(3):345-361.
43. Kazanç MB. Antioksidan vitaminler. *Sendrom*. 1997;14-23.
44. Ichikiawa I, Kiyama S. Renal antioxidant enzymes: Their regulation and function. *Kidney Int*. 1994;45(1):1-9.
45. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.*. 1993;49(3):479-480.
46. Isbir T. Antioksidan sistemler. *Endotel. İzmir Tabip Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu*: 1994;92-98.
47. Flohe L, Otting F. Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol*. 1984;105:93-104.

48. Salin ML, Mccord JM. Superoxide dismutasesin polymorphonuclear leukocytes. J. Clin. Invest. 1974;54(4):1005-1009.
49. Niwa Y, Ishimato K, Kanoh T. Induction of superoxide dismutase in leukocytes by paraquat: Correlation with age and possible predictor of longevity. Blood. 1990;76:835-841.
50. Lunec J, Blake D, Oxygen Free Radicals : Their relevance to disease processes. In : Cohen RD, Lewis B, Albert KGMM. The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease. Balliere Tindall, London. 1990;189-212.
51. Stryer L, Biosynthesis of Amino Acids and Heme. In : Biochemistry 3. ed. WH Freeman and company, NewYork. 1988;422-423.
52. Kobayashi Y, Ishigame K, Ishigame Y, Usui T. Superoxide dismutase activity of human granulocytes and lymphocytes. Lancet. 1977;16:865-866.
53. Doğan P, Soyuer Ü, Tanrikulu G. Superoxide dismutase and myeloperoxidase activity in polymorphonuclear leukocytes and serum ceruloplasmin and coper levels in psoriasis. Br. J. Dermatol. 1989;120(2):239-244.
54. Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A. Age correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. Clin Chem. 1992;38(1):66-70.
55. Aebi H. Catalase In: Bergmeyer U, ed. Methods of enzymatic analysis. New York and London: Academic Pres. 1974;673-677.
56. Deisseroth A, Dounce AL. The purification and crystallization of beef erythrocyte catalase. Arch Biochem Biophys. 1969;131:18-29.
57. Abdollahi M, Bahreini-Moghadam A, Emmami B, Fooladian F, Zafarriet K. Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. Comp. Biochem. Physiol. C. 2003;135:331-336.
58. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress : a review. Med. Sci. Monit. 2004;10:141-147.
59. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. Yüzüncü Yol Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi 2004;15(1-2):91-96.
60. Cochran CG. Cellular injury by oxidants. Am. J. Med. 1991;92:235-305.
61. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları No 38, Sağlık dizisi 5, Konya. 1995.
62. Gültekin F, Delibaş N, Yaşar S, Kılınç İ. In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. Arch. Toxicol.. 200175: 88-96.

63. Matés JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*. 2000;153:83-104.
64. Kalender S, Kalender Y, Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Durak D, Açıköz F. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats : the protective effect of vitamin E. *Toxicology*. 2002;202:227-235.
65. Niki E. Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phy. Lipids*. 1987;44:227-253
66. Placer CA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (Malondy Dialdehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem*. 1990;16:259-264.
67. Porter NA. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1984;105:273-283.
68. Mayes PA. Structure and Function of the Water-soluble Vitamins. In : Murray RK, Granner DK, Mayes PA - Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. 23. ed. Lange medical publication, London, 1993;573-587.
69. Gey KF. Prospects for the prevention of free radical disease, regarding cancer and cardiovascular disease . *Br Med Bull* 1993;49(3):679-699.
70. Bertino JR. Antineoplastic drugs. In: *Text Book of Pharmacology*, Ed: Smith CM, Reynard AM, Saunders Company, 1992;941-964.
71. Jerome L, Shiry L, Jones BL. Deregulation of the IGF axis in cancer: epidemiological evidence and potential therapeutic interventions. *Endocr Relat Cancer* 2003;10:561-578.
72. Fürstenberger G, Senn HJ. Insulin-like growth factors and cancer. *Lancet Oncol* 2002;3:298-302.
73. Giovannucci E. Insulin-like growth factor-I and their binding protein-3 and risk of cancer. *Hormone Research* 1999;51:34-41.
74. LeRoith D, Baserga R, Helman L, Charles T. Roberts Jr. Insulin-like Growth Factors and Cancer. *Ann Intern Med* 1995;122:54-59.
75. Wiesinger H. Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Prog Neurobiol* 2001;64:365-91.
76. Pou S, Pou WS, Bredt DS, Snyder SH, Rosen GM. Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 1992;267:24173-6.
77. Schaeffer F. and Stainer R.Y. Glucose-6-phosphate Dehydrogenase, Kinetics and Molecular Properties. *Arc. Microbiol*. 1978;116:9-19.
78. Ursini F., Mairorino M., Valente M., Ferri L. and Gregolin C. Purification from Pig Liver of a Protein which Protects Liposomes and Biomembranes from Peroxidative Degradation and Exhibits Glutathione Peroxidase Activity on Phosphatidylcholine Hydroperoxides. *Biochim Biophys Acta*. 1982;710:197.

79. Nancy L. Kanagy, PhD, Michael F. Perrine, BS, Dora K. Cheung, PharmD, and Benjamin R. Walker, PhD. Erythropoietin Administration *In Vivo* Increases Vascular Nitric Oxide Synthase Expression. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003;42:527-533.
80. Tekin Akpolat, Bülent Tokgöz. Hematolojik sorunlar ve Eritropoietin kullanımı. Türk Nefroloji Derneği Yayını. Hemodiyaliz Hekimi El Kitabı. 2001.
81. George J, Patal S, Wexler D. Circulating Erythropoietin levels and prognosis in patients with CHF. *Arch.Intern. Med.* 2005;165(11):1304-1309.
82. Datta C, Gupta J, Sarkar A, Sengupta D. Effects of organophosphorus insecticide phosphomidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma. *Indian Journal of Experimental Biology.* 1992;30:65-67.
83. Blakely WF. Hydrogen peroxide induced base damage in DNA. *Radiat Res.* 1990;121:338-343.
84. Mason RP. Free radical reactions with DNA and its nucleotids. *Basic Life Sci.* 1990;52:119-125.
85. Isbir T. Antioksidan Sistemler . Endotel . İzmir Tabip Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu. 1994;92-98.
86. Spallholz JE. Selenium and glutathione peroxidase: Essential nutrient and antioxidant component of the immun system . *Adv. Exp. Med. Biol.* 1990;262: 145-158.
87. Forslid J, Björkstén B, Hagersten K, Hed J. Erythrocyte-mediated scavenging of reactive oxygen metabolites generated by human polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis. *Inflammation.* 1989;13:543-551.
88. Sun Y, Larry WO, Ying Li. Simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem.* 34(3): 497-500, 1988. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folinphenol reagents. *J Biol Chem.* 1951;193:265-275.
89. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967;70(9):158-169.
90. Aebi H. Catalase in vitro. *Enzymol.* 1984;105:121-126.
91. Drapper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990;186:421-431.
92. Veille JC, Hanson RA, Tatum K, et al. Quantitative assessment of human fetal renal blood flow. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:1399-1402.
93. Butkus A, Albiston A, Alcorn D, et al. Ontogeny of angiotensin II receptors, type 1 and type 2, in ovine mesonephros and metanephros. *Kidney int* 1997;52:628-636.
94. Wintour EM, Alcorn D, Butkus A, et al. Ontogeny of hormonal and excretory function of the meso- and metanephros in the ovine fetus. *Kidney int* 1996;50:1624-1633.

95. Richer C, Hornyh H, Amiel-Tison C, et al. Plasma renin activity and its postnatal development in preterm infants. *Biol neonate* 1977;31:301-304.
96. Çetin H, Olgar Ş, Öktem F, Çiris M, Uz E, Aslan Ç and Özgüner F. Novel evidence suggesting an anti-oxidant property for erythropoietin on vancomycin-induced nephrotoxicity in a rat model. *Clinical and experimental pharmacology and physiology* 2007;10:1440-1681.
97. Arant BS Jr. Renal disorders of the newborn infant. *Pediatr Nephrol* 1984;12:111
98. Yasuda H, Kato A, Miyaji T, Zhou H, Togawa A, Hishida A. Insulin-like growth factor-I increases p21 expression and attenuates cisplatin-induced acute renal injury in rats. *Clin Exp Nephrol* 2004;8:27-35.
99. Kornhauser C, Dubey L.A, Garay E, Pérez-Luque E. L, Malacara J, Vargas-Origel A. Serum and urinary insulin-like growth factor-1 and tumor necrosis factor in neonates with and without acute renal failure. *Pediatr Nephrol.* 2002;17:332-336.
100. Vanpee M, Blennow M, Linne T, et al. Renal function in very low birth weight infants: normal maturity reach during early childhood. *J Pediatr* 1992;121:784-788.
101. El Mouedden M, Laurent G, Mingeot-Leclercq MP, Taper HS, Cumps J, Tulkens PM. Apoptosis in renal proximal tubes of rats treated with low doses of aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(3):665-75.
102. Öktem F, Arslan M. Ratlarda vanlomisin ile indüklenen renal hasara karşı N-asetilsistein ve E vitaminin koruyucu etkileri. *Uzmanlık tezi* 2006.
103. Sharples E.J, Yaqoob M.M. Erythropoietin in experimental acute renal failure. *Nephron Exp Nephrol.* 2006;104:83-88.
104. Luft FC, Aronoff GR, Evan AP, Connors BA. The effect of aminoglycosides on glomerular endothelium: a comparative study. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1981;34(1):89-95.
105. Langhendries JP, Battisti O, Bertrand JM, Francois A, Darimont J, İbrahim S, Tulkens PM, Bernard A, Buchet JP, Scalais E. Once a day administration of amikacin in neonates: assessment of nephrotoxicity and ototoxicity. *Dev Pharmacol Ther.* 1993;20(3-4):220-230.
106. Klein J, Koren G, MacLeod SM. Comparison of methods for prediction of nephrotoxicity during development. *Dev Pharmacol Ther.* 1992;19(2-3):80-89.
107. Provoost AP, Adejuyigbe O, Wolff ED. Nephrotoxicity of aminoglycosides in young and adult rats. *Pediatr Res.* 1985;19(11):1191-1196.
108. Houghton DC, Plamp CE, Gilbert DN, Kohlhepp SJ, Bennett WM, Porter GA, DeFehr J, Webb M. Amikacin nephrotoxicity in the rat. *J Environ Pathol Toxicol.* 1980;4(5-6):227-291.

109. Laura I. Rankin, Friedrich C. Luft, Moo N. Yum, Linda L Isaacs. Comparative Nephrotoxicities of Dibekacin, Amikacin and Gentamicin in a rat model. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1980;19(6):983-985.
110. Laura I. Rankin, Friedrich C. Luft, Moo N. Yum, R. S. Sloan, C. B. Dinwiddie, Linda L Isaacs. Comparative Nephrotoxicity of SCH 21420 and Amikacin in rats. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1979;16(4):491-194.
111. Goldfarb M, Rosenberger C, Ahuva S, Rosen S, Heyman S.N. A role for erythropoietin in the attenuation of radiocontrast-induced acute renal failure in rats. *Ren Fail*. 2006;28(4):345-350.
112. Blaser J, König C. Once-daily dosing of aminoglycosides. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1995;14(12):1029-1038.
113. Ma. Guadalupe Vasquez-Mendoza, Arturo Vargas-Origel, Aurelia del Carmen Ramos-Jimenez, Gilberto Aguilar-Orozco, Gustavo Romeo- Gutierrez. Efficacy and renal toxicity of one daily dose of amikacin versus conventional dosage regime. *Amer J Perinatol* 2007;24:141-146.
114. Parlakpınar H, Özer MK, Sahna E, Vardı N, Cigremiş Y, Acet A. Amikacin-induced acute renal injury in rats: protective role of melatonin. *J. Pineal Res*. 2003;35(2):85-90.
115. Vaziri N.D, Zhou X.J, Liao S.Y. Erythropoietin enhances recovery from cisplatin-induced acute renal failure. *Am J Physiol*. 1994;266:360-366.
116. Hottendorf G.H, Barnett D, Gordon L.L, Christensen E.F, Madisoo H. Nonparallel nephrotoxicity dose-response curves of aminoglycosides. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1981;19(6):1024-1028.
117. Brion N, Barge J, Godefroy I, Dromer F, Dubois C, Contrepolis A, Carbon C. Gentamicin, Netilmicin, Dibekacin and Amikacin nephrotoxicity and its relationship to tubular reabsorption in rabbits. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1984;25(2):168-172.
118. Parlakpınar H, Koç M, Polat A, Vardı N, Özer MK, Turkoz Y, Acet A. Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by amikacin in rats. *Urol Res*. 2004;32:278-282.
119. Parlakpınar H, Özer M.K, Uçar M, Gaffaroğlu M, Vardı N, Koç M, Acet A. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on amikacin induced nephrotoxicity in rats. *Cell Biochem Funct*. 2006;24:363-367.
120. Westenfelder C. Unexpected renal actions of erythropoietin. *Exp Nephrol*. 2002;10(5-6):294-298.
121. Vardı N, Parlakpınar H, Öztürk F, Acet A. Gentamicin-induced nephrotoxicity and protective effect of caffeic acid phenethyl ester in rats. *Fundamental Clinical Pharmacology*. 2005;19(2):173-177.
122. Yalçın S, Müftüoğlu S, Çetin E, Sarer B, Yıldırım B.A, Zeybek D, Orhan B. Protection against cisplatin-induced nephrotoxicity by recombinant human erythropoietin. *Med Oncol*. 2003;20(2):169-174.

123. Oktem F, Ozguner F, Sulak O, Olgar S, Akturk O, Yilmaz HR, Altuntas I. Lithium-induced renal toxicity in rats: protection by a novel antioxidant caffeic acid phenethyl ester. *Mol Cell Biochem.* 2005;277(1-2):109-115.
124. Saenko IuV, Shutov A.M, Napalkova S.M, Selianova O.S, Evstegneeva EIu. The effect of erythropoietin on doxorubicin-induced oxidative stress in rat kidney. *Eksp Klin Farmakol.* 2005;68(6):52-54.
125. Karahan I, Ateşşahin A, Yılmaz S, Çeribaşı A.O, Sakin F. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology.* 2005;215:198-204.
126. Ali B.H, Al-Wabel N, Mahmoud O, Mousa H.M, Hashad M. Curcumin has a palliative action on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Fundam Clin Pharmacol.* 2005;19(4):473-477.
127. Nakas-Icindic E, Avdagic N, Mijanovic M, Prasovic S, Zaciragic A, Hadzovic A, Tahirovic G. Nitric oxide in gentamicin-induced acute tubular necrosis in rats. *Bosn J Basic Sci.* 2005;5(5):70-74.
128. Çelik I, Cihangiroğlu M, İlhan N, Akpolat N, Akbulut HH. Protective effects of different antioxidants and aminone on vancomycin-induced nephrotoxicity. *Basic Clinical Pharmacology Toxicology* 2005;97(5):325-332.
129. Yağmurca M, Erdoğan H, Iraz M, Songur A, Uçar M, Fadilloğlu E. Caffeic acid phenethyl ester as a protective agent against doxorubicin nephrotoxicity in rats. *Clin Chim Acta.* 2004;348(1-2):27-34.
130. Bagnis C, Beaufils H, Jacquaud C. Erythropoietin enhances recovery after cisplatin-induced acute renal failure in the rat. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:932-938.
131. Sohmiya M, Kato Y. Human growth hormone and insulin-like growth factor-I inhibit erythropoietin secretion from the kidneys of adult rats. *Journal of Endocrinology.* 2005;184:199-207.
132. Baer PC, Geiger H. Different effects of growth factors on human renal early distal tubular cells in vitro. *Kidney Blood Press Res.* 2006;29(4):225-230.
133. Shimes Y, Hirotsu Y, Akimoto Y, Shindou K, Ijiri Y, Nishihori T, Tanaka K. Protective effects of capsaicin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Biol Pharm Bull.* 2005;28(9):1635-1638.
134. Noiri E, Nagano N, Negishi K, Doi Kent, Miyata S, Abe M, Tanaka T, Okamoto K, Hanafusa N, Kondo Y, Ishizaka N, Fujita T. Efficacy of darbepoietin in doxorubicin-induced cardiorenal injury in rats. *Nephron Experimental Nephrology.* 2006;104(1):6-14.
135. Kadkhodae M, Khastar H, Faghihi M, Ghaznavi R, Zahmatkesh M. Effects of co-supplementation of vitamins E and C on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. *Exp Physiol.* 2005;90(4):571-576.

136. Zha Y, Le VT, Higami Y, Shimokawa I, Taguchi T, Razzaque MS. Life-long suppression of growth hormone-insulin-like growth factor I activity in genetically altered rats could prevent age-related renal damage. *Endocrinology*. 2006;147(12):5690-5698.
137. Kadkhodae M, Khastar H, Arab H.A, Ghaznavi R, Zahmatkesh M, Mahdavi-Mazdeh M. Antioxidant vitamins preserve superoxide dismutase activities in gentamicin-induced nephrotoxicity. *Transplant Proc*. 2007;39(4):864-865.
138. Abdel-Naim A.B, Abdel-Wahab M.H, Attia F.F. Protective effects of vitamin e and probucol against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res*. 1999;40(2):183-187.
139. Naziroğlu M, Karaoğlu A, Aksoy AO. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology* 2004;195(2-3):221-230.
140. Ajith T.A, Usha S, Nivitha V. Ascorbic acid and alpha-tocopherol protect anticancer drug cisplatin induced nephrotoxicity in mice: a comparative study. *Clin Chim Acta*. 2007;375(1-2):82-86.
141. Harris RC. Growth factors and cytokines in acute renal failure. *Adv Ren Replace Ther*. 1997;4:43-53.
142. Fuchs S, Yaffe R, Beeri R, Rosen S, Heyman SN, Brezis M. Failure of insulin-like growth factor I to improve radiocontrast nephropathy. *Exp Nephrol*. 1997;5(1):88-94.
143. Ocak S, Görür S, Hakverdi S, Çelik S, Erdoğan S. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester, vitamin C, vitamin E and N-acetylcysteine on vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2007;100(5):328-333.
144. Kalaiselvi P, Pragasam V, Chinnikrishnan S, Veena CK, Sundarapandivan R, Varalakshmi P. Counteracting adriamycin-induced oxidative stress by administration of N-acetylcysteine and vitamin E. *Clin Chem Lab Med*.; 2005;43(8):834-40.
145. Bridgewater DJ, Ho J, Sauro V, Matsell DG. Insulin-like growth factors inhibit podocyte apoptosis through the PI3 kinase pathway. *Kidney Int*. 2005;67(4):1308-1314.
146. Maestri M, Dionigi P, Pettenazza P, Visconti F, Rademacher J, Gaspari A, Innocente F, Matteotti C, Luzzana F, Zonta A. Treatment of the nephrotoxicity of immunosuppressive drugs with insulin-like growth factor-I. *Minerva Chir*. 1998;53(5):391-396.
147. Görgün M, Erdoğan D, Aban G, Türközkan N, Elbeg S. Effect of vitamin E on adriamycin-induced nephrotoxicity at the ultrastructural level in guinea pigs. *Nephron*. 1999;82(2):155-163.
148. Dunn A, Donnelly S. The role of the kidney in blood volume regulation: the kidney as a regulator of the hematocrit. *Am J Med Sci*. 2007 Jul;334(1):65-71.