

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Prof.Dr.Bülent ALAGÖL

152090

**SIÇANLARDA BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARINA MELATONİN VE E VİTAMİNİNİN
ANTİOKSİDAN ETKİLERİ İLE HÜCRESEL
DEĞİŞİKLİKLER**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Tevfik AKTOZ

EDİRNE-2004

158090

TEŞEKKÜR

Tıp fakültesi ve uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi arttırmamda büyük desteklerini gördüğüm ve bana cerrahi sanatını öğreten değerli hocalarım; Prof. Dr. Osman İnci, Prof. Dr. Bülent Alagöl, Doç. Dr. İrfan H. Atakan, Yrd. Doç. Dr. Esat Kaya, Yrd. Doç. Dr. Ali S. Gözen ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa Kaplan'a, ekip olarak çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, tez çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. A. Kemal Kutlu'ya, Prof. Dr. Kadir Kaymak'a, Doç. Dr. Gülara Hüseyinova'ya, Yrd. Doç. Dr. Ömer Yalçın'a, Uzm. Dr. Nurettin Aydoğdu'ya, Vet. Hek. Ziya Çukur'a; teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
BÖBREĞİN ANATOMİSİ.....	3
BÖBREĞİN HİSTOLOJİK YAPISI.....	5
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI.....	6
SERBEST RADİKALLER.....	10
ANTIOKSİDANLAR.....	14
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	19
BULGULAR.....	23
TARTIŞMA.....	45
SONUÇLAR.....	52
TÜRKÇE ÖZET.....	54
İNGİLİZCE ÖZET.....	56
KAYNAKLAR.....	58
EKLER.....	61

SİMGE VE KISALTMALAR

A.	: Arteria
AMP	: Adenozin monofosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
Ca ⁺⁺	: Kalsiyum
CAPE	: Caffeic acid phenetyl ester
CAT	: Katalaz
CCl ₃ [•]	: Triklorometil radikali
Cu ⁺²	: Bakır
DNA	: Deoksiribonükleik asit
Fe ₃ ⁺	: Ferri demir
Fe ₂ ⁺	: Ferro demir
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
GSH-Red	: Glutatyon redüktaz
G6-PD	: Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz
H [•]	: Hidrojen radikali
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HDL	: High Density Lipoprotein
HE	: Hematoksilen-Eosin
HIOMT	: Hidroksiindol-o-metil transferaz
HO [•]	: Hidroksil radikali
HO ₂ [•]	: Perhidroksil radikal
LDL	: Low Density Lipoprotein
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Myeloperoksidaz
NAC	: N-asetil sistein
NADPH	: Nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat
NAT	: N-asetiltransferaz
NBT	: Nitroblue Tetrazolium
NO [•]	: Nitrik oksit radikali
NO ₂ [•]	: Azot dioksit

$(\text{NO}_2^\bullet)^-$: Nitronyum iyonu
O_2	: Oksijen
$\text{O}_2^{\bullet-}$: Süperoksit radikali
$^1\text{O}_2$: Singlet oksijen
ONOO^-	: Peroksinitrit
Os O_4	: Osmiyum tetroksit
RNA	: Ribonükleik asit
RO^\bullet	: Alkoksil
ROO^\bullet	: Peroksil radikali
RS^\bullet	: Thyl radikali
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TBA	: Tiyobarbitürik asit
V.	: Vena
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein



GİRİŞ VE AMAÇ

Renal iskemi ve reperfüzyon; renal transplantasyon, parsiyel nefrektomiler ve suprarenal aortik anevrizmaların cerrahi tedavisi sırasında gerekli bir prosedürdür (1). İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği; glomerüler filtrasyon hızında (GFR) azalma, tübüler nekroz ve renal damarlarda rezistans artışıyla karakterizedir. Reperfüzyon böbrek fonksiyonlarının bozulmasına neden olur. Ayrıca renal iskemi-reperfüzyon sonucu özellikle böbrek proksimal tübül hücrelerinde hasar gelişmektedir. İskemi-reperfüzyon renal transplantasyon sonrası erken dönemde allograftı reddetme ve uzun dönemde allografta karşı zıt etkilerin başlıca nedenidir (2).

Serbest radikaller, dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron taşıyan organik ve inorganik moleküllerle reaksiyona girebilme yeteneğine sahip, yüksek oranda reaktif kısa ömürlü bileşiklerdir (3).

Antioksidanlardan melatoninin önemli özelliği lipofilik olmasıdır. Böylece hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin bariyeri gibi bariyerleri de kolayca geçer. Böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir . Melatonin, en zararlı radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Melatoninin hücre çekirdeğine girebilmesi onun deoksiribonükleik asiti (DNA) oksidatif hasardan koruması bakımından diğer antioksidanlara göre çok daha üstün bir özelliğini teşkil eder. Melatoninin çok yüksek dozlarda ve uzun süre kullanımında bile toksik etkisi gözlenmemiştir. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi azalır. Bu yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogenezinde önemlidir (4).

Antioksidanlardan E vitamini herhangi bir taşıyıcı protein olmadan pasif difüzyonla emilir. Dokularda, mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre yapılarında

bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olarak, zarsal fosfolipidlerin yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikallerin etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. E vitamini; süperoksid ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksidlerini ve diğer radikalleri indirger. Glutasyon peroksidaz ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirini tamamlayıcı etki gösterir. Glutasyon peroksidaz oluşan peroksidleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksidlerin sentezini engeller (4,5).

Bu çalışmada; melatonin ve E vitamini gibi yağda çözünen, güçlü antioksidan olduğu bilinen iki maddenin böbrek iskemi-reperfüzyon hasarındaki etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Antioksidan iki maddenin hasar önleyici etkilerinin düzeyini saptamak ve aralarında karşılaştırma yapabilmek için antioksidan enzim değerleri, lipid peroksidasyonunu gösteren malondialdehit (MDA) değerleri, böbrek ışık ve elektron mikroskopi bulguları incelendi ve karşılaştırılarak değerlendirildi.



GENEL BİLGİLER

ANATOMİ

Böbrekler retroperitoneal aralıkta, columna vertebralis'in iki yanında, T12-L3 seviyesinde yer alırlar. Karın boşluğunun sağ üst kısmında karaciğerin bulunması nedeniyle sağ böbrek, sola göre daha aşağıdadır. Erişkin böbreklerin uzunluğu 10 cm, genişliği 5 cm, kalınlığı 2,5 cm'dir.

Böbreklerin yapısı

Medulla renalis: İdrarı ileten toplayıcı kanallardan oluşur. Medulla renalis sayıları 8-10 arasında değişen, pyramis renalis (Malpighi piramitleri) denilen koni şeklindeki yapılardan oluşur.

Cortex renalis: Fonksiyonel olarak idrar yapan oluşumları içerir. Pars radiata (stria medullaris) daha koyu renkli olup medullar cevherin kortikal cevher içine gönderdiği uzantılardır. Pars convoluta ise, iki pars radiata arasında kalan daha açık renkli sahalardır. Burada kandan idrarı süzen Malpighi cisimcikleri (corpusculum renale) ve idrar kanalcıkları bulunur. Malpighi cisimciği ile arteriola glomerularis afferens ve arteriola glomerularis efferens'in oluşturduğu damar yumağına glomerül denir. Bunu saran yapıya Bowman kapsülü denilir. Her bir Malpighi cisimciği ve buna ait idrar kanalcığı kandan idrarı süzen bir birim (nefron) oluşturur.

Sinus renalis: Böbreğin medial kenarındaki hilum renale denilen açıklıktan sinus renalis denilen boşluğa girilir. Sinus renalis'de pelvis renalis, kaliks renalis'ler, böbrek damarları, sinirler yer alır. Bu yapılar arasında yağ dokusu bulunur.

Böbreğin segmentleri

Böbrek kan damarlarının dağılımına göre beş segmente ayrılır. Segmentum superius üst uçta, segmentum inferius alt uçta, segmentus anterior-superius ve segmentum anterior-inferius ön yüzün orta kısmında, segmentum posterius arka yüzün orta kısmında bulunur.

Arteriyal ve venöz dolaşım ile sinirsel innervasyon

A. renalis'ler L1-L2 omurları seviyesinde aorta abdominalis'ten doğarlar. A. renalis'ler hilum renale'ye gelince 5 segmental dala ayrılır. A. segmentalis denilen bu dalların, dördü pelvis renalis'in önünden, segmentum posterius'a ait segmental dal ise pelvis renalis'in arkasından geçer. A. segmentalis'ler sinus renalis'de tekrar dallarına ayrılır. A. interlobaris denilen bu dallar kaliks minor'ların çevresinde, columna renalis'de, kortikomedullar birleşim yerine kadar ilerler ve yan tarafa kıvrılarak a. arcuata'yı yaparlar. A. arcuata'lar birbirleriyle anastomoz yapmazlar. A. arcuata'lardan dik olarak kortikal cevher içine ayrılan dallara a.interlobularis denir. A.interlobularis'den çıkan dalcıklar arteriola glomerularis afferens adını alır. Bunlar Bowman kapsülünün damar kutbundan girerek rete capillare glomerulare denilen kapiller yumağını oluştururlar. Bu kapiller yumak tekrar birleşerek arteriola glomerularis efferens'i oluşturur. İlk önce v. interlobularis'ler oluşur; sonra sırasıyla v. arcuata, v. interlobaris, v. segmentalis ve sonuçta v. renalis olarak v. cava inferior'a açılırlar. Böbrekler, sempatik liflerini n. splanchnicus minor ve n. splanchnicus minimus'tan, parasempatiklerini n. vagus'tan alırlar.

Böbrekleri saran kılıflar

- 1- Capsula fibrosa: Böbreği saran ince fakat sağlam fibröz kapsüldür.
- 2- Capsula adiposa (Perirenal yağ tabakası): Capsula fibrosa'yı saran kapsüldür.
- 3- Fascia renalis (Gerato fasyası): Böbrekleri, üzerindeki capsula fibrosa, capsula adiposa ve glandula suprarenalis ile birlikte en dıştan sarar (6,7).

BÖBREKLERİN HİSTOLOJİK YAPISI

Böbreğin medial kenarı hilum adını alır. Üreterin genişlemiş üst kısmı olan renal pelvis iki ya da üç major kalise bölünmüştür. Bunlardan minör kalisler dallanır. Böbrek dışta korteks ve içte medulla olmak üzere iki bölüme ayrılır. Her böbrek 1 ile 4 milyon nefron içerir. Her bir nefron renal cisimcik, proksimal kıvrımlı tübül, Henle kangalı ve distal kıvrımlı tübülden oluşmaktadır. Her renal cisimcik glomerülden oluşmuştur. Glomerül iki tabakalı epitelyal bir kapsül olan Bowman kapsülü ile sarılmıştır. Kapsülün iç tabakası (visseral tabaka) glomerülün kapillerlerini örter. Dıştaki tabaka pariyetal tabakadır. Bowman kapsülünün pariyetal tabakası ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur.

Embriyonik gelişim sırasında pariyetal tabakanın epiteli nispeten değişmeksizin kalırken içteki visseral tabaka büyük oranda modifiye olur. Bu iç tabakadaki hücreler podosit adını alır. Gövdelerinden birkaç primer uzantı şekillenir. Her bir primer uzantı pedisel denen çok sayıda sekonder uzantı oluşturur. Pediseller glomerülün kapillerlerine sarılmış durumdadırlar. Sekonder uzantılar bazal lamina ile doğrudan temas halindedirler. Pediseller çok az organel içermelerine karşın çok sayıda mikrofilament ve mikrotübül bulundurlar. Podositlerin sekonder uzantıları birbirleriyle aralarında 25 nm'lik mesafe olacak şekilde kenetlenirler. Bu aralıklar filtrasyon yarıklarını oluştururlar. Podositlerin sitoplazmasında çok sayıda serbest ribozom ve belirgin bir Golgi kompleksi bulunur. Podositlerin sitoplazmasında bunların kasılabilmesini sağlayan aktin mikrofilament demetleri vardır.

Glomerül kapillerlerindeki endotel hücreleriyle, bunların dış yüzeyini örten podositler arasında kalın bir bazal membran bulunur. Bu bazal membran kapilerin ve podositin oluşturduğu bazal laminaların kaynaşmasından meydana gelmiştir. Elektron mikroskop yardımıyla ortada elektron yoğun bir tabaka (lamina densa) ve her iki yanda daha fazla elektron geçirgen bir tabaka (lamina rara) görülür. Lamina rara fibronektin içerir. Lamina densa ise negatif yüklü bir proteoglikan olan heparan sülfat içeren bir matriks içinde tip 4 kollajen ve lamininin oluşturduğu ağ şeklinde bir yapıdır.

Glomerül kapillerlerinde, endotel hücreleri ve podositlerin yanı sıra iki ya da daha fazla sayıdaki kapileri ortak olarak saran bazal laminanın kılıfının bulunduğu bölgelerde kapiler duvarına tutunan mezangiyal hücreler yer alır. Mezangiyal hücrelerin sitoplazmik uzantıları kapiler lümenine ulaşacak şekilde endotel hücrelerinin arasına sokulur. Hücreler kendilerini saran ve kapiler duvarına destek olan amorf matriksi sentezler.

Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epitel proksimal kıvrımlı tübüllerde prizmatik epitel şeklinde devam eder. Bu epiteldeki hücreler çok sayıda uzamış mitokondri içerirler. Hücre apeksinde fırçamsı kenarı oluşturan çok sayıda mikrovilluslar bulunur. Hücrelerin büyük olması nedeniyle her enine kesitte, hücrelerin merkezinde yer alan üç ile beş adet küre biçiminde çekirdek bulunur.

Henle kangalı kalın inen kol, bir ince inen kol, bir çıkan ince kol ve kalın çıkan koldan oluşan U şeklinde bir yapıdır. Bütün nefronların yaklaşık yedide biri kortikomedüller sınırın yakınında bulunurlar. Bu nefronlara jukstamedüller nefronlar diğer nefronlara ise kortikal nefronlar denir.

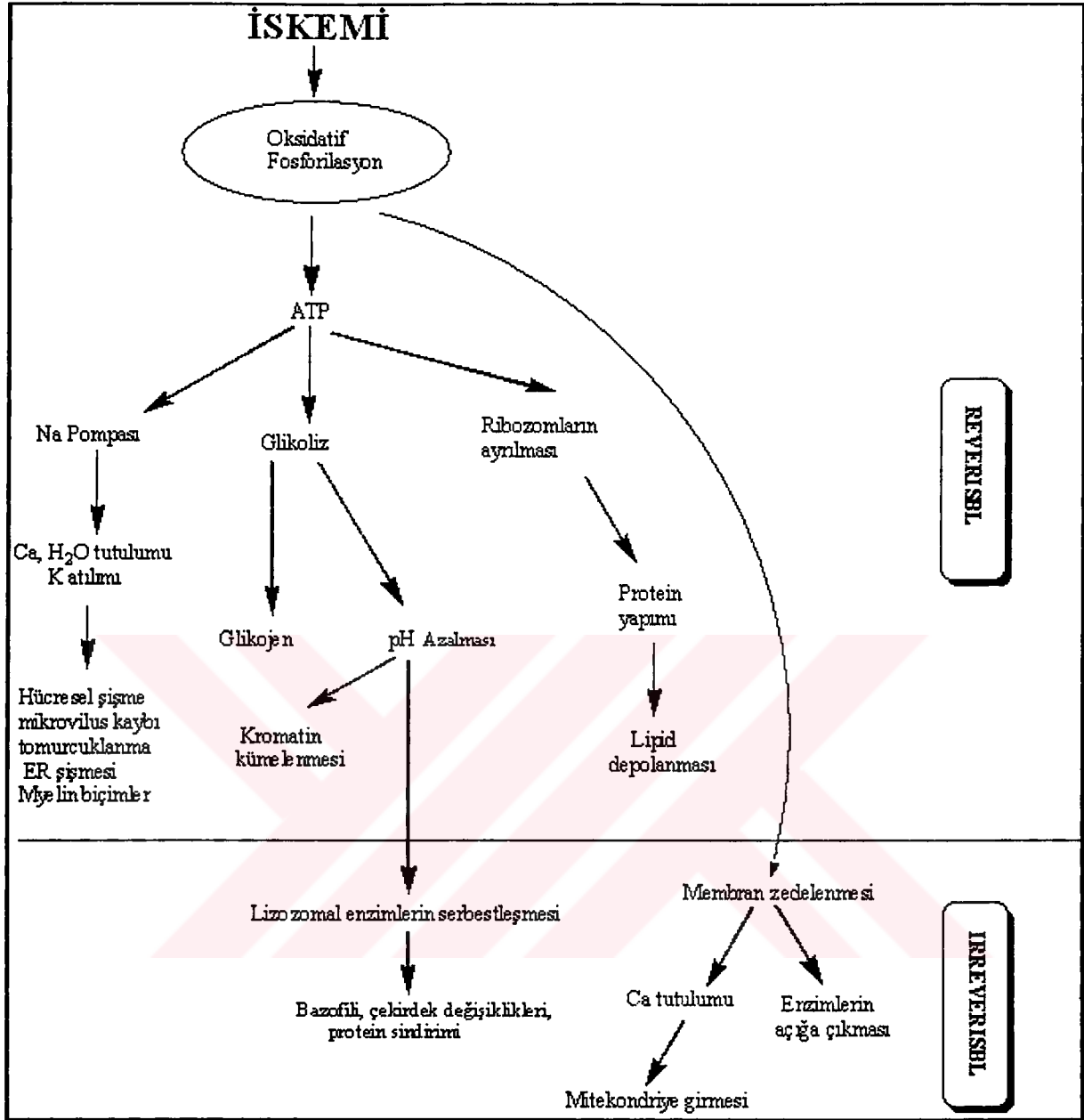
Distal kıvrımlı tübül tek katlı kübik epitelle döşelidir. Distal tübül hücrelerinde fırçamsı kenarlar bulunmaz. Mikroskopik preparatlarda nükleusların yakın yerleşimi yüzünden daha koyu renkli görünen distal tübül segmenti makula densa olarak adlandırılır. Renal cisimciğin hemen bitişiğinde afferent arteriyolün tunika mediyasında modifiye düz kas hücreleri bulunmaktadır. Bu hücelere jukstaglomerüler hücreler adı verilir (8).

İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

İskemi

Dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacı ile dolaşım tarafından bunların sunumu arasındaki dengesizlik iskemi olarak adlandırılır.

1- Geri dönüşlü zedelenme: Hipoksinin ilk zarar verdiği yer hücrenin aerobik solunumudur. Adenozin trifosfat (ATP) oluşumu yavaşlar ve durur. Özellikle hücre zarının ATP aktivitesinin azalması zarda aktif sodyum pompasının yetersizliğine yol açarak hücre içi sodyum birikimine ve hücreden potasyumun dışarı atılımına yol açar. Solit materyalin birikimine izoosmotik su birikimi eşlik ederek akut hücresel şişme olur. Hücresel ATP azlığı adenozin monofosfat (AMP) artımı ile birliktedir. Fosfofrüktokinaz enzimini uyarır, anaerobik glikoliz hızı artarak glikojenden ATP oluşumu ile hücre enerji kaynakları korunur. Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinden hidroliz sonucu oluşan inorganik fosfat birikimine yol açarak hücre içi pH'yı düşürür. Granüllü endoplazma retikulumundan ribozomlar ayrılır ve polizomlar monozomlara parçalanır (Şekil 1).



Şekil 1. İskemik hasarda olaylar dizisi (9,10)

Hipoksi devam ederse membran geçirgenliği artar ve mitokondri fonksiyonları azalır. Mitokondriler normal, şişmiş ya da gerçekten yoğunlaşmıştır. Endoplazma retikulumu genişlemiştir ve tüm hücre belirgin olarak şişmiştir. Bu bozuklukların tümü oksijen verilince geri dönüşlüdür. Eğer iskemi sürerse geri dönüşsüz zedelenme oluşur.

2- Geri dönüşsüz zedelenme: Geri dönüşsüz zedelenme yapısal olarak mitokondri ve kristalarında aşırı vakuolizasyon, plazma zarında aşırı zedelenme, lizozomlarda şişme ve

özellikle iskemik alan yeniden beslenirse hücre içine yoğun kalsiyum tutulumu ile birliktedir. Amorf kalsiyumdan zengin yapılar mitokondri matriksinde gelişir.

Proteinler, ribonükleik asitler aşırı geçirgen zarlardan sürekli kaybedilir. Hücreler ATP'nin yeniden oluşumu için hayati önemi olan metabolitlerini de kaybeder. pH'nın düşmesi sonucu lizozom zarları zedelenir. Enzimleri sitoplazmaya geçerek sitoplazmik ve çekirdek yapıların sindirimine yol açar. Hücre ölümünü izleyerek, hücre organelleri devamlı parçalanır. Hücresel enzimler hücre dışı mesafeye sızarlar. Hücreler arasındaki makromoleküller ölü hücreye girerler. Sonuçta ölü hücreler myelin biçimleri ve fosfolipidlerden oluşan büyük kitlelere dönüşürler. Bunlar daha sonra diğer hücreler tarafından fagosite edilir veya yağ asitlerine parçalanırlar.

Geri dönüşsüz zedelenmeyi karakterize eden iki olay vardır. Birincisi mitokondri bozukluğunun reperfüzyon ve reoksijenasyonuna rağmen düzeltilemeyişi ve ikincisi membran fonksiyonlarının çok ciddi bozukluğudur.

Membran zedelenmesinin oluşumunda dört potansiyel neden suçlanmaktadır.

1- Membran fosfolipidlerinin giderek artan kaybı: Oksijen kaybı, mitokondri ve endoplazmik retikulumu içine alan kalsiyum artıklarının birikimi ve sitozolik kalsiyum artışının nedenidir. Fosfolipidlerin sürekli kaybı sonucu ATP-bağımlı fosfolipidlerin yeniden yapımı veya dönüşümü olmaz.

2- Hücre iskelet anomalileri: İskemide hücre iskeletinden hücre membranının ayrılması hücre şişmesinde görülür. Hücre iskelet proteinlerinin parçalanması, sitozolik kalsiyum artışıyla hücre içi proteazlarının aktivasyonu sonucudur.

3- Toksik oksijen radikalleri: İleri derecede toksik olan kısmen oksijenasyonu azalmış türevler hücre membran ve diğer hücre yapılarında zedelenmeye yol açar. Toksik oksijen türevlerinin büyük ölçüde reperfüzyon sırasında iskemi alanında infiltre olan polimorfonükleer lökositler tarafından yapıldığı düşünülmektedir.

4- Lipid yıkım ürünleri: İskemik hücrelere membranlar üzerinde deterjan etkisi olan fosfolipidlerin parçalanması sonucu katabolik ürünler birikir.

Sonuç olarak, hipoksi oksidatif fosforilasyonu etkiler ve hayati olan ATP yapımını engeller; kritik noktadan sonra öldürücü olan membran zedelenmesi yapar. Kalsiyum hücre ölümünde yapısal değişikliklerin potansiyel mediatörüdür.

Hücre zedelenmesinde serbest radikallerin etkisi

Hücre zedelenmesinde önemli bir mekanizma da; kısmen oksijen türevleri ile aktifleşen, iskemik reperfüzyondaki serbest radikallere bağlı zedelenmedir. Bu reaktif türevlerin etkili olduğu hücre zedelenmesinde 4 reaksiyon önemlidir.

1- Membran lipid peroksidasyonu: Oksijen varlığında serbest radikaller plazma ve organel membranlarındaki lipidlerin peroksidasyonuna neden olduğundan endoplazma retikulumu, mitokondri ve diğer mikrozomal birimlerin zedelenmesine yol açar.

2- Peroksidatif olmayan mitokondri hasarı: Bu etki peroksidasyondan bağımsızdır. Mitokondri fonksiyonunu kaybettirerek mitokondri hipoksisini taklit eder.

3- DNA lezyonları: Timinle reaksiyonda DNA tek zincirler halinde kırılır. Hem hücre ölümü hem de hücrenin malign transformasyonunda suçlanan DNA hasarı oluşturabilir.

4- Proteinlerin çarpaz bağları: Metionin, histidin, sistin gibi labil aminoasitlerin çarpaz bağları hücrelerde özellikle sülfidril enzimleri gibi inaktif enzimleri yükseltebilirler (9).

Reperfüzyon

İskemi sonrasında dokuda tekrar dolaşımın başlamasıdır.

Reperfüzyon hasarında rol oynayan mekanizmalar:

1- Serbest oksijen radikalleri (SOR): SOR başlıca oksijenin suya indirgenmesi sırasında ortaya çıkar. Karbonhidratlar, aminoasitler, fosfolipidler ve DNA gibi birçok madde ile reaksiyona giren moleküllerdir. Serbest oksijen radikalleri hücre için toksik moleküllerdir. SOR hücre membranı ve mitokondriyal membranlardaki lipidleri perokside ederler. Sonuçta bozulan membran geçirgenliği ile hücrede ve mitokondride şişme meydana gelir.

2- Reperfüzyon hasarında nötrofiller: İskemi sonrasında endotelin hasar görmesi ile nötrofil ve platelet aktivasyonu meydana gelmektedir. İskemi-reperfüzyon sahasına gelen nötrofiller bu bölgede SOR üreterek, proteolitik enzimlerini degranüle ederek hasar oluştururlar. Ayrıca nötrofiller aktive olmaları sonrasında fleksibl yapılarını kaybederek mikrosirkülasyonda takılarak embolizasyona ve "no-reflow" fenomeninin gelişmesine katkıda bulunurlar.

3- Kalsiyum (Ca^{++}) aracılı iskemi-reperfüzyon hasarı: Ciddi doku hasarı gelişiminde en önemli neden intrasellüler kalsiyum iyonlarının reperfüzyon sırasında hücre ve organelleri içinde aşırı birikimidir.

İskemi sonrasında bozulan endotel ve hücre zarı fonksiyonları sonucunda hem intrasellüler, hem de ekstrasellüler ödem ortaya çıkar. Endotel hücrelerinde şişme ve ekstrasellüler aralığa sızan sıvının neden olduğu bası ile kapiller damar lümeninin daralması sonucunda perfüzyon tekrar elde edilse de mikrosirkülasyonda ciddi yetersizlikler ortaya çıkar (11).

SERBEST RADİKALLER

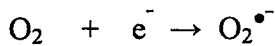
Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktifler. Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler (12,13).

Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir.

Oksijenin elektronları o şekilde dağılmışlardır ki bu elektronlardan iki tanesi eşleşmemiştir. Bu yüzden oksijen bazen bir 'diradikal' olarak da değerlendirilir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar.

1- Süperoksit Radikali ($O_2^{\bullet-}$): Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\bullet-}$) meydana gelir.

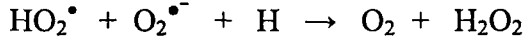


Süperoksit direk olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksitin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevidir olan peroksinitrit meydana gelir.

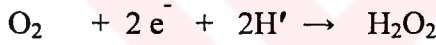
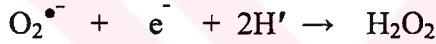


Böylece NO^{\bullet} 'in normal etkisi inhibe edilir. Ayrıca, peroksinitritlerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit (NO_2^{\bullet}), hidroksil radikali (HO^{\bullet}) ve nitronyum iyonu ($\text{NO}_2^{\bullet-}$) gibi daha başka toksik ürünlere dönüşürler. Süperoksit, düşük pH değerlerinde daha reaktif olup oksidan perhidroksil radikali (HO_2^{\bullet}) oluşturmak üzere protonlanır. Süperoksit anyonu, hem oksitleyici hem de redükleyici özelliğe sahiptir. Redükta olarak görev yaptığında bir elektron kaybeder ve oksijene okside olur. Oksidan olarak görev yaptığında bir elektron alır ve hidrojen peroksit indirgenir.

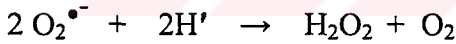
Süperoksit ile perhidroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelirler.



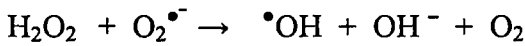
2- Hidrojen Peroksit (H_2O_2): Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi meydana getirir. H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır.



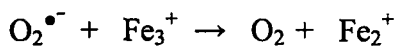
Ancak, biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.

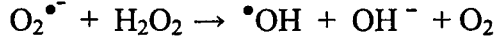
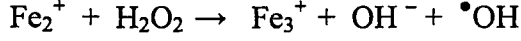


Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.



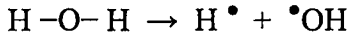
Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Haber-Weiss reaksiyonu ya katalizör varlığında ya da katalizörsüz gerçekleşebilir. Fakat, katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Demirle katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe_3^+) süperoksit tarafından ferro demire (Fe_2^+) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten $^{\bullet}\text{OH}$ ve OH^- üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki şekildedir.





Görüldüğü gibi süperoksid, hem hidrojen peroksid kaynağı hem de geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir. İndirgenmiş geçiş metalleri (demir ve bakır gibi) okside şekillerine göre hidrojen peroksitle daha reaktiftirler.

3- Hidroksil Radikali (HO^\bullet): Hidroksil radikali hidrojen peroksidin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu ile) meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur. Son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştugu yerde büyük hasara sebep olur.



4- Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$): Ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur. Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle oluşur.

Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller permeabilityyi bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır.

1- Membran lipidlerine etkileri (Lipid peroksidasyonu): Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipidler en hassas olanıdır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.

Lipidlerden, araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine 'enzimatik lipid peroksidasyonu', diğer radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna ise 'non-enzimatik lipid peroksidasyonu' adı verilir.

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksitlerinin yıkımı, geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Lipid hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehidler oluşurlar. Bu bileşikler, ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift

bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbitürik asitle ölçülebilen MDA meydana gelir. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir.

2- Proteinlere etkileri: Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri amino asid kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asidlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin $O_2^{\bullet-}$ veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olur.

3- Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri: İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksisite, büyük oranda, nükleik asid baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır.

4- Karbonhidratlara etkileri: Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksidler ve okzoaldehydler meydana gelirler. Okzoaldehydler DNA, ribonükleik asit (RNA) ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (12).

Serbest radikallerin hücre ve dokularda neden oldukları zararlar özetlenirse (13),

- 1- DNA'nın tahrip olması,
- 2- Nükleotid yapılı koenzimlerin yıkımı,
- 3- Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması hücre ortamının tiol/disülfit oranının değişmesi,
- 4- Protein ve lipidlerle kovalan bağlantılar yapması,
- 5- Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler,
- 6- Mukopolisakkaritlerin yıkımı,
- 7- Proteinlerin tahrip olması ve "protein turnover"ının artması,
- 8- Lipid peroksidasyonu, zar yapısı ve fonksiyonunun değişimi,
- 9- Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
- 10- Seroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi,
- 11- Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşması.

Tablo 1. Serbest radikal türleri(10).

Radikal	Simge	Tanımlama
Hidrojen	H [•]	Bilinen en basit radikal
Süperoksit	O ₂ ^{•-}	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil	HO [•]	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti radikal
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	Reaktivitesi en düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	¹ O ₂	Yarılanma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen formu
Perhidroksil radikali	HO ₂ [•]	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikali	ROO [•]	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur
Triklorometil radikali	CCl ₃ [•]	CCl ₄ metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal
Thyl radikali	RS [•]	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil	RO [•]	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrik oksit	NO [•]	L-arjinin aminoasitinden invivo üretilir
Azot dioksit	NO ₂ [•]	NO'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

ANTIÖKSİDANLAR

Antioksidan savunma mekanizmaları

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar "antioksidan savunma sistemleri" olarak bilinirler (12).

Başlıca antioksidan etki çeşitleri şunlardır:

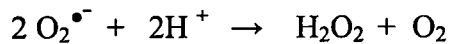
- 1- Reaktif oksijen türlerinin enzimsel reaksiyonlar aracılığı ile veya doğrudan temizlenmesi.
- 2- Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi.
- 3- Metal iyonlarının bağlanması ve böylece radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi.
- 4- Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi (4).

Tablo 2. Antioksidan sistemin başlıca elemanları (4,10).

ENZİMLER	YAĞDA ÇÖZÜNEN RADİKAL TUTUCULAR
Süperoksit dismutaz Katalaz Glutasyon peroksidaz Glutasyon redüktaz Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz Sitokrom oksidaz	E Vitamini β-Karoten Bilirubin Ubikinol Flavonoidler Melatonin
SUDA ÇÖZÜNEN RADİKAL TUTUCULAR	METAL İYONLARINI BAĞLAYAN PROTEİNLER
Glutasyon C Vitamini Ürik asit Glikoz Sistein	Ferritin Transferrin Haptogloblin Hemopeksin Seruloplazmin

Enzimatik antioksidanlar

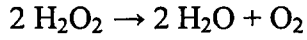
1- Süperoksit Dismutaz (SOD): SOD enzimi süperoksidin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Selüler bölmelerdeki süperoksit düzeylerini kontrol etmede önemli bir rol oynar.



SOD'ın katalize ettiği reaksiyonun hızı spontan reaksiyonun yaklaşık 4000 katıdır. Enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO₂ artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit olmasına rağmen bu enzim sayesinde intraselüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur. SOD'm ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür (11).

2- Katalaz (CAT): Katalaz 4 tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Görevi, hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalamaktır. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek

olarak, bu enzim bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Peroksizomlarda lokalizedir.



Katalaz'ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksid ve metil,etil hidroperoksidleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksidlerine ise etki etmez (12,14).

Enzimatik olmayan antioksidanlar

1- Melatonin (N-Asetil-5-metoksitriptamin): Melatonin, en zararlı radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Bu yüzden, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir.

Melatonin antioksidan olarak diğer önemli bir özelliği de lipofilik olmasıdır. Dolayısı ile hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin bariyeri gibi bariyerleri de kolayca geçer. Böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir.

Melatoninin bir başka avantajı, diğer antioksidanların aksine çok yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve uzun süre kullanımda (5 yıla kadar) bile toksik bir etkisinin olmamasıdır. Melatoninin hücre çekirdeğine girebilmesi onun DNA'yı oksidatif hasardan koruması bakımından diğer antioksidanlara göre çok daha üstün bir özelliğini teşkil eder. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi de azalır ki bunun da yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olabileceği kaydedilmiştir (12).

Melatonin pineal bez tarafından üretilir. Melatonin biyosentezinde başlangıç maddesi pineal bez tarafından aktif transportla plazmadan alınan ve bir indol amino asit olan triptofandır. Triptofan, pineal bez tarafından aktif transportla plazmadan alınır. Triptofan esansiyel bir amino asit olup, dışardan alınması gerekir. Triptofan pinealositlerde triptofan hidroksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptofana hidroksillenir. 5-hidroksitriptofan aromatik-L-amino asit dekarboksilaz ile 5-hidroksitriptamine (serotonin) dekarboksillenir. Serotonin N-asetiltransferaz (NAT) enzimi ile N-asetilserotonine ve bu da hidroksiindol-o-metil transferaz (HIOMT) etkisi ile melatonine dönüşür. Pineal bezde kan beyin bariyeri bulunmamaktadır. Melatonin üretimini takiben basit difüzyon ile sekrete edilir. Melatoninin %70'i albumine bağlıdır. Gerek bağlı, gerek serbest melatonin kan ile beyin omurilik sıvısı (BOS) arasında çarpaz geçiş halindedir. Melatoninin sentezi ve salınımı gece boyunca en yüksek düzeydedir. Melatonin salgısı karanlık çökmesinden hemen sonra başlar, gecenin ortasında (saat 2.00 ile 4.00 arasında) doruk yapar ve gecenin ikinci yarısında giderek azalır (15-17).

Serum melatonin konsantrasyonları yaşa göre büyük değişiklik gösterir. Üç aylıktan daha küçük olan bebekler çok az melatonin salgılar. Daha büyük bebeklerde melatonin salgısı artar ve sirkadiyen doğasını kazanır, gece doruk yoğunlukları en yüksek seviyesine bir ile üç yaş arasında ulaşır ve giderek azalır (15).

Melatonin büyük ölçüde karaciğerde hidrosilasyonla hızla metabolize olur ve sülfürik yada glukuronik asitle konjuge olduktan sonra idrarla atılır. İntravenöz yoldan verilen melatonin hızla dağılır ve vücuttan atılır. Serum yarı ömrü 0,5-5,6 dakika arasında değişmektedir (16).

2- Vitamin E: Doğal olarak alfa, beta, gama, delta ve zeta gibi çeşitli tokoferoller bulunmaktadır. α -tokoferol en geniş doğal dağılımı ve en büyük biyolojik aktiviteyi gösterir. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan tokoferol α -tokoferol'dür. α -tokoferol dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur. En yüksek vitamin E konsantrasyonları, mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında bulunur. Miyokard membranlarındaki miktarı da fazladır.

Bitkisel yağlar ve tohumlar, E vitamininden zengin kaynaklardır. Diyetle, yağda çözülmüş olarak alınır, yağ sindirimi sırasında açığa çıkar ve emilir. Emilebilmesi için yağ emiliminin ve safra asidlerinin normal olması gerekir. Herhangi bir taşıyıcı protein olmadan, pasif difüzyonla emilir. Önce, şilomikron yapısına dahil olur. Şilomikronlar lipoprotein lipaz aracılığı ile hidroliz olurken E vitamininin bir bölümü dokulara taşınır. Kalan E vitamini ise şilomikron kalıntıları ile birlikte karaciğer tarafından alınıp, hepatik kökenli VLDL'ler aracılığı ile tekrar dolaşıma salınır veya HDL'e transfer edilir. E vitamini en fazla LDL'de bulunur. Bir LDL molekülünde ortalama 6 tane α -tokoferol molekülü vardır. Plazma konsantrasyonu ise 0.5-1.8 mg/dl kadardır.

Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asidlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. E vitamini, süperoksid ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksi radikallerini ve diğer radikal örneklerini indirger.

E vitamini zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinir. Çünkü fonksiyonları, lipid peroksi radikallerini parçalamak ve böylece lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırmaktır. Sonuçta oluşan tokoferoksil radikali nispeten stabildir ve lipid peroksidasyonunu kendi kendine başlatmak için yeterince reaktif değildir. Tokoferolün antioksidan etkisi, yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. En yüksek oksijen kısmi basıncına maruz kalan lipid yapılarında, örneğin eritrosit membranları ve solunum sistemi membranlarında yoğunlaşma eğilimindedir.

E ve C vitamini verilmesinin yaşı kişilerde ortalama kan lipid peroksid konsantrasyonlarında bir azalmayla sonuçlandığı görülmüştür. Serbest radikallerin kanserin başlamasında rol aldığı ve E vitamini ile diğer antioksidanların antikanserojen etki göstererek kanserin yayılmasını ve tümörün büyümesini önlediği kaydedilmiştir (12).



GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deneysel çalışmamız, her grupta 6 adet rat olmak üzere, 4 grupta toplam 24 rat üzerinde gerçekleştirildi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde bakımı gerçekleştirilen ve ağırlıkları 233-339 gram arasında değişen Wistar-albino ratlar, 22 °C'lik ısıda ve 12 saat gece, 12 saat gündüz ortamda tutularak standart rat yemi ile beslendiler.

Anestezi için; ketamin İ.M. (100mg/kg) ve İ.M. Rompum (10 mg/kg) kullanıldı. Hayvanlar tahta masaya yatırıldı ve karın ciltleri Povidon iodine ile temizlendikten sonra tıraş edildi ve tüm ratlara orta hat laparatomisi yapıldı.

A Grubu: Kontrol grubu.

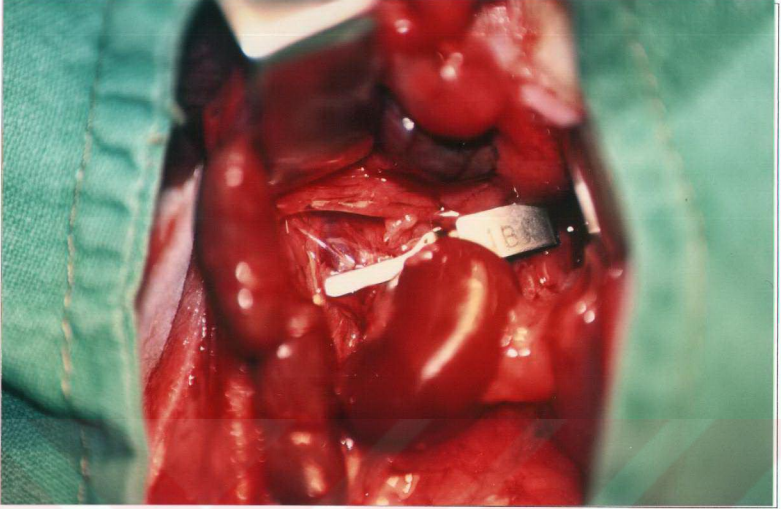
B Grubu: İskemi-reperfüzyon uygulanan grup

C Grubu: İskemi-reperfüzyon ve melatonin 10 mg/kg uygulanan grup

D Grubu: İskemi-reperfüzyon ve E Vitamini 100 mg/kg uygulanan grup

A grubuna laparotomi uygulandı. Laparotomi sonrası B, C, D gruplarındaki ratların sol renal arter ve venleri çevre yapılardan disseke edildi. Sol renal arter ve renal ven mikrovasküler klemple oklüze edilerek 60 dakika süre ile iskemi uygulandı (Resim 1).

A grubuna laparotomi yapılmadan 72, 48, 24 saat ve 30 dakika önce 1ml/kg serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi. B grubuna iskemi uygulanmadan 72, 48, 24 saat ve 30 dakika önce 1ml/kg serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi. C grubuna iskemi uygulanmadan 72, 48, 24 saat ve 30 dakika önce 10 mg/kg melatonin (Sigma M-5250) intraperitoneal olarak verildi. D grubuna ise iskemi uygulanmadan 72, 48, 24 saat ve 30 dakika



Resim 1. Renal arter ve vene mikrovasküler klemp ile iskemi uygulanması

önce 100mg/kg E vitamini intraperitoneal olarak verildi. İskemi yapılan B, C, D gruplarında 60 dakika sonra klemp açılarak reperfüzyon sağlandı. Reperfüzyonun 60. dakikasında antioksidan enzim düzeyleri, MDA, ışık ve elektron mikroskopisi için böbrek dokuları alındı.

Biyokimyasal Analizler

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Beckman Coulter marka, Synchron LX20 model seri numarası 1725, kat no 466220 olan otoanalizörde ratların üre, kreatinin değerleri çalışıldı. Üre için lot numarası T403047, kreatinin için lot numarası T3122102 idi. Üre ve kreatinin iyon selektif metodla çalışılmıştır.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Antioksidan Araştırma Laboratuvarı'nda ratların SOD, CAT ve MDA değerleri çalışıldı. Alimunyum folyo içinde paketlenen rat böbrek dokuları SOD, CAT ve MDA için -70°C 'de saklandı. Böbrek dokusu -70°C 'den çıkarıldıktan sonra buz çözülmeyen kesilerek tartıldı. SOD ve CAT enzim aktiviteleri için 50 mM Fosfat tamponu (pH 7.4) ile % 10'luk (w:v) olacak şekilde ve MDA için 0.15 M KCl solüsyonu hazırlandı. Homojenizatör ile buz üstünde homojenize edildi. Hazırlanan homojenatlar

4000 rpm'de 10 dk +4 °C'de santrifüj edildi ve süpernatant ayrıldı. Ayrılan süpernatantlar spektrofotometrik SOD, CAT ve MDA enzim aktiviteleri ile protein ölçümlerinde kullanıldı.

SOD enzim aktivitesi Sun ve ark. tarif ettiği metoda göre tayin edildi (18). Bu metod, SOD tarafından ksantin- ksantin oksidaz yoluyla üretilen süperoksit radikallerinin, H₂O₂'ye dönüştürülmesi ve nitroblue tetrazolium (NBT)'u indirgemesi esasıyla çalışan bir methoddur. İndirgenen NBT 560 nm'de maksimum absorbans veren mavi renkli formazana dönüşür. Sonuçlar U/ mg protein şeklinde ifade edildi.

Bu çalışmada CAT enzimi tayini için Aebi yöntemi kullanıldı (19). CAT katalitik aktivitesiyle H₂O₂, dekompoze ederek su ve oksijene dönüştürmektedir. H₂O₂ ultraviyole spektrumunda absorpsiyon veren bir maddedir. Maksimal absorbans 240 nm'de meydana gelmektedir. Deney ortamına ilave edilen H₂O₂'nin CAT tarafından su ve oksijene parçalanması 240 nm'de absorbans azalması ile kendini gösterir. Absorbansda gözlenen bu azalma ortamdaki CAT enzim aktivitesi ile doğru orantılı bir eğilim göstermektedir. Sonuçlar k/mg protein şeklinde ifade edildi.

Malondialdehit miktar tayini, lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle saptandı (20). MDA sonuçları nmol/mg doku olarak ifade edildi.

Protein miktarı belirtimi Lowry metoduna göre yapıldı (21). Bu metod, proteinin yapısında bulunan tirozin ve triptofan amino asitlerinin fosfotungstat kompleksini molibden mavisine indirgemesi prensibine dayanır. Reaksiyon bakır (Cu²⁺) ile belirginleştirilir.

Işık Mikroskopisi

Böbrek dokuları % 10'luk formalin solüsyonunda fikse edilip otomatik doku takip cihazında (Leica TP 1050, Almanya) gün boyunca doku takibine alındı. Daha sonra doku gömme cihazında (Leica EG 1160, Almanya) parafin bloklarına gömüldü. Rotary mikrotom ile (Shandon M1R, Fransa) parafin bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen-Eosin (HE) boyası ile boyandı. Binoküler mikroskopta (Jenamed, Carl Zeiss Jena, Almanya) özel işaretli oküler yardımıyla incelendi. Nikon marka 400 bölmeli okülerle nekroz odakları ve hücre debris odakları sayılarak yüzdeler belirlendi.

Elektron Mikroskopisi

Böbrek hücre organel hasarlarını incelemek amacıyla, reperfüzyondan 60 dakika sonra tüm gruplardaki ratların sol böbreklerinden histopatolojik inceleme için örnekler alındı. Alınan dokular ilk önce %2.5'lük fosfat tamponlu gluteraldehite konuldu. Ardından dokular %1'lik fosfat tamponlu osmiyum tetroksit (OsO_4) ile fikse edildi. Sırasıyla %30'luk ve %100'lük alkollerde dehidratasyon ve propilen olesid banyolarından sonra dokular Epon 812 ile bloklandılar. Raychert ultramikrotomla kesildiler ve uranil asetatla boyandılar.

Boyalı kesitler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim dalında Seol 1010 elektron mikroskobu ile değerlendirildiler.

İstatiksel Analiz

Çalışmadaki verilerin istatistiksel analizi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem Merkezindeki minitab paket programı (SOO64 minitab Release 13) (Lisans No: wcp.1331.00197) kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis Varyans analizi ile yapılmış olup, anlamlı çıkanlar Mann-Whitney-U testi ile karşılaştırılmıştır. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm parametrelerin ortalamaları Ortalama \pm SD olarak gösterilmiştir.

BULGULAR

Sıçanlara 72, 48, 24 saat ve 30 dakika önce antioksidan enjeksiyonundan sonra 60 dakika iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uygulanarak deneysel böbrek iskemi-reperfüzyon modeli oluşturuldu. Her grupta 6 adet sıçan üzerinde çalışıldı.

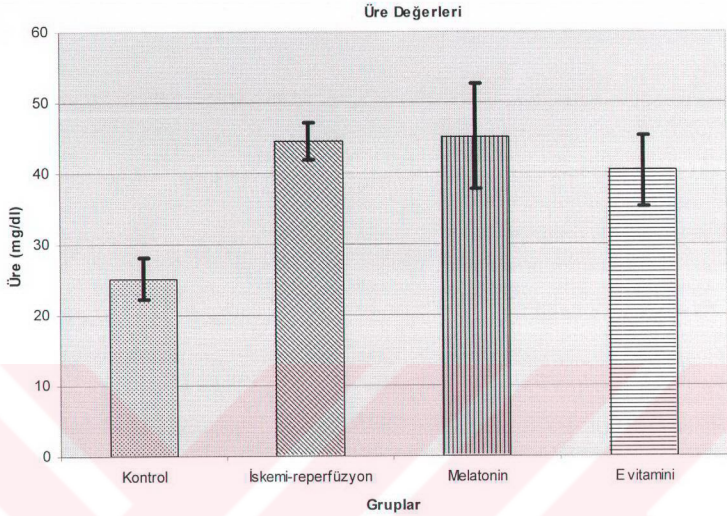
Çalışmamızdaki sıçanlar her enjeksiyon öncesi tartularak ağırlık değişiklikleri saptandı. Antioksidanların dozları bu ağırlıklara göre hesaplanarak uygulandı.

Grup A serum üre değerlerinin ortalaması 25.17 ± 2.927 mg/dl (min:22, max: 30) olarak bulundu. Grup B serum üre değerlerinin ortalaması 44.50 ± 2.588 mg/dl (min:42, max: 49) olarak bulundu. Grup A ile Grup B karşılaştırıldığında üre değerlerindeki artış, istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.002$). Grup C serum üre değerlerinin ortalaması 45.17 ± 7.494 mg/dl (min:38, max: 55) olarak bulundu. Grup D serum üre değerlerinin ortalaması 40.33 ± 4.967 mg/dl (min:33, max: 47) olarak bulundu. Tüm gruplara ait üre değerleri Tablo 3 ve Şekil 2'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Çalışma gruplarının verilerinin karşılaştırılması.

VERİLER	Grup A (n=6)	Grup B (n=6)	Grup C (n=6)	Grup D (n=6)
Üre (mg/dl)	25.17 ± 2.927	44.50 ± 2.588	45.17 ± 7.494	40.33 ± 4.967
Kreatinin(mg/dl)	0.45 ± 0.083	0.56 ± 0.051	0.51 ± 0.040	0.48 ± 0.075
SOD (U/mg protein)	8.186 ± 0.516	6.261 ± 0.569	8.095 ± 1.237	8.016 ± 0.999
CAT (k/mg protein)	0.343 ± 0.024	0.298 ± 0.147	0.296 ± 0.052	0.306 ± 0.027
MDA (nmol/mg)	0.445 ± 0.020	0.666 ± 0.095	0.515 ± 0.076	0.515 ± 0.088
Nekroz (%)	0.00 ± 0.00	10.42 ± 3.232	3.42 ± 1.602	5.72 ± 3.111
Hücre Debri (%)	0.00 ± 0.00	12.52 ± 3.792	6.53 ± 2.541	8.18 ± 3.689

Şekil 2. Tüm grupların üre değerleri.



Grup A ile antioksidan verilen gruplar karşılaştırıldığında (Grup C ve Grup D) üre değerlerindeki artış, istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.002$). Gruplar arası üre değeri karşılaştırmalarının p değerleri Tablo 4’de gösterilmiştir.

Tablo 4. Çalışma gruplarının p değerlerinin karşılaştırılması.

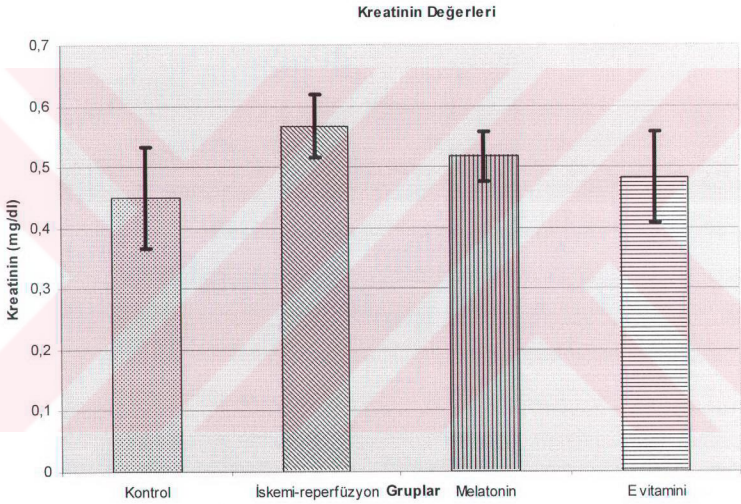
GRUPLAR	Üre	Kreatinin	SOD	MDA	CAT	Nekroz	H. Debri
Grup A- Grup B	0.002	0.041	0.002	0.002	0.004	0.002	0.002
Grup A- Grup C	0.002	0.132	0.485	0.065	0.041	0.002	0.002
Grup A- Grup D	0.002	0.485	0.589	0.093	0.026	0.002	0.002
Grup B- Grup C	0.699	0.180	0.009	0.026	0.937	0.002	0.015
Grup B- Grup D	0.180	0.093	0.004	0.026	0.589	0.065	0.065
Grup C- Grup D	0.310	0.485	0.937	1.000	0.818	0.310	0.394

Grup A serum kreatinin değerlerinin ortalaması 0.45 ± 0.083 mg/dl (min: 0.4, max: 0.6) olarak bulundu. Grup B serum kreatinin değerlerinin ortalaması 0.56 ± 0.051 mg/dl (min: 0.5, max: 0.6) olarak bulundu. Grup A ile Grup B karşılaştırıldığında kreatinin değerlerindeki artış,

istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.041$). Grup C serum kreatinin değerlerinin ortalaması 0.51 ± 0.040 mg/dl (min:0.5, max: 0.6) olarak bulundu. Grup D serum kreatinin değerlerinin ortalaması 0.48 ± 0.075 mg/dl (min:0.4, max:0.6) olarak bulundu. Tüm gruplara ait kreatinin değerlerinin verileri Tablo 3 ve Şekil 3'te gösterilmiştir.

Grup A ile antioksidan verilen gruplar karşılaştırıldığında (Grup C ve Grup D) kreatinin değerlerindeki artış, istatistiksel olarak, anlamlı değildi ($p>0.05$). Gruplar arası kreatinin değeri karşılaştırmalarının p değerleri Tablo 4'de gösterilmiştir.

Şekil 3. Tüm grupların kreatinin değerleri.



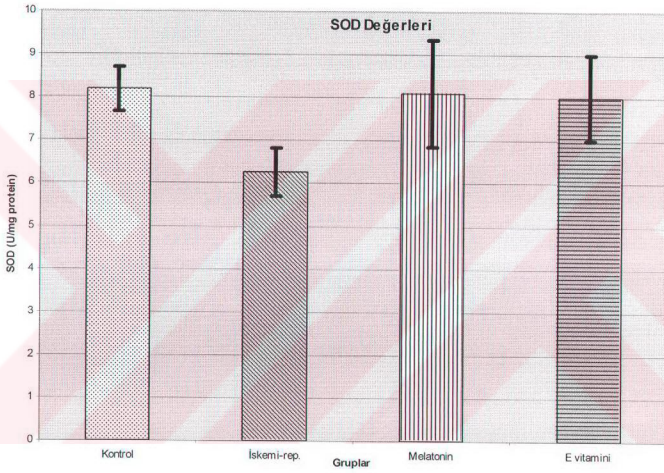
Grup A SOD aktivitelerinin ortalaması 8.186 ± 0.516 U/ mg protein (min:7.39, max:8.81) olarak bulundu. Grup B SOD aktivitelerinin ortalaması 6.261 ± 0.569 U/ mg protein (min:5.65, max:7.21) olarak bulundu. Grup A ile Grup B karşılaştırıldığında SOD aktivitelerindeki azalış, istatistiksel olarak, anlamlı idi ($p=0.002$). Grup C SOD aktivitelerinin ortalaması 8.095 ± 1.237 U/ mg protein (min:7.08, max:10.36) olarak bulundu. Grup D SOD aktivitelerinin ortalaması 8.016 ± 0.999 U/ mg protein (min:6.61, max:9.57) olarak bulundu. Tüm gruplara ait SOD aktiviteleri Tablo 3 ve Şekil 4'te gösterilmiştir.

Grup A ile antioksidan verilen gruplar karşılaştırıldığında (Grup C ve Grup D) SOD aktivitelerinin azalışı, istatistiksel olarak, anlamlı değildi ($p>0.05$).

Grup B ile Grup C SOD aktivitesi bakımından karşılaştırıldığında, Grup C SOD aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p=0.009$). Grup B ile Grup D SOD aktivitesi bakımından karşılaştırıldığında, Grup D SOD aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p=0.004$).

Grup C ile Grup D SOD aktivitesi bakımından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.937$). Gruplar arası SOD aktivitesinin karşılaştırmalarının p değerleri Tablo 4’de gösterilmiştir.

Şekil 4. Tüm grupların SOD U/ mg protein değerleri.



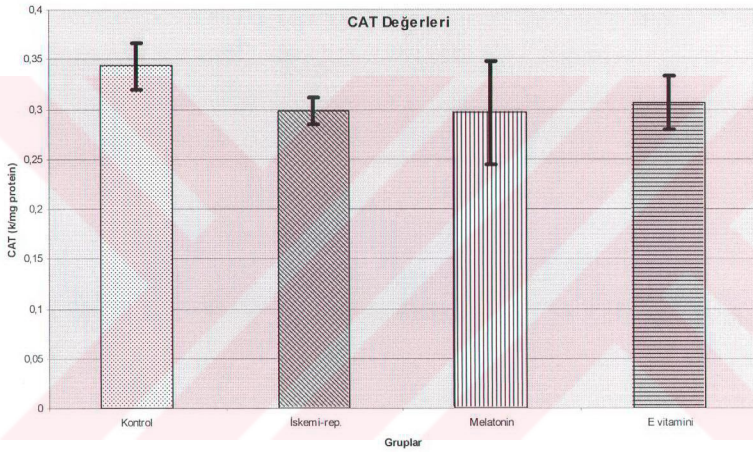
Grup A CAT aktivitesinin ortalaması 0.343 ± 0.024 k/mg protein (min:0.32, max:0.38) olarak bulundu. Grup B CAT aktivitesinin ortalaması 0.298 ± 0.147 k/mg protein (min:0.28, max:0.32) olarak bulundu. Grup A ile Grup B karşılaştırıldığında CAT aktivitesindeki azalış, istatistiksel olarak, anlamlı idi ($p=0.004$). Grup C CAT aktivitesinin ortalaması 0.296 ± 0.052 k/mg protein (min:0.21, max:0.37) olarak bulundu. Grup D CAT aktivitesinin ortalaması 0.306 ± 0.027 k/mg protein (min:0.27, max:0.35) olarak bulundu. Tüm gruplara ait CAT aktivitesi Tablo 3 ve Şekil 5’de gösterilmiştir.

Grup A ile antioksidan verilen gruplar karşılaştırıldığında (Grup C ve Grup D) CAT aktivitesinin azalışı, istatistiksel olarak, anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Grup B ile Grup C CAT aktiviteleri bakımından karşılaştırıldığında, Grup C CAT aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.937$). Grup B ile Grup D CAT aktiviteleri bakımından karşılaştırıldığında, Grup D CAT aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.589$).

Grup C ile Grup D CAT aktiviteleri bakımından karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.818$). Gruplar arası CAT aktiviteleri karşılaştırmalarının p değerleri Tablo 4’de gösterilmiştir.

Şekil 5. Tüm grupların CAT k/mg protein değerleri.



Grup A MDA aktivitelerinin ortalaması 0.445 ± 0.020 nmol/mg (min:0.42, max:0.47) olarak bulundu. Grup B MDA aktivitelerinin ortalaması 0.666 ± 0.095 nmol/mg (min:0.51, max:0.77) olarak bulundu. Grup A ile Grup B karşılaştırıldığında MDA aktivitelerindeki artış, istatistiksel olarak, anlamlı idi ($p=0.002$). Grup C MDA aktivitelerinin ortalaması 0.515 ± 0.076 nmol/mg (min:0.39, max:0.61) olarak bulundu. Grup D MDA aktivitelerinin ortalaması 0.515 ± 0.088 nmol/mg (min:0.39, max:0.62) olarak bulundu. Tüm gruplara ait MDA aktiviteleri Tablo 3 ve Şekil 6’da gösterilmiştir.

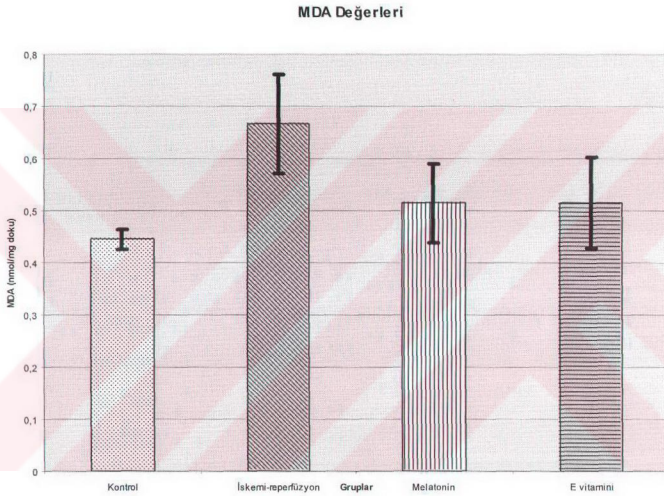
Grup A ile antioksidan verilen gruplar karşılaştırıldığında (Grup C ve Grup D) MDA aktivitelerinin azalışı, istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Grup B ile Grup C MDA aktiviteleri bakımından karşılaştırıldığında, Grup C MDA aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu görüldü ($p=0.026$). Grup B ile

Grup D MDA deęerleri bakımından karřılařtırıldıęında, Grup D MDA aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede dūřuk olduęu gōrōldū (p=0.026).

Grup C ile Grup D MDA aktiviteleri bakımından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=1.000). Gruplar arası MDA aktiviteleri karşılaştırmalarının p değerleri Tablo 4’de gōsterilmiřtir.

şekil 6. Tōm grupların MDA nmol/mg değerleri.



Grup A nekroz yōzdelelerinin ortalaması 0.00 ± 0.00 (min:0, max:0) olarak bulundu. Grup B nekroz yōzdelelerinin ortalaması 10.42 ± 3.232 (min: 7, max: 16) olarak bulundu. Grup A ile Grup B karşılaştırıldığında nekroz yōzdelelerindeki artış, istatistiksel olarak, anlamlı idi (p=0.002). Grup C nekroz yōzdelelerinin ortalaması 3.42 ± 1.602 (min: 2, max: 5) olarak bulundu. Grup D nekroz yōzdelelerinin ortalaması 5.72 ± 3.111 (min: 3, max: 11) olarak bulundu. Tōm gruplara ait nekroz yōzdelelerinin verileri Tablo 3 ve şekil 7’de gōsterilmiřtir.

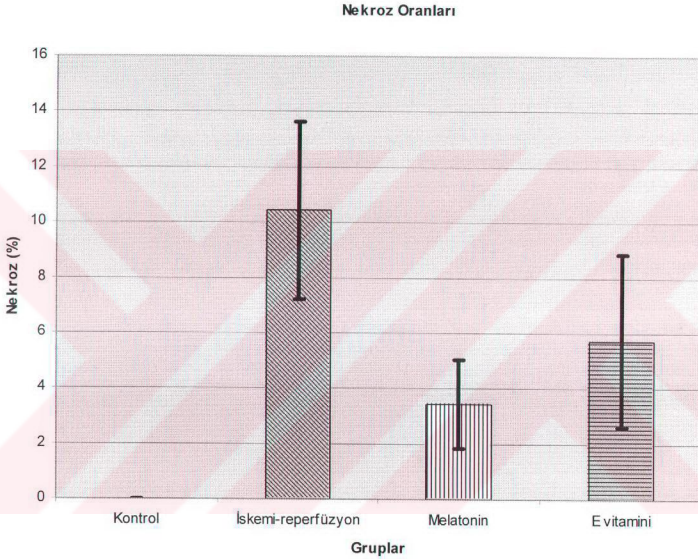
Grup A ile antioksidan verilen gruplar karşılaştırıldığında (Grup C ve Grup D) nekroz yōzdelelerindeki artış, istatistiksel olarak, anlamlı idi (p<0.05).

Grup B ile Grup C nekroz yōzdeleleri bakımından karřılařtırıldıęında, Grup C nekroz yōzdelelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede dūřuk olduęu gōrōldū (p=0.002). Grup B ile Grup

D nekroz yüzdeleri bakımından karşılaştırıldığında, Grup D nekroz yüzdelерinin daha düşük olduğu saptanmıştır ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.065$).

Grup C ile Grup D nekroz yüzdeleri bakımından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.310$). Gruplar arası nekroz yüzdelерinin karşılaştırmalarının p değerleri Tablo 4’de gösterilmiştir.

Şekil 7. Tüm grupların nekroz yüzdelерinin değerleri.

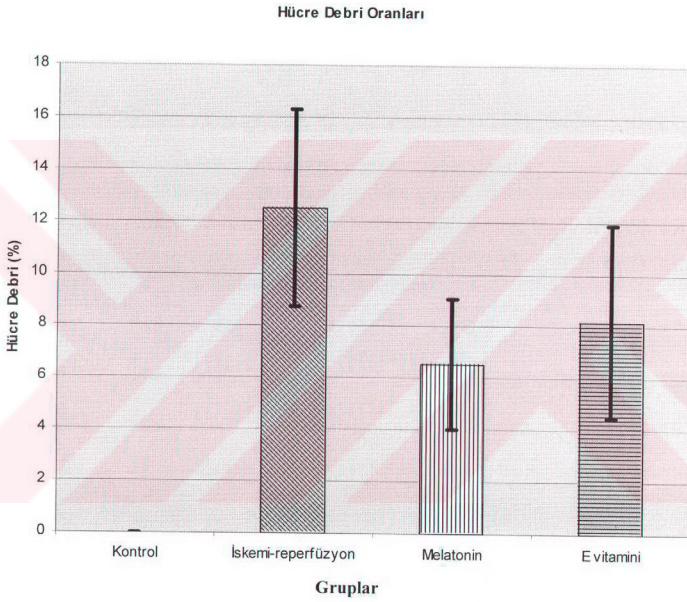


Grup A hücre debris yüzdelерinin ortalaması 0.00 ± 0.00 (min:0, max:0) olarak bulundu. Grup B hücre debris yüzdelерinin ortalaması 12.52 ± 3.792 (min: 6, max: 16) olarak bulundu. Grup A ile Grup B karşılaştırıldığında hücre debris yüzdelерindeki artış, istatistiksel olarak, anlamlı idi ($p=0.002$). Grup C hücre debris yüzdelерinin ortalaması 6.53 ± 2.541 (min: 4, max: 11) olarak bulundu. Grup D hücre debris yüzdelерinin ortalaması 8.18 ± 3.689 (min: 5, max: 15) olarak bulundu. Tüm gruplara ait hücre debris yüzdelерinin verileri Tablo 3 ve Şekil 8’de gösterilmiştir. Grup A ile antioksidan verilen gruplar karşılaştırıldığında (Grup C ve Grup D) hücre debris yüzdelерindeki artış, istatistiksel olarak, anlamlı idi ($p<0.05$).

Grup B ile Grup C hücre debris yüzdeleri bakımından karşılaştırıldığında, Grup C hücre debris yüzdelерinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu görüldü ($p=0.015$). Grup B ile

Grup D hücre debris yüzdeleri bakımından karşılaştırıldığında, Grup D hücre debris yüzdelerinin daha düşük olduğu saptanmıştır ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.065$). Grup C ile Grup D hücre debris yüzdeleri bakımından karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.394$). Gruplar arası hücre debris yüzdelerinin karşılaştırmalarının p değerleri Tablo 4’de gösterilmiştir.

Şekil 8. Tüm grupların hücre debris yüzdelerinin değerleri.



Işık Mikroskopisi Bulguları

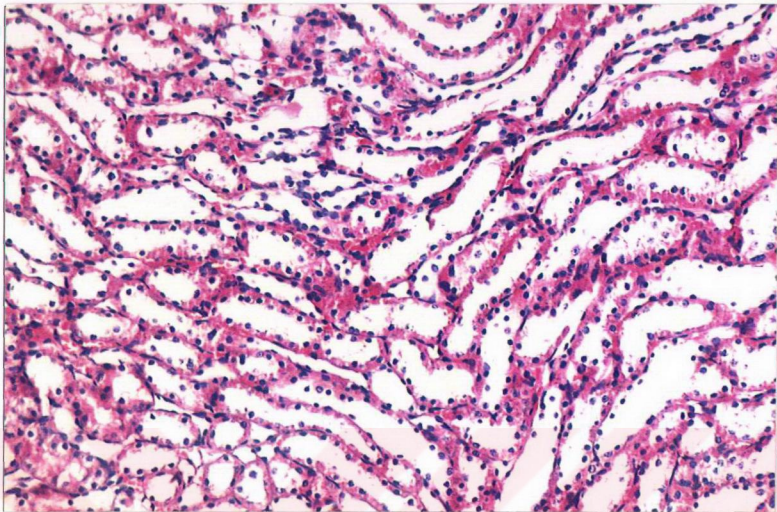
Sağlıklı kontrol grubuna ait Hematoksilen-Eosin boyalı kesitlerde kortikal ve medüller bölgede tubuluslar düzenli görünümdeydi. Bazı tubul hücrelerinde rejeneratif değişiklikler, hidropik şişme ve sitoplazmik berrak vakuol (geriye dönebilir dejeneratif değişiklikler) mevcuttu. Glomerüller normal görünümdeydi. Ancak interstisiyel alanlarda eritrositten zengin küçük kan damarları izlendi (Resim 2,3).

İskemi-reperfüzyon grubuna ait Hematoksilen-Eosin boyalı kesitlerde medullar bölgede, kortikal bölgeye göre belirgin tubulus hücre nekrozları ve tubulus lümen içlerinde hücre debrileri dikkati çekti. Nekroz ve hücre debrileri semikantitatif olarak değerlendirildiğinde diğer gruptakilere göre daha fazlaydı (Tablo 5). Diğer gruplarda olduğu gibi, tubulus hücrelerinde rejeneratif değişiklikler, geriye dönebilir dejeneratif değişiklikler ve eritrositten zengin interstisiyel küçük kan damarları izlendi. Glomerüllerde konjesyon dışında bir özellik görülmedi (Resim 4,5).

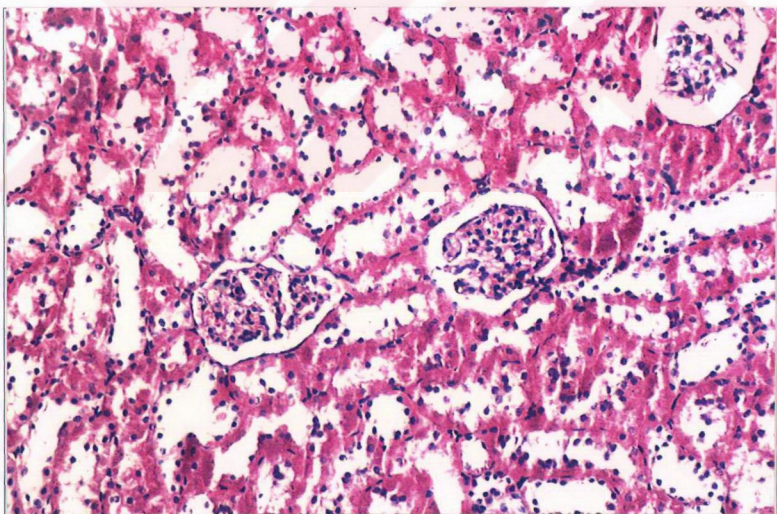
Melatonin verilen gruba ait Hematoksilen-Eosin boyalı kesitlerde, iskemi ve reperfüzyon grubuna göre belirgin olarak daha az ancak E Vitamini verilen gruba göre biraz azalmış, medüller bölgede belirgin tubulus içi hücre debrileri, tubulus hücre nekrozları izlendi. Diğer tüm gruplara göre daha belirgin rejenerasyon izlendi. Diğer gruplarla hemen hemen aynı derecede tubulus hücrelerinde dejeneratif değişiklikler mevcuttu. Glomerüllerde konjesyon dışında özellik görülmedi (Resim 6,7).

E Vitamini verilen grubun Hematoksilen-Eosin boyalı kesitlerinde, medüller bölgede kortikal bölgeye göre daha belirgin tubulus hücre nekrozu, tubulus lümen içi hücre debrileri izlendi. Ancak iskemi-reperfüzyon grubuna göre hafif derecede, melatonin grubuna göre biraz belirgindi. Konjesyon, rejeneratif ve dejeneratif değişiklikler izlendi. Glomerüler yapılar da konjesyon dışında bulgu görülmedi (Resim 8,9).

Tüm grupların histopatolojik nekroz ve hücre debri miktarlarının % olarak değerleri Tablo 5'de verilmiştir.



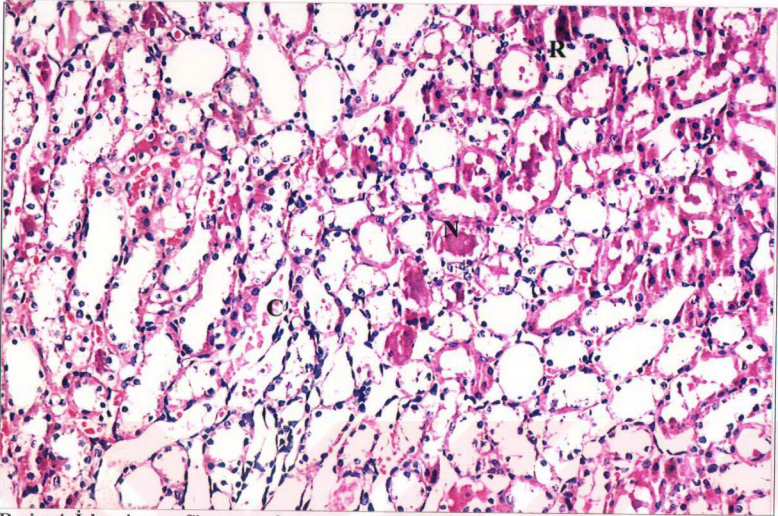
Resim 2. Sağlıklı kontrol grubuna ait medüller bölge görülmekte (HE,X100).



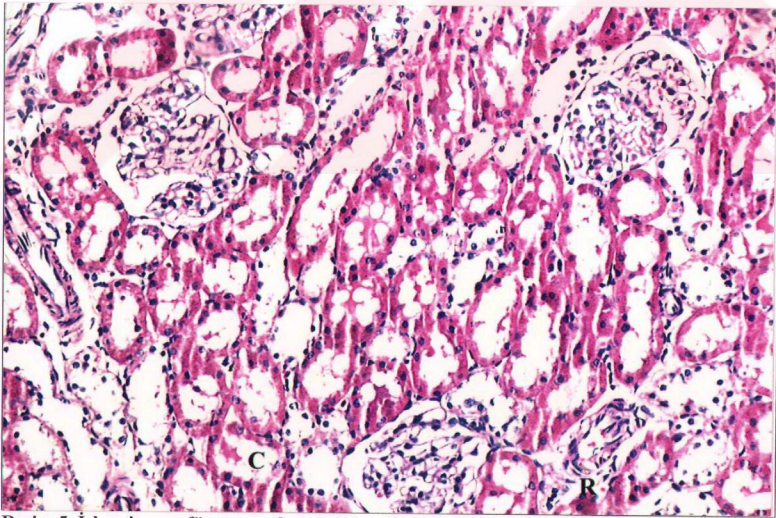
Resim 3. Sağlıklı kontrol grubuna ait kortikal bölge görülmekte (HE,X100).

Tablo 5. Grupların histopatolojik nekroz ve hücre debris miktarlarının % olarak değerleri.

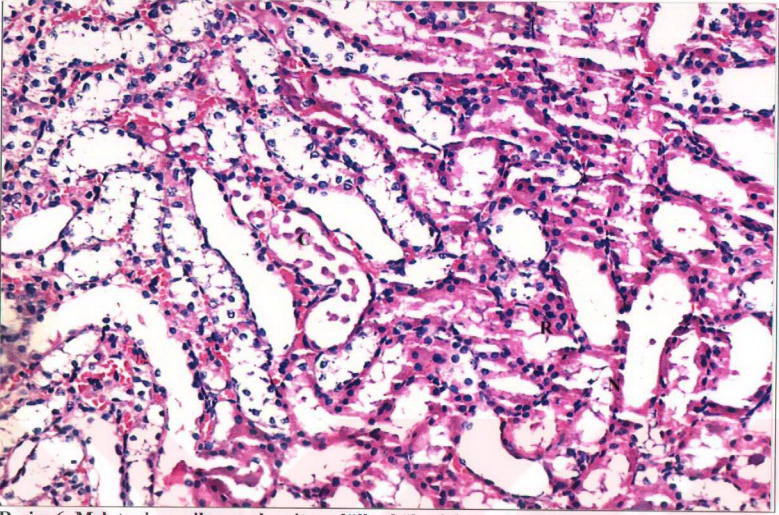
Gruplar		Nekroz	Hücre Debris
Kontrol Grubu:	Rat A1	0%	0%
	Rat A2	0%	0%
	Rat A3	0%	0%
	Rat A4	0%	0%
	Rat A5	0%	0%
	Rat A6	0%	0%
Ort. ± SD.		0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
İskemi-rep. Grubu:	Rat B1	6,70%	5,80%
	Rat B2	15,80%	16,30%
	Rat B3	10,80%	14,20%
	Rat B4	10,40%	11,70%
	Rat B5	7,50%	15,40%
	Rat B6	11,30%	11,70%
Ort. ± SD.		10.42 ± 3.23	12.52 ± 3.79
Melatonin Grubu:	Rat C1	5,00%	10,80%
	Rat C2	1,70%	4,20%
	Rat C3	2,10%	5,40%
	Rat C4	2,10%	4,20%
	Rat C5	4,60%	6,70%
	Rat C6	5,00%	7,90%
Ort. ± SD.		3.42 ± 1.60	6.53 ± 2.54
E Vitamin Grubu:	Rat D1	4,60%	5,00%
	Rat D2	4,60%	8,30%
	Rat D3	11,40%	14,60%
	Rat D4	3,30%	5,40%
	Rat D5	7,10%	10,00%
	Rat D6	3,30%	5,80%
Ort. ± SD.		5.72 ± 3.11	8.18 ± 3.68



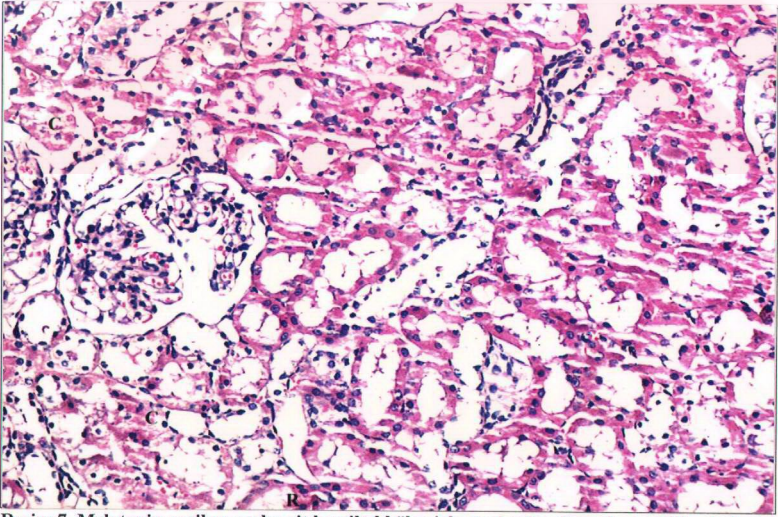
Resim 4. İskemi-reperfüzyon grubuna ait medüller bölge izlenmektedir. Tubulus epitel hücre nekrozu (N), rejeneratif değişiklikler (R), tubulus lümen içlerinde hücre debrisleri (C) görüldü (HE,X100).



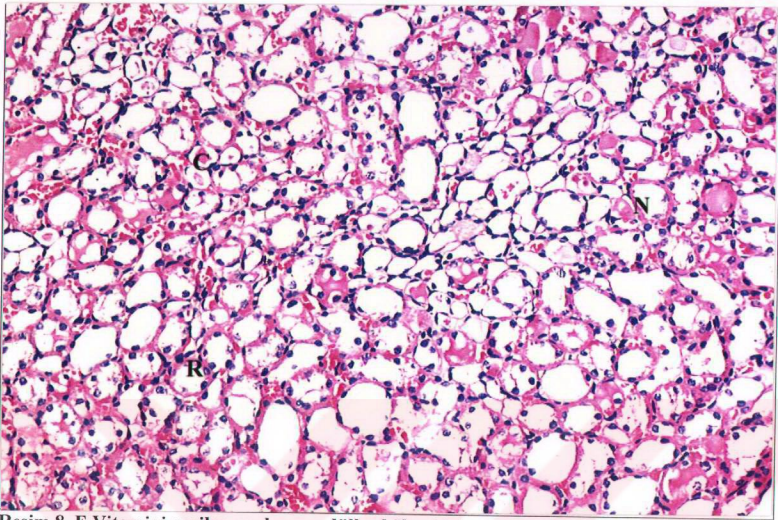
Resim 5. İskemi-reperfüzyon grubuna ait kortikal bölge izlenmektedir. Tubulus epitel hücre nekrozu (N), rejeneratif değişiklikler (R), tubulus lümen içlerinde hücre debrisleri (C) görüldü. Medüller bölgeye göre değişiklikler daha azdır (HE,X100).



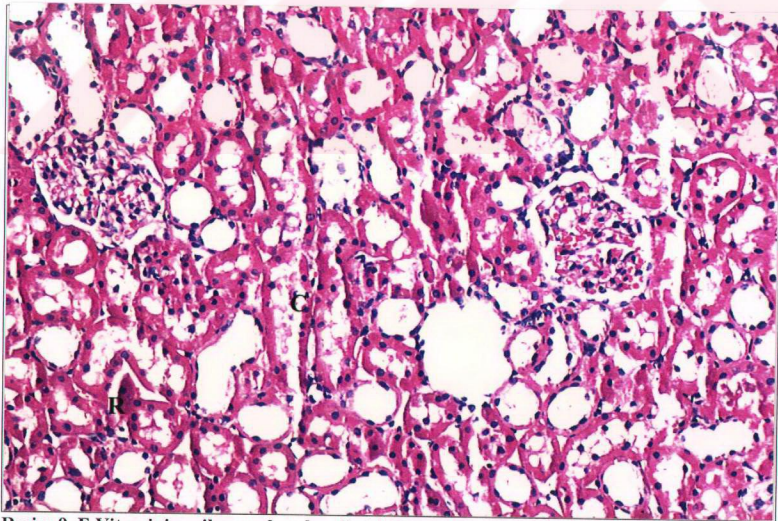
Resim 6. Melatonin verilen gruba ait medüller bölge izlenmektedir. Tubulus lümen içlerinde hücre debrileri (C), bazı tubulus hücrelerinde nekroz (N) ve yaygın rejenerasyon bulguları (R) görülmektedir (HE,X100).



Resim 7. Melatonin verilen gruba ait kortikal bölge izlenmektedir. Burada medüller bölgeye göre daha az tubulus lümen içlerinde hücre debrileri (C), yine belirgin rejenerasyon bulguları (R) izlenmektedir (HE,X100).



Resim 8. E Vitamini verilen grubun medüller bölgesi izlenmektedir. Tubulus lümen içlerinde hücre debrileri (C), bazı tubulus hücrelerinde nekroz (N) ve rejenerasyon (R) görülmektedir (HE,X100).

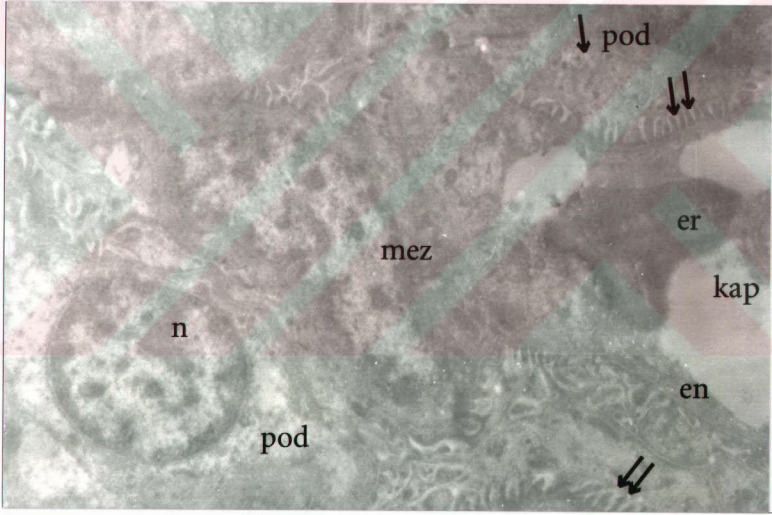


Resim 9. E Vitamini verilen grubun kortikal bölgesi izlenmektedir. Medüller bölgeye göre oldukça az tubulus lümen içi hücre debrileri (C) görülmektedir (HE,X100).

Elektron Mikroskopisi Bulguları

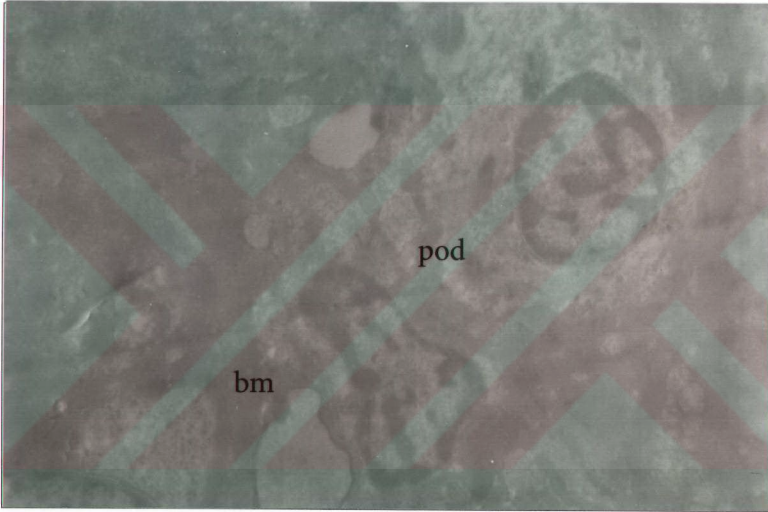
Sağlıklı kontrol grubunda elektron mikroskopik olarak nefronların glomerülleri, proksimal ve distal tübül hücreleri normal şekildeydiler. Ultrastrüktürel düzeyde glomerülün filtrasyon bariyeri visseral epitelyal hücrelerden (podositlerden), bazal membrandan ve endotelial hücrelerden ibaretti.

Podositlerin yuvarlak nükleusları, büyük ve küçük çıkıntıları (foot processes) tespit edildi. Küçük çıkıntılar bazal membrana bağlıydılar. Aralarında genişlemeler izlenmekteydi. Kapiller lümenlerinde endotelial hücreler ve eritrositler mevcuttu. Bunun yanı sıra mezengial hücreler görülmekteydi. Mezengial hücrelerin stoplazmalarında özellikle fibriler yapılar mevcuttu (Resim 10).

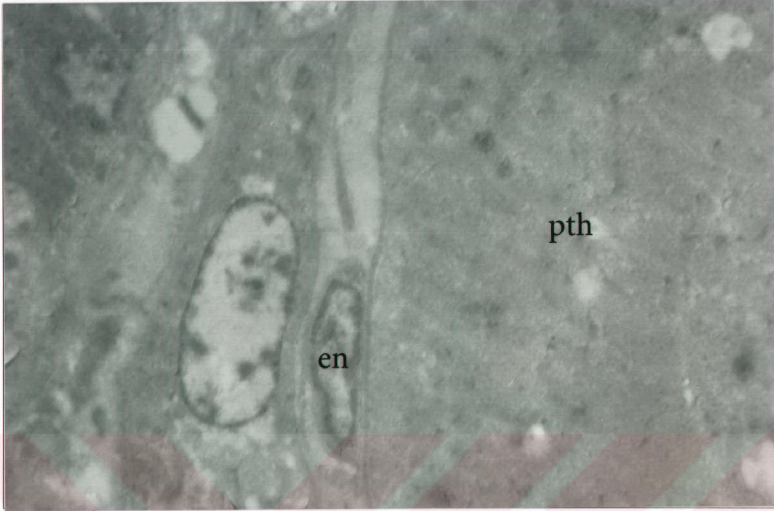


Resim 10. Sağlıklı kontrol grubunun elektron mikroskopisi izlenmekte. Glomerülün bir bölümü görülmektedir. Filtrasyon bariyerinin podositleri (pod), büyük (↓) ve küçük (↓↓) çıkıntıları, kapiller lümeni (kap), endoteli (en), eritrosit (er) izlenmektedir. Kapiller ve podosit arasında mezengium (mez) ve podosit nükleusu (n) görülmektedir (X10000).

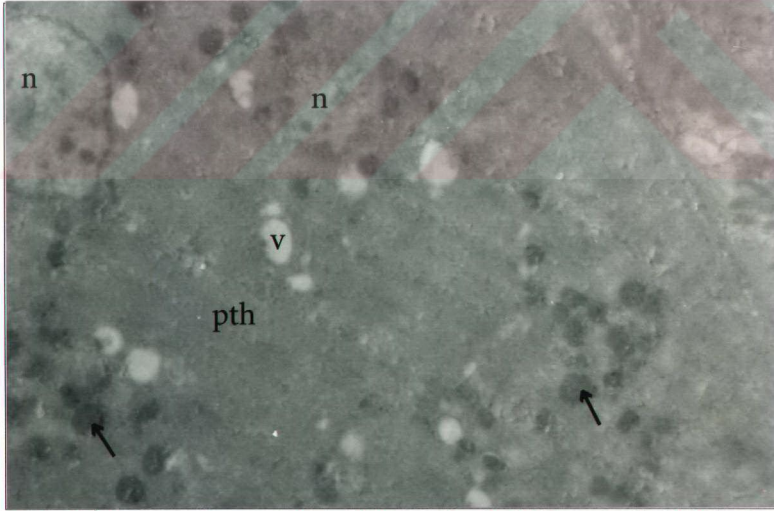
İskemi-reperfüzyon grubunun elektron mikroskopik incelemesinde; glomerül filtrasyon bariyerinde genellikle bazal membranlarda diffüz genişlemeler dikkati çekmekteydi. Podositlerde, nekroza bağlı olarak dekstruktif ve dejeneratif değişiklikler gözlemlendi. Bazı yerlerde foot processüslerin kaybolduğu ve podositlerin bazal membrana direk olarak yapışması dikkati çekti. Endotelial hücrelerin şişmesi ve dekstruktif değişiklikler saptandı. Böylece filtrasyon bariyerinde bozukluklar meydana gelmekteydi (Resim 11). Bunun yanı sıra proksimal ve distal tübüler hücrelerde de distrofik ve nekrotik değişiklikler (tubuloreksis, kariopiknoz, kariolizis olayları) izlenmekteydi (Resim 12, 13). Reabsorpsiyon bariyerinde de bozukluklar gözlemlendi.



Resim 11. İskemi-reperfüzyon grubunun elektron mikroskopisi izlenmektedir. Glomerülün bir bölümü görülmektedir. Bazal membranın (bm) diffüz genişlemesi, homojenizasyonu, podositlerin (pod) dejenerasyonu, processüslerin kaybolduğu görülmektedir (X12000).



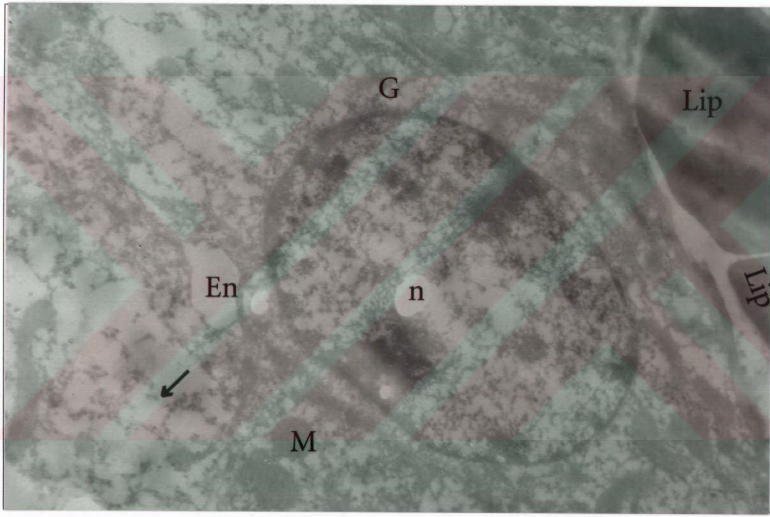
Resim 12. İskemi-reperfüzyon grubunun elektron mikroskopisi izlenmektedir. Proksimal tübül hücrelerin (pth) parçalanması (tubuloreksis) ve nükleusları kaybolduğu (kariolizis) tespit edildi. Endotelial hücrelerin (en) nükleuslarının berraklaşması dikkati çekmektedir (X10000).



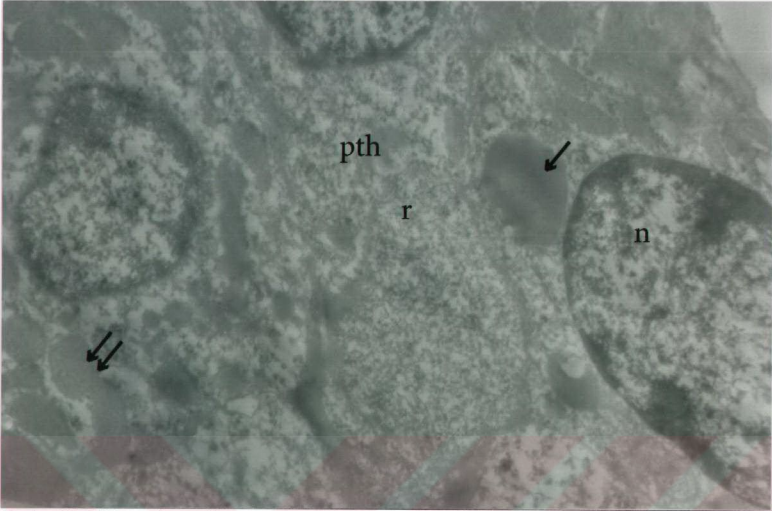
Resim 13. İskemi-reperfüzyon grubunun elektron mikroskopisi izlenmektedir. Proksimal tübül hücrelerin (pth) stoplazmasında nekrotik değişiklikler, vakuollerin (v) ve lipid (l) damlalarının artışı (distrofik değişiklikler), organellerin kaybolduğu ve kariopiknoz izlenmektedir (X10000).

Melatonin verilen grubun elektron mikroskopik incelenmesinde glomerüllerin çoğunun filtrasyon bariyerinde, genellikle podositlerde bozukluklar göze çarpmaktaydı. Sitoplazmada distrofik, destrüktif değişiklikler izlendi. Lipidlerin artışı, endoplazmik retikulumunda kanalların genişlediği ve bazı yerlerde parçalanması dikkati çekti (Resim 14). Hücrelerin aktivitesi yani rejenerasyon melatonin verilen grupta daha fazla görülmektedir.

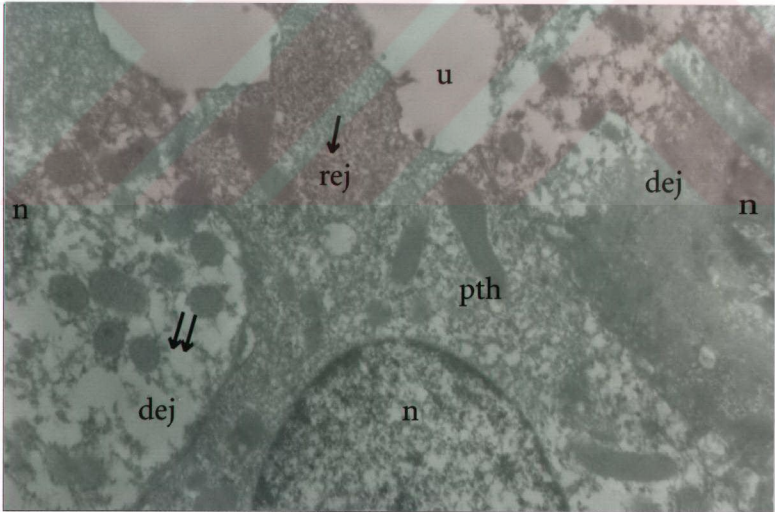
Proksimal tübüler hücrelerin bazılarının parçalandığı, dejenere olduğu, bazılarının ise hücre rejenerasyonu durumunda (nükleusların ve sitoplazmanın aktivitesi) olduğu saptandı (Resim 15,16).



Resim 14. Melatonin verilen grubun elektron mikroskopisi izlenmektedir. Büyük büyütmede izlenen podosit sitoplazmasında endoplazmik retikulumunun (En) genişlemesi, destrüktif değişiklikler ve bazı yerlerde parçalandığı (↓) gözlenmektedir. Lipidlerin (Lip) artışı (distrofik, reversibl değişiklikler) görülmektedir. Golgi (G), mitokondri (M), nükleus (n) görülmektedir (X25000).

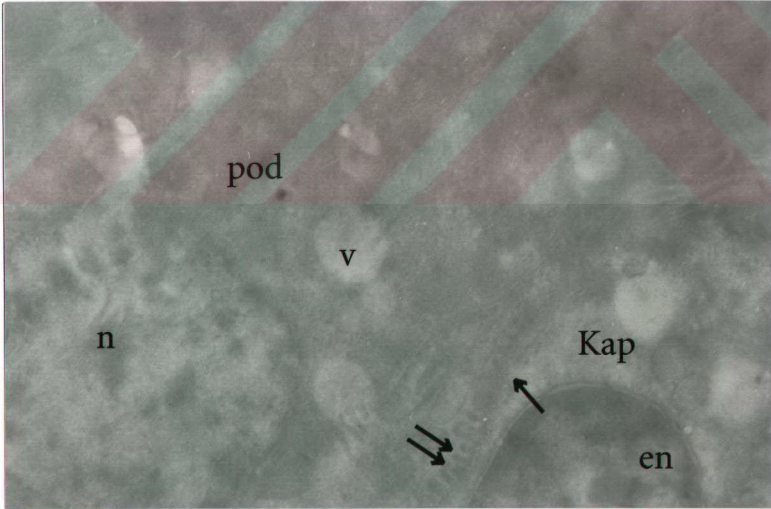


Resim 15. Melatonin verilen grubun elektron mikroskopisi izlenmektedir. Proksimal tübüler hücrelerin (pth) sitoplazmasında mitokondriler (m), endoplazmik retikulum (Er), ribozomların (r) artışı görülmektedir. Nukleus (n) ve lipidler (Lip) izlenmektedir (X8000).



Resim 16. Melatonin verilen grubun elektron mikroskopisi izlenmektedir. Üriner kanalda (u) dejeneratif (dej) ve rejeneratif (rej) epitelyel tübüler hücreler izlenmektedir. Dejeneratif hücrelerin nukleusları (n) piknotik, sitoplazmada organellerin parçalanması (↓↓), dissiasyonu. Rejeneratif hücrelerin sitoplazmasında bazofili, bol miktarda ribozom (↓) ve diğer organeller, nukleusların (n) kromatinin artışı (X12000).

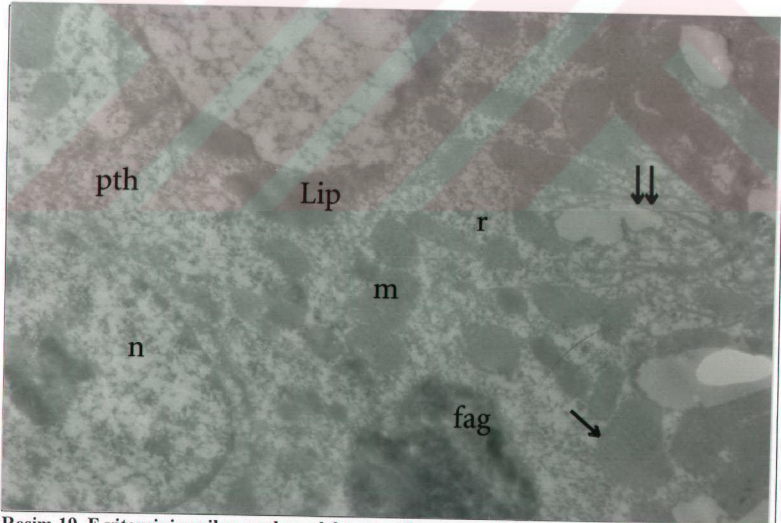
E vitamini verilen grubun elektron mikroskopik incelenmesinde glomerüllerin filtrasyon bariyerlerinde ve tübüler hücrelerde (reabsorpsiyon bölgesinde) distrofik ve dejeneratif değişiklikler iskemi-reperfüzyon grubundan daha hafif izlenmekteydiler. Filtrasyon bariyerinde bu değişiklikler daha belirgin olarak podositlerde gözlenmekteydi. Podositlerin nükleuslarının berraklaştığı, stoplazmada organellerin parçalandığı (lizis), vakuollerin artışı tespit edildi. Ancak foot prosesüslerin bazal membranlarıyla bağlantılarının bozulmaması dikkati çekti. Bazal membranlar genellikle normal şekildediler, bazı yerlerde fokal genişlemeler izlendi (Resim 17). Bize göre gösterdiğimiz podositlerin bu değişiklikleri adaptatif reaksiyona bağlıdır ve reversibl gibi değerlendirilebilir. Tübüler hücrelerde dejeneratif değişiklikler nadir olarak gözlemlendi, daha fazlasıyla hücrelerin bazofilik olduğu göze çarpmaktaydı. Proksimal hücrelerin apikallerinde mikrovilluslar genellikle korunmaktaydı. Bazal bölgelerde çok miktarda mitokondri ve içindeki kristallerin hiperplazisi saptandı. Mitokondri etrafında parmaksı çıkıntılarının korunduğu gözlemlendi. Sitoplazmada fagolizozomlar ve lipidler görülmekteydi (Resim 18,19). Sonuç olarak nefronun reabsorpsiyon bölgesinde hücre rejenerasyonu bulguları dejeneratif değişikliklerden daha üstündüler.



Resim 17. E vitamini verilen grubun elektron mikroskopisi izlenmektedir. Glomerülün bir bölümü görülmektedir. Podosit (pod) sitoplazmasında dejeneratif değişiklikler, organellerin kaybolduğu ve vakuolizasyonu (v) izlenmektedir. Bazal membranın (↓) ve foot prosesüslerin (⇓) bağlantıları korunmakta, kapiller lümeninde(Kap) endotel (en) görünmekte (X10000).



Resim 18. E vitamini verilen grubun elektron mikroskopisi izlenmektedir. Proksimal tübüler hücrelerin (pth) apikallerinde mikrovilluslar (↓) korunmakta, mitokondri (m) ve serbest ribozomlar (↓↓) izlenmektedir. Nukleuslar (n) normal şekilde izlenmektedir (X10000).



Resim 19. E vitamini verilen grubun elektron mikroskopisi izlenmektedir. Proksimal tübüler hücrelerin (pth) bazal bölgesinde çok miktarda mitokondri (m), mitokondrilerin kristalarında hiperplazi, etrafında ise parmakı çıkıntılar (↑↑) görünmektedir. Nukleusların aktivitesi (n), ribosomların artışı (r), fagolizozom (fag) ve lipidler (Lip) görünmektedir (X10000).

Makromoleküler düzeyde ultrastrüktürel olarak iskemi-reperfüzyon grubunda glomerül filtrasyon bariyerinde ve rezorpsiyon bölgelerinde dekstruktif ve dejeneratif değişiklikler saptandı.

Melatonin verilen grupta filtrasyon bariyerinde distrofik (reversibl) değişiklikler gözlandı. Reabsorpsiyon bölgelerinde distrofik ve dejeneratif değişikliklerin yanı sıra rejeneratif değişiklikler de gözlandı. Hücrelerin aktivitesi yani rejenerasyon, E vitamini verilen grupla karşılaştırılınca, melatonin verilen grupta daha fazla görülmekteydi.

E vitamini verilen grupta nefronun filtrasyon bariyerinde genellikle reversibl değişiklikler gözlandı. Reabsorpsiyon bölgelerinde hücre rejenerasyonu dejeneratif değişikliklerden daha fazla gözlandı.



TARTIŞMA

Böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı, böbrek naklinde, parsiyel nefrektomilerde ve suparenal aortik anevrizmaların cerrahi tedavisi sırasında karşımıza çıkabilmektedir. Son yıllarda böbrek nakli, son dönem böbrek yetmezlikli hastaların tedavisinde geçerli bir tedavi yöntemi olarak kabul edilmektedir. Böbrek naklinde iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı gelişebilecek problemler ise günümüzde hala tam olarak açıklanamamış sorunlar olmadığından araştırmalar devam etmektedir.

Doku hasarı sistematiği ve kalıcı hasardan geri dönüş zaman sınırı ve hasardan korunmada destek olabilecek düzenek çalışmaları deneysel araştırmalar dahilinde sürmektedir.

Böbreklerde deneysel iskemi reperfüzyon hasarının etkilerinin ortaya çıkması için belli bir iskemi süresine gerek vardır. Rat böbreğinde Paller ve ark. 60 dakikalık iskemi süresinden sonra reperfüzyon hasarının ortaya çıktığını göstermişlerdir (22). Bizim çalışmamızda 60 dakikalık renal iskemi süresi tercih edilmiştir. 60 dakikalık reperfüzyondan sonra işleme son verilmiştir. İskemi süresince hücrede, intersellüler dokuda ve sistemik dolaşımında bulunan ve artan pek çok etken madde sorumludur.

Serbest oksijen radikallerinin (SOR) salınımı doku reperfüzyonu esnasında, kandaki oksijen konsantrasyonunun hızlı artışına bağlıdır. Bunun sonucunda oluşan SOR hücre membran lipidleri ile etkileşerek, doymamış yağ asitlerinin deaçilasyonunu hızlandırarak araşidonik asit açığa çıkarırlar. Araşidonik asitten siklooksijenaz ve lipooksijenaz etkisi ile oluşan prostoglandinler, lökotrien gibi maddeler membran permeabilitesini bozup hücreyi fonksiyonel olarak yıkarlar. Ayrıca SOR'lar proteinlerle etkileşip yapısında sülfidril bulunan enzimleri

inaktif hale getirirler, protein ve nükleik asit sentezini inhibe ederler. Bu metabolik olaylar hücre ölümü ile sonuçlanır (11,12).

Organizmada SOR'ların oluşum hızı ile etkisizleştirme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşı savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı artarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır (23). Oluşan SOR'lar çeşitli hücrel savunma mekanizmalarıyla enzimatik, (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi) veya nonenzimatik yol ile (melatonin, E vitamini gibi) zararsız duruma getirilirler (24).

Çalışmamızda kullandığımız antioksidanlardan biri melatonindir. Gerek in vitro, gerek in vivo araştırmalarda melatoninin toksik hidroksil radikallerinin ve diğer oksijen kökenli radikallerin güçlü bir tutucusu olduğu gösterilmiştir (25). Melatonin direk etkisine örnek olarak en toksik radikal olan hidroksil radikale karşı etkili olması gösterilebilir. Melatoninin indirek etkileri de bulunmaktadır. Melatonin metaboliti olan indol katyon türevi bir maddenin süperoksiti tutarak antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Melatonin, SOD enziminin mRNA'sını arttırmakta ve superoksit radikalının dismutasyonuna bu şekilde de katkıda bulunmaktadır. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi melatonin ile uyarılmaktadır. Bu nedenle melatonin intrasellüler hidrojen peroksit seviyesini azaltmaktadır. Melatonin ile uyarılan glutatyon redüktazın (GSH-Red) aktivitesinde bir kofaktör olarak görev yapan NADPH, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz etkisi ile oluşturulur. G6-PD aktivitesinin de melatonin ile uyarıldığı bilinmektedir. Bazı çalışmalarda, melatoninin H₂O₂'in uzaklaştırılmasında etkisi olan katalaz aktivitesini de uyardığı bildirilmiştir. Ayrıca melatonin bir metabolitinin, H₂O₂'i direkt tutucu etki gösterdiği rapor edilmiştir (26-28).

Çalışmamızda kullandığımız diğer bir antioksidan E vitamini dir. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan α -tokoferol'dür. α -tokoferol dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur. En yüksek vitamin E konsantrasyonları, mitokondri ve mikrozo mlar gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında bulunur. Miyokard membranlarındaki miktarı da fazladır. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asidlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. E vitamini, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksi radikallerini ve diğer radikal örneklerini indirger. E vitamini zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinir. Çünkü fonksiyonları, lipid peroksi radikallerini parçalamak ve böylece lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırmaktır (11).

Şener ve ark. (29) tarafından sıçanlarda, iskemi-reperfüzyon hasarına karşı melatoninin koruyucu etkinliği çalışılmış, iskemi-reperfüzyon uygulanan tüm grupların üre ve kreatinin düzeylerinde artış saptanmıştır. İskemi-reperfüzyon grubunda GSH düzeylerinde azalma, MDA, MPO aktivitelerinde artış saptanmıştır. Melatonin uygulanması renal fonksiyonları düzeltilmiş ve bu oksidan yanıtları tersine çevirmiştir. Histopatolojik incelemeler sonucu melatoninin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu saptanmıştır.

Rodriguez ve ark. (30) tarafından sıçanlarda, iskemi-reperfüzyon hasarına karşı melatoninin koruyucu etkinliği çalışılmış, melatonin uygulanan grupta iskemi-reperfüzyon sonrası renal fonksiyonun korunduğu, glutatyon düzeylerinin artmış olduğu, lipid peroksidasyonunun azaldığı ve nitrit düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Aynı zamanda melatoninin histolojik olarak böbrek hasarını azalttığı görülmüştür.

Şener ve ark. (31) tarafından sıçanlarda, asetaminofenin oluşturduğu toksisiteye karşı melatoninin, E vitamininin ve N-asetilsisteinin (NAC) oluşturduğu koruyucu etkiler çalışılmış. Asetaminofen verildikten sonra serum üre ve kreatinin değerleri belirgin olarak artmıştır. Bu değerler melatonin, E vitamini ve NAC tedavisi alan gruplarda belirgin olarak azalmış, bu değişiklikler melatonin, E vitamini ve NAC tedavisi alan gruplarda düzelmiştir. Asetaminofenin oluşturduğu toksisiteyi tersine çevirmede en fazla melatoninin etkili olduğu, E vitamini en az etkili ajan olarak saptanmıştır.

Shin ve ark. (32) tarafından sıçanlarda, siklosporinin oluşturduğu nefrotoksik etki çalışılmış, sadece siklosporin A uygulanan grupta doku MDA düzeylerinin belirgin olarak arttığını, melatonin verilen grupta ise doku MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğunu saptamışlar. Melatoninin belirgin olarak siklosporin A'nın serbest radikallere bağlı olarak oluşan böbrek hasarını engellediğini bildirmişlerdir.

Mun ve Suh (33) tarafından sıçanlarda, siklosporinin oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı melatoninin koruyucu etkisi çalışılmış. Üre ve kreatinin değerleri siklosporin verilen grupta istatistiksel olarak belirgin yüksek saptanmıştır. Melatoninle birlikte siklosporin verilen grupta karşılaştırılınca sadece siklosporin verilen grupta istatistiksel olarak belirgin yüksek MDA düzeyleri saptanmış, bu çalışmada, melatoninin siklosporin A'nın oluşturduğu nefrotoksik etki sonucu oluşan fonksiyonel bozulmayı önlediği saptanmıştır.

Montilla ve ark. (34) tarafından, adriyamininin oluşturduğu hiperlipidemik nefropatiye karşı melatoninin koruyucu olup olmadığı çalışılmış. Melatonin verilen grupta serum üre, kreatinin ve idrar protein düzeylerinde anlamlı bir azalma saptanmıştır. Aynı zamanda böbrek MDA düzeyinde anlamlı azalma, GSH düzeyinde anlamlı artma, böbrek CAT aktivitesinde

anlamli artma saptanmif, melatoninin adriyamisinin olufsturdugu hiperlipidemik nefropatiye karfi koruyucu rol oynadigi bildirilmifdir. Agapito ve ark. (35) tarafindan da benzer sonuqlar bulunmufdur.

Özbek ve ark. (36) tarafindan, gentamisinin olufsturdugu nefrotoksik etkiye karfi melatoninin koruyucu olup olmadigi califilmif. Gentamisin ile birlikte melatonin verilen grupta MDA düzeyinin anlamli derecede azaldigi, CAT, SOD, GSH-Px aktivitelerinin anlamli düzeyde arttigi saptanmifdir. Bu califismada gentamisin ile birlikte melatonin verilen grupta, histolojik bulgularda belirgin derecede túbüler nekrozun azaldigi saptanmif ve melatoninin gentamisinin olufsturdugu toksik etkiyi önlediigi gösterilmifdir.

Şener ve ark. (37) tarafindan siflanlarda ısı zedelenmesi sonucu olufan böbrek hasarına karfi melatoninin koruyucu olup olmadigi califilmif. Termal travmanın hayvan modellerinde, oksijen radikallerinin lokal yara yanıtında ve uzak organ zedelenmesinde etkili olduğu belirtilmifdir. Melatonin tedavisi azalmif olan GSH düzeylerinde belirgin artif, MDA, protein oksidasyon ve myeloperoksidaz aktivitelerinde azalmaya neden olmuş. 3 saat ve 24 saatlik gruplarda üre ve kreatinin düzeylerindeki artif melatonin tedavisi ile belirgin olarak tersine döndüğü gösterilmifdir.

Melatonin farklı deneysel akut böbrek yetmezligi modellerinde koruyucu rol oynadigi görölmektedir (29-37).

Rhoden ve ark. (1) tarafindan siflanlarda, renal iskemi-reperfüzyonda E vitamininin yararlı etkisi califilmif, iskemi-reperfüzyon grubunda kreatinin düzeyleri istatikselsel olarak anlamli düzeyde yüksek bulunmuş. Bununla beraber, α -tokoferolle önceden yapılan tedavi sonucu, renal iskemiye maruz kalan siflanlardaki böbrek fonksiyonlarının belirgin olarak korunduğu bulunmuş, tüm grupların MDA düzeyleri arasında anlamli farklılık saptanmif. α -tokoferol ile önceden yapılacak olan tedavi sonucu renal hücre membranlarındaki lipid peroksidasyonunun azaldigi ve renal fonksiyonun düzeldigi saptanmifdir.

Ünal ve ark. (38) siflanlarda, iskemi-reperfüzyon hasarında eksojen verilen nitrik oksitle, C vitaminin ve E vitaminin antioksidan etkilerini karfilafstırmiflar. Oksidatif stresin bir göstergesi olan lipid peroksidasyon düzeyleri reperfüzyona uğrayan sol böbreklerde, sağlam olan karfi taraf böbrek ile karfilafstırılınca, daha yüksek bulunmuş. Tüm gruplar karfilafstırılınca SOD ve glutasyon peroksidaz aktiviteleri arasında istatikselsel olarak anlamli bir fark saptanmamifdir. Bu califismada nitrik oksit verilen grupta histopatolojik olarak daha az zedelenme saptanmif ve sonuçta eksojen olarak verilen nitrik oksitin ksantin oksidazı inhibe ederek antioksidan Vitamin C ve Vitamin E'ye oranla daha belirgin koruyucu özellik taşıdığını saptamiflar.

Kapkaç ve ark. (39) renal iskemi-reperfüzyon hasarında lipid peroksidasyon aşamasında koruyucu yönden etkili olan E vitamini ile, glomerüler immün hasardan sorumlu tutulan trombosit aktivatörü antagonisti olan EGb 761'in (Ginkgo Biloba ekstresi) koruyuculuğu ve etkilerini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmışlar. Yapılan çalışmada EGb 761 ile SOD, katalaz gibi serbest radikal yokediciler enzim düzeylerinin korunmadığı saptanmıştır. Ancak ne E vitamininin ne de EGb 761'in, tedavi verilmeyen iskemik kontrol grubuna göre histopatolojik düzeyde koruyucu etki gösterdiği saptanmamıştır.

İrmak ve ark. (40) sıçanlarda renal iskemi-reperfüzyon hasarında α -tokoferol ile CAPE (caffeic acid phenethyl ester) etkilerini karşılaştırmışlar. CAPE uygulanan grubun MDA düzeyi; iskemi-reperfüzyon ve α -tokoferol uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak düşük bulunmuş, bununla beraber, α -tokoferol grubunda CAPE uygulanan grupla karşılaştırılınca ksantin oksidaz aktivitelerinde belirgin bir artış olmuş. Histopatolojik bulgular sonucu böbrek doku hasarı CAPE uygulanan grupta, α -tokoferol verilen gruba oranla, belirgin olarak azalmıştır.

Shimizu ve ark. (41) iskemi sonrası gelişen akut böbrek yetmezliği üzerine E vitamininin ve yaşın etkilerini araştırmışlar. Yaşlanma böbrek yapısında ve fonksiyonlarında progresif bir bozulmaya neden olur. E vitamini alan orta yaşlı ve yaşlı farelerin böbreklerinde MDA düzeylerinin belirgin olarak düşük olduğu saptanmış, yaşlanmayla birlikte iskemik akut renal yetersizlik sonucu böbreğin hasara uğrama olasılığı artmakta ve bu artış E vitamini yokluğunda daha belirgin olmaktadır.

Bizim her iki antioksidanın iskemi öncesi belirlenen aralıklarla kullanılması ve kontrol grubu ile karşılaştırılmasında elde ettiğimiz sonuçlar irdelendiğinde:

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diğer tüm grupların üre değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü. Diğer gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi.

Kreatinin değerleri böbrek fonksiyonları hakkında bize daha net bilgiler vermektedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece iskemi-reperfüzyon grubunun kreatinin değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Kontrol grubuyla karşılaştırılınca, melatonin ve E vitamini uygulanan grupların kreatinin değerlerindeki artış, istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu sonuçlar ile antioksidanların böbrek iskemi-reperfüzyon hasarına karşı antioksidatif sistemleri etkinleştirerek iyi koruma sağladıklarını söyleyebiliriz.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iskemi-reperfüzyon grubunda SOD aktiviteleri istatistiksel olarak azalmıştır. İskemi-reperfüzyon grubu ile karşılaştırıldığında melatonin ve E vitamini uygulanan grupların SOD aktivitelerindeki artış istatistiksel olarak yüksektir. Burada elde

ettiğimiz sonuçlar melatoninin ve E vitamininin antioksidan sisteme olumlu etkileri olabileceği yönündedir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diğer tüm grupların CAT aktivitelerindeki azalış istatistiksel olarak belirgindir. Diğer gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında CAT değerleri arasında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. Sonuçlar kullanılan antioksidanların CAT değerlerine belirgin etkisi olmadığı yönündedir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iskemi-reperfüzyon grubunda MDA aktiviteleri istatistiksel olarak artmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında melatonin ve E vitamini uygulanan gruplarda bu artış görülmemiştir. İskemi-reperfüzyon grubuyla karşılaştırıldığında melatonin ve E vitamini verilen grupların MDA değerlerinin istatistiksel olarak düşük olduğu saptanmıştır. Burada elde ettiğimiz sonuçlar ile melatonin ve E vitamininin oksidatif stresin bir göstergesi olan lipid peroksidasyonunu azalttığı ileri sürülebilir. Sonuçlarımız Rhoden ve ark. (1) çalışması ile uyumludur.

Işık mikroskopunda yapılan incelemeler sonucunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iskemi-reperfüzyon grubunda nekroz ve tubulus lümen içi hücre debrilerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. İskemi-reperfüzyon grubu ile melatonin verilen grup karşılaştırılınca nekroz ve tubulus lümen içi hücre debrilerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. İskemi-reperfüzyon grubu ile E vitamini verilen grup karşılaştırılınca nekroz ve tubulus lümen içi hücre debrilerinde azalma saptandı. Bu sonuçlar ışığında çalışmamızda kullanılan antioksidanlardan E vitamininin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyuculuğunun istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine yaklaştığını ve aynı zamanda melatoninin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyuculuğunun istatistiksel olarak belirgin olduğunu söyleyebiliriz. Ünal ve ark. (38) çalışmalarında benzer sonuçlar bulmuşlardır.

Nefronların değişik segmentlerde lokalize olması ve glikolizis için glukozu kullanma kabiliyetlerinin farklı olması nedeniyle böbreğin bazı kısımları iskemi-reperfüzyon hasarından daha az etkilenmektedir. Korteksle karşılaştırıldığı zaman medülla daha az oksijenlenmektedir. İskemik zedelenmeye karşı medülla daha az dirençlidir. Değişik proksimal tübül ve distal tübül segmentlerinin, farklı glikolitik aktivitelerinin bulunmasından dolayı, iskemi-reperfüzyon hasarından farklı etkilenebilir. Bizim çalışmamızda da tüm gruplar değerlendirildiğinde iskemi-reperfüzyon grubunda medüller bölgede kortikal bölgeye oranla daha belirgin tubulus hücre nekrozları ve tubulus lümen içi hücre debrileri dikkati çekti.

Ultrastrüktürel değişiklikler, reversibl ve irreversibl olarak değerlendirilmektedir. Nükleusların piknozu, mitokondrilerin, endoplazmik retikulumun ve organellerin dejenerasyonu,

parçalanması irreversibl değişikliklerdir. Mitokondrial kristaların fragmantasyonu, dökülmesi buna rağmen dış membranların bozulmaması, endoplazmik retikulumun genişlemesi, ribozomların, glikojen granüllerin sayıca azalması, vakuollerin lipidlerin sayıca artışı, ve diğer distrofik ve destrüktif değişiklikler reversibl değişiklikler olarak değerlendirilmektedir (9).

Ultrastrüktürel olarak iskemi-reperfüzyon grubunda glomerül filtrasyon bariyerinde ve reabsorpsiyon bölgelerinde destrukatif ve dejeneratif değişiklikler saptandı. Melatonin etkisiyle filtrasyon bariyerinde distrofik (reversibl) değişiklikler saptandı. Reabsorpsiyon bölgelerinde distrofik ve dejeneratif değişikliklerin yanı sıra rejeneratif değişiklikler de saptandı. Hücrelerin aktivitesi yani rejenerasyon, E vitamini verilen grupta karşılaştırılınca, melatonin verilen grupta daha fazla görülmekteydi. E vitamini etkisiyle nefronun filtrasyon bariyerinde genellikle reversibl değişiklikler tespit edildi. Reabsorpsiyon bölgelerinde hücre rejenerasyonu dejeneratif değişikliklerden daha üstün gözlemlendi.

Elektron mikroskopik incelemeler sonucunda, melatonin verilen grupta diğer gruplardan daha az dejenere organel ve daha fazla rejeneratif değişikliklerin saptanması melatoninin E vitamininden daha üstün bir koruyucu etkiye sahip olduğunu düşündürmüştür.

SONUÇLAR

Renal iskemi ve reperfüzyon; renal transplantasyon, parsiyel nefrektomiler ve suprarenal aortik anevrizmaların cerrahi tedavisi sırasında gerekli bir prosedürdür. Reperfüzyon böbrek fonksiyonlarının bozulmasına neden olur. İskemi-reperfüzyon renal transplantasyon sonrası erken dönemde allograftı reddetme ve uzun dönemde allografta karşı zıt etkilerin başlıca nedenidir. Bu nedenle, reperfüzyon hasarının saptanarak, önleyici olabileceği düşünülen ajanların etkilerinin araştırılması ve karşılaştırılması gerekliliği bilinmektedir.

Bu çalışmada; melatonin ve E vitamini gibi antioksidan iki maddenin hasar önleyici etkilerinin düzeyini saptamak ve aralarında karşılaştırma yapabilmek için plazma üre, kreatinin değerleri, antioksidan enzim aktiviteleri, lipid peroksidasyonunu gösteren malondialdehit (MDA) değerleri, böbrek ışık ve elektron mikroskopi bulguları incelendi ve karşılaştırılarak değerlendirildi.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iskemi-reperfüzyon grubunda, melatonin ve E vitamini verilen gruplardaki üre değerleri artmış olup, bu artış istatistiksel olarak belirgindir. Diğer gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece iskemi-reperfüzyon grubunun kreatinin değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Kontrol grubuyla karşılaştırılınca, melatonin ve E vitamini uygulanan grupların kreatinin değerlerindeki artış, istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu sonuç bize antioksidanların böbrek iskemi-reperfüzyon hasarına karşı antioksidatif sistemleri etkinleştirerek daha iyi koruma sağladıklarını göstermiştir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iskemi-reperfüzyon grubunda SOD aktiviteleri istatistiksel olarak azalmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında melatonin ve E vitamini

uygulanan gruplarda bu azalma görülmemiştir. İskemi-reperfüzyon grubu ile karşılaştırıldığında melatonin ve E vitamini uygulanan gruplardaki SOD aktiviteleri istatistiksel olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Burada elde ettiğimiz sonuçlar melatoninin ve E vitamininin antioksidan sisteme olan olumlu etkilerini göstermektedir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diğer tüm grupların CAT aktivitelerindeki azalış istatistiksel olarak belirgindir. Diğer gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında CAT değerleri arasında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. Sonuçlar kullanılan antioksidanların CAT aktivitelerine belirgin etkisi olmadığını göstermiştir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iskemi-reperfüzyon grubunda MDA aktiviteleri istatistiksel olarak artmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında melatonin ve E vitamini uygulanan gruplarda bu artış görülmemiştir. İskemi-reperfüzyon grubuyla karşılaştırıldığında melatonin ve E vitamini verilen grupların MDA aktiviteleri istatistiksel olarak düşük olduğu saptanmıştır. Burada elde ettiğimiz sonuçlar kullandığımız antioksidanların lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermektedir.

Işık mikroskopunda yapılan incelemeler sonucunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iskemi-reperfüzyon grubunda nekroz ve tubulus lümen içi hücre debrilerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. İskemi-reperfüzyon grubu ile melatonin verilen grup karşılaştırılınca nekroz ve tubulus lümen içi hücre debrilerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. İskemi-reperfüzyon grubu ile E vitamini verilen grup karşılaştırılınca nekroz ve tubulus lümen içi hücre debrilerinde azalma saptandı. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine yaklaşmıştır. Çalışmamızda antioksidanlardan E vitamininin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğunu ve aynı zamanda melatoninin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyuculuğunun istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bulduk.

Elektron mikroskopik incelemeler sonucunda, melatonin verilen grupta diğer gruplardan daha az dejenere organel ve daha fazla rejeneratif değişikliklerin saptanması melatoninin E vitamininden daha üstün bir koruyucu etkiye sahip olduğunu düşündürmüştür.

ÖZET

Bu çalışmada melatonin ve E vitamininin böbrek iskemi-reperfüzyon hasarındaki etkileri antioksidan enzim değerleri, ışık mikroskopisi ve elektron mikroskopisi ile incelenmiştir. Bu maddelerin ve uygulanan yöntemlerin etkinliğini karşılaştırmak amaçlanmıştır.

Bu çalışmadaki gruplar şu şekilde oluşturuldu:

- 1- Grup A: Kontrol grubu.
- 2- Grup B: İskemi-reperfüzyon uygulanan grup.
- 3- Grup C: İskemi-reperfüzyon ve melatonin uygulanan grup.
- 4- Grup D: İskemi-reperfüzyon ve E Vitamini uygulanan grup.

İskemiden 72, 48, 24 saat ve 30 dakika önce, C, D gruplarına sırasıyla, melatonin ve vitamin E verildi. İskeminin 60. dakikasında klemp açıldı. Böbrek dokuları reperfüzyonun 60. dakikasında alındı.

Plazma üre, kreatinin düzeyleri, böbrek dokusunda süperoksid dismutaz, katalaz enzim aktiviteleri ile malondialdehid düzeyi ile histopatolojik değişiklikler incelendi. Verilerin istatistiksel analizleri, gruplar arası fark olup olmadığı Kruskal-Wallis testi; iki grup arasındaki farkın anlamlılık derecesi Mann Whitney U testi ile değerlendirildi.

Plazma üre değerleri A grubu ile karşılaştırıldığında B,C,D gruplarında artmış olup, bu artış istatistiksel olarak belirgindir. A grubu ile karşılaştırıldığında B,C,D gruplarında kreatinin değerleri artmıştır. Bu artış A grubu ile karşılaştırıldığında sadece B grubunda istatistiksel olarak belirgindir.

A grubu ile karşılaştırıldığında B grubunda süperoksid dismutaz aktiviteleri azalmış olup, bu azalış istatistiksel olarak belirgindir. B grubu ile C, D grupları karşılaştırıldığında süperoksid

dismutaz aktiviteleri artmış olup, bu artış istatikselsel olarak belirgindir. Grup A ile Grup C ve D arasında fark saptanmamıştır.

A grubu ile karşılaştırıldığında B,C,D gruplarında katalaz aktiviteleri istatikselsel olarak yüksek olmasına karşın diğer gruplar arasında fark saptanmamıştır.

A grubu ile karşılaştırıldığında B grubunda malondialdehid aktiviteleri artmış olup, bu artış istatikselsel olarak belirgindir. B grubunun malondialdehid aktiviteleri, C ve D grupları ile karşılaştırıldığında artmış olup, bu artış istatikselsel olarak belirgindir. Grup A ile Grup C ve D arasında fark saptanmamıştır.

A grubu ile karşılaştırıldığında B,C,D gruplarında nekroz ve tubulus lümen içi hücre debrileri artmış olup, bu artış istatikselsel olarak belirgindir. B grubu ile karşılaştırıldığında C grubunda nekroz ve tubulus lümen içi hücre debrileri azalmış olup, bu azalış istatikselsel olarak belirgindir. B grubu ile karşılaştırıldığında D grubunda nekroz ve tubulus lümen içi hücre debrileri azalmıştır ancak bu azalış istatikselsel olarak anlamlı değildir. Böylece melatonin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı nekroz ve tubulus lümen içi hücre debrileri oluşumu açısından E vitaminine oranla daha koruyucu olmaktadır.

Elektron mikroskopik incelemeler sonucunda, melatonin verilen grupta diğer gruplardan daha az dejenere organel ve daha fazla rejeneratif değişikliklerin saptanması melatoninin E vitamininden daha üstün bir koruyucu etkiye sahip olduğunu düşündürmüştür.

Sonuç olarak, melatoninde daha belirgin olmak üzere, diğer antioksidan özelliği olan E vitamininin de böbrek sıcak iskemisinde yararlı etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Etkinliğin gösterilmesinde kullanılan yöntemler arasında elektron mikroskopisi vazgeçilmez olmakla birlikte organizdaki antioksidan enzimlerdeki değişiklikleri göstermenin de özellikle böbrek iskemi-reperfüzyon hasarını takipte yararlı olabileceği görüşündeyiz.

Anahtar kelimeler: Melatonin, Böbrek iskemi-reperfüzyon, Antioksidan enzim.

THE COMPARISON OF THE MELATONIN AND VITAMINE E PROTECTIVE EFFECTS AGAINTS KIDNEY ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY AND HISTOPATHOLOGICAL EXAMINATIONS

SUMMARY

In this study, melatonin and vitamine E's effects on kidney's ischemia-reperfusion injuries, antioxidant enzymatic values were evaluated via electron microscopy. Our aim was to compare the effectiveness of these materials and methods.

In this study, the procedure was conducted as following:

- 1- Group A: Control group.
- 2- Group B: Ischemia-reperfusion group.
- 3- Group C: Ischemia-reperfusion and melatonin group.
- 4- Group D: Ischemia-reperfusion and vitamine E group.

72, 48, 24 hours and 30 minutes before ischemia, melatonin and vitamine E were consequently administered to groups C, D. The clamp was removed at the 60th minute of ischemia. Kidney tissues extracted at the 60th minutes of the reperfusion.

The levels of urea and creatinin were examined in the plasma. The enzyme activities of superoxide dismutase, catalase and the level of malondialdehit were examined in the kidney tissue. Also, histopathological changes were studied. The Kruskal-Wallis test was employed to statistically analysis of the data to evaluate whether there was any difference between the groups;

and the Mann Whitney U test was used to assess the significance degree of the difference between the two groups.

Plasma urea levels in group A was significantly low compared to groups B, C and D. Plasma creatinin levels in group A was low compared to groups B, C and D. Plasma creatinin levels in group A was significantly low compared to group B.

Superoxide dismutase values in group A was significantly high compared to group B. Superoxide dismutase values in group B was significantly low compared to group C and D. No significant difference was detected between group A, C, and D.

Catalase values in group A was significantly high compared to groups B, C and D. No significant difference was detected between the catalase values of group B, C, and D.

Malondialdehit values in group A was significantly low compared to group B. Malondialdehit values in group B was significantly high compared to group C and D. No significant difference was detected between malondialdehit values of group A, C, and D.

In group A histopathological changes (necrosis and cast formation) were significant when compared to groups B, C and D. In group B histopathological changes were significantly high when compared to group C. No significant difference in histopathological changes was detected between group C and D.

As a conclusion, especially melatonine and vitamine E were effective to reverse hot ischemia of kidney by their antioxidant effects. While the electron microscopy was a brief method to show their effectiveness, to show the changes of antioxidant enzymes in organisms was particularly beneficial to observe kidney's ischemia-reperfusion injury.

Key words: Melatonin, Kidney ischemia-reperfusion, Antioxidant enzyme.

KAYNAKLAR

1. Rhoden LE, Lima PL, Telöken C, Lucas LM, Klein BA, Rhoden RC. Beneficial effect of α -tocopherol in renal ischemia-reperfusion in rats. *Jpn J Pharmacol* 2001; 87:164-6.
2. Aktan ÖA, Yalçın SA. Ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen metabolites, and the surgeon. *Türk J Med Sci* 1998;1-5.
3. Baykal Y, Kocabalkan F. Serbest radikaller ve hücre hasarı. *Sendrom* 2000; 9:31-9.
4. Yalçın SA. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998; 2:342-7.
5. Seven A, Candan G. Antioxidant defense systems. *Cerrahpaşa J Med* 1996; 27:41-50.
6. Gökmen GF. Üriner sistem. *Sistemik anatomi*. İzmir: Güven Kitabevi; 2003;531-6.
7. Williams LP. Abdominal urinary organs. *Gray's anatomy*. 38. Baskı. London: 1995;1815-27.
8. Jungueira LC, Carneiro J, Kelley RO (Çeviri: Y. Aytakin). *Temel histoloji*. İstanbul: Barış Kitabevi; 1998:359-77.
9. Robins SL, Kumar V, Cotran SR (Çeviri: U. Çevikbaş). *Temel patoloji*. İstanbul: Nobel ve Yüce Kitabevi; 1992:3-24.
10. Türkyılmaz Z: Karaciğer iskemi-reperfüzyon zedelenmesinde pentoksifilin, dimetilsülfoksit ve ekzojen melatoninin koruyucu etkilerinin karşılaştırılması (tez). Edirne: TŪ Tıp Fak; 2003.
11. Çıkrıkçioğlu M, Duran E. Koroner dolaşım, iskemi ve reperfüzyon. *İnsizyon* 2001; 4:119-26.
12. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Konya: Mimoza Yayınları*; 1995:1-129.
13. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengiyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11:336-41.
14. Cheeseman HK, Slater FT. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bul* 1993;

- 49:481-93.
15. Koçak A, Çolak A. Melatonin ve santral sinir sistemi. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 1996; 3:237-44.
 16. Brzezinski A. Melatonin in humans. *N Engl J Med* 1997; 336:186-95.
 17. Forsling ML. Melatonin. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 2001; 8:147-53.
 18. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34:497-500.
 19. Aebi H. Catalase in-vitro assay methods. *Methods Enzymol* 1984; 105:121-6.
 20. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95:351-8.
 21. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-75.
 22. Paller SM, Hoidal RJ, Ferris FT. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest* 1984; 74:1156-64.
 23. Dündar Y, Aslan R. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. *İnsizyon* 1999; 2:134-42.
 24. Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm* 1994; 34:26-35.
 25. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J* 1993; 1:57-60.
 26. Reiter RJ, Regina C, Carneiro C. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res* 1997; 29:363-72.
 27. Reiter RJ. Melatonin: lowering the high price of free radicals. *News Physiol Sci* 2000; 15:246-50.
 28. Reiter RJ. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Prog Neurobiol* 1998; 56:359-84.
 29. Şener G, Şehirli AÖ, Uysal MK, Arbak S, Ersoy Y, Yeğen BÇ. The protective effect of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in the rat. *J Pineal Res* 2002; 32:1-7.
 30. Rodriguez-Reynoso S, Leal C, Portilla-de Buen E, Castillo JC, Ramos-Solano F. Melatonin ameliorates renal ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2004; 116:242-7.
 31. Şener G, Şehirli AÖ, Dülger GA. Protective effects of melatonin, vitamin E and N-acetylcysteine against acetaminofen toxicity in mice: a comparative study. *J Pineal Res* 2003; 35:61-8.

32. Shin YH, Lee SH, Mun KC. Effect of melatonin on the antioxidant enzymes in the kidneys of cyclosporine-treated rats. *Transplant Proc* 2002; 34:2650-1.
33. Mun KC, Suh SI. Effect of melatonin on renal function in cyclosporin nephrotoxicity. *Transplant Proc* 2000; 32:1919-20.
34. Montilla P, Tunez J, Munoz MC, Lopez A, Soria JV. Hyperlipidemic nephropathy induced by adriamycin: effect of melatonin administration. *Nephron* 1997; 76:345-50.
35. Agapito MT, Antolin Y, Brio MT, Lopes-Burillo S, Pablos MI. Protective effect of melatonin against adriamycin toxicity in the rat. *J Pineal Res* 2001; 31:23-30.
36. Özbek E, Turkoz Y, Sahnı E, Özugurlu F, Mızrak M, Özbek M. Melatonin administration prevents the nephrotoxicity induced by gentamicin. *BJU International* 2000; 85:742-6.
37. Şener G, Şehirli AÖ, Şatıroğlu H, Keyer Uysal M, Yeğen BÇ. Melatonin prevents oxidative kidney damage in a rat model of thermal injury. *Life Sci* 2002; 70:2977-85.
38. Unal D, Yeni E, Erel O, Bitiren M, Vural H. Antioxidative effects of exogenous nitric oxide versus antioxidant vitamins on renal ischemia reperfusion injury. *Urol Res* 2002; 30:190-4.
39. Kapkaç M, Işık SA, Ersin S, Akyıldız M. Deneysel böbrek iskemi-reperfüzyon hasarında E vitamini ve EGb 761'in koruyuculuğu. *SSK Tepecik Hast Derg* 1996; 6:143-51.
40. Irmak KM, Koltuksuz U, Kutlu ON, Yağmurca M, Özyurt H, Karaman A, Akyol Ö. The effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in comparison with α -tocopherol in rat kidneys. *Urol Res* 2001; 29:190-3.
41. Shimizu MHM, Araujo M, Borges SMM, Tolosa EMC, Seguro AC. Influence of age and vitamin E on post-ischemic acute renal failure. *Exp Gerontol* 2004; 39:825-30.

Prof.Dr.Ahmet ULUGÖL
BAŞKAN
(Farmakolog)

Prof.Dr.Ahmet TEZEL
Klinisyen Üye
İç Hastalıkları Uzmanı

Yrd.Doç.Dr.Ümit N. BAŞARAN
Klinisyen Üye
Çocuk Cerrahisi Uzmanı

Yrd. Doç. Dr. Cengiz TUĞL.
Klinisyen Üye
Psikiyatri Uzmanı

İ. Doç. Dr. Şemsi ALTANER
Üye Patalog

Yrd.Doç.Dr.Sevgi ESKİOCAK
Biyokimya Uzmanı

Ecz.Aslı Sera YEŞİLOĞLU
Üye Eczacı
İZİNLI

Posta Adresi :
Eskişehir Atatürk Üni. Tıp Fakültesi Dekanlığı
M. İzzet Arslan Yerleşkesi
2030 EDİRNE

Tel (0-284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0-284)2357