

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ BİLİM DALI
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Müberra UYGUN

132565

CİSPLATİNİN OLUŞTURDUĞU BÖBREK KORTEKS
HASARLARINDA E VE C VİTAMİNİ ETKİLERİNİN
IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK DÜZEYLERDE
İNCELENMESİ

Yeter TOPÇU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

132565

Y.Ö. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

TÜBAP: 444.

Tez no: 78

EDİRNE-2003

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Morfoloji Anabilim Dalı'nın, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde hazırlanmış olan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun.01.07.2003 tarih ve 11 sayılı toplantısının4.....nolu kararı ile belirlenen aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18.07.2003

ÜYE

Prof. Dr. Müberra UYGUN
(Danışman)

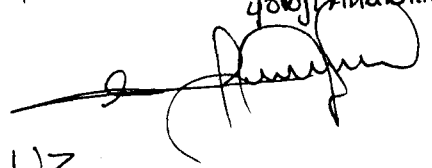
T.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı



ÜYE

Prof. Dr. Faruk ALKAN

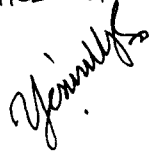
I.Ü. Cennahpaşa Tıp Fak. Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı



ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Hülya Yeşim UZ

T.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı



TEŐEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, bana emek veren, yetiştiren ve tez çalışmam süresince beni yönlendiren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Müberra UYGUN'a, tez sürem boyunca beni dinleyen, yönlendiren ve yakın ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ ve Yrd. Doç. Dr. Gülnur KIZILAY'a, her zaman yanımda olan ve dostluğundan büyük zevk aldığım sevgili Araş. Gör Meryem AKPOLAT'a, bu çalışmanın gerçekleşmesinde büyük emeği geçen sevgili Laborant Zeliha POYRAZ'a ve desteklerinden dolayı Araş. Gör Melike SAPMAZ'a, çalışmamızın gerçekleştirilmesindeki katkılarından dolayı Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri'ne ve aileme teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Cisplatin	3
2.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	5
2.2.1. Serbest Radikaller	5
2.2.2. Doku Hasarlarında Serbest Radikallerin Rolü	6
2.2.3. E Vitamini	7
2.2.4. C Vitamini	9
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	11
4. BULGULAR	13
4.1. I. Grup Deneklerimize Ait Bulgular	13
4.1.1. Işık Mikroskopik Bulgular	13
4.1.2. Elektron Mikroskopik Bulgular	14
4.2. II. Grup Deneklerimize Ait Bulgular	14
4.2.1. Işık Mikroskopik Bulgular	14
4.2.2. Elektron Mikroskopik Bulgular	15
4.3. III. Grup Deneklerimize Ait Bulgular	17
4.3.1. Işık Mikroskopik Bulgular	17
4.3.2. Elektron Mikroskopik Bulgular	17
4.4. IV. Grup Deneklerimize Ait Bulgular	18
4.4.1. Işık Mikroskopik Bulgular	18
4.4.2. Elektron Mikroskopik Bulgular	18
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ	60
7. ÖZET	61
8. SUMMARY	63
9. KAYNAKLAR	65
10. RESİMLEMELER LİSTESİ	72
11. ÖZGEÇMİŞ	75

Simge ve Kısaltmalar

ATP	: Adenozin Trifosfat
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FBF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
IL-1	: İnterleukin-1
İm	: İntramusküler
İv	: İntravenöz
LOO[•]	: Lipid Peroksil Radikali
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
O₂[•]	: Süperoksit Radikali
OH[•]	: Hidroksil Radikali
PKBF	: Platelet Kökenli Büyüme Faktörü
ROO[•]	: Peroksil Radikali
RNA	: Ribonükleik Asit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
α-tokoferol-O[•]	: Tokoferoksil Radikali

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kanser veya tümör; normal hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalması, invazif nitelik kazanması ve metastaz yapması ile kendini gösteren ölümcül bir hastalıktır.¹

Bakteri ve protozoon infeksiyonlarında kemoterapinin başarılı sonuçlar vermesi, malign neoplazmaların da kimyasal etkenler tarafından iyileştirilebileceği olasılığını düşündürmüştür. Bu fikirden yola çıkarak antineoplastik ilaçlar üzerinde bir çok çalışma yapılmış, bu türde çok sayıda ilaç tedaviye sokulmuştur. Antineoplastik kemoterapi; tümör hücrelerinin büyüme ve çoğalmasını durduran veya onları tamamen yok eden tedavi olmanın yanı sıra, normal hücre ile tümör hücresi arasında yapı bakımından fazla fark olmaması nedeniyle normal hücrelere de zarar verebilen bir tedavidir.¹

Antineoplastik ilaçların kemoterapide kullanılması sonucu, normal hücrelerin harabiyetine bağlı olarak, hızlı bir biçimde çoğalmakta olan gastrointestinal, hematopoietik sistem hücreleri ve testiste, oldukça önemli toksik etkilerin olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra, bazı antineoplastik ilaçlar, böbrek ve sinir dokusu gibi hücre proliferasyonunun önemsiz olduğu organları da etkileyebilir.¹⁻⁶

Cisplatin, büyük ölçüde antitümöral aktivite gösteren platin koordinasyon komplekslerinden önemli bir sınıfı oluşturur.⁷⁻⁹ Özellikle testis ve over kanserleri olmak üzere, mesane, prostat, serviks, özofagus, akciğer, baş-boyun kanserleri, osteojenik sarkom ve nöroblastoma gibi solid tümör tedavilerinde sıklıkla kullanılır.^{4,7,10-13} Ancak, akut tübüler nekrozla kendini gösteren nefropati, şiddetli bulantı-kusma, iştahsızlık, diyare gibi gastrointestinal bozukluklar, kemik iliği depresyonu, ototoksisite ve periferik nöropati gibi şiddetli yan etkiler meydana getirir. Bunlardan özellikle nefrotoksisite, klinikte cisplatin kullanımını sınırlayan en önemli faktörlerden biridir.^{2,3,14-18} Tedavi sırasında ortaya çıkan ve ilacın devamıyla giderek ağırlaşan böbrek yetersizliği önemli bir sorun oluşturur.^{19,20}

Yapılan çalışmalarda, cisplatin nefrotoksisitesinin patofizyolojisinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı görülmüştür. Cisplatinden kaynaklanan nefrotoksisite, böbrek dokusunda ortaya çıkan lipid peroksidasyon artışıyla çok yakından ilişkilidir. Cisplatin; gerek süperoksid iyonları, gerekse hidroksil radikalleri gibi aktif oksijen türlerini üretebilir ve normal dokuda aktif antioksidan enzimlerini inhibe edebilir.^{3,4,21-27} Normal dokular için koruyucu olmak

şartıyla, antitümör etkinliği olmaksızın, ilaçların meydana getirdiği hasarı azaltmak amacıyla çok sayıda koruyucu ajan, antitümör ilaçlarla birlikte kullanılmaktadır. Cisplatinin meydana getirdiği nefrotoksisiteye karşı korunmada antioksidanlar sıkça kullanılmakta ve oldukça başarılı sonuçlar elde edilmektedir.^{3,4,28,29}

Kronik cisplatin tedavisiyle oluşturulan nefrotoksisitede, iyi birer antioksidan olan E ve C vitaminlerinin etkilerini görmek ve kıyaslamak amacıyla çalışmamızı hazırladık.



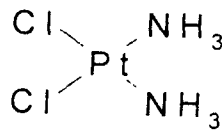
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Cisplatin

Cisplatinin ilk ortaya çıkışı, Rosenberg ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma ile gerçekleşmiştir; sıvı ortamda platin elektrodlar aracılığı ile elektriksel alan oluşturup, bunun *Escherichia coli*'nin çoğalması üzerindeki etkisini incelerken cisplatinin başka etkisinin de olduğunu görmüşlerdir. 1965 yılında yapılan bu çalışma esnasında, elektroddan sıvıya geçen platin türevlerinin antibakteriyel ve antineoplastik etki yaptıkları da farkedilmiş ve cisplatin türevlerinin bu amaçla da kullanılabilceği anlaşılmıştır.^{10,30}

Cisplatin, ortaya çıktığı 1970'li yıllardan itibaren, klinikte en yaygın şekilde kullanılan antineoplastik ilaçlardan biri olmuştur.^{2,3,4,16} Oldukça geniş bir spektruma sahip bu ilaç; non-seminamatoz testis tümörleri, ilerlemiş over kanserleri, mesane, prostat, serviks, özofagus, baş ve boyun kanserleri, osteojenik sarkom ve nöroblastoma gibi solid tümörlerin tedavisinde kullanılır.^{1,3,4,7,9,14,29}

Cisplatin (cis-diamminedichloroplatinum (II), cis-platinum (II) veya cis-DDP), iki değerlikli bir merkez atomuna bağlı iki amonyum ve iki klor bağı içerir (Şekil 1). Bileşik, cis ve trans olmak üzere iki izomere sahiptir. Bunlardan sadece cis formu sitotoksik özellik gösterir.³¹⁻³³



Şekil 1. Cisplatinin kimyasal yapısı.

Cisplatin; malign hücre; ister istirahat halinde, ister bölünme halinde olsun, bu hücre üzerine her zaman etkilidir.¹ Cisplatin reaktivitesi, etrafındaki klorid konsantrasyonundan etkilenir. Kanda ve ekstrasellüler sıvılarda klorid konsantrasyonu yaklaşık 100 mM'dır ve cisplatin bu ortamda az reaktiftir. Hücre içinde klorid konsantrasyonunun aniden birkaç milimolar düşmesi, cisplatin reaktivitesini artırır.³⁰ Hücreye difüzyon yoluyla giren cisplatinin antitümöral ve hatta nefrotoksik etkisi, hücre içerisinde, reaktif monoquo-diammine-platin

veya diaquo-diammine-platin türlerine hidrolize olmasından dolayı olabilir.³⁴ Cisplatinin klor atomları, ilacın nükleik asit ve proteinler ile reaksiyona giren aktif şekillerini oluşturmak için su aracılığı ile yer değiştirir; sulu ortamda çiftleşmemiş elektron içeren oksijen, sülfür ve nitrojen atomları gibi nükleofilik gruplar, klor iyonlarının yerine geçmek üzere, platine bağlanır. Bağlanan gruplar deoksiribonükleik asit (DNA) veya ribonükleik asit (RNA)'in pürin bazında ve bir çok amino asit yan zincirlerinde yer alır.³⁰ Cisplatin DNA ile etkileşerek, zincir içi ve zincirler arası çapraz bağlar oluşturur. Guanin bazının 7. azot atomu (N⁷) oldukça reaktiftir. Cisplatinin, en fazla aynı DNA zincirindeki komşu guaninler arasında çapraz bağ [cis-platinum diammine-d(GpG)] oluşturduğu görülür, guanin-adenin çapraz bağları [cis-platinum diammine-d(ApG)] ikinci sıklıkta oluşur. Zincirler arası çapraz bağ oluşumuna ise daha seyrek rastlanır.^{10,35}

Bu bağların ortaya çıkması; DNA'nın transkripsiyon ve replikasyonunu inhibe eder. Ayrıca bu bağlar DNA çift zincirinin kıvrılarak, açılmasına neden olur. Böylece DNA molekülü, mobilitesi yüksek grupları ve diğer proteinleri kendisine çeker. Cisplatinin modifiye ettiği DNA, yeterince yenilemediğinden, ortaya çıkan DNA hasarı apoptozisi başlatır. Bu hasar onarılamayacak boyutlarda ise, hücre tarafından tolere edilemez, hücrenin ölümüne neden olur.^{10,30,35}

Cisplatin, mide-bağırsak kanalından absorbe olmadığından, sadece intravenöz (iv) yolla uygulanır. Tek başına, iv infüzyon veya yavaş iv enjeksiyon şeklinde; günde 100 mg/m², kombinasyon halinde ise genellikle 20 mg/m² dozunda uygulanır.^{1,9}

Cisplatinin eliminasyonu üç aşamada gerçekleşir; serbest ilacın atılışı ilk iki fazda olup, renal fonksiyona bağlıdır; glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyondan oluşur. Son faz ise, uygulamadan 2 saat sonra, ilacın %90'dan fazlasının plazma proteinlerine bağlandığı ve proteine bağlı ilacın eliminasyonun gerçekleştiği fazdır. Böbrek, karaciğer, bağırsak ve testis gibi organlara yüksek oranda geçmesine karşın, kan-beyin bariyerinden geçişi çok azdır. İlacın yarılanma ömrü 60 saat olup, büyük bir kısmı böbreklerden, bir kısmı da karaciğer ve bağırsaklardan elimine olur.^{1,9}

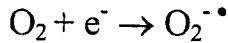
2.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

2.2.1. Serbest Radikaller

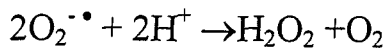
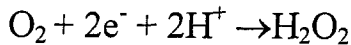
Oksijen, aerobik hücrelerde, enerji üretimi için oksidatif fosforilasyon işleminde zorunlu olarak kullanılır.³⁶ Ancak bu madde bazı kimyasal formlarda son derece toksiktir.³⁷ Vücutta, oksijen moleküllerinin büyük bir kısmı oksidatif fosforilasyon sırasında, mitokondride sitokrom oksidaz enzimleri ile 4 elektron alarak, suya dönüştürülmekte ve adenozin trifosfat (ATP) eldesiyle enerji üretilmektedir. Ancak bu sıklardan ayrılan %1-5 oksijen molekülü, suya indirgenirken, bazı toksik maddeler oluşmaktadır. Oluşan bu maddeler “reaktif oksijen serbest radikalleri” olarak bilinmektedir. Serbest radikallere; özellikle, hücrede patolojik olarak ortaya çıkan proses sonucu, mitokondri içerisinde rastlanmakta olup, dış yörüngesinde bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektron içeren, nötr veya iyonize molekül yada atomlardır.^{36,38-41}

Organizmada yer alan en önemli reaktif oksijen serbest radikalleri şunlardır;

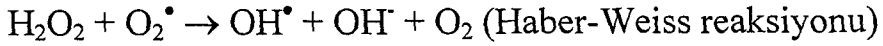
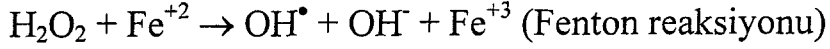
Süperoksit radikali (O_2^{\bullet}): Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesinden ortaya çıkar.⁴² Organizmada enzimatik veya enzimatik olmayan reaksiyonlarla en sık ortaya çıkan oksijen radikalidir.⁴³ Hem indirgeyici hem de oksitleyici özelliğe sahip bir ajandır.^{44,45} Süperoksit radikali, kendisi çok toksik etkiye sahip olmamakla birlikte, etkisini daha güçlü oksijen metabolitlerini açığa çıkararak gösterir.⁴³ Önemi; hem hidrojen peroksitin kaynağı olması, hem de geçiş metal iyonlarını indirgememesinden dolayıdır.⁴² Lipofilik olduğundan, uzak bölgelere difüzyonla yayılabilmektedir.⁴⁰



Hidrojen peroksit (H_2O_2): Biyolojik sistemlerde, çoğunlukla süperoksit radikalinden ortaya çıkar. Ayrıca oksijenin iki elektron birden almasıyla da oluşur.^{42,45} Süperoksit gibi, oksitleyici ve redükleyici etki gösterebilir.^{42,43,45}



Toksitesinin düşük olmasına rağmen, hücre membranlarını kolaylıkla geçebilme özelliği bu etkisini artırır. Serbest radikal olmamasına rağmen, yüksek konsantrasyonlarda, güçlü oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına yol açtığından toksik etkilidir. Hidrojen peroksit, süperoksit radikali (Haber-Weiss reaksiyonu) veya demirle (Fenton reaksiyonu) reaksiyona girerek hidroksil radikalinin oluşumuna neden olur.^{42,43,45}



Hidroksil radikali (OH[•]): Canlı dokuda ortaya çıkan en reaktif ve hasarlayıcı radikal türüdür.^{42,46} Yüksek aktivitesinden dolayı, meydana geldiği yerde difüzyona gerek kalmadan, reaksiyona girerek tüm hücrel elemanlara ve membran lipidlerine etki ederek büyük ölçüde hasar verebilir.^{36,40,42,43,46,47}

2.2.2. Doku Hasarlarında Serbest Radikallerin Rolü

Normal koşullarda, aerobik metabolizmanın ürettiği, reaktif oksijen türleri sürekli olarak inaktive olur. Bu işi, organizmada yer alan antioksidan savunma sistemleri gerçekleştirdiğinden patolojik bir durum görülmez. Bu denge sadece prooksidan ve antioksidanların aleyhine bozulduğunda potansiyel bir hasar meydana gelir ki buna “oksidatif stres” adı verilir. Hasar; DNA, lipid, protein ve karbonhidrat gibi tüm biyolojik moleküllerde ortaya çıkabilir. Bu nedenle oksidatif stres, karbonhidrat ve protein hasarında; oksidasyon ve fregmentasyon oluşturduğu gibi, lipid peroksidasyonu yoluyla, membran hasarı veya hücrede karsinogenez, mutagenез gibi bir prosese yol açabilir.⁴⁷

Bu radikal saldırıdan, başta lipidler olmak üzere tüm biyolojik yapılar zarar görebilir. Serbest radikal reaksiyonları için en kritik bölgeyi plazma membranı oluşturur. Ekstrasellüler bölgede yer alan serbest radikaller, hücre kompartımanları ile reaksiyona girebilmek için plazma membranını geçmek zorundadır. Bu nedenle toksik reaksiyonlarını membranda başlatırlar.⁴³ Lipid yönünden zengin hücre zarları, radikal saldırı sonucu lipid peroksidasyonuna uğrar. Bu olayda hücre membranlarında yer alan yüksek karbonlu doymamış yağ asitlerinin oluşturduğu fosfolipidler, serbest oksijen radikalleri ile oksitlenip peroksit türevlerine dönüşürler.^{48,49} Bu olay hücre zarına direkt olarak etki ettiği gibi, ortaya çıkardığı reaktif aldehytler yoluyla da hücrel yapılara indirekt olarak zarar verebilir.⁴² Serbest radikallerin başlattığı lipid peroksidasyonu, transmembraner iyon gradientini bozduğu gibi, salgı fonksiyonlarının kaybına ve metabolik olayların inhibisyonuna da yol açabilir.⁴³

Serbest radikallerin ortadan kalkışıyla bu olaylar zinciri de durdurulabilir. Bunun için kullanılan bileşiklere “serbest radikal temizleyiciler” adı verilir.⁴³ Bu maddelerin ise en önemli özelliği, zar yapısında bulunan lipidleri peroksidasyona karşı korumaktır. Bu nedenle, başlangıçta antioksidanlar; lipid peroksidasyonunu engelleyen moleküller olarak tanımlanmışsa da, günümüzde antioksidanların; sadece lipidleri değil, protein, nükleik asid ve

karbonhidrat gibi, diğer hedef molekülleri de koruduğu kanıtlanmıştır.⁵⁰ Organizmada bulunan antioksidanların en önemli grubunu hücrel enzimler oluşturur ki bunlar;

Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksit radikalini, hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürür. Hem sitoplazma hem de mitokondride bulunur.⁵¹

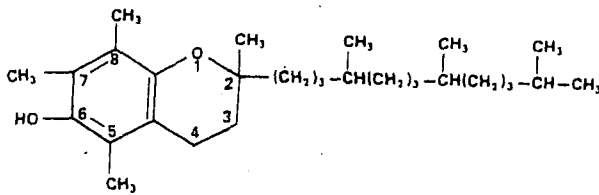
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): Hidrojen peroksit ve lipid peroksidlerin parçalanmasını katalize ederek, membran lipidlerini peroksit oksidasyonuna karşı korur.⁵¹

Katalaz (CAT): Kan, kemik iliği, müköz membranlar, böbrek ve karaciğerde bulunur. Hidrojen peroksitin parçalanmasını sağlar.⁵¹

Organizmadaki diğer antioksidanlar ise; albumin, transferrin, haptogloblin ve metallothionein gibi metal iyon şelatörleridir. β-karoten, E ve C vitaminleri ise non-enzimatik ve non-şelatik antioksidanlardan bazılarıdır.⁴¹

2.2.3. E Vitamini

Evans ve Bishop tarafından, 1936 yılında buğday tanesi yağından izole edilen E vitamini⁵², plazma ve hücrel membranlarda yer alan, suda erimeyip, yağda eriyen bir vitamindir. E vitamini aktivesi gösteren bileşikler, tokoferoller olarak bilinirler. Kimyasal formülü aşağıda verilmiş olan tokoferoller; üçü asimetrik, 16 karbonlu bir isoprenoid lateral zincir içeren, 6-hidroksi kroman (tokol) türevleridir (Şekil 2). Ayrıca, besinler içinde yer alan tokotrienoller de düşük derecede E vitamini etkinliği gösterirler.^{40,48,53-55}



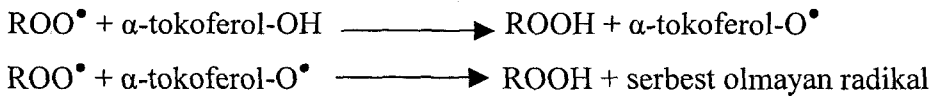
Şekil 2. E vitamininin kimyasal yapısı.

Doğal olarak bulunan 8 tokoferol vardır. Bunlar; alfa, beta, gamma, eta ve zeta şeklinde adlandırılırlar.^{40,48,54,55} Besinler içindeki E vitamini etkinliğinin %80'ini α-tokoferolden, %20 ise diğer tokoferoller ve tokotrienollerden kaynaklanır.⁴⁸ Antioksidan aktivitesi en yüksek olan, α-tokoferol (5, 7, 8- trimetil tokol)'dür.^{40,55,56} Yapısındaki fenolik hidroksil gruplu aromatik halka, aktif kısmını oluşturur ve molekülün antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır.⁵⁶ Bu maddeye, mısır yağı, soya yağı, pamuk yağı ve diğer bitkisel

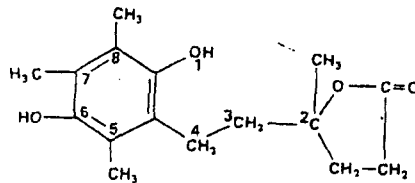
yağlarda ve bunlardan yapılan margarinlerde, et, hayvansal yağ, karaciğer, balık, tavuk, buğday germi, sebze yaprakları, yumurta sarısı ve sütte rastlanır.^{48,55}

Diyetle yağda çözülmüş olarak alınan E vitamini, yağ sindirimi sırasında açığa çıkar ve enterositler tarafından intestinal kanaldan absorbe edilir. Absorbe edilen E vitamini, şilomikron adı verilen damlacıklar halinde lenfe, oradan da venöz kana geçer. Şilomikronlarla karaciğere taşınır, özellikle de düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ile perifer dokulara dağılır. Vücutta karaciğerden ziyade yağ dokusunda depolanır. Depolanan miktarı azdır. Dokularda, mitokondri ve mikrozoimler gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında, yağ hücreleri, bazı endokrin bez hücreleri ve trombositlerde yüksek konsantrasyonda E vitaminine rastlanır.^{48,52,54,55}

Sellüler ve subsellüler membranlardaki fosfolipidlerin, α -tokoferole karşı afiniteleri yüksektir. Bu membranlarda E vitamini, süperoksit ve hidroksil radikalini, singlet oksijeni, lipid peroksidlerini ve diğer radikalleri daha az aktif formlara dönüştürerek, membranları lipid peroksidasyonuna karşı koruyan güçlü bir antioksidandır.^{38-40,50,54,56} Bu antioksidan etkisiyle hücre membranındaki değişiklikleri önler.⁵⁵ Ayrıca, molekül, lipid peroksit radikalini (ROO^\bullet) ortadan kaldırarak da lipid peroksidasyon reaksiyonlarını sona erdirdiğinden, zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir.⁴² E vitamini, peroksitler üzerindeki nötralize edici etkisini, bir fenolik hidrojen atomunu peroksit radikaline transfer etmek suretiyle yapar.^{48,54} Serbest radikali ortadan kaldırırken; kendisi, normal şartlarda tek başına lipid peroksidasyonunu başlatamayacak kadar inaktif bir form olan, tokoferoksil radikaline (α -tokoferol- O^\bullet) dönüşür.^{42,54}



Oluşan tokoferoksil radikali, glutatyon ve C vitamini ile tekrar aktif hale getirilir veya yeni bir peroksit radikali ile reaksiyona girerek stabil quinone formuna (serbest olmayan radikal) okside olur (Şekil 3).^{39,40,54}

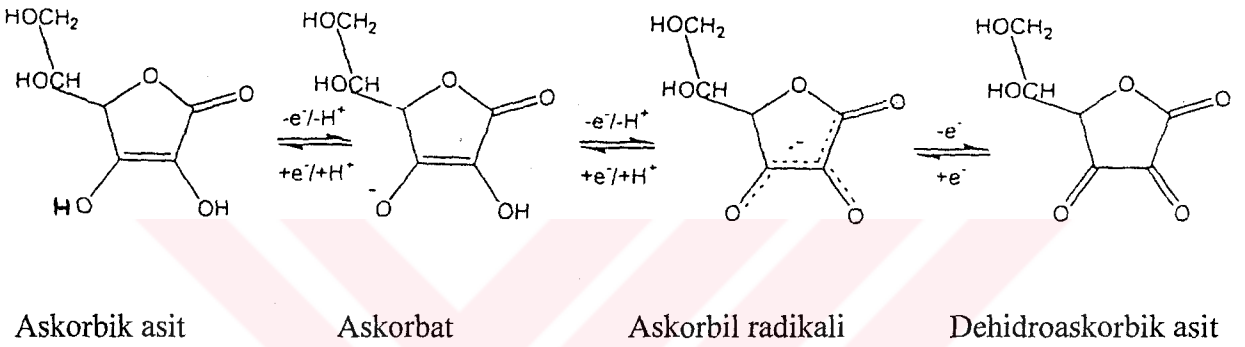


Şekil 3. E vitamininin serbest olmayan radikalinin yapısı.

Bu oksidasyon ürünü, karaciğerde glukuronik asid ile konjugasyona uğrayarak, glukuronidasyon yoluyla metabolize olur ve büyük oranda safra ile atılır.⁵⁴

2.2.4. C Vitamini (Askorbik Asit)

Yapısı; glukoza ve diğer altı karbonlu monosakkaridlere benzeyen bir ketolakton olan askorbik asit, suda çözünen vitaminlerdendir. Kimyasal yapısı aşağıda gösterildiği gibidir (Şekil 4).^{40,57-59}



Şekil 4. Askorbik asit, askorbat, askorbil radikali ve dehidroaskorbik asidin kimyasal yapısı.

Kuşlar, reptiller ve kurbağalar askorbik asidi, karaciğer veya böbreklerde, glukozdan başlayarak L-gulonik asit üzerinden sentez ederler. Ancak, insan ve kobaylarda L-gulonik asidi askorbik aside dönüştüren enzim bulunmaz. Bu nedenle vücutta sentez edilemeyen vitaminin diyetle alınması gerekir.

C vitamini; aynı fizyolojik etkinliğe sahip, L-askorbik asit ve bunun okside şekli olan L-dehidroaskorbik asit şeklinde bulunur. Bu molekülün her ikisi de, özellikle yeşil renkli taze sebzelerde ve turuncgillerde bol miktarda bulunur. Diyetteki askorbik asidin hemen hemen tamamı ince bağırsaklardan kolayca emilir. Vücutta C vitamini depoları hızlı şekilde boşalmaz. Eksikliğinde ortaya çıkan skorbütün gelişimi için 3-4 ay gerekir. Fazla miktarda alınan C vitamini, hızla idrarla atılır.^{40,57,58,60}

Askorbik asit, dokularda kolayca dehidroaskorbik asite oksitlenir. Bu dönüşüm molekül başına iki hidrojen atomunun serbest kalmasına neden olur. Bu özelliği ile askorbik asit yüksek indirgeyici güce sahiptir. Organizmada hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kollajen sentezinde, prolin ön maddesinden hidroksiprolin sentezi için gereklidir. Askorbik asit aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Organizmanın sitosöl, plazma ve ekstrasellüler sıvı gibi suda eriyebilir bölümlerinde

süperoksit anyonunu, hidrojen peroksiti, hidroksil ve peroksil radikalini, reaktif nitrojen türlerini ve singlet oksijeni güçlü bir şekilde bağlayarak, inaktive eder, lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizler ve protein karbonil oluşumunu azaltır, bu suretle DNA, lipidler ve proteinler gibi önemli biyolojik molekülleri oksidan hasara karşı korur. Eksikliğinde kollajen oluşumu, dolayısıyla bazal membranların yapısal bütünlüğü bozulur.^{40,46,57,60,61}

Ayrıca, in vitro olarak tokoferoksil radikalini, α -tokoferol'a rejenere ettiği için sekonder bir antioksidandır.^{38,42} Askorbik asit, redoks koşullarına bağlı olarak radikal de oluşturabilmektedir.³⁸ Ancak, askorbatın bir elektron oksidasyonu ile oluşan askorbat radikali (semidehidroaskorbat), adrenal bez, böbrek ve karaciğerde bulunan, aktivitesi NADH'a bağlı semidehidroaskorbat redüktaz ile askorbata indirgenerek ortadan kaldırılır.^{61,62}

C vitamini, megadoz (1-4g/gün) seviyelerinde bile göreceli olarak güvenli olsada, toksik etkiden tamamen uzak değildir. Nitekim, üriner sistem taş hastalığına neden olabilen oksalat, bir C vitamini metabolitidir.⁴⁰ Diğer antioksidanlar gibi C vitaminin de kansere karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir.^{63,64}

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda; İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarları'nda üretilmiş, 3 aylık, ağırlıkları 200-300 gr arasında değişen 24 adet Wistar albino erkek rat kullandık. Aynı biyolojik ve fizyolojik koşullar altında tutulan tüm deneklerimizden, vücut ağırlıkları birbirine yakın olanlar aynı grupta olacak şekilde; her biri 6 rat içeren, 1 kontrol ve 3 deney grubu oluşturduk. Deney süresi boyunca, tüm deneklerimizi, optimum koşullar (Isı; 21°C, bağıl nem oranı; %40-60, ışık periyodu 12/12 saat aydınlık/karanlık, uygun havalandırma sistemi) altında, günlük içme suyu ve %21 ham protein içeren pelet yemlerle (Purina) besleyerek baktık.

Gruplarımızı aşağıdaki şekilde oluşturduk;

- I. grup: Kontrol grubu
- II. grup: Ayda 1 kez olmak üzere 3 ay süreyle, 24 numara kateter yardımıyla iv yoldan 5mg/kg cisplatin DBL (Orna) verdiğimiz grup.
- III. grup: Ayda 1 kez olmak üzere 3 ay süreyle 5 mg/kg, iv cisplatin ile birlikte, ilk cisplatin enjeksiyonunu takiben her gün, intramusküler (im), 5 mg/kg, E vitamini (Evigen- AKSU) verdiğimiz grup.
- IV. grup: Ayda 1 kez olmak üzere 3 ay süreyle 5 mg/kg, iv cisplatin ile birlikte ilk cisplatin enjeksiyonunu takiben her gün, im, 8 mg/kg, C vitamini (Redoxon- ROCHE) verdiğimiz grup.

Kontrol grubu dışında, tüm deneklerimize cisplatin veriminden 24 saat önce 6 saat arayla 2 kez, kemoterapiye bağlı olarak ortaya çıkabilecek olan çeşitli alerjik reaksiyonlara karşı, im, 0.13 mg/kg deksametazon (Dekort-DEVA) verdik.

3 ay boyunca her gün aynı saatte, III. deney grubundaki ratlara, 5 mg/kg E vitaminini, saf zeytin yağında dilüe ederek (0,16 ml/kg), im yoldan, IV. gruptakilere ise, 8 mg/kg C vitaminini, distile su ile dilüe ederek (0,32 ml/kg), im yoldan verdik.

Deney süresinin bitiminin ardından, tüm deneklerden eter anestezisi altında, böbrek kortekslerinin aynı bölgesinden olacak şekilde, ışık ve elektron mikroskopik çalışmalarımız için biyopsi materyalleri alarak işlemlendirdik.

Işık mikroskopik incelemelerimizde kullanacağımız böbrek korteks biyopsi materyallerini, Bouin fiksatoründe fikse ettikten sonra, tüm parçalara parafin inkluzyonu yaparak, bloklama işlemini gerçekleştirdik. Elde edilen tüm bloklardan 5µ kalınlığında kesitler alarak, böbreğin histolojik yapısındaki özellikleri ortaya koyacak H+E, PAS+HL, Azan ve Masson boyalarını uyguladık.^{65,66}

Elektron mikroskopik incelemelerimiz için ise biyopsi materyallerinin diğer yarılarını; pH'sı 7,3 olan %3'lük glutaraldehit (Merck) fosfat tampon solusyonunda 1³⁰ saatlik prefiksasyona, aynı fosfat tamponunda 24 saat yıkadıktan sonra da %1'lik OsO₄ (Merck) solusyonunda 1 saatlik postfiksasyona tabi tuttuk. Parçaları tamponda çalkalayıp, yükselen alkol (Merck) serilerinden geçirerek dehidratasyon ve propilen oksitte (Merck) saydamlaştırma işlemini tamamladık. Daha sonra da "3 kısım propilen oksit + 1 kısım araldit" karışımında, "1 kısım propilen oksit + 1 kısım araldit" karışımında, "1 kısım propilen oksit + 3 kısım araldit" karışımında 1'er saat ve son olarak saf aralditte (Fluka) 24 saat bekleterek, kapsüllere gömdük. Aralditin polimerizasyonu için iki gün 45°C'lik ve üç gün de 60°C'lik etüvde tuttuktan sonra 750 nm kalınlığında, yarı ince kesitlerini alıp, toluidin mavisiyle boyadığımız parçalardan, kesim bölgesini belirlediğimiz yerlerin 60 nm kalınlığında ince kesitlerini alarak, bu kesitlere uranil asetat ve Reynold'un kurşun sitrat boyalarını uyguladık.⁶⁷ Jeol 1010 elektron mikroskobunda inceleyerek, fotoğraflarını çektik.

4. BULGULAR

Çalışmamızda, kontrol grubu deneklerimizden aldığımız, böbrek korteks biyopsi materyallerini, her 3 deney grubuna ait biyopsi materyalleri ile ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde karşılaştırdık.

Deneklerimizi;

I. grup: Kontrol grubu,

II. grup: Ayda 1 olmak üzere, 3 ay süreyle 5 mg/kg cisplatin verdiğimiz deney grubu,

III. grup: Ayda 1 olmak üzere, 3 ay süreyle 5 mg/kg cisplatin ile birlikte günlük 5 mg/kg E vitamini verdiğimiz deney grubu,

IV. grup: Ayda 1 olmak üzere, 3 ay süreyle 5mg/kg cisplatin ile birlikte günlük 8 mg/kg C vitamini verdiğimiz deney grubu olmak üzere sınıfladık.

4.1. I. Grup Deneklerimize Ait Bulgular

4.1.1. Işık Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubu deneklerimizin böbrek korteks materyallerini ışık mikroskopunda incelediğimizde; normal görünümde ve sıklıkta Malpighi cisimciklerine, distal ve proksimal tübüllere, toplayıcı borulara ve damarlara rastladık (Resim: 1).

Malpighi cisimciklerinde pariyetal yaprak hücreleri, yassı görünümlü, periyodik yerleşimli olup, nukleusları glomerüler odacığa doğru hafifçe çıkıntı oluşturuyordu. Glomerüler ağaççık normal görünümlü idi (Resim: 2, 3, 4). Pariyetal yaprak bazal membranı ve glomerüler bazal lamina normal kalınlıkta, Jukstaglomerüler aparatlar normal görünümde idi (Resim: 3, 4). Makula densayı oluşturan distal tübül hücreleri; sıklaşmış, koyu renkli, yüksek prizmatik hücreler şeklinde görülüyordu (Resim: 2, 3).

Piramidal şekilli hücrelerden oluşmuş, dar lümenine sahip proksimal tübüller, apikal kısımlarında düzenli periyodisiteye sahip fırçamsı kenarlar içeriyordu. Gerek izoprizmatik hücrelerin oluşturduğu, geniş lümenli distal tübüller, gerek proksimal tübüller ince bir bazal membranla çevrili idi (Resim: 3).

4.1.2. Elektron Mikroskopik Bulgular

I. grup deneklerimizin böbrek korteks materyallerini elektron mikroskopunda incelediğimizde; Malpighi cisimciklerinin glomerülünü oluşturan, kapiler ağaççığının epitel örtüsü ile viseral yaprağın podosit örtüsünün ortak bazal membranın iki yüzü üzerine oturduğunu gözlemledik. Gerek podosit pediselleri gerekse fenestratalı endotel hücre delikçikleri düzenli bir periyodisiteye sahip idi (Resim: 5).

Oval nukleuslu, proksimal tübül hücreleri; apikal yüzlerinde mikrovilli oluşturmuş olup, sitoplazmalarında, lizozomlara, serbest ribozomlara, düz ve granüllü endoplazmik retikuluma, hafifçe uzamış oval şekilli mitokondrilere rastlanıyordu (Resim: 6). Hücreler ince bir bazal membran üzerine otururken sitoplazmalarıyla bazal katlantılar oluşturmakta, oldukça uzamış mitokondriler de bu katlantılarda yer almakta idi (Resim: 7).

Apikal kısmı yer yer sitoplazmik girinti ve çıkıntılar oluşturmuş distal tübül hücreleri, yuvarlak nukleuslu olup, sitoplazmaları; serbest ribozomları, düz ve granüllü endoplazmik retikulumu ve bazal katlantılar içerisine yerleşmiş mitokondrileri içermekte olup, ince bir bazal membran üzerine oturmakta idi (Resim: 8).

4.2. II. Grup Deneklerimize Ait Bulgular

4.2.1. Işık Mikroskopik Bulgular

Sadece cisplatin verilen II. grup deneklerimizin böbrek korteks materyallerini ışık mikroskopunda incelediğimizde; kontrol grubundan farklı olarak, başta kortikomedüller bölgede yer alan damarların çevresi olmak üzere, kortekste damar çevrelerinde de yoğun infiltrasyon bölgeleri gözledik. Malpighi cisimcikleri ve bazı tübül yakınlarında da yer yer infiltrasyon odaklarına rastladık (Resim: 9, 10, 11, 12). Göze çarpan en önemli değişikliklerden biri de, kortekse doğru giden, lümenleri ileri derecede genişlemiş, oval, uzun, spiral şekilli tübüller idi (Resim: 9, 10, 11, 12).

Kortikomedüller ve korteks bölgelerinde Malpighi cisimciklerinin çoğu normal görünüm ve büyüklüğünü kaybetmişti (Resim: 9, 10, 11, 12). Glomerüler yapı kısmen (Resim: 9, 11, 12) veya tamamen ortadan kalkmış, geriye bir miktar eosinofilik materyalin bulunduğu, glomerüler odacık kalıntılarına rastlanmakta idi (Resim: 9, 10). Damar çevresinde, yoğun infiltrasyon bölgesinde yer alan böbrek cisimcikleri ise infiltrasyon hücrelerinin bu bölgeyi tamamen doldurmasıyla hiç gözlenemiyordu (Resim: 9). Bu nedenle

normal yapıya sahip Malpighi cisimcik sayısı azalmış, yeri bağ doku tarafından doldurulmuştu (Resim: 9, 10, 13). Gerek Malpighi cisimciğinin pariyetal hücrelerinin üzerine oturduğu bazal membranda, gerekse glomerülün kapiler bazal laminasında kalınlaşma söz konusu idi (Resim: 12, 14).

Diğer morfolojik değişiklikler, gerek proksimal, gerekse distal tübülde görülen; tübüler genişleme ve çeşitli derecedeki tübül hasarları idi. Tübüler genişleme, özellikle kortikomedüller bölgede başlayıp kortekse doğru yayılıyordu (Resim: 9, 11, 12).

Aşırı genişlemeler özellikle distal tübüllerde görülmekte olup, genişleme sonucu tübüler hücre giderek şeklini kaybetmekte ve yassı hücre haline geçmekte idi (Resim: 10, 11, 12, 15). Bu genişlemiş tübüllerden bazılarının lümeninde ise eosinofilik materyale rastlanıyordu (Resim: 9, 12, 15).

Proksimal tübül genişlemeleri distal tübül genişlemelerine oranla daha sınırlı idi. Çoğu proksimal tübül hücre sitoplazması, normal yoğunluğunu kaybetmiş, özellikle apikal yüzün fırçamsı kenarlarında yer yer kopmalara, silinmelere veya düzleşmelere rastlanıyordu (Resim: 14). Bazı proksimal tübüllerde, tübüler yapının dağıldığı, çok ender rastlanan bazı bölgelerde ise yeni tübül oluşumunun başladığı görülüyordu (Resim: 16).

İleri derecede değişikliğe uğrayarak, hacmini artırmış tübüllerde bazı tübül hücrelerinin lümenine döküldüğü, bazı tübüllerin etrafında da kanama odaklarının ortaya çıktığını saptadık (Resim: 10, 11, 12).

Tübül bazal membranlarında belirgin bir kalınlaşma gözleniyordu (Resim:12, 14). Bu kalınlaşma yeni oluşmakta olan proksimal tübül bazal membranlarında, daha da fazla idi (Resim: 12, 16).

4.2.2. Elektron Mikroskopik Bulgular

II. grup deneklerimizden aldığımız böbrek korteks materyalleri elektron mikroskopunda incelendiğinde; Malpighi cisimciğinde; pariyetal yaprak hücre bazal mebranlarının yer yer kalınlaştığı veya incelendiği, hücre sitoplazmalarının apikalinde birtakım girinti ve çıkıntılarının ortaya çıktığı, bazı mitokondrilerde şişme ve krista silinmelerinin olduğu gözlemlendi. Komşu hücrelerde, bir kısım hücrelerin birbirinden uzaklaşmaya başladığı, bu hücrelerin nükleus membranlarının ondülasyon oluşturduğu görülmekte idi (Resim: 17, 18, 19). Filtrasyon seddinin ortak bazal membranı yer yer kalınlaşarak, elektron yoğun bir görünüm almış idi (Resim: 18). Endotel hücre sitoplazmik delikçiklerinin ve podosit pedisellerinin kendi aralarında kaynaşmaları sonucu, gerek pediseller, gerekse endotel

delikçikleri arasındaki periyodisite bozulmuş olup (Resim: 17, 18), çoğu podositin aktivitesi artmış idi (Resim: 17, 19).

Bazal membranı yer yer dubledenmiş proksimal tübül hücrelerinin apikalinde, fırçası kenarlarının, bazı yerlerde tamamen döküldüğü, tabanda ise bazal labirent düzeninin bozulup, katlantıların büyük oranda ortadan kaybolduğu gözlemlendi. Hücre sitoplazmalarında; çok sayıda vakuolün, kristalleri silinmiş, şişkinleşmiş mitokondrilerin ve farklı büyüklük ve sayıda lizozomun ortaya çıktığı, bunun yanı sıra mitokondri ve granüllü endoplazmik retikulum sayısının normale oranla azaldığı göze çarpıyordu (Resim: 20, 21, 22, 23, 24). Nükleus sitoplazma ilişkisinin bozulduğu (Resim: 21), hücrelerin lateral bağlantı komplekslerinde genişlemelerin olduğu izlenmekte idi (Resim: 24).

Yassılaştı ve lümenleri genişlemiş distal tübül hücrelerinde, bazal membranların düzensizleştiği, nükleus zarının invaginasyon oluşturduğu gözlenmekte idi. Hücre sitoplazmasında; sitoplazmik konsantrasyonun azalarak vakuollerin ve yer yer boşlukların ortaya çıktığı, çoğu hücre organelinin silindiği, şişkinleşmiş mitokondrilerde kristallerin silikleştiği, farklı içerik ve sayıda lizozomların olduğu, bazal katlantılarının kaybolduğu ve apikal çıkıntılarının tamamen döküldüğü gözleniyordu (Resim: 25).

İntersitisyel bağ dokuda yer alan damarların endotel hücrelerinde, ileri derecede bozukluk gözlenmekte idi; bazal membran yer yer kaybolmuş, apikal endotel sitoplazması düzleşmiş, hücre organelleri silinmiş idi. Kapillerlerin yırtılan bölgelerinden bağ doku içerisine kan hücrelerinin geçtiği ve intersitisyel dokuda çok miktarda kollajen lifin bulunduğu gözleniyordu (Resim: 19, 26).

4.3. III. Grup Deneklerimize Ait Bulgular

4.3.1. Işık Mikroskopik Bulgular

Cisplatin ile birlikte E vitamini uyguladığımız III. grup deneklerimizin böbrek korteks materyallerini ışık mikroskopunda incelediğimizde; kortikomedüller ve korteks bölgelerinde, infiltrasyon sahalarına oldukça az rastlanmakta ve bu sahaların büyük kısmı yeni yapılmakta olan proksimal tübül hücreleri tarafından doldurulmakta idi (Resim: 27, 28, 29, 30, 31, 32).

Malpighi cisimciklerinin çoğu normal şekil ve büyüklüğe sahip olup, sayılarında büyük kayba rastlanmıyordu. Pariyetal yaprak bazal membranı ve glomerüller bazal lamina normale yakın kalınlıkta olup, yer yer glomerülü haraplanmış Malpighi cisimcikleri göze çarpıyordu (Resim: 31, 33).

Cisplatin grubuna oranla túbüler genişlemelere gerek hacim, gerek sayı olarak daha az rastlanmakta idi (Resim: 27, 28, 29, 31). Genişlemiş túbüllerde lümene bakan hücreler daha az bozulmuştu ve tek katlı yassı epitelle çevrili túbül sayısı oldukça azdı (Resim: 27, 28, 29, 30, 31, 32). Bazal membran üzerine oturan proksimal ve distal túbül hücrelerinin çoğu normale yakın düzen ve görünümde olup, izlenen proksimal túbül hücrelerinin fırçası kenarlarında yer yer bozulma göze çarpmakta idi (Resim: 33, 34). İnfiltrasyon sahalarında rastlanan túbül oluşum evresindeki epitel hücreleri, önce hücre grupları oluşturmakta, daha sonra bu topluluğun çevresi kalın bir bazal membranla sarılmakta ve lümen oluştuğu bazal membran giderek incelmekte idi (Resim: 28, 29, 30, 32).

4.3.2. Elektron Mikroskopik Bulgular

III. grup deneklerin korteks biyopsi materyalleri elektron mikroskopunda incelendiğinde; çoğu Malpighi cisimciğinde, filtrasyon seddi bazal membranının normal kalınlıkta olduğu, ancak yer yer dublolenmeler gösterdiği, podosit pediselleri ve endotel delikçikleri arasında yer yer periyodisite bozuklukları olduğu gözleniyordu. Bazı kapiler lümenlerinde sitoplazma parçacıklarına rastlanmakta idi (Resim: 35).

Yer yer kalınlaşmış bazal membran üzerinde oturan proksimal túbül hücrelerinin fırçası kenarlarının, apikal sitoplazmadan ayrılıp, bu bölgede bir takım boşlukların meydana geldiği, tabanda ise, genellikle düzenli bazal katlantıları görülmekte idi. Sitoplazmalarında; normal kristal, oval mitokondri ve birkaç lizozom içeren hücrelerin yanı sıra sitoplazma konsantrasyonunu kaybederek yer yer boşlukların olduğu, bazal labirenti bozulmuş hücreler de gözlenmekte idi (Resim: 36). Bazı bölgelerde ise yeni túbül oluşum topluluklarına rastlanıyordu.

Yuvarlak nukleuslu distal túbül hücrelerinin apikal çıkıntılarında yer yer dökülme, hücre komşuluklarında genişlemelerin olduğu, bazal katlantılarının bir miktar bozulduğu gözlenmekte idi. Hücre sitoplazmalarında, kristalleri kısmen bozulmuş mitokondrilere, bir kaç lizozoma, serbest ribozomlara, Golgi aygıtı'na ve düz ve granüllü endoplazmik retikuluma rastladık (Resim: 37).

İntersitisel bağ dokuda, bir çok kapilerin haraplandığı, bu sahalarda çeşitli infiltrasyon hücreleri, kollajen lifler ve hasar gören endotel hücrelerinin oluşturduğu aralıklardan bağ dokuya geçen kan hücreleri izlenmekte idi (Resim: 38).

4.4. IV. Grup Deneklerimize Ait Bulgular

4.4.1. Işık Mikroskopik Bulgular

Cisplatin ile birlikte C vitamini uyguladığımız IV. grup deneklerimizin böbrek korteks materyallerini ışık mikroskobunda incelediğimizde; dokunun hemen hemen normal görünümde olduğunu izledik.

Kesitlerimizde infiltrasyon sahaları çok seyredildiği gibi, ayrıca bu sahalar, yeni tübüller ve tübül oluşumunda rol alan hücreler tarafından doldurulmuştu (Resim: 39, 40, 41, 42, 43).

Kesitte gözlenen Malpighi cisimcikleri; gerek sayı, gerek büyüklük, gerekse yapısal yönden normal bir görünüm sergilemekte idi. Çok ender olarak, bazı Malpighi cisimciklerinde bazal membran kalınlaşmalarına ve glomerülünde dejenerasyonlara rastladık (Resim: 44, 45, 46, 47).

Cisplatinden kaynaklanan tübüller genişlemeler, büyük oranda azalmış ve hücre nükleusları da oval şekillerini korumakta idi (Resim: 39, 41, 44, 46, 47). Tübüllerin çoğu normal görünümlü olup, proksimal tübül hücrelerinin fırçamsı kenarları oldukça düzenli idi. Tübül bazal membranlarında hafif bir kalınlaşma gözleniyordu (Resim: 42, 43, 45, 47).

4.4.2. Elektron Mikroskopik Bulgular

IV. grup deneklerin böbrek korteks materyallerini elektron mikroskobunda incelediğimizde, Malpighi cisimciğinde; pariyetal yaprak bazal membranlarında zaman zaman dublelenmelere, sitoplazmalarında yer yer vakuollere ve bozulmuş mitokondrilere rastladık. Normal görünümlü, ancak bazı bölgelerde duble yapmış ortak bazal membranın, her iki yüzünde yer alan podosit pediselleri ve endotel fenestrataları genelde düzenli periyodisiteye sahip idi. Endotel hücrelerinin bazı kapiler lümenleri içine sitoplazmik uzantılar gönderdiği izleniyordu (Resim: 48, 49).

Proksimal tübüllerde; bazal katlantı yüksekliğinde bir miktar kısalma görüldü. Vakuol sayısının diğer gruplara oranla çok azaldığı, mitokondri görünümünün normale yakın, ancak daha yuvarlak olduğu gözlenen sitoplazmasında, diğer hücre organelleri de yer almakta idi. Apikal yüzdeki fırçamsı kenar normal görünümde idi (Resim: 50, 51).

Cisplatin etkisiyle, yapıların haraplanarak ortadan kalkmış olduğu bazı bölgelerde ise; çeşitli gelişim aşamasında tübül oluşumları görülmüyordu (Resim: 52, 53). Önce, epitel hücreleri tübül oluşturmak üzere bir araya gelip, lümen, daha sonrada fırçamsı kenar

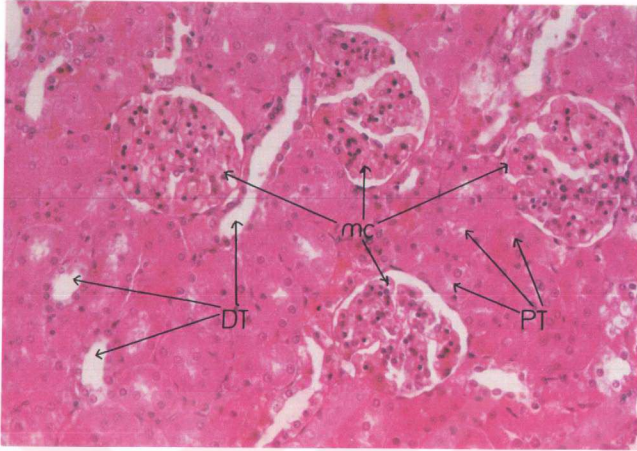
oluşturmaya çalışıyor, nihayet hücrelerde bazal katlantılar ortaya çıkmaya başlıyordu. Giderek apikal yüzde fırçası kenarların, bazal yüzde ise bazal katlantıların uzadığı görülüyordu (Resim: 52, 53).

Distal tübüllerde; bir kısım tübülün genişleyerek hücre boylarının kısaldığı görülmekte idi. Buradaki baskıya bağlı olarak, hücrelerin sitoplazmalarında, kristalleri kısmen veya tamamen silinmiş, şişkin mitokondrilere ve farklı yapılarda lizozomlara rastlanıyordu. Apikal yüzde sitoplazmik çıkıntılarının çoğunun veya aşırı baskıya uğrayan hücrelerde, tamamının dökülerek, apikal yüzün düzleştiği görülüyordu (Resim: 54). Bazı tübüllerde ise etkilenme daha az olup, hücrelerde, dolayısıyla bazal labirentte bir miktar kısılma görülüyordu (Resim: 55).

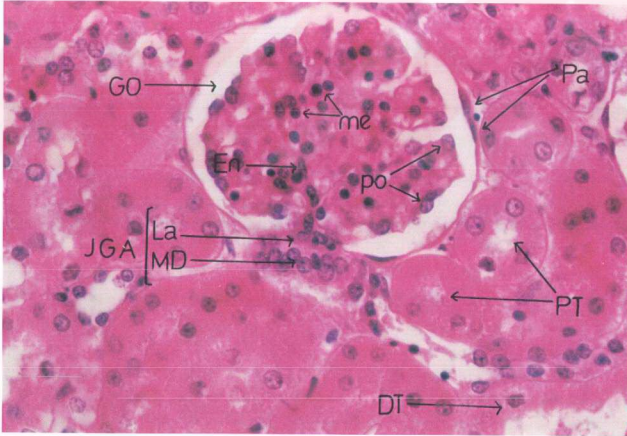
İntersitisyel bağ dokuda; normal görünümlü damarlar, bağ doku ve infiltrasyon hücreleri ile kollajen lifler gözleniyordu.



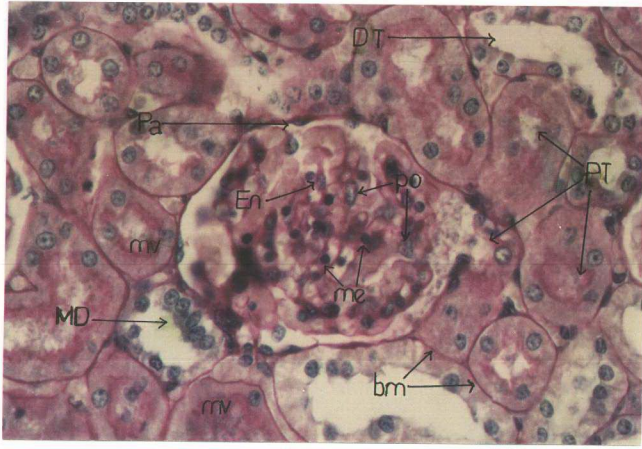
I. GRUP DENEKLERİMİZE AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK GÖZLEMLER



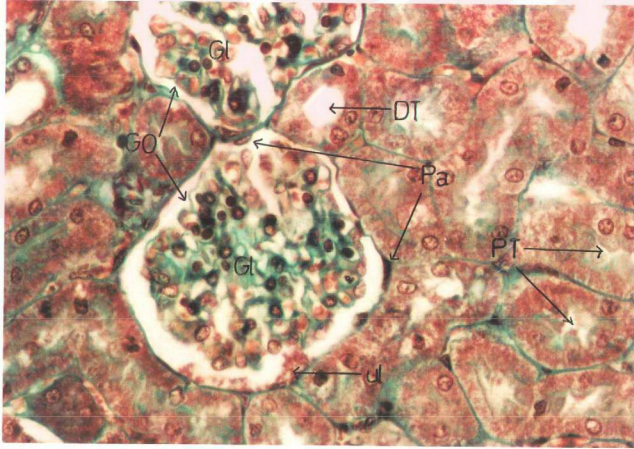
Resim 1: Korteksten geçen kesidimizde; gerek Malpighi cisimciklerinin (mc), gerekse proksimal (PT) ve distal tübüllerin (DT) normal yapı özelliklerine sahip oldukları görülmektedir. H+E, X 20.



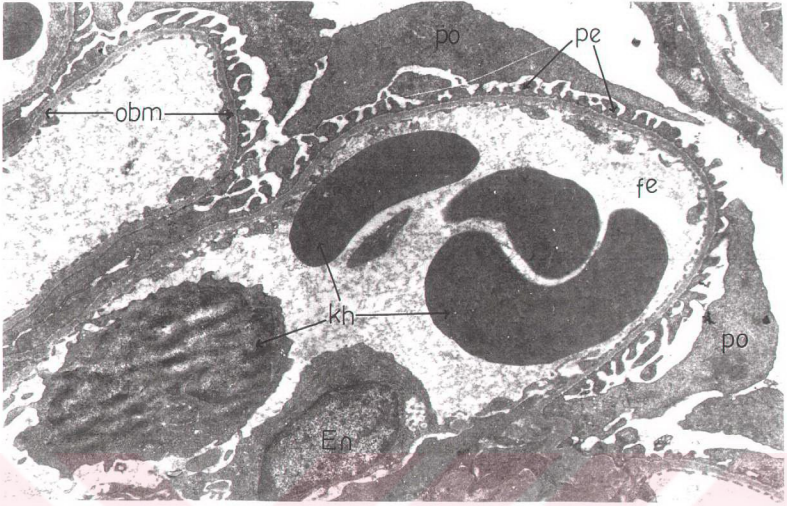
Resim 2: Malpighi cisimciğinde; pariyetal yaprak hücrelerinin (Pa) sınırladığı glomerüler oda (GO), glomerüler yapıyı oluşturan; endotel (En), podosit (po) ve mesangial hücreler (me), vasküler kutbunda ise lacis (La) ve macula densa hücrelerinin (MD) oluşturduğu jukstaglomerüler aygıt (JGA) ile cisimcik etrafında proksimal (PT) ve distal tübüller (DT) göze çarpmaktadır. H+E, X 40.



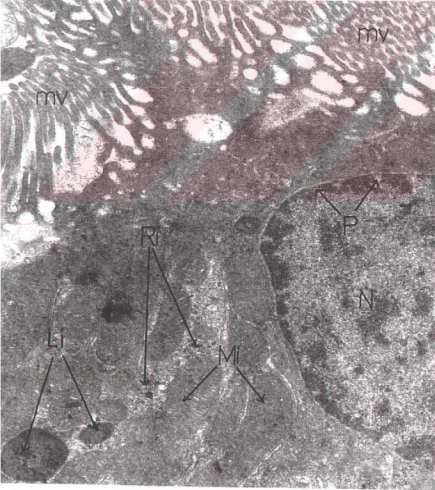
Resim 3: Malpighi cisimciğinde, üriner kutbu oluşturan proksimal tübül ve vasküler kutbun yakınında macula densa (MD) göze çarpmaktadır. Pariyetal yaprak hücrelerinin (Pa) ve glomerüler kapiler ağaçağının bazal laminası oldukça ince, tübül bazal membranları (bm) normal kalınlıkta, proksimal tübül (PT) fırçamsı kenarları (mv) düzenli görünümündedir. Endotel: En, podosit: po, mesangial hücre: me, distal tübül: DT. PAS+HI, X 40.



Resim 4: Malpighi cisimciğinde, glomerüller odası (GO) çevreleyen pariyetal yaprak hücreleri (Pa) ve odacıkta toplanan ultrafiltrat (ul) göze çarpmakta; çevrede ise proksimal (PT) ve distal tübüller (DT) yer almaktadır. Glomerül: Gl. Masson, X 40.



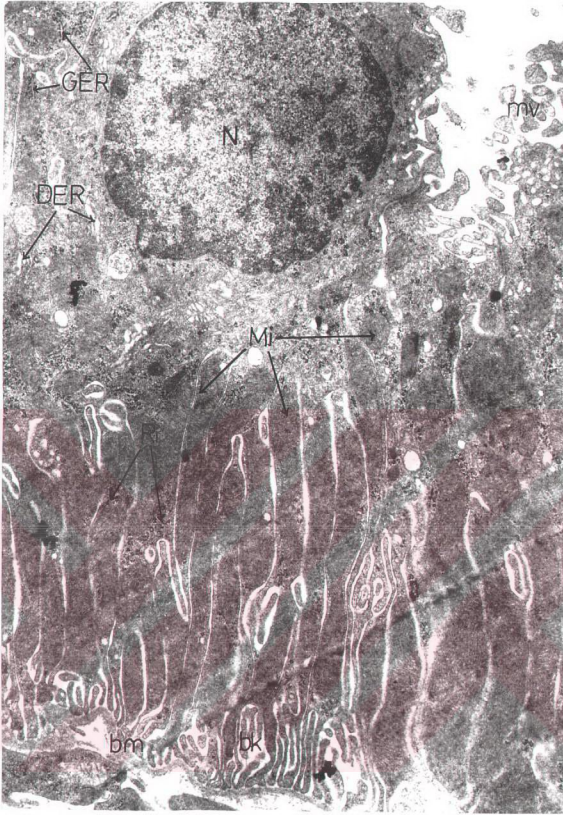
Resim 5: Glomerülden geçen bu kesitte; ortak ince bazal membran (obm) üzerine oturan podositler (po), kapiler endotel hücreleri (En); bunların düzenli bir periyodisiteye sahip pediselleri (pe) ve endotel fenestrataları (fe) gözlenmektedir. Kapiler duvarında endotel hücreleri ve lümende kan hücreleri (kh) görülmektedir. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 4000.



Resim 6: Proksimal tübül hücre sitoplazmasında; kristalleri normal görünümünde oval veya uzamış şekle sahip mitokondriler (Mi), çeşitli çapta lizozomlar (Li), serbest ribozomlar (Ri), serbest ribozomlar (Ri) ve uzunlukları birbirine eşit mikrovillisi (mv) gözlenmektedir. Nükleusu (N) oval, ökrmatin olup, nükleus porları (P) normal periyodisiteye sahiptir. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 6000.

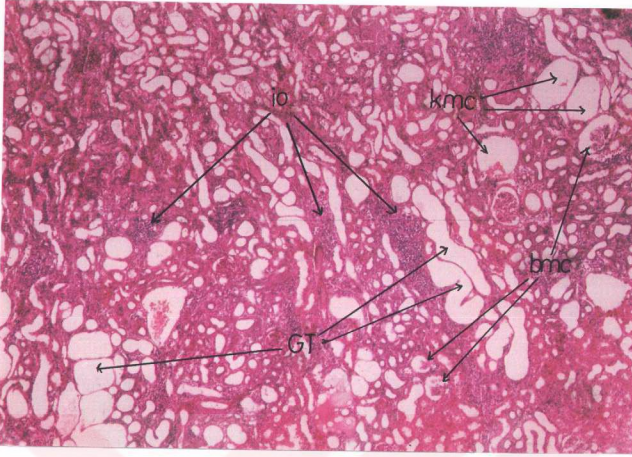


Resim 7: İnce bir bazal membran (bm) üzerine oturmuş proksimal tübül hücresinde, bazalde yüzeyi artırmak amacıyla sitoplazmanın yaptığı bazal katlantılar (bk) ve bunların içine yerleşmiş belirgin kristallı, uzamış mitokondriler (Mi) izlenmektedir. Ribozom: Ri, intersitisyel bağ doku: Int. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 8000.

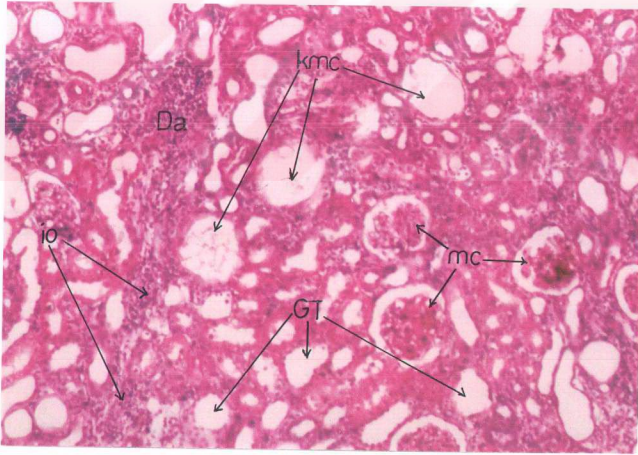


Resim 8: İnce bazal membran (bm) üzerine oturmuş, yuvarlak nükleuslu (N) distal tübül hücresinin, apikalde bir takım girinti ve çıkıntılar (mv), bazalde ise düzenli bir bazal labirent oluşturduğu görülmektedir. Sitoplazması; serbest ribozomları (Ri), düz (DER) ve granüllü endoplazmik retikulumu (GER) ve bazal katlantılar (bk) arasına yerleşmiş mitokondrileri (Mi) içermektedir. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 6000.

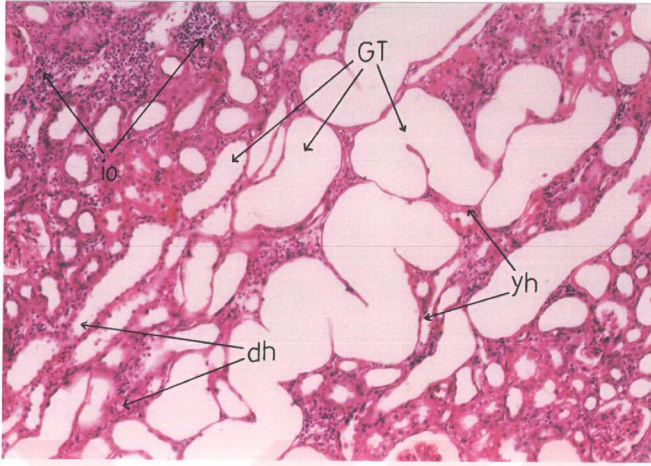
II. GRUP DENEKLERİMİZE AİT İŞİK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK GÖZLEMLER



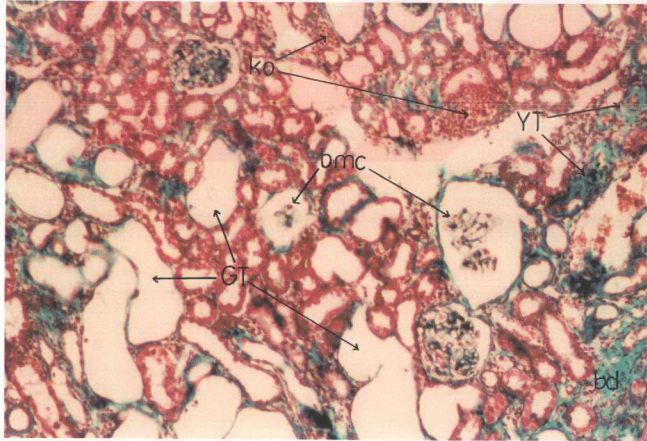
Resim 9: Kortikomedullar bölgeden geçen bu kesitte; infiltrasyon odaklarına (io), ileri derecede genişlemiş tübüllere (GT) ve bunlara yakın, morfolojisi kısmen bozulmuş (bmc) veya glomerülü tamamen kaybolmuş Malpighi cisimciklerine (kmc) rastlanmaktadır. H+E, X 4.



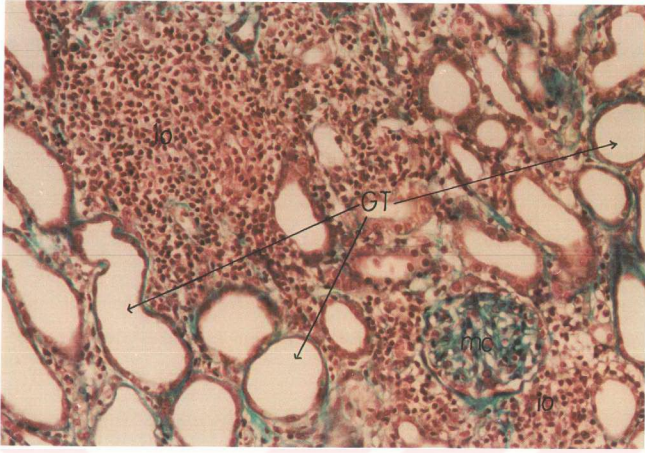
Resim 10: Damar (Da) boyunca devam eden infiltrasyon sahalarında (io) ve bu bölgeye yakın Malpighi cisimciklerinde (kmc) glomeruler ağaççığın ve pariyetal yaprak hücrelerinin tamamen yok olduğu, ileri derecede genişlemiş tübüllerde (GT) çoğu hücrenin döküldüğü görülmektedir. Malpighi cisimcikleri: mc. H+E, X 10.



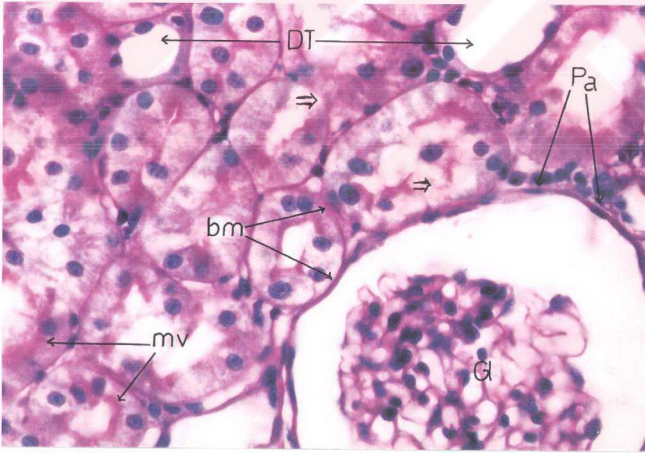
Resim 11: İnfiltrasyon odağına (io) yakın tübüllerde ileri derecede genişleme (GT); hücrelerde yassılaşıma ve hatta dökülmeler gözlenmektedir. Yassı hücre: yh, dökülmüş hücre: dh. H+E, X 10.



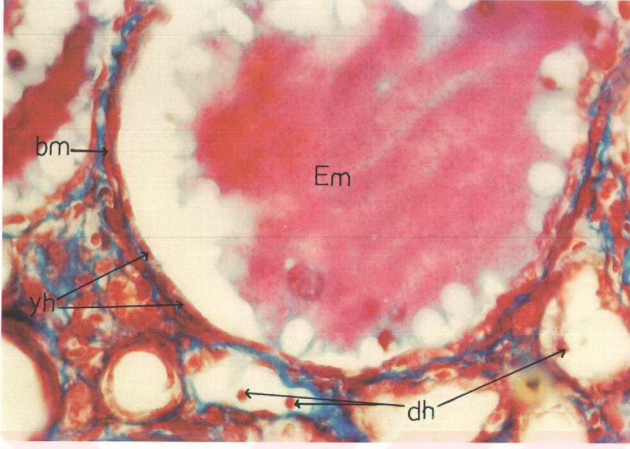
Resim 12: İnfiltrasyon saharlarında yer yer kanama odaklarına (ko), bazı yeni oluşmakta olan kalın bazal membranlı tübüllere (YT), genişlemiş tübüller (GT) ile pariyetal yaprak hücreleri düşmüş, ancak kalın bazal membranı mevcut, haraplanmış Malpighi cisimciklerine (bmc) rastladık. Bağ doku: bd. Masson, X 10.



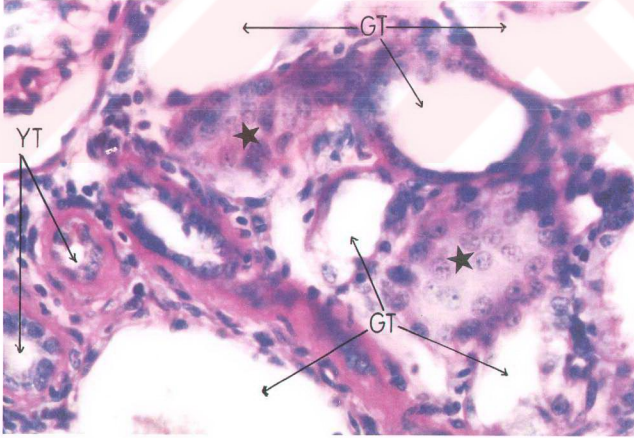
Resim 13: İnfiltrasyon odağını (io) oluşturan hücreler ve bu bölgede etrafı kalın bazal membranla çevrili, yassı hücreli genişlemiş tübüller (GT) gözlenmektedir. Malpighi cisimciği: mc. Masson, X 20.



Resim 14: Gerek Malpighi cisimciklerini sınırlandıran pariyetal yaprak hücrelerinin (Pa), gerekse tübüllerin üzerine oturdukları bazal membranların (bm) kalınlaştığı, fırçası kenarlarda (mv) yer yer kopmalar, silinmeler (⇒) gibi periyodisite bozulmaları göze çarpyordu. Glomerül: Gl, distal tübül: DT. PAS+HI, X 40.



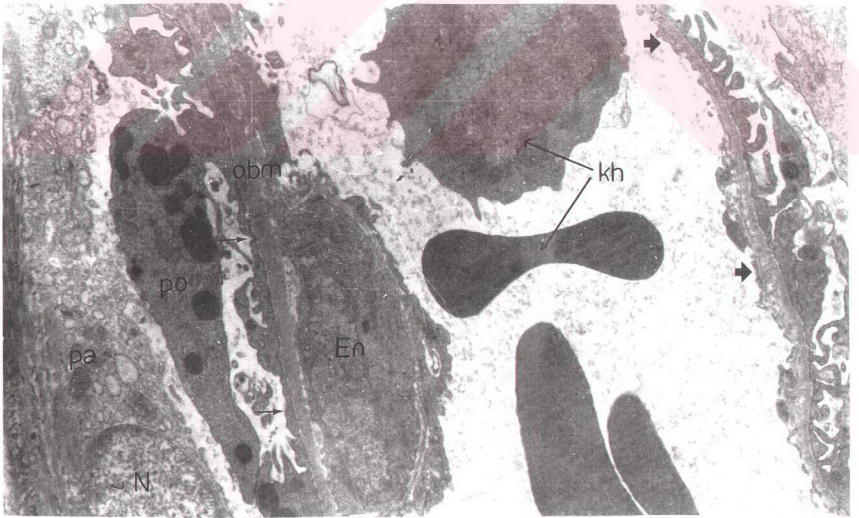
Resim 15: Kalın bazal membran üzerine oturan tübüler genişlemelerde (GT), duvarın yassı epitelle çevrildiği (yh), genişlemiş lümende ise eosinofilik materyalin (em) yer aldığı gözlenmektedir. Bazal membran: bm, dökülmüş hücre: dh. Azan, X 40.



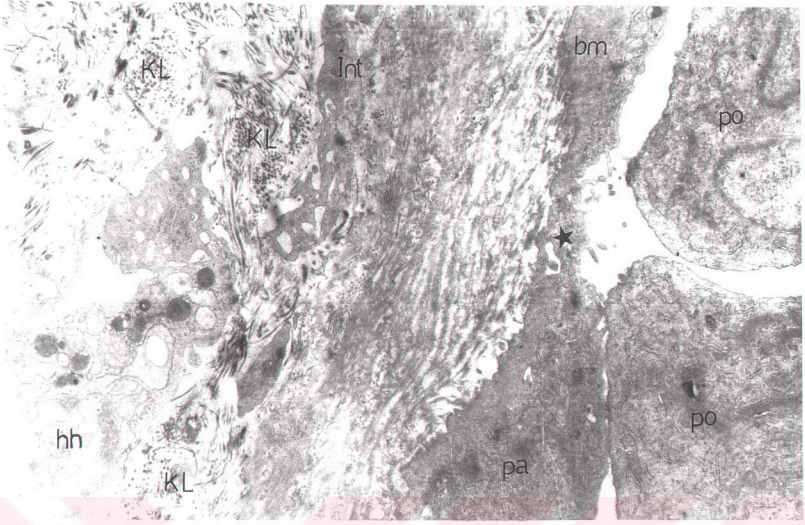
Resim 16: İnfiltrasyon sahasında, aşırı genişlemiş tübüllerin (GT) yanı sıra lümeni yeni açılmakta olan kalın bazal membranlı tübüllere (YT) ve tübül oluşturmak üzere gruplanmış epitel hücre topluluklarına (*) rastladık. PAS+HI, X 40.



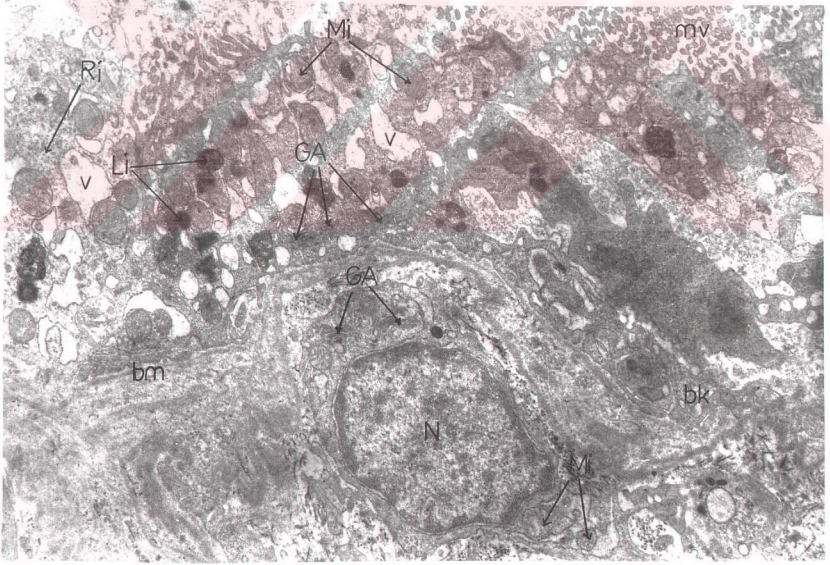
Resim 17: Malpighi cisimciğinde; kalınlaşmış, ondüvalı bazal membran (bm) üzerine oturmuş, pariyetal yaprak hücresinin (pa) nükleusunun da ondülasyon yaptığı, cisimcik içerisinde yer alan podositin (po) aktif hücre görünümünde olduğu (Golgi aygıt (GA), Granüllü endoplazmik retikulum (GER), mitokondri (Mi)), ancak, pedisel periyodisitesinin bozulduğu (→) göze çarpmaktadır. Fenestratalı endotelin delikçikleri yer yer kaybolmuş (◄) olup, bazı yerlerde hücre direkt bazal membran üzerine oturmaktadır. Nükleus: N, intersitisiyel bağ doku: İnt. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 5000.



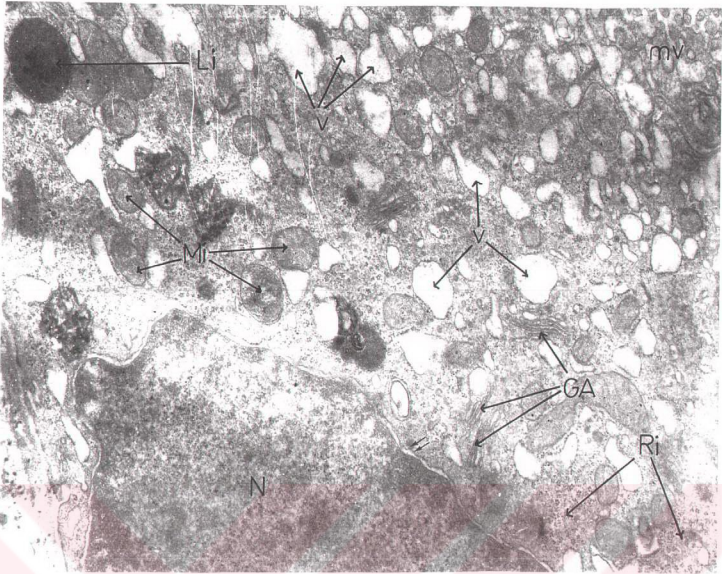
Resim 18: Pariyetal yaprak hücresinin (pa) bazal membranının kalınlaştığı, hücre sitoplazma konsantrasyonunun azaldığı, organellerinin oldukça zarar gördüğü izlenmektedir. Yer yer podosit (po) pedisellerinin (→) ve endotel (En) delikçiklerinin kaynaşarak (◄) direkt olarak, kalınlaşmış elektron opak bazal membran (obm) üzerine oturduğu gözlenmektedir. Kan hücreleri: kh. Nükleus: N. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 5000.



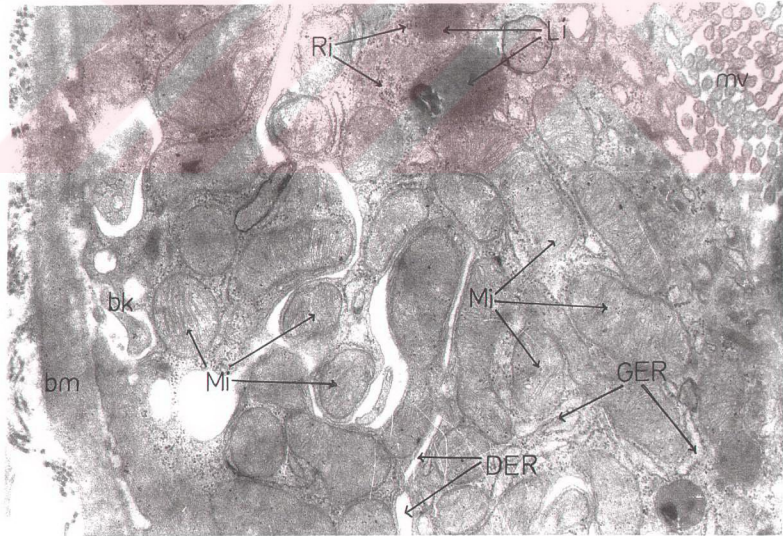
Resim 19: Bazal membranı (bm) yer yer kalınlaşmış, birbiriyle ilişkisi azalmış (*) iki pariyetal yaprak hücresi (pa), sitoplazmasının bir kısmı görülen aktif podositer (po) yapı ve Malpighi cisimciğinin yakınında kollajen lif artışı (KL) gösteren intersitisyel bağ doku (Int) ve içerisinde haraplanmış bir hücre (hh) gözlenmektedir. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 5000.



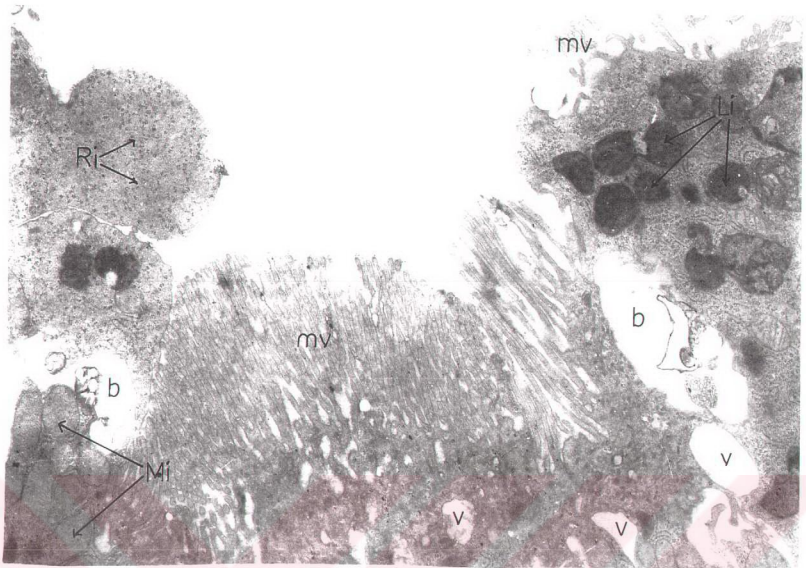
Resim 20: Bazal membranı yer yer dubledenmiş (bm), proksimal tübül hücresinin apikalinde fırçamsı kenarın (mv) bazı yerlerde koparak lümeneye döküldüğü, tabanında ise bazal labirent (bk) düzeninin bozulduğu görülmektedir. Hücre sitoplazması, çok sayıda vakuol (v), farklı büyüklük ve içerikte lizozom (Li), kristalleri silinmiş, şişkin mitokondri (Mi), serbest ribozom (Ri) ile Golgi aygıtı (GA) içermektedir. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 5000.



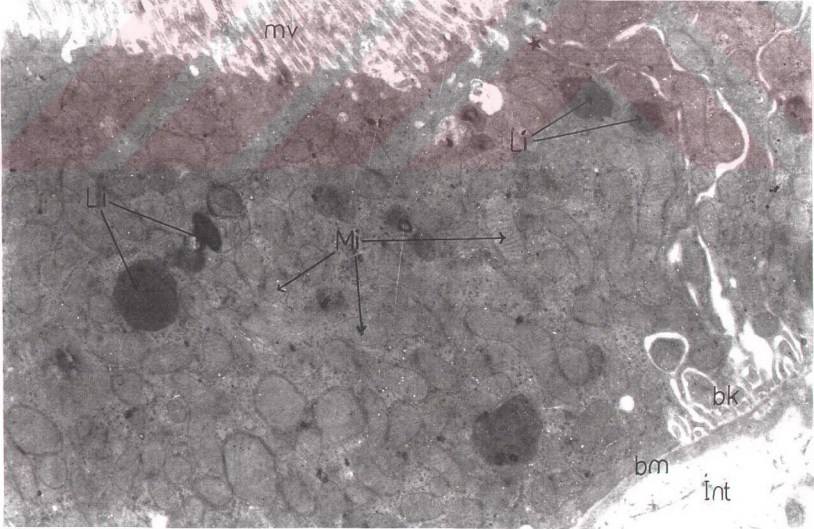
Resim 21: İleri derecede haraplanmış bu tübül hücresinde; fırçası kenarların (mv) bir kısmının koptuğu, vakuol (v) ve lizozom (Li) sayısının arttığı, mitokondrilerin (Mi) şişkinleşerek kristallarının silindiği, serbest ribozom (Ri) ve Golgi aygıtı (GA) sayısında artışın ortaya çıktığı, buna karşın bazal katlantıların düzleştiği ve nükleus (N)-sitoplazma ilişkisinin bozulduğu (±) gözlenmektedir. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 8000.



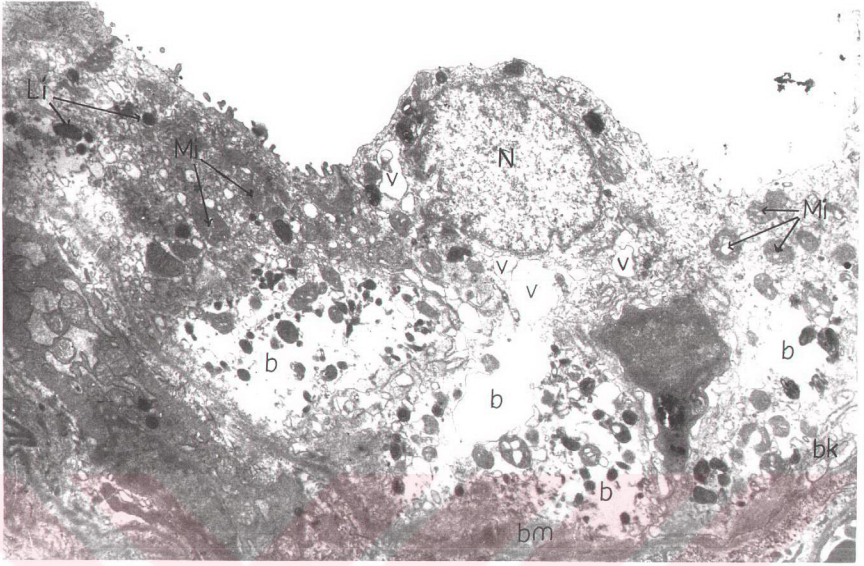
Resim 22: Apikal yüzünde (mv) haraplanma görülen, sitoplazmada; krista silinmeleri gözlenen şişkinleşmiş mitokondriler (Mi), farklı çap ve içerikte lizozomlar (Li), serbest ribozomlar (Ri), düz (DER) ve az miktarda granüllü endoplazmik retikulum (GER) bulunduran, bazal labirenti (bk) hemen hemen düzleşmiş bir proksimal tübül hücresi ve kalınlaşmış bazal membranı (bm) izlenmektedir. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 12000.



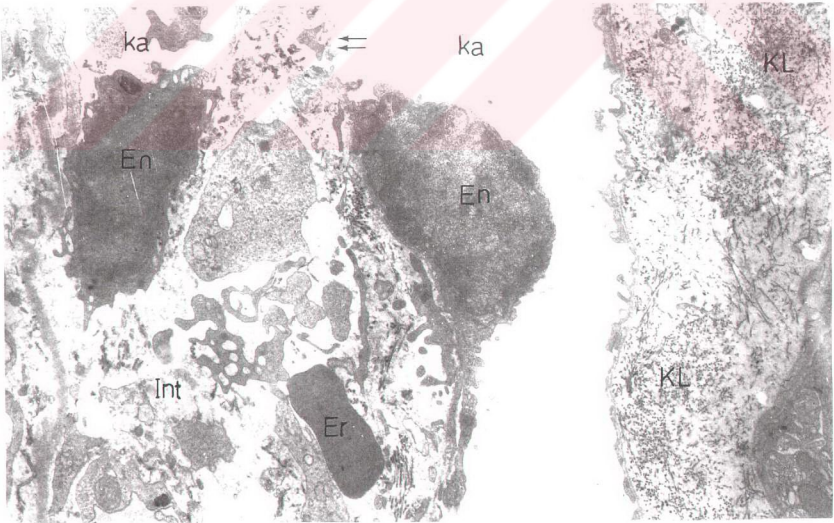
Resim 23: Fırçamsı kenarları (mv) yer yer tamamen dökülmüş, apikal sitoplazması açılmış, sitoplazması içerisinde geniş vakuollerin (v) ve sitoplazmik boşlukların (b) ortaya çıktığı, kristalleri bozulmuş şişkin mitokondrilerin (Mi), farklı çap ve içerikte lizozomların (Li) ve serbest ribozomların (Ri) izlendiği proksimal tübül hücreleri gözlenmektedir. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 6000.



Resim 24: Şişkinleşmiş mitokondrilerin (Mi) çoğunun kristallarının silindiği proksimal tübül kesidinde, hücrelerin birbirleriyle (*), bazal membranla (bm) ilişkilerini ve fırçamsı kenarlarını (mv) yer yer kaybetmekte oldukları görülmektedir. Bazal katlantı: bk, intersitisyel bağ doku: İnt. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 6000.

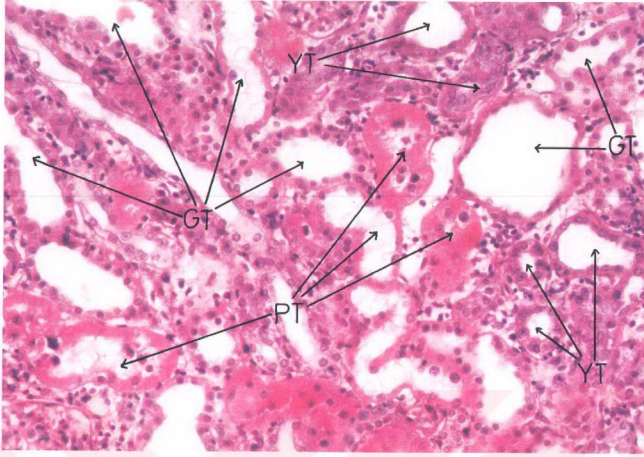


Resim 25: Düzensiz bazal membran (bm) üzerine oturan, apikal sitoplazmasının yer yer koparak lümeneye döküldüğü, bazal labirentinin (bk) düzleştiği gözlenen distal tübülde; tübül lümeninin genişlemesinden dolayı baskıya uğrayan hücrenin yassılaştığı, yuvarlak nükleusunun (N) lümeneye doğru çıkıntı yaptığı, sitoplazmasında ise, organellerin yer yer kaybolduğu, sitoplazma konsantrasyonunun azalmasıyla vakuol (v) ve boşlukların (b) ortaya çıktığı gözlenmektedir. Şişmiş mitokondriler: Mi, lizozomlar: Li. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 4000.

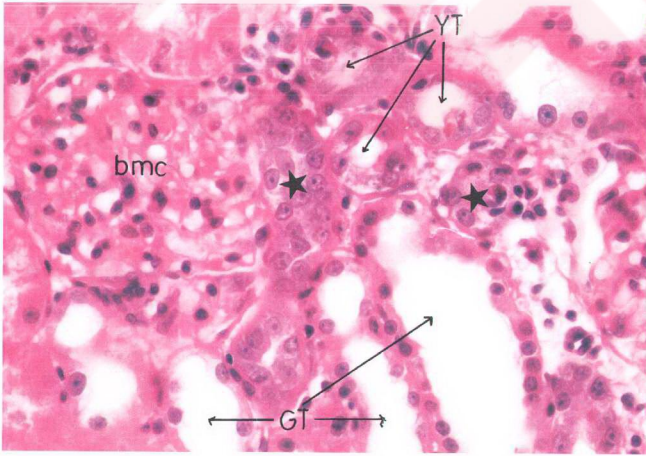


Resim 26: İntersitsiyel bağ dokudan (İnt) geçen kesitte; kapillerin (ka), endotel (En) sitoplazmasının yer yer parçalandığı (\rightleftharpoons) gözlenmektedir. Kapiller etrafında, artmış sayıda kollajen lifler (KL) ile bu kapilerden sızan bir eritrosit (Er) görülmektedir. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 4000.

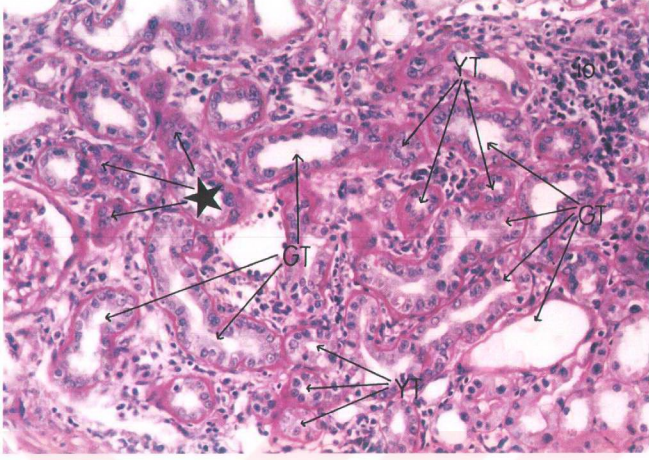
III. GRUP DENEKLERİMİZE AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK GÖZLEMLER



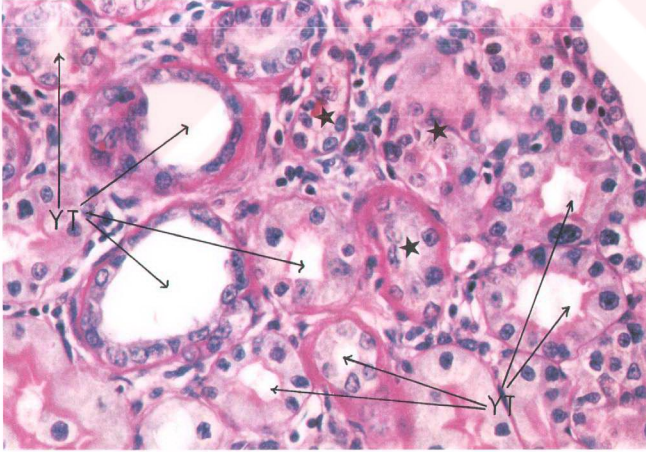
Resim 27: Normal tübüllerin yanı sıra çeşitli derecede genişlemiş tübüller (GT), yapısı kısmen bozulmuş proksimal tübüller (PT) ve yeni oluşmuş tübüller (YT) gözlenmektedir. H+E, X 20.



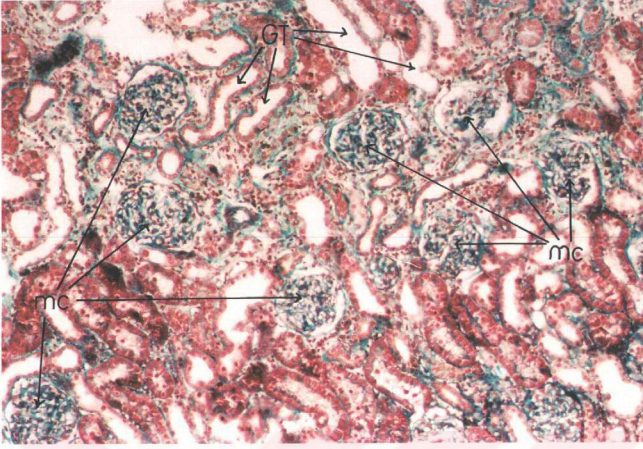
Resim 28: Morfolojisi kısmen bozulmuş Malpighi cisimciği (bmc), etrafında yeni tübül oluşumları (YT) ve çeşitli derecede genişlemiş tübüller (GT) gözlenmektedir. Tübül hücre toplulukları: *. H+E, X 40.



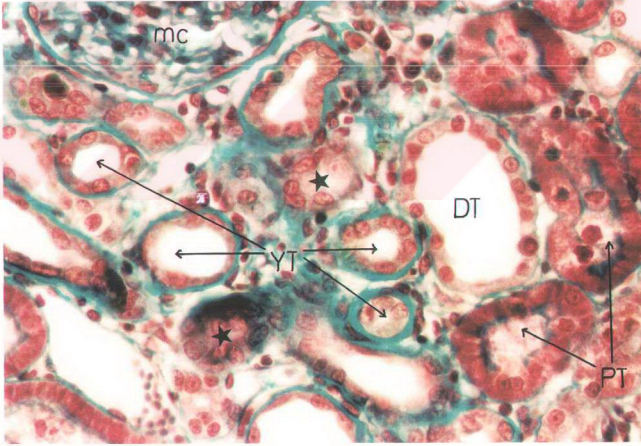
Resim 29: İnfiltrasyon sahalarında (io), yeni oluşmakta olan, kalın bazal membranlı proksimal tübüller (YT), tübül hücre toplulukları (*) ve kalın bazal membranlı, farklı ölçüde genişlemiş tübüller (GT) gözlenmektedir. PAS+HI, X 20.



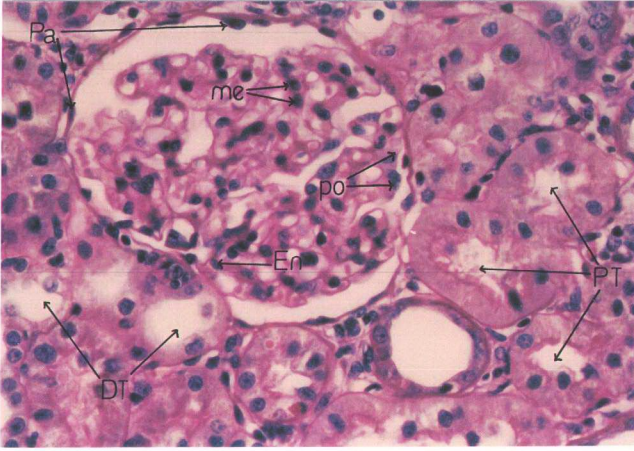
Resim 30: İnfiltrasyon bölgesinde, kalın bazal membranlı, çeşitli oluşum evresinde tübüller (*) ve lümenleri oluşmuş, ince bazal membranlı yeni proksimal tübüller (YT) gözlenmektedir. PAS+HI, X 40.



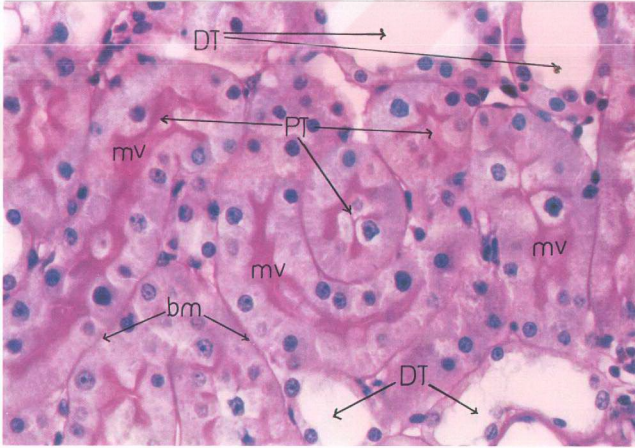
Resim 31: Korteksten geçen kesidimizde; normal çap ve görünümde Malpighi cisimcikleri (mc) ile genişlemiş tübüller (GT) gözlenmektedir. Masson, X 20.



Resim 32: Damar boyunca görülen infiltrasyon bölgesinde, kalın bazal membranlı, çok sayıda yeni tübül oluşumları (YT), tübül hücre toplulukları (*) ve bu sahaya yakın proksimal (PT), distal tübüller (DT) gözlenmektedir. Malpighi cisimciği: mc. Masson, X 40.



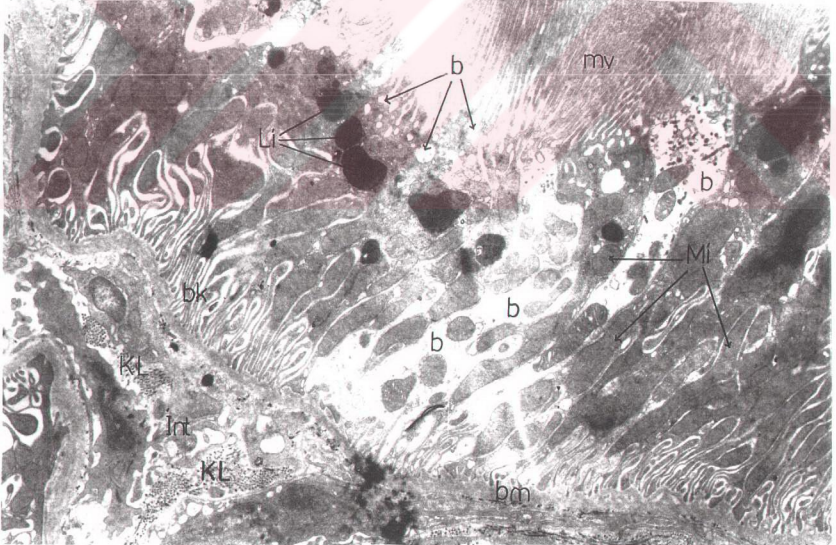
Resim 33: Normal görünümlü bir Malpighi cisimciğinde; ince bir bazal membran üzerine oturmuş pariyetal yaprak hücreleri (pa) ve fırçamsı kenarlarında hafif bir bozulmanın görüldüğü proksimal tübüller (PT) izlenmektedir. Endotel: En, podosit: po, mesangial hücre: me, distal tübüller: DT. PAS+HI, X 40.



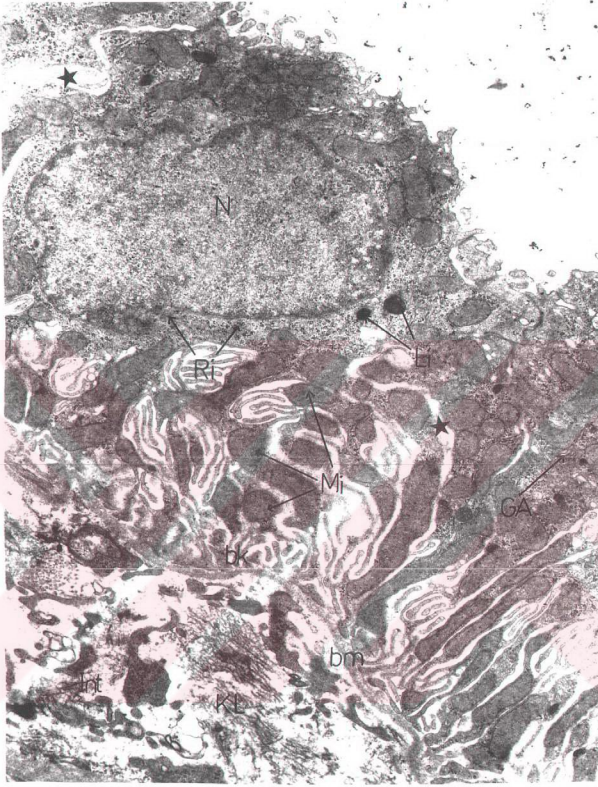
Resim 34: Oldukça normal görünümde proksimal (PT) ve distal tübüllere (DT) rastlanmaktadır. Bazal membran: bm, fırçamsı kenarlar: mv. PAS+HI, X 40.



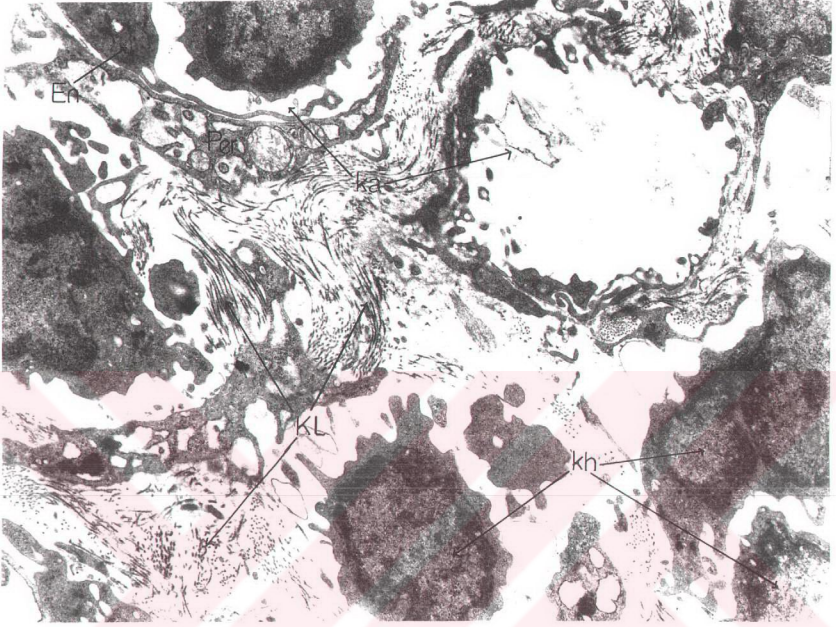
Resim 35: Glomerülden geçen kesitte, dublelenmiş (dbm) ve bazı yerlerde kalınlaşmış ancak genelde düzenli ortak bazal membran (obm) üzerine oturan, podosit (po) pedisellerinin (pe) ve endotel (En) fenestratalarının (fe) yer yer kaynaştıkları, fakat çoğunlukla düzenli periyodisiteye sahip oldukları gözlenmektedir. Fenestrata kaynaşması: (◄), pedisel kaynaşması: →, eritrosit: Er. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 4000.



Resim 36: Bazal membranı (bm) yer yer kalınlaşmış, fırçası kenarının (mv) sitoplazmadan ayrılıp apikal bölgede bir takım boşlukların (b) oluştuğu gözlenen, tabanda düzenli bazal katlantılara (bk) ve normal kristalini, oval mitokondrilere (Mi) sahip normal proksimal tübül hücrelerinin yanı sıra, sitoplazma konsantrasyonunu kaybederek yer yer boşlukların oluştuğu (b), hücre organelleri ve bazal labirenti bozulmuş hücrelere rastladık. Lizozom: Li, intersitisyel bağ dokusu: Int, kollajen lifler: KL. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 4000.

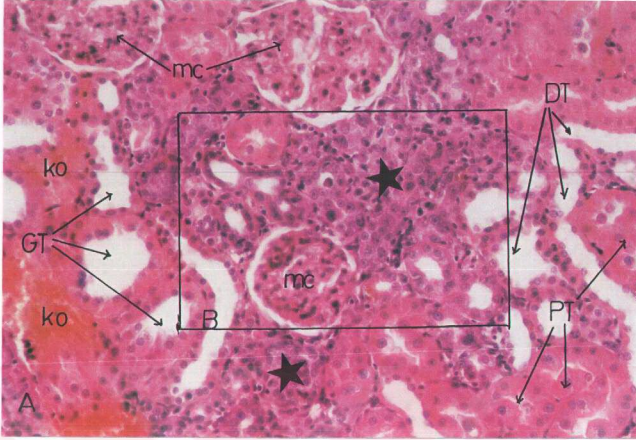


Resim 37: Apikal sitoplazmasında kopmaların, hücre komşuluklarında genişlemelerin (*) görüldüğü distal tübül hücresinde, bazal katlantıların (bk) bozulmakta, mitokondri (Mi) kristallerinin silinmekte olduğu gözlenmektedir. Bazal membran: bm, nükleus: N, ribozomlar: Ri, Golgi aygıtı: GA, lizozom: Li, intersitisyel bağ doku: Int, kollajen lifler: KL. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 5000.

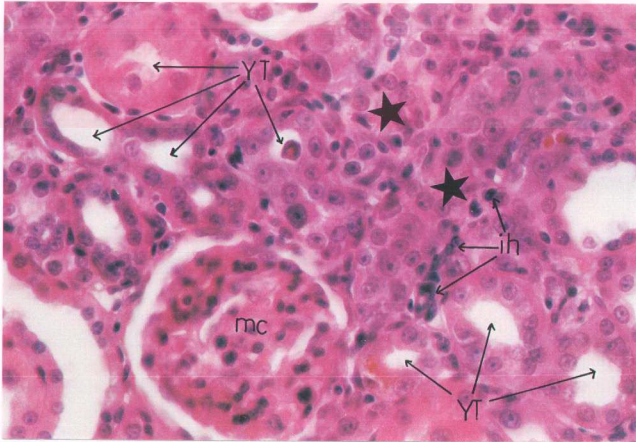


Resim 38: İntersitsiyel bağ dokunun görüldüğü kesitte; kapillerleri (ka) oluşturan yapıların büyük ölçüde zarar gördüğü, kanama odakları nedeniyle çeşitli kan hücrelerinin (kh) damar dışına çıktığı ve kollajen lif (KL) miktarının arttığı gözlenmektedir. Endotel: En, perisit: Per. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 5000.

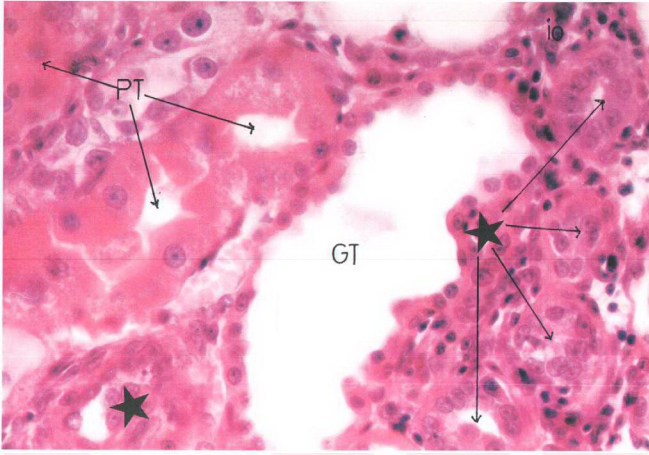
IV. GRUP DENEKLERİMİZE AIT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK GÖZLEMLER



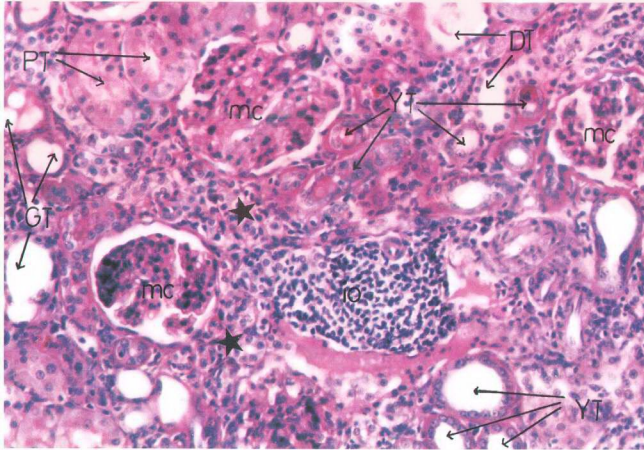
Resim 39: İnfiltrasyon sahasında, normal görüntümlü Malpighi cisimcikleri (mc), proksimal (PT) ve distal tübüller (DT) ile az sayıda, hafif genişlemiş tübüllere (GT), oluşmakta olan tübül hücre topluluklarına (*) ve oldukça ender görülen kanama odaklarına (ko) rastlandı. H+E, X 20.



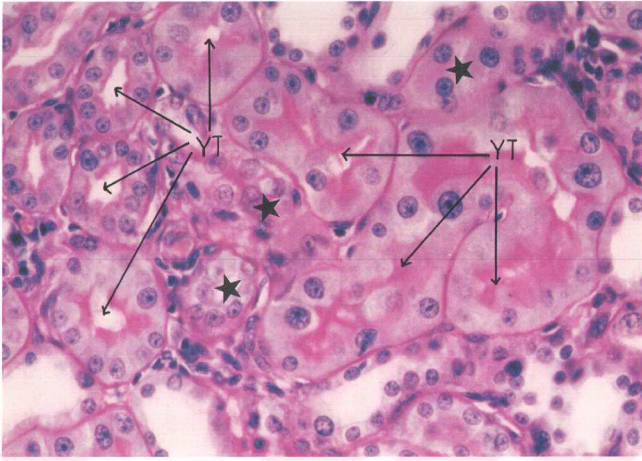
Resim 40: 39/b nin büyük büyütmesinde bir Malpighi cisimciğine (mc) yakın yerleşmiş çok sayıda yeni tübül hücre toplulukları (*) ve lümenleri açılmış, kalın bazal membranlı yeni proksimal tübüller (YT) gözlenmektedir. İnfiltrasyon hücreleri: ih. H+E, X 40.



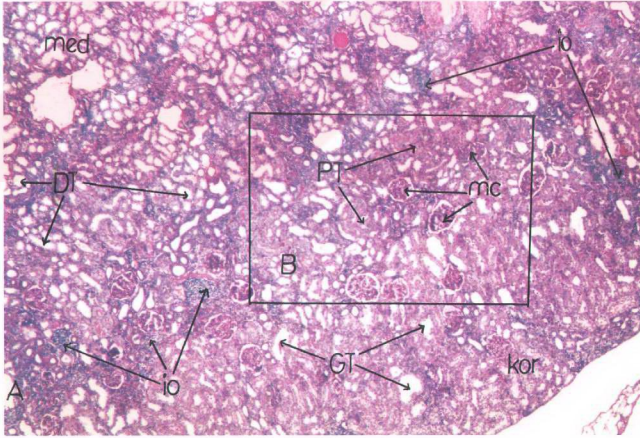
Resim 41: İnfiltrasyon sahasında (io), çeşitli evrede tübül oluşumları (*), normal yapıli proksimal tübüller (PT) ve genişlemiş bir distal tübül (GT) gözlenmektedir. H+E, X 40.



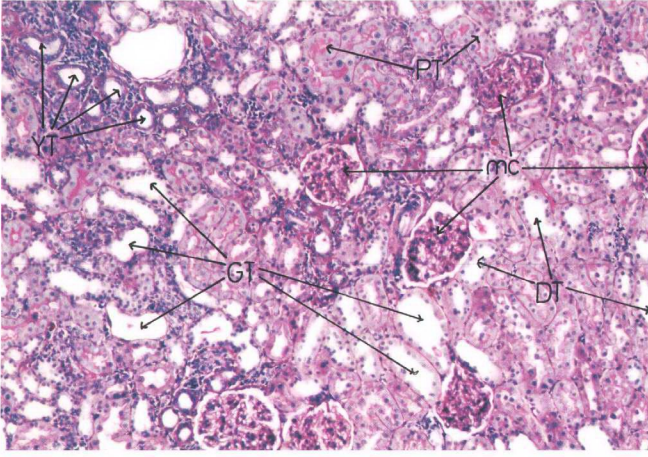
Resim 42: İnfiltrasyon sahasında (io), bazal membranı kalınlaşmış Malpighi cisimcikleri (mc), çeşitli evrede tübül oluşumları (*), yer yer genişlemiş tübüller (GT) ve oldukça normal görünümde proksimal (PT), distal tübüller (DT) izlenmektedir. Yeni tübül oluşumları: YT. PAS+HI, X 20.



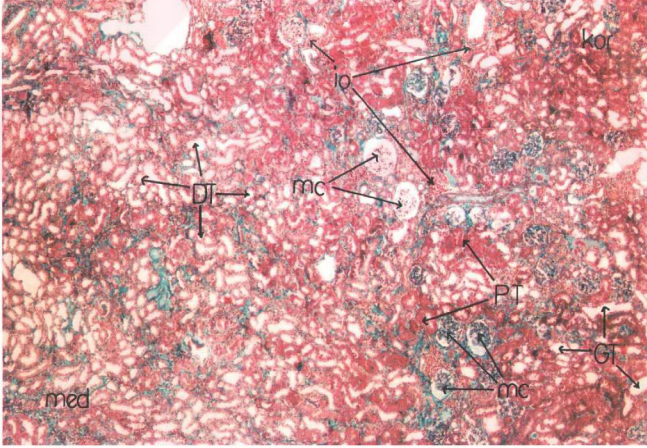
Resim 43: İnfiltrasyon sahası içinde, tübül hücre toplulukları (*), lümenleri henüz açılmış ve daha ileri aşamadaki yeni proksimal tübüller (YT) gözlenmektedir. PAS+HI, X 40.



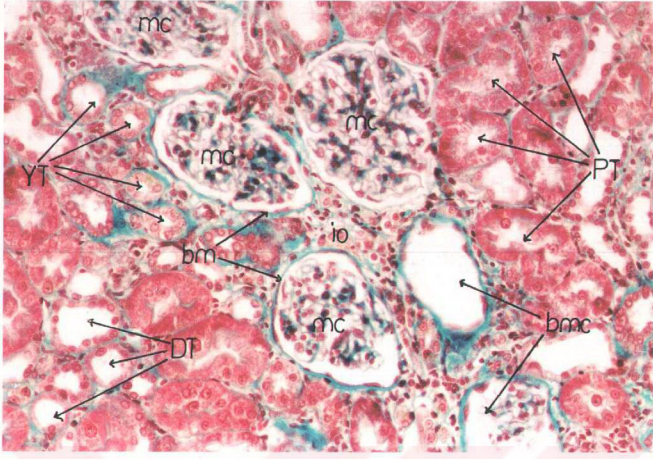
Resim 44: Geniş bir korteks (kor) ve kortikomedüller bölgeden geçen bu kesitte; sayıları azalmış infiltasyon odaklarına (io), bu odakların yakınılarında, farklı ölçüde genişlemiş tübüllere (GT), odaklar arası sahalarda normal görünümlü Malpighi cisimciklerine (mc), proksimal (PT) ve distal tübüllere (DT) rastladık. Medulla: med. PAS+HI, X 4.



Resim 45: 44/b nin büyük büyütmesinde; infiltrasyon odağında, bazal membranları hafif kalınlaşmış Malpighi cisimciklerinin (mc) yanısıra, çeşitli evrede tübül oluşumları (YT), genişlemiş tübüller (GT) ve oldukça normal görünümlü proksimal (PT) ve distal tübüller (DT) izlenmektedir. PAS+HI, X 10.



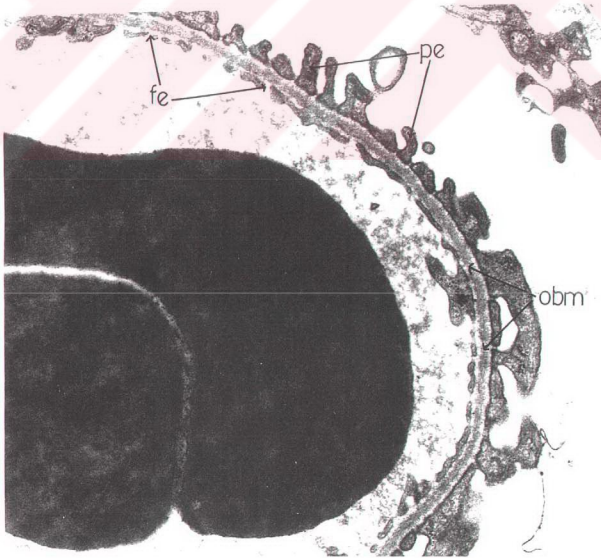
Resim 46: Korteks (kor) ve medulladan (med) geçen bu kesitte; yer yer infiltrasyon sahalarına (io) ayrıca, kortikomedullar bölgede normal sayı ve görünümü Malpighi cisimciklerine (mc), proksimal (PT) ve distal tübüllere (DT) ve hafif ölçüde genişlemiş tübüllere (GT) rastladık. Masson, X 4.



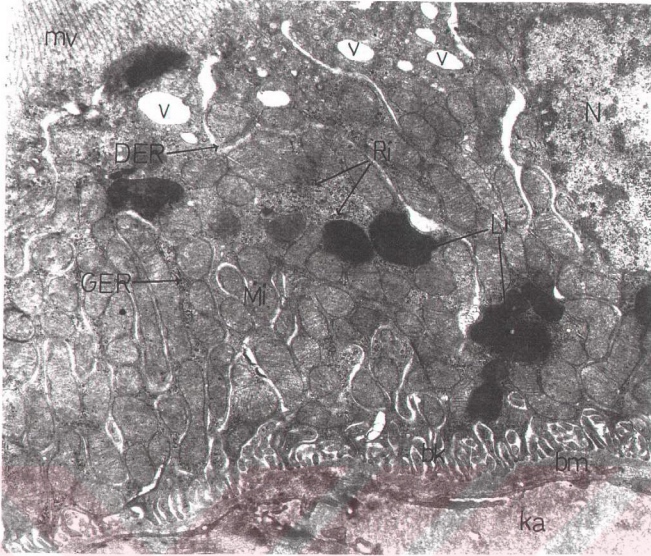
Resim 47: İnfiltrasyon bölgesinde bazal membranı (bm) kalınlaşmış veya glomerüler yapısı bozulmuş Malpighi cisimciklerinin (bmc) yanısıra, yeni tübül oluşumları (YT), bu bölge dışında normal yapılı proksimal (PT) ve distal tübüller (DT) gözlenmektedir. Masson, X 20.



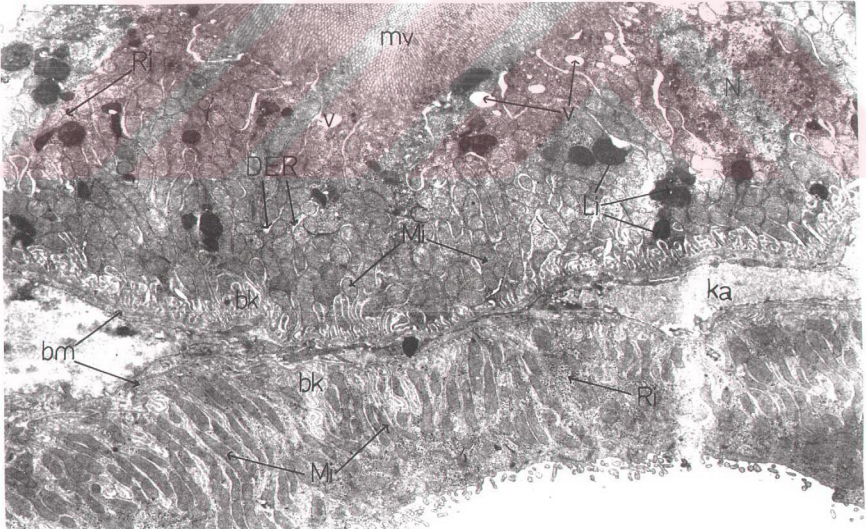
Resim 48: Glomerülden geçen kesitte; dublelenmiş bazal membran (dbm) üzerine oturan pariyetal yaprak hücresinin (pa) sitoplazmasında, vakuoller (v) ve hasarlanmış mitokondrileri (Mi) gözlenmektedir. Hafifçe kalınlaşmış ortak bazal membran (obm) üzerine oturan podosit (po) pedisellerinin, endotel fenestratalarının (fe) periyoditesinin çoğunlukla düzenli olup, ancak yer yer pedisellerde kaynaşmalar (→) izlenmektedir. Eritrosit: Er. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 4000.



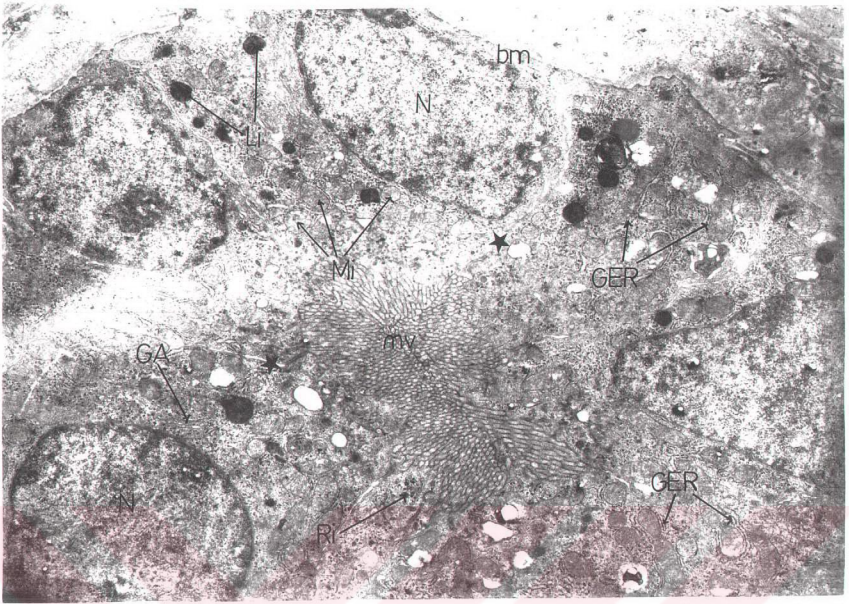
Resim 49: Filtrasyon seddi bazal membranı (obm) üzerinde, oldukça düzenli periyoditesiyeye sahip pedisel (pe) ve fenestrataların (fe) yer aldığı gözlenmektedir. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 10000



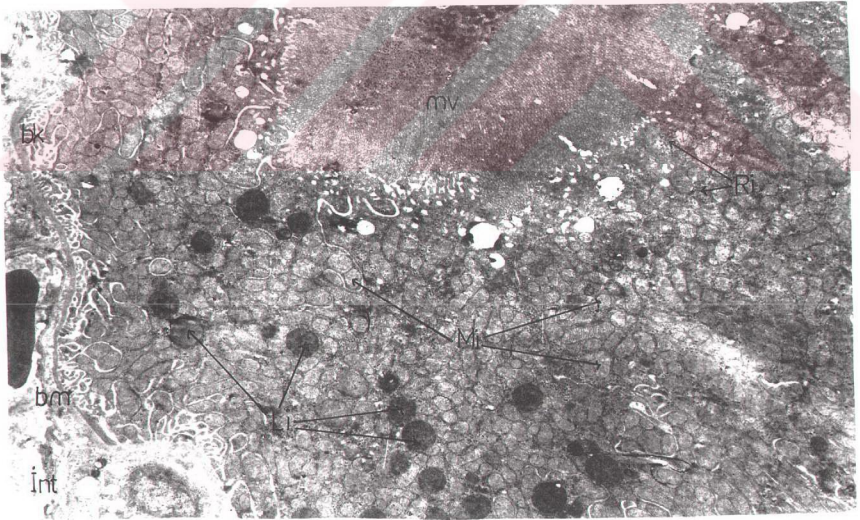
Resim 50: Normal fırçamsı kenarlı (mv), bazal membranında (bm) zaman zaman opak madde birikimi görülen proksimal tübül hücresinde, mitokondrilere (Mi), farklı çap ve şekilde lizozomlara (Li), serbest ribozomlara (Ri) ve normale oranla boyu kısalmış bazal katlantılara (bk) rastlanmaktadır. Vakuol: v, düz: DER ve granüler endoplazmik retikulum: GER, kapiler: ka, nükleus: N. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 5000.



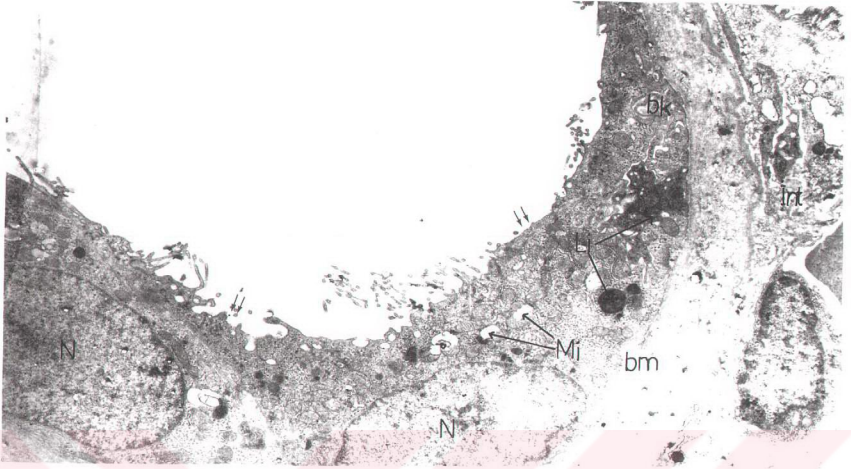
Resim 51: Düzenli bazal membran (bm) üzerinde yer almış, proksimal ve distal tübül hücrelerinde, apikal yüzlerinin ve bazal katlantılarının (bk) görünümünün düzenli olduğu izlenmektedir. Ayrıca tübüllerin diğer hücre organelleri dışında, çeşitli büyüklükte lizozomların (Li) ve bazı vakuollerin (v) yer aldığı görülmektedir. Mikrovilli: mv, mitokondri: Mi, ribozom: Ri, nükleus: N, kapiler: ka. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 2500.



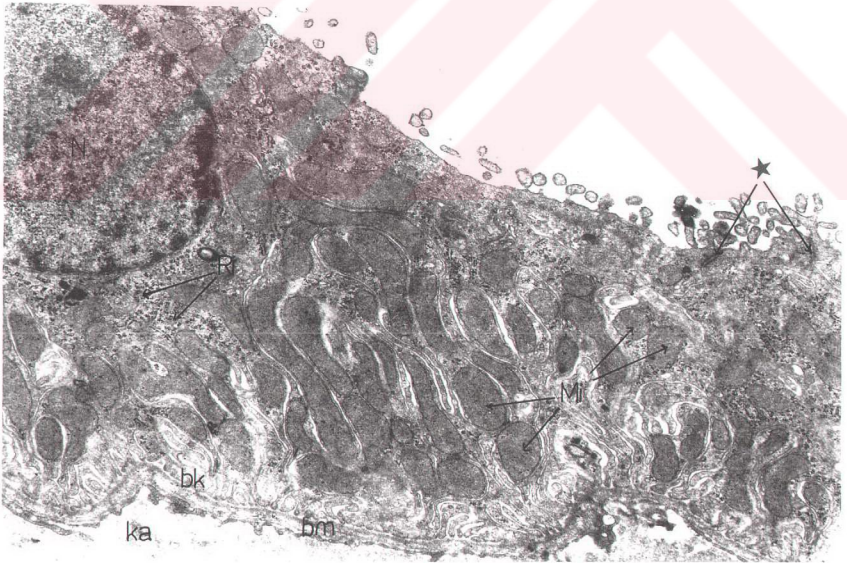
Resim 52: Fırçamsı kenarı (mv) oluşmakta olan, bazal katlantıları henüz ortaya çıkmamış, proksimal tübül oluşturan hücre topluluklarının, teşekkül etmekte olan bağlantı komplekslerine (*), iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikuluma (GER), serbest ribozomlara (Ri), oval mitokondri (Mi), Golgi aygıtı (GA) ve birkaç lizozoma (Li) rastladık. Nukleus: N, bazal membran: bm. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 4000



Resim 53: Gelişiminin daha ileri evresindeki bir proksimal tübülde; yoğunlaşmış bazal membran (bm) üzerinde, bazal katlantıların (bk) ortaya çıktığı, fırçamsı kenarın mikrovilli (mv) sayısının arttığı, hücrelerin çok sayıda mitokondri (Mi), farklı çap ve içerikte lizozom (Li), serbest ribozomları (Ri) içerdiği görülmektedir. İntersitysel bağ doku: İnt. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 5000



Resim 54: Genişlemiş bir distal tübülde; hücre apikal çıkıntılarının döküldüğü (⇔), bazal katlantılarının (bk) düzleştiği, bazal membranın (bm) yoğunluğunu kaybederek silikleştiği gözlenmektedir. Hücre sitoplazmalarında; şişkinleşerek kristallarını kısmen veya tamamen kaybetmiş mitokondriler (Mi) izlenmektedir. Nükleus: N, lizzom: Li, interstisyel bağ doku: İnt. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 3000



Resim 55: Komşu distal tübül hücrelerinden baskıya uğrayarak boyu kısalmış olan hücrenin, bazal katlantılarda (bk) kısalma ve mitokondrilerde (Mi) hafif bir şişkinleşme izlenmektedir. Bazal membran: bm, lateral bağlantı kompleksleri: *, nükleus: N, ribozom: Ri, kapiler: ka. Uranil asetat- Kurşun sitrat, X 6000.

5. TARTIŞMA

Rosenberg ve arkadaşları tarafından, 1965 yılında, antibakteriyel ve antineoplastik etkili oldukları keşfedilen platin bileşikleri.^{10,30}, ağır metallere dolayısıyla nefrotoksikiteye sahip antitümöral ajanlar olarak bilinirler.⁶⁸

Cisplatin, 1970'lerde tanıtıldığından bu yana, çeşitli tümöral tedavilerde sıklıkla kullanılan, oldukça etkili kemoterapötik ajanlardan biri olmuştur.^{2,16} Ancak, doza bağlı olarak ortaya çıkan nefrotoksik etkisinden dolayı, kullanım alanı sınırlıdır.^{2,3,7,11,14-18,68,69} Renal toksisitenin, tek doz 50 mg/kg cisplatin alan hastaların %28-36'sında meydana geldiği ileri sürülmüştür.⁹

Hannemann ve arkadaşları; cisplatinin böbreğe girip, hücreler içine alındıktan sonra değişikliğe uğrayarak, nefrotoksik hale geldiğini göstermişlerdir.⁸ Verschraagen ve arkadaşları; cisplatinin hücre içinde hidrolize olduğunu, bu hidroliz ürünlerinin de nükleer hedefleri olan DNA ile etkileştiğini, bu nedenle de hidrate cisplatinin nefrotoksikitede büyük rol oynadığını göstermişlerdir.¹³

Antikanseröz ilaçların DNA'yı hasarlama mekanizmaları, DNA'nın normal mekanizmasında substrat olarak rol oynayan; şeker ve fosfat iskeletindeki değişiklikleri, alkillenmeleri, çapraz ve DNA bağlanmalarını içerir.⁷⁰

Cisplatinin böbrek fonksiyonlarını ne yolla bozduğu tam olarak anlaşılammıştır.^{7,13,21,71} Ancak; bu toksisitede, birden fazla olayın rol aldığı düşünülmektedir.

Antitümöral aktivite için, cisplatinin hücrede DNA'ya bağlanması gereklidir. Cis ve trans-platinlerinin her ikisinin de, DNA'yla zincir içi, zincirler arası çapraz bağlar ve DNA-protein çapraz bağları oluşturmalarına karşın, sadece cis izomeri, komşu iki guanin bazının 7. azot atomları arasına bağlanarak, DNA'yla zincir içi çapraz bağ oluşturur ki bu olay, cisplatinin antitümöral etkisi için gereklidir. Bu nedenle, tüm antikanseröz platin bileşikleri cis şeklindedir.^{33,72,73} Cisplatinin antitümöral etki mekanizması; bifonksiyonel alkilleyici ajanlarda olduğu gibi, hücrede DNA'yla platinin kovalent bağlanmasından kaynaklanır. DNA cisplatin etkileşimi, DNA-platin monoadduktlarının ve çeşitli bifonksiyonel adduktların ortaya çıkması şeklinde

görülür.^{30,35,72,74} Bu bağlanmalar, DNA replikasyon ve transkripsiyonunu engelleyerek, apoptozisi başlatır.^{7,9,30,33,35,70,75} Bununla birlikte, cisplatinin nefrotoksik etkisini, antitümöral etki mekanizmasına benzer mekanizmayla oluşturduğu henüz kesinlik kazanmamıştır.⁷

Bazı araştırmacılar, cisplatin nefrotoksisitesinin, civa, bakır, kadmiyum, kurşun gibi ağır metal nefrotoksisitesine benzediğini, bu nedenle cisplatin nefrotoksisitesinin, platin molekülüne bağlı olduğunu düşünmektedirler.^{7,11,76-78} Cisplatindeki platin; protein, nükleik asit, glutasyon (GSH) ve metallothioninin tiyol (-SH) grupları gibi, sülfür içeren gruplara yüksek afinite gösterir.^{7,9,71,77,79} Cisplatin; yapısındaki platin molekülünün, nükleik asitlerdeki -SH gruplarına bağlanması nedeniyle, DNA'ya bağlanarak, DNA sentezini bozar.^{7,9} Aynı şekilde, bazı taşıyıcı proteinlerin ve enzimlerin -SH gruplarıyla kovalent bağlar oluşturarak, Na⁺/glukoz taşıyıcı sistemini ve Na⁺-K⁺-ATPaz'ın aktivitelerini inhibe eder.^{71,78,79} Meyer ve Medias; nükleofilik sülfür içeren bazı bileşiklerin, cisplatin nefrotoksisitesini sınırladığını ve in vitro çalışmalarda, klor iyonu bileşikten ayrıldıktan sonra, sülfürün bileşikle kovalent bağ oluşturduğunu, böylelikle ilacı inaktive ettiğini gözlemişlerdir.⁹ Ancak; nefrotoksisitenin önlenmesinde; sistamin, penisilamin ve N-asetilsistein gibi -SH koruyucu ajanların yetersizliği, bu mekanizmanın tek başına cisplatin nefrotoksisitesinden sorumlu olamayacağını gösterir.^{68,76}

Cisplatin nefrotoksisitesi üzerindeki bir diğer teori de; cisplatin toksisitesinin patogeneğinde, mitokondriyal hasarın önemli rol oynamasıdır.^{9,68,76,80,81} İn vivo ve in vitro çalışmalarda, cisplatinin böbrekteki başlıca hedeflerinden birinin de mitokondriyal DNA olduğu gösterilmiştir.^{9,76,80,81}

Diğer taraftan, cisplatin nefrotoksisitesinin patofizyolojisinde, oksidatif stresin önemli rol oynadığı kabul edilmektedir. Bu teoriyi destekleyen, çok sayıda in vivo ve in vitro çalışmalar mevcuttur.^{4,20,21,82-84} Cisplatinden ileri gelen nefrotoksisite, böbrek dokusunda ortaya çıkan lipid peroksidasyon artışıyla sıkı bir şekilde ilişkilidir.^{3,8,22,23,85} Bu antitümöral madde; süperoksit iyonu ve hidroksil radikali gibi aktif oksijen türlerini üreterek ve renal dokuda antioksidan enzimleri (süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz) inhibe ederek, nefrotoksisite oluşturur.^{3,22-27,82,84}

Baud ve Ardaillou; tübüler epitelial hücrelerin oksidatif hasardan direkt olarak etkilendiğini göstermişlerdir.⁸⁴

Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda; cisplatinin, özellikle proksimal tübülün S3 segmentinde hasar meydana getirdiği.^{7,34,68,76,77,80-82,86-88}, insanlarda ise daha çok distal tübül ve toplayıcı kanallarda etkili olduğu gözlenmiştir.^{9,14,34,88}

Cisplatin etkisi doza bağlıdır. İlk meydana gelen etkiler proksimal tübüllerde olup, glomerüllerde ve distal tübüllerde herhangi bir değişiklik gözlenmez. Meydana gelen bu değişiklikler reversibledir, ilacın kesilmesiyle normale döner.^{7,9,34,77,81} Ancak, yüksek doz verimi veya tekrarlanan uygulamalarda, hasarın şiddeti artarak, proksimal tübüllerin yanısıra, distal tübüller, glomerüller ve hatta intersitisyel bağ dokuda da bazı değişiklikler meydana gelir.^{4,7,14,68,69,86,89}

Böbreklerde, morfolojik değişikliklerin, çoğunlukla kortikomedüller bölgede ortaya çıktığı gözlenmiştir.^{7,9,17,76}

Kronik cisplatin uygulamasıyla ortaya çıkan nefrotoksisitede, tedaviye antioksidan ajan olarak E ve C vitaminleri eklenmesinin, cisplatinin meydana getireceği hasarları ne yönde ve ne ölçüde değiştireceğini görmek amacıyla yaptığımız bu çalışmada; kontrol grubu dışında kalan deneklerin böbrek korteksinde cisplatinin meydana getirdiği hasarları;

1-Malpighi cisimcikleri üzerindeki hasarlar,

2-Tübüller üzerindeki hasarlar,

3-İntersitisyel bağ doku hasarları olarak grupladık ve bu hasarların ortaya çıkış nedenlerini açıklamaya çalıştık.

1- Malpighi cisimcikleri Üzerindeki Hasarlar

Cisplatin nefrotoksisitesi üzerinde yapılan çalışmalarda, ilacın etkin dozunun, kısa süreli (1-30 gün) verimlerinde, Malpighi cisimciğinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir.^{7,14,23,86} Fakat ilacın kronik veya yüksek doz uygulamasıyla Malpighi cisimciklerinde değişiklikler saptanmıştır.^{7,14,69} Ayda bir kez olmak üzere, 3 ay cisplatin verdiğimiz deneklerin Malpighi cisimciklerinde değişikliğin ortaya çıktığını gözlemledik.

Glomerüller toksik ve immünolojik yolla zedelenirler. Buna karşın tübüller ve intersitisyel bağ doku elemanları toksik veya infeksiyöz ajanların etkisiyle hasarlanırlar. Ancak böbrekte yapıların birbiriyle olan anatomik bağımlılığı nedeniyle, birinde oluşan hasar, sekonder olarak diğerlerini de etkiler. Örneğin; şiddetli glomerül zedelenmesi, peritübüler vasküler sistem akışını

azaltır. Buna karşın tübüler harabiyet, glomerüler basıncı artırarak, glomerülde atrofiye neden olabilir. Bu mekanizma; MacLeod ve arkadaşları tarafından “eksiksiz nefron teorisi” olarak açıklanmıştır.^{90,91}

Cisplatin en fazla proksimal tübülde hasar meydana getirir.^{7,34,68,76,77,80-82,86-88} Ancak yukarıda açıklandığı gibi bu hasar, glomerüllerin de etkilenmesine neden olur. Cisplatinin başlıca atılım yolu böbrekler olduğundan, bu atılımın ilk aşamasında glomerüler filtrasyon oluşturduğundan, cisplatinin glomerüllerde hasar meydana getirmesi şaşırtıcı değildir. Cisplatin uyguladığımız II. grup deneklerimizin ışık ve elektron mikroskopunda incelenen böbrek materyallerinde, kortikomedüller ve korteks bölgelerinde, en fazla damar çevresinde, infiltrasyon odaklarına yakın Malpighi cisimciklerinde, normal görünüm ve büyüklüğün kaybolmasını buna bağladık.

Cisplatinin gerek filtrasyon esnasında glomerüler yapı elemanlarıyla direkt temas etmesinden, gerekse başta proksimal tübüller olmak üzere böbrek tübüllerinde hasar meydana getirerek, glomerüler iç basınçta artış oluşturmamasından dolayı, glomerüler yapısı kısmen veya tamamen bozulmuş Malpighi cisimciklerinin ortaya çıktığını düşündük.

Özellikle arteria arkuatalara yakın Malpighi cisimciklerinin azalarak, yerlerini infiltrasyon hücrelerinin doldurması; bu cisimciklere gelen kanın cisplatinden daha yoğun olması, dolayısı ile hücrelerin daha çok hasar görmesinden kaynaklanmış olabilir.

Malpighi cisimciklerinin, pariyetal yaprak bazal membranında ve glomerüler bazal laminada kalınlaşma, glomerüler hücrelerde yapısal dejenerasyonların ortaya çıkış nedeninin, kanda bulunan cisplatinin hücrelerden açığa çıkardığı serbest oksijen radikallerine bağlı, vasokonstrüktör biyoaktif lipidlerin (prostaglandin, tromboksan ve platelet aktive edici faktör) salınımı ile, glomerüler kan akımı ve filtrasyonda meydana gelen azalmadan olabileceğini düşündük.^{81,84} Afferent arteriolde vasokonstriksiyon sonucu ortaya çıkan iskemi, Malpighi cisimcikleri içerisinde yer alan hücrelerin yeterince beslenememesine ve oksijensiz kalmasına neden olur; bunun yanı sıra, cisplatinden öncelikle etkilenecek yapılar filtrasyon seddini oluşturan yapılardır. Bu nedenle cisplatin, podositlerin pedisellerinde ve endotelin apikal sitoplazmasında kopmalara, pedisel ve endotel delikçikleri arasında periyodisite bozulmalarına yol açabilir. Podositler ve endotel hücreleri glomerülün bariyer fonksiyonunun korunması için önemli hücrelerdir. Podositler, pediselleri arasındaki filtrasyon yarıklarında yer alan diyafram ile proteinlerin süzülmesi için difüzyon bariyeri oluşturan ve özellikle müşterek bazal membranın

fonksiyon görebilecek kalınlıkta tutulmasından sorumlu hücrelerdir.⁹⁰ Podosit ile müşterek bazal membran oluşturan endotel hücresinde ortaya çıkan hasarlardan dolayı, filtrasyon seddini sağlıklı bir şekilde geçemeyen maddeler membranda birikerek, kalınlaşmalara yol açar.

Glomerüller filtrasyon bariyerini oluşturan podosit, endotel ve aralarındaki ortak bazal membranda meydana gelen morfolojik değişiklikler, proteinlere karşı membran permeabilitesinde artış ortaya çıkararak, fonksiyonel olarak proteinüriye yol açar. Nitekim bazı araştırmacılar proteinlerin cisplatine bağlı renal kaybını göstermiştir.^{18,87}

Cisplatin grubunda gözlediğimiz pariyetal yaprak hücresi ve bazal membranlarda görülen değişikliklerin nedeni, bu hücrelerin ultrafiltratta bulunan cisplatine maruz kalmalarından dolayı olabilir.

Cisplatin ile birlikte E vitamini verdiğimiz III. grup ve C vitamini verdiğimiz IV. grup deneklerde, bu antioksidanların cisplatinin açığa çıkardığı serbest oksijen radikallerini süpürmesi sonucu, radikallerin meydana getirdiği lipid peroksidasyonu^{3,8,22,23} ve vasokonstriksiyon^{81,84} kısmen engellenmiş olacağından, hasarlar da engellenme oranında azalmış olacak idi.

Ayrıca diğer araştırmacılar tarafından da gösterildiği gibi cisplatin, antioksidan enzimlerin aktivitelerinde inhibisyon oluşturarak, antioksidan defans sistemini bozar. Bu antioksidanların ilavesi ile bozukluğun dengelendiği, bu nedenle hasarların ortaya çıkışının da kısmen engellendiği kanısındayız.^{3,22-27,71,82,84,92}

2- Tübüller Üzerindeki Hasarlar

Böbrek korteksinde, değişikliklerin en fazla görüldüğü yapılar, proksimal tübüller idi. Nedeni, ilacın tübüller reabsorpsiyon ve sekresyon işleminin bu kısımda yapıyor olması ile açıklanabilir.^{14,34,75,80,81}

II. grupta, cisplatinin meydana getirdiği proksimal tübüle ait değişiklikleri, dejenerasyon ve rejenerasyon şeklinde gözledik. Gerek dejenerasyon, gerekse rejenerasyon halindeki tübüller, genellikle kortikomedüller bölgede, infiltrasyon odakları içerisinde görülmekte, herhangi bir antioksidan madde verilmediği için de kortekse doğru yayılma göstermekte idi.

Tübüllerde meydana gelen morfolojik bozuklukların, daha çok kortikomedüller bölgede olmasının nedeni, bazı araştırmacılara göre; cisplatinin en fazla proksimal tübül hücre mitokondrionlarında birikmesi, mitokondrionların ise daha çok medulla-korteks sınırında yer

alan, proksimal túbüllerin son kısmını oluşturan S3 segmentinde bulunmasıdır.^{9,76,80,81} Choei ve arkadaşları; böbrekte, platin konsantrasyonunun bölgeden bölgeye farklılık gösterdiğini, en fazla kortikomedüller bölgede, en az medullada olduğunu ve bu konsantrasyon dağılımının túbüler lezyonların daha ziyade kortikomedüller bölgede olmasıyla paralellik gösterdiğini gözlemişlerdir.⁷

Cisplatin iv yolla vücuda verildikten sonra, arteria renalis vasıtasıyla böbreğe taşınır. Arteria renalis, ramus anterior ve posteriore, daha sonra da arteria segmentalis, arteria interlobarisler ve arteria arkuatalara geçer. Buradan arteria interlobularis ile arteriola afferenslere, glomerüler kapilerlere geçip, Bowman boşluğundan proksimal túbüle geçer. Filtrasyondan sonra, proksimal túbül lümenindeki cisplatine ilk maruz kalan yapı, hücre membranlarıdır. Bu nedenle; ağır metal cisplatin, fırçamsı kenar membranlarına direkt olarak bağlanıp, fırçamsı kenar periyodisitesini bozar.^{77,87} Bu toksik etki; ışık ve elektron mikroskobunda gözlediğimiz; mikrovillusta kayıp, boy kısalması gibi bozukluklara neden olur. Fırçamsı kenar hasarından dolayı emici yüzeyin azalması, absorpsiyon ve sekresyon bozukluklarının ortaya çıkmasına yol açar. Ayrıca cisplatin, selüler ve subselüler membran bütünlüğünü bozarak, membran permeabilitesini artırır. Bu nedenle çeşitli iyonların transportunda bozukluk ortaya çıkar. Cisplatin nefrotoksisitesinde aminoasitüri, glukozüri, proteinüri, poliüri, çeşitli katyon ve anyonların kaybı gibi semptomlar meydana gelir.^{10,34,77,87,88} Filtrat içerisinde bulunan proteinler, fırçamsı kenarların hemen altında yer alan pinositik veziküller ile hücre içine alınıp, lizozomlara taşınır. Burada parçanmaları sonucu açığa çıkan aminoasitler, hücre tarafından yeniden kullanılır. Ancak cisplatin, apikal membran bütünlüğüne verdiği zarar nedeniyle veziküllerde bozukluk meydana getirdiğinden, filtrattaki proteinler emilemeyerek, idrarla atılır.

Filtrattaki glukoz, aminoasitler ve sodyum, proksimal túbül hücrelerinin bazal labirent membranlarında yer alan, Na^+/K^+ -ATPaz etkinliğine bağlı olarak emilirler. Geri emilim ile hücreye alınan cisplatin, hücresel yapılar ile etkileşir ve hücrede yapısal bütünlük bozulur. Proksimal túbül bazal labirenti ile ağır metal etkileşimi, bazal labirent kaybına ve parçalanmasına yol açar.⁷⁷ Bu hasarlardan dolayı, Na^+/K^+ -ATPaz etkinliği, dolayısıyla glukoz ve aminoasit geri emilimi azalır, idrara bu maddeler çıkar. Ayrıca cisplatindeki platin molekülü, -SH gruplarına olan afinitesinden dolayı, hücrede bazı taşıyıcı protein ve enzimlerin -SH gruplarıyla kovalent bağ yaparak, aktivitelerini inhibe eder, iyon transportunda bozulma ortaya çıkar.^{71,77,78,79}

İn vivo ve in vitro sonuçlar, cisplatinin proksimal tübül üzerindeki toksisitesinin temelinde mitokondriyal disfonksiyonun yattığını göstermektedir.^{9,68,76,80,81} Cisplatin enzim aktivitelerini bozarak, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu inhibe eder. Bu da ATP üretiminde azalmaya, dolayısıyla aktivitesi için ATP'ye ihtiyaç duyan, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPaz}$ 'ın inhibisyonuna yol açar.^{68,76,80,81} Cisplatin mitokondriyal DNA'yı hasarlayarak, bu hücre organellerinin ölümüne yol açar, çünkü; mitokondriyal DNA, sitokrom oksidaz ve ATPaz'ın altünitelerini içeren, bazı kritik mitokondriyal iç membran proteinleri için kod oluşturur. Mitokondriyal DNA hasarlandığında, mitokondriyal proteinlerin sentezi yapılamaz ve bu organellerin degradasyonuna neden olur.^{34,76,80} Elektron mikroskopunda gördüğümüz, mitokondriyal şişme, krista silinmeleri ve sayılarında azalma gibi morfolojik değişiklikler bu degradasyonlardır.

Genelde mitokondriler çok az hidrojen peroksit üretirler. Cisplatinin, oksidatif fosforilasyonu yarıda kesmesi, bu radikalın üretimini artırır. Hasarlanan mitokondrilerden açığa çıkan hidrojen peroksit veya metabolitleri lipid peroksidasyonuna yol açar.^{20,80} Oksijen radikallerinin oluşturduğu lipid peroksidasyonu; membran bütünlüğünü bozar; hidrolitik enzimlere karşı lizozomal permeabilite artışı, mitokondriyal oksidatif fosforilasyon için elektron transport bozukluğuna ve hücrenin membran permeabilitesinde artışa neden olur. Bunlar ise apoptozisi başlatır ve hücre ölüme gider.^{80,84} Aslında ortaya çıkan hidrojen peroksit katalaz ve glutatyon peroksidazın yüksek renal aktivitesinden dolayı renal hücrelerin oksidatif hasarına yol açmaksızın böbrekte metabolize edilir. Ancak cisplatin, enzim aktivitelerini inhibe ederek, bunu engeller.^{22-27,71,82,84,92}

Böbreklerde ortaya çıkan oksijen radikalleri, vazokonstriktör biyoaktif lipidlerin serbest bırakılmasına neden olarak, glomerüler kan akımında ve filtrasyonda azalma^{81,84} ile intersitisyel bağ dokuda yer alan, peritübüler kapiler duvarında daralma meydana getirir. Bu daralma, proksimal ve distal tübül hücrelerinin hem yetersiz beslenmesine hem de yetersiz oksijen alınımına yol açarak dejenerasyonlarına neden olabilir. Proksimal ve distal tübüllerin bazal membranlarında kalınlaşma, sitoplazmalarında kayıp meydana gelmiştir. İlk etkilenen yapılar proksimal tübüller olmasına rağmen, tekrarlanan enjeksiyonlar sonucunda, hücrelerde cisplatin birikimine bağlı, distal tübüllerde de hasar ortaya çıkmıştır.

Distal tübüllerde göze çarpan en belirgin hasar; tübül lümenlerinin aşırı doluluk nedeniyle genişlemesi ve hücrelerinin basıdan dolayı yassılaşması idi. Gerek yüksek basıdan gerekse, cisplatinin hücreleri negatif etkilemesinden (elektron mikroskopunda görülen, tübül

hücrelerindeki vakuolleşme, mitokondri şişkinleşmeleri, krista silinmeleri, bazal katlantılarda azalma ve bozulma, bağlantı komplekslerinde açılmalar gibi) ötürü, lümende parçalanmış veya dökülmüş hücelere rastladık.

Işık mikroskobunda proksimal ve distal tübüllerde gözlenen bu değişiklikler, diğer araştırmacılar tarafından da desteklenmiştir.^{7,14,17,69,81,86}

Proksimal tübül hücrelerinin elektron mikroskobunda gözlenen vakuolleşmelerinin; hücre detoksifikasyonundan sorumlu düz endoplazmik retikulumun (DER), sitoplazmada cisplatin ve/veya metobolitlerini detoksifiye etmek amacıyla sayısını artırması, ancak tekrarlanan cisplatin enjeksiyonları nedeniyle, organelde yorgunluğun başlayıp, yeterli olamaması, giderek gerilemesi, bunun ise vakuolleşmeler şeklinde görülmesi olarak açıklayabiliriz. DER'in gerilemesi ile hücrede biriken cisplatin, hem antioksidan enzimleri inhibe ederek hem de mitokondriyal disfonksiyona neden olarak, hücrede ileri derecede bozulmalar, hatta kopmalar meydana getirir. Lizozom sayılarındaki artış bu hücre dejenerasyonu sırasında ortaya çıkan artıkları yok etmek amacıyla. Özellikle proksimal tübüllerde görülen bu değişikliklere bir çok çalışmada rastlanmıştır.^{4,14,21-23,69,76,77,80,86}

Genellikle infiltrasyon sahalarında görülen, epitelial hücre toplulukları, yeni proksimal tübüllerini oluşturmak üzere yan yana gelmiş olup, çevre intersitisyel bağ dokudan kalın bir bazal membran ile ayrılmışlardı.

Böbrek proksimal tübül hücreleri stabil hücre grubuna dahildir. Ancak, bazı ajanların indüksiyon etkisi ile köken aldıkları dokuyu yeniden oluşturabilirler. Normalde büyüme siklusunun G₀ (dinlenme) fazında bulunan sağlam hücreler, parçalanmış epitel hücrelerinden açığa çıkan epitelial growth faktör varlığında, uyarılarak G₁ fazına geçerler.^{53,93} Hücrelerin mitozu geçip, bölünmesini sağlayan bu mekanizmanın ise yeni tübül oluşumlarını ortaya çıkardığını düşünmekteyiz.

Cisplatinle birlikte E vitamini alan III. grup deneklerin proksimal ve distal tübül hücrelerinin çoğunda, normale yakın bir düzen ve görünüm vardı; izlenen proksimal tübüllerin fırçası kenarlarında ise kısmi bir düzelme gördük. Tübüler genişlemelerin büyüklük ve sayılarında azalmanın yanı sıra dokuda çok sayıda yeni tübül oluşumları gözlenmekte idi.

Cisplatinle birlikte C vitamini alan IV. grup deneklerinde ise, hasarlar çok daha az olup, yeni tübül oluşumlarının infiltrasyon sahalarını doldurması sonucu infiltrasyon hücrelerine seyrek rastlanmakta idi.

Cisplatinle birlikte E ve C vitamini alan III. ve IV. grup deneklerde, hasarların daha az şiddete olması, bu antioksidanların, cisplatinin meydana getirdiği oksijen radikallerini temizlemesinden dolayıdır.

Lee ve arkadaşları; E vitamininin, lipoproteinleri oksidasyona dirençli hale getirdiğini, böylece intraglomerüler makrofaj infiltrasyonunun inhibe olarak, renal hasarın azaldığını ileri sürerler.⁹⁴

Bir çok çalışmada; cisplatinin meydana getirdiği lipid peroksidasyonunun ve histolojik değişikliklerin, C vitamini tarafından azaltıldığı biyokimyasal çalışmalar ile gösterilmiştir.^{3,22,24,26,82}

C vitamini veya ortaya çıkacak metabolitlerinin, direkt DNA adduktlarının oluşumunu inhibe etmek ve oksidatif stresi azaltmak suretiyle, cisplatinin meydana getirdiği DNA hasarını engeller.^{44,60,65,70,95} Böylece, C vitamini vücutta daha uzun süre etkili olabilmektedir.

Glutasyon, hücre detoksifikasyonundan sorumlu, nükleofilik sülfür içeren bir bileşiktir. Yapısındaki sülfür ile cisplatinle kovalent şekilde bağlanarak, ilacı inaktive eder. C vitamini, cisplatinin meydana getirdiği glutasyon tüketiminde, doza bağlı olarak bir koruma sağlar.²⁶ Buna karşın, Appenroth ve arkadaşları; E vitaminin cisplatinin etkilerini azalttığını fakat bu etkinin antioksidanın ikinci bir uygulamasıyla artmadığını göstermişlerdir.²⁸

Antunes ve arkadaşları; kemirgenlerde, C vitamininin cisplatinin meydana getirdiği kromozomal hasara karşı, in vivo antiklastojenik etkiye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir.²⁹

Bu olaylar; cisplatin nefrotoksisitesinde, C vitamininin E vitamininden daha fazla koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

3- İntersitisyel Bağ Doku Hasarları

Cisplatin, kronik çalışmalarda, en önemli klinik problemlerden birini oluşturan, tubulointersitisyel nefritis meydana getirir. Bu olay, tubulointersitisyel fibrozisi takip eden, tübüler epitelial hücre hasarı ve inflammatör değişikliklerle karakterize edilir.^{7,14,69,96}

Akut cisplatin nefrotoksisitesinde, intersitisyel değişikliklere rastlanmamakla birlikte, kanser hastalarında ve deney hayvanlarında, tedavinin tekrarlanması ile ağır tubulointersitisyel fibrozisin meydana geldiği gösterilmiştir.^{7,14,69,89}

Cisplatinin neden olduğu intersitisyel değişikliklerin, doza ve zamana bağlı olarak artığını gösteren çalışmalar mevcuttur.^{7,14,96}

Çalışmamızda intersitisyel bağ doku değişikliklerine, özellikle sadece cisplatin verilen II. grup deneklerin, kortikomedüller ve korteks bölgelerinde rastladık. Bu değişiklikler; bozulmuş Malpighi cisimcikleri ve hasarlanmış tübüller etrafında gözlenen infiltrasyon hücre odakları, bağ doku alanları ve yer yer kanama odakları şeklinde idi.

Zedelenen dokunun onarımında, iki olay görülür; ya zedelenen hücre aynı tipte parankimal hücreler tarafından yenilenir veya bu yenilenmenin yetersiz kaldığı durumlarda, bağ doku zedelenen dokunun yerini alır.⁹³ Cisplatin grubunda görülen infiltrasyon odaklarının, en fazla kortikomedüller bölgede olmasının nedenini; cisplatinin, özellikle proksimal tübüllerin bu bölgesinde yer alan S3 segmentlerinde hasar meydana getirmesidir; hasarlanan hücrelerden çıkan epithelial growth faktör'ün sağlam hücreleri uyarması ile yeni tübüllerin oluşması, fakat tekrarlanan enjeksiyonlar karşısında bu yenilenmenin yetersiz kalıp, organizmanın savunma mekanizmasının devreye girerek, hasar bölgelerine kemotaksi yoluyla mononükleer veya polimorfonükleer hücreleri toplayıp, infiltrasyon saha veya odaklarını meydana getirmesi olarak açıklayabiliriz.

Blisard ve Harrington; intersitisyumdaki bu hücrelerin hem mononükleer hem de polimorfonükleer hücre olduğunu¹⁴, el-Shazly ve arkadaşları; mononükleer hücre (lenfosit) olduğunu¹⁷, Guinee ve arkadaşları da intersitisyumda dağılmış çok sayıda lenfositin bulunduđunu⁶⁹ bildirmişlerdir.

Dokuda meydana gelen hasar bölgelerinden salınan büyüme faktörleri (platelet kökenli büyüme faktörü; PKBF, fibroblast büyüme faktörü; FBF) ve sitokinlerin (interleukin-1; IL-1, tümör nekrozis faktör; TNF) kollajen yapımını uyarması sonucu, hasarlı bölgelerin bağ dokusu ile kapatıldığını düşünüyöruz. Onarımın erken evrelerinde, bağ dokunun önce proteoglikanları oluşur, sonra özellikle intersitisyel veya fibriller kollajenler olarak bilinen tip I, III ve V kollajenler hakim olur. İntersitisyel kollajenler, iyileşen bağ dokunun büyük bir kısmını oluşturur.⁹³

Razzague ve Taguchi'nin; çalışmalarında, cisplatin grubu deneklerin böbreklerinde, kontrole kıyasla tip I ve III kollajen miktarında artışın olduğunu ve bunların intersitisyumda biriktiği histokimyasal olarak gösterilmiştir.⁹⁶

Kanama odaklarında, cisplatinin meydana getirdiği serbest oksijen radikallerinin yol açtığı, vasokonstrüktör lipidlerin salınımıyla, peritübüler kapilerlerde oluşan daralma sonucu, damar içi basınç artışına bağlı olarak, endotelde ortaya çıkan hasar sonucu hücrenin bozularak parçalandığını ve kanın damar dışına çıktığını düşünmekteyiz.

Tedaviye antioksidanların eklenmesiyle, intersitisyel bağ dokuda meydana gelen değişikliklerin, antioksidanların cisplatinin ortaya çıkardığı bozuklukları ortadan kaldırdığı oranda azaldığına gözledik. Ancak, C vitamini verdiğimiz IV. grup deneklerde, infiltrasyon sahalarının E vitamini alan gruptakilere oranla azaldığına gördük. Bunu, C vitamininin cisplatinin oluşturduğu DNA hasarlarını ortadan kaldırma ve serbest oksijen radikallerini süpürme işlemlerini, E vitaminine oranla daha fazla yapmasından kaynaklandığına düşünmekteyiz. Ayrıca, C vitamininin kollajen sentezindeki fizyolojik rolünün de hasarların onarımını hızlandırdığı kanısındayız.

6. SONUÇ

Cisplatin verimiyle oluşturduğumuz nefrotoksisiteyi azaltmak amacıyla, E ve C vitamini uyguladığımız bu deneysel çalışmada; deney gruplarına ait böbrek korteks materyallerini incelediğimizde; Malpighi cisimcikleri, proksimal ve distal tübüller ile intersitisyel sahada morfolojik değişikliklerin meydana geldiğini gözledik.

Dokuda parankimanın bozulmasına ve yerini bağ dokunun almasına neden olan bu değişiklikler, cisplatin alan II. grup deneklerinde oldukça şiddetli iken, cisplatinle birlikte E vitamini alan III. grup ve C vitamini alan IV. grup deneklerinde, bu antioksidanların cisplatinin meydana getirdiği serbest radikalleri ortadan kaldırması nedeniyle, minimal düzeyde gözledik. Ancak C vitamininin hem serbest radikalleri temizlemek hem de cisplatin-DNA adduktlarını önlemek suretiyle hasarları azaltmada E vitamininden daha başarılı olduğunu, bu nedenle hasarların daha da az ortaya çıktığını gördük.

Elde ettiğimiz bulgular ışığında, cisplatinle yapılan kemoterapide, tedaviye E ve C vitaminleri gibi antioksidanların eklenmesi ile, cisplatin nefrotoksitesinin önemli ölçüde önlenebileceği kanısındayız.

Antikanseröz ajanların yüksek dozda veya uzun süreli uygulanması, böbrek gibi hayati öneme sahip dokularda, oluşturdukları yan etkileri dolayısıyla kısıtlıdır. Bu nedenle, antikanseröz ajanların yan etkilerinin önlenmesi, kanserli hastaların tedavisinde önemli bir kliniksel olaydır. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre, cisplatin gibi antitümöral ilaçlarla yapılan tedavilerde, tedaviye antioksidan eklenmesinin bu ilaçların yan etkilerini önemli ölçüde hafifleteceği düşüncesindeyiz.

7. ÖZET

Yüksek antitümöral aktivite gösteren cisplatin, platin koordinasyon komplekslerinin önemli bir sınıfını oluşturur. Antitümöral etkisini; DNA'yla zincir içi ve zincirler arası çapraz bağ yapmak suretiyle, sentezini bozarak gösterir. Ancak oluşturduğu nefrotoksisite ilacın kullanım alanını sınırlamaktadır.

Cisplatin nefrotoksisitesinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı görülmüştür. Bu nedenle, cisplatin nefrotoksisitesini önlemeye yönelik çalışmalarda antioksidanlar önem kazanmıştır. Bu çalışmada; kronik cisplatin uygulamasıyla oluşturulan böbrek korteks hasarında, antioksidan olarak E ve C vitaminlerinin, morfolojik açıdan ne ölçüde koruma sağlayabileceği, ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde incelendi.

Çalışmamızda; 24 adet Wistar albino erkek rattan, her biri 6 denek içeren, 1'i kontrol 3'ü deney olmak üzere, 4 grup oluşturduk. Kontrol dışındaki deney gruplarına 3 ay boyunca, ayda bir kez 5 mg/kg cisplatin iv yolla verdik. Cisplatin uygulamasından 24 saat önce deneklere, 6 saat arayla iki kez, 0.13 mg/kg deksametazonu im yoldan uyguladık. III. grup deneklere ilk cisplatin verimini takiben deney süresi boyunca her gün, im yolla 5 mg/kg E vitamini, IV. gruptakilere ise, im yolla, her gün 8 mg/kg C vitamini verdik. 3. ayın sonunda tüm deneklerin aynı bölgelerinden olmak üzere böbrek korteks materyalleri alarak, ışık ve elektron mikroskopik gözlemlerimiz için işlemlendirdik.

I. grup deneklerde; böbrek dokusunun normal ultrastrüktüre sahip olduğunu gördük.

II. grupta; çoğu Malpighi cisimcikleri normal görünüm ve büyüklüğünü kaybetmiş olup, sayıları azalmış, glomerüler yapısı ise kısmen veya tamamen ortadan kalkmış idi. Ortadan kalkan cisimciklerin yeri, infiltrasyon dokusu tarafından doldurulmuştu. Bozulan Malpighi cisimciklerinde, pariyetal yaprak bazal membranı ve ortak bazal membranlarda kalınlaşma söz konusu idi. Ayrıca başta kortikomedüller bölge olmak üzere, tübüler genişlemelere ve tübüler hasarlara rastlandı. Genişlemeler distal tübüllerde görülmekte olup, tübül hücreleri yassılaştırmış idi. Proksimal tübüllerdeki değişiklikler; dejenerasyon ve rejenerasyon şeklinde idi. Dejenerasyon; fırçamsı kenarlarda bozulma, bazal membranlarda kalınlaşma, vakuolizasyon,

mitokondrionlarda şişme, kristalarda silinme, mitokondri sayısında azalma, lizozom sayında artış şeklinde görülmekte idi. Bozulmuş tübüllerin yerindeki infiltrasyon odaklarında ise epitelial hücrelerin yeni tübülleri oluşturmak üzere toplandıkları görülmüyordu. İntersitisyel bağ dokuda; genellikle damarların kontrakte olduğu, damar boyunca bir çok infiltrasyon odaklarının ortaya çıktığı gözlemlendi.

E vitamini alan III. grupta, cisplatinin yol açtığı hasarların azaldığı, C vitamini alan IV. grupta ise, hasarlarda gözlenen azalmanın yanı sıra, çeşitli evrede çok sayıda yeni tübülün oluşmakta olduğunu gördük.

Sonuç olarak; cisplatin uygulamasıyla yapılan kemoterapide, tedaviye antioksidanların eklenmesinin, cisplatinin meydana getirdiği nefrotoksisiteyi bir dereceye kadar önleyebileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Cisplatin, nefrotoksisite, E vitamini, C vitamini, sıçan.

8. SUMMARY

ULTRASTRUCTURAL EFFECTS OF VITAMIN E AND C ON CISPLATIN-INDUCED KIDNEY CORTEX DAMAGES.

Cisplatin that shows potent antitumoral activity forms one of the important class of platinum coordination complexes. It shows its antitumoral effect by making intra- and interstrand cross-links to DNA, by damaging its synthesis. However, its nephrotoxicity that it limits clinical use of drug.

It has seen that oxidative stress has an important role in cisplatin nephrotoxicity. So, antioxidants has gain an importance in this study of preventing through cisplatin nephrotoxicity. In this study, in kidney cortex damage that has been obtained by applying chronic cisplatin, it has been examined how it can prevent at the point of morphologic as antioxidant vitamin E and C.

In our study, we formed 4 groups that 24 Wistar albino species of male rats that each of them includes 6 rats that 1 of them was control and 3 of them were tests. We administrated 5 mg/kg cisplatin by iv method once a month to the test groups except controls for three months. We applied to the tests 0.13 mg/kg dexametazon by im method twice in every 6 hours before 24 hours cisplatin application. We administrated 5 mg/kg vitamin E to the III. group tests everyday during the period of experiment after the first application of the cisplatin, moreover 8 mg/kg vitamin C by im method to the IV. group tests everyday. We took kidney cortex materials at the same parts of the whole tests at the end of the third month and we operated them for our observation of light and electrone microscopic.

We have seen that; kidney tissue has normal ultrastructure in the I. group tests.

In the II. group; Malpighi corpuscles have lost normal apperance and size and we have seen that its numbers have reduced and its glomerular structure has disappeared totally or partly. The place of the disappeared corpuscles have been filled by infiltration tissue. It has become thicker in both parietal sheats and common basement membranes in destroyed Malpighi corpuscles. Moreover at the first corticomedullary region, we came across tubular dilations and tubular damages. These dilations have been seen in distal tubules and the tubular cells had

become flat. The changes in proximal tubules were seen as degeneration and regeneration. Degeneration has been seen as damages in the brush borders, thickening of basement membrane, vacuolization, swelling, reduction in the number, removal of cristae in the mitochondria and increasing in the numbers of lysosomes. It has been seen that epithelial cells have come together to form new tubules in infiltration foci at the damaged tubules area. It has been observed that generally the vessels become contracted, a lot of infiltration foci appeared through the vessel in interstitial connective tissue.

We have seen that damages, which cisplatin caused, were reduced in the III. group that received vitamin E and we have seen that a lot of new tubules were found in different stages besides the reduction of observed damages in the IV. group that received vitamin C.

In conclusion, we have thought that the addition of antioxidants to the treatment can prevent the nephrotoxicity that caused by cisplatin at a special level, is chemotherapy applied by cisplatin.

Key Words: Cisplatin, nephrotoxicity, vitamin E, vitamin C, rat.

9. KAYNAKLAR

1. Kayaalp O. Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Cilt 1. Ankara: Feryal Matbaacılık, 1998; 376-390.
2. Allan SG, Smyth JF. Small intestinal mucosal toxicity of cis-platinum-comparison of toxicity with platinum analogues and dexamethasone. *Br. J. Cancer*. 1986; 53(3): 355-360.
3. Antunes LM, Darin JD, Bianchi Nd. Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol. Res*. 2001; 43(2): 145-150.
4. Sener G, Satiroglu H, Kabasakal L, Arbak S, Oner S, Ercan F ve ark. The protective effect of melatonin on cisplatin nephrotoxicity. *Fundam. Clin. Pharmacol* 2000; 14(6): 553-560.
5. Kuntsal L. Cisplatin uygulanan sıçanlarda prostatta gözlenen morfolojik değişiklikler. *İst. Tıp. Mecmuası* 1997; 60(1): 57-62.
6. Kuntsal L, Canberk Y. Cisplatinin sıçan karaciğeri üzerine etkisinin ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelenmesi. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 1996; 13(1-2): 1-6.
7. Choie DD, Longnecker DS, Del Campo AA Acute and chronic cisplatin nephropathy in rats. *Lab. Invest*. 1981; 44(5): 397-402.
8. Hannemann J, Baumann K. Cisplatin-induced lipid peroxidation and decrease of gluconeogenesis in rat kidney. *Toxicology* 1988; 51(2-3): 119-132.
9. Meyer KB, Madias NE. Cisplatin nephrotoxicity. *Miner. Electrolyte. Metab.* 1994; 20(4): 201-213.
10. Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG, editors. Antineoplastic agents. Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 9 th. United States of America: Company Mc Graw-Hill Companies, 1996; 1269-1271.
11. Kelsen DP, Alcock N, Young CW. Cisplatin nephrotoxicity. Correlation with plasma platinum concentrations. *Am. J. Clin. Oncol.* 1985; 8(1): 77-80.
12. Adler D, El-Tarras A. Clastogenic effects of cis-diamminedichloroplatinum. *Mutation Research* 1989; 211: 131-137.

13. Verschraagen M, Van der Born K, Zwiers UTH. Simultaneous determination of intact cisplatin and its metabolite monohydrated cisplatin in human plasma. *Journal of Chromatography B* 2002; 772(2): 273-281.
14. Blisard KS, Harrington DA. Toxicity of cis-pla-Diamminedichloroplatinum (II) in the Frog, *Rana pipiens*. *J. Comp. Path.* 1990; 103(4): 387-398.
15. Kuntsal L, Canberk Y, Petorak İ. The effects of cisplatin on the epithelium of rat intestine: a light and electron microscopic study. *Med. Bull. Istanbul* 1996; 29(1): 7-11.
16. Allan SG, Smyth JF, Hay FG, Leonard RC. Protective effect of sodium-2-mercaptoethanesulfonate on the gastrointestinal toxicity and lethality of cis-Diamminedichloroplatinum. *Cancer Research* 1986; 46(7): 3569-3573.
17. El-Shazly MO, Afify MM, el-Dieb MK. Histopathological study into side-effect toxicity of some drugs used in treatment of cancer. *Arch. Exper. Vet. Med.* 1989; 43(2): 319-326.
18. Erdlenbruch B, Grunewald RW et-al. Cisplatin nephrotoxicity in children after continuous 72-h and 3x1-h infusions. *Pediatr. Nephrol.* 2001; 16: 586-593.
19. Çıtak A, Alpay H, Nayır A, Şirin A, Emre S, Tanman F ve ark. Antineoplastik ilaçlara bağlı böbrek yetersizliği. *İst. Tıp Mecmuası* 1995; 58(4): 116-119.
20. Nishikawa M, Nagatomi H, Nishijima M, Ohira G, Chang B, Sato E. Targeting superoxide dismutase to renal proximal tubule cells inhibits nephrotoxicity of cisplatin and increases the survival of cancer-bearing mice. *Cancer Letters* 2001; 171(2): 133-138.
21. Sugihara K, Nakano S, Koda M, Tanaka K. Stimulatory effect of cisplatin on production of lipid peroxidation in renal tissues. *Japan. J. Pharmacol.* 1987; 43(3): 247-252.
22. Gemba M, Fukuishi N. Amelioration by ascorbic acid of cisplatin-induced injury in cultured renal epithelial cells. *Contrib. Nephrol.* 1991; 95: 138-142.
23. Bompert G, Orfila C. Cisplatin nephrotoxicity in lead-pretreated rats: enzymatic and morphological studies. *Toxlet.* 1990; 50(2-3): 237-247.
24. Yam D, Peled A, Shinitzky M. Suppression of tumor growth and metastasis by dietary fish oil combined with vitamins E and C and cisplatin. *Cancer. Chemother. Pharmacol.* 2001; 47: 34-40.
25. Sadzuka Y, Shoji T, Takino Y. Effect of cisplatin on the activities of enzymes which protect against lipid peroxidation. *Biochem. Pharma.* 1992; 43(8): 1872-1875.
26. Antunes LMG, Darin JDC, Bianchi MLP. Protective effects of vitamin C against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose dependent study. *Pharmacol. Res.* 2000; 41(4): 405-411.

27. Sadzuka Y, Shoji Y, Takino Y. Mechanism of the increase in lipid peroxide induced by cisplatin in the kidneys of rats. *Toxlet*. 1992; 62(2-3): 293-300.
28. Appenroth D, Frob S, Kersten L, Splinter FK, Winnefeld K. Protective effects of vitamin E and C on cisplatin nephrotoxicity in developing rats. *Arch. Toxicol*. 1997; 71(11): 677-683.
29. Antunes LM, Araujo MC, Darin JD, Bianchi Nd. Effects of the antioxidants curcumin and vitamin C on cisplatin-induced clastogenesis in Wistar rat bone marrow cells. *Mutation Research* 2000; 465(1-2): 131-137.
30. Jordan P, Carmo-Fonseca M. Molecular mechanism involved in cisplatin cytotoxicity. *Cell. Mol. Life. Sci*. 2000; 57: 1229-1235.
31. Kuntsal L. Cisplatinin sıçan ince barsak epitel tabakasına etkisinin ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi. İstanbul, 1994.
32. Cohen GL, Bauer WR, Barton JK, Lippard SJ. Binding of cis- and trans-dichlorodiammineplatinum (II) to DNA. Evidence for unwinding and shortening of the double helix. Vol 1979 *Science*, 203(4384): 1014-1016.
33. Olinski R, Wedrychowski A, Schmidt WN, Briggs RC, Hnilica LS. In vivo DNA-protein cross-linking by cis- and trans-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Research* 1987; 47(1):201-205.
34. Klaassen DC. Toxic responses of the kidney. Casarett and Doull's Toxicology. 5. th. United States: The Mc Graw Hill Companies, 1996; 437-439.
35. Welters MJP, Fichtinger-Schepman AMJ, Baan RA, Jacobs-Bergmans AJ, Kegel A, Braakhuis BJM et al. Pharmacodynamics of cisplatin in human head and neck cancer: correlation between platinum content, DNA adduct levels and drug sensitivity in vitro and in vivo. *Br. J. Cancer*. 1999; 79(1): 82-88.
36. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen-derived free radicals. *Arch. Surg*. 1991; 126(1): 104-105.
37. Reiter JR. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *Eur. J. Endocrinol*. 1996; 134: 412-420.
38. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am. J. Surg*. 1991; 161(4): 488-503.
39. Diplock AT. The role of antioxidants in clinical practice. *Br. J. Clin. Pract*. 1990; 44(7-8): 257-258.
40. Barber DA, Harris SRX. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am. Pharm*. 1994; NS34(9): 26-35.

41. Weijl NI, Osanto C and S. Free radicals and antioksidants in cheomotherapy-induced toxicity. *Cancer Treatment Reviews* 1997; 23(4): 209-240.
42. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 1993; 49(3): 481-493.
43. Akpolat M. Alkolün oluşturduğu serbest radikaller üzerine ibuprofen ve erusik asidin etkileri. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Deneysel Tıbbi Araştırma Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Edirne, 2000.
44. Dreher D, Junod AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur. J. Cancer.* 1996; 32A(1): 30-38.
45. Elstner EF. Oxygen free radicals-biochemical basis for their efficacy. *Clin. Wochenschr.* 1991; 69(21-23): 949-956.
46. Basaga HS. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem. Cell. Biol.* 1990; 68(7-8): 989-998.
47. Sies H. Strateges of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.* 1993; 215(2): 213-219.
48. Kayaalp O. Vitaminler. E vitamini. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji cilt 2. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık, 1998; 1547-1550.
49. Halliwell B, Gutteridge JMC. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *The Lancet June* 1984; 23: 1396-1397.
50. Senyelli B. İntraperitoneal Mitomisin C ile geliştirilen deneysel kolitte antioksidanların etkisi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi. Edirne,1999.
51. Menteş G, Ersöz B. Biyolojik oksidasyon. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell WV, editors. Harper's Biyokimyası. 22. Baskı. İstanbul: Barış Kitabevi, 1993; 142-144.
52. Marcus R, Coulston AM. Vitamins. In; Gilman AG, editors. Goodman & Gilman's. The pharmalogical basis of therapeutics. 9 th. New York: Mc Graw-Hill Companies, 1996;1585-1590.
53. Uz YH. Siklosporin-A verilen sıçanların böbrek korteksleri üzerine E vitamini etkilerinin ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde incelenmesi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakóltesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi. Edirne, 2000.
54. Menteş G, Ersöz B. Yağda çözünen vitaminlerin yapı ve fonksiyonu. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell WV, editors. Harper's Biyokimyası. 22. Baskı İstanbul: Barış Kitabevi, 1993; 711-712.
55. Dökmeci İ. Vitaminler. Farmakoloji-Temel kavramlar. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd., 2000; 815-817.

56. Kayaalp O. Yağda çözünen vitaminler. E vitamini. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji cilt 3. Feryal Matbaası Ankara 1997; 2890-2896.
57. Kayaalp O. Suda çözünen vitaminler. C vitamini. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji cilt 2. Hacettepe-Taş Kitapçılık Ankara 1998; 1552-1555.
58. Padh H. Vitamin C: newer insights into its biochemical functions. *Nutrition Reviews* 1991; 49(3): 65-70.
59. Stryer L. Metabolism. Biochemistry. New York: W. H. Freeman and Company, 1996; 454-455.
60. Dökmeci İ. Vitaminler. Farmakoloji Temel Kavramlar. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd., 2000; 808-810.
61. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions. *Faseb. J* 1999; 13: 1007-1024.
62. Chan AC. Partners in defense, vitamin E and vitamin C. *Canada. J. Physiol. Pharm.* 1993; 71(9): 725-731.
63. Block G. Vitamin C and cancer prevention: The epidemiologic evidence. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991; 53(1): 270S-282S.
64. Block G, Henson DE, Levine M. Vitamin C: a new look. *Annals of Internal Medicine* 1991; 114(10): 909-910.
65. Bancroft JD, Alan S. Theory and practice of histological techniques. Third Edition, Churchill Livingstone Inc. New York 1990.
66. Gabe M. Les Principes Généraux de la technique histologique. Masson and Cie: Paris, 1968; 10-130.
67. Hayat MA. Principles and techniques of electron microscopy 1. Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1970.
68. Daugaard G, Abildgaard U. Cisplatin nephrotoxicity. A review. *Cancer. Chemother. Pharm.* 1989; 25(1): 1-9.
69. Guinee DG Jr, Van Zee B, Houghton DC. Clinically silent progressive renal tubulointerstitial disease during cisplatin chemotherapy. *Cancer Supplements* 1993; 71(12): 4050-4054.
- 70- Blasiak J Kowalik J. Protective action of vitamin C against DNA damage induced by selenium-cisplatin conjugate. *Acta Biochemica Polonica* 2001; 48(1): 233-240.
71. Bompard G. Cisplatin-induced changes in cytochrome P-450, lipid peroxidation and drug-metabolizing. *Toxlet.* 1989; 48(2): 193-9.

72. Galea MA, Murray V. The interaction of cisplatin and analogues with DNA in reconstituted chromatin. *Biochemica et Biophysica Acta* 2002; 1579(2-3): 142-152.
73. Bhat GS, Mishra S, Mei Y, Nie Z, Whitworth CA, Rybak LP. Cisplatin up-regulates the adenosine A₁ receptor in the rat kidney. *Eur. J. Pharmacol.* 2002; 442(3): 251-264.
74. Crul M, Waardenburg RCAM, Bocxe S, Eijndhoven MAJ, Beijnen JH, Schellens JHM. DNA repair mechanisms involved in gemcitabine cytotoxicity and in the interaction between gemcitabine and cisplatin. *Biochem. Pharmacol.* 2003; 65(2): 275-282.
75. Devarajan P, Savoca M, Castenada MP, Park MS, Esteban-Cruciani N, Kalinec G. Cisplatin-induced apoptosis in auditory cells: role of death receptor and mitochondrial pathways. *Hearing Research* 2002; 174(1-2): 45-54.
76. Singh G. A possible cellular mechanism of cisplatin-induced nephrotoxicity. *Toxicology* 1989; 58(1): 71-80.
77. Herak CM, Sabolic I and K. The integrity of renal cortical brush-border and basolateral membrane vesicles is damaged in vitro by nephrotoxic heavy metals. *Toxicology* 2001; 156(2-3): 139-147.
78. Bogin E, Marom M, Levi Y. Changes in serum, liver and kidneys of cisplatin-treated rats, effects of antioxidants. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1994; 32(11): 843-851.
79. Potdevin S, Gautier FC, Sorbier BM, Ripoche P, Toutain HJ. Role of protein thiols in inhibition of sodium-coupled glucose uptake by cisplatin in renal brush-border membrane vesicles. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998; 284(1): 142-150.
80. Brady HR, Zeidel ML, Kone BC, Giebisch G, Gullans SR. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1993; 265(3): 1421-1428.
81. Brady HR, Kone BC, Stromski ME, Giebisch G, Gullans SR. Mitochondrial injury: an early event in cisplatin toxicity to renal proximal tubules. *Am. J. Physiol.* 1990; 258(5 Pt 2): F1181-1187.
82. Sueishi K, Mishima K, Makino K, Itoh Y, Tsuruya, K, Hirakata H. Protection by a radical scavenger edaravone against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2002; 451(2): 203-208.
83. Gemba M, Fukuishi N, Nakano S. Effect of N-N'-diphenyl-p-phenylenediamine pretreatment on urinary enzyme excretion in cisplatin nephrotoxicity in rats. *Japan. J. Pharmacol* 1988; 46(1): 90-92.
84. Baud L, Ardaillou R. Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *Br. Med. Bull.* 1993; 49(3): 621-629.

85. Fukuishi N, Gemba M. Use of cultured renal epithelial cells for the study of cisplatin toxicity. *Japan. J. Pharmacol.* 1989; 50(2): 247-249.
86. Orfila C, Bompert G, Lepert JC, Suc JM, Girolomi PJ. Renal immunolocalization of kallikrein in cisplatin nephrotoxicity in rats. *Histochemical Journal* 1993; 25(10): 772-777.
87. Fleck Ch, Kretzschel I, Sperschneider T, Appenroth D. Renal amino acid transport in immature and adult rats during chromate and cisplatin-induced nephrotoxicity. *Amino acid* 2001; 20: 201-215.
88. Kanaka C, Oetliker OH; Bianchetti MG. Chronic cisplatin tubulopathy in humans and animals clear-cut discrepant findings. *Nephron* 1996; 59(4): 693-694.
89. Alfieri BA, Cubeddu LX. Role of NK₁ receptors on cisplatin-induced nephrotoxicity in the rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol* 2000; 361: 334-338.
90. Çevikbaş U, editör. Böbrek ve toplayıcı sistemi. Temel Patoloji. 6. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000; 439-469.
91. MacLeod PM, Tyrell CJ, Keeling DH. The effect of cisplatin on renal function in patients with testicular tumours. *Clinical Radiology.* 1988; 39(2): 190-192.
92. Doni MG, Falanga A, Delaini F, Vicenzi E, Tomasiak M, Donati MB. The effect of vitamin E or selenium on the oxidant-antioxidant balance in rats. *Br. J. Exp. Path.* 1984; 65: 75-80.
93. Çevikbaş U, editör. Onarım: Hücre Rejenerasyonu, Fibrozis ve Yara İyileşmesi. Temel Patoloji. 6. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000; 47-59.
94. Lee HS, Jeong JY, Kim BC, Kim YS, Zhang YZ, Chung KH. Dietary antioxidant inhibits lipoprotein oxidation and renal injury in experimental focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney International* 1997; 51: 1151-1159.
95. Vissers CMM, Lee WG, Hampton MB. Regulation of apoptosis by vitamin C. *J. Biol. Chem.* 2001; 276(50): 46835-46840.
96. Razzague MS, Taguchi T. Localization of HSP47 in cisplatin-treated rat kidney: a possible role in tubulointerstitial damage. *Clin. Exp. Nephrol.* 1999; 3: 222-228.

10. RESİMLEMELER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Cisplatinin kimyasal yapısı.....	3
Şekil 2. E vitamininin kimyasal yapısı.....	7
Şekil 3. E vitamininin serbest olmayan radikalinin yapısı.....	8
Şekil 4. Askorbik asit, askorbat, askorbil radikali, dehidroaskorbik asidin kimyasal yapısı.....	9
Resim 1. Kontrol grubu, H+E, X20.....	20
Resim 2. Kontrol grubu, H+E, X40.....	20
Resim 3. Kontrol grubu, PAS+HI, X40.....	21
Resim 4. Kontrol grubu, Masson, X40.....	21
Resim 5. Kontrol grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X4000.....	22
Resim 6. Kontrol grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X6000.....	22
Resim 7. Kontrol grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X8000.....	22
Resim 8. Kontrol grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X6000.....	23
Resim 9. Cisplatin grubu, H+E, X4.....	24
Resim 10. Cisplatin grubu, H+E, X10.....	24
Resim 11. Cisplatin grubu, H+E, X10.....	25
Resim 12. Cisplatin grubu, Masson, X10.....	25
Resim 13. Cisplatin grubu, Masson, X20.....	26
Resim 14. Cisplatin grubu, PAS+HI, X40.....	26
Resim 15. Cisplatin grubu, Azan, X40.....	27
Resim 16. Cisplatin grubu, PAS+HI, X40.....	27
Resim 17. Cisplatin grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X5000.....	28
Resim 18. Cisplatin grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X5000.....	28
Resim 19. Cisplatin grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X5000.....	29
Resim 20. Cisplatin grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X5000.....	29

Resim 21. Cisplatin grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X8000.....	30
Resim 22. Cisplatin grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X12000.....	30
Resim 23. Cisplatin grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X6000.....	31
Resim 24. Cisplatin grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X6000.....	31
Resim 25. Cisplatin grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X4000.....	32
Resim 26. Cisplatin grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X4000.....	32
Resim 27. Cisplatin+E vitamini grubu, H+E, X20.....	33
Resim 28. Cisplatin+E vitamini grubu, H+E, X40.....	33
Resim 29. Cisplatin+E vitamini grubu, PAS+HI, X20.....	34
Resim 30. Cisplatin+E vitamini grubu, PAS+HI, X40.....	34
Resim 31. Cisplatin+E vitamini grubu, Masson, X20.....	35
Resim 32. Cisplatin+E vitamini grubu, Masson, X40.....	35
Resim 33. Cisplatin+E vitamini grubu, PAS+HI, X40.....	36
Resim 34. Cisplatin+E vitamini grubu, PAS+HI, X40.....	36
Resim 35. Cisplatin+E vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X4000.....	37
Resim 36. Cisplatin+E vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X4000.....	37
Resim 37. Cisplatin+E vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X5000.....	38
Resim 38. Cisplatin+E vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X5000.....	39
Resim 39. Cisplatin+C vitamini grubu, H+E, X20.....	40
Resim 40. Cisplatin+C vitamini grubu, H+E, X40.....	40
Resim 41. Cisplatin+C vitamini grubu, H+E, X40.....	41
Resim 42. Cisplatin+C vitamini grubu, PAS+HI, X20.....	41
Resim 43. Cisplatin+C vitamini grubu, PAS+HI, X40.....	42
Resim 44. Cisplatin+C vitamini grubu, PAS+HI, X4.....	42
Resim 45. Cisplatin+C vitamini grubu, PAS+HI, X10.....	43
Resim 46. Cisplatin+C vitamini grubu, Masson, X4.....	43
Resim 47. Cisplatin+C vitamini grubu, Masson, X20.....	44
Resim 48. Cisplatin+C vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X4000.....	45
Resim 49. Cisplatin+C vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X10000.....	45
Resim 50. Cisplatin+C vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X5000.....	46
Resim 51. Cisplatin+C vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X2500.....	46

-
- Resim 52.** Cisplatin+C vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X4000.....47
Resim 53. Cisplatin+C vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X5000.....47
Resim 54. Cisplatin+C vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X3000.....48
Resim 55. Cisplatin+C vitamini grubu, Uranil asetat- Kurşun sitrat, X6000.....48



11. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında İstanbul'da doğdum. Orta öğrenimimi Kandilli Kız Lisesi'nde tamamladıktan sonra, 1996 yılında Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girdim. 2000 yılında mezun oldum ve yine 2000 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Morfoloji Anabilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. 2001 yılından bu yana, aynı bilim dalında Dekanlık araştırma görevlisi kadrosunda çalışmaktayım. Halen eğitimime devam etmekteyim.





T.C
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı : 02

Karar Tarihi : 28.01.2002

1- Fakültemiz Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalınca yapılacak olan ve Prof.Dr.Müberra UYGUN'nun yürütücüsü olduğu "Cisplatinin Oluşturduğu Böbrek Hasarlarında E ve C Vitamini Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeylerde İncelenmesi" adlı Araştırma Görevlisi Dr.Yeter TOPÇU'nun tez çalışması incelendi. Çalışmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler açısından, etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve yapılabileceğine oybirliği ile karar verildi.

Başkan
Prof.Dr.Ahmet R. KARASALİHOĞLU
Dekan

Prof.Dr.Sendoğan GÜLEN

Üye

Prof.Dr.Gültaç ÖZBAY

Üye

Prof.Dr.Aydın ALTAN

Üye