

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Gülizar ATMACA

132367

DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK
YETMEZLİĞİNDE EKSOJEN MELATONİNİN
BÖBREK FONKSİYONUNA ETKİSİ

Y.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Nurettin AYDOĞDU

BASIM

DOKTORA TEZİ

132367

Destekleyen Kurum: TÜBAP-419

Tez no: 19

EDİRNE-2003

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Gülizar ATMACA

132367

DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK
YETMEZLİĞİNDE EKSOJEN MELATONİNİN
BÖBREK FONKSİYONUNA ETKİSİ

Y.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Nurettin AYDOĞDU

DOKTORA TEZİ

132367

Destekleyen Kurum: TÜBAP-419

Tez no: 19


EDİRNE-2003


T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

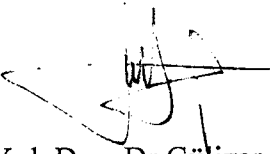
Fizyoloji Anabilim Dalı'nın, Fizyoloji Doktora Programı çerçevesinde hazırlanmış olan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 31.12.2002 / 25 tarih ve sayılı toplantısının2.....nolu kararı ile belirlenen aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

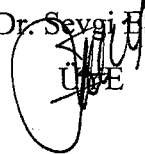
Tez Savunma Tarihi: 17.01.2003

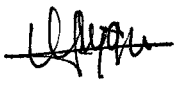

Prof. Dr. Lütfi ÇAKAR
BAŞKAN


Prof. Dr. Kadir KAYMAK
ÜYE


Yrd. Doç. Dr. Mevlüt YAPRAK
ÜYE


Yrd. Doç. Dr. Gülizar ATMACA
ÜYE


Yrd. Doç. Dr. Seygi ESKİOCAK
ÜYE


Prof. Dr. Müberra UYGUN
Enstitü Müdürü

TEŐEKKÜR

Doktora eđitimim ve tez çalıŐmalarım sűresince katkı ve önerileri ile destek olan hocam Yrd. Doç. Dr. Gűlizar ATMACA'ya, bilgi ve tecrűbelerinden yararlandıđım Anabilim Dalı BaŐkanımız Prof. Dr. Kadir KAYMAK'a, Yrd. Doç. Dr. Mevlűt YAPRAK'a, ve yetiŐmemde emeđi geçen tűm hocalarıma, Trakya Ŭniversitesi Bilimsel AraŐtırma Projeleri Komisyonu'na, her zaman yanımda hissettiđim dostlarıma, ilgi ve destekleri ile daima yanımda olan aileme teŐekkűr ederim.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Akut Böbrek Yetmezliği.....	3
2.2. Miyoglobürik Akut Böbrek Yetmezliği.....	4
2.2.1. Fizyopatoloji.....	7
2.3. Serbest Radikaller.....	13
2.3.1. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	19
2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri.....	19
2.3.3. Serbest Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları.....	23
2.4. Melatonin.....	27
2.4.1. Melatonin Sekresyonu.....	28
2.4.2. Melatoninin Etki Mekanizması.....	29
2.4.3. Melatoninin Etkileri.....	31
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	35
3.1. Deneysel Çalışmalar.....	35
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	36
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	37
3.4. Biyokimyasal Çalışmalar.....	38
3.5. Histolojik Çalışmalar.....	38
3.6. Böbrek Dokusu Homojenizasyonu.....	38
3.7. Protein Miktar Tayini.....	39
3.7.1. Çözeltiler	39
3.7.2. Deneyin Yapılışı.....	39
3.8. Malondialdehit Miktar Tayini.....	40
3.8.1. Çözeltiler.....	40
3.8.2. Deneyin Yapılışı.....	41
3.8.3. Sonuçların hesaplanması.....	43
3.9. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi.....	42
3.9.1. Çözeltiler.....	42
3.9.2. Deneyin Yapılışı.....	42
3.9.3. Sonuçların Hesaplanması.....	42

3.10. Katalaz Enzim Aktivitesinin ölçülmesi.....	43
3.10.1 Çözeltiler.....	44
3.10.2. Deneyin Yapılışı.....	44
3.11. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi.....	44
3.11.1. Çözeltiler.....	45
3.11.2. Deneyin yapıılışı.....	45
3.11.3. Sonuçların Hesaplanması.....	46
3.12. İstatistik.....	46
4. BULGULAR.....	47
5. TARTIŞMA.....	70
6. SONUÇ.....	81
7. ÖZET.....	82
8. SUMMARY.....	83
9. KAYNAKLAR.....	85
10. RESİMLEMELER LİSTESİ.....	96
10.1. Şekiller.....	96
10.2. Tablolar.....	97
11. ÖZGEÇMİŞ.....	98
12. EK.....	99

SİMGE ve KISALTMALAR

ABY	Akut Böbrek Yetmezliği
AMK	N-acetyl-5-methoxykynuramine
AFMK	N-acetyl-N-Formyl-5-methoxykynuramine
APUD	Amine Precursor Uptake Deamine
ATN	Akut Tübüler Nekroz
ATP	Adenozin trifosfat
BH ₄	Tetrahidrobiopterin
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	Katalaz
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
DFO	Desferoksamin
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
FMN	Flavin Mononükleotid
GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
G6PD	Glikoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
GI-GPx	Gastrointestinal Glutasyon Peroksidaz
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Okside Glutasyon
GSSG	Redükte Glutasyon
HE	Hematoksilen-Eosin
HIOMT	Hidroksiindol-O-Metil Transferaz
HO	Hem Oksijenaz
HO ₂	Hidroperoksil Radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HOCl	Hipoklorit Asit
im	İntramüsküler

iNOS	Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz
ip	İntraperitoneal
LOOH=ROOH	Lipit Hidroperoksit
MDA	Malondialdehit
Mel-1	Melatonin Reseptörü 1
Mel-2	Melatonin Reseptörü 2
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (Okside)
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (Redükte)
NAT	N-Asetil Transferaz
NO	Nitrik Oksit
NO ₂ [·]	Nitrojen Dioksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
nNOS	nöronal Nitrik Oksit Sentaz
O ₂ ^{·-}	Süperoksit Radikali
¹ O ₂	Singlet Oksijen
O ₃	Ozon
OH [·]	Hidroksil Radikali
6-OHM	6-Hidroksimelatonin
ONOO [·]	Peroksinitrit anyonu
ONOOH	Peroksinitröz Asit
PAF	Platelet Aktive Edici Faktör
PH-GPx	Fosfolipid Hidroperoksit Glutasyon Peroksidaz
PL-GPx	Plazma Glutasyon Peroksidaz
PLOOH	Fosfolipid Hidroperoksit
RNA	Ribonükleik Asit
RO [·]	Alkoksil Radikali
ROO [·] =LOO [·]	Peroksil Radikali
SCN	Suprakiyazmatik Nükleus
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
S-H	Sülfür-Hidrojen
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
SOD	Süper Oksit Dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik Asit

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Akut böbrek yetmezliği (ABY) vücuttaki, tüm sistemlerin etkilenmesiyle ve çok yönlü sebeplere bağlı olarak gelişen bir sendromdur. Renal fonksiyonların akut kaybı olarak tanımlanan ABY; ekstrasellüler sıvı, asit-baz, elektrolit ve çift değerlikli katyon düzenlenmesinde dengesizliklerle sonuçlanır. Bununla beraber serum kreatinin konsantrasyonunun yükselmesi, diğer nitrojenli artık maddelerin birikmesi ve idrar atılımında bir azalmanın olması ABY'nin temel belirtileridir.

Organ destekleme teknolojilerinde aşırı ilerlemelerin olmasıyla beraber son 20 yıldır meydana gelen ABY mortalite oranı; hastanelerde yaklaşık % 45 ve yoğun bakım ünitelerinde yaklaşık % 70'tir.

Toplumda oluşan ABY'nin yaklaşık olarak bir milyon popülasyonda 209 hastada meydana geldiği ve bu sendromun frekansının hastaneye yatırılmış hastalarda yükseldiği belirtilmektedir.¹

Miyoglobinin ABY travma ve travma dışı nedenlere bağlı olarak çizgili kas hücrelerinin hasara uğraması ve hücre içi elemanların dolaşıma geçmesi, yani rabdomiyoliz sonucu gelişen üremik sendromdur. Travma sonucu olana crush sendromu denilmektedir. Rabdomiyoliz hem travma hem de travma dışı nedenler ile ortaya çıkabilir. Genelde travma dışı sebepler daha sık olduğu halde, sıra dışı olaylar (maden göçükleri, trafik kazaları, savaş, doğal ve insanların yol açtığı suni felaketler) sonrasında travmatik sebepler çok daha ön plana geçer. Kısa bir zaman süresi içinde en fazla crush sendromuna yol açan ve ülkemiz açısından en çok önem taşıyan durum ise depremlerdir. Marmara depreminde 639 hastadan crush sendromuna bağlı akut renal problemler gelişmiş ve bunların 477'sinde diyaliz tedavisi gerekmiştir. Bu rakamlar Marmara depreminin şu ana kadar dünyada karşılaşılan ve dökümanite edilebilmiş en büyük "renal felaket" olduğunu göstermektedir.²

İnsanlarda gelişen miyoglobinin ABY'nin sıçanlardaki deneysel modelinde; hipertonic gliserolün intramüsküler (im) enjeksiyonu ile miyoglobinin ABY geliştirilir. Bu

model insanlarda gelişen miyoglobinürik ABY'ne özdeş kabul edilir. Hipertonik gliserolün im enjeksiyonu miyoliz, hemoliz ve hipovolemiye neden olur. Miyoliz ve hemoliz sonucu dolaşıma salınan miyoglobin ve hemoglobin gibi hem proteinleri içerdikleri serbest demir aracılığıyla miyoglobinürik ABY'nin patogenezinde kritik bir rol oynarlar. Serbest demir Haber-Weis ve Fenton reaksiyonlarıyla serbest radikallerin oluşumuna ve lipid peroksidasyonuna neden olur. Serbest radikaller ABY'nin bir çok formunda olduğu gibi miyoglobinürik ABY'nin patogenezinde de önemli rol oynamaktadırlar. Miyoglobinürik ABY deneysel modelinde çeşitli antioksidan etkili maddeler verilerek hastalığın gelişimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.³⁻⁶

Melatoninin özellikle antioksidan olarak fonksiyonunu araştırmak amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Melatoninin yüksek toksisitesi olan serbest radikallerin direkt tutucusu ve indirekt antioksidan etkili olduğu belirlenmiştir. Bazı deneysel böbrek yetmezliği modellerinde de melatoninin antioksidan etkisi gösterilmiştir; iskemik ABY'nde ve siklosporinin, gentamisin, adriyamisin, cıva klorürün oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı koruyucu rol oynadığı belirtilmektedir.⁷⁻¹⁷ Ancak gliserol verilerek oluşturulan deneysel miyoglobinürik ABY modelinde, melatoninin etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda sıçanlara hipertonik gliserolün im verilmesiyle oluşturulan miyoglobinürik ABY'nin deneysel modelinde farklı dozlardaki melatoninin antioksidan enzimler, lipid peroksidasyonun bir parametresi olan malondialdehit (MDA) düzeyi, böbrek hasarı ve fonksiyonları üzerindeki etkileri, etki mekanizması ve ABY mortalite oranı ile tedavi maliyetinin yüksek olması nedeniyle; böbrek yetmezliği bulguları ortaya çıkmadan bu ajanın profilaktik olarak verilip verilmeyeceğini ve klinik bilimlerden tedavide kullanılabilirliğini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Böbrek Yetmezliği

ABY saatler veya günler içinde renal fonksiyonların kaybı, buna bağlı olarak üre ve kreatinin gibi nitrojen artık ürünlerin birikmesi ve sıvı elektrolit dengesindeki anormalliklerle karakterize bir sendromdur.^{18,19}

ABY'nin nedenleri ülkeler arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Obstrüksiyon ve gebeliğe bağlı olarak gelişen ABY gelişmekte olan ülkelerde fazla görülmesine karşın, cerrahi ve medikal tedavi sonrası gelişen ABY gelişmiş ülkelerde daha yaygın görülmektedir.³ ABY görülme sıklığı klinik duruma göre farklılık gösterir; hastaneye kabul edilen vakalarda kabulde % 1, hastanede yatırılarak izlenen hastalarda % 2-5, kardiyopulmoner bypass sonrasında % 4-15 ve yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda % 30 oranındadır.^{18,20,21}

ABY yüksek mortalite ve morbidite ile seyreden kompleks bir klinik tablodur. Son yıllarda diyaliz ve tıp alanındaki gelişmelere rağmen ABY mortalitesi hala yüksektir ve bu oran % 50-70 civarındadır. ABY tedavisi de hastanede uzun süre kalmayı gerektirir, maliyeti de oldukça yüksektir. Bu nedenlerle öncelikle ABY'nin gelişmesi önlenmelidir.²²⁻²⁵

ABY oluşum nedenlerini, tanı ve tedavi açısından üç ana grupta toplamak mümkündür. Bunlar:

- a) Prerenal nedenler: Renal tübüler ve glomerüler fonksiyonlar bozulmamış, ama renal perfüzyonu bozan nedenlerle klirens sınırlanıyor ise bu durumda prerenal böbrek yetmezliğinden bahsedilir.
- b) İnrarenal nedenler: Primer intrarenal nedenlere bağlı akut böbrek yetmezliği intrinsik böbrek yetmezliği ya da renal azotemi olarak değerlendirilir.
- c) Postrenal nedenler: Renal disfonksiyon üriner traktusun obstrüksiyonuna bağlı ise bu durumda postrenal böbrek yetmezliğinden bahsedilir.

Prerenal azotemi % 55-60, intrinsik renal azotemi % 35-40, postrenal nedenler % 5 oranında görülür. ^{18-20,26,27} ABY sıklıkla akut tübüler nekroz (ATN) ile aynı anlamda kullanılmaktadır, ancak bu tanım prerenal ve postrenal ABY nedenlerini kapsamamaktadır. ATN akut iskemik veya nefrotoksik zedelenmenin bir sonucu olarak dakikalar ve günler içinde glomerüler filtrasyon hızı (GFR)'nda akut ve sürekli düşme ile seyreden bir klinik sendrom ile ilişkili patolojik bir tanımlamadır. ^{18,20,28} Akut böbrek yetmezliğinin nedenleri Tablo-1'de verilmiştir.

2.2. Miyoglobininürik Akut Böbrek Yetmezliği

Miyoglobininürik ABY travma veya travma olmaksızın metabolik nedenlerle iskelet kası hasarı sonucu gelişen üremik bir sendromdur. İskelet kasının travma sonucu parçalanması ve sistemik etkilerinin görülmesine crush sendromu denir. Deprem gibi doğal afetler, savaş, trafik ve iş kazalarında oluşan geniş vücut travmaları bu sendroma neden olmaktadır.

Travmatik kas yıkımı açık bir şekilde ilk olarak 1909 yılında Messina depremindeki kazazedelerde Alman Von Colmers tarafından tanımlandı. 1916 yılında ilk olarak Frankenthal tarafından savaş yaralanmaları sonucu meydana gelen travmatik rabdomiyoliz ile akut böbrek yetmezliği ilişkisi belirlendi. 1923 yılında Minami travmatik kas hasarına ilaveten diğer kas hasarlarının da böbrek yetmezliğine sebep olacağını belirtti. Literatürdeki bu bilgilere ilaveten, 1941 yılında Bayeters ve Beals travmatik rabdomiyoliz sonucu oluşan ölümcül komplikasyonları açık bir şekilde tanımlayarak crush sendromu adını vermişlerdir. ^{29,30} Crush sendromu direkt travma veya iskemi-reperfüzyondan sonra görülen kas yaralanmalarının, sistemik etkilerinin görülmesi sonucu; kaslarda gerginlik, ödem ve ağrı, koyu çay renginde idrar, şok ve asidozis septomları ile karakterize ve sıklıkla ABY ile sonuçlanan bir sendromdur. ³ Depremlerden sonra meydana gelen tüm yaralanmaların içinde crush sendromu oranı yaklaşık olarak % 2-5'tir. ²⁹ Crush sendromlu hastaların yaklaşık % 50'sinde ABY gelişir ve bu hastaların % 50'sinde diyaliz tedavisine ihtiyaç duyulmaktadır. ³¹

1988 Ermenistan depreminde 600, 1995 Kobe (Japonya) depreminde 372 kazazedede crush sendromu nedeniyle miyoglobininürik ABY gelişmiştir. Ülkemizi büyük bir yasa boğan 17 Ağustos 1999 saat 03:01'de meydana gelen 7.4 şiddetindeki Marmara depreminde resmi

Tablo 1. Akut böbrek yetmezliğinin nedenleri ^{18,19,26}

Prerenal Yetmezlik	ALT ÜRİNER SİSTEM OBSTRÜKSİYONU
DÜŞÜK KARDİYAK DEBİ <ul style="list-style-type: none">• Miyokard infarktüsü• Kardiyak aritmi• Konjestif kalp yetmezliği• Pulmoner emboli• Pozitif basınçlı mekanik ventilasyon	<ul style="list-style-type: none">• Üreteral striktür,• prostat hipertrofisi veya tümör,• mesane kanseri,• Serviks kanseri,• Nörojen mesane
HİPOVOLEMİ <ul style="list-style-type: none">• Yetersiz sıvı alımı• Ekstraselüler sıvı kaybı<ul style="list-style-type: none">• Renal sıvı kaybı• Gastrointestinal sıvı kaybı• Dermal sıvı kaybı	İntrinsik Akut Böbrek Yetmezliği
ÜÇÜNCÜ BOŞLUĞA SIVI SEKESTRASYONU <ul style="list-style-type: none">• Hipoalbuminemi• Karaciğer sirozu• Nefrotik sendrom• Penkreatitis• Travma• Peritonitis• İntestinal obstrüksiyon• Yanıklar	VASKÜLER HASTALIKLAR <ul style="list-style-type: none">• Malign hipertansiyon• Vaskülit• Hemolitik üremik sendrom• Trombotik trombositopenik purpura• Preeklampsi• Postpartum nefrosklerozis• Kolesterol embolisi• Renal kortikal nekroz
SİSTEMİK VAZODİLATASYON <ul style="list-style-type: none">• Sepsis• Şok• Karaciğer yetmezliği• Antihipertansif ilaçlar• Aşırı doz ilaç alımı	GLOMERÜLER HASTALIKLAR <ul style="list-style-type: none">• Akut postinfeksiyöz glomerülonefritis• Goodpasture sendromu• Hızlı progresif glomerülonefrit• Lupus nefriti• İgA nefropatisi• İnterstisiel nefritis
RENAL ARTER OBSTRÜKSİYONU VEYA CİDDİ KONSTRİKSİYON <ul style="list-style-type: none">• Aterosklerozis• Emboli• Tromboz• Vaskülit• Renal pedikül kompresyonu• Abdominal aort anevrizmasının parçalanması• Endotoksinler• Siklosporin A	İNTERSTİTEL NEFRİTİS <ul style="list-style-type: none">• İnfeksiyöz sebepler: stafilokoklar, gram negatif bakteriler, leptospirozis, brusellozis, virüsler, mantarlar• İnfiltratif sebepler: lenfoma, lösemi, sarkoidozis, diğer granülomalar• İlaçlarla ilişkili sebepler: Penisilinler, sefalosporinler, nonsteroidal antiinflatuar ilaçlar, allupurinol, tiazid diüretikler, simetidin, fenitoin, furosemid, analjezikler, rifampisin• İdiopatik• Akut tübüler nekrozis<ul style="list-style-type: none">• İskemik hasar• Uzamış prerenal azotemi• Şok, postoperatif,• Crush sendromu, büyük travma
RENAL OTOREGÜLASYONUN BOZULMASI <ul style="list-style-type: none">• Prostaglandin inhibitörleri• ACE inhibitörleri	NEFROTOKSİK HASAR <ul style="list-style-type: none">• Antibiyotikler, radiografi kontrast maddeler, anestezipler, kemoterapötik ajanlar, immunosupresif ajanlar, amfoterisin B, yüksek dozlarda mannitol, organik çözücüler, pestisitler, ağır metaller
Postrenal Yetmezlik (obstrüksiyon)	PİGMENT HASARI <ul style="list-style-type: none">• Miyoglobüri• Hemoglobüri
İNTRAÜRETERAL OBSTRÜKSİYON <ul style="list-style-type: none">• Kan pıhtısı• Taş• Papilla nekrozu• Mantar topu	KRİSTALLERİN OLUŞTURDUĞU HASAR <ul style="list-style-type: none">• Ürik asit nefropatisi• Oksalat nefropatisi• Sulfadiazin• Asiklovir• Metotreksat
EKSTRAÜRETERAL OBSTRÜKSİYON <ul style="list-style-type: none">• Aberran damarlar• Ligasyon• Malignensi• Endometriyozis• Retroperitoneal fibrozis ve tümörler	METABOLİK SEBEPLER <ul style="list-style-type: none">• Hiperkalsemi• Myelom proteinleri• Uzun zincir nefropatisi

rakamlara göre, 17480 ölüm ve 43953 yaralanma olduğu belirtilmektedir. Referans olarak kabul edilen hastanelere toplam 9843 hasta getirilmiş, bunların 5302'si hastanelere yatırılmış ve 425 hasta ölmüştür. Bu hastalardan 639'unda (% 12) renal problemler görülmüş ve bunların 477'si (% 74.6) diyaliz tedavisi görmüştür. Renal problemleri olan hastaların 97'si (% 15.2) ölmüştür.^{29,31-35}

Rabdomiyoliz çizgili kasların erimesi veya parçalanması sunucu kas hücrelerindeki içeriğin ekstraselüler sıvıya karışmasıdır.^{2,3} Tablo 2'de kas hücresi metabolizma bozukluklarını da içeren rabdomiyoliz nedenleri görülmektedir. Rabdomiyoliz vakalarının % 81'inden uyuşturucu maddeler ve alkolün sorumlu olduğu belirtilmektedir.³⁶ Tüm rabdomiyolizli hastalarda miyoglobürik ABY gelişme oranı % 17-33 arasındadır. Tüm ABY vakaları arasında miyoglobürik ABY oranı % 3-15'tir.³⁷ ABY gelişen rabdomiyolizli hastalarda mortalite oranının % 7-80 arasında olduğu belirtilmektedir.³

Tablo 2. Rabdomiyoliz nedenleri^{2-6,37-39}

<p>Metabolik Hastalıklar</p> <ul style="list-style-type: none"> Diyabet • Ketoasidozis • Hiperosmolar durumlar Hipotiroidizm Hipokalemi • Diüretikler • Total parenteral beslenme • Hiperaldosteronizm Hipofosfatemi Hiponatremi <p>Travma</p> <ul style="list-style-type: none"> Direkt kas yaralanması • Miyoglobüriye ilerleme İskemi-reperfüzyon • Vasküler hasar • Kompartıman sendromu Elektrik yaralanması Isı yaralanması • Yanıklar • Hipotermi <p>İlaçla Tedaviler</p> <ul style="list-style-type: none"> Steroidler Nöromüsküler iletiyi engelleyen ajanlar Süksinilkolin Lovastatin Glutethamid 	<p>İnfeksiyonlar</p> <ul style="list-style-type: none"> Bakteriyel (en yaygın olarak streptokok ve salmonelle türleri) Viral <p>Toksinler</p> <ul style="list-style-type: none"> Ethanol ve diğer alkoller Uyuşturucu bağımlılığı • Eroin • Methadone • Kokain • Pensiklidine • Amfetaminler • LSD Etilen glikol Organik solventler (Toluen) Böcek ve yılan zehirlenmeleri Ağır metaller <p>Genetik Hastalıklar</p> <ul style="list-style-type: none"> Karbonhidrat metabolizması bozuklukları • Miyofosforilaz eksikliği (Mc Ardle sendromu) • Fosfofruktokinaz eksikliği • Alfa-glikozidaz eksikliği • Amilo-1,6 glikozidaz eksikliği • Fosfohekzoizomeraz eksikliği Lipid metabolizması bozuklukları • Karnitin eksikliği • Karnitin palmitiltransferaz eksikliği Müsküler distrofi İdiopatik
---	---

Hem proteinlerinin oluşturduğu ABY için yaygın olarak iki deneysel model kullanılmaktadır. Bunlar dehidrate deney hayvanlarına; miyoglobün ya da hemoglobün

infüzyonu veya hipertonic gliserolün im enjeksiyonudur. İntramüsküler gliserol enjeksiyonu miyoliz, hemoliz ve intravasküler volüm azalmasına neden olur. Bu model insanlardaki miyoglobürik ABY'yle en fazla yönüyle özdeş olan ABY'nin gelişmesine sebep olur.^{3-6, 38,39}

2.2.1. Fizyopatoloji

Kaslar toplam vücut ağırlığının yaklaşık olarak % 40-50'sini oluşturmaktadır. İskelet kaslarının kuru ağırlığının % 1-3'ü miyoglobindir. Miyoglobinin molekül ağırlığı 17800 daltondur ve yapısında bir demir atomu bulunan bir hem grubu taşır. Dolaşımda miyoglobinin % 50-85'i haptoglobin ve α_2 -globülin ile taşınır. Düşük plazma seviyelerinde dolaşımdaki miyoglobin retikuloendotelial sistem tarafından temizlenir. Ancak plazma miyoglobin düzeyi 0.5-1.5 mg/dl'yi aşınca plazma serbest miyoglobin düzeyi artar. Düşük molekül ağırlığı nedeniyle böbrekler tarafından kolayca filtre edilir.³⁻⁵

Çizgili kas hücrelerinin çeşitli nedenlerle hasarı; hücre membranının (sarkolemma) geçirgenliğini artırır ve bunun sonucunda iki türlü sızıntı meydana gelir. Başlangıçta kalsiyum, sodyum ve su kas hücrelerine girerek ekstraselüler sıvının azalmasına ve hipovolemik hipokalsemik şok gelişimine sebep olur. Daha sonra potasyum, fosfat, purinler ve miyoglobin ekstraselüler sıvıya karışır. Potasyum dışındaki bu metabolitler veya bunların türevleri özellikle hipovolemik şokun gelişimine, asidüriye ve idrardaki konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak ileri derecede nefrotoksik etki gösterirler. Yapılan çalışmalarda miyoglobürik ABY'nin gelişmesinde iki faktörün hazırlayıcı rol oynadığı belirtilmektedir. Bunlar hipovolemi/dehidratasyon ve asidüridir. Gerçekten bu faktörlerin yokluğunda hem proteinleri minimal nefrotoksik etki göstermektedir. Bu nedenle miyoglobürik ABY'nin erken döneminde volem yüklenmesi veya vazodilatatör bir ajanın verilmesi hem proteinlerinin oluşturduğu ABY'ne karşı koruyucu olabilir.^{3-5,37-42}

Kalsiyumun kas hücrelerine girmesi hasarı artırır ve özellikle mitokondriyal hasara neden olarak adenosin trifosfat (ATP) üretimini azaltır. Crush sendromunda ölümden kurtulan kazazedelerde 2 saat içinde plazma elektrolitlerinde hiperkalemi, hipokalsemi, hiperfosfatemi, aynı zamanda hiperürisemi ve metabolik asidozis gelişmektedir. Hipokalsemi, hiperkaleminin kardiyotoksik etkisini arttırmaktadır. Hiperfosfatemi, hipokalseminin şiddetini arttırmakta ve

buna ilaveten böbrek fonksiyonlarını da zayıflatmaktadır. ^{4,5,37-42}

Nefron düzeyinde hem proteinleri üç temel mekanizma ile toksik etki gösterirler. Bunlar; renal vazokonstriksiyon, intralüminal kast oluşumu ve direkt hem proteinlerinin oluşturduğu sitotoksik etkidir. ⁴

Renal Vazokonstriksiyon

Renal perfüzyon vazoaktif endotelial metabolitlerin birbiriyle etkileşimi sonucu düzenlenir. Bunlar arasında vazokonstriktör olarak endotelin ve platelet aktive edici faktör (PAF), vazodilatatör olarak prostasiklin ve nitrik oksit sayılabilir. Deneysel miyoglobinürik ABY modellerinde, miyoglobinin salgılanmasına neden olduğu ajanların renal arteriollerde vazokonstriksiyona neden olduğu gösterilmiştir. Glomerüler ve mezengiyal hücreler tarafından salgılanan PAF, renal vasküler düz kaslarda kontraksiyona neden olur. Endotelin ABY'nin iskemik ve miyoglobinürik türlerinin fizyopatolojisinde önemli bir rol oynar. Endotelinin intrarenal verilmesiyle renal kan akımında ve GFR'da düşmeye neden olduğu gösterilmiştir. Miyoglobinürik ABY modelinde gliserol enjeksiyonunu takiben 24 saat sonra plazma endotelin-1 ve idrar endotelin atılımının arttığı belirtilmektedir. Endotelin A ve B reseptör antagonistlerinin sıçanlarda miyoglobinürik ABY'nde hemen hemen tamamen renal kan akımını düzelttiği belirtilmektedir. Monosit-makrofajlar tarafından meydana getirilen sitokinler, kas yaralanmasıyla uyarılarak renal hasarın oluşumuna katkıda bulunurlar. Son zamanlarda tanımlanan 8-epi-prostaglandin F_{2α} lipid peroksidasyonu sonucu oluşmakta ve preglomerüler vazokonstriksiyona neden olarak, GFR'nı önemli derecede azaltmaktadır. ^{3-5, 43,44}

Rabdomiyoliz sırasında, muhtemel birkaç mekanizmayla renal vazokonstriksiyon/hipoperfüzyon oluşmaktadır. Birincisi, kas hasarının olduğu bölgeye ekstraselüler sıvı birikimi sonucu intravasküler volümün azalmasına neden olur. Ciddi kas yaralanmalarında hasarlı bölgeye 18 litreye kadar ekstraselüler sıvı geçişinin olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda oluşan hipovolemi sonucu uyarılan değişik hormonlar (angiotensin-II, katekolaminler, endotelin, tromboksan A₂ ve arginin vazopressin) renal vazokonstriksiyona ve mezengiyal kontraksiyona yol açarlar. İkincisi, ciddi kas hasarı endotoksin-sitokin kaskadının aktive olmasına ve bunun sonucunda renal vazokonstriksiyonda bir artış meydana

gelmesine neden olmaktadır. Üçüncüsü, hem proteinleri önemli bir endojen vazodilatatör olan nitrik oksit (NO)'i yakalayarak etkisini inhibe ederler. Yapılan çalışmalarda nitrik oksit sentaz (NOS) inhibisyonunun böbreklerde vazokonstriksiyonu ve organ hasarını artırarak ölüme neden olduğu bildirilmektedir. Bu yüzden rabdomiyoliz sırasında hem proteinlerinin NO'in etkisini inhibe etmesi direkt olarak renal doku hasarı ve vazokonstriksiyona sebep olur.²⁻⁵

Hem proteinlerinin neden olduğu renal vazokonstriksiyon, renal tübüllerde ATP'nin azalmasına neden olur. Ayrıca hem proteinlerinin proksimal tübül hücrelerine endositoz yoluyla alınmasına ve kast oluşumunun artmasına neden olarak renal toksik etkilerini arttırır. Bu etkiler birkaç yolla meydana gelir. Birincisi, GFR'daki bir azalma hem proteinlerinin dolaşımında kalma sürelerini uzatır. Bu yüzden proksimal tübüllerde hem proteinlerinin reabsorpsiyonunda ve oluşturdukları hücre hasarında da artış görülür. İntravasküler volum azalması nedeniyle sodyum ve su reabsorpsiyonu artar. Bu nedenle intralüminal miyoglobin konsantrasyonu artarak kast oluşumunu ve tübüler obstrüksiyonu kolaylaştırır. Üçüncüsü, tübüler obstrüksiyon tamamen lüminal staza sebep olur. Bu durum da, proksimal tübül hücrelerinde hem proteinlerinin reabsorpsiyon sürelerini uzatır.²⁻⁵

Tübüllerde Hem Proteinlerinden Kast Oluşumu

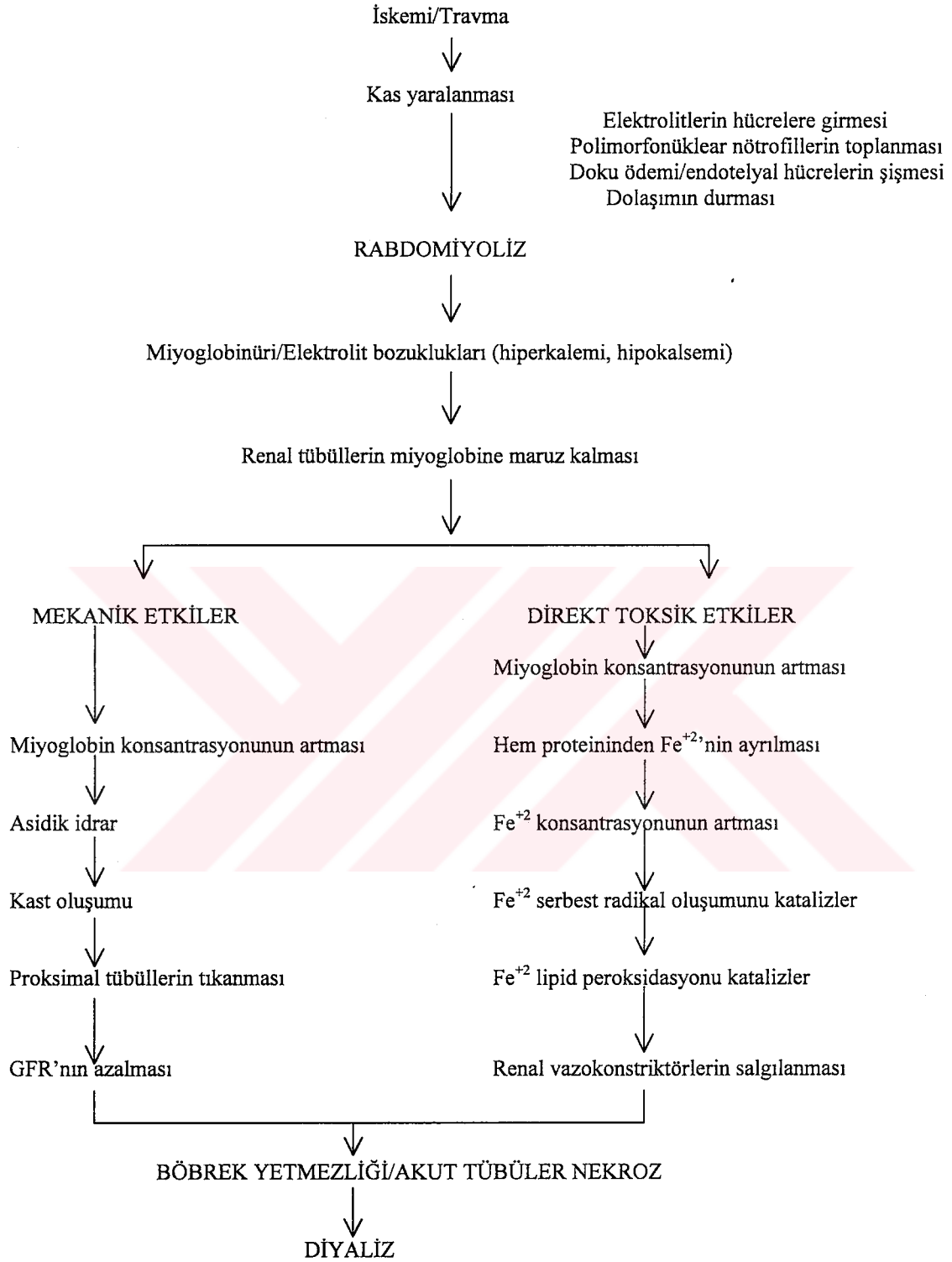
Miyoglobinürik ABY insanlarda ve deney hayvanlarında dikkati çeken morfolojik değişikliklerle karakterizedir. Bunlar: 1) distal tübüllerde hem kastlarının oluşumu, 2) proksimal tübülde nekroz ve bazal membrandan epitel hücrelerinin ayrılmasıdır. Tübüler kastlar luminal akımı tıkar ve bu durumda böbrek fonksiyonları bozulur. Tübüler tıkanma pigment nefropati oluşumunun ilk birkaç saati içinde meydana gelir ve ABY'nin oluşumu da tübüllerin yıkımı ile bağlantılıdır.⁵ Zager ve ark.⁴⁵ miyoglobinüri süresince hem proteinlerinin sitotoksik etkilerinin tübüler epitel hasarında çok önemli bir rol oynadığını ileri sürmektedirler. Kastların oluşumu luminal tıkanmaya ve stazise neden olur. Stazis kast oluşumunu arttırır ve kast miktarının artmasıyla tübüler epitelle olan teması da arttırır. Crush sendromunda metabolik asidozis sonucu oluşan konsantre ve asit idrar, hem ürat ve miyoglobinin nefrotoksik etkisini hem de distal tübüllerde miyoglobin ile Tamm-Horsfall proteinlerinin birleşmesini daha da arttırır. Böbreklerde miyoglobinin toksik ve mekanik etkileri Şekil 1'de gösterilmiştir. Deneysel miyoglobinürik ABY çalışmalarının hemen hemen

hepsinde distal tübüllerde hem kastlarının oluştuğu belirtilmektedir. Bu çalışmalarda hem proteinlerinin tübüler obstrüksiyonu sonucu luminal sıvının refleksiyonuna bu da filtrasyon bozukluğuna ve sonuçta ABY'ne sebep olmaktadır. Tübüler kast oluşumunun direkt glomeruler filtrasyonu etkilemesi ABY patogeneziinde önemli bir rol oynamaktadır. Distal tübüllerde volüm azalması ve renal vazokonstriksiyon filtratın reabsorbsiyonunu değiştirir. Intraluminal hem proteinlerinin konsantrasyonunun artması kast oluşumunu artırır. Kast oluşumunda idrar pH'sı kritik bir rol oynar. Asidik idrar hem proteinlerinin çökmesini kolaylaştırır. Distal tübüllerde sentez edilen Tamm-Horsfall proteinleri asidik ortamlarda diğer proteinlerle bir araya gelme eğilimi gösterir. Tamm-Horsfall proteinleri sadece hem proteinleri ile değil proksimal tübül hücrelerinin nekrozu sonucu diğer proteinlerle de bir araya gelerek kast oluşumunu kolaylaştırırlar.²⁻⁵

Hem Proteinlerinin Proksimal Tübüllerde Sitotoksik Etkisi

Miyoglobinürik ABY'nde renal hasarın başlamasında iki faktör kritik rol oynar. Bunlar; iskemik hasar ve oksidatif stresdir.⁴

ABY'nin diğer formları gibi miyoglobinürik böbrek hasarında; hem proteinleri tarafından oluşturulan toksik renal hasarın yanında sekonder gelişen iskeminin de etkisi büyüktür. Yaklaşık 50 yıldır hem proteinlerin nefrotoksik etkisi ile iskemik renal hasarın ayrılmaz derecede birbirleriyle bağlantılı olduğu bilinmektedir. Deneysel miyoglobinürik ABY modellerinde renal perfüzyonun azalması bir çok çalışmada rapor edilmiştir. Hem proteinlerinin renal vazokonstriksiyon ve hipoperfüzyona sebep olarak bu etkiyi oluşturduğu kabul edilmektedir. Bu yüzden miyoglobinürik ABY hasarının büyük bölümünü iskemi oluşturmaktadır. Ayrıca gliserol verilerek oluşturulan miyoglobinürik ABY'inde ratların renal korteksinde ATP'nin azaldığı gösterilmiştir. ATP tükenmesi sadece iskemi sebebiyle değil, tübüler hücre hasarının bir sonucu olarak büyük miktarda ATP prekürsörlerinin (adenozin, inozin ve hipoksantin) hücre dışına sızması sonucu görülür. ATP'nin tükenmesi nedeniyle kalsiyumun dışarı çıkışı bozulur ve sitozolik kalsiyum miktarı artar.^{3-5,37-39,41,42}



Şekil 1. Böbreklerde miyoglobinin toksik ve mekanik etkileri ³

Miyoglobinürük ABY'nde Oksidatif Stres

Serbest oksijen radikallerinin miyoglobinürük ABY'nin de içinde yer aldığı farklı renal hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı ve aynı zamanda hem proteinlerinin proksimal tübül hücreleri için toksik etkili olduğu belirtilmektedir. İlk basamak proksimal tübül hücrelerinde protoporfirin halkalarının birikmesi ve transport mekanizmasının bozulmasıdır. Proksimal tübül hücrelerinde protoporfirin halkalarının parçalanması demirin serbest kalmasıyla sonuçlanır. Bu durumda hem demirin aracılık ederek oluşturduğu serbest radikaller hem de kendiliğinden oluşan serbest radikaller ABY patogeneğinde çok önemli rol oynarlar. Demir hem reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu hem de lipid peroksidasyonu katalizler. Demirin sebep olduğu oksidatif stres bir çok çalışmada rapor edilmiş ve demir şelatörü desferoksamin ve reaktif oksijen metabolitlerinin yakalayıcısı olan glutasyon verildiğinde miyoglobinürük ABY'ne karşı koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca deneysel miyoglobinürük ABY'nde hidrojen peroksidin sıçan böbreklerinde arttığı gözlenmiştir. Oluşan hidrojen peroksit demir varlığında Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarıyla çok toksik olan hidroksil radikale dönüşmesi, hem proteinlerinin sebep olduğu nefrotokside çok önemli rol oynamaktadır.^{3-6,46-57}

Nitrik Oksit

NO renal vasküler endotel hücrelerinde, tübül epitellerde ve mezengiyal hücrelerde sentezlenir. NO asetilkolin ve bradikinin aracılığıyla, özellikle afferent arterioller olmak üzere renal mikrosirkülasyonda vazodilatatör etki gösterir. NO vasküler etkileri yanısıra tübül tuz reabsorpsiyonu, renin salgılanması ve tübüloglomeruler feedback düzenlemeyle böbrek fonksiyonlarını etkiler. Kasların parçalanması ile açığa çıkan hem proteinleri güçlü bir şekilde NO'yu yakalayıp böbreklerde vazokonstriksiyona neden olurlar. Bundan başka, NO ve metaboliti peroksinitrit (ONOO) hem toksik hasarın hem de hipoksi-reperfüzyon sonucu oluşan hasarın fizyopatolojisinde rol almaktadırlar. Bazı çalışmalarda, tübüllerde üretilen NO'in hücre hasarının bir aracısı olarak renal iskemi ve toksik hasarda rol oynadığı belirtilmektedir. Lokal olarak üretilen NO'in muhtemelen indüklenebilir nitrik oksit sentaz

(iNOS) aktivitesiyle üretildiği belirtilmektedir. iNOS'un iskemi ve endotoksemi sonucu meydana getirdiği NO ve ONOO'in toksik olabileceği belirtilmektedir. Burada hem serbest miyogloblin ve hemogloblinin hem de iNOS'ın oluşturduğu toksik etki üzerinde durulmalıdır. Ayrıca yapılan çalışmalarda endotelial NOS (eNOS)'ın, iNOS'un meydana getirdiği NO tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir. Buna ilaveten, miyogloblinürik ABY'inde tümör nekrozis faktör gibi sitokinlerin düzeyinin arttığı ve iNOS oluşumuna sebep oldukları belirtilmektedir.^{4,5}

Özetle, ABY'nin diğer formlarına benzer şekilde rabdomiyoliz sonucu oluşan ABY de, endotelden üretilen NO'in azalması sonucu oluşan vazokonstriksiyonla ilişkilidir. Ayrıca, iNOS tarafından üretilen NO'in artması endotoksin ve iskeminin zararlı etkilerini daha da şiddetlendirmektedir.⁴

2.3. Serbest Radikaller

Oksijen aerob canlıların mitokondriyal elektron transport zincirinde terminal elektron akseptörü olarak rol aldığı için hayati öneme sahiptir. Oksijen hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline dönüşmektedir. Bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Fakat bu süreçte oksijenin % 1-3'ü tam olarak suya dönüşemez, ileri derecede reaktif olan ve serbest oksijen radikalleri (SOR) olarak adlandırılan bir seri toksik ara ürünlerin oluşmasına neden olabilir.⁵⁸⁻⁶³

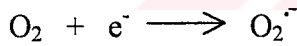
Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Serbest radikallerde eşlenmemiş elektron, atom veya molekülün üzerine konulan koyu bir nokta ile belirtilir. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapılı olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir. Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini ortaya koymadan etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemi bulunmaktadır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı

etkiler ortaya çıkmaktadır. ⁶⁰⁻⁶⁵

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller, en çok elektron transferi tepkimeleri sonucu oluşurlar. Biyolojik sistemlerde en önemli radikaller serbest oksijen radikalleri olmakla beraber; C, N, S türevi olan radikaller ve tek elektron alışverişi yapabilen transisyon metal iyonları (Fe, Cu, Mn, Co, Cr, Ni, Mo, Cd, Ti) da oldukça önemlidir. Bilindiği gibi transisyon metal iyonları serbest radikal tanımına uyan, radikal oluşturan, pek çok reaksiyonda rol alan fakat gerçek bir radikal olarak kabul edilmeyen atomlardır. Serbest radikaller yüksek enerjili, oldukça reaktif ve kısa ömürlü olduklarından dolayı zor izole edilebilirler ve genellikle bir ara ürün olarak ortaya çıkarlar. ⁶¹⁻⁶⁷

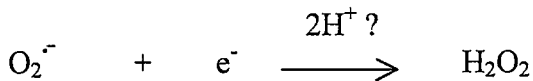
SOR arasında en önemlileri; süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroperoksil (HO_2^{\cdot}), hidroksil ($\cdot OH$), alkoksil (RO^{\cdot}), peroksil (ROO^{\cdot}), nitrik oksit (NO^{\cdot}) ve nitrojen dioksit (NO_2^{\cdot}) radikalleridir. Singlet oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), hipoklorid asit ($HOCl$), lipid hidroperoksit ($LOOH$) ve peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) de radikal olmayan oksijen merkezli ve reaktivitesi oldukça yüksek bileşiklerdir. ⁶³

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$): Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda süperoksit radikali oluşur. Süperoksit radikali bir SOR olmakla birlikte, organizmaya direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, bir H_2O_2 kaynağı olmasından (dismutasyon reaksiyonu) ve geçiş metal iyonlarının indirgenmesinden kaynaklanmakta olmasıdır. ^{58,59,64,68,69}

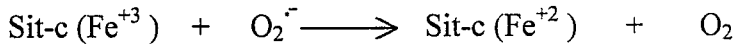


Süperoksit radikalının biyolojik sistemlerdeki önemli özellikleri şunlardır:

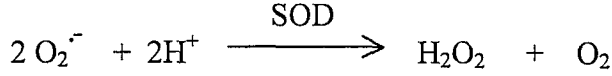
a) Süperoksit radikali bir oksitleyici gibi davranarak bir elektron daha alabilir ve peroksit molekülüne dönüşebilir. Böylece oluşan peroksit molekülü, uygun şartlarda ortamdan iki proton alarak H_2O_2 'e dönüşebilir.



b) Süperoksit radikali aldığı elektronu başka bir elektron alıcısına vererek bir redükleyici ajan gibi davranabilir. Böylece kendisi de oksitlenerek moleküler oksijene dönüşür. Örneğin ferristokrom c'nin (sit-c) ya da nitroblue tetrazoliumun redüksiyonunu sağlarken, bir elektron kaybeder ve moleküler oksijen (O_2) haline dönüşür.

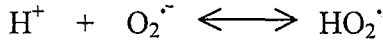


c) İki süperoksit radikali birbiriyle etkileşerek, biri oksitlenirken diğeri redüklenir. Bu olay ortamda proton (H^+) varlığında ve aşağıdaki gibi gerçekleşir.

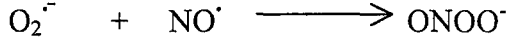


Süperoksit radikali ortamdan temizlendiği ve sonuçta radikal olmayan ürünler oluştuğu için, yukarıdaki tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir ve bu reaksiyon spontan ya da enzimatik olarak, SOD kataliziyle, gerçekleşebilir.

Süperoksit radikali yüksek ve nötral pH'larda anyon şeklinde bulunmasına rağmen, düşük pH'larda protonlanarak perhidroksil ya da hidroperoksil (HO_2^{\cdot}) olarak adlandırılan kation radikaline dönüşür. ^{58,61,64,65,68,69}

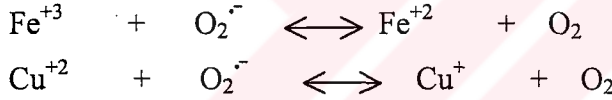


d) Süperoksitin önemli fizyolojik bir rolü de nitrik oksit ile olan etkileşimidir. NO ile birleşen süperoksit, NO'nun fizyolojik ve varsa patolojik etkilerini engellerken, sonuçta bir reaktif oksijen türevidir olan peroksinitrit (ONOO^-) oluşumuna neden olmaktadır.

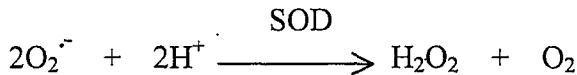


Peroksinitrit nitrojen dioksit (NO_2^{\cdot}), hidroksil radikali (OH^{\cdot}) ve nitronyum (NO_2^+) gibi daha başka reaktif ve toksik olan ürünlere dönüşebilir. ^{59,64,70}

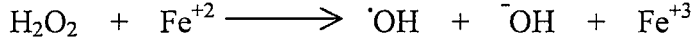
e) Oksitlenmiş geçiş metallerinin redüksiyonu da süperoksit oluşumunu gerçekleştirebilir. Bu reaksiyonlar, geri dönüşümlü olabilen redoks reaksiyonlardır. ^{64,68,69}



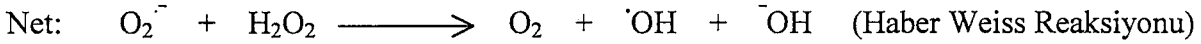
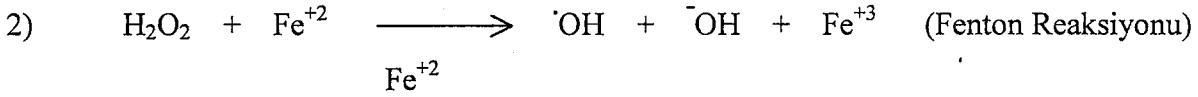
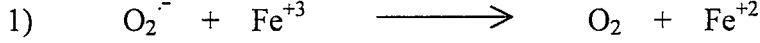
Hidrojen Peroksit (H_2O_2): Moleküler oksijenin iki elektron alması veya süperoksit bir elektron katılmasıyla peroksit oluşur. Peroksit molekülü ise çevreden iki proton alarak hidrojen peroksidi oluşturur. Doğrudan H_2O_2 üretimi ürat oksidaz, glikoz oksidaz ve D-amino asit oksidaz gibi enzimlerin aktivasyonunda direkt olarak oksijene 2 elektron aktarılması ile oluşur. Ancak biyolojik sistemlerdeki H_2O_2 üretiminin asıl kaynağı, SOD tarafından katalizlenen enzimatik dismutasyondur. Bu üretime enzimsiz oluşan spontan dismutasyonun da bir miktar katkısı vardır. ^{61,68,69}



Hidrojen peroksit ortaklanmamış elektrona sahip olmadığından dolayı, serbest radikal tanımlamasına uymaz, fakat reaktif oksijen türleri sınıfına dahildir. H_2O_2 geçiş metal iyonlarının varlığında bu metalleri oksitleyerek oldukça reaktif ve hasarlandırıcı bir serbest oksijen radikali olan hidroksil (OH^{\cdot}) radikalini oluşturabilir.



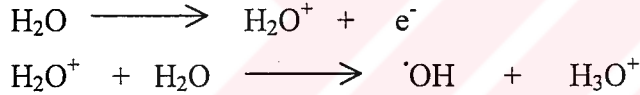
Yukarıdaki reaksiyon “Fenton reaksiyonu” olarak bilinir. Fenton reaksiyonu süperoksit ile hidrojen peroksidin tepkimeye girdiği, Fe katalizörlü “Haber Weiss Reaksiyonunun” içinde de yer almaktadır. Bu reaksiyonlar katalizörsüz olarak da, çok yavaş, gerçekleşebilir. ^{61,62,64}



Hidroksil Radikali (OH): Yarı ömrü çok kısa ve oksijen radikalleri içinde en reaktif ve en toksik olan radikaldir. Biyolojik şartlarda üretildiği bölgedeki hemen hemen her molekül ile tepkimeye girerek hasar oluşturabilir. Hidroksil radikali çoğunluğu radikal olmayan biyolojik moleküllerle zincir reaksiyonları başlatır. DNA yapısındaki pürin ve pirimidin ile reaksiyona girerek hasar oluşturabilir. ^{58,61,62,71}

Biyolojik şartlarda hidroksil radikali oluşturabilen önemli reaksiyonlar şunlardır:

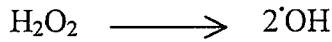
1) İyonlaştırıcı radyasyonun su molekülüne etkisiyle hidroksil radikali oluşabilir.



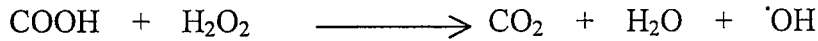
2) Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları sonucunda hidroksil radikali oluşur.

3) Ozona (O₃) elektron transferi ile hidroksil radikali oluşabilir. Bu nedenle ozon toksisitesinde hidroksil radikalının rolü vardır.

4) Hidrojen peroksidin fotolizi ile hidroksil radikali oluşabilir.

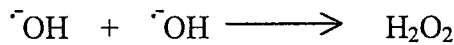


5) Radikal tepkimeleri ile oluşabilen bir organik radikal, H₂O₂ ile tepkimeye girerek OH üretebilir.

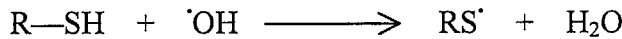


Hidroksil radikalının katıldığı tepkimeler ise başlıca dört grupta toplanabilir:

1) Radikal radikal reaksiyonları,

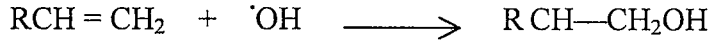


2) Hidrojen çıkartma tepkimeleri; böylece organik bir radikal oluşabilir.

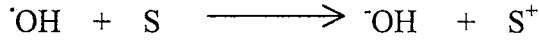


3) Hidroksil radikali (·OH) katılma reaksiyonları ile çift bağ içeren aromatik bileşiklere katılır, aromatik amino asitlerin hidroksilasyonuna neden olur. Aromatik halkaya katma

tepkimleri ile hidroksilasyonların yanısıra, toksik etkili aldehitlerin oluşumuna da neden olur.



4) Organik ve inorganik bileşiklerde elektron transfer tepkimelerine neden olur.

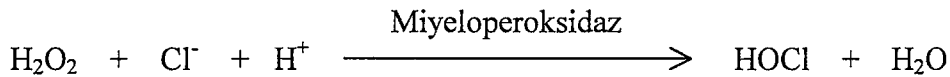


Sülfidril gruplarının kendiliğinden disülfidlere oksidasyonu, oksijen radikallerinin neden olduğu bir oksidasyondur.^{58,59,71}

Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$): Moleküler oksijenin dış yörüngesindeki orbitallerde çiftleşmemiş ve paralel salınan (spin yapan) iki elektron vardır. Enerji absorpsiyonu ile bu elektronların salınma yönleri değiştirilebilir hatta eşleşerek aynı orbitalde de salınabilirler. İşte oksijenin dışardan enerji alarak uyarılmış bu formuna singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) denir. Ortaklanmamış bir elektron içermediği için radikal değildir. Ortaklanmamış elektronları paralel salınımlı olduğundan oksijendeki reaktivite kısıtlaması singlet oksijende yoktur ve oldukça reaktif bir oksijen bileşimidir. Singlet oksijenin delta ve sigma diye iki tipi vardır. Singlet oksijenin üretimi ortamda süperoksit ve hidrojen peroksit bulunmasına bağlıdır.^{58,59,62}

Hidroperoksit radikali (HO_2): Süperoksit radikalinin protonlanmasıyla oluşur. Süperoksitten daha reaktiftir. Biyolojik membranları kolay geçebilmesi ve yağ asitleriyle direkt etkileşime girebilmesi nedeniyle lipid peroksidasyonuna neden olabilir.^{61,62,72}

Hipokloröz asit (HOCl): Miyeloperoksidaz enzimi tarafından H_2O_2 ve Cl^- iyonunun oksidasyonu sonucu üretilir. Dokularda hasar oluşturan güçlü bir oksidandır.^{73,74}

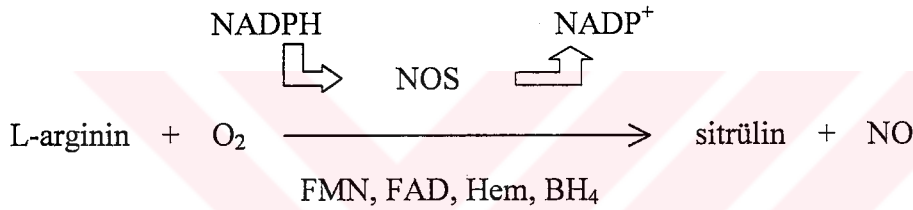


HOCl 'den demire bağlı olan veya bağımlı olmayan reaksiyonlar sonucu $\cdot\text{OH}$ radikali oluşabilir.

Nitrik Oksit (NO): Son derece toksik ve renksiz bir gaz olan NO , yapısı itibariyle bir serbest radikal olduğundan yarı ömrü çok kısadır. NO lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir ve suda erir. NO elektriksel olarak yüksüz olduğundan, reseptöre bağımlı olmayan yollarla kolayca membranlardan diffüze olabilir. Tüm bu özellikleri NO 'e ideal bir haberci molekül özelliği kazandırmaktadır. Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda

toksik değildir ve çok önemli fizyolojik işlevleri gerçekleştirir. Suda az çözünmesine rağmen etki gösterdikten sonra oksijen ve su tarafından nitrat ve nitrite dönüştürülür. ⁷⁵⁻⁷⁷

NO bir amino asit olan L-argininin guanido nitrojen atomundan, sitokrom P-450 redüktaz homologu olan ve nitrik oksit sentaz (NOS) olarak adlandırılan enzim aracılığı ile sentezlenir. Nitrik oksit sentazın üç izoformu tanımlanmıştır; endotelial NOS (eNOS), nöronal NOS (nNOS) ve uyarılabilir (inducible) NOS (iNOS). eNOS ve nNOS genellikle yapısal NOS olarak adlandırılırlar. NOS için substratlar arginin, O₂ ve NADPH'dır. FMN, FAD, hem ve tetrahidrobiopterin (BH₄) enzimin koenzimleri ve NO ile sitrülün de reaksiyonun ürünleridir. NO damar endoteli dışında trombosit, nötrofil, makrofaj, nöron, beyin, akciğer, adrenal bez, renal epitel hücreleri, mast hücreleri, karaciğer ve kupffer hücrelerinde de sentezlenebilmektedir. ^{77,78}



Şekil 2. Nitrik Oksit sentezi

NO'nin karakterize edilmiş en önemli hedef molekülleri; demir, kükürt ve oksijen türevi yapılarıdır. NO'nun süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucu, güçlü ve toksik oksidan olan peroksinitrit radikali (ONOO⁻) oluşur. Peroksinitrit radikalının yıkım ürünü olan peroksinitröz asit (ONOOH)'ten nitrojen dioksit ve hidroksil radikali oluşabilir. Peroksinitrit ve yıkım ürünleri organizmada başlangıç maddesi olarak lipid peroksidasyonuna, enzim aktivitelerinin azalmasına, arteriosklerozis gelişmesine, Na kanal inaktivasyonuna ve geçiş metalleri ile etkileşimlere neden olurlar. ^{75,76,78-84}

NO böbreklerde, renal veya glomeruler hemodinamiğin kontrolünde, tübüloglomeruler feedback, renin salgılanması, sodyum ve su atılımında rol oynamaktadır. ⁸⁵ NO normal koşullarda eNOS ve nNOS tarafından sentezlenir ve mikrosirkülasyonun düzenlenmesinde, trombosit adhezyonunun inhibisyonunda önemli rol oynar. eNOS; intrarenal arteriollerde, glomeruler kapillerlerde, afferent ve efferent arteriollerde, vaza rektada, glomeruler endotelial hücrelerde ve kortikal damar endotelinde bulunmaktadır. nNOS; perivasküler konnektif doku sinir liflerinde, makula densada, kortikal toplayıcı kanallarda, henle kulpunun inen ince

kısmında bulunmaktadır. iNOS; medullar henle kulpunun çıkan kalın kısmında, glomerulusta, proksimal tübülün S3 segmentinde, kortikal toplayıcı kanallarda ve inflamasyonla ilişkili böbrek hastalıklarında, mezengial hücrelerde, papillar interstisyel hücrelerde, glomerulusta ve infiltrasyon hücrelerinde bulunmaktadır. Akut böbrek yetmezliğinde NO üretimindeki değişikliklerin renal hasarı arttırabileceği rapor edilmektedir.⁸⁶

NO hemoglobin yapısında bulunan hem grubundaki demir ve protein kısmının beta zincirindeki thiol grubu olan 93. pozisyondaki sisteine bağlanır.⁸⁷⁻⁹⁰ NO'in hemoglobin tarafından süpürülmesi vazokonstriksiyon ile sonuçlanmaktadır.⁹¹ Ayrıca NO miyoglobin yapısında bulunan hem grubundaki demir ve protein yapısında olan 110. pozisyondaki sisteine bağlanmakta ve miyoglobinin de NO süpürücü etkisi bulunmaktadır.^{92,93}

2.3.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları

Serbest oksijen radikalleri; hem çevresel etkenler hem de organizmadaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan radikallerdir. Diğer radikaller bunun oluşumunu takip ederek bir seri zincirleme tepkimeler sonucu ortaya çıkarlar. Çeşitli eksojen ve endojen kaynaklar organizmada SOR'ni indükleyebilir. Eksojen kaynaklar arasında çeşitli kimyasal bileşikler ve özellikle beta, gamma ve X ışınlarını kapsayan fiziksel etkenler bulunur. Endojen kaynaklar ise çok çeşitlidir ve bunların başında da mitokondriler gelir.^{58-61,64-66} Serbest oksijen radikallerini oluşturan çeşitli kaynaklar Tablo 3'te özetlenmiştir.

2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller ve özellikle oksijen türevi olanlar çok reaktif olduklarından dolayı, nükleik asitler, serbest amino asitler, proteinler, lipidler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu makromolekülleri de dahil olmak üzere, canlı organizmaların yapısındaki hemen hemen tüm biyomoleküllerle reaksiyona girerek bunlar üzerinde geriye dönüşlü veya dönüşsüz etkiler meydana getirebilmektedirler.⁵⁹⁻⁶⁶

Tablo 3. Serbest oksijen radikallerini oluşturan çeşitli kaynaklar ⁵⁹

Eksojen Kaynaklar	Endojen Kaynaklar
Kimyasal Toksik maddeler Hava kirleticiler	Mitokondriler Plazma membranı Peroksizomlar
Fiziksel Beta, Gamma, X ışınları Yüksek enerjili radyasyon	Oksidazlar Flavoproteinler Endoplazmik retikulum Sitokrom b-5 Sitokrom p-450 Enzim ve proteinler Hemoglobin Ksantinoksidazlar
	Diğerleri Metaller Epinefrin Antibiyotikler v.s.

Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri

DNA serbest radikaller için önemli bir hedefdir. Singlet oksijen ve özellikle hidroksil radikali, deoksiriboz ve özellikle bazlarla reaksiyona girerek; tek ve çift zincir kırılmalarına, baz dizilim değişikliklerine ve baz eksilmelerine sebep olabilir. Hidroksil radikali nükleik asitlerdeki doymuş karbon atomlarından hidrojen atomu çıkarılması veya çift bağlara katılma tepkimeleri ile sonuçlanan süreçlerde rol alır. Bu olayların sonucunda, mutagenез, karsinogenез ve hücre ölümü oluşabilir. Çeşitli kaynaklardan üretilen (özellikle nötrofil kaynaklı) hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçerek hücre çekirdeğine ulaşabilir ve ortamdaki metal iyonları ile etkileşerek (Fenton reaksiyonu), hidroksil radikali oluşabilir. Oluşan hidroksil radikali ise DNA'yı hasarlandırabilir. ^{61,64,66,94,95}

Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

SOR'nin karbonhidratlar üzerine polisakkarit depolimerizasyonu ve özellikle de

monosakkarit otooksidasyonu gibi etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu, peroksitler ve okzaldehitler meydana gelir. Bunlar sigara içimi ve diyabetin neden olduğu patolojik durumlarda önemli rol oynarlar. Okzaldehitler karbonhidratların DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliği kazanmasını sağlarlar. Örneğin diyabette katarakt ve mikroanjyopati gelişmesinden kanda miktarı artan ve redükten özellikte olan glikozun otooksidasyona uğraması sorumlu tutulmaktadır.^{61,62,64}

Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri

Lipid peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır. Bilindiği gibi hücre membranı ve diğer membranöz yapılarda önemli miktarlarda lipid bulunur. Dış etkilere direkt maruz kalabildiği için, özellikle hücre membranlarının yapısında bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları (çift bağ) ile serbest radikaller kolayca reaksiyona girerek, bunların peroksidasyon ürünleri oluşur. Bu kimyasal olay organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalın zar yapısındaki çok doymamış yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu serbest radikalın süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte, lipid peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili radikalın hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Bu radikal süperoksit radikalinden veya H_2O_2 'ten demirin kataliz etkisi altında oluşmaktadır. Bu dönüşümler Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile olmaktadır.^{63,64}

Serbest radikal etkisi ile yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Böylece oluşan lipid radikali (L) dayanıksız bir bileşik olup, bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle, molekül içi çift bağ aktarılması (rezonans) ile dien konjugatları oluşmaktadır. Daha sonra, lipid radikalın moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu lipid peroksit radikali (LOO \cdot) meydana gelmektedir. Bu lipid peroksit radikalleri de zar yapısındaki çok doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşmektedir. Böylece reaksiyonun otokatalitik bir biçimde yürümesi sağlanmaktadır.

Lipid peroksidasyonu lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil dönüşmesi ile sona ermektedir. Bu bileşiklerden biri olan malondialdehit (MDA) miktarı, tiyobarbitürik asit testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanısıra peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de in vivo lipid peroksitlerinin düzeyini yansıtmaları açısından giderek önem kazanmaktadır. Lipid hidroperoksitlerin parçalanması ile oluşan etan, bütan ve pentan gibi gazların tayini de son yıllarda lipid peroksidasyon göstergesi olarak kullanılmaktadır.

Lipid peroksidasyonunun; zar lipid yapısındaki değişiklikler nedeniyle zar işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir.⁶³

Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri amino asit içeriklerinin özelliklerine ve kompozisyonuna bağlıdır. Hidroksil ve sülfür (S-H) içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan; fenilalanin, triptofan, tirozin, metiyonin, sistein, histidin gibi amino asitleri fazla miktarda içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etkileşim sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir ve proteinler üç boyutlu yapıları bozulduğundan normal fonksiyonlarını göremeyebilirler. Yapısında S-H içeren amino asitleri bulduran enzimlerin serbest radikallerin bu grupları oksitlemeleriyle inaktive edildikleri bildirilmiştir.^{62,64,67,96}

Eğer bir hücre ortamında radikal birikimi varsa ve serbest radikaller, özel proteinlerin spesifik bölgelerini etkileyebilmişlerse o zaman ilgili hücrenin canlılığı önemli ölçüde etkilenir. Hem içeren proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenebilir ve fonksiyonlarını kaybedebilirler. Süperoksit ve hidrojen peroksidin oksihemoglobini etkileyerek (Fe^{+2} ,yi Fe^{+3} ,e oksitleyerek oksijen bağlanmasını engeller) methemoglobine dönüştürmesi buna iyi bir örnektir.⁶⁴

2.3.3. Serbest Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları

Oksijenli yaşamla birlikte aerobik organizmalar oksijen kaynaklı radikalleri oluşturmaya başlamışlardır. Bununla eş zamanlı olarak, serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Serbest radikaller ve antioksidanların düzeyleri arasında hassas denge korunamadığı takdirde hücre hasarına kadar giden bir çok patolojik değişiklikler ortaya çıkmaktadır.^{97,98}

Antioksidanlar hedef moleküllerde (lipid, protein, nükleik asitler, karbonhidratlar) oksidan hasarı engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bu tanımla bağlantılı olarak antioksidanların etkileri farklı şekilde olabilmektedir.^{64,97} Antioksidan sistemin başlıca elemanları Tablo 4'te verilmiştir. Başlıca antioksidan etki şekilleri şunlardır:

- 1) Reaktif oksijen türlerinin enzimsel reaksiyonlar aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesi (toplayıcı=süpürücü=scavenging etki),
- 2) Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi (bastırıcı=quencher etki),
- 3) Metal iyonlarının bağlanması ve böylece radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi (zincir kırıcı=chain breaking etki),
- 4) Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi (onarıcı=repair etki).

Araştırmamızda, vücudun enzimatik en önemli koruyucu sistemleri olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve GPx enzim aktiviteleri incelendiğinden dolayı bu üç enzim ve melatonin hakkında detaylı bilgi verilmesi uygun olacaktır.

Süperoksit Dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1)

SOD enzimi; ilk kez 1969 yılında McCord ve Fridowich tarafından süperoksit radikalinin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir metaloenzim olarak tanımlandı.⁹⁹

Tablo 4. Antioksidan sistemin başlıca elemanları. ^{97,98}

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

Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimi ile gerçekleşir. SOD süperoksit radikalini metabolize ederek, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürür.



Bilindiği gibi süperoksit radikalleri spontan (nonenzimatik) dismutasyona uğrayabilirler. Enzimatik dismutasyonun spontan dismutasyona göre 10^{10} kez daha hızlı olduğu bildirilmektedir. ¹⁰⁰

SOD miktarı ve aktivitesi dokuların PO_2 'si arttıkça artmakta azaldıkça azalmaktadır. Enzimin fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksidin zararlı etkilerine karşı korumaktır. ^{61,64}

Mikroorganizmalardan en yüksek yapıları organizmalara kadar, aerobik koşullarda yaşayan canlıların tüm hücre ve hücresel elemanları SOD içerir. Kofaktör olarak içerdikleri metal iyonlarına göre; bakır ve çinko içeren SOD (Cu-Zn SOD), Mangan içeren SOD (Mn-SOD), Demir içeren SOD (Fe-SOD), Nikel içeren SOD (Ni-SOD) ve ekstrasellüler SOD (EC-SOD) tipleri vardır. İnsanda Cu-Zn SOD, Mn-SOD ve EC-SOD izomerleri bulunur. Fe-SOD ve Ni-SOD izomerleri ökaryotik hücrelerde bulunmaz. ^{60,69,101}

Cu-Zn SOD: Ökaryotik hücrelerin sitozol, nükleer membran ve mitokondrilerin membranlar arası bölgesinde tespit edilmiştir. Prokaryotlarda çok nadir bulunur. Enzim

aktivitesi için Cu^{+2} zorunlu iken, enzim stabilitesini sağlamaya yarayan Zn^{+2} 'nin yerine Hg^{+2} , Cd^{+2} , Co^{+2} 'den her hangi biri geçebilir. Hücrede en fazla bulunan ve SOD izomerleri arasında en yüksek katalitik etkiyi gösteren bu izomerin aktivitesi pH 5.5 ile 10 arasında stabildir. H_2O_2 ve siyanid tarafından inhibisyona uğrar. Eritrositlerde de bulunan bu enzim, eritrosidi hemolizden, membran lipidlerini peroksidasyondan ve hemoglobini ise methemoglobine oksidasyondan korur.¹⁰⁰

Mn-SOD: İlk defa E. coli sitozolünde izole edilen bu enzimin etki mekanizması Cu-Zn SOD ile aynıdır. Aynı tepkimeyi katalizlemeleri dışında Mn-SOD ile Cu-Zn SOD arasında hiçbir ortak yapısal özellik yoktur. Mn-SOD, H_2O_2 ve siyanidden etkilenmez.¹⁰⁰

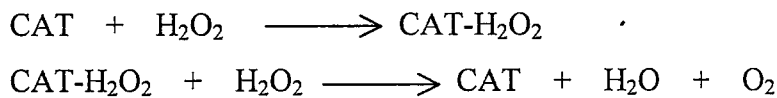
EC-SOD: Ekstrasellüler sıvıda bulunan ve sitozolik Cu-Zn SOD ile benzerlik gösteren bir glikoproteindir. Muhtemelen hücre yüzeyinden salınan süperoksit radikalini süpürücü etkisi vardır. Bu fonksiyonu ile süperoksit ve NO reaksiyonunu engelleyerek peroksinitrit oluşumunu azaltabilir.¹⁰¹

Katalaz (CAT: EC 1.11.1.6)

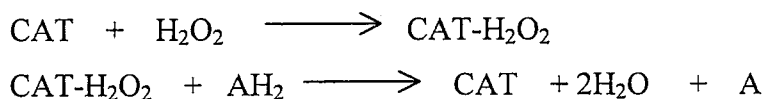
Katalaz enzimi yapısında dört adet hem grubu içeren alt ünitelerden oluşmuş kompleks bir hemoproteindir. Katalaz sitokrom sistemi içeren tüm aerobik hücrelerde bulunur. Enzim esas olarak peroksizomlarda lokalize olmak üzere endoplazmik retikulum ve sitozolde yoğunur. Aktivitesi karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde yüksektir.^{61,101}

Katalazın temel fonksiyonu H_2O_2 'in enzimatik parçalanması (katalitik aktivite) olduğu halde, düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında metil veya hidroperoksitler, metanol, etanol, fenol gibi küçük moleküllü elektron vericilerini indirgeyebilir (peroksidatik aktivite). Buna karşın lipid hidroperoksitleri ($\text{ROOH}=\text{LOOH}$) gibi büyük moleküllere etkili değildir.

a) Katalitik aktivite:



b) Peroksidatik aktivite:



Reaksiyonlarda da görüldüğü gibi her katalitik reaksiyon için iki H₂O₂ molekülü gerekirken, peroksidatik aktivite için bir H₂O₂ molekülü yeterlidir. Enzimin bu iki tür aktiviteden hangisini göstereceği, başta H₂O₂ üretim hızı olmak üzere oluşan biyomoleküllerin tür ve miktarlarına yani, hücrenin metabolik durumuna bağlıdır. Hücre içi H₂O₂ düzeyi arttıkça, katalazın aktivitesinin glutatyon peroksidaz aktivitesine göre relatif olarak biraz daha fazla arttığını bildiren yayınlar vardır. Asit, siyanür, 3-amino-1,2,4 triazol, indirgenmiş glutatyon ve süperoksit radikallerinin katalazı inhibe ettiği bildirilmiştir.¹⁰⁰⁻¹⁰²

Glutatyon Peroksidaz (GPx: EC.1.11.1.9)

Hücre sitozolünde ve mitokondri matriksinde bulunan ve sitotoksik hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu, tetramerik yapıda ve her bir monomeri birer adet olmak üzere 4 selenyum atomu içermektedir. Bu enzim aşağıdaki reaksiyonları katalizler:



GPx aynı koşullarda hem H₂O₂'i hem de organik peroksitleri (kümene hidroperoksit, etil hidroperoksit, tert-bütildidroperoksit, linoleik asit hidroperoksit ve nükleotid veya steroid hidroperoksitler) sübstrat olarak kullanabilir.

Son yıllarda üç farklı tipte selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz enzimi daha bulunduğu bildirilmektedir. İkinci enzim, plazmada bulunan glutatyon peroksidaz (PL-GPx) enzimidir. İnsanlarda PL-GPx monomerik yapıda bir selenoglikoproteindir. Bu enzimin böbreklerde sentezlenerek plazmaya geçtiği ileri sürülmektedir. Son zamanlarda insan sütünde de PL-GPx aktivitesine benzer aktivite görüldüğü bildirilmektedir.

Memelilerde saptanan ve aynı fonksiyonu gören üçüncü bir selenoenzim de, "fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz" (PH-GPx)'dir. PH-GPx monomerik yapıda ve aktif bölgesinde bir selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Membran yapısındaki fosfolipid hidroperoksitlerini (PLOOH) alkollere indirger. Membrana bağlı en önemli antioksidan olan E vitamini yetersiz olduğu zaman, membran fosfolipidlerinin peroksidasyonuna karşı en önemli koruyucusu PH-GPx'dir.

Selenyum bağımlı glutatyon peroksidin dördüncü formu olan gastrointestinal glutatyon peroksidaz (GI-GPx); tetramerik yapıda sitozolik bir enzimdir. GI-GPx H₂O₂ ve LOOH indirger, ancak fosfatidilkolin hidroperokside etki göstermez. İnsanlarda GI-GPx karaciğer ve kolonda tespit edilmiştir. Rodentlerde sadece gastrointestinal sistemde bulunmuştur. GI-GPx'in gastrointestinal sistemde gıdalardan kaynaklanan LOOH'lerin toksisitesine karşı büyük koruyucu rol oynadığı ileri sürülmektedir.

GPx'in etkinliğinin devam edebilmesi için okside glutatyonun (GSSG) tekrar redükte glutatyon (GSH)'a dönüşmesi gerekir. Bu işlem NADPH bağımlı ve FAD içeren bir flavoprotein olan glutatyon redüktaz enzimi tarafından katalizlenir.^{100,103}

2.4. MELATONİN

Üç yüz yıl önce Fransız düşünür Rene Descartes Pineal bezi "ruhun tahtı" olarak tanımlamıştı. Ancak pineal bezin salgıladığı ana maddenin melatonin ya da diğer adıyla N-asetil-5-metoksitriptamin olduğu ilk kez 1950'li yılların sonlarına doğru sığır pineal ekstrelerinde melanin granüllerini agrege etme ve kurbağa derisinin rengini açma yeteneği fark edilerek tanımlanmıştı.¹⁰⁴⁻¹⁰⁶

Günümüzde melatonin sirkadiyan ritimler, uyku, seksüel davranışlar, mevsimsel üreme fizyolojisi ve davranışları, tümör gelişmesi, immünojenik fonksiyonlar, yaşlanma ve antioksidan etki gibi birçok olayın güçlü bir biyolojik düzenleyicisi olarak bilinmektedir.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹

Memelilerde pineal bez elektriksel uyarıları hormonal uyarılara dönüştüren bir nöroendokrin transduser işlevi görür. Pineal bez posterior komissür ve daha dorsalde habenular komissür arasında 3. ventrikülün posterior duvarında asılı durumdadır. Arteriel beslenmesi posterior sirkülasyondan posterior koroideal arterin medial dalları aracılığıyla, venöz drenajı ise internal serebral venlerle olmaktadır. Pineal bezde diğer sirkumventrikuler organlarda olduğu gibi kan beyin bariyeri bulunmamaktadır. Bu özellikli durumu bez sekresyonlarının direkt beyin omurilik sıvısına veya kana karışmasını sağlar.¹¹⁰

İnsan pineal bezinin ortalama ağırlığı 130-140 mg'dır. Pineal kan akımı endokrin organlar içinde böbreklerden sonra ikinci sırada gelmektedir ve 4 ml/gr/dk olarak ölçülmüştür. Sıçanlarda ağırlığı 0.9-1.56 mg arasında değişir. Pineal bez çoğunlukla piamater ile çevrilidir; kan damarları, miyelinsiz sinir lifleri ve bağ dokusu septaları pial tabakadan

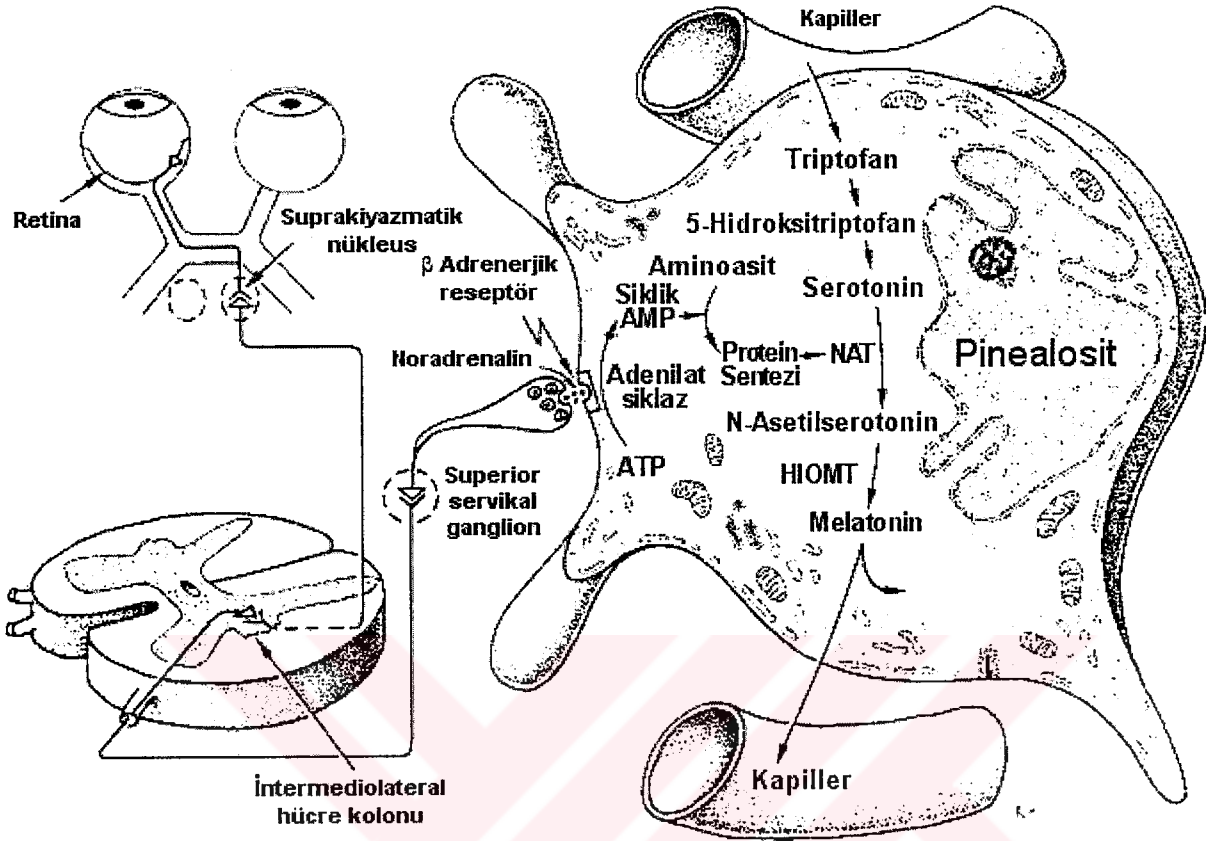
beze penetre olurlar ve lobüllere girerler. Pineal bezde parankim içinde yer alan hücrelerin % 95'ini pinealositler oluşturur. Bir diğer hücre grubu astrosit benzeri hücreler veya nöroglial hücrelerdir. Ayrıca plazma hücreleri, fibrositler, mast hücreleri, lenfositler ve düz kas fibrilleri de bildirilmiştir. ^{108,110-113}

2.4.1. Melatonin Sekresyonu

Melatonin veya N-asetil-5-metoksitriptamin 232 molekül ağırlıklı bir indolamindir. Retinadan algılanan görsel bilgiler hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeği ve sempatik sinir sistemi yoluyla pineal bezde yansıtılır. Beze sinirsel girdi norepinefrin ve çıktı da melatonin aracılığıyla olur. Melatonin yapılması ve salınması karanlık tarafından uyarılır ve ışık ile baskılanır. Gün ışığının bulunduğu saatler içinde retina fotoreseptör hücreleri hiperpolarizedirler, bu da norepinefrin salınmasını baskılar. Retinohipotalamik sistem sessizdir ve çok az melatonin salgılanır. Karanlığın başlaması ile fotoreseptör norepinefrin salgılar ve bu da sistemi harekete geçirir, bezin içindeki α_1 ve β_1 adrenerjik reseptör sayısı artar. ^{104,107-111}

Melatonin biyosentezinde başlangıç maddesi pineal bez tarafından aktif transportla plazmadan alınan ve bir indol amino asit olan triptofandır. Triptofan esansiyel bir amino asit olup dışardan alınması gerekir. Triptofan pinealositlerde triptofan hidroksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptofana hidroksillenir. 5-hidroksitriptofan aromatik-L-amino asit dekarboksilaz ile 5-hidroksitriptamine (serotonin) dekarboksillenir. Serotonin N-asetiltransferaz (NAT) enzimi ile N-asetilserotonine ve bu da hidroksiindol-o-metil transferaz (HIOMT) etkisi ile melatonine (N-asetil-5-metoksitriptamin) dönüşür (Şekil 3). Melatonin pineal bezde depolanmadan hızlı bir şekilde pasif difüzyonla dolaşıma geçer. Lipofilik özelliğinden dolayı tüm biyolojik doku ve sıvılara dağılır. Plazmada yaklaşık % 70'i albumine bağlı olarak taşınır. ^{104,107-115}

İnsanlarda melatonin salgısı genellikle akşam 21:00-22:00 saatlerinde başlar, gecenin ortasında (02:00-04:00 arasında) doruk yapar ve saat 07:00-09:00 arasında giderek azalır. Serum melatonin konsantrasyonları yaşa göre büyük değişiklik gösterir. Üç aylıktan daha küçük olan bebekler çok az melatonin salgılar. Daha büyük bebeklerde melatonin salgısı artar ve sirkadiyen doğasını kazanır, gece doruk yoğunlukları en yüksek seviyesine bir ile üç yaş arasında ulaşır ve giderek azalır. ^{104,107-109,115}



Şekil 3. Gözlerle pineal bez arasındaki sinirsel bağlantılar ve pineal bezde melatonin biyosentezi ¹¹⁵

Melatonin büyük ölçüde karaciğerde olmak üzere, böbrekte de metabolize edilir. Karaciğerde hızla 6-hidroksimelatonine metabolize olur ve sulfirik ya da glukuronik asitle konjuge olduktan sonra idrarla atılır. Melatoninin idrardaki başlıca metaboliti 6-sulfatoksimeletonindir ve serum melatonin konsantrasyonu ile yakın ilişkilidir. ^{104-106,109,112}

Endojen melatoninin büyük oranda pineal bezde yapıldığı ve yapımından sorumlu tek organ olduğu bilinmekle beraber son yıllarda özellikle diffüz nöroendokrin sistemin bir parçası olarak kabul edilen APUD (amine precursor uptake deamin) hücreleri, mide-barsak mukozası, havayolu epiteli, karaciğer, böbrek, adrenal bez, tiroid, pankreas, ovaryum, plasenta ve endometriumda önemli miktarlarda melatonin bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca timus, karotid cisimciği, serebellum, retina, harderian bezi, mast hücreleri, naturel killer hücreleri, eosinofilik lökositler, trombositler ve endotelial hücrelerde de melatonin üretilir. ^{104,116-118}

2.4.2.Melatoninin Etki Mekanizması

Melatoninin Melatonin 1 (Mel 1) ve Melatonin 2 (Mel 2) olarak bilinen iki tip reseptörü tanımlanmıştır. Mel 1 yüksek affiniteli (pikomolar konsantrasyonlarda) bağlanma yeri olup a, b ve c tipleri gösterilmiştir. Mel 2 ise düşük affiniteli (nanomolar konsantrasyonlarda) bağlanma yerleri olarak tanımlanmıştır. Mel 1 reseptörlerinin aktivasyonu G₁ proteinleri aracılığı ile adenilat siklaz inhibisyonu sonucu 3', 5'-cAMP düzeyinde düşmeye neden olur. Mel 1 reseptörleri renal fonksiyon, uyku, sirkadiyan ritim, üreme ve serebral arter kontraktilesinden sorumludur. Ayrıca bu reseptörler memeli retinasında Ca⁺² bağlı dopamin salıverilmesi ve retinal fotopigment disklerinin fagositozu gibi ışığa bağımlı olaylarda rol oynar. ^{104,105,107,119}

Düşük Mel 2 reseptörlerinin G proteinleri ile kenetli olduğu ve sinyal iletiminde Mel 1 reseptörlerine benzer davranışta bulunduğu ileri sürülmektedir. Ancak Mel 1'den farklı olarak Mel 2 reseptörlerinin aktivasyonunun fosfoinozimid (PI) hidrolizi ile kenetli olduğu ve selektif Mel 2 antagonisti uygulananın bu hidrolizi geri çevirdiği belirtilmiştir. Mel 2 reseptörlerinin fizyolojik önemi tam olarak açıklanmamıştır. ^{104,105,107,119}

G₁ proteinlerine bağlı Mel 1 reseptörleri başlıca serebellum ve hipokampus olmak üzere SCN (suprakiazmatik nukleus), hipotalamus, talamus, preoptik alan, retinanın pleksiform tabakası ve serebral korteksin pek çok bölgesinde nöronal yerleşim göstermektedir. Nöronal olmayan Mel 1 reseptörleri serebral ve kaudal arterlerde, hipofizeal pars tuberaliste, over, böbrek ve ince barsaklarda bulunmuştur. Buna karşın Mel 2 reseptörlerinin memeli hücrelerinde spesifik dağılımı henüz iyi açıklanmamıştır. ^{104,105,107,119,120}

Melatonin reseptörleri genel olarak membran üzerinde bulunduğundan hücre içindeki etkilerine ikinci ulaklar aracılık etmektedir. Pek çok dokuda melatoninin cAMP düzeylerini azalttığı bildirilmiştir. Melatonin etkilerine aracılık eden ikinci ulaklar Ca⁺², cGMP, diaçilgliserol, protein kinaz C ve araşidonik asit olarak belirlenmiştir. Melatonin aynı zamanda intrasellüler yerlerde de etki gösterebilir. Sitozolik kalmoduline bağlanarak hormon adenilat siklaz, fosfodiesteraz gibi hedef enzimlerle olduğu kadar yapısal proteinlerle de etkileşerek doğrudan kalsiyum uyarısı üzerinde etki gösterebilir. Ayrıca melatonin nükleer retinoid Z reseptörleri ailesinden iki öksüz (orphan) reseptör (alfa ve beta) için bir ligand olarak tanımlanmıştır. ^{104,105,107,112,119,120}

2.4.3. Melatoninin Etkileri

Melatonin tarafından etkilenebilecek biyolojik işlevler ve etkileri Tablo 5'te gösterilmiştir.

Melatoninin oksidatif stresle bağlantılı olarak hem direkt radikal yakalayıcı hem de indirekt olarak etkili bir antioksidan madde olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Endojen olarak üretilen melatoninin vücut içindeki metabolik yolları tanımlanmış olup metabolitlerinin hiçbirinin potansiyel prooksidan özelliğinin olmadığı bildirilmektedir.

Tablo 5. Melatonin tarafından etkilenebilecek biyolojik işlevler ve etkileri ¹⁰⁴

İŞLEV	ETKİ
Uyku	Hipnotik etki ve uykuya eğilimin artması
Sirkadiyan ritim	Sirkadiyan ritimlerin kontrolü ve aydınlık karanlık döngüsünün düzenlenmesi
Duygu durumu	Döngüsel duygu durum hastalıkları (mevsimsel afektif bozukluklar, depresyon) üzerindeki olası etkileri
Cinsel olgunlaşma ve üreme	Üreme sürecinin baskılanması
Kanser	Antiproliferatif etkiler
İmmün yanıt	Artmış immün yanıt
Yaşlanma	Olası koruyucu etkiler ve azalmış hücre hasarı
Nörolojik hastalıklar	Özellikle Parkinson ve Alzheimer gibi hastalıkların patogenezisinde koruyucu rol oynamaktadır.
İnflamasyon	Antiinflamatuvar etki gösterir.

Melatoninin serbest radikal giderici olarak en önemli avantajlarından birisi ileri derecede lipofilik ve hızla diffuze olma yeteneğidir. Lipofilik olması sayesinde bilinen her yol ile uygulanabilen bir hormon olan melatonin hızla absorbe olarak etkisini gösterir. Melatonin serbest radikal giderici etkileri için herhangi bir bağlanma bölgesine, reseptöre, membrana veya başka bir aracıya gerek duymaz. ¹²¹⁻¹²⁶ Melatoninin direkt serbest radikal süpürücü etkisi 1993 yılında Tan ve ark. ¹²⁷ tarafından tespit edilmiştir. Daha sonra yapılan bir çok yayınla bu etkisi doğrulanmıştır. ^{122,125} Melatonin serbest radikal süpürücü olarak bazı önemli avantajlar gösterir. Bunlar:

1. Hem lipofilik hem de hidrofilik olması nedeniyle kan beyin bariyeri ve plasenta dahil tüm biyolojik bariyerleri kolaylıkla geçer. Tüm organ ve dokularda mevcuttur, özellikle hücre çekirdeğinde olmak üzere yüksek düzeyde tüm hücre kompartımanlarına yaygın olarak dağılır. Melatonin bu özellikleri ile hücreyi kısa yarı ömürlü serbest radikallere karşı korur. ^{121,122,125,126}
2. Melatonin güçlü bir koruyucu moleküldür, olasılıkla organizmanın oksijenden zengin atmosfere uyum sağlamasında rol oynar. Melatonin bakteri, protista, bitki ve vertebrallılar da dahil hemen hemen tüm organizmalarda bulunmaktadır. ^{121,128,129}
3. Melatonin endojen olarak üretilir ve besinlerle de alınır. ¹²¹
4. Melatoninin zengin elektron yapısı farklı serbest radikallerle yüksek oranda süpürücü etki göstermesini sağlar. Melatoninin süpürücü etkisi H₂O₂, OH, NO, ONOO, HOCl, singlet oksijen ve tartışılmasına rağmen peroksil radikali üzerinde olduğu farklı çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çok yönlü süpürücü etki tüm hücre içi kompartımanlarda melatoninin oksidatif hasarı azalttığını doğrulamaktadır. Melatoninin süperoksit radikalini süpürücü etkisinin çok zayıf olduğu bildirilmektedir. ^{121-126,130,131}
5. Melatonin yaşlanmayla birlikte yapımı azalan endojen bir maddedir. Bazı çalışmalarda yaşlı ratlara melatonin verilmesinin yaşlılık sürecini geciktirdiği belirtilmektedir. ^{121,131}
6. Vertebrallılarda fizyolojik koşullarda doku melatonin konsantrasyonu, glutatyon ve C vitamini gibi diğer antioksidanların düzeylerinden çok daha düşük seviyelerde olabileceği ifade edilmektedir. Melatonin böyle düşük konsantrasyonlarda antioksidan defans sisteminin bir üyesi olarak önemli bir rol oynayabilir. Bu durum şöyle açıklanabilir: Birincisi, melatoninin süpürücü etkisi mol miktarına bağlı değildir. Bir melatonin molekülü 2 OH radikali süpürür ve ayrıca melatoninin reaksiyon ürünleri; N-acetyl-N-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK), N-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK) ve 6-hydroxymelatonin (6-OHM) gibi melatoninin reaksiyon ürünleri de serbest radikaller üzerinde süpürücü etki gösterir. Bu yüzden melatoninin antioksidan aktivitesi bir kaskat reaksiyon olarak düşünülebilir. İkincisi, plazma melatonin düzeyi daima doku düzeyleri ile orantılı değildir. Melatoninin farklı hayvan türlerinde karaciğer, beyin, kemik iliği, safra ve beyin omurilik sıvısında gün içi plazma melatonin düzeyinden daha yüksek olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Ayrıca melatoninin fizyolojik düzeylerde insan plazma antioksidan kapasitesine önemli katkıda bulunduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. ^{121,122,126}

Melatoninin direkt süperoksit anyon radikalini süpürücü etkisi azdır. Bununla birlikte,

melatoninin intrasellüler süperoksit radikalini konsantrasyonunu azaltıcı etkisi vardır. Melatoninin prekürsörü olan serotonin süperoksit radikaline karşı bir miktar etkilidir. Melatonin hidroksil radikali gibi oldukça toksik serbest radikallere elektron verdiğinde oluşan indolil katyon radikali sekonder olarak süperoksit radikalini gidermektedir. Ayrıca melatonin süperoksit radikalini dismutasyonunda en önemli rolü oynayan SOD enziminin mRNA'sını arttırmaktadır.^{121,122,126,130}

Hidrojen peroksit hücrelerde CAT ve GPx enzimleriyle detoksifiye edilir. GPx aktivitesi melatonin ile uyarılmaktadır. Bu nedenle melatonin intrasellüler hidrojen peroksit seviyesini azaltmaktadır. İndirgenmiş glutatyon oksitlenerek okside glutatyona, bu da diğer bir antioksidan enzim olan glutatyon redüktaz (GR) ile tekrar indirgenmiş glutatyona dönüşür. GR aktivitesi de melatonin ile uyarılmaktadır. GR aktivitesinde bir kofaktör olarak görev yapan NADPH, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) etkisi ile oluşturulur. G6PD aktivitesi de melatonin ile uyarılmaktadır. Bu üç enzim direkt veya indirekt etkileri ile H₂O₂'in toksik olmayan metabolitlere çevrilmesinde rol oynarlar. Bazı çalışmalarda melatoninin H₂O₂'in uzaklaştırılmasında etkisi olan katalaz aktivitesini uyardığı ve melatonin reaksiyon ürünü olan AFMK'nın H₂O₂'i direkt süpürücü etki gösterdiği rapor edilmiştir.^{121,122,129}

Tan ve ark.¹²⁷ melatoninin en toksik oksijen türevi olan hidroksil radikalini nötralize etme gücünü araştırmışlardır. Bu çalışmada in vitro melatoninin etkisinin glutatyonun beş ve mannitolün onbeş katı olduğu bildirilmiştir. Melatonin elektrondan zengin bir molekül olması nedeniyle başlangıçta bir elektronunu 'OH radikaline vererek onu detoksifiye eder ve melatoninden bir elektron eksilmesi yüzünden melatonil radikal katyon oluşur. Bu nispeten stabil bir radikal olan süperoksit radikalini süpürür ve son ürün AFMK oluşur. Melatoninin siklik 3-hidroksimelatonin metaboliti ikinci bir 'OH radikali ile reaksiyona girerek süpürücü etki gösterir ve sonuç olarak bir melatonin molekülü 2 'OH radikalini süpürür.^{106,121,122,126,127,129,132}

Peroksil radikali lipid peroksidasyonun başlamasında rol oynadığından oldukça toksiktir. Melatoninin peroksil radikalini süpürücü etkisinin E vitamininden daha güçlü olduğu belirtilmektedir. Melatoninin lipid peroksidasyonu üzerine olan engelleyici etkisi peroksil radikalini süpürücü etkisinden kaynaklanmaktadır.^{106,122,133} Buna karşın Antunes ve ark. yaptığı bir çalışmada melatoninin peroksil radikaline karşı antioksidan etki göstermediği belirtilmektedir.¹³⁴

Melatoninin singlet oksijen radikalini iskemi-reperfüzyon hasarı süresince giderdiği Sewerynek ve ark. tarafından gösterilmiştir. Melatoninin direkt olarak singlet oksijen

radikalini nötralize ettiği rapor edilmiştir. ^{106,121,135}

Nitrik oksit sentaz enzimi tarafından üretilen nitrik oksit fazla miktarlarda üretildiğinde farklı hastalıkların fizyopatolojisinde sitotoksik bir faktör olarak rol oynar. Melatoninin direkt olarak nitrik oksidi süpürücü etkisi yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Nitrik oksit tek başına aşırı bir toksisiteye sahip değildir, fakat süperoksit radikali ile birleştiğinde makromoleküller için zararlı olan ONOO'a dönüşmektedir. Bu nedenle nitrik oksit sentaz enzimi prooksidatif bir enzim olarak kabul edilmektedir. Fizyolojik konsantrasyonlarda melatoninin serebellar ve hipotalamik NOS aktivitesini inhibe ettiği belirtilmiştir. Bu etkisini L-arginin ile aktive olan cGMP oluşumunu azaltarak yapmaktadır. Ayrıca melatonin kalmoduline bağlanarak NOS enziminin kalmodulin tarafından aktive olmasını engellemektedir. Melatonin ONOO ve peroksinitröz asit (ONOOH) ile reaksiyona girerek süpürücü etki gösterdiği rapor edilmiştir. ^{106,121,122,126,136-138}



3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanı

Ortalama 80-100 gram ağırlığında erkek Wistar albino sıçanlar, deneysel çalışmaya başlamadan 3 ay önce İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan alınarak Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'na getirildi. Çalışma için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan (Ek) onay alındı.

Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda sıçanlara standart sıçan yemi ve musluk suyu verildi ve laboratuvar koşullarına uyumları sağlandı. Sıçanlar 260-300 gram ağırlığında ve 4-4.5 aylık iken deneysel çalışmaya başlandı.

Çalışmamızda 50 tane erkek Wistar albino sıçan kullanıldı. Hayvanlar; grup 1'de 10, grup 2'de 11, grup 3'te 13 ve grup 4'te 16 sıçan olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı. Sıçanlar çalışmaya alınmadan önce serbest diyetle 16 saat susuz bırakıldı. İlk enjeksiyondan sonra serbest diyet ve su alımı sağlandı.

Grup 1'deki sıçanlara fizyolojik serum solüsyonundan 10 ml/kg'a göre bulunan toplam hacim, hayvanların her iki arka bacak kaslarına eşit miktarda intramüsküler (im) verildi; eş zamanlı olarak ve ayrıca 24 saat sonra da 1 ml fizyolojik serum intraperitoneal (ip) uygulandı. 24. saatteki ip fizyolojik serum enjeksiyonundan hemen sonra sıçanlar metabolik kafese alındı.

Grup 2'deki sıçanlara hipertonic (% 50) gliserol solüsyonundan 10 ml/kg vücut ağırlığına göre bulunan toplam hacim her iki arka bacak kaslarına eşit miktarda im verildi. Gliserol enjeksiyonuyla eş zamanlı olarak ve ayrıca 24 saat sonra vücut ağırlığının kg'ı başına 300 µl saf etanol olacak şekilde fizyolojik serum ile sulandırılıp 1 ml'ye tamamlanarak ip verildi. 24. saatteki ip enjeksiyondan hemen sonra sıçanlar metabolik kafese alındı.

Grup 3'teki sıçanlara hipertonic (% 50) gliserol solüsyonundan 10 ml/kg vücut

ağırlığına göre bulunan toplam hacim her iki arka bacak kaslarına eşit miktarda im verildi. Gliserol enjeksiyonuyla eş zamanlı olarak ve ayrıca 24 saat sonra 5 mg/kg dozunda melatonin, vücut ağırlığının kg'ı başına 300 µl saf etanolde çözüldü ve fizyolojik serum ile sulandırılıp 1 ml'ye tamamlanarak ip verildi. 24. saatteki ip enjeksiyondan hemen sonra sıçanlar metabolik kafese alındı.

Grup 4'teki sıçanlara hipertonic (% 50) gliserol solüsyonundan 10 ml/kg vücut ağırlığına göre bulunan toplam hacim her iki arka bacak kaslarına eşit miktarda im verildi. Gliserol enjeksiyonuyla eş zamanlı olarak ve ayrıca 24 saat sonra 10 mg/kg dozunda melatonin, vücut ağırlığının kg'ı başına 300 µl saf etanolde çözüldü ve fizyolojik serum ile sulandırılıp 1 ml'ye tamamlanarak ip verildi. 24. saatteki ip enjeksiyondan hemen sonra sıçanlar metabolik kafese alındı.

Metabolik kafese alınan sıçanların 24 saatlik idrarları toplandıktan sonra sıçanlar 10 mg/kg rompun ve 50 mg/kg ketamin anestezisi altında deney masasına alındı. Batın ön duvarı insizyonla açıldı. Diyafragmadan kalbe ulaşılarak ponksiyonla alınan kan örnekleri biyokimyasal incelemeler için heparinle yıkanmış tüplere alındı. Daha sonra her iki böbrek çıkarılarak buz kabı üzerine konuldu, böbrek kapsülü sıyrıldıktan sonra bistüri yardımıyla longitudinal kesiyle ikiye ayrıldı. Sağ böbreğin bir yarısı ışık mikroskopisi için % 10'luk formalin solüsyonuna alındı, diğer yarısı ve sol böbreğin her iki yarıları fizyolojik serumla yıkandıktan sonra alüminyum folyo içinde paketlenerek doku SOD, CAT, GPx ve MDA için -70 °C'de saklandı.

İdrar hacimleri ölçüldükten sonra kan ve idrar örnekleri soğutmalı santrifüjde +4 derecede, 3000 devirde 10 dakika süreyle santrifüj edilerek plazma ve idrar örnekleri ependorf tüplere alınarak -70 °C'de saklandı.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Spektrofotometre	: Spectronic Unicam Helios α, İngiltere
Hassas terazi	: Mettler Toledo, İsviçre
Soğutmalı santrifüj	: Heraus Biofuge 22R, Almanya
Santrifüj cihazı	: Runne Heidelberg, Almanya
Su banyosu	: Memmert, Almanya

Otomatik Pipetler	: Biohit Proline, Fillandiya
Vorteks	: Heidolp, Almanya
Derin Dondurucu	: Nuaire, İngiltere
pH metre	: İnoLab, Almanya
Manyetik karıştırıcı	: Kermanlar, Türkiye
Homojenizatör	: Heidolph, Almanya

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Gliserol	: Merck
NaOH	: Merck
Na-K tartarat	: Merck
Folin fenol reaktifi	: Merck
KH_2PO_4	: Merck
Na_2HPO_4	: Merck
EDTA	: Merck
H_2O_2	: Merck
NaN_3	: Merck
Tiyobarbitürik asit	: Merck
Piridin	: Merck
Sodyum dodesil sülfat	: Merck
Melatonin	: Sigma
Sitokrom C	: Sigma
Ksantin	: Sigma
Ksantin oksidaz	: Sigma
Glutasyon	: Sigma
Glutasyon redüktaz	: Sigma
NADPH	: Sigma
Bovin serum albumin	: Sigma
Bovin karaciğer SOD	: Sigma
$CuSO_4$: Panreac

Butanol	: Riedel de Haen
Na ₂ CO ₃	: Riedel de Haen
Etanol	: Riedel de Haen
Asetik asit	: Riedel de Haen

3.4. Biyokimyasal Çalışmalar

Plazma ve idrar örneklerinde; üre ve kreatinin ölçümleri otoanalizörde (MEGA 600, Merck, Almanya) Diasis (Almanya) marka kitlerle spektrofotometrik olarak, sodyum ve potasyum ölçümleri ise otoanalizörde (MEDİCA, Amerika) iyon selektif olarak yapıldı. İdrarda total protein ölçümü Diasis marka mikroprotein kitiyle Microtech 2000 (Hollanda) cihazında spektrofotometrik olarak yapıldı.

3.5. Histolojik Çalışmalar

Işık mikroskopisi için % 10'luk formalin solüsyonunda fikse edilen böbrek dokusu, otomatik doku takip cihazında (Leica TP 1050, Almanya) gün boyu doku takibine alındı. Daha sonra doku gömme cihazı ile (Leica EG 1160, Almanya) parafin blokları hazırlandı. Bu bloklardan rotary mikrotom ile (Shandon M1R, Fransa) 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Rutin Hematoksilen-Eosin (HE) boyası ile boyandı. Binoküler mikroskopta (Jenamed, Carl Zeiss Jena, Almanya) özel işaretli okülerle incelendi.

3.6. Böbrek Dokusu Homojenizasyonu

Böbrek dokusu -70 °C'den çıkarıldıktan sonra buzu çözülmeden kesilerek tartıldı. MDA için 0.15 M KCl solüsyonu; SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri için 50 mM Fosfat

tamponu (pH 7.4) ile % 10'luk (w:v) olacak şekilde hazırlandı. Homojenizatör ile buz içinde homojenize edildi. Hazırlanan homojenatlar 4000 rpm'de 10 dk +4 °C'de santrifüj edildi ve süpernatant ayrıldı. Ayrılan süpernatantlar spektrofotometrik MDA ve SOD, CAT, GPx enzim aktiviteleri ile protein ölçümlerinde kullanıldı.

3.7. Protein Miktar Tayini

Protein miktarı belirtimi Lowry metoduna göre yapıldı. Bu metod, proteinin yapısında bulunan tirozin ve triptofan amino asitlerinin fosfotungstat kompleksini molibden mavisine indirgemesi prensibine dayanır. Reaksiyon bakır (Cu^{2+}) ile belirginleştirilir. ¹³⁹

3.7.1. Çözeltiler

A Çözeltisi: % 2'lik Na_2CO_3 'ın 0.1 N NaOH'teki çözeltisi

B Çözeltisi: % 1'lik CuSO_4 çözeltisi

C Çözeltisi: % 2'lik Sodyum Potasyum tartarat çözeltisi

D Çözeltisi: 98 hacim A çözeltisi + 1 hacim B çözeltisi + 1 hacim C çözeltisi karışımı

E Çözeltisi: 1 hacim Folin Fenol belirteci + 1 hacim distile su karışımı

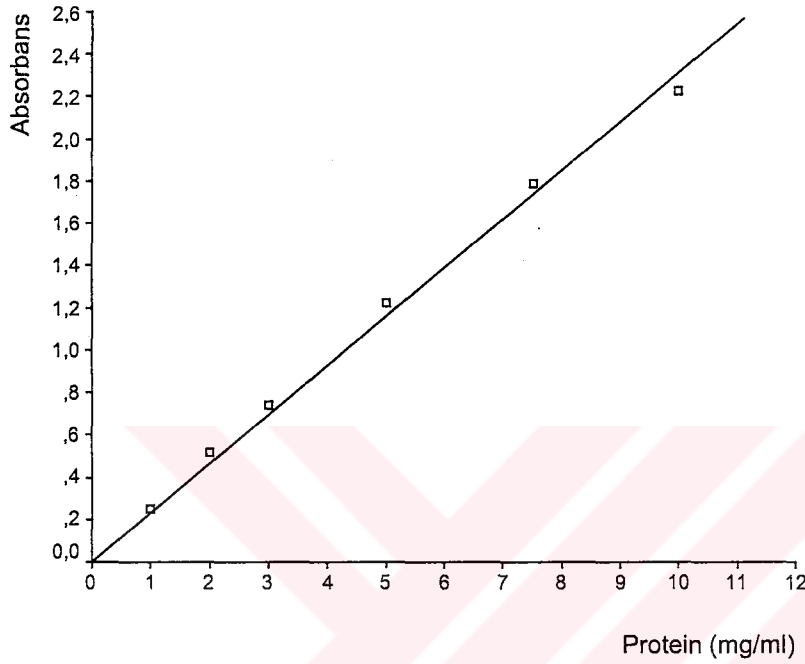
Bovin Serum Albumin (BSA) Çözeltisi: Standart protein çözeltisi olarak kullanılan BSA 10 mg/ml konsantrasyondaki stok çözeltiden 1, 2, 3, 5, 7.5, 10 mg/ml'lik çözeltileri hazırlandı.

3.7.2. Deneyin Yapılışı

Test ve standart tüplerine 490 µl, kör tüpüne 500 µl distile su kondu. Tüm tüplere 2.5 ml D çözeltisi ilave edildikten sonra, test tüplerine % 10'luk (w:v) homojenattan hazırlanan süpernatandan 10 µl; standart tüplerine de 10 µl her bir standarttan ilave edildi ve tüpler vorteks ile iyice karıştırıldı. Oda ısısında karanlıkta 10 dk bekletildikten sonra, tüm tüplere

250 µl E çözeltisi eklendi. 25 °C'de 30 dk bekletildikten sonra, spektrofotometrede 650 nm'de köre karşı sıfırlanarak okuma yapıldı.

Standart BSA çözeltileri ile hazırlanan çalışma grafiğinden yararlanarak her örnek tüpündeki süpernatanın 1 ml'sindeki protein miktarı hesaplandı (Şekil 4).



Şekil 4. Protein standart grafiği

3.8. Malondialdehit Miktar Tayini

Lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçülür. ¹⁴⁰

3.8.1. Çözeltiler

1. % 8,1'lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)
2. % 20'lik Asetik asit (NaOH ile pH 3,5'e ayarlandı)
3. % 0,8'lik tiyobarbitürik asit (TBA)

4. n-Butanol/Piridin (15:1)

3.8.2. Deneyin Yapılışı

0.2 ml % 10'luk (w:v) homojenattan hazırlanan süpernatant; 0.2 ml % 8.1'lik SDS, 1.5 ml % 20'lik asetik asit, 1.5 ml % 0.8'lik TBA ve 0.6 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım 95 °C'deki sıcak su banyosunda 1 saat tutuldu. Musluk suyu ile soğutulduktan sonra üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) eklenerek vorteksle 1 dakika karıştırıldı. Organik faz 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek ayrıldı. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

3.8.3. Sonuçların Hesaplanması

$$C \text{ (nmol/ml)} = \frac{A \times V_t \times 10^9}{E \times V_s \times L \times 10^3}$$

A : Absorbans

E : Tüketim katsayısı ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

V_t : Total reaksiyon hacmi

V_s : Total reaksiyon içindeki numune hacmi

L : Küvet çapı

10⁹ : Molün nanomole çevrilmesi

10³ : Litrenin mililitreye çevrilmesi

Sonuçlar MDA nmol/mg protein olarak ifade edildi.

3.9. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

Hücrel oksidatif savunma mekanizmasının en önemli enzimi olan SOD, süperoksit radikallerinin dismutasyonunda görev almaktadır. Ksantin-ksantin oksidaz sisteminde üretilen süperoksit radikallerinin sitokrom C'yi indirgemesinin SOD tarafından inhibisyonu temeline dayanan enzim aktivite deneyidir.¹⁴¹

3.9.1. Çözeltiler

A Çözeltisi: 5 µmol ksantin'in 25 ml 0.001 N NaOH'daki çözeltisi ve 2 µmol sitokrom C'nin 250 ml 50 mM pH 7.8 ve 0.1 mM EDTA içeren fosfat tamponundaki çözeltisi karıştırılır. Bu çözelti + 4 °C'de 3 gün kararlıdır.

B Çözeltisi: Taze hazırlanan ksantin oksidazın 0.1 mM EDTA'daki çözeltisi 0.2 U/ml. Bu çözelti ortamda SOD enzimi olmaksızın dakikada 0.025 absorbans değişikliğini yapabilmelidir.

3.9.2. Deneyin Yapılışı

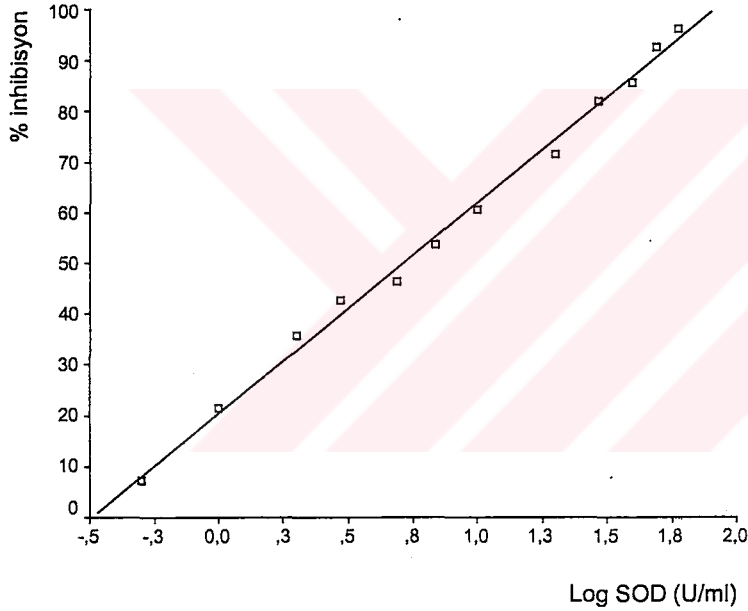
3 ml'lik küvete 2.9 ml A çözeltisinden, 50 µl 5 kat dilüe edilmiş % 10'luk (w:v) homojenattan hazırlanan süpernatant ve 50 µl B çözeltisinin eklenmesiyle reaksiyon başlatılır. Hızlı bir şekilde 550 nm'de 1 dakika süresince absorbans değişimi okunur. Kör okunurken örnek yerine 50 µl bidistile su eklenir. Standart grafiği çizmek için aynı şekilde 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 20, 30, 40, 50, 60 U/ml konsantrasyonlarda saf SOD enzimiyle çalışıldı.

3.9.3. Sonuçların Hesaplanması

Önce aşağıdaki formülden % inhibisyonlar hesaplandı.

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

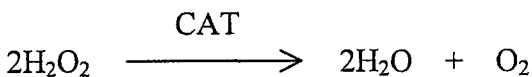
Standart çalışmalardan elde edilen SOD aktivitesine karşı % inhibisyon değerleri grafiğe geçirildi. Çizilen hiperbolik SOD çalışma grafiği lineer olmadığından logaritmik transformasyon uygulanarak grafik yeniden çizildi. Bu grafikte x eksenine standart SOD değerlerinin logaritmik dönüşüm değerleri (U/ml), y eksenine standartlara ait % inhibisyon değerleri konuldu. Grafikten yararlanarak % inhibisyona denk gelen numunelere ait SOD değerleri bulundu (Şekil 5). Tespit edilen değerler, seyreltme faktörü ile çarpılarak SOD değerleri belirlendi. Sonuçlar U/mg protein şeklinde ifade edildi.



Şekil 5. SOD standart çalışması logaritmik grafiği

3.10. Katalaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

CAT katalitik aktivitesiyle H_2O_2 , dekompoze ederek su ve oksijene dönüştürmektedir.



H_2O_2 ultraviyole spektrumunda absorpsiyon veren bir maddedir. Maksimal absorbans 240 nm'de meydana gelmektedir. Deney ortamına ilave edilen H_2O_2 'nin CAT tarafından su

ve oksijene parçalanması 240 nm'de absorbans azalması ile kendini gösterir. Absorbansda gözlenen bu azalma ortamdaki CAT enzim aktivitesi ile doğru orantılı bir eğilim göstermektedir.¹⁴²

3.10.1. Çözeltiler

1. 50 mM pH 7.0 olan fosfat tamponu hazırlanır.
2. H₂O₂'li ve absorbansı 0.500 olan fosfat tamponu: Spektrofotometre 240 nm'ye ayarlandı ve fosfat tamponu ile aletin sıfır absorbans okuması sağlandı. % 30'luk H₂O₂ çözeltisinden 34 µl alınarak fosfat tamponunun 100 ml'sine ilave edildi. Bu çözeltinin absorbansı 240 nm'de yaklaşık olarak 0.500'dür.

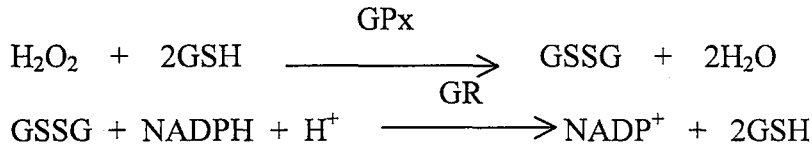
3.10.2. Deneyin Yapılışı

Spektrofotometre 240 nm'ye ayarlandı ve fosfat tamponu ile sıfır absorbansa ayarlandı. 3 ml'lik küvete 2.99 ml H₂O₂'li fosfat tamponu ve 0.01 ml 5 kat dilüe edilmiş % 10'luk (w:v) homojenattan hazırlanan süpernatant ilave edilerek hızla karıştırıp absorbansı okundu, bu başlangıç absorbans değeridir. Daha sonra 60 saniye süreyle absorbans azalması takip edildi. Sürenin sonunda okunan absorbans değeri kaydedildi. Sonuçlar κ/mg protein şeklinde ifade edildi.

$$\kappa = \frac{2.3 \times \log \frac{\text{İlk absorbans}}{\text{Son absorbans}}}{\Delta t \text{ (ölçüm süresi, sn)}} \times \text{Sulandırma katsayısı}$$

3.11. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

GPx GSH'ı kullanarak H₂O₂'in suya dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Reaksiyon sonunda GSH okside forma dönüşürken, H₂O₂ ise suya katalizlenir. Oluşan GSSG'un tekrar kullanılabilmesi için GSSG'nin GSH'a dönüşmesi gerekir. Bu dönüşüm, ortamda redükte NADP (NADPH) ve GR enzimi varlığında gerçekleşir. Bu durumda redükte NADP okside NADP'ye çevrilirken GSSG redükte forma dönüşür.



Redükte NADP 340 nm'de maksimal absorbanans gösteren bir maddedir. GR katalizi devam ettikçe, ortamdaki NADPH miktarı giderek azalacak ve buna paralel olarak 340 nm'de absorbanans azalması meydana gelecektir. Absorbanstaki bu azalma hızı ortamdaki GPx aktivitesi ile doğru orantılı olacaktır. ¹⁴³

3.11.1. Çözeltiler

1. 5 mM EDTA içeren 50 mM pH 7'lik fosfat tamponu.
2. 150 mM GSH EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
3. 1 M NaN₃ EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
4. 3 mM NADPH EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
5. 50 mM H₂O₂ EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
6. 1 Ü/10 µl GR olacak şekilde fosfat tamponunda dilüe edildi.

3.11.2. Deneyin Yapılışı

Kör tüpüne 2.680 ml ve test tüplerine 2.670 ml EDTA'lı fosfat tamponu, 0.1 ml GSH, 0.1 ml NADPH, 0.01 ml GR, 0.01 ml NaN₃, ayrıca test tüplerine 0.01 ml % 10'luk (w:v)

homojenattan hazırlanan süpernatant ilave edildikten sonra 30 dk oda ısısında inkübe edildi. Spektrofotometre 340 nm'de fosfat tamponu ile sıfırlandı. Sürenin sonunda her tübe 100 µl H₂O₂ ilave edilip reaksiyon başlatıldı ve hemen küvetler spektrofotometreye konarak 3 dk süreyle absorbans azalması takip edildi. Absorbans azalmasının bu süre içerisinde tam olarak lineer olduğu görüldü.

3.11.3. Sonuçların Hesaplanması

1 Ünite GPx: 1 dakikada okside olan NADPH'in µmol cinsinden miktarıdır.

$$\text{Ü/L (µmol/dk/L)} = \frac{\Delta A/t \times V_t \times 10^6}{E \times V_s \times L}$$

E : NADPH'in tüketim katsayısı ($6.22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

V_t : Total reaksiyon hacmi

V_s : Total reaksiyon içindeki numune hacmi

L : Küvet çapı

ΔA/t : Dakikadaki absorbans değişimi

10⁶ : Molün mikromole çevrilmesi

Spesifik aktivite için bulunan sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

3.12. İstatistik

İstatistiksel analizler için gruplar arası kıyaslamalı Kruskal-Wallis varyans analizi yapıldı ve anlamlı farklılık çıkanlara Mann-Whitney U testi uygulandı. p<0.05 anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Sıçanlarda hipertonic gliserolün im uygulanmasıyla oluşturulan deneysel miyoglobinürik ABY modeli, 4 grupta 50 sıçan üzerinde çalışıldı. Gliserol enjeksiyonunun 48. saatinde anestezi altında sıçanların kan ve doku örnekleri alındı. Ancak 10 sıçan 48 saat dolmadan gelişen komplikasyonlarla öldü. Bu sıçanlardan 1 tanesi im gliserol enjeksiyonu ve ip FS enjeksiyonu uygulanan 2. gruptan, 3 tanesi 5 mg/kg dozunda melatonin uygulanan 3. gruptan ve 6 tanesi ise 10 mg/kg dozunda melatonin uygulanan 4. gruptandı. Ayrıca 2. grupta 3, 3. grupta 4 ve 4. grupta 2 tane sıçandan idrar örneği alınamadı ve 2. gruptan 1 tane sıçanın idrar örneğinden kreatinin düzeyi hesaplanamadı. Böylece doku MDA düzeyi, SOD, CAT ve GPx aktiviteleri ile plazma üre, kreatinin, sodyum, potasyum düzeyleri her grupta 10 tane sıçandan elde edilen veriler istatistiksel değerlendirmeye alındı. İdrar üre, sodyum, potasyum, protein düzeyleri için; 1. grupta 10, 2. grupta 7, 3. grupta 6 ve 4. grupta 8 tane sıçandan elde edilen veriler istatistiksel değerlendirmeye alındı. İdrar kreatinin için ise; 1. grupta 10, 2. ve 3. grupta 6, 4. grupta 8 tane sıçandan elde edilen veriler istatistiksel değerlendirmeye alındı.

Tüm gruplardaki sıçanlara ait doku MDA düzeyi nmol/mg protein, SOD aktivitesi U/mg protein, CAT aktivitesi κ /mg protein ve GPx aktivitesi U/mg protein, plazma üre ($P_{üre}$) düzeyi mg/dl, kreatinin (P_{krea}) düzeyi mg/dl, sodyum (P_{Na}) düzeyi mEq/L, potasyum (P_K) düzeyi mEq/L, idrar üre ($I_{üre}$) düzeyi mg/dl, kreatinin (I_{krea}) düzeyi mg/dl, sodyum (I_{Na}) düzeyi mEq/L, potasyum (I_K) düzeyi mEq/L ve protein (I_{prot}) düzeyi mg/dl olarak 1. grubun verileri Tablo 6' da, 2. grubun verileri Tablo 7'de, 3. grubun verileri Tablo 8'de ve 4. grubun verileri Tablo 9'da gösterilmiştir.

Çalışma gruplarının değişkenlere ait istatistik verileri Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Grup 1'in biyokimyasal verileri

SN	MDA	SOD	GPx	CAT	P _{üre}	P _{krea}	P _{Na}	P _K	I _{üre}	I _{krea}	I _{Na}	I _K	I _{prot}
1	2.92	22.46	1.77	0.138	34	0.5	137.5	4.69	6220	72	122.5	75.6	68.2
2	2.96	28.44	1.97	0.191	36	0.5	146.1	5.24	4980	52	135.2	77.7	87.3
3	3.82	20.71	3.10	0.185	36	0.6	139.9	5.29	4380	42	117.9	76.5	69.2
4	3.76	32.15	2.54	0.181	35	0.5	138.7	5.63	6520	72	213.1	74.6	84.4
5	3.05	16.13	1.65	0.131	36	0.6	140.9	5.64	4220	42	150.0	68.3	54.5
6	3.38	23.30	2.52	0.173	33	0.5	140.6	3.76	5940	68	187.5	64.8	87.8
7	3.62	15.02	2.22	0.154	33	0.5	139.3	3.48	3060	22	165.1	72.9	74.4
8	3.64	19.23	2.19	0.164	36	0.6	143.4	3.56	4840	50	172.3	75.0	81.3
9	3.48	27.35	2.45	0.143	31	0.6	141.8	4.15	2100	28	154.4	70.1	89.1
10	3.41	20.83	2.17	0.219	39	0.5	142.4	4.02	3280	30	121.1	63.8	68.7

Tablo 7. Grup 2'nin biyokimyasal verileri

SN	MDA	SOD	GPx	CAT	P _{üre}	P _{krea}	P _{Na}	P _K	İ _{üre}	İ _{krea}	İ _{Na}	İ _K	İ _{prot}
1	5.21	6.00	1.37	0.071	393	5.7	115.6	6.64	720	12	43.0	34.9	157.3
2	5.13	4.18	1.32	0.062	440	4.3	137.1	4.82	900	10	36.4	34.9	168.6
3	4.86	4.80	1.32	0.051	429	5.9	150.3	7.26					
4	7.03	6.81	1.11	0.071	383	3.7	131.4	5.08					
5	4.75	2.52	1.45	0.039	360	4.8	119.6	5.90	340		81.6	23.6	194.9
6	7.85	6.28	1.71	0.047	416	6.1	128.0	4.70	580	10	77.3	21.9	150.0
7	5.99	3.71	2.41	0.106	365	4.6	134.0	6.38					
8	5.95	5.98	1.75	0.051	404	5.6	121.9	6.25	700	8	39.9	37.7	196.5
9	6.65	6.28	1.59	0.070	433	5.6	130.1	5.54	620	2	36.0	40.3	213.2
10	5.27	4.33	1.51	0.045	312	4.1	137.6	4.66	740	6	32.9	34.1	202.8

Tablo 8. Grup 3'ün biyokimyasal verileri

SN	MDA	SOD	GPx	CAT	P _{üre}	P _{ürea}	P _{Na}	P _K	İ _{üre}	İ _{ürea}	İ _{Na}	İ _K	İ _{prot}
1	5.77	5.76	1.62	0.050	277	3.0	144.9	4.92	200	2	58.0	32.5	283.6
2	7.11	6.26	1.87	0.044	445	5.3	126.4	7.17					
3	6.76	7.70	1.61	0.040	442	5.2	135.5	6.42	480	6	62.2	31.2	123.7
4	5.36	4.83	1.67	0.036	429	5.1	128.6	5.44					
5	8.09	10.65	1.62	0.039	443	5.7	126.0	5.08	620	12	74.2	26.5	255.7
6	6.79	11.93	1.72	0.051	393	5.0	132.1	3.93					
7	7.39	5.45	1.49	0.067	450	4.7	126.3	5.28	520	4	75.5	26.9	179.7
8	6.41	11.21	1.93	0.041	407	4.9	135.7	5.44	700	4	66.8	29.4	124.4
9	5.83	8.05	1.73	0.064	407	5.2	127.3	4.73	740	10	39.4	38.2	296.6
10	6.54	4.33	1.87	0.038	373	3.6	135.7	5.13					

Tablo 9. Grup 4'ün biyokimyasal verileri

SN	MDA	SOD	GPx	CAT	P _{üre}	P _{krea}	P _{Na}	P _K	I _{üre}	I _{krea}	I _{Na}	I _K	I _{prot}
1	6.73	10.65	1.86	0.039	346	4.4	133.4	4.11	880	2	32.0	41.4	184.8
2	5.88	4.65	1.45	0.034	421	4.9	124.9	4.51	680	6	44.6	33.2	143.8
3	8.23	8.05	1.64	0.056	459	5.7	134.7	5.59					
4	9.77	11.93	1.91	0.074	358	3.0	159.9	4.77					
5	5.47	4.97	1.31	0.042	400	4.3	183.0	11.65	560	8	65.0	27.3	164.3
6	7.43	9.68	1.53	0.070	411	5.7	137.4	5.05	500	4	100.6	26.7	184
7	6.28	4.33	1.61	0.064	439	5.1	136.4	5.14	680	4	87.3	27.9	180.5
8	5.07	5.90	1.21	0.031	434	4.7	130.1	5.75	380	2	46.3	41.6	238.7
9	6.70	6.55	1.43	0.064	463	5.3	129.2	5.21	740	6	90.6	33.3	312.9
10	7.21	5.70	1.80	0.064	466	5.6	122.7	6.04	620	6	91.5	21.9	145.1

Tablo 10. Çalışma gruplarının değişkenlere ait istatistik verileri

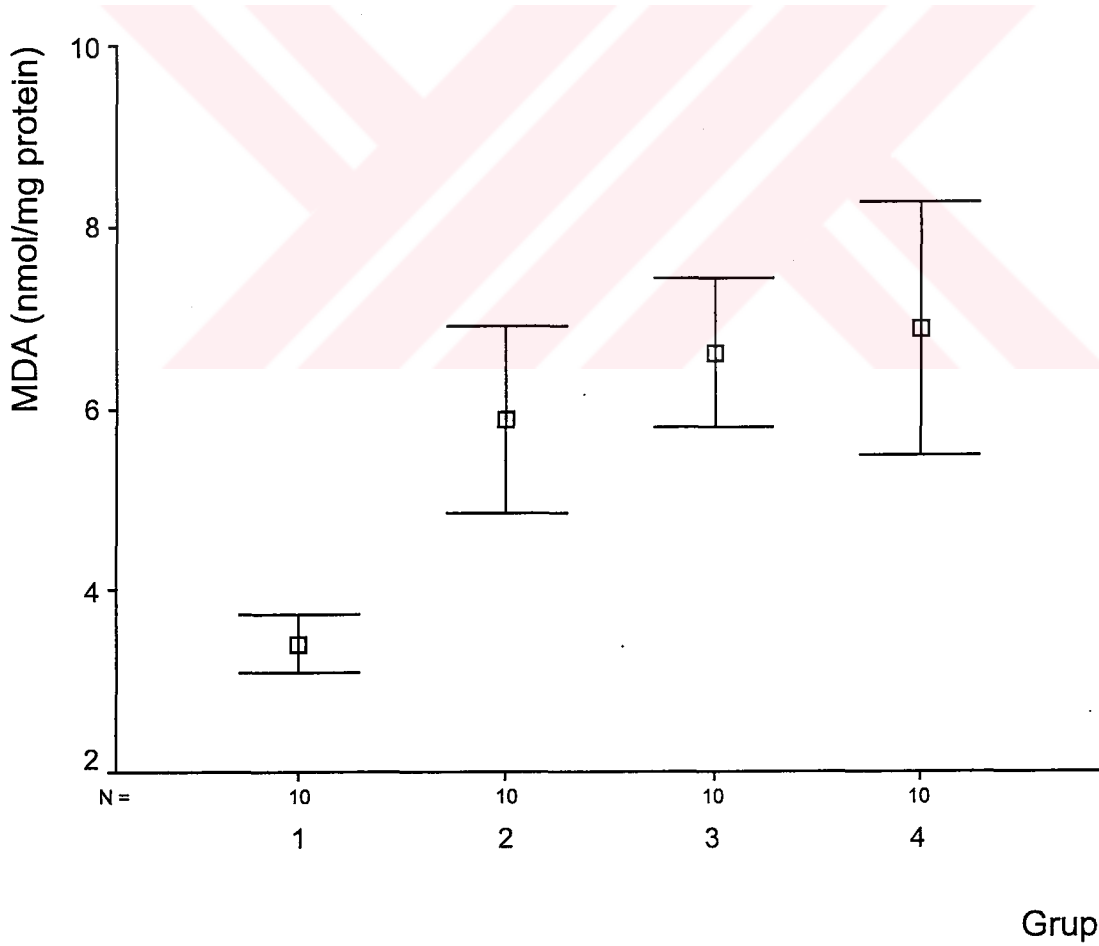
	GRUP 1 n= 10	GRUP 2 n= 10	GRUP 3 n= 10	GRUP 4 n= 10	P*
	Ort. ± SD	Ort. ± SD	Ort. ± SD	Ort. ± SD	
MDA nmol/mg protein	3.40 ± 0.33	5.87 ± 1.03	6.61 ± 0.82	6.88 ± 1.39	0.000
SOD U/mg protein	22.56 ± 5.43	5.09 ± 1.39	7.62 ± 2.78	7.24 ± 2.69	0.000
CAT κ/mg protein	0.168 ± 0.027	0.061 ± 0.020	0.047 ± 0.011	0.054 ± 0.016	0.000
GPx U/mg protein	2.26 ± 0.42	1.55 ± 0.36	1.71 ± 0.14	1.58 ± 0.23	0.000
P _{Üre} mg/dl	34.90 ± 2.23	393.50 ± 39.84	406.60 ± 52.22	419.70 ± 41.96	0.000
P _{krea} mg/dl	0.54 ± 0.05	5.04 ± 0.84	4.77 ± 0.83	4.87 ± 0.83	0.000
P _{Na} mEq/L	141.06 ± 2.50	130.56 ± 10.11	131.85 ± 6.14	139.17 ± 18.47	0.005
P _K mEq/L	4.55 ± 0.86	5.72 ± 0.91	5.35 ± 0.89	5.78 ± 2.14	0.120
	n= 10	n= 7	n= 6	n= 8	
İ _{üre} mg/dl	4554.00 ± 1446.99	657.14 ± 172.99	543.33 ± 195.72	630.00 ± 153.06	0.000
İ _{Na} mEq/L	153.91 ± 31.30	49.59 ± 20.68	62.68 ± 13.25	69.74 ± 26.18	0.000
İ _K mEq/L	71.93 ± 4.93	32.49 ± 6.99	30.78 ± 4.32	31.66 ± 7.09	0.000
İ _{prot} mg/dl	76.49 ± 11.35	183.33 ± 24.44	210.62 ± 78.35	194.26 ± 56.44	0.000
	n= 10	n= 6	n= 6	n= 8	
İ _{krea} mg/dl	47.80 ± 18.39	8.00 ± 3.58	6.33 ± 3.88	4.75 ± 2.12	0.000

* Kruskal-Wallis varyans analizi

Gruplar arası MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artış vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). MDA düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 11’de ve gruplara göre MDA düzeylerinin dağılımı Şekil 6’da gösterildi.

Tablo 11. MDA düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	$p<0.001$		
Grup 3	$p<0.001$	$p>0.05$	
Grup 4	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$

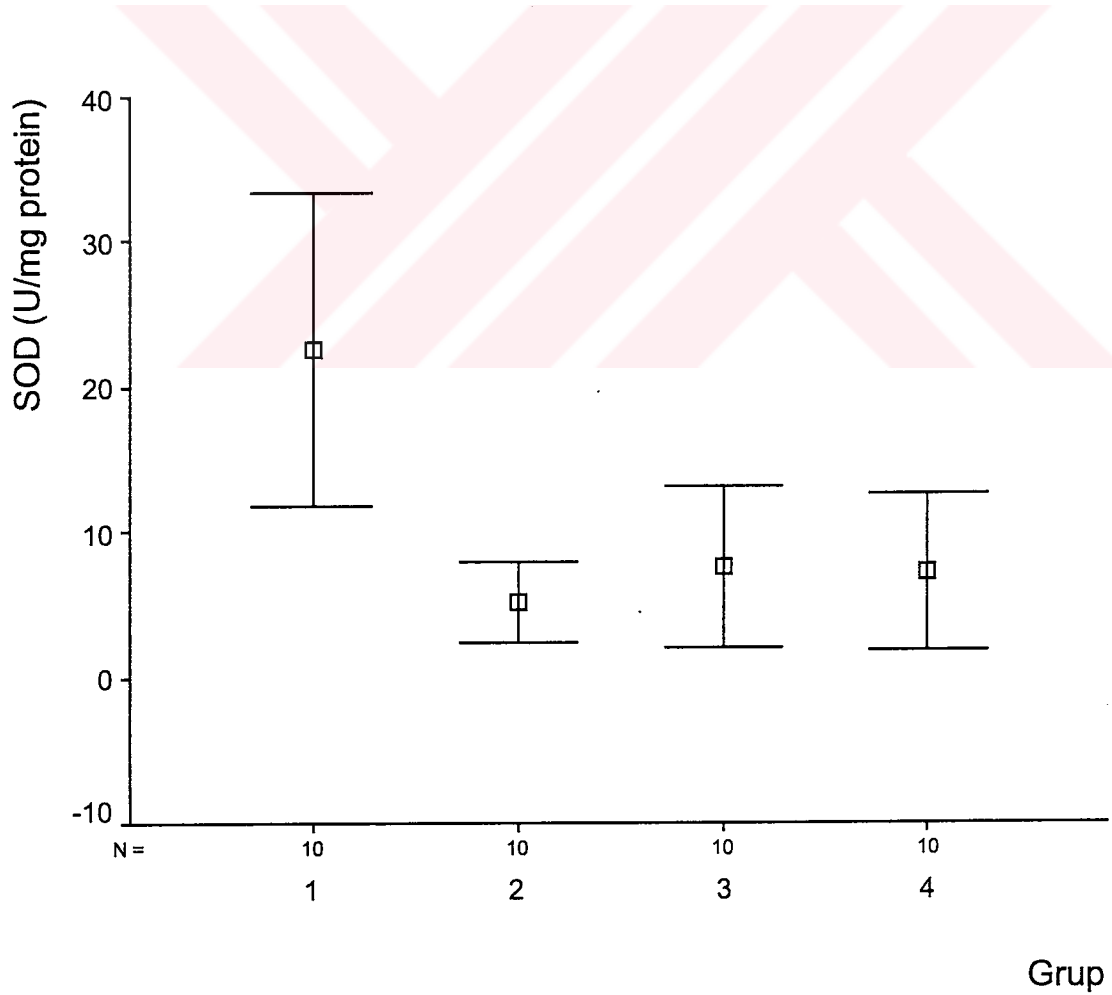


Şekil 6. Gruplara göre MDA düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası SOD enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). SOD aktivitelerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 12’de ve gruplara göre SOD aktivitelerinin dağılımı Şekil 7’de gösterildi.

Tablo 12. SOD aktivitelerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	$p<0.001$		
Grup 3	$p<0.001$	$p>0.05$	
Grup 4	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$

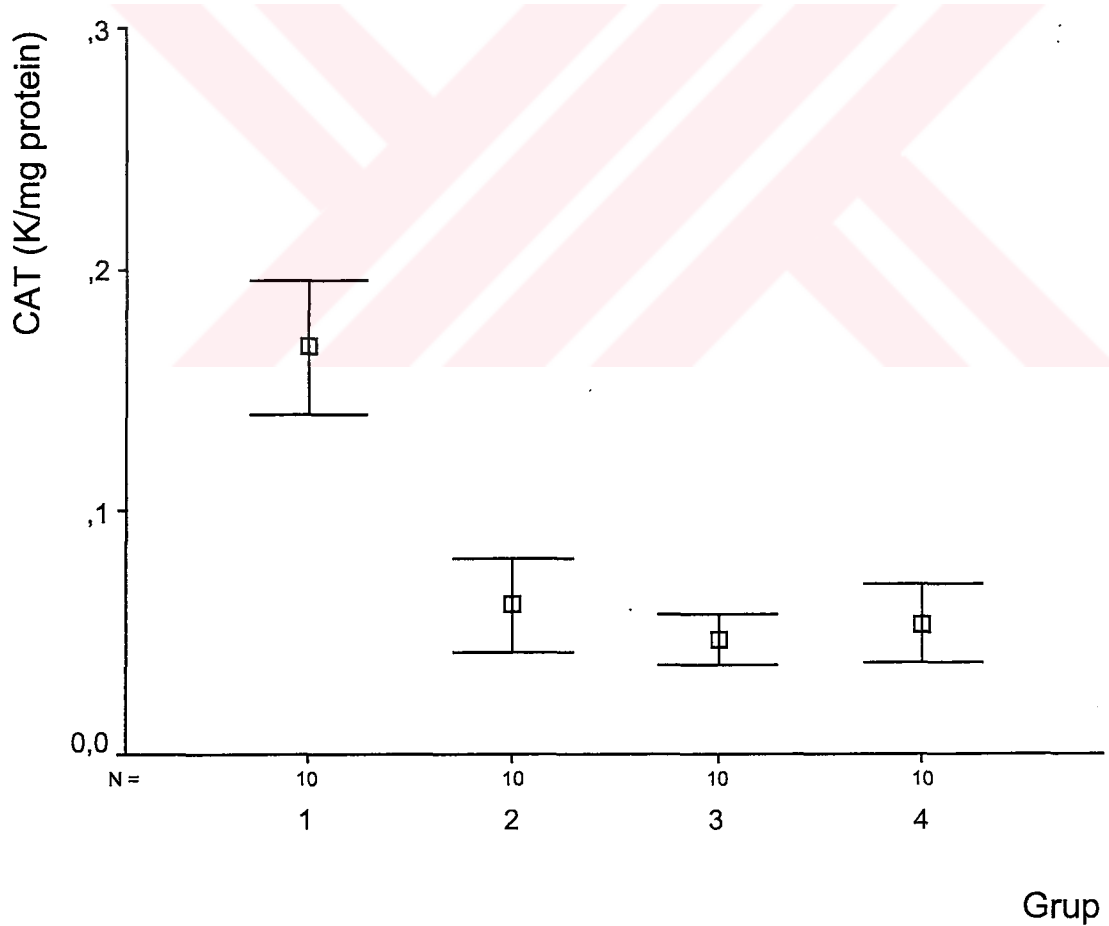


Şekil 7. Gruplara göre SOD aktivitelerinin dağılımı

Gruplar arası CAT enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında $p<0.001$ düzeyinde, grup 2 ile grup 3 arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). CAT aktivitelerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 13’de ve gruplara göre CAT aktivitelerinin dağılımı Şekil 8’de gösterildi.

Tablo 13. CAT aktivitelerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	$p<0.001$		
Grup 3	$p<0.001$	$p<0.05$	
Grup 4	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$

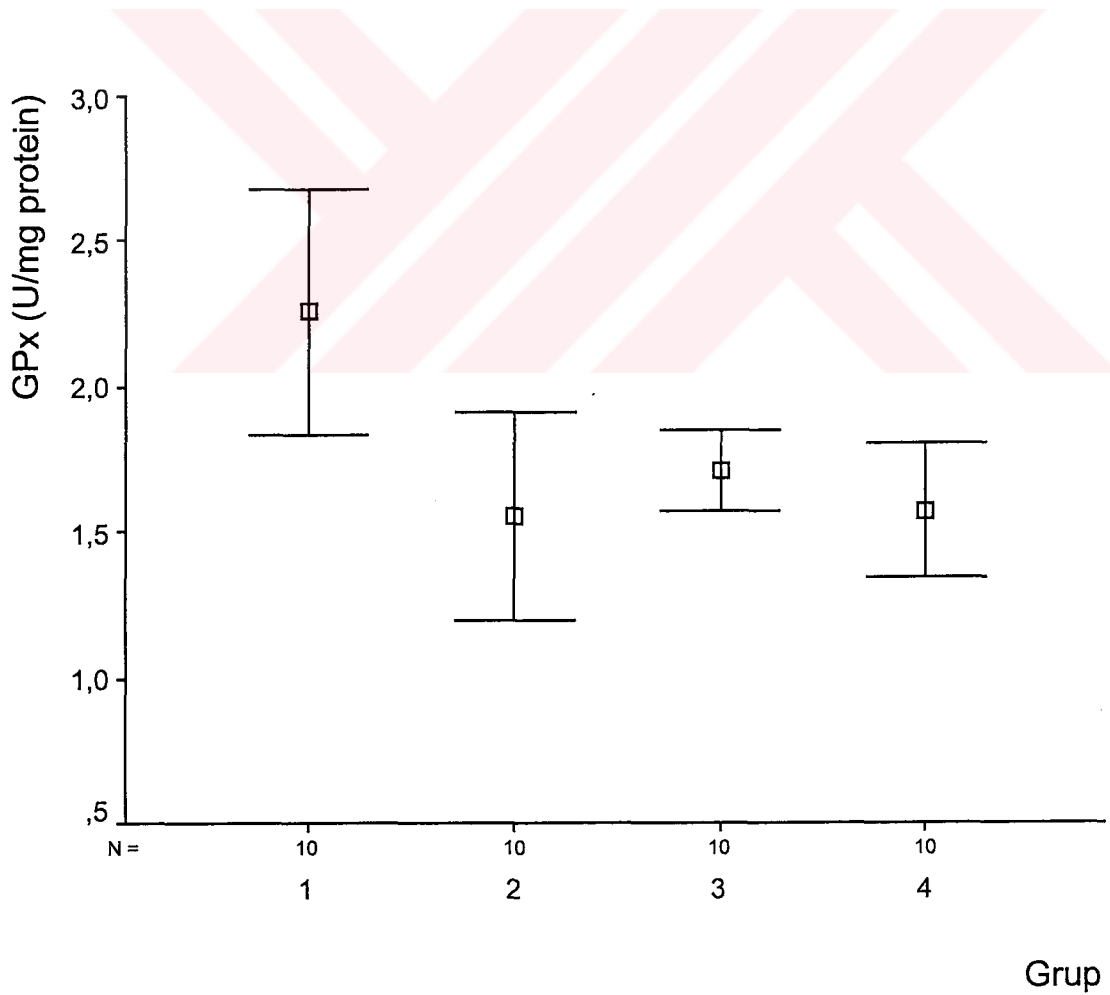


Şekil 8. Gruplara göre CAT aktivitelerinin dağılımı

Gruplar arası GPx enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile grup 2 ve grup 3 arasında $p<0.01$ düzeyinde, grup 1 ile grup 4 arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). GPx aktivitelerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 14’de ve gruplara göre GPx aktivitelerinin dağılımı Şekil 9’da gösterildi.

Tablo 14. GPx aktivitelerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	$p<0.01$		
Grup 3	$p<0.01$	$p>0.05$	
Grup 4	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$

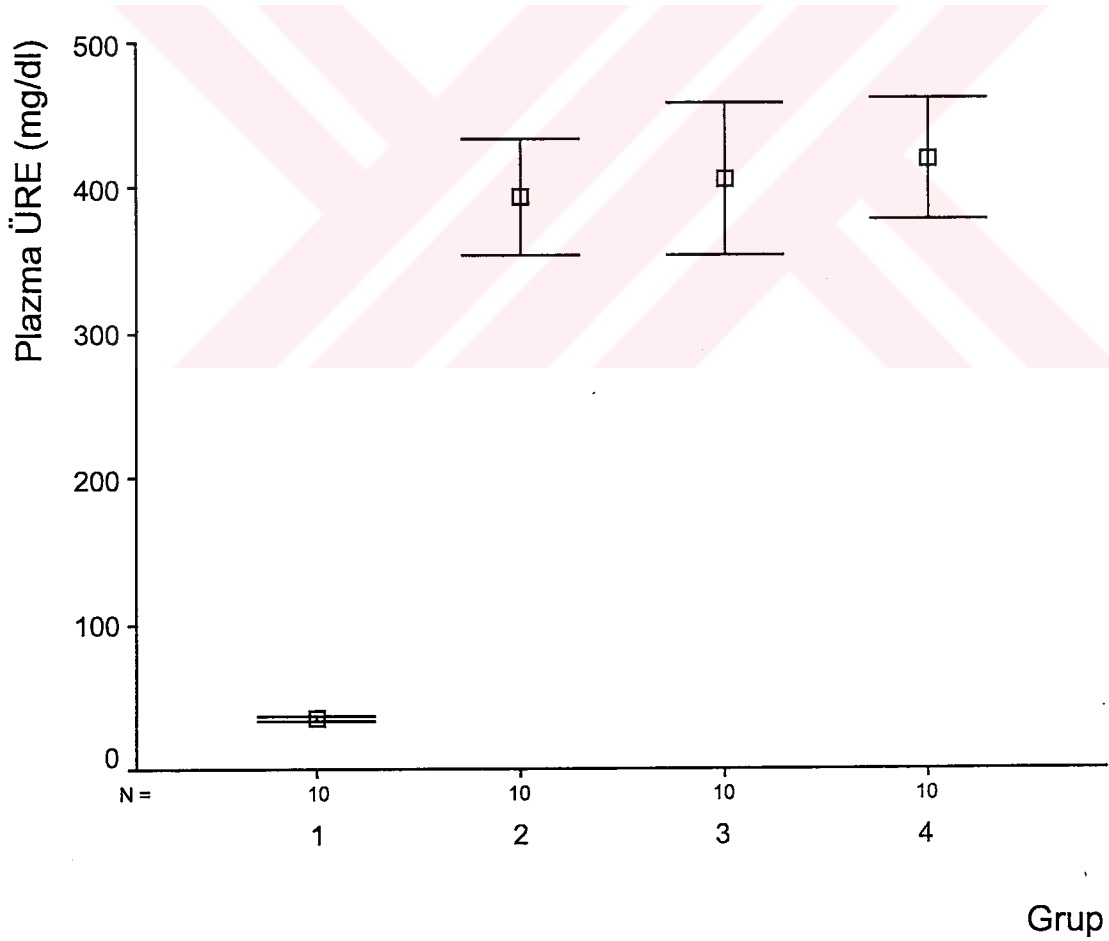


Şekil 9. Gruplara göre GPx aktivitelerinin dağılımı

Gruplar arası $P_{\text{üre}}$ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). $P_{\text{üre}}$ düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 15'te ve gruplara göre $P_{\text{üre}}$ düzeylerinin dağılımı Şekil 10'da gösterildi.

Tablo 15. Plazma üre düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	$p<0.001$		
Grup 3	$p<0.001$	$p>0.05$	
Grup 4	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$

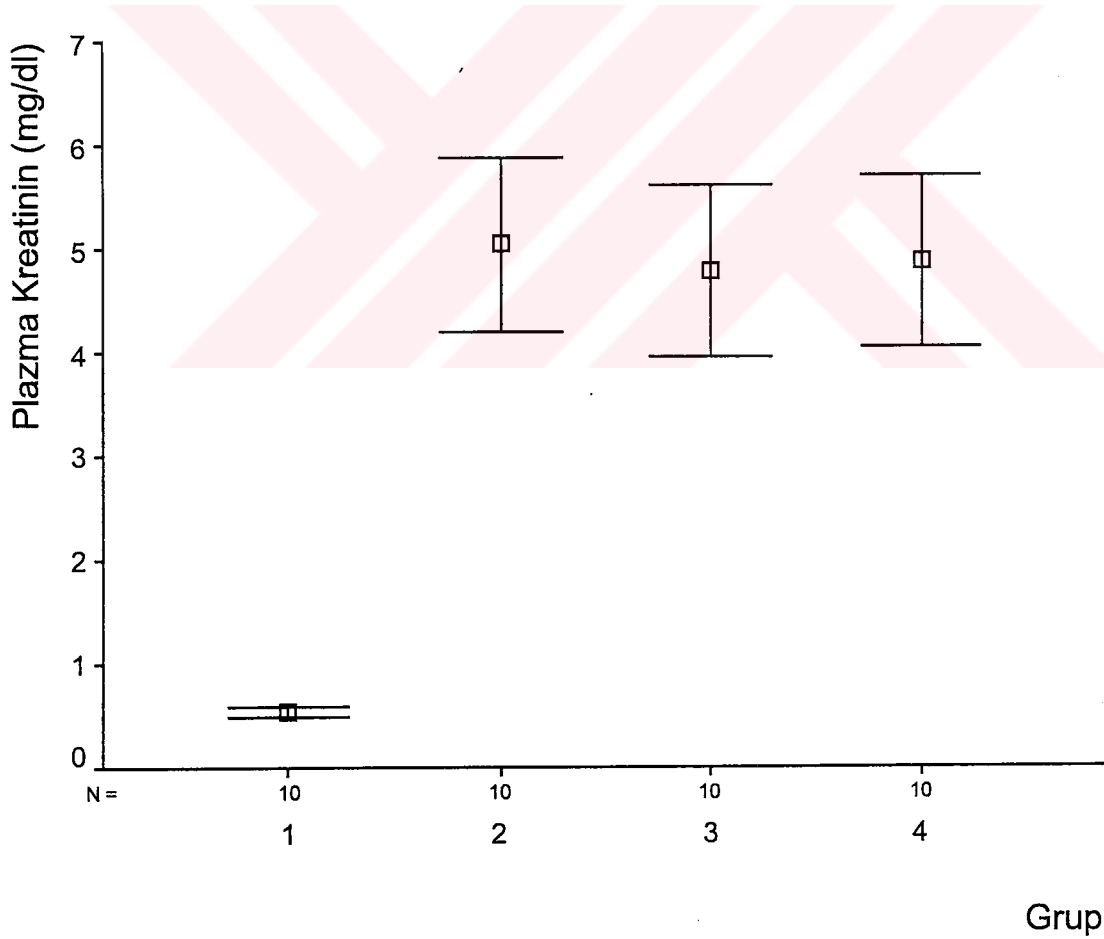


Şekil 10. Gruplara göre plazma üre düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası P_{krea} düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). P_{krea} düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 16’da ve gruplara göre P_{krea} düzeylerinin dağılımı Şekil 11’de gösterildi.

Tablo 16. Plazma kreatinin düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	$p<0.001$		
Grup 3	$p<0.001$	$p>0.05$	
Grup 4	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$

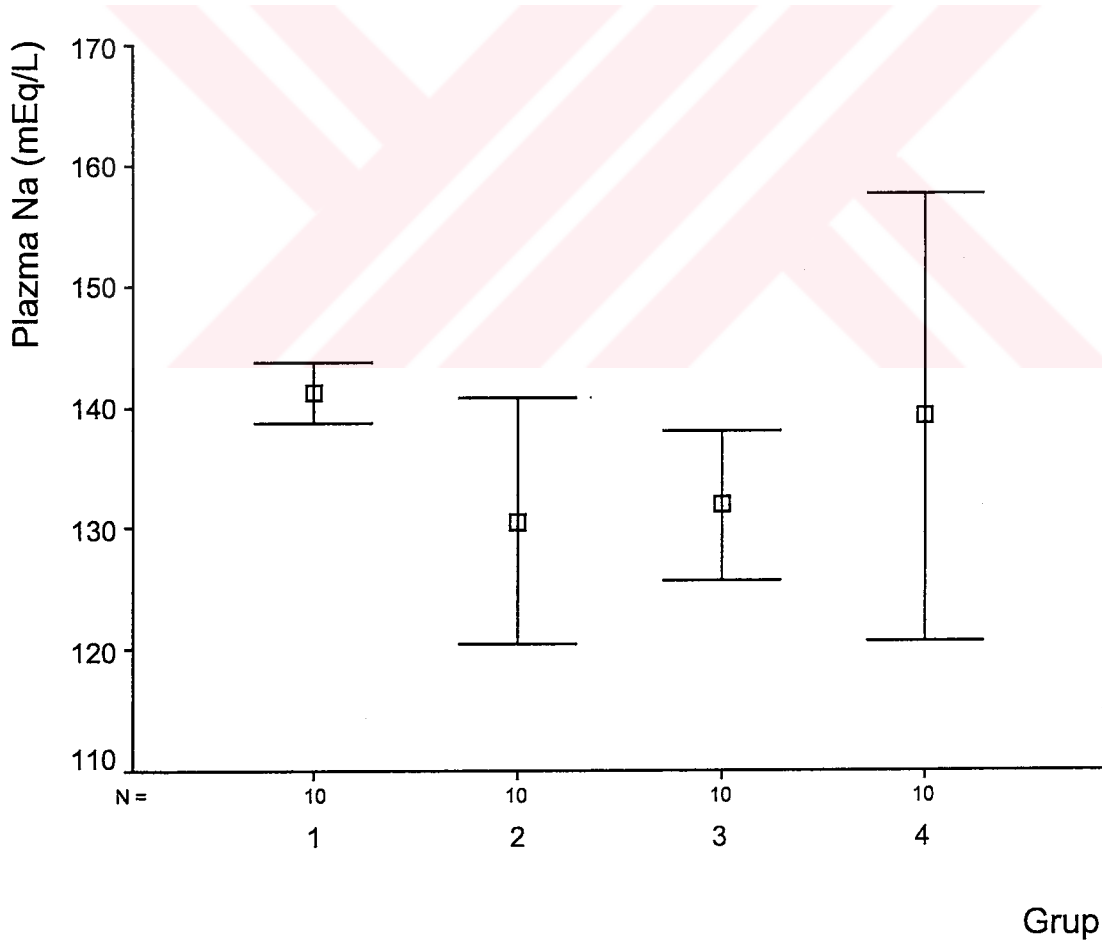


Şekil 11. Gruplara göre plazma kreatinin düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası P_{Na} düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.005$). Grup 1 ile grup 2 ve grup 3 arasında $p<0.01$ düzeyinde, grup 1 ile grup 4 arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). P_{Na} düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 17’de ve gruplara göre P_{Na} düzeylerinin dağılımı Şekil 12’de gösterildi.

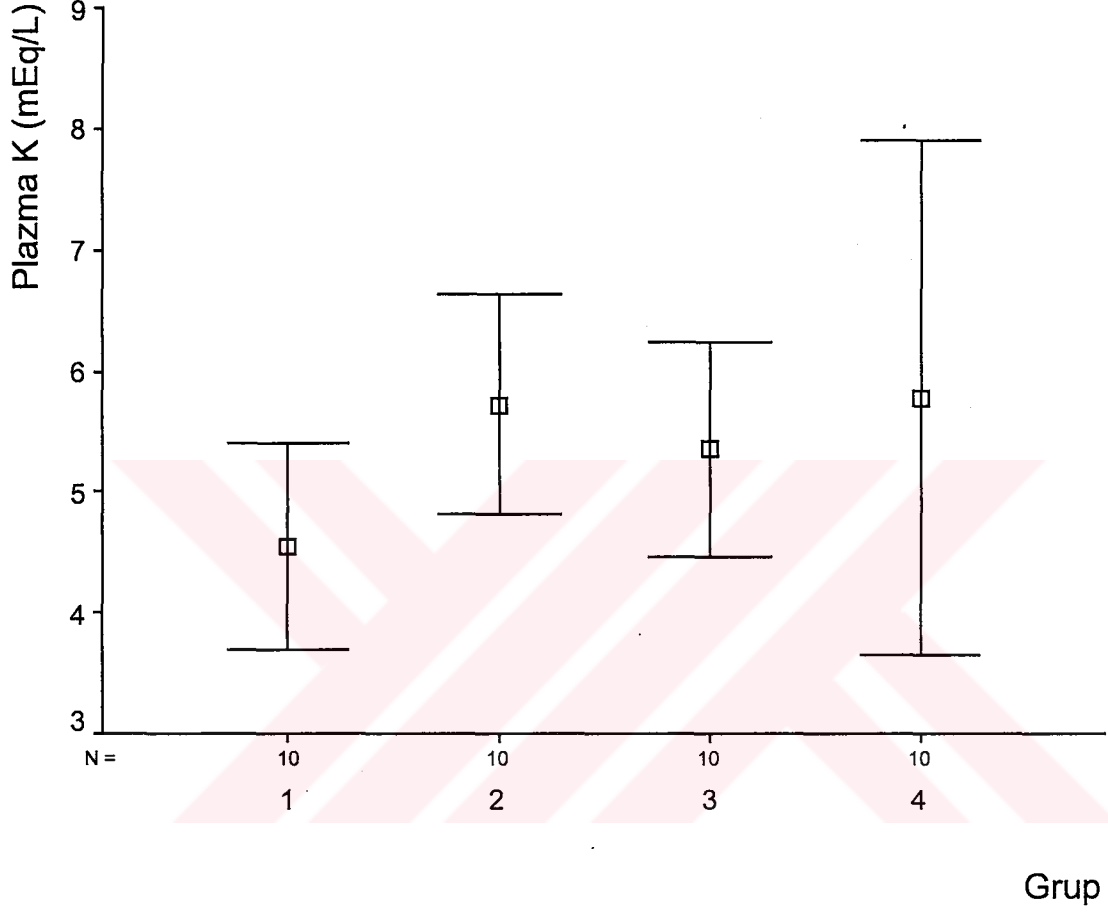
Tablo 17. Plazma sodyum düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	$p<0.01$		
Grup 3	$p<0.01$	$p>0.05$	
Grup 4	$p<0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$



Şekil 12. Gruplara göre plazma sodyum düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası P_K düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.120$). Gruplara göre P_K düzeylerinin dağılımı Şekil 13'te gösterildi.

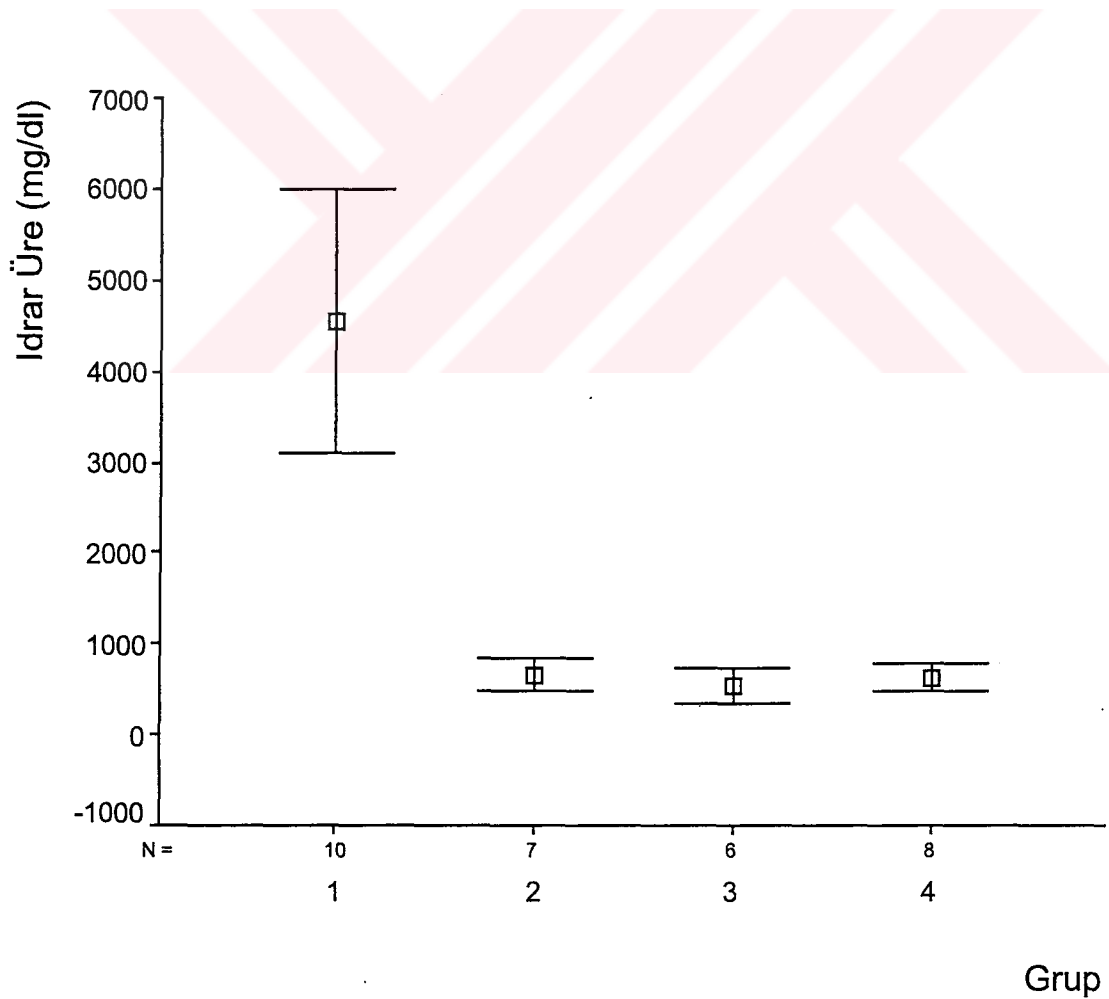


Şekil 13. Gruplara göre plazma potasyum düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası İ_{üre} düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (p=0.000). Grup 1 ile grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında p<0.001 düzeyinde anlamlı bir azalma vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05). İ_{üre} düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 18’de ve gruplara göre İ_{üre} düzeylerinin dağılımı Şekil 14’de gösterildi.

Tablo 18. İdrar üre düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	p<0.001		
Grup 3	p<0.001	p>0.05	
Grup 4	p<0.001	p>0.05	p>0.05

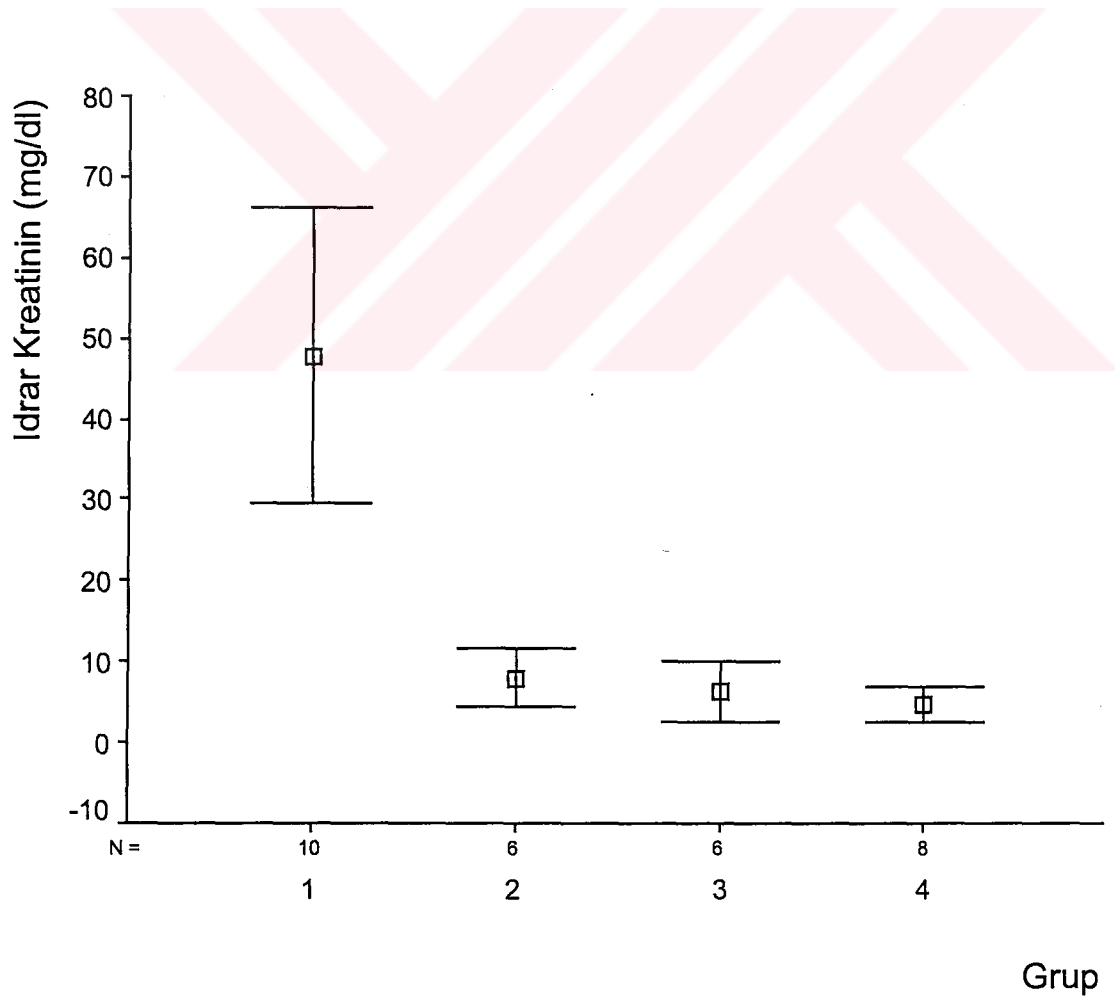


Şekil 14. Gruplara göre idrar üre düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası \dot{I}_{krea} düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). \dot{I}_{krea} düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 19’da ve gruplara göre \dot{I}_{krea} düzeylerinin dağılımı Şekil 15’te gösterildi.

Tablo 19. İdrar kreatinin düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	$p<0.001$		
Grup 3	$p<0.001$	$p>0.05$	
Grup 4	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$

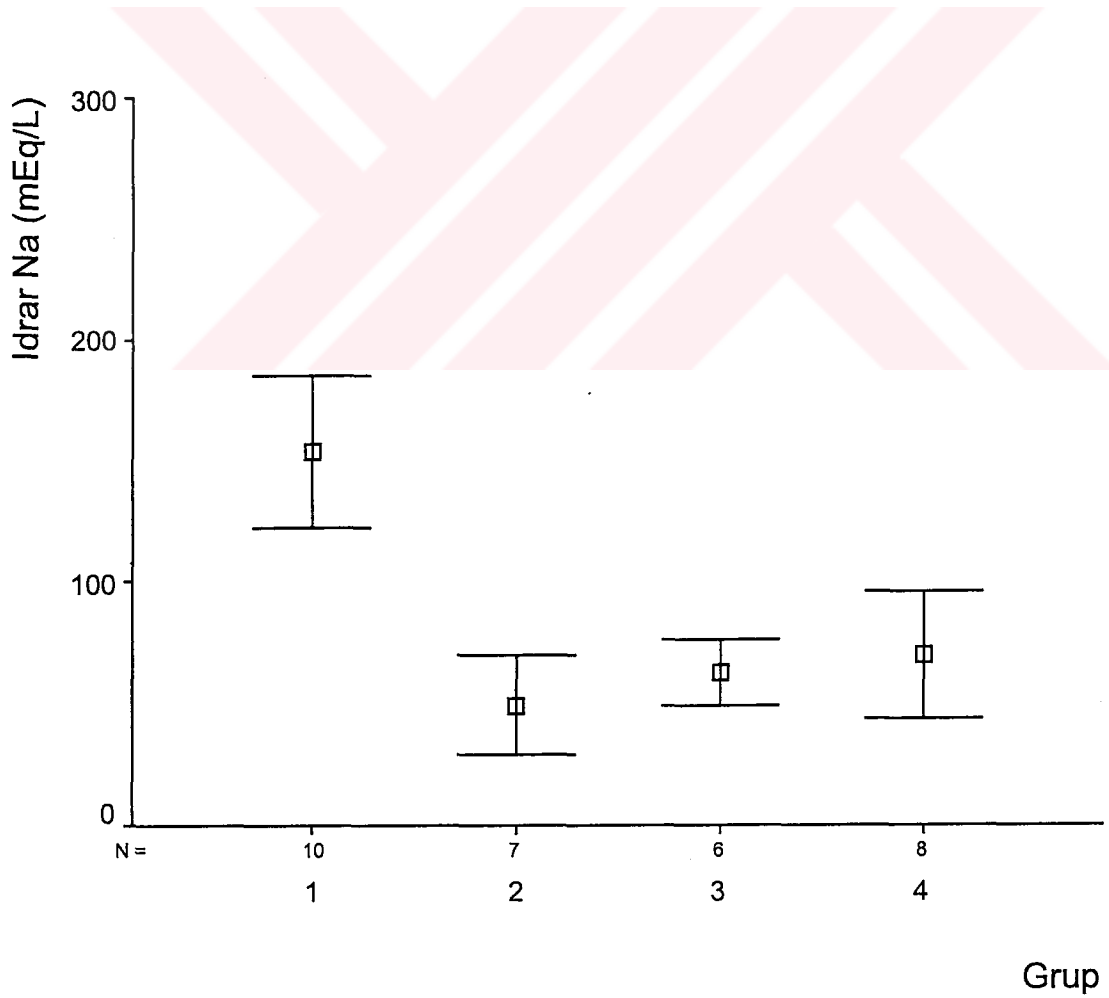


Şekil 15. Gruplara göre idrar kreatinin düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası \dot{I}_{Na} düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). \dot{I}_{Na} düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 20’de ve gruplara göre \dot{I}_{Na} düzeylerinin dağılımı Şekil 16’da gösterildi.

Tablo 20. İdrar sodyum düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	$p<0.001$		
Grup 3	$p<0.001$	$p>0.05$	
Grup 4	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$

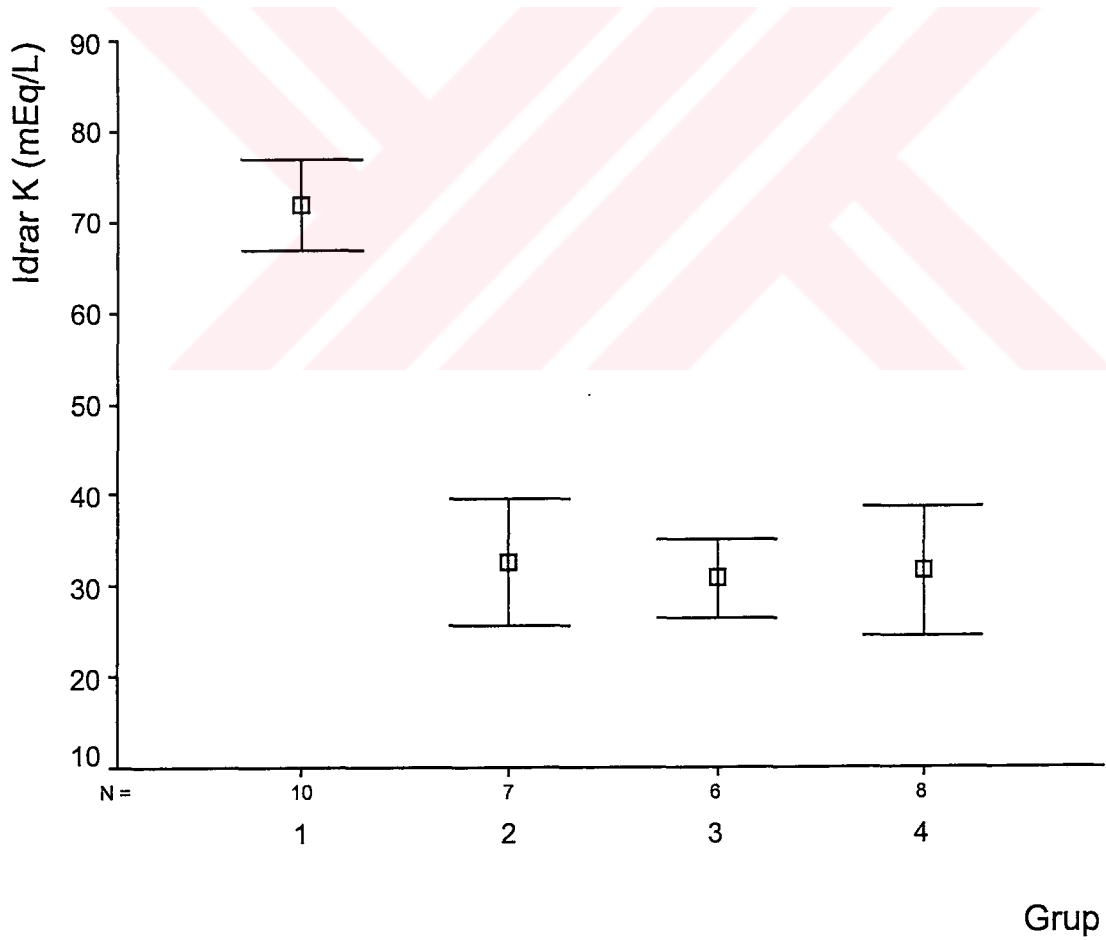


Şekil 16. Gruplara göre idrar sodyum düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası \dot{I}_K düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). \dot{I}_K düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 21’de ve gruplara göre \dot{I}_K düzeylerinin dağılımı Şekil 17’de gösterildi.

Tablo 21. İdrar potasyum düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	$p<0.001$		
Grup 3	$p<0.001$	$p>0.05$	
Grup 4	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$

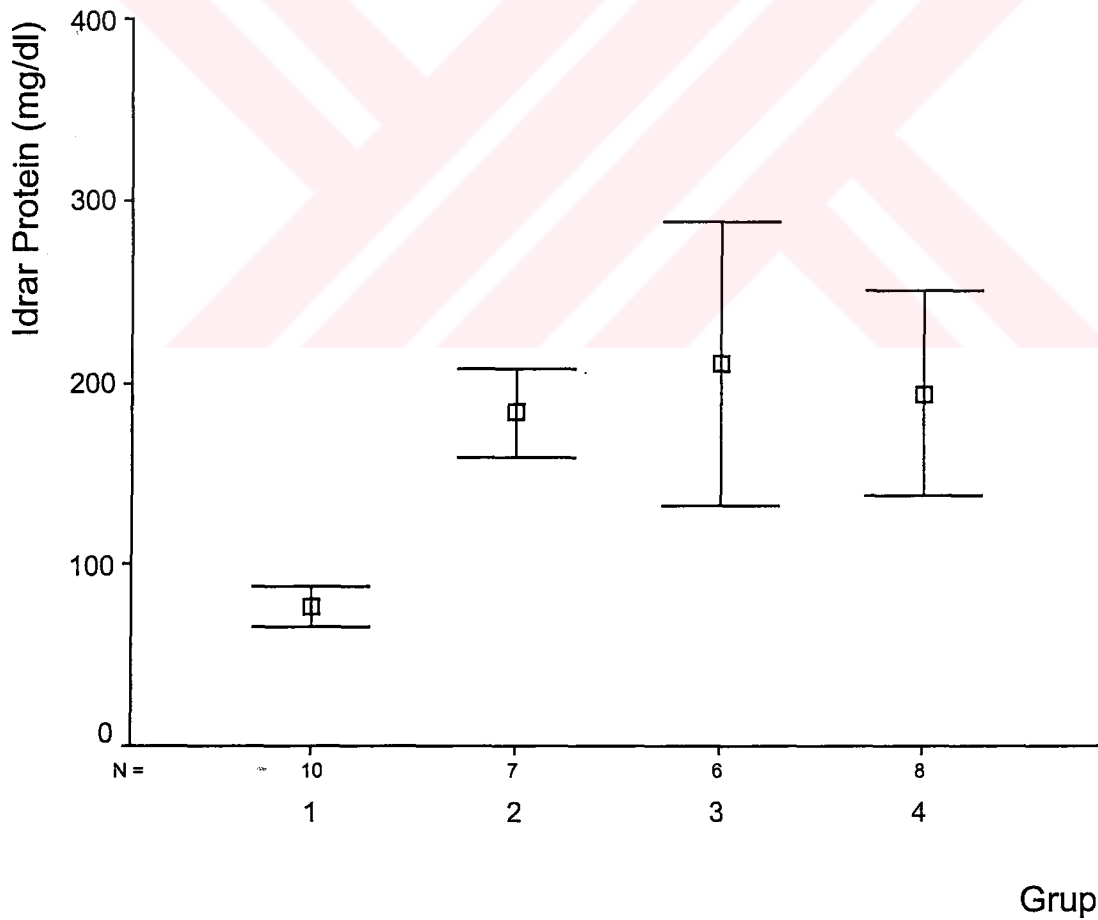


Şekil 17. Gruplara göre idrar potasyum düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası \dot{I}_{prot} düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.000$). Grup 1 ile grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma vardı. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). \dot{I}_{prot} düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 22’de ve gruplara göre \dot{I}_{prot} düzeylerinin dağılımı Şekil 18’de gösterildi.

Tablo 22. İdrar protein düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Grup 2	$p<0.001$		
Grup 3	$p<0.001$	$p>0.05$	
Grup 4	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$



Şekil 18. Gruplara göre idrar protein düzeylerinin dağılımı

Çalışmamızda böbrek dokularının histopatolojik incelenmesinde; 100 alanda nekroz ve kast miktarı her bir sıçan için hesaplandı ve % nekroz ve % kast değerleri için her bir grubun ortalamaları hesaplanarak Tablo 23'te verildi.

Grup 1'deki sıçanların Hematoksilen-Eosin (HE) boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; hiçbirinde tübül içlerinde hücre kastle (debris) görülmedi. Tübüllerde nekroz yoktu. Bazı kesitlerde % 25-50 arasında değişen oranlarda tübüler dilatasyon mevcuttu. Rejenerasyon yok denecek kadar azdı. Glomerüllerde herhangi bir değişiklik izlenmedi. Peritübüler stromada ödem yanısıra kan damarlarında konjesyon mevcuttu. Tübüllerde minimal derecede hidropik şişmiş ve vakuollu sitoplazmalı hücreler dikkati çekti (Şekil 19).

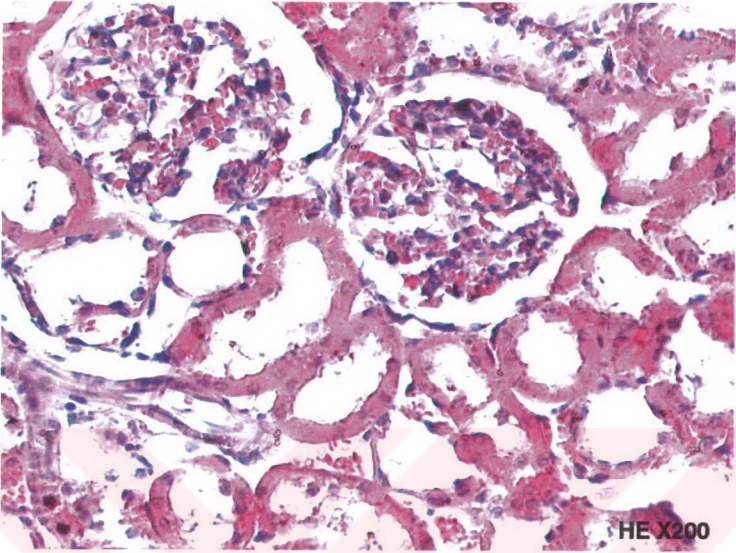
Grup 2'deki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; tübül içi hücre kast birikimi belirgindi (% 21-66, ortalama % 45). Tübüler nekroz nükleer kastle kadar olmasa da dikkati çeker miktardaydı (% 23-41, ortalama % 33). Tübüllerde bazı kesitlerde belirgin olmak üzere % 25-75 oranında değişen tübüler dilatasyonlar mevcuttu. Glomerüllerde bir değişiklik göze çarpmadı. Tübüler hücre rejenerasyonu sağlıklı kontrole göre biraz daha belirgindi. Tübüler hücrelerde daha belirgin hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekmekteydi. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon izlendi (Şekil 20).

Grup 3'teki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopisinde incelendiğinde; tübül içi kast birikimi % 22-66 arasında, ortalama % 48 ve tübüler hücrelerde nekroz % 26-47 arasında, ortalama % 35 oranındaydı. Tübüllerde belirgin bir dilatasyon vardı. Tübüler hücrelerde hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekti. Glomerüllerde bir değişiklik görülmedi. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübüler hücrelerde rejenerasyon izlenmekteydi (Şekil 21).

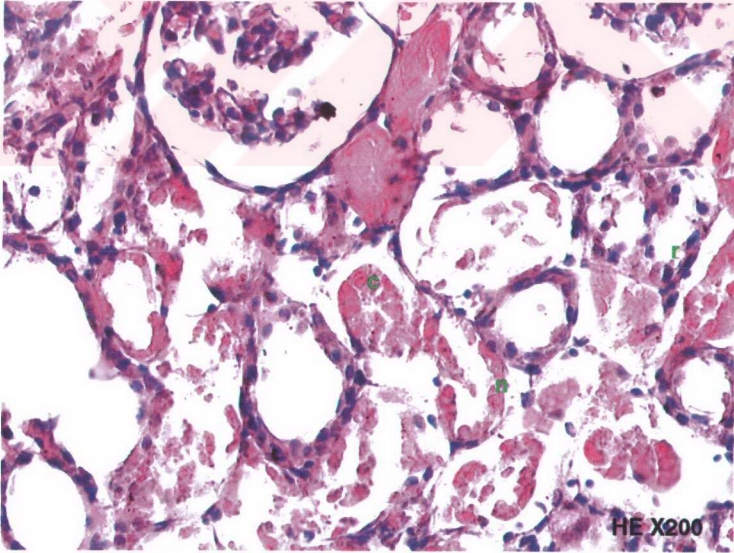
Grup 4'teki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopisinde incelendiğinde; tübül içi kast birikimi % 39-59 arasında, ortalama % 49 ve tübüler hücrelerde nekroz % 20-38 arasında, ortalama % 30 oranındaydı. Tübüllerde belirgin bir dilatasyon vardı. Tübüler hücrelerde hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon görüldü. Glomerüllerde bir değişiklik görülmedi. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübüler hücrelerde rejenerasyon izlenmekteydi (Şekil 22).

Tablo 23. Grupların histopatolojik nekroz ve kast miktarlarının % olarak değerleri

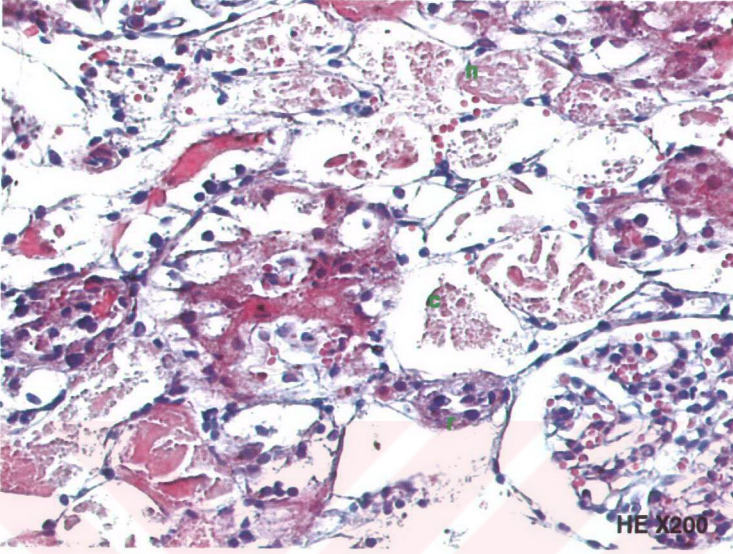
SN	Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4	
	Nekroz %	Kast %	Nekroz %	Kast %	Nekroz %	Kast %	Nekroz %	Kast %
1	0	0	23	34	26	22	27	56
2	0	0	31	48	30	35	28	45
3	0	0	41	55	47	66	20	42
4	0	0	30	28	45	58	26	39
5	0	0	38	45	33	39	33	44
6	0	0	41	51	34	50	23	42
7	0	0	16	21	43	61	33	51
8	0	0	31	49	39	55	38	59
9	0	0	40	51	28	47	35	57
10	0	0	34	66	28	45	38	56
Ort. ± SD	00.00 ± 00.00	00.00 ± 00.00	32.50 ± 8.21	44.80 ± 13.43	35.30 ± 7.69	47.80 ± 13.26	30.10 ± 6.23	49.10 ± 7.49



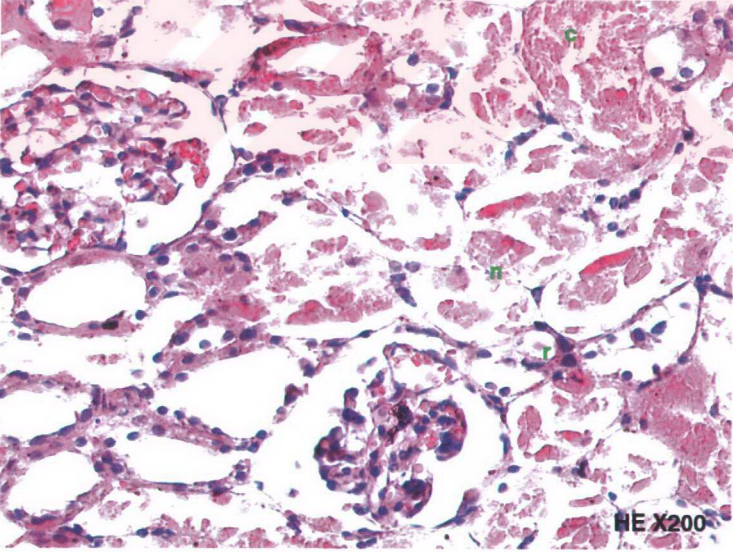
Şekil 19. 1. grubun normal böbrek kesiti izlenmekte (HE x 200)



Şekil 20. 2. grubun böbrek kesitinde nekroz (n), kast (c), rejenerasyon (r) izlenmekte (HE x 200)



Şekil 21. 3. grubun böbrek kesitinde nekroz (n), kast (c), rejenerasyon (r) izlenmekte (HE x 200)



Şekil 22. 4. grubun böbrek kesitinde nekroz (n), kast (c), rejenerasyon (r) izlenmekte (HE x 200)

5. TARTIŞMA

Çizgili kas hücrelerinin harabiyeti olarak tanımlanan rabdomiyoliz sonrasında birçok sistemik sorunla karşılaşabilmektedir. Bunların en önemlisi ise, akut böbrek yetmezliğidir. ¹⁴⁴ Miyoglobürik ABY; özellikle deprem felaketi sonrasında enkaz altından çıkarılan hastalarda sıklıkla görülmektedir; 1976 yılındaki Tangshan Çin depreminde 164851 kişi yaralanmış ve bunların % 2-5'inde crush sendromu gelişmiştir. 1988 Ermenistan depreminde 600, 1995 Kobe Japonya depreminde 372 hastada crush sendromu geliştiği rapor edilmiştir. ^{29,33} Ülkemizde olan 17 Ağustos 1999 Marmara depreminde ise resmi rakamlara göre referans olarak kabul edilen hastanelere toplam 9843 hasta getirilmiş, bunların 5302'si hastanelere yatırılmış ve 425 hasta ölmüştür. Hastaneye yatırılan hastaların 639'unda (% 12) renal problem görülmüş ve bu hastaların 477'si (% 74.6) diyaliz tedavisi görmüştür. Renal problemlili hastaların 97'si (% 15.2) ölmüştür. Ülkemizdeki bu sayı şu ana kadar dünyadaki bu tür felaketler arasında ilk sırada yer almıştır. ^{31,32,34,35}

1988 Ermenistan depreminde 323, 1995 Kobe depreminde 156 ve Marmara depreminde 462 hasta diyaliz tedavisine muhtaç olmuştur. ³⁸

Hipertonik gliserolün im verilmesi sıçanlarda deneysel rabdomiyolize sekonder olarak gelişen ABY oluşturmak için en çok kullanılan ve kabul gören bir model olmuştur. Bu model insanlardaki miyoglobürik ABY'nin deneysel modeli olarak kullanılmaktadır. ^{3-6,38,39}

Hipertonik gliserolün im enjeksiyonu bölgesel miyoliz, hemoliz ve intravasküler hacim azalmasına neden olur. İnvasküler hacim azalması, ciddi kas hasarı sonucu vazokonstriktör etkili endotoksik sitokinlerin dolaşıma salınması, miyoliz ve hemoliz sonucu dolaşıma salınan hem proteinlerinin güçlü bir vazodilatatör olan NO'ı yakalayıcı etkileri renal damarlarda konstriksiyona neden olur. Farklı deneysel ABY modellerinde, NO azalmasının ABY patogenezi şiddetlendirdiği, NO artışının koruyucu rol oynadığı rapor edilmektedir. Bu nedenle hipertonic gliserolün im verilmesiyle oluşturulan ABY modelinde; hem proteinlerinin direkt NO'ı yakalayıcı etkileri nedeniyle böbreklerde hipoperfüzyona ve direkt doku hasarına yol açabileceği rapor edilmektedir. Ayrıca bu modelde yapılan

çalışmalarda NO ve NOS enziminin inhibisyonunun patogenezi kötöleştirdiği, NO donörü verildiğinde koruyucu etki oluşturduğu belirtilmektedir. ^{4,5,145} Valdivielso ve ark. ¹⁴⁶ tarafından im gliserol verilerek oluşturulan miyoglobinürik ABY'inde glomerüler NO üretiminin azaldığı ve bu durumun böbrek fonksiyonlarının azalmasında önemli rol oynadığı ifade edilmektedir. Ayrıca tek taraflı nefrektomi sonrasında glomerüllerde NO sentezinin arttığı ve bu durumun da gliserol ile oluşturulan ABY'ne karşı koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir.

Hem proteinlerinin oluşturduğu ABY'inde renal vazokonstriksiyon sonucu renal tübüllerde ATP'nin azaldığı ve bununla birlikte renal vazokonstriksiyonun proksimal tübüllerde hem proteinlerinin hücre içine alınmasına ve renal tübüllerde kast oluşumunun artışına neden olarak hem proteinlerinin toksik etkisini kolaylaştırdığı belirtilmektedir. Hem proteinlerinin sebep olduğu toksik etkiye serbest demirin aracılık ettiği rapor edilmiştir. Serbest demirin oluşturduğu oksidatif stres genel olarak doku hasarının bir aracısı olarak kabul edilmiştir. Hem proteinlerinin nefrotoksik etkisinin yayılmasında serbest radikallerin rolünün kanıtlanmış olduğu bildirilmektedir. Gliserolün im verilmesiyle oluşturulan miyoglobinürik ABY'inde serbest oksijen radikallerinin rolü yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Miyoglobinüri sırasında sıçan böbreğinde H₂O₂ üretiminin arttığı bildirilmektedir. H₂O₂ serbest demir varlığında Haber-Weis ve Fenton reaksiyonlarıyla daha toksik olan [•]OH radikaline dönüşmektedir. ⁴ Abul-Ezz ve ark. ⁵¹ tarafından miyoglobinürik akut böbrek yetmezliği modelinde eksojen glutatyonun verilmesinin koruyucu rol oynadığı belirtilmektedir. Aynı çalışmada L-buthionine-sulfoximine verilerek glutatyon miktarının azalması sağlanmış ve bu durumun ABY prognozunu kötöleştirdiği bildirilmektedir. Nath ve ark. ¹⁴⁷ deneysel miyoglobinürik ABY'inde serbest demirin sebep olduğu oksidatif hasarda Hem oksijenaz (HO) enzimi ve ferritinin kritik rol oynadığını rapor etmişlerdir. HO enzimi protoporfirin halkasının parçalanmasında rol oynayarak serbest demirin açığa çıkmasında ve ferritinin intrasellüler düzenlenmesinde rol oynar. Oksidatif strese karşı intrasellüler koruyucu sistemde rol aldığı ileri sürölmektedir. ⁵⁷ HO serbest demirin sebep olduğu doku hasarına karşı savunmada anahtar rol oynar. HO enzimi aktivite artışının koruyucu olduğu, inhibisyonunun ise ABY patogenezi şiddetlendirdiği rapor edilmiştir. Aynı çalışmada gliserol verilerek miyoglobinürik ABY geliştirilen grupta CAT ve GPx enzim aktivitelerinin de anlamlı düzeyde azaldığı rapor edilmiştir. Paller bu modelde verilen Desferoksamin (DFO) ve 2,3 dihidrobenzoik asit gibi demir şelatörlerinin koruyucu bir rol oynadıklarını belirtmektedir. ⁴⁹ Shah ve Walker DFO ve OH[•] radikal süpürücülerinin, im gliserol verilerek

oluşturulan miyoglobinin ABY'nde oluşan oksidatif hasara karşı koruyucu bir rol oynadıklarını rapor etmişlerdir.⁵⁰ Her iki çalışmada da lipid peroksidasyonunun böbreklerde anlamlı düzeyde yükseldiği ve OH[·] radikal süpürücülerinin MDA'nın artışını engellediği belirtilmektedir.

Serbest radikaller miyoglobinin ABY'nde içinde yer aldığı farklı böbrek hastalıklarının patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Serbest radikaller diğer organ ve dokularda olduğu gibi böbrek hasarının oluşumunda da kritik bir rol oynamaktadır. Demir bir geçiş metali olduğu için hızlı elektron alış verişinde bulunabilir. Bu durumda serbest demir hem serbest radikal oluşumunu kolaylaştırır hem de kendisi serbest radikal olabilir.⁴⁻⁶

Serbest radikaller bütün makromoleküllerle reaksiyona girerek, organik maddelerin oluşumuna yol açabilirler. Bunların içinde en önemlisi OH[·] radikalının membran fosfolipidleri ile reaksiyona girip lipid peroksidasyonunu başlatmasıdır. Hücre zarları oksidasyona duyarlı ve doymamış yağ asitlerince zengin olan fosfolipidler içerirler. Serbest radikaller oksijen varlığında doymamış yağ asitlerinin bağlarını kıran zincirleme bir reaksiyonu başlatırlar ve oluşan kimyasal radikaller tükenene kadar bu reaksiyon devam eder. Doymamış yağ asidi oksidasyonunun bir ürünü olan MDA, proteinleri ve fosfolipidleri çapraz bağlayarak membran polimerizasyonuna, iyon transportunun bozularak enzim aktivitelerinin kaybına yol açar. Hücre membranının stabilitesi ve potansiyelizasyonu bozulur, neticede hücre içinde aşırı artan kalsiyum hücrenin ölümüne neden olur.¹¹⁷

Serbest oksijen radikalleri değişik alt türlerine bağlı olarak farklı vazoaaktif etkiler oluştururlar. ABY'nin ya da sıklıkla aynı anlamda kullanılan ATN'nin başlangıç ve yerleşim fazlarında; endotelyal şişme ve hasar, hasarlanmış endotele lökosit adhezyonu, endotelden salınan vazokonstriktör maddelerin artması, endotel kaynaklı vasküler gevşemenin bozulması, vazokonstriktör maddelere karşı duyarlılık artışı, nöral uyarıya duyarlılıkta artış, artmış dinlenme damar tonusu ve otoregülasyonda bozukluklar görülür. Bu etkiler temelde, renal hemodinamik ve vasküler bozukluklara neden olur ve bu bozuklukların çoğunda serbest radikaller rol oynayabilir. Gliserol verilerek oluşturulan miyoglobinin ABY'nde, oksidan maddelerin oluşumuna sebep olduğu vazokonstriktif maddelerin hem proteinlerinin oluşturduğu böbrek hasarını arttırdığı bildirilmektedir.⁴⁸

ABY'nin iskemi ve reperfüzyon dönemlerinde olduğu gibi, diğer dönemlerinde de serbest oksijen radikalleri üretilir. Rabdomiyolizde meydana gelen hem proteinlerinin oluşturduğu ATN hem proteinlerinin vazokonstriktif etkileri sonucu oluşan iskemiyile birlikte görülür. İskemik dokudaki oksidatif hasar mekanizmalarından birisi oksidanlara bağlı olarak

iskemi süresince glutasyon miktarının tükenmesi ile ilişkilidir. İskemi sonucu glutasyonun tükenmesi nefrotoksinlerin vazokonstriktör etkilerini artırır. ⁴⁸ Ayrıca iskemik dokuda SOD, CAT ve GPx gibi enzimlerin inaktivasyonu da hızlanır. Bu durumda hücre reperfüzyon sırasında hızla oluşan oksijen radikallerinin etkisine daha duyarlı hale gelir. ¹⁴⁸

Başlıca pineal bezden salgılanan melatoninin, oksidatif stresle bağlantılı olarak hem direkt radikal yakalayıcı hem de indirekt olarak etkili bir antioksidan olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Melatoninin serbest radikallere karşı süpürücü etkisini H₂O₂, ·OH, NO·, ONOO⁻, HOCl, singlet oksijen ve peroksi radikali üzerinde gösterdiği, ayrıca SOD, GPx, GR, G6PD enzim aktivitelerini arttırarak antioksidan etki gösterdiği bildirilmektedir. ^{121-138,149} Ayrıca Osseni ve ark. ¹⁵⁰ insan karaciğer hücrelerinde in vitro yapılan bir çalışmada melatoninin konsantrasyon artışına bağlı olarak prooksidan etki gösterdiğini gözlemlemişler ve melatoninin bu etkisini reaktif oksijen türlerinin oluşumunu arttırarak gösterdiğini bildirmişlerdir. Wölfler ve ark ¹⁵¹ insan lökemik Jurkat hücrelerinde yaptıkları in vitro bir çalışmada melatoninin güçlü bir prooksidan etki gösterdiği ve bu etkisine bağlı olarak hücre ölümünü arttırdığını gözlemlemişlerdir. Bu yüzden melatoninin iki yönlü hücre redoks durumunun bir düzenleyicisi olabileceğini fakat oksidatif hasara karşı koruyucu olarak gerekli olmadığını bildirmişlerdir.

ABY mortalite hızında diyaliz ve tıp alanındaki ilerlemelere rağmen son 30 yıl içerisinde bir azalma görülmemiştir. Yüksek mortalite hızı, diyaliz tedavisindeki maliyetin yüksekliği ve kalıcı böbrek hasarlarının oluşması nedeniyle, ABY'nin önlenmesi ya da hastalığın şiddetinin azaltılmasına yönelik tedavi şekillerinin denenmesi artarak devam etmektedir.

Çalışmamızda miyoglobinürik ABY deneysel modeli kullanılarak farklı dozlarda melatoninin miyoglobinürik ABY üzerine etkileri araştırıldı.

Kas içi ve ip olarak FS uygulanan ve sağlıklı kontrol grubu olarak kabul edilen 1. grubun tüm parametreleri bazal olarak alındı. Bu gruptaki deneklerin HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; glomerüllerde, tübülüslerde ve interstisyel alanda belirgin bir patolojik bulguya rastlanmadı.

Kas içi gliserol uygulanarak miyoglobinürik ABY geliştirilen 2. grup sıçanlarda doku MDA seviyesinde 1. gruba göre p<0.001 düzeyinde anlamlı bir artış görüldü. Daha önce yapılan çalışmalarda gliserol verilerek miyoglobinürik ABY oluşturulan sıçanların böbreklerinde, serbest radikallerin neden olduğu hasarın bir göstergesi olan lipid peroksidasyonun son ürünü MDA seviyesinin anlamlı düzeyde arttığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda MDA seviyesindeki anlamlı artış araştırmacıların bulguları ile uyumludur. ^{49,50,152} Doku SOD, CAT, GPx aktivitelerinde ise sağlıklı kontrol grubuna göre sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$ ve $p<0.01$ düzeylerinde anlamlı bir azalma görüldü. Deneysel miyoglobinürik ABY modelinde daha önce yapılan çalışmalarda SOD enzim aktivitesi bakılmamış olduğundan karşılaştırma imkanı bulamadık. Nath ve ark. ¹⁴⁷ tarafından gliserol verilerek miyoglobinürik ABY oluşturulan sıçanlarda, 6. ve 24. saatte böbrek dokusu CAT ve GPx aktivitelerinin gliserol verilmeyen gruba göre anlamlı düzeyde baskılandığı rapor edilmiştir. Bu bulgular bizim çalışmamızın CAT ve GPx enzim aktiviteleri ile uyumluluk göstermektedir.

Glomerüler fonksiyon bozukluğunun bir göstergesi olan $P_{üre}$ ve P_{krea} seviyeleri 1. gruba göre $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artış görüldü. $P_{üre}$ ve P_{krea} düzeylerindeki anlamlı artış daha önce bu modelde yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. ^{43,50,51,145,152-156} P_{Na} seviyesinde 1. gruba göre $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma görüldü. P_K seviyesinde ise 1. gruba göre anlamlı olmayan bir artış görüldü. P_K 'daki anlamlı olmayan yükselmenin ABY gelişimi nedeniyle idrarla atılımın azalmasından ve kas hücrelerinin hasarı nedeniyle dolaşıma salınan hücre içi K'dan kaynaklandığı bildirilmektedir. ^{20,144}

Bu grupta $\dot{I}_{üre}$, \dot{I}_{krea} , \dot{I}_{Na} , \dot{I}_K seviyelerinde 1. gruba göre $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma ve \dot{I}_{prot} seviyesinde $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma görüldü. Nevaz ve Oyekan tarafından sıçanlarda gliserol verilerek oluşturulan miyoglobinürik ABY modelinde \dot{I}_{Na} atılımında anlamlı bir azalma ve \dot{I}_{prot} atılımında anlamlı bir artma olduğu bildirilmiştir. ⁴³ Bu bulgular bizim bulgularımızla uyumludur.

Bu grubun böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; tübüllerde nekroz % 32.50 ± 8.21 ve tübül içi kast oluşumu % 44.80 ± 13.43 oranındaydı. Tübüllerde bazı kesitlerde daha belirgin olmak üzere % 25-75 oranında değişen tübüler dilatasyonlar mevcuttu. Tübüler hücrelerde 1. gruba göre daha belirgin hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekmekteydi. Tübüler hücre rejenerasyonu 1. gruba göre biraz daha belirgindi. Bu gruptaki histopatolojik bulgular daha önce gliserol verilerek miyoglobinürik ABY oluşturulan çalışmalara benzer şekilde tübüllerde nekroz, kast oluşumu, tübül hücrelerinde sitoplazmik hidropik şişme ve vakuolizasyon bakımından uyumluluk göstermekteydi. ^{51,57,152,154,155}

Sonuç olarak 2. gruptaki sıçanların hem biyokimyasal hem de histolojik bulguları bu deneklerde belirgin derecede ABY geliştiğini göstermektedir.

Kas içi gliserol uygulanarak miyoglobinürik ABY geliştirilen, gliserol enjeksiyonuyla eş zamanlı ve 24 saat sonra 5 mg/kg dozunda melatonin ip verilen 3. grup sıçanlarda doku

MDA seviyesinde 1. gruba göre $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir artış görüldü. 2. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış görüldü. Doku SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde 1. gruba göre sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.01$ düzeylerinde anlamlı azalma görüldü. 2. gruba göre CAT aktivitesinde $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma bulundu. SOD ve GPx aktivitelerinde anlamlı bir farklılık bulunmadı.

$P_{\text{üre}}$ ve P_{krea} düzeylerinde 1. gruba göre $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir artış görüldü. 2. gruba göre anlamlı bir farklılık bulunmadı. P_{Na} seviyesinde 1. gruba göre $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma görüldü, 2. gruba göre ise anlamlı bir farklılık bulunmadı. P_{K} düzeyinde hem 1. gruba hem de 2. gruba göre anlamlı bir farklılık görülmedi.

Bu grupta $\dot{I}_{\text{üre}}$, \dot{I}_{krea} , \dot{I}_{Na} , \dot{I}_{K} düzeylerinde 1. gruba göre $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma görüldü. 2. gruba göre anlamlı bir farklılık bulunmadı. \dot{I}_{prot} düzeyinde 1. gruba göre $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma görüldü, 2. gruba göre ise anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Bu grubun böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; tübüllerde nekroz 2. gruba göre biraz daha belirgindi ($\% 35.30 \pm 7.69$) ve tübül içi kast oluşumu 2. gruba göre biraz daha fazlaydı ($\% 47.80 \pm 13.26$). Tübüllerde 2. gruba göre daha belirgin dilatasyonun yanı sıra hemen hemen 2. gruptakine yakın oranlarda tübüler hücrelerde hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekti. Tübüler hücre rejenerasyonu 2. gruba çok yakındı. Glomerüllerde bir değişiklik saptanmadı. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu.

Kas içi gliserol uygulanarak miyoglobürik ABY geliştirilen, gliserol enjeksiyonuyla eş zamanlı ve 24 saat sonra 10 mg/kg dozunda melatonin ip verilen 4. grup sıçanlarda doku MDA seviyesinde 1. gruba göre $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir artış görüldü. 2. ve 3. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış görüldü. Doku SOD, CAT, GPx aktivitelerinde 1. gruba göre $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı azalma görüldü. 2. ve 3. gruba göre SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde anlamlı bir farklılık bulunmadı.

$P_{\text{üre}}$ ve P_{krea} düzeylerinde 1. gruba göre $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir artış görüldü. 2. ve 3. gruba göre anlamlı bir farklılık bulunmadı. P_{Na} değerinde 1. gruba göre $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma görüldü, 2. ve 3. gruba göre ise anlamlı bir farklılık bulunmadı. P_{K} düzeyinde tüm gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmedi.

Bu grupta $\dot{I}_{\text{üre}}$, \dot{I}_{krea} , \dot{I}_{Na} , \dot{I}_{K} değerlerinde 1. gruba göre $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma görüldü, 2. ve 3. gruba göre anlamlı bir farklılık bulunmadı. \dot{I}_{prot} düzeyinde 1. gruba göre $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma görüldü, 2. ve 3. gruba göre ise anlamlı bir farklılık

bulunmadı

Bu grubun böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; tübül içi kast oluşumu 2. ve 3. gruba göre biraz daha fazla idi (%49.10 ± 7.49). Tübüler hücrelerde izlenen nekroz 2. grup ile hemen hemen aynı miktarda olmasına rağmen 3. gruba göre çok az düşük bulundu (%30.10 ± 6.23). Tübüler hücrelerde 2. ve 3. gruplara göre biraz daha belirgin hidropik sitoplazmik şişme izlenirken vakuolizasyon biraz azalmıştı. Tübüler dilatasyon 2. ve 3. gruplara göre biraz daha belirgindi. Glomerüllerde bir değişiklik görülmedi. Peritübüler stromada ödem ve vasküler konjesyon mevcuttu. Tübüler hücrelerdeki rejenerasyon 2. ve 3. gruplar ile aynıydı.

Çalışmamızda 3. ve 4. grupların bulguları arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir. Ancak 2. gruba göre 3. grupta CAT aktivitesinin anlamlı düzeyde azaldığı görüldü.

Mun ve Suh tarafından sıçanlarda, siklosporinin oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı 14 gün süreyle subkutan siklosporin enjeksiyonuyla birlikte 715 µg/kg dozunda ip verilen melatoninin sadece siklosporin verilen gruba göre doku MDA, BUN düzeylerinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu ve serum kreatinin düzeyinde ise anlamlı bir farklılık oluşturmadığı bildirilmiştir.⁹

Shin ve ark.¹⁰ tarafından sıçanlarda, siklosporinin oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı 14 gün süreyle subkutan siklosporin enjeksiyonuyla birlikte 715 µg/kg dozunda ip verilen melatoninin sadece siklosporin verilen gruba göre doku MDA seviyesinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu ve doku SOD, CAT, GPx aktivitelerinde bir farklılık oluşturmadığı bildirilmektedir.

Kumar ve ark.¹¹ tarafından sıçanlarda oral verilen siklosporinden üç gün önce ve 14 gün birlikte 500 µg/kg dozunda oral verilen melatoninin; siklosporinin oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı serum kreatinin, kan üre ve plazma MDA düzeylerinde anlamlı azalmaya neden olduğu bildirilmektedir.

Özbek ve ark.¹² tarafından sıçanlarda 5 gün süreyle subkutan gentamisin enjeksiyonuyla aynı anda 500 µg/kg dozunda ip verilen melatoninin; gentamisinin oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı CAT, SOD, GPx aktivitelerini anlamlı düzeyde arttırdığı ve MDA düzeyini anlamlı düzeyde azalttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada idrar protein düzeyinde anlamlı azalma, BUN ve serum kreatinin düzeylerinde bir farklılık olmadığı ve histolojik bulgularda belirgin derecede tübüler nekrozun azaldığı bildirilmektedir.

Shifow ve ark.¹³ tarafından sıçanlarda ip gentamisin enjeksiyonundan 3 gün önce ve

birlikte 8 gün süresince 5 mg/kg dozunda intragastrik verilen melatoninin idrar protein, kan üre, serum kreatinin düzeylerinde anlamlı bir azalma, plazma ve doku MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma, doku SOD, CAT, GPx aktivitelerinde anlamlı bir artma oluşturduğu rapor edilmektedir. Histolojik olarak bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir.

Şener ve ark. ¹⁴ tarafından sıçanlarda 14 gün süreyle günde 2 kez gentamisin enjeksiyonundan 30 dk önce 10 mg/kg dozunda ip melatonin verilerek gentamisinin oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada melatonin BUN, serum kreatinin, doku MDA, protein oksidasyonu düzeyinde ve miyeloperoksidaz enzim aktivitesinde anlamlı azalmaya neden olduğu ve gentamisinin oluşturduğu nefrotoksik etki ve oksidatif hasara karşı koruyucu rol oynadığı rapor edilmektedir.

Şener ve ark. ⁷ tarafından sıçanlarda iskemi-reperfüzyon böbrek hasarında iskemi oluşturulmadan 15 dk önce ve reperfüzyon döneminden hemen önce subkutan yolla 10 mg/kg dozunda melatoninin iskemi reperfüzyonu oluşturduğu böbrek hasarına karşı koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir.

Bizim laboratuvarımızda sıçanlarda iskemik akut böbrek yetmezliğinde iskemi oluşturulmadan 30 dk önce 10 mg/kg dozunda i.p verilen melatoninin böbrek SOD, GPx enzim aktivitelerini anlamlı derecede arttırdığı ve doku MDA düzeyinde anlamlı bir azalma oluşturduğu görüldü. ⁸

Montilla ve ark. ¹⁵ tarafından sıçanlarda tek doz adriyamisin enjeksiyonundan 3 gün önce ve 7 gün sonra 50 µg/kg dozunda i.p enjekte edilen melatoninin serum ve böbrek MDA düzeyinde anlamlı azalma, GSH düzeyinde anlamlı artmaya, böbrek CAT aktivitesinde anlamlı bir artma ile serum üre, kreatinin ve idrar protein düzeylerinde anlamlı bir azalmaya neden olarak adriyamisin oluşturduğu hiperlipidemik nefropatiye karşı koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir.

Agapito ve ark. ¹⁶ tarafından sıçanlarda tek doz adriyamisin enjeksiyonundan 4 gün önce ve 6 gün sonra 50 µg/kg dozunda i.p enjekte edilen melatoninin sadece adriyamisin verilen gruba göre böbrek dokusu lipid peroksidasyonunda anlamlı bir azalmaya, glutatyon seviyesinde anlamlı bir artışa neden olduğu ve GPx aktivitesinde herhangi bir farklılık oluşturmadığı bildirilmektedir.

Nava ve ark. ¹⁷ tarafından sıçanlarda subkutan cıva klorür verilerek oluşturulan nefrotoksik ABY'inde 1 mg/kg dozunda gavajla 30 dk önce verilen melatoninin sadece cıva klorür verilen gruba göre serum kreatinin düzeyinde 24, 48 ve 72. saatlerde sakrifiye edilen

sıçanlarda anlamlı bir azalmaya, böbrek dokusu MDA düzeyinde 24 ve 48. saatlerde anlamlı bir azalmaya neden olduğu, 72. saatte anlamlı bir fark oluşturmadığı, doku glutatyon düzeyinde 24 ve 72. saatlerde anlamlı bir fark oluşturmadığı, 48. saatte anlamlı bir artışa neden olduğu bildirilmiştir. GPx aktivitelerinde anlamlı farklılığa sebep olmadığı, CAT aktivitesinde 24. saatte anlamlı bir artışa yol açtığı, 48., 72. saatlerde fark olmadığı ve histolojik değişikliklerde koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada araştırmacılar melatoninin ideal verilme zamanını belirlemek amacıyla cıva klorür enjeksiyonu ile aynı zamanda melatonin vererek bir başka grup oluşturmuşlardır. Bu grubun bulguları sadece cıva klorür verilen grup ile karşılaştırıldığında serum kreatinin, böbrek dokusu MDA ve GSH düzeyleri ile CAT, GPx aktiviteleri ve histopatolojik değişikliklerde istatistiksel olarak farklılık olmadığı bildirilmektedir. Araştırmacılar bu çalışmada melatoninin cıva klorür enjeksiyonundan en az 30 dk önce verildiğinde yararlı etkilerinin görülebileceğini, melatoninin cıva klorür ile birlikte veya daha sonra verilmesinin böbrek fonksiyonları, oksidatif hasar ve histopatolojik olarak böbrek hasarı üzerinde koruyucu bir etki göstermeyeceğini rapor etmişlerdir. Cıva klorür; nefrotoksik akut böbrek yetmezliğinin patofizyolojisini çalışmak için yaygın olarak kullanılır. Bu deneysel model hemodinamik ve fonksiyonel değişiklikler ile histolojik hasar, renin-anjiyotensin sistemin aktivasyonu, şiddetli renal vazokonstriksiyon, GFR'de azalma, ilerleyen azotemi ile karakterizedir.

Yukarıda özetlenen daha önce yapılmış çalışmalarda melatoninin birçok böbrek hastalığında koruyucu rol oynadığı bildirilmektedir. Ancak çalışmamızda elde edilen biyokimyasal ve histolojik bulgular melatoninin miyoglobinin ABY'inde iyileşme sağlamadığını göstermektedir.

Hipertonik gliserolün im verilmesiyle oluşturulan miyoglobinin ABY modelinde melatoninin etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bizim çalışma sonuçlarımızın daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olmaması; melatoninin dozu, veriliş yolu, verilme zamanı, verilme sürelerindeki farklılıklar ve miyoglobinin ABY oluşum mekanizmasında etkili faktörlerin diğer böbrek hastalıklarından farklı olmasına bağlı olabilir.

Daha önceki ABY modellerindeki çalışmalarda melatonin oral, ip, im ve subkutan yollarla, 50 µg ile 10 mg/kg dozları arasında verilmiştir. Ayrıca melatonin bu çalışmaların çoğunda renal hasardan önce verilmiştir. Bu zaman dilimi 15 dk ile 4 gün arasında değişmektedir. Bizim çalışmamızda melatoninin gliserol enjeksiyonundan önce verilmesi klinik duruma uygun olmayacağı için, biz melatonin gliserol enjeksiyonundan hemen sonra

vermeyi uygun gördük.

Hipertonik gliserolün im verilmesi ile oluşturulan miyoglobürik ABY'nin oluşumunda önemli olan faktör renal hipoperfüzyonun nedeni olarak hipovolemi yanında başka etkenlerin de rol oynamasıdır. Miyoliz sonucu kaslardan salınan vazokonstriktör sitokinlerle, miyoliz ve hemoliz sonucu dolaşıma salınan hem proteinlerinin böbrek kanlanmasıda önemli rolü olan renal NO'ü tüketmesi en önemli etkenlerdir.

Melatoninin birçok çalışmada NO'ü yakalayıcı etkisi ve NOS enzim aktivitesinde inhibisyona neden olduğu rapor edilmiştir. ^{121-123,136-138,149,157} Ayrıca Áarseth ve ark. ¹⁵⁸ tarafından yapılan çalışmada melatoninin fok ve domuzların böbrek arterlerinde noradrenalinin oluşturduğu vazokonstriktif etkiyi arttırdığı ve melatonin reseptör antagonisti luzindolün, bu etkiyi % 80 azalttığı bildirilmiştir. Okatani ve ark. ¹⁵⁹ tarafından insan göbek arterinde in vitro yapılan çalışmada melatoninin vasküler gerilimi arttırdığı ve bunun endotelial NO'ü yakalayıcı etkisiyle olabileceği belirtilmektedir. Sokkary ve ark. ¹⁶⁰ tarafından Schistosoma mansoni ile enfekte edilen farelerde böbrek NO seviyesinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artışa neden olduğu ve enfekte farelere melatonin verilen grupta, hem kontrol grubu hem de enfekte edilen gruba göre NO seviyesinde anlamlı düzeyde bir azalma olduğunu rapor etmişlerdir.

Melatoninin farklı deneysel ABY modellerinde koruyucu rol oynadığı literatürde görülmektedir. Bizim çalışmamızda melatoninin deneysel miyoglobürik ABY'nde iyileştirici etkisinin olmadığı ve hatta patogenezi daha da ağırlaştırdığı görülmüştür. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguları literatür bilgileri ile birlikte değerlendirdiğimizde; melatoninin bu modeldeki olumsuz etkisinin görülmesinde birkaç faktör rol oynayabilir. Bunlar;

1. Melatoninin böbreklerde güçlü bir vazodilatatör olan NO'ü yakalayıcı etkisi ve NOS enzim aktivitesini inhibe ediyor olması.

2. Renal arterlerde konstraksiyonu artırıcı etkisi.

Bu iki etki ile bu modelde oluşan vazokonstriksiyonu ve buna bağılı olarak gelişen renal iskemiye şiddetlendirdiği düşünülebilir.

3. Melatoninin in vitro çalışmalarda konsantrasyon artışına bağılı olarak reaktif oksijen türlerinin oluşumunu artırarak prooksidan etki göstermesi. Bu etkisi ile de serbest radikal aracılığıyla oluşan hasarı arttırdığı düşünülebilir.

Bütün bu bulgular ve gözlemler, deneysel miyoglobürik ABY modelinde melatonin tedavisi ile görülmeyen iyileşmenin mekanizmasını kesin olarak göstermede yetersiz

kalmaktadır. Bu konuda melatoninin dozu, verilif yolu, verilme zamanı ve verilme sfirelerinde yapılacak dzenlemeler ile renal kan akımı, renal NO ve GSH dizeyi, NOS enzim aktivitesi izerindeki etkilerini araştıran daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu dufunsesindeyiz.



6. SONUÇ

Çalışmamızda hipertonic gliserolün im enjeksiyonuyla oluşturulan miyoglobinürik ABY'inde uyguladığımız deney prosedüründe melatoninin doku antioksidan enzimler, lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA ve böbrek fonksiyonlarına etkisi incelendi. Melatoninin etkisi bu modelde ilk kez denendi. Sonuçlar incelendiğinde;

Lipid peroksidasyon belirteçlerinden olan MDA düzeyi, 1. gruba göre 2., 3. ve 4. grupta anlamlı düzeyde yükseldi. 2. gruba göre 3. ve 4. grupta istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış görüldü.

SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinin 1. gruba göre 2., 3. ve 4. grupta anlamlı düzeyde azaldığı görüldü. CAT enzim aktivitesinin 2. gruba göre 3. grupta anlamlı düzeyde azaldığı görüldü.

Glomerüler fonksiyonun göstergesi olan $P_{üre}$ ve P_{krea} seviyelerinin 1. gruba göre 2., 3. ve 4. grupta $P_{üre}$ ve P_{krea} değerlerinin anlamlı düzeyde arttığı görüldü.

P_{Na} değerinde 1. gruba göre 2., 3. ve 4. grupta anlamlı düzeyde, P_K değerinde ise anlamlı olmayan bir artış görülürken; $I_{üre}$, I_{krea} , I_{Na} ve I_K değerlerinin anlamlı düzeyde azaldığı, I_{prot} düzeyinin ise anlamlı düzeyde arttığı görüldü.

Böbrek kesitlerinin histopatolojik incelenmesinde; 2., 3. ve 4. gruplarda tübüllerde nekroz, tübül içi kast oluşumu yönünden anlamlı bir farklılık görülmedi.

Deneysel çalışma süresince 2. grupta 1, 3. grupta 3 ve 4. grupta 6 tane sıçan gelişen komplikasyonlarla öldü.

Sonuç olarak bulgularımız; melatoninin deneysel miyoglobinürik ABY gelişimini önlemede yararlı etkisinin olmadığını göstermektedir. Melatoninin hipertonic gliserolün im verilmesiyle oluşturulan miyoglobinürik ABY üzerindeki etkilerinin; doz, verilme yolu, verilme zamanı ve verilme sürelerinde yapılacak düzenlemeler ile renal kan akımı, renal ve sistemik NO düzeyi, renal GSH düzeyi ve NOS enzim aktivite tayini de yapılarak daha kapsamlı çalışmalarla ayrıntılı olarak araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

7. ÖZET

Günümüzde iskelet kasının travma veya metabolik nedenlerle hasarı sonucu sekonder gelişen miyoglobinürik akut böbrek yetmezliği (ABY) yüksek oranda görülmekte ve patogenezinde serbest oksijen radikalleri önemli rol oynamaktadır. Çalışmamızda hipertonic gliserolün intramüsküler (im) verilmesiyle oluşturulan miyoglobinürik ABY'nde melatoninin etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda 260-300 gram ağırlığında, 50 adet erkek Wistar Albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele 4 gruba ayrıldı ve serbest diyetle 16 saat susuz bırakıldıktan sonra; grup 1'deki sıçanlara fizyolojik serum (FS), 2., 3. ve 4. gruplara % 50'lik gliserol solüsyonundan 10 ml/kg'a göre bulunan toplam hacim eşit miktarlarda her iki arka bacağına im enjekte edildi. Gliserol ve FS'un im enjeksiyonuyla eş zamanlı ve 24 saat sonra 1. ve 2. gruplara FS, 3. gruba 5 mg/kg ve 4. gruba 10 mg/kg dozunda melatonin intraperitoneal (ip) verildi. 24. saatteki ip enjeksiyonundan hemen sonra sıçanlar metabolik kafese alınarak 24 saatlik idrarları toplandı. Gliserol enjeksiyonundan 48 saat sonra sıçanlar xylazin-ketamin anestezisi altında kan ve böbrekleri alındı. Böbrek dokusunda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri, malondialdehit (MDA) düzeyi ile plazma üre, kreatinin, sodyum (Na) ve potasyum (K) düzeyleri ve idrar üre, kreatinin, Na, K, protein düzeyleri ile histopatolojik değişiklikler incelendi. Verilerin istatistiksel analizleri, gruplar arası fark olup olmadığı Kruskal-Wallis testi; iki grup arasındaki farkın anlamlılık derecesi Mann Whitney U testi ile değerlendirildi.

Çalışmamızın bulguları gliserol verilen gruplarda ABY'nin geliştiğini, 3. grupta 2. gruba göre CAT aktivitesinin azaldığını gösterdi. 2., 3. ve 4. grupların diğer bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. Bu çalışmanın sonuçlarından elde ettiğimiz veriler doğrultusunda; melatoninin deneysel miyoglobinürik ABY'nde koruyucu bir etkisinin olmadığını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Melatonin, Miyoglobinürik Akut Böbrek Yetmezliği, Serbest Radikaller, Malondialdehit, Antioksidan Enzimler

8. SUMMARY

THE EFFECT OF EXOGENOUS MELATONIN ON KIDNEY FUNCTION IN EXPERIMENTAL MYOGLOBINURIC ACUTE RENAL FAILURE

Nowadays, myoglobinuric acute renal failure (ARF) developing secondarily after a traumatic or metabolic damage to skeletal muscle are frequently encountered. Free oxygen radicals play a crucial role in the pathogenesis of these failures. In this study, we aimed to investigate the effect of melatonin on the myoglobinuric ARF formed by injecting hypertonic glycerol intramuscular (im).

In the study, 50 male Wistar Albino rats which were 260-300 grams in weight were used. The rats were randomly divided into 4 groups. Afterwards, having left dehydrated on free diet for 16 hours, the rats in group 1 were given saline and those in groups 2, 3 and 4 were injected with glycerol solution (50 %) at a ratio of 10 ml/kg in equal amounts in their hindlimbs. 24 hours later on, groups 1 and 2 were injected with saline, group 3 with 5 mg/kg of melatonin intraperitoneal (ip) and group 4 with 10 mg/kg of ip, simultaneously. Just after the ip injection at the 24th hour, the rats were put in the metabolic cages and their urine was collected for 24 hours. 48 hours after the glycerol injection, the blood and kidneys of the rats were taken under the anesthesia of xylazine-ketamin. The enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) and the level of malondialdehit (MDA) were examined in the kidney tissue, the levels of urea, creatinin, sodium and potassium were examined in the plasma, and the levels of urea, creatinin, sodium, potassium and protein were examined in the urine. Also, histopathological changes were studied. The Kruskal-Wallis test was employed to statistically analysis of the data to evaluate whether there was any difference between the groups; and the Mann Whitney U test was used to assess the significance degree of the difference between the two groups.

The findings of our study shows that ARF developed in the glycerol-injected groups and that the CAT activity decreased in group 3 compared to group 2.

No significant difference was detected between the other findings of group 2, 3, and 4. In the light of the data obtained as a result of this study, we maintain that melatonin does not have a protective effect on the experimental myoglobinuric ARF.

Key words: Melatonin, Myoglobinuric Acute Renal Failure, Free Radicals, Malondialdehyd, Antioxidant Enzymes



9. KAYNAKLAR

1. Albright RC, Do J. Acute renal failure: A practical update. *Mayo Clin Proc.* 2001; 76:67-74.
2. Sever MŞ. Crush (ezilme) sendromu ve marmara depreminden çıkarılan dersler. İstanbul: Türk Nefroloji Derneği Yayınları, 2002; 13-74.
3. Slater MS, Mullins RJ. Rhabdomyolysis and myoglobinuric renal failure in trauma and surgical patients: A review. *J Am Coll Surg.* 1998;186: 693-716.
4. Zager RA. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. *Kidney Int.* 1996; 49: 314-326.
5. Abbasi ZA, Hoffman A, Better OS. Acute renal failure complicating muscle crush injury. *Seminars in Nephrology* 1998; 18:558-565.
6. Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Am J Kid Dis.* 1997; 29(3):465-477.
7. Sener G, Sehirli AÖ, Keyer-Uysal M, Arbak S, Ersoy Y, Yeğen BÇ. The protective effect of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in the rat. *J Pineal Res.* 2002; 32(2):120-126.
8. Aydoğdu N, Kaymak K, Yalçın Ö, Şen S, Çukur Z. Sıçanlarda iskemik akut böbrek yetmezliğinde C vitamini ve melatoninin etkileri. 28. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Özet Kitabı, P-094, 24-27 Eylül 2002, İzmir, s:123.
9. Mun KC, Suh SI. Effect of melatonin on renal function in cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant Proc.* 2000; 32:1919-1920.
10. Shin SH, Lee SH, Mun KC. Effect of melatonin on the antioxidant enzymes in the kidneys of cyclosporine-treated rats. *Transplant Proc.* 2002; 34:2650-2651.
11. Kumar KV, Naidu MUR, Shifow AA, Prayag A, Ratnakar KS. Melatonin: An antioxidant protects against cyclosporine-induced nephrotoxicity. *Transplantation* 1999; 67:1065-1068.
12. Özbek E, Turkoz Y, Sahna E, Ozugurlu F, Mızrak B, Ozbek M. Melatonin administration prevents the nephrotoxicity induced by gentamicin. *BJU International* 2000; 85:742-746.

13. Shifow AA, Kumar KV, Naidu MUR, Ratnakar KS. Melatonin, a pineal hormone with antioxidant property, protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Nephron* 2000; 85:167-174.
14. Sener G, Sehirli AÖ, Altunbas HZ, Paskaloglu K, Arbak S, Ayanoglu-Dulger G. Melatonin protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *J Pineal Res.* 2002; 32(4):231-236.
15. Montilla P, Tunez I, Munoz MC, Lopez A, Soria JV. Hyperlipidemic nephropaty induced by adriamycin: effect of melatonin administration. *Nephron* 1997; 76(3):345-350.
16. Agapito MT, Antolin Y, Del Brio MT, Lopes-Burillo S, Pablos MI, Recio JM. Protective effect of melatonin against adriamycin toxicity in the rat. *J Pineal Res.* 2001; 31:23-30.
17. Nava M, Romero F, Quiroz Y, Parra G, Bonet L, Rodriguez-Iturbe B. Melatonin attenuates acute renal failure and oxidative stress induced by mercuric chloride in rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2000; 279:F910-F918.
18. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med.* 1996; 334:1448-1460.
19. Arık N. Akut böbrek yetmezliğinde tanımlamalar ve klinik değerlendirme. In: Arık N, editör. *Nefroloji.* İstanbul: Deniz Yayıncılık, 2001; 155-161.
20. Bonventre JV, Shah SV, Walker PD, Humphreus MH. Acute renal failure: İschemic, toxic, other. In Jacobson HR, Striker GE, Klahr S, editors. *The principles and practice of nephrology.* 2nd ed. St Louis: Mosby-Year Book Inc., 1995: ch. 86, 564-576.
21. Agmon Y, Brezis M. Acute renal failure: A multifactorial Syndrome: *Contrib Nephrol.* 1993; 102: 23-36.
22. O'meara YM, Bernard DB. Clinical presentation, complications, and prognosis of acute renal failure. In Jacobson HR, Striker GE, Klahr S, editors. *The principles and practice of nephrology.* 2nd ed. St Louis: Mosby-Year Book Inc., 1995: ch. 87, 577-584.
23. Druml W: Prognosis of acute renal failure 1975-1995. *Nephron* 1996; 73:8-15.
24. Chatterjee PK, Patel NSA, Kvale EO, Cuzzocrea S, Brown PAJ, Stewart KN, et al. İnhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney İnt.* 2002; 61:862-871.
25. Star RA. Treatment of acute renal failure. *Kidney İnt.* 1998; 54:1817-31.
26. Cadnapaphornchai P, Alavalapati RK, McDonald FD. Differential Diagnosis of acute renal failure. In Jacobson HR, Striker GE, Klahr S, editors. *The principles and practice of nephrology.* 2nd ed. St Louis: Mosby-Year Book Inc., 1995: ch. 85, 555-563.
27. Lameire N, Vanholder R. pathophysiologic features and prevention of human and experimental acute tubuler necrosis. *Am Soc Nephrol.* 2001; 12(2):20S-32.

28. Vanholder R, Lameire N. Acute renal failure: future directions for research. *Nephrology* 2001; 6:57-61.
29. Better OS. History of the crush syndrome: from the earthquakes of messina, sicily 1909 to spitak, Armenia 1988: *Am J Nephrol.* 1997; 17:392-394.
30. Bywaters EGL, Beall D. crush injuries with impairment of renal function. *BMJ* 1941; 1: 427-432.
31. Vanholder R, Sever MS, Smet MD, Ereğ E, Lameire N. Intervention of the renal disaster relief task force in the 1999 Marmara, Turkey earthquake. *Kidney İnt.* 2001; 59:783-791.
32. Sever MS, Ereğ E, Vanholder R, Akoglu E, Yavuz M, Ergin H, et al. The Marmara earthquake: epidemiological analysis of the victims with nephrological problems. *Kidney İnt.* 2001; 60(3):1114-1123.
33. Jun O, Hiroshi T, Tashiharu Y, Atsushi I, Hitoshi Y, Kazuo I, et al. Analysis of 372 patients with crush syndrome caused by the Hanshin-Awaji earthquake. *Trauma* 1997; 42(3): 470-476.
34. Sever MŞ, Ereğ E, Vanholder R, Özener Ç, Yavuz M, Ergin H, et al. The Marmara earthquake: admission laboratory features of patients with nephrological problems. *Nephrol Dial Transplant.* 2002; 17:1025-1031.
35. Ekrem E, Sever MŞ, Serdengeçti K, Vanholder R, Akoğlu E, Yavuz M, et al. An overview of morbidity and mortality in patients with acute renal failure due to crush syndrome: the Marmara earthquake experience. *Nephrol Dial Transplant.* 2002; 17(1):33-40.
36. Richards JR. Rhabdomyolysis and drugs of abuse. *The Journal of Emergency Medicine* 2000; 19(1):51-56.
37. Beetham R. Biochemical investigation of suspected rhabdomyolysis. *Ann Clin Biochem.* 2000; 37:581-587.
38. Vanholder R, Sever MŞ, Ereğ E, Lameire N. Rhabdomyolysis. *J Am Soc Nephrol.* 2000; 11: 1553-1561.
39. Visweswaran P, Guntupalli J. Rhabdomyolysis. *Critical Care Clinics* 1999 April; 15(2):415-428.
40. David WS. Myoglobinuria. *Neurologic Clinics* 2000; 18(1):215-233.
41. Sauret JM, Marinides G, Wang GK. Rhabdomyolysis. *American Family Physician* 2002 March; 65(5):907-912.
42. Russell TA. Acute renal failure related to rhabdomyolysis: pathophysiology, diagnosis, and collaborative management. *Nephrology Nursing Journal* 2000; 27(6):567-577.
43. Newaz MA, Oyekan AO. Vascular responses to endothelin-1, angiotensin-II, and

U46619 in glycerol-induced acute renal failure. *J Cardiovascular Pharm.* 2001; 38:569-577.

44. Newaz MA, Oyekan AO. Contribution of renal oxygenases to glycerol-induced acute renal failure in the rat. *J Cardiovascular Pharm.* 2002; 39:834-841.
45. Zager RA, Gamelin LM. Pathogenetic mechanism in experimental hemoglobinuric acute renal failure. *Am J Physiol.* 1989; 256:F446-55.
46. Zager RA. Pathogenetic mechanisms in nephrotoxic acute renal failure. *Seminars in Nephrology* 1997; 17(1):3-14.
47. Laurent B, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol.* 1986; 251:F765-76.
48. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med.* 2000; 109:655-678.
49. Paller MS. Hemoglobin-and myoglobin-induced acute renal failure in rats: role of iron in nephrotoxicity. *Am J Physiol.* 1988; 255:F539-44.
50. Shah SV, Walker PD. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in glycerol-induced acute renal failure. *Am J Physiol.* 1988; 255:F438-43.
51. Abul-Ezz SR, Walker PD, Shah SV. Role of glutathione in an animal of myoglobinuric acute renal failure. *Proc Natl Acad Sci.* 1991 November; 88:9833-37.
52. Zager RA, Burkhardt KM. Differential effects of glutathione and cysteine on Fe^{2+} , Fe^{3+} , H_2O_2 and myoglobin induced proximal tubular cell attack. *Kidney Int.* 1998; 53:1661-72.
53. Zager RA, Burkhardt KM. myoglobin toxicity in proximal human kidney cell: Fe , Ca^{2+} , H_2O_2 and terminal mitochondrial electron transport. *Kidney Int.* 1997; 51:728-38.
54. Zager RA, Burkhardt KM, Conrad DS, Gmur DJ. Iron hemoxygenase, and glutathione: effects on myohemoglobinuric proximal tubular injury. *Kidney Int.* 1995; 48:1624-34.
55. Zager RA. Mitochondrial free radical production induces lipid peroxidation during myohemoglobinuria. *Kidney Int.* 1996; 49:741-51.
56. Zager RA. Studies of mechanisms and protective maneuvers in myohemoglobinuric acute renal injury. *Laboratory Investigation* 1989; 60(5):619-29.
57. Ishizuka S, Nagashima Y, Numata M, Yano T, Hagiwara K, Ozasa H, et al. Regulation and immunohistochemical analysis of stress protein heme oxygenase-1 in rat kidney with myoglobinuric acute renal failure. *Bioc Biop Res Com.* 1997; 240:93-98.
58. Kılınç K. Oksijen radikalleri: Üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi* 1985; 10(2):59-87.
59. Şengil AZ, Gürbilek M, Uysal H. Serbest radikaller. *S Ü Tıp Fak Der.* 1992; 8(4):673-

681.

60. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews* 1998; 78(2):547-581.
61. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews* 1994; 74(1):139-162.
62. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc.* 1988; 63:381-389.
63. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengesi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11:336-341.
64. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya:Mimoza yayınları, 1995: 1-73.
65. Cadenas E. Mechanisms of oxygen activation and reactive oxygen species detoxification. In: Ahmad S, editors. *Oxidative stress and antioxidant defenses in biology*. New York: Chapman&Hall, 1995;1-61.
66. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology* 1993; 23(1):21-48.
67. Baykal Y, Kocabalkan F. Serbest radikaller ve hücre hasarı. *Sendrom* 2000; 12(9):31-39.
68. Deby C, Goutier R. New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutase. *Biochemical Pharmacology* 1990; 39(3): 399-405.
69. Fridovich I. Superoxide anion radical, superoxide dismutases, and related matters. *JBC* 1997; 272(30):18515-18517.
70. Bartosz G. Peroxynitrite: mediator of the toxic action of nitric oxide. *Acta Biochimica Polonica* 1996; 43(4):645-660.
71. Halliwell B. reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and human disease. *Am J Med.* 1991; 91(suppl 3C):14s-22s.
72. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: A new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharm reviews* 2001; 53:135-159.
73. Cochrane CG. Cellular injury by oxidants. *Am J Med.* 1991; 91(suppl 3C):23s-30s.
74. Yerer MB, Aydoğan S. Oksidatif stress ve antioksidanlar. *E Ü Sağ Bil Der.* 2000; 9(1):49-53.
75. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol.* 1996; 271:C1424-37.
76. Erbaş D. Nitrik oksit: fizyolojik önemi ve çeşitli hastalıklardaki rolü. *Klinik Gelişim*

- 1998; 11:376-380.
77. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharm Reviews* 1991; 43(2):109-142.
 78. Boucher JL, Moali C, Tenu JP. Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization. *CMLS* 1999; 55:1015-1028.
 79. Davis KL, Martin E, Turko IV, Murad F. Novel effects of nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2001; 41: 203-36.
 80. Liang M, Knox FG. Production and functional roles of nitric oxide in the proximal tubule. *Am J Physiol*. 2000; 278:R1117-1124.
 81. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J.* 2001; 357:593-615.
 82. Moncada S, Higgs A. Mechanisms of disease: the L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 1993; 329(27):2002-2012.
 83. Pryor WA, Squadrito GL. The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am J Physiol*. 1995; 268:L699-L722.
 84. Knowles R. Nitric oxide synthases. *The Biochemist* 1994; Oct/Nov:3-6.
 85. Carey RM, Jin X-H, Wang ZQ, Siragy HM. Nitric oxide: a physiological mediator of the type 2 (AT₂) angiotensin receptor. *Acta Physiol Scand*. 2000; 168(1):65-71.
 86. Orida NK, Lai CS. Nitric oxide and renal patient. *Dialysis&Transplantation* 2000; 29(4):174-185.
 87. Ramin FF, Kevin M. Nitric oxide and liver. *Liver* 2001; 21(3):161-174.
 88. Stamler JS, Jia L, Eu JP, McMahon TJ, Demchenko IT, Bonaventura J, et al. Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. *Science* 1997; 276:2034-2037.
 89. Gross SS, Lane P. physiological reactions of nitric oxide and hemoglobin: a radical rethink. *PNAS* 1999; 96:9967-9969.
 90. Gow AJ, Luchsinger BP, Pawloski JR, Singel DJ, Stamler JS. The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide. *PNAS* 1999; 96:9027-9032.
 91. Veeramachaneni NK, Harken AH, Cairns CB. Clinical Implications of hemoglobin nitric oxide carrier. *Arch Surg*. 1999; 134:434-437.
 92. Flögel U, Merx MW, Gödecke A, Decking UKM, Schrader J. Myoglobin: a scavenger of bioactive NO. *PNAS* 2001; 98(2): 735-740.
 93. Witting PK, Douglas DJ, Mauk AG. Reaction of human myoglobin and nitric oxide. *JBC* 2001; 276(6):3991-3998.

94. K koğlu E. sSerbest radikal reaksiyonlarının kanserdeki rol . Klinik Gelişim 1998; 11: 358-364.
95. Collins AR. Oxidative DNA damage, antioxidants, and cancer. BioEssays 1999; 21:238-246.
96. Wolff SP, Garner A, Dean RT. Free radicals, lipids and protein degradation. TIBS 1986; 11:27-31.
97. Yalçın AS. Antioksidanlar: Klinik Gelişim 1998; 11: 342-346.
98. D ndar Y, Aslan R. H cre molek ler stat s n n anlaşılması ve fizyolojik  nem açısından radikaller-antioksidanlar.  nsizyon 1999; 2(2):134-142.
99. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein). JBC 1969; 244(22):6049-6055.
100. Ahmad S. Antioxidant mechanisms of enzymes and proteins. In: Ahmad S, editors. Oxidative stress and antioxidant defenses in biology. New York: Chapman&Hall, 1995;238-272.
101. Fridovich I. Oxygen toxicity: a radical explanation. J Exp Biol. 1998; 201:1203-1209.
102. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. Cerrahpaşa Tıp Der. 1996;27:41-50.
103. Felton GW. Oxidative stress of vertebrates and invertebrates. In: Ahmad S, editors. Oxidative stress and antioxidant defenses in biology. New York: Chapman&Hall, 1995;356-434.
104. Brzezinski A. Melatonin in humans. N Engl J Med. 1997; 336(3):186-195.
105. Beyer CE, Sfeetee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. Biochem Pharmac. 1998; 56:1265-1272.
106. Vijayalaxmi B, Thomas CR, Reiter RJ, Herman TS. Melatonin: From basic research to cancer treatment clinics. J Clin Oncology 2002; 20(10):2575-2601.
107. Cagnacci A. Melatonin in relation to physiology in to adults humans. J Pineal Res. 1996; 21:200-213.
108. Reiter RJ. Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. Endocrine Reviews 1991; 12(2):151-180.
109. Forsling ML. Melatonin. Current Opinion in Endocrinology&Diabetes 2001; 8:147-153.
110. Koak A, olak A. Melatonin ve Santral sinir sistemi. Turgut  zal Tıp Merkezi Dergisi 1996; 3(3):237-244.

111. Keleştimur H. İnsanda pineal bezin fonksiyonları. F Ü Sağlık Bil. Dergisi 1996; 10(1):141-147.
112. Ölmez E, Şahna E, Ağkadir M, Acet A. Melatonin: emeklilik yaşı 80 olur mu? Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 2000; 7(2):177-187.
113. Borjigin J, Li X, Snyder SH. The pineal gland and melatonin: molecular and pharmacologic regulation. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 1999; 39:53-65.
114. Boutin JA, Delagrangé P, Rettori MC. Melatonin: molecular pharmacology and therapeutic applications. Medicographia 2000; 22(1):72-80.
115. Reiter RJ. Melatonin and human reproduction. The Finnish medical Society duodecim 1998; 30(1):103-108.
116. Kvetnoy IM. Extrapineal melatonin: location and role within diffuse neuroendocrine system. The Histochemical J. 1999; 31:1-12.
117. Üstündağ B, Canatan H. Melatonin: Güçlü bir antioksidan ve serbest radikal giderici. Fırat Tıp Dergisi 1999; 1(7):502-512.
118. Bubenik GA. Gastrointestinal melatonin localization, function, and clinical relevance. Digestive Disease and Sciences 2002; 47(10):2336-2348.
119. Vanecek J. cellular mechanisms of melatonin action. Physiol Rev. 1998; 78:687-721.
120. Song Y, Chan CWY, Brown GM, Pang SF, Silverman M. Studies of the renal action of melatonin: evidence that the effects are mediated by 37 kDa receptors of the Mel_{1a} subtype localized primarily to the basolateral membrane of the proximal tubule. Faseb J. 1997; 11:93-100.
121. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Qi WB, Karbownik M, Calvo JR. Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products. Biol Signals Recept. 2000; 9:137-159.
122. Reiter RJ. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. Progress in Neurobiology 1998; 56:359-384.
123. Reiter RJ, Tang L, Garcia JJ, Hoyos AM. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. Life Sciences 1997; 60(25):2255-2271.
124. Reiter RJ, Carneiro RG, Oh CS. melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. Horm Metab Res. 1997; 29:363-372.
125. Reiter RJ, Guerrero JM, Garcia JJ, Acuna-castroviejo D. Reactive oxygen intermediates, molecular damage, and aging: relation to melatonin. An. New York Academy Science 1998; 854:410-424.
126. Reiter RJ: Melatonin. Lowering the high price of free radicals. News Physiol. Sci. 2000; 15:246-250.

127. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine J.* 1993; 1:57-60.
128. Reiter RJ, Tan DX, Burkhardt S, Manchester LC. Melatonin in Plants. *Nutrition Rev.* 2001; 59(9):286-290.
129. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Plummer BF, Limson J, Weintraub ST, Qi W. Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway of melatonin biotransformation. *Free Rad. Biol. Med.* 2000; 29(11):1177-1185.
130. Zang LY, Cosma G, Gardner H, Vallyathan V. Scavenging of reactive oxygen species by melatonin. *BBA* 1998; 1425:469-477.
131. Pierrefiche G, Laborit H. Oxygen free radicals, melatonin, and aging. *Experimental Gerontology* 1995; 30(3/4):213-227.
132. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Plummer BF, Hardies LJ, Weintraub ST, et al. A novel melatonin metabolite, cyclic 3-hydroxymelatonin: a biomarker of in vivo hydroxyl radical generation. *Bioc Biop Res Com.* 1998;253:614-620.
133. Marshall KA, Reiter RJ, Poeggeler B, Aruoma OI, Hallivell B. Evaluation of the antioxidant activity of melatonin in vitro. *Free Rad Biol Med.* 1996; 21(3):307-315.
134. Antunes F, Barclay LRC, Ingold KU, King Mnorris JQ, Scaiano JC, Xi F. On the antioxidant activity of melatonin. *Free Rad Biol Med.* 1999; 26:117-128.
135. Sewerynek E, Reiter RJ, Melchiori D, Ortiz GG, Lewinski A. Oxidative damage in the liver induced by ischemia-reperfusion: protection by melatonin. *Hepato-Gastroenterology* 1996; 43:898-905.
136. Turjanski AG, Leonik F, Estrin DA, Rosenstein RE, Doctorovich F. Scavenging of NO by melatonin. *J Am Chem Soc.* 2000; 122:10468-10469.
137. Gilad E, Cuzzocrea S, Zingarelli B, Saizman AL, Szabo C. Melatonin is a scavenger of peroxynitrite. *Life Sciences* 1997; 60(10):169-174.
138. Zhang H, Squadrito GL, Uppu R, Pryor WA. Reaction of peroxynitrite with melatonin: a mechanistic study. *Chem Res Toxicol.* 1999; 12:526-534.
139. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RI. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193:265-275.
140. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbutiric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979; 95:351-358.
141. Batçioğlu K. 7,12-DMBA'nın karaciğer enzim aktiviteleri üzerine etkileri ile antioksidan vitamin E+Se'un koruyucu özelliklerinin incelenmesi [Tez]. Elazığ: Fırat Üniversitesi, 1998.
142. Aebi H. Catalase invitro assay methods. *Medhods in Enzymology* 1984; 105:121-126.

143. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967; 70:158-169.
144. Türkmen A. Rabdomiyolize bağlı akut böbrek yetmezliği. In: Akpolat T, Utaş C, Süleymanlar G, editör. *Nefroloji El Kitabı.* İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2000; 267-271.
145. Savic V, Vlahovic P, Djordevic V, Zlatkovic MM, Avramovic V. Nephroprotective effects of pentoxifylline in experimental myoglobinuric acute renal failure. *Pathol Biol.* 2002; 50(10):599-607.
146. Valdivielso JM, Lopez-Novoa JM, Eleno N, Barriocanal FP. Tole of glomerular nitric oxide in glycerol-induced acute renal failure. *Can J Physiol Pharmacol.* 2000; 78:476-482.
147. Nath KA, Balla G, Vercellotti GM, Balla J, Jacob HS, Levitt MD, et al. Induction of heme oxygenase is a rapid, protective response in rhabdomyolysis in the rat. *J Clin Invest.* 1992; 90:267-270.
148. Seven A, Candan G. Radikal ve lipid peroksid düzeyini arttıran etkenler. *Biyokimya Der.* 1995; 20(4):43-56.
149. Reiter RJ, Tan DX, Burkhardt S. Reactive oxygen and nitrogen species and cellular and organismal decline: amelioration with melatonin. *Mechanisms of Ageing and Development* 2002; 123: 1007-1019.
150. Osseni RA, Rat P, Bogdan A, Warnet JM, Touitou Y. Evidence of prooxidant and natioxidant action of melatonin on human liver cell line HepG2. *Life Sciences* 2000; 68:387-399.
151. Wölfler A, Caluba HC, Abuja PM, Dohr G, Schauenstein K, Liebmann PM. Prooxydant activity of melatonin promotes fas-induced cell death in human leukemic Jurkat cells. *FEBS Letters* 2001; 502:127-131.
152. Stefanovich V, Savic V, Vlahovic P, Cvetkovic T, Najman S, Zlatkovic MM. Reversal of experimental myoglobinuric acute renal failure with bioflavonoids from seeds of grape. *Renal Failure* 2000; 22(3):255-266.
153. Baliga R, Zhang Z, Baliga M, Shah SV. Evidence for cytochrome p-450 as a source of catalytic iron in myoglobinuric acute renal failure. *Kidney Int.* 1996; 49(2):362-369.
154. Akpolat T, Akpolat İ, Öztürk H, Sarıkaya Ş, Coşar AM, Bedir A, Kandemir B. Effect of Vitamin E and Pentoxifylline on glycerol-induced acute renal failure. *Nephron* 2000; 84:243-247.
155. Ersin S, Zeybek A; Şen S, Akalın T, Akyıldız M. Deneysel akut böbrek yetmezliğinde mannitol ve furosemidin profilaktik etkisi. *İzmir Eğt Hast Tıp Der.* 1999; 37(1-2):27-31.
156. Ishizuka S, Yano T, Hagiwara K, Sone M, Nihei H, Ozasa H, et al. Extracellular signal-regulated kinase mediates renal regeneration in rats with myoglobinuric acute renal

injury. *Bioch Bioph Res Com.* 1999; 254:88-92.

157. Rao VSN, Santos FA, Silva RM, Teixeira MG. Effect of nitric oxide synthase inhibitors and melatonin on the hyperglycemic response to streptozotocin in rats. *Vascular Pharmacology* 2002; 38:127-130.
158. Aarseth JJ, Nordoy ES, Stokkan KA. Melatonin potentiates the vasoconstrictive effect of noradrenaline in renal artery from newborn hooded seals (*Cystophora cristata*) and harp seals (*Phoca groenlandica*). *J Comp Physiol. B* 2001; 171:491-496.
159. Okatani Y, Wakatsuki A, Watanabe K, Taniguchi K, Fukaya T. Weak vasoconstrictor activity of melatonin in human umbilical artery: relation to nitric oxide-scavenging action. *European J Pharmacol.* 2001; 417:125-129.
160. Sokkary GHE, Omar HM, Hassanein AFMM, Cuzzocrea S, Reiter RJ. Melatonin reduces oxidative damage and increases survival of mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Free Rad Biol Med.* 2002; 32(4):319-332.



10. RESİMLEMELER LİSTESİ

10.1. Şekiller

Şekil 1. Böbreklerde miyoglobinin toksik ve mekanik etkileri	11
Şekil 2. Nitrik oksit sentezi	18
Şekil 3. Gözlerle pineal bez arasındaki sinirsel bağlantılar ve pineal bezde melatoninin biyosentez yolları	29
Şekil 4. Protein standart grafiği	40
Şekil 5. SOD standart çalışması logaritmik grafiği	43
Şekil 6. Gruplara göre MDA düzeyinin dağılımı	53
Şekil 7. Gruplara göre SOD aktivitelerinin dağılımı	54
Şekil 8. Gruplara göre CAT aktivitelerinin dağılımı	55
Şekil 9. Gruplara göre GPx aktivitelerinin dağılımı	56
Şekil 10. Gruplara göre plazma üre düzeylerinin dağılımı	57
Şekil 11. Gruplara göre plazma kreatinin düzeylerinin dağılımı	58
Şekil 12. Gruplara göre plazma sodyum düzeylerinin dağılımı	59
Şekil 13. Gruplara göre plazma potasyum düzeylerinin dağılımı	60
Şekil 14. Gruplara göre idrar üre düzeylerinin dağılımı	61
Şekil 15. Gruplara göre idrar kreatinin düzeylerinin dağılımı	62
Şekil 16. Gruplara göre idrar sodyum düzeylerinin dağılımı	63
Şekil 17. Gruplara göre idrar potasyum düzeylerinin dağılımı	64
Şekil 18. Gruplara göre idrar protein düzeylerinin dağılımı	65
Şekil 19. 1. Grubun böbrek kesiti (HE x200)	68
Şekil 20. 2. Grubun böbrek kesiti (HE x200)	68
Şekil 21. 3. Grubun böbrek kesiti (HE x200)	69
Şekil 22. 4. Grubun böbrek kesiti (HE x200)	69

10.2. Tablolar

Tablo 1. Akut böbrek yetmezliğinin nedenleri	5
Tablo 2. Rabdomiyolizin nedenleri	6
Tablo 3. Serbest oksijen radikallerini oluşturan çeşitli kaynaklar	20
Tablo 4. Antioksidan sistemin başlıca elemanları	24
Tablo 5. Melatonin tarafından etkilenebilecek biyolojik işlevler ve etkileri	31
Tablo 6. 1. Grubun biyokimyasal verileri	48
Tablo 7. 2. Grubun biyokimyasal verileri.....	49
Tablo 8. 3. Grubun biyokimyasal verileri	50
Tablo 9. 4. Grubun biyokimyasal verileri	51
Tablo 10. Çalışma gruplarının değişkenlerine ait tanımlayıcı istatistikleri	52
Tablo 11. MDA düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	53
Tablo 12. SOD aktivitelerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	54
Tablo 13. CAT aktivitelerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	55
Tablo 14. GPx aktivitelerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	56
Tablo 15. Plazma üre düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	57
Tablo 16. Plazma kreatinin düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	58
Tablo 17. Plazma sodyum düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	59
Tablo 18. İdrar üre düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	61
Tablo 19. İdrar kreatinin düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	62
Tablo 20. İdrar sodyum düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	63
Tablo 21. İdrar potasyum düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	64
Tablo 22. İdrar protein düzeylerinin Mann-Whitney U testi sonuçları	65
Tablo 23. Çalışma gruplarındaki deneklerin nekroz ve kast bulguları	67

11. ÖZGEÇMİŞ

Elazığ Baskil ilçesinde 01.10.1970 tarihinde doğdum. 1987 yılında Malatya Fatih Lisesi'nden, 1992 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden mezun oldum. Ağustos 1992-Nisan 1994 tarihleri arasında Klinik Hekimliği ve Özel Bir Et Kombinasında Teknik Müdür olarak çalıştım. Nisan 1994-Temmuz 1995 tarihleri arasında Yedek Subay olarak askerlik görevimi yaptım. Eylül 1995-Kasım 1998 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Kırklareli Sağlık Yüksekokulu'nda Öğretim Görevlisi olarak çalıştım. Bu görevim süresince 2 yıl Müdür Yardımcılığı ve 3 yıl Yönetim Kurulu Üyeliği yaptım. 1997-1998 Öğretim Yılı Bahar yarıyılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora Eğitimime başladım. 15 Kasım 1998 tarihinden beri T.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir kız çocuğu babasıyım.

12. EK

Etik Kurul Onayı



T.C
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKULTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı : 05

Karar Tarihi : 08.06.2001

- 1- Fakültemiz Fizyoloji Anabilim Dalınca yapılacak olan ve Yrd.Doç.Dr. Gulizar ATMACA'nın yürütücüsü olduğu "Deneysel Miyoglobürik Akut Böbrek Yetmezliğinde Eksojen Melatoninin Böbrek Fonksiyonuna Etkisi" adlı Araştırma Görevlisi Veteriner Hekim Nurettin AYDOĞDU'nun tez çalışması incelendi. Çalışmanın amacı, yaklaşım, gereç ve yöntemler açısından, etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve yapılabilirliğine mevcudun oybirliği ile karar verildi.

Başkan
Prof.Dr.Ahmet R. KARASALIOĞLU
Dekan

Prof.Dr.Sendoğan GULEN
Uye

Prof.Dr.Gültac OZBAY
Uye
-KATILMADI-

Prof.Dr.Aydın ALTAN
Uye