



**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA OLUSTURULAN GENTAMİSİN
NEFROTOKSİSİTESİNDE RESVERATROL VE E VİTAMİNİNİN
PROTEKTİF ETKİLERİNİN KARSILASTIRILMASI**

Kimyager SELMA BEDİRHAN

**Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisans Üstü Eğitim Yönetmeliği'nin
Farmakoloji Anabilim Dalı
İçin Öngördüğü**

BİLİM UZMANLIĞI TEZ ÖNERİSİ Olarak hazırlanmıştır.

DÜZCE

-2005-

**T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA OLUSTURULAN GENTAMİSİN
NEFROTOKSİSİTESİNDE RESVERATROL VE E VİTAMİNİNİN
PROTEKTİF ETKİLERİNİN KARSILASTIRILMASI**

Kimyager SELMA BEDİRHAN

**Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisans Üstü Eğitim Yönetmeliği'nin
Farmakoloji Anabilim Dalı
İçin Öngördüğü**

BİLİM UZMANLIĞI TEZ ÖNERİSİ Olarak hazırlanmıştır.

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Coskun SILAN**

DÜZCE

-2005-

Saglık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma jürimiz tarafından Farmakoloji Programında
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmistir.

Tez Danismani Yrd. Doç. Dr Coskun Silan
(Abant Izzet Baysal Üniversitesi) (imza)

Üye Yrd. Doç. Dr Coskun Silan
(Abant Izzet Baysal Üniversitesi) (imza)

Üye Yrd. Doç. Dr Özge Uzun
(Abant Izzet Baysal Üniversitesi) (imza)

Üye Yrd. Doç. Dr Fatma Silan
(Abant Izzet Baysal Üniversitesi) (imza)

ONAY:

Bu tez , Saglık Bilimleri Enstitüsü Yönetim kurulu'nca belirlenen yukaridaki
jüri üyeleri tarafından uygun görülmüs ve Yönetim Kurulu'nun kararıyla kabul
edilmistir.

(imza)
Prof. Dr. Hülya GÜNGEL
Enstitü Müdürü

TESEKKÜR

Yüksek lisansim ve tez çalışmalarım süresince ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, tezimin son şeklini alana kadar yol gösteren ve destek olan tez danışmanım Yrd. Doç.Dr. Coskun Silan ve Yrd. Doç. Dr. Özge Uzun'a,

Çalışmalarım süresince yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyerek laboratuvarlarının tüm olanaklarını kullanmama izin veren, Prof. Dr. Müjgan Cengiz'e , Doç. Dr. Özlem Yavuz'a, Yrd. Doç. Dr Fatma Silan'a, Yrd. Doç. Dr Nil Üstündag'a,

Manevi desteği için esim Ayhan Bedirhan'a sonsuz teşekkürler.

III. ÖZET

Bu çalışmada resveratrolün gentamisine bağımlı olusan nefrotoksisitedeki koruyucu rolünü araştırmayı amaçladık, bu etkinliği E-vitaminin koruyucu etkinliği ile karşılaştırdık.

Deneyler için wistar cinsi siçanlar (200-250g.) kullanıldı. Siçanlar kontrol , çözücü (DMSO),RSV-kontrol, E-vitamini kontrol, gentamisin (80mg/kg/gün), gentamisin+çözücü, gentamisin+RSV tedavi grubu (10mg/kg/gün), gentamisin+E-vitamini tedavi grubu (250mg/kg), olmak üzere 8 gruba ayrıldı. 6 günlük uygulama sonunda kan ve idrar örnekleri alınıp ötanazi sonrası böbrekleri çıkarıldı. Doku örnekleri GSH, GST, Katalaz, MDA düzeyi incelemesi için ayrılıp -70°C sıvı nitrojene, histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlu formole kondu. GSH Grunert ve Philips, GST, Beutle; katalaz ve MDA Lowry yöntemine göre belirlendi.

Kan üre ve kreatinin düzeyi kontrol grubunda ($20,5\pm1,38$)($0,33\pm0,01$) iken, Gentamisin alan grupta ($135\pm5,06$)($3,633\pm0,12$) anlamlı olarak yüksek bulundu. RSV ve E-vitamini tedavi grubundaki üre ($52,88\pm1,98$) ($49,57\pm2,02$) ve kreatinin değerlerinin ($1,18\pm0,03$) ($1,08\pm0,61$) gentamisin grubuna göre anlamlı derece düşük olduğu saptandı. E-vitamini grubuyla RSV grubu karşılaştırıldığında anlamlılık belirlenmedi. RSV verilmesiyle gentamisinin neden olduğu lipid peroksidasyonu ($0,017\pm0,004$) ve katalaz seviyesinin düştüğü ($0,64\pm0,09$) saptandı. E-vitamini tedavisiyle de benzer sonuçlar elde edildi (MDA $0,0148\pm0,002$) ve katalaz seviyesinin düştüğü ($0,5336\pm0,097$) görüldü. Histopatolojik incelemede ise gentamisinin yaptığı tübül hasarın hem RSV hem de E-vitamini tedavisiyle kısmen önlenemediği anlaşılmıştır.

Sonuçlarımız RSV ve E-vitaminin gentamisinin neden olduğu böbrek fonksiyonlarındaki azalma, lipid peroksidasyonu ve hücre hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

IV. ABSTRACT

In this study we aimed to investigate the protective effect of resveratrol on gentamicin induced nephrotoxicity. Furthermore we compared this effect with protective effect of vitamin-E.

Experiments were carried out in male Wistar rats weighing 200-250 g. Animal were divided into 8 groups: Control, vehicle, resveratrol control (10 mg/kg), vitamin-E control and gentamicin (80mg/kg), gentamicin+DMSO, gentamicin+resveratrol, gentamicin+ vitamin-E. Urine and blood samples were collected the sixth day after starting treatment. Then all rats sacrificed with ketalar (30mg/kg). Kidneys were collected for histopathological studies and were fixed with 10% buffered formalin. Tissue samples were stored -70⁰C in liquid nitrogen for the determination of GSH, GST, MDA and catalase. GSH was determined by using Grunert and Philips method, Beutle method was used for the determination of GST. Catalase and MDA was determined according to Lowry method.

Blood urea level was significantly increased in gentamicin treated group. Urea and creatinin levels were reduced statistically significant in resvetarol and vitamin-E administered groups when compared with gentamicin group. We did not determine any significant changes when compared resveratrol and vitamin-E. It has been determined that resveratrol caused statistically significant decrease in lipid peroxidation and reduced level of catalase The similar results were obtained with vitamin-E.

Histopathological examination showed that Resveratrol and vitamin-E prevented partly gentamicin induced tubular damage.

Our results demonstrated that Resveratrol and vitamin-E have a protective effect against to gentamicin induced nephrotoxicity, lipid peroxidation and cellular damage. We did not observe any significant difference between Resveratrol and vitamin-E.

V. İÇİNDEKİLER

I. ONAY SAYFASI.....	i
II. TESEKKÜR.....	ii
III. ÖZET.....	iii
IV. ABSTRACT.....	iv
V. İÇİNDEKİLER.....	v
VI. SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii

1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Böbrek anatomisi ve fizyolojisi.....	2
2.2. Böbrek işlevinin değerlendirilmesi	8
2.3. Akut böbrek yetmezliği.....	11
2.3.1. Etiyoloji.....	12
2.3.2. Patofizyoloji.....	14
2.3.3. Patoloji	14
2.3.4. İlaça bağlı akut böbrek yetmezliği.....	15
2.3.5. Aminoglikozidlere bağlı böbrek yetmezliği	16
2.4. Serbest Radikaller	19
2.5. Lipid peroksidasyon.....	20
2.6. Glutasyon.....	21
2.6.1. Glutasyonun önemli işlevleri.....	22
2.7. Glutasyon S Transferaz	27
2.7.1. GST ve karsinogenez.....	28
2.7.2. GST ve sitotoksik ilaç direnci.....	28
2.8. Katalaz	30

2.9.Aminoglikozitler	31
2.9.1. Farmakokinetik özellikler	31
2.9.2.Kullanilis	33
2.9.3.Gentamisin	37
2.9.3.1.Yan etkileri.....	38
2.10. Resveratrol.....	41
2.11. E-vitamini.....	43
2.11.1.Fizyolojik önemi, Farmakolojik Etkileri ve Eksiklik halleri.....	44
3. MATERYAL VE METOT	47
3.1.Deney hayvani.....	47
3.2.Deney Protokolü	47
3.3.Histopatolojik Degerlendirme.....	48
3.4.Analiz ve Deney İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler	50
3.5. Kullanılan Araçlar.....	51
3.6.Invivo Incelemeler	52
3.7.Total Doku Homojenatlarında Yapılan Incelemeler.....	52
3.7.1. Lipid Peroksidaz Düzeyi Tayin Yöntemi	52
3.7.2. Glutasyon Düzeyi Tayin Yöntemi	53
3.7.3. Katalaz Düzeyi Tayin Yöntemi	54
3.7.4. Glutasyon S Transferaz Düzeyi Tayin Yöntemi	54
4. İSTATİSTİK	57
5. BULGULAR.....	58
6. TARTISMA	68
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	73
8. KAYNAKLAR	74

VI. SİMGELER VE KISALTMALAR

ABY , Akut böbrek yetmezliği	TBA , Tiyobarbitürik asit
ADH , Antidiüretik hormon	TCA , Triklorik asit
ATN , Akut tübüler nekroz	TX , Tromboksan
AVP , Arjinin vazopressin	UV , Ultraviyole
BKA , Böbrek kan akımı	
BOS , Beyin omurilik sıvısı	
BUN , Kan üre nitrojen konsantrasyonu	
CDNB , 1-klor-2,4-dinitrobenzen	
DDL , Düşük dansiteli lipoprotein	
DMSO , Dimetil sülfoksit	
ET-1 , Endotelin-1	
GBM , Glomerüler bazal membran	
GFH , Glomerül filtrasyon hızı	
GFR , Glomerüler Filtrasyon hızı	
GM , Gentamisin	
GPx , Glutasyon peroksidaz	
GSHPx , Glutasyon peroksit	
GST , Glutasyon S transferaz	
HIV , insan immün yetmezlik sendromu	
H₂O₂ , Hidrojen peroksit	
NO , Nitrik oksit	
MDA , Malondialdehit	
MIK , Minimum inhibitör konsantrasyon	
ROM , Reaktif Oksijen metabolitleri	
ROT , Reaktif Oksijen Türleri	
RSV , Resveratrol	
SOD , Süperoksit dismutaz	

1. GIRIS VE AMAÇ

Gentamisin (GM) bir çok gram negatif enfeksiyonun tedavisinde kullanılan bakterisit etkili bir ajandır. Düşük tedavi dozlarında ortaya çıkabilen nefrotoksisitesi klinik kullanımını kısıtlanmaktadır. Son zamanlarda elde edilen bulgular, bize GM nefrotoksisitesinde reaktif oksijen metabolitlerinin rolü olduğunu göstermektedir (Carlos 2005). Reaktif oksijen radikallerinin azaltılması ile gentamisinin meydana getirdiği renal fonksiyon bozuklukları düzeltiler. Süperoksit dismutaz, selenyum, E vitamini, probukol, askorbik asit gibi antioksidanlar ile gentamisinin glomeruler filtrasyon oranında oluşturduğu azalma önenebilir. Mitokondrinin izolasyonu ile yapılan invivo çalışmalar ROM (Reaktif Oksijen metabolitleri) üretiminin gentamisin alımı ile artabilir olduğunu göstermektedir. ROM' lar gentamisinin neden olduğu proksimal tübüler nekrozis ve akut renal yetmezliğinden muhtemelen sorumludur. Bu aynı zamanda artmış ROM üretiminin, artmış renal hassasiyetten ve gentamisinin neden olduğu nefropatidan sorumlu olduğunu da göstermektedir.

Doğal antioksidanların böbrekte hastalık önleyici olası etkileri tanımlanmıştır. Bunlardan biri olan Resveratrol (RSV) üzümde ve bundan üretilen kırmızı sarapta bol miktarda bulunan, doğal bir hidroksistilbendir (Sato 2000) RSV güçlü serbest radikal süpürücü ve antioksidan özelliğinin olması nedeniyle bu hasarın önlenmesinde yararlı olabilir. Planlanan bu çalışmada gentamisin ile tedavide lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresi göstermek ve resveratrolün sıçanlarda gentamisin ile oluşturulan böbrek hasarında fizyolojik ve histopatolojik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca RSV'nin etkinliği bir başka antioksidan olan E vitaminin etkileriyle karşılaştırılmıştır (Ashraf 1999).

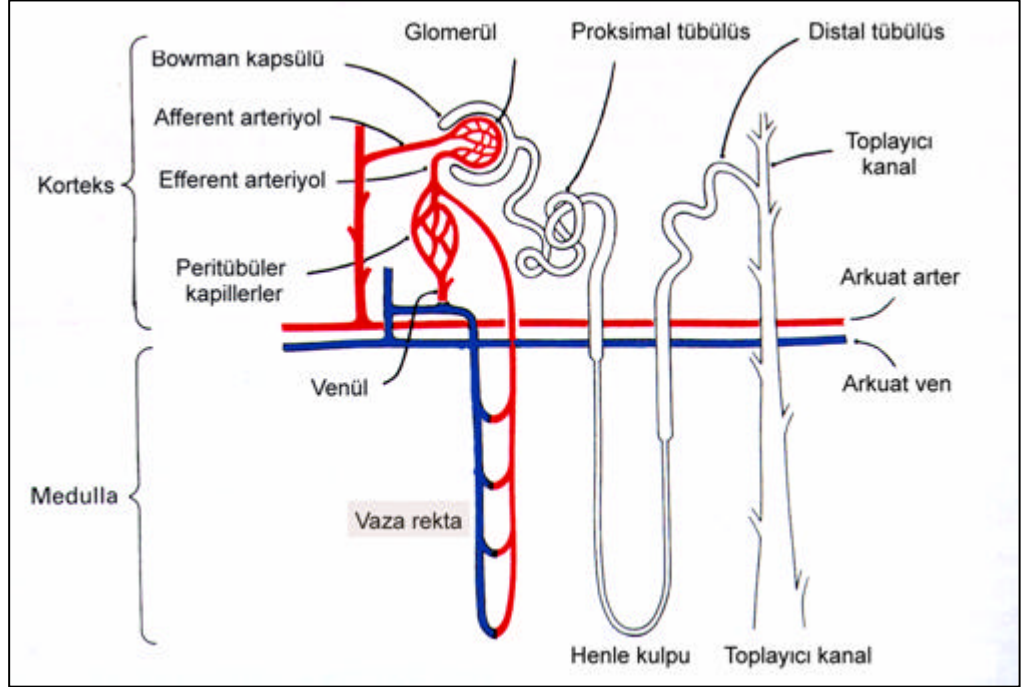
2. GENEL BİLGİLER

2.1. BÖBREK ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ

Böbrekler vücut sağlığı için gerekli pekçok işlevin düzenli olarak gerçekleşmesini sağlayan organlardır. Bu organlar, sıvı ve elektrolit dengesinin uygun olarak sağlanmasından ve metabolizma artıkları ile toksik maddelerin vücuttan atılmasından sorumludur. Diğer bir işlevleri de elektrolit itrahinin düzenlenmesinde (renin ve prostoglandinler) ve kırmızı kan hücrelerinin oluşmasında (eritropoetin) önemli rol oynayan bazı madde ve hormonların sentezidir (Guyton 1996).

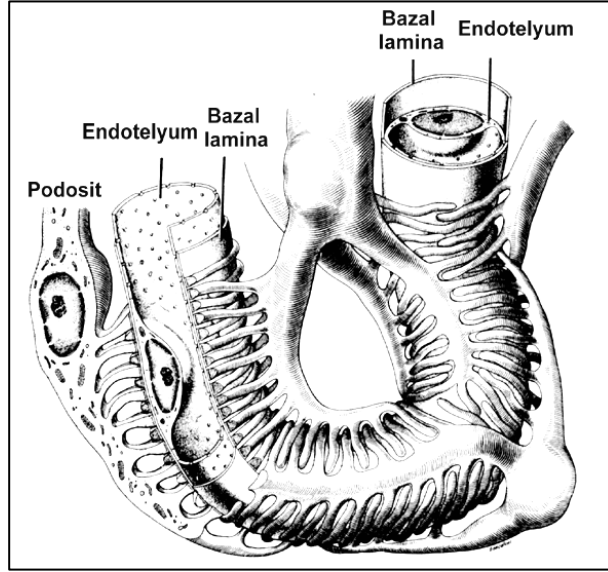
Böbrekler arka abdominal bölgede yerleşmişlerdir ve üreter adı verilen bir tüp aracılığı ile idrarın depolandığı mesane' ye bağlanırlar. Üreterin işlevi böbreklerde oluşan idrarın mesaneye drenajını sağlamaktır. Mesane ise düz kaslardan oluşan yapısı ile içindeki sıvıyı gerektiğinde kolaylıkla dışarı atar (Calbreath 1992).

Böbrek, nefron adı verilen ünitelerden oluşur ve her bir böbrekte 1.3 milyon civarında nefron vardır. Nefron, vücutta maddelerin filtrasyon, sekresyon ve reabsorpsiyonunda rol oynayan temel yapıdır. Her nefron, filtrasyonun başlangıcında önemli olan kan akımını sağlayan glomerül, filtrasyonun başladığı Bowman kapsülü, sekresyon ve reabsorpsiyonun olduğu proksimal ve distal tübülsler, bu tüpleri birleştiren Henle Kulpu ve oluşan idrarın mesaneye drenajını sağlayan üretere ulaştıran toplayıcı kanallar' dan oluşur (Rang 1999; Calberath 1992).



Sekil 1 . Nefron ve kan dolasınınin basitleştirilmiş semasi (Rang 1999).

Glomerül, kapiller kümelerinin nefronun genis ve kör ucundaki Bowman kapsülü içine girmesi ile oluşur ve yaklaşık 200 μm çapındadır. Glomerülü oluşturan kapiller kümeleri nefrona büyük miktarlarda kan akımı sağlanmasından sorumludur (Ganong 1985). Bowman kapsülünde kan ve glomerüler filtrat birbirinden 2 ayrı hücresel tabaka ile ayrılır: kapiller endotel ve tübülüs epiteli (podositler). Bu iki tabaka arasında ise glomerüler bazal membran (GBM) yer alır. Endotel hücreleri ile bazal membran arasında ise glomerülün hücresel matriksini ve destek yapısını oluşturan mezansim hücreleri bulunur (Rajj 1985).



Sekil 2. Glomerüler kapillerler ve epitel hücreleri (podositler) tarafından olusturulan Bowman kapsülünün visseral tabakası (Ganong 1985).

Glomerüler mezensim mukopolisakkaridler ve glikoproteinlerden olusmus bir matriks içine yerlesmis mezensiyel hücrelerden olusur. GBM mezensiyumun glomerüler kan akimi ile en yakin temas halinde oldugu noktada bulunur. Bu noktada glomerüler dolasim mezensiyumdan 100 nm çapinda gözenekler içeren tek bir fenestre (gözenekli) endotel tabakasi ile ayrilir. Bu düzenleme 2 önemli sonucu beraberinde getirir: 1. Makromoleküllerin yanisira mikromolekülleri de tasiyan plazma mezensiyel bölgeye akabilir. 2. Mezensiyel ve endoteliyal hücrelerin pozisyonu bu hücrelerden birisinden saliverilen maddelerin diger hücreler ile parakrin etkilesimine izin verecek biçimde bir ‘çapraz-iletisimine’ olanak tanir (Raij,1993).

Mezensiyel hücreler çeşitli vazoaktif peptidlerin [anjiyotensin II, endotelin-1 (ET-1), tromboksan (TX) ve arjinin vazopressin (AVP)] reseptörlerinin yanisira aktin ve miyozin içerirler. Glomerülün hiler bölgesinde

bu hücreler jukstaglomerüler aygıt'ın yanısıra afferent ve efferent arteriyollerin lumen bakan tarafı ile de temas halindedirler. Bu anatomik düzenlemeye bağlı olarak afferent ve efferent arteriyollerin tonüsündeki değişikliklerle uyumlu olarak hareket eden mezensiyel hücrelerin kasilma ve gevsemeleri mezensiyumdan plazma akiminin yanısıra glomerüler kan akımı ve filtrasyon hızını da düzenler (Raij ve Keane, 1985; Schlondorff, 1987; Mene ve ark., 1989).

İdrar oluşumunda 3 asama vardır: filtrasyon, reabsorpsiyon ve sekresyon. Filtrasyon işlemi glomerülde gerçekleşir. GBM işlevsel olarak glomerüler kapillerlerinin geçirgenliğini düzenler ve ancak 4 nm'dan daha küçük çaptaki nötral maddelerin diffüzyonuna izin verir. Böylece albumin ve albümininden daha büyük moleküllerin idrara geçişini önler. Kandaki düşük moleküler ağırlıklı maddeler ise GBM aracılığı ile kapiller duvarı ve ardından Bowman kapsülü'nü geçerler. Bu süzme işlemi, dolasım sistemindeki yüksek kan basıncının etkisi ile sıvıdaki elektrolitlerin ve diğer küçük moleküllerin membrandan geçişinin sağlandığı bir pasif diffüzyon olayıdır. İdrar oluşumunun bu filtrasyon aşaması enerji gerektirmez (Calbreath 1992).

Sıvı proksimal tüplere geçtiğinde ilk oluşan olay reabsorpsiyondur. Proksimal tüplerin duvarı apikal yüzde siki bağlantılar aracılığı ile birleşen tek sıralı bir hücre tabakasından oluşmuştur. Bu hücrelerin lümene bakan yüzünde çok sayıda mikrovillüsün bir araya gelmesi ile oluşan fırçası kenar yer alır (Rang 1999). Burada glomerüllerden süzülen sıvının yaklaşık üçte ikisi tübüler sıvının ozmolalitesini degistirmeden geri emilir. Yani, bu bölgedeki sıvı geri emilimi izoozmotiktir ve Na^+ 'un aktif transportu ile birliktedir. Na^+ geri emilimine Cl^- ve HCO_3^- geri emilimi de eşlik eder. Proksimal tüplerin başlangıç kısmındaki HCO_3^- geri emilimi fırçası kenar membranındaki Na^+/H^+ degistirici mekanizması ile gerçekleşir ve karbonik anhidraz enzimine bağımlıdır. Aynı şekilde, glukoz, aminoasitler ve diğer bazı organik maddeler de Na^+ 'a bağlı bir kotransport işlemi ile geri emilirler. Glukoz ve Na^+ membranda ortak bir taşıyıcıya bağlanırlar ve Na^+ elektriksel ve kimyasal gradyent boyunca hücre

içine girerken glukoz da beraberinde tasinir. Su ise t b l içi sivilinin ozmolalitesinin sabit tutulmasi amaci ile pasif olarak geri emilir. Glomerüllerden süzülen sodyum bikarbonatin % 85'i, sodyumklor r' n % 40'i, suyun % 60'i, organik maddelerin ise tamamen yakini proksimal tüplerde geri emilir. Bu nedenle, böbrekler tarafından günde 170-190 L civarında sivi filtre edilmesine ragmen bu miktarın ancak 1-2 L si idrarla vücuttan atilir (Coe ve Brenner,1987; Ives ve Warnock,1995)

Proksimal ve distal tübülüsler Henle kulpu tarafından birlestirilir. Henle kulpu inen ve çıkan kollardan olusur. ıkan kolun ince ve kalın segmentleri vardır. Inen kol suya yüksek oranda geçirgendir. Burada su ozmotik g lerin etkisi ile pasif olarak geri emilir. ıkan kol suya çok az geçirgendir. ıkan kolun kalın segmentinde NaCl aktif olarak geri emilirken su geri emilimi gereklesmez. Bu da tübüler sivilinin ozmolalitesinin azalmasına neden olur. Bu nedenle bu bölgeye 'dilüsyon segmenti' adi da verilir. Sekresyon islemi de Henle kulpunda baslar. Cl iyonları ve bir miktar Na^+ kan dolasımından t b l s içerisine aktif trasportla tasinir. Henle kulpundan geçis esnasında tübüler sivi hacmi % 5 oranında azalir ve plazmaya göre hipotonik hale gelir (Coe ve Brenner,1987; Rang 1999).

Distal tübülüslerde, reabsorpsiyon az da olsa devam ederken sekresyon ön plana çıkar. H^+ ve K^+ tübüler sekresyona ugrarken düsük miktarda (filtre edilen miktarın %10'u) Na^+ ise yeniden geri emilir. Vücutta asit-baz dengesini düzenleyen sistemin bir parçası olarak amonyak sekresyonu da burada gereklesir. NaCl geri emilimi ise elektriksel olarak nötral olan Na^+ ve Cl kotransportu seklindedir. Yine, lümenin bu kısmında yer alan apikal Ca^{+2} kanalları ve Na^+/Ca^{+2} degistirici sistemi aracılığı ile Ca^{+2} geri emilir. Bu islem paratiroid hormon tarafından düzenlenir. Bu bölümdeki su reabsorpsiyonu ise antidiüretik hormon (ADH) etkisine bağımlidir. ADH yoklugunda su geri emilimi söz konusu degildir. Bu nedenle idrar dilue hale gelir. ADH varlığında ise distal tüplerin son kısmının suya geçirgenliği artar. NaCl geri emilimi ise

aldosteron tarafından düzenlenir (Coe ve Brenner,1987; Calbreath,1992; Ives ve Warnock,1995).

Distal tübülüsler toplayıcı tüplere bosalırlar; bunlar ise biraraya gelerek toplayıcı kanalları oluşturur. Nefronun bu bölümü idrardaki son NaCl konsantrasyonunu belirler. Toplayıcı tüplerde 2 ayrı hücre tipi yer alır: Bunlar Na^+ reabsorbe eden ve K^+ sekrete eden ana hücreler ve H^+ iyonu sekresyonundan sorumlu olan interkale hücreler'dir. Buradaki Na^+ geri emiliminden sorumlu olan ana hücrelerin apikal membrani, diğer tübülüs segmentlerinden farklı olarak Na^+ ve diğer iyonlar için kotransport sistemleri yerine, Na^+ ve K^+ için özgül iyon kanalları içerir. Nefronun bu bölümü 'siki' epitelle döşeli olup iyonlara ve suya karşı geçirgenlikleri azdır. Bu nedenle, bu nefron segmentinde iyon ve su hareketleri birbirinden bağımsız olarak düzenlenir ve aldosteron ve ADH gibi hormonların etkisi altındadır. (Rang, 1999; Coe ve Brenner,1987).

Aldosteron Na^+ reabsorpsiyonunu artırırken K^+ salınmasını uyarır. Aldosteron'un Na^+ reabsorpsiyonu üzerindeki etkisi 3 aşamalıdır: i) Membrandaki aldosteron reseptörleri üzerine etkiyerek Na^+/H^+ pompası'nı uyararak suretiyle hızlı bir etki oluşturur. ii) Hücre içi reseptörlere bağlanarak apikal membrandaki Na^+ kanallarını aktive eden özgül bir mediyatör proteinin sentezini sağlar ve Na^+ 'un hücre içine geçişini sağlar. iii) Bazolateral Na^+ pompalarının sayısını artırmak suretiyle uzun süreli etkiler doğurur (Rang, 1999).

Aldosteron saliverilmesi dolaylı olarak distal tübülüslerdeki sıvının bileşimine duyarlı olan jukstaglomerüler aygıt tarafından düzenlenir. Filtratın NaCl konsantrasyonundaki bir azalma distal tüplerde yer alan macula densa hücreleri tarafından algılanır ve renin saliverilmesini uyarır. Bu da anjiyotensin I ve ardından anjiyotensin II oluşumu ve dolayısı ile adrenal korteks'ten aldosteron sentez ve saliverilmesi ile sonuçlanır (Rang, 1999).

Antidiüretik hormon (ADH) nefronun bu bölümünde membranın suya karşı geçirgenliğini artırarak suyun pasif difüzyonunu kolaylaştırır. Bu hormon,

hipofiz arka lobundan salgılanır. Salgılanması serum ozmolalitesi ve hacmi tarafından düzenlenir. Vücutta iki tip ADH (Vazopressin) reseptörü vardır: V_1 ve V_2 reseptörleri. V_2 reseptörleri ADH'in böbrekler üzerindeki etkilerine aracılık ederken, V_1 reseptörleri böbrekler dışındaki sistemler üzerindeki (örn. kardiyovasküler sistem) etkilerden sorumludur. V_2 reseptörleri adenilat siklaza kenetlidir. V_1 reseptörleri (V_{1a} ve V_{1b}) ise inozitolfosfat üzerinden etki gösterirler ve damar düz kasının kasılması, platelet agregasyon ve degranülasyonu, hidrokortizon saliverilmesinin tetiklenmesi gibi işlevlerde rol oynarlar. ADH nefronda toplayıcı kanallar ve distal tübülüs hücrelerinin bazolateral membranlarında bulunan V_2 reseptörlerine bağlanır. Bu reseptörlerin uyarılması apikal membrandaki su kanallarının sayısında ve membranın suya geçirgenliğinde artış ile sonuçlanır. (Rang, 1999; Ives ve Warnock, 1995).

2. 2. BÖBREK İSLEVINİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Böbregın 3 temel işlevi vardır:

- (i) Metabolizma sırasında oluşan veya doğrudan vücuda alınan toksik maddelerin itrahi.
- (ii) Vücut sıvı dengesinin düzenlenmesi
- (iii) Hormonların üretimi

Böbreklerde akut veya kronik yetmezlik söz konusu olduğunda vücutta nitrojen metabolizmasının son ürünleri birikir ve non-protein nitrojenlerin düzeyi yükselir. Bu da kan üre-nitrojen (BUN) ve serum kreatinin düzeylerinde yükselmeye neden olur. Nitrojen ürünlerinin birikimi sonucu 'azotemi' gelişir. Bu durum ise böbreklerin metabolizma artıklarını atabilme yeteneklerini kaybettiği 'üremi' ile sonuçlanır. Böbrekler vücut sıvısının tonisite, hacim, asit-baz dengesi ve kimyasal bileşiminin düzenlenmesinden sorumludur. Hücredeki metabolik işlevlerin maksimum etkinlikte gerçekleşebilmesi için hücre içi sıvı

bilesiminin dar bir aralikta tutulmasi gereklidir. Intraselüler sivi hücreyi çevreleyen ekstraselüler sivinin bilesiminden büyük oranda etkilenir. Ekstraselüler sivi içeriği ise, solunum sistemi ve böbrekler tarafından düzenlenir. Akcigerler, parsiyel basınçları ve asid-baz sisteminin solunumsal komponentini olusturan kan gazlarının konsantrasyonlarını denetlerken, böbrekler uçucu olmayan maddelerin konsantrasyonlarını belirler. Bu yüzden organizmanın su dengesi, elektrolit konsantrasyonları ve asid-baz dengesi, böbrek islevinin saglikli bir sekilde gerçekleşip gerçekleşmediğini ve bu islevdeki olası bozuklukları yansıtmak açısından önem tasir (Preuss ve ark., 1991).

Böbrekler aynı zamanda 1,25-(OH)₂ kolekalsiferol (D₃ vit.) oluşumu ve eritropoetin sentezi gibi endokrin fonksiyonlardan sorumludur. Kalsiyum ve fosfor düzeylerindeki veya eritrosit kitlesindeki anormallikler böbreklerle ilgili bozuklukları yansıtır.

Böbrek islevinin değerlendirilmesinde, ilk yapılması gereken ve en ekonomik uygulama idrar analizidir. Buradan elde edilen bulgulara göre kreatinin, üre, nitrojen düzeyleri gibi daha ileri tetkiklere gereksinim duyulabilir. Söz konusu maddelerin serum ve idrarda eşzamanlı ölçümleri ile (örn kreatinin klirensi) klinik olarak belirgin bulgu vermeyen bazı bozukluklar dahi ortaya çıkarılabilir. Glomerüler filtrasyon hızında belirgin bir düşüşün söz konusu olduğu durumlarda elektrolit ve asit-baz dengesi ile ilgili ölçümlere (serum ve idrar Na⁺ düzeyi, kan pH'i, total CO₂ ve pCO₂ düzeyi gibi) gereksinim duyulabilir. Ayrıca, hipokaleminin düz, çizgili kaslar ve kalp kasında kontraktilite azalması, adinamik ileus ve elektrokardiyogram değişiklikleri (ST çökmesi, uzamis QT aralığı, küçük T dalgaları) gibi belirgin ve ciddi sonuçlar yaratabilmesi nedeniyle serum potasyum düzeylerinin ölçümü özellikle önemlidir (Preuss ve ark.,1991).

Bir maddenin klirensi GFH'na paralel ise filtrasyondaki bir azalmaya bağlı olarak bu maddenin serum konsantrasyonunun artması beklenir. Normal

kosullarda üretim hizinin göreceli olarak sabit olduğu varsayılırsa söz konusu maddenin dolasimdaki miktarının saptanması GFH'ni belirlemede yararlı olabilir. Bu nedenle, böbrek yetmezliği durumlarında kan kreatinin ve üre düzeyi ölçümlerine sıkça başvurulur (Robinson ve Millares, 1992.; Preuss ve ark.,1991)

Üre protein metabolizmasının baslıca son ürünüdür ve vücuttan atılan nitrojenin yaklaşık % 80'ini oluşturur. Ne var ki üre, inülinin yukarıda belirtilen özelliklerini taşımaz. Böbreklerde filtrasyonun yanı sıra geri emilime de uğraması ve üretiminin dışarıdan alınan miktar, katabolizma ve gastrointestinal sistemden protein kaybı gibi nedenlere bağlı olarak değişebilmesi nedeniyle üre klirensi böbrek fonksiyonunu değerlendirmede güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmez.

Üre'nin metabolizmasında ve böbreklerdeki tutulumunda oluşabilecek değişiklikler kan üre konsantrasyonunun (BUN) her zaman için renal parankimal fonksiyonla uyumlu olmaması sonucunu doğurur. Ayrıca, kan üre düzeyi prerenal (asiri üretim, azalmış böbrek kan akımı), renal (parankimal böbrek hasarı) veya postrenal (genitoüriner sistem obstrüksiyonu) nedenlere bağlı olarak değişebilir. Dolasimdaki üre düzeylerinin asiri üretime bağlı olarak yükseldiği durumlarda BUN 40 mg/dl' yi nadiren geçer. Bunun üzerindeki BUN düzeyleri ise renal hasar, idrar yollarında tıkanıklık veya böbrek kan akımında azalma gibi nedenleri düşündürür.

Serum kreatinin konsantrasyonu ölçümü glomerüler fonksiyonu değerlendirmede üre düzeyi ölçümlerine üstünlük gösterir. Üre ile karşılaştırıldığında kreatinin konsantrasyonları diyetten, pre-ve post-renal faktörlerden daha az etkilenir. Ancak yaşlanma ile GFH azalırken aynı zamanda kas kitlesi de azalır. Bu yüzden 50-80 yaş arası hastalarda kreatinin klirensi belirgin olarak azalsa dahi serum kreatinin düzeyleri normal bulunabilir. Yine, hiperkatabolik durumlar, miyozit, kas travması, asiri egzersiz ve uzamış motor

nöbetler de serum kreatinin konsantrasyonlarını yükseltebilir (Robinson ve Millares, 1992).

Her ne kadar araştırmacılar renal fonksiyonu değerlendirmede serum kreatinin düzeyleri ölçümünü üre düzeylerine yeglemekte iseler de genel eğilim her 2 kriterin birlikte değerlendirilmesi yönündedir. Böylece ölçümlerden birisinde olabilecek bir hata diğeri ile ekarte edilebilir. Ayrıca BUN / serum kreatinin oranı ile, bozukluğun etiyolojisi hakkında bilgi sahibi olunabilir (Dossetor, 1966).

BUN/serum kreatinin oranı normalde 10:1 ile 12:1 arasında olmalıdır. Parankimal hasar durumunda BUN ve kreatinin düzeylerinin her ikisi de azalacağından bu oran değişmez. Bu oranın yükselmesi gastrointestinal sistemden asiri kanama, steroidler ve tetrasiklinler gibi protein yıkımını artırıcı (katabolik) ilaçların kullanımı, Karaciğer hastalıkları ve idrar akımının azalması gibi asiri üre üretiminin olduğu durumları düşündürür. İdrar akım hızının azalması, kreatin sekresyonunun doğru orantılı olarak artırmadan üre reabsorpsiyonunun artmasına yol açar. Bu duruma dehidratasyon, konjestif kalp yetmezliği, hepatorenal sendrom veya üriner sistem obstrüksiyonu gibi patolojilerde rastlanır. BUN / kreatinin oranının azalması ise genellikle düşük proteinli diyetle beslenen kişilerde söz konusudur. Yine, ürenin kreatinine göre hemodiyalizle daha fazla itrahına bağlı olarak kronik hemodiyaliz hastalarında da bu oran düşebilir.

2. 3. AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

Akut böbrek yetmezliği (ABY), renal fonksiyonda vücutta nitrojenöz artıkların birikmesine neden olabilecek çapta hızlı bir bozulma olmasıdır. Böbreğin kendisi ile ilgili nedenlerden kaynaklanır ve böbrek dışı nedenlerin ortadan kaldırılması ile düzelmez. İdrar hacmi geniş bir aralıkta değişebilir. 50

ml/gün'ün altında bir idrar hacmi 'anüri' olarak kabul edilirken, 50-400 ml/gün arasında 'oligüri' söz konusudur. 400 ml/gün' ün üzerinde bir idrar hacmi ise 'nonoligürik' veya 'yüksek output'lu' ABY olarak adlandırılır. (Robinson ve Millares,1992)

Hastanede tedavi gören hastaların yaklaşık % 5'inde ABY gelişir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde ve kalp-damar cerrahisi sonrası bu oran % 50' ye yükselebilir (Hou, S.H. ve ark.,1983). Son 40-50 yıl içinde hemodiyaliz etkin olarak kullanılmasına rağmen ABY gelişen hastalarda ölüm oranı hala % 35-80 gibi yüksek düzeylerde (Hou ve ark.,1983; Schrier,1991). Buna yol açan nedenler arasında renal hipoperfüzyon, obstrüktif üropatiler, böbrek damarları, glomerüller ve interstisyumunu ilgilendiren intrinsek renal hastalıklar ön sırada yer alır. Bu nedenler dışlandığında geriye 'akut tübüler nekroz' (ATN) olarak adlandırılan bir grup kalır. ABY ve ATN terimleri araştırmacılar tarafından renal vasküler, glomerüler ve interstisyel hastalıkların yokluğunda oluşan reversibl intrinsek akut böbrek yetmezliğini belirtmek için kullanılmaktadır. Ancak, ATN böbrek tübülüslerinde nekrotik hasarı belirten histolojik bir bulgudur ve ABY'li hastaların böbrek biyopsilerinde tübüler nekrozun histolojik bulgularına her zaman rastlanmaz. Bu yüzden bu iki durumu birbirini ile karıştırmamak gerekir (Coe ve Brenner,1987).

2.3.1. Etiyoloji

ABY vakalarının % 60'ı cerrahi veya travma ile ilişkilidir. % 1-2' si ise gebelik esnasında oluşur. ABY' nin en sık rastlanan nedeni renal iskemidir. Renal iskekiye yol açan nedenler arasında ciddi hemoraji, şiddetli hacim azalması, operasyon sırasında oluşan hipotansiyon, kardiyojenik sok ve böbrek dolaşımının durmasına neden olan operasyonlar sayılabilir. Renal iskeiminin süresi ABY gelişmesinde çok önemlidir. Eğer iskeki kısa süreli ise iskekiye yol açan nedenin düzeltilmesi ile renal fonksiyon geri dönebilir (örn. prerenal

azotemi). Böbreklerin daha uzun süre ile hipoperfüzyonu ATN ile sonuçlanabilir. Yapılan çalışmalar renal prostoglandinlerin vazodilatatör etkilerinin nonsteroidal antienflamatuar ajanlar kullanılarak ortadan kaldırılmasının renal iskemiyi artırdığını göstermektedir. Bu nedenle söz konusu ilaçların azalmış bazal renal kan akımı söz konusu olan hastalarda (kalp yetmezliği, hepatik siroz, nefrotik sendrom, glomerülonefrit, hipoalbuminemi ve yastılık gibi) kullanılması ABY gelişmesine neden olabilir (Coe ve Brenner,1987; Robinson ve Millares,1992).

Dolasima asiri miktarlarda miyogloblin saliverilmesi de ABY'nin sık rastlanan nedenlerindendir (Rizzi ve ark.,1991; Wakabayishi ve Kikawada,1996). Rabdomiyoliz ve miyogloblinüri daha çok doku ezilmesi ile birlikte olan (crush injury) geniş travmalara ve yanıklara bağlıdır. Kaslarda O₂ kullanımının artması (sıcak çarpması, yoğun egzersiz, epilepsi nöbeti), kasta enerji üretiminin azalması (hipokalemi, hipofosfatemi, genetik enzim yetersizlikleri), kas iskemisi (arteriyel yetmezlik, koma ile sonuçlanan ilaç intoksikasyonu, kas sıkışması), enfeksiyonlar (influenza, lejyoner hast.), ve toksinlere (alkol) bağlı olarak da ABY ile sonuçlanan rabdomiyoliz gelişebilir. Miyogloblinürinin ABY'ne yol açma mekanizması tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Eldeki bulgular, bunun doğrudan nefrotoksik olmadığını düşündürmektedir. Ancak, miyogloblin çökmesi ve silendir oluşumuna bağlı tübüler tıkanıklığın yanı sıra, diğer kas yıkım ürünlerinin de doğrudan nefrotoksik etkilerinin, bu olayda rol oynadığı varsayılmaktadır (Chaikin, 1980). Rabdomiyoliz ile ilişkili ABY'li hastaların çoğunda beraberinde intravasküler hacimde azalma ve renal hipoperfüzyon da bulunur.

ABY'ne yol açan nedenlerden birisi de intravasküler hemolizdir (Diamond ve ark.,1984). Her ne kadar hemoglobin tek başına güçlü bir nefrotoksin değilse de kırmızı kan hücrelerinden saliverilen toksik maddeler ve beraberindeki renal hipoperfüzyon ABY'ni indüklemeye sinerjistik etki gösterirler.

2.3.2. Patofizyoloji

Hayvan modellerinde ABY için detaylı patojenik teoriler geliştirilmiştir. Bu teoriler tübüler veya vasküler kökenli olarak ikiye ayrılır. Tübüler teoriye göre silendrlr ve hücre artıkları tübülüs lümenini tıkamakta, bu da tübülüs içi basıncı ve dolayısı ile net filtrasyon basıncını artırmaktadır. (Bank ve Better., 1991). Tübüler teoriyi savunan araştırmacıların bir bölümü ise azotemiden primer olarak glomerüler filtratın hasarlı böbrek tübülüs epitelinden ‘geri sızıntısının’ sorumlu olduğunu öne sürmektedirler (Sudo ve ark, 1977).

ABY’nin vasküler nedenlere bağlı olduğunu öne süren bir başka görüşe göre ise, renal perfüzyon basıncındaki belirgin azalma, ciddi afferent arteriyoller vazokonstriksiyon veya efferent arteriyoller vazodilatasyon gibi nedenler glomerüler kan akımı ve hidrostatik basınçta düşmeye yol açmaktadır. Bu da glomerüler filtrasyonu azaltmaktadır. Bu teoriyi savunan araştırmacılar, ABY vakalarının pekçoğu için ‘vazomotor nefropati’ terimini kullanmaktadırlar. Bazı araştırmacılar ise ABY’ne, glomerüler kapiller duvarının geçirgenliğindeki değişikliklerin neden olduğunu öne sürmektedirler (Kurtz ve ark., 1976).

Her ne kadar ABY patojenezi için tam ve kesin bir yargıda bulunmak olası değilse de, glomerüler, tübüler ve vasküler olayların birlikte rol oynadığını kabul etmek daha geçerli bir görüştür. Buna göre iskemi, glomerüler kapiller basıncı artırmakta; bu da tübüler akımın yavaşlamasına neden olmaktadır. Aynı zamanda iskemik hücre nekrozu, apikal membranın tübüler lümene dökülmesi ile birlikte çamursu kıvamda bir çöküntü oluşturarak sekonder olarak tübüler lümeni tıkamaktadır (Coe ve Brenner,1987).

2.3.3. Patoloji

ABY’li hastaların böbreklerinde izlenen histopatolojik değişiklikler çok çeşitlidir. Isık mikroskopisinde izlenen bulgular genellikle minimal düzeydedir. Bununla beraber, tübüler epitel rejenerasyonu, nekroz veya hücre bütünlüğünün

bozulması, intratübüler ‘silindrlr’, interstisyel ödem ve hücre infiltrasyonu gibi bulgulara rastlanabilir. Hatta, tübüler kollaps ve dilatasyon görülebilir. Dissemine vasküler koagülasyon veya uzun süreli iskemik hasar söz konusu değilse intrarenal kan damarları ve glomerüllerin normal olduğu gözlenir. Mikrodiseksiyon çalışmaları ile gözlenen lezyonlar genelde 2 tiptir:

- (i) Doğrudan nefrotoksik hasarı takiben özellikle proksimal kıvrımlı ve düz hücrelerde üniform, yaygın nekroz söz konusu iken tübüler bazal membranda değişiklik görülmez.
- (ii) Renal iskemiyi takiben ise nefronda orta şiddette, yamalı nekroz oluşur. Bu tip nekroz en fazla kortikomedüller bileskedeki tübüler segmentlerde belirgindir .

Jukstaglomerüler proksimal düz tübülüsler ve Henle kulpunun medullasında yer alan kalın çıkan kolu (thick ascending limb) nekroza özellikle duyarlıdır. Tüm bu histopatolojik farklılıklara karşın, nefrotoksik ve iskemik ABY’nin klinik tablosu benzerdir. ABY’de renal histopatolojik değişikliklerle işlevsel parametreler arasında çoğu zaman tam bir uyumluluk izlenmez. Ancak, ABY düzeldikten sonra yapılan böbrek biyopsileri genellikle normaldir (Coe ve Brenner,1987).

2.3.4. İlaça bağlı akut böbrek yetmezliği

Böbrekler fazla miktardaki kanlanmaları, endotelial yüzeylerinin genişliği, konsantasyon işlevleri ve metabolik etkinliklerinden dolayı toksik hasara karşı çok duyarlıdırlar. Potansiyel nefrotoksin olan çeşitli ilaçların konsantre edilmeleri işlemi, böbrek tübülüslerinde gerçekleştiğinden tübüler lümen ve peritübüler hücreler bu toksinlerle yüksek konsantrasyonlarda karşılaşılır. Böbrek medullası ve papiller dokular ise bu bölgelerde kan akımının

düşük, 'solute' konsantrasyonunun ise yüksek olmasından dolayı toksik hasara karşı daha hassastırlar (Robinson ve Millares,1992).

Geçmiste, ABY'ne neden olan ajanlar olarak ağır metaller, organik solventler ve glikoller ön planda yer almakta iken günümüzde bunlarla daha seyrek olarak karşılaşılmaktadır. Son yıllardaki çalışmalar aminoglikozit antibiyotikler ve radyografide kullanılan kontrast maddelerin ABY'ne yol açan nefrotoksik maddeler arasında ön sıraları aldığını göstermektedir (Shusterman ve ark.,1987). Aminoglikozit tedavisi gören hastaların yaklaşık % 10-20'sinde ABY izlenmektedir (Foster ve ark.,1992).

Yine, çeşitli analjezik ilaçlar, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, siklosporin, sisplatin ve amfoterisin-B nefrotoksik potansiyelleri fazla olan ilaçlardır. Söz konusu ilaçlarla oluşan ABY intravasküler sıvı kaybı, potasyum kaybı ve diğer ilaçların (örn. diüretikler gibi) birlikte kullanılması ile şiddetlenir.

Radyografik kontrast maddelerin sağlıklı bireylerdeki nefrotoksik potansiyeli düşüktür. Ancak, beraberinde bir böbrek hastalığının söz konusu olduğu durumlarda (özellikle diyabetik nefropati hastalarda) %10-40 arası sıklıkta ABY'ne yol açar. Metoksifluran ve enfluran gibi anestezi ajanları da ABY'ni indükleyebilirler.

2.3.5. Aminoglikozitlere bağlı akut böbrek yetmezliği

Aminoglikozitler 500 Dalton ağırlığında, polar, katyonik (ortalama pH: 7.8) moleküllerdir (Bennett, 1983). Polar yapılarından dolayı yağda az çözünürler ve bu yüzden biyolojik membranları geçme yetenekleri zayıftır. Plazma proteinlerine çok az bağlanırlar. İnsanlarda eliminasyon yarı ömürleri yaklaşık 2 saattir ve böbreklerden hızlı bir şekilde değişmeden atılırlar.

Değişikliğe uğramamış aminoglikozitlerin renal klirensi inülin klirensinden hafifçe düşüktür. Hemodiyalizle yeterli derecede itrah edilirler (Bennett, 1986).

Gram (-) enfeksiyonların aminoglikozitlerle tedavisi esnasında nefrotoksisiteye sıklıkla rastlanır (Barckley, 1994; Deamer, 1996). Bu ilaçlarla oluşan nefrotoksisitenin tübüler nekrozla karakterize olduğu gösterilmiştir. Hücre hasarı aminoglikozitlerin doğrudan tübüler etkisine bağlıdır ve primer olarak proksimal tüplerde izlenir.

Siçanda, mikropoksiyon ve mikroeneksiyon çalışmaları aminoglikozitlerin fırçamsi kenar membranında bir reseptöre bağlandıktan sonra vakuolizasyon ile proksimal tübölüs hücrelerine alındığını göstermektedir (Pastoriza-Munoz ve ark, 1979; Sastrasinh ve ark.,1982). Aminoglikozitler hücreye girdikten sonra lizozomlara tasınırlar. Hücre içine alınmasının sürekli olması lizozomal disfonksiyona ve sonuçta dejenerasyona yol açar. Bu da lizozomal enzimlerin açığa çıkarak diğer hücre organelleri üzerine etkimesine neden olur. (Robinson ve Millares,1992). Aminoglikozitler lizozomal fosfolipazları inhibe ederek fosfolipidlerin belirgin bir şekilde birikimine neden olur. Bu fosfolipidozla sonuçlanır (Feldman ve ark.,1982; Nonclercq ve ark.,1992). Bu kimyasal olayların kaniti ısı ve elektron mikroskopisinde membranöz ‘whorled’ miyeloid cisimciklerin izlenmesidir (Bennett,1983).

Bu morfolojik değişiklikler insan böbreginde birkaç aminoglikozit dozundan sonra, glomerüler filtrasyon hızı normal iken dahi izlenebilir (De Broe ve ark.,1984). Aminoglikozit-lizozom etkilesiminin bir sonucu olarak lizozomal membranlar ozmotik olarak aktif moleküllere daha az geçirgen hale gelir ve devamında yırtılma ve hücre nekrozu gelişir (Powell ve Reidenberg,1983; Rivas Cabanero ve ark.,1994). Nefrotoksisitenin ilk bulguları fırçamsi kenarın ve lizozomal enzimlerin lümene saliverilmesi, glikozüri, aminoasidüri ve tübüler proteinürüdür (Robinson ve Millares,1992).

Aminoglikozitlerin aynı zamanda mitokondriyal oksidatif fosforilasyonla etkileştikleri de gösterilmiştir. Bu etkilerin belirgin hücre nekrozu oluşumundan önce izlenmesi, hücre enerji mekanizmalarındaki bozukluğun hücre ölümü ile sonlanan hücre membrani aktivitesindeki anormalliklerin patogenezinde önemli olabileceğini düşündürmektedir (Humes ve Weinberg, 1983).

Aminoglikozitlerin tek bir yüksek dozu dahi membrana bağlı Na^+ - K^+ -ATP'az'da azalma ile sonuçlanabilir (Williams ve ark.,1981). Ancak aminoglikozit ile indüklenen *invivo* hasarın zamana bağlı gelişimi, hücre membranındaki transport enzimlerindeki değişikliklerin hücredeki letal değişikliklerin nedeni değil sonucu olduğunu düşündürmektedir.

Aminoglikozitlerin proksimal tübülüslerde doğrudan toksik etkisine bir diğer kanıt, K^+ ve Mg^{+2} gibi intraselüler katyonların proksimal tübülüs kaybının izlenmesidir (Bennett, 1983). Her ne kadar tübülüs hücre nekrozu ve glomerüler filtrasyon hızı arasındaki bağlantı tartışmalı ise de, elde edilen bulgular intratübülüs obstrüksiyonun böbrek disfonksiyonunun oluşmasında önemli bir rol oynadığı görüşünü desteklemektedir (Neugarten ve ark.,1983; Rivas Cabanero ve ark.,1995).

Yapılan araştırmalar aminoglikozit kullanan hastaların %10-20'sinde ilaç düzeylerinin terapötik sınırlar içinde olmasına rağmen nefrotoksisite geliştiğini göstermiştir (Matzke ve ark.,1983). Bu yüksek oran aminoglikozitlerin hasar yarattıkları intraselüler bölgelere plazma düzeylerinden bağımsız olarak taşındıklarının göstergesi olabilir. Aminoglikozit nefrotoksisitesi genellikle ilaca başladıktan sonraki 7-10 gün içinde ortaya çıkar. İdrar miktarının normal olması bu tip böbrek yetmezliğinin karakteristik bir özelliğidir (Bennett,1986). Glomerüler filtrasyon hızı azalmadan önce poliüri ve idrari konsantrasyon yeteneğinde azalma söz konusu olabilir. İdrar sedimentinde silendirlerde, tübülüs hücrelerinde ve miyeloid hücrelerde artış izlenebilir. Glomerüler filtrasyon hızının belirgin olarak düşmediği durumlarda dahi tübülüs hasarı yansıtan

enzimüri görölür (Bennett,1986). Sodyum ve potasyumun fraksiyonel itrahi artar. Bazi olgularda siddetli K^+ ve Mg^{+2} kaybina bagli olarak hipokalsemi gelisir. Renal biyopsilerde yamali ‘patchy’ tübüler nekroz karakteristiktir (Shanley ve Burke.,1990). Böbrek disfonksiyonu ilaç birakildiktan sonra 7-10 gün süre ile devam edebilir. Glomerüler filtrasyon hizindaki düşüseye bagli olarak aminoglikozit ‘kan çukur konsantrasyonu’ yükselir. Bazan diyaliz destegi gerekmeyle beraber çogu olguda GFR genellikle kendiliginden düzelir.

2. 4. SERBEST RADIKALLER

Serbest radikaller bir veya daha fazla eslesmemis elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsiz, molekül agirligi düşük ve çok etkin moleküller olarak tanimlanir. Çogu olayda serbest radikal üretimi, pato-mekanizmanin bir parçasidir ve pek çok ksenobiyotigin toksisitesi, serbest radikal üretimi ile ilgilidir. Oksidatif stres basit bir sekilde, vücudun antioksidan savunmasi ile hücrelerin lipid tabakasinin peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasindaki dengesizlik olarak tanimlanabilir. Oksidatif stres, toksisitenin olasi bir mekanizmasi olarak son on yildir toksikolojik arastirmaların odagi haline gelmistir.

Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi degisik kimyasal yapılarla sahiptir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden olusan radikallerdir. Oksijen, süperoksit grubuna ($O_2^{\cdot}$) bazi demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle indirgenir. Son derece etkin olan ve hücre hasarina yol açan süperoksit grubu, bakirli bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) araciliginda hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene çevrilir. Süperoksit grubundan daha zayif etkili olan H_2O_2 , dokularda bulunan katalaz, peroksidaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayif etkili ürünlere dönüştürölerek etkisiz kilinir. (Mercan 2004)

Serbest oksijen radikallerinin, ilaç ve toksinle oluşan reaksiyonlar, kursun zehirlenmesi, aminoglikozit nefrotoksitesisi, ağır metal nefrotoksitesisi, karbon tetraklorüre bağlı karaciğer hasarı, glomerulonefrit, hepatit B, iskemi ve reperfüzyon, E vitamini eksikliği, kanser, amfizem, hiperoksi, bronkopulmoner displazi, arteroskleroz, pankreatitis ve romatoid artrit gibi pek çok hastalığın patogeneğinde etkili oldukları öne sürülmektedir (Mercan 2004).

2. 5. LİPID PEROKSIDASYON

Süperoksit gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu singlet oksijen, hücre zarlarının fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, aldehytler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturur. Lipid peroksitler, indirgenmiş glutatyon (GSH) bağımlı selenyumlu bir enzim olan GS-peroksidaz tarafından lipid alkollere çevrilerek inaktive edilirse de, gerek süperoksit gruplarıyla fazla miktarda lipid peroksitlerin sekillendirilmesi ve gerek selenyum eksikliği ve gerekse ortamdaki GSH'nin tükenmesine neden olabilen dietilmaleat, dioksin gibi maddelerin bulunması, lipid hidroperoksitlerinden serbest lipid gruplarının oluşmasına yol açar. Serbest lipid grupları da, ayrıca doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur. Lipid hidroperoksitlerin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehytler ya hücre düzeyinde metabolize olurlar ya da başlangıçtaki etki alanlarında diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarak sekonder bozuklukların da göstergesi olabilirler. Beyin, oksidatif hasara en duyarlı bölgedir. Serbest radikaller, santral sinir sisteminin patolojik durumlarının pek çoğunda, doğrudan olarak doku hasarı meydana getirirler. Serbest oksijen türleri, ekzitotoksikite, metabolik disfonksiyon ve kalsiyumun intraselüler homeostazisinde bozulma gibi çoğu mekanizmalarla doku hasarı meydana getirirler. (Mercan 2004).

Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alis-verisine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (Mercan 2004).

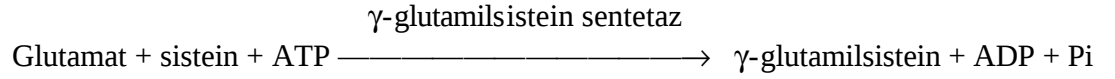
Nitro-aromatik yapıları organik fosforlu bileşikler vücutta biyotransformasyonları sırasında süperoksid grupları açığa çıkarırlar; hücre zarı fosfolipidlerinde lipid peroksidasyona ve sonuçta hücre hasarına yol açarlar. Fosfolipidlerin peroksidasyonunu kolaylaştıran -OH'li bileşikler, biyotransformasyonları sırasında ortak metabolit 2,4-diklorofenilakılklorür şekillenir. Bu madde glutatyonun tükenmesine yol açarak lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu mekanizmaları zayıflatır. (Mercan 2004)

2. 6. GLUTATYON

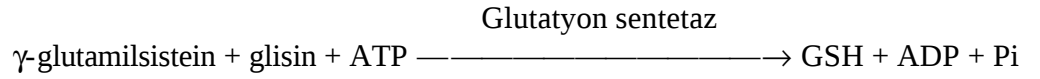
Glutatyon (γ -glutamil sisteinil glisin) (GSH) glutamik asit, sistein ve glisinden ibaret bir tripeptittir ($C_{10}H_{17}N_3O_6S$). Molekülün aktif kısmı sisteinin sülfidril grubudur. γ (Gama) glutamil kısmı hücre içi stabiliteyi ve peptidazlara direnci sağlar (Sen 1994, Zubay 1983) Memeli hücrelerinde en yüksek miktarda bulunan, nonprotein tioldür. Bütün canlıların hücrelerinde 0.1 - 10 mM konsantrasyonda bulunur (Atasoy 1994). Diğer metabolik açıdan önemli bileşikler gibi doku konsantrasyonları çok iyi regüle edilir. Çok uzun açlık yada ksenobiyotik maruziyetinde bile karaciğerdeki konsantrasyonu kontrol değerinin % 30' undan daha aşağıya düşürmek mümkün değildir. Ayrıca ksenobiyotik şeklinde veya özel diyetle dışarıdan GSH ön maddeleri verilerek hepatik GSH' i

fizyolojik maksimum konsantrasyonundan daha yüksek konsantrasyona çıkarmak da pek mümkün değildir (Bray 1994).

γ -glutamilsistein ATP kullanılan iki basamaklı bir reaksiyonla sentezlenir. İlk basamak glutamatin sisteinle kondansasyonudur (Zubay 1983).



İkinci basamak bu dipeptidin glisinle kondansasyonudur.



2.6.1. Glutasyonun önemli işlevleri şunlardır:

1. Proteinlerin tiyol gruplarını indirgenmiş durumda tutmak,
2. Disülfid kalıntılarının karşılıklı olarak değiştirildiği tepkimelerde görev almak,
3. Gliyoksalaz gibi bazı enzimlerin ko-enzimini oluşturmak,
4. Aminoasitlerin hücre zarlarından geçişini kolaylaştırmak,
5. Endojen peroksitleri ve serbest radikalleri yıkmak,
6. Yabancı maddeleri detoksifikasyon, (Atasoy 1994)

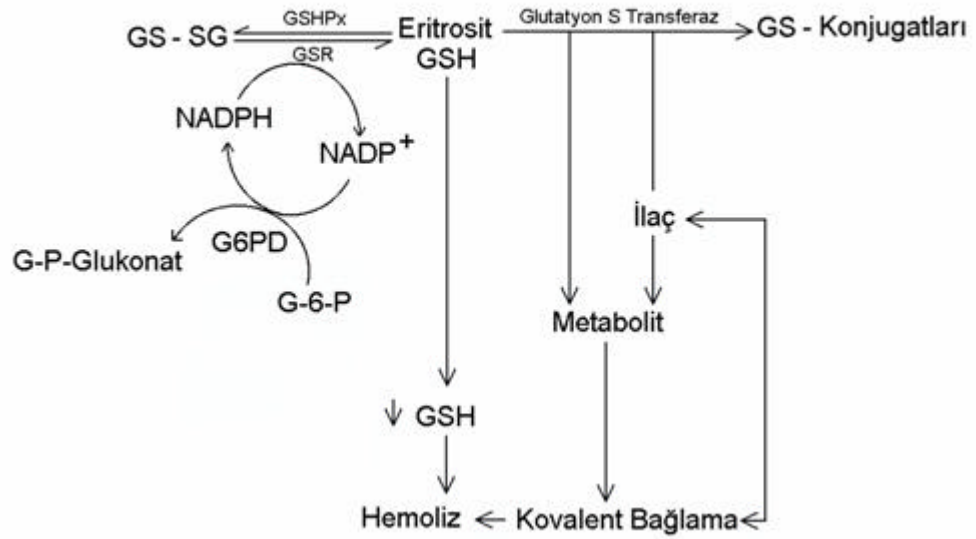
Glutasyonun hücre içinde indirgenmiş durumdaki proteinlerin tiol (sülfidril) gruplarının korunmasında muhtemelen nonenzimatik yolla etkili

oldugu düşünölmektedir. Protein - disölfid redöktaz enzimi, glutatyon ve proteinler arasindaki sölfidril - disölfid degisimini katalizler. Bu enzim insölinin yikiminda ve olasilikla polipeptid zincirinin katlanmasi sirasindaki disölfid köprülerinin yeniden siniflandirilmasinda önemlidir (Zubay 1983).

Glutatyon ayrica metilglyoksal'in glyoksalase I ve II enzimleri araciligi ile laktata dönsöümü ve formaldehitin formaldehit dehidrogenaz ve S formil glutatyon hidrolaz enzimleri araciligiyla formata dönsöümü gibi çeสิตli reaksiyonlarda koenzim olarak rol oynar. Bu reaksiyonların her birinde glutatyonun s-açilesteri bir serbest ara madde olarak görev görür (Zubay 1983).

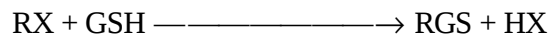
Glutatyonun bir baska rolü de γ glutamil siklusunda gama glutamil donörü olmasidir. γ glutamil siklusu enzimleri (özellikle γ glutamil transpeptidaz) hücre içine GSH transportunun önemli bir fonksiyon oldugu hücre ve dokularda bulunmaktadır. Glutatyon hücrelerin çoğunda içerden disari ve sadece γ glutamiltranspeptidaz içeren hücrelerde disardan içeri etkili sekilde tasinir. Bu enzim ayrica glutatyonun glutamat ve sisteinilglisine, glutaminden glutamat ve NH_3 ' e hidrolizini de katalizler. Sistein ve methionin için de hücre membranından geçiste bu transport tipi glutatyon kadar önemlidir. Böbrek ve eritrositlerden izole edilen glutamil transpeptidazin glutamat, alanin ve glutatyonun transportunu arttirdigi gösterilmistir (Atasay1994, Zubay 1983).

Glutatyon hemoglobinin demirinin Fe^{+2} durumunda korunmasi için de önemlidir. Oksidize glutatyonun NADPH' a bagimli glutatyon redöktaz ile indirgenmesi redökte glutatyonun yenilenmesini saglar (Sekil 3). Eritrositlerde GSH' in azalmasi Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e dönsöerek hemoglobinin Heinz cisimcikleri seklinde çökmesine ve hemolize sebep olur (Atasay 1994, Zubay 1983).



Sekil 3: Eritrosit glutatyonunun azalması sonucu oluşan mekanizma (Atasoy 1994)

Potansiyel olarak zehirli bazı elektrofilik ksenobiyotikler aşağıdaki reaksiyonda gösterildiği gibi nükeofilik GSH ile konjuge olurlar (Zubay 1983).



Burada R elektrofilik ksenobiyotiktir. Bu reaksiyonları katalize eden enzimler glutasyon S transferazlardır. Bu enzimler karacigerde hepatosit hücre stoplazmasında yüksek, diğer dokularda ise daha düşük konsantrasyonlarda bulunurlar. İnsan dokusunda glutasyon S transferazların çeşitli izoenzimleri mevcuttur. Bunlar benzer enzimlerdir, az sayıdadırlar, birçok hidrofobik substansi bağlama yetenegindedirler (Zubay 1983).

Glutasyonla konjuge olan substrat tipleri:

1. Epoksitler,
2. Aren oksitler,
3. Nitro gruplari,
4. Hidroksilaminlerdir.

Agri kesici ve ates dsrc bir ilaç olan asetominofen, tüberküloz tedavisinde kullanılan bir ilaç olan izoniazid, bir diüretik olan etakrinik asit, furosemid, genel anestezi bir madde olan halotan, karbon tetra klorür, nitrozoaminler, bromobenzen, özellikle alkilliyici ajanlar grubundan olan antitümöral ilaçlar, steroidler, bilirubin ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar GSH'la konjuge olan maddelere örnek olarak verilebilir (Katzung 1995, Klaassen 1986, Zubay 1983).

Eger toksik potansiyelleri olan ksenobiyotikler glutasyon ile konjugasyona ugramasalardi; DNA, RNA veya değisik hücre proteinleri ile kovalan olarak birlesebilecekler ve ciddi hücre hasarina yol aabileceklerdi. Bundan dolayi glutasyon bazi ilaçlar ve karsinogenler gibi değisik toksik maddelere karsi önemli bir savunma mekanizmasidir. Karaciger gibi dokularda glutasyon miktarı dsecek olursa, o zaman dokunun normalde glutasyon ile konjuge olması gereken madde tarafından hasara ugramaya yatkınlastigi grlr. Bu nedenle glutasyon düzeyi oldukça iyi regüle edilir ve doğal olarak ancak ölüm orucu gibi uzamis açlık hallerinde düzeyi dser. Ancak farelere glutasyon ile reaksiyona giren bazi bileşiklerin verilmesiyle deneysel olarak dokuda düsük glutasyon seviyeleri olusturulabilir ve etkileri incelenebilir (Bray 1994).

Escherichia colinin glutasyon sentezinde rol alan iki sentetazdan bir veya her ikisinden yoksun olan mutantlari retildiginde, bu hücreler glutasyondan yoksun olduklari halde yasayabilirler ve normal büyüme hizina sahip olurlar, ancak civali bileşikler gibi toksik bileşiklere asiri duyarlıdırlar (Zubay 1983).

Glutasyon konjugatlari ekskresyon öncesi daha ileri metabolizasyona ugrarlar. Glutasyona ait glutamil ve glisinil gruplari spesifik enzimler tarafından uzaklastirilir ve geri kalan sisteinil kisminin amino grubuna bir asetil grubu (asetil ko-A' dan saglanan) eklenir. Sonuçta olusan bileşik, idrarla atilabilen ve L-asetil sisteinin konjugesi olan merkaptürik asittir (Sen 1994, Zubay 1983).

Glutasyon ve glutasyon ön maddelerinin tedavide kullanimi iki deneysel bulgudan dolayi gelismistir.

1. Azalmis doku glutasyon miktarı artmış toksisite ve hastalıklarla birlikte dir.

2. GSH ön maddelerinin verilmesi toksikasyon ve hastaligi azaltmaktadır (Bray 1994).

Glutasyon metabolizmasının genetik defektleri, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, glutasyon redüktaz ve γ -glutamilsistein sentetaz enzimi eksikligini içerir. Bu hastalıklarda ortak bulgu zararlı kimyasal maddelerin alimiyla ortaya çıkan hemolitik anemidir (Atasoy 1994, Zubay 1983).

Kalitsal yada edinsel çeşitli hastalıklarda da doku glutasyon konsantrasyonları azalabilmektedir. Ancak sadece hastalıkla ilişkili dokularda glutasyon konsantrasyonu azalır, tüm vücut dokularında azalması söz konusu değildir. Plazma ve glutasyon düzeyinin azalması HIV (İnsan immün yetmezlik virusu) enfeksiyonunda bildirilmiştir.

Glutasyonun tiol grubuna konjuge olması, sentezini inhibe eder. Doku düzeyinin azalması diyetel sülfürlü aminoasitlerin eksikligine bağli olarak gelişebilir ve bu durumda kloroform, benzen, asetominofen gibi ksenobiyotiklerin toksisitesi artar. Glutasyonun sentezi için gerekli olan, sisteinin verilmesi bunların hepatotoksitesini engeller. Asetominofenin asiri

dozlarıyla gelisen zehirlenmelerde N-asetilsistein verilmesi, glutatyon sentezini arttirarak yasami kurtarir (Bray 1994).

2.7. GLUTATYON S TRANSFERAZ

Glutatyon S transferazlar (GST) farmakolojik aktif bilesikler de dahil olmak üzere potansiyel alkillayici ajanlarin detoksikasyonunun baslatilmasinda fizyolojik rol oynayan enzimlerdir. Bu enzimler glutatyonun elektrofilik ara maddelerle konjugasyonunu saglar, onlarin elektrofilik bölgelerini nötralize ederek daha suda çözünür ürünler olusturur (Habig 1974, Shea 1988).

GST' nin stoplazmada bulunan üç alt tipi (α , π , μ) ve membrana bagli bir alt tipi (mikrozomal) vardir. Bunlarin hepsi farkli moleküler yapıya sahiptir ve bu dört enzimin herbiri, izoelektrik noktaları, enzimatik özgüllükleri, immunolojik reaktiviteleri ve spesifik substratlarla reaksiyona girebilmeleri özelliklerine dayanılarak identifiye edilebilirler. GST' nin stoplazmik formları genis substrat aktiviteleri olan dimerik proteinlerdir ve bir multigen ailesindendir. GST π çok çeşitli normal dokulardan, plasenta, lenfositler, trombositler, ve insan malin dokularından izole edilmistir. Normal karacigerde GST π safra kanal epitelinde bulunur ve hepatositlerde bulunmaz, α ve μ tipi GST hem hepatosit hem de safra kanal epitelinde bulunur (Habig 1974, Hall 1990, Murray 1993) .

GST α hepatositlerde sentezlenen predominant GST izoenzimidir ve ayrıca böbrek gibi baska dokularda da bulunmustur. GST μ karaciger ve lökositlerde bulunmustur ancak toplumun sadece % 55' inde saptanabilmistir (Habig 1974).

2.7.1. Glutasyon S Transferaz ve Karsinogenez

Sitokrom p-450 çokgenli bir enzim ailesidir. Ksenobiyotiklerin baslangıç oksidatif metabolizmasında görevlidir ve bazı substratları potansiyel olarak mutajenik ve karsinojeniktir. Sitokrom p 450 metabolizması aktif ara ürünler üretebilir veya detoksifiye edebilir. Aktif metabolitler sıklıkla hücre proteinlere ve nükleik asitlere bağlanabilen ve hücre fonksiyonunu değiştirebilen elektrofilik bileşenler içerir (Habig, 1974).

Epoksid hidrolaz, çoğu potansiyel olarak karsinojenik veya mutajenik olan epoksitlerin, genellikle glutasyon veya glukronik asitle konjuge ederek, daha az toksik olan dihidrodiollere metabolize olmasını sağlar. Epoksitler sıklıkla sitokrom p 450 nin metabolizma ürünüdür. Bu ara ürünlerin glutasyonla konjugasyonunu GST katalizler (Habig, 1974).

2.7.2. Glutasyon S Transferaz ve Sitotoksik İlaç Direnci

Bifonksiyonel alkilleyici ajanlar hem solit tümörlerin hem de hematolojik malignitelerin tedavisinde kullanılan önemli ilaçlardır. Sıklıkla tedavinin başlangıcında tümörün büyümesi geriler, fakat değişken olabilen bir periyot sonrasında tümör hücreleri aynı gruptan ilaçlara dirençli hale gelirler. Hem deney hayvanlarında hem de insanlarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki bifonksiyonel alkilleyici ajanlara karşı direnç gelişiminde çeşitli hücre mekanizmaları etkilidir. Bunlar:

1. Azalmış ilaç alımı (uptake)
2. Artmış ilaç detoksifikasyonu (özellikle glutasyonla konjugasyon)
3. Artmış DNA tamiri (Hall 1989)

Bazı antikanser ilaçlar sitokrom p 450 ile metabolize olur ve fonksiyonel olarak ilişkili enzimler epoksid hidrolaz ve glutatyon S transferaz (GST)' dir. Antikanser ilaçlara dirençli hücreler azalmis sitokrom p 450 ve artmis epoksid hidrolaz ve GST ile karakterizedir (Hall 1989).

GSH, GST, GSHPx, Glikoprotein P ve O⁶-alkilguanin DNA-alkiltransferaz sitostatik ilaçlara direnç faktörleri olarak belirlenmektedir. Özellikle GST ve P glikoproteini ilaçlara dirençli lösemilerde belirgin olarak yüksek bulunmustur. GSH ve GST sitotoksik metabolitlerin, GSHPx ise toksik oksijen ara ürünlerinin detoksifikasyonundan sorumludur. GSH ve GST özellikle alkileyici ajanlar olmak üzere lösemi tedavisinde kullanılan ilaçlara gelisen dirençte rol oynarlar. Detoksifikasyon sisteminin farklı komponentleri malign hücrelerin prognozunda önemli bir göstergedir. Kötü prognozlu hastalarda degerlerin çok yüksek olduğu görülmüştür (Joncourt 1993).

Invitro çalışmalar çeşitli GST izoenzimlerinin tümör hücrelerinde de sentezlendiğini ve klorambusil, melfalan, adriamisin gibi, hematolojik malignitelerin tedavisinde çok kullanılan ilaçlara dirençten sorumlu olabileceklerini göstermektedir. GST' ler dirence doğrudan veya dolaylı yolla sebep olabilirler. Doğrudan detoksifikasyon ilaç veya ilaç metabolitlerinin aktif bölgelerinin glutatyonla konjugasyonunun sağlanması şeklinde olabilir. Diğer yol ise ilaçla hücre arasındaki ilişki sonucu açığa çıkan serbest radikaller gibi reaktif ürünlerin detoksifikasyonu yoluyla olabilir (Hall 1990).

Çeşitli çalışmalar, alkileyici ajanlara dirençli hücrelerde bir grup stoplazmik enzimin ekspresyonunun arttığını göstermiştir. Bu enzimlerin GST grubu olduğu anlaşılmıştır. Klorambusile dirençli hücrelerde artan izoenzimin α-GST olduğu tanımlanmıştır (Hall 1989).

İnsan trombositlerinden izole edilen GST ile yapılan çalışmalar bir nonsteroid antienflamatuar ilaç olan indometazinin GST aktivitesini azalttığını

göstermiştir. Klorambusile dirençli ve GST düzeyi normalin 40 misli yüksek olan tümör hücrelerine indometazin verildiğinde GST düzeyinin azaldığı ve hücrelerin klorambusile duyarlılaştığı görülmüştür (Hall 1989).

2.8. KATALAZ

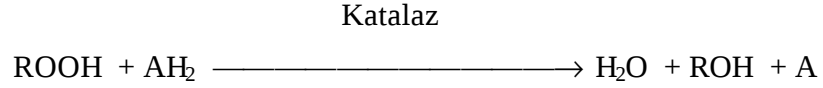
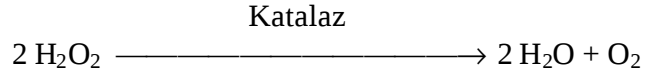
Katalaz; O. Loew tarafından ilk olarak 1901'de Nature dergisinde yayınlandı. Katalaz ilk olarak öküz karacigerinden kristal şekilde izole edilmisti (Summer ve Dounce 1937). Daha sonra Bonnicssen Herbert kandan ve diğer kaynaklardan izole ettiler. Bir molekülde 4 ferriprotoporfirin grubu içeren molekül ağırlığı 240.000 bir enzim olduğu anlaşıldı.

Dokudaki katalaz aktivitesi oldukça değişiktir. Karaciger ve böbrekte çok yüksekken, bağ dokusunda düşüktür. Dokularda esas olarak mitokondri ve peroksizom'larda bağlı olarak eritrosit içinde erimis halde bulunur. Kandaki katalaz aktivitesinin büyük bir kısmı eritrositlerdendir.

Katalaz hem etanol ve kloroform ile klasik presipitasyon (çökme), hem de DEAE-selüloz kromatografisi ya da jel filtrasyonu ile hemoglobinden ayrılır.

Katalazın çift fonksiyonu vardır.

1. Hidrojen peroksitten bir oksijen çıkartmak
2. Hidrojen vericilerin oksidasyonu ile 1 mol peroksit kaybı oluşturmalarıdır. (örneğin; metanol, etanol, formik asit, fenollerin 1mol peroksit kaybetmesi)



Katalazın fizyolojik fonksiyonu hala tam olarak açıklanmış değildir. Ancak bilinen katalazın hücre organellerinde spesifik bir peroksidaz rolü oynamakta olduğudur.

2.9. AMINOGLIKOZİTLER

2.9.1.Farmakokinetik Özellikler: Fizikokimyasal özellikleri nedeniyle aminoglikozitler mide-barsak kanalından pek absorbe edilmezler. Bundan dolayı sistemik etki elde etmek için ağız yolundan kullanılamazlar. Ancak barsak florasını azaltmak için ağızdan yinelenerek verilebilirler. Ameliyat sırasında periton veya plevra lavajı için de kullanılabilirler. Yanık, yaralanmış veya ülser olmuş cilt bölgelerine ve eklem boşluğuna lokal uygulandıklarında da sistemik toksik belirti yapacak kadar fazla oranda absorbe edilebilirler. (Kayaalp 2002)

Plazmada proteinlere ya hiç bağlanmazlar (gentamisin, kanamisin ve tobramisin gibi) ya da % 30'dan düşük bir oranda bağlanırlar (streptomisin gibi.)

Moleküllerinin fizikokimyasal özelliği nedeniyle esas olarak sadece ekstraselüler sıvıda dağılırlar. Kan-beyin, kan-BOS ve kan göz engellerini çok az geçerler (BOS'taki konsantrasyon plazmadakinin % 10'u kadardır.) BOS'a geçiş, menenjlerin iltihabi halinde biraz artsa bile yetersizdir. İç kulagin endolenf ve perilenfinde tedavi boyunca artan miktarda toplanırlar. Bu durum sözü edilen sıvılara sokulmalarının hızlı, fakat oradan kana dönüşlerinin yavaş olması ile ilgilidir. Bu özellik ototoksik etkilerinin oluşmasında rol oynar. Tek dozdan sonra endolenf ve perilenfte kalma süreleri plazmadakinden yaklaşık 5 kez daha uzundur. Sinovyal sıvı ve plevral sıvıya terapötik konsantrasyon oluşturan şekilde geçerler; Fötal dolasıma ise görece düşük bir oranda geçerler, fakat streptomisin ve tobramisin, fötusta iç kulak hasarı yaptığı görülmüştür (Kayaalp 2002).

Böbrek korteksinde, plazmadakinin 10-50 kati bir konsantrasyonda birikirler.

Eliminasyonları, üyeler arasında fazla bir oranda değişmeksizin esas olarak böbreklerden glomerüler filtrasyonla itrahi suretiyle olur. Renal klerensleri 80-90 ml/dak 'tır. İdrardaki konsantrasyonları plazmadakinin 100 katına kadar çıkabilir. Böbrek fonksiyonları normal olan kimselerde çeşitli aminoglikozit antibiyotiklerin eliminasyon yarılanma ömürleri yaklaşık olarak aynı değerdedir (2-3 saat). Vücutta kalış süreleri uzun olmamakla beraber, postantibiyotik etkilerinin uzun olması nedeniyle, ağır olmayan enfeksiyonlarda aminoglikozitler günde tek dozla bile etkili olabilirler (Kayaalp 2002).

Böbrek yetmezliği olan hastalarda, yetmezliğin derecesi ile orantili bir şekilde yarılanma ömürleri uzar. Bu nedenle böyle olgularda dozları ayarlanmalıdır. Dozun ayarlanması, yukarıda belirtilen yaş, cinsiyet, kreatinin klerensi ve vücut ağırlığı gibi faktörleri toplu olarak dikkate alan belirli

formüllere veya nomogramlara göre yapılabilir. Yaslı hastalarda da böbrek fonksiyonlarının doğal olarak azalması nedeniyle aminoglikozitlerin yarılanma ömürleri uzar. Yenidoğanlarda ve 6 aylığa kadar olan bebeklerde de yarılanma ömürleri artmıştır (Kayaalp 2002).

Aminoglikozitlerin toksik doz/terapötik doz oranları düşük olduğundan dozların dikkatli bir şekilde saptanması, sadece böbrek yetmezliği olgularında değil, genellikle bütün hastalarda gereklidir. Olanak varsa ilacın plazma konsantrasyonu ölçülüp izlenmelidir.

Hemodiyaliz ve periton diyalizi, aminoglikozitleri vücuttan önemli ölçüde uzaklaştırır. Hemodiyaliz seanslarından sonra kaybolan ilaç yerine yükleme dozunun yarısının verilmesi tavsiye edilir. Böyle hastalarda plazma ilaç konsantrasyonu ölçülerek izlenmelidir (Kayaalp 2002).

2.9.2 Kullanilis

Aminoglikozitler terapötik indekslerinin darlığı ve toksik etkilerinin (nefrotoksik ve ototoksik etkiler gibi) ciddi niteliği nedeniyle, genellikle daha az toksik diğer antibiyotiklere yanıt vermeyen ağır ve/veya komplikasyonlu enfeksiyonların tedavisi için kullanılırlar. Kullanilis yerlerinden bazılarının da, belirli aminoglikozit türleri tercih edilir.

Günde tek doz şeklinde uygulama: Aminoglikozit antibiyotikler eskiden beri genellikle, günlük dozlarını üçe bölmek suretiyle 8 saat ara ile verilir. Günlük doz bazen ikiye de bölünür. Ancak, günde tek doz uygulaması giderek yerleşmektedir. Bu uygulama en azından, günde 3 dozda yapılan standart uygulama kadar etkili, daha az toksik ve daha düşük maliyetlidir. Günlük doz halen standardize edilmemiş olmakla beraber, gentamisin, tobramisin ve netilmisin için 4-7 mg/kg ve amikasin için 15 mg/kg dir. Ancak aşağıdaki durumlarda standart günde 3 dozluk uygulama yapılması gerekir. (i)

enterekokal endokardit, (ii) gebeler ve çocuklar (iii) ağır böbrek yetmezliği olanlar ($kl_{kr} < 30$ ml/dak), (iv) nötropenili hastalar (Aminoglikozit bir beta-laktam antibiyotik ile kombine ediliyorsa günde tek dozluk uygulama yapılabilir) ve (v) Ağır Ps.aeruginosa enfeksiyonları (idrar yoluna kısıtlı olanlar dışında)

Günde tek dozluk uygulamanın **gerekçe ve yararları** şunlardır. (i) Aminoglikozitlerin bakterisit etkisi, konsantrasyona (doza) bağlıdır; bir kerede daha yüksek dozda verilmeleri daha yüksek konsantrasyon ve daha hızlı gelişen bakterisit etki yapar. Plazmadaki konsantrasyonun MİK'in üstünde kalması, günde 3 kezlik uygulamadaki toplam süreye göre daha uzun olur. (ii) Postantibiyotik etkiler uzundur. Bu nedenle konsantrasyonları MİK'in altına düştüğü sırada bile etkileri, görece uzun sürer. (iii) Günde tek doz verilmeleri halinde plazma konsantrasyonu günün büyük kısmı boyunca görece düşük kalır; böylece böbrek korteksi ve iç kulakta birikimleri önemsiz derecede olur. Sonuçta bu yerlerle ilgili ciddi toksik etki potansiyelleri azalır, daha güvenli olurlar. (iv) Verilisi ve serum düzeylerinin izlenmesi daha seyrek yapıldığı için tedavi maliyeti düşer, hasta daha az rahatsız edilir ve ayaktan tedavi kolaylaşır.

Baslıca kullanılış yerleri:

1. En önemli kullanılış yerleri, gram-negatif bakterilere bağlı olarak karin-içi veya pelvis-içi organlarda, akciğerlerde, kemik ve yumuşak dokularda gelişen enfeksiyonların veya komplikasyonlu idrar yolu enfeksiyonlarının ve bütün bu enfeksiyonlar sırasında ortaya çıkabilecek bakteremilerin tedavisidir. Bu enfeksiyonlarda i.v veya i.m. uygulama yapılır ve rutin olarak gentamisin kullanılır.

2. Pseudomonas enfeksiyonlarında genellikle tobramisin veya gentamisin bir antipsödomonal penisilin ile birlikte kullanılır. Gentamisine-rezistan gram-

negatif bakteriler özellikle hastane ortamında görüldükleri için amikasin, esas olarak hastanelerde, hastane enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Gentamisin anaerob bakterilere etkili olmadıgından, hastalık etkeni belirlenmemiş ağır sepsisemilerde gentamisin antianaerobik etkili bir ağır sepsisemilerde gentamisin antianaerobik etkili bir penisilin veya sefalosporin ile birlikte kullanılır. Bu kombinasyona metronidazol veya diğeri bir nitroimidazol türevi anti-anaerobik ilaç ilave edilebilir.

3. Gentamisin'in diğeri kullanılış yerlerinden özellik arzeden ikisi, gram-negatif bakteri menenjitlerinde intratekal olarak kullanılması ve immünosüpresyonlu (nötropenik) hastalardaki gram-negatif sepsisemilerinde kullanılmasıdır.

4. Streptokokus viridans, enterokoklar veya stafilokokların yaptığı infektif endokarditin tedavisinde gentamisin, anaerob bakterilere etkili olmadıgından, hastalık etkeni belirlenmemiş ağır sepsisemilerde gentamisin antianaerobik etkili bir penisilin veya sefalosporin ile birlikte kullanılır. Bu kombinasyona metronidazol veya diğeri bir nitroimidazol türevi anti-anaerobik ilaç ilave edilebilir.

5. Gentamisin'in diğeri kullanılış yerlerinden özellik arzeden ikisi, gram-negatif bakteri menenjitlerinde intratekal olarak kullanılması ve immünosüpresyonlu (nötropenik) hastalardaki gram-negatif sepsisemilerinde kullanılmasıdır.

6. Strep.viridans, enterokoklar veya stafilokokların yaptığı infektif endokarditin tedavisinde gentamisin, yüksek dozda parenteral ampicilin veya penisilin G ile kombine olarak kullanılır. Bu kullanılış yerinde eskiden streptomisin kullanılırdı. Söz konusu kombinasyon bakteriyoloji yönünden negatif gözüken klinik endokardit olgularının tedavisi için de tavsiye edilir.

Risk faktörü bulunan hastalarda infektif endokardit profilaksisi için "steptomisin+ penisilin G" kombinasyonu kullanılabilir. Gram-pozitif bir basil olan menenjit ve bakteremide penisilin G veya ampisiline ilave olarak gentamisin kullanilir.

7.Profilaksi amaciyla kullanis: bazı aminogilikozytler, özellikle gentamisin, mide-barsak, ortopedi ve kalp ameliyatlarından önce yara enfeksiyonunu önlemek için kullanilirler. Profilaksi amaciyla yapılan uygulamalar perioperatif nitelikte ve kısa olmalıdır.

8.Tedavi veya profilaksi amaciyla lokal kullanilis; Dis kulak yolu ve konjunktivadaki yüzeyel enfeksiyonların tedavisi için aminogilikozytler merhem veya solüsyon (damla) şeklinde kullanilirler; neomisin bu endikasyonlarda tercih edilir. Agir yanıklarda enfeksiyonun önlenmesi veya tedavisi için lokal gentamisin kullanilmistir; fakat enfeksiyon etkeni olan Pseudomonas aeruginosa ve diger gram-negatif bakterilerde çok çabuk ve ileri derecede rezistans gelistigi için gentamisin'in bu amaçla kullanilmasi tavsiye edilmez. Ciltteki primer veya sekonder yüzeyel stafilokok enfeksiyonlarında kullanilmek üzere gentamisin'in krem veya pomat şeklindeki müstahzarları çıkarilmistir. Impetigoda etken stafilokoklar yanında streptokoklar da olabilir; aminogilikozytler streptokoklara pek etkili olmadıklarından bu indikasyonda basarisiz olabilirler. (kayaalp 2002)

Gentamisin gibi sistemik enfeksiyonların tedavisinde sik kullanılan degerli bir ilacin cilt, göz veya dis kulak yolundaki enfeksiyonlarda kullanilmasiyla bakterilerde rezistans olusmasının tesvik edilmesi genelde sakincali bir yaklaşımdır; çapraz-rezistans olusmasi nedeniyle neomisin kullanilmasi da ayni sakincayi gösterir. Bu durumlarda, hiç sistemik kullanılmayan veya görece seyrek kullanılan basitrasin ve polimiksin B sülfat gibi aminogilikozyt-disi antibiyotiklerin veya kliokinol yada klorheksidin ve

benzeri antiseptik maddelerin lokal uygulanması, sözkonusu sakıncayı ortadan kaldırır (Kayaalp 2002).

Aminoglikozirlerin kombine kullanılması: Aminoglikozit antibiyotikler, ağır enfeksiyonların tedavisinde aşağıdaki amaçlarla, sık olarak, diğer bir antibiyotikle kombinasyon halinde kullanılırlar: i) Sinerjistik etkileşme nedeniyle güçlü antibakteriyel etki oluşturmak, ii) bakteriyelerde direnç gelişmesini önlemek ve iii) antibakteriyel spektrumu genişletmek.

2.9.3. Gentamisin

Gentamisin: Micromonospora purpurea'dan elde edilir. Gerçekte yapıcı birbirine çok benzeyen üç gentamisin türünün (gentamisin G, C_{1a} ve C₂) karışımından ibarettir. Kütlesine göre, streptomisin, kanamisin ve amikasin'den daha güçlüdür. Aminoglikozit ilaçlar içinde, amikasinden sonra, spektrumu en geniş ve antibakteriyel etki gücü en yüksek olanıdır. Bakteriye etki yapar. Özellikle Enterobacteriaceae grubu (E.coli, Klebsiella, Aerobacter vb.) bakteriler ile Pseudomonas aeruginosa gibi gram-negatif basiller ve penisiline-ve metisiline-dayanıklı Staph aureus suşları üzerinde etkilidir. Antipsödomonal penisilinlerle kombine edildiğinde, Proteus türleri ve Pseudomonas üzerinde, sinerjizma nedeniyle daha güçlü etkinlik gösterir. Sayılan bakterilerin hepsinin vitro koşullarda gentamisin'in 6µg/ml'den daha düşük konsantrasyonları ile inhibe edilirler. Bu konsantrasyon serumda, bir kezlik mutad doz olan i.m. 1.5 mg/kg gentamisin ile elde edilir. Hemolitik streptokoklar ve pnömokoklar üzerindeki etkinliği yetersizdir. Plazma proteinlerine hemen hemen hiç bağlanmaz (Kayaalp 2002).

Kanda yaklaşık % 10 oranında alyuvarlara bağlanır; bu nedenle anemik hastalarda kandaki serbest gentamisin konsantrasyonu biraz daha yüksek olur.

Vücutta biyotransformasyona uğramadan böbreklerden itrah edilir ve idrarda serumdakinden 10-100 kez daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Duyarlı bakterilerde rezistans gelişmesi, streptomisine karşı olduğundan daha yavaş ve daha küçük derecededir. Diğer aminoglikozitlere (amikasin hariç) rezistan olan bakteri suçlarına gentamisin etkili olabilir. Ancak bunun tersi, çoğu kez doğru değildir yani gentamisine-rezistan bakteriler, amikasin hariç diğer aminoglikozitler tarafından pek etkilenmezler.

Gentamisin mutad olarak 1-2 mg/kg dozunda 8 saatte bir (günde 3 kez) i.m. veya i.v. enjeksiyon suretiyle kullanılır. İdrar yolu enfeksiyonlarında daha ufak dozlar da (0.3-1 mg/kg) etkili olabilir. Lokal uygulamaya özgü %0.3'lük oftalmik solüsyonu veya merhemi ve %0.1'lik cilt merhemi veya kremi vardır. Toksisitesinin fazlalığı ve terapötik indeksinin düşük olması nedeniyle böbrek yetmezliği olan hastalarda dozunun ayarlanması ve mümkünse serumdaki düzeyinin izlenmesi gerekir (Kayaalp 2002).

2.9.3.1.Yan Etkileri

Aminoglikozitlerin, değişik derecede olmak üzere üç önemli ortak toksik tesirleri (nefrotoksik, ototoksik ve nörotoksik tesirleri) vardır. Bunlar doza-bağımlı yalın toksik etkilerdir. İlk iki toksik etki bakımından terapötik indeksleri oldukça küçüktür, ve bunlar nisbeten sık ortaya çıkarlar.

1. Böbrek proksimal tübülus hücrelerinde zedelenme ile kendini gösteren nefrotoksik etki: Aminoglikozitler, böbrek ve korteksinde proksimal tübülus hücrelerinde hücrelerin sillerine tutunarak bu bölgede birikirler. Endositoz ya da doğrudan hücre içine girerek lizozomlarda birikir ve lizozomal fosfolipazı inhibe ederler. Böylece hücresel sindirim engellenerek bakteri hücrelerini öldürür.. Bunun sonucu tübülus nekroz olarak nonoligoürik akut renal yetmezlik sekillenir. (Başlangıçta nefronun distal bölümünün (toplayıcı kanallar

dahil) bozulmasına bagli olarak böbregın idrari yoğunlastırma yeteneği bozulur. Nefrotoksik etki, genellikle en az bir haftalık tedaviden sonra ortaya çıkar ve genellikle oligürisizdir.) Kan üre azotu ve serum kreatinin düzeyi yükselir. İdrarda dökülmüş tübölus hücrelerinden olusan silindirler ve proteinüri görölür. Nefrotoksik etkileri, ototoksik etkilerinin aksine reversibl niteliktedir. Böbrek yetmezligi olgularında doz ayarlaması iyi yapılmazsa nefrotoksik etki insidensi artar.

Diger nefrotoksik ilaçlarla birlikte kullanıldıklarında, aminoglikozitlerin bu etkileri potansiyalize edilir. Bu tür istenmeyen etkilesme oluşturan ilaçlar arasında güçlü diüretikler (furosemid gibi), artık kullanılmayan bir genel anestetik olan metoksilfuran ve diger nefrotoksik antibiyotikler olan polimiksinler, amfoterisin B, vankomisin ve sefalotin vardır. Sefalotin dışında kalan sefalosporinlerin de daha zayıf da olsa nefrotoksik etki potansiyelleri vardır ve aminoglikozitlerin nefrotoksitesini artırabilirler. Yaşlılarda veya hacim ya da potasyum depleasyonu varlığında da nefrotoksik etkinlik artar.

Uzun süre yüksek doz gentamisinin uygulanmasından sonra yapılan kreatinin klirensinde serum kreatinin konsantrasyonu yükselmektedir. İdrar hacminin, tüböl sekresyonun artması ve reabsorpsiyonun azalmasına bagli olarak hafif arttığı, idrar sedimentinde ise; tüböl epitel hücreleri, yoğun hücre döküntüleri, hücresel ve granöl parçacıklar görölmektedir.

Aminoglikozitler, sefalosporinler ve furosemitle birlikte kullanılmamalıdır. Ates, dehidrasyon, sok, kronik renal yetmezlik, karaciger bozuklukları durumunda kullanılması nefrotoksitesiyi artıracığından kontraendikedir.

2. Ototoksik etki : Aminoglikozidler i kulagın endolenfinde ve perilenfinde birikirler, bu sıvıların elektrolit dengesini ve reseptör hücrelerin membran fosfolipidlerini bozarlar. İlaça göre değisen bir derecede olmak üzere iç kulakta gerek ısıtme organinin (kohlear toksisite) ve gerekse denge organinin

(vestibüler toksisite) reseptör hücrelerini (tüylü hücreleri) zedelerler ve yok edebilirler. Isıtme organinin zedelenmesi kohleanin taban kısmında bulunan ve yüksek frekanslı sese duyarlı olan tüylü hücrelerden baslar. Ototoksik tesirlerin önemli bir niteliği, ilaca maruz kalma uzarsa geri dönüşümsüz olmasıdır. Isıtmedeki azalma başlangıçta, özellikle yüksek frekanslı seslerde olur; bu nedenle konuşmanın isitilmesi başlangıçta bozulmaz; ancak, hastanın odiyogram yapmak suretiyle izlenmesi böyle bir etkinin başladığını erken olarak ortaya koyabilir. Önce 8 kilohertz frekansın üzerindeki sesin isitilmesi bozulur. İlaç verilmeye devam edilirse konuşma sırasında çıkan daha düşük frekans aralığındaki sesin isitilmesi de bozulur. Isıtme bozukluğu yanında kulak çınlaması ve kulakta dolgunluk duyumsaması olabilir. Denge organinin bozulması sonucu bulantı, kusma, baş dönmesi, ayağa kalkıldığında denge kaybı ve nistagmus oluşur; bozukluk ileri derecede ise ataksi ve Meniere - benzeri bir klinik durum ortaya çıkar. Dengedeki bozulma görme ile kompanse edildiğinden ayakta iken gözleri kapama denge kaybı yapar (Pozitif Romberg isareti). Yaşlılar (yas>60) bu ilaçların ototoksik etkisine daha yatkındır.

Güçlü diüretikler ve benzeri ototoksik ilaçların aminoglikozitlerle bir arada alınmaları ototoksik etki oluşturmalarını kolaylaştırır. Antiemetik ilaçlar, aminoglikozitlerin yaptığı denge organı bozukluğu belirtilerini maskeleyebilirler.

3. Nörotoksik etki : Aminoglikozitler yüksek dozda, çizgili kaslarda kürar-benzeri zayıf nöromusküler blok yaparlar. Motor sinir ucundan asetilkolin salıverilmesinin azaltılmasına ve kavsak sonrası membranda asetilkoline duyarlılığın düşürülmesine bağlıdır. İntravenöz yoldan hızlı enjeksiyonla aminoglikozit uygulanması halinde, belirgin bir kas felci olabilir. Hipokalsemi, hipokalmi ve myasthenia gravis gibi durumlarda hastalar sözkonusu etkiye fazla duyarlıdır.

Aminoglikozitlerin yaptigi nöromüsküler blok i.v. kalsiyum tedavisi ile düzeltilir. Ayni amaçla neostigmin ve benzeri antikolinesteraz ilaçlar uygulanabilir.

Aminoglikozitler, agiz çevresinde ve ekstremitelerde parestezi yapabilirler. Intratekal enjeksiyonlari ventrikülit yapabilir; bu nedenle menenjit tedavisinde bu sekilde uygulanmalarından mümkün olduğu kadar kaçınmak gerekir. Uzun süre kullanilrsa iç kulakta, reseptör hücrelerden baska isitme sinirini de bozabilirler.

4. Diğer yan tesirler: Aminoglikozitler (Özellikle streptomisin), sistemik olarak veya cilde lokal olarak uygulandiklarında, cilt döküntüleri, ates ve eozinofili gibi alerjik belirtilere neden olabilirler. Kemik iligi depresyonunu, hemolitik anemi, faktör V'in antagonize edilmesine bagli kanama ve myokardit gibi seyrek görülen yan tesirler yapabilir.

Agizdan uygulandiklarında diyare en sik görülen yan tesirdir. Psödomembranöz kolit bildirilmistir. Fakat paranteral verilisle olmaz. Uzun süren oral neomisin tedavisi spru-benzeri reversibl malabsorpsiyon sendromu olusturabilir.

2.10.RESVERATROL

Resveratrol (3,4,5-N-trihydroxystilbene) hem trans hem de cis izomeri olan bir antioksidant'tir. Resveratrolün 'piceid' olarak bilinen glikozide formu da mevcuttur. Resveratrol ve piceid'in bitkiyi strese (örneğin; fungal enfeksiyon) karsi korudugu ve bir çok bitkide bulunduguna inanilmaktadir. Resveratrolün orta derecede antifungal aktivitesi de bildirilmistir. (Liliya 2005) En çok üzümde, üzüm suyunda, sarapta ve fistikte bulundugu saptanmistir. (Tokusoglu 2005, Siemann 1992, Sobalew 1999)

Üzümün, içerdigi resveratrol (3,5,4-trihydroxystilbene) maddesinin özellikle hayvan ve patojenlerin bitkilere saldirmasi, yaralanma veya ultraviyole (UV) isiga maruz kalma sonucunda bitkiler tarafından dayaniklilik mekanizmasi olusturulmasi amaciyla üretilen bir bileşik oldugu bilinmektedir. Resveratrol maddesinin dut, yaban mersini ve yer fistiginin da içinde bulunduğu saptanmistir. Ancak en iyi kaynaginın üzüm oldugu ve en yüksek oranda renkli üzümlerde bulunduğu tespit edilmistir. Nemli bölgelerde yetisen ve renkli olan üzümlerin kabuk kisimlarinda bol miktarda sentezlenmektedir. Asmada dal, gövde, kök, çekirdek, yaprak, ve özellikle renkli olan üzüm tanelerinin kabuk kisimlarinda sentezlendiğini belirten arastirmacılar, kirmizi üzüm sirasinda bu maddenin bulunduğunu, beyaz üzüm sirasinda ise olmadığını ortaya koymuslardır.

Fransizlarda yüksek yağli beslenmeye ragmen koroner kalp hastaligina düşük oranda rastlanilmasi Fransiz paradoksu olarak adlandırilmis ve kirmizi sarap tüketiminin dolayisiyla resveratrol tüketiminin fazla olmasina bağlanmistir. (Kopp 1998)

Resveratrolün koroner kalp hastaligi üzerindeki etkisi LDL'nin oksidasyonuna karsi koruma yoluyla olabilir. (Frankel 1993) Koroner kalp hastaligina karsi koruyucu etkisi trombosit agregasyonunu azaltmasina bağli olabilir (Pace-Aciah 1995).

Resveratrolün antikarsinojen özelligi bulunduğu gösterilmistir. Bunu protein tirozin kinaz ve sitokrom P450 1A1 aktivasyonunu azaltarak yaptigi düşünülmektedir (Chun 1999). Ayrica prostoglandin sentezinin inhibisyonu ile de tümör gelişiminin yavasladigi rapor edilmistir. (Jang 1997)

Resveratrol, östrojenik antitrombositer ve antiinflamatuvar özellikleri olan, biyokimyasal ve fizyolojik olaylarda rol alan bir polifenol fitoaleksindir. (trans 3,4,5-trihidroksi stilben) (Bertelli 1996 ; Ferrero 1999)

Son zamanlarda RSV'nin iskemi-perfüzyon çalısmalarında böbrek, kalp ve beyinde koruyucu özelliği olduğu da gösterilmiştir. (Das 1999 Ray 1999 Bastianetto 2000 Giovanni 2001)

Böbrek hücrelerinde koruyucu etkisini ise NO miktarını arttırarak olusturduğu belirlenmiştir (Giovanni 2001).

Tablo 1 de RSV'nin gentamisin nefrotoksisideki böbrek hasarını önleyici etki mekanizması sematize edilmiştir. Bu semaya göre RSV nitrik oksitin peroksit ile birleşmesini önleyerek peroksinitrit oluşumunu engelliyor ve/veya oksijen radikal oluşumunu engelliyerek glomeruler filtrasyon oranını azalmasını engelliyor olabilir.

2.11. E VİTAMİNİ

Besinler içinde en fazla bulunan ve en güçlü E vitamini etkinliği gösteren türev α -Tokoferol'dur. Bu madde doğal olarak D izomeri halinde bulunur; sentetik olarak rasemik şekil yapılır ve ilaç olarak bu şekli kullanılır. Fiziksel özellikleri bakımından bir sıvı yağdır.

Tokoferol 'un besinler içinde bulunan beta, gama, delta, eta ve zeta türevlerinin E vitamini etkinliği, α -tokoferol 'unkine göre oldukça düşüktür. Tokoferollar, kimyaca izoperenoid zinciri ile sübsitiüe edilmiş 6-hidroksikroman (toko) türevleridir. Düşük derecede olmak üzere besinler içindeki tokotri-enollar da E vitamini etkinliği gösterirler.

Kural olarak besinler içindeki E vitamini etkinliğinin yaklaşık %80 ' in α -tokoferola bağlı olduğu, geri kalan %20 'sinin diğer tokoferol türevlerinden ve tokotrienollardan ileri geldiği kabul edilmektedir.

Alfa-tokoferolun kimyasal olarak ölçümüne ait yerlesmis yöntemler bulunduğu ve diğerlerinin kimyasal olarak ölçümü zor olduğu için besinlerin E vitamini etkinliği değerlendirilirken sadece α -tokoferol miktarı ölçülür; ayrıca, besin içinde diğer türevlerin varlığından ileri gelen ve α -tokoferolunkinin %25'ine (toplaminin %20'sine) esit değerde ilave bir E vitamini etkinliğinin daha bulunduğu kabul edilerek bu değer ölçümüne ilave edilir.

E vitamini hububat tanelerinde (bunların yağ fraksiyonunda), misir yağı, pamuk yağı, soya yağı, ve diğer bitkisel sıvı yağlarda ve bunlardan yapılan margarinlerde, et hayvansal yağ, karaciger, balık eti, tavuk eti ve yumurtada bulunur. Kızartma, kaynatma ve saklama sırasında önemli ölçüde parçalanır, Anne sütünde oldukça fazladır.

2.11.1.Fizyolojik Önemi, Farmakolojik Etkileri ve Eksiklik halleri

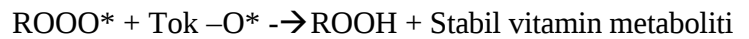
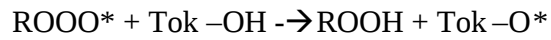
Yakın zamana kadar E vitaminin insan organizmasında fizyolojik bir öneminin bulunmadığı ve eksikliğinde belirgin bir patolojik bozukluğun gelişmediği sanılırdı. Öte yandan siçanlarda eksikliği halinde çeşitli bozukluklar geliştirdi, eskiden beri bilinmektedir. Yeni verilerin isığı altında E vitamininin insanda fizyolojik öneminin olduğu ve eksikliği halinde belirli patolojik bozukluklar oluştugu saptanmıştır. Günlük E vitamini gereksinimi kesin olarak belirlenmemiştir. 3-15 mg arasında olduğu düşünölmektedir. Günlük tavsiye edilen çocuklarda 3-7 mg erişkinlerde 10-12 mg. dir.

Antioksidan etkisi ve hücre membraminin ve subsellöler membranlarının stabilitesinin sürdürölmesi; E vitamininin kimyasal bir özelliği antioksidan etkinliğinin olması peroksitlerin ve serbest oksijen radikallerini nötrale edilebilmesidir. Bu etkinliği insan vücudunda da gösterir. Hücrelerde membran fosfolipidlerinin poli- doymamis yağ asitleri (linoleik asid ve arasidonik asid gibi), spontan olarak veya oksidan metbolitlerin satasması

(challenge) sonucu kolayca oksidlenebilir ve peroksid türevlerine dönüşebilirler. Bu olaya **lipid peroksidasyonu veya membran lipidlerinin otooksidasyonu olayı** adi verilir. Serbest oksijen radikalleri olusmasinin eslik ettigi bu olay zincirini membranda önleyen ve olustugunda nötralize eden en güçlü antioksidan faktör E vitamini; vücudun diger antioksidan sistemleri (C vitamini, glutation peroksidaz ve β-karoten gibi) söz konusu olay üzerinde E vitamini kadar etkili degildirler. E vitamini, hücre ve subseüler yapıların mebran lipidleri üzerindeki bu etkisi nedeniyle membranları **oksidatif zedenlemeye karsi korur**. Böylece eritrosit membraninin stabilitesini arttırır, aynı etkiyi diger hücrelerde de gösterir. Eritrosit membrani ve bronkoalveoler sistemin epitel membrani gibi vücutta en yüksek parsiyel oksijen basincına maruz kalan yerlerde E vitamini konsantre olur.

Ateroskleroz gelismesinde önemli bir risk faktörü olan düşük dansiteli lipoprotein (DDL'nin) damar çeperindeki hücreler tarafından daha yüksek riskli oksidlenmiş DDL şeklinde dönüştürülmesi E vitamini tarafından inhibe edilir. Aynı özellik beta-karotende de vardır. Olgu-kontrol incelemelerinde, bir eksiklik söz konusu olmaksızın, plazmada ve yağ dokusunda E vitamini ve beta-karoten düzeyinin düşüklüğü ile angina pectoris ve myokard infarktusu riskinin artması arasında ilişki olduğu saptanmıştır.

E vitamini (Tok-OH), peroksitler üzerindeki nötralize edici etkisini, kendinin bir fenolik hidrojen atomunu peroksil radikale (ROO*) transfer etmek suretiyle aşağıdaki şekilde iki basamakta yapar :



İnsan eritrositlerinin hidrojen peroksit ile in vitro ortamda hemolizi, E vitamini tarafından önlenir. Eritrositlerin hidrojen perokside duyarlığının

ölçülmesi esasına dayanan in vitro testler, insanda E vitamini eksikliği olup olmadığını ortaya koymak için kullanılırlar.

E vitamini membran fosflipidlerinin peroksidasyonunu engelleyen birinci sıra savunma hattını oluşturur. Onu destekleyen gerideki savunma sistemlerinden glutatyon peroksidazın molekülünde fonksiyonel önemi olan bir öge selenyum iyonudur. Selenyum vücutta E vitamini tasarruf ettirir ve E vitamini gereksinimini düşürür. Bunun başlıca nedenleri şunlardır; i) Selenyum, glutatyon peroksidazın fonksiyonel bir ögesi olarak bu enzimi aktif durumda tutar ve peroksidasyona karşı savasta E vitamininin yükünü azaltır. ii) Pankreasın ekzokrin fonksiyonunu destekleyerek yağların ve onlarla birlikte E vitamininin sindirimini ve absorpsiyonunu artırır. iii) selenyum bilinmeyen bir mekanizma ile E vitamininin plazma lipoproteinleri içinde tutulmasını destekler. Aynı şekilde kükürtlü amino asitler de antioksidan etkinlik gösterirler ve E vitamini gereksinimini azaltırlar. Gerek selenyum ve gerekse kükürtlü amino asitler deney hayvanlarında yapılan E vitamini eksikliği sendromunun bazı belirtilerini düzeltir.

E vitamini, A vitamininin barsaktan absorpsiyonunu ve dokulardaki düzeyini artırır. Bu durum büyük bir olasılıkla, A vitamininin oksidasyonla kaybının azaltılmasına bağlıdır. E vitamini hücrelerde ubikinon'un da oksitlenmesini önler. İlginç olarak E vitamini A hipervitaminozu belirtilerini hafifletebilir (Kayaalp 2002).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Hayvani

Bu alısmada 80 adet 250-300gr. ağırlıgındaki wistar cinsi erkek albino sıçanlar kullanıldı. Standart sıçan pellet yemi ve ilave olarak musluk suyu verildi. Oda isisi 24 ± 2 °C' de sabit tutuldu ve 12 saatlik karanlık-isik periyodu (06⁰⁰-18⁰⁰) saglandı. Ölçümlerde olusabilecek diüurnal varyasyonları önlemek amacı ile tüm kan ve idrar örnekleri günün aynı saatlerinde alındı.

3.2. Deney protokolü

Sıçanlar 10'ar hayvandan olusan 8 gruba ayrıldı. Deney protokolüne baslamadan önceki son gün sıçanların ağırlıkları ölçüldü.

1. Grup (Kontrol): Bu gruptaki sıçanlara 6 gün süre ile 1 ml s.c. serum fizyolojik (S.F.) enjeksiyonu yapıldı

2. Grup (kontrol+DMSO): Bu gruptaki sıçanlara 6 gün süre ile 1 ml s.c. serum fizyolojik + DMSO) enjeksiyonu yapıldı.

3. Grup (kontrol DMSO+RSV): Bu gruptaki sıçanlara 6 gün süre ile 1 ml s.c. DMSO + 10 mg/kg RSV) enjeksiyonu yapıldı.

4. Grup (kontrol+E vitamini): Bu gruptaki sıçanlara 6 gün süre ile E-vitamini enjeksiyonu yapıldı.

5. Grup (ABY): Sıçanlarda ABY olusturmak amacı ile 6 gün süre ile subkutan (s.c) 80 mg/kg gentamisin enjeksiyonu uygulandı (Ali BH,, 2002).

6. Grup (ABY+DMSO): Akut böbrek yetmezligi oluşturulmuş siçanlarda DMSO'nun etkisini görmek amacı ile 6 gün süre ile subkutan (s.c) 80 mg/kg gentamisin enjeksiyonu ile birlikte aynı periyot süresince DMSO 1ml volum içinde i.p. verildi.

7. Grup (ABY+ E vitamini): Böbrek yetmezligi oluşturulan siçanlarda Evitamininin etkisini izlemek amacı ile 6 gün süre ile gentamisin enjeksiyonu uygulanan siçanlara aynı periyot süresince E vitamini i.m .250mg/kg/gün verildi.

8. Grup (ABY+Resveratrol): Böbrek yetmezligi oluşturulan siçanlarda resveratrolun etkisini izlemek amacı ile 6 gün süre ile s.c. gentamisin enjeksiyonu uygulanan siçanlara aynı periyot süresince s.c. 10mg/kg/gün /1ml verildi.

3.3. Histopatolojik değerlendirme

Son doz uygulandıktan 24 saat sonra siçanlar dekapite edilerek kanları toplanıp ve böbrekleri çıkarıldı. Çıkarılan böbrekler longitudinal bir kesi ile ikiye ayrıldıktan sonra önce yaklaşık 30 dakika civarı formalin (B5) solüsyonunda bekletildi. Ardından % 4' lük formalin solüsyonunda fikse edilip rutin takip ardından parafine gömüldü. Parafin bloklardan 3-5 µ kalınlıkta kesitler hazırlanıp hematoxilen-eozin ile boyandı ve ışık mikroskobu ile incelendi.

Işık mikroskobu ile incelemede ilacımız tübüler hasar yaptığı için tübülos hasarı ve glomerüller değerlendirildi.: Tübüler vakuolizasyon, tübüler nekroz, glomerüllerde parietal hücre hiperplazisi ve ayrıca tübülointerstiyel

alandaki mononükleer hücre infiltrasyonu skorlandı. Tanımlanan 4 ayrı lezyon için 0 (yok), 1 (hafif), 2 (orta), 3 (siddetli) skorları kullanıldı.(Tariq 1989)

Tübüler vakuolizasyon: Epitel hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon hücre degenerasyonunun bir aşaması olduğundan derecelendirilmesi yapıldı. Grade I küçük odacıklar halinde %25'in altı alanda vakuoler degenerasyon, grade II %25-50 arasındaki alanda vakuoler degenerasyon, grade III %50'nin üzerindeki alanda vaküler degenerasyon olarak skorlandı.

Tübüler nekroz: Epitel hücrelerinde nükleus kaybı, koyu asidofilik sitoplazma, tübülüs epitel hücrelerinin lümenine dökülmesi ve asellüler tübülüs kesitlerinin izlenmesi ile değerlendirildi. Grade I küçük ve hemen kapsül altında birkaç fokal odakta tübüler nekroz, grade II birkaç fokal odakta ve tübülüs segmenti boyunca tübüler nekroz, grade III belirgin ve birleşik tübüler nekroz olarak skorlandı.

Paryetal hücre hiperplazisi: glomerüllerde bowman kapsülünde paryetal hücre artışı değerlendirildi. Bu artış glomerüllerin %25'inden az olduğunda Grade I, %25-50 arasında olduğunda Grade II, % 50'sinden fazlasında görüldüğünde Grade III olarak skorlandı.

Tübulo-interstisyel mononükleer hücre infiltrasyonu: Perivasküler, interstisyel alandaki yangısal hücre infiltrasyonunu belirlemek amacıyla değerlendirildi. Grade I'de birkaç adet küçük ve genelde perivasküler alanda yoğunlaşan infiltrasyon izlenirken, birçok odakta ve genellikle kortikal interstisyel alanda mevcut infiltrasyonlar grade II olarak alındı. Yaygın infiltrasyon grade III olarak değerlendirildi.

3.4. Analizler ve deneyler için kullanılan kimyasallar

- Gentamisin (Bilim ilaç)
- Resveratrol (Sigma)
- DMSO (Plantafarma)
- PNADPH (Sigma N 1630)
- Dipotasyum asit (Sigma P2256)
- Kalsiyüm Klorür (CaCl_2) (Merck 2381)
- ATP (sigma A 3377)
- Perlokrik Asit (HClO_4) (Sigma P7641)
- Sodyum bisülfid (Merck)
- Sodyum Sülfid (Sigma S8018)
- Sodyum Disülfid ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) (Merck 6357)
- 1 Amino 2 hidroksi Naftalik 4 sülfonasit (Sigma N 1671)
- 2,4dinitrofenil hidrazin (DNPH) (Merck 3081)
- Etil Asetat (Merck 584)
- Ethanol (Merck)
- Hidroklorik asit (HCl) (Merck)
- Sülfürik asit (H_2SO_4) (Merck)
- 1 klor-2,4 dinitrobenzen (CDNB) (Sigma C 6396)
- 5,5' dithiobis-2nitro benzoic acid (DTNB)(Merck 3291)
- EDTA (Merck 421)
- Glutasyon (GSH)(Sigma G4251)
- Okside Glutasyon (GSSG)(Sigma 4376)

- Glutasyon redüktaz (Sigma G 4751)
- Sodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) (Merck 6586)
- Sodyum Klorür (NaCl) (Merck 349)
- Sodyum Azit (NaN_3) (Merck 6688)
- Sodyum Sitrat (Merck 6432)
- t-bütil hidroperoksit (Sigma B 2633)
- Sodyum hidroksit (NaOH) (Merck 926)
- Trisma –base (Sigma T 1503)
- Tiyobarbitürik asit (TBA) (Sigma T 5500)
- Triklorik asit (TCA) (Sigma T4885)
- Sodyum-Karbonat (Na_2CO_3) (Merck 6398)
- Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (Merck 4871)
- PNADH (Sigma N 8129)
- ADP (diagnostic stago)

3.5. Kullanılan araçlar

- o Santrifüj : Hettich Zentrifügen , Biofüge A heraus christ
- o Benmari (su banyosu) : Kottermann Laborechnik Tip 3047
- o Hassas Terazı : Chyo Tip JL-180
- o pH metre : Micropocessor pHmeter pH537 WTW TIPE 50
- o Dondurucu : -80 C Farma Scientifi Inc. Biol Freezer
- o Vorteks : Janke&Kunkel IKA Labor Technik VF2
- o Karıstırıcı: Janke&Kunkel IKA Labor Technik IKO mag RH meter
- o Spektrofotometre: Farmacia .

3.6. Invivo incelemeler

1. Kan analizleri hastanemizde rutin biyokimya laboratuvarı tarafından yapıldı.

3.7. Total Doku homojenatlarında yapılan incelemeler.:

3.7.1. Doku lipid peroksidasyonunun belirlenmesi :

Doku homojenatlarında lipid peroksidasyonu, MDA düzeylerinin ölçülmesi ile belirlendi. Bu yöntemde dokuda lipid peroksidasyonunun son ürünü olarak oluşan MDA'nın TBA ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk spektrofotometrik olarak saptandı.

Dokular 0.25 M sukroz çözeltisi (soguk) içinde hazırlanarak %10'luk homojenat haline getirildi. 2:1 hacim oranında homojenat ile TCA ilave edilip vortekslendi ve 3000rpm'de 15 dakika santriüj edildi. Süpernatant kısımdan 1 ml alındı ve üzerine 250 µl %1 TBA ilave edildi. 15 dakika kaynar su banyosunda bırakıldı. Soguduktan sonra 532 dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm alındı ($\epsilon_{532}=1.5 \times 10^{-5} \text{ M}$).

Alınan absorbans değeri ekstinksiyon katsayısına bölünerek sonuçlar nmol MDA/mg protein olarak belirtildi.

Homojenatların protein miktarı Lowry yöntemi (Lowry 1951) ile ölçüldü.

3.7.2. Glutasyon Düzeyinin Tayini

Dokulardaki indirgenmiş glutasyonun (GSH) ölçülmesi:

Beutler ve arkadaşlarının modifiye ettiği Grunert ve Phillips yöntemi kullanıldı. Bu metot 5,5' dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) eklendiğinde sülfidril

gruplarının oldukça stabil sari renk olusturmasi temeline dayanan spektrofotometrik bir yöntemdir (Beutler 1963, 1975).

Kullanilan Solüsyonlar:

Proteinsizlestirme çözeltisi:

1,67 gr. Glasial metafosforik asit

0,2 gr EDTA (disodyum veya dipotasyum etilen ediamine tetraasetikasit)

30 gr NaCl

100 ml distile su

Bu solüsyon yaklasik üç hafta boyunca +4 °C ' de stabildir.

Fosfat solüsyonu:

0,3 M Na₂HPO₄ solüsyonu distile su ile hazirlanir.

+4 °C ' de bekletilirken kristallesmisse isitilerek çözülür.

Elmann ayiraci:

40 mg DTNB (5,5' dithiobis- (2-nitrobenzoicacid)

100 ml % 1' lik sodyum sitrat

Buzdolabinda yaklasik 13 hafta boyunca stabildir.

Calisma Programi:

0,2 ml tam homojenat 1,8 ml distile suya eklendi, vortekste karistirilerek hemolizat hazirlandi. 3 ml proteinsizlestirme çözeltisi eklenip vortekste karistirildi. Karisim 5 dakika bekletildi. 4000 g' de 10 dakika santrifüj edildi. 2 ml süpernatant alinarak bunun üzerine 8 ml fosfat solüsyonu ve 1 ml Elmann ayiraci eklendi. Elmann ayiraci eklendikten sonraki 4 dakika içinde 412 nm' de okuma yapildi. Ekstunsiyon katsayisi $13,6 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ kullanilarak hesaplama yapildi, % gr GSH birimi kullanildi.

3.7.3. Katalaz Tayini

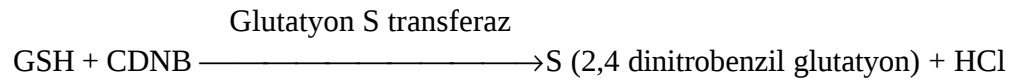
Dokular serum fizyolojik (% 0,9'luk NaCl) ile yıkandıktan sonra katalaz, tayini için Tris-HCl tamponu (50 mM Tris, 0,1 mM EDTA, pH 7,6) ile 1:10 oranda sulandırılarak homojenize edilmistir. Homojenat sogutmali santrifüjde (Sorvall RC -5B) 1.000xg'de 15 dakika, santrifüj edilerek süpernatant alınmistir.

H₂O₂'in katalaz tarafından yıkım hızı, H₂O₂'in 240 nm dalga boyunda isigi absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak Aebi (14) yöntemi ile ölçülmüştür.

Protein konsantrasyonu ise Lowry (Lowry 1951) metoduna göre çalışılmıştır. Sonuçlar Mann-Whitney U testi uygulanarak değerlendirilmiştir.

3.7.4. Glutasyon S- Transferaz düzeyi tayini:

1. Glutasyon S transferazlar (GST) indirgenmiş glutasyon ile elektrofilik maddelerin konjugasyonunu katalizleyen bir grup enzimdir. Glutasyon (GSH) ile 1-klor-2,4-dinitrobenzen (CDNB) bileşiminin konjugasyonu sonucu oluşan ürün S(2,4dinitrobenzil glutasyon) spektrofotometrik olarak 340 nm' de takip edildi (Beutler, 1975).



Ayırıcılar:

1. Fosfat tamponu:

100 mM ve pH 6,5 olacak şekilde Na₂HPO₄ ve distile su ile hazırlandı. +4 °C' de saklandı.

2.GSH çözeltisi:

Glutasyon, 3,05 mg/ml olacak şekilde tamponda çözöldü. Taze hazırlandı.

3.CDNB çözeltisi:

1-klor-2,4-dinitrobenzen, 1.8 mg/ml olacak şekilde etanolde çözöldü. Taze hazırlandı.

Deneyin yapılışı:

0,05 ml tam kan ve 0,95 ml distile su ile 1/20' lik hemolizat hazırlandı. Hemolizat hücre artıklarının uzaklaştırılabilmesi amacıyla 10000 x g' de 1 saat santrifüj edildi. Ayrılan süpernatantlar otoanalizörün örnek kaplarına konuldu. Otoanalizörün ayıraç kuvvetlerine konmak üzere iki ayrı çözelti hazırlandı.

1. Ayıraç: 10 ml ayıraç için 1 ml glutasyon çözeltisi ile 9 ml tampon karıştırıldı

2. Ayıraç: CDNB (1-klor-2,4-dinitrobenzen)çözeltisi

1. Ayıraçtan 330 mikrolitre, hemolizattan 30 mikrolitre; reaksiyon kuvetine konarak 3 dakika inkübe edildi, ardından 2. ayıraçtan 30 mikrolitre kondu. Glutasyon S transferaz aktivitesi, glutasyonun CDNB (1-klor-2,4-dinitrobenzen) ile konjugasyonu sonucu oluşan ürünün (S-2,4 dinitrobenzil glutasyon) spektrofotometrik olarak 340 nm' de takibi ile tayin edildi. 2. ayıraçın reaksiyon kuvetine konmasından itibaren 0, 1, 2, 3, 4. dakikalarda olmak üzere 5 okuma yapıldı.

Ekstansiyon katsayısı $9,6 \text{ M}^{-1} \text{ dakika}^{-1}$ kullanılarak enzim aktivitesi hesaplandı ve U/gr protein birimi kullanıldı.

4. İSTATİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz, 'SPSS for Windows 13.0' istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak verildi. Parametrik koşulların sağlandığı ikili karşılaştırmalar için Student's t testi, bunun sağlanamadığı durumlar için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalar için parametrik varsayımların gerçekleştiği verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandı. Bu test ile fark bulunan gruplarda, farklılığın nereden kaynaklandığını bulmak için, Post-hoc Tukey HSD testi yapıldı. Parametrik koşulların sağlanamadığı veriler için ise, Kruskal-Wallis varyans analizi uygulandı. Bunun sonunda ikili karşılaştırmalar, Banforoni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Epitelial nekrosis ve intrastoplazmik vacuoler değişiklik için Chi-kare testi ile değerlendirildi. Parametreler arası ilişki, Pearson korelasyon testi ile yapıldı. $P < 0,05$ olması anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Kontrol Grubu:

Deney süresince sadece s.c. % 0.9 NaCl enjeksiyonu yapılan bu siçanlarda deney sonunda vücut ağırlığında anlamlı değişiklik olmadı. Tablo 1,2

Tablo 1. Deneyin basındaki siçan ağırlıkları

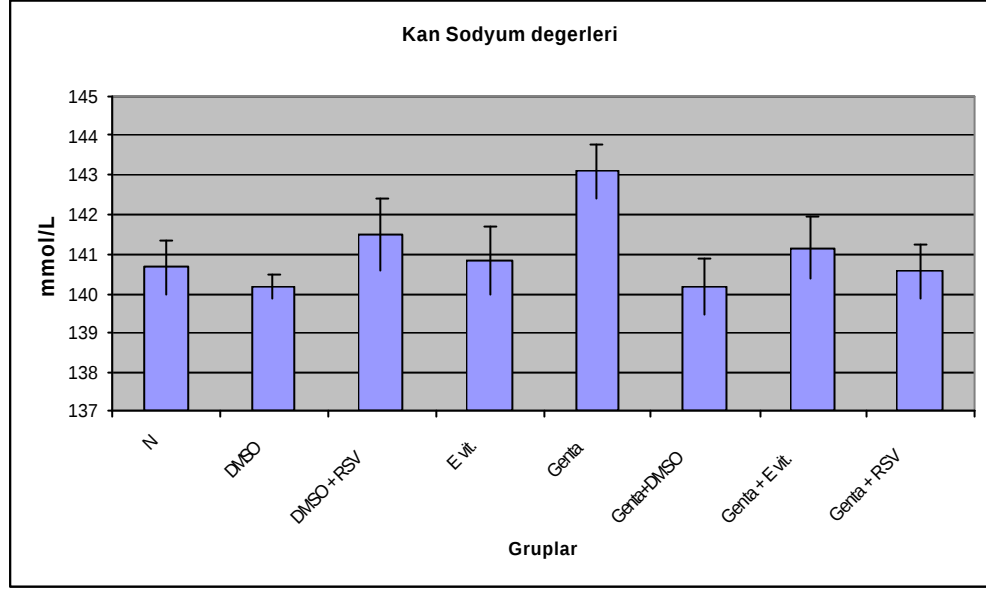
	Kontrol	DMSO	DMSO+RSV	E- vit	Gentamisin	Gentamisin + DMSO	Gentamisin + E-vit	Gentamisin + RSV
					190			
					200			200
					200			200
					185		190	230
	225	190	200	180	195	180	210	180
	205	200	200	210	210	200	200	210
	210	170	170	200	210	230	230	175
	230	220	200	205	200	220	200	190
	200	220	210	230	200	220	210	180
	220	240	220	210	220	225	220	210
Ort	215	206,6667	200	205,8333	201	212,5	208,5714	197,2222
Max	230	240	220	230	220	230	230	230
Min	200	170	170	180	185	180	190	175
Top	1290	1240	1200	1235	2010	1275	1460	1775
std err	4,829887	10,218596	6,830491	6,634557	3,231253	7,718110	5,076171	5,957670

Tablo 2. Deney sonundaki siçan ağırlıkları

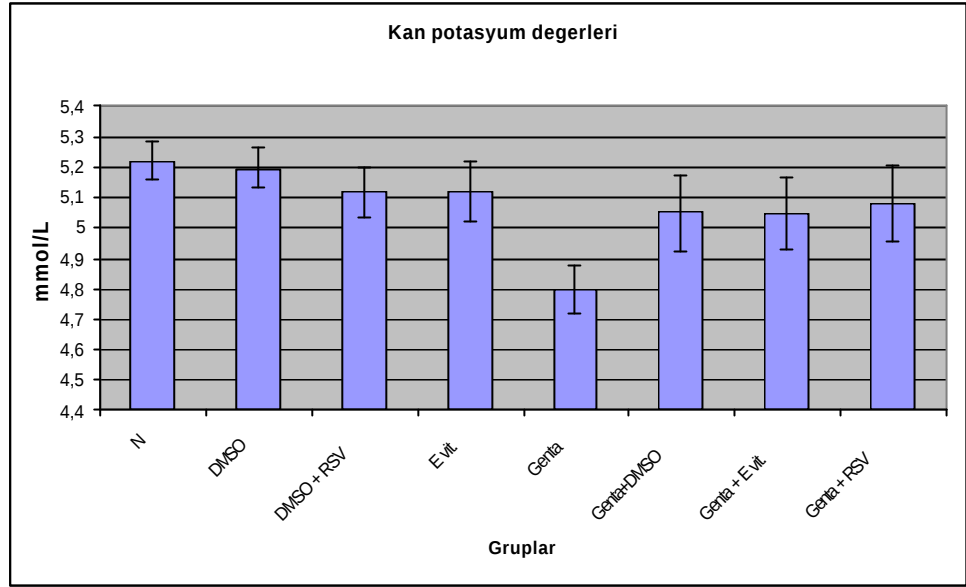
	Kontrol	DMSO	DMSO+RSV	E- vit	Gentamisin	Gentamisin + DMSO	Gentamisin + E-vit	Gentamisin + RSV
					170			
					195			205
					240			190
					210		210	180
	190	180	190	200	190	180	190	200
	200	190	195	170	200	190	195	170
	185	220	205	195	185	220	205	195
	175	205	185	170	175	205	185	170
	195	165	170	180	195	165	170	180
	180	175	205	155	180	175	205	155
Ort	187,5	189,1667	191,6667	178,3333	194	189,1667	194,2857	182,7778
Max	200	220	205	200	240	220	210	205
Min	175	165	170	155	170	165	170	155
Top	1125	1135	1150	1070	1940	1135	1360	1645
std err	3,818361	8,307311	5,425631	6,911328	6,358544	8,307311	5,272741	5,407756

Kontrol grubunun kan degerleri Sekil 3,4,5 ve 6 de verilmistir.

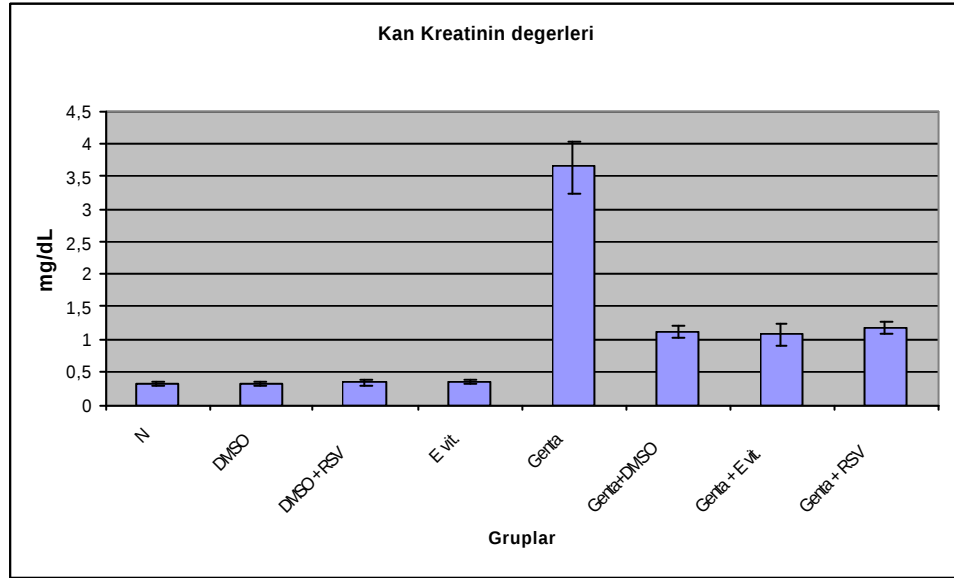
S.F. verilen kontrol grubu ile diger kontrol gruplari (Kontrol DMSO, kontrol E vit Kontrol DMSO + RSV Üre, Sodyum, Potasyum ve Kreatinin bakımından hiç bir fark bulunmamaktadır.



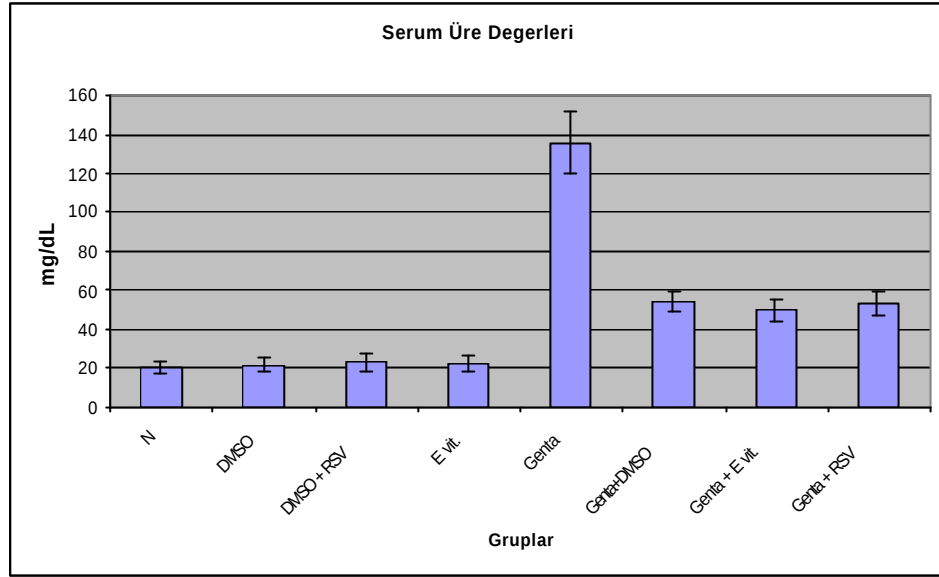
Sekil 3. Kan sodyum degerleri



Sekil 4. Kan Potasyum degerleri



Sekil 5. Kan Kreatinin degerleri



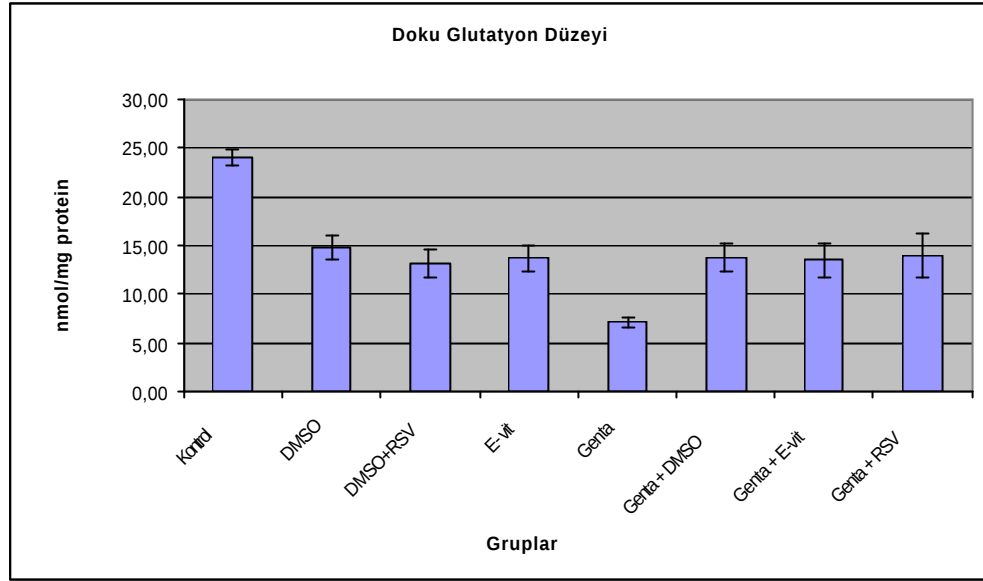
Sekil 6. Serum Üre degerleri

Patolojik degerlendirme: Bu gruptaki siçanlarda Tübüler vakualizasyon sadece 1 preparatta tespit edildi. Intersitisyel hücre hiperplazisi hafif düzeyde 3 preperatta gözlemlendi.

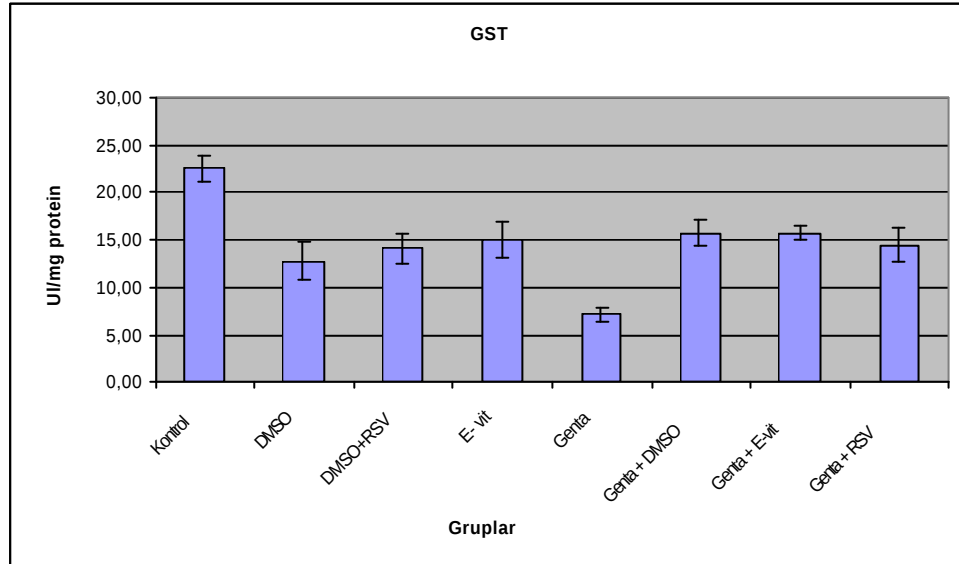
Tablo 3. Kontrol grubundaki siçanların patolojik açıdan skorlanması

Siçan no	Tübüler vakuolizasyon	Tübüler nekroz	Parietal hücre hiperplazisi	Tübulo-intersitisyel mononükleer hücre infiltrasyonu
1	0	0	0	0
2	1	0	0	1
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	1
6	0	0	0	1

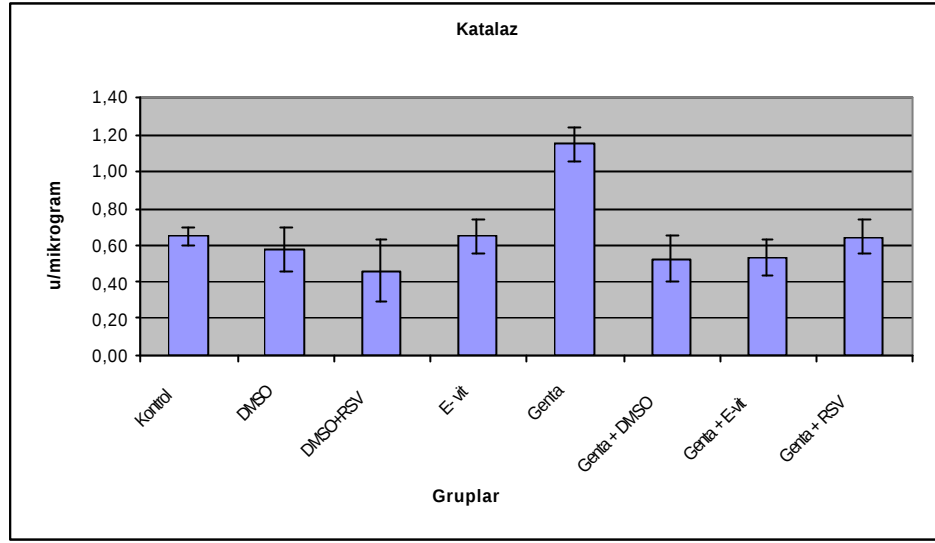
GSH ve GST sonuçları normal s.f. ye göre azaldı ama istatistiksel olarak anlamlı bir azalma değildi.



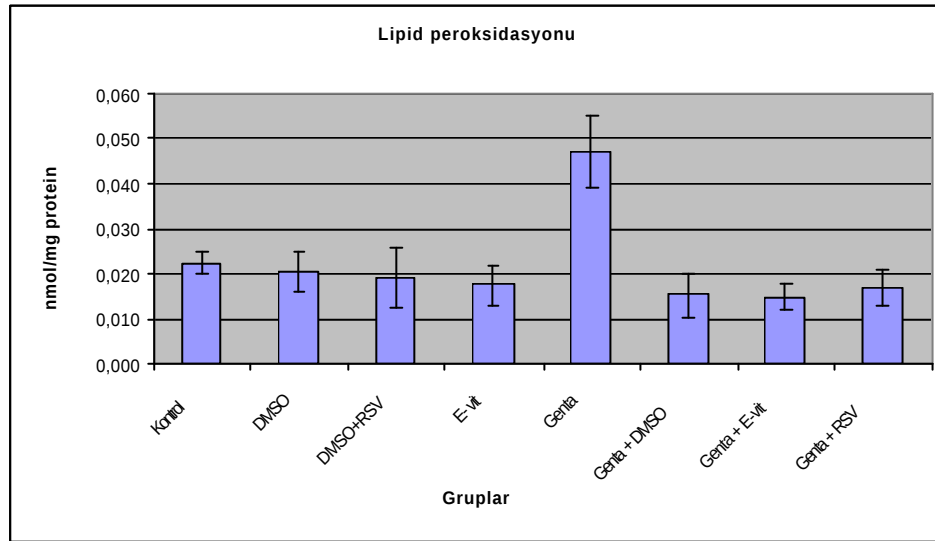
Sekil 7. Doku Glutasyon Düzeyi



Sekil 8. Doku Glutasyon S Transferaz Düzeyi



Sekil 9. Doku Katalaz Düzeyi



Sekil 10. Doku Lipid Peroksidasyonu düzeyi

ABY:

80 mg/gün s.c. gentamisin enjeksiyonu yapılan siçanlarda kan üre (P < 0.001) kan kreatinin (P < 0.001) anlamlı olarak yükseldi. Kan sodyum değerlerinde s.f. verilen gruba gentamisin arasında anlamlı artış saptandı. (P < 0.05) Diğer kontrol gruplarıyla gentamisin arasında ilişki yoktu. Kan Potasyumu ve klor değerlerinde kontrol grupları ile arasında bir anlamlılık gözlenmedi.

Patolojik Değerlendirme: Tüm siçanlarda değişik dercelerde tubular vakualizasyon bulguları saptandı. Tubular nekroz bulguları özellikle 1 siçanda ileri düzeyde iken 7 preparatta orta düzeydeydi. Parietal hücre hiperplazisi değişen derecelerde tüm preparatlarda gözlemlendi. Tubulo-interstisyel mononükleer hücre hiperplazisi 9 preparatta grade I düzeyinde gözlenirken sadece 1 tanesinde grade II olarak saptandı (Tablo 4).

Tablo 4. ABY grubundaki siçanların patolojik açıdan skorlanması

Siçan no	Tübüler vakuolizasyon	Tübüler nekroz	Parietal hücre hiperplazisi	Tübulo-interstisyel mononükleer hücre infiltrasyonu
1	2	2	3	2
2	2	2	2	1
3	3	2	2	1
4	3	1	2	1
5	3	3	2	1
6	2	2	1	1
7	2	2	2	1
8	2	2	1	1
9	2	2	2	1
10	1	1	1	1

ABY grubu: Normal gruplarıyla karşılaştırıldığında GSH ($P < 0.05$) ve GST ($P < 0.05$) düzeylerinde belirgin bir azalma saptandı. Katalaz ($P < 0.05$) düzeylerinde ise anlamlı bir artış saptandı.(şekil 7,8,9 ve 10)

Gentamisin + DMSO grubu;

Gentamisin ile birlikte DMSO verilen siçanlarda sadece Gentamisin verilen grub ile karşılaştırıldığında kan kreatinin düzeyi ($P < 0.01$) kan üre ($P < 0.01$) düzeyi anlamlı derecede azalmıştır. Kan sodyum düzeyinde azalma, kan potasyum düzeyinde artma meydana gelmiştir ama istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Patolojik Değerlendirme: Tüm siçanlarda tubular vakualizasyon bulguları, 1 siçanda hafif derecede şiddetliydi, Tübüler nekroz bulgusu sadece bir siçanda hafif düzeyde tubular nekros bulguları gözlenmezken 4 siçanda hafif tübülo – intersitisyel mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Tablo 5).

Tablo 5. Gentamisin+DMSO grubundaki siçanların patolojik açıdan skorlanması

Siçan no	Tübüler vakuolizasyon	Tübüler nekroz	Parietal hücre hiperplazisi	Tübülo-intersitisyel mononükleer hücre infiltrasyonu
1	0	0	0	1
2	0	0	0	1
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	1
6	1	1	0	1

ABY grubu ile karşılaştırıldığında GSH düzeyi ($P < 0.01$) anlamlı bir şekilde artış olmuştur. Lipid Peroksidaz de ise ($P < 0.01$) anlamlı bir azalma olmuştur.

Gentamisin + E Vitamini

Gentamisin ile birlikte E vitamini 250 mg/kg/gün verilen siçanlarda sadece gentamisin verilen grup ile karşılaştırıldığında kan kreatinin düzeyi ($P < 0.05$) kan üre ($P < 0.05$) düzeyi anlamlı derecede azalmıştır. Kan sodyum düzeyinde azalma görüldü.

Patolojik Değerlendirme: Tüm preparatlarda tübüler nekroz ve tübulo – intersitisyel mononükleer hücre hiperplazisi bulguları gözlenmedi. Parietal hücre hiperplazisi ve tübüler vakuolizasyon sadece 3 preparatta hafif olarak değerlendirildi. (Tablo 6) ABY grubu ile karşılaştırıldığında GSH düzeylerinde ($P < 0.001$) anlamlı artış, lipid peroksidaz ($P < 0.05$) anlamlı azalma gözlenmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. Gentamisin + E-Vitamini grubundaki siçanların patolojik açıdan skorlanması

Siçan no	Tübüler vakuolizasyon	Tübüler nekroz	Parietal hücre hiperplazisi	Tübulo-intersitisyel mononükleer hücre infiltrasyonu
1	0	0	1	0
2	0	0	0	0
3	1	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0
6	1	0	1	0
7	1	0	1	0

Gentamisin + RSV:

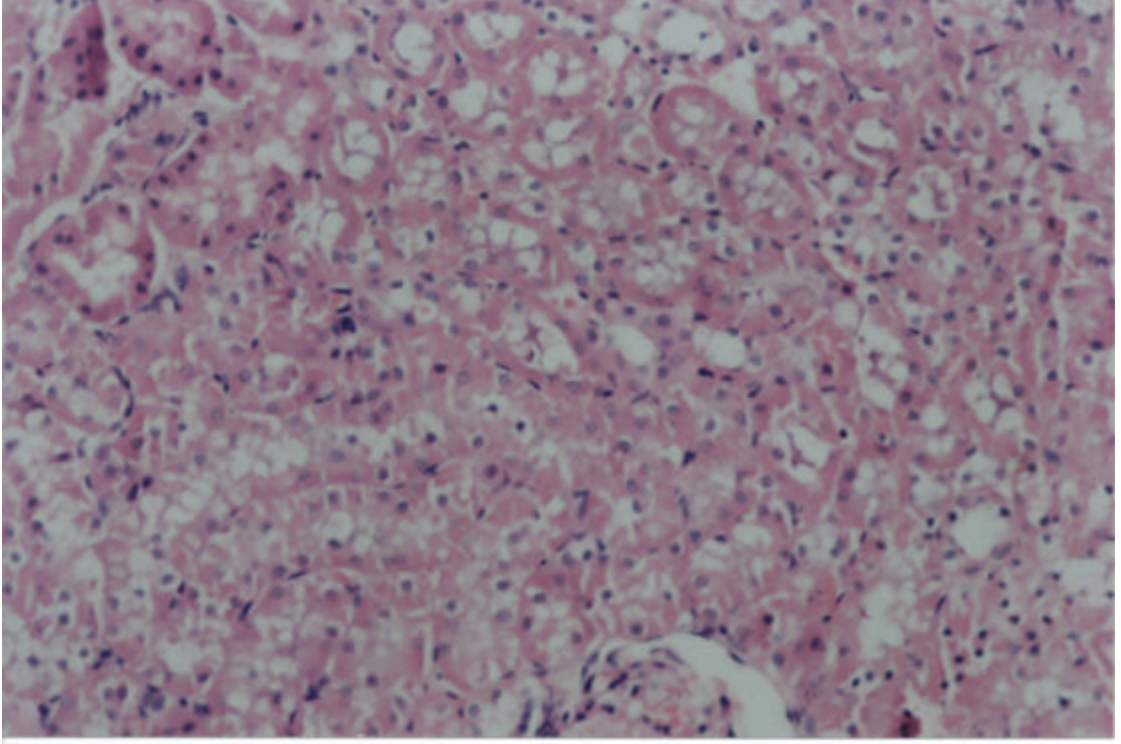
ABY olusturulan grupla karsilastirildiginda bu gruptaki siçanların kan kreatinin ($P < 0.01$) kan üre ($P < 0.05$) potasyum değerlerinde azalma ($P < 0.01$) meydana gelirken kan sodyum değerlerinde ($P < 0.05$) artis gözlenmistir.

Patolojik Inceleme : Bu grupta tübüler nekroz görülmezken 2 preperatta hafif derecede tübülo – intersitisyel mononükleer hücre hiperplazisi gözlemlendi. 5 preperatta hafif derecede tübüler vakuolizasyon gözlenirken 3 preperatta hafif derecede pariyetal hücre hiperplazisi gözlemlendi (Tablo 7).

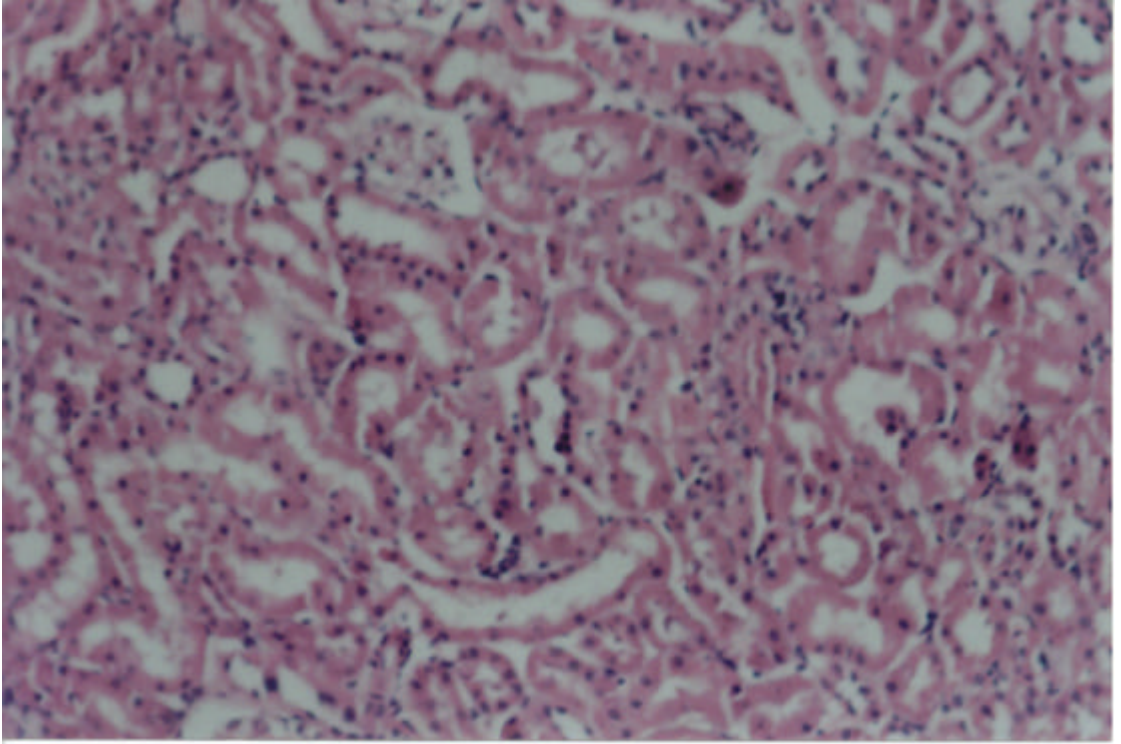
Tablo 7. Gentamisin + RSV grubundaki siçanların patolojik açıdan skorlanması

Siçan no	Tübüler vakuolizasyon	Tübüler nekroz	Parietal hücre hiperplazisi	interstisyel hücre hiperplazisi
1	0	0	1	0
2	0	0	0	0
3	1	0	0	0
4	0	0	0	0
5	1	0	1	0
6	1	0	0	0
7	1	0	0	0
8	0	0	1	1
9	1	0	0	1

ABY ile karsilastirildiginda GSH ($P < 0.05$) düzeyinde artis gözlemlendi. Kontrol grubu ile karsilastirildiginda istatistiksel olarak bir fark gözlenmedi. ABY karsilastirildiginda lipid proksidaz düzeyinde ($P < 0.01$) azalma meydana gelmistir.



Resim 1: Gentamisin uygulanan grup tubuler vaskualizasyon tubuler nekroz ve parietal hücre hiperplazisi (HEx100)



Resim 2: Gentamisin + RSV uygulanan grup (HE x 100)

6. TARTISMA

Aminoglikozit antibiyotiklerin, özellikle gentamisinin nefrotoksisitesi iyi tanımlanmıştır (Humes 1988, Laurent 1990). Beklendiği gibi bizim araştırmamızda da gentamisin enjekte edilen bütün sıçanlarda nefrotoksisite gelişmiştir. Bu durum serum üre ve kreatininindeki artışla ve histopatolojik olarak da gösterilmiştir.

Bu çalışma sıçanlarda nefrotoksik dozlarda 80mg/kg/gün x 6gün (Ali BH, 2001) verilen gentamisinin neden olduğu tübüler hasarın RSV ve E vitamini ile azaltılabileceğini göstermiştir.

Gentamisin vücutta metabolize olmaz fakat esas olarak glomeruler filtrasyon ile elimine edilir ve kısmen proksimal tübül hücrelerinden geri emilir (Black 1964, Silverblatt 1979). Gentamisin birikime uğradığı tek yer proksimal tübül hücrelerindeki lizozomlardır. (Beauchamp 1991, Thibault 1994). Gentamisin fosfolipazlar A1 ve C'yi ve sfingomiyelinazın aktivitesini inhibe ederek lizozomal fosfolipolizisi indükler, lizozomal fosfolipidlerin artması da hücre hasarını artırmaktadır. (Laurent 1990, Broe 1984).

Aminoglikozit nefrotoksisitesinin patofizyolojisinde en önemli rolü reaktif oksijen metabolitlerinin birikimi ile olduğu Baliga (1998) ve Rao (1999) tarafından rapor edilmiştir. Sonraki çalışmalarda antioksidan özellik taşıyan bir çok maddenin reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumunu engelleyerek veya süpürerek gentamisinin neden olduğu nefropatiyi düzelttiği rapor edilmiştir. (Kadkhodae ve arkadaşları 2005; Ademuyiwa ve arkadaşları 1990; Ali, 2002; Ali and Bashir, 1996; Al-Majed ve arkadaşları 2002; Cuzzocrea ve arkadaşları 2002; Erdem ve arkadaşları 2000; Mazzon ve arkadaşları 2001; Naidu ve arkadaşları 2000; Nakajima ve arkadaşları 1994; Pedraza-Chaverr? ve arkadaşları 2000; Sener ve arkadaşları 2002).

Daha önce yapılan çalışmalarda 100mg/100g im. ve 250mg/kg im. E vitamini uygulaması ile gentamisin neden olduğu serbest radikal oluşumunun engellendiğini gösterilmiştir. (Kadkhodae ve arkadaşları 2005; ve Ademuyiwa ve arkadaşları 1990; Abdal-Naim AB ve arkadaşları 1999)

Morales (2002) gentamisin nefrotoksitesi oluşturulan siçanlarda resveratrolün (120mg/kg/gün) gavaj yoluyla uygulanması ile ROM oluşumunu engelleyerek koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak bizim çalışmamızdan önce resveratrolün ip uygulaması ile gentamisin bağımlı nefrotoksiteye karşı koruma sağlanabileceğine ilişkin bir araştırma yoktur.

Benzer etkiler Ben Ismail ve arkadaşları (1994) tarafından 50mg/kg im. askorbik asit ile Sener ve ark (2002) tarafından 10mg/kg/gün melatonin kullanarak elde edilmiştir. Bu maddeler birer antioksidan olarak superoksit ve hidroksil radikallerinin oksijen ve suya parçalanmasına neden olurlar. Gentamisin aliminden önce bu maddelerin alınmaya başlanması nefrotoksiteyi azaltmaktadır.

Gentamisin aliminden sonra oluşan böbrek hasarının bir göstergesi de plazma kreatinin ve kan üre (glomerül hasar belirteçleri) değerlerinin artmasıdır (Maldonado 2003, Ogeturk 2005). Bizim çalışmamızda RSV özellikle artan plazma kreatinin ve kan üre değerlerini azaltmıştır. Pedraza-Chaverri ve arkadaşları (2000); gentamisin verilmiş siçanlarda, glomerül yapısı normal olduğundan glomerül fonksiyon azalmasının yapısal hasar ile ilişkili olmadığını savunmuşlardı. Gentamisin tedavisi H_2O_2 ve O_2^- üretimini arttırmaktadır. (Guidet ve Shah, 1989; Walker ve Shah, 1987; Yang ve arkadaşları 1995 Cuzzocrea 2002). Bilindiği gibi H_2O_2 ve O_2^- mezansial hücrelerde kontraksiyona neden olmaktadır (Duque 1992, Martinez-Salgado, 2002). Bu da filtrasyon yüzeyini değiştirerek GFR azalmasına neden olmaktadır.

Pedroza (2000) ve arkadaslari GPx sentezinin büyük bir kisminin proksimal tübül hücrelerinde oldugunu göstermislerdir. Maldonado ve arkadaslari ise (2003) tübüler hasari plazma GPx aktivitesi ölçümü ile degerlendirmislerdir. Ayrica gentamisin verilen siçanlarda GPx aktivitesinin düşük bulunmasi sonucunda, gentamisinin nefrotoksik etkisinin primer birikim yeri olan proksimal tübüllerde nekroz yapmasi ile ilgili olabilecegini de vurgulamaktadir. Bizim çalismamizda da histopatolojik olarak tübüler nekroz gelistigi gösterilmis ve RSV ile tedavi edilen siçanlarda tamamen olmasa da tübüler nekrozun belirgin olarak azaldigi saptanmistir. Oksidatif stresin tübüler hasar yaptigi Cuzzocrea ve arkadaslari (2002) tarafından da gösterilmistir. RSV gentamisinin neden oldugu bu degisimi kismen önleyebilmektedir.

Bazi antioksidan özellikleri ön plana çıkan dogal bir polifenol olan resveratrolun lipid peroksidasyonu ve lipid peroksidasyonuna bagli hücre ölümünü önlediği bilinmektedir (Frankel 1993; Sun 2002). Bertelli ve arkadaslari (1996) iskemi reperfüzyon modeli uyguladiklari siçanlarda RSV tedavisi sonucunda MDA düzeylerinin azaldigi gösterilmislerdir. Bizim sonuçlarimiz da böbrek fonksiyonlari üzerine RSV nin koruyucu etkisini ve ROM'un neden oldugu lipid peroksidasyonu inhibe etmesi yoluyla gerçeklestigini ortaya koymaktadır.

Son zamanlarda RSV nin NO sentezini uyarak iNOS ekspresyonunu da artirdigi gösterilmistir (Giovannini 2001, Naderali 2000). Nitekim RSV'nin NO'ya benzer sekilde antiinflamatuvar, antitrombositer ve vazodilatatör etkileri oldugu ortaya çikarilmistir (Naderali 2000, Das 1999, Ray 1999).

Mn-SOD aktivitesinin azalması O_2^- konsantrasyonunu artirmaktadır (Maldonado 2003) bu radikal NO ile birleserek sitotoksik bir radikal olan peroksinitrit olur, vazodilatator NO'u inhibe eder, bu da GRF'yi

azaltmaktadır (Rivas 1997, Rivas 1995). Bu veriler H_2O_2 ve O_2^- gentamisin nefrotoksisitesinde GFR'yi azalttığını göstermektedir. RSV'nin koruyucu etkisi O_2^- e H_2O_2 yi süpürebilmesine bağlı olabilir ve/veya MnSOD aktivitesinin azalmasını önleyebilir.

RSV'nin, NO saliverilmesine neden olduğu gösterilmiştir. Chander ve arkadaşları (2005) RSV nin NO ya benzer bir şekilde siklosporin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etkisinin azalan SOD miktarını geri döndürerek, NO saliverilmesini artırma yoluyla olduğunu göstermişlerdir.

Gentamisin aliminden sonra oluşan böbrek hasarının bir diğer belirtisi ise bazı iyonların idrardan çıkışındaki azalmadır. Renal korteksteki proksimal tübülüslerde yerleşen sodyum-potasyum-ATP az enziminin, gentamisin verilen sıçanlarda aktivitesi azalmaktadır. Bu kayıp gentamisin neden olduğu nefrotoksisiteden sorumlu tutulmaktadır. Çünkü bu enzim hücre içi elektrolit ve hücre hacim transportunu düzenlemektedir. (Ali BH 1995) Bizim çalışmamızda elektrolitlerin idrardan atılmasındaki bu değişiklikler RSV ile geri çevrilmiştir. Bu sonuçlar, RSV ve E vitamini gibi antioksidanların tübüler geri emilim ve salgılama işlemlerinde koruyucu etkileri mevcut olduğunu göstermektedir.

Bizim çalışmamız ve daha önceki çalışmaların gösterdiği gibi gentamisin nefrotoksisitesi belirgin bir şekilde kortikal GSH ve GST konsantrasyonunu azaltmakta, katalaz aktivitesini ve lipid peroksidasyon düzeyini arttırmaktadır (Parlakpınar 2004, Yasuyuki 1994). RSV verilmesi kısmen bu değişiklikleri geri döndürmektedir.

Sonuç olarak bu araştırma gentamisin neden olduğu böbrek fonksiyonlarındaki azalmada, lipid peroksidasyonu ve hücre harabiyetine karşı verilen RSV'nin ve E vitamininin koruyucu etkilerini göstermektedir. Bu maddelerin etkilerini antioksidan özellikleri ile göstermekte olduğu

anlasilmektedir. Bu sonuçlar daha önce aminoglikozitlerin neden olduğu böbrek hasarına karşı antioksidanların meydana getirdiği koruyucu etkiyi gösteren çalışmalar ile uyumludur (Abdel-Naim 1999, Ben Ismail 1994, Lopez-Gonzales 2000). Sonuçlarımız gentamisin nefrotoksitesinde RSV ve E vitamini tedavisinin birinin diğerine daha üstün olmadığını göstermiştir.

7. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışma gentamisin'in neden olduğu böbrek fonksiyonlarındaki azalmada, lipidperoksidasyonu ve hücre harabiyetine karşı resveratrol ve E vitaminin koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu maddeler etkilerini antioksidan özellikleri ile göstermektedirler. Sonuçlarımız daha önce aminoglikozitlerin neden olduğu böbrek hasarına karşı antioksidanların meydana getirdiğı koruyucu etkiyi gösteren çalışmalar ile uyumludur. Arastirmamız gentamisin nefrotoksisitesinde resveratrol ile E vitamini tedavisinin birinin diğerine daha üstün olmadığını da ortaya koymaktadır.

Resveratrolün NO üzerinden oluşan etkileri de göz önüne alındığında bu konudaki araştırmaların NO sentaz inhibitörleri ve/veya aktivatörleri ile yapılması ROM aracılığıyla nefrotoksisitenin mekanizmasının daha açık bir şekilde ortaya konmasına yarayacak, tedaviye de yeni yaklaşımlar getirecektir.

8. KAYNAKLAR

1. Carlos Martínez-Salgado, Alicia Rodríguez-Barbero, Nélida Eleno and José M. López-Novoa. Gentamicin induces Jun-AP1 expression and JNK activation in renal glomeruli and cultured mesangial cells Life Sciences, In Press, Corrected Proof, Available online 4 June 2005,
2. Sato M, Ray PS, Maulik G, Maulik N, Engelman RM, Bertelli AA, Bertelli A, Das DK. Myocardial protection with red wine extract. J Cardiovasc Pharmacol 2000; 35(2):263-8.
3. Kayaalp S.O. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10. Baskı. Hacettepe Tas kitapçılık Ltd. Sti 2002.
4. Liliya Serazetdinova, Klaus H. Oldach and Horst Lörz Expression of transgenic stilbene synthases in wheat causes the accumulation of unknown stilbene derivatives with antifungal activity . Journal of Plant Physiology, 2005: 162(9),985-1002
5. Tokusoglu O, Unal MK, Yemis F. Determination of the phytoalexin resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) in peanuts and pistachios by high-performance liquid chromatographic diode array (HPLC-DAD) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). J Agric Food Chem. 2005 Jun 15;53(12):5003-9.
6. Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'? Eur J Endocrinol. 1998 Jun;138(6):619-20.
7. H.E. Siemann and L.L. Creasy. Am J. Enol. Vitic. 1992; 43:49.
8. V.S. Sobolev and R.J. Cole. trans-resveratrol content in commercial peanuts and peanut products J. Agric. Food Chem. 1999; 47:1435-1439.
9. E.N. Frankel, A.L. Waterhouse and J. Kinsella. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol Lancet 1993; 341:1103-4.

10. C.R. Pace-Asciak, S. Hahn, E.P. Diamandis, G. Soleas and D.M. Goldberg. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: Implications for protection against coronary heart disease. *Clin. Chim. Acta* 1995; 235:207-219.
11. Y.J. Chun, M.Y. Kim and F.P. Geungerich. Resveratrol Is a Selective Human Cytochrome P450 1A1 Inhibitor *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1999; 262:20-24.
12. M. Jang, L. Cai, G.O. Udeani, K.V. Slowing, C.F. Thomas, C.W. Beecher, H.H.S. Fong, N.R. Farnsworth, A.D. Kinghorn, R.G. Metha, R.C. Moon and J.M. Pezzuto. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes *Science* 1997; 275:218-220.
13. A.A.E. Bertelli, L. Giovannini, D. Giannessi, V. Panichi and A. Bertelli Anti-aggregating activity of trans- and cis-resveratrol. *Fibrinolysis* 1996;10 Supplement 1: 35-36.
14. J. L. Ferrero Calabuig, A. Martín Sánchez, C. Roldán García, F. Vera Tomé, M. F. Da Silva, J. C. Soares and D. Juanes Barber. The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury. *Free Radical Biology and Medicine*.1999; 27(1-2):160-169.
15. D.K. Das, M. Sato, P.S. Ray, G. Maulik, R.M. Engelman, A.A. Bertelli and A. Bertelli, Cardioprotection of red wine: role of polyphenolic antioxidants, *Drugs Exp. Clin. Res* 1999; 25:115–120.
16. P.S. Ray, G. Maulik, G.A. Cordis, A.A. Bertelli, A. Bertelli and D.K. Das, The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury, *Free Radic. Biol. Med* 1999; 27:160–169.
17. S. Bastianetto, W.H. Zheng and R. Quirion, Neuroprotective abilities of resveratrol and other red wine constituents against nitric oxide-related toxicity in cultured hippocampal neurons, *Br. J. Pharmacol* 2000; 131:711–720.
18. L. Giovannini, M. Migliori, B.M. Longoni, D.K. Das, A.A. Bertelli, V. Panichi, C. Filippi and A. Bertelli, Resveratrol, a polyphenol found in wine, reduces ischemia reperfusion injury in rat kidneys, *J. Cardiovasc. Pharmacol* 2001; 37:262–270.

- 19.** Arthur C. Guyton Textbook of Medical Physiology 10th Ed. W.B. Saunders Company . 2000.
- 20.** Calbreath, D.F. Anatomy and physiology of the kidney. Clinical Chemistry: A Fundamental Textbook. Editor: D.F. Calbreath, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1992; 11:240-248.
- 21.** Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M. The kidney. Pharmacology. Editors: H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, Churchill Livingstone, 1999; 20:351-369.
- 22.** Ganong, W.F. Formation and Excretion of Urine. Review of Medical Physiology, Editor: W.F. Ganong, Lange Medical Publications, California, 1985; 8:572-574.
- 23.** Raij, L. ve Keane, W.F. Glomerular mesangium: Its function and relationship to angiotensin II. Am. J. Med 1985; 79 (suppl 36):24-30.
- 24.** Raij, L. Nitric oxide and the kidney. Circulation 1993; 87 (suppl 5): V26-V29.
- 25.** Schlondorff, D. The glomerular mesangial cell: An expanding role for specialized preicyte. FASEB J. 1987; 1:272-281.
- 26.** Mene, P., Simonson, M.S., Dunn, M.J. Physiology of the mesangial cell. Physiol. Rev. 1989; 69: 1347-1424.
- 27.** Coe, F.L. ve Brenner, B.M. Disorders of the Kidney and Urinary Tract. Harrison's Principles of Internal Medicine. Editorler: E.Braunwald, K.J. Isselbacher, R.G. Petersdorf, J.D. Wilson, J.B. Martin, A.S. Fauci. McGraw-Hill Book Company, Ljubljana 1987; 6:1139-1155.
- 28.** Ives, H.E. ve Warnock, D.G. Diuretic agents. Basic and Clinical Pharmacology. Editor: B.G. Katzung, Prentice Hall Int. Inc. 1995; 15:230-249
- 29.** Preuss, H.G., Podlasek, S.J., Henry, J.B. Evaluation of Renal Function and Water, Electrolyte, and Acid-Base Balance. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Editor: J. B. Henry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1991;7:119-139.

- 30.** Robinson, D.C. ve Millares, M. Acute and Chronic Renal Diseases. Clinical Pharmacy and Therapeutics, editörler: E.F. Herfindal, D.R. Gourley, L.L.Hart. Williams and Wilkins, Baltimore, 1992; 5:347-371
- 31.** Dossetor, J.B. Creatininemia versus uremia. Ann. Intern. Med. 1966; 65:1287-1299.
- 32.** Hou, S.H., Bushinski, D.A., Wish, J.B., Cohen, J.J., Harrindton, J.T. Hospital-acquired renal insufficiency: A prospective study. Am. J. Med. 1983; 74:243-8.
- 33.** Schrier, R.W. Role of calcium channel blockers in protection against experimental renal injury. Am. J. Med. 1991; 90 (Suppl 5A):21-26.
- 34.** Rizzi, D., Basile, C., Di Maggio, A., Sebastio, A., Introna, F. Jr., Rizzi, R., Scattizi, A., De Marco, S., Smialek, J.E. Clinical spectrum of accidental hemlock poisoning: neurotoxic manifestations, rhabdomyolysis and acute tubular necrosis. Nephrol. Dial. Transplant 1991; 6:939-943.
- 35.** Wakabayashi, Y. ve Kikawada, R. Effect of L-arginine on myoglobin-induced acute renal failure in the rabbit. Am.J.Physiol 1996; 270:784-789.
- 36.** Chaikin, H.L. Rhabdomyolysis secondary to drug overdosage and prolonged coma. South Med. J. 1980; 73:990-994.
- 37.** Diamond, J.R. ve Tahan, S.R. IgG-mediated intravascular hemolysis and nonoliguric acute renal failure complicating discontinuous rifampicin administration. Nephron 1984; 38:62-64.
- 38.** Bank, N. ve Better, O.S. Acid-base balance and acute renal failure. Miner. Electrolyte. Metab 1991; 17:116-123.
- 39.** Sudo, M., Honda, N., Hishida, A., Nagase, M. Renal hemodynamics in uranyl acetate-induced acute renal failure of rabbits. Kidney Int 1977; 11:35-43.
- 40.** Kurtz, T.W., Maletz, R.M., Hsu, C.H. Renal cortical blood flow in glycerol-induced acute renal failure in the rat. Circ. Res 1976; 38:30-35.

- 41.** Robinson, D.C. ve Millares, M. Acute and Chronic Renal Diseases. Clinical Pharmacy and Therapeutics, editörler: E.F. Herfindal, D.R. Gourley, L.L.Hart. Williams and Wilkins, Baltimore, 1992; Bölüm 5, s.347-371.
- 42.** Shusterman, N., Strom, B.L., Murray, T.G., Morrison, G., West, S.L., Maislin, G. Risk factors and outcome of hospital acquired acute renal failure. Clinical epidemiologic study. Am. J. Med 1987; 83:65-71.
- 43.** Foster, J.E., Harpur, E.S., Garland, H.O. An investigation of the acute effect of gentamicin on the renal handling of electrolytes in the rat. J. Pharmacol. Exp. Ther 1992; 261:38-43.
- 44.** Bennett, W.M. Aminoglycoside nephrotoxicity. Nephron 1983; 35:73-77.
- 45.** Bennett, W.M. Comparison of cyclosporine nephrotoxicity with aminoglycoside nephrotoxicity. Clin. Nephrol 1986; 25:126-129.
- 46.** Barcklay, M.L., Begg, E.J., Hickling, K.G. What is the evidence for once daily aminoglycoside therapy? Clin. Pharmacokinet 1994; 27:32-48.
- 47.** Deamer, R.L. ve Dial, L.K. The evolution of aminoglycoside therapy: a single daily dose. Am. Fam. Physician 1996; 53:1782 -1786.
- 48.** Pastoriza-Munoz, E., Bowman, R.L., Kaloyanides, G.J. Renal tubular transport of gentamicin in the rat. Kidney Int 1979; 16:440-450.
- 49.** Sastrasinh, M., Knauss, T.C., Weinberg, J.M., Humes, H.D. Identification of the aminoglycoside binding site of renal brush border membranes. J. Pharmacol. Exp. Ther 1982; 222:350-358.
- 50.** Feldman, S., Wang, M.Y., Kaloyanides, G.J : Aminoglycosides induce a phospholipidosis in the renal cortex of the rat: an early manifestation of nephrotoxicity. J. Pharmacol. Exp. Ther 1982; 220:514-520.

51. Nonclercq, D., Wrona, S., Toubeau, G., Zanen, J., Heuson-Stiennon, J.A., Schandies, R.P., Laurent, G. Tubular injury and regeneration in the kidney following exposure to gentamicin: a time course study. *Ren. Fail* 1992; 14:507-521.
52. De Broe, M.E., Paulus, G.T., Verpooten, G.A., Roels, F., Buysens, N., Wedeen, R., Van Hoof, F., Tulkens, P.M : Early effects of gentamicin, tobramycin and amikacin on the human kidney. *Kidney Int* 1984; 25:643-652.
53. Powell, J.H. ve Reidenberg, M.M. Further studies of the response of kidney lisosomes to aminoglycosides and other cations. *Biochem. Pharmacol* 1983; 32:3213-3220.
54. Rivas-Cabanero, L., Montero, A., Lopez-Novoa, J.M. Increased glomerular nitric oxide synthesis in gentamicin-induced renal failure. *Eur. J. Pharmacol* 1994; 270:119-121
55. Rivas-Cabanero, L., Rodriguez-Barbero, A., Arevalo, M., Lopez-Novoa, J.M. Effect of N⁶-nitro-L-arginine methyl ester on nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. *Nephron* 1995; 71:203-207
56. Humes, H.D. ve Weinberg, J.M : Alterations of renal tubular cell metabolism in acute renal failure. *Miner. Electrolyte. Metab* 1983; 9:290-305.
57. Williams, P.D., Holohan, P.D., Ross, C.R. Gentamicin nephrotoxicity I. Acute biochemical correlates in the rat. *Toxicol. Appl. Pharm* 1981; 6:234-242.
58. Neugarten, J., Aynedjian, H.S., Bank, N. Role of tubular obstruction in acute renal failure due to gentamicin. *Kidney Int* 1983; 24:330-335.
59. Matzke, G.R., Lucarotti, R.L., Shapiro, H.S. Controlled comparison of gentamicin and tobramycin toxicity. *Am. J. Nephrol* 1983; 3:11-17.
60. Shanley, P.F. ve Burke, T.J. Differential susceptibility to gentamicin toxicity within the proximal convulated tubule. *Ren. Fail* 1990; 12:83-87.

- 61.** Mercan U. : Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. YYU Vet Fak Derg. 2004, 15 (1-2):91-96.
- 62.** Bray, T.M., Taylor, C.G. : Enhancement of tissue glutathione for antioxidant and immune functions in malnutrition. *Biochemical Pharmacology* 1994; 47:2113-2123.
- 63.** Zubay, G. : *Biochemistry*. Addison - Wesley Publishing company Inc., USA., 1st. Ed. 1983.
- 64.** Atasoy, S., Cengiz, M. : Adli ve Biyo kimyasal Toksikoloji, Ders notlari, Istanbul 1994.
- 65.** Katzung. B.G. *Basic and Clinical Pharmacology*. 9th Ed, Prentice Hall Int. Inc. 2004.
- 66.** Klaassen, C. D., Amdur, M.O., Doull, J. : *Casarett and Doull' s Toxicology The basic science of Poisons*, MacMillan Press, New York, 1986.
- 67.** Sen, C.K., Rankinen,T., Vaisanen, S., Rauramaa, R. : Oxidative stress after human exercise: effect of N-acetylcysteine supplementation. *J-Appl-Physiol* 1994; 76(6):2570-7
- 68.** Habig,W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. : Glutathione S- transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry* 1974; 248:7130-7134.
- 69.** Shea TC, Kelley SL, Henner WD. Identification of an anionic form of glutathione transferase present in many human tumors and human tumor cell lines. *Cancer Res.* 1988 Feb 1;48(3):527-33.
- 70.** Hall, A., Foster, S., Proctor, S.J., Cattan, A. : Purification and characterization of a pi class glutathione S - transferase from human leukaemic cells. *British Journal of Haematology* 1990; 76:494-500.
- 71.** Murray,G.I., Paterson, P.J., Weaver, R., Ewen, S.W.B., Melvin, W.T., Burke, M.D. :The expression of cytochrome p-450,Epoxide Hydrolase, and glutathione s-transferase in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1993; 71:36-42.

72. Joncourt, F., Oberli, A., Redmond, S.M.S., Fey, M.F., Tobler, A., Margison, G.P., Gratwohl, A., Buser, K., Cerny, T. : Cytostatic drug resistance: parallel assessment of glutathione - based detoxifying enzymes, O6 - alkylguanine- DNA-alkyltransferase and P-glycoprotein in adult patients with leukemia. *British Journal of Haematology* 1993; 85:103-111.
73. Hall, A., Robson, C.N., Hickson, I.D., Harris, A.L., Proctor, S.J., Cattani, A.R. : Possible role of inhibition of glutathione S-Transferase in the partial reversal of chlorambucil resistance by indomethacin in a chinese hamster ovary cell line. *Cancer Research* 1989; 49:6265-6268.
74. Ali, B.H. The effect of calcium load and the calcium channel blocker verapamil on gentamicin nephrotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, Volume 40, Issue 12, December 2002, Pages 1843-1847
75. Tariq M, Morais C, Sobki S, Al Sulaiman M, Al Khader A. N-acetylcysteine attenuates cyclosporin-induced nephrotoxicity in rats. *Nephrol Dial Transplant*. 1999 Apr;14(4):923-9
76. Lowry, O.H. Rosebrough, N.J. Farr A.L. and Randall, R.J. Protein measurement with the folin-phenol reagents, *J. Biol. Chem.* 193(1951), pp. 265–275.
77. Beutler E, Kelly BM. The effect of sodium nitrite on red cell GSH. *Experientia*. 1963 Feb 15;19:96-7.
78. Beutler E. Disorders in glutathione metabolism. *Life Sci.* 1975 May 15;16(10):1499-505.
79. Ali B. H. Agents ameliorating or augmenting experimental gentamicin nephrotoxicity: some recent research *Food and Chemical Toxicology*, Volume 41, Issue 11, November 2003, Pages 1447-1452
80. Humes D H, Aminoglycoside nephrotoxicity. *Kidney Int* 33 (1988), pp. 900-911.
81. Laurent G, Kishore B K and Tulkens P M, Aminoglycoside-induced renal phospholipidosis and nephrotoxicity. *Biochem Pharmacol* 40 (1990), pp. 2383–2392.

- 82.** Ali BH. Dimethyl sulfoxide: recent pharmacological and toxicological research. *Vet Hum Toxicol* 2001; 43(4):228-31.
- 83.** Black J., Calesnick B., Williams D. and. Weinstein M.J, Pharmacology of gentamicin a new broad-spectrum antibiotic. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1963 (1964), pp. 138–147.
- 84.** Silverblatt F.J. and Kuehn C., Autoradiography of gentamicin uptake by the rat proximal tubule cell. *Kidney Int.* 15 (1979), pp. 335–345.
- 85.** Beauchamp D., Gourde P. and Bergeron M.G., Subcellular distribution of gentamicin in proximal tubular cells, determined by immunogold labeling. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35 (1991), pp. 2173–2179.
- 86.** Thibault N., Grenier L., Simard M., Bergeron M.G. and Beauchamp D., Attenuation by daptomycin of gentamicin-induced experimental nephrotoxicity. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38 (1994), pp. 1027–1035.
- 87.** Laurent G., Kishore B.K. and Tulkens P.M., Aminoglycoside-induced renal phospholipidosis and nephrotoxicity. *Biochem. Pharmacol.* 40 (1990), pp. 2383–2392
- 88.** Broe M.E., Paulus G.J., Verpooten G.A., Roels F., Buysens N., Wedeen R., Van Hoof F. and Tulkens P.M., Early effects of gentamicin, tobramycin, and amikacin on the human kidney. *Kidney Int.* 25 (1984), pp. 643–652.
- 89.** Baliga R., Zhang Z., Baliga M., Ueda N. and Shah S.V., In vitro and in vivo evidence suggesting a role for iron in cisplatin-induced nephrotoxicity, *Kidney Int.* 53 (1998), pp. 394–401.
- 90.** Rao M., Kumar M.M. and Rao M.A., In vitro and in vivo effects of phenolic antioxidants against cisplatin-induced nephrotoxicity, *J. Biochem.* 125 (1999), pp. 383–390.
- 91.** Kadkhodae M, Khastar H, Faghihi M, Ghaznavi R, Zahmatkesh M. . Effects of co-supplementation of vitamins E and C on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. *Exp Physiol.* 2005 Jul; 90(4):571 -6.

92. Ademuyiwa O, Ngaha EO, Ubah FO. Vitamin E and selenium in gentamicin nephrotoxicity. *Hum Exp Toxicol* 1990 Sep; 9(5):281-8.
93. B.H. Ali, The effect of treatment with the medicinal plant *Rhazya stricta* decne on gentamicin nephrotoxicity in rats. *Phytomedicine*. 2002; 9(5):385-389.
94. B.H. Ali and A.K. Bashir, Effect of superoxide dismutase treatment on gentamicin nephrotoxicity in rats. *General Pharmacology*. 1996; 27(2):349-353.
95. A.A. Al-Majed, A.M. Mostafa, A.C. Al-Rikabi and O.A. Al-Shabanah, Protective effects of oral arabic gum administration on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacological Research*. 2002;46(5):445-451
96. S. Cuzzocrea, E. Mazzon, L. Dugo, I. Serraino, R. Di Paola, D. Britti, A. De Sarro, S. Pierpaoli, A. Caputi, E. Masini and D. Salvemini, A role for superoxide in gentamicin-mediated nephropaty in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2002; 450(1):67-76.
97. A. Erdem, N.U. Gundogan, A. Usubutun, K. Kilinc, S.R. Erdem, A. Kara and A. Bozkurt, The protective effect of taurine against gentamicin-induced acute tubular necrosis in rats. *Nephrology Dialysis and Transplantation*. 2000; 15(8):1175-1182.
98. E. Mazzon, D. Britti, A. De Sarro, A.P. Caputi and S. Cuzzocrea, Effect of N-acetylcysteine on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2001; 424(1):75-83.
99. M.U. Naidu, A.A. Shifow, K.V. Kumar and K.S. Ratnakar, Ginkgo biloba extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Phytomedicine*. 2000; 7(3):191-197.
100. T. Nakajima, A. Hishida and A. Kato, Mechanisms for protective effects of free radical scavengers on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *American Journal of Physiology*. 1994; 266(3):425-431.

- 101.** J. Pedraza-Chaverri, P.D. Maldonado, O.N. Medina-Campos, I.M. Olivares-Corichi, M.A. Granados-Silvestre, R. Hernández-Pando and M.E. Ibarra-Rubio, Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000; 29(7):602–611.
- 102.** Sener G., Sehirli A.O., Altunbas H.Z., Ersoy Y., Paskaloglu K., Arbak S. and Ayanoglu-Dulger G., Melatonin protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Pineal Research*. 2002; 32(4):231–236.
- 103.** Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Attia FF. Protective effects of vitamin e and probucol against gentamicin -induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res* 1999 Aug; 40(2):183-7.
- 104.** Morales AI, Buitrago JM, Santiago JM, Fernandez-Tagarro M, Lopez-Novoa JM, Perez-Barriocanal E Protective effect of trans-resveratrol on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Antioxid Redox Signal*. 2002 Dec; 4(6):893-8.
- 105.** Ben Ismail T. H., Ali B. H. and Bashir A. A. Influence of iron, deferoxamine and ascorbic acid on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats *General Pharmacology: The Vascular System*, 1994; 25(6):1249-1252.
- 106.** Maldonado PD, Barrera D, Medina-Campos ON, Hernandez-Pando R, Ibarra-Rubio ME, Pedraza-Chaverri J. Aged garlic extract attenuates gentamicin induced renal damage and oxidative stress in rats. *Life Sci*. 2003 Oct 3; 73(20):2543-56.
- 107.** Ogeturk M, Kus I., Colakoglu N., Zararsiz I., Ilhan N. and Sarsilmaz M. Caffeic acid phenethyl ester protects kidneys against carbon tetrachloride toxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 97(2); 273-280.
- 108.** Guidet B.R. and Shah S.V., In vivo generation of hydrogen peroxide by rat kidney cortex and glomeruli. *Am. J. Physiol*. 256(1989), pp. F158–F164.
- 109.** Walker P.D. and Shah, S.V. Gentamicin enhanced production of hydrogen peroxide by renal cortical mitochondria. *Am. J. Physiol*. 253 (1987), pp. C495–C499.

110. Yang C.L., Du X.H. and Han Y.X., Renal cortical mitochondria are the source of oxygen free radicals enhanced by gentamicin. *Ren. Fail.* 17 (1995), pp. 21–26.
111. Cuzzocrea S., Mazzon E., Dugo L., Serraino I., Di Paola R., Britti D., De Sarro A., Pierpaoli S., Caputi A, Masini E.and Salvemini D., A role for superoxide in gentamicin-mediated nephropaty in rats. *European Journal of Pharmacology.* 2002; 450(1):67–76.
112. Duque I, Garcia-Escribano C, Rodriguez-Puyol M, Diez-Marques ML, Lopez-Novoa JM, Arribas I, Hernando L, Rodriguez-Puyol D. Effects of reactive oxygen species on cultured rat mesangial cells and isolated rat glomeruli. *Am J Physiol.* 1992 Sep;263(3 Pt 2):F466-73.
113. Martinez-Salgado C, Eleno N, Tavares P, Rodriguez-Barbero A, Garcia-Criado J, Bolanos JP, Lopez-Novoa JM. Involvement of reactive oxygen species on gentamicin-induced mesangial cell activation. *Kidney Int.* 2002 Nov;62(5):1682-92.
114. Frankel E.N., Waterhouse A.L. and Kinsella J.E., Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol, *Lancet* 341 (1993), pp. 1103–1104.
115. Sun Albert Y., Simonyi Agnes and Sun Grace Y.. The "French paradox" and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. *Free Radical Biology and Medicine.* 2002,32(4);314-318
116. Bertelli A.A., Giovannini L., Bernini W., Migliori M., Fregoni M., Bavaresco L. and Bertelli A., Antiplatelet activity of cis-resveratrol, *Drugs Exp. Clin. Res.* 22 (1996), pp. 61–63.
117. Giovannini L, Migliori M., Longoni B.M., Das D.K., Bertelli A.A., Panichi V., Filippi C. and Bertelli A., Resveratrol, a polyphenol found in wine, reduces ischemia reperfusion injury in rat kidneys, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 37 (2001), pp. 262–270.
118. Chander Vikas, Tirkey Naveen and Chopra Kanwaljit Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin protects against cyclosporine-induced nephrotoxicity through nitric oxide dependent mechanism. *Toxicology,* 2005,210(1);55-64

- 119.** Ali BH, Bashir AA, Tanira MO. The effect of thyroxine or carbimazole treatment on gentamicin nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol.* 1995 Jan;14(1):13-7.
- 120.** Parlakpınar H, Tasdemir S, Polat A, Bay-Karabulut A, Vardi N, Ucar M, Yanilmaz M, Kavaklı A, Acet A. Protective effect of chelerythrine on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Cell Biochem Funct.* 2004 Dec 6;
- 121.** Yasuyuki Sadzuka, Yoshihiko Shimizu, Yoshio Taking and Sadao Hirota Protection against cisplatin-induced nephrotoxicity in the rat by inducers and an inhibitor of glutathione S-transferase. *Biochemical Pharmacology*, 1994, 48(3);453-459
- 122.** Lopez-Gonzalez MA, Guerrero JM, Torronteras R, Osuna C, Delgado F. Ototoxicity caused by aminoglycosides is ameliorated by melatonin without interfering with the antibiotic capacity of the drugs. *J Pineal Res.* 2000 Jan;28(1):26-33.