

Proantosiyanidin Allograft Renal Oksidatif Stresi Önleyici Etkisi: Deneysel Bir Çalışma

Orhan YÜCEL *  Adem GÜLER ** Mehmet GAMSIZKAN *** Nail ERSÖZ ****
Ayşe EKEN ***** Yusuf Sinan ŞİRİN ***** Müjdat BALKAN **** Onur GENÇ *

* Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Göğüs Cerrahisi, 06018, Ankara - TÜRKİYE
** Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Kalp Damar Cerrahisi, 06018, Ankara - TÜRKİYE
*** Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Patoloji, 06018, Ankara - TÜRKİYE
**** Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Genel Cerrahi, 06018, Ankara - TÜRKİYE
***** Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Toksikoloji, 06018, Ankara - TÜRKİYE
***** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi, 55018, Samsun - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2009-245

Özet

Sunulan çalışma, antioksidan olan proantosiyanidin (PC) allograft renal oksidatif stresi önlemede yararlı olabileceğini öngörerek planlandı. Hayvan materyali olarak toplam 28 rat kullanıldı ve her biri 7 rattan oluşan dört grup oluşturuldu. Birinci grup Kontrol Grup (KG): KG'daki deneklere üç gün süreyle herhangi bir işlem yapılmadan takip edildi. Üçüncü günün sonunda sol nefrektomi operasyonu yapıldı. Sol nefrektomi materyalinden histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için dokulardan örneklemeye yapıldı. İkinci Grup PC verilen grup (PCG): KG deneklere uygulanan protokolden farklı olarak üç gün takip süresinde beslenme rejimine PC eklendi. Üçüncü Grup iskemi grubu (İG): KG deneklere uygulanan protokolden farklı olarak nefrektomi materyali Wisconsin Üniversitesi (WU) solüsyonu içerisinde +4°C'de 24 saat bekletildikten sonra doku incelemesi için örneklemeye yapıldı. Dördüncü grup tedavi grubu (TG): İG deneklere uygulanan protokolden farklı olarak üç gün takip süresinde beslenme rejimine PC eklendi. PCG, İG ve TG'larındaki deneklerin histopatolojik bulguları KG' la benzerlik gösterdi (P>0.05). İG'ünü KG'uyla karşılaştırdığımızda malondialdehid (MDA) seviyesi artmış, buna karşılık antioksidan enzimlerden superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktivitelerinde düşüş kaydedildi (P<0.05). TG'daki MDA seviyesi KG'na yakın düzeyde ölçülürken diğer parametreler İG'a karşılaştırıldığında ise yükselme saptandı (P<0.05). Elde edilen bulgular antioksidan sistemin iskemiye bağlı hasardan ilk etkilenen sistemler arasında olduğunu ve bu tablonun düzeltilmesinde PC'nin faydalı olabileceğini gösterdi.

Anahtar sözcükler: Antioksidan, Oksidatif stres, Proantosiyanidin, Renal iskemi, Renal transplantasyon


Protective effects of Proanthocyanidin on Allograft Renal Oxidative Stress: An Experimental Study

Summary

Kidney transplantation is the first treatment option for end stage of the kidney disease. Proanthocyanidins (PC) have been reported to possess a wide range of biologic properties against oxidative stress. In this study, we aimed to investigate the effects of PC extract against ischemia related oxidative stress and injury. Rats were divided into four groups in our study. The first group served as a control (CG) was observed and fed with commercial diet for three days. Third day of observation after. The second group was proanthocyanidin given group (PCG). Proanthocyanidin was added to commercial diet. The third group was ischemia group (IG). The Kidneys were preserved in UW solution around 4°C for 24 h after nephrectomy without given PC. The fourth group of animals was the treatment group (TG). PC added for feeding for three days before nephrectomy. Kidney preserved like third group. The result of malondialdehyde (MDA) levels were higher and superoxide dismutase (SOD), glutation peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT) activities were lower in IG compared with CG (P<0.05). MDA levels were almost the same in TG and CG. Other parameters were higher in CG compared with IG (P<0.05). The administration of PC may be useful to improve ischemia related oxidative stress and injury.

Keywords: Antioxidant, Oxidative stres, Proanthocyanidin, Renal ischemia, Renal transplantaion

 İletişim (Correspondence)

 +90 312 3045188

 orhanycl@yahoo.com

GİRİŞ

Böbrek transplantasyonu son dönem kronik böbrek hastalarında tercih edilebilir tedavi seçeneğidir. Günümüzde böbrek transplantasyonu başarıyla uygulanmakla birlikte, transplantasyon sonrasında sıklıkla kronik allograft disfonksiyonları gözlemlenmektedir^{1,2}. Bu klinik tablonun patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır^{3,4}. Kronik allograft disfonksiyonun oluşmasında en önemli nedenlerden biri donör böbreğinin kaçınılmaz bir şekilde iskemiyeye maruz kalmasıdır^{5,6}. İskemiyeye bağlı hasarın oluşmasında serbest oksijen radikalleri (SOR) önemli rol oynamaktadır. SOR'leri özellikle postiskemik dokularda reaktif oksijen türleri, mitokondriler tarafından oksijenin inkomplet redüksiyonundan ve vasküler endoteliumdan salınan ksantinoksidazın neden olduğu süperoksit iyonlarının üretiminden kaynaklanabilmektedir⁶⁻⁸. Yüksek toksik özellikli SOR molekülleri hücre membranı ve diğer hücre içi yapılarda hasara neden olmaktadır. Vücuttaki hüresel antioksidan enzimler, antioksidan maddeler ve serbest radikaller arasında bir denge bulunmaktadır^{7,8}. Antioksidanlar; hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve spesifik olarak çalışırlar. Antioksidan enzimlerden SOD, CAT, GSH-Px ve glutatyon redüktaz savunmada öncelikle etkilidirler⁹. İskemiyeye bağlı kronik allograft disfonksiyonu oluşumunda oksidatif stresin önemli rol aldığını gösteren çalışmalar yapılmıştır^{10,11}.

Çalışmamızda kullanımı tasarladığımız antioksidan sistemi güçlendirilmiş transplantasyon materyalinin iskemiyeye bağlı hasarı önlemede etkili olabileceği düşünüldü. Bu amaçla çalışmamızda tedavi edici ajan olarak, üzüm çekirdeği ekstresi, yabanmersini, kola fıncığı ve diğer bazı sebze ve meyvelerden elde edilen PC adlı güçlü bir antioksidan kullanıldı. Amacımıza uygun olarak, donörlerden böbrek alınmadan önce PC verildi ve PC'nin iskemiyeye hasarını önlemedeki etkisi araştırıldı. PC'in hücre yapısını serbest radikallerin oluşturacağı hasara karşı koruyucu etkisi vardır¹². PC'in serbest radikal süpürücü, antitrombotik ve anti-inflamatuar etkilerinin olduğu saptanmıştır^{12,13}. Ayrıca PC'nin antioksidan etkisi nedeniyle iskemiyeye/reperfüzyona (İ/R) karşı kardiyoprotektif etki açısından vitamin C, E ve beta-karotenden daha etkin olduğu bulunmuştur¹⁴. İskemiyeye reperfüzyon hasarında infarkt alanını ve kardiyomiyositlerde oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir¹⁵. PC'in ateroskleroz, gastrik ülser ve diyabette oksidatif hasarı azaltarak faydalı olduğu ve kanser kemoterapötiklerinin etkisini güçlendirdiği bildirilmiştir^{14,16,17}. İnsanlarda, lipid peroksidasyonunu engelleyici ve kas yorgunluğunu azaltıcı etkisi de rapor edilmiştir. PC'in bunlara ek olarak organofosfatların oluşturduğu oksidatif stresi azalttığı da gösterilmiştir¹⁸. Bütün bu literatür araştırmaları ışığında PC'in allograft renal oksidatif stresi önlemede de yararlı olabileceğini öngörerek çalışmamız planlandı.

MATERYAL ve METOT

Çalışmamızda Sprague Dawley ırkı 28 adet erişkin rat (140±20 gr, 60 günlük) kullanıldı. Çalışma öncesinde etik kurul izni alındı. Randomize olarak her biri yedi rat içeren dört grup oluşturuldu.

Gruplar: Çalışma (1) Kontrol Grubu (KG), (2) PC grubu (PCG), (3) iskemiyeye grubu (İG), (4) tedavi grubu (TG)'ndan oluştu. Tüm ratlar çalışma boyunca aynı deneysel şartlara maruz bırakıldı.

KG'daki deneklere üç gün süreyle herhangi bir işlem uygulanmadan takip edildi. Üçüncü günün sonunda deneklere sol nefrektomi operasyonu yapıldı. Nefrektomi işlemi aşağıdaki protokole uygun olarak yürütüldü.

Sol Nefrektomi Operasyonu: Nefrektomi operasyonu için her bir denek 10 mg/kg xylazine ve 90 mg/kg ketaminle intraperitoneal yoldan anesteziyeye alındı. İntraperitoneal olarak antikoagülasyon için 15 mg/kg İV heparin enjekte edildi ve 5 dak. beklendi. Batın bölgesi tıraş edilen denekler supin pozisyonda tespit edildi. Göbek üstü ve altı ensizyon uygulanarak batına girildi ve retroperitoneal alandaki sol böbreğe ulaşıldı. Sol böbrek hilusundaki yapılar açığa çıkarıldı. Böbrek arter, ven ve üreteri eksplore edildi. Böbrek arter, ven ve üreterine sırasıyla damar klemp konuldu, bağlandı, kesildi ve nefrektomi işlemi tamamlandı. Böbreklerin arterinden +4°C'de 20 cc WÜ solüsyonu 100 cm H₂O basınçla verildi. Arterden verilen WÜ solüsyonunun venden tahliyesine izin verildi.

KG'dan elde edilen sol nefrektomi materyalinden nefrektomi işleminden hemen sonra +4°C'de WÜ solüsyonuyla yıkanıp histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için örnekleme yapıldı. Histopatolojik ve biyokimyasal inceleme aşağıdaki protokole uygun olarak yapıldı.

Histopatolojik İnceleme: Histopatolojik incelemeye tabi tutulacak örnekler %10'luk formalin solüsyonu ile tespit edildi. Formaldehitte fikse edilmiş doku örnekleri rutin takip işlemlerinden sonra parafin bloklara yerleştirildi, 4 mm kalınlığında kesitler alınarak hematoksil-eozin (HE) ile boyandı. Böbrek doku örnekleri bir patolog tarafından kör olarak değerlendirildi.

Biyokimyasal Değerlendirme: Oksidatif stres parametrelerine bakılacak örnekler ise sıvı azotta soğutulduktan sonra derin dondurucuda (-80°C) inceleme anına kadar saklandı. Oksidatif stres parametrelerinden SOD, CAD ve GSH-Px aktivitesi ve MDA seviyesi daha önceki çalışmamızda da belirttiğimiz metot kullanılarak ölçüldü¹⁹.

Doku Homojenizasyonu Hazırlama: Doku örnekleri, buzlu soğuk KCl (%1.15) çözeltisi ile cam homojenizatörü kullanılarak homojenize edildi. Homojenizatör daha sonra

4.400 g'de 10 dak. +4°C'de santrifüj edildi ve elde edilen süpernatant antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA düzeylerinin tayininde kullanıldı. CuZn-SOD, Se-GSH-Px, CAT aktiviteleri ve MDA düzeyleri, doku örneklerinde UV-VIS spektrofotometresinde (UV-2100S, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) ölçüldü.

Doku CuZn-SOD Aktivitesi: 25 µl süpernatant, 50 mmol/L 3-(sikloheksilaminol)-1-propansülfonik asit (CAPS) ve 0.094 mmol/L EDTA (pH 10.2) içeren bir tampon solüsyonunda 0.05 mmol/L ksantin sodyum ve 0.025 mmol/L 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil-tetrazolium klorit (INT) içeren 850 µl substrat solüsyonu ile karıştırıldı. 125 µl ksantin oksidaz (80 U/ml) karışıma eklendi ve absorbanstaki artış 505 nm'de havaya karşı 3 dak. izlendi. Kör olarak 25 µl süpernatant yerine fosfat tampunu kullanılıp aynı işlem tekrarlandı. Yine standart kalibrasyon eğrisi için de çeşitli konsantrasyonlarda CuZn-SOD içeren çözeltiler hazırlandı ve aynı işlem bunlar için de uygulandı. CuZn-SOD aktivitesi U/g dokuda ifade edildi.

Doku Se-GSH-Px Aktivitesi: Reaksiyon karışımı, 1 mmol/L Na₂EDTA, 2 mmol/L indirgenmiş glutatyon, 0.2 mmol/L NADPH, 4 mmol/L sodyum azid ve 1000 U glutatyon redüktaz içeren 50 mmol/L Tris tamponuydu (pH 7.6). 50 µL süpernatant ve 950 µL reaksiyon karışımı ile karıştırıldı ve 37°C'de 5 dak. inkübasyona bırakıldı. Sonra reaksiyon, 8.8 mmol/L hidrojen peroksit eklenmesiyle başlatıldı ve 3 dak. için 340 nm'de NADPH absorbanstaki azalışı izlendi. Enzim aktiviteleri U/g dokuda bildirildi.

Doku Katalaz Aktivitesi: Katalaz aktivitesi +25°C'de doku homojenatlarında ölçüldü ve substrat H₂O₂'nin dekompozisyon oranı, 30 saniye için 240 nm'de spektrofotometrik olarak izlendi. Aktivite KU/g olarak ifade edildi. MDA ile tiyobarbitürik asit reaksiyonundan sonra reaksiyon ürünü spektrofotometrik olarak ölçüldü. Tetrametoksi propan çözeltilisi standart olarak kullanıldı. Doku örneklerinin MDA düzeyleri nmol/g doku olarak ifade edildi. Elde edilen histopatolojik ve biyokimyasal sonuçlar kaydedildi.

PCG Denekler: KG deneklere uygulanan protokolün aynısı uygulandı (üç gün takip, sol nefrektomi operasyon, böbreği WÜ solüsyonuyla yıkama, histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için örnekleme, inceleme ve çalışma sonuçlarını kaydetme işlemleri). KG'dan farklı olarak üç gün takip süresinde standart rat yemine ilave olarak PC (100 mg/kg rat vücut ağırlığı, oral, gavaj yardımıyla, günde tek doz) eklendi.

İG Denekler: PCG deneklere uygulanan protokolün aynısı gerçekleştirildi. (üç gün takip, sol nefrektomi operasyonu, böbreği WÜ solüsyonuyla yıkama, histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için örnekleme, inceleme

ve çalışma sonuçlarını kaydetme işlemleri). KG'dan farklı olarak histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için örnekleme sol nefrektomi operasyonundan hemen sonra uygulanmadı. Deneklerden elde edilen nefrektomi materyali WÜ solüsyon içerisinde +4°C'de 24 saat bekletildikten sonra histopatolojik ve biyokimyasal örnekleme yapıldı.

TG Denekler: KG deneklere uygulanan protokolün aynısı uygulandı (üç gün takip, takip süresi boyunca PC beslenme rejimine eklenmesi, sol nefrektominin, böbreği WÜ solüsyonuyla yıkama, histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için örnekleme, inceleme ve çalışma sonuçlarını kaydetme işlemleri). PCG'dan farklı olarak histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için örnekleme sol nefrektomi operasyonundan hemen sonra uygulanmadı. Deneklerden elde edilen nefrektomi materyali WÜ solüsyonu içerisinde +4°C'de 24 saat bekletildikten sonra histopatolojik ve biyokimyasal örnekleme yapıldı.

Deneklerin gruplara ait temel özellikleri [Tablo 1](#)'de özetlendi.

Tablo 1. Grupların temel özellikleri

Table 1. Basic features of the groups

Gruplar	n	Beslenme	Nefrektomi günü (gün)	Doku örnekleme günü (gün)
KG	7	SY	3	4 (*)
PCG	7	SY + PC	3	4 (*)
İG	7	SY	3	5 (**)
TG	7	SY+ PC	3	5 (**)

KG: Kontrol grubu, **PCG:** Proantosiyanidin grubu, **İG:** İskemi grubu, **TG:** Tedavi grubu, **SY:** Standart sıçan yemi, **PC:** Pro-antosiyanidin (1X100 mg/kg sıçan vücut ağırlığı, gavaj yardımıyla per oral) (*) Nefrektomi günü, (**) sol nefrektomi sonrası böbrek dokusunun koruyucu solüsyon içerisinde 24 saat bekletildikten sonraki gün

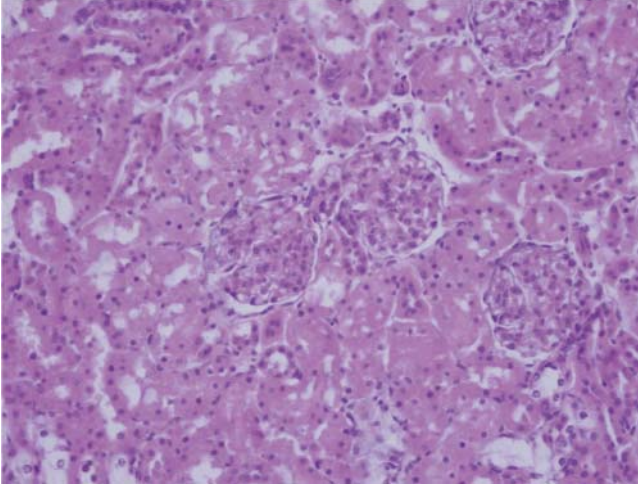
İstatistiksel Analiz: İstatistiksel değerlendirmede değişkenin tek yönlü analizi yanında Duncan testi kullanıldı. SPSS 11.0 Windows software paketinde çalışıldı. Her grubun karşılıklı olarak istatistiksel analizinde, Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı. Histopatolojik ve biyokimyasal sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verildi. İstatistiksel olarak P<0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Histopatolojik Değerlendirme

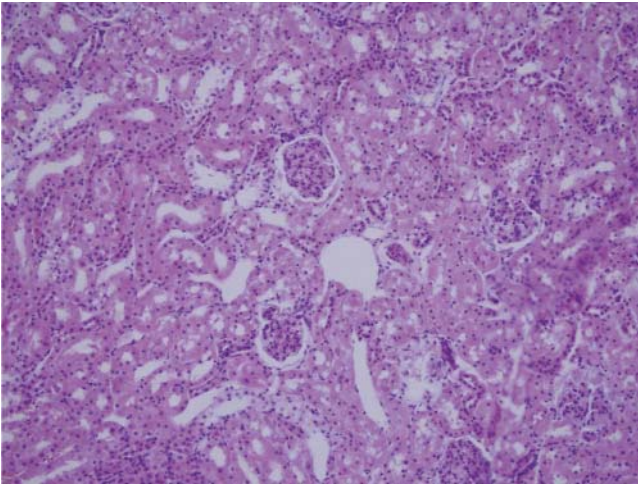
KG'da yapılan histolojik incelemede sadece bir olguda hiyalin kastlar dikkati çekti. Diğer örneklerde, böbreklerin tübül ve glomerul konfigürasyonu normal histolojik sınırlarda izlendi. Histopatolojik olarak iskemi ve otoliz bulguları saptanmadı. PCG, İG ve TG'larındaki deneklerin

bulguları KG'la benzerlik gösterdi ($P>0.05$). Grupların böbrek histopatolojik görüntüleri *Şekil 1* ve *2*'de gösterilmiştir.



Şekil 1. İskemi Grubuna ait histopatolojik görüntü. Böbreklerin tubül ve glomerul konfigürasyonu normal histolojik sınırlar içerisinde (HEX200)

Fig 1. A histopathological figure of ischemia groups. Glomerular and tubular configuration was in normal structure (HEX200)



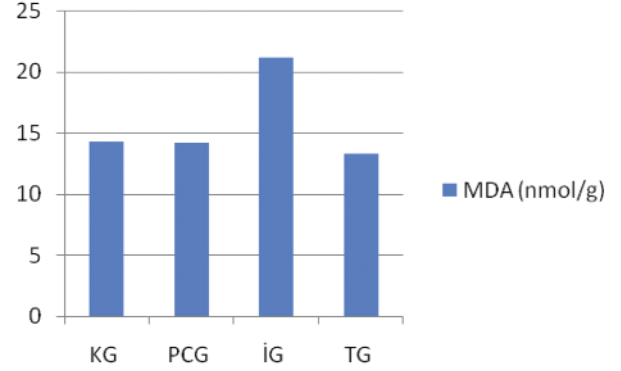
Şekil 2. Tedavi grubuna ait histopatolojik görüntü. Böbreklerinin tubül ve glomerul konfigürasyonu normal histolojik sınırlar içerisinde olup vakuolar dejenerasyon saptanmamıştır. (HEX100)

Fig 2. A histopathological figure of treatment groups. Glomerular and tubular configuration was in normal appearance and vacuolar degeneration was not determined (HEX100)

Biyokimyasal Sonuçlar

Tüm gruplarda oksidatif stres durumu böbrek dokusundaki GSH-Px, CAT, SOD aktiviteleri ve MDA seviyesi ölçülerek *Şekil 3, 4, 5* ve *6*'da özetlenmiştir. Ortalama MDA değeri (nmol/g) KG'da 14.26 ± 1.02 , PCG'da 14.20 ± 1.26 , İG'da 21.20 ± 3.65 ve TG'de ise 13.32 ± 0.9 olarak kaydedildi. Ortalama SOD aktivitesi (U/g) KG'da 93.96 ± 8.45 , PCG'da 102.22 ± 10.63 , İG'da 64.92 ± 4.98 ve TG'da ise 153.52 ± 11.56 olarak kaydedildi. Ortalama GSH-Px değeri (U/g) KG'da 18.38 ± 0.92 , PCG'da 19.09 ± 2.01 ,

MDA (nmol/g)



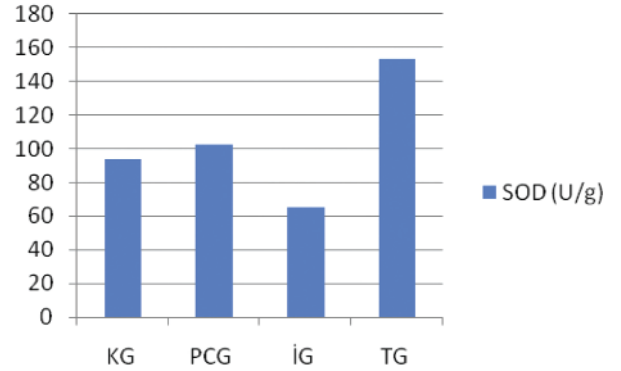
Şekil 3. Grupların böbrek Malondialdehid düzeyleri

KG: Kontrol grubu, **PCG:** Proantosiyanidin grubu, **İG:** İskemi grubu, **TG:** Tedavi grubu, **MDA:** Malondialdehid

Fig 3. Renal Malondialdehid levels of the groups

KG: Control group, **PCG:** Proanthocyanid group, **İG:** Ischemia group, **TG:** Treatment group, **MDA:** Malondialdehyde

SOD (U/g)



Şekil 4. Grupların böbrek Süperoksit Dismutaz düzeyleri

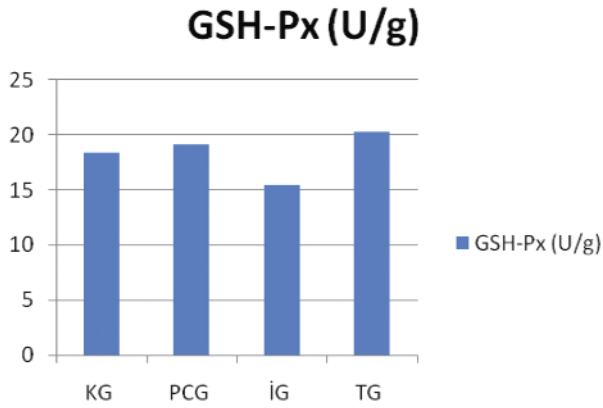
KG: Kontrol grubu, **PCG:** Proantosiyanidin grubu, **İG:** İskemi grubu, **TG:** Tedavi grubu, **SOD:** Süperoksit dismutaz

Fig 4. Renal Superoxide Dismutase levels of the groups

KG: Control group, **PCG:** Proanthocyanid group, **İG:** Ischemia group, **TG:** Treatment group, **SOD:** Superoxide dismutase

İG'da 15.47 ± 4.06 ve TG'da ise 20.29 ± 2.98 olarak saptandı. Ortalama CAT aktivite (KU/g) değeri ise KG'da 4.25 ± 0.42 , PCG'da 5.53 ± 1.21 , İG'da 2.31 ± 0.23 ve TG'da ise 8.22 ± 1.06 olarak ölçüldü.

Biokimyasal değerler göz önüne alındığında, İG'u KG'yla karşılaştırıldığında MDA seviyesinin arttığı, buna karşılık antioksidanlardan SOD, GSH-Px ve CAT aktivitelerinin düştüğü saptandı ($P<0.05$). PCG'daki denekler KG'la karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark saptanmadı. TG ve KG'nun MDA seviyesi birbirine yakın bir seviyededir. İG ile KG karşılaştırıldığında MDA düzeyi yüksekti ($P<0.05$). Oksidatif stres parametrelerine ait sonuçlar *Şekil 3, 4, 5* ve *6*'da özetlenmiştir.

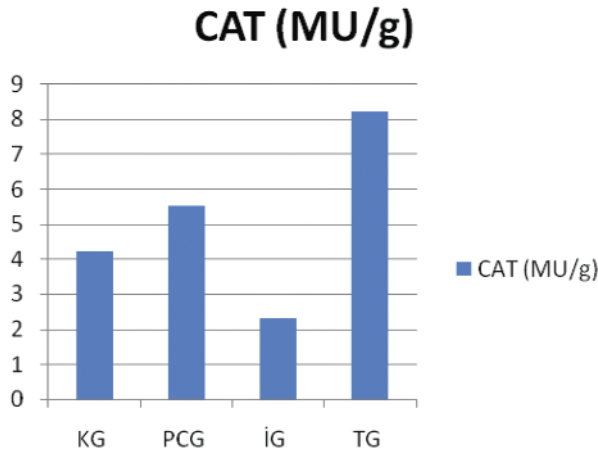


Şekil 5. Grupların böbrek Glutasyon Peroksidaz düzeyleri

KG: Kontrol grubu, **PCG:** Proantosiyandin grubu, **İG:** İskemi grubu, **TG:** Tedavi grubu, **GSH:** Glutasyon peroksidaz

Fig 5. Renal Glutathione Peroxidase levels of the groups

KG: Control group, **PCG:** Proanthocyanid group, **İG:** Ischemia group, **TG:** Treatment group, **GSH:** Glutathione peroxidase



Şekil 6. Grupların böbrek Katalaz düzeyleri

KG: Kontrol grubu, **PCG:** Proantosiyandin grubu, **İG:** İskemi grubu, **TG:** Tedavi grubu, **CAT:** Katalaz

Fig 6. Renal Catalase levels of the groups

KG: Control group, **PCG:** Proanthocyanid group, **İG:** Ischemia group, **TG:** Treatment group, **CAT:** Catalase

TARTIŞMA ve SONUÇ

Böbrek transplantasyonu sonrasında akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışı gibi sorunlarla karşılaşmaktadır¹⁻³. Bu klinik tabloların oluşmasında en önemli etkenlerden biriside İ/R hasarının doku da gözlenmesidir. Böbrek transpalantasyonu sonrası İ/R hasarıyla ilgili birçok çalışma yapılmış ve çoğunda İ/R hasarları beraber değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda transplantasyon sonrası ortaya çıkan tabloyu daha iyi ortaya koya bilmek için öncelikle iskemiye bağlı ne tür hasarların oluştuğu ve bunu önlemede neler

yapılabileceğinin araştırılması planlandı. İskemi sonrası hasarın oluşmasında oksidatif stresin önemli rol oynadığı bilinmektedir^{10,11}.

Antioksidan sisteminin güçlendirilmesiyle iskemiye bağlı zedelenmenin azalacağı fikrinden yola çıkarak çalışmamız tasarlandı. Önceki çalışmalarımızda da güçlü antioksidan özelliği nedeniyle kullandığımız serbest radikal süpürücüsü PC'ni bu çalışmamızda da kullandık. Üzüm çekirdeği ekstresi, yabanmersini, kola fıındığı ve diğer bazı sebze ve meyvelerden elde edilen PC güçlü bir serbest radikal süpürücü antioksidandır^{20,21}. Bu öngörüler ışığında PC'ni operasyon öncesi donör adayına oral yoldan verip transplant edilecek böbrekteki antioksidan sistemini daha da güçlendirildi ve böbrek iskemiye maruz kaldığında hasarı engellemede ne gibi etkilerinin olduğunu araştırıldı. Çalışmamızın devamı olarak reperfüzyon hasarı, ilacın verilmiş yolu, en uygun doz, tedavi dozu, koruyucu doz ve bunların süreçle olan ilgisini ortaya koymak için bir dizi yeni çalışma yapılması planlanmıştır.

Çalışmamızda böbreklerin histopatolojik incelenmesinde iskemiye bağlı hasar saptanmamıştır. Özellikle iskemi ve otoliz bulgusu hiçbir grupta gözlenmemiştir. Kullanmış olduğumuz doku koruyucu WÜ solüsyonunun iskemiye ait ışık mikroskobu düzeyinde histopatolojik bulguların ortaya çıkmasını geciktirdiği saptanmıştır. Yapılan bir diğer deneysel çalışmada böbrekler de İ/R hasarına bağlı olarak belirgin tübüler hücre nekrozu ve tübül içi hücre kast birikimi saptanmıştır. Buna karşılık aynı çalışmada tedavi amaçlı verilen N-asetilsistein (300 mg/kg) uygulanan deneklerde ise tübüler hücrelerde nekroz düzeyinde ve tübül içi kast birikiminde anlamlı bir düşüş olduğu görülmüştür¹⁰. Yine başka bir çalışmada 96 saatlik basit soğuk koruma ile renal prezervasyonda soğuk iskeminin allograft üzerine olumsuz etkileri ve bu hasarların önlenmesinde WÜ solüsyonunun etkinliği araştırılmıştır. Elektron mikroskopla yapılan histolojik incelemede eritrosit birikimi, eritrositlerin aglütinasyonu ve endotelyuma yapışması esas bulgu olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, WÜ solüsyonunun İ/R hasarlarını hafiflettiği rapor edilmiştir²².

Çalışmamızda histolojik olarak iskemiye bağlı lezyonlar saptanmasa da antioksidan sistem üzerine olan önemli etkiler gösterilmiştir. Bu sonuç iskemi sonrasında öncelikle etkilenen sistemler arasında antioksidan sistemin olduğunu göstermiştir.

Daha önceki bir çalışmada İ/R bağlı olarak süperoksit dismutaz, katalaz ve glutasyon peroksidaz aktivitelerinin azaldığı buna karşılık malondialdehit düzeyinin arttığı saptanmıştır. N-asetilsistein uygulamasının malondialdehit düzeyinde azalma ve glutasyon peroksidaz düzeyinde de artışa neden olduğu saptanmıştır¹⁰. İskemiye bağlı yükselen MDA seviyesini düşürmek ve GSH-Px, SOT ve CAT aktivitesinin normal değerlere ulaşması amacıyla çalış-

mamızda uygulanan PC son derece etkili olmuştur. Doku koruyucu solüsyon iskemiye bağlı histopatolojik lezyonların belirgin şekilde ortaya çıkmasını engellese de antioksidan sistemin bozulmasını engellememiştir.

Önceki çalışmamızda da bildirildiği gibi güçlü serbest radikal süpürücü PC, iskemi sonrası oluşabilecek hasarı önlemede son derece etkilidir²⁰. PC'nin özellikle MDA seviyesinin normale yakın düzeye getirilmesinde ve antioksidan sistemin güçlenmesinde son derece etkili olduğunu gösteren çalışmalar tarafımızdan da gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın sonucu olarak donör adayına nefrektomi öncesi PC'nin uygulanmasının iskemiye bağlı klinik tablonun oluşmasını engellemede önemli katkılarının olabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte en uygun doz, süre ve başlangıç gününü belirlemede yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda belirtilmesi gereken noktalardan birisi de çalışma grubuna PCG grubunun da eklenmesidir. PCG'ye ait histolojik ve biyokimyasal bulgular bize PC'nin böbrekler üzerine yan etkisinin olup olmadığını gözleme imkanı verdi. PC grubundaki denekler histolojik ve biyokimyasal bulguları açısından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı fark gözlenmemiştir. Böylece PC'nin kullanımı neticesinde elde edilen bulgular çalışmamızın güvenilirliğini arttırmıştır.

Sonuç olarak; donör dokusunun elde edilmesi ve bu dokunun transplantasyon sırasında iskemide bir müddet kalması kaçınılmazdır. İskemiye bağlı gelişecek muhtemel komplikasyonlar transplantasyondaki başarıyı sınırlayacaktır. Bu nedenle iskeminin klinik tablosunun oluşmasını engelleyecek önlemleri almanın transplantasyonun sonuçlarına yararlı katkılar sağlayacağı aşikardır. Çalışmamızda iskemiye bağlı hasarda ilk etkilenen sistemler arasında antioksidan sistemin olduğu gösterilmiştir. Bu tablonun düzeltilmesinde PC'nin faydalı olabileceğini göstermekle birlikte elde ettiğimiz bulguların diğer yapılacak klinik ve deneysel çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Schwarz A, Mengel M, Gwinner W, Radermacher J, Hiss M, Kreipe H, Haller H:** Risk factors for chronic allograft nephropathy after renal transplantation: A protocol biopsy study. *Kidney Int*, 67 (1): 341-348, 2005.
- Teplan V, Schück O, Stolova M, Vitko S:** Metabolic syndrome after renal transplantation. *Med Pregl*, 60 (Suppl 2), 28-32, 2007.
- Taylor RJ:** Ureteral Complications Following Renal Transplantation. **In**, Graham JrSD (Ed): Glenn's Urologic Surgery. 5th ed. Philadelphia, Lippin-cott-Raven Publishers, 131-135, 1998.
- Cranston D:** Urological Complications After Renal Transplantation. **In**, Morris PJ (Ed): Kidney Transplantation, Principle and Practice. 4th ed. Philadelphia, WB Saunders Co, 330-338, 1994.
- Lu B, Rajakumar SV, Robson SC, Lee EK, Crikis S, d'Apice AJ, Cowan PJ, Dwyer KM:** The impact of purinergic signaling on renal ischemia-reperfusion injury. *Transplantation*, 86 (12): 1707-1712, 2008.
- Jia RP, Xie JJ, Luo FY, Zhu JG:** Ischemic preconditioning improves rat kidney allograft function after ischemia/ reperfusion injury: The role of tumor necrosis factor-alpha. *Transplant Proc*, 40 (10): 3316-3320, 2008.
- Delabar JM, Nicole A, D'Auriol L, Jacob Y, Meunier-Rotival M, Galibert F, Sinet PM, Jérôme H:** Cloning and sequencing of a rat CuZn superoxide dismutase cDNA. *Eur J Biochem*, 166 (1): 181-187, 1987.
- Slater TF:** Free radical mechanisms in tissue injury. *J Biochem*, 222, 1-15, 1984.
- Akkus I:** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı Konya: Mimoza Yayınları. 5. Kadayıfçı A. Dahiliye- Nefroloji. 1. Baskı, Ankara, Atlas, 3-95, 1995.
- Aydogdu N, Kaymak K, Yalçın Ö:** Siçanlarda böbrek iskemi /reperfüzyon hasarında N-asetilsisteinin etkileri. *Fırat Tıp Derg*, 10 (4): 151-155, 2005.
- Basu S, Meisert I, Eggensperger E, Krieger E, Krenn CG:** Time course and attenuation of ischaemia-reperfusion induced oxidative injury by propofol in human renal transplantation. *Redox Rep*, 12 (4): 195-202, 2007.
- Li WG, Zhang XY, Wu YJ, Tian X:** Anti-inflammatory effect and mechanism of proantosiyanidin from grape seeds. *Acta Pharmacol Sin*, 22 (12): 1117-1120, 2001.
- Sano T, Oda E, Yamashita T, Naemura A, Ijiri Y, Yamakoshi J, Yamamoto J:** Anti-thrombotic effect of proantosiyanidin, a purified ingredient of grape seed. *Thromb Res*, 115 (1-2): 115-121, 2005.
- Bagchi D, Sen CK, Ray SD, Das DK, Bagchi M, Preuss HG, Vinson JA:** Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proantosiyanidin extract. *Mutat Res*, 523-524, 87-97, 2003.
- Pataki T, Bak I, Kovacs P, Bagchi D, Das DK, Tosaki A:** Grape seed proantosiyanidin improved cardiac recovery during reperfusion after ischemia in isolated rat hearts. *Am J Clin Nutr*, 75 (5): 894-899, 2002.
- Vinson JA, Mandarano MA, Shuta DL, Bagchi M, Bagchi D:** Beneficial effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract and a niacin-bound chromium in a hamster atherosclerosis model. *Mol Cell Biochem*, 240 (1-2): 99-103, 2002.
- Zhang XY, Bai DC, Wu YJ, Li WG, Liu NF:** Proanthocyanidin from grape seeds enhances anti-tumor effect of doxorubicin both *in vitro* and *in vivo*. *Pharmazie*, 60 (7): 533-538, 2005.
- Eraslan G, Saygi S, Essiz D, Aksoy A, Gul H, Macit E:** Evaluation of aspect of some oxidative stress parameters using vitamin E, proanthocyanidin and N-acetylcysteine against exposure to cyxuthrin in mice. *Pestic Biochem Physiol*, 88, 43-49, 2007.
- Yucel O, Kunak ZI, Macit E, Gunal A, Gozubuyuk A, Gul H, Genc O:** Protective efficacy of taurine against pulmonary edema progression: Experimental study. *J Cardiothorac Surg*, 3, 57, 2008.
- Yucel O, Genc O, Onguru O, Aydın, Sahin MA, Guler A, Karayilanoglu T, Sayal A, Dakak M:** Proanthocyanidine alleviates lung damage induced by nitrogen mustard. *Gülhane Tıp Derg*, 50, 267-272, 2008.
- Pataki T, Bak I, Kovacs P, Bagchi D, Das DK, Tosaki A:** Grape seed proanthocyanidins improved cardiac recovery during reperfusion after ischemia in isolated rat hearts. *Am J Clin Nutr*, 75 (5): 894-899, 2002.
- Memmedoglu AB, Bagisgil M, Ince E, Sultuybek G, Seçkin I, Sariyar M:** Effect of University of Wisconsin Solution on Ischemia-Reperfusion Damage in Renal Preservation. *Official J Turk Nephrol*, 3, 121-126, 1996.