

# Vezikoüreteral reflüde reflü nefropatisine melatoninin etkisi

Şenol Biçer<sup>1</sup>, Müslim Yurtçu<sup>1</sup>, Öznur Köylü<sup>2</sup>, Hatice Toy<sup>3</sup>, Alaeddin Dilsiz<sup>1</sup>, Adnan Abasıyanık<sup>1</sup>

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi <sup>1</sup>Çocuk Cerrahisi, <sup>2</sup>Biyokimya ve <sup>3</sup>Patoloji Anabilim Dalları, Konya

**Amaç:** Çalışmamızda, en güçlü serbest oksijen radikali temizleyicisi olan melatoninin vezikoüreteral reflü (VUR) de oluşan nefropatiyi önlemede etkili olup olmadığını ortaya koymayı amaçladık. **Yöntem:** Çalışmaya alınan tavşanlar 6'şarlı 5 gruba ayrıldı. Kontrol ve sadece melatonin verilen gruplar dışında; VUR, VUR+melatonin ve VUR+sham gruplarında sol tarafta VUR oluşturuldu. Melatonin gruplarına 20 mg/kg melatonin verildi ve 15 gün süre ile tedaviye devam edildi. Kontrol grubunda hemen, diğer gruplarda ise 15 gün sonra sol nefrektomi yapıldı. Reflü nefropatisini değerlendirmek amacıyla böbrek dokusunda malondialdehit (MDA) düzeylerine bakıldı, sintigrafik ve histopatolojik inceleme yapıldı. **Bulgular:** Sintigrafik incelemede gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (P>0.05). VUR+melatonin grubunun MDA seviyelerinin kontrol, VUR ve VUR+sham gruplarına göre anlamlı bir şekilde düşük olduğu (P<0.05) belirlendi. Kontrol grubuna göre VUR grubunda MNL (mononükleer lenfosit) infiltrasyonu ve fibröz skarın anlamlı bir şekilde arttığı (P<0.05), VUR+melatonin grubunda ise fibröz skarın oluşmadığı ve MNL infiltrasyonunun devam ettiği tespit edildi. **Sonuç:** Melatonin lipid peroksidasyonunu önleyerek MDA seviyelerini düşürmekte ve fibröz skar oluşumunu engellemektedir. Ancak MNL infiltrasyonuna etki etmemektedir. Sonuç olarak melatoninin, VUR sonucu oluşan reflü nefropatisini önlemede etkili olduğunu söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: İskemi-reperfüzyon, vezikoüreteral reflü, melatonin

## The effect of melatonin to reflux nephropathy in vesicoureteral reflux

**Objective:** This study aimed to determine if melatonin, which is the most effective scavenger of free oxygen radicals, is effective in preventing reflux nephropathy. **Methods:** The rabbits were divided into five groups. Vesicoureteral reflux (VUR) was performed in the left sides in the groups VUR, VUR+melatonin (M), and VUR+sham (S). 20 mg/kg/day melatonin was injected to the groups, to which M was given, for 15 days. Rabbits were harvested 15 days later. Scintigraphic, histopathologic and biochemical evaluation were carried out to evaluate reflux nephropathy. **Results:** The levels of malondialdehyde (MDA) were identified to be significantly decreased in VUR+M group compared with control, VUR, and VUR+S groups. Mononuclear leukocyte infiltration (MNLI) and fibrose scar (FS) were identified to be significantly increased in VUR group compared with control group. There was not FS in VUR+M group. **Conclusion:** The levels of MDA increase and histopathologic variations, such as MNLI, FS and congestion, occur in early period in the experimental VUR model of kidneys. M decreases the levels of MDA by inhibiting lipid peroxidation and prevents the occurrence of FS, but does not affect MNLI. We can say that M is effective in preventing reflux nephropathy occurred due to VUR.

Key words: Ischemia-reperfusion, vesicoureteral reflux, melatonin

Genel Tıp Derg 2009;19(4): 161-167

Vezikoüreteral reflü (VUR), mesaneden üst üriner

sisteme idrarın geri kaçmasıdır. Çocuklarda VUR görülme olasılığı % 1 civarındadır (1). Tanı ve tedavide yetersiz kaldığında renal skar, hipertansiyon ve dolayısı ile kronik böbrek yetmezliği ortaya çıkmaktadır. Üriner sistem patolojilerinde erken tanı ve tedavi ile çocuk

Yazışma adresi: Yrd.Doç.Dr.Müslim Yurtçu, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Konya

E-posta: muslimyurtcu@selcuk.edu.tr

böbreğinin en iyi şekilde korunması gerekir (2). VUR'a bağlı böbrek parankim hasarının etyopatogenezi halen tartışmalıdır. Bu konuda yapılan çalışmalarda enfeksiyon olmadan da renal skar geliştiği gösterilmiştir. Reflü nefropatisi (RN), VUR'a eşlik eden renal skar olarak tanımlanabilir. RN bir tübülointerstisyel hastalıktır ve genellikle bu tabloya böbrek fonksiyonlarındaki değişiklikler eşlik etmektedir. Böbrek hasarlanmasıyla sonuçlanan bu durum histolojik ve radyolojik olarak tanımlanabilir. (3). Böbrek dokusunda hasar oluşturarak skar gelişimine neden olan iki temel etken iskemi-reperfüzyon hasarı ile birlikte fagositoz sırasında degranülasyon ile açığa çıkan serbest oksijen radikalleri ve lizozomal enzimlerdir (4). Toksik oksijen radikalleri, hücre membranlarının lipid peroksidasyonuna ve hücre ölümüne neden olur. Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun bir göstergesi ve membranöz yağ asitlerinin oto-oksidasyonunun son ürünüdür (5).

Melatonin, en zararlı radikal olan hidroksil (OH<sup>-</sup>) radikalini ortadan kaldıran ve böylece lipid peroksidasyonunu engelleyen güçlü bir antioksidandır (6). Melatonin direkt serbest radikal süpürücüsü olarak, hem reaktif oksijen hem de reaktif nitrojen radikallerini detoksifiye eder. Ayrıca antioksidan savunma sistemlerinin aktivitesini artırır (7).

Çalışmamızın amacı, RN'de melatoninin böbrekteki iskemi reperfüzyon (İ-R) hasarını önlemede etkinliğini belirlemektir.

## Yöntem

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 2005/4 sayılı onayı doğrultusunda etik yönden "uygun" bulunarak gerçekleştirildi.

Çalışmamızda 3000 g ağırlığında, 6 aylık erkek Yeni Zelanda tipi tavşanlar kullanıldı. Tüm denekler 12 saat ışık ve 12 saat karanlık olacak şekilde programlanan odada barındırıldı. Deneysel olarak VUR oluşturulmadan önce <sup>99m</sup>Tc-DMSA sintigrafisi yapılarak sol böbreklerin apteyk'leri hesaplandı. Denekler steril şartlarda 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı®) ve 10 mg/kg xylasine (Rompun, Bayer®) i.m enjeksiyonu ile uyutuldu. Simfizis pubis üzerinden 2 cm'lik orta hat

insizyonu yapılarak mesaneye ulaşıldı. Askı sütürleri konularak mesane vertikal olarak açıldı. Sol üreterin submukozal tüneli kateter rehberliğinde cerrahi olarak kaldırıldıktan sonra kateter çıkartıldı. Mesane 4/0 polydioxanone (PDS II, Ethicon®) ile çift planda, fascia 3/0 polydioxanone ve cilt 3/0 ipekle devamlı sütürlerle kapatıldı. VUR oluşturulduktan 10 gün sonra tavşanların mesanesine üretral yoldan 6F'lik kateter yerleştirildi. Mesanede mevcut olan idrar boşaltıldı. Opak madde olarak diatrizoate sodium + diatrizoate meglumine (Urografin %76, Schering) ¼ oranında SF ile sulandırılıp tavşan mesanesine verildi. Skopi (Shimadzu, Japan) altında mesane dolumu ve reflü oluşumu belirlenerek görüntüler alındı. 3 ml % 96'lık steril etanolde çözülerek hazırlanan 40 mg melatonin [(N-Acetyl-5-methoxytryptamine) Melatonin; 1 gr şişe, Merc®, Germany] stok solüsyonu ışığa maruz bırakılmadan, enjeksiyon zamanına kadar derin dondurucuda -80 °C' de muhafaza edildi. Bu solüsyondan her tavşan için 20 mg/kg dozunda melatonin çekilip 2 ml serum fizyolojik (SF) ile sulandırılarak intraperitoneal olarak enjekte edildi.

Kontrol ve melatonin grupları VUR oluşturulmadan direkt olarak, diğer gruplar ise VUR oluşturulup 15 gün süreyle tedavileri yapıldıktan sonra sakrifiye edildi ve bilateral nefrektomi uygulandı. Nefrektomi sonrası İ-R hasarını değerlendirmek amacıyla, böbrek dokusunda MDA seviyelerine bakıldı ve böbreklerin histopatolojik incelemesi yapıldı.

Tavşanlar 5 gruba ayrıldı. VUR+melatonin grubunda 7, diğer gruplarda ise 6'şar tavşan kullanıldı.

Grup 1 (Kontrol): Bilateral nefrektomi yapıldı.

Grup 2 (VUR): Sol tarafta VUR oluşturuldu ve 15 gün sonra bilateral nefrektomi yapıldı.

Grup 3 (Melatonin): VUR oluşturulmadan 15 gün süreyle 20 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak melatonin verildi. Ardından bilateral nefrektomi yapıldı.

Grup 4 (VUR+Melatonin): Sol tarafta VUR oluşturulduktan sonra 15 gün süreyle 20 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak melatonin verildi. Ardından bilateral nefrektomi yapıldı.

Grup 5 (VUR+Sham Tedavi): Sol tarafta VUR oluşturulduktan sonra 15 gün süreyle günde 3 ml %

96'lık etil alkol ve 2 ml SF intraperitoneal olarak verildi. Ardından bilateral nefrektomi yapıldı.

Tüm gruptaki tavşanların her iki böbreği için deney öncesi ve deneyin başlangıcından 15 gün sonra 200 µci/kg <sup>99m</sup>Tc-DMSA verildikten 6 saat sonra Gamma kamera (Siemens ZLC, Japan) ve buna bağlı MİE Scintron 4 bilgisayar işletim programı uygulandı. Tavşanlardan anterior ve posterior görüntüler alındı. Böbreklere ait total ve selektif <sup>99m</sup>Tc-DMSA apteyk oranları gamma kameraya ait MİE Scintron 4 yazılım programı ile sayımlar alınarak belirlendi ve eğrileri çizildi.

Tüm gruptaki tavşanların her iki böbreğinden alınan 1 cm<sup>3</sup>'lük böbrek dokusu -80°C'de saklandı ve yaş ağırlığının 2 katı oranında serum fizyolojik eklenerek homojenize edildi. Homojenizasyon buz banyosu içinde, 1350 devir/dakika hızında dönen bir cam uç yardımıyla cam tüp içerisinde yapıldı. Homojenizasyon süresi yaklaşık 2 dakika idi. Homojenatlarda Ohkawa metodu kullanılarak lipit peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA ölçümü yapıldı (8). Bu metod lipit peroksidasyonunun ürünü olan MDA'nın tiobarbitürik asit ile reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda maksimum absorbanı veren, pembe renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanmaktadır. Homojen doku örneklerinin 0.1 ml'sine % 8.1'lik 0.2 ml sodyum dodesil sülfat, 1.5 ml % 20'lik asetik asit (pH 3.5) ve 1.5 ml tiobarbitürik asit eklendi. Karışım distile su ile 4 ml'ye tamamlanarak 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Soğutulduktan sonra 1 ml distile su eklenip eşit hacimde n-butanol ve piridin ile tekrar karıştırılarak 10 dakika 4000 devir/dakika Heraeus Sepatech marka megafuge 1,0R santrifüj aleti ile santrifüje edildi. Organik tabakanın absorbanı spektrofotometrede (UV-VIS Recording spectrophotometer, UV 2100) okundu. Standart seri hazırlamak için MDA standart solüsyonu (Spinreact, Spain) kullanıldı. Sırasıyla 10 nmol/ml, 20 nmol/ml, 30 nmol/ml ve 40 nmol/ml MDA konsantrasyonunda örnekler hazırlanarak spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okundu. Alınan sonuçların lineer regresyonu hesaplanarak doku örneklerinin verileri bu standart seriye göre değerlendirildi. Dokuda Lowry metoduna göre protein tayini yapılarak MDA miktarı, gram protein başına nmol olarak belirlendi (9).

Tüm gruptaki tavşanlar, DMSA çekimi sonrası sakrifiye edilip nefrektomi uygulandı. İşleme üreterektomi ve sistektomi de ilave edildi. Böbrek, üreterler ve mesane makroskopik olarak incelendi. Lipit peroksidasyonu ölçümü için her iki böbrekten 1 cm<sup>3</sup>'lük doku parçası alındıktan sonra böbrekler % 10'luk formalin içinde çalışma zamanına kadar bekletildi. Tüm böbreklerden böbreğin tabakaları olan korteks, medulla ve hilusu içeren kesitler alındı ve parafin bloklar hazırlandı. Bu bloklardan 5 µ kesitler yapıldı. Kesitler hematoksilin eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskopu altında aynı patoloğ tarafından kör olarak incelendi.

Böbreklerin histopatolojik değerlendirmesinde konjesyon, MNL infiltrasyonu, periglomerüler infiltrasyon, tübül genişlemesi, fibröz skar gibi parametreler incelendi. 10'luk büyütmedeki her mikroskopik görüntü alanında incelenen parametreler değerlendirildi. Aranılan parametreye ait hiçbir görüntü yoksa (-), her alanda 1-2 parametrik içerik varsa (+), bu içerik daha fazla ise (++), bol miktarda yoğun bir görünüm varsa (+++) olarak kabul edildi.

Çalışmadaki gruplara Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ve Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi uygulandı. Bulunan P değeri 0,05'ten küçük ise gruplar arasındaki fark anlamlı olarak kabul edildi.

## Bulgular

Sintigrafik apteyk değerlerinin deney öncesi ve sonrası gerek grup içi sağ ve sol böbrekler karşılaştırıldığında gerekse gruplar arası sağ ve sol böbrekler için yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (P>0,05) (Tablo 1). Kontrol grubundaki MDA seviyelerinin, melatonin grubundan farksız olduğu (P>0,05), VUR ve VUR+sham gruplarına göre anlamlı bir şekilde düşük olduğu belirlendi (P<0,05) (Tablo 2). Ancak VUR+melatonin grubunun MDA seviyelerinin; kontrol, VUR ve VUR+sham gruplarından anlamlı bir şekilde düşük olduğu belirlendi (P<0,05) (Tablo 2). VUR grubunda fibröz skar ve MNL infiltrasyonun, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi (P<0,05) (Tablo 3) (Şekil 1). VUR+sham grubunda ise kontrol grubuna göre yukarıda belirtilen parametrelere ek olarak konjesyon ve periglomerüler infiltrasyon tespit edildi (P<0,05) (Tablo 3). Kontrol grubu,

VUR+melatonin grubu ile karşılaştırıldığında ise sadece MNL infiltrasyonu açısından aralarında anlamlı bir fark olduğu ( $P<0,05$ ) (Tablo 3), fibröz skar açısından ise aralarında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ( $P>0,05$ ) (Tablo 3) (Şekil 2). Melatonin grubunda fibröz skarın, VUR grubuna göre anlamlı derecede az olduğu tespit edildi ( $P<0,05$ ) (Tablo 3) (Şekil 3). VUR+melatonin grubu ile melatonin grubu arasında, hiçbir parametre açısından anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi ( $P>0,05$ ) (Tablo 1,2 ve 3).

*Tablo 1. Sintigrafik apteyk değerlerinin karşılaştırılması ( $\mu\text{ci/kg}$ ) (ort.  $\pm$ SS)*

Gruplar	Sağ böbrek		Sol böbrek	
	Çalışmadan önce	Çalışmadan sonra	Çalışmadan önce	Çalışmadan sonra
Kontrol	49.90+3.23	-	50.23+ 3.14	-
VUR	48.28+2.09	48.43+4.61	51.71+2.09 <sup>a</sup>	51.56+ 4.61
M	47.21+1.85	46.66+2.57	52.78+1.85 <sup>a</sup>	53.50+ 2.80
M+ VUR	48.84+3.29	54.64+9.92	51.15+3.29 <sup>a</sup>	45.35+ 9.92
VUR+Sham	48.50+3.96	52.76+5.77	51.50+3.96 <sup>a</sup>	47.08+ 5.98

<sup>a</sup> $P>0.05$  Kontrol ile karşılaştırıldığında.

*Tablo 2. MDA değerleri (nmol/g protein) (ort.  $\pm$ SS)*

Gruplar	Sağ böbrek	Sol böbrek
Kontrol	3.64±0.29	3.50±0.21
VUR	3.54±0.15	3.98±0.11 <sup>a</sup>
M	3.61±0.21 <sup>a</sup>	3.61±0.23
M+VUR	3.23±0.17 <sup>ab</sup>	3.00±0.15 <sup>ab</sup>
VUR+Sham	3.74±0.18 <sup>c</sup>	3.97±0.10 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$  Kontrol, <sup>b</sup> $P<0.05$  VUR, <sup>c</sup> $P<0.05$  Melatonin+VUR'a göre

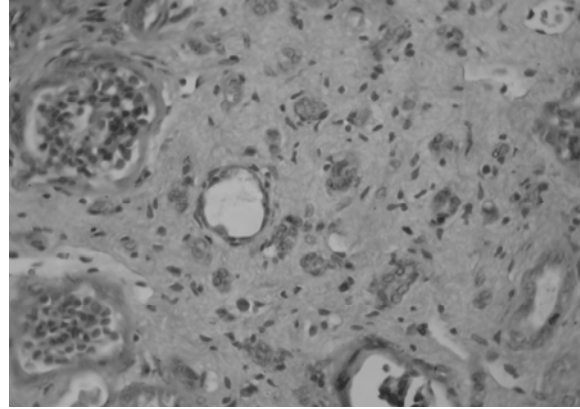
*Tablo 3. Sol böbreğin histopatolojik değerlendirmesi (pozitiflik oranları)*

Gruplar	Konjesyon	MNLI	PGI	TD	FS
K	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
VUR	3/6	6/6*	3/6	2/6	6/6*
M	1/6	2/6	0/6	0/6	1/6 <sup>#</sup>
M+VUR	2/6	6/6*	2/6	1/6	3/6
VUR+S	6/6*	6/6*	6/6*	5/6*	6/6*

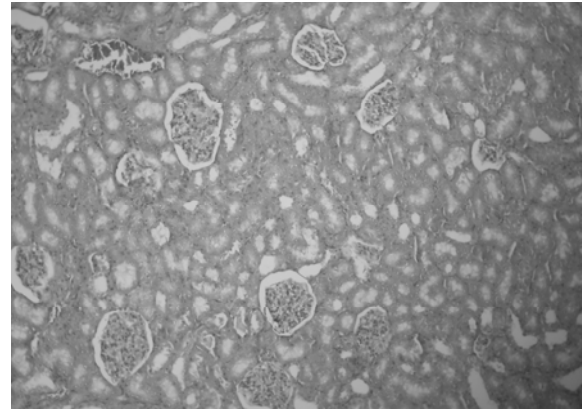
\* $P<0.05$  kontrole göre, <sup>#</sup> $P<0.05$  VUR'a göre,

PGI: Periglomeruler infiltrasyon, TD: Tubuler dilatasyon, FS:

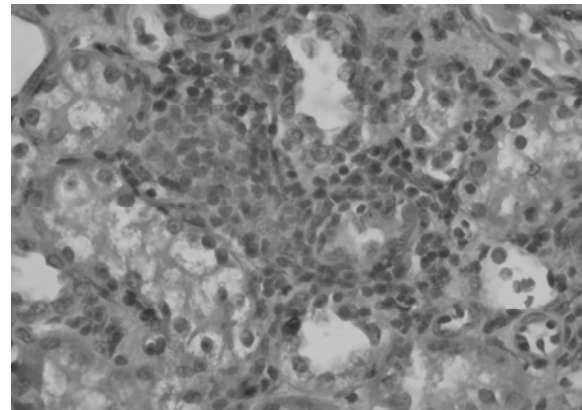
Fibröz skar, MNLI: Mononükleer lenfosit infiltrasyonu



*Şekil 1. Kontrol grubunda normal renal parankimin histopatolojik görünümü (H&EX10).*



*Şekil 2. VUR grubunda fibroz skarın histopatolojik görünümü (H&EX10).*



*Şekil 3. VUR+M grubunda anlamlı olarak artmış mononükleer lökosit infiltrasyonunun histopatolojik görünümü (H&EX40).*

## Tartışma ve sonuç

VUR idrarın mesaneden üst üriner sisteme geri kaçmasıdır. Normal çalışan bir üreterovezikal bileşkede ise idrar ureterden mesaneye rahatlıkla geçebilmeli ancak mesaneden uretere geri kaçış kesinlikle olmamalıdır. Böylece böbrekler mesanedeki yüksek basınçtan ve üriner sistem enfeksiyonundan korunmuş olur. VUR genel olarak toplumda % 1 civarında görülmesine rağmen, üriner sistem enfeksiyonu olan kızlarda bu oran % 12 ile 50 arasında değişmektedir (10,11). VUR'da medikal ya da cerrahi tedavilerin amacı renal skar oluşumunu ve ilerlemesini engellemektir (12). Renal skar sonucu oluşan RN son dönem böbrek yetmezliğinin önemli bir nedenidir (13).

Deney hayvanlarının büyük bir kısmında VUR intravezikal ureteral tünel çatısının insizyonu ile oluşturulmuştur. Ancak uretral orifis bir klemple kapatılıp mesaneye basınç yapılarak da oluşturulabilir (12,14). Çalışmamızda ise tavşan ureterinin intravezikal bölümünün çatısı insizyonla açılarak VUR oluşturuldu.

Renal skarın oluşumunda iki temel etken vardır. Bunlardan birisi enfeksiyon ve VUR ile ilişkili postnatal dönemde ortaya çıkan kazanılmış skar, diğeri ise anormal metanefrik gelişime bağlı konjenital skardır. Kazanılmış skar, renal parankime enfekte idrarın reflüsü sonucu gelişen akut pyelonefrit nedeniyle oluşur. Ancak prenatal dönemde hidronefrozu olan bebeklerde postnatal dönemde VUR varsa, üriner sistem enfeksiyonu olmamasına rağmen renal skar oluşabilmektedir (15). Hodson ve arkadaşlarının domuz yavrularında yaptıkları deneysel çalışmada steril VUR'nün İRR bölgelerinde renal skara neden olduğu gösterilmiştir (16). Ransley ve Risdon ise domuzlarda deneysel olarak oluşturulan steril VUR'nün böbrek parankimini etkilemediğini bildirmelerine rağmen Paltiel ve arkadaşları yine domuzlarda oluşturulan düşük basınçlı steril VUR'nün böbrek parankiminde kronik interstisyel enflamasyon ve fibrozise yol açtığını göstermişlerdir (17,18). Radyolojik olarak renal skar tespit edilen hastaların % 40'ında ise üriner sistem enfeksiyonuna rastlanmamıştır (19). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada ise steril VUR'nün tübüler atrofi, korteks ve medullada kronik interstisyel enflamasyon ve fibrozise neden olduğu belirlenmiştir (12).

Dokuların iskemiye uğraması durumunda ATP yapımı azalır. Ortamda yeteri kadar O<sub>2</sub> yoktur. Hücre fonksiyonu bozulmaya başlar. Ancak reperfüzyon ile ortama bol miktarda O<sub>2</sub> gelir ve O<sub>2</sub> ksantin oksidazı aktifleştirir. Sonuçta bol miktarda süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) radikali oluşur (20,21). Hücrede biriken reaktif oksijen metabolitleri (O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>-</sup>) ile reaktif nitrojen metabolitleri (NO<sup>-</sup>, ONOO<sup>-</sup>) hücresel protein ve lipid yapıları ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna ve DNA yapısının bozulmasına yol açar (2,5,22-24). Bakterinin renal parankime inokülasyonu sonucu enflamatuar mediatörler salınır ve akut enflamatuar cevap oluşur. Enflamatuar olay sırasında aktive olmuş fagositik hücreler bakterileri öldürmek için serbest oksijen radikalleri üretirler. Bu olaylar lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır. Sonuçta iskemi reperfüzyon hasarı ile böbrek parankimi zarar görür (25-27). Enfeksiyon yokluğundaki reflüde de hasar oluşabilmektedir. Mesane çıkışı obstrüksiyonu gibi mesane içi basıncın arttığı durumlarda intrarenal reflü ile tübüler basınç artmaktadır. Bunu efferent arteriyollere kan akımının azalması takip eder. Sonuçta iskemik değişikliklere sekonder interstisyel nefrit oluşmaktadır (1).

VUR sonucu gelişen RN'nde iskemi-reperfüzyon hasarının etkisini belirlemek için yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda histokimyasal olarak NO ve iNOS'ın immünoaktivitesine bakılmış ve ayrıca MDA düzeyleri tespit edilmiştir (2,5,23). Membranöz yağ asitlerinin oto-oksidasyonunun son ürünü olan MDA; her dokuda küçük miktarlarda, hücre membranlarının peroksidasyonu esnasında ise bol miktarda yapılır. İ-R hasarının önemli bir belirleyicisidir (2,5,23). Biz de çalışmamızda VUR sonucu böbrek dokusunda MDA düzeylerinin arttığını ortaya koyduk.

Melatonin reaktif oksijen ve nitrojen metabolitlerini temizleyen güçlü bir antioksidan ajandır. O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve NO<sup>-</sup> radikalleri ile birlikte bunların reaksiyon ürünü olan ileri derecede toksik ONOO<sup>-</sup> ve OH<sup>-</sup> radikallerinin de temizleyicisidir (28). Hem lipofilik hem de hidrofilik özelliği nedeni ile hücre içerisine kolayca girer ve hücre çekirdeğinde birikir (29). Böylece oksidatif hasara karşı DNA'yı korur (30,31).

Böbrek ve diğer dokularda oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarının, antioksidan ajanlar verilerek önenebileceği yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (32-38). Böbreklerde deneysel olarak

iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçanlardan melatonin verilen grupta MDA ve nitrit seviyeleri düşmüş, glutasyon seviyesi ise yükselmiştir. Aynı zamanda iNOS için mRNA seviyeleri azalmıştır (24). Benzer bir çalışmada ise trapidil verilen grupta MDA, 3-Nitrotirozin ve TNF- $\alpha$  seviyeleri düşmüştür (2). Okur ve arkadaşları (5) steril VUR oluşturulan tavşanlarda orta derecede MNL infiltrasyonu ve interstisyel fibrozis oluştuğunu belirlemişlerdir. Steril VUR oluşturulan sıçanlarda ise korteks ve medullada değişik derecelerde interstisyel inflamasyon ve fibrozis tespit edilmiştir (12). Ayrıca İ-R hasarı oluşturulan böbreklerinin proksimal tübüllerinde nekroz tespit edilirken, melatonin verilen deneklerde ise sadece iç medulladaki bazı alanlarda nekroz görülmüştür (24).

İdrarı enfekte edecek herhangi bir mikroorganizma vermediğimiz bu çalışmada VUR grubunda anlamlı derecede MNL infiltrasyonu ve fibröz skar oluşumunun ( $P<0,05$ ) tespit edilmesi sonucu RN'nin de oluştuğunu belirledik. VUR grubunda MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek çıkması ( $P<0,05$ ) iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı bir patolojinin geliştiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, deneysel olarak oluşturulan veziköüretal reflüde melatonin, MDA düzeylerini düşürerek ve fibröz skar oluşumunu engelleyerek reflü nefropatisini önlemektedir.

## Teşekkür

İstatistiksel analiz ile ilgili yardımlarından dolayı Dr.Lütfi Saltuk Demir'e teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

1. Kamer SA. Vesicoureteral reflux. In: Belman AB, King LR, Kramer SA, editorler. Clinical Pediatric Urology. London: Martin Dunitz Ltd; 2004. p.659-801.
2. Yıldırım İ, Dayanç M. Veziköüretal reflü. İçinde: Yıldırım İ, Dayanç M, editörler. Güncel çocuk ürolojisi. Ankara: Atlas kitapçılık; 2004. p.145-86.
3. Lerner GR, Fleischmann LE, Pearlmutter AD. Reflux Nephropathy. North America Pediatric Nephrology 1987; 747-66.
4. Anderson GF, Smey P. Current concepts in the management of common urologic problems in infants and children. Pediatric Clin North Am 1985; 32:1133-49.
5. Okur H, Köse Ö, Kula M, Öztürk F, Muhtaroglu S, Sümerkan B. The role of infection and free oxygen radical damage in

reflux nephropathy: An experimental study. J Urol 2003;169:1874-77.

6. Turgut M, Baka M, Yurtseven M. Pineal glanddan salgılanan bir nörohormon olan melatoninin etkileri, Arşiv 2002;11:453-70.
7. Anisimov VN. Effect of exogenous melatonin- A Review, Toxicol Pathol 2003;31:589-603.
8. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979;95:391-98.
9. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AI. Protein measurement with folin fenol reagent. J Biol Chem 1951;193:265-75.
10. Goonasekera CDA, Abeyssekera CK. Vesicoureteric reflux and reflux nephropathy. Ind J Pediatr Sri Lanka, 2007;70:241-9.
11. Politano C, Rambaldi PF, Mansi L, Di Toro R, La Manna A. Unilateral vesicoureteric reflux: Low prevalence of contralateral renal damage. J Pediatr 2001;138:875-79.
12. Guvel S, Kılinc F. Sterile vesicoureteral reflux decreases tubular cell apoptosis in rat kidney. Urology 2005;65:1244-48.
13. Smellie JM, Barratt TM, Chantler C. Medical versus surgical treatment in children with severe bilateral vesicoureteric reflux and bilateral nephropathy: a randomised trial. Lancet 2001;357:1329-33.
14. Zhang YY, Bailey RR. A model of sterile vesicoureteric reflux in the sheep. Pediatr Nephrol 1998;12:190-6.
15. Risdon RA, Yeung CK, Ransley PG. Reflux nephropathy in children submitted to unilateral nephrectomy: A clinicopathological study. Clinl Nephrol 1993;40:308-14.
16. Hodson CJ, Maling TMJ, McManamon PJ, Lewis MG. The Pathogenesis of reflux nephropathy (chronic atrophic pyelonephritis). Br J Radiol 1975;48:1-26.
17. Ransley PG, and Risdon RA. Reflux and renal scarring. Br J Radiol 1978;14(suppl):1.
18. Paltiel HJ, Mulkern RV, Perez-Atayde A. Effect of chronic, low-pressure, sterile vesicoureteral reflux on renal growth and function in a porcine model: a radiologic and pathologic study. Radiology 2000;217:507-15.
19. King LR. Vesicoureteral reflux, megaureter and ureteral reimplantation. In: Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, eds. Campbell's Urology. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1992;1689-743.
20. Ferrari R, Ceconi C, Curello S. Oxygen-mediated myocardial damage during ischaemia and reperfusion : Role of the cellular defences against oxygen toxicity. J Mol Cell Cardiol 1985;17:337-45.
21. Ak A, Oto A. Oksijen serbest radikalleri ve kalp hastalıkları. T Klin Kardioloji 1988;1:35-9.
22. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg Clin North Am 1992;72: 65-83.
23. Chertin B, Rolle U, Farkas A, Puri P. The role of nitric oxide in reflux nephropathy. Pediatr Surg Int 2002;18:630-34.
24. Rodriguez-Reynoso S, Leal C, Portilla-de Buen E, Castillo JC, Ramos-Solano F. Melatonin ameliorates renal ischemia/reperfusion injury. J Surg Res 2004;116:242-7.

25. Başaklar AC. Veziköüretel reflü. İçinde: Başaklar AC, editör. Bebek ve çocukların cerrahi ve ürolojik hastalıkları. Ankara: Palme Yayıncılık; 2006. p.1289-33.
26. Border JR. Multiple systems organ failure. Ann Surg 1992;216:111-16.
27. Bone CR. Sepsis, the sepsis syndrome multiorgan failure: A plea for comparable definitions. Ann Intern Med. 1991;114:332-33.
28. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Gilad, Hake P, Salzman AL, Szabo C. Protective effect of melatonin in carrageenan-induced models of local inflammation: relationship to its inhibitory effect on nitric oxide production and its peroxynitrite scavenging activity. J Pineal Res 1997;23:106-16.
29. Yurtçu M, Abasıyanık A, Biçer Ş, Avunduk MC. Efficacy of antioxidant treatment in the prevention of testicular atrophy in experimental testicular torsion. J Pediatr Surg doi: 10.1016/j.jpedsurg.2008.11.043.
30. Cabrer J, Burkhardt S, Tan DX, Manchester LC, Karbownik M, Reiter RJ. Autoxidation and toxicant-induced oxidation of lipid and DNA in monkey liver: Reduction of molecular damage by melatonin. Pharmacol Toxicol 2001;89:225-30.
31. Wakatsuki A, Okatani Y, Izumiya C, Ikenoue N. Melatonin protects against ischemia and reperfusion-induced oxidative lipid and DNA damage in fetal rat brain. J Pineal Res 1999;26:147-52.
32. Roberts JA. Etiology and pathophysiology of pyelonephritis. Am J Kidney Dis 1991;18:1-9.
33. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. Am J Surg 1991;161:488-503.
34. Halliwell B. Free radicals, antioxidant and human disease: Curiosity; cause or consequence? Lancet 1994;344:721-24.
35. Turgut M, Baka M, Yurtseven M. Pineal gland'dan salgılanan bir nörohormon olan melatoninin etkileri. Arşiv 2002;11:453-70.
36. Yurtcu M, Abasıyanık A, Avunduk MC, Muhtaroglu S. Effects of Melatonin on Spermatogenesis and Testicular Ischemia-Reperfusion Injury after Unilateral Testicular Torsion-Detorsion. J Pediatr Surg 2008;43:1873-78.
37. El-Sokkary GH, Abdel-Rahman GH, Kamel ES. Melatonin protects against lead-induced hepatic and renal toxicity in male rats. Toxicology 2005;15:213:25-33.
38. Ozacmak VH, Sayan H, Arslan SO, Altaner S, Aktas RG. Protective effect of melatonin on contractile activity and oxidative injury induced by ischemia and reperfusion of rat ileum. Life Sci 2005;76:1575-88.