

Ezilme yaralanması oluşturulan sıçanlardaki böbrek hasarına melatoninin etkisi

Ş. Kerem ÖZEL, A. Aysel KÖSEOGULLARI, Ahmet KAZEZ, Nusret AKPOLAT, Nevin İLHAN

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi, Patoloji ve Biyokimya Anabilim Dalları, Elazığ

Özet

Amaç: Özellikle depremlerde, ezilme yaralanması ile oluşan böbrek hasarı, önde gelen morbidite ve mortalite nedenidir. Bu çalışmada deneysel ezilme yaralanması modelinde melatonin uygulamasının böbrek hasarı üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Yirmidört adet dişi Wistar-albino sıçan 4 gruba ayrıldı. Grup 1, kontrol olarak alındı. Grup 2'de doku sıkıştırıcısı ile genel anestezi altında sıçanların sol uyluklarına, 2 saat 18 kg/cm² lik bası uygulandı. Grup 4'de doku sıkıştırıcısı kaldırılmadan 5 dakika ve kaldırıldıktan 12 saat sonra intraperitoneal 20 mg/kg melatonin ve taşıyıcısı verildi. Grup 3'de bası sonrasında aynı zamanlarda sadece taşıyıcı verildi. Tüm gruplarda ilk işlemlerden 24 saat sonra miyogloblin, üre, kreatinin, potasyum, kreatinin fosfokinaz ve transaminaz düzeyleri için serum, ışık mikroskopi, miyogloblin immünohistokimyasal boyama, doku nitrik oksit ve malondialdehid tayini için de bilateral nefrektomi materyelleri alındı. Veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Ezilme yaralanması olan sıçanlarda serum transaminaz düzeylerinde anlamlı yükselme ve doku nitrik oksit düzeylerinde anlamlı azalma saptandı ($p<0.05$). Diğer biyokimyasal parametrelerde gruplar arasında fark gözlenmedi. Işık mikroskopide ezilme oluşturulmuş sıçanlarda kontrol grubuna göre, proksimal tübüllerde anlamlı hidropik dejenerasyon gözlemlendi ($p=0.005$). Bu etkinin melatonin ile geri döndüğü tespit edildi ($p=0.024$). İmmünohistokimyasal olarak, miyoglobinde damarlarda, proksimal tübüllerde ve glomerüllerde ezilme grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artma ve ezilme grubuna göre melatonin grubunda ise anlamlı azalma saptandı ($p<0.05$).

Sonuç: Sonuç olarak, ezilme yaralanması özellikle böbrek proksimal tübüllerinde dejenerasyon oluşturmaktadır. Kas yıkımı ile açığa çıkan miyogloblinin bu etkiden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Antioksidan etkiye sahip olan melatonin böbrekte bu mekanizma ile ortaya çıkan hasarı engellemektedir. Gelecekte ezilme yaralanmalarında uygulanacak erken antioksidan tedavi ile oluşabilecek böbrek hasarının önüne geçileceği düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: Ezilme yaralanması, melatonin, böbrek

*XXIII. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresi'nde sunulmuştur, 21-24 Eylül 2004, Gaziantep.

Adres: Dr. Ş.Kerem Özel, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi AD, 23119- Elazığ

Yayına kabul tarihi: 20.04.2006

Summary

The effect of melatonin on renal damage after crush injury in rats

Aim: Renal damage due to crush injury after earthquakes, remain a major cause of morbidity and mortality. The aim of this study was to investigate the effect of melatonin on renal damage in an experimental crush injury model.

Material and Method: Twenty-four female Wistar-albino rats were divided into four groups. Group 1 was taken as control. In Group 2, 18 kg/cm² of compression for two hours with a tissue compressor was applied to the left leg of the rats under general anesthesia. In Group 4, 20 mg/kg melatonin with its carrier was injected intraperitoneally, 5 minutes before and 12 hours after removal of the compressor. In Group 3, only the carrier was injected at the given periods. In all groups, serum samples for determination of myoglobin, urea, creatinine, potassium, creatinine phosphokinase and transaminases and bilateral nephrectomy materials for light microscopy, myoglobin immunohistochemical staining, tissue nitric oxide and malondialdehyde determination were taken 24 hours after the first procedures. Results were statistically evaluated.

Results: Serum transaminase levels were found to be increased and tissue nitric oxide was found to be decreased in rats with crush injury ($p<0.05$). Comparisons of other biochemical parameters were not significant. In light microscopy, hydropic degeneration in the proximal tubules was found in crush group when compared to control ($p=0.005$). This damage was reversible with melatonin ($p=0.024$). Immunohistochemically, there was a significant increase in myoglobin in the vessels, proximal tubules and glomerules of the kidneys of crush group when compared to control and a significant decrease after melatonin in comparison with crush group ($p<0.05$).

Conclusion: In conclusion, crush injury causes degeneration in the proximal tubules of the kidney. Myoglobin released after muscle breakdown is thought to be responsible from this effect. Melatonin, as an antioxidant, prevents renal damage generated with this mechanism. Early antioxidant therapy for crush injury may be used in the future to prevent renal damage.

Key words: Crush injury, melatonin, kidney

Giriş

Ezilme yaralanması ya da travmatik rabdomyoliz; iskelet kası hasarı sonucu kas hücre içeriğinin dolaşma salınımlarıyla oluşan bir durumdur ^(10,11). Barış zamanlarında bu duruma, depremler, heyelanlar gibi doğal felaketler, maden ocaklarındaki göçükler veya motorlu araç kazaları neden olabilir ^(10,11,16,22). Enkaz altında kalarak ezilen veya başka herhangi bir sebeple ekstremiteleri bir saat veya daha fazla süreyle bası altında kalan bir bireyde ezilme yaralanması gelişme riski yüksektir ⁽¹¹⁾.

Depremler sırasındaki ölümlerin de en sık nedeni travmanın doğrudan etkisidir. İkinci sıradaki ölüm sebebi ise ezilme yaralanması ve yol açtığı komplikasyonlardır ⁽²²⁾. Patofizyolojik seyir olarak; ezilme yaralanması bir iskemi/reperfüzyon hasarıdır ^(11,27). Pineal bezin ana hormonu olan melatoninin antioksidan etkisi ve önemli bir serbest radikal temizleyicisi olduğu son zamanlardaki çalışmalarda gündeme gelmiştir ^(3,7,20). Bu çalışmada, melatoninin antioksidan etkisi temel alınarak, ezilme yaralanması sırasında oluşan böbrek hasarını korumadaki potansiyel etkisi araştırıldı.

Gereç ve Yöntem

Çalışma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulunun onayı ile yapıldı. Ağırlıkları 148-215 gr olan Wistar-Albino tipi 24 adet dişi sıçan kullanıldı. Denekler deney süresince ortalama 22°C'de oda ısısında, 12'şer saat gündüz ve gece ortamında, yemek ve su kısıtlaması yapılmaksızın plastik kafeslerde altılı gruplar halinde tutuldular. Tüm deneklere işlem öncesi, 50 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye), 2 mg/kg Xylazin (Rompun®, Bayer, İstanbul, Türkiye) ile anestezi sağlandı. Çalışma grupları aşağıdaki gibi belirlendi;

Grup 1 (Kontrol Grubu): Herhangi bir işlem uygulanmadı. Grup 2 (Ezilme Grubu): Sıçanın sol uyluk bölgesine 2 saat süresince, ezme cihazıyla 18 kg/cm² basınç uygulanarak ezilme oluşturuldu.

Grup 3 (Taşıyıcı Grubu): Aynı şekilde ezilme uygulanan sıçanlara, bası kaldırılmadan 5 dakika önce ve bası kaldırıldıktan 12 saat sonra intraperitoneal olarak sadece taşıyıcı solüsyonu (0.1 ml/kg % 99.5 etanol (Merck katalog no:983, Almanya), 1/10 oranında serum fizyolojik ile dilüe edildi.

Grup 4 (Melatonin Grubu): Sıçanın sol uyluk bölgesine aynı şekilde ezilme uygulandı. Bası kaldırılmadan 5 dakika önce ve bası kaldırıldıktan 12 saat sonra intraperitoneal olarak 20 mg/kg Melatonin (Sig-

ma Chemical Co, St. Louis, ABD) ve taşıyıcı olarak 0.1 ml/kg % 99.5'lik etanol (Merck katalog no:983, Almanya), son konsantrasyonu 1/10 olacak şekilde serum fizyolojik ile dilüe edilip verildi.

Ezilme işlemi, bu araştırma için özel olarak çalışmacılardan biri (A.K.) tarafından geliştirilmiş metal bir ezme cihazı (Aygün 2001-06, Samsun, Türkiye) kullanılarak oluşturuldu. Cihazın, vida sistemiyle sıkıştırıldığında en fazla 36 kilograma kadar basınç uygulayabilme potansiyeli vardı. Ezme işlemi, vidanın son kısmındaki 1 cm çaplı iki daire arasında gerçekleştirildi (Resim 1). Deneyde deneklere 18 kg basınç uygulanarak ezilme sağlandı.

Resim 1. Çalışmada kullanılan ezme cihazının genel görüntüsü.

Literatürde ezilme modeli ve süresi ile ilgili olan çalışmalar göz önüne alınarak, bu çalışmada ezilme hasarı tek ekstremitte üzerine, ezme cihazıyla 2 saat süreyle bası uygulanması ile oluşturuldu ^(12,13,15). Yapılan ön çalışma ile ekstremitede ezilme yaralanması oluşturduğu histolojik olarak doğrulandı.

Tüm gruplarda örnekleme işlemleri aynı olup, oluşturulan işlem masasında ve anestezi altında gerçekleştirildi. İlk müdahaleden 24 saat sonra hem histolojik çalışma için hem de biyokimyasal analiz için bilateral nefrektomi yapıldı. Her sıçanın sağ ve sol böbreği, uzun eksende bistüri ile iki eşit yarıya ayrıldı. Bir parça; histopatolojik değerlendirme için %10'luk formaldehit, diğer parça ise biyokimyasal ölçüm için serum fizyolojik içerisine kondu.

Biyokimyasal Değerlendirme:

Potasyum (K), kreatin kinaz (CK), aspartat aminot-

ransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), üre ve kreatinin ölçümleri için kardiyak ponksiyon yapılarak 4-5 ml kan örneği alındı. Düz biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri, pıhtılaşması için biraz beklendikten sonra 1.500 devirde 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Çalışmanın yapılacağı güne kadar -20°C'de saklandı.

Biyokimyasal çalışmalar, Olympus marka kitler kullanılarak, kit içeriğine uygun yöntemler ile Olympus AU 600 marka otoanalizörde (Olympus Optical Co Ltd, Japonya) yapıldı. Yine aynı serum örneklerinden miyogloblin ölçümü, Cobas-Integra marka analizörde (Roche diagnostic, Almanya) uygun kitler kullanılarak gerçekleştirildi.

Doku Malondialdehid ve Nitrik Oksit Ölçümü

Doku üzerine 9 birim buzlu tampon (50 mM Tris, 0.1 mM EDTA, 0.25 M Sukroz, pH 7.6) eklenerek 1/10 oranında dilüsyon yapıldı. Dilüe edilmiş dokular buzda 8000 devir/dakika hızda 5 dakika homojenize edildi. Homojenat, 4°C'de Jouan KR221 ultrasantrifüjde (Jouan Inc., Winchester, VA, ABD), 30.000 g'da 60 dakika santrifüj edildi. Hazırlanan bu süpernatantlar malondialdehid (MDA) ve nitrik oksit (NO) analizleri için kullanıldı.

Böbrek dokusundaki MDA konsantrasyonu, Agarwal ve arkadaşlarının bildirdiği HPLC (high-performance liquid chromatography) metoduyla Hewlett-Packard model kromatografik seri 1100 otoörnekleyici (Shimadzu, HPLC VP, Japonya) cihazında ölçüldü (1). NO'nun stabil son ürünü olan nitrit, plazmada, spektrofotometrik Greiss tepkimesi kullanılarak ölçüldü (8).

Histopatolojik Değerlendirme:

Doku örnekleri parafin bloklara gömülerek 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı. Örnekler, Hematoxilen-Eozin (H&E) ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi. Her preparatta 40'lık büyütme alanı ile 10 alan dolaşarak böbrekte oluşan hasar, proksimal tübülüslerde hidropik dejenerasyon ve tübülüslerde nekroz tespitine göre semikantitatif olarak

skorlandı. Bu skorlama sistemine göre; 0 puan: değişiklik yok; 1 puan: % 30'un altında (hafif derecede) değişiklik; 2 puan: % 30-60 oranında (orta derecede) değişiklik; 3 puan: % 60'ın üzerinde (şiddetli derecede) değişiklik olarak puanlama yapıldı.

Elde edilen kesitlere avidin-biotin peroksidaz metodu ile immünohistokimyasal olarak miyogloblin boyama işlemi (Neomarkers Fremont, CA, ABD) uygulandı.

Işık mikroskopunda 40'lık objektifte 10 ayrı alanda; damarlarda, proksimal tübülüslerde, distal tübülüslerde, glomerüllerde ve toplayıcı kanallardaki miyogloblin boyanma özelliklerine göre semikantitatif olarak skorlama yapıldı. Bu skorlama sistemine göre; 0 puan: değişiklik yok; 1 puan: % 30'un altında (hafif derecede) boyanma; 2 puan: % 30-60 oranında (orta derecede) boyanma; 3 puan: % 60'ın üzerinde (şiddetli derecede) boyanma olarak puanlama yapıldı.

İstatistiksel Değerlendirme:

İstatistiksel değerlendirmeler bilgisayar ortamında yapıldı. Elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak gösterildi. Gruplar ikili olarak karşılaştırıldı. Biyokimya parametrelerinin gruplara göre değerlendirilmesinde Mann-Whitney U testi kullanıldı. Histopatolojik bulguların değerlendirilmesinde one-way ANOVA (analysis of variance), post hoc Tukey ve LSD (least significant difference) testleri kullanıldı. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Biyokimyasal Değerlendirme:

Tüm grupların kan örneklerinde plazmada K, CK, AST, ALT, üre, kreatinin, miyogloblin değerleri çalışıldı (Tablo 1). Yapılan değerlendirmede gruplar arasındaki değişiklikler anlamlı bulunmadı.

Böbrek dokularından çalışılan MDA ve NO değerleri Tablo 2'de özetlenmiştir. Kontrol grubuyla ezilme grubu (grup 1 ve 2) karşılaştırıldığında grup 2'de do-

Tablo 1. Gruplara göre serumdaki biyokimyasal parametreler (ortalama \pm standart sapma).

Grup	Üre	Kreatinin	AST	ALT	CPK	K	Miyogloblin
1. Kontrol	41 \pm 3.6	0.4 \pm 0	179 \pm 88	54 \pm 14	1980 \pm 1057	4 \pm 0.8	2.1 \pm 2.8
2. Ezilme	54.66 \pm 54.25	0.4 \pm 0.08	758 \pm 258*	251 \pm 278*	1641 \pm 412	5 \pm 1.6	6.2 \pm 4.6**
3. Taşıyıcı	33 \pm 2.5	0.4 \pm 0.06	531 \pm 108	94 \pm 24	1730 \pm 1058	5.5 \pm 1.2	5.4 \pm 3.6
4. Melatonin	35 \pm 5.7	0.3 \pm 0.08	487 \pm 247	90 \pm 32	1338 \pm 495	5 \pm 1.3	4 \pm 3.2

*Kontrol grubuna göre anlamlı artış, **istatistiksel anlamlılığa yakın

Tablo 2. Gruplara göre ortalama doku MDA ve NO düzeyleri (ortalama±standart sapma).

	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Ezilme)	Grup 3 (Taşıyıcı)	Grup 4 (Melatonin)
Doku NO	0.31±0.031	0.24±0.004*	0.26±0.02	0.27±0.03
Doku MDA	0.072±0.01	0.073±0.005	0.070±0.006	0.067±0.011

*Kontrol grubuna göre anlamlı azalma.

ku NO düzeyinde anlamlı düşme saptandı.

Histopatolojik değerlendirme:

H&E boyama ile gruplar; proksimal tübülüslerde hidropik dejenerasyon ve tübülüslerde nekroz gözlenmesine göre değerlendirildi. Ezilme uygulanmış grupta ve ezilme uygulanıp sadece taşıyıcı verilmiş grupta gözlenen hasarın skor puanı 1-3 olarak saptandı. Melatonin verilen grup ise kontrol grubundan farksızdı, proksimal tübülüslerde hidropik dejenerasyon ve nekroz saptanmadı. Tablo 3'de gruplara göre belirlenen böbrek hasarı özetlenmiştir.

Böbrek dokuları immünohistokimyasal olarak incelenerek damarlarda, proksimal tübülüslerde, glomerüllerde ve toplayıcı kanallarda miyoglobinin varlığı değerlendirildi. Ezilme grubu ve sadece taşıyıcı verilmiş olan gruplarda, miyoglobinin damarlarda, proksimal tübülüslerde, glomerüllerde ve toplayıcı kanallarda orta ve şiddetli oranda çöktüğü saptandı. Melatonin verilen grup ise kontrol grubuyla aynı olarak değerlendirildi. Damarlarda ve proksimal tübülüslerdeki miyoglobinin çökmesi grup 1 ve 2 ile grup 2 ve 4 birlikte değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 4).

Tablo 3. Gruplara göre H&E ile böbrek hasarının derecelendirilmesi.

	0	1	2	3
Grup 1 (n=6)				
Hidropik dejenerasyon (%)	100	--	--	--
Tübülüs Nekroz (%)	100	--	--	--
Grup 2 (n=6)				
Hidropik dejenerasyon (%)	16.7	50	--	33.3
Tübülüs Nekroz (%)	66.7	33.3	--	--
Grup 3 (n=6)				
Hidropik dejenerasyon (%)	--	50	--	50
Tübülüs Nekroz (%)	33.4	33.3	33.3	--
Grup 4 (n=6)				
Hidropik dejenerasyon (%)	83.3	16.7	--	--
Tübülüs Nekroz (%)	100	--	--	--

Skor 0; Hasar yok, 1; Hafif dereceli hasar, 2; Orta dereceli hasar, 3; Şiddetli hasar.

Tablo 4. Miyoglobinin ile boyanma şiddeti.

	0 (Boyanma yok)	1 (% 30'un altında)	2 (% 30-60 arası)	3 (% 60'ın üzerinde)
Grup 1	% 100	-	-	-
Grup 2	% 8.3	% 8.3	% 16.6	% 66.6
Grup 3	-	-	% 33.3	% 66.6
Grup 4	% 87.5	% 12.5	-	-

Skor 0; Boyanma yok, 1; Hafif boyanma, 2; Orta dereceli boyanma, 3; Şiddetli boyanma.

Tartışma

Travmatik rabdomiyoliz, ezilme yaralanması ve bunun sistemik tablosu olan ezilme sendromu olguları, ilk olarak 1909 yılında Messina'daki Sicilya depremi sırasında bildirilmiştir (23). 1999'daki Marmara depreminde de travmadan etkilenen hastaların % 8'i ezilme sendromu nedeniyle ölmüştür ve bir merkeze getirilen çocuk hastaların % 45'inde ezilme yaralanması tespit edilmiştir (22,14). 2003'teki İran depreminde hem kurtarma hem de tedavi aşamasında erken müdahale edildiği için, renal yetmezlik oranında belirgin düşme saptanmıştır (25). Mayıs 2003'te Bingöl'de meydana gelen 6.1 büyüklüğündeki depremde 177 kişi ölmüş, 519 kişi yaralanmıştır. Zamanında ve sahada başlanan etkin sıvı tedavisi sayesinde ezilme yaralanması tespit edilen 8 hastanın 7'sinde miyoglobüri görülmüş ve yalnızca 2'sinde ABY gelişmiştir (19).

Ancak literatürde ezilme yaralanması ile ilgili oluşturulmuş deneysel modeller oldukça sınırlıdır. 1943 yılında Bywaters ve Stead bir tavşan modeli kullanarak miyoglobini ve travmatik rabdomiyolizi tanımlamışlar ve komplikasyonların önlenmesi için hidrasyon ve diüretik kullanımının tedavi edici olduğunu bildirmişlerdir (5). Hayrapetyan ve arkadaşları, sıçanların femoral bölgesine özel bir sıkıştırıcı ile birim ağırlığının 100 katı kuvvet uygulayarak ezilme modeli oluşturmuşlardır. Ancak sıkıştırıcı modeli hakkında herhangi bir bilgi verilmemiştir (12). Rubinstein ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada kullandıkları cihaz; bir piston ve buna metal stand ile bağlantılı olan bir diskten oluşmaktadır. Bu pistonla ekstremiteye, 4.25 kg/cm²'lik basınç uygulanarak ezilme yaralanması oluşturulmuştur (21). Akimau ve arkadaşları sıçanlarda yeni bir deneysel ezilme hasarı modeli oluşturmak üzere özel bir cihaz geliştirmişlerdir (2). Bu model, şu ana kadar ezilme yaralanmasının gerçeğe yakın oluşturulduğu ilk modeldir. Sunulan çalışmada özel olarak geliştirilmiş bir kas ezme cihazı kullanıldı.

miştir. Bu cihazla, uyluk üzerine basınç uygulanarak, kasta doğrudan mekanik ezilme hasarı oluşturulmuştur. Oluşturulan bu model daha önceden tanımlanmamıştır.

Yapılan çalışmalarda kas dokusunun 1 saatten fazla bası altında kalmasının ezilme yaralanmasına yol açtığı ve kasın reperfüzyonuyla ikincil sistemik etkilerin ortaya çıktığı göz önüne alınarak ezilme yaralanmasının bir iskemi/reperfüzyon hasarı olduğu genel olarak kabul edilmektedir (22). Dolayısıyla 2 saatlik bir mekanik basının oluşturacağı hasar, lokal ve sistemik etkilerin ortaya çıkması için yeterli kabul edilmiştir (6,12,13,15,21).

Karaciğer enzimlerinin yüksekliğine rabdomiyolizli hastalarda sık rastlanır. Travma sonrasındaki ilk 5 günde tüm kas enzimlerinde bu yükseklik dikkati çeker (22). Ancak tanınal üstünlüğü ve uzun dönemdeki seyri hakkında kesinleşmiş bir bilgi yoktur. Bu çalışmada da AST, ALT düzeylerinde istatistiksel olarak da anlamlı olan yükselme saptandı. Yapılan çalışmada bu bulgular haricinde biyokimyasal parametrelerde anlamlı bir artış gözlenmedi. Rabdomiyolizin en sabit bulgusu serum miyogloblin düzeyinin artmasıdır. Ancak miyogloblinin yarı ömrü (1-3 saat gibi) çok kısa olduğu ve yaklaşık olarak 6 saatte plazmadan tamamen temizlendiği için bu artışın tanınal değeri hemen hemen hiç yoktur (29). Miyogloblinin yarı ömrü, böbrek yetmezliğinde kısmen uzar ve diyaliz tedavisi ile de kandan temizlenemez. Miyogloblinin, büyük miktarlarda sistemik dolaşıma serbestlendiği zaman nefrotoksik olduğu bilinmektedir (23,27,29). Bu çalışmada, ezilme hasarını takip eden ilk 24 saatte, serumda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da miyogloblin yüksek bulundu. Ezilme grubundaki örneklerin immunohistokimyasal incelenmesinde, böbrek damarlarında, tübüllerde, glomerüllerde ve toplayıcı kanallarda şiddetli oranda miyogloblin çökmesi görülmüştür. Aynı örneklerin histopatolojik değerlendirilmesinde tübüllerde dejenerasyonun başladığı ve yer yer tübüler nekroza ilerlediği gözlenmiştir. Bu saptama, ezilme sendromunda görülen geç dönem böbrek yetmezliğinden miyogloblinin büyük oranda sorumlu olduğunun bir göstergesidir.

NO fizyolojik ve patofizyolojik olaylarda vazoregülasyon ve hücrel toksisiteyi gösteren düzenleyici bir moleküldür. Normal fizyolojik koşullarda homeostazın sürdürülmesi ve savunma sisteminin güçlendirilmesi için önemlidir (17). Her türlü akut olayda (travma, stres, akut inflamasyon gibi) salınan NO

hem doku koruyucu hem de dokuya zarar verici bir etki gösterebilir. Bu çalışmada, ezilme grubunda böbrek dokusundaki NO değerinde kontrol grubuna göre anlamlı düşme saptanmıştır. Bu azalmayı, böbrek hasarı ile ilişkilendirmek olasıdır. Ancak tam olarak hangi mekanizma ile azalma olduğunu söylemek eldeki verilerle oldukça zordur.

Ezilme hasarında, iskemiye uğrayan dokunun kurtulması için gerekli olmasına rağmen; reperfüzyon, paradoksik olarak, iskemiden daha çok hasara yol açar (18). Oluşan serbest radikallerin lipidleri perokside etmesiyle doku hasarı oluşur, lipid peroksidasyonunun son ürünü de MDA'dır (4). Bu çalışmada böbrek dokusunda MDA artışının olmadığı gözlenmiştir. Bu açıdan, ezilme yaralanmasındaki böbrek hasarında, dolaşıma salınan serbest radikallerin uzak organ etkisi ile hasar oluşturmadığı düşünülebilir.

Pineal bezden salgılanan bir hormon olan melatonin, oksidan hasarı önlemesi üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Melatonin, serbest radikal temizleyicisi ve metal iyon inaktivatörü gibi davranarak fizyolojik enzimatik antioksidan savunma sistemlerini uyarır, mitokondriyal işlevleri korur (26). Şener ve arkadaşları, melatoninin yanık ve radyasyona bağlı renal yetmezliği düzelttiğini göstermişlerdir (24). Bazı çalışmalarda, kas iskemi-reperfüzyon hasarında melatoninin koruyucu etkileri olduğu bildirilmektedir (9,28).

Bu çalışmada, deneysel olarak kaslarında ezilme hasarı oluşturulup, melatonin uygulanan sıçanların böbreklerinde miyogloblinin hemen hemen hiç yerleşmediği saptanmıştır. Yine, melatonin verilen gruptaki böbrek dokularındaki histolojik bulguların kontrol grubuna yakın olduğu tespit edilmiştir. Bu iki bulgu, melatoninin böbrekleri, ezilme hasarı sonrasında miyogloblinden kaynaklanan zedelenme yapıcı etkilerden koruduğunu göstermektedir. Melatoninin kas I/R'da doku zedelenmesini azalttığı göz önüne alındığında, bu mekanizmanın kas dokusundan hasar sonucu gelişen miyogloblin salınımını azaltması ile açıklanması mümkündür.

Sonuç olarak; özellikle depremlerde ezilme yaralanması sonrası gelişen böbrek hasarı, geç dönem morbidite ve mortalitede önemini korumaya devam etmektedir. Yaralanma şekli, büyük oranda bir I/R hasarı olduğundan, özellikle hastaların göçük altından çıkarıldığı ilk saatler, patolojik sürecin sonrası için önem taşımaktadır. Böbrek yetmezliği gelişirse dahi ilk saatlerde verilecek melatonin gibi kuvvetli antioksidanlarla hasarın hem lokal hem de renal düzey-

de sınırlandırılması mümkün olabilecektir. Ancak bu tür bir organizasyon için ülke genelinde konu ile ilgili yeterli eğitim düzeyine sahip, yetişmiş sağlık personeline gereksinim duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Agarwal R, Chase SD: Rapid, fluorimetric-liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples. *J Chromatogr* 775:121, 2002
2. Akimau P, Yoshiya K, Hosotsubo H, et al: New experimental model of crush injury of the hindlimbs in rats. *J Trauma* 58:51, 2005
3. Anisimov V. Effects of exogenous melatonin-a review. *Toxico Pathol* 31:589, 2003
4. Balcı V, Özgüç H, Akköse Ş, ve ark: Deneysel crush yaralanmasında ringer laktat resusitasyonunun doku kan akımı ve oksidan hasara etkisi. *Ulus Travma Derg* 9:239, 2003
5. Bywaters EG, Beall D: Crush injuries with impairment of renal function. 1941. *J Am Soc Nephrol* 9:322, 1998
6. Chan R, Austen W, Ibrahim S, et al: Reperfusion injury to skeletal muscle affects primarily type II muscle fibers. *J Surg Res* 122:54, 2004
7. Claustrat B, Brun J, Chazot G: The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev* 9: 11, 2005
8. Cortas NK, Wakid NW: Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 36:1440, 1990
9. Erkanlı K, Kayalar N, Erkanlı G, et al: Melatonin protects against ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *J Pineal Res* 39: 238, 2005
10. Greaves I, Keith M Porter: Consensus statement on crush injury and crush syndrome. *Accid Emerg Nurs* 12:47, 2004
11. Gonzales D: Crush syndrome. *Crit Care Med* 33:34, 2005
12. Hayrapetyan H, Khachatryan H, Mardanyan S, et al: Activity of enzymes of adenyline compounds metabolism during crush and decompression of muscle tissue. Part II. Adenylate deaminase activity at experimental crush syndrome. *Med Sci Monit* 6:1068, 2000
13. Hayrapetyan H, Khachatryan H, Mardanyan S, et al: Activity of enzymes of adenyline compounds metabolism during crush and decompression of muscle tissue. Part I. Adenylate deaminase activity at experimental crush syndrome. *Med Sci Monit* 6:845, 2000
14. İskit SH, Alpay H, Tuğtepe H, et al: Analysis of 33 pediatric trauma victims in the 1999 Marmara, Turkey Earthquake. *J Pediatr Surg* 36:368, 2001
15. Knaryan V, Arakelyan L, Marouchyan G, et al: High affinity glutamate uptake in rat brain slices in experimental crush syndrome. *Med Sci Monit* 8:75, 2002
16. Kurt N, Küçük HF, Demirhan R, et al: Crush injury in two earthquake disasters within a 3-month period. *Eur J Trauma* 29:42, 2003
17. Kuyumcu A, Polat AD, Özmen M, ve ark: Travma ve enfeksiyonda nitrik oksitin rolü. *Ulus Travma Derg* 10:149, 2004
18. McMichael M, Moore R: Ischemia/reperfusion injury pathophysiology, part I. *Vet Emerg Crit Care* 14:231, 2004
19. Özel K, Kazez A, Çeliker H, ve ark: Mayıs 2003 Bingöl depremi sonrası çocuk hastalardaki klinik deneyimlerimiz. *Pediatric Cerrahi Dergisi* 18:53, 2004
20. Reiter R, Tan DX, Gitto E, et al: Pharmacological utility of melatonin in reducing oxidative cellular and molecular damage. *Pol J Pharmacol* 56:159, 2004
21. Rubinstein I, Abassi Z, Coleman R, et al: Involvement of nitric oxide system in experimental muscle crush injury. *J Clin Invest* 101:1325, 1998
22. Sever MŞ: Crush (Ezilme) Sendromu ve Marmara Depreminden Çıkarılan Dersler. 2. Baskı, İstanbul, Lebib Yalkın Yayınları, 2003, s:51
23. Singh D, Chander V, Chopra K: Rhabdomyolysis. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 27:39, 2005
24. Şener G, Şehirli Ö, Şatıroğlu H, et al: Melatonin prevents oxidative kidney damage in a rat model of thermal injury. *Life Sci* 70:2977, 2002
25. Tahmasebi MN, Kiani K, Jalali MS, et al: Musculoskeletal injuries associated with earthquake A report of injuries of Iran's December 26, 2003 Bam earthquake casualties managed in tertiary referral centers. *Injury* 36: 27, 2005
26. Teixeira A, Morfim M, Cordova C, et al: Melatonin protects against pro-oxidant enzymes and reduces lipid peroxidation distinct membranes induced by the hydroxyl and ascorbyl radicals and by peroxy nitrite. *J Pineal Res* 35:262, 2003
27. Vanholder R, Sever M, Ereğ E, et al: Acute renal failure related to the crush syndrome: towards an era of seimonephrology? *Nephrol Dial Transplant* 15:1517, 2000
28. Wang W, Fang X, Stephenson L, et al: Microcirculatory effects of melatonin in rat skeletal muscle after prolonged ischemia. *J Pineal Res* 39:57, 2005
29. Warren J, Blumbergs P, Thompson P: Rhabdomyolysis: a review. *Muscle Nerve* 25:332, 2002