

Böbrek Hastalıklı Köpeklerde Antioksidatif Metabolizma

Funda KARGIN

Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın - TÜRKİYE

Ulvi Reha FİDANCI

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 29.09.2000

Özet: Bu çalışmada, köpeklerde böbrek hastalıklarında serbest radikallerin rolü ve antioksidatif metabolizmadaki değişikliklerin gösterilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak plazma malondialdehit düzeyi, antioksidatif metabolizmada görev alan moleküler antioksidanlardan β -karotin ve askorbik asitin serum ve plazma düzeyleri ile enzimatik antioksidanlardan glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz'ın (CAT) eritrosit hemolizatlarındaki aktiviteleri ölçülmüştür.

Herhangi bir klinik şikayeti bildirilmeyen sağlıklı 20 adet köpek çalışmanın kontrol grubunu oluşturmuştur. Klinik muayene sonucunda böbrek bozukluğu ön teşhisi konulan ve alınan kan örneklerinde gerçekleştirilen serum total protein, üre ve kreatinin analiz sonuçlarına göre bu yöndeki teşhisleri laboratuvar testleri ile de desteklenen 15 adet köpek ise deneme grubuna dahil edilmiştir.

Böbrek hastalığı gözlenen köpeklerde serum total protein düzeyi azalırken ($p \leq 0,001$), serum üre ve kreatinin düzeyleri ise artmıştır ($p \leq 0,05$ ve $p \leq 0,001$). Böbrek hastalıklı köpeklerde plazma malondialdehit düzeyleri yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,001$). Sağlıklı ve hasta köpek gruplarına ait serum β -karotin düzeyleri arasındaki fark istatistik anlam taşımazken ($p \geq 0,05$), plazma askorbik asit düzeyi deneme grubundaki böbrek hastalıklı köpeklerde azalmıştır ($p \leq 0,05$). Böbrek hastalıklı köpeklerde GSH-Px ($p \leq 0,05$), SOD ($p \leq 0,001$) ve CAT ($p \leq 0,001$) enzim aktivitelerinin de azalmış olduğu tesbit edilmiştir.

Sonuç olarak; köpeklerdeki böbrek hastalıklarının etiolojisinden ve patogenezinin serbest radikal aktivitelerinin sorumlu olduğu, oksidatif stres ve oksidatif hasarın şiddeti ile böbrek hastalıklarının derecesi arasında doğru bir ilişki bulunabileceği kanısına varılmış ve bu nedenle, böbrek hastalıklarında köpeklere uygulanan klasik tedaviye antioksidanların da ilave edilmesinin yararlı olacağı önerilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Böbrek hastalıkları, serbest radikaller, antioksidatif metabolizma, köpek.

Kidney Diseases and Antioxidative Metabolism in Dogs

Abstract: The aim of this study was to investigate the role of free radicals and to show the changes in the antioxidative metabolism of dogs with renal diseases. For this purpose, the plasma malonyldialdehyde levels, activities of the GSH-Px, SOD and CAT in hemolysates of the red cells, and serum and plasma levels of the β -carotene and ascorbic acid were analysed to determine their relationships.

A total of 35 dogs aged between 3 and 5 years were used. Twenty healthy dogs with no clinical signs comprised the as control group. Clinically, fifteen dogs exhibited kidney disorders and this diagnosis was supported by laboratory measurements of serum total protein, urea and creatinine levels in the trial group.

Serum total protein levels were decreased ($p \leq 0,001$) in dogs with kidney diseases. However, serum urea and creatinine levels were increased in these dogs. Plasma malonyldialdehyde levels of the trial group were significantly higher ($p \leq 0,001$) than those of the control group. There was no statistical difference ($p \geq 0,05$) in the levels of β -carotene between the trial and control groups. Plasma ascorbic acid levels were decreased ($p \leq 0,05$) in dogs with kidney diseases. Statistically significant decreases in the GSH-Px ($p \leq 0,05$), SOD and CAT ($p \leq 0,001$) enzyme activities were observed in dogs with kidney diseases.

In conclusion, the results of this study showed that free radical activities are responsible for the etiology and pathogenesis of kidney diseases in dogs. There was a positive correlation between the intensity of the oxidative stress and the damage and kidney diseases. Therefore, addition of antioxidants to the current classical treatment of kidney diseases in dogs is suggested.

Key Words: Renal diseases, free radicals, antioxidative metabolism, dog.

Giriş

Organizmanın normal metabolik reaksiyonları sırasında, serbest radikallerin endojen olarak ortaya çıkmaları nedeniyle, tüm aerobik organizmalar doku hasarından korunmak için antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Antioksidatif savunma sisteminde görev üstlenen antioksidanlar, okside edilebilir substrata oranla çok düşük konsantrasyonlarda dahi substratın oksidasyonunu geciktiren veya engelleyen maddelerdir (1-4).

Fizyolojik koşullarda, organizmada oksidan etkenler ve antioksidan mekanizmalar bir denge halinde bulunmaktadır. Serbest radikallerin artması veya antioksidanların azalması sonucu serbest radikallerle antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması oksidatif strese ve oksidatif hasara neden olmaktadır. Oksidatif stres ve oksidatif hasarın inflamasyon, yaşlanma, ateroskleroz, hipertansiyon, iskemik hasar, karsinogenez, mutagenез, immünolojik, nörolojik, ürolojik hastalıklar ve sindirim sistemi, göz, deri, akciğer ve karaciğer hastalıklarının patogeneğinde ve ilerlemesinde rolü olduğu kanıtlanmıştır (5).

Bu çalışmada da köpeklerde böbrek hastalıklarında serbest radikallerin rolü ile antioksidatif metabolizmadaki değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Bu çalışmada materyal olarak, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Klinikleri ile Ankara'daki özel veteriner kliniklerine getirilen 3-5 yaşları arasında toplam 35 köpekten faydalanılmıştır. Herhangi bir klinik şikayeti bildirilmeyen sağlıklı 20 adet köpek çalışmanın kontrol grubunu oluşturmuştur. Klinik muayene sonucunda böbrek bozukluğu teşhisi konulan ve alınan kan örneklerinde gerçekleştirilen serum total protein, üre ve kreatinin analiz sonuçlarına göre bu yöndeki teşhisleri laboratuvar testleri ile de desteklenen 15 adet köpek ise deneme grubuna dahil edilmiştir.

Kan örnekleri köpeklerin ön bacaklarında bulunan Vena cephalica antebrachii'den normal ve heparinli tüpler kullanılarak alınmıştır. Analizler Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen serum örneklerinde total protein, üre, kreatinin ve β -karotin düzeyleri; plazma örneklerinde ise malondialdehit ve

askorbik asit düzeyleri zaman kaybetmeden hemen ölçülmüştür. Plazma örnekleri elde edilirken GSH-Px, SOD ve CAT enzim aktivitelerinin tayini için eritrositler ayrılmış ve salin fosfat tampon çözeltisi (PBS) içerisinde analizler gerçekleştirilinceye kadar -30°C de derin dondurucuda saklanmıştır. Enzim aktivite tayinleri 10 gün içerisinde gerçekleştirilmiştir.

Serum total protein düzeyi ölçümü biüret yöntemi ile (6), üre düzeyi ölçümünde modifiye Gentzkow metodu (7) ve kreatinin düzeyi ölçümünde Jaffé metodundan faydalanılmıştır (8).

Plazma malondialdehit düzeyi ölçümünde Yoshioka ve Ark. (9) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır. Serum β -karotin düzeyleri Suzuki ve Katoh'un (10) geliştirdikleri yöntem kullanılarak ölçülmüştür. Plazma askorbik asit düzeyi ölçümü ise Kway (11) tarafından bildirilen yöntemle gerçekleştirilmiştir.

Enzim analizleri için kullanılan eritrositlerin hazırlanmasında Winterbourn ve Ark. (12) tarafından bildirilen bir yöntemden faydalanılmıştır. Enzim aktivitelerinin hesaplanmasında kullanılan hemoglobin düzeyleri ferrosiyanomethemoglobin metoduyla ölçülmüştür (13). Eritrosit hemolizatlarında Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi Paglia ve Valentine (14) tarafından bildirilen yöntemle, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Sun ve Ark. (15) tarafından geliştirilen bir yöntemle ve katalaz aktivitesi de (CAT) Luck (16) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir.

Sonuçların istatistik değerlendirilmesinde t-testinden ve gruplar içerisindeki parametrelerin incelenmesi amacıyla korelasyon testinden faydalanılmıştır (17).

Bulgular

Klinik olarak sağlıklı köpekler ile böbrek bozukluğu ön tanısı konulan köpeklerin bu yöndeki teşhislerinin laboratuvar tarafından desteklenmesi amacıyla seçilen serum total protein, üre ve kreatinin düzeyleri ile t-testi sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Kontrol grubundaki sağlıklı köpeklerle karşılaştırıldığında, deneme grubundaki böbrek hastalığı olan köpeklerde serum total protein düzeyinin düşük ($p \leq 0,001$), serum üre ($p \leq 0,05$) ve kreatinin ($p \leq 0,001$) düzeylerinin ise yüksek olduğu gözlenmiştir.

Testler		Kontrol Grubu	Deneme Grubu	t	Sig.
Total protein (g/dl)	Min.	5,5	4,2	-4,90	P ≤ 0,001
	Maks.	8,5	8,1		
	x ± Sx	7,93 ± 0,19	6,16 ± 0,32		
	N	20	15		
Üre (mg/dl)	Min.	22,5	37,8	2,15	P ≤ 0,05
	Maks.	43,9	202,3		
	x ± Sx	30,13 ± 1,51	51,10 ± 11,12		
	N	20	15		
Kreatinin (mg/dl)	Min.	0,6	1,5	5,50	P ≤ 0,001
	Maks.	1,6	3,1		
	x ± Sx	0,90 ± 0,05	1,82 ± 0,05		
	N	20	15		

Tablo 1. Kontrol ve deneme grubu köpeklerde total protein, üre ve kreatinin düzeyleri

Kontrol grubundaki köpekler ile klinik bulgular ve laboratuvar test sonuçlarına göre böbrek yetmezliği teşhisi konulan deneme grubundaki köpeklerde lipid peroksidasyonun göstergesi olarak seçilen TBA testi sonuçları, antioksidatif metabolizmanın moleküler

antioksidanlarından β-karotin ve askorbik asit, enzimatik antioksidanlarından GSH-Px, SOD ve CAT enzim aktivitelerine ait veriler ile gruplar arasındaki t-testi sonuçları Tablo 2 de toplu halde gösterilmiştir.

Tablo 2. Kontrol ve deneme grubu köpeklerde TBA testi ile moleküler ve enzimatik antioksidanlara ait test sonuçları

Testler		Kontrol Grubu	Deneme Grubu	T	Sig.
Malondialdehit (µmol/L)	Min.	6,8	21,3	4,18	p ≤ 0,001
	Maks.	42,2	169,0		
	x ± Sx	15,1 ± 2,5	55,8 ± 10,8		
	n	20	15		
β-Karotin (µg/dl)	Min.	5,8	4,2	-0,43	p ≥ 0,05
	Maks.	21,2	32,5		
	x ± Sx	12,5 ± 1,1	13,4 ± 1,9		
	n	20	15		
Askorbik asit (mg/dl)	Min.	0,37	0,37	1,12	p ≤ 0,05
	Maks.	0,81	0,68		
	x ± Sx	0,57 ± 0,02	0,49 ± 0,02		
	n	20	15		
GSH-Px nmol/NADPH +H ⁺ /dak/mg-Hb	Min.	3280	2648	-2,26	P ≤ 0,05
	Maks.	71880	41052		
	x ± Sx	23527,8 ± 4523,1	10425,9 ± 2835,2		
	N	20	15		
SOD (U/g-Hb)	Min.	170,4	118,1	-6,3	p ≤ 0,001
	Maks.	264,3	152,7		
	x ± Sx	306,0 ± 16,9	171,0 ± 9,7		
	n	20	15		
CAT (k/g-Hb)	Min.	43,7	24,3	-5,1	p ≤ 0,001
	Maks.	200,8	57,8		
	x ± Sx	124,4 ± 11,0	55,2 ± 10,8		
	n	20	15		

Plazma malondialdehit düzeyleri böbrek hastalığı gözlenen köpeklerde yükselmiştir. Kontrol ve deneme grupları arasındaki fark istatistiksel olarak $p \leq 0,001$ düzeyinde anlamlı olduğu saptanmıştır.

Serum β -karotin düzeylerinde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p \geq 0,05$), plazma askorbik asit düzeylerinin hasta köpeklerde azaldığı ve gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlı olduğu gözlenmiştir. Eritrosit hemolizasyonlarında gerçekleştirilen GSH-Px, SOD ve CAT enzim aktivitelerinin böbrek hastalıklı köpeklerde daha düşük olduğu saptanmıştır. Enzim aktivitelerindeki bu azalma GSH-Px için $p \leq 0,05$ düzeyinde istatistik önemlilik gösterirken SOD ve CAT için $p \leq 0,001$ düzeyinde hesaplanmıştır.

Böbrek hastalığı teşhisi konulan deneme grubundaki köpeklere ait test sonuçları arasında da eritrosit SOD aktivitesi ile serum β -karotin değerleri ($r = 0,633$; $p \leq 0,05$) ve eritrosit GSH-Px enzim aktivitesi arasında ($r = 0,607$; $p \leq 0,05$) gözlenen pozitif yöndeki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tartışma

Ülkemizde yetiştirilen ve kliniklere getirilen köpeklerin sayısı hızla artmaktadır. Klinik gözlemlere göre, böbrek bozuklukları köpeklerde hiç de küçümsenemeyecek boyutlarda olup en fazla ölüm nedenleri arasında yer almaktadır (18). Böbrek hastalıkları yaşlı hayvanlarda gençlerden daha çok görülmektedir (19-21).

Böbrek fonksiyonlarının göstergesi olarak çoğunlukla kanda üre ve kreatinin düzeyleri ölçülmektedir. Bu ölçümler böbrek fonksiyonları hakkında kısmi bilgi verebilir (19,22). Şiddetli protein kaybı ile birlikte seyreden böbrek hastalıklarında hayvanlarda total serum proteini ve albuminde azalma görülmektedir (23).

Gerçekleştirilen bu çalışmada deneme grubundaki köpeklerde serum total protein düzeyi köpekler için bildirilen normal düzeyler arasında olmakla birlikte (24) kontrol grubunda ölçülen ortalama değerden istatistik olarak $p \leq 0,001$ düzeyinde düşüktür. Deneme grubundaki hayvanlarda ölçülen serum üre ve kreatinin düzeyleri ise köpekler için bildirilen normal sınırların üzerindedir (24). Deneme grubundaki hayvanlarda serum üre ve kreatinin düzeyleri kontrol grubundaki hayvanlara ait düzeylerden sırası ile $p \leq 0,05$ ve $p \leq 0,001$ istatistik önemlilikte daha yüksektir (Tablo 1).

Serbest radikal tayini için direkt yöntemlerin zorluğu nedeniyle daha çok reaksiyon ürünleri ölçülmektedir (25). Oksidatif stres genellikle hasarlanmış biyolojik ürünlerin saptanmasıyla yapılmaktadır. Bu amaçla birçok lipid derivativesi ölçülebilmektedir. Dokudaki lipid peroksit belirleyicileri olarak aldehitler, tiyobarbütirik asit reaktivitesi, konjuge dienler ve küçük miktarlarda oluşan etan ve pentan (hidrokarbonlar) ayrıca hidroperoksitler radikal ölçümünde kullanılabilir (26).

Bunlar arasında en çok kullanılan indikatör malondialdehitin ölçüldüğü tiyobarbütirik asit testidir (27). Bu çalışmada da böbrek hastası olan köpeklerde serbest radikallerinin etkisinin dolayısı ile lipid peroksidasyonunun gösterilmesi amacıyla plazma malondialdehit düzeylerinin ölçümüne başvurulmuştur.

Böbrek hastası olan insan ve deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilen çok sayıda çalışmada serbest oksijen radikallerinin aktivitesinin bir göstergesi olarak plazma lipid peroksidasyon ürünü malondialdehit düzeylerinde belirgin artışlar gözlenmiştir (28-35).

Bu çalışmada deneme grubundaki hasta köpeklerde plazma malondialdehit düzeyi kontrol grubundaki köpeklerden $p \leq 0,001$ istatistik önemlilik düzeyinde yüksektir (Tablo 2). Bu sonuç, böbrek hastalıklarında aktive olmuş makrofajlarda, nötrofillerde yada böbrek hücrelerinde oluşan serbest radikallerin, özellikle hücre membranlarındaki doymamış yağ asitleri ile verdikleri lipid peroksidasyonunun beklenen bir sonucudur. Yıkım ürünlerinin sayısı lipid peroksidasyonunun kantitatif göstergesidir. Bu çalışmadan sağlanan sonuçlar literatür sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

Antioksidatif metabolizmada, moleküler ve enzimatik antioksidanların doku ve kan düzeyleri de serbest radikallerin oluşturdukları oksidatif hasar hakkında fikir verebilmektedir (36). Bu çalışmada antioksidan savunma sisteminde yer alan moleküllerden, β -karotin ve askorbik asit düzeyleri ile enzimatik antioksidanlardan GSH-Px, SOD ve CAT gibi enzim aktiviteleri de serbest radikallerin böbrek hastalıklarındaki etkilerinin gösterilmesi amacıyla incelenen parametreler arasında yer almıştır.

Kronik böbrek yetmezliği bulunan hastalarla yapılan çalışmaların çoğunda vitamin A, plazma retinol ve retinol bağlayıcı protein (RBP) konsantrasyonlarını yüksek bulunmuştur. Her iki molekülün yüksek konsantrasyonlara ulaşmasında glomeruler filtrasyonunun azalması ve bu moleküllerin metabolizmasındaki bir

yavaşlama sorumlu tutulmaktadır. Fakat hem retinol hemde retinol bağlayıcı protein ile plazma kreatinin seviyesi arasında bir korelasyon bulunmamıştır. Normal plazmada retinol bağlayıcı protein çoğunlukla daha yüksek molekül ağırlıkta retinol-retinol bağlayıcı protein-prealbümin kompleksi şeklinde bulunmaktadır (37,38). Rylance ve Ark. (39) kronik böbrek hastalıklarında vitamin A düzeylerinde bir değişiklik olmadığını bildirmektedir.

Köpeklerde böbrek hastalıklarında antioksidatif metabolizmadaki değişikliklerin izlenmesi amacıyla seçilen antioksidan moleküllerden β -karotin düzeyleri kontrol ve hasta grupları arasında önemli farklılık göstermemiştir ($p \geq 0,05$).

Köpeklerde böbrek hastalıklarında moleküler antioksidanlardan ve A vitamininin en önemli provitami olan β -karotinin serum düzeylerinde önemli bir değişiklik olmaması, sekonder bir antioksidan olan β -karotin'in antioksidatif savunma sistemindeki konumuna bağlı olabilir. Ayrıca, β -karotin'in diyetdeki düzeylerinin de bu sonuç üzerinde etkili olabileceği düşünülebilir.

Pahl ve Ark. (40), subtotal nefrektomi yapılan böbrek yetmezlikli rat ile sağlıklı ratların L-askorbik asit düzeyinin intestinal absorpsiyonunu incelemişlerdir. Böbrek yetmezliği gözlenen deneme grubunda L-askorbik asit absorpsiyonunun ve serum askorbik asit düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli oranda azaldığı gözlenmiştir.

Singh ve Ark. (41) böbrek hastalıklarında plazma askorbik asit ve dehidroaskorbik asit düzeylerini düşük bulmuşlardır.

Ha ve Ark. (42) da benzer bir çalışmada böbrek hastalıklarında suda çözünen vitaminlerin, özellikle moleküler bir antioksidan olan askorbik asit düzeyinin azaldığını bildirmekte ve bunun üremik toksinlerin askorbik asidin intestinal emilimini etkilemesinden kaynaklanabileceğini ileri sürmektedirler.

Tratchman ve Ark. (43) ise kronik böbrek yetmezliği oluşturulan ratlarda plazma redoks kapasitesi ve askorbik asit düzeylerinin yükseldiğini bildirmektedirler. Bu çalışmada kronik böbrek yetmezliğinin erken döneminde muhtemelen serbest radikal üretiminin fazla olmadığı ve antioksidan olarak askorbik asitin plazmada biriktiği sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada da böbrek hastalıklı köpeklerde plazma askorbik asit düzeylerinin azalmış, sonuçlar Pahl ve Ark.

(40), Singh ve Ark. (41) ve Ha ve Ark. (42) sonuçları ile paralellik göstermiştir.

Askorbik asit düzeyindeki azalma lipofilik bir antioksidan olan α -tokoferol ile askorbik asit arasındaki sinerjizme bağlanabilir.

Son yıllarda çeşitli böbrek hastalığı gözlenen insan ve hayvanlarda ve özellikle hemodiyaliz hastalarında gerçekleştirilen pek çok çalışmada eritrosit GSH-Px, SOD ve CAT aktivitelerinin normal populasyona göre oldukça azaldığı saptanmıştır. Sonuçlar kronik böbrek yetmezlikli hastalarda eritrositlerdeki enzimatik antioksidan mekanizmanın bozulduğunu göstermektedir (28,29,31,33,34,44,45).

Kurada ve Ark. (28) ve Trafikowska ve Ark. (46) kronik böbrek yetmezliği gözlenen hastalarda antioksidan sistem parametrelerine ait aktivitelerde azalma tesbit etmişlerdir. Kurada ve Ark. (28) kronik böbrek yetmezliği bulunan hastalarda serum antioksidan seviyelerini düşük bulurken, üremik hastalarda bu düzeyleri daha da düşük bulmuşlardır.

Seth ve Ark. (29) kronik böbrek yetmezliği teşhisi konan insanlarda eritrosit GSH-Px aktivitesi ve redükte glutasyon (GSH) düzeylerini ölçmüşlerdir. Araştırmacılar sağlıklı bireylerin eritrositleri ile karşılaştırıldığında kronik böbrek yetmezliği olan hastaların eritrosit GSH-Px aktivitesi ve GSH içeriğinin azaldığını bildirmektedir.

Durak ve Ark. (31) kronik böbrek hastalarında eritrosit CAT, SOD ve GSH-Px aktivitelerinde azalma gözlemişlerdir. Ong-awyooh ve Ark. (1997) da benzer bir çalışmada kronik böbrek hastalarında GSH-Px, CAT, glutasyon ve vitamin E düzeylerini ölçmüşler ve hastaların eritrosit GSH-Px, CAT ve glutasyon aktivitelerini düşük bulmuşlardır. Sonuçlar kronik böbrek yetmezlikli hastalarda eritrositlerdeki enzimatik antioksidan mekanizmanın bozulduğunu göstermektedir.

Nikulina ve arkadaşları (34) da böbrek fonksiyon bozukluğu bulunan hastaların kanında antioksidan enzim aktivitelerini ölçmüşlerdir. Çalışmada GSH-Px, SOD ve CAT enzimlerinin dolayısıyla antioksidan sistemin inhibe olduğunu eritrosit membranlarında ve serumda da lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığını bildirmişlerdir.

Martin ve Ark. (45) da çeşitli kronik böbrek hastalarında plazma ve eritrositlerde GSH-Px, SOD, CAT, glutasyon redüktaz, glutasyon transferaz enzim aktivitelerini ölçmüşlerdir. Araştırma sonucunda SOD,

CAT ve glutatyon transferaz aktiviteleri kronik böbrek hastalarında yüksek bulunurken GSH-Px ve glutatyon redüktaz enzim aktivitelerinin düştüğü, glutatyon seviyesinin çok azaldığı gözlenmiştir. Sonuçta GSH-Px ve MDA arasında pozitif korelasyon tesbit edilmiştir.

Bu çalışmada böbrek hastalığı bulunan köpeklerde incelenen enzimatik antioksidanların aktiviteleri ile diğer araştırmacıların sonuçları arasında paralellik gözlenmektedir.

Kronik böbrek hastalarının eritrositlerindeki enzim aktivitelerindeki azalmanın nedeni tam olarak açıklanamamaktadır. Pek çok faktör sorumlu olabilir. Reaktif oksijen türlerinin anormal salınımı muhtemelen yoğun hücre hasarına ve membranlarda artan peroksidasyona neden olur. Bu hasar intrasellüler antioksidanlardan GSH-Px, SOD ve CAT enzim aktivitesi ile önlenmektedir. Enzimatik antioksidanlar arasında gözlenen pozitif korelasyon bu sinerjetik etkiyi destekler niteliktedir.

Böbrek hastalıklarında artan serbest radikallerin dismutasyonu sonucu enzimlerin tüketilmesine ve/veya enzim aktivitesinin hücrelerin yapıtaşları olan makromoleküllerin yıkımı ve sekonder ürünler ile özellikle lipid peroksidleriyle inhibe olması da önemli bir durum oluşturmaktadır (30,47).

Kronik böbrek hastalarının eritrositlerindeki enzim aktivitelerindeki azalmanın diğer nedenleri olarak çeşitli üremik metabolitler (48), hekzoz monofosfat yolunun inhibisyonunun neden olduğu oksidatif stres (49), oksidatif strese bağlı olarak ATP/ADP oranlarının azalması (50) sayılabilir.

Sonuç olarak; köpeklerdeki böbrek hastalıklarının etiyojisi ve patogenezinde serbest radikal aktivitelerinin sorumlu olduğu, oksidatif stres ve oksidatif hasarın şiddeti ile böbrek hastalıklarının derecesi arasında doğru bir ilişki bulunabileceği kanısına varılmıştır. Antioksidatif metabolizmada görev alan moleküler ve enzimatik antioksidanların kapasitelerinin zorlanması ve dengenin giderek serbest radikaller lehine bozulması böbrek hastalıklarının seyrini daha kompleks hale getirebilir.

Bu nedenle böbrek hastalıklarında köpeklere uygulanan klasik tedaviye ilave olarak antioksidatif metabolizmanın desteklenmesi, bu amaçla antioksidan etkili bileşiklerin de verilmesi önerilebilir.

Böbrek hastalığı gözlenen köpeklerde antioksidatif metabolizmanın böbrek hastalığının türü ve derecesi ile ilişkili olarak araştırılması, araştırmaya diğer antioksidanların da dahil edilmesi konu ile ilgili bilgilerin artmasını sağlayacağı gibi böbrek hastalıklarının tanı ve tedavisinde de katkı sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Vansteenhout, J.L.: Free radicals: relation to tissue damage—a review. *Vet. Clin. Pathol.* 1985; 16: 29-35.
2. Peuchant, E., Solles, C., Vallot, C., Wone, C., Lenser, R.: Increase of erythrocyte resistance to hemolysis and modification of membrane lipids induced by hemodialysis. *Clin. Chim. Acta.* 1988; 178: 271-282.
3. Yoshioka, T., Bills, T., Grene, H.: Role of intrinsic antioxidant enzymes in renal oxidant injury. *Kidney Int.* 1990; 38: 282-288.
4. Kargin, F., Fidancı, U.R.: Serbest oksijen radikalleri ve oksidatif hasar. *Türk Vet. Hek. Derg.* 1997; 9(2): 26-28.
5. Halliwell, B.: Oxygen radicals and human disease. *Ann. Int. Med.* 1987; 107: 526-545.
6. Weichselbaum, T.E.: An accurate and rapid method for the determination of protein in small amounts of blood serum and plasma. *Am. J. Clin. Path.* 1949; 10: 40-49.
7. Annino, J.S.: Modified gentzkow methods. In: *Clinical Chemistry*. Brown and Co., New York, USA, 1964.
8. White, W.L., Ericson, M.M., Stevens, S.C.: *Chemistry for clinical laboratory*. C.V. Mosby Co., Saint Louis, USA, 1976.
9. Yoshiko, T., Kawada, K., Shimada, T. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active-oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1979; 135: 372-376.
10. Suzuki, J.P., Katoh, N.A.: A simple and cheap method for measuring serum vitamin A in cattle using only spectrophotometer. *Jpn. J. Vet. Sci.* 1990; 52: 1281-1283.
11. Kway, A.: A simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma. *Clin. Chim. Acta.* 1978; 86: 153-157.
12. Winterbourn, C.C., Hawkins, R. E., Brain M., Carrel, W.: The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J. Lab. Clin. Med.* 1975; 55: 337-341.
13. Tietz, W.N.: Measurement of plasma hemoglobin. *Fundamental of Clinical Chemistry*. Saunders Company, London, 1987.
14. Paglie, D.E., Valentine, W.N.: Studies on the qualitative and quantitative characterization of erythrocyte glutathion peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 1967; 70 (1): 158-169.
15. Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y.: A simple for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 1988; 34: 497-500.

16. Luck, H.: Catalase. In: *Methods in analysis*. Ed. Bergmeyer H.U. Academic Press Inc. London, 1965.
17. Kutsal, A., Muluk, Z.F.: Uygulamalı temel istatistik, Hacettepe Üniversitesi Yay. Ankara, 1975.
18. Berkin, Ş., Alçıgır, G.: 1973-1984 periyodunda incelenen 523 köpeğin post-mortem bulguları üzerinde survey çalışma. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 1986; 33 (1): 153-164.
19. Finco, D.R., Duncan, J.R.: Evaluation of blood urea nitrogen and serum ceatinine concentrations as indicators of renal dysfunction: a study of 111 cases and a review of related literature. JAVMA. 1976; 168: 593-601.
20. Fukuda, S., Kawashima, N., Tokita, K.: Age dependency of hematological values and concentrations of serum biochemical constituents in normal Beagles from 1 to 14 years of age. Jpn. J. Vet. Sci. 1989; 51(3): 636-641.
21. Dibartola, S.P., Buffington, C.A., Chew, D.J., Sparks, R.A.: Development of chronic renal disease in cats: renal and dietary influences. JAVMA. 1993; 202: 744-750.
22. Labato, M.A., Ross, L.A.: Plasma disappearance of creatinine as a renal function test in the dog. Res. Vet. Sci. 1991; 50: 253-258.
23. Center, S.A., Wilkinson, E., Smith, C.A., Erb, H., Lewis, R.M.: 24-hour urine protein/creatinine ratio in dogs with protein-losing nephropaties. JAVMA. 1985; 187: 820-824.
24. Altıntaş, A., Fidancı, U.R.: Evcil hayvanlarda ve insanda kanın biyokimyasal normal değerleri. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 1993; 40(2): 173-186.
25. Tappel, A.L.: Measurement of and protection from in vivo lipid peroxidation. Free radicals in biology. Am. J. Physiol. 1980; 4: 1-47.
26. Holley, A.E., Cheeseman, K.H.: Measuring free radical reactions in vivo. British Medical Bulltein. 1993; 49: 494-505.
27. Draper, H.H., Hadley, M.: Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation.. Methods. Enzymol. 1990; 186: 421-431.
28. Kuroda, M., Asoka, S., Tufuka, Y., Tokeda, R.: Serum antioxidant activity in uremic patients. Nephron. 1985; 41: 293-298.
29. Seth, R.K., Saini, A.S., Aggarwol, S.K.: Glutathione peroxidase activity and reduced glutathione content in erythrocytes of patients with chronic renal failure. Scand. J. Haemetol. 1985; 35: 201-204.
30. Turi, S., Nemeth, I., Ilona, W.: Erythrocyte defense mechanisms aganist free oxygen radicals in haemodialysed uremic children. Pediatr. Nephrol. 1991; 5: 179-183.
31. Durak, I., Akyol, Ö., Başeşme, E., Canbolat, O., Kavutçu, M.: Reduced erythrocyte defense mechanisms against free radical toxicity in patients with chronic renal failure. Nephron. 1994; 66: 76-80.
32. Ong-Awyooth, L., Ong-Awyooth, S., Tiensong, K.: Reduced free radical scavengers and chronic ranal failure. J. Med. Assoc. Thai. 1997; 80(2): 101-108.
33. Ong-Awyooth, L., Ong-Awyooth, S., Likidliid, A., Chantachum, Y.: Role of lipid peroxidation, trace elements and antioxidant enzymes in chronic renal disease patients. J. Med. Assoc. Thai. 1996; 79 (12): 791-800.
34. Nikulina, H.H., Baran, I., Yarol, L.V.: Antioxidants of blood enzymes in kidney function disorders in man. Ukr. Biochim. Zh. 1998; 70 (1): 82-87.
35. Vaziri, D.N., Overisi, F., Ding, V.: Role of increased oxygen free radical activity in the pathogenesis of uremic hypertension. Kidney Int., 1998; 53: 1748-1754.
36. Maxwell, R.J.: Prospects for the use of antioxidant therapies. Drugs. 1995; 49(3): 345-361.
37. Smith, R.F., Goodman, D.: The effects of disease of the liver, thyroid and kidneys on the transport of vitamin A in human plasma. J. Clin. Invest. 1971; 50: 2426-2436.
38. Gerlach, T.H., Zile, M.: Upregulation of serum retinol in experimental acute renal failure. FASEB. J. 1990; 4: 2511-2517.
39. Rylance, P.B., Brown, I.R., Howells, D.W., Nisbet, J.A., Stone, A.N.: Relationship between vitamin A and bone disease in chronic renal failure. Nephron, 1984; 36: 131-135.
40. Pahl, M.V., Vaziri, N.D., Barbari, A., Saadi, B., Ovesi, F., Seo, M.: Intestinal absorption of L-ascorbic acid in rats with renal failure. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1989; 191(4): 332-336.
41. Singh, Rg., Grupta, A.K., Dubey, S.: Ascorbic acid status in uremics. Indian J. Med. Res. 1992; 96: 266-269
42. Ha, T.K., Sattar, N., Talwar, D., Cooney, J., Simpson, K.: Abnormal antioxidant vitamin and carotenoid status chronic renal failure. QJM. 1996; 89(10): 765-769.
43. Trachtman, H., Wilson, D., Rao, P.S.: The role of oxygen free radicals in development of chronic renal failure. Life Science. 1992; 50: 1877-1883.
44. Martin, M., Sanchez, M., Iglesias, S., Bustomonte, J.: Oxidative stress in chronic renal failure. Renal Fail. 1999; 21(2): 155-167.
45. Trafikowska, U., Zachara, B.A.: Selenium and some antioxidants in blood of patients with chronic renal failure. Pol. Merck. Lec. 1988; 5 (27): 178-182.
46. Laurent, B., Ardaillou, R.: Reactive oxygen species production and role in kidney. Am. J. Physiol. 1986; 251: 765-776.
47. Canavese, C., Stratta, P., Vercellaner, A.: Oxygen free radicals in nephrology. Int. J. Art. Org. 1987; 10 (6): 379-389.
48. Jacobs, H.S., Eaton, W., Yowata, Y.: Shortened blood cell survival in uremic patients: Beneficial and deleterious effects of dialysis. Kidney Int. 1975; 7 (2): 139-143.
49. El-Rashidy, F.H., Al-Turk, W., Stohs, S.J.: Glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in erythrocytes and lymphocytes in chronic renal disease. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 1984; 44: 423-430.
50. Angle, C.R., Swanson, M.S., Stohs, S.J., Morkin, R.S.: Abnormal erythrocyte pyrimidine nucleotides in uremic subjects. Nephron. 1985; 39: 169-174.