

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE
HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL
RENAL ABLASYON NEFROPATİSİNİN SEYRİNE
A VİTAMİNİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**PEDİATRİK NEFROLOJİ
YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

Uz.Dr. Alper SOYLU

**TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Salih KAVUKÇU**

**İZMİR - 2000
T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Pediatric Nephrology Subspecialty training during my experience and information from Prof. Dr. Salih Kavukcu and Doç. Dr. Mehmet Türkmen'e, and my thesis work contributions for Doç. Dr. Slen Sarioğlu'na thank you debt I know.

Uz. Dr. Alper Soylu

SIK KULLANILAN KISALTMALAR

RAN	: Renal ablyon nefropatisi
Vit A	: Vitamin A
OGS	: Ortalama glomerüskleroz skoru
ŞGY	: Şiddetli glomerüskleroz yüzdesi
TIS	: Tübülointersitisyel skor
IgAN	: İmmünglobulin A nefropatisi
IC	: İmmün kompleks

İÇİNDEKİLER

1.	Giriş ve Amaç.....	1
2.	Genel Bilgiler.....	2
i.	Glomerülün yapısı.....	2
ii.	Glomerüler hasarın patogenezi.....	5
iii.	Glomerüler hastalıkların patolojisi.....	6
iv.	Glomerüler hasarın immünolojik mekanizmaları.....	7
v.	Glomerüler hasarın diğer mekanizmaları.....	12
vi.	Renal ablasyon nefropatisi.....	13
vii.	Renal hastalıkların ilerleyici özelliğinin mekanizmaları.....	14
viii.	Vitamin A.....	16
ix.	β -Karoten.....	20
x.	Vitamin A ve enfeksiyon.....	22
xi.	Vitamin A ve üriner sistem.....	26
3.	Gereç ve Yöntem.....	27
4.	Bulgular.....	30
5.	Tartışma.....	36
6.	Sonuç.....	40
7.	Özet (Türkçe).....	41
8.	Özet (İngilizce).....	43
9.	Kaynaklar.....	45

GİRİŞ

Vitamin A'nın (vit A) pyelonefrite bağı renal skar oluşumunu azaltmada etkili olduğu, klinik ve deneysel olarak yakın zamanlarda gösterilmiştir (1,2). Vit A'nın bu antienfektif özelliği immün sistem ve epitelizasyon üzerindeki olumlu etkilerine bağlanmıştır (2,3). Provitamin A karotenoidlerinden olan β -karotenin serbest oksijen radikallerinin inaktivasyonunda etkili olduğu bildirilmiştir (4).

Renal ablasyon nefropatisi (RAN) glomerüllerde fokal segmental skleroz, tübüler dejenerasyon ve intersitisyel fibrozis ile karakterizedir (5,6). Bu patolojideki ilerleyici nefron hasarı temelde bazı postglomerüler fiziksel değişikliklere bağlanmıştır. Bunlar arasında postglomerüler hipertansiyon, peritübüler kapillerlerde azalmış plazma akımı ve proksimal tübüler hücrelerin aşırı protein yüküne maruz kalmaları bulunmaktadır (5). Bununla beraber, inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu, böbrek dokusundaki lokal hücrelerin aktivasyonu ve serbest radikal üretimi gibi hücresel olayların da RAN'nin patogeneze katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür (5,7).

Eğer deneysel pyelonefrit modelinde vit A'nın skarlaşmayı azaltan olumlu etkisi primer olarak hücre farklılaşması ve epitel yüzeylerin korunması ile ilişkili ise, vit A uygulaması ile RAN'ndeki renal patolojinin ilerlemesi de yavaşlatılabilir. Ancak, eğer pyelonefrit modelindeki olumlu etki temelde immün sistemin aktivasyonuna bağlı ise, vit A uygulaması RAN'nin seyrini olumlu yönde etkilemeyebilir. Dahası, immün sistem aktivasyonunun RAN'ndeki histopatolojik değişikliklerin bir nedeni olduğu göz önüne alınırsa, vit A uygulaması ile renal patolojik değişiklikler daha da kötüye gidebilir.

AMAÇ

Bu çalışma, subtotal nefrektomi uygulanan sıçanlara vit A uygulamasının, arda kalan böbrek dokusu üzerindeki etkilerini incelemek için yapılmıştır.

GENEL BİLGİLER

Normal Glomerül Yapısı

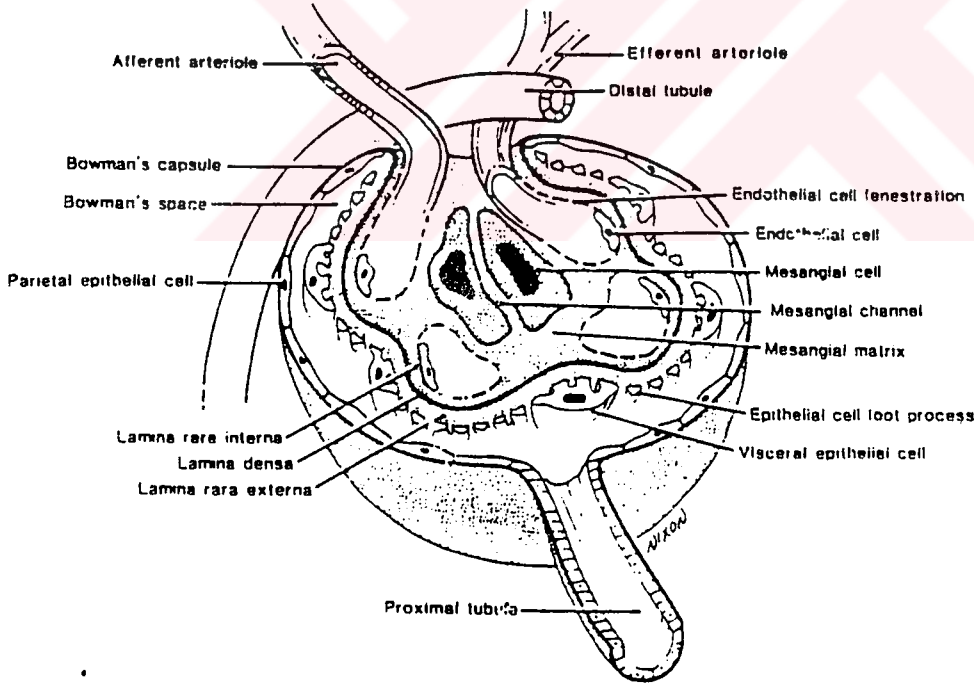
Glomerüllerde, afferent arteriölün girip, efferent arteriölün terkettiği bir "vasküler kutup" ve proksimal kıvrımlı túbülün başladığı bir "üriner kutup" bulunur (8) (Resim 1). Afferent arteriöl glomerüle girdikten sonra, her biri ayrı bir kapiller yumak oluşturan, 2-5 primer dala ayrılır. Bu dallardan oluşan kapiller ađ, daha sonra efferent arteriole drene olur (9).

Glomerülden üç tane yerleşik hücre tipi vardır: Endotel, epitel ve mezangial hücreler (Resim 2) (9). Kapiller damarların duvarını çevreleyen "endotel hücreleri" birbirinden fenestralar ile ayrılırlar. Bu kendine özgü yapı, kan kaynaklı faktörlerin bazal membran ile direkt temasını sağlar (10). Bu hücrelerin gözenekleri de diğer organların fenestralı kapillerlerinden farklı olarak hem sayıca daha fazladır, hem de daha büyüktür ve ince zarlar ile örtülü değildir (8). Endotel hücreleri çeşitli koagülasyon proteinleri, büyüme faktörleri, sitokinler, ekstraselüler matriks proteinleri, vazoaaktif aminler ve reaktif oksijen metabolitleri sentezlemelerinin yanında, kan hücreleri ile ilişkilerini kolaylaştıracak immün bağlanma moleküllerini taşırlar ve potansiyel antijen sunucu hücreler olarak görev yaparlar (10,11).

"Glomerüler bazal membran (GBM)" internal olarak endotel hücreleri ve eksternal olarak visseral epitel hücreleri ile çevrilmiş, özelleşmiş bir ekstraselüler matrikstir. Kapiller iğerisindeki kanı Bowman aralığından ayıran tek devamlı yapıdır ve elektron mikroskobik incelemede merkezde yoğun, her iki yanda ise gevşek tabakalardan oluştuğu gösterilmiştir. Çoğunlukla tip IV kollajenden oluşan merkezdeki yoğun tabaka fiziksel bir filtre görevi taşımakta ve albuminden daha büyük moleküllerin filtrasyonunu hemen tamamen önlemektedir. Daha çok iğer ve dıştaki gevşek tabakalarda bulunan ve büyük çoğunlukla heparan sülfattan oluşan glikozaminoglikanlar ise elektriksel filtre görevi yaparlar (8,10). Tablo 1'de glomerüler matriksin yapısında bulunan moleküller gösterilmiştir (10). GBM'ın kalınlığı matürasyon ile birlikte artarken, çeşitli çalışmalarda erkek çocuklarda daha kalın olduğu gösterilmiştir. Bir yaşındaki çocuklarda normal sınırlar 220-260 nm iken, beş yaşındakilerde bu sınırlar 280-327 nm, 10 yaşındakilerde 329-370 nm ve 15 yaşındakilerde 358-399 nm olarak bulunmuştur (9).

Glomerüler epitel hücreleri parietal ve visseral olarak iki değişik hücre tipine farklılaşmışlardır. Parietal epitel, basit-yassı hücrelerden oluşur. Bu hücreler, proksimal

tübül epiteli ile devamlılık gösterir (9). Visseral epitel ise "podosit" denilen, primer uzantılarından çıkan sayısız sekonder uzantılarıyla glomerüler kapillerleri saran ve primer görev olarak filtrasyon sırasında bazal membran üzerindeki hidrostatik basıncı dengeleyen hücrelerden meydana gelmiştir (Resim 2 ve 3) (8). Bu hücrelerin diğer görevleri arasında GBM'dan sızan proteinlerin pinositözu, GBM'ın sentezinin büyük bölümünün üstlenilmesi, sekonder uzantılar arasında yer alan yarıklardaki diyaframlar aracılığı ile proteinlerin geçişinin kısıtlanması; siklooksijenaz ve lipooksijenaz ürünlerinin, ürokinaz tipi plazminojen aktivatörünün, plazminojen aktivatör inhibitörü l'in, antioksidan enzimlerin ve mezangial hücre büyümesinin heparin benzeri inhibitörünün sentezlenmesi sayılabilir. Visseral epitel hücrelerinin fagositik özellikleri de bulunmaktadır. Ayrıca bu hücreler, taşıdıkları Fc ve C3b reseptörleri aracılığı ile immün komplekslerin işlenmesinde rol aldıkları gibi, antijen-sunucu hücre görevi de oynamaktadırlar (10,12).



Resim 1: Glomerül ve çevre yapıların şematik gösterimi (Kaynak 14'ten alınmıştır).

Perimezangial bazal membran ile mezangial hücreler arasındaki sentrolobüler bölgede yer alan "mezangium", içerik olarak, aynıysa olmasa da GBM'a benzer yapıdadır (Tablo 1) (10,13). Bir kısım plazma normal şartlarda endotel fenestralarından geçerek,

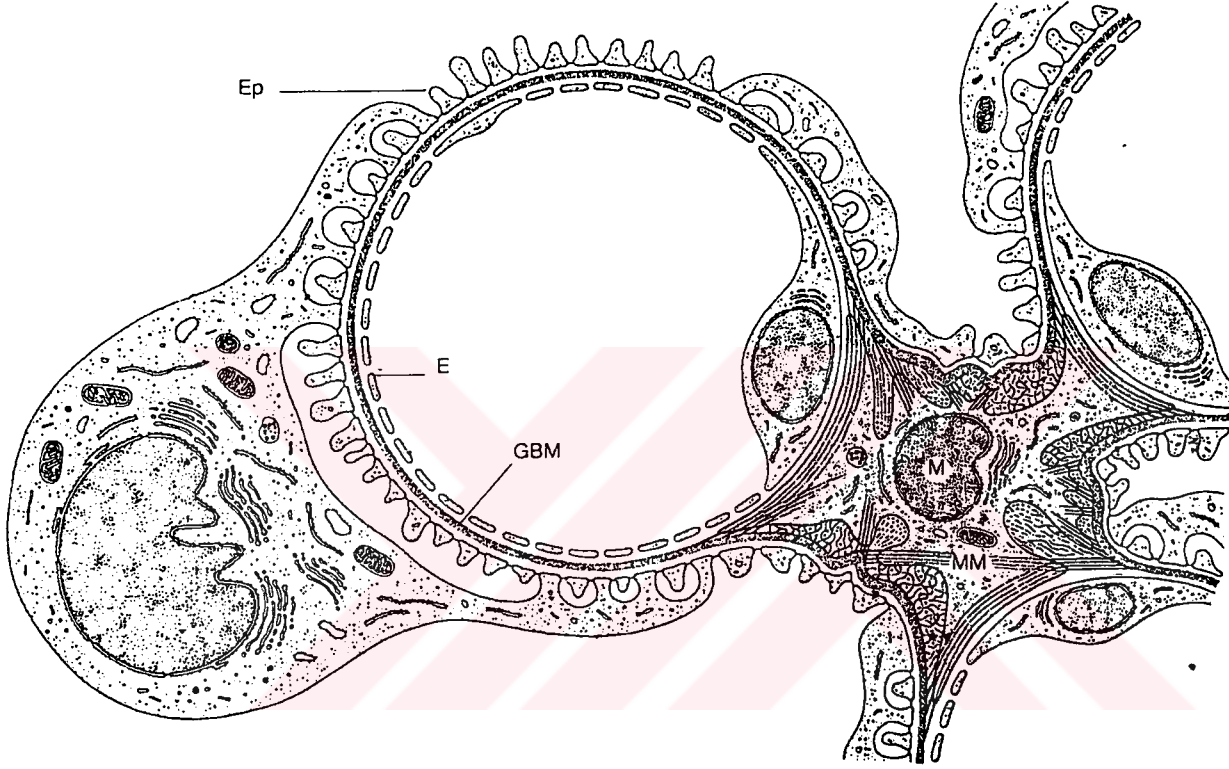
mezangial kanallar içinde süzülür; bu sırada büyük moleküller mezangiumda tutulabilir. Özellikle dolaşan immün kompleksler (IC) sıklıkla bu bölgede dopolanır (10).

"Mezangial Hücreler", GBM'nin iki veya daha fazla kapiller etrafında bir kılıf oluşturduğu bölgelerde yer alarak glomerüler kapillerlere bağlanırlar ve bazen endotel hücreleri ile onları çevreleyen bazal membran arasında uzanırlar. Bu hücreler, olasılıkla kapiller damarlar için destek rolü oynarlar (14). Ayrıca düz kas hücrelerine benzer kontraksiyon özellikleri nedeniyle glomerüler filtrasyonu düzenledikleri bildirilmiştir (10). Bunun yanında, bu hücrelerin, plazmanın filtrasyonu sırasında mezangial matriks içinde biriken partiküllerin temizlenmesinde makrofaj benzeri bir görev yaptıkları da gösterilmiştir (8). Mezangial hücre proliferasyonu glomerulonefritlerin (GN) ortak bir özelliğidir ve kültür ortamındaki mezangial hücrelerde mitojenik etki gösteren ajanlar arasında interlökin-1 (IL-1), tümör nekroz faktörü (TNF), prostaglandin F₂α, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), insulin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), epidermal büyüme faktörü (EGF) bulunmaktadır (10).

Tablo 1: Glomerüler matriks yapısında bulunan moleküller.

Yapı	MA (kDa)	GBM	Mezangial matriks
Klasik kollajen IV [α 1 ve α 2 (IV) zincirleri]	550	+	+
Yeni kollajen IV zincirleri			
α 3 (IV) (Goodpasture antijeni)	25	+	-
α 4 (IV)		+	-
α 5 (IV) (Alport antijeni)	28	+	-
α 6 (IV)		-	-
Kollajen V	450	+	+
Fibronektin	500	+	+
Laminin	1000	+	+
Entaktin/nidojen	150	+	+
Heparan sulfat proteoglikan			
Yüksek dansiteli	130	+	+
Düşük dansiteli	550	+	+
Kondroitin sülfat	130	-	+
Amyloid P komponenti	240	+	+

Uzerindeki lökosit ortak antijeni ve majör histokompatibilite kompleksi (MHC) klas II antijenleri aracılığı ile kemik iliği kaynaklı olduğu belirlenmiş bir fagositik hücrenin, kobayların mezangial bölgesindeki glomerüler hücrelerin %1 ile 2'sini oluşturduğu gösterilmekle beraber, bu hücrenin insan mezangiumunda varlığı henüz kesin değildir (10).

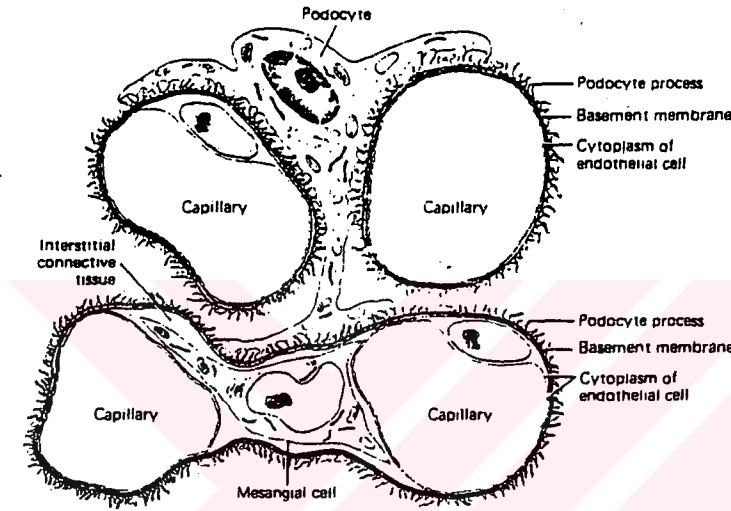


Resim 2: Glomerülün şematik yapısı. Endotel hücresi (E) fenestralı olup, mezangiumu çevreleyen glomerüler bazal membranın (GBM) iç yüzünü kuşatır. GBM'in dış yüzeyi ise epitel hücresi (Ep) ve onun ayaklı çıkıntıları ile çevrilmiştir. Mezangial hücre (M) ise mezangial matriks (MM) içinde gömülmüş olup, kendisini GBM'a bağlayan uzantıları vardır (Kaynak 9'dan alınmıştır).

Glomerüler hasarın patogenezi

Glomerüler hastalıklar nefrolojideki ana problemlerin bir kesimini oluşturur. Kronik GN insanlarda kronik böbrek yetmezliğinin (KBY) en sık sebeplerinden birisidir. Glomerüler hastalıklar, *primer glomerülonefritler* (böbrek etkilenen tek veya hakim organdır) veya *sekonder glomerülonefritler* (böbrek bir takım sistemik hastalıkların seyri sırasında hasar görür) olarak iki ana kategoriye ayrılır.

Primer GN'ler genellikle immünolojik mekanizmalar sonucu ortaya çıkarken, sekonder GN'lerin patogeneğinde immünolojik (SLE), vasküler (hipertansiyon, poliarteritis nodoza), metabolik (diabetes mellitus, amiloidoz) veya herediter (muhtemelen biyokimyasal kaynaklı olan Alport sendromu ve Fabry hastalığı) bozukluklar yer almaktadır.



Resim 3: Glomerüler kapiller ağın ve glomerüler hücrelerin şematik gösterimi (Kaynak 8'den alınmıştır).

Glomerülonefritlerin immünolojik hasara bağlı olarak meydana geldiğini düşündüren kanıtlar vardır. Bunlar: 1) deneysel olarak immünolojik mekanizmalarla oluşturulan GN'ler ile morfolojik ve immünopatolojik benzerlik, 2) GN'li hastaların %70'inden fazlasında, glomerüler immün reaktanların (immünglobulin ve kompleman komponentleri) gösterilmesi, 3) bu hastalıkların bazılarında, serum kompleman sisteminde anormallikler olması ve otoantikörlerin varlığı (anti-GBM antikörleri gibi) (14,15).

Glomerüler hastalıkların patolojisi

Glomerüler hasar bir çok mekanizma ile meydana getirilebilir, ancak glomerülde oluşan histopatolojik değişiklikler sınırlı sayıda ve dört temel doku reaksiyonundan bir veya daha fazlası ile karakterizedir.

Glomerüler hiperselülerite mezangial, endotelial ve parietal hücrelerin proliferasyonuna; nötrofil, monosit ve lenfositlerin infiltrasyonuna; veya bunların her ikisine bağlı olarak ortaya çıkar. Bu bulgu glomerüllerin tümünde (yaygın) veya sadece bir kısmında (fokal) olabileceği gibi, glomerülün tümü (diffüz) veya yalnız bir bölümü (segmental) de etkilenebilir. Proliferasyon genellikle mezangial matriks artışı ile birlikte dir. İmmünfloresan ve elektron mikroskopik çalışmalar proliferasyonun mezangiumda IC birikimine bağlı olduğunu göstermektedir (14,15,16). Bir mezangial alanda, ışık mikroskopunda üçten fazla mezangial hücre görülmesi durumunda mezangial hücre hiperplazisinden söz edilir (9).

Bazal membran kalınlaşması membranın genişliğinde gerçek bir artış (membranöz GN veya diabetik nefropatide olduğu gibi), membrana benzer boyanma özellikleri gösteren IC'lerin endotelial veya epitelial yüzeyde birikimi (SLE'de olduğu gibi) veya mezangial hücrelerin ve matriksin endotel ile membran arasına girmesi ile (tip I MPGN'te olduğu gibi) meydana gelebilir (14,15,16).

Bowman aralığında kresent oluşumu parietal epitelial hücrelerin proliferasyonu sonucunda meydana gelir ve bu bölgede biriken fibrine karşı bir reaksiyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. Yeni oluşmuş kresent içinde fibrin, proliferen olan epitel hücreleri, bu hücrelerin salgıladığı bazal membran benzeri materyal ve glomerüler hasarın oluşumunda rol oynadığı düşünülen makrofajlar bulunur; zamanla bağ dokusunun bu yapının içine girmesi (fibroepitelial kresent) ile ışık mikroskopisinde homojen ve eozinofilik bir görünüm alır (hyalinizasyon). Bu evrede glomerüler yumağın yapısal detayları silinir (skleroz). Skleroz, çeşitli nedenlerle ortaya çıkan glomerüler hasarın son evresidir (14,15).

Glomerüler hasarın immünolojik mekanizmaları

İnsanlarda GN'lerin büyük bir kısmı, immün sistemin aktive olmuş komponentleri aracılığı ile ortaya çıkar (17) (Tablo II). İmmünopatojenik mekanizmalar iki temel kategori altında incelenir. Primer mekanizmalar glomerüler hasarı başlatan olaylar üzerinde odaklanır. Bu primer olaylar nadiren tek başına önemli hasara yol açar. Her ne kadar hücre sel ve humoral immün sistem birlikte hareket etmekte ve son yıllarda, glomerüler hasarın başlatılmasında T hücre aktivasyonuna dayalı hücre sel immün sistemin de rolü olduğu gündeme gelmiş ise de, glomerülopatilerin patogeneğinde en çok suçlanan B hücre aktivasyonu ve antikor üretimine dayanan humoral immün sistemdir. Olası iki temel mekanizma vardır; 1)

antikor, intrinsik (fikse) glomerüler antijenlerle veya glomerüle yerleşmiş moleküllerle in situ reaksiyona girer veya 2) antikor dolaşımdaki serbest antijenlere bağlanır ve bunu takiben oluşan IC glomerüllerde depolanır. Bunlara ek olarak, glomerüler hücre komponentlerine karşı oluşan sitotoksik antikorlara bağlı glomerüler hasar oluşabileceğine yönelik deneysel kanıtlar vardır. Sekonder mekanizmalar ise primer glomerüler saldırıyı takiben, renal hasarı devam ettirmek için oluşan enflamatuvar mediatör sistemini içerir. Bu mediatörlerin bazıları gerçekten önemli bir rol oynarken, diğerleri glomerüler lezyonun gelişimini hızlandırabilir, ancak katılımları mutlaka gerekli değildir. Kritik rol oynayan mediatörler içinde lenfohematopoetik hücreler (polimorfonükleer lökositler, monositler ve trombositler) ve kompleman yolağının aktive komponentleri vardır. Sekonder mediatörler içinde ise lenfohematopetik ve glomerüler hücrelerin ürünleri [sitokinler, büyüme faktörleri, reaktif oksijen metabolitleri, bioaktif lipidler (trombosit aktive edici faktör, eikozanoidler), proteazlar ve vazoaktif maddeler (endotelin ve endotel türevi gevşetici faktör) bulunmaktadır (10,15).

In situ IC oluşumunda rol oynayan antijen, glomerülün normal bir komponenti olabilir. Bunun en bilinen örneği, insan glomerulonefritlerinin % 5 kadarını oluşturan anti glomerüler bazal membran nefritine yol açtığı varsayılan Goodpasture antijendir. Bu antijen, GBM'ın fonksiyonu için kritik önem taşıyan tip IV kollajenin $\alpha 3$ zincirinin non-kollajenöz (NC-1) bölgesidir (15). IgA nefropatisi olan bir hastanın serum ve böbrek dokusundan elde edilen antimezangial antikorlar, mezangial matriks antijenlerinin de immünolojik saldırının hedefi olabileceğini göstermektedir (18). Normal glomerül komponentleri yanında, viral, bakteriyel, parazitik ürünler ve ilaçlar gibi glomerülde tutulmuş antijenler de in situ immün kompleks oluşumunda yer alabilirler. İmmünpatolojik incelemeler, immünglobulin ve kompleman komponentlerinin GBM üzerinde homojen, yaygın ve lineer depolanmasını gösterir (10).

Dolaşan IC hastalığında, antikor genellikle böbrekle ilişkisi olmayan bir antijene karşı üretilir ve ona bağlanır. Bu antijenler, sistemik lupus eritematozus (SLE)'de olduğu gibi endojen kaynaklı veya bazı enfeksiyonları takiben ortaya çıkan GN'lerde olduğu gibi eksojen kaynaklı olabilir. Suçlanan antijenler içinde bakteriyel ürünler (streptokoklar gibi), HBsAg (19,20), HCV RNA (21), çeşitli tümoral antijenler, Treponema pallidum, Plasmodium falciparum, HIV (22) ve diğer bir takım virüsler (23) bulunmaktadır. Dolaşımda oluşan antijen-antikor kompleksleri

glomerüllerde birikir ve kompleman sistemini aktive ederek immünolojik hasara yol açar.

Tablo II: Glomerüler hasarın immün mekanizmaları.

I. Antikor aracılığı ile oluşan hasar.

A. In situ immün kompleks depolanması

1- Fikse intrinsik doku antijenleri

- a) Goodpasture antijeni (anti-GBM nefriti)
- b) Heymann antijeni (membranöz GN)
- c) Mezangial antijenler
- d) Diğerleri

2. Glomerülde tutulmuş antijen

- a) Eksojen (ilaçlar, lektinler, enfeksiyöz ajanlar)
- b) Endojen (DNA, immünglobulinler, immün kompleksler, IgA)

B. Dolaşan immün komplekslerin depolanması

- 1- Endojen antijenler (DNA, tümör antijenleri)
- 2- Eksojen antijenler (enfeksiyöz ürünler)

C. Sitotoksik antikorlar

II. Hücresel immün sistemin yol açtığı hasar

III. Alternatif kompleman yolağının aktivasyonu.

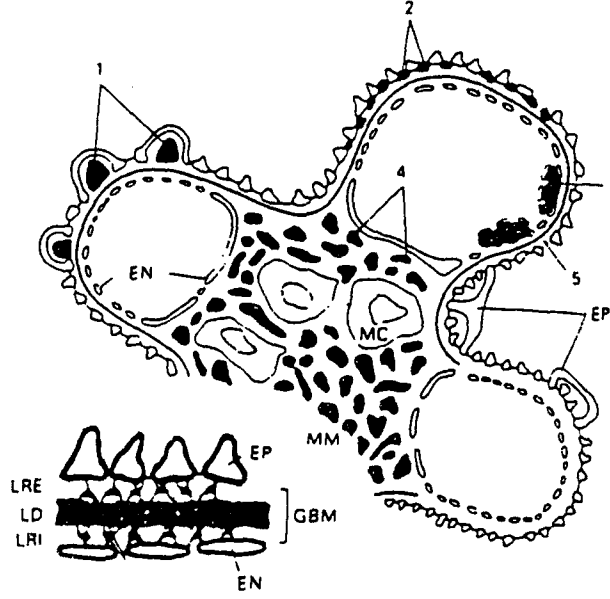
Dolaşımdaki antijen miktarı antikorlardan fazla olduğunda, oluşan kompleksler küçüktür, dolaşımda çözünebilir olarak kalır ve glomerüllerde birikir. Antikorların glomerüler yapılara immünolojik spesifitesi yoktur; kompleksler kendi fizikokimyasal özellikleri ve glomerüle özgü hemodinamik faktörlerin etkisiyle glomerül içinde lokalize olurlar. Çok büyük kompleksler genellikle nefritojenik olamazlar, çünkü GBM'ı geçemezler ve retikuloendotelial sistem (RES) hücreleri tarafından temizlenirler. Çok küçük olanlar ise GBM'ı serbestçe geçer ve burada tutulamazlar. Asıl problem yaratan orta boyutta olanlardır. Kompleksin elektriksel yükü de önemlidir; anyonik olanlar subendotelial alanda birikip ve nefritojenik olamazken, kationik olanlar GBM'ı aşip subepitelial bölgede ve nötral olanlar mezangiumda birikirler. Glomerülün özellikleri (mezangial yakalama, negatif yüklü kapiller duvar,

yük seçici bariyerin bütünlüğü), hidrodinamik güçler ve çeşitli mediatörlerin (anjiotensin II, prostaglandinler gibi) de immün komplekslerin glomerüler yerleşiminde önemli rolleri vardır. İmmünfloresan mikroskopide, glomerüler kapiller duvarda immünglobulin ve kompleman içeren granüler depozitlerin varlığı dikkati çeker. Elektron mikroskopik çalışmalarda ise, bu depozitlerin çoğunlukla mezangial ve subepitelial, daha az sıklıkla da subendotelial bölgede yerleştikleri gösterilmiştir (Resim 4) (10,14,15).

İmmün komplekslerin glomerülde depolanmasını izleyen günlerde, eğer antijen yüklenmesi devam etmiyorsa, dolaşıma yeni antikolar girdikçe antijenemi kaybolur ve GN geriler. Çünkü, böbrekte depolanan IC'ler, çoğunlukla böbreği infiltre eden monositler ve mezangial hücreler tarafından yıkılırlar. Bu tür bir klinik gidiş, olayı başlatan antijen ile karşılaşma süresi kısa ve antijen miktarı sınırlı ise ortaya çıkar (poststreptokoksik GN'te olduğu gibi). Ancak, eğer sürekli bir antijen düşü sağlanırsa, tekrarlayan IC oluşumu, depolanması ve glomerüler hasar döngüsü ortaya çıkar ve ilerleyici GN gelişir (10,14,15).

Glomerüler hücre antijenlerine karşı üretilen antikolar, sıklıkla glomerüler depozit oluşumuna yol açmaksızın, doğrudan hücre hasarına yol açabilirler (*sitotoksik antikolar*). Bu mekanizma, gösterilebilir immün depozitlerin olmadığı bazı GN'lerde rol oynayabilir (10,15).

Hücrel immün reaksiyonların, uyarılmış T lenfositleri aracılığı ile, glomerüler hasara yol açabileceğini gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Bu aslında oldukça ilgi çeken bir savdır, çünkü immün depozitlerin gösterilemediği veya glomerüler hasarın ağırlığı ile depozitler arasında uyum olmayan ilerleyici GN'ler için açıklama getirebilir. Böyle bir mekanizmanın varlığına işaret eden ipuçları arasında, bazı insan ve deneysel GN türlerinde makrofajların ve T hücrelerinin varlığı; ilerleyici insan GN'lerinde değişime uğramış GBM antijenleri ile in vitro karşılaştırıldığında lenfosit reaktivitesinin gösterilmesi; ve deneysel GN'lerde lenfositler aracılığı ile hafif glomerüler histolojik değişikliklerin transfer edilebilmesi sayılabilir (15). Ayrıca, IgAN olgularında, akut glomerüler inflamasyon sırasında, makrofajların glomerülleri infiltre ettiği, mezangial proliferasyon ve ekstrakapiller lezyonların gelişiminde yer aldığı ve nefropatinin ilerlemesini hızlandırdığı bildirilmiştir (3).

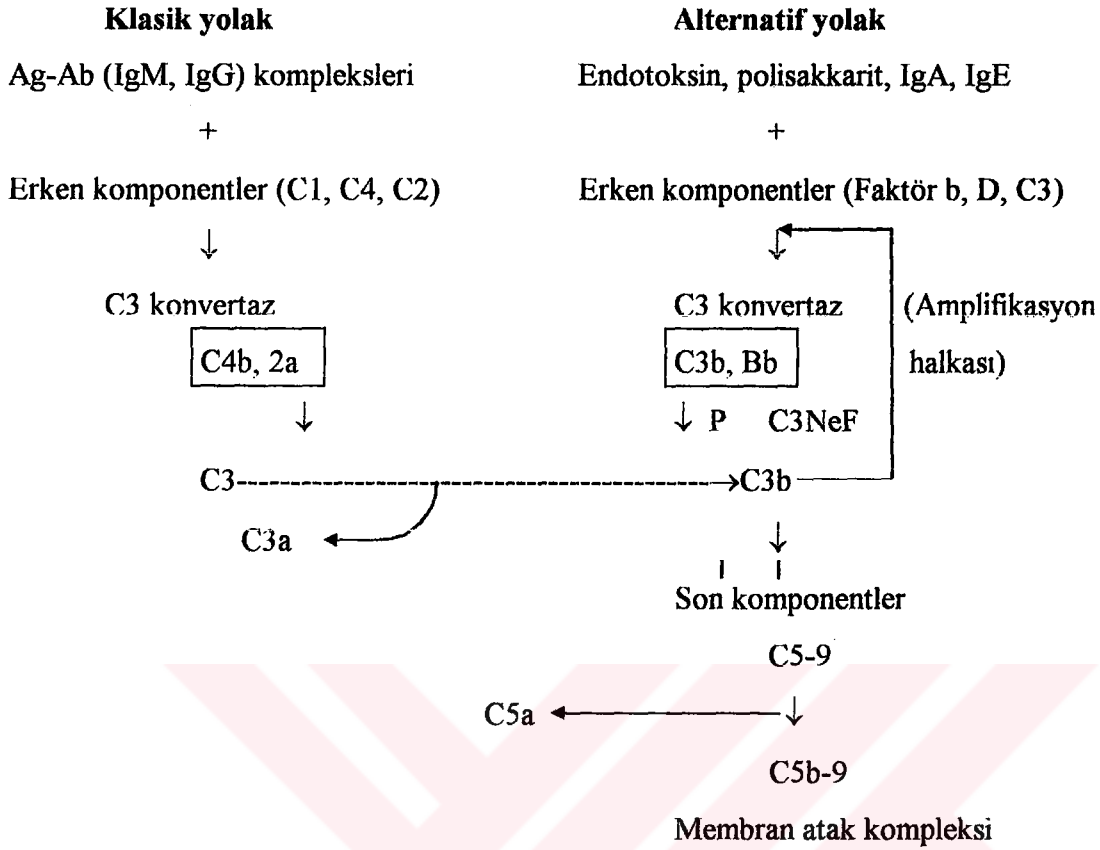


Resim 4: Glomerülde immün komplekslerin lokalizasyonu: (1) Subepitelial tümsekler (Akut GN); (2) epimembranöz birikimler (membranöz ve Heymann GN); (3) subendotelial birikimler (SLE, membranogroliferatif GN); (4) mezangiyaml birikimler (IgA nefropatisi); (5) bazal membran. LRE: Lamina nara eksterna; LRI: lamina rara interna; LD: Lamina densa.

Alternatif kompleman yolağının aktivasyonu membranoproliferatif GN (MPGN) ve bazı proliferatif GN türlerinde (IgA nefropatisi gibi) meydana gelmektedir (14,15,24).

İmmünolojik hasarı izleyen enflamatuvar reaksiyon, bir veya daha fazla biyokimyasal mediatör sisteminin aktivasyonundan kaynaklanır. Bunların en önemlisi kompleman sistemidir. *Kompleman sistemi* iki farklı şekilde aktive olabilir: 1) antijen-antikor IC'leri ile aktive olan klasik yolak, 2) mikroorganizmaların polisakkaritleri, endotoksinler, IgA ve IgE ile aktive olan alternatif veya properdin yolağı. Her iki yolak C3 komponentinde birleşir ve bu noktadan sonra oluşan membran atak kompleksi ile hücre zarının harabiyeti sağlanır (Şekil 1) (10).

Kompleman aktivasyonunun oluşturduğu başlıca etkili ürünler, C3'ün aktivasyonunu takiben açığa çıkan anafilatoksinler (vasküler duvardaki kontraktıl proteinleri uyarır ve vasküler permeabilityyi artırırlar) ile kemotaktik faktörlerdir (C5a ve C3b; nötrofil ve makrofajları kompleman aktivasyon bölgesine çekerler).



Şekil 1: Kompleman yolağı (Kaynak 25'ten alınmıştır).

Koagülasyon sistemi de GN'lerin patogeneğinde yer almaktadır. Koagülasyon sistemi, trombojenik subendotelial tabakanın açığa çıkmasına neden olan endotel hücre hasarını takiben doğrudan aktive olabileceği gibi, kompleman sisteminin uyarılmasına bağlı olarak dolaylı yoldan da aktive olabilir. Bunun sonucunda glomerüler kapiller damarlar içinde veya Bowman aralığında, kresentler içinde fibrin depozitleri oluşabilir. Koagülasyon sisteminin aktivasyonu, kinin sistemini uyararak, kemotaktik ve anafilatoksin benzeri faktörlerin üretimine yol açar (10,14,15).

Glomerüler hasarın diğer mekanizmaları

Bazı primer renal hastalıklarda diğer mekanizmalar da glomerüler hasara yol açabilir. Bunlar arasında üzerinde durulması gereken üç tanesi epitel hücre hasarı, interstisyel inflamasyon ve renal ablasyon glomerülopatisidir.

Epitel hücre hasarı deneysel olarak viseral epitel hücre antijenlerine karşı oluşturulmuş antikörlerle, puromycin aminonükleozid gibi toksinlerle, bazı sitokinler aracılığı ile, veya insanlardaki lipoid nefrozda olduğu gibi bazı bilinmeyen faktörler

aracılığı ile ortaya çıkabilir. Bu hasar, viseral epitel hücrelerindeki morfolojik (ayaksı çıkıntılarının kaybı, vaküolizasyon, hücrelerin GBM'ından ayrılması) ve fonksiyonel (proteinüri) değişiklikler ile karakterizedir.

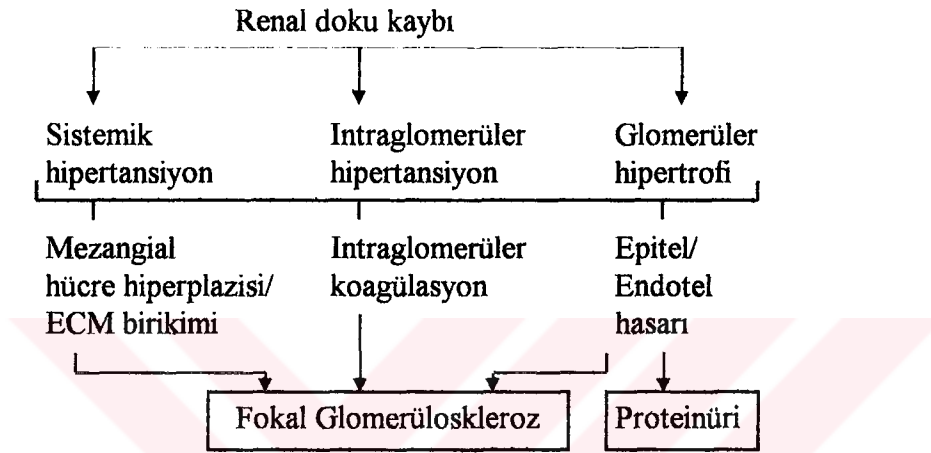
Interstisyel inflamasyon immün gloerülonefritlerin bazı tiplerinde hem akut, hem de ilerleyici renal disfonksiyona katkıda bulunur. Bir çok insan ve deneysel glomerülonefrit modellerinde interstisyumda inflamatuvar hücreler (lenfositler ve makrofajlar) bulunur. Bazı durumlarda (anti-GBM hastalığı gibi) tübüler bazal membranla reaksiyona giren antikorlarla ilişkili olarak interstisyel infiltrasyon olurken, diğerlerinde interstisyel gecikmiş hipersensitivite reaksiyonunu düşündüren bulgular saptanmıştır. Ancak, çoğu durumda bu inflamasyonun mekanizması ve nasıl hasara yol açtığı bilinmemektedir.

Renal ablasyon nefropatisi (RAN) veya glomerüloskleroz ise, herhangi bir nedenden dolayı fonksiyonel nefron kitlesindeki azalmaya bağlı olarak, GFR normalin %30-50'sine düşünce arda kalan nefronlarda ortaya çıkan ve ilerleyici bir özellik gösteren böbrek hasarıdır (22). Her ne kadar glomerüler hipertansiyon ve hipertrofi gibi mekanik faktörler ilerleyici böbrek hasarının başlamasına katkıda bulunursa da, hücre proliferasyonu, makrofaj aktivasyonu ve lokal inflamatuvar mediatörlerin üretimi gibi hücresel olayların söz konusu hasarın ilerlemesinde anahtar rol oynadığı da ifade edilmektedir. Bununla beraber, RAN modelinin nonimmünolojik mekanizmalarla başladığı kabul edilmektedir (26).

Renal ablasyon nefropatisi

Glomerüler veya glomerül dışı herhangi bir renal hastalık GFR'ı normalin %30-50'sine düşürmeye yetecek kadar nefron kaybına yo açtığında, son evre böbrek yetersizliğine gidiş kaçınılmaz olur. Böyle hastalarda proteinüri ortaya çıkar ve böbreklerin histopatolojik incelemesinde yaygın glomerüloskleroz görülür. Bu ilerleyici skleroz, hasta böbreklerdeki kısmen etkilenmemiş glomerüllerindeki adaptif değişiklikler nedeni ile başlar. Bu tür bir mekanizma, deneysel olarak subtotal nefrektomi yöntemi ile renal kitle kaybı oluşturulan sıçanlardaki incelemelerden elde edilen bilgilere dayanılarak ileri sürülmüştür. Kalan glomerüllerdeki kompensatuvar hipertrofi, bu hayvanlarda renal fonksiyonun korunmasına yardımcı olur. Ancak, bu hayvanlarda proteinüri ve glomerüloskleroz ortaya çıkar ve sonunda total glomerüler hyalinizasyon ve üremiye gidiş kaçınılmaz olur. Glomerüler hipertrofi bazı hemodinamik değişikliklerle birlikte olur. Bunlar arasında tek nefron GFR'ında, kan

akımında ve transkapiller basınçta artış ve sıklıkla sistemik hipertansiyon bulunur. Skleroza yol açan bu olaylar silsilesi endotel ve epitel hücre hasarına, glomerüllerde proteinlere geçirgenliğin artmasına, mezangial matrikste protein depolanmasına ve fibrin birikimine yol açar. Bunları takiben mezangial hücrelerin proliferasyonu, mezangial matriks artışı ve glomerüllerde skleroz ortaya çıkar (Şekil 2). Bu son olaylar nefron kitlesinde daha da fazla azalmaya ve böylece bir kısır döngüye yol açar (15).



Şekil 2: Renal ablasyon glomerülosklerozundaki patogenez (ECM: Ekstraselüler matriks).

Ablasyon nefropatisi modeli, ilerleyici böbrek hastalığına yönelik olarak gerçekleştirilen deneysel çalışmaların temelini oluşturmuştur. Araştırmacılar bu modeli unilateral nefrektomiye ek olarak ya diğer böbreğin kısmi infarktı ya da alt ve üst pollelerin amputasyonu yolu ile gerçekleştirmişlerdir. Her ne kadar kronik böbrek hastalığının basit bir modeli de olsa, bir çok özelliği ile diğer modellere ve insan hastalıklarına benzerlikler gösterir. Aynı zamanda, bu modelde araştırılan deneysel tedavi yöntemlerinin, en azından bazı durumlarda, klinik olarak etkinliği de gösterilmiştir. Bu model temel olarak değişik sıçan türlerinde kullanılmış olmakla birlikte, babunlarda, köpeklerde, kedilerde, tavşanlarda ve farelerde de uygulanmıştır (27).

Renal hastalıkların ilerleyici özelliğinin mekanizmaları

Nefron sayısındaki ilk azalmayı takiben, glomerüler basınç ve akımdaki artışa bağlı olarak, kalan nefronlarda da ilerleyici harabiyet meydana gelir. Bu glomerüler kapiller hipertansiyona transglomerüler protein trafiğindeki artış eşlik eder. Bu iki

olayın da, deney hayvanlarında, düşük proteinli diyet ve antihipertansif ilaçlar ile önlenebileceği gösterilmiştir. Glomerüler kapillerlerden süzülen proteinlerin intrinsik renal toksisite gösterdiği, ve hipertansiyon gibi diğer bağımsız risk faktörleri ile beraber, renal hasarın ilerlemesine katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür. Proteinüri ne kadar ağırsa, böbrek yetmezliğine gidiş de o kadar hızlı olmaktadır. Proteinüriye bağlı renal parankimal hasar mekanizmaları şöyle özetlenebilir:

1. Glomerüllerden süzülerek tübüler sıvıya ulaşan plazma proteinleri, büyük oranda proksimal tübül epitel hücreleri tarafından alınır ve lizozomlarda parçalanırlar. Ancak, proksimal tübüllerin kapasitesi sınırlıdır ve artan protein yükü ile organellerde konjesyon, lizozomlarda şişme ve parçalanma meydana gelir. Bunların neticesinde hücre sitoplazması ve interstisyum lizozomal enzimlerin zararlı etkilerine maruz kalır.

2. Proteinürik böbrek hastalıklarında transferrin de kaybedilen proteinlerden biridir. Glomerüllerden süzülen transferrin-demir kompleksi tübüllerden emildiğinde, demirin yol açtığı peroksidasyon ile renal dokuda hasar meydana gelir.

3. Glomerüler filtrata geçen proteinler arasında bulunan insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1; insulin like growth factor-1) tübül hücrelerindeki reseptörleri aracılığı ile mitojenik etki gösterir ve matriks (kollajen I ve IV) yapımını artırır. Öte yandan, IGF-1 dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β ; transforming growth factor- β) reseptörlerini de artırır. TGF- β /TGF- β reseptör sistemi ise ekstraselüler matriks birikimine katkıda bulunur.

4. Hücre içerisinde endoplazmik retikulumda biriken proteinler, muhtemelen nitrik oksit yolu ile, nükleer faktör kappa B (NF κ B) aktivasyonunu artırır. Çekirdeğe giren aktif NF κ B kendi hedef genlerine bağlanarak (sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri gibi), bunların mRNA ve protein sentezini indükler. Monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) de kemokinlerdendir ve monosit/makrofaj ve T lenfositlerini böbrek dokusuna çeker.

5. Sıçanlarda aşırı proteinüriye bağlı olarak kortikal tübüllerde osteopontin mRNA düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Osteopontin bir matriks glikoproteini olup, monositler için güçlü bir kemotaktik aktivite gösterir.

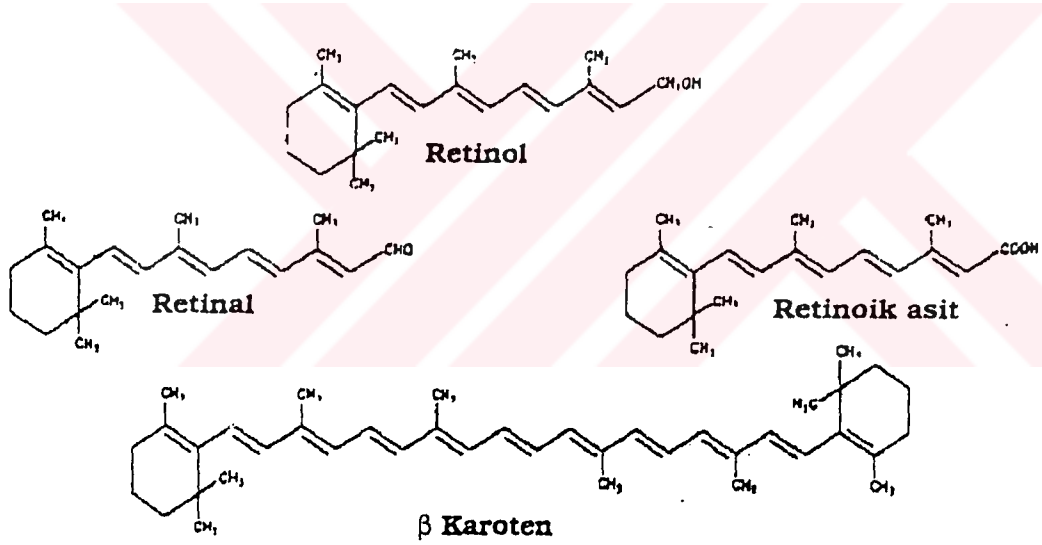
6. Proteinin tübüllerden emilimi ile endotelinlerin sentez artışı arasında bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür. Endotelinler bir vazoaktif peptid ailesidir. Özellikle endotelin 1 (ET-1)'in hastalığın ilerlemesinde önemli rolü olduğu bildirilmektedir. Bu etkisinin

de fibroblastlarda proliferasyon, kollajen sentezinde artış ve monositler üzerindeki kemoatraktan etkisi ile ortaya çıktığı düşünülmektedir.

7. Proteinlerle beraber ultrafiltrata geçen lipid ve lipoproteinlerin tübüler harabiyete yol açtığı gösterilmiştir (28).

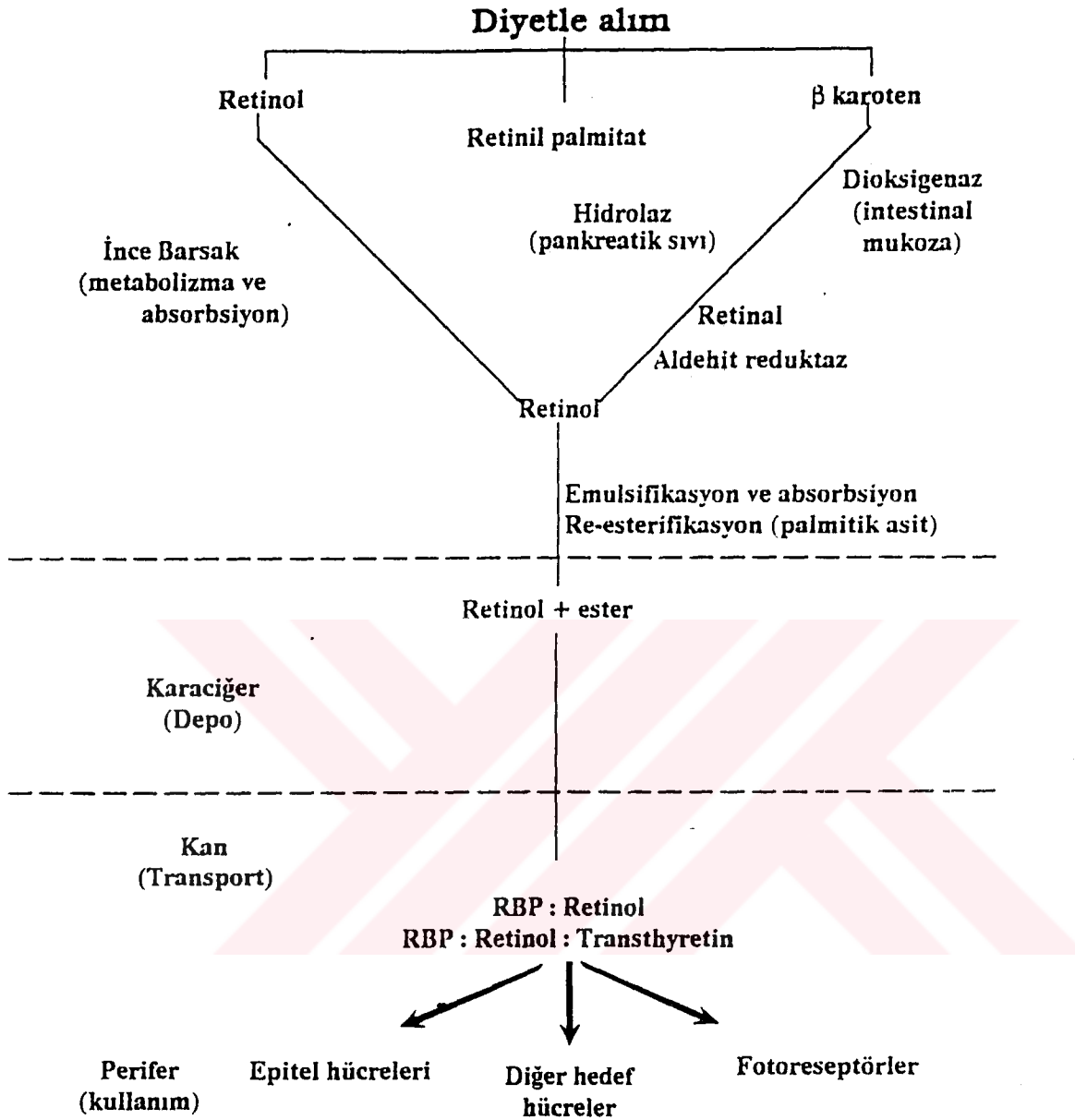
Vitamin A

Vit A'nın temel molekülü *retinoldür* (Şekil 3). Doku ve yiyeceklerde uzun zincirli yağ asitlerine bağlı esterler halinde bulunur. En zengin kaynak karaciğerdir. Bunun dışında, yumurta sarısı ve süt ürünlerinde de bulunur. Barsakta retinole dönüşebilen provitamin A'nın öncü maddesi olan karotenoidlerin biyolojik aktivitesi ve barsaktan emilimleri retinolden daha azdır. Bu nedenle, β -karotenin retinole eşdeğer etkiler gösterebilmesi için yaklaşık sekiz kat daha fazla alınması gerekmektedir (4,29,30).



Şekil 3: Vitamin A ve metabolitlerinin yapısı.

Yiyeceklerle vücuda alınan retinolün %50 ile 90 kadarı ince barsaklardan emilir ve şilomikronlar ile karaciğere taşınır. Karaciğerde primer olarak *retinil palmitat* halinde depolanır. Gerekli zaman *retinol bağlayıcı protein (RBP)*'e bağlı retinol olarak dolaşıma salınır. Retinolün özgül taşıyıcı proteini olan RBP karaciğerde sentezlenir. RBP ve retinol kompleksi, *transthyretin* adı verilen ve yine karaciğerde sentezlenen bir başka proteine de bağlanmaktadır. Dolaşımdaki retinol fotoreseptörler ve epitel doku hücreleri tarafından alınarak değerlendirilir (Şekil 4) (3,30).



Şekil 4: Vitamin A'nın metabolizması (Kaynak 30'dan alınmıştır).

İki aktif metabolitten biri olan *retinal* (retinaldehid), görme pigmentinin aktif maddesidir. *Retinoik asit* ise hücre farklılaşmasının aracı olarak hücre içi iletiminde görev yapar. Hücrelerin yüzeyinde ve çekirdeklerinde, vit A kompleksinin aktif metabolitleri, özellikle de retinoik asit için özel reseptörler vardır (31).

RBP ve transthyretine bağlı olarak karaciğerden salınan retinol, bu özel reseptörleri aracılığı ile hedef hücrelere girer (32). Sitoplazma içinde retinol retinoik aside dönüşür (33). Çekirdeğe giren retinoik asit, buradaki reseptörleri aracılığı ile bazı genlerin aktivasyonunu sağlar (34,35). Bu *retinoik asit reseptörleri* (RAR), bazı özel

hedef genlerin transkripsiyonlarını aktive ederler. RAR'nin değişik izoformları vardır: RAR α , RAR β , RAR γ . Öte yandan, *all-trans retinoik asit* reseptörleri ise *retinoik asit X reseptörleri* (RXR) olarak adlandırılırlar ve bunların da RXR α , RXR β ve RXR γ olmak üzere üç izoformu bulunur (36,37). RAR ve RXR'nin tümü transkripsiyonel aktiviteye sahip özel DNA bağlanma noktaları içerirler. RAR ve RXR'nin bağlandıkları bu özel DNA sıralarına *retinoik asit yanıt elementleri* (retinoic acid response elements; RARE) adı verilir. Vit A ve metabolitleri güçlü birer gen aktivatörü olarak hareket ederler. Retinoidler ile aktiviteleri düzenlenen genlerin sayısı hızla artmaktadır. Retinoik asit tarafından kontrol edilen pek çok gen olmasına karşın, yalnızca bir kaç tane RARE belirlenmiştir (Resim 5) (38).

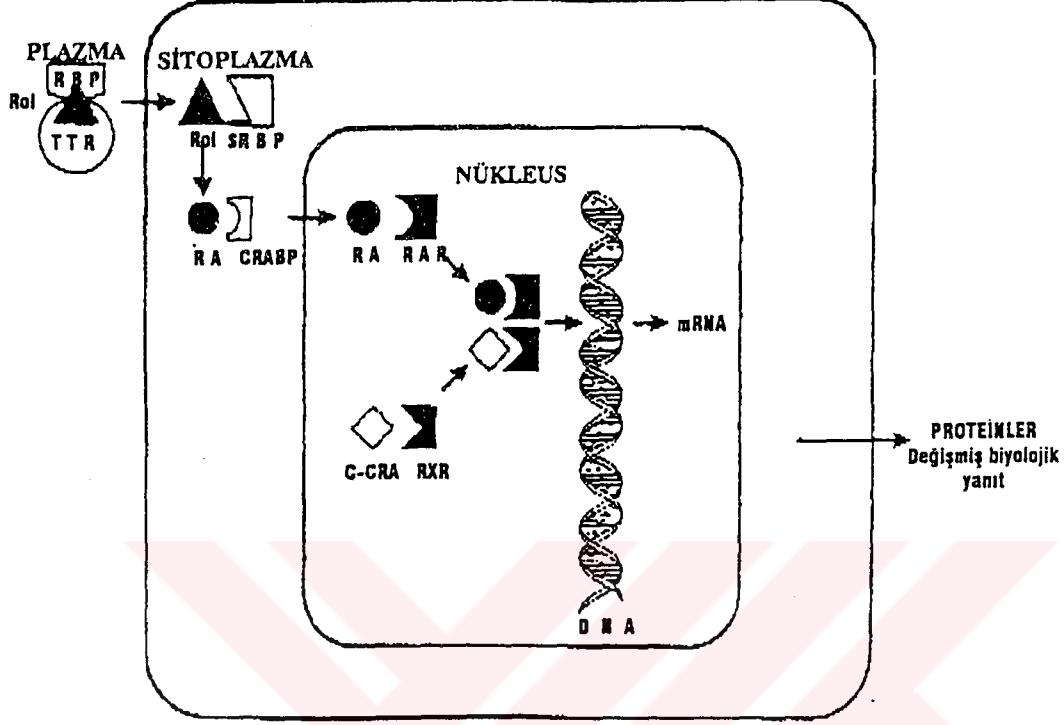
Karaciğer, vit A ve provitamin A karotenoidlerinin diyetle alımındaki değişikliklere karşı önemli bir tampon görevi görür. Vit A'nın yiyeceklerle alınan miktarı gereksinimleri aşarsa, fazlası karaciğerde depolanır. Gerğinden az vit A alındığında ise, serum retinol düzeyini normal sınırlarda tutmak üzere, karaciğerden dolaşıma vit A salınır. Eğer alımdaki yetersizlik uzun sürerse, karaciğer depoları boşalır ve vit A yetmezliğinin klinik bulguları ortaya çıkar (30).

Vit A eksikliğinin en spesifik bulgusu *kseroftalmi*dir ve kolay tanınabilen bir belirtidir. Vit A depolarındaki azalma kseroftalmi ile sonuçlanır. Belirtiler gizli olarak ortaya çıkar. Başlangıçta gözün arka segmenti etkilenir ve sırası ile gece körlüğü, konjunktival kserozis, Bitot lekesi, korneal kserozis, korneal ülserasyon ve keratomalazi ortaya çıkar. Bu belirtiler genellikle serum retinol düzeyi 1 $\mu\text{mol/L}$ 'nin altına düşünce başlar, 0.7 $\mu\text{mol/L}$ 'nin altında belirginleşir ve 0.35 $\mu\text{mol/L}$ 'nin altına düştüğünde ise ağır bir klinik tablo ortaya çıkar (39).

Vit A eksikliği sistemik bir hastalıktır. Yeterli ve dengeli beslenen çocuklarda vit A eksikliğinin gelişme riski düşüktür. Doğumda karaciğerde az miktarda vit A vardır, ancak kolostrumdaki vit A içeriği oldukça yüksek olduğundan karaciğerdeki vit A düzeyi de hızla artar. Anne sütü ve inek sütü yeterli birer vit A kaynaklarıdır (40).

Diyetle yeterli vit A alınamaz ise hastalık belirtileri sıklıkla 2-3 yaşlarında ortaya çıkar. Diyetle alım yetersizliği dışında, kronik barsak hastalıkları, hepatik ve pankreatik hastalıklarda da vit A eksikliği ortaya çıkabilir. Ayrıca, diyetteki yağ oranı düşük ise, vit A'nın emilimi de azalabilir. Öte yandan, düşük proteinli diyetle beslenme

de vit A taşıyıcı proteininde azalmaya yol açarak vit A'nın plazmadaki düzeyini düşürür (4,29,40).



Resim 4: Vitamin A ve metabolitlerinin hedef hücrelerdeki etkileri. Rol: Retinol, RBP: Retinol bağlayıcı protein, TTR: Transthyretin, SRBP: Selüler RBP, RA: Retinoik asit, CRABP: Selüler retinoik asit bağlayıcı protein, RAR: RA reseptörü, RXR: RA X reseptörü, 9-CRA: 9-cis RA (Kaynak 3'ten alınmıştır).

Vit A eksikliği mental ve fiziksel büyümede gerilik ve apati ile sonuçlanır. Anemi ve sıklıkla buna eşlik eden hepatomegali de ortaya çıkabilir. Deri kuru ve pulludur. Folliküler hiperkeratoz, omuz ve dirsek eklemlerinin ekstansör yüzlerinde görülebilir. Vajinal epitelde kornifikasyon, üriner sistemde epitelial metaplazi, pyüri ve hematüri ortaya çıkabilir. İntrakranial basınç artışı, hidrosefali ve kranial sinirlerde paralizi daha nadir bulgulardır (29,40,41). Vit A eksikliğindeki diğer klinik bulgular şunlardır: Epifizyel kemik oluşumunda bozukluk, diş mine defekti, solunum yolları epitelinde metaplazi sonucu bronşial obstrüksiyon, üriner sistemde taş oluşumu.

Kseroftalmi bulgusu henüz ortaya çıkmamış vit A eksikliği genel popülasyonda oldukça sık olarak bildirilmektedir. Ancak, sınırda olan eksikliği ortaya koymak için tipik bir semptom veya laboratuvar testi mevcut değildir. İnsanlarda vit A dengesi

genellikle serum retinol düzeyi 1-1.4 $\mu\text{mol/L}$ 'nin üzerinde olduğunda normaldir. 0.7 $\mu\text{mol/L}$ düzeyi düşük olarak değerlendirilmektedir. 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 'nin altında ise eksiklik söz konusudur. Bununla beraber, 0.7 $\mu\text{mol/L}$ 'nin altında olan tüm bireylerde eksiklik söz konusu olmadığı gibi, 0.7 $\mu\text{mol/L}$ 'in üzerindeki serum değerlerinde de klinik bulgular ortaya çıkabilir (40).

Vitamin A hipervitaminozu, vit A preparatlarının bilinçsiz kullanımı ve diyetteki yüksek vit A miktarları ile birlikte ortaya çıkabilir. Vit A'nın 25.000-50.000 IU/gün veya daha yüksek dozlarda aylarca kullanımı çeşitli yan etkilere yol açabilir. Karaciğer fonksiyonlarını etkileyen ilaçların kullanımı, viral hepatitler, ve protein enerji malnütrisyonunda düşük miktarlarda vit A alımı ile birlikte toksik belirtilerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Bazı ilaçlar veya kimyasal maddeler belirgin şekilde vit A toksisitesini artırabilir. Özellikle çocuklarda 1500 IU/kg/gün ile toksisite ortaya çıkabilir ve hamilelerde 25.000 IU/gün alımı ile anomalili bebekler doğabilir. Yaşa göre günlük vit A gereksinimi değişmektedir (Tablo III) (42).

Tablo III: Çeşitli yaş gruplarında günlük vit A gereksinimi

Yaş	Günlük vit A gereksinimi (IU)
Süt çocuğu (< 12 ay)	1500
< 4 yaş	2500
> 4 yaş ve erişkin	5000
Hamile veya emziren anne	8000

Vit A'nın biyolojik yarı ömrü ve biyoakümülyasyonu uzundur. Hızlı emilim ile yavaş klirens birlikteliğinde, yeterince yüksek dozda alındığında akut toksisiteye, uzun süre küçük dozlarda alındığında kronik toksisiteye neden olabilir. Akut toksisite, yüksek dozlarda alımdan günler veya saatler sonra ortaya çıkar. Kronik toksisite ise, akut toksisiteye neden olmayan az miktarlarda vit A'nın uzun süre alımı ile birlikte aylar veya yıllar sonra ortaya çıkabilir (Tablo IV) (41,42).

β -Karoten

Karotenoidler, yiyeceklerdeki total vit A aktivitesinin önemli bir bölümünü oluştururlar. Doğal karotenoidlerin sayısı 400'den fazladır. Bunların yaklaşık 50 tanesi provitamin A aktivitesine sahiptir ve en yüksek aktivitesi olan da β -karotendir.

Provitamin A karotenoidler, yeşil yapraklı sebzeler ve sarı meyvelerde boldur. β -karotenin toksik olmadığı kabul edilir (4,30,42).

Tablo IV: Çocuklardaki akut ve kronik vitamin A toksisitesi bulguları.

Akut Toksisite Bulguları	
İştahsızlık	Intrakraniyal basınç artışı
Kabarık fontanel	İrritabilite
Uykusuzluk	Kusma
Kronik Toksisite Bulguları	
Alopesi	Dudak kenarlarında fissür
İştahsızlık	Hepatomegali
Kemik ağrısı ve hassasiyeti	Hiperostozis
Kabarık fontanel	Prematür epifizyel kapanma
Kraniotabes	Fotofobi
Pruritus	Pseudotümör serebri
Deride soyulmalar	Eritem

Provitamin A karotenoidler ya oldukları gibi, ya da vit A'ya dönüştürüldükten sonra barsaklarda emilirler. Yiyeceklerdeki karotenoidler genellikle lipoproteinlerle birlikte bulunurlar. Karotenoidler de retinol gibi endositoz yolu ile ince barsak epitel hücrelerince alınırlar (42). Karotenoidlerin emilimi safra tuzları, lipidler, proteinler, anti-oksidanlar ve çinkonun varlığında artar. Bununla beraber, yaklaşık %25-75'i değişikliğe uğramadan dışkı ile atılır (43). Karotenoidler yüksek miktarlarda alındığında bile idrarla atılmazlar (44). β -karoten yağ dokusunda depolanır ve çoğu organda bulunur. Bunlar arasında epidermal ve dermal tabaka, trombositler ve lökositler vardır (45).

Vit A'nın 1 IU'si 0.3 μ g retinol ve 0.6 μ g β -karotene eşittir. β -karotenin retinole enzimatik dönüşümü teorik olarak kantitatifdir. Retinolün tamamı emilirken, β -karotenin yaklaşık yarısı emilir. Diğer karotenoidler (α -karoten ve kriptoksantin) β -karotenin yarısı kadar aktiviteye sahiptir (30).

β -karotenin fonksiyonları tümüyle bilinmemekle birlikte, yüksek düzeyde β -karoten tüketimi ile kanser insidansı arasında önemli negatif bir ilişki olduğu ileri sürülmüş ve β -karoten ile ilgili araştırmaların artmasına yol açmıştır. Son yıllarda yapılan farklı çalışmalarda, β -karotenin özellikle akciğer ve mide kanserine karşı koruyucu etkisinin olduğu ve immün cevabı arttırdığı ileri sürülmektedir. Mide ve özafagus kanseri insidansı ile mortalitenin incelendiği bir çalışmada denenen dört değişik diyet uygulamasında, plaseboya karşı koruyuculuğu önemli düzeyde olan tek diyetin β -karoten, vitamin E ve selenyum eklenmiş diyet olduğu rapor edilmiştir. Ancak tek başına β -karotenin etkin olup olamayacağı anlaşılamamıştır. Nitekim, bunun aksini savunan çalışmalar da bulunmaktadır (4,42).

Karotenoidlerin koruyucu etkisi ile ilgili olası mekanizma anti-oksidan aktiviteleridir. β -karotenin söz konusu aktivitesi ile, endojen olarak veya başka nedenlerle oluşan oksidanların (serbest radikaller) yıkımında önemli rol aldığı bildirilmektedir. β -karoten hücre membranları ve dokuların yıkımını başlatan radikalleri inaktive edebilmektedir (4,42).

β -karotenin toksisitesi: β -karoten, özellikle eşit miktarlarda vit A ile karşılaştırıldığında, insanlar için diyetin güvenilir bir parçası olduğu düşünülebilir. β -karoten, genetik bir hastalık olan eritropoietik porfiride 20-180 mg/gün dozlarında başarı ile kullanılmış ve yüksek miktarlarda alımı ile herhangi bir toksik etkinin oluşmadığı bildirilmiştir. Ayrıca, bu hastalarda serum vit A düzeyinde yükselme de görülmemiştir. Buna yönelik olarak yapılan bir çalışmada, gönüllüler 180 mg/gün β -karoten 10 hafta süre ile verildiğinde vit A toksisitesinin herhangi bir belirtisinin ortaya çıkmadığı ifade edilmiştir (46,47).

Vitamin A ve Enfeksiyon

1913'te keşfedilen vit A'nın büyümeyi sağlayan bir vitamin olduğu bilinmesine karşın, ilk defa Green ve Mellanby hayvan çalışmalarına dayanarak vit A'nın antienfektif bir ajan olduğunu göstermişlerdir (48). Bundan dört yıl sonra Ellison, kızamık nedeni ile hospitalize edilen 600 İngiliz çocuk üzerinde yaptığı kontrollü çalışmada, balık yağının mortaliteyi %58 oranında azalttığını saptadı. Ancak, vit A'nın kseroftalmik körlüğü önlemedeki başarısı antienfektif rolünü gölgeledi (3,4,49,50).

Son 20-30 yılda, vit A eksikliğinin kseroftalmi ve körlüğe neden olduğu çeşitli toplumlarda, okul öncesi çocuklara vit A desteği verildiğinde, enfeksiyon hastalıklarına

bağlı mortalitenin azaldığı görüldü. Aralıklı yüksek doz vit A tedavisi sonucu mortalitenin azaldığı tespit edildiğinde, değerlendirme kriteri olarak mortalite oranı dikkate alınmaya başlandı. Özellikle yüksek riskli bölgelerde vit A eksikliğinin körlükten daha çok ölüme yol açtığı dikkati çekti (4,51). Mortalite oranı dikkate alınarak yapılan çift kör, kontrollü çalışmaların ilki Endonezya'da Aech çalışma grubu tarafından 1980'lerde yapıldı ve sonuçta vit A ilavesi yapılan çocuklarda, başka bir nedene bağlanamayan ölümlerde %27 oranında azalma gözlemlendi. Bu türde yapılan sekiz çalışmadan yalnızca ikisinde vit A'nın mortaliteye etkisi olmadığı ortaya çıktı (52-58).

Gelişmekte olan ülkelerin çoğunda, vit A eksikliği önemli bir halk sağlığı sorunudur. On milyon çocukta vit A eksikliğine ait göz bulgularına rastlanırken, yüz milyon çocukta subklinik vit A eksikliği ortaya çıkmıştır (51).

Vit A eksikliği sistemik bir hastalıktır ve vücuttaki bütün organları ve hücreleri etkiler. Vit A bütün vücuttaki epitel dokunun bütünlüğünün sağlanmasında gereklidir. Epitel yapısındaki değişiklikler *keratinizan metaplazi* olarak isimlendirilir. Respiratuar, intestinal ve üriner sistem epitelindeki keratinizan metaplazi, muhtemelen hastalığın erken döneminde, hatta klinik olarak saptanabilen değişikliklerden önce ortaya çıkar. Fakat, bu nonoküler değişiklikler sıklıkla gözden kaçarak, klinik tanıda değerlendirilememektedir (39).

Akut vit A eksikliği çoğunlukla yeterli beslenemeyen çocuklarda görülmektedir. Bu çocukların hepatik vit A depoları, enfeksiyona yakalandıklarında çok az veya hiç yoktur. Benzer bir durum, kızamık ve diğer akut hastalıklarda olduğu gibi karaciğerden vit A mobilize eden prealbumin ve RBP gibi proteinlerin azalmasına bağlı olarak ortaya çıkabilir. Sonuçta serum vit A düzeyi düşmekte ve epiteliyal yüzeydeki rejenerasyon bozulmaktadır (59).

Vit A'nın kızamık komplikasyonlarını ve ölüm oranını azalttığını öne süren pek çok yayın bulunmaktadır (60-62). Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve UNICEF vit A eksikliğinin yaygın olduğu veya kızamık mortalitesinin yüksek bulunduğu toplumlarda vit A desteği önermektedir (59).

Son yıllarda Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmalar, iyi beslenmiş kızamıklı çocuklarda da düşük serum vit A düzeyi saptandığına ve bunun hastalığın daha şiddetli seyretmesine yol açtığına dikkat çekilmektedir (63,64).

Kızamık muhtemelen vit A'nın kullanımını arttırmakta ve sınırda vit A deposu olan çocuklarda, akut vit A eksikliğine yol açmaktadır. Bu da göz bulgularına, solunum ve gastrointestinal sistemin enfeksiyonlarından ölüme neden olabilmektedir (61).

Çocuklar aynı zamanda gastrointestinal sistem enfeksiyonlarına sekonder olarak, vit A eksikliği için risk altındadırlar. Söz konusu risk, bozulmuş vit A emilimine bağlı olabilir. Çin'de yapılan bir çalışmada, diyareye karşı belirgin bir yarar sağladığı öne sürülürken (65), Haiti'de yapılan diğer bir çalışmada ise vit A'nın diyareyi önlemede etkili olmadığı gözlenmiştir (66). Ülkemizde çocuk sağlığı açısından vit A durumunu inceleyen az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bunlardan birisinde, Ankara yakınlarında yaşayan ve tekrarlayan alt solunum yolu enfeksiyonu, tekrarlayan ishal ve/veya malnütrisyonu olan, yaşları 6 ay ile 6 yaş arasında değişen 107 çocukta serum vit A düzeyleri karşılaştırılmıştır. Klinik bulgu veren vit A eksikliği saptanmamasına karşın, çocukların %60.7'sinde serum vit A düzeyinin düşük düzeyde, %3.7'sinde ise eksiklik düzeyinde olduğu bulunmuştur. Yalnızca malnütrisyonu olan çocukların ise %10'unda serum vit A düzeyinin eksiklik seviyesinde olduğu görülmüştür. Bunun sonucunda, sublinik vit A eksikliğinin halk sağlığı açısından önemli olduğu ve ülkemizde en azından risk gruplarında vit A desteğine gereksinim bulunduğu ifade edilmiştir (67). Pek çok çalışma, hem gastrointestinal sistem, hem de solunum sistemi enfeksiyonlarının vit A eksikliğinden etkilenmediğini, ancak vit A desteğinin, hastalığın ilerlemesini sınırlandırabileceğini göstermektedir (68).

Çoğu enfeksiyon hastalıkları akut faz reaksiyonunu harekete geçirerek karaciğerde RBP sentezini azaltır ve böylece dolaşan retinol düzeylerini düşürür. Bu vit A depolarının tükendiği anlamına gelmez. Ancak, sonuçta vit A'nın depolandığı yerden hedef dokulara ulaşması engellenir (69).

Vitamin A eksikliğinin enfeksiyon hastalıklarına bağlı morbidite ve mortaliteyi arttırdığına yönelik yayınlara karşın, immün modülasyonundaki rolü ile ilgili mekanizma henüz tam olarak bilinmemektedir. 1920'lerde vit A eksikliğinde solunum, gastrointestinal ve üriner sistem epitelinde meydana gelen goblet hücrelerinde ve mukus üretiminde azalma ile birlikte bulunan keratinizan metaplazi biliniyordu (70). Daha sonraları, vit A eksikliği olan çocukların tükürüğünde IgA eksikliği olduğu saptandı (71). Böylece, mukozal immünitenin, yani vücudun immünolojik savunmasının ilk basamaklarının vit A eksikliğinde bozulduğu belirlendi.

Vit A eksikliği lenfoid sistemde patolojik değişikliklere neden olur. 1930'larda vit A eksikliği ile ölen çocuklarda dalak, timus ve diğer lenfoid dokularda atrofi olduğu görülmüştür. Bu eksiklik T hücre alt grubundaki değişimlerle ilgili bulunmuştur (72). Randomize çift kör plasebo kontrollü çalışmalarda vit A eksikliğini T hücre alt gruplarının anomalileri ile birlikte olduğu ve vit A suplementasyonu ile düzeldiği gösterilmiştir (73). Aynı araştırmacılar, vit A eksikliği olan çocukların, vit A desteği alan çocuklardan daha az IgG yanıtı verdiğini gözlemişlerdir (74). Başka bir araştırmada, vit A eksikliğini lenf düğümlerinde CD4 hücrelerin azalmasına neden olduğu ve timus, dalak ve lenf düğümlerinde atrofiye yol açtığı bildirilmiştir (75). Farelerde yapılan bir çalışmada, vit A eksikliği olan farelerde protein yapısındaki antijenlere karşı IgG yanıtında azalma olduğu ve bunun yardımcı T hücrelerindeki bir bozukluktan meydana geldiği rapor edilmiştir (76). Kızamıklı çocuklarda vit A tedavisinin spesifik IgG yanıtını ve total lenfosit sayısını artırarak morbiditeyi azalttığı gösterilmiştir (77). Kızamıklı 89 çocuk üzerinde yapılan bir başka çalışmada da, vit A düzeyi düşük olan grupta özgül kızamık antikorları düşük bulunmuştur (78).

Bu çalışmalar, aşılama sırasında vit A uygulaması ile, kızamık aşısının koruyuculuğunun artırılabilceğini düşündürmüştür ve son zamanlarda, gelişmekte olan ülkelerde, kızamık aşılması sırasında 100.000 IU vit A verilmesi önerilmeye başlanmıştır. Ancak, 1995 yılında yapılan bir araştırmada, 6. ayda aşılama ile birlikte verilen vit A'nın, maternal antikor olan sütçocuklarında serokonversiyonu önlediği saptanmıştır (78).

Vit A eksikliğini sorun olduğu bölgelerde, yeterli vit A desteğinin çocukluk çağında sağlanması gerekmektedir. DSÖ, besinlerle yeterli vit A alınmasını sağlayacak yaklaşımlar önermekle birlikte, bazı durumlarda çocuklara altı aylık periyotlarda vit A kapsüllerinin verilmesini önermektedir (79).

Sonuç olarak, vit A'nın bağışıklık sistemi için gerekli olduğu, epidemiyolojik gözlemler, in vitro çalışmalar, klinik denemeler ve hayvan modelleri üzerinde yapılan deneyler ile kanıtlanmıştır. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda altı tane kanıt bulunmuştur:

1. Enfeksiyon hastalıkları, vit A eksikliği ile birlikte dir.
2. Vit A eksikliği, enfeksiyon hastalıklarından ileri gelen mortalite ve morbiditeyi arttırmaktadır.
3. İnsanlarda vit A eksikliğinde spesifik immün değişiklikler meydana gelir.

4. Vit A ve metabolitleri, T ve B hücre fonksiyonları için gereklidir.
5. Vit A suplemantasyonu insanlardaki immüniteyi artırır.
6. Vit A suplemantasyonu, enfeksiyon hastalıklarındaki morbiditeyi azaltır.

Bu genel gözlemler, vit A'nın immünite ve enfeksiyona dirençlilikte önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Vit A eksikliğinin mukozal yüzeylerde patolojik değişiklikler, protein antijenlerine karşı yetersiz antikor cevabı, lenfosit alt gruplarında değişiklikler, T ve B hücre fonksiyonlarında bozulma dahil immünitede yaygın değişikliklerle karakterize immün yetmezlik hastalığı olduğu ileri sürülmektedir (3).

Vitamin A ve Üriner Sistem

Vit A, bütün vücuttaki normal epitel dokunun bütünlüğü için gereklidir. Vit A eksikliğinde, mukozalardaki epitel skuamöz metaplaziye uğrar. Epitel dokudaki metaplazi yalnızca gözlerle sınırlı değildir; deri, solunum, gastrointestinal sistem ve ürogenital sistemi de ilgilendirir. Histopatolojik olarak, epitelin mukus salgılayan tabakasında atrofi ve keratinize yapılar dikkati çeker (80-83).

Vit A eksikliğinin erişkinlerdeki sık belirtisi derideki folliküler hiperkeratoz iken, çocuklarda üriner, respiratuar ve gastrointestinal sisteme ait epitel doku değişiklikleri daha sıktır. Vit A eksikliğinde, mukozalardaki keratinizasyon, mikroorganizmaların kolonizasyonuna neden olur (83).

Vit A eksikliğinin epitel dokuda meydana getirdiği değişikliklerin üriner sistemde taş oluşumuna da yol açabileceği ileri sürülmektedir. İlk defa Block, vit A eksikliğinin, çocuklarda idrar yolu enfeksiyonlarına neden olduğunu bildirmiştir (84). Brown ise, vit A verilmesi ile İYE'da azalma olduğunu ileri sürmüştür (85). Kavukçu ve arkadaşları ise, tekrarlayan İYE olan ve sintigrafik olarak renal skarı olduğu saptanan çocuklarda yaptıkları araştırmada, renal skarın şiddetinin serum vit A düzeyi ile ters bir ilişki gösterdiğini bildirmişlerdir (1). Öte yandan, deneysel olarak pyelonefrit oluşturulan sıçanlarda yapılan bir çalışmada da, vit A desteği yapılan sıçanlarda renal skarın şiddetinin azaldığı gösterilmiştir (2). Ülkemizde yapılan bir başka çalışmada da, sık tekrarlayan İYE olan çocuklara tek doz 200.000 IU vit A desteği yapıldığında, enfeksiyonların sıklığının azaldığı bildirilmiştir (86).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onay alındıktan sonra başlatıldı.

Deney Hayvanlarının Seçimi

Çalışma, her biri sekiz haftalık ve ortalama ağırlıkları 150-200 g olan 32 adet dişi Wistar türü sıçan (jenerasyon F5; homojenite %87.5) ile gerçekleştirildi. Sıçanlar çalışma süresince oda ısısında ve 12'şer saatlik gün ışığı/karanlık ortamında tutulup, standart sıçan yemi ile beslendi ve suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı.

Grupların Oluşturulması

Çalışmanın başlangıcında, kontrol grubu (n=4) sıçanlarına sham operasyonu uygulanırken, diğer sıçanlara subtotal (5/6) nefrektomi yapıldı (6). Daha sonra, her biri 7 sıçan içeren dört çalışma grubu oluşturuldu. Kontrol grubu ve birinci gruptaki sıçanlara vit A uygulaması yapılmaz iken, ikinci, üçüncü ve dördüncü gruptaki sıçanlara sırası ile 60, 120 ve .180 kIU vit A enteral yoldan, bölünmüş dozlar halinde verildi (Tablo V).

Tablo V: Sıçanlara uygulanan tedavi modelleri.

Grup	5/6 Nefrektomi ¹	Vitamin A dozu (kIU) ²
Kontrol	-	-
I	+	-
II	+	60
III	+	120
IV	+	180

- 1 Sağ total nefrektomi ve biri haricinde sol renal arterin ekstrarenal dallarının bağlanması yolu ile yapıldı.
- 2 Enteral yoldan 6F beslenme sondası ile bölünmüş dozlarda (haftada bir kez 30 kIU) verildi. Dolayısı ile, II., III. ve IV. gruplara çalışma boyunca sırası ile 2, 4 ve 6 doz vit A verildi.

Nefrektomi

Tüm sıçanlar ketamin anestezisi altında iken orta hattan yapılan insizyon ile batın açıldı ve her iki böbrek açığa çıkarıldı. Sağ böbrek arter, ven ve üreteri bağlandıktan sonra tamamen çıkarılırken, sol böbrekte renal arterin ekstrarenal dallarından bir tanesi dışındaki tüm dalları bağlanarak yaklaşık 2/3 veya 3/4 oranında iskemi oluşturuldu. Kontrol grubundaki sıçanlara ise sham operasyonu (batın açılıp, böbrekler açığa çıkarıldıktan sonra renal pediküllerin manipülasyonu) uygulandı. Daha sonra insizyon bölgesi dikilerek kapatıldı.

Vit A Uygulaması

Her biri 30.000 IU vit A içeren yumuşak kapsüllerin (Avicap, Koçak İlaç Fabrikası A.Ş., Üsküdar, İstanbul) içeriği enjektör ile çekilerek, her bir sıçana bir defada 30.000 IU olmak üzere, haftada bir kez 6F nazogastrik kateter aracılığı ile enteral yoldan (doğrudan mideye) verildi. Bu işlem ikinci gruptakilere 2 kez, üçüncü gruptakilere 4 ve dördüncü gruptakilere 6 kez tekrarlandı.

Serum Vit A, β -karoten ve Kreatinin Düzeylerinin Ölçülmesi

Tüm sıçanlar altı haftalık bekleme süresinin sonunda ketamin anestezisi ile uyutulup, önce aorta veya sol renal ven kullanılarak ortalama 5 cc kan elde edildi. Daha sonra hayvanların kalan kısmen skarlaşmış böbrek dokuları (kontrol grubundakilerin sol böbrekleri) çıkarılarak histopatolojik inceleme yapılmak üzere %10'luk formalin solüsyonunda saklandı.

Serum vit A ve β -karoten düzeyleri Neeld-Pearson yöntemi ile ölçüldü (87). Buna göre: 1) 2 mL serum cam kapaklı tüplere kondu, 2) üzerine önce 2 mL %95'lik etanol, sonra 3 mL petroleum eter ilave edildi ve kuvvetle çalkalanarak 3 dakika santrifüj edildi, 3) üst kısımdaki petroleum eter kısmından 2 mL spektrofotometrenin küvetine aktarıldı ve 450 nm'de petroleum eter körüne karşı optik dansitesi okundu, 4) küvet spektrofotometreden çıkarılarak, petroleum eter 30-40°C su banyosunda evaporasyona bırakıldı, 5) tüpün içinde kalan rezidüel kısım 0.1 mL kloroform + 0.1 mL asetik anhidrid içine alındı, 6) küvet tekrar spektrofotometredeki yerine yerleştirilerek üzerine 1 mL prefluoroasetik asit reagenti ilave edildi ve 30 sn içinde 620 nm'de optik dansitesi okundu. Daha sonra aşağıdaki formüller ile mg/dL olarak serum vit A ve β -karoten düzeyleri hesaplandı: $[OD_{620} - (OD_{450} \times 0.300)] \times 337 = \text{mg/dL vit}$

A ve $OD_{450} \times 1020 = \text{mg/dL } \beta\text{-karoten}$. Serum kreatinin düzeyleri ise rutin laboratuvar yöntemleri kullanılarak ölçüldü.

Histopatolojik İnceleme

Her bir sıçanın formalinde fikse edilmiş böbrekleri, olguların içinde oldukları grubun özelliklerini bilmeyen bir patolog tarafından, makroskopik ve mikroskopik olarak incelendi. Böbreklerin tümünde boyutlar belirlenip, dış görünüşleri kaydedildikten sonra, böbrek kapsülü soyuldu ve her bir böbrek korteksten medullaya doğru üç kesit alınarak değerlendirildi. En fazla lezyon izlenen ve tüm yüzeyi içeren bir veya iki kesit mikroskopik inceleme için ayrıldı. Ancak, bu işlem yapılırken, renal arter dallarının bağlanması sekonder olarak gelişen iskemik alanlardan uzaktaki kesitler dikkate alındı.

Rutin histopatolojik değerlendirme için her böbrekten 3 mikron kalınlığında üçer kesit lamlara alınarak Hematoxylin&Eosin (HE), Periodic Acid Schiff (PAS) ve Masson Trichrome (MT) yöntemleri ile boyandı ve ışık mikroskopik olarak incelendi.

Tübulointerstisyel değişikliklerin göstergesi olarak inflamasyon, tübüler atrofi ve interstisyel fibrozis değerlendirmeye alındı. Kortikal ve medüller alanda izlenen tübüler atrofi, interstisyel fibrozis ve inflamasyon, Pirani ve Salinas-Madrigal'in yöntemi modifiye edilerek (88), semikantitatif olarak skorlandı: "0" (normal), "1" (hafif; renal dokunun %40'ından azında), "2" (orta; %40 ile 70 arasında), "3" (şiddetli; %70'in üstünde). Her bir sıçan için bu üç parametrenin toplam değeri "tübulointerstisyel skor (TIS)" olarak kabul edildi.

Tübulointerstisyel değişikliklere ek olarak, glomerüoskleroz skorlaması da yapıldı. Glomerüler sklerozun şiddeti, sklerotik hasarın yaygınlığına göre her bir glomerüle bir skor verilerek belirlendi: "0": sağlam glomerül, "1": glomerül alanının %20 veya daha azını kaplayan hasar, "2": glomerül alanının %21-40'ını kaplayan hasar, "3": glomerül alanının %41-60'ını kaplayan hasar, "4": glomerül alanının %61-80'ini kaplayan hasar ve "5": glomerül alanının %80'inden fazlasını kaplayan hasar (6). Her bir sıçan için 100 glomerül sayıldı ve yine her bir sıçan için "ortalama glomerüoskleroz skoru (OGS)" ve "şiddetli glomerüoskleroz yüzdesi (ŞGY)" hesaplandı. OGS hesaplanırken, tüm glomerüllerin skleroz puanlarının toplamı 100'e bölündü (aritmetik ortalama). ŞGY ise, skleroz puanı 3, 4 ve 5 olan glomerüllerin sayısının toplam glomerül sayısına (100) oranı alınarak bulundu.

İstatistiksel Değerlendirme

Grupların ortalama serum kreatinin, vit A ve β -karoten düzeylerinin ve OGS, ŞGY ve TIS skorlarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Serum vit A ve β -karoten düzeyleri ile OGS, ŞGY ve TIS skorlarının korelasyonu araştırılırken, her bir grup için Spearman ve tüm sıçanlar için Pearson korelasyon analizi teknikleri kullanıldı.

BULGULAR

Serum Kreatinin, Vit A ve β -karoten Düzeyleri

Tüm gruplardaki sıçanların ayrı ayrı ve grupların ortalama serum kreatinin, vit A ve β -karoten düzeyleri Tablo VI, VII, VIII ve Şekil 5'te gösterilmiştir.

Tablo VI: Sıçanların serum kreatinin düzeyleri.

Sıçan No.	Serum Kreatinin Düzeyi ^a (mg/dl)				
	Kontrol ^b	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
1	0.5	0.7	0.7	0.9	0.9
2	0.4	0.9	0.6	0.8	0.8
3	0.5	0.8	0.6	0.6	0.8
4	0.4	0.9	0.7	1.1	0.9
5		0.6	1.1	0.9	0.8
6		0.6	0.9	1.0	1.5
7		0.7	1.0	0.8	0.8
Ortalama	0.45 ± 0.06	0.74 ± 0.13	0.80 ± 0.20	0.87 ± 0.16	0.93 ± 0.26

a Kontrol grubunda, çalışma gruplarına göre anlamlı düşük ($p < 0.05$); çalışma grupları arasında fark yok, **b** Kontrol grubu 4 sıçandan oluşmaktadır.

Serum kreatinin değerleri kontrol grubuna oranla tüm çalışma gruplarında anlamlı derecede yüksek olarak belirlendi ($p < 0.05$). Ancak, çalışma grupları arasında serum kreatinin değerleri farklı değildi ($p > 0.05$).

Tablo VII: Sıçanların serum vit A düzeyleri.

Sıçan No.	Serum Vitamin A Düzeyi ^a (µg/dl)				
	Kontrol ^b	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
1	54.59	57.30	58.60	63.30	114.2
2	56.59	51.50	63.00	69.40	71.27
3	56.27	57.90	59.50	67.00	113.2
4	54.90	58.60	58.60	63.60	69.70
5		52.50	61.30	69.65	97.00
6		58.03	60.60	67.00	72.40
7		58.60	59.00	66.00	75.65
Ortalama	55.61±0.99	56.35±3.02	60.09±1.64	66.56±2.51	87.62±20.1

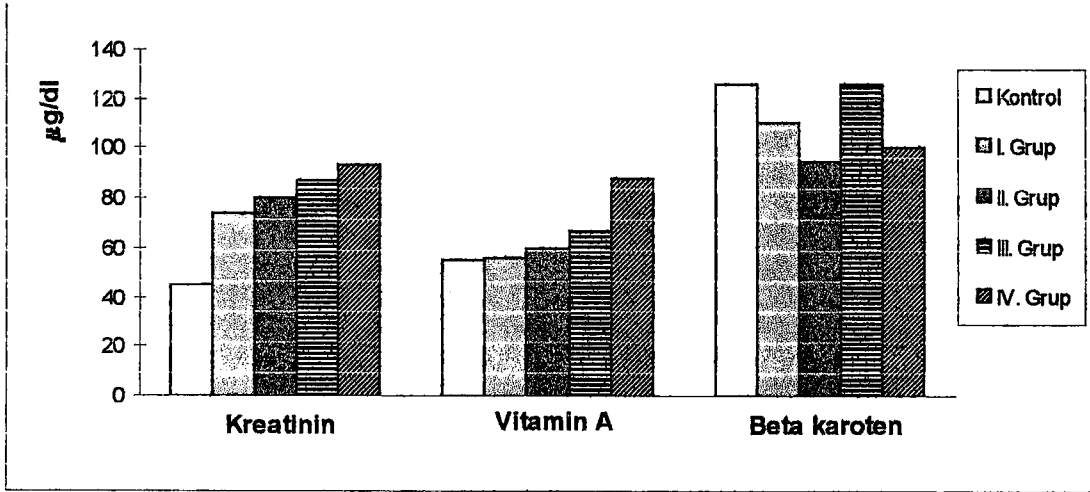
a Tüm gruplar arasında fark var ($p<0.05$) (yalnız kontrol ve I. grup arasında fark yok, $p>0.05$), **b** Kontrol grubu 4 sıçandan oluşmaktadır.

Tablo VIII: Sıçanların serum β-karoten düzeyleri.

Sıçan No.	Serum Vitamin A Düzeyi ^a (µg/dl)				
	Kontrol ^b	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
1	122.0	84.60	88.70	220.3	95.00
2	120.3	103.0	103.0	103.0	168.3*
3	128.5	129.5	79.5	88.7	94.80
4	132.6	102.0	83.64	136.5	94.80
5		138.7	112.2	154.0	80.50
6		87.7	102.0	89.00	84.60
7		129.5	94.8	91.8	86.70
Ortalama	125.9±5.72	110.7±21.7	94.81±11.6	126.2±48.7	100.7±30.4

a Kontrol ve II. grup arasında fark var ($p<0.05$). Bunun dışında, gruplar arasında fark yok. (*Bu sapkın değer dikkate alınmadığında, bu grubun ortalama β-karoten düzeyi $89.4±6.31$ µg/dl olup, kontrol grubundan anlamlı derecede düşüktür, $p<0.05$).

b Kontrol grubu 4 sıçandan oluşmaktadır.



Şekil 5: Grupların ortalama serum kreatinin, vitamin A ve β-karoten düzeyleri (kreatinin değerleri 10 ile çarpılmalıdır).

Vit A uygulaması yapılmayan kontrol ve I. çalışma gruplarının ortalama serum vit A düzeyi arasında fark saptanmadı ($p>0.05$). Artan dozlarda vit A uygulaması ile paralel olarak, II, III ve IV. grupların serum vit A düzeyleri de giderek artış gösterdi. Bu gruplar hem vit A uygulanmayan gruplardan, hem de birbirlerinden anlamlı derecede farklı değerlere sahipti ($p<0.05$).

Serum β-karoten düzeyleri göz önüne alındığında, II. grubun ortalama değerinin kontrol grubununkinden anlamlı derecede daha düşük olduğu görüldü ($p=0.01$). Öte yandan, IV. gruptaki 2 numaralı sıçanın β-karoten düzeyi 168.3 µg/dl olup, diğerlerinininki 95 µg/dl veya altında idi. Bu sapkın değer dikkate alınmadığında, bu grubun ortalama β-karoten düzeyi 89.4 ± 6.31 µg/dl olup, kontrol grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p=0.01$). Diğer bir ifade ile, serum β-karoten düzeyleri, yüksek dozlarda vitamin A uygulanan gruplardaki sıçanların çoğunda kontrol grubundakilere oranla anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Diğer gruplar arasında ise β-karoten düzeyleri farklı bulunmamıştır.

Histopatolojik Değerlendirme

Sham operasyonu yapılan kontrol grubu sıçanlarının böbrekleri makroskopik olarak doğal görünümünü korurken, çalışma gruplarındaki sıçanların tümünde böbreklerde geniş beyaz, sarı skar (infarkt) alanları gözlemlendi. Ancak tüm böbreklerde, skar alanı dışında kalan böbrek dokularında, medulla-korteks ayrımı yapılabildi ve hiçbirinde pelvikalisiyel dilatasyon dikkati çekmedi.

Mikroskopik inceleme yapılırken, infarkt alanı dışında kalan sağlam böbrek dokusundaki glomerüller gözönüne alındı. Tüm gruplardaki sıçanların renal dokularında belirlenen OGS, ŞGY ve TIS Tablo IX, X, XI ve Şekil 6'da gösterilmiştir.

Kontrol grubu sıçanlarında glomerüloskleroz lehine bulgu saptanmazken, tüm çalışma gruplarında değişik derecelerde skleroz oluşan glomerüller belirlendi (Resim 6). OGS ve ŞGY, tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Bununla beraber, OGS çalışma grupları arasında farklılık göstermezken ($p>0.05$), ŞGY ise yalnız II. ile III. grup arasında farklı olup, II. grupta daha düşük idi ($p=0.03$). Aslında, II. grup çalışma grupları arasında en düşük OGS ve ŞGY değerlerine sahip olan grup idi. Öte yandan, subtotal nefrektomi uygulanan sıçanlar arasındaki ikinci en düşük OGS ve ŞGY değerlerinin I. grup sıçanlarında olduğu gözlemlendi.

Tablo IX: Sıçanların ortalama glomeruloskleroz skorları (OGS).

Sıçan No.	OGS ^a				
	Kontrol ^b	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
1	0	2.66	2.40	2.84	3.18
2	0	2.48	2.10	3.26	2.18
3	0	3.06	1.42	2.30	2.68
4	0	2.89	2.52	2.90	3.14
5		3.48	3.90	3.18	1.90
6		1.98	2.56	2.90	4.16
7		2.86	2.42	4.52	3.74
Ortalama	0	2.77±0.47	2.47±0.74	3.13±0.69	2.99±0.81

a Çalışma grupları arasında fark yok ($p>0.05$); kontrol grubunda anlamlı derecede düşük ($p<0.05$)

b Kontrol grubu 4 sıçandan oluşmaktadır.

Kontrol grubu sıçanlarının hiçbirinde tübülointerstisyel değişiklikler belirlenmedi. Ancak, çalışma gruplarındaki sıçanlarda da bu değişiklikler belirgin değildi. Dahası, bu gruplardaki sıçanların bir bölümünde toplam TIS değeri “0” olarak saptandı (Tablo VI). Çalışma grupları arasında TIS yönünden farklılık saptanmazken ($p>0.05$), kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek TIS değeri yalnız III. grupta vardı ($p=0.04$). Öte yandan, çalışma grupları arasında en düşük TIS skorlarının II. grupta ve ikinci en düşük TIS değerlerinin ise I. grupta olduğu belirlendi.

Tablo X: Sıçanların şiddetli glomerüloskleroz yüzdeleri (3 ve üzerinde skleroz puanı olan glomerüllerin, tüm glomerüllere oranı).

Sıçan No.	ŞGY ^a				
	Kontrol ^b	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
1	0	60	40	64.7	76
2	0	48	42	72	48
3	0	72	30	48	64
4	0	64	46	64	72
5		82	90	80	32
6		36	58	70.5	82
7		66	44.4	98.2	90
Ortalama	0	61.14±15.2	50.06±19.4	71.06±15.5	66.29±20.2

a Çalışma grupları arasında, II. ve III. gruplar hariç, fark yok ($p>0.05$)

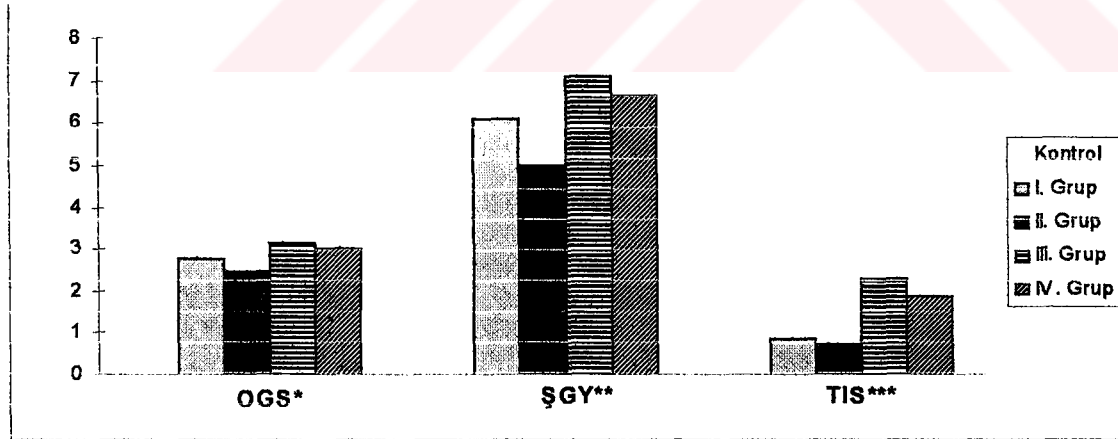
b Kontrol grubu 4 sıçandan oluşmaktadır.

Her bir grup ayrı ayrı ele alındığında, serum vit A düzeyleri, hiç bir grupta histopatolojik skorlama ile korelasyon göstermemekte idi. Öte yandan, serum β -karoten düzeyleri I. grupta OGS ve ŞGY (sırası ile $r=0.802$, $p=0.030$ ve $r=0.787$, $p=0.036$) ve II. grupta ŞGY ile korele idi ($r=0.806$, $p=0.029$). Serum kreatinin düzeyleri ise yalnızca II. grupta OGS, ŞGY ve TIS ile korele idi (sırası ile $r=0.802$, $p=0.030$; $r=0.799$, $p=0.031$; ve $r=0.780$, $p=0.039$). Tübülointerstisyel değişiklikler (TIS) ile glomerüler patoloji (OGS ve ŞGY) arasında ise yalnızca II. grupta bir korelasyon olduğu saptandı (sırası ile $r=0.848$, $p=0.016$; ve $r=0.882$, $p=0.009$).

Tablo XI: Sıçanların ortalama túbülointerstisyel skorları (TIS).

Sıçan No.	TIS ^a				
	Kontrol ^b	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
1	0	0	0	2	0
2	0	0	0	9	2
3	0	1	0	1	10
4	0	3	0	1	0
5		0	4	3	0
6		2	0	0	1
7		0	1	0	0
Ortalama	0	0.86±1.22	0.71±1.50	2.28±3.15	1.86±3.67

- a** Interstisyel fibrozis, inflamasyon ve túbüler atrofi skorlarının toplamı. Kontrol ve III. grup arasındaki farkın dışında ($p < 0.05$), hiç bir grup arasında fark ($p > 0.05$).
- b** Kontrol grubu 4 sıçandan oluşmaktadır.

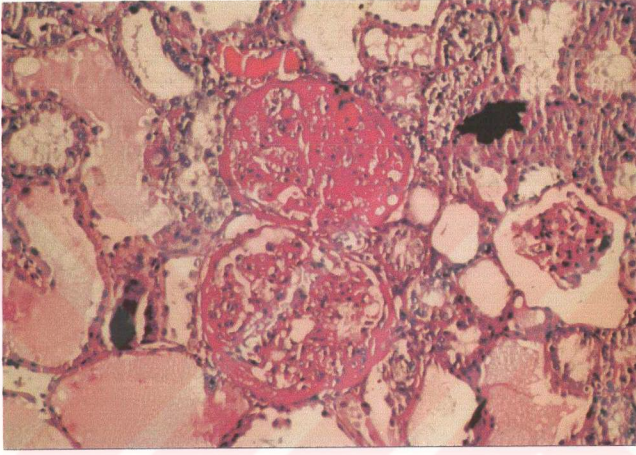


Şekil 6: Grupların ortalama OGS, ŞGY ve TIS skorları.

- * Ortalama glomerüloskleroz skoru
- ** Şiddetli glomerüloskleroz yüzdesi (*gerçek ŞGY değerleri için Y ekseninde görülen değer 10 ile çarpılmalıdır*).
- *** Túbülointerstisyel skor

Tüm sıçanlar gözönüne alındığında, vit A düzeyleri ile OGS ve ŞGY arasında korelasyon saptanmazken (sırası ile $r = 0.236$, $p > 0.05$; ve $r = 0.277$, $p > 0.05$), TIS ile aralarında pozitif korelasyon olduğu görüldü ($r = 0.391$, $p = 0.027$). β -karoten düzeyleri

ise histopatolojik parametrelerin hiç biri ile korelasyon göstermemekte idi. Serum kreatinin düzeyleri ile OGS, ŞGY ve TIS arasında pozitif korelasyon vardı, ancak TIS ile arasındaki ilişki istatistiksel anlamlılık göstermiyordu (sırası ile $r=0.715$, $p=0.000$; $r=0.668$, $p=0.000$; ve $r=0.184$, $p=0.313$).



Resim 6: Skleroz skorları 5 (üstteki) ve 3 olan iki glomerül. Ayrıca tübüler atrofi, kistik dilatasyon ve interstisyel inflamasyon görülmektedir (I. grup sıçanlarına ait; PAS, x100).

TARTIŞMA

Bu çalışmada, 5/6 nefrektomi uygulanan sıçanlarda meydana gelen renal ablasyon glomerülopatisinin seyrine eksojen vit A desteğinin etkisi araştırıldı. Sıçanlarda değişik deneysel glomerüloskleroz modelleri tanımlanmış olup (89,90), bu çalışmada subtotal (5/6) nefrektomi yöntemi uygulandı (6).

Kontrol grubu olarak, nefrektomi yapılmamış bir grup seçilmiş, sıçanların çalışma öncesi çıkarılan sağ böbrekleri kullanılmamıştır. Buna karar verirken, böbrek histopatolojisinin yaşla beraber değişmesi olasılığı gözönüne alınmıştır. Öte yandan, bu yaklaşım bize 5/6 nefrektomi uygulanan ve vit A uygulanan sıçanların kalan böbrek dokularındaki değişiklikleri hem sham-operasyonu yapılan kontrol sıçanlarının

böbrekleri ile, hem de 5/6 nefrektomi yapılan ve vit A verilmeyen birinci grup sıçanlarının kalan böbrek dokuları ile karşılaştırma olanağını vermiştir.

Vit A dozu belirlenirken, önceki çalışmada uygulanan doz dikkate alındı (2) ve II. gruba bu doz uygulandı. III. ve IV. çalışma gruplarına ise bu dozun iki ve üç katı uygulandı. Buradaki amaç, farklı serum vit A düzeyleri elde etmek ve böylece serum vit A düzeyleri ile histopatolojik bulgular arasında korelasyon yapmayı mümkün kılmaktır. Vit A uygulaması yapılırken, önceki çalışmada en yüksek serum düzeylerinin elde edildiği enteral yol tercih edildi. Serum vit A düzeyleri eksojen vit A uygulanan gruplarda anlamlı derecede yüksek bulunurken, uygulanan dozdaki artışa paralel olarak bu düzeylerde de anlamlı artışlar oldu. Bu durum, farklı dozlarda vit A uygulaması ile farklı serum düzeylerine ulaştığımızı göstermektedir. Öte yandan, serum β -karoten düzeylerinde, artan vit A dozuna bağlı olarak azalma eğilimi görülmekle beraber, anlamlı bir değişiklik saptanmadı.

Subtotal nefrektomi uygulanan sıçanların serum kreatinin değerlerinin kontrol grubundakilerden anlamlı derecede yüksek bulunması, deneyde uygulanan yöntemin başarıya ulaştığını göstermektedir. Diğer yandan, vit A uygulanmayan II. grup ile diğer çalışma grupları arasında ve farklı dozlarda vit A uygulanan çalışma grupları arasında serum kreatinin düzeyleri yönünden farklılık saptanmaması, vit A uygulamasının böbrek fonksiyonlarındaki bozulmayı olumlu ya da olumsuz yönde etkilemediğini göstermektedir. Tüm sıçanlar gözönüne alındığında, serum kreatinin düzeyleri ile OGS ve ŞGY arasında korelasyon olması, elde edilen renal histopatolojik bozukluk ve fonksiyonel bozukluğun paralel bir seyir izlediğini düşündürmektedir.

Çalışma gruplarındaki sıçanlarda saptanan glomerüloskleroz skorları, kontrol grubundaki sıçanlarınkilerden anlamlı derecede yüksek olmakla beraber, ŞGY'nin II. grupta III. gruptan düşük olması dışında, çalışma grupları arasında anlamlı farklılık yoktu. TIS değerleri göz önüne alındığında ise ne çalışma grupları arasında, ne de çalışma gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı farklılık yoktu. Subtotal (5/6) nefrektomi uygulanan sıçanlarda gözlenen bu düşük TIS değerleri, sözkonusu değişikliklerin belirgin şekilde ortaya çıkması için daha uzun bir süreye gereksinim olduğunu göstermektedir. Literatürde, böyle hayvan modellerinde tübulointerstisyel değişikliklerin zamana bağlı olarak belirginleştiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (91). Dahası, OGS, ŞGY ve TIS değerleri ile serum vit A düzeyleri arasında bir korelasyon olmadığı da dikkati çekmektedir.

Artan serum vit A düzeylerinin renal ablasyon nefropatisine sekonder glomerüler ve tübüler patolojinin seyrine olumlu bir etkisinin varlığını gösterememekle birlikte, OGS, ŞGY ve TIS skorlarının 60 KIU'nin üzerinde vit A uygulanan gruplarda I. ve II. gruba oranla yüksek olması, yüksek dozlarda vit A uygulamasının renal doku üzerinde olumsuz bir etki yapabileceğini bile düşündürmektedir. Diğer yandan, II. grubun OGS, ŞGY ve TIS değerleri I. gruptaki değerlerden de düşük bulunmuştur. Bununla beraber, gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı olmadığı için, bu nefropati modeli dikkate alındığında, vit A'nın olumlu etkilerinin olumsuz etkilerinden ağır bastığı bir doz sınırından söz etmek mümkün değildir.

Vit A immünite, hücre farklılaşması ve epitel yüzeylerin bütünlüğünün korunması için gerekli bir vitamindir (3). Tekrarlayan İYE'li çocuklarda oluşan renal skarın şiddetinin serum vit A düzeyi ile ters orantılı olduğu, hipovitaminoz olmasa bile serum vit A düzeyi düşük olanlarda skar şiddetinin arttığı bildirilmiştir (1). Ayrıca, vit A desteğinin sıçanlarda oluşturulan deneysel pyelonefrite bağlı renal skarlaşmanın şiddetini azalttığı gösterilmiştir (2). Sözü edilen bu çalışmada, vit A'nın olumlu etkilerinin antienfektif potansiyeline, epitel doku üzerindeki olumlu etkilerine veya bu özelliklerinin her ikisine bağlı olabileceği ileri sürülmüştür.

Serbest oksijen radikallerinin renal skar oluşumunda rolü olduğu ileri sürülmüştür (92). β -karotenin serbest oksijen radikallerinin inaktivasyonunda etkili olduğu bildirilmiştir (4). Bununla beraber, önceki çalışmalarda β -karoten ile renal skar dokusu gelişimi arasında bir ilişki gösterilememiştir (1,2). Bu çalışmada sıçanlara β -karoten verilmemiştir, ve II. gruptaki düzeylerin sham-grubuna göre düşüklüğü dışında, gruplar arasında ortalama serum β -karoten düzeyi yönünden farklılık yoktur. Bununla beraber, tüm sıçanlar gözönüne alındığında, serum β -karoten düzeyleri ile histopatolojik değişiklikler arasında ilişki saptanmamıştır. Dolayısı ile, bu çalışmanın sonuçları da önceki çalışmalar ile uyumludur (1,2).

RAN'nin seyrinde ortaya çıkan histopatolojik değişiklikler, temelde bazı hemodinamik değişikliklere bağlanmaktadır. Bunlar arasında tek tek nefronlardaki glomerüler filtrasyon hızının artması, kan akımındaki ve transkapiller basınçtaki değişiklikler ve sistemik hipertansiyon bulunmaktadır (5). Bununla beraber, renal dokuda bulunan veya infiltrasyon yolu ile gelen inflamatuvar hücrelerin aktivasyonu ve serbest radikal üretiminin de RAN'nin seyrine sekonder olarak etki ettiği ifade

edilmektedir (5,7). Eğer daha 6nceki pyelonefrit modelinde (2), vit A'nun temel etkisi epitel dokunun b6t6nl6ğ6n6n korunması olsa idi, RAN'nin seyrinde de olumlu etkilerinin olması beklenebilirdi. Ancak, bu 7alışma g6stermektedir ki, subtotal nefrektomi uygulanan sı7anların kalan b6brek dokularındaki glomer6ler ve t6b6lointersitisyel patoloji uygulanan vit A dozundan veya serum vit A d6zeylerinden etkilenmemektedir. Dolayısı ile, 6nceki 7alışmadaki pyelonefrit modelinde imm6n sistemin aktivasyonu, renal dokudaki skar oluşmunun şiddetini azaltan veya 6nleyen etkin mekanizma olabilir. 6te yandan, imm6n sistemin uyarılmasının RAN'in seyrinde ortaya 7ıkan hasara katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Ancak, RAN modelinde imm6nolojik mekanizmaları aktive eden devamlı bir uyarın (fonksiyonel nefron kitlesinin kaybı) s6z konusudur. Bununla beraber, pyelonefrit modelindeki uyarın (bakteriyel antijenler) ge7icidir. Dolayısı ile, enfeksiy6z ajanın 6stesinden bir kez geldiğinde, doku hasarına yol a7an imm6nolojik mekanizmalar da yatışmaktadır. Pyelonefrit modelinde vit A'nın olası rol6 konağın imm6n sisteminin uyarılması yolu ile enfeksiy6z ajanın kısa s6rede, imm6nolojik mekanizmalara bağlı belirgin doku hasarı oluşmadan, temizlenmesidir. Diğer yandan, bu 7alışmada en hafif renal patolojik değişiklikler 60 kIU vit A verilen II. grupta (6nceki pyelonefrit modelinde uygulanan doz ile aynı) g6r6ld6ğ6nden, belirli bir vit A dozunun (60 kIU civarında) uzun bir zaman s6recinde uygulanmasının renal hasarın hafifletilmesinde etkin bir rol oynayabileceği de d6ř6n6lebilir.

Sonuç olarak, bu 7alışmada elde edilen sonu7lar, sı7anlarda oluşturulan RAN'nin patolojik veya klinik seyrine vit A uygulamasının veya serum vit A d6zeylerinin etki etmediğine işaret etmektedir. Bununla beraber, her ne kadar farklılıklar anlamlı değilse de, 60 kIU vit A verilen sı7anlardaki glomer6ler ve t6b6ler lezyonlar vit A verilmeyen veya daha y6ksek dozlarda vit A verilen sı7anlardakine oranla daha hafif bulunmuştur. Dolayısı ile, vit A'nın renal doku 6zerindeki olumlu ve olumsuz etkilerinin araştırılması i7in daha fazla 7alışmalar yapılması gerektiğini d6ř6n6yoruz.

SONUÇ

Wistar türü sıçanlarda subtotal nefrektomi oluşturulduktan sonra, değişik dozlarda vitamin A tedavisi uygulanması yolu ile yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar şöyle özetlenebilir:

1. Subtotal nefrektomi uygulanan sıçanlarda, böbrek fonksiyonları kontrol grubuna göre anlamlı derecede bozulmuştur.

2. Subtotal nefrektomiden 6 hafta sonra yapılan histopatolojik incelemede, kalan böbrek dokusunda belirgin glomerüler değişiklikler (glomerüloskleroz) gözlenmiştir.

3. Ancak, bu grup sıçanlarda tübüler ve interstisyel değişiklikler glomerüllerdeki kadar belirgin olmamıştır. Bu durum, nefrektomi sonrası izlem süresinin (6 hafta) kısa olmasından kaynaklanmış olabilir.

4. Değişik dozlarda vitamin A'nın enteral yoldan uygulanması ile farklı serum vitamin A düzeyleri elde edilmiştir.

5. Ancak, vitamin A verilmeyen veya farklı dozda vitamin A verilen subtotal nefrektomi uygulanmış sıçan grupları arasında, serum kreatinin düzeyleri veya renal histopatolojik bulgular yönünden anlamlı farklar olmadığı saptanmıştır.

6. Bununla birlikte, en düşük glomerüler ve tübüler hasar skorlarının, 60 kIU vitamin A verilen II. grupta olduğu gözlenmiştir. Bu durum, belli dozlarda vitamin A uygulamasının, renal ablasyon nefropatisi modeli söz konusu olduğunda, böbrek histopatolojisi üzerine olumlu etkileri olabileceğini düşündürmektedir.

7. Öte yandan, 60 kIU'den fazla vitamin A verilen gruplarda böbreklerin histopatolojik skorları, vitamin A verilmeyen gruba oranla daha yüksek bulunmuştur. Bu da vitamin A'nın, yüksek dozlarda, böbrek dokusu üzerine olumsuz etkileri olabileceğini de akla getirmektedir.

8. Vitamin A uygulaması ile serum β -karoten düzeylerinde değişiklik olmamıştır.

9. Serum β -karoten düzeyleri ile renal ablasyon nefropatisinin klinik ve histopatolojik seyri arasında bir ilişki saptanmamıştır.

ÖZET

Pyelonefrit oluşturulan sıçanlarda, A vitamininin renal skar oluşumunu hafiflettiği veya önlediği gösterilmiştir.

Amaç: Subtotal nefrektomi uygulanmış sıçanlarda ortaya çıkan renal ablasyon nefropatisinin seyrine A vitamininin etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Yirmi sekiz adet Wistar türü sıçana subtotal (5/6) nefrektomi uygulandı. Daha sonra, her biri 7 sıçan içeren dört çalışma grubu oluşturuldu. Birinci gruptaki sıçanlara vitamin A uygulaması yapılmaz iken, ikinci, üçüncü ve dördüncü gruptaki sıçanlara sırası ile 60 kIU, 120 kIU ve 180 kIU vitamin A enteral yoldan verildi. Sham-operasyonu yapılan dört sıçan kontrol grubunu oluşturdu. Tüm sıçanlar altıncı haftanın sonunda feda edilerek, serum kreatinin, vitamin A ve β -karoten düzeyleri belirlenmek üzere kan örnekleri ve histopatolojik değerlendirme yapılmak üzere böbrekleri elde edildi. Tübülointerstisyel ve glomerüler değişiklikler, lezyonların şiddetine göre, sırası ile "0-3" ve "0-5" olarak derecelendirildi. Tübülointerstisyel skor (TIS), ortalama glomerüloskleroz skoru (OGS; değerlendirmeye alınan 100 glomerülün skleroz skorlarının aritmetik ortalaması) ve şiddetli glomerüloskleroz yüzdesi (ŞGY; grade 3 ve üzerinde skleroz skoru olan glomerüllerin sayılan tüm glomerüllere oranı) her bir sıçan için ayrı ayrı hesaplandı.

Bulgular: Serum kreatinin değerleri kontrol grubuna oranla tüm çalışma gruplarında anlamlı derecede yüksek iken ($p<0.05$), çalışma grupları arasında fark yoktu ($p>0.05$). Bununla beraber, uygulanan vitamin A dozu arttıkça, serum kreatinin düzeylerinde de bir artış olduğu görüldü. Serum vitamin A düzeyi, vitamin A verilmeyen kontrol ve I. çalışma gruplarına göre diğer gruplarda anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$) ve artan doz uygulamaları ile beraber anlamlı artış gösterdi ($p<0.05$). Serum β -karoten düzeyleri, kontrol grubunda II. gruptan düşük olması dışında ($p=0.01$), gruplar arasında farklılık göstermedi ($p>0.05$). OGS ve ŞGY, tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olmakla beraber ($p<0.05$), çalışma grupları arasında farklı değillerdi ($p>0.05$). Gruplar, II. grup ve kontrol grubu arasındaki fark dışında ($p=0.04$), TIS yönünden farklılık göstermediler ($p>0.05$). Çalışma grupları arasında en düşük OGS, ŞGY ve TIS skorlarının II. grup sıçanlarında olduğu belirlendi. Tüm sıçanlar gözönüne alındığında, vitamin A düzeylerinin OGS ve ŞGY ile ilişkili olmadığı, ancak TIS ile aralarında pozitif bir korelasyon bulunduğu

belirlendi ($r= 0.391$, $p=0.027$). β -karoten düzeyleri ile OGS, ŞGY ve TIS arasında korelasyon saptanmadı.

Sonuç: Renal ablasyon nefropatisinin klinik ve patolojik seyrine vitamin A'nın belirgin bir etkisi saptanmamıştır. Dahası, yüksek dozlarda vitamin A uygulaması renal dokudaki hasarı daha da arttırabilir.



ABSTRACT

Renal scarring due to pyelonephritis was shown to improve in rats given vitamin A.

Aim: We aimed to evaluate the effect of vitamin A in a renal ablation nephropathy model.

Materials and Methods: Four groups each including 7 rats with 5/6 nephrectomy were formed: Group I (no vitamin A), Group II (60 kIU vitamin A), Group III (120 kIU vitamin A) and Group IV (180 kIU vitamin A). Four sham-operated rats constructed the control group. After 6 weeks of 5/6 nephrectomy, the rats were sacrificed and serum creatinine, vitamin A and β -carotene levels were determined in addition to histopathologic evaluation of the remnant kidneys. The tubulointerstitial and glomerular changes were graded as "0-3" and "0-5" respectively in accordance with the severity of the lesions. Tubulointerstitial score (TIS), mean glomerulosclerosis score (MGS, arithmetical mean of the sclerosis scores of 100 glomeruli) and severity of glomerulosclerosis index (SGI, ratio of the number of glomeruli with grade ≥ 3 sclerosis to the total number of glomeruli examined) were calculated for each rat.

Results: Serum creatinine levels were higher in the study groups compared to the control rats ($p < 0.05$), but there was no significant difference between the study groups, although the levels increased as the dose of vitamin A increased. Serum vitamin A levels were significantly higher in the groups given vitamin A than the control rats and Group I ($p < 0.05$). In addition, serum vitamin A levels increased significantly in parallel to increasing doses of vitamin A ($p < 0.05$). Serum β -carotene levels did not differ between the groups, excluding the difference between the control group and Group II being lower in the latter ($p = 0.01$). MGS and SGI were significantly higher in the study groups compared to the control rats ($p < 0.05$), but did not differ between the study groups. Study and control rats were not different with respect to TIS, but a difference was present between the control group and Group III ($p = 0.04$). Group II had the lowest MGS, SGI and TIS scores among the study groups. When all the rats were taken into consideration in combination, vitamin A levels did not correlate to the MGS and SGI, but correlated positively to the TIS ($r = 0.391$, $p = 0.027$). β -carotene levels also did not correlate to the MGS, SGI and TIS.

Conclusion: Vitamin A administration did not affect significantly the clinical and pathological course of renal ablation nephropathy in rats. Furthermore, higher doses of vitamin A might even be damaging to renal tissue.



KAYNAKLAR

1. Kavukçu S, Türkmen M, Sevinç N, Soylu A, Derebek E, Büyükgebiz B. Serum vit A and b-carotene concentrations and renal scarring in urinary tract infections. *Arch Dis Child* 1998, 78:271-272.
2. Kavukçu S, Soylu A, Türkmen M, Sarıoğlu S, Büyükgebiz B, Güre A. The role of vit A in preventing renal scarring secondary to pyelonephritis. *BJU int* 1999, 83:1055-1059.
3. Semba RD. Vit A, immunity and infection. *Clin Infect Dis* 1994, 19:489-499.
4. Bates CJ. Vit A. *Lancet* 1995, 345: 31-35.
5. Kriz W, Hosser H, Hahnel B, Gretz N, Provoost AP. From segmental glomerulosclerosis to total nephron degeneration and interstitial fibrosis: a histopathological study in rat models and human glomerulopathies. *Nephrol Dial Transplant* 1998, 13:2781-2798.
6. Fujihara CK, Malherios DMAC, Zatz R, Noronha IL. Mycophenolate mofetil attenuates renal injury in the rat remnant kidney. *Kidney Int* 1998, 54:1510-1519.
7. Aiello S, Noris M, Todeschini M, Zapella S, Foglieni C, Benigni A, Corna D, Zoja C, Cavallotti D, Remuzzi G. Renal and systemic nitric oxide synthesis in rats with renal mass reduction. *Kidney Int* 1997, 52:171-181.
8. Urinary System. In *Basic Histology* (4 th ed), edited by Junqueira LC, Carneiro J. California, Lange 1983, pp: 397-416.
9. Fogo A. Renal pthology. In *Pediatric Nephrology* (4th ed), edited by Barrat TM, Avner ED, Harmon WE. Baltimore, Lippincott Williams and Wilkins 1999, pp:391-413.
10. Eddy AA. Immune mechanisms of glomerular injury. In *Pediatric Nephrology* (4th ed), edited by Barrat TM, Avner ED, Harmon WE. Baltimore, Lippincott Williams and Wilkins 1999, pp: 641-668.
11. Vane JR, Änggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Eng J Med* 1990; 323: 27-36.
12. Mendrick DL, Kelly DM, Rennke HG. Antigen processing and presentation by glomerular visceral epithelium in vitro. *Kidney Int* 1991; 39: 71-78.
13. Kriz W, Elger M, Lemley K, Sakai T. Structure of the glomerular mesangium: a biochemical interpretation. *Kidney Int* 1990; 38: S-2-S-9.

14. Introduction to glomerular diseases. In Nelson Textbook of Pediatrics (16th ed), edited by Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. Philadelphia, W.B. Saunders 2000, pp: 1573-1576.
15. The Kidney. In Robbins Pathologic Basis of Disease (5th ed), edited by Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Philadelphia, W.B. Saunders 1994, pp: 927-989.
16. Rennke HG. Secondary membranoproliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995; 47: 643-656.
17. Couser WG. Pathogenesis of glomerulonephritis. *Kidney Int* 1993; 44: 519 - 530.
18. O' Donoghue DJ, Darvill A, Ballardie FW. Mesangial cell autoantibodies in immunoglobulin A nephropathy and Henoch-Schönlein purpura. *J Clin Invest* 1991; 88: 1522-1530.
19. Lin CY. Clinical features and natural course of HBV related glomerulopathy in children. *Kidney Int* 1991; 40 (Suppl 35): 46-53.
20. Takekoshi Y, Tochimara H, Nagata Y, Itami N. Immunopathogenetic mechanisms of hepatitis B virus related glomerulopathy. *Kidney Int* 1991; 40 (Suppl 35): 34-39.
21. Johnson RJ, Gretch DR, Yamabe H. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1993; 328: 465-470.
22. Haller JO, Cohen HL. Pediatric HIV infection: An imaging update. *Pediatr Radiol* 1994; 24: 224-230.
23. Glasscock RJ. Immune complex-mediated glomerular injury in viral diseases: An overview. *Kidney Int* 1991; 40 (Suppl 35): 5-7.
24. Rauterberg EW, Lieberknecht HM, Wingen AM, Ritz E. Complement membrane attack (MAC) in idiopathic IgA-glomerulonephritis. *Kidney Int* 1987; 31: 820-829.
25. Antibodies and their receptors. In Immunology (4th ed), edited by Roitt I, Brostoff J, Male D. Mosby 1996, pp:4: 1-12.
26. Fujihara CK, Malheiros DMAC, Zatz R, Noronha IL. Mycophenolate mofetil attenuates renal injury in the rat remnant kidney. *Kidney Int* 1998, 54:1510-1519.

27. Kren S, Hostetter TH. The course of the remnant kidney model in mice. *Kidney Int* 1999, 56:333-337.
28. Remuzzi G, Ruggenti P, Benigni A. Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int* 1997, 51:2-15.
29. Goodman DS. Vitamin A metabolism. *Fed Proc* 1980, 39:2716-2722.
30. Sommer A. Vitamin A metabolism. In: *Vitamin A Deficiency and Its Consequences*. Sommer A (ed). 3rd ed, WHO, Geneva, 1995, pp:3-5.
31. Petkovich M, Brand NJ, Krust A, Chambon P. A human retinoic acid receptor which belongs to the family of nuclear receptors. *Nature* 1987, 330:444-450.
32. Kanai M, Raz A, Goodman DS. Retinol binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J Clin Invest* 1968, 47:2025-2044.
33. Napoli JL. Biosynthesis and metabolism of retinoic acid: roles of CRBP and CRABP in retinoic acid homeostasis. *J Nutr* 1993, 123:362-366.
34. Petkovich M, Brand NJ, Krust A, Chambon P. A human retinoic acid receptor which belongs to the family of nuclear receptors. *Nature* 1987, 330:444-450.
35. Giguere V, Ong ES, Sequi P, Evans RM. Identification of the receptor for the morphogen retinoic acid. *Nature* 1987, 330:624-629.
36. Mangelsdorf DJ, Ong ES, Dyck JA, Evans RM. Nuclear receptor that identifies a novel retinoic acid response pathway. *Nature* 1990, 345:224-229.
37. Levin AA, Sturzenbecker LJ, Kazmer S. 9 cis retinoic acid stereoisomer binds and activates the nuclear receptor RXR α . *Nature* 1992, 335:359-361.
38. De Luca LM. Retinoids and their receptors in differentiation, embryogenesis, and neoplasia. *FASEBJ* 1991, 5:2924-2933.
39. Sommer A. Xerophthalmia: Clinical Classification and Diagnosis. In: *Vitamin A Deficiency and Its Consequences*, Sommer A (ed), 3rd ed, WHO, Geneva 1995, pp:8-13.
40. Sommer A. Epidemiology. In: *Vitamin A Deficiency and Its Consequences*, Sommer A (ed), 3rd ed, WHO, Geneva 1995, pp:15-18.
41. Marcus R, Coulston AM. Fat-soluble vitamins. In: *The Pharmacological Therapeutics*, Gilman AG, Goodman LS, Nies AS, Taylor P (eds), 8th ed, Pergomon Press, New York, 1990, pp:1553-1571.

42. Hathcock JH, Hatton DG, Jenkins MY, McDonald JT, Sunderason PR, Wilkening VL. Evaluation of vitamin A toxicity. *Am J Clin Nutr* 1990, 52:183-202.
43. Olson JA. Provitamin A function of carotenoids: Conversion of b-carotene into vitamin A. *Am J Nutr* 1989, 119:105-108.
44. Mathews-Roth MM. Carotenoids in medical applications. In: as colorants and vitamin A precursors. Bauerfeind JC (ed), Academic Press, New York 1981, pp:755-785.
45. Shapiro SS, Mott DJ, Machlin LJ. Kinetic characteristics of β -carotene uptake and depletion in rat tissue. *J Nutr* 1984, 114:1924-1933.
46. Mathews-Roth MM, Pathak MA, Fitzpatrick TB, Kass EH. β -carotene as an oral protective agent in erythropoietic porphyria. *JAMA* 1974, 228:1004-1008.
47. Mathews-Roth MM, Pathak MA, Parrish J. A clinical trial of effects of oral β -carotene on the responses of human skin solarradiation. *J Invest Dermatol* 1972, 59:349-353.
48. Green HN, Mellanby E. Vitamin A as an anti-infective agent. *BMJ* 1982, 2:691-696.
49. Sommer A. Vitamin A, infectious disease, and childhood mortality: a solution? *J Infect Dis* 1993, 167:1003-1007.
50. Glasziou PP, Mackerras DEM. Vitamin A supplementation in infectious diseases: meta analysis. *BMJ* 1993, 306:366-370.
51. Favzi WW, Thomas CC, Herrera G, Mosteller F. Vitamin A supplementation and child mortality. *JAMA* 1993, 269:898-903.
52. Sommer A, Taruatojo I, Djunaedi E, West PK, Loeden AA, Tilden R. Impact of vitamin A supplementation on childhood mortality. *Lancet* 1986, 1169-1173.
53. West KP, Pockhrel RP, Katz J, Leclero SC, Khatri SK, Shrestha SR, Radhan EK, Tielsch JM, Pandey MR, Sommer A. Efficacy of vitamin A in reduction of preschool child mortality in Nepal. *Lancet* 1991, 338:67-71.
54. Rahmathullah L, Underwood BA, Thulasiraj RD, Milton RC, Ramaswamy K, Rahmathullah R, Ganeesh B. Reduced mortality among children in Sothern India receiving small weekly dose of vitamin A. *N Engl J Med* 1990, 323: 929-935.

55. Vijaraghavan K, Radhachiah G, Prakasam BS, Ramesh HW, Sarma KV, Reddy V. Effect of massive dose vitamin A on morbidity and mortality in Indian children. *Lancet* 1990, 336:1342-1345.
56. Ghana VAST Study Team. Vitamin A supplementation in Northern Ghana: effects on clinic attendances, hospital admissions, and child mortality. *Lancet* 1993, 342:7-12.
57. Herrera MG, Nestel P, El Amin A, Fawzi WW, Muhammad KA, Weld L. Vitamin A supplementation on child survival. *Lancet* 1992, 340:267-271.
58. Muhilal WMBJ, Permeisih D, Idjradinate YR, Muhardiyantingsih S, Karyadi D. Vitamin A fortified monosodium glutamate and health, growth, and survival of children: a controlled field trial. *Am J Clin Nutr* 1988, 48:1271-1276.
59. Committee on infectious diseases. Vitamin A treatment of measles. *Pediatrics* 1993, 91:1014-1015.
60. Vitamin A for measles (editorial). *Lancet* 1987, 1:1067-1068.
61. Barclay AJG, Foster A, Sommer A. Vitamin A supplements and mortality related to measles: a randomised clinical trial. *BMJ* 1987, 294:294-296.
62. Coutsoidis A, Brogton M, Coovadia HM. Vitamin A supplementation reduces measles morbidity in young African children: a randomized, placebo-controlled, blind trial. *Am J Clin Nutr* 1991, 54:890-895.
63. Arrieta AC, Zaleska M, Stutman H, Marks MI. Vitamin A levels in children with measles in Long Beach, California. *J Pediatr* 1992, 121:75-78.
64. Frieden TR, Sowell AL, Henning KJ, Huff DL, Gunn RA. Vitamin A levels and severity of measles: New York City. *Am J Dis Child* 1992, 146:182-186.
65. Cheng L, Chang Y, Wang EL, Brun T, Giessler C. Impact of large dose vitamin A supplementation on childhood diarrhea, respiratory disease and growth. *Eur J Clin Nutr* 1993, 47:88-96.
66. Stansfield SK, Dierr-Louis M, Lerebours G, Augustin A. Vitamin A supplementation and increased prevalence of childhood diarrhea and acute respiratory infections. *Lancet* 1993, 342:578-582.
67. Büyükgebiz B, Özalp İ, Oran O. Investigation of serum vitamin A levels of children who had a history of recurrent diarrhea and acute respiratory infections in Ankara. *J Trop Pediatr* 1990, 36:251-254.

68. Arthur P. Vitamin A in the morbidity associated with diarrhea, acute respiratory diseases and other infections. XXI. International Congress of Pediatrics, 10-15 September 1995, Cairo, Egypt.
69. Mejia LA, Chew F. Hematological effect of supplementing anemic children with vitamin A alone and in combination with iron. *Am J Clin Nutr* 1988, 48:595-600.
70. Wolbach SB, Howe PR. Tissue changes following deprivation of fat soluble A vitamin. *J Exp Med* 1925, 42:753-777.
71. Karalliedde S, Dissanayake S, Wikramanayake SW. Salivary immunoglobulin A in vitamin A deficiency. *Ceylon Med J* 1979, 24:21-24.
72. Blacicfan KD, Wolback SB. Vitamin A deficiency in infants: a clinical and pathological study. *J Pediatr* 1933, 3:679-706.
73. Semba DR, Muhilal WMBJ, Griffin DE, Ward BJ, Scott AL, Natadisastra G, West KP, Sommer A. Abnormal T-cell subset proportions in vitamin A deficient children. *Lancet* 1993, 341:5-8.
74. Semba DR, Muhilal WMBJ, Scott AL. Depressed immune response to tetanus in children with vitamin A deficiency. *J Nutr* 1992, 122:101-107.
75. Krishnan S, Bhuyan UN, Talwar GP, Romalingeswami V. Effect of vitamin A and protein-calorie undernutrition on immune responses. *Immunology* 1974, 27:383-392.
76. Carman JA, Smith SM, Hayes CE. Characterization of a helper T lymphocyte defect in vitamin A deficient mice. *J Immunol* 1989, 142:388-393.
77. Coutsoides A, Kiepiela P, Coovadia HM, Broughton M. Vitamin A supplementation enhances specific IgG antibody levels and total lymphocyte numbers while improving morbidity in measles. *Pediatr Infect Dis* 1992, 11:203-209.
78. Semba DR, Munasir Z, Beeler J, Akiba A, Muhilal WMBJ, Audet S, Sommer A. Reduced seroconversion to measles in infants given vitamin A with measles vaccination. *Lancet* 1995, 345:1330-1332.
79. Vitamin A and malnutrition/infection complex in developing countries (editorial). *Lancet* 1990, 336:1349-1351.

80. Marcus R, Coulston AM. Fat soluble vitamins. In *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (8th ed), edited by Gilman AG, Goodman LS, Nies AS, Taylor P. New York, Pergoman Press 1990, pp:1553-1571.
81. Kaul L, Tizabi Y. Vitamins: Fat soluble. In *Pharmacology in Medicine: Principles and Practice*. Edited by Pradhan SC, Maickel RP, Dutta SN. Maryland, SP Press International 1986, pp:532-539.
82. Williams SR. Vitamins: Fat Soluble Vitamins. In *Nutrition and Diet Therapy* (4th ed), edited by William SR. Toronto, The C.V. Mosby Company 1981, pp:86.
83. Friedrich W. Vitamin A and its provitamins. In *Vitamins*, edited by Friedrich W. Berlin, Water de Gruyter 1988, pp:63-140.
84. Block CE. Further clinical investigations into the diseases arising in consequence of a deficiency in the fat-soluble A factor. *AJDC* 1924, 28:659-667.
85. Brown KH, Gaffar A, Alamgir SM. Xerophthalmia, protein-calorie malnutrition, and infections in children. *J Pediatr* 1979, 95:651-656.
86. Bahat E, Yilmaz GG, Akman S, Hasanoglu A, Gur Guven A. Effect of vitamin A supplementation on recurrent urinary tract infections in children. The 11th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, September 12-16 1998, London, UK, Abstracts, P120.
87. Neeld JB, Pearson WN. Macro and micro methods for the determination of serum vit A using trifluoroacetic acid. *J Nutr* 1962, 79: 454-462.
88. Lajoie G, Silva FG. Technical aspects of renal biopsy processing. In: Silva FG, D'agati VD, Nadasdy T (eds): *Renal Biopsy Interpretation*, Churchill Livingstone, New York, 1996, pp:423-435.
89. Kriz W, Hahnel B, Rosener S, Elger M. Long-term treatment of rats with FGF-2 results in focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 1995, 48: 1435-1450.
90. Shiiki H, Sasaki Y, Nishino T, Kimura T, Kurioka H, Fujimoto S, Dohi K. Cell proliferation and apoptosis of the glomerular epithelial cells in rats with puromycin aminonucleoside nephrosis. *Pathobiology* 1998, 66: 221-229.

91. Wu LL, Cox A, Roe CJ, Dziadek M, Cooper ME, Gilbert RE. Transforming growth factor b1 and renal injury following subtotal nephrectomy in the rat: Role of the renin-angiotensin system. *Kidney Int* 1997, 51:1553-1567.
92. Roberts JA, Roth JrJK, Domminigue G, Lewis RW, Kaack B, Baskin G. Immunology of pyelonephritis in the primate model. V. Effect of superoxide dismutase. *J Urol* 1989, 128: 1394-1400.

