



Bakır Nefrotoksisitesinde Melatonin ve E Vitamini'nin Antioksidan Parametreler Üzerine Etkileri*

Mehmet Ali TEMİZ^{1✉}, Atilla TEMUR²

1. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Programı, Karaman, TÜRKİYE.
2. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Bölümü, Van, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
25.12.2017	04.05.2018	25.12.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Temiz MA, Temur A: Bakır Nefrotoksisitesinde Melatonin ve E Vitamini'nin Antioksidan Parametreler Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 13 (3): 347-354, 2018. DOI:10.17094/ataunivbd.370501

Öz: Bakır (Cu) bileşikleri özellikle endüstri ve tarımda geniş kullanım alanına sahiptir. İz miktardaki Cu hayatın sürdürülebilir olması için gerekliyken fazlası organizma için toksik etki yapmaktadır. Bu çalışma akut Cu toksisitesinde melatonin ve E vitamini'nin böbreklerdeki antioksidan enzim aktivitelerine etkisinin araştırılması amacıyla planlanmıştır. Çalışmada 28 *Wistar albino* sıçanlar kontrol grubu, Cu grubu, Cu+E vitamini grubu ve Cu+Melatonin grubu şeklinde eşit dört gruba (n=7) ayrıldı. Böbrek dokusunda süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (KAT) enzim aktiviteleri ve protein karbonil içeriği analiz edildi. Ayrıca böbrek fonksiyon testleri değerlendirildi. Bakır uygulaması, kreatinin, kan üre nitrojeni (BUN), ürik asit, Na, K ve Mg değerlerini artırırken, E vitamini ve melatonin bu değerlerin azalmasında etkili oldu. Karbonil seviyesi, Cu+E vitamini veya Cu+melatonin gruplarında Cu grubuna göre önemli derecede azaldı. Doku SOD, GPx ve KAT aktiviteleri Cu maruziyeti sonucu düşmesine rağmen; E vitamini veya melatonin uygulaması, bu aktivitelerde önemli bir artışa neden oldu. Sonuç olarak, E vitamini ve melatonin takviyesi antioksidan sistemi güçlendirerek Cu temelli oksidasyonun engellenmesini sağlayabilir. Bu sayede nefrotoksisitenin gelişmesini önleyerek koruyucu bir fonksiyon gösterebilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, E vitamini, Melatonin, Oksidatif stres, Protein oksidasyonu.

The Effects of Melatonin and Vitamin E on Antioxidant Parameters in Copper Nephrotoxicity

Abstract: Copper (Cu) compounds have been widely used in various fields especially industrial processes and agriculture. Although trace amounts of Cu are essential to sustain life, excessive Cu is toxic for living organisms. This study aims to investigate the effects of vitamin E and melatonin on antioxidant enzymes activities in kidney against acute Cu toxicity. In this study, 28 *Wistar albino* rats were divided four equal groups (n=7) as control, Cu, Cu+Vitamin E, and Cu+Melatonin groups. Superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) enzymes activities and protein carbonyl content were analyzed. Also, kidney function tests were evaluated. While Cu administration increased creatinine, blood urea nitrogen (BUN), uric acid, Na, K and Mg levels, vitamin E and melatonin was effective reduction on these levels. Carbonyl level significantly decreased in Cu+Vitamin E and Cu+melatonin groups compared to Cu group. Although SOD, GPx and CAT activities in tissue decreased by Cu exposure, vitamin E and melatonin treatment showed significant increase on their activities. Consequently, vitamin E and melatonin supplements may provide prevention Cu -based oxidation by strengthening the antioxidant defense system. In this respect, it may show a protective effect by preventing the development of nephrotoxicity.

Keywords: Antioxidant, Melatonin, Oxidative stress, Protein oxidation, Vitamin E.

✉ Mehmet Ali TEMİZ

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Programı, Karaman, TÜRKİYE.
e-posta: mehmetali.temiz@gmail.com, matemiz@kmu.edu.tr

*Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (2013-EF-B025).

GİRİŞ

Bakır (Cu), vücutta bazı enzimlerin yapısına girip redoks tepkimelerinde elektron transferinde görev yapar. Özellikle pek çok oksidaz ve oksijenaz enzimlerinde kofaktör olarak kullanılmaktadır. Bakırın tavsiye edilen günlük alım miktarı (RDA) erkek ve kadın için 900 µg/gün olarak belirlenmiştir. Kritik karaciğer hasarından korunabilme temeline dayalı olarak belirlenen Cu miktarı yetişkinler için tolere edilebilir en üst alım seviyesi 10.000 µg/gün (10 mg/gün)'dür (1). Aşırı Cu alımı karaciğer (sakatat), deniz ürünleri, kabuklu yemişler, tam tahıllar ve kurutulmuş meyvelerin tüketilmesi yoluyla olabilir. Bakır maruziyeti ayrıca tarımda yaygın bir şekilde kullanılan Cu bazlı pestisitler sonucu besinlerdeki kalıntıdan dolayı da olabilir (2,3). Aynı zamanda çevresel kirlenmeden dolayı içme sularının kontamine olması (2,4), Cu kullanılan eski şebeke borularının korozyona uğramasıyla da (5) maruziyet oluşabilmektedir. Diğer taraftan Wilson hastalığı, Hindistan tipi çocukluk çağı sirozu (Indian childhood cirrhosis) ve idiyopatik Cu toksikasyonu gibi genetik defektlerden dolayı da Cu'ın organlarda birikmesi muhtemeldir (6). Böbrek ve karaciğer insanda detoksifikasyon olaylarında önde gelen organlardır. Bu yüzden toksik maddelerden en çok etkilenen dokulardır. Bakır, Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları sonucunda hidroksil (OH*) radikalinin oluşumuyla sonuçlanan bazı reaksiyonlara katılabilir ve çeşitli patolojik sonuçların gelişmesine öncülük edebilir (7). Bununla birlikte reaktif oksijen türleri (ROT) tarafından organizmada oluşan oksidatif stres, antioksidanlar tarafından baskılanmaya çalışılmaktadır.

Besin takviyesi olarak melatonin, E vitamini ve kurkumin gibi takviyelerin sağlığını iyileştirilmesi ya da hastalıklardan korunma amacıyla proflaktik kullanımları günümüzde giderek yaygınlaşmaya başlamıştır (8,9). Takviye besinlerin kullanımı bağışıklık sisteminin geliştirilmesi, bazı kanser ve

hastalıkların azaltılması bakımından yararlı olabilir (9-11). Melatonin pineal bezde üretilerek salınır ve gece en üst seviyeye ulaşır. Melatonin sirkadyen ritim, kan basıncının düzenlenmesi, onkojenez, kronobiyotik fonksiyon, retinal fizyoloji, bağışıklık fonksiyonu, apoptoz ve mitokondrial homeostaz gibi pek çok fizyolojik sürece dâhil olur (12). E vitamini en etkili ve güçlü formu olan α-tokoferol membran bütünlüğünün sürdürülmesi, hücre sinyali ve hücre döngüsünün düzenlenmesi, hücre adezyonu, trombosit agregasyonu, düz kas hücre proliferasyonu ve bağışıklık fonksiyonu gibi pek çok fizyolojik fonksiyona dâhil olur (9). Zincir kırıcı ve serbest radikal temizleyicisi olarak biyolojik membranlarda oksidatif strese karşı özellikle lipid peroksidasyonuna karşı non-enzimatik koruma sağlar (9). Çalışmanın amacı sıçanlarda bakır-indüklü böbrek hasarında melatonin ve E vitamini takviyesinin antioksidan parametrelere etkisini araştırmaktır.

MATERYAL ve METOT

Hayvanlar ve Deneysel Protokol

Çalışmanın materyalini, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Hayvanları Ünitesinden temin edilen, 200-300 gr ağırlığında, 3-4 aylık 28 adet *Wistar albino* erkek sıçanlar oluşturmaktadır. Hayvanlar *ad libitum* standart yem ve musluk suyu ile beslendi. Sudaki Cu miktarı atomik absorpsiyon spektrofometre cihazı (Thermo Scientific İCE-3000 series) ile 0.0044 mg/L olarak tespit edildi. Yemdeki Cu ve E vitamini (α-tokoferol) ise yem tedarikçisinin (Bayramoğlu yem ve un sanayi A.Ş., Erzurum) yem içeriğinde belirtmiş olduğu üzere sırasıyla 33.51 mg/kg ve 67.54 mg/kg'dır. Ratlar sıcaklığı 22±2°C, nemi %50 olan ortamda 12 saat gece/gündüz tutuldular. Çalışmada biri kontrol olmak üzere toplam 4 eşit grup (n=7) oluşturuldu. Kontrol grubuna 14 gün boyunca sadece serum fizyolojik i.p verildi. Bakır uygulanan tüm gruplara (Cu, Cu+E vitamini ve Cu+Melatonin) 10 mg/kg vücut ağırlığı

(bw) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i.p (13) gün aşırı verildi. CU+Vitamin E grubuna (Cu+Vit E) ayrıca her gün 40 mg/kg bw i.m α -tokoferol (E vitamini eşdeğeri olarak) (14) uygulandı. Cu+Melatonin grubuna da (Cu+Mel) ayrıca her gün 25 mg/kg bw i.p melatonin (15) uygulandı. Deneme 14 gün devam ettirildi. Bu çalışma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu izni ile gerçekleştirilmiştir (no. 03-27552122-105).

Örneklerin Toplanması

Deney sonrası sıçanlar ketamin+ksilazin ile anestezi altına alındı. Böbrek fonksiyon testleri için gereken kan, sıçanların kalbinden alınarak EDTA'lı tüplere aktarıldı. Daha sonra tüplerdeki kan 3000 rpm'de, 10 dakika santrifüj edildi ve Roche Modular PP otoanalizörde analizleri yapıldı. Ayrıca, sıçanların böbrek dokuları alındıktan sonra fizyolojik suyla yıkanıp kurutuldu ve analizleri yapılana kadar derin dondurucuda (Haier ULT frezer) (-80°C) muhafaza edildi. Daha sonra böbrek dokusu soğuk fosfat tuz tamponunda (pH 7.4) homojenize edilerek (Bandelin Sonopuls HD 2200) 9500 rpm 30 dk +4°C'de santrifüj (Hettich Universal 320 R) edildi. Elde edilen süpernatantlar antioksidan enzim aktiviteleri ve protein karbonil analizi için hazır hale getirildi.

Biyokimyasal Analizler

Bakır-indüklü oksidatif stres derecesi protein oksidasyonunun ölçülmesiyle değerlendirildi. Protein oksidasyonu (protein karbonil) Cayman's Protein Carbonyl Assay Kit (Cat. no 10005020) ile örneklerde karbonil bileşik olarak ölçüldü. Protein oksidasyon göstergesi, karbonil grubunun 2,4-dinitrofenil hidrazin ile reaksiyona girerek 2,4-dinitrofenilhidrazon oluşturması prensibine dayanmaktadır (16). Böbrek süperoksit dizmutaz (SOD) aktivitesi, formazondye oluşumunun inhibisyon yüzdesi hesaplanarak 505 nm dalga boyunda ölçüldü (17). Glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi, kümen hidroperoksit tarafından redükte glutatyonun (GSH) oksidasyonunu katalizlemesine

dayanarak belirlendi (18). Katalaz (KAT) aktivitesi Aebi'nin (19) metoduna göre tespit edildi. Katalaz aktivitesi 240 nm'de H_2O_2 'nin parçalanarak su ve oksijene dönüşümü ile ölçüldü. Protein miktar tayini Lowry yöntemi modifiye edilerek yapıldı. Antioksidan enzim aktiviteleri EU/mg protein olarak spesifik aktiviteleri ve protein karbonil miktarı nmol/mg protein olarak ifade edildi. Biyokimyasal analizler Boeco S-22 UV-VIS spektrofotometre cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen bulgular aritmetik ortalama (\bar{X}) ve standart sapma (\pm SD) olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki fark ANOVA testi ve ikili gruplar TUKEY HSD testi kullanılarak yapıldı. Anlamlılık sınırı $P < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Böbrek fonksiyon testleri akut böbrek hasarı göstergesi olarak kullanılır. Bakır maruziyeti gösterdi ki kreatinin, BUN (kan üre nitrojeni) ve ürik asit değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yükseldi (Tablo 1). Diğer taraftan E vitamini ve melatonin uygulaması bu değerlerin kontrol grubu seviyelerine gerilemesine yardımcı oldu ($P < 0.05$). Ayrıca serum Na^+ , K^+ , Mg^{+2} seviyeleri Cu grubunda kontrol grubuna göre anlamlı ($P < 0.05$) yükselirken; bu değerlerin hepsi Cu+Vit E ve Cu+Mel gruplarında istatistiksel olarak azalma gösterdi ($P < 0.05$) (Tablo 2). Çalışmadan elde edilen bulgulara göre protein oksidasyon göstergesi olarak böbrek karbonil seviyesi Cu grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldi (Şekil 1A). Ancak Cu uygulamasının yanında E vitamini veya melatonin kombinasyonu karbonil düzeyini önemli derecede azalttı ($P < 0.05$). Antioksidan enzim aktivitelerinden SOD, GPx ve KAT aktiviteleri Cu maruziyeti sonucu düşmesine rağmen; E vitamini veya melatonin muamelesi bu enzim aktivitelerinde önemli bir artışa neden oldu ($P < 0.05$; Şekil 1B, 1C ve 1D).

Tablo 1. Böbrek fonksiyon test değerleri.**Table 1.** Kidney function test values.

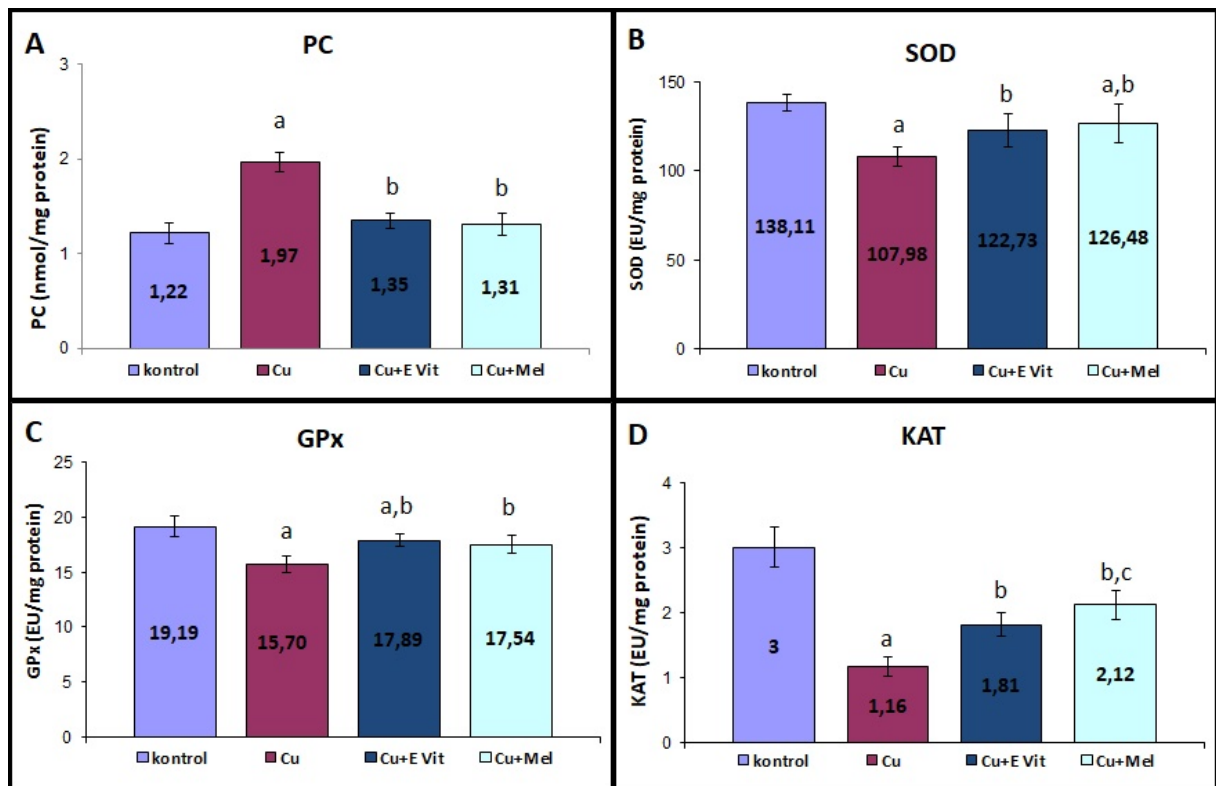
Böbrek Fonksiyon Testleri				
SERUM	Kontrol	Cu	Cu+Vit E	Cu+Mel
	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD
Kreatinin (mg/dL)	0,22±0,05	0,64±0,10 ^a	0,50±0,10 ^{a,b}	0,48±0,05 ^{a,b}
BUN (mg/dL)	22,7±2,5	35,7±4,8 ^a	27,0±4,5 ^b	27,3±1,8 ^b
Ürik asit (mg/dL)	1,34±0,07	3,70±0,42 ^a	1,74±0,25 ^b	1,70±0,58 ^b

Cu: Bakır grubu, Cu+Vit E: Bakır + E vitamini grubu, Cu+Mel: Bakır + Melatonin grubu, BUN: Kan Üre Nitrojeni, a: Kontrol grubundan istatistiksel açıdan farklı (P<0.05), b: Cu grubundan istatistiksel açıdan farklı (P<0.05).

Tablo 2.Ratların serum elektrolit parametreleri.**Table 2.** Serum electrolyte parameters of rats.

Elektrolit	Kontrol	Cu	Cu+Vit E	Cu+Mel
	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD
Na (mmol/L)	138,2±2,0	148,5±5,2 ^a	141,7±3,8 ^b	140,3±3,2 ^b
K (mmol/L)	5,1±0,9	6,3±0,3 ^a	4,8±0,2 ^b	4,9±0,6 ^b
Cl (mmol/L)	98,2±1,9	98,0±1,9	98,5±6,9	98,2±6,9
Ca (mg/dL)	9,9±0,5	9,5±0,7	9,6±0,3	9,4±0,5
Mg (mg/dL)	2,3±0,4	3,8±0,8 ^a	2,6±0,4 ^b	2,8±0,3 ^b
P (mg/dL)	8,2±1,3	9,7±1,1	6,5±0,9 ^{a,b}	6,8±1,0 ^b

Cu: Bakır grubu, Cu+Vit E: Bakır + E vitamini grubu, Cu+Mel: Bakır + Melatonin grubu, a: Kontrol grubundan istatistiksel açıdan farklı (p<0,05), b: Cu grubundan istatistiksel açıdan farklı (p<0,05).



Cu: Bakır grubu, Cu+Vit E: Bakır + E vitamini grubu, Cu+Mel: Bakır + Melatonin grubu, PC: Protein Karbonil; SOD: Süperoksit dismutaz; GPx: Glutasyon peroksidaz; KAT: Katalaz, a: Kontrol grubundan istatistiksel açıdan farklı (P<0.05), b: Cu grubundan istatistiksel açıdan farklı (P<0.05), c: Cu+VitE grubundan istatistiksel açıdan farklı (P<0.05).

Şekil 1. Deney gruplarının Protein karbonil seviyeleri (A) ile SOD (B), GPx (C) ve KAT (D) enzim aktiviteleri.**Figure 1.** Protein carbonyl levels (A), and SOD (B), GPx (C) and CAT (D) enzymes activities of experimental groups.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Mevcut çalışmada Cu'nun toksik etkileri, serumda artan böbrek fonksiyon değerleri, böbrek dokusunda yüksek karbonile protein içeriği ve antioksidan enzim aktivitelerindeki değişim ile gösterilmiştir. Böbrek fonksiyonunun bozulması sonucu metabolik yıkım ürünlerinin ve yabancı kimyasal maddelerin atım kapasitesi (üre, kreatinin, ürik asit, ilaçlar, katkı maddeleri) ve vücut sıvı elektrolit (Na^+ , K^+ , H^+ , HCO_3^- (bikarbonat), Ca^{+2} , P , Mg^{+2}) dengesinin sağlanmasını etkilediği bilinmektedir (20,21). Sunulan çalışmada Cu uygulaması sonucu kontrol grubuna göre BUN, kreatinin ve ürik asit seviyelerinin yükseldiği ve elektrolit dengesinin bozulduğu gözlenmiştir. Bakırın renal atılımı 24 saatlik periyotta 10-20 μg civarındadır. Artmış Cu, böbrek glomerüllerinden süzülme ve proksimal tübüllerden emilmektedir. Bu yüzden fazla Cu, doğrudan tübüler hücrelere zarar verebilir (22). Ayrıca nano Cu uygulamasının böbrek proksimal tübüllerde yaygın şekilde nekroza neden olduğunu bildirilmiştir (23). Yapılan çalışmada elektrolitlerin azalmış atılımının Cu-nefrotoksisine bağlı olarak gelişen glomerüler ve tübüler disfonksiyondan dolayı olduğu düşünülmektedir. Diğer taraftan mevcut çalışmada metabolik yıkım ürünlerindeki (kreatinin, üre ve ürik asit) yükselme Arnal ve ark. (24)'nın bulguları ile benzerlik göstermektedir. Arnal ve ark. (24) Cu içerikli pestisit kullanan tarım işçilerinin aynı bölgede yaşayan ancak pestisit kullanmamış kişilere göre üre ve kreatinin seviyelerinin daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Sıçanlara 5 gün boyunca 200 mg/kg oral nano Cu uygulamasının BUN seviyesini 5 kattan daha fazla ve kreatinin seviyesini ise 10 kattan daha fazla (23); 100 ve 200 mg/kg oral bakırın 60 ve 90 gün kronik uygulamasının ise BUN seviyesini anlamlı olarak yükselttiği (25) belirtilmiştir. Benzer olarak subakut düşük doz cıvanın ve kurşunun (26) ve ayrıca kadmiyumun (27) ürik asit, üre ve kreatinin seviyesini arttırdığı gösterilmiştir. Diğer taraftan mevcut çalışmada Cu ile birlikte E vitamini veya melatonin takviyesi kreatinin ve BUN seviyelerini istatistiki olarak düşürmüştür. Elde edilen bulguların daha önce

yapılan çalışmalar ile uyumlu olarak 0.1 mg/kg içme suyuna karıştırılan Cu'nun üre ve kreatinin seviyelerini arttırdığı bununla birlikte 20 mg/kg E vitamini tedavisiyle (28) ve cıva maruziyeti ile birlikte 100 mg/kg E vitamininin ürik asit, üre ve kreatinin seviyelerini azalttığı (29) ifade edilmiştir. Sıçan böbrek dokusunda kadmiyum-indüklü toksisitede E vitamini takviyesinin BUN ve kreatinin seviyelerini düşürmede etkili olduğu ve E vitamininin potansiyel bir karaciğer ve böbrek koruyucu olabileceği vurgulanmıştır (30).

Bakır, Haber-Weiss reaksiyonu esnasında oluşan reaktif hidroksil radikali (OH^*) aracılığıyla protein gibi makromoleküllerin oksidasyonuna öncülük edebilir. Hücre içi ve hücre dışı multikatalitik proteinazlar sıklıkla oksidasyondan dolayı degrade olurlar. Bu nedenle, proteinlerin inaktif hale gelmesi çeşitli oksidatif ve patolojik sonuçlara sebep olur (31). Mevcut çalışmada böbrekte proteinlerin oksidasyon göstergesi olarak kullanılan karbonil içeriği bakır grubunda önemli derecede artmıştır. Ancak E vitamini ve melatonin tedavi gruplarında ise karbonil içeriği bakır grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı görülmektedir. Daha önce 7 veya 35 ppm CuCO_3 'ün 30 gün boyunca hem oral hem de i.p uygulamasının sıçan beyin dokusunda protein oksidasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (32). Diğer taraftan E vitamini (6) ve melatoninin (33) bakırın neden olduğu lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Literatürde lipid peroksidasyon üzerine çalışma mevcutken (33,34) sıçan böbrek dokusu protein oksidasyonuna etkisi üzerine yapılan çalışma mevcut değildir.

Böbrek SOD, GPX ve KAT aktiviteleri bakır maruziyeti sonucu azalırken, E vitamini ve melatonin takviyesiyle bu enzim aktiviteleri artış göstermiştir. Oksidan/antioksidan dengenin sağlanması normal yaşam döngüsünde oldukça hassastır. Ancak, bakır kaynaklı Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları sonucu aşırı artan ROT'ların elimine edilememesiyle antioksidan aktivitelerinde bir azalma görülebilir. Bu antioksidan enzim aktivitelerinin azalmasının nedeni (I) enzimin tüketilmesinden, ya da (II) enzimlerinde

bir protein yapısına sahip olduğu düşünüldüğünde protein oksidasyonundan dolayı enzimin oksidatif modifikasyona uğramalarından veya (III) inaktif hale gelmelerinden kaynaklanmış olabilir (35,36). Ek olarak Speisky ve çalışma arkadaşlarının (37) belirttiği üzere bakırın yüksek seviyelerine maruz kalmak hücrede glutatyon seviyesinin önemli olarak azalmasına neden olmaktadır. Bundan dolayı glutatyonu ko-substrat olarak kullanan GPx aktivitesinin bakır grubunda azaldığı düşünülmektedir. Daha önce Ajith ve çalışma arkadaşları (38) sisplatin-indüklü böbrek hasarında yüksek doz E vitamini (500 mg/kg) uygulamasıyla SOD, GPx ve KAT aktivitelerinin arttığını ve bu sonucun E vitamini elektrofilik serbest radikal temizleme özelliğinden dolayı olabileceğini ifade etmişlerdir (38). Çalışmamızda elde edilen bulgular Ossola ve ark. (39)'nın bakır uygulaması sonucu sıçan karaciğerinde azalan GPx ve KAT aktivitesi, E vitamini ve melatonin tedavisiyle birlikte önemli bir artış olduğu bulgusuyla benzerlik göstermektedir. Başka bir çalışma (40) ise kurşun ile birlikte melatonin tedavisi böbrek SOD aktivitesinin iyileştirilmesine katkı sağlamıştır. Ayrıca melatoninin, kurşunun neden olduğu böbreklerdeki morfolojik hasarların oluşumunu azalttığı bildirilmiştir. E vitamini kromanol halkasının oksidasyonu zincir kırıcı antioksidan fonksiyonun temelini oluşturur. E vitamini, membranlarda çoklu doymamış yağ asit türleri üzerindeki atakları önlemek için bir yağ açıl serbest radikale (ya da $O_2^{\cdot-}$) fenolik hidrojenin verilmesi ile zincir kırıcı etkiyi gerçekleştirir (9). Bu varsayım temelinde E vitamini oksidatif stresi kontrol ederek antioksidan enzimleri asiste ettiği düşünülmektedir. Diğer taraftan melatoninin ise response elementler vasıtasıyla gen ekspresyonunu, mRNA'nın yarılanma ömür stabilitesini veya bazı enzimlerin aktivitelerini (SOD, GPx, GR, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz ve γ -glutamilsistein sentetaz) attırarak oksidatif stresi baskılamış olabilir (41,42). E vitamini muhtemelen bu etkileri mikrozomal membranları oksijen-metal kompleksi gibi peroksidasyon bileşiklerine karşı koruyarak ve zincir

kırıcı antioksidan aktivitesi sayesinde ortaya koymaktadır (43). Bununla birlikte melatonin de bu etkileri (I) serbest radikalleri detoksifiye ederek "direkt antioksidan etkisiyle" (44), (II) bazı antioksidan enzim aktivitelerinin gen ekspresyonunu/aktivitesini arttırarak "antioksidan enzim-aracılı etkisiyle" (45) ya da prooksidan enzim aktivitelerini inhibe edip serbest radikallerin oluşumunu azaltarak "prooksidan enzim-aracılı etkisiyle" (44) ortaya koyduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, E vitamini ve melatoninin protein oksidasyonunu azaltarak ve antioksidan savunma sistemini güçlendirerek bakır-indüklü nefrotoksisitenin engellenmesine yardımcı olduğu açık bir şekilde gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Dietary Reference Intakes., 2001. Dietary Reference Intakes. Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients. Washington (DC): National Academies Press (US). Chapter 7- Copper, 224-257.
2. WHO, 2003. Copper in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization (WHO/SDE/WSH/03.04/88).
3. Regueiro J., Lopez-Fernandez O., Rial-Otero R., Cancho-Grande B., Simal-Gandara J., 2015. A review on the fermentation of foods and the residues of pesticides—Biotransformation of pesticides and effects on fermentation and food quality. Crit Rev Food Sci Nutr, 55, 839-863.
4. Harvey PJ., Handley HK., Taylor MP., 2016. Widespread copper and lead contamination of household drinking water, New South Wales, Australia. Environ Res, 151, 275-285.
5. Brewer GJ., 2012. Metals in the causation and treatment of Wilson's disease and Alzheimer's disease, and copper lowering therapy in medicine. Inorg Chim Acta, 393, 135-141.
6. Gaetke LM., Chow CK., 2003. Copper toxicity,

- oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189, 147-163.
7. Kanti Das TK., Wati MR., Fatima-Shad K., 2015. Oxidative stress gated by Fenton and Haber Weiss reactions and its association with Alzheimer's disease. *Arch Neurosci*, 2, e60038.
 8. Pham-Huy LA., He H., Pham-Huy C., 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci*, 4, 89-96.
 9. Combs GF., McClung JP., 2017. *The Vitamins: Fundamental aspects in nutrition and health*. 5th ed., 182-508, Academic Press, California.
 10. Carrillo-Vico A., Lardone PJ., Alvarez-Sanchez N., Rodriguez-Rodriguez A., Guerrero JM., 2013. Melatonin: Buffering the Immune System. *Int J Mol Sci*, 14, 8638-8683.
 11. Cutando A., Lopez-Valverde A., Arias-Santiago S., de Vicente J., de Diego RG., 2012. Role of melatonin in cancer treatment. *Anticancer Res*, 32, 2747-2753.
 12. Hardeland R., Cardinali DP., Srinivasan V., Spence DW., Brown GM., Pandi-Perumal SR., 2011. Melatonin a pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Prog Neurobiol*, 93, 350-384.
 13. Saleha-Banu B., Ishaq M., Danadevi K., Padmavathi P., Ahuja YR., 2004. DNA damage in leukocytes of mice treated with copper sulfate. *Food Chem Toxicol*, 42, 1931-1936.
 14. Giray B., Gürbay A., Hincal F., 2001. Cypermethrin-induced oxidative stress in rat brain and liver is prevented by Vitamin E or allopurinol. *Toxicol Lett*, 118, 139-146.
 15. Zararsiz I., Sarsilmaz M., Tas U., Kus I., Meydan S., Ozan E., 2007. Protective effect of melatonin against formaldehyde-induced kidney damage in rats. *Toxicol Ind Health*, 23, 573-579.
 16. Levine RL., Garland D., Oliver CN., Amici A., Climent I., Lenz AG., Ahn BW., Shaltiel S., Stadtman ER., 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Method Enzymol*, 186, 464-478.
 17. McCord JM., Fridovich I., 1969. Superoxide dismutase. an enzymic function for erythrocyte (Hemocuprein). *J Biol Chem*, 244, 6049-6055.
 18. Paglia DE., Valentine WN., 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, 70, 158-169.
 19. Aebi H., 1984. Catalase in vitro. *Method Enzymol*, 105, 121-126.
 20. Langston C., 2017. Managing fluid and electrolyte disorders in kidney disease. *Vet Clin Small Anim*, 47, 471-490.
 21. Lin J., Cheng Z., Ding X., Qian Q., 2018. Acid-base and electrolyte managements in chronic kidney disease and end-stage renal disease: Case-based discussion. *Blood Purif*, 45, 179-186.
 22. Lifton RP., Somlo S., Giebisch GH., Seldin DW., 2009. *Genetic Diseases of the Kidney*. 1st ed., 710-711, Academic Press, New York.
 23. Lei R., Wu C., Yang B., Ma H., Shi C., Wang Q., Wang Q., Yuan Y., Liao M., 2008. Integrated metabolomic analysis of the nano-sized copper particle-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. A rapid in vivo screening method for nanotoxicity. *Toxicol App Pharmacol*, 232, 292-301.
 24. Arnal N., Astiz M., Alaniz de MJT., Marra CA., 2011. Clinical parameters and biomarkers of oxidative stress in agricultural workers who applied copper-based pesticides. *Ecotoxicol Environ Saf*, 74, 1779-1786.
 25. Kumar V., Kalita J., Misra UK., Bora HK., 2015. A study of dose response and organ susceptibility of copper toxicity in a rat model. *J Trace Elem Med Biol*, 29, 269-274.
 26. Apaydin FG., Bas H., Kalender S., Kalender Y., 2016. Subacute effects of low dose lead nitrate and mercury chloride exposure on kidney of rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, 41, 219-224.
 27. Ansari MA., Raishb M., Ahmad A., Alkharfy KM., Ahmad SF., Attia SM., Alsaad AMS., Bakheet SA., 2017. Sinapic acid ameliorate cadmium-induced nephrotoxicity: In vivo possible involvement of oxidative stress, apoptosis, and inflammation via

- NF- κ B downregulation. *Environ Toxicol Pharmacol*, 51, 100-107.
28. Osfor MMH., Ibrahim HS., Mohamed YA., Ahmed AM., Abd El Azeem AS., Hegazy AM., 2010. Effect of alpha lipoic acid and vitamin E on heavy metals intoxication in male albino rats. *J Am Sci*, 6, 56-63.
29. Aslanturk A., Uzunhisarcikli U., Kalender S., Demir F., 2014. Sodium selenite and vitamin E in preventing mercuric chloride induced renal toxicity in rats. *Food Chem Toxicol*, 70, 185-190.
30. Ahmadizadeh M., Baghpa AR., 2008. The preventive effect of vitamin E on cadmium chloride-induced toxicity in rat liver and kidney. *Jundishapur Sci Med J*, 6, 404-413.
31. Stadtman ER., 2006. Protein oxidation and aging. *Free Rad Res* 40, 1250-1258.
32. Arnal N., Dominici L., de Tacconi MTJ., Marra CA., 2014. Copper-induced alterations in rat brain depends on route of overload and basal copper levels. *Nutrition*, 30, 96-106.
33. Parmar P., Limson J., Nyokong T., Daya S., 2002. Melatonin protects against copper-mediated free radical damage. *J Pineal Res*, 32, 237-242.
34. Zhang SSZ., Noordin MM., Rahman SOA., Haron MJ., 2000. Effects of copper overload on hepatic lipid peroxidation and antioxidant defense in rats. *Vet Hum Toxicol*, 42, 261-264.
35. Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Milzani A., Colombo R., 2003. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*, 329, 23-38.
36. Nyström T., 2005. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. *EMBO J*, 24, 1311-1317.
37. Speisky H., Gomez M., Burgos-Bravo F., Lopez-Alarcon C., Jullian C., Olea-Azar C., Aliaga ME., 2009. Generation of superoxide radicals by copper-glutathione complexes: Redox-consequences associated with their interaction with reduced glutathione. *Bioorg Med Chem*, 17, 1803-1810.
38. Ajith TA., Usha S., Nivitha V., 2007. Ascorbic acid and α -tocopherol protect anticancer drug cisplatin induced nephrotoxicity in mice: a comparative study. *Clin Chim Acta*, 375, 82-86.
39. Ossola JO., Groppa MD., Tomaro ML., 1997. Relationship between oxidative stress and heme oxygenase induction by copper sulfate. *Arch Biochem Biophys*, 337, 332-337.
40. El-Sokkary GH., Abdel-Rahman GH., Kamel ES., 2005. Melatonin protects against lead-induced hepatic and renal toxicity in male rats. *Toxicology*, 213, 25-33.
41. Mayo JC., Sainz RM., Antolin I., Herrera F., Martin V., Rodriguez C., 2002. Melatonin regulation of antioxidant enzyme gene expression. *Cell Mol Life Sci*, 59, 1706-1713.
42. Reiter RJ., Tan DX., Osuna C., Gitto E., 2000. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci*, 7, 444-458.
43. Sajitha GR., Jose R., Andrews A., Ajantha KG., Augustine P., Augusti KT., 2010. Garlic oil and vitamin e prevent the adverse effects of lead acetate and ethanol separately as well as in combination in the drinking water of rats. *Indian J Clin Biochem*, 25, 280-288.
44. Zhang H., Zhang Y., 2014. Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. *Pineal Res*, 57, 131-146.
45. Emamgholipour S., Hossein-Nezhad A., Ansari M., 2016. Can melatonin act as an antioxidant in hydrogen peroxide-induced oxidative stress model in human peripheral blood mononuclear cells? *Biochem Res Int*, 2016, 1-8.