



DeneySEL Olarak Oluşturulan Kontrast Madde Nefropatisinde Arginaz, Kreatinin ve Üre Üzerine Kalpain İnhibisyonunun Etkisi*

Mehtap ÖZÇELİK¹, Mine ERİŞİR², Osman GÜLER³, Kenan Evren ÖZTOP⁴

¹Fırat Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Elazığ-TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

³Veteriner Kontrol Enstitüsü, Elazığ-TÜRKİYE

⁴Akyazı Devlet Hastanesi Dahiliye Polikliniği, Sakarya-TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmanın amacı, kontrast madde (KM) tarafından oluşturulan kontrast madde nefropatisinde (KMN), kalpain inhibisyonunu sağlayan kalpain inhibitörü-1 (KAL-1)'in karaciğer arginaz aktivitesi ile serum üre ve kreatinin düzeyleri üzerine etkilerini araştırmaktır. Çalışmada, 28 adet 8-10 haftalık Sprague Dawley cinsi dişi ratlar kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 7 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı: Kontrol grubu, KM verilen grup, KAL-1 verilen grup, KM ve KAL-1 verilen grup (KM+KAL-1). Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı. Arginaz enzim aktivitesi Tiyosemicarbazid Diasetilmonoxim Üre (TDMU) metodu, serum kreatinin düzeyi Jaffe yöntemiyle, serum üre miktarı otoanalizörde Kinetik UV Assay yöntemi ile yapıldı. Karaciğer arginaz enzim aktivitesi KM, KAL-1 ve KM+KAL-1 uygulanan ratlarda kontrol grubuna göre düşük bulundu ($p<0.001$). Tek başına ve KM ile birlikte KAL-1 uygulaması, KM grubuna göre arginaz aktivitesinde daha fazla düşüşe sebep olmuştur. Serum üre ve kreatininin değerleri KM grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p<0.01$). Serum kreatininin ve üre seviyesi KAL-1 ve KM+KAL-1 grubunda, KM grubuna göre önemli ölçüde düşüş gösterdi ($p<0.01$). Kreatinin ve üre seviyesinin KM grubunda yüksek olması nefropatinin geliştiğini, KAL-1 verilen grupta bu değerlerin normale yaklaşması ise nefropatiyi KAL-1'den kaynaklandığını düşündürmüştür. Arginaz enzim aktivitesinin ise KM grubunda önemli derecede düşmesi, KAL-1 uygulanmasının ise bu düşüşü engellememesi; serum üre düzeyinde daha fazla artıştan korunmak için karaciğerin daha fazla üre üretmemesi amacı ile KAL-1'in arginazın düşüşünü engellemediği şeklinde yorumlanabilir.

Anahtar Kelimeler: Arginaz, kalpain inhibitörü, kontrast madde nefropatisi, kreatinin, üre

Effects of Calpain Inhibition on Arginase, Creatinine and Urea in Experimental Contrast Medium- Induced Nephropathy

Summary: The purpose of this study is to investigate the activity of liver arginase and examine the effects on the levels of serum urea and creatinine of calpain inhibition (CAL-1) in contrast medium nephropathy (CMN) developed by contrast medium. Twenty-eight Sprague Dawley female rats aged 8-10 weeks were used. The experimental animals were divided into 4 groups where there were animals in each namely control, group given contrast medium (CM), group given CAL-1 (CAL-1) and group given CAL-1 and contrast medium (CAL-1 + CM). No application was made to the control group. Arginase enzyme activity was measured by Tiyosemicarbazid Diacetylmonoxim Urea (TDMU) method. The level of serum creatinine was performed by Jaffe method and the amount of serum urea was performed by kinetic UV assay method in autoanalyzer. Liver arginase enzyme activity in rats given CM, CAL-1, CM + CAL-1 was found significantly low compared to the rats in the control group ($p<0.001$). The CAL-1 alone or in combination with CM application led to further declines in arginase activity compared to the CM group. The levels of serum creatinine and urea in the CM group were found significant higher than that of control group ($p<0.01$). The levels of serum creatinine and urea in CAL-1 and CM + CAL-1 showed a significant decrease compared to the CM group ($p<0.01$). That the levels of creatinine and urea are high in the CM group showed the development of nephropathy, and that these values being closer to normal in the CAL-1 group showed that CAL-1 reduced nephropathy. The significant decrease in the activity of the arginase enzyme in the CM group, and the CAL-1 application not preventing this decrease may be interpreted as CAL-1 did not prevent the decrease of arginase because more urea was not produced in the liver to avoid further increases in the level of serum urea.

Key Words: Arginase, calpain inhibitor, contrast medium nephropathy, creatinine, urea

Giriş

Üre döngüsü; amino asitlerin, aminlerin ve nükleik asitlerin katabolizmasıyla oluşan amonyağın detoksifikasyonunda sorumlu bir döngüdür. Döngünün son basamağında fonksiyon gören arginaz (L-arginin amidinohidrolaz, EC 3.5.3.1), L-argininin üre ve ornitine hidrolizini sağlayan bir enzimdir (17). İki izoenzime sahiptir. Arginaz I, sitozolik formu olup karaciğere yerleşmiştir ve amonyağın detoksifikasyonundan sorumludur.

Arginaz II, mitokondrial formu olup, üre döngüsü bulunmayan extrahepatik dokularda bulunmaktadır. Bu izoenzim proteinlerin yapısına katılan prolin ve hidroksiprolinin sentezinin prekürsörü olan ornitin sentezinde (10, 11); poliaminlerin biyosentezinde; immun cevap oluşumunda; ayrıca tümör biyolojisinde de rol oynadığı saptanmıştır (8, 13, 25). Kontrast madde (KM), son yıllarda klinik pratikte kullanımı giderek artan ve tanıya gitmede oldukça faydalı olan ajanlardır (18). Kontrast maddeler uygulandıktan sonra tanı için oldukça fazla olan katkıları yanında vücutta istenmeyen etkileri de gözlenebilmektedir. Bu etkilerin bir kısmı ilaç tedavisi gerektirmeyen minör reaksiyonlar iken, bir kısmı medikal destek olmaksızın, engellenemeyen kalıcı hasarlara neden

Geliş Tarihi / Submission Date : 11.12.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 03.01.2014

* Bu çalışma IV. Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresinde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

olabilen ciddi komplikasyonlardır (12). Bunlardan en önemlisi kontrast madde nefropatisi (KMN)' dir (14). Kontrast madde nefropatisinin spesifik bir tanınal belirleyicisi olmamasına rağmen halen en çok kabul gören ve ekonomik tanı KM verildikten sonra serum kreatininin ve üre değerlerinin ölçülmesi ile yapılır (1, 18). Tedavisinin ise metabolizmayı desteklemek ve koruyucu önlemlerin alınması gelişecek nefropatiyle mücadelede daha önemli bir yer almaktadır (18, 21). Kalpain inhibisyonu, KMN'i önleme anlamında oldukça önem arz etmektedir. Çalışmalar, hem kalpain hem de kaspazların proksimal tübüllerde hipoksiyle veya toksik ajanlarla indüklenen hücre membran hasarında rol oynadıklarını göstermektedir (4, 5, 19). Kalpainlerin beyin, karaciğer, kalp ve böbrek hücrelerinde hipoksik / iskemik hasarın mediyatörleri oldukları gösterilmiş olup, bunların inhibisyonuyla hasarın azaltılabileceği hatta önleyebileceğini bildiren çalışmalar mevcuttur (20, 23). Bir düzineden fazla kalpain inhibitörü bilinmektedir. Bunlar geçiş bölgesi inhibitörleri, irreversible inhibitörler, kalmodulin antagonistleri ve poliaminlerdir (23). Kalpain inhibitör-1 -Acetyl-Leu-Leu-norleucinal peptid aldehit ve keton yapısında olan geçiş bölgesi inhibitörlerinden olup, kalpainin aktif bölgesine geri dönüşümsüz olarak bağlanır. Kalpain inhibitör-1 (KAL-1)'in katarakt, iskemik serebrovasküler olay, miyokard infarktüsü gibi çeşitli patolojik durumlarda kalpain aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir (3). Kalpain inhibitör-1 ile sağlanan kalpain inhibisyonunun ratlarda oluşturulan renal hipoksi modelinde proksimal tübül hücrelerindeki sitoprotektif etkileri gösterilmiştir (2)

Bu çalışmada, KMN'de KAL-1 ile oluşturulan kalpain inhibisyonunun serum üre ve kreatinin düzeyleri üzerine etkisinin araştırılması yanında hem arginaz enziminin hem de üre döngüsünün bulunduğu tek doku olan karaciğer dokusunda, ürenin oluşmasında görev alan arginaz enziminin aktivite düzeylerinin ölçülmesi de amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Kontrast Madde Nefropatisi Oluşturulması

Araştırmacılar ratlarda deneysel olarak kontrast madde nefropatisi indüksiyonu için çeşitli yöntemler kullanılmaktadırlar. Tüm yöntemlerdeki ortak nokta kontrast madde enjeksiyonu öncesi renal hasara yol açıp KMN için predispose bir duurm oluşturmaktır (24). Çalışmalarda en sık kullanılan yöntem belirli bir süre dehidratasyon sonrasında kontrast madde enjeksiyonu olup, çalışmada bu yöntem uygulandı.

Deney Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışma için, Fırat Üniversitesi Hayvan Denepleri Etik Kurulu (FÜHADEK) 25.05.2010 tarihli 2010/9 toplantı sayılı ve 49 karar numarası ile etik kurul onayı alındı. Çalışma, standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak, Fırat Üniversitesi

Deneysel Araştırma Merkezi'nde FÜDAM yapıldı.

Deneysel çalışmalar, ağırlıkları 150- 200 gr olan, 8- 10 haftalık toplam 28 adet Sprague Dawley ırkı rat üzerinde gerçekleştirildi. Ratlar dört gruba ayrıldı:

1. *Kontrol grubu* (n=7): 7 günlük deney süresince herhangi bir işlem yapılmadı ve normal laboratuvar koşullarında yaşatıldılar. Çalışma sonunda ratlardan anestezi altında kan ve karaciğer dokusu alındı.

2. *Kontrast madde grubu* (KM, n=7): Bu gruptaki ratlar kontrast madde verilmeden önce 3 gün süreyle susuz bırakıldıktan sonra kuyruk venalarından 6 ml/kg diatrizoate verildi (24). Kontrast madde uygulandıktan 24 saat sonra kontrol grubunda olduğu gibi örnekler alındı.

3. *Kalpain inhibitör-1 grubu* (KAL-1, n=7): Ratlar 3 gün susuz bırakıldıktan sonra 10 mg/kg dozunda KAL-1 intraperitoneal (i.p.) olarak verildi. KAL-1 uygulandıktan 1 saat sonra 6 ml/kg % 0.9 sodyum klorür kuyruk venalarından verildi. KAL-1 uygulandıktan 24 saat sonra kontrol grubunda olduğu gibi örnekler alındı.

4. *Kontrast madde+Kalpain inhibitör-1 grubu* (KM+KAL-1, n=7): Dördüncü gruptaki ratlara, 3 gün süreyle susuz bırakıldıktan sonra ikinci grupta uygulanan şekilde diatrizoate verildi. Diatrizoate verilmesinden 1 saat önce KAL-1 10 mg/kg olacak şekilde i.p. olarak verildi ve 24 saat sonra diğer gruplarda olduğu gibi örnekler alındı.

Araştırmada kullanılan kanların hemen serumları ayrıldı. Serum kreatinin ölçümü Jaffe yöntemi ile serum üre ölçümü otoanalizörde kinetik UV assay yöntemi ile yapıldı. Sonuçlar mg/dl olarak ifade edildi. Karaciğer dokuları %0.9'luk NaCl içinde en kısa zamanda laboratuvara getirildi. Alınan dokular iki süzgeç kağıdı arasında kurutulduktan sonra distile su (1/10, w/v) ile sulandırılarak homojenize (Ultra turax T-25) edilip homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4°C'de (Sorvall RC-5B) 16000xg'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra üste kalan süpernatant alınarak enzim kaynağı olarak kullanıldı. Enzim aktivitesi tiyosemicarbazid diasetilmonoxim üre (TDMU) metodu ile ölçüldü (9).

Enzim kaynakları 4 mM'lık MnCl₂ ile 55 °C'de 10 dakika preinkübasyona tabii tutuldu. Deney ortamı için; pH'ları 9.7 olan L-argininden (50 mM) 0.3 ml, karbonat tamponundan (75 mM) 0.4 ml ve üzerine preinkübe edilmiş enzim kaynağından 0.3 ml konularak 37 °C'de 10 dakika çalkalamalı su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 3 ml asit ayırıcı (sülfürik ve fosforik asit karışımı) konularak reaksiyon durduruldu ve 2 ml renk ayırıcı (tiyosemicarbazid ve diasetilmonoxim karışımı) ilave edilerek 10 dakika kaynar su hamamında bekletilip 520 nm'de absorbanslar okundu.

Örneklerin absorbanslarından sıfır zaman körlerinin

Tablo 1. Kontrast madde nefropatisinde KAL-1'in karaciğer arginaz aktivitesi ile serum üre ve kreatinin düzeyleri üzerine etkisi

	n	Kontrol	KM	KAL-1	KM + KAL-1	Önem kontrolü (ANOVA)
		$\bar{x} \pm s \bar{x}$	$\bar{x} \pm s \bar{x}$	$\bar{x} \pm s \bar{x}$	$\bar{x} \pm s \bar{x}$	
Arginaz (U)	7	20.43±2.31 ^a	14.17±1.29 ^b	11.77±1.04 ^{bc}	8.03±1.11 ^c	P <0.001
Üre (mg/dL)	7	39.85±1.95 ^a	46±2.44 ^b	41.28±1.79 ^a	41.14±2.19 ^a	P <0.01
Kreatinin (mg/dL)	7	0.50±0.04 ^a	0.67±0.03 ^b	0.52±0.03 ^a	0.48±0.03 ^a	P <0.01

^{abc}: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılık istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).

absorbansları (zero time blank) çıkarılarak üre miktarları ünite olarak değerlendirildi (ÜNİTE: µmol üre/mg protein x saat). Protein miktarı ise Lowry Metodu ile ölçüldü (15).

İstatistiksel analiz

Deneme grupları arasında arginaz, üre ve kreatinin düzeyleri arasındaki farkın kontrolünde SPSS 12.0 paket programı kapsamında varyans analizi ve Duncan testinden faydalanıldı ve sonuçlar ortalama ± standart hata olarak gösterildi. Gruplar arasındaki farklılıklar önem seviyesi p<0.05 esas alınarak değerlendirildi.

Bulgular

Kontrast madde nefropatisinde, KAL-1'in karaciğer arginaz aktivitesi ile serum üre ve kreatinin düzeyleri üzerine etkisi Tablo 1'de verildi. Karaciğer arginaz enzim aktivitesi KM, KAL-1 ve KM+KAL-1 uygulanan ratlarda kontrol grubuna göre önemli olarak düşük bulundu. Tek başına ve KM ile birlikte KAL-1 uygulaması, KM grubuna göre arginaz aktivitesinde daha fazla azalmaya sebep olduğu ve bu azalmanın ise KM+KAL-1 grubunda istatistik olarak önemli olduğu bulundu (p<0.001). KM grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, serum üre ve kreatinin düzeylerinde istatistik olarak anlamlı artış saptandı (p<0.01). Tek başına ve KM ile birlikte KAL-1 uygulaması KM grubuna göre serum üre ve kreatinin düzeylerinde anlamlı azalmaya sebep olduğu (p<0.01), böylece serum üre ve kreatinin düzeyleri kontrol değerlerine yaklaştığı gözlemlendi. KAL-1 grubu ve KM+KAL-1 grubu kendi aralarında değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 1).

Tartışma

KMN'nin spesifik bir tanısal belirleyicisi olmamasına rağmen halen en çok kabul gören ve ekonomik tanı yöntemi KM verildikten sonra serum kreatinin ve üre değerlerinin ölçümüne dayanır (1, 18). KM uygulamasını takiben ilk 24 saat içinde serum kreatinin seviyelerinin yükselmesi KMN tanısı için gereklidir (22). Deneysel hayvan modelleriyle yapılan çalışmalarda tek başına KM verilerek

nefropati oluşturulması güç görünmektedir. Deneysel kontrast nefropatisini indüklemek için dehidratasyon, diüretikler, nefrektomi, gliserol gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır (23). Parvez ve ark. (16), 24 saat dehidratasyon sonrası KM verilmesi ile renal hasar ve serum kreatinin düzeylerinde yükselme gözlenmemiş, gliserol injeksiyonu veya indometazin ile birlikte KM uygulandığında KMN olduğu saptanmıştır. Toprak ve ark. (22) ise 72 saatlik dehidratasyon süresi sonrası intravenöz olarak uygulanan 6 ml/kg diatrizoatin kontrol grubuna göre anlamlı olarak serum kreatinin ve MDA seviyelerini yükselttiğini göstermişlerdir. Bir günlük dehidratasyon sonrası 10 ml/kg KM ile renal hasarlanma ve serum kreatinin değerlerinde yükselme gözlemlendi bildirilmiştir (26). Kontrol grubuna göre, KM grubunun üre ve kreatinin değerleri anlamlı olarak yüksek saptanması (p<0.01) bu çalışmalarla paralellik göstermektedir. KM grubundaki serum kreatinin seviyelerindeki yükselme KMN'nin tanı ve klinik seyri ile benzerlik göstermektedir (1, 12, 14, 18).

Çalışmalar, hem kalp hem de kasların proksimal tübüllerde hipoksiyle veya toksik ajanlarla indüklenen hücre membran hasarında rol oynadıklarını göstermektedir (4-7, 19). Bu çalışmada da KM grubu ile karşılaştırıldığında KAL-1 alanlarda serum kreatinin ve üre değerleri anlamlı olarak düşük saptanmıştır (p<0.01). Serum üre ve kreatinin değerlerinin KM+KAL-1 grubunda KM grubuna göre anlamlı ölçüde düşük saptanması KAL-1'in renal fonksiyonlar üzerine koruyucu etkisi olduğunu desteklemektedir.

Amonyanın detoksifikasyonunda görevli olan üre döngüsünün, son basamağında fonksiyon gören arginaz, L-argininin üre ve ornitine hidrolizini sağlayan bir enzimdir. Karaciğer, hem arginaz enziminin hem de üre döngüsünün bulunduğu tek dokudur (17). Bu çalışmada, nefropatiye bağlı karaciğer arginaz aktivitesinde azalma kaydedilmiş, ayrıca KAL-1'in karaciğer arginaz aktivitesini azaltıcı etkisinin olduğu ilk olarak gösterilmiş olup KM ile birleştiğinde bu etkinin daha belirgin olduğu saptanmıştır (Tablo 1). Arginaz enzim aktivitesinin ise KM grubunda önemli derecede düşmesi, KAL-1 uygulanmasının ise daha fazla düşüşe sebep olması; serum üre düzeyinde

daha fazla artıştan korunmak için karaciğerin daha fazla üre üretmemesi amacı ile KAL-1'in arginazın düşüşünü engellemediği şeklinde yorumlanabilir.

Sonuç olarak KM grubunda serum kreatinin ve üre seviyesinin yüksek olması nefropatinin geliştiğini, KAL-1 verilen grupta bu değerlerin normale yaklaşması ve ayrıca karaciğer arginaz aktivitesini de azaltarak serum üre düzeyinin artmasını engellemesi KAL-1'in nefropati üzerine olumlu etkisinin olduğunu göstermektedir

Kaynaklar

1. Briguori C, Tavano D, Colombo A. Contrast agent-associated nephrotoxicity. *Prog Cardiovasc Dis* 2003; 45: 493-503.
2. Chatterjee PK, Brown PA, Cuzzocrea S, Zacharowski K, Stewart KN, Mota-Filipe H. Calpain inhibitor- 1 reduces renal ischemia/reperfusion injury in the rat. *Kidney Int* 2001; 59: 2073-83.
3. Donkor IO. Calpain inhibitors: a survey of compounds reported in the patent and scientific literature. *Expert Opin Ther Pat* 2011; 21(5): 601-36.
4. Dursun B, He Z, Somerset H, Oh DJ, Faubel S, Edelstein CL. Caspases and calpain are independent mediators of cisplatin- induced endothelial cell necrosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291: 578-87.
5. Edelstein CL, Ling H, Gengaro PE, Nemenoff RA, Bahr BA, Schrier RW. Effect of glycine on prelethal and postlethal increases in calpain activity in rat renal proximal tubules. *Kidney Int* 1997; 52: 1271-8.
6. Edelstein CL, Wieder ED, Yaqoob MM, Gengaro PE, Burke TJ, Nemenoff RA. The role of cysteine proteases in hypoxia- induced rat renal proximal tubular injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7662-6.
7. Edelstein CL, Shi Y, Schrier R. Role of caspases in hypoxia- induced necrosis of rat renal proximal tubules. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1940-9.
8. Efron DT, Barbul A. Arginine and nutrition in renal disease. *J Nutr* 1999; 9(3): 142-4.
9. Geyer JW, Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Analy Biochem* 1971; 39(2): 412-7.
10. Jenkinson CP, Grigor MR. Rat mammary arginase: isolation and characterization. *Biochem Med And Met Biol* 1994; 51: 156-65.
11. Kaysen GA, Strecker HJ. Purification and properties of arginase of rat kidney. *Biochem J* 1973; 133: 779-88.
12. Katzberg RW, Haller C. Contrast-induced nephrotoxicity: clinical landscape. *Kidney Int Suppl* 2006: 3-7.
13. Konarska L, Tomaszewski L, Rolczyk U. Studies on L-Arginase in developing rat small intestine, brain and kidney. *Biochem Med Metab Biol* 1986; 35: 170-8.
14. Lindholt JS. Radiocontrast induced nephropathy. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003; 25: 296-304.
15. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurements with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1971; 193(1): 265-75.
16. Parvez Z, Rahman MA, Moncada R. Contrast media-induced lipid peroxidation in the rat kidney. *Invest Radiol* 1989; 24: 697-702.
17. Powers GS, Meister T. Urea synthesis and ammonia metabolism. Arias I, Popper H, Schachter D, Shafrits DA. eds. In: *The Liver: Biology and Pathobiology*. New York: Raven Press, 1982; pp 251-63.
18. Reddan D, Laville M, Garovic VD. Contrast-induced nephropathy and its prevention: What do we really know from evidence-based findings? *J Nephrol* 2009; 22: 333-51.
19. Romano G, Briguori C, Quintavalle C, Zanca C, Rivera NV, Colombo A. Contrast agents and renal cell apoptosis. *Eur Heart J* 2008; 29: 2569-76.
20. Sorimachi H, Ishiura S, Suzuki K. Structure and physiological function of calpains. *Biochem J* 1997; 328: 721-32.
21. Toprak O, Cirit M, Bayata S, Yesil M. Review of the radiocontrast nephropathy risk profiles and risk stratification. *Anadolu Kardiyol Derg* 2004; 4: 331-5.
22. Toprak O, Cirit M, Tanrisev M, Yazici C, Canoz O, Sipahioglu M. Preventive effect of nebivolol on contrast-induced nephropathy in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 853-9.
23. Wang KK, Yuen PW. Development and therapeutic potential of calpain inhibitors. *Adv Pharmacol* 1997; 37: 117-52.
24. Wang YX, Jia YF, Chen KM, Morcos SK. Radiographic contrast media induced nephropathy: experimental observations and the protective effect of calcium channel blockers. *Br J Radiol* 2001; 74: 1103-8.
25. Wu G, Morris S. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J* 1998; 336: 1-17.

26. Yoshioka T, Fogo A, Beckman JK. Reduced activity of antioxidant enzymes underlies contrast media-induced renal injury in volume depletion. *Kidney Int* 1992; 41: 1008-15.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Mehtap ÖZÇELİK
Fırat Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek
Yüksekokulu, PK 23119, Elazığ-TÜRKİYE
Tel: +90 424 237 00 00
Fax: +90 424 241 55 54
e-posta: mehtapyo@hotmail.com,
mozcelik@firat.edu.tr