

DİFLUNİSAL'İN SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNE VE KARACİĞER-BÖBREK HİSTOLOJİSİNE ETKİLERİ

THE EFFECTS OF DIFLUNISAL ON OXYGEN FREE RADICALS LIVER-KIDNEY HISTOLOGIES

Ayşe Gaye TOMATIR¹, Ayşe BAŞARAN², Erinc ARAL³,
Hasan Veysi GÜNEŞ², Erkan TOMATIR⁴

¹ Pamukkale Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Denizli

² Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji A.B.D, Eskişehir

³ Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.B.D., Eskişehir

⁴ Pamukkale Üniv., Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji A.B.D., Denizli

ÖZET: Antienflamatuvar analjeziklerden difunisal, ülkemizde yeni yeni kullanıma girmiş ve antienflamatuvar etkisini hangi yolla gösterdiği tam olarak belirlenmemiş, aspirine göre daha az yan etkilere sahip bir salisilik asit türevidir. Bu çalışmada, diflunisalin terapötik dozlarının, başlıca ilaç metabolize edici organlar olan karaciğer ve böbrek histolojisine ve serbest oksijen radikallerine etkilerini belirlemeyi amaçladık.

Kırk adet erkek albino sıçan, dört eşit gruba ayrıldıktan sonra, gruplara sırasıyla; 0,5 ml serum fizyolojik, 3,5,7 ve 14 mg/kg/gün diflunisalin dozları, yedi gün süreyle, 12 saatte bir intraperitoneal olarak uygulandı. Karaciğer-böbrek dokularında ve serumda; katalaz aktivitesi ile malondialdehit düzeyleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Karaciğer-böbrek in histolojik yapıları ise ışık mikroskopunda incelendi.

Diflunisalin 3.5 mg/kg/gün dozunda, anlamlı bir etki saptanmazken, 7mg/kg/gün dozunda, serbest oksijen radikallerinde artış ve karaciğer dokusunda belirgin, böbrek dokusunda hafif hasar belirlendi. 14 mg/kg/gün difunisal dozunda ise önemli bir radikal artışı ve doku hasarı bulunmadı.

Sonuç olarak; difunisal'in serbest radikal inaktive edici etkisinin, sadece 14 mg/kg/gün dozunda ortaya çıktığı ve bu dozun önemli bir doku hasarı oluşturmadığı kanısına varıldı.

[Anahtar Kelimeler: Diflunisalin, serbest oksijen radikalleri, karaciğer-böbrek, serum, sıçan.]

ABSTRACT: Diflunisalin is a new derivative of salicylic acid Turkey which has less side effects than aspirin. In this study, we aimed to determine the effects of therapeutic doses of diflunisalin on oxygen free radicals and liver-kidney histologies.

Forty albino male rats were divided into four equal groups, and received 0.5 ml physiologic saline and 3.5,7, or 14 mg/kg/day doses of diflunisalin intraperitoneally, in every 12 hours for seven days. The activity of catalase and the levels of malondialdehyde were measured spectrophotometrically in serum and tissues of liver and kidney. Liver and kidney histologies were also examined with a light microscope.

There was no significant effect with 3.5 mg/kg/day dose of diflunisalin but 7 mg/kg/day dose of diflunisalin increased the production of oxygen free radicals, and caused evident damage in liver and slight damage in kidney. 14 mg/kg/day dose of diflunisalin did not increase radicals and tissue damage.

We concluded that the inactivating effect of diflunisalin on oxygen free radicals could be produced by only 14 mg/kg/day dose, and this dose not cause a tissue damage.

[Key words: Diflunisalin, oxygen free radicals, liver-kidney, serum, rat]

GİRİŞ

Bazı antiinflamatuvar ilaçlar, etkilerini hem siklooksijenaz enzimi inhibisyonuyla hem reaktif oksijen radikallerini inhibe ya da inaktive ederek gösterirler(1,2).

Antiinflamatuvar analjeziklerden diflunisalin de yalnızca siklooksijenaz enzimini inhibe etmekle kalmayıp, serbest oksijen radikallerini de inaktive ettiği bildirilmektedir(3).

Oksijen radikalleri, moleküler oksijeni metabolize eden bütün canlı hücrelerinde oluşur (4). Ayrıca; iskemi-reperfüzyon (5), enflamasyon gibi bazı patolojik durumlarla (6,7), ilaçlar, ksenobiyotikler ve radyasyon gibi çevresel etkenlerde serbest radikal oluşumunu artırır (8,9). Canlılarda moleküler oksijenin indirgenmesinden sırasıyla süperoksit (O_2^-) anyonu, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (HO^\cdot) oluşur. Oksijen radikalleri oluşur oluşmaz, membran lipid peroksidasyonuna kadar gidebilen, toksik etkiler meydana getireceklerinden ortamdan anında uzaklaştırılmaları gerekir. Hücrede oksijenin reaktif ve toksik ürünlerine karşı ilk koruyucu fonksiyon gören enzim süperoksit dismutaz (SOD) enzimi olup, bu enzim iki süperoksit radikali arasındaki tepkimeyi katalizler. Daha sonra oluşan hidrojen peroksitin (H_2O_2) parçalanmasında antioksidan olarak katalaz enzimi ve glutatyon (GSH), α -tokoferol (E vitamini) gibi nonenzimatik radikal yakalayıcıları da reaktif oksijen ürünlerini ortadan kaldırmada görev alırlar (10-16).

Bu çalışmada; diflunisalin terapötik dozlarının, serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonu ve karaciğer-böbrek histolojisi üzerine olan etkilerini inceledik.

MATERYAL METOD

Diflunisalin dozları, insanlara uygulanmakta olan 250 mg/gün, 500 mg/gün, 1000 mg/gün terapötik dozlara uygun olacak şekilde, Clark formülüne (2) göre, sırasıyla 3.5 mg/kg/gün, 7 mg/kg/gün, 14 mg/kg/gün, 14 mg/kg/gün olarak ayarlandı ve serum fizyolojik içinde

çözülerek hazırlandı. Deneye alınan *Rattus norvegicus* türü, 40 adet, 2-3 aylık, yaklaşık 170-200 g ağırlığındaki erkek albino sıçanlar dört eşit gruba ayrıldıktan sonra; I. Gruba (Kontrol) 0.5 ml serum fizyolojik, II. Gruba 3,5 mg/kg/gün diflunisalin, III. Gruba 7 mg/kg/gün diflunisalin, IV. Gruba 14 mg/kg/gün diflunisalin, 12 saatte bir, günde iki kez intraperitoneal enjeksiyon şeklinde, yedi gün süreyle, hergün aynı saatte verildi. Bir hafta sonra eter anestezisi altında deney hayvanlarından, katalaz (CAT) aktivitesi ve malondialdehit düzeyi (MDA) ölçümü için karaciğer-böbrek doku örnekleri ile kalp kanı alındı. Karaciğerin uç kısımlarından, böbreğin ise korteks ve medulla bölgesinden alınan, yaklaşık 0,4 g ağırlığındaki örnekler, CAT ölçümü için sodyum-potasyum-fosfat tamponu, MDA ölçümü için ise %1 KCl çözeltisi kullanılarak, Ultra-Turrax T25 homajenizatörde, 8000 devirde, 10 vuruca homojenize edildikten sonra, Hermle ZK 510 spğütmalı santrifujde 4000 rpm'de 15 dakika santrifuj edildi. Kalp kanı, EDTA'sız santrifuj tüpüne aktarıldıktan sonra oda ısısında iki saat bekletildi ve kan örnekleri, 5000 devirde 10 dk. Santrifuj edilerek serumları ayrıldı. Ayrıca histolojik inceleme için de, %10 nötral formaldehit içine karaciğer ve böbrek dokusunda örnekler alındı.

Katalaz aktivitesi, amonyum molibdatla stabil bir kompleks oluşturan hidrojen peroksitin spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi temeline dayanan L. Goth'un yöntemine göre belirlendi (17). Ayrıca karaciğer ve böbrek dokularının total protein miktarı Biuret yöntemine göre hazırlanmış total protein kiti (bio-clinica) ile ölçüldükten sonra bu değerler katalaz aktivitesinin hesaplanmasında kullanıldı (18,19).

Malondialdehit düzeyi, Uchiama ve Mihara'nın yöntemi kullanılarak ölçüldü (20). Yöntem, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA'nın tiyobarbitürk asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır. Standart olarak 1.1.3.3 tetraetoksi propan kullanıldı.

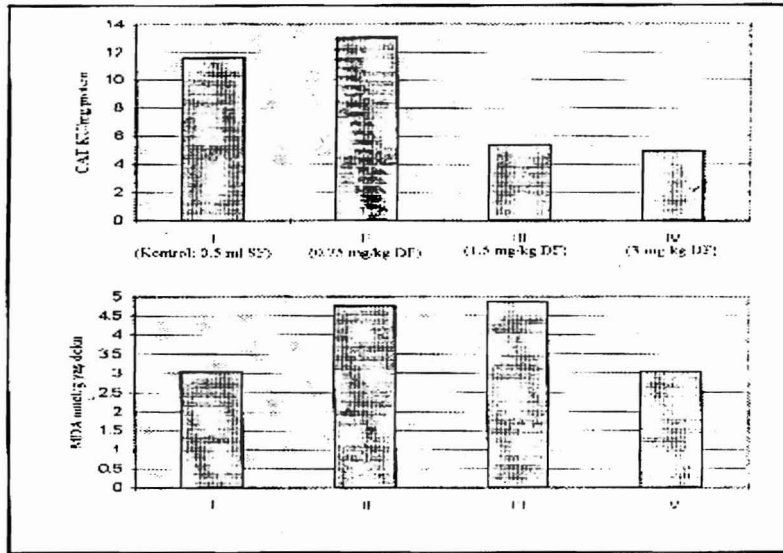
Histolojik çalışma için; karaciğer ve böbrek dokuları %10 nötral formalinde 24 saat

edildikten sonra, artan dereceli alkollerde dehidrate edilip parafine gömüldü ve dokulardan 5µ kalınlığında kesitler alınıp, hemotoksilen-eosin ile boyandı (21). İncelenen kesitlerin Olympus PM10-ADS otomikroskopa fotoğrafları çekildi.

İstatiksel değerlendirmede, total protein ölçümü dışındaki bütün sonuçlara, t testi ve korelasyon analizi uygulandı (22). Total protein değerleri CAT aktivitesinin hesaplanmasında kullanıldığı için istatiksel değerlendirilmesi yapılmadı(19).

BULGULAR

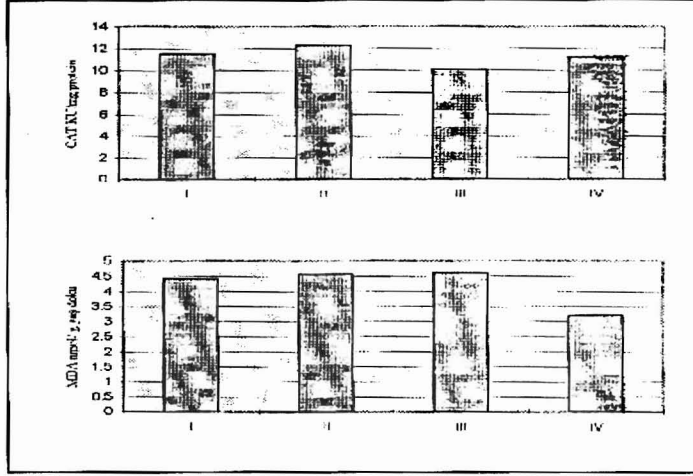
Karaciğer dokusuna ait, CAT aktivitesi bulguları, kontrole göre değerlendirildiğinde, II. Deney grubunda (3.5 mg/kg/gün diflunisal) istatiksel olarak önemli bir fark bulunmazken ($p>0.05$), III. (7 mg/kg/gün diflunisal) ve IV. (14 mg/kg/gün diflunisal) deney gruplarında önemli derecede bir azalma gözlemlendi ($p<0.005$) (Şekil 1). MDA değerlerinde ise, kontrol grubuna göre II. Ve III deney gruplarında önemli bir artış gözlenirken ($p<0.001$), IV. Grubunda önemli bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (Şekil 1).



Şekil 1. Karaciğerde Ölçülen CAT ve MDA Değerlerinin Grafığı

Böbrek dokusuna ait; CAT aktivitesi bulguları, kontrole göre değerlendirildiğinde, II., III. ve IV. deney gruplarında istatiksel

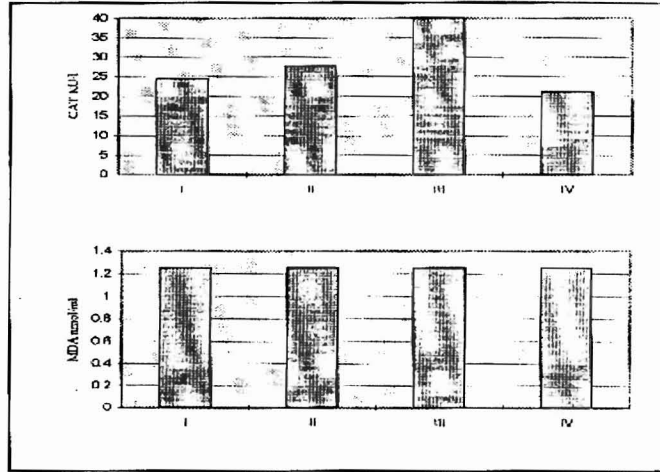
olarak önemli bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (Şekil 2). MDA değerlerinde ise, kontrol grubuna göre sadece IV. deney grubunda önemli bir azalma saptandı ($p<0.01$) (Şekil 2).



Şekil 2. Böbrek Dokusunda Ölçülen CAT ve MDA Değerlerinin Grafiği

Seruma ait; CAT aktivitesi bulguları kontrole göre değerlendirildiğinde sadece III. deney grubunda istatistiksel olarak önemli bir artış bulundu ($p < 0.01$) (Şekil 3). Serum MDA değerlerinde ise, hiçbir deney grubunda

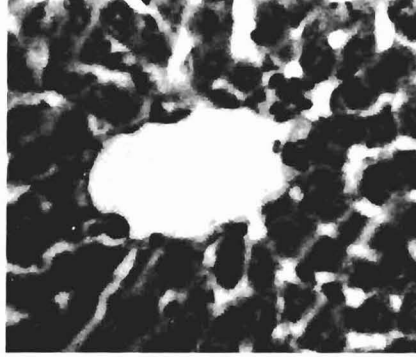
kontrole göre önemli bir fark saptanmadı ($p > 0.05$) (Şekil 3).



Şekil 3. Serumda Ölçülen CAT ve MDA Değerlerinin Grafiği

Histolojik incelemelerde; karaciğer dokusuna ait ışık mikroskobu bulgularında, kontrol grubundaki (0.5 mi serum fizyolojik) 10 hayvanın karaciğer

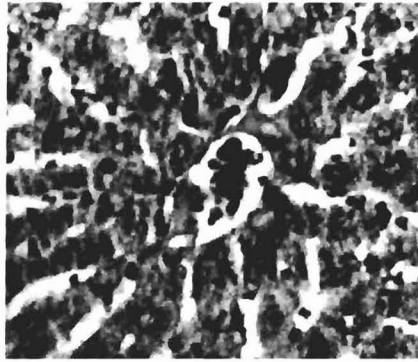
doku kesitlerinde normal portai alan ve lobül yapısı (Şekil 4),



Şekil 4. Kontrol grubuna ait karaciğer doku kesiti. H.E, O.B x 132.

3.5 mg/kg/gün diflunisal venlen II. gruba ait karaciğer dokusu Örneklerinde; kan hücrelerinin infiltrasyonu, hiperemi, hepatosit sitoplazmalarında

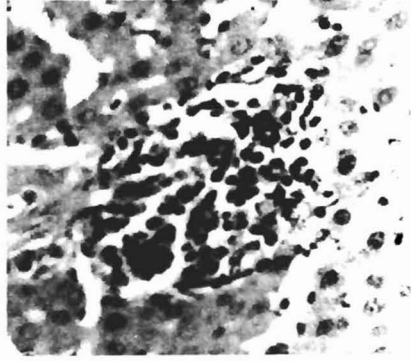
hafif düzeyde hidropik dejenerasyon ve minimal derecede sinüzoidal konjesyon (Şekil 5.),



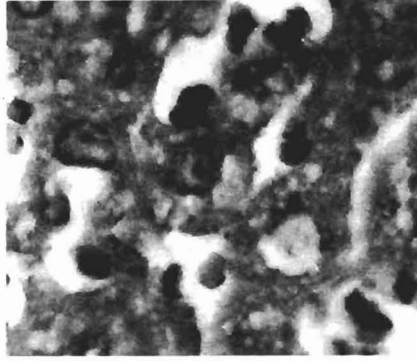
Şekil 5. II. gruba ait karaciğer doku kesitinde, normal sinüzoidal konjesyon. H.E, o.B, x 132.

7 mg/kg/gün diflunisal verilen III. gruba ait karaciğer dokusu örneklerinin histolojik incelemesinde, odaklar şeklinde mononükleer ve polimorfonükleer hücre infiltrasyonu ile birlikte bir

önceki gruba göre artan hiperemi, hepatositlerde yaygın hidropik dejenerasyon ve diğer gruplara göre daha fazla karaciğer dokusu hasarı (Şekil 6 ve 7),

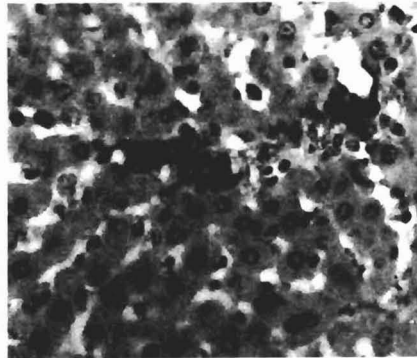


Şekil 6. III. gruba ait karaciğer doku kesitinde, infiltrasyon odakları. H.E., O.B. x 132.



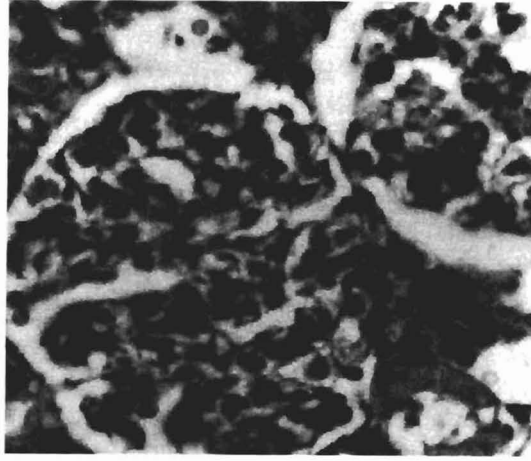
Şekil 7. III. gruba ait karaciğer doku kesitinde, yaygın hidropik dejenerasyon. H.E, O.B. x 330

14 mg/kg/gün diflunisal verilen IV. gruba ait karaciğer doku Örneklerinde; minimal derecede kan hücrelerinin infiltrasyonu, sinuzoidal konjesyon ve hidropik dejenerasyon gözlemlendi (Şekil 8).



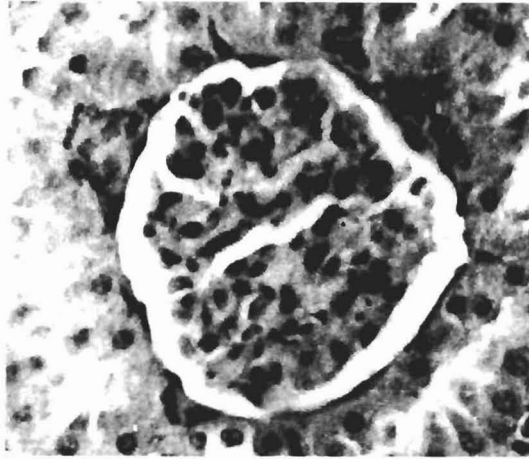
Şekil 8. IV. gruba ait karaciğer doku kesitinde, minimal oranda kan hücreleri infiltrasyonu . H.E., O.B.x132

Böbrek dokusuna ait ışık mikroskopisi kesitlerinde normal böbrek dokusu yapısı (Şekil 9), bulgularında; kontrol grubu böbrek doku



Şekil 9. Kontrol grubuna ait böbrek doku kesiti. H.E., O.B x 132.

II. gruba ait böbrek dokusu örneklerinde; kontrol hafif hiperemi (Şekil 10), grubuna oranla, medulla ve glomerül çevresinde



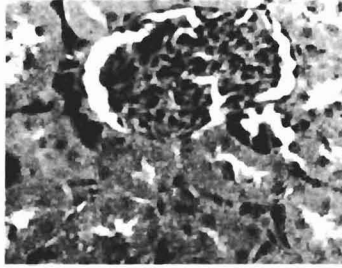
Şekil 10. II. gruba ait böbrek doku kesitinde, intertübüler alanlarda hiperemi. H.E., O.B. x 132.

İÜ. gruba ait böbrek doku örneklerinde; intertübüler alanlarda hiperemi, tübüler diatasyon ve bazı tübül

hücrelerinde hidropik dejenerasyon (Şekil 11 ve 12),



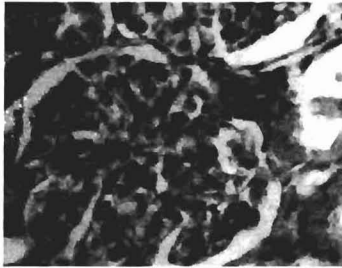
Şekil 11. III. gruba ait böbrek doku kesitinde, proksimal tübülüs hücrelerinde hidropik dejenerasyon. H.E., O.B. x330



Şekil 12. III. grubu ait böbrek doku kesitinde, korteks bölgesinde intertübüler alanlarda yaygın hiperemi. H.E., O.B. x 132.

yüksek doz diflunisal kullanılan IV. grubun böbrek dokusuna ait kesitlerde; tübül hücrelerinde hafif hidropik dejenerasyon, glomerül ve çevresinde hiperemi olmakla birlikte III. gruba göre böbrek

doku hasarının daha hafif düzeyde ve hatta kontrol grubuna yakın denebilecek kadar az olduğu gözlemlendi (Şekil 13).



Şekil 13. IV. gruba ait böbrek doku kesitinde, korteks bölgesinde normale yakın görünümde tübülüsler, glomerul ve çevresi. H.E., O.B x 132.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sodyum salisilat, indometasin, fenilbutazon, sulindak, diklofenak, mekfofenamat, azapropazon

gibi bazı ilaçlar antienflamatuvar etkilerini, kısmen de olsa, aktif oksijen radikallerini inhibe ederek ya da oluşan radikalleri bağlayıp inaktive ederek göstermektedir (2,23,24,25). Diflunisalin de antienflamatuvar etki mekanizması tam olarak

bilinmemekle beraber, siklooksijenaz enzimini inhibe etmesinin yanısıra aktif oksijen radikallerini de inaktive ettiği bildirilmektedir (3) Bu çalışmada, diflunisalin serbest radikallerle olan ilişkisini ve lipid peroksidasyonu üzerine bir etkisi olup olmadığını incelemek amacıyla, sıçan; karaciğer, böbrek ve serumunda CAT aktivitesiyle MDA düzeyleri değerlendirildi. Ayrıca karaciğer ve böbrek dokularının histolojisi de incelendi.

Diflunisalin %90'ının karaciğerde metabolize olmasına (26) bağlı olarak, bulduğumuz CAT ve MDA değerleri ile histolojik değişiklikler diflunisalin en fazla karaciğeri etkilediğini doğrulamaktadır. Karaciğerde CAT aktivitesi 3.5 mg/kg/gün dozda değişmezken, 7 ve 14 mg/kg/gün dozlarda kontrole göre anlamlı düzeyde (sırasıyla $p < 0.01$ ve $p < 0.001$) azalmıştır. Bu bulgular, ilaç metabolize edilirken oluşan metabolitlerinde katalaz enzimini olumsuz yönde etkileyip inhibe edebileceği bilgisine dayanılarak dikkate alınmamıştır (2). Karaciğer dokusundaki, MDA düzeyinin 7 mg/kg/gün doz grubunda kontrol grubuna göre önemli düzeyde artması ($p < 0.001$) ve 14 mg/kg/gün diflunisalin dozunda kontrol grubundan farksız bulunması ise ilacın 7 mg/kg/gün dozunun, yeterince siklooksijenaz enzimi yanısıra serbest radikal inhibisyonunu gerçekleştirmediği ve bunun lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA artışına yol açtığı, oysa 14 mg/kg/gün dozda serbest radikal hasarının engellendiği ve bu nedenle MDA düzeyinin artmadığını düşündürmektedir. Ayrıca histolojik incelemelerde de, 14 mg/kg/gün diflunisalin verilen IV. grupta kontrole benzer bulunmuştur. Bilindiği gibi analjezik ve antienflamatuvar ilaçlar, antienflamatuvar etkilerini, analjezik etkilerinden daha yüksek dozda gösterebilmektedirler (2,27). Diflunisalin de serbest radikal inaktive edici etkisi, 14 mg/kg/gün dozunda hem karaciğerde hem de böbrekte özellikle MDA düzeyinin azalmasıyla ortaya çıkmaktadır ve histolojik incelemeler de bu sonucu destekler niteliktedir.

Böbrek dokusunda göze çarpan en önemli bulgu, 14 mg/kg/gün DF verilen IV. deney grubunda MDA değerinin kontrole göre Önemli derecede azalması ($p < 0.01$) ve histolojik incelemelerde de IV. grup böbrek dokusu

örneklerinin kontrol grubuna benzer bulunmasıdır.

Serum örneklerinde ise, sadece 7 mg/kg/gün diflunisalin verilen grupta ÇAT aktivitesinde kontrole göre önemli bir artış ($p < 0.01$) gözlenmesi dikkat çekicidir.

Histolojik incelemelerde; III. deney grubunda hem karaciğer hem de böbreğe ait bulgular, daha fazla karaciğerde olmak üzere, doku hasan açısından önemli kabul edildi. Yüksek doz diflunisalin kullanılan IV. grubun böbrek dokusu örneklerinde, hücrelerde hafif hidropik dejenerasyon, glomerül ve çevresinde hiperemi olmakla birlikte kontrol grubuna yakın görünümde olması ve tübüler dejenerasyon bulgularına rastlanmaması dikkate değer bulundu. Bu bulgular, benzer bir çalışmaya rastlanmadığı için karşılaştırılmadı. Antienflamatuvar analjezik ilaçların etkisini tek bir mekanizmayla açıklamak mümkün değildir. Çünkü bu ilaçların, antienflamatuvar etkilerini gösterirken öncelikle siklooksijenaz inhibisyonuna neden olmalarının yanında, sekonder olarak, aktif oksijen radikallerini de inaktive ve/veya inhibe ettikleri ileri sürülmektedir (2,3,28). Bu literatür bilgileri ışığında, bizim çalışmamızda yer alan antienflamatuvar analjeziklerden diflunisalin de bir çelişkiymiş gibi görünen 7 mg/kg/gün düşük dozunun daha fazla hasar verirken, 14 mg/kg/gün yüksek dozunun daha olumlu etki göstermesinin nedeni; diflunisalin 7 mg/kg/gün dozunun siklooksijenaz enzimini yeterince inhibe edememesi, dolayısıyla serbest radikal oluşumunu ve/veya daha önce oluşmuş olan radikallerin neden olduğu hasan yeteri kadar önleyememesi, 14 mg/kg/gün dozunun ise enzim inhibisyonunu yeterince gerçekleştirmesi nedeniyle serbest radikallerin oluşumunu engellemesi ve radikal hasarının önüne geçmesi olabilir.

Bütün bu bulgulara göre; diflunisalin serbest oksijen radikallerine bağlı olarak özellikle karaciğerde ve kısmen de böbrekte bazı biyokimyasal ve histolojik değişikliklerle birlikte hasara neden olduğu, ancak bu değişikliklerin 14 mg/kg/gün diflunisalin verilen dördüncü grupta azaldığı belirlendi. Diflunisalin karaciğerde gösterdiği etkilerin böbrekteki göre daha fazla olması ise, ilacın

primer olarak karaciğerde metabolize olmasına bağlandı.

Sonuç olarak, diflunisalin sadece yüksek terapötik dozunun, serbest oksijen radikallerini inaktive edebildiği ve önemli bir doku hasarına yol açmadığı kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Cerletti C, Livio M, Gaetano GD; Non-steroidal anti-inflammatory drugs react with two sites on platelet cytoooxygenase. *Biochimica et Biophysica Acta* 714:122-8, 1981.
2. Kayaalp, O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt 1, Feryal Matbaacılık, 91-126, 1965-2023, 1991.
3. Shen TY: Chemical and pharmacological properties of diflunisal. *Pharmacotherapy* 3:3-8, 1983.
4. Halliwell, B., Guttendge, J.M.C.: Free radicals in biology and medicine, Second Edition, Clarendon Press, 196-200, 1995.
5. Lee SM, Clemens MG: Effect of a-tocopherol on hepatic mixed function oxidases in hepatic ischemia reperfusion. *Hepatology* 15 (2):270-91, 1992.
6. Conner EM, Gnsham MB: Inflammation, free radicals and antioxidants. *Nutrition* 12:274-7, 1996.
7. Halliwell B: Antioxidants and human disease; a general introduction. *Nutrition Reviews* 55 (1):44-9, 1997.
8. Evan CR, Halliwell B, Lunt GG: Free radicals and oxidative stress: environment, drugs and food additives. Protland Press, London, 120-9, 1995.
9. Hallivvell B: Reactive oxygen species in living systems; source, biochemistry, and role in human disease. *The American Journal of Medicine* 91; 14-22, 1991.
10. Bast A, Haenen GRM, Doelman CJA: Oxidants and antioxidants: state of the art. *The American Journal of Medicine* 91 (3):1-13, 1991.
11. Kavas Gö: Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri* 9 (1):I-6, 1989
12. Jacob RA, Burri BJ: Oxidative damage and defense. *Am. J. Clin. Nutr.* 63(6):985-90, 1996.
13. Mascio PD, Murphy ME, Sies H: Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.* 53:1945-2005, 1991.
14. Anderson D: Antioxidant defenses against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutat. Res.* 350 (I): 103-8, 1996.
15. Benzie IF: Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 47 (3):233-61, 1996
16. Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J et al.: The characterization of antioxidants. *Food Chem. Toxicol.* 33(7):601-17, 1995.
17. Goth L; A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta* 196:143-52, 1991.

Yazarlar:

A.G. TOMATIR: Öğr. Gör. Dr. ,Pamukkale Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Denizli

A.BAŞARAN: Prof. Dr., Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji A.B.D, Eskişehir

E. ARAL: Doç. Dr. , Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embryoloji A.B.D., Eskişehir

H.V. GÜNEŞ: Prof. Dr., Osmangazi Üniversitesi, Tıfakültesi,, Tıbbi Biyoloji A.B.D, Eskişehir

E. TOMATIR: Doç. Dr., Pamukkale Üniv., Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji A.B.D., Denizli

Yazışma Adresi:

Öğr. Gör. Dr. A. Gaye TOMATIR, Siteler M. Barbaros C. 6249 S. B1Blok No:2/5 Yeni Bahçelievler Sitesi, Kınıklı/DENİZLİ
Tel : 0 (258) 213 08 44