

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK
HASARINDA LİKOPENİN ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Semiha UZUN

Referans no: 10105922

EDİRNE – 2016

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK
HASARINDA LİKOPENİN ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Semiha UZUN

Destekleyen Kurum : TÜBAP Proje No: 2014-35

Tez No :

EDİRNE – 2016

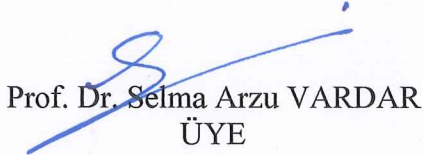
T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Semiha UZUN tarafından tez başlığı “Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Hasarında Likopenin Etkileri” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **25/03/2016** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU
JÜRİ BAŞKANI



Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR
ÜYE



Doç. Dr. Mehtap KAÇAR
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Tammam Sipahi
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimimde ve tez çalışmamda katkılarını ve yardımlarını esirgemeyen başta tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya; eğitimimde emekleri olan Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK, Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR ve Yrd. Doç. Dr. Mevlüt YAPRAK'a; çalışmalarımda yardımlarıyla yanımda olan, Yrd. Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN, Öğr. Gör. Dr. Oktay KAYA, Öğr. Gör. Dr. Meryem D. POYRAZ, Mehmet Deniz ÖZDEMİR, Araş. Gör. Özlem Y. YAVUZ'a; Vet. Hek. Ziya ÇUKUR'a, Fizyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına ve desteklerinden dolayı TÜBAP (Proje No: 2014-35) birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
AKUT BÖBREK HASARI	3
RABDOMİYOLİZ	5
MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARI	8
NİTRİK OKSİT	10
OKSİDATİF STRES	13
ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	15
LİKOPEN	16
GEREÇ VE YÖNTEMLER	18
BULGULAR	27
TARTIŞMA	59
SONUÇLAR	68
ÖZET	70
SUMMARY	72
KAYNAKLAR	73
RESİMLER LİSTESİ	80
ÖZGEÇMİŞ	82
EKLER	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABH	:	Akut Böbrek Hasarı
CAT	:	Katalaz
CK	:	Kreatin kinaz
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
eNOS	:	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
FAD	:	Flavin Adenin Dinukleotid
FeNa	:	Fraksiyonel sodyum atılımı
FMN	:	Flavin Mononukleotid
GSH-Px	:	Glutasyon Peroksidaz
GSH	:	Redükte Glutasyon
iNOS	:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
MABH	:	Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı
MDA	:	Malondialdehit
NADPH	:	Nikotinamid Adenin Dinukleotid Fosfat (Redükte)
NO	:	Nitrik Oksit
NO ₃ ⁻	:	Nitrat
NO ₂ ⁻	:	Nitrit
NOS	:	Nitrik Oksit Sentaz
nNOS	:	Nöronal nitrik oksit sentaz
SOD	:	Süper Oksit Dismutaz
SOR	:	Serbest Oksijen Radikalleri

GİRİŞ VE AMAÇ

İskelet kası hücrelerinin hasara uğraması sonucu toksik hücre içi elemanların kan dolaşımına geçerek klinik ve laboratuvar bulgularına yol açtığı patolojik duruma rabdomiyoliz adı verilir. Rabdomiyolizin en önemli sebepleri travma, iskemi, ilaçlar, toksinler, metabolik bozukluklar ve enfeksiyonlardır. Genelde travma dışı sebepler daha sık olduğu halde, sıra dışı olaylar (maden göçükleri, trafik kazaları, savaş, doğal ve insanların yol açtığı suni felaketler) sonrasında travmatik sebepler çok daha ön plana geçer (1,2).

İnsanlarda gelişen miyoglobinin akut böbrek hasarı (MABH)'nin deneysel modelinde; sıçanlara %50'lik hipertonic gliserolün intramüsküler (im) enjeksiyonu ile MABH oluşturulur. Bu model insanlarda gelişen MABH'ye özdeş kabul edilir (2,3). Hipertonic gliserolün im enjeksiyonu miyoliz, hemoliz ve hipovolemiye neden olur. Miyoliz ve hemoliz sonucu dolaşıma salınan miyoglobin ve hemoglobin gibi Hem proteinleri içerdikleri serbest demir aracılığıyla MABH'nin patogeneğinde kritik bir rol oynarlar (4,5). Son yıllarda yapılan çalışmalarda MABH'nin fizyopatolojisinde nitrik oksit (NO) ve serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin önemli rol oynadığı rapor edilmiştir (2,3).

Antioksidanların esas fonksiyonlarından biri serbest radikal oluşumunu engellemektir (6). Likopen; sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan, serbest radikalleri temizlemede en yüksek antioksidan aktiviteye sahip karoten ailesine ait bir pigmenttir (7,8). İnsan vücudu likopen üretmez. Likopenin %85'i domates ve domates ürünlerinde bulunmaktadır ancak karpuz, kayısı ve kırmızı greyfurt gibi diğer kırmızı meyve ve sebzelerde de bulunur. Domates suyu, çorbası, salçası, ketçap ve sos gibi işlenmiş domates ürünleri iyi birer likopen kaynağıdır. İşlenmiş domates ürünlerindeki likopenin, çiğ domatese göre biyo-yararlanımının

daha yüksek olduğu ve serbest radikal hasarını azalttığı gösterilmiştir. Bunun domatesteki likopen formunun pişirme veya benzeri işlemler sırasında değişmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Likopen güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve oksidatif hasarda, doku iyileşmesi ve korunmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir (6,9,10). Likopenin, böbrek iskemi/reperfüzyon, kontrast madde, kolistin, sisplatin, gentamisin, civa klorür toksisitesi ile böbrek hasarı geliştirilen deneysel modellerde koruyucu ve tedavi edici etki gösterdiği bildirilmektedir (8,10-16). Araştırmalarımıza göre; likopenin deneysel MABH’de etkisinin incelendiğı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada im gliserol enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel böbrek hasarı modelinde likopenin böbrek fonksiyonları, nitrik oksit metabolizması, oksidatif hasar ve histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

AKUT BÖBREK HASARI

Akut Böbrek Hasarı (ABH); Daha öncesinde Akut Böbrek Yetmezliği olarak adlandırılan bu durum, genel olarak saatler veya günler içinde, nitrojenli artıkların atılamaması, metabolik, elektrolit ve sıvı homeostazisinin bozulması sonucu diğer vücut sistemlerini de olumsuz etkileyen bir durumdur. Böbrek fonksiyonlarında ani bir bozulma ile karakterizedir (17-20).

Akut böbrek hasarı, hastanede yatan hastalarda en sık karşılaşılan tıbbi sorunlar arasındadır. Epidemiyolojisi çok bilinmemektedir ve hangi mekanizma aracılığıyla gerçekleştiği halen tartışmalıdır (19,21). ABH'nin uzun vadeli kötü sonuçları; ölüm, kronik böbrek hastalığı, böbrek fonksiyonlarının tam kaybı ve daha fazla maliyetli sağlık kaynaklarının kullanımını içerir (19,20). Risk altındaki hastalarda ABH'yi önlemek ve azaltmak için böbrek replasman tedavisi gibi destekleyici tedbirler dışında ki müdahaleler hala yetersiz kalmaktadır (20).

Akut Diyaliz Kalite Girişimi bünyesinde, ABH'yi önleme, tanı, tedavi ve sınıflandırılmasında uzlaşma ve kanıta dayalı kurallar geliştirmek için Akut Böbrek Hasarı Ağı (ABHA) oluşturulmuştur. 2004 ve 2007 yılları içinde RIFLE sınıflandırma ve evreleme sistemi geliştirilmiştir. RIFLE: Risk, yaralanma, yetmezlik, kayıp ve terminal dönem böbrek hastalığı kriterleri şemasıdır. Bu sınıflandırma sisteminin amacı; klinik ve araştırma amaçlı ABH'nin evrensel tanımını ve sınıflandırılmasını standardize etmektir (19,20).

Akut böbrek hasarı kriterleri olarak böbrek hasarının varlığı ve şiddetini tanımlamak için, böbrek fonksiyonu, serum kreatinin düzeyi ve idrar çıkışı parametreleri kullanılabilir. Bazal değer üzerinde serum kreatinin düzeyinde %50 artış, kreatin klirensinin %50 azalması, böbrek fonksiyonlarının diyaliz gerektirecek düzeyde azalması tespit edildiğinde ABH'den söz edilebilir. Oligüri ataklarının sıklaşması (6 saat süreyle 0.3 ml/kg/saat altında idrar çıkışı) durumunda da ABH'den bahsedilebilir (20). Tablo 1'de ABH oluşumundaki risk faktörleri verilmiştir.

Tablo 1: ABH için risk faktörleri (20)

ABH için risk faktörleri	
Değiştirilemeyen faktörler	Potansiyel olarak değiştirilebilen faktörler
İleri yaş	Anemi
Erkek cinsiyet	Kritik hastalık
Siyah ırk	Septisemi
Önceden var olan kronik böbrek hastalığı	Travma
Proteinüri veya yüksek albümin-kreatinin oranı	Kalp cerrahisi
Hipertansiyon	Major nonkardiyak cerrahi
Diyabet	Radyokontrast medyaya maruz kalma
Kronik karaciğer hastalığı ve/veya portal hipertansiyon komplikasyonları	Sıvı yüklenmesi
Kalp yetmezliği ve/veya azalmış ejeksiyon fraksiyonu	Sentetik koloitler (hidroksietil nişasta) ya da klorür bakımından zengin çözeltiler ile sıvı resusitasyonu (%0.9 SF)
Koroner arter hastalığı ve/veya son miyokard infarktüsü	İlaç toksisitesi, ilaç etkileşimleri veya nefrotoksik ilaçlar
Kronik obstrüktif akciğer hastalığı	Yüksek riskli ya da acil durum prosedürleri
Periferik damar hastalığı	
Malignite	

RABDOMİYOLİZ

Vücudumuzun %40'ını iskelet kası oluşturmaktadır (1,22). Sağlıklı miyositlerdeki sarkolemma, hücrel elektrokimyasal geçişleri düzenleyen farklı pompalar içerir. En önemlisi sodyum (Na^+) ve potasyum (K^+) değişimi için Na^+/K^+ ATPaz'dır. Normal koşullar altında, sarkolemmadaki iyon pompaları ve kanalları hücre içinde Na^+ ve kalsiyum (Ca^{2+}) konsantrasyonunu düşük, K^+ konsantrasyonunu yüksek tutmaya çalışır. Bu süreç enerji gerektirir ve Na^+ 'nın aktif taşınması sırasında $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ hücre içi elektrik gradyanını değiştirerek Ca^{2+} 'yı uzaklaştırmaya çalışır. Her iki süreçte de enerji kaynağı olarak adenozin trifosfat (ATP) kullanılır. Kas hücrelerindeki sarkoplazmik retikulumun birincil işlevi Ca^{2+} depolamaktır (23,24).

Miyogloblin sadece omurgalıların kas dokusuna özgü olan, aerobik mitokondriyal metabolizma için, demir ve oksijen bağlayıcı, 17 kDa molekül ağırlığına sahip, küçük hücre içi hem proteindir (22,23,25). Miyogloblinin oksijen afinitesi hemoglobine göre daha yüksektir ve enerji elde etmek için miyositlere yardımcı olur (23). Kas dokusu içindeki miyogloblinin birincil işlevi oksijen depolama, taşıma ve salınımını sağlamaktır (25). Normalde miyogloblin, plazma globülinleri olan haptogloblin ve $\alpha 2$ -globuline bağlı olarak dolaşımda taşınır (23,24). Miyogloblinin normal serum düzeyi 0 ile 0.003 mg/dl arasındadır. Miyogloblinürinin oluşması için eşik değer olan 1.5 mg/dl plazma düzeyini aşması gerekir (23). Kas hücrelerinin parçalanması sonucu büyük miktarda elektrolitler, enzimler (aldolaz, kreatin kinaz, laktat dehidrogenaz) ve miyogloblin sistemik dolaşıma geçer. Bunun sonucu elektrolit bozuklukları, hipovolemi, metabolik asidoz, koagülasyon bozuklukları, en önemlisi ise ekstrasellüler miyogloblinin artışı nedeniyle ABH gelişir (25).

Rabdomiyoliz, travmatik-nontravmatik, endojen-eksojen, herediter-edinsel sebeplere bağlı olarak, iskelet kası yapısının bozulmasıyla karakterize, hücre içi içeriğin dolaşım sistemi içinde serbest kalmasıyla sonuçlanan ve potansiyel olarak yaşamı tehdit eden üremik bir sendromdur (1,23,26,27).

Rabdomiyolizinin bilinen en eski kayıtları, Eski Ahit Sayılar kitabında yer almaktadır. Yahudilerin Mısır'dan göç etmesi sırasında çok fazla bıldırcın tüketmesi sonucu rabdomiyolizde görülen belirti ve bulguları veba hastalığı olarak tanımlamışlardır. Gerçekte bıldırcınların bahar göçü sırasında zehirli baldıran tüketmeleri ve göç sırasında insanların çok fazla bıldırcın yemesiyle gelişen miyoliz sonucu görülen belirti ve bulguların aslında rabdomiyoliz ile benzerlik gösterdiği bildirilmektedir (27). Modern zamanlarda ise rabdomiyolizinin ilk olarak tıbbi tanımına 1900'lerin başlarında Alman tıp literatüründe

rastlanmaktadır. Yine 1941 yılında Londra'nın bombalanması sırasında travmatik rabdomiyoliz sonucu oluşan ABH'nin fizyopatolojik mekanizmasını ilk kez açık bir şekilde tanımlamışlardır (21,23,24,26,27).

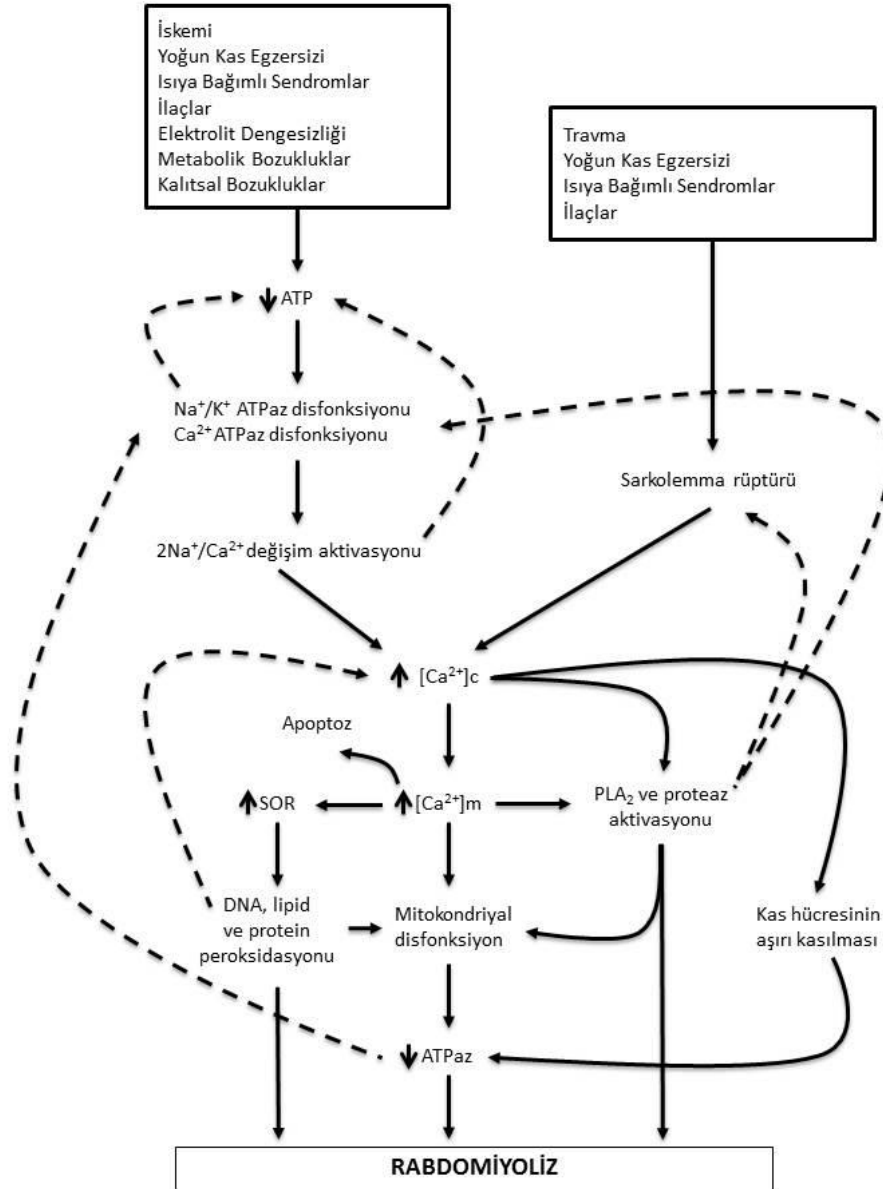
Rabdomiyolizin en ciddi komplikasyonlarından bir tanesi ATP'nin tüketilmesi sonucu hücre üzerindeki Na^+/K^+ ve $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ iyon pompalarının fonksiyonlarının bozulmasıdır. Buna bağlı hücre içi Na^+ ve Ca^{2+} konsantrasyonları yükselir. Bunun sonucu hücre içerisine daha fazla su girişi olur. Aynı zamanda hücre içinde aşırı Ca^{2+} birikmesi miyofibrillerin kontraksiyonuna sebep olarak ATP'nin daha fazla tüketilmesine, Ca^{2+} 'ya bağlı proteaz ve fosfolipazların aktive olmasına ve hücre membranında ilave hasara sebep olur (22-24). Hücre hasarı sonucu kan dolaşımına K^+ , Ca^{2+} , fosfat (PO_4^{3-}), miyogloblin, kreatin kinaz (CK), laktat dehidrogenaz (LDH), aspartat transaminaz (AST) ve ürik asit gibi metabolitlerin karışmasına ve bunun sonucu rabdomiyoliz komplikasyonlarının başlamasına neden olur (21-26,28). Şekil 1'de rabdomiyolizin oluşum mekanizması görülmektedir.

Rabdomiyolizin seyrinde görülen hayati tehdit eden en önemli komplikasyonu ABH'dir. Rabdomiyoliz gelişen hastaların %10 ile %40'ında ABH geliştiği bildirilmektedir. Tüm ABH gelişen vakaların %15'nin rabdomiyolize bağlı olarak oluştuğu rapor edilmiştir (27). Şekil 2'de rabdomiyoliz sonucu gelişen komplikasyonlar gösterilmiştir.

Crush Sendromu: Crush yaralanması kasın çeşitli sebeplerle travmaya maruz kalmasına bağlı rabdomiyoliz sonucu sıkışan kas hücresi içeriğinin kana sızmasıyla ciddi ve kapsamlı kas nekrozuna neden olur (1,28). Bu olaylar Crush sendromuna ve ABH'ye zemin hazırlar. İlk kez Londra bombardımanında daha sonra da deprem ya da doğal afetlerde yıkılan binalarda, sıkışıp ezilen kişilerde tarif edilmiştir. Deprem sonrası ezilen insanların bir kısmında rabdomiyoliz gelişir. Rabdomiyoliz gelişenlerin tümünde crush sendromu ortaya çıkmaz. Crush sendromu gelişen olguların tümünde de ABH gelişmez. Bu sebeple deprem sonrası yaralanmalarda %2-5 crush sendromu, %1.5 ABH gelişeceği varsayılır (1). Bu durum medikal ve cerrahi pek çok komplikasyona zemin hazırlayan bir tablodur. Ayrıca travmaya maruz kalmaksızın uzun süreli anestezi veya koma, ilaç doz aşımı ve karbon monoksit zehirlenmesi gibi diğer durumlarda da hafif kas sıkışmasına bağlı crush sendromu geliştiği bildirilmektedir (28).

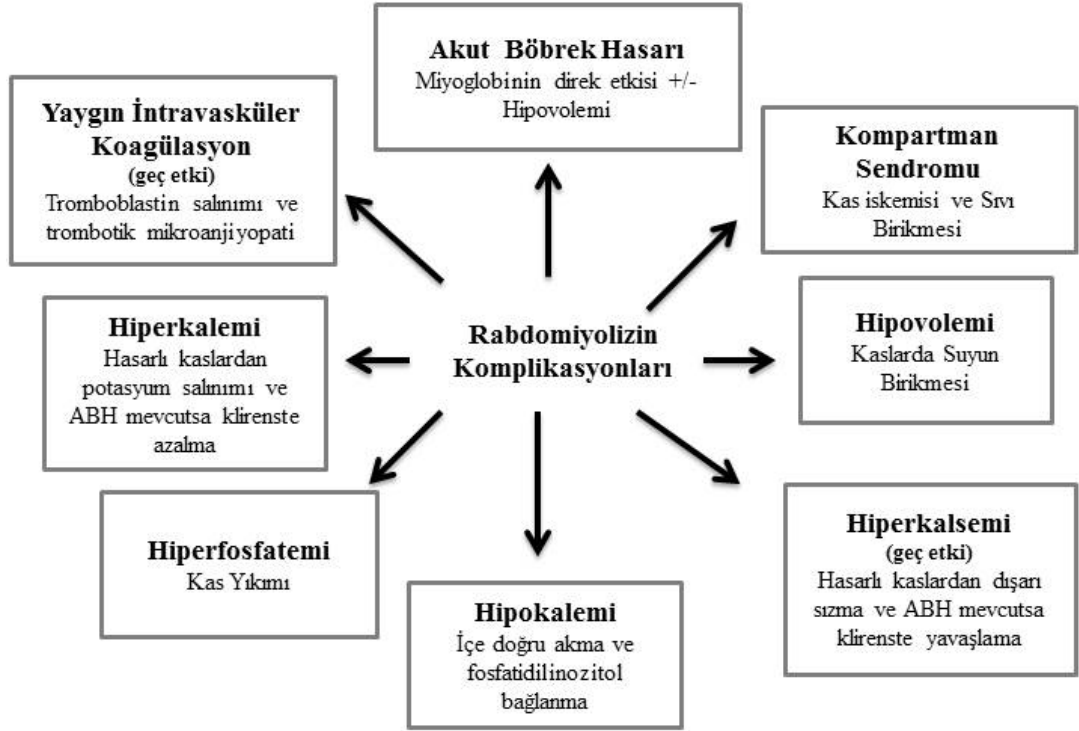
Kompartman Sendromu: Genellikle ön kol ve ön/arka bacak bölgesinde, tek bir kas grubunda görülen, sınırları belli olan kas nekrozu olarak tanımlanır (28). Travma veya iskemi sonrasında gelişen kas hasarı, kompartman içi basıncın yükselmesine yol açar. Basınca maruz kalan kaslarda, sarkolemmmanın geçirgenliğinin artmasıyla hücre içi ve hücre dışı iyon geçişi

artar. Aynı zamanda kan hücumu olan bu kas grubunda hiperperfüzyonla toparlanma sağlanırken ödem görülür. Aşırı kan akımı ve tehlikeli drenaj arteriolar perfüzyonu bozabilir. Böylelikle kas içi basıncın artmasıyla kompartman sendromu oluşur (1,27). Normalde 0-20 mmHg olan kompartman içi basınç 240 mmHg'ye kadar yükselebilir (29).



Şekil 1: Rabdomiyolizin oluşum mekanizmaları (27)

ATP, adenozin trifosfat; ATPaz, adenozin trifosfataz; DNA, deoksiribonükleik asit; PLA, polilaktik asit; SOR, serbest oksijen radikalleri.

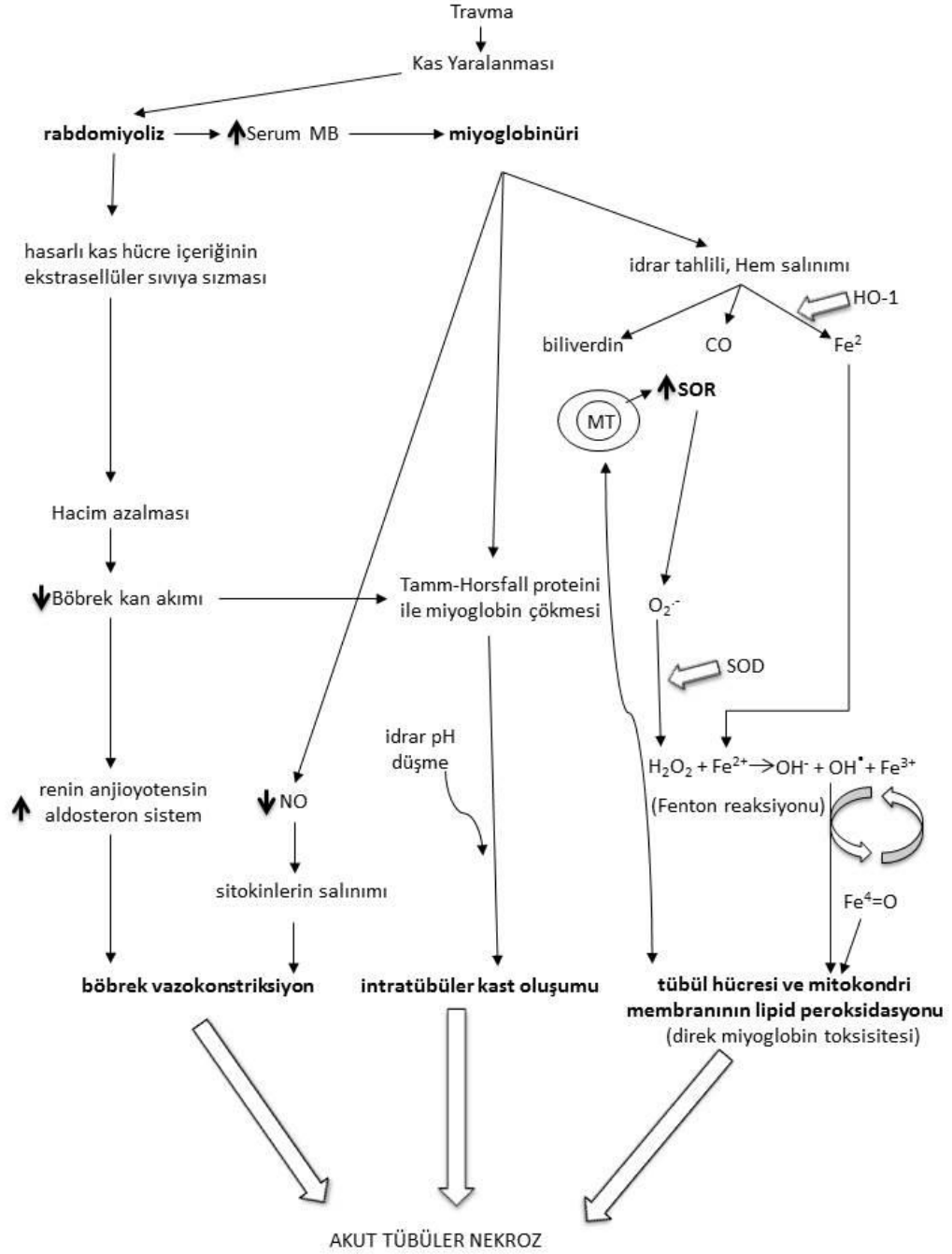


Şekil 2: Rabdomiyoliz komplikasyonları (27)

MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARI

Miyoglobürik akut böbrek hasarı, travmatik-nontravmatik, endojen-eksojen, herediter-edinsel sebeplere bağlı olarak, iskelet kası yapısının bozulup parçalanmasıyla karakterize, vücutta toksik etki oluşturacak hücre içi içeriğin dolaşım sistemine geçmesiyle sonuçlanan ve potansiyel olarak yaşamı tehdit eden üremik bir sendromdur (1,23,26).

İskelet kasının 100 gr'dan fazlasının hasarı sonucu dolaşımdaki artan serbest miyoglobin seviyesi plazma proteinlerinin bağlama kapasitesini aşar (21,25). Kolaylıkla böbrek glomerüllerinden filtre edilip glomerüler filtratı yoğunlaştırır ve idrarı kahverengimsi çay veya kola renginde yapar (1,22-24,26). Miyoglobin daha sonra Tamm-Horsfall tübül proteini ile reaksiyona girerek, renal tübüllerin asidik ortamında çöker ve intratübül kistleri oluşturur. İdrar pH'ı 5.6'nın altındaysa miyoglobin ferrihemate ve globine ayrışır (22,23). Vazokonstriksiyon ve volüm azalması nedeniyle böbrek kan akımında azalma (hipoperfüzyonun güçlenmesi), idrar pH'da düşme (asidik idrar) ve sistemik asidoz varlığı; Tamm-Horsfall proteini ile miyoglobin arasında daha hızlı ve daha güçlü bağların oluşmasını ve dolaşımdaki miyoglobinin böbrek içinde çökmesindeki patolojik süreci şiddetlendirir (22,23,26). Miyoglobinin tübülleri mekanik olarak tıkaması, oksidatif hasar ve vazokonstriksiyon ABH oluşmasında önemli rol oynamaktadır (21,22,24-26). Şekil 3'te rabdomiyolizin neden olduğu ABH gelişiminin fizyopatolojisi gösterilmiştir.



Şekil 3: Rabdomiyolizin neden olduğu ABH gelişiminin fizyopatolojisi (23)

(CO, karbonmonoksit; Fe²⁺, demir; Fe³⁺, ferrik demir; Fe⁴ = O, ferril demir; HO-1, hem oksijenaz-1; H₂O₂, hidrojen peroksid; MT, mitokondri; NO, nitrik oksit; OH⁻, hidrojen anyonu; O₂⁻, süperoksit radikali; OH·, hidroksil radikali; SOR, serbest oksijen radikalleri; SOD, süperoksit dismutaz)

Miyoglobine bağı olarak gelişen ABH'nin patogenezi hala bir tartışma konusudur. Birçok çalışmada olduğu gibi çalışmamızda da oksidatif stresin oluşturduğu hasarın böbrek tübül hücrelerinde miyoglobinin doğrudan toksik etkisiyle olduğu düşünülmektedir. Miyoglobinin nitrik oksit (NO) ile reaksiyona girmesi sonucu böbrek damarlarındaki vazokonstriksiyon ve tübüllerde kast oluşumuna sebep olarak hasar oluşturduğu bildirilmektedir. Ekstrasellüler düzeyi artan miyoglobin, glomerüllerden filtre edilir ve proksimal tübül hücreleri tarafından geri emilim sırasında demir ve ferritine dönüştürülür. Fazla miktardaki miyoglobin tübüllerde birikir ve kast oluşumuna neden olarak tübüller tıkanma ve nekroza neden olur. Böbreklerdeki yoğun vazokonstriksiyon hücre içerisinde ferrihemate birikimine neden olur. Sonuç olarak ekstrasellüler miyoglobin düzeyinin artması idrarda miyoglobin görülmesine sebep olur (21,22,24-26).

NİTRİK OKSİT

En küçük sinyal molekülü olarak bilinen nitrik oksit (NO) üç nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından üretilir. Bu enzimlerin tamamı substrat olarak moleküler oksijen (O_2) ve L-arginin aminoasidini kullanırlar. Kofaktör olarak, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve tetrahidrobiopterin (BH_4)'e gereksinim duyarlar. Tüm NOS enzimleri kalmoduline bağlanır ve yapılarında Hem grubu içerir (30). NOS enzimlerinin; bir dizi reaksiyonu sonucunda O_2 ve L-argininden, L-sitrülin ve NO sentezi meydana gelmektedir (31). NO; renksiz bir gazdır. Oksijenin olmadığı ortamda inaktiftir. Ancak hava ile temas durumunda hızla oksijenle reaksiyona girerek nitrojen dioksit (NO_2) dönüşür. NO_2 doku hasarı yapabilecek toksik bir gazdır (32,33).

Nitrik oksit sentazın 3 izoformu tanımlanmıştır. NOS'nin üç farklı izoformunun da böbreklerde eksprese edildiği rapor edilmiştir (31,33).

1. Nöronal NOS, Tip-1 NOS (nNOS, NOS-1)
2. İndüklenebilir NOS, Tip-2 NOS (iNOS, NOS-2)
3. Endotelial NOS, Tip-3 NOS (eNOS, NOS-3) (31,34,35).

Nöronal NOS; yapısal olarak merkezi ve periferik nöronlarda ve bazı diğer hücre tiplerinde bulunur. Merkezi sinir sisteminde sinaptik plastisitenin sağlanmasında, kan basıncının merkezi düzenlenmesinde, düz kasların gevşemesinde ayrıca periferik nitreljik sinirler yoluyla vazodilatasyonun sağlanmasında rol oynar. Nitreljik sinirler özellikle korpus kavarnozumun gevşemesinde ve penis ereksiyonunda önemli rol oynar (30).

İndüklenebilir NOS; ajan sitokin ve lipopolisakkaritlere cevap olarak bir çok hücre tipinde eksprese edilebilir. iNOS tarafından büyük miktarda oluşturulan NO sitotoksik etkilere sahiptir. iNOS septik şok ve inflamatuvar hastalıkların patafizyolojisinde önemli rol oynar (30).

Endotelial NOS; çoğunlukla endotelial hücrelerde eksprese edilir. Kan damarlarının genişlemesi, kan basıncının kontrolü, damarlar üzerinde koruyucu etki ve antiaterosklerotik etki gibi bir çok fizyolojik role sahiptir (30).

Nitrik oksit böbreklerde, basınç natriürezisin düzenlenmesi, medüller kan akımının sağlanması, tübülo glomerüler geri bildirim mekanizmasının oluşması, tübüler Na⁺ geri emiliminin inhibisyonu, böbrek sempatik sinir aktivitesinin düzenlenmesi, böbrek ve glomerüler kan akımının düzenlenmesi gibi birçok fizyolojik mekanizmada önemli rol oynar. Böbreklerde NO'nun net etkisi natriürez ve diürez oluşturmaktır (31).

Deneysel hayvan çalışmalarında, NOS'nin neden olduğu inhibisyon nedenleri; sistemik ve glomerüler hipertansiyon, glomerüler iskemi, glomerülerskleroz, tübülointerstisyel yaralanma ve proteinüridir (36).

Böbrek NO'nun, böbrek ve glomerüler hemodinamik düzenlenmesi üzerine çok sayıda fizyolojik rolleri vardır. NO böbrek mikrosirkülasyonunda vazodilatasyon yaparak etki gösterir. Önemli klinik ve deneysel çalışmalarda kronik böbrek hasarının fizyopatolojisinde NO eksikliği gösterilmiştir. NO eksikliği, böbrek fonksiyonlarının bozulmasıyla bağlantılıdır. NO lokal etki eder. Bu nedenle NO eksikliği fizyopatolojide önemli rol oynar (36).

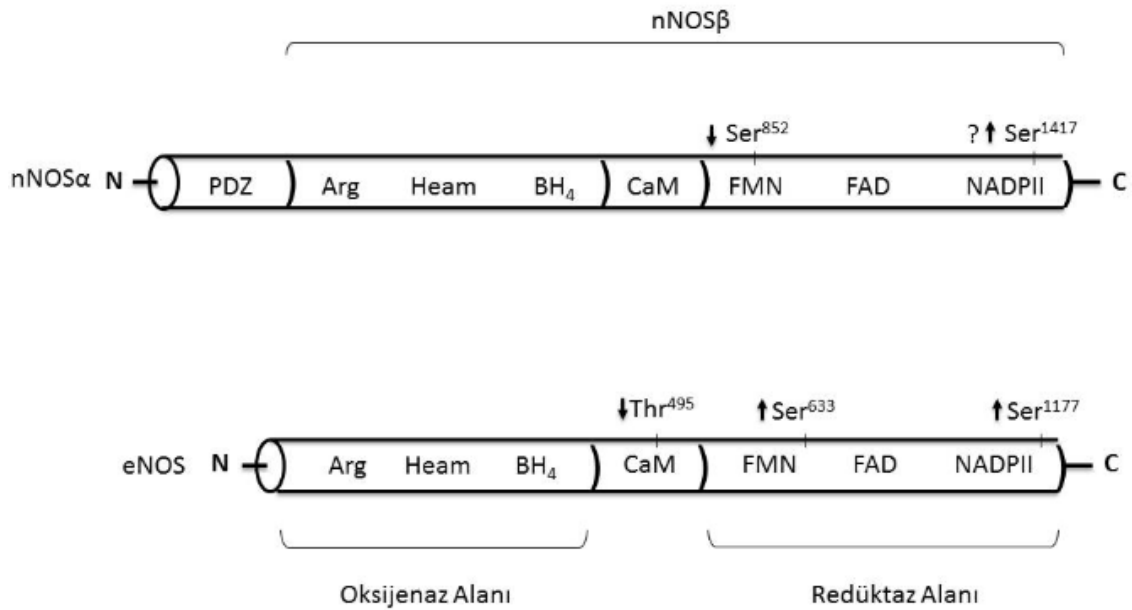
Birçok çalışmada nNOS'un makula densa hücreleri tarafından eksprese edildiği bildirilmiştir. Buna ek olarak afferent arteriyollerde, intertübüler ve arkuat arterlerde böbrek arterindeki nonkolinerjik ve non adrenerjik sinirlerden de eksprese edildiği bildirilmiştir. Ayrıca dış medüller toplayıcı kanallar, kortikal toplayıcı kanallar ve iç medüller toplayıcı kanallarda bulunduğu bildirilmektedir (30,31,37).

Böbreklerde iNOS ekspresyonu tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar normal sıçan, insan ve fare böbreğinde iNOS protein ekspresyonunun olmadığını bildirmelerine rağmen, bazı araştırmacılar normal sıçan böbreğinde iNOS protein ekspresyonunun olduğunu rapor etmiştir (30,31,37).

Endotelial NOS güçlü bir şekilde böbrek damar endotelinde eksprese edilir. Aynı zamanda böbrek tübüllerinde de eksprese edildiği bildirilmiştir. İmmünohistokimyasal boyamalarda eNOS'nin renal arter, arteriol, glomerüler kapiller, medüller inen vaza rektada boyandığı ancak kortikal kapillerde ve venöz endotellerinde eksprese edilmediği, iç medüller

toplayıcı kanallarda, Henlenin çıkan kalın kolunda ve kıvrımlı proksimal tübülde eksprese edildiği bildirilmektedir (30,31,37).

Genel olarak NOS izoformları böbrek nefronunun çeşitli kısımları boyunca diğer organlara göre daha yüksek düzeyde sentezlenir ve düzenlenmesi daha karmaşıktır (31). Nöronal NOS ve Endotelial NOS'nin böbrekteki oksijenaz ve redüktaz fosforilasyon alanları bulunmaktadır. N terminal oksijenaz bağlanma bölgesinde; Hem, BH₄ ve Arjinin, C terminal redüktaz bağlanma bölgesinde; FAD, FMN ve NADPH bulunmaktadır. Bu bağlanma bölgelerinin arasında kalmodulin (CaM) bulunmaktadır (31). Bu izoformlar farklı genler tarafından kodlanmakta ve her bir izoformun lokalizasyonları, regülasyonları, katalitik özellikleri ve inhibitör duyarlılıkları farklıdır (33). Şekil 4'te nöronal NOS ve endotelial NOS'nin böbrekteki fosforilasyon alanları gösterilmiştir



Şekil 4: Nöronal NOS ve Endotelial NOS'un böbrekteki fosforilasyon alanları (31)

(Tüm bölgeler insan NOS dizilimine göre numaralandırılmıştır. Oklar NOS aktivitesi üzerinde her bölgede fosforilasyon etkisini göstermektedir. nNOSα ve nNOSβ bağlantı varyantları arasında fark vardır. Ser, serin; Thr, treonin; Arg, arginin; BH₄, tetrahidrobiopterin; CaM, kalmodulin; FMN, flavin mononükleotidi; FAD, flavin adenin dinükleotid; NADPH, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat)

NİTRİK OKSİTİN MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARINDAKİ ROLÜ

Nitrik Oksit hemoglobinin yapısında bulunan hem grubundaki demir ve protein kısmının beta zincirindeki thiol grubu olan 93. pozisyondaki sisteine bağlanır. NO'nun hemoglobin tarafından süpürülmesi vazokonstriksiyon ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca NO miyoglobin yapısında bulunan hem grubundaki demir ve protein yapısında olan 110. pozisyondaki sisteine bağlanır. Miyoglobinin de NO süpürücü etkisi bulunmaktadır (38-41).

Kasların parçalanması ile açığa çıkan miyoglobin güçlü bir şekilde NO'yu yakalayarak böbreklerde vazokonstriksiyona neden olur. NO ve metaboliti peroksinitrit (ONOO) hem toksik hasarın hem de hipoksi-reperfüzyon sonucu oluşan hasarın fizyopatolojisinde rol almaktadırlar. Bazı çalışmalarda, tübüllerde üretilen NO'nun hücrel hasarın bir aracısı olarak renal iskemi ve toksik hasarda rol oynadığı belirtilmektedir. Lokal olarak üretilen NO'nun muhtemelen iNOS aktivitesiyle üretildiği belirtilmektedir. iNOS'nin iskemi ve endotoksemi sonucu meydana getirdiği NO ve ONOO'in toksik olabileceği belirtilmektedir. Burada hem serbest miyoglobin ve hemoglobinin hem de iNOS'nun oluşturduğu toksik etki üzerinde durulmalıdır. Ayrıca yapılan çalışmalarda bir renal vazodilatör olan eNOS tarafından meydana getirilen NO'nun iNOS tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir. Buna ilaveten, MABH'de tümör nekrozis faktör gibi sitokinlerin düzeyinin arttığı ve iNOS oluşumuna sebep oldukları belirtilmektedir (5,35).

Özetle, ABH'nin diğer formlarına benzer şekilde rabdomyoliz sonucu oluşan ABH'de, endotelden üretilen NO'nun azalması sonucu oluşan vazokonstriksiyonla ilişkilidir. Ayrıca, iNOS tarafından üretilen NO'nun artması endotoksin ve iskeminin zararlı etkilerini daha da şiddetlendirmektedir (5).

OKSİDATİF STRES

Oksidatif stres biyolojik sistemler içinde antioksidan faktörler arasındaki denge bozukluğu olarak tanımlanır. Bu dengesizlik, serbest radikallerin aşırı üretiminin antioksidan sistemlerin koruyuculuğunun önüne geçmesiyle, antioksidan sistemlerin vücutta ortaya çıkan hasarı onarmada yetersiz kalmasıyla oluşur. Bu dengenin bozulup serbest radikallerin hücre içinde artması ve bunların hücre fonksiyonları üzerinde yapmış oldukları olumsuz etkiye oksidatif stres denir (25).

Fizyolojik ve patolojik olaylarda, diğer moleküllerle elektron alışverişine girip yapısını değiştiren atom veya moleküllere serbest radikaller denir. Serbest oksijen radikalleri (SOR)

normal hücrel aerobik metabolizmanın bir yan ürünü olarak mitokondri tarafından oksidatif fosforilasyon sırasında üretilir. Yapısında bir veya birden fazla eşlenmemiş elektron bulundurabilen, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen son derece reaktif bileşiklerdir. Serbest radikaller genellikle merkezinde oksijen ya da azot gibi her zaman eşlenmemiş tek bir elektron içerirler (25,42). Bu bileşiklerdeki eşlenmemiş elektronun varlığı koyu bir nokta (·) konarak belirtilir. En önemlileri; süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroperoksil radikali (HO_2^{\cdot}), hidroksil radikali ($\cdot OH$), alkoksil radikali (RO^{\cdot}), peroksil radikali (ROO^{\cdot}), NO^{\cdot} ve NO_2^{\cdot} radikalleridir. Radikal olmayan oksijen merkezli ve reaktivitesi oldukça yüksek diğer bileşikler, singlet oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), hipoklorid asit ($HOCl$), lipid hidroperoksit ($LOOH$) ve peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)'tir (42,43).

Serbest radikaller oksidatif stres yapıcı durumlardan (aktif fagositler, sürekli olarak kötü madde kullanımı, stres) kaynaklanmaktadır. Oksijen gereksiniminin karşılanmadığı hasta ve yaşlı hücrelerde serbest radikaller çok miktarda üretilir. Serbest radikaller bir kere oluştuktan sonra çevresindeki protein, DNA, lipid, karbonhidrat, enzim ve diğer biyomoleküller ile etkileşime girerek hedef moleküllerinde değişiklik veya hasara yol açarak işlevini bozar. Daha sonra ikincil serbest radikal oluşturmak için eşleşmiş elektrona aktarılır. İkincil serbest radikalden sonra da hasar döngüsü devam etmekte ve bitişik türlerle sırayla reaksiyona girer. Sağlıklı bir vücut, düşük düzeydeki serbest radikalleri enzim ve antioksidan maddelerle etkisiz hale getirir. Yüksek düzey antioksidan varlığı ise dokuda yıkıma neden olur (25,42).

Reaktif oksijen türleri; canlı organizmanın patojenlere karşı koruyucu rolünde, kanser süresince fagositozda ve diğer özel metabolik reaksiyonlarda önemli rol oynar. Ancak reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi; yağ asitlerinin lipid peroksidasyonuna, protein ve DNA polimerizasyonuna neden olan malondialdehid üretimi ile hücre hasarına sebep olabilir (23).

Daha önceki çalışmalarda demir aracılı $\cdot OH$ üretiminin, oksidatif strese neden olarak, Hem protein nefrotoksisitesinin fizyopatolojisinde baskın rol oynadığı hipotez edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalar göstermiştir ki; demir aracılı proksimal tübüler sistemdeki lipid peroksidasyonu, hidroksil anyonu (OH^-)'ndan daha fazla hidrojen peroksida bağımlı olduğu ve sadece OH^- üretimindeki azalma, miyoglobin sitotoksisitesinin azalmasında yetersiz olabileceği bildirilmiştir. (23).

Miyoglobinin lipid peroksidasyonunu katalize etmesi için, ferrus demir (Fe^{2+}) formunun okside demir (Fe^{3+}) formuna dönüşmesi ve oluşan formunun ferril miyoglobin tarafından redoks reaksiyonları lipid peroksidasyonuna yol açar. Miyoglobinin yüksek reaktif

formu lipid peroksidasyonunu kuvvetli bir şekilde uyarabilir. Demir ile ferryl miyoglobin arasındaki redoks döngüsünde serbest radikal oluşur ve bu durum böbrekte ciddi oksidatif hasara neden olabilir. Bu işlemin, pH'a bağlı olduğu gösterilmiştir ve alkali koşulda reaktif ferryl-miyoglobin kompleksi stabilize edilerek miyoglobin kaynaklı lipid peroksidasyonu önleyebilir. Alkali koşullarda ferryl türleri stabilleşir, miyoglobin lipidler ve lipid hidroperoksitlerine yönelik önemli ölçüde daha az reaktif etki gösterdiği rapor edilmektedir (23).

Serbest radikallerin salınımı böbrek parankiminde oksidatif hasar ile sonuçlanır. Çalışmalar miyoglobinin, izoprotastanların üretimi ile sonuçlanan lipid peroksidasyondan da sorumlu olabileceği bildirilmektedir. Bu moleküller güçlü vazokonstriktörlerdir ve böbrekte arteriyoller disregülasyona ve hipoperfüzyona katkıda bulunurlar. Sempatik sinir sistemi ve renin-anjiyotensin sistemin homeostatik aktivasyonunda ve intravasküler hipovolemi nedeniyle vazokonstriksiyona da katkıda bulunabilir. ABH'ye oluşmasına miyoglobinin önemli katkısı vardır ama hipovolemi, metabolik anormallikler, ilaç etkileri de rabdomiyolizli hastaların böbrek fonksiyonlarını etkilediği rapor edilmektedir (22).

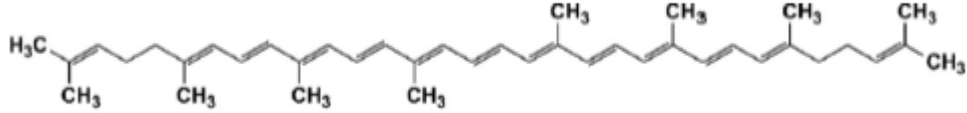
ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Vücudumuzdaki birçok savunma sisteminden biri olan antioksidanlar; serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve bunların oluşturduğu hasarı önlerler. Antioksidanların sınıflandırılması çok çeşitlidir. Endojen ve eksojen kaynaklı, serbest radikallerin oluşumunu önleyen ve var olan serbest radikalleri etkisiz hale getiren, enzim olan ve enzim olmayan olarak kendi aralarında ikiye ayrılarak sınıflandırılırlar. Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) gibi enzimlerdir. Böbrekte üretilen SOR'yi CAT, SOD, GPx antioksidanları ve non-enzimatik olan glutatyon (GSH), askorbik asit etkisiz hale getirir Antioksidanlar, serbest radikaller üzerindeki etkilerini 4 yolla gerçekleştirirler.

1. Süpürücü Etki; zayıf bulduğu yeni bir moleküle çevirerek, aktivitesini azaltarak yok etme.
2. Bastırıcı Etki; aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme.
3. Zincir Kırıcı Etki: kendisine bağlayıp reaksiyon oluşmasını önleme.
4. Onarıcı Etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarı onarır, temizlenme (42,44).

LİKOPEN

Likopen, insan plazması içinde bulunan, tekli-oksijen ve serbest radikalleri temizleyen, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu DNA hasarını azaltabilen, anti-kanser aktiviteye sahip yüksek verimli bir antioksidandır (8,9,11). Şekil 5'te likopenin moleküler yapısı verilmiştir.



Şekil 5: Likopenin moleküler yapısı (8)

Yapısı “C₄₀H₅₆” karbon ve hidrojen atomlarından oluşmaktadır. Karotenoidlerin çoğunluğu gibi, likopen de bir tetraterpenedir. Karotenoidler arasında, 11 doğrusal olarak düzenlenmiş konjuge çift bağ ihtiva eden, simetrik ve döngüsel olmayan yapısı ile karakterizedir. Likopenin karotenoidler arasında en “prototip” olduğu kabul edilebilir. Çünkü onların yapıları ve yapısal değişiklikleri likopen ile ilgili olabilir. Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği karotenoidler içinde likopeni “ψ” simgesi ile gösterilmektedir (45).

İn vivo veya in vitro olarak doku ve hücre iyileşmesinde ya da korunmasında katkıda bulunmaktadır (46). Doğal karoten bir pigment olan likopen bitkiler tarafından sentezlenir ve başlıca domates, karpuz ve greyfurtta bulunur (7,8,47). Antioksidanlar arasında bir nonprovitamin olan likopen, taze domates ve bunların türevlerine kırmızı rengi sağlamaktan sorumlu olan bir karotenoiddir (47,48).

Likopen doğada bulunan 600 karotenoidden biridir (7). Likopenin serbest radikallere karşı hücre korunmasında karotenoidler arasında en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (7,10). Son çalışmalarda likopenin kanserler gibi bazı kritik hastalıkların önlenmesi için antioksidan aktivitesi, serbest radikal süpürücü kapasitesi ve koruyucu rolü olduğu bildirilmiştir (7). Likopenin SOR’yi bastırmada α-tokoferol’den 10 kat, β-karoten’dan 47 kat, E vitamini’nden 100 kat, daha etkili olduğu bildirilmektedir (8).

İnsanlarda prostat, akciğer, mide kanserlerinin çeşitli tiplerinde potansiyel koruyucu etkinliği bulunmaktadır (9,47). Likopenin yaşlanmayı, oksidatif hasarı, toksisiteyi, kalp damar hastalıklarını önleyici etkileri ve anti-inflamatuar biyolojik aktivitesi bulunmaktadır (11,46). Buna ek olarak likopenin, hasara karşı hayati biyomolekülleri (DNA, proteinler, lipidler ve enzimleri) koruyarak, karsinogenezisi ve ateroskleroza engellediği öne sürülmüştür (7,48).

Kardiyovasküler hastalık gelişme riskinin daha az olması yüksek plazma likopen konsantrasyonuna bağlanmaktadır (47,48). Kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi bağlamında, likopen gibi çeşitli antioksidanları içeren meyve ve sebze tüketimini arttırmak tavsiye edilmektedir (45). Hayvan çalışmalarında likopenin meme, kolon, akciğer tümörleri dahil olmak üzere kemirgenlerde indüklenen karsinogenezde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (9). Likopen tüketimi meme kanseri riskini azaltmaktadır (9). Çeşitli çalışmalarda likopen alımının düşük yoğunluklu lipoprotein (LDH) oksidasyonunu ve sağlıklı erkeklerde tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) oluşumunu engellediği ileri sürülmüştür (49). Estarbaver (45), LDL oksidasyonunda tokoferolün ilk tüketilen bileşik olduğunu, likopenin de tüketilen son antioksidan bileşik olduğuna işaret etmiştir. Diyet ile verilen likopenin çoğu, ince bağırsak tarafından emilir ve karaciğerde depolanır (48). Son çalışmalar domates ürünleri tüketiminin, endotel fonksiyon ve kan akışını geliştirmede rolü olduğunu düşündürüyor. Domates ve domates ürünleri insan beslenmesinde toplam karotenoid içeriğine %30'dan fazla katkı sağlamaktadır. Likopen; Kuzey Amerikada yaşayan insanların serumlarında en yüksek konsantrasyon gösteren karotenoiddir. Ortalama bir yetişkinde serum konsantrasyonları 0.13 μ M'den azdır. İzole edildiğinde bileşik yapısı oldukça kararsız bir moleküldür. Oksitlenme, ışık, yüksek sıcaklık ve aşırı pH'a son derece hassastır. Ama doğal matrisi içinde örneğin domateste yapısı oldukça kararlıdır. Likopenin de diğer karotenoid antioksidan ürünler gibi antioksidan veya hücre sinyal aktivitesi benzerlik gösterir ya da farklı biyolojik aktivitelere sahip olabilir (45).

Likopenin, böbrek iskemi/reperfüzyon, kontrast madde, kolistin, sisplatin, gentamisin, civa klorür toksisitesi ile böbrek hasarı geliştirilen deneysel modellerde koruyucu ve tedavi edici etki gösterdiği bildirilmektedir (8,10-16). Yaptığımız araştırmaya göre MABH modelinde likopenin tedavi edici etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda; Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nden temin edilen ve standart koşullarında (22 ± 1 °C oda sıcaklığı, %60 nem oranı, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutulan, 180-230 g ağırlığında, 8 haftalık Spraque-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Tüm deney aşamalarında aynı birimde tutulan sıçanlara standart sıçan yemi ve musluk suyu verildi. Çalışma için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Ek-1) onay alındı.

Çalışmamızda 36 adet erkek sıçan kullanıldı. Denekler, Kontrol (K) ve Kontrol+Likopen (K+LK) gruplarında 8'er adet, Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı (MABH) ve Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı+Likopen (MABH+LK) gruplarında 10'ar adet olmak üzere 4 gruba ayrıldı. K ve K+LK gruplarındaki sıçanlara serum fizyolojik (SF), MABH ve MABH+LK gruplarındaki sıçanlara %50'lik gliserol solüsyonundan 8 ml/kg'a göre bulunacak toplam hacim eşit miktarlarda her iki arka bacak kaslarına intramüsküler (im) olarak enjekte edildi. K ve MABH gruplarındaki sıçanlara 1, 24, 48 ve 72 saat sonrasında likopenin çözücüsü olan mısır yağı 2 ml/kg hacminde gavaj yolu ile verildi. K+LK ve MABH+LK gruplarındaki sıçanlara da 1, 24, 48 ve 72 saat sonra 10 mg/kg dozunda likopen (50), 2 ml/kg hacminde mısır yağı içinde çözdürülerek gavaj yolu ile verildi.

Kontrol Grubu (K) sıçanlara SF'nin im enjeksiyonundan 1, 24, 48 ve 72 saat sonra likopenin çözücüsü olan mısır yağı 2 ml/kg hacminde gavaj yolu ile verildi.

Kontrol + Likopen Grubu (K+LK) sıçanlara SF'in im enjeksiyonundan 1,24, 48 ve 72 saat sonra gavaj ile 10 mg/kg dozunda likopen verildi.

Miyoglobinürük Akut Böbrek Hasarı Grubu (MABH) sıçanlara gliserolün im enjeksiyonundan 1, 24, 48 ve 72 saat sonra likopenin çözücüsü olan mısır yağı 2 ml/kg hacminde gavaj yolu ile verildi.

Miyoglobinürük Akut Böbrek Hasarı + Likopen Grubu (MABH+LK) sıçanlara gliserolün im enjeksiyonundan 1, 24, 48 ve 72 saat sonra gavaj ile 10 mg/kg dozunda likopen verildi.

Tüm gruplardaki sıçanlar gavaj yolu ile mısır yağı ya da likopen son dozunun uygulandığı 72. saatte metabolik kafeslere alınarak son 24 saatteki idrar örnekleri toplandı. Gliserol enjeksiyonundan 96 saat sonra sıçanlar 10 mg/kg rompun ve 50 mg/kg ketamin anestezisi altında batın ön duvarı açıldı. Enjektörle diyafragmadan kalbe ulaşılarak alınan kan örnekleri biyokimyasal incelemeler için jelli tüplere alındı. Sonrasında her iki böbrek çıkarılarak buz kabı üzerine konuldu, böbrek kapsülü sıyrıldıktan sonra bistüri yardımıyla longitudinal kesiyle ikiye ayrıldı. Sağ böbreğin bir yarısı histopatolojik incelemeler için % 10'luk formalin solüsyonuna alındı, diğer yarısı ve sol böbreğin her iki yarısı soğuk SF ile yıkandıktan sonra alüminyum folyo ile paketlenildi ve laboratuvar çalışmaları yapılincaya kadar -80°C'de saklandı. Metabolik kafeslerde toplanan idrar hacimleri ölçüldükten sonra kan ve idrar örnekleri soğutmalı santrifüjde +4°C'de, 3000 rpm'de 10 dk süreyle santrifüj edilerek serum ve idrar örnekleri ependorf tüplere alınarak laboratuvar çalışmaları yapılincaya kadar -80 °C'de saklandı.

Kullanılan Cihazlar

Spektrofotometre	: Spectronic Unicam Helios α , İngiltere
Hassas terazi	: Mettler Toledo, AB204-S, İsviçre
Soğutmalı santrifüj	: MPW 350R, Polonya
Su banyosu	: Nickel Clifton Elektro LTD, İngiltere
Otomatik pipetler	: Biohit Proline, Finlandiya, Mettler Toledo, İsviçre, Eppendorf Multipipette/Repeate(Xstream), Amerika
Vorteks	: Heidolp, Almanya
Derin dondurucu	: Thermo Elektron Corporation, USA
pH metre	: InoLab, Level 1, Almanya
Manyetik karıştırıcı	: Remi equipments, Hindistan
Homojenizatör	: Polytron Kinematica AG, İsviçre
Otoanalizör	: C16000, Architect, ABBOTT, Amerika

Kullanılan Kimyasal Maddeler

Likopen	: Sigma, Amerika
Tiyobarbitürük asit	: Sigma, Almanya
Sülfanilamid	: Sigma, Almanya
DTNB	: Sigma, Almanya
NaCl	: Sigma, Almanya
NNDA	: Sigma, Almanya
CuSO ₄	: Panreac, İspanya
EDTA	: Merck, Almanya
Piridin	: Merck, Almanya
Sodyum Dodesil Sülfat	: Merck, Almanya
NaOH	: Merck, Almanya
KH ₂ PO ₄	: Merck, Almanya
Na ₂ HPO ₄	: Merck, Almanya
Glisin	: Merck, Almanya
KCl	: Merck, Almanya
HCl	: Merck, Almanya
Butanol	: Riedel de Haen, Almanya
Etanol	: Riedel de Haen, Almanya
Asetik asit	: Riedel de Haen, Almanya
Na ₂ CO ₃	: Riedel de Haen, Almanya

Biyokimyasal Çalışmalar

Serum üre, kreatinin, Na⁺, K⁺ düzeyleri ile Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat aminotransferaz (AST), CK ve LDH aktiviteleri; idrar kreatinin ve Na⁺ ölçümleri Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Laboratuvarı'nda bulunan otoanalizör (C16000, Architect, ABBOTT Amerika) kullanılarak ölçüldü.

Kreatinin klirensi standart klirens formülüne göre hesaplanarak kg/vücut ağırlığına bölündü.

$$\text{Kreatinin klirensi (ml/dk)} = \frac{\text{İdrar kreatinin (mg/dl)} \times \text{Günlük idrar hacmi (ml)}}{\text{Serum kreatinin (mg/dl)} \times 1440}$$

Fraksiyonel sodyum atılımı % olarak hesaplandı.

$$\text{FeNa (\%)} = \frac{\text{İdrar Na}^+ \text{ (mmol/l)} \times \text{Serum kreatinin (mg/dl)} \times 100}{\text{İdrar kreatinin (mg/dl)} \times \text{Serum Na}^+ \text{ (mmol/l)}}$$

Böbrek Dokusu Homojenizasyonu

Böbrek dokuları $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dan alındıktan sonra buzlu çözülmeden kesilerek tartıldı. Bistüri ile kesilen dokular tüplere konuldu. Glutasyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri için 0.15 M potasyum klorür (KCl) solüsyonu; NO düzeyi için 50 mM fosfat tamponu (pH 7.4) ile %10'luk (w:v) olacak şekilde hazırlandı. Tüpler buz üzerinde tutularak homojenizatör ile homojenize edildi. Hazırlanan homojenatlar 4000xg'de 10 dk $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de santrifüj edildi ve ardından süpernatant kısmı ayrıldı. Ayrılan süpernatantlar spektrofotometrik MDA, NO, GSH ve protein düzeylerinin ölçümlerinde kullanıldı.

Malondialdehit Miktar Tayini

Lipit peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renk spektrofotometrik olarak ölçüldü (51,52).

Çözeltiler:

1. %8.1'lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)
2. %20'lik Asetik asit (NaOH ile pH 3.5'e ayarlandı)
3. %0.8'lik tiyobarbitürik asit (TBA)
4. n-Butanol/Piridin (15:1)

Deneyin yapılışı

0.2 ml 10 kat dilüe edilmiş doku homojenatı; 0.2 ml %8.1'lik SDS, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik TBA ve 0.6 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'deki sıcak su banyosunda 1 saat tutuldu. Musluk suyu ile soğutulduktan sonra üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) eklenerek 1 dABHka vorteksle karıştırıldı. 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Sonuçların hesaplanması:

$$C \text{ (nmol/ml)} = \frac{A \times V_t \times 10^9}{E \times V_s \times L \times 10^3}$$

A : Absorbans

V_t : Total reaksiyon hacmi

10⁹ : Molün nanomole çevrilmesi

E : Tüketim katsayısı (1.56 10⁵ M⁻¹ cm⁻¹)

V_s : Total reaksiyon içindeki numune hacmi

L : Küvet çapı

10³ : Litrenin mililitreye çevrilmesi

Sonuçlar MDA nmol/g yaş doku olarak ifade edildi.

Glutasyon Düzeyinin Ölçümü

Doku homojenatlarındaki serbest sülfidril gruplarının Ellman ayıracı ile oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak saptanması, glutasyon düzeylerinin belirtilmesi için kullanıldı (53).

Çözeltiler:

1. Proteinsizleştirme çözeltisi: 120 g NaCl, 6.68 g metafosforik asit ve 0.8 g sodyum EDTA tartıldı ve 400 ml distile suda çözüldü.
2. 0.3 M Disodyum fosfat (Na₂HPO₄)
3. 1 mM Elman ayıracı: 4mg 5.5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DNTB), 10 ml %1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözüldü.

Deneyin yapılışı:

0.5 ml doku homojenatı üzerine 1.5 ml 0.15 M KCl ve 3 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi. Bu karışım 3000xg'de 20 dk santrifüj edildikten sonra 0.5 ml süpernatant alınarak üzerine 2 ml M Na₂HPO₄ ve 0.5 ml Ellman ayıracı eklendi. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 412 nm'de okundu. GSH düzeyleri ekstinksiyon katsayısı (Σ=1.36 10⁴ M⁻¹ cm⁻¹) kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar µmol GSH/g doku olarak belirtildi.

Nitrat ve Nitrit Tayini

Nitrat (NO_3^-) ve nitrit (NO_2^-) tayini Cortas ve Wakid'in tarif ettiği yönteme göre ölçüldü (54).

Kullanılan reaktifler:

1. Kadmiyum granülleri: 0.1 mol/L H_2SO_4 içinde saklandığı sürece 9 ay stabildir.
2. Glisin-NaOH buffer: 7.5 g glisin bir miktar distile suda çözüldü. 2 mol/L NaOH çözeltisi ile pH'sı 9.7'ye ayarlandı. Bu çözelti 1 ay 0-8 °C'de stabildir.
3. Sülfanilamid: 2.5 g sülfanilamid 250 ml sıcak 3 mol/L HCl içinde çözüldü ve daha sonra soğumaya bırakıldı. 1 yıl oda sıcaklığında stabil kalabilir.
4. N-Naphthylethylene diamine (NNDA): 50 mg NNDA 250 ml distile su içinde çözüldü. 2 ay 0-8 °C de stabildir.
5. Çinko Sülfat (ZnSO_4): 75 mmol/L; 10.8 mg alınıp 500 ml'ye tamamlandı.
6. Bakır Sülfat (CuSO_4): 5 mmol/L; 250 mg alınıp 200 ml'ye tamamlandı.
7. Sodyum Hidroksit (NaOH): 55 mmol/L; 1.1 g alınıp 500 ml'ye tamamlandı.
8. Standartlar: NaNO_2 standardı 10 mmol/L'lik sodyum tetra borat çözeltisi içinde hazırlanır. (69 mg NaNO_2 , 380 mg borat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) 100 ml içinde çözülür).

KNO_3 standardı; 102 mg potasyum nitrat alınıp 10 mmol'lik 100 ml sodyum tetra borat içinde çözülür.

Deneyin yapılışı:

Deproteinizasyon: Test tüpüne 0.5 ml numune 0,5 ml distile su, 2 ml ZnSO_4 , 2.5 ml NaOH ilave edilip vorteksle karıştırılır. 10 dk oda ısısında beklettikten sonra 4000 xg'de 10 dk santrifüj edildi.

Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu: Granüller 3 defa distile su ile yıkanır. 1-2 dk içinde CuSO_4 'de çalkalanarak bekletilip, 3 defa da glisin-NaOH ile yıkanıp 10 dk içinde kullanılmak üzere kurutma kağıdı ile kurutuldu.

KNO_3 standardından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlanır ve numunelere uygulanan tüm işlemler standartlara da uygulanır. 1ml glisin-NaOH buffer tüm tüplere konulur. 1'er ml deproteinize numunelerden ve standartlardan alınır. 2.5 g tartılan ve aktivasyon işleminden geçirilen kadmiyumlardan tüm tüplerin üzerine konulur. 90 dk oda ısısında karıştırarak beklenir.

Nitrit Ölçümü

90 dk'lık bekleme süresinin ardından bu tüplerden 2'şer ml alınarak üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA ilave edilir. Karıştırılır ve 45 dk beklendikten sonra 545 nm'de okuma yapılır. Direkt nitrit ölçümü: NaNO₂ standartlarından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlanır ve deproteinize numunelerden kadmiyum ile reaksiyona sokmadan direkt olarak 2'şer ml alınarak ayrı tüplere aktarılır. Üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA eklenir. 45 dk'lık sürenin ardından 545 nm'de okuma yapılır.

Nitrat Ölçümü

Bulunan nitrat değerlerinden nitrit değerleri çıkarıldıktan sonra sulandırma faktörü olan 20 ile çarpılıp yine nitrat standardından elde edilen faktör ile çarptıktan sonra çıkan sonuç µmol/mg protein olarak hesaplanmış olur.

Protein Miktarı Tayini

Protein miktar tayini Lowry metoduna göre yapıldı (55).

Çözeltiler:

A Çözeltisi: %2'lik Na₂CO₃'ın 0,1 N NaOH'teki çözeltisi

B Çözeltisi: %1'lik CuSO₄ çözeltisi

C Çözeltisi: %2'lik Sodyum Potasyum tartarat çözeltisi

D Çözeltisi: 98 hacim A çözeltisi + 1 hacim B çözeltisi + 1 hacim C çözeltisi karışımı

E Çözeltisi: 1 hacim Folin Fenol belirteci + 1 hacim distile su karışımı

Bovin Serum Albumin (BSA) Çözeltisi: Standart protein çözeltisi olarak kullanılan BSA 10 mg/ml konsantrasyondaki stok çözülden 1, 2, 3, 5, 7,5, 10 mg/ml'lik çözeltileri hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Test ve standart tüplerine 490 µl, kör tüpüne 500 µl distile su kondu. Tüm tüplere 2,5 ml D çözeltisi ilave edildikten sonra, test tüplerine 10 kat dilüe edilmiş numuneden 10 µl; standart tüplerine de 10 µl her bir standarttan ilave edildi ve tüpler vorteks ile iyice karıştırıldı. Karanlıkta oda ısısında 10 dk bekletildikten sonra, tüm tüplere 250 µl E çözeltisi eklendi. 25 °C'de 30 dk bekletildikten sonra, spektrofotometrede 650 nm'de köre karşı sıfırlanarak okuma yapıldı.

Histolojik Çalışmalar

Sagittal olarak ikiye bölünen böbrek dokularının ışık mikroskobu incelemesi için birer yarısı tamponlu %10 formalinde 24 saat boyunca tespit edilmiştir. Dokular parafin bloklara gömülmüş ve 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak ve tüm kesitler rutin hematoksilin-eozin boyaları ile boyanarak aynı patolog tarafından ışık mikroskobunda değerlendirilmiştir. Böbrek hasarı derecesini belirlemek için semikantitatif bir skala kullanıldı (56).

Skala Değerlendirmesi:

0: Normal böbrek

1: Minimal hasar (%0-5 tutulum)

2: Hafif dereceli hasar (%5-25 tutulum)

3: Orta dereceli hasar (%25-75 tutulum)

4: Şiddetli hasar (%75-100 tutulum)

Ek olarak kast gözlenen tübüller % cinsinden ifade edildi. Toplayıcı kanalların olmadığı alanlarda sayım yapılması göz önünde bulundurularak sadece proksimal ve distal tübüllerin bulunduğu alanlarda sayım yapılmıştır (57).

İmmünohistokimyasal Çalışmalar

Bu çalışmada aranacak proteine karşı geliştirilmiş işaretli poliklonal ya da monoklonal antikolar kullanıldı. Tüm gruplardaki %10'luk formalinde fikse edilmiş parafine gömülü doku bloklarından 2 mikronluk kesitler Poly-L-lysine (PLL) ile kaplanmış lamplara alındı. 37 °C'lik etüvde 1 gece bekletildi. İki defa 15 dk'lık sürelerde ksilol ile deparafinize edildi. Kesitler saf alkolden başlayarak %90-80-70'lik alkollerden geçirildikten sonra distile su ile yıkandı. Böylece kesitler deparafinize edilmiş oldu. Daha sonra kesitler tampon solusyon (Citrate Buffer) içinde mikrodalga fırında 4 kez 5 dakika kaynatıldı ve oda ısısında 20 dk soğumaya bırakıldı. Yirmi dk soğutmadan sonra distile suyla yıkanan kesitler tris-buffer solusyonuna atıldı. Endojen peroksit kaynaklı non spesifik zemin boyanmasını azaltmak amacıyla %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 20 dk muamele edildi. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra tekrar tris-buffer solusyonuna atıldı. Non spesifik zemin boyanmasını önlemek amacıyla 5 dk oda ısısında Ultra V-Blok (Protein blokajı) uygulaması yapıldı. Daha sonra ve iNOS ve eNOS primer antikolar ile 30 dk inkübe edildi. Tris-buffer ile 3 kez yıkanan kesitler biotinylated seconder antikolar ile 20 dk, enzim işaretli streptavidin ile 20 dk inkübe edildi. Tris-buffer'e alınan kesitler amino-etilcarbazol (AEC) kromojen'de (Kromojen hazırlanışı: 1ml substrata 2 damla kromojen) 20'şer dk tutuldu. Kesitler distile su

ile yıkandıktan sonra Mayer's Hematoksilen ile 3 dk inkübe edilerek zıt boyama yapıldı. Kesitler akan su ile bolca yıkandıktan sonra aqueous-mount jel ile kapatıldı. Her bir olgu için hazırlanan kesitler ışık mikroskobunda incelendi. İmmun boyamanın spesifikliğinin kontrolünde, pozitif kontrol amacıyla antikor üretici firma verilerine uygun olarak sıçan böbrek kesitleri kullanıldı. Olgular sitoplazmik boyamanın yaygınlığı ve yoğunluğu açısından değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı epitelyal komponent yüzdesi esas alınarak yapıldı. Boyanma olmaması 0, < %25 boyanma +1, %25-50 boyanma +2, %50-75 boyanma +3, > %75 boyanma +4 olarak skorlandı. Boyanma yoğunluğu ise, doku kesitlerinde sitoplazmik boyanma gösteren hücrelerin kromojen ile boyanma yoğunluğunu yansıtmakta olup, hiç boyanma gözlenmeyen olgularda 0, hafif boyanan olgularda +1, orta yoğunlukta boyanan olgularda +2, kuvvetli boyanan olgularda +3 olarak skorlandı. Toplam immünohistokimyasal skorlama; boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu skorlarının çarpılması ile elde edildi (56).

İstatistiksel Analiz

Çalışmamızdaki bulguların istatistiksel analizleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD'da yapıldı. Böbrek MDA, GSH düzeyleri, böbrek, serum ve idrardaki NO₂⁻ ve NO₃⁻ düzeyleri, biyokimyasal analizler, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler sonucunda elde edilen bulgular ortalama (ort) ± standart sapma (sd) olarak ifade edildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Tek Örneklem Kolmogorov-Smirnov test ile incelendi. Gruplar arası farklılığı saptamada Mann-Whitney U testi kullanıldı, p<0.05 anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizlerde Statica 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Sıçanlarda hipertonic gliserolün i.m. uygulanmasıyla oluşturulan deneysel MABY modeli, 4 grupta 36 sıçan üzerinde çalışıldı. Gliserol enjeksiyonunun 96. saatinde anestezi altında sıçanların kan ve doku örnekleri alındı. Deney boyunca guruplarda herhangi bir kayıp yaşanmadı, ancak K grubunda 1 sıçanın serum Na⁺ düzeyi, K+LK grubunda 1 sıçanın serum LDH düzeyi, MABH grubunda 2 sıçanın serum Na⁺ düzeyi, MABH+LK grubunda da 1 sıçanın serum NO düzeyi ölçülememiştir.

Tüm guruplardaki sıçanlara ait doku MDA düzeyi nmol/g doku, GSH düzeyi µmol/g doku, NO düzeyi µmol/mg protein, serum AST düzeyi U/l, serum ALT düzeyi U/l, serum CK düzeyi U/l, serum LDH düzeyi U/l, serum üre (Süre) düzeyi mg/dl, serum kreatinin (Skrea) düzeyi mg/dl, serum Na⁺ (SNa⁺) düzeyi mmol/l, serum K⁺ (SK⁺) düzeyi mmol/l, serum NO (SNO) düzeyi µmol/l, idrar NO (İNO) düzeyi µmol/l, idrar kreatinin (İkrea) düzeyi mg/dl, idrar Na⁺ (İNa⁺) düzeyi mmol/l, kreatinin klirensi standart klirens formülüne göre hesaplanıp kg/vücut ağırlığına bölündü. Fraksiyonel sodyum itrahi (FeNa) % olarak hesaplandı. Guruplara ait biyokimyasal veriler Tablo 2-5'te, çalışma guruplarının değişkenlerine ait ortalamalar Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 2. K grubunun biyokimyasal verileri

SN	MDA nmol/g doku	GSH µmol/g doku	NO µmol/mg protein	AST U/l	ALT U/l	CK U/l	LDH U/l	Süre mg/dl	Skrea mg/dl	SNa mmol/l	SK mmol/l	SNO µmol/l	İdrar Hacmi ml/24s	İkrea mg/dl	İNa mmol/l	İNO µmol/l
1	2.51	1.59	37.33	144	62	675	551	31	0.4	113	4.9	0.25	9	67.28	133	89.96
2	1.13	1.55	87.11	164	58	803	929	38	0.48	140	4.9	0.71	9	79.55	123	85.1
3	1.44	0	89.93	157	54	1131	1427	35	0.45	134	4.6	5.31	9	78.1	134	82.57
4	1.68	1.4	42.43	144	54	726	809	32	0.46		4.9	0.87	9.5	63.66	132	77.22
5	1.3	1.57	32.85	138	47	556	399	31	0.48	148	5.2	1.24	10	67.69	133	85.27
6	0.97	1.29	68.71	100	40	437	658	25	0.35	115	4.5	1.04	7.5	78.67	139	80.12
7	1.29	1.53	73.73	102	51	362	449	29	0.44	138	4.9	1.49	9	70.45	112	77.22
8	1.48	1.45	160.94	108	36	379	268	32	0.39	113	4.6	6.18	11	63.92	162	89.13

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotransferaz; ALT: Alanin aminotransferaz; CK: Kreatin kinaz; LDH: Laktat Dehidrojenaz; Süre: Serum üre; Skrea: Serum kreatinin; SNa: Serum sodyum; SK: Serum potasyum; SNO: Serum NO; İkrea: İdrar kreatinin; İNa: İdrar sodyum; İNO: İdrar nitrik oksit; FeNa: Fraksiyone sodyum itrahi.

Tablo 3. K+LK grubunun biyokimyasal verileri

SN	MDA nmol/g doku	GSH µmol/g doku	NO µmol/mg protein	AST U/l	ALT U/l	CK U/l	LDH U/l	Süre mg/dl	Skrea mg/dl	SNa mmol/l	SK mmol/l	SNO µmol/l	İdrar Hacmi ml/24s	İkrea mg/dl	İNa mmol/l	İNO µmol/l
1	1.67	1.74	82.4	202	53	1041	578	33	0.46	144	4.9	1.78	10	66.2	89	86.72
2	1.36	1.74	16.82	106	38	446	504	34	0.39	119	4.8	2.03	11	53.54	115	82.49
3	1.5	1.89	39.43	122	43	593	637	29	0.38	122	4.6	4.27	12	48.11	76	90.75
4	1.57	1.75	24.72	142	54	640	770	31	0.41	134	5.5	2.57	10	55.31	100	88.05
5	1.72	2.59	82.92	157	27	851	600	36	0.39	117	4.1	15.81	7.5	85.76	78	62.57
6	1.53	2.38	54.15	196	74	733	1013	37	0.44	148	5.7	0.79	11	52.16	92	86.6
7	3.79	2.47	75.41	140	52	827		38	0.45	142	5.6	0.54	9	66.12	114	80.29
8	1.52	2.19	86.54	110	47	776	191	31	0.44	134	5.6	1.7	9	69.67	107	86.18

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotransferaz; ALT: Alanin aminotransferaz; CK: Kreatin kinaz; LDH: Laktat Dehidrojenaz; Süre: Serum üre; Skrea: Serum kreatinin; SNa: Serum sodyum; SK: Serum potasyum; SNO: Serum NO; İkrea: İdrar kreatinin; İNa: İdrar sodyum; İNO: İdrar nitrik oksit; FeNa: Fraksiyone sodyum itrahi.

Tablo 4. MABH grubunun biyokimyasal verileri

SN	MDA nmol/g doku	GSH µmol/g doku	NO µmol/mg protein	AST U/l	ALT U/l	CK U/l	LDH U/l	Süre mg/dl	Skrea mg/dl	SNa mmol/l	SK mmol/l	SNO µmol/l	İdrar Hacmi ml/24s	İkrea mg/dl	İNa mmol/l	İNO µmol/l
1	4.06	3.21	47.27	156	32	678	575	120	0.58	146	3.6	8.8	18	27	9	12.49
2	1.8	1.64	30.84	224	132	507	636	645	3.88		6	4.65	29	6.53	22	4.81
3	2.54	2.61	33.98	202	62	902	803	85	0.54		5.4	4.61	25	24.37	33	39.21
4	1.84	1.93	89.33	350	142	679	868	586	3.37	138	6.5	3.82	25	11.9	26	5.06
5	1.21	2.81	34.41	434	62	2762	1555	118	0.66	145	5.6	7.76	38	11.31	16	13.24
6	2.77	2.86	27.9	324	97	849	666	219	0.92	160	4.4	9.5	41	13.61	26	13.94
7	2.65	2.35	88.59	186	38	759	520	158	0.76	136	4	19.34	36	12.41	20	15.27
8	2.31	2.22	22.43	509	259	538	659	392	2.05	154	5.5	12.95	45	10.53	23	9.46
9	3.78	1.96	2.37	244	93	2156	645	1050	4.13	112	8.5	2.82	24	12.67	20	1.87
10	1.93	2.45	20.18	238	114	316	323	281	1.14	115	4.1	7.05	31	13.97	18	12.07

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotransferaz; ALT: Alanin aminotransferaz; CK: Kreatin kinaz; LDH: Laktat Dehidrojenaz; Süre: Serum üre; Skrea: Serum kreatinin; SNa: Serum sodyum; SK: Serum potasyum; SNO: Serum NO; İkrea: İdrar kreatinin; İNa: İdrar sodyum; İNO: İdrar nitrik oksit; FeNa: Fraksiyone sodyum itrahi.

Tablo 5. MABH+LK grubunun biyokimyasal verileri

SN	MDA nmol/g doku	GSH µmol/g doku	NO µmol/mg protein	AST U/l	ALT U/l	CK U/l	LDH U/l	Süre mg/dl	Skrea mg/dl	SNa mmol/l	SK mmol/l	SNO µmol/l	İdrar Hacmi ml/24s	İkrea mg/dl	İNa mmol/l	İNO µmol/l
1	1.97	2.85	65.74	129	48	418	594	53	0.47	140	5	0.83	27.5	24.21	29	46.64
2	1.54	3.03	71.85	221	86	433	727	131	0.75	141	4.2	10.33	37.5	9.95	12	10.66
3	1.48	2.53	49.89	137	59	443	627	90	0.57	145	5.5	5.06	37.5	13.01	21	31.16
4	1.67	2.72	33.51	128	34	388	356	102	0.56	122	4.1	8.96	35	20.22	19	17.93
5	2.9	3.34	18.89	208	82	398	343	179	0.85	133	4.7	11.66	33	13.54	17	27.3
6	1.33	2.88	102.87	112	45	235	226	63	0.45	113	3.9	7.84	36	16.18	18	12.74
7	1.49	2.89	27.04	152	49	550	591	111	0.63	146	4.8	5.06	30	18.26	17	14.32
8	1.54	2.51	40.26	152	61	240	397	228	1.06	142	5.8	6.93	35	13.38	21	11.08
9	1.72	3.36	22.12	111	29	182	230	116	0.79	139	4.7	6.76	32	18.11	11	13.03
10	2.44	3.31	10.7	192	47	507	502	125	0.63	128	4.3		24	24.66	16	17.26

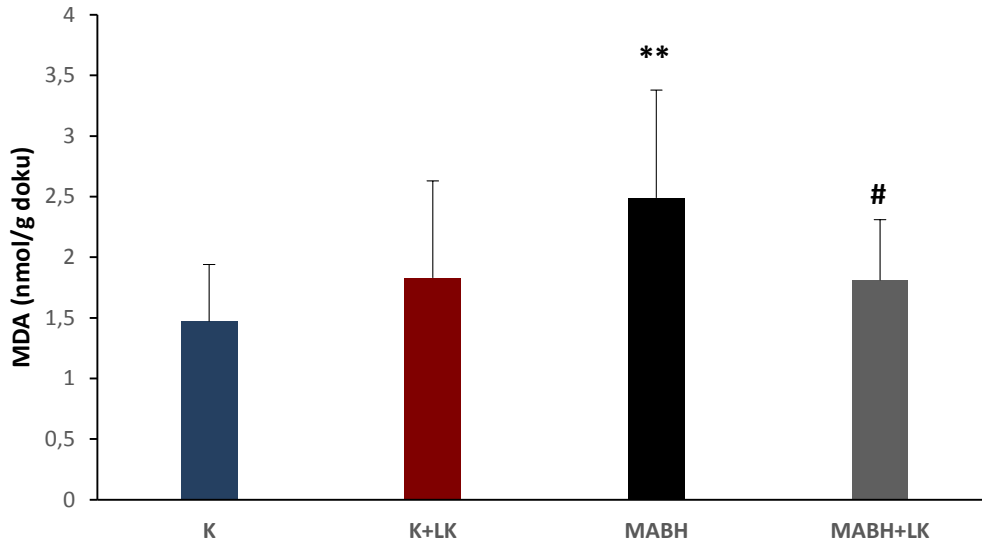
SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotransferaz; ALT: Alanin aminotransferaz; CK: Kreatin kinaz; LDH: Laktat Dehidrojenaz; Süre: Serum üre; Skrea: Serum kreatinin; SNa: Serum sodyum; SK: Serum potasyum; SNO: Serum NO; İkrea: İdrar kreatinin; İNa: İdrar sodyum; İNO: İdrar nitrik oksit; FeNa: Fraksiyone sodyum itrahi.

Tablo 6. Çalışma gruplarının değişkenlerine ait ortalamaları

	K Grubu	K+LK Grubu	MABH Grubu	MABH+LK Grubu
Parametreler	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD
MDA nmol/g doku	1.47 ± 0.47	1.83 ± 0.80	2.49 ± 0.89	1.81 ± 0.50
GSH µmol/g doku	1.30 ± 0.53	2.09 ± 0.35	2.40 ± 0.49	2.94 ± 0.32
NO µmol/mg protein	74.13 ± 41.48	57.80 ± 28.02	39.73 ± 28.41	44.29 ± 28.63
AST U/l	132.13 ± 25.28	146.88 ± 36.40	286.70 ± 115.01	154.20 ± 39.52
ALT U/l	50.25 ± 8.83	48.50 ± 13.72	103.10 ± 66.32	54.00 ± 18.55
CK U/l	633.63 ± 259.01	738.38 ± 181.21	1014.60 ± 793.05	379.40 ± 121.78
LDH U/l	686.25 ± 369.46	613.29 ± 250.53	725.00 ± 327.23	459.30 ± 173.90
S_{üre} mg/dl	31.63 ± 3.85	33.63 ± 3.20	365.40 ± 310.53	119.80 ± 52.01
S_{krea} mg/dl	0.43 ± 0.05	0.42 ± 0.03	1.80 ± 1.45	0.68 ± 0.19
S_{Na} mmol/L	128.71 ± 14.69	132.50 ± 11.95	138.00 ± 16.17	134.90 ± 10.82
S_K mmol/l	4.81 ± 0.23	5.10 ± 0.59	5.36 ± 1.46	4.70 ± 0.61
S_{NO} µmol/l	2.14 ± 2.27	3.69 ± 5.03	8.13 ± 4.99	7.05 ± 3.22
İdrar Hacmi ml/24 s	9.25 ± 1.00	9.94 ± 1.43	31.20 ± 8.59	32.75 ± 4.45
İ_{krea} mg/dl	71.17 ± 6.67	62.11 ± 12.33	14.43 ± 6.31	17.15 ± 4.89
İ_{Na} mmol/l	133.50 ± 14.23	96.38 ± 15.17	21.30 ± 6.48	18.10 ± 5.07
İ_{NO} µmol/l	83.32 ± 4.93	82.96 ± 8.84	12.74 ± 10.33	20.21 ± 11.54
Kreatin klirensi ml/dk/100gxVA	0.47 ± 0.05	0.48 ± 0.04	0.21 ± 0.16	0.36 ± 0.13
FeNa %	0.62 ± 0.13	0.51 ± 0.11	2.26 ± 2.20	0.56 ± 0.26

MDA: Malondialdehit; **GSH:** Glutasyon; **NO:** Böbrek nitrik oksit; **AST:** Aspartat aminotransferaz; **ALT:** Alanin aminotransferaz; **CK:** Kreatin kinaz; **LDH:** Laktat Dehidrojenaz; **S_{üre}:** Serum üre; **S_{krea}:** Serum kreatinin; **S_{Na}:** Serum sodyum; **S_K:** Serum potasyum; **S_{NO}:** Serum NO; **İ_{krea}:** İdrar kreatinin; **İ_{Na}:** İdrar sodyum; **İ_{NO}:** İdrar nitrik oksit; **FeNa:** Fraksiyone sodyum itrahi; **K Grubu** (kontrol), **K+LK Grubu** (kontrol + likopen), **MABH Grubu** (Miyoglobüinürik Akut Böbrek Hasarı), **MABH+LK Grubu** (Miyoglobüinürik Akut Böbrek Hasarı + likopen).

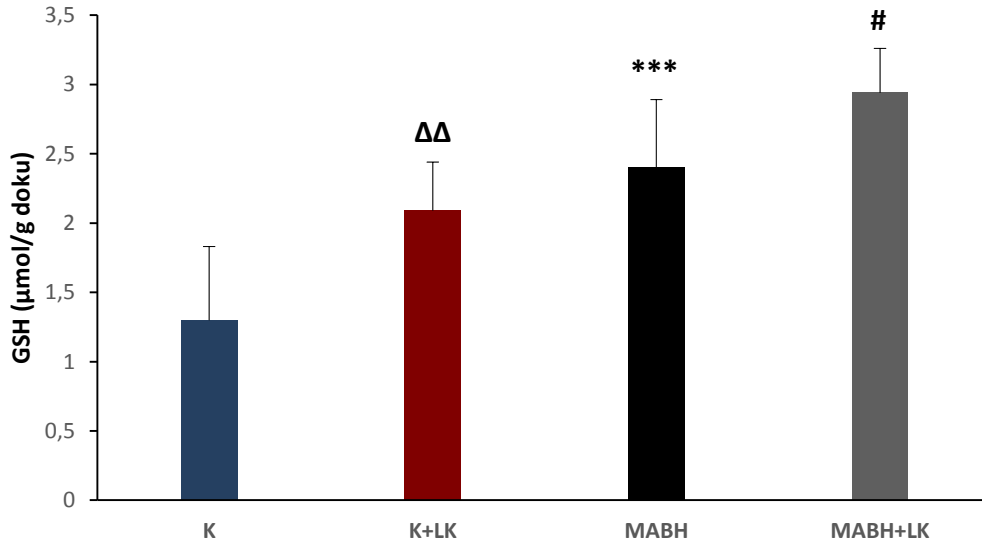
Gruplar arası MDA düzeyinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Böbrek MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 6’da gösterildi.



Şekil 6. Böbrek MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda $**p<0.01$;
MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $\#p<0.05$

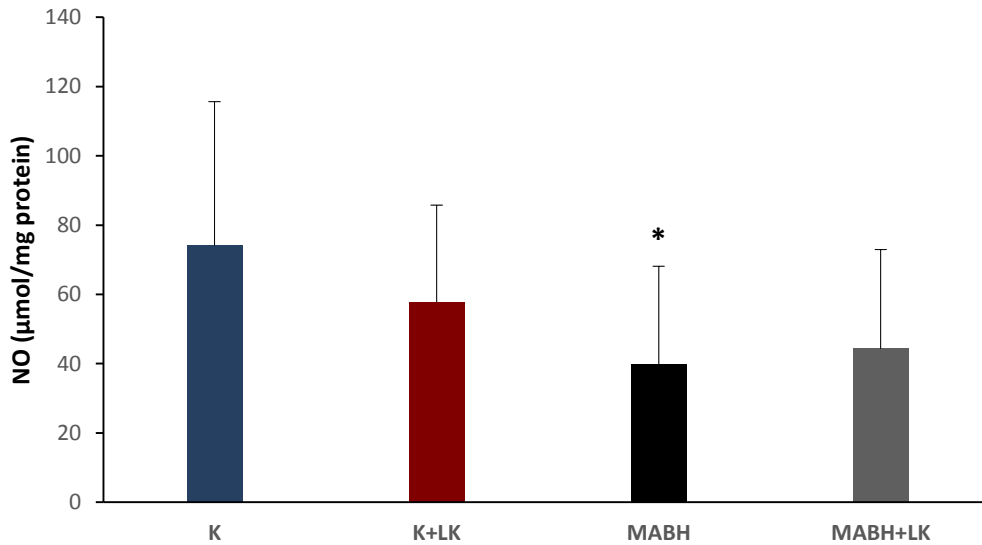
Gruplar arası GSH düzeyinde K grubuna göre K+LK grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. K grubuna göre MABH grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Böbrek GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 7’de gösterildi.



Şekil 7. Böbrek GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre K+LK grubunda $\Delta\Delta p < 0.01$;
 K grubuna göre MABH grubunda $*** p < 0.001$;
 MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $\# p < 0.05$

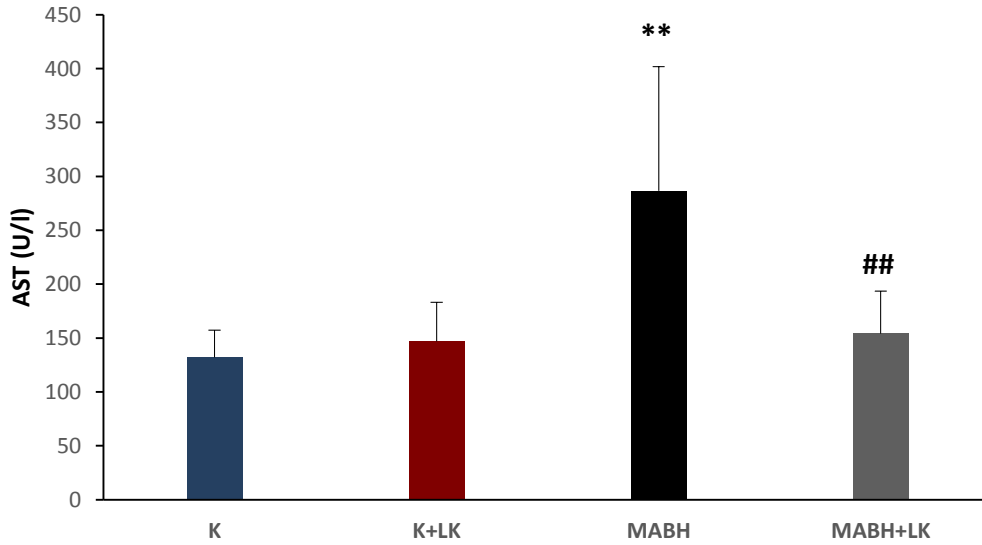
Gruplar arası NO düzeyinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. MABH grubu ile MABH+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.05$). Böbrek NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 8’de gösterildi.



Şekil 8. Böbrek NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda $* p < 0.05$

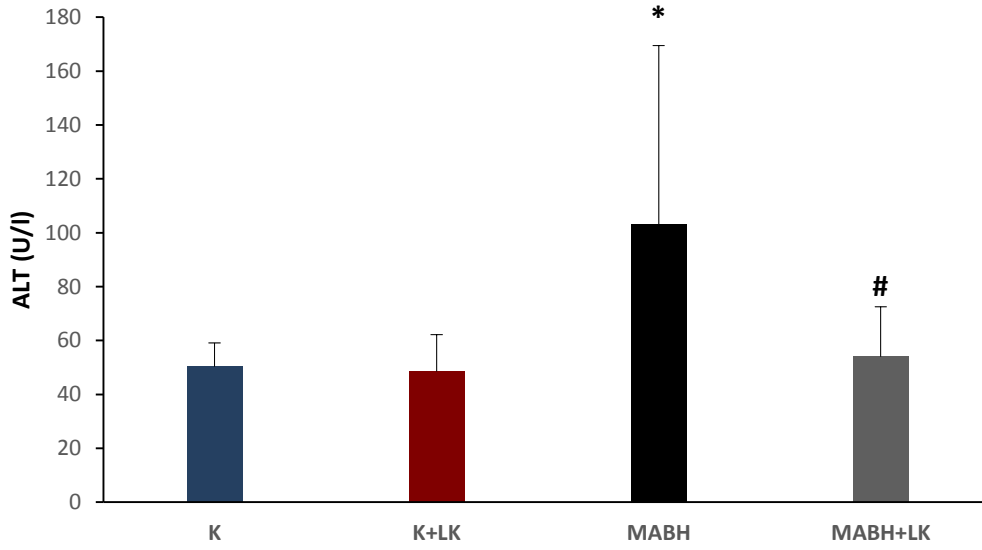
Gruplar arası AST düzeyinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. Serum AST düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 9’da gösterildi.



Şekil 9. Serum AST düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda $**p<0.01$;
MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $##p<0.01$

Gruplar arası ALT düzeyinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. Serum ALT düzeylerinin gruplara göre dağılımı 10’da gösterildi.

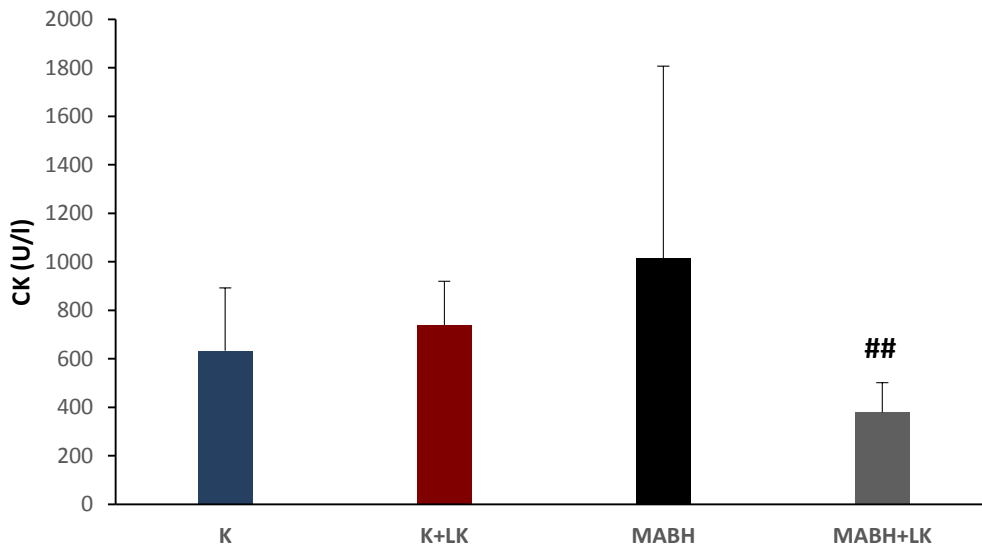


Şekil 10. Serum ALT düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda * $p<0.05$;

MABH grubuna göre MABH+LK grubunda # $p<0.05$

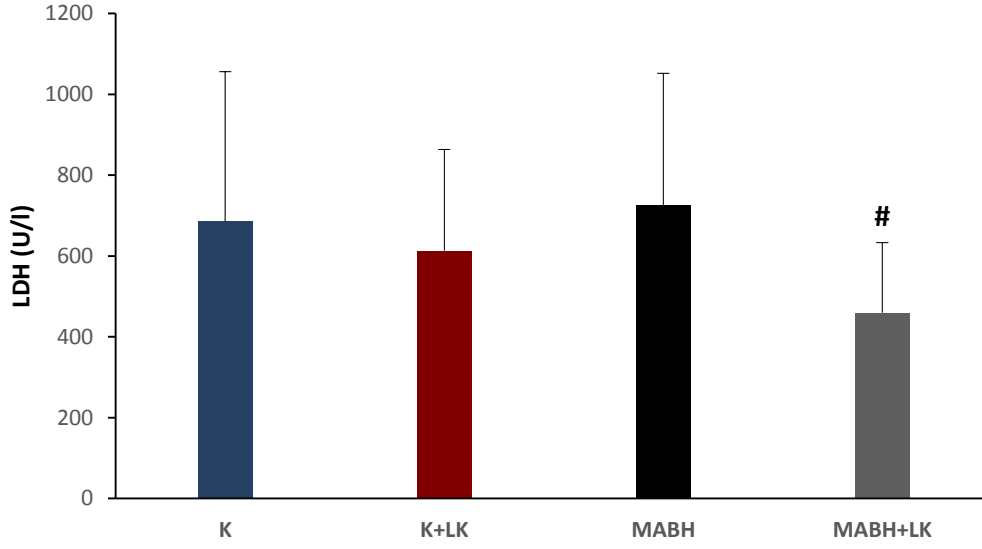
Gruplar arası CK düzeyinde K grubu ile K+LK grubu ve K grubu ile MABH grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Serum CK düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 11’de gösterildi.



Şekil 11. Serum CK düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: MABH grubuna göre MABH+LK grubunda ## $p<0.01$

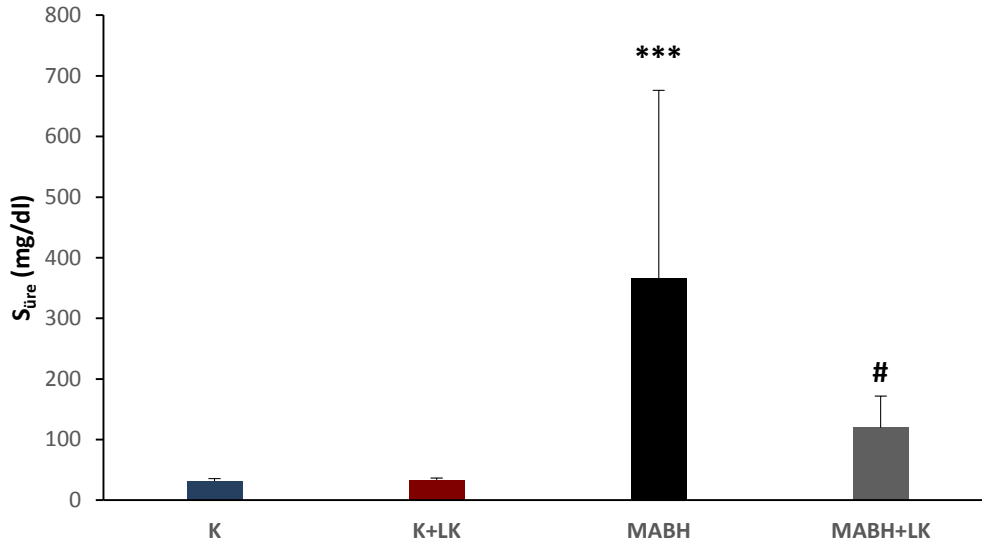
Gruplar arası serum LDH düzeyinde K grubu ile K+LK grubu ve K grubu ile MABH grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. Serum LDH düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 12’de gösterildi.



Şekil 12. Serum LDH düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $^{\#}p<0.05$

Gruplar arası serum üre düzeyinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. Serum üre düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 13’te gösterildi.

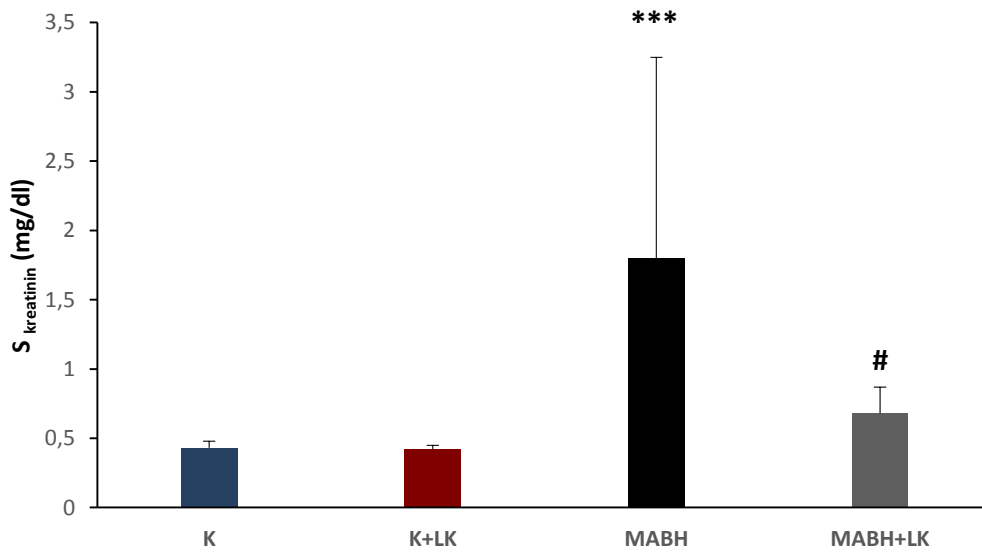


Şekil 13. Serum üre düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda *** $p<0.001$;

MABH grubuna göre MABH+LK grubunda # $p<0.05$

Gruplar arası serum kreatinin düzeyinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Serum kreatinin düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 14’te gösterildi.

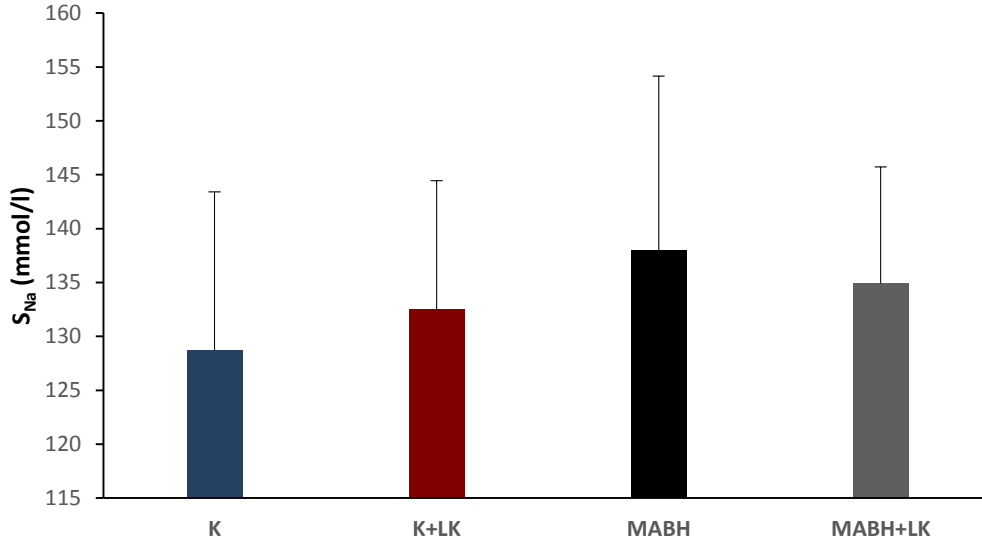


Şekil 14. Serum kreatinin düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda *** $p<0.001$;

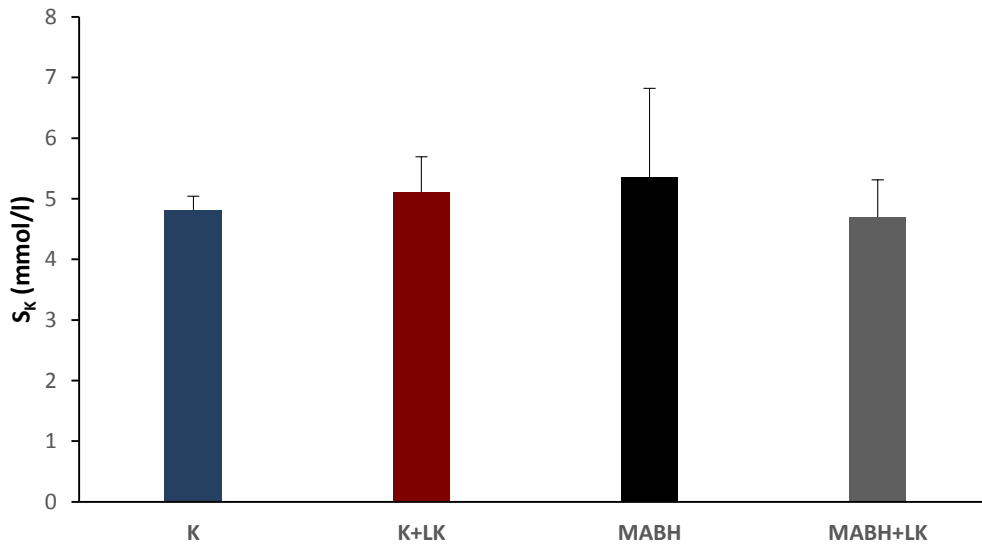
MABH grubuna göre MABH+LK grubunda # $p<0.05$

Gruplar arası serum Na düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Serum Na düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 15'te gösterildi.



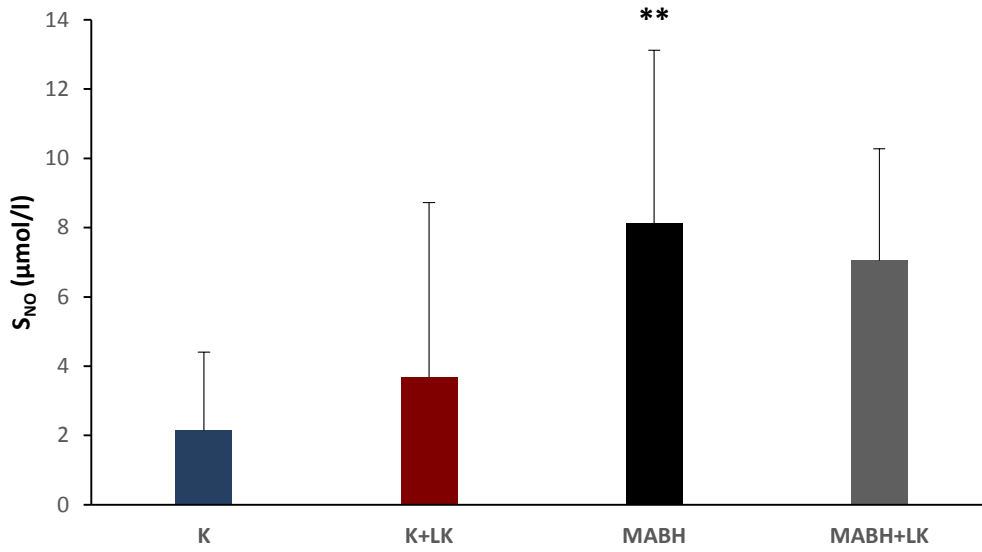
Şekil 15. Serum sodyum düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Gruplar arası serum K düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Serum K düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 16'da gösterildi.



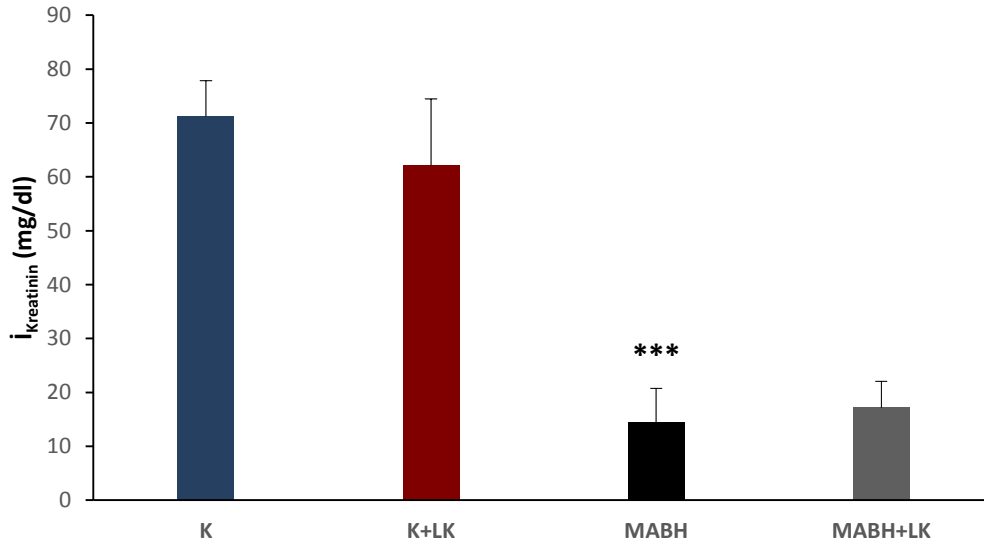
Şekil 16. Serum potasyum düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Gruplar arası serum NO düzeyinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. MABH grubu ile MABH+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Serum NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 17’de gösterildi.



Şekil 17. Serum NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı
Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda ** $p<0.01$

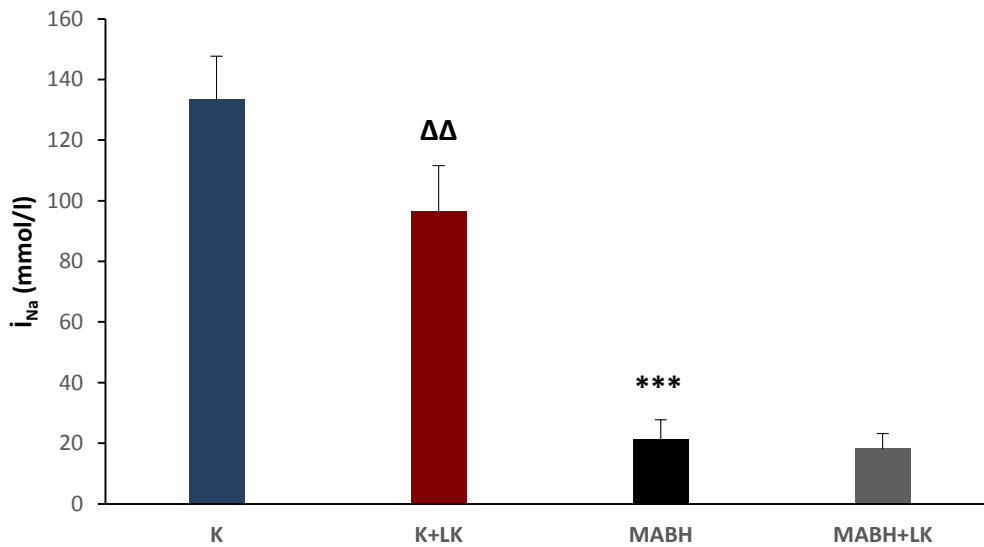
Gruplar arası idrar kreatinin düzeyinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. MABH grubu ile MABH+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). İdrar kreatinin düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 18’de gösterildi.



Şekil 18. İdrar kreatinin düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda ***p<0.001

Gruplar arası idrar Na düzeyinde K grubuna göre K+LK grubunda p<0.01 düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. K grubu ile MABH grubu arasında p<0.001 düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. MABH grubu ile MABH+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi (p>0.05). İdrar Na düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 19’da gösterildi.

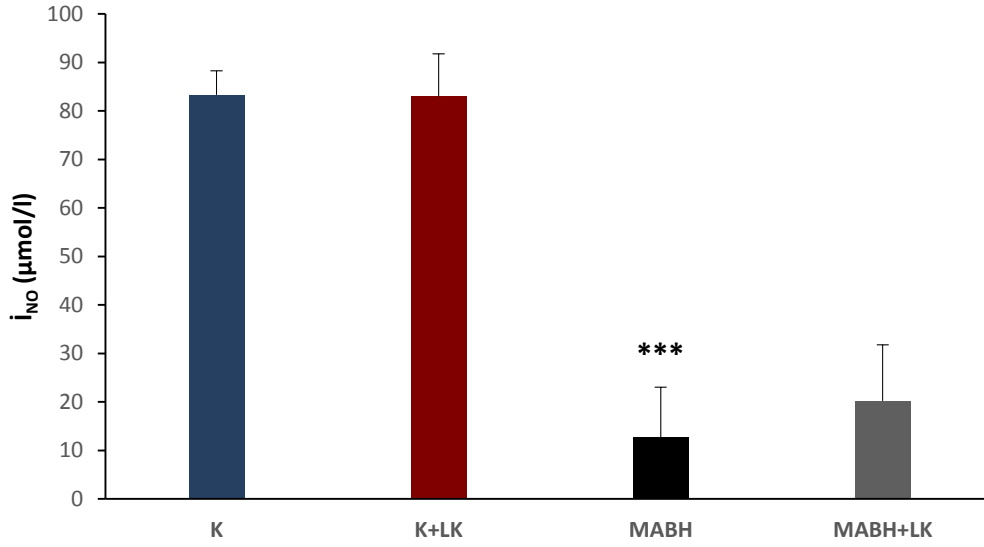


Şekil 19. İdrar sodyum düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre K+LK grubunda ΔΔp<0.01;

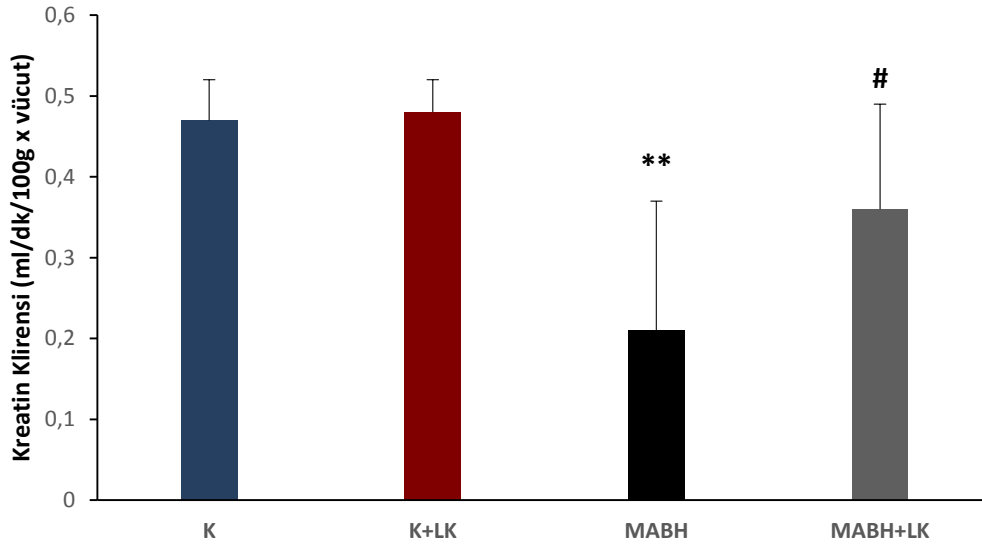
K grubuna göre MABH grubunda ***p<0.001

Gruplar arası idrar NO düzeyinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. MABH grubu ile MABH+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). İdrar NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 20’de gösterildi.



Şekil 20. İdrar NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı
Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda *** $p<0.001$

Gruplar arası kreatin klirensi düzeyinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Kreatin klirensi düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 21’de gösterildi.

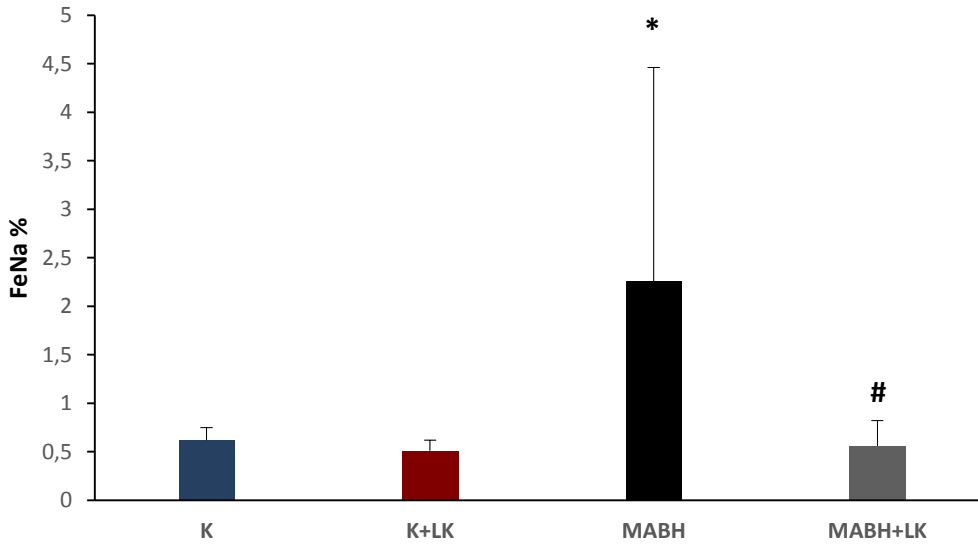


Şekil 21. Kreatin klirensi düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda **p<0.01;

MABH grubuna göre MABH+LK grubunda #p<0.05

Gruplar arası FeNa % düzeyinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. FeNa düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 22’de gösterildi.



Şekil 22. FeNa düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda * p<0.05;

MABH grubuna göre MABH+LK grubunda #p<0.05

Histopatolojik Bulgular

Çalışmamızda böbrek dokularının histopatolojik incelenmesinde; 100 alanda, 0-4 skalası kullanılarak böbrek hasarı derecesi ve % kast değerleri her bir sıçan için hesaplandı. Hesaplanan bu değerler Tablo 7 ve 8'de gösterildi.

K grubundaki sıçanların hematoksilin-eozin (HE) boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; mikroskopik kesitlerde tübül ve glomerüllerin normal görünümde izlendi, herhangi bir nekroz veya kast oluşumu gözlenmedi (Şekil 25).

K+LK grubundaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; K grubuna benzer özelliklerde olduğu, bunların glomerüller ve tübüller yapılarının normal görünümde olduğu izlendi. Glomerüllerde bir değişiklik göze çarpmadı. Tübüllerde herhangi bir nekroz veya kast oluşumu gözlenmedi (Şekil 26).

MABH grubundaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde tübül epitelinde nekroza rastlandı. Proksimal, distal ve kolektör tübül lümeninde subkortikal alandan başlayan ve renal pelvise kadar uzanan kast şeklinde dens proteinöz madde birikimi izlendi. Tübüllerde belirgin dilatasyon vardı. Distal tübül hücrelerinde hidrofik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekti. Glomerüllerde belirgin konjesyon dışında bir değişiklik görülmedi. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübüler epitel hücrelerde nükleer irilişme ve nükleol belirginleşme gibi rejenerasyon bulguları izlendi (Şekil 27).

MABH+LK grubundaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; MABH grubuna benzer şekilde tübüllerde belirgin dilatasyon, tübül epitel hücrelerinde hidrofik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon görüldü. Glomerüllerde değişiklik yoktu. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübül epitelinde rejeneratif değişiklikler izlendi (Şekil 28).

Tablo 7. Çalışma gruplarının böbrek hasarı derecesi verileri

SN	K Grubu	K + LK Grubu	MABH Grubu	MABH + LK Grubu
1	0	0	4	1
2	0	0	3	1
3	0	1	4	2
4	0	0	3	2
5	1	1	4	1
6	0	0	4	1
7	1	0	3	2
8	0	0	4	2
9			3	2
10			4	1
Ort ± SD	0.25 ± 0.46	0.25 ± 0.46	3.60 ± 0.52	1.50 ± 0.53

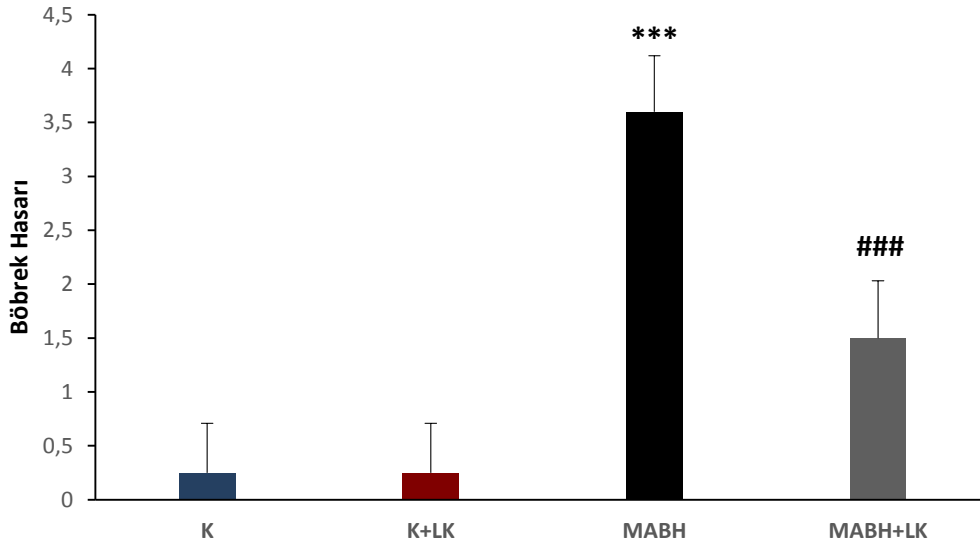
SN: Sıra numarası; K Grubu (kontrol), K + LK Grubu (kontrol+likopen), MABH Grubu (Miyoglobininürük Akut Böbrek Hasarı), MABH + LK Grubu (Miyoglobininürük Akut Böbrek Hasarı +likopen)

Tablo 8. Çalışma gruplarının % kast değeri verileri

SN	K Grubu	K + LK Grubu	MABH Grubu	MABH + LK Grubu
1	0	0	80	40
2	1	0	80	30
3	0	1	90	30
4	0	0	70	20
5	0	1	80	40
6	1	0	80	50
7	1	0	70	30
8	0	0	80	20
9			80	20
10			70	20
Ort ± SD	0.38 ± 0.52	0.25 ± 0.46	78.00 ± 6.32	30.00 ± 10.54

SN: Sıra numarası; K Grubu (kontrol), K + LK Grubu (kontrol+likopen), MABH Grubu (Miyoglobininürük Akut Böbrek Hasarı), MABH + LK Grubu (Miyoglobininürük Akut Böbrek Hasarı +likopen)

Gruplar arası böbrek hasarı derecelerinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Böbrek hasarı derecelerinin gruplara göre dağılımı Şekil 23'te gösterildi.

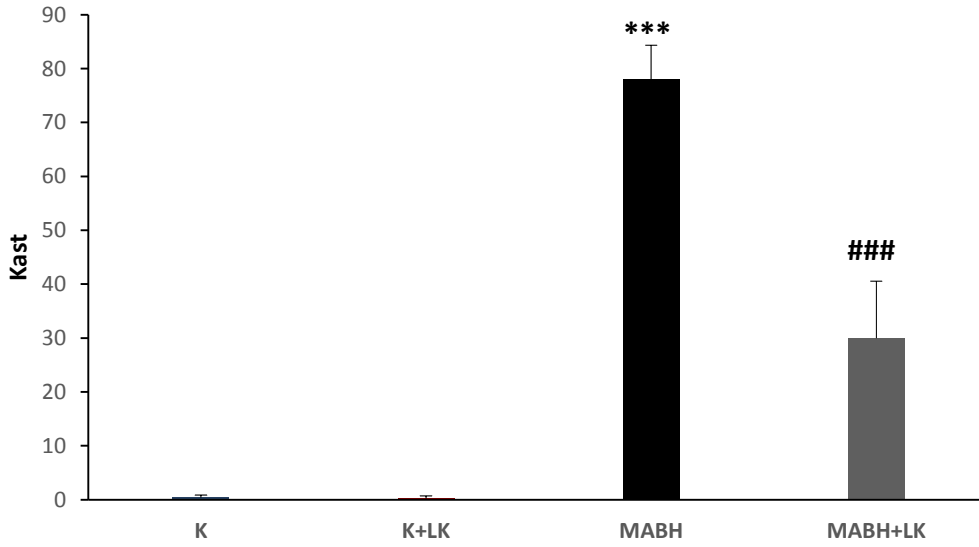


Şekil 23. Böbrek hasarı derecelerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda *** $p<0.001$;

MABH grubuna göre MABH+LK grubunda ### $p<0.001$

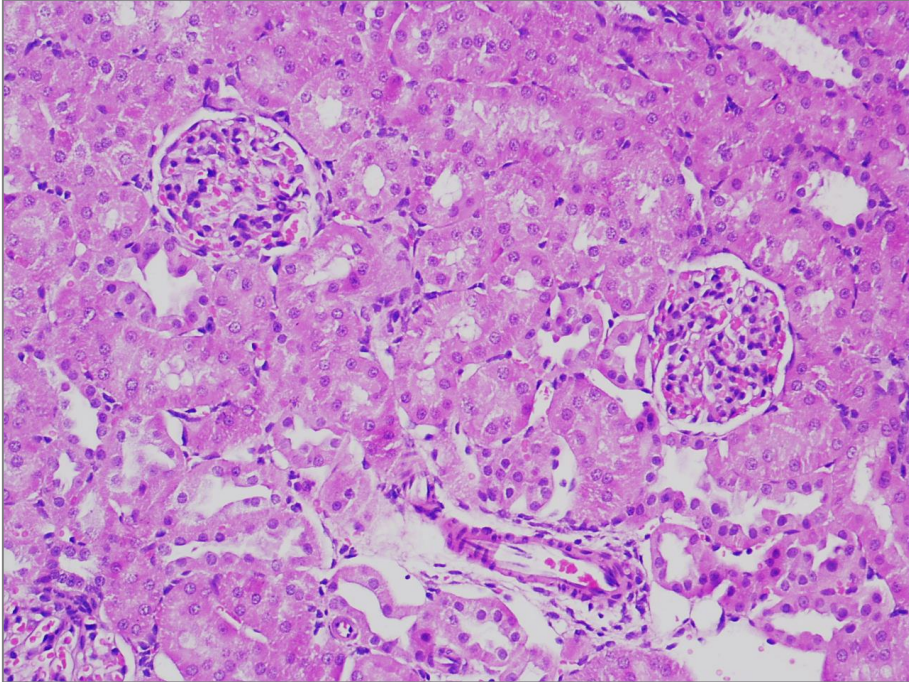
Gruplar arası % kast değerlerinde K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. % kast değerlerinin gruplara göre dağılımı Şekil 24’te gösterildi.



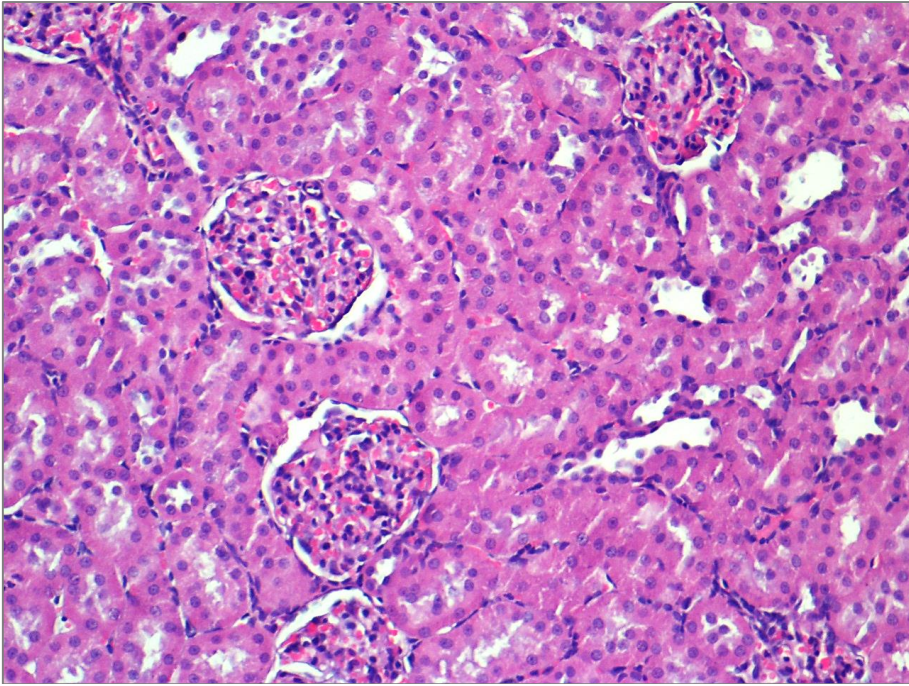
Şekil 24. % kast değerlerinin gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda *** $p<0.001$;

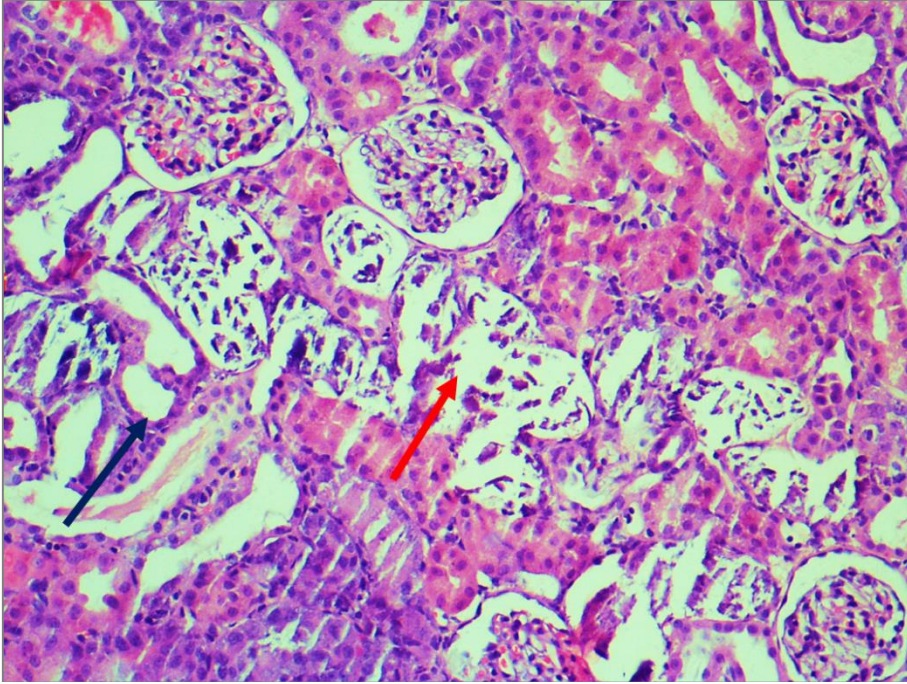
MABH grubuna göre MABH+LK grubunda ### $p<0.001$



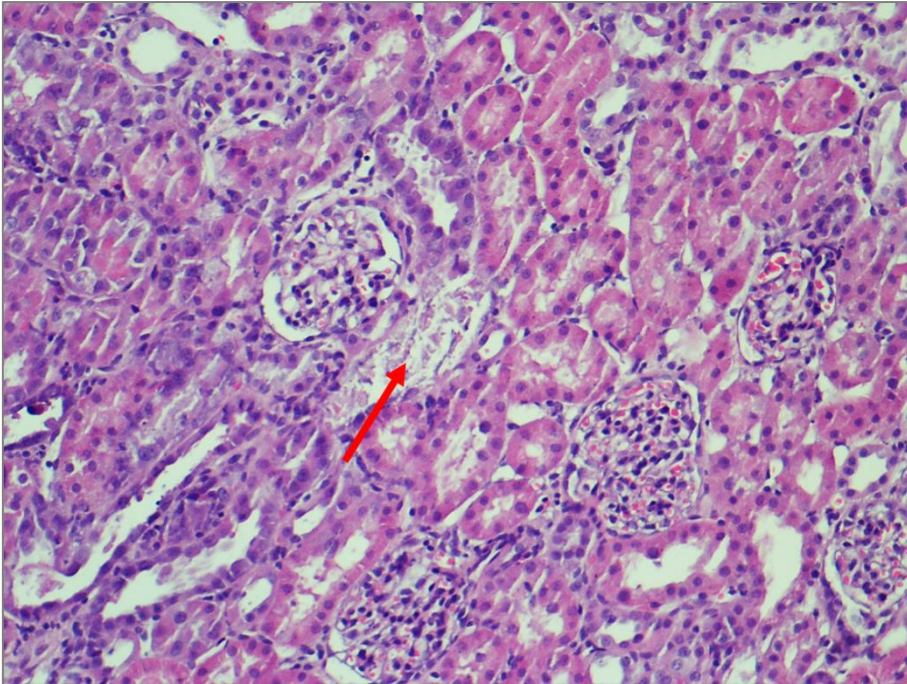
Şekil 25. K grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]



Şekil 26. K+LK grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]



Şekil 27. MABH grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]
Mavi ok: tubuler nekroz, Kırmızı ok: kast birikimi



Şekil 28. MABH+LK grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]
Kırmızı ok: kast birikimi

İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Çalışmamızda böbrek dokularının immünohistokimyasal incelenmesinde; olgular sitoplazmik boyamanın yaygınlığı ve yoğunluğu açısından değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı epitelyal komponent yüzdesi esas alınarak yapıldı. Boyanma olmaması 0, < %25 boyanma +1, %25-50 boyanma +2, %50-75 boyanma +3, > %75 boyanma +4 olarak skorlandı. Boyanma yoğunluğu ise, hiç boyanma gözlenmeyen olgularda 0, hafif boyanan olgularda +1, orta yoğunlukta boyanan olgularda +2, kuvvetli boyanan olgularda +3 olarak skorlandı. Toplam immünohistokimyasal skorlama; boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu skorlarının çarpılması ile elde edilen iNOS sonuçları Tablo 9'da ve eNOS sonuçları Tablo 10'da verildi.

İmmünohistokimyasal boyanma ile; K grubu ve K+LK grubunda iNOS ile proksimal tübülde boyama izlenirken, distal kıvrımlı tübülde boyama izlenmedi (Şekil 31,32). eNOS ile glomerül kapillerinde ve distal kıvrımlı tübüllerde boyama izlenirken proksimal tübül boyunca boyama izlenmedi (Şekil 35,36). MABH grubunda iNOS ile şiddetli, yaygın ve yoğun boyanma izlendi. eNOS ile fokal zayıf boyama izlendi (Şekil 33,37). MABH+LK grubunda iNOS ile fokal zayıf boyama izlendi. eNOS ile şiddetli, yaygın ve yoğun boyanma gözlendi (Şekil 34,38).

Tablo 9. Grupların iNOS immünohistokimyasal boyanma skorları

SN	K Grubu			K + LK Grubu			MABH Grubu			MABH + LK Grubu		
	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor
1	10	2	20	30	1	30	70	3	210	40	2	80
2	20	1	20	20	1	20	80	3	240	40	2	80
3	10	2	20	10	2	20	8	3	240	50	2	100
4	20	2	40	20	2	40	80	3	240	40	1	40
5	30	1	30	30	1	30	90	2	180	60	2	120
6	20	1	20	20	2	40	70	3	210	50	2	100
7	10	2	20	20	1	20	80	3	240	40	3	120
8	20	1	20	20	2	40	70	3	210	40	2	80
9							90	3	270	50	2	100
10							80	3	240	60	2	120
Ort.±SD	17.50 ± 7.07	1.50 ± 0.53	23.75 ± 7.44	21.25 ± 6.41	1.50 ± 0.53	30.00 ± 9.26	71.80 ± 23.60	2.90 ± 0.32	228.00 ± 25.30	47.00 ± 8.23	2.00 ± 0.47	94.00 ± 25.03

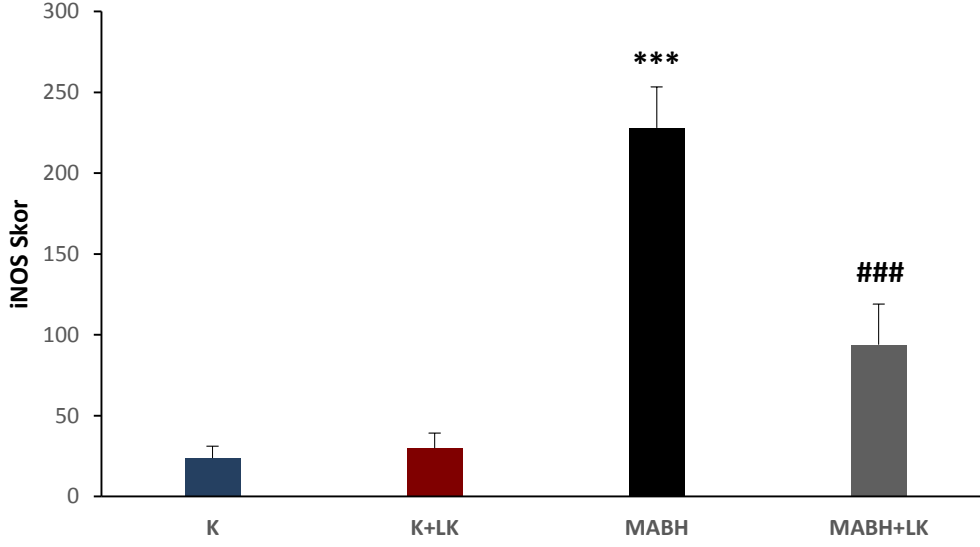
SN: Sıra numarası; K Grubu (kontrol), K + LK Grubu (kontrol+likopen), MABH Grubu (Miyoglobininürük Akut Böbrek Hasarı), MABH + LK Grubu (Miyoglobininürük Akut Böbrek Hasarı+likopen)

Tablo 10. Grupların eNOS immünohistokimyasal boyanma skorları

SN	K Grubu			K + LK Grubu			MABH Grubu			MABH + LK Grubu		
	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor
1	80	3	240	80	3	240	20	2	40	50	1	50
2	80	2	160	70	3	210	20	1	20	40	2	80
3	70	3	210	90	2	180	20	1	20	60	2	120
4	70	3	210	80	3	240	20	1	20	50	2	100
5	90	2	180	90	2	180	30	1	30	40	3	120
6	80	3	240	70	3	210	10	2	20	40	2	80
7	90	2	180	90	2	180	30	1	30	50	2	100
8	70	3	210	80	3	240	30	1	30	50	3	150
9							20	1	20	60	2	120
10							30	1	30	40	3	120
Ort.±SD	78.75 ± 8.35	2.63 ± 0.52	203.75 ± 28.75	81.25 ± 8.35	2.63 ± 0.52	210.00 ± 27.77	23.00 ± 6.75	1.20 ± 0.42	26.00 ± 6.99	48.00 ± 7.89	2.20 ± 0.63	104.00 ± 28.36

SN: Sıra numarası; K Grubu (kontrol), K + LK Grubu (kontrol+likopen), MABH Grubu (Miyoglobürik Akut Böbrek Hasarı), MABH + LK Grubu (Miyoglobürik Akut Böbrek Hasarı +likopen)

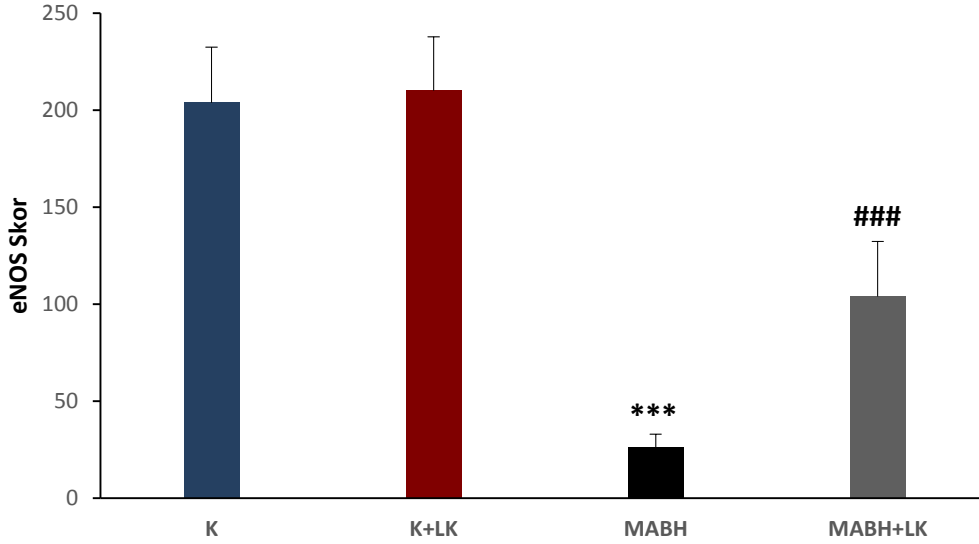
Gruplar arası böbrek iNOS aktivite skorlarında K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. Böbrek iNOS aktivite skorlarının gruplara göre dağılımı Şekil 29'da gösterildi.



Şekil 29. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi ile belirlenen böbrek iNOS aktivite skorlarının gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda *** $p<0.001$;
MABH grubuna göre MABH+LK grubunda ### $p<0.001$

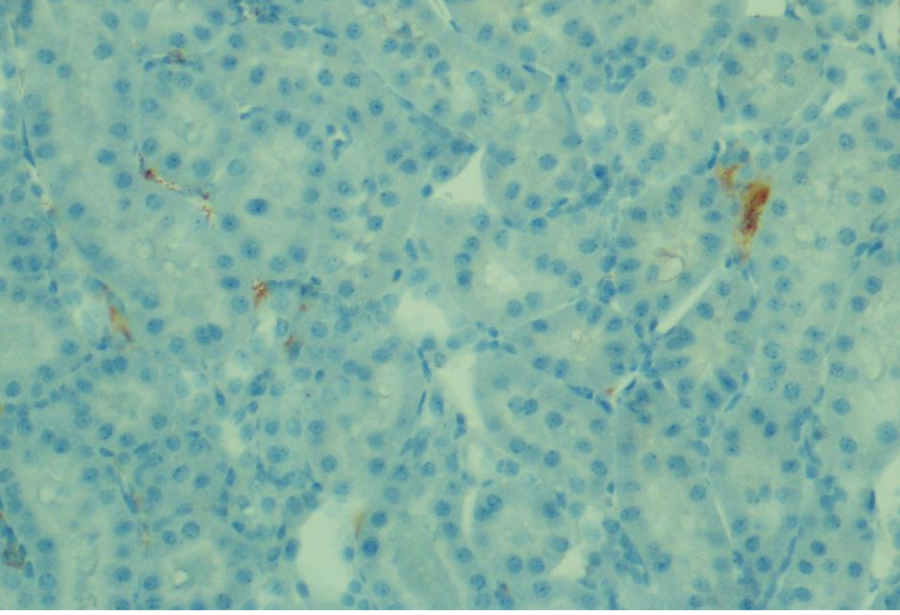
Gruplar arası böbrek iNOS aktivite skorlarında K grubu ile K+LK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. Böbrek iNOS aktivite skorlarının gruplara göre dağılımı Şekil 30'da gösterildi.



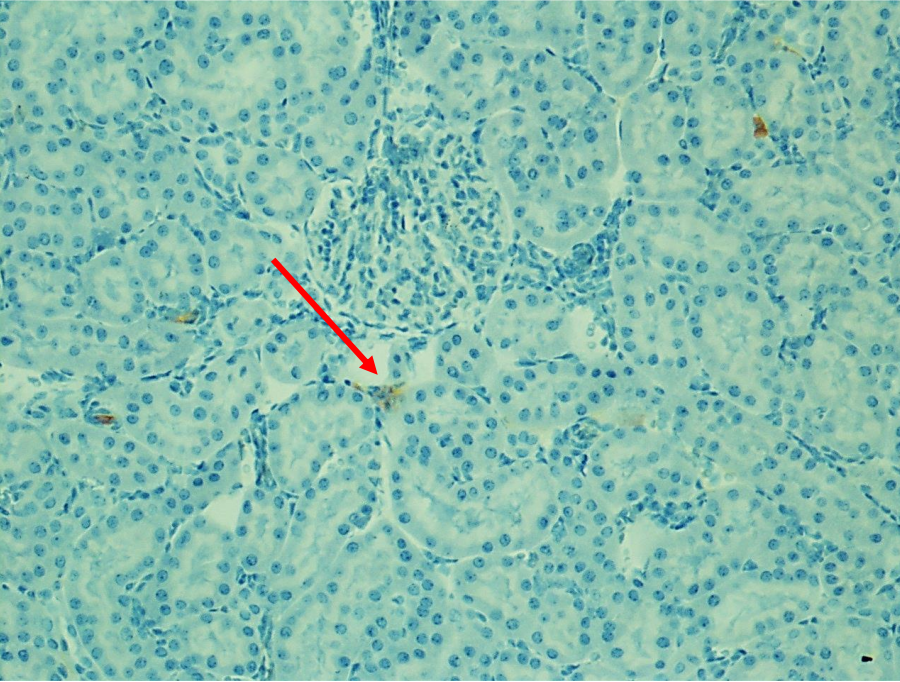
Şekil 30. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi ile belirlenen böbrek eNOS aktivite skorlarının gruplara göre dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda $***p<0.001$;

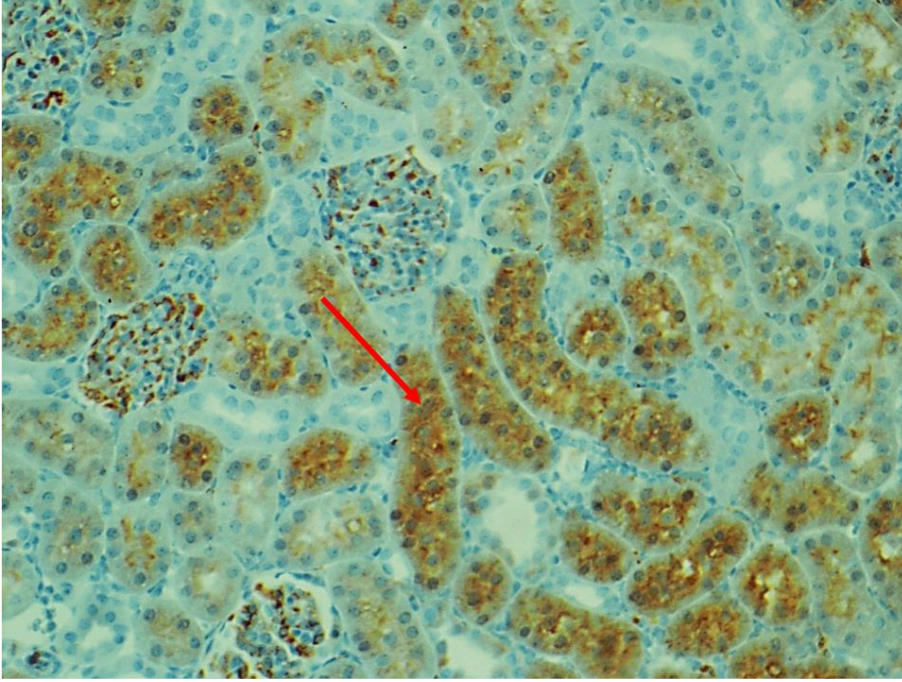
MABH grubuna göre MABH+LK grubunda $###p<0.001$



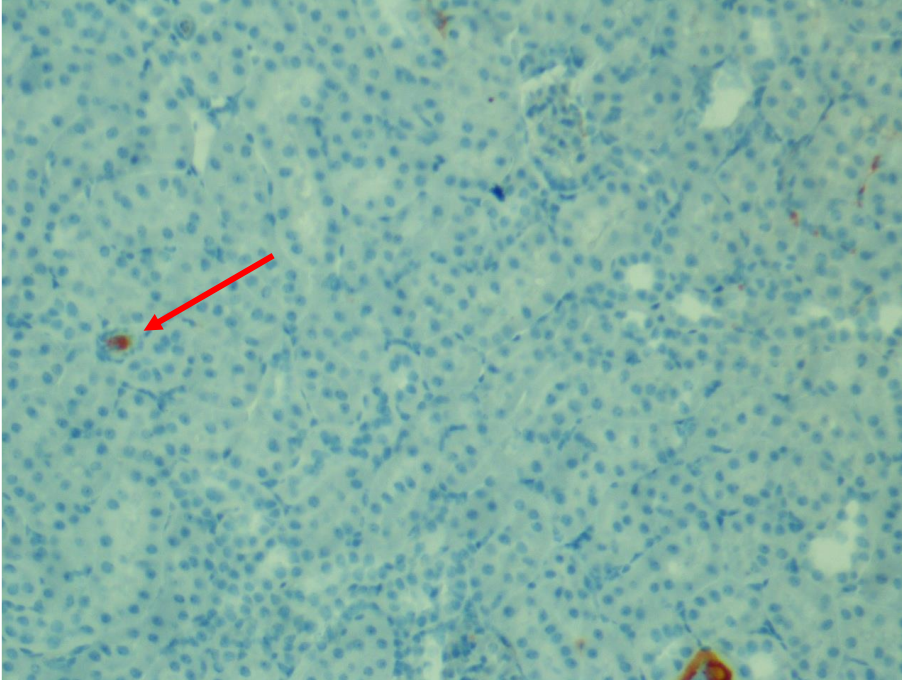
Şekil 31. K grubunun böbrek kesiti [iNOSx200]
K grubunda iNOS antikoru ile fokal zayıf boyanma izlendi



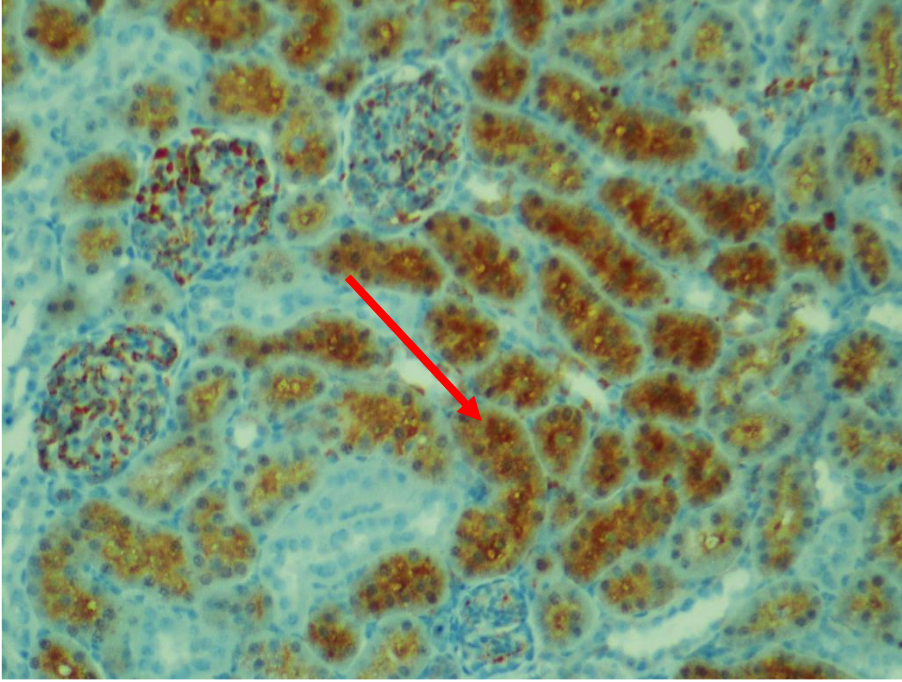
Şekil 32. K+LK grubunun böbrek kesiti [iNOSx200]
K+LK grubunda iNOS antikoru ile K grubu ile benzer şekilde fokal zayıf boyanma izlendi



Şekil 33. MABH grubunun böbrek kesiti [iNOSx200]
MABH grubunda immünohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile yaygın boyanma izlendi. Kırmızı ok: tübüllerde boyanma.

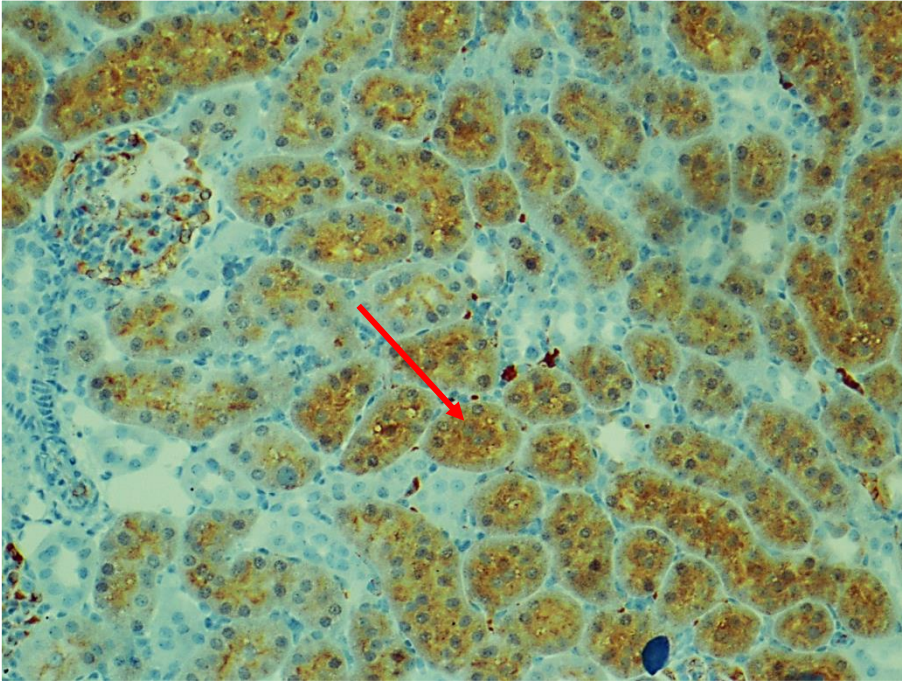


Şekil 34. MABH+LK grubunun böbrek kesiti [iNOSx200]
MABH+likopen grubunda İmmünohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile genellikle fokal zayıf boyanma izlendi.



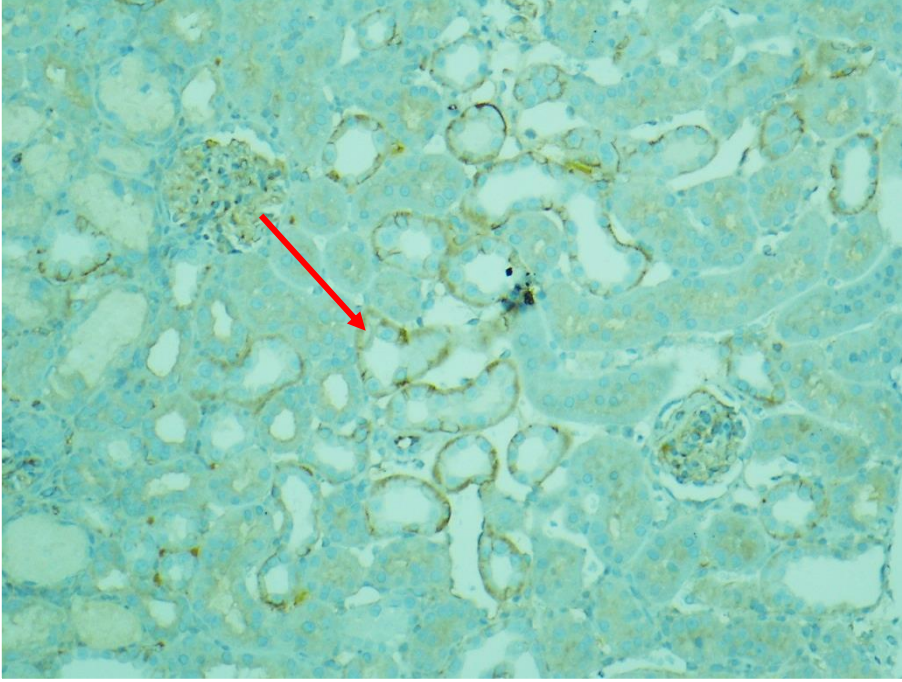
Şekil 35. K grubunun böbrek kesiti [eNOSx200]

K grubunda immünohistokimyasal olarak e NOS antikoruna ile yaygın boyanma izlendi. Kırmızı ok: tübüllerde boyanma.

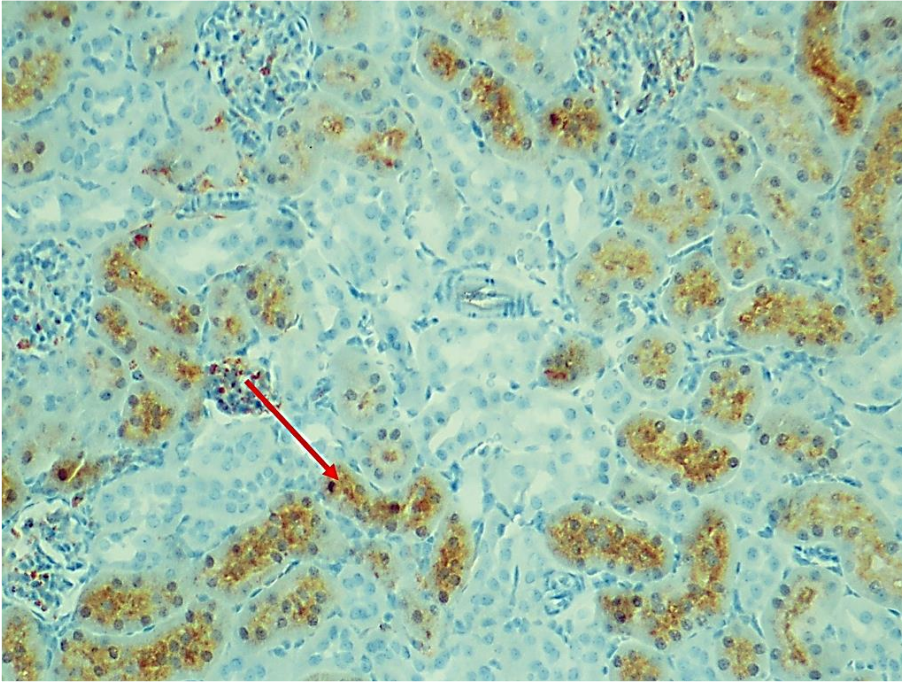


Şekil 36. K+LK grubunun böbrek kesiti [eNOSx200]

Kontrol+Likopen grubunda immünohistokimyasal olarak e NOS antikoruna ile yaygın boyanma izlendi. Kırmızı ok: tübüllerde boyanma.



Şekil 37. MABH grubunun böbrek kesiti [eNOSx200]
MABH grubunda eNOS antikoruna ile fokal ve zayıf boyanma izlendi.



Şekil 38. MABH+LK grubunun böbrek kesiti [eNOSx200]
MABH+LK grubunda eNOS antikoruna ile yaygın kuvvetli boyanma izlendi. Kırmızı ok: tübüllerde boyanma.

TARTIŞMA

Rabdomiyoliz miyoglobinin, elektrolit bozukluğu ve sıklıkla ABH ile sonuçlanan iskelet kası hasarının sonucu oluşan klinik bir sendromdur. Rabdomiyoliz sonucu dolaşıma salınan miyoglobinin böbrek hasarına sebep olduğu bilinmektedir. İnsanlarda gelişen MABH'ye özdeş olarak kabul edilen ABH modeli hipertonic (%50'lik) gliserolün sıçanlara im enjekte edilmesiyle oluşturulur. Bu model kas hasarına bağlı olarak gelişen ABH'nin en çok kabul gören ve insanlarda gelişen MABH'nin deneysel modeli olarak kullanılmaktadır. Hipertonic gliserolün im enjeksiyonu ciddi kas hasarına sebep olur. Bunun sonucu intravasküler hacim azalması, ciddi kas hasarı sonucu vazokonstriktör etkili endotoksik sitokinlerin dolaşıma salınması, miyoliz ve hemoliz sonucu dolaşıma salınan Hem proteinlerinin güçlü bir vazodilatör olan NO'yu yakalayıcı etkileri böbrek damarlarında güçlü bir kontraksiyona neden olur. Bunun sonucunda böbrek fonksiyonlarında azalma, oksidatif stres parametrelerinde artma, NO düzeylerinde azalma olduğu ve histopatolojik olarak böbrek hasarının arttığı birçok çalışmada rapor edilmiştir (1,2,4).

Deneysel MABH'nin incelendiği çalışmalarda gliserolün 5, 6, 7, 8 ve 10 ml/kg dozunda verildiği ve 6. 24. 48. 72. 96. ve 120. saatlerde ki etkilerinin incelendiği birçok çalışma literatürde mevcuttur (4,58-61). Laboratuvarımızda daha önce 6. 24. 48. ve 96. saatteki ABH'de farklı ajanların etkilerinin incelendiği çalışmalar yapılmıştır. Mevcut çalışmamızda 8 ml/kg dozunda gliserolün im verildikten sonra 1. saat, 24. saat, 48. saat ve 72. saatte 10 mg/kg dozunda likopenin tedavi edici etkileri araştırıldı. Kas içi SF ve gavaj ile 1. 24. 48. ve 72. saatlerde mısır yağı verilen K grubumuzun tüm parametreleri bazal olarak alındı. Bu grubun böbrek kesitleri histopatolojik olarak incelendiğinde glomerüllerde, tübülüslerde ve intersiyel alanda patolojik bir bulguya rastlanmadı.

Kas içi SF verilen 1. 24. 48. ve 72. saatlerde gavaj ile likopen verilen K+LK grubunda K grubuna göre glutasyon düzeyinin anlamlı olarak arttığı ve idrar Na⁺ atılımının azaldığı görüldü. Palabıyk ve ark. (6) okratoksin A'nın sıçan böbreğinde oluşturduğu hasara karşı 14 gün boyunca sağlıklı hayvanlara 4 mg/kg dozunda gastrik gavaj yoluyla likopen verilmesinin anlamlı düzeyde plazma ve böbrek total glutasyon düzeyini arttırdığı bildirilmiştir. Bu veriler bizim çalışma sonuçlarımızı doğrulamaktadır. Büyüklü ve ark. (12) kontrast maddelerin sıçan böbreğinde yaptığı hasara karşı 10 gün süreli 4 mg/kg dozunda likopen verilmesinin glutasyon düzeyinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı bildirilmiştir.

Kas içi gliserol uygulanarak deneysel MABH geliştirilen ve gavaj ile mısır yağı verilen MABH grubu sıçanların verileri kontrol grubu olan K grubu ile karşılaştırıldığında serum üre, kreatinin, ALT, AST, MDA, total glutasyon, serum NO, FeNa seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artma, idrar kreatin, idrar Na⁺, idrar NO, böbrek NO düzeyleri ile kreatin klirensi istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü. Bu gruptaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde tübül epitelinde yaygın nekroz, proksimal, distal ve toplayıcı kanal lümenlerinde subkortikal alanda başlayan ve böbrek pelvisine kadar uzanan kast şeklinde dens proteniöz madde birikimi izlendi. Glomerüllerde belirgin konjesyon, tübüllerde dilatasyon dikkat çekti. Peri-tübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Mevcut çalışmamızda ki histopatolojik değerlendirmeye bağlı görülen bulgularımız daha önce yapılan deneysel MABH çalışmalarının sonuçları ile benzerlik gösterdi (2,4,62,63). Karaciğer, kalp, kas dokusu, böbrek ve beyinde bulunan ve bu dokulardaki hasara bağlı olarak kandaki seviyesi yükselen AST çalışmamızda da benzer şekilde anlamlı düzeyde yükselme gözlemlendi. Daha çok karaciğer hasarının bir göstergesi olarak kullanılan ALT düzeylerinde de anlamlı düzeyde bir artma saptandı. AST başlıca iskelet kası ile kalp kası, karaciğer ve eritrositlerde lokalizedir. Toksik karaciğerin bir belirteci olarak ALT ve AST düzeyleri kullanılmasına rağmen iskelet kası hasarı durumunda da aktiviteleri anlamlı düzeyde artmaktadır (64-66). İskelet kası ve kalp kası hasarına bağlı olarak CK enzim aktivitesinde anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü. Daha önce laboratuvarında yapmış olduğumuz 6. saatte ve 24. saatlerde ki seviyesi anlamlı düzeyde yüksek görülmesine rağmen 48. ve 96. saatlerde anlamlı düzeyde bir artış görülmemiştir (67). Bizim laboratuvar çalışmalarımıza göre LDH düzeylerinde de 6.-24. ve 48. saatte anlamlı görülen artış 96. saatte anlamlı görülmemiştir (67). Mevcut çalışmamız daha önce laboratuvarında yaptığımız çalışmaların sonuçlarıyla uyumluluk göstermiştir. İskelet kasının fonksiyonel durumunun belirlenmesinde hem fizyolojik hem de patolojik şartlarda

serum CK, LDH, miyogloblin, AST, troponin ve K⁺ kas hasarının belirteçleri olarak yaygın kullanılırlar (64). Deneysel MABH modelinin farklı zaman periyotlarında kas hasarı belirteçleri olarak CK, AST ve ALT'nin kullanıldığı çalışmalarda AST ve ALT düzeylerinin 24. saatlerde pik yaptığı ve 48. saatlerde yine yüksek olarak kaldıkları gösterilmiştir (66,68). Bu çalışmada serum CK düzeyinin ise ilk 12 saatte pik yaptığı ve daha sonra hızla düştüğü gösterilmiştir (66,68). Plotnikov ve ark.'nın çalışmalarında LDH ve ALT düzeylerinin 1. Günde arttığı daha sonraki zaman dilimlerinde azaldığı rapor edilmiştir (69). Bu sonuçlar bizim çalışma sonuçlarımızı desteklemektedir.

Mevcut çalışmamızda glomerüler fonksiyon bozukluğunun göstergesi olan serum üre ve kreatinin düzeylerinde görülen belirgin artış daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalar ve mevcut literatür bulgularıyla uyumluluk göstermektedir (2,4,62,70-72). Glomerüler filtrasyon hızının bir göstergesi olan kreatin klirensindeki azalmada önceki çalışma sonuçları ile benzerlik gösterdi (63,71,73,74). Çalışmamızda tübüler fonksiyonun bir göstergesi olan FeNa atılımında anlamlı derecede artış önceki çalışmalarda olduğu gibi tübüler fonksiyon bozukluğunu göstermiştir (75). Serbest radikaller MABH'nin patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Kas hasarı sonucu dolaşıma geçen miyogloblinin plazma eşik seviyesi olan 1.5 mg/dl'i geçince glomerüllerden filtre edilir. Proksimal tübülde endositoz yoluyla geri emilirler. Geri emilim sırasında miyogloblinin parçalanmasıyla açığa çıkan serbest demir bir geçiş elementi olduğu için hızla elektron alışverişinde bulunabilir. Bu durumda serbest demir, hem serbest radikal oluşumunu kolaylaştırır hem de kendisi serbest radikal olabilir (23,24). Deneysel MABH'de serbest radikallerin bir göstergesi olan lipid peroksidasyonunun son ürünü MDA seviyelerinin anlamlı düzeyde artışının görüldüğü bir çok çalışmada rapor edilmiştir (2,4,62,70,76). Daha önceki çalışmalarımızda 96. saatte MDA seviyesindeki artış anlamlı görülmemesine rağmen ancak bu çalışmamızda MDA seviyesi anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (67). Ancak farklı zaman dilimlerinde yapılan birçok çalışmada sıçan böbreğindeki MDA düzeylerindeki anlamlı artış, bizim çalışmamız ile uyumluluk göstermektedir (2,4,62).

En güçlü endojen antioksidan olan glutatyon düzeylerinde bir artış görüldü. Bu artış daha önce laboratuvarımızda yapmış olduğumuz artışla paralellik gösterdi (67). Bu çalışmada ki yükselme total glutatyon düzeyindeki artışı göstermektedir. İleriki çalışmalarda okside ve redükte glutatyon düzeylerinin araştırılarak glutatyon düzeyinde görülen bu artışın okside glutatyondan mı yoksa redükte glutatyondan mı olduğu ayrı ayrı araştırılması gerektiğini düşünüyoruz.

Nitrik oksit, NOS enzimlerinin katalizlediği bir dizi reaksiyon sonucunda L-arginin amino asidinden sentezlenir. Böbreklerde glomerüler hemodinamiğin kontrolünde, tübulo glomerül feedback mekanizmasında, renin salgılanmasında, su ve Na⁺ atılımının düzenlenmesinde rol oynadığı rapor edilmiştir (31,36,77). NO normal koşullarda eNOS tarafından sentezlenir ve mikro sirkülasyonun düzenlenmesinde ve trombosit adezyonunun inhibisyonunda önemli rol oynar. eNOS intra renal arteriollerde, glomerüler kapillerde, afferent ve efferent arterlerde, vaza rektada, glomerüler endotelial hücrelerde, kortikal damar endotelinde bulunmaktadır. iNOS enzimi ise medüller Henlenin çıkan kalın kolunda, glomerülusta, proksimal tübülün S3 segmentinde, kortikal toplayıcı kanallarda ve inflamasyonla ilişkili böbrek hastalıklarında ise mezangial hücrelerde, pepiller interstisyel hücrelerde ve glomerüllerde bulunmaktadır. MABH'de böbrek NO üretimindeki azalmanın böbrek hasarını arttırabileceği bildirilmektedir (5,36,78).

İmmünohistokimyasal yöntemlerle incelediğimiz iNOS aktivitesi MABH grubunda belirgin olarak arttığı görüldü. eNOS aktivitesinde ise anlamlı düzeyde azalma görüldü. Son zamanda bu modelde yapılan çalışmalarda iNOS ve eNOS sonuçları bizim sonuçlarımız ile benzerlik göstermektedir (66,68,79).

Çalışmamızda böbrek NO düzeyi azalması serum NO düzeyi artışı ve idrar NO düzeylerindeki azalma birçok çalışma sonuçları ile benzerlik gösterdiği rapor edilmektedir (2,4,63).

Literatürdeki birçok çalışmada gliserol verilerek oluşturulan MABH'de böbrek NO düzeylerindeki azalmanın böbrek fonksiyon azalmasında önemli rol oynadığı ifade edilmektedir. Laboratuvarımızda ve literatürdeki birçok çalışmada böbrek NO düzeyinde azalmanın olduğu rapor edilmiştir (4,63,80).

Çalışmamızda %50 gliserol enjeksiyonundan 1, 24, 48 ve 72. saatlerde gavaj yolu ile 10 mg/kg dozunda likopen verilen MABH+LK grubu ile ABH geliştirilen MABH grubu karşılaştırdığımızda yükselmiş olan serum CK, LDH, AST, ALT enzim aktiviteleri ile serum üre, kreatinin düzeyleri böbrek MDA düzeyi ve FeNa atılımının anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi. Diğer taraftan GSH, kreatin klirensinde anlamlı düzeyde artma gözlemlendi. Yapılan literatür araştırmalarına göre birçok deneysel böbrek hasarı modelinde likopenin tedavi edici etkisinin olduğu rapor edilmiştir (8,10-16,50,81-89). İskelet kası hasarına bağlı olarak oluşan nefrotoksisiteye karşı likopenin etkisinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

Sıçanlarda kontrast madde vererek oluşturulan böbrek hasarı modelinde 10 mg/kg dozunda likopen 10 gün süresince verilen çalışmada, böbrek fonksiyon belirteçleri olan serum

üre, serum kreatinin ile lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan MDA düzeylerinde anlamlı düşme, GSH düzeyi, GSH-Px, CAT ve SOD aktivitelerinde anlamlı artma olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca immünohistokimyasal olarak artan iNOS ekspresyonunun likopen tedavisi ile azaldığı bildirilmiştir. İnflamatuar hücre infiltrasyonunda ve nekrotik dejeneratif değişikliklerde anlamlı düzeyde azalma olduğu bildirilmiştir (12). Sıçanlarda sisplatin vererek oluşturulan nefrotoksisitede 6 mg/kg dozunda likopenin 10 gün süresince verilen bir çalışmada, oksidatif stres parametreleri olan serum üre, serum kreatinin ve MDA düzeylerinde anlamlı bir düşme olduğu, histopatolojik incelemeler sonucu ise tübüler nekroz, tübüler atrofi, intertisyel inflamasyon, intertisyel ödem, vakuolleşme ve fırça sınır kaybında azalma olduğu bildirilmiştir (13). Sıçanlarda gentamisin vererek oluşturulan nefrotoksisitede 4 mg/kg dozunda likopenin 10 gün süresince gavaj yolu ile verilen bir çalışmada, likopenin gentamisinden önce verildiği ve gentamisin ile eş zamanlı verildiği iki tane likopen grubu oluşturulmuştur. Likopenin ön tedavi olarak verildiği grupta yükselmiş olan MDA seviyesindeki düşmenin ve azalmış olan GSH-Px seviyelerindeki artışın anlamlı düzeyde olmadığı ancak likopenin eş zamanlı olarak verildiği grupta MDA ve GSH-Px düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olduğu rapor edilmiştir. Aynı zamanda her iki likopen grubunda da plazma üre, kreatinin, GSH, CAT ve tübüler nekrozunun anlamlı derecede düştüğü gösterilmiştir (10). Sıçanlara 45 dk iskemi/24 saat reperfüzyon uyguladıkları böbrek iskemi/reperfüzyon modelinde likopen 4 mg/kg dozunda 2 gün boyunca gavaj yoluyla uygulanan çalışmada, oksidatif hasar belirteçleri olan GSH-Px, GSH, CAT ve SOD düzeylerinde ki yükselmelerin ve MDA seviyesindeki azalmanın anlamlı olmadığı rapor edilmiştir. Aynı zamanda enflamasyon, tıkanıklık, tübüllerde değişiklik, Bowman kapsülünde dilatasyon, proteinli kast, dejenerasyon ve nekrotik alanların incelendiği histopatolojik bulgulardaki azalmanın da anlamlı düzeyde olmadığı bildirilmiştir (14). Sıçanlara 45 dk iskemi/6 saat reperfüzyon uyguladıkları böbrek iskemi/reperfüzyon modelinde iskemiden 30 dakika önce 100 mg/kg tek doz likopen gavaj ile uygulanan çalışmada, üre, kreatinin, MDA düzeylerinde düşme ve GSH düzeylerinde artış görülmüş ancak anlamlı bulunmamıştır. Histopatolojik incelemelerde de tübüler nekrozdaki azalma anlamlı düzeyde bulunmazken, tübüler dilatasyon, tübüler vakuolizasyon ve fırçamsı sınır kaybındaki azalma anlamlı düzeyde bulunmuştur (15). Sıçanlarda siklosporin A verilerek oluşturulan böbrek hasarı modelinde likopen 10 mg/kg dozunda 21 gün süresince gavaj ile verilerek tedavi edici etkisinin incelendiği çalışmada, üre, kreatinin, Ca²⁺, CAT, TBARs seviyelerinde anlamlı azalma, GSH, GSH-Px düzeylerinde anlamlı artma olduğu rapor edilmiştir. Tübüler nekroz,

tübüler dejenerasyon, tübüler dilatasyon, kast oluşumu, inter tübüler fibrosiste anlamlı düzeyde bir azalma olduğu bildirilmiştir (81). Farelerde kolistin vererek oluşturulan nefrotoksisitede likopen 5 ve 20 mg/kg dozlarında 7 gün süresince kolistin verilmeden 2 saat önce oral olarak uygulandığı bir çalışmada, likopenin 5 mg/kg dozunda uygulandığı grupta böbrek NO'daki azalma ve SOD'daki artış anlamlı düzeyde bulunmazken, likopenin 20 mg/kg dozunda uygulandığı grupta anlamlı düzeyde bulunmuştur. Her iki likopen dozunda da BUN, kreatinin, MDA ve iNOS ekspresyonunda ki anlamlı azalma ve CAT, GSH'ta da anlamlı bir artış olduğu rapor edilmiştir. Histopatolojik olarak tübüler nekroz, dilatasyon ve hasarda azalma likopenin koruyucu özelliğini doğrulamıştır. Apoptozisin belirteçleri olan kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktiviteleri kolistin grubundaki belirgin artışa karşı her iki likopen dozunda da anlamlı düzeyde azaldığı rapor edilmiştir. Bu çalışmaya göre likopen Nfr-2/HO-1 yolağını aktive ederek koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir (8). Sıçanlarda civa klorür ile oluşturulan böbrek hasarı modelinde likopenin 40 mg/kg dozda gavaj ile tek doz uygulandığı çalışmada, böbrek fonksiyon ve oksidatif stres biyobelirteçleri incelendiğinde BUN, MDA, ROS anlamlı düzeyde azalma görülürken, oksidatif stresin azaldığını gösteren belirteçler SOD, GSH-Px anlamlı düzeyde artarken GSH anlamlı düzeyde azaldığı bildirilmiştir (11). Sıçanlarda adriamisin verilerek oluşturulan nefrotoksisitede likopenin 4 mg/kg dozunda gavaj ile verilerek likopenin koruyucu ve tedavi etkisini incelendiği çalışmada, likopenin tedavi edici olarak verildiği grupta MDA ve GSH düzeylerinde azalma anlamlı olarak rapor edilirken, likopenin hem koruyucu hem de tedavi edici olarak verildiği her iki grupta da kreatinin, üre, GSH-Px parametrelerdeki azalma ve CAT düzeyindeki artış anlamlı düzeyde bulunmadığı rapor edilmiştir. Aynı zamanda glomerüler konjesyon, tübüler nekroz, hyalin kast, intra tübüler hemoraji, tübüler dejenerasyon ve tübüler dilatasyondaki normalleşme adriamisin uygulamasından sonra likopen verilen grupta daha belirgin olduğu bildirilmiştir (82). Sıçanlarda deltametrin ile oluşturulan nefrotoksisitede likopenin 1 mg/kg dozunda 30 gün boyunca verdiği çalışmada tübüler nekroz, tübüler dejenerasyon, tübüler dilatasyon, tübüler vakuolizasyon ve bazal membran kalınlaşmasında azalma olduğu rapor edilmiştir (83). Sıçanlarda sisplatinin neden olduğu nefrotoksisitede likopenin 4 mg/kg dozunda gavaj ile uygulanan bir çalışmada, likopenin, siklosporin verilmeden önce uygulandığı ve siklosporin verildikten sonra uygulandığı iki tane likopen grubu oluşturulmuştur. Likopenin ön tedavi olarak verildiği grupta üre ve tübüler nekroz anlamlı düzeyde azalırken sisplatin uygulamasından sonraki likopen tedavisinde üre ve tübüler nekrozda bir değişiklik görülmemiştir. Her iki likopen grubunda da kreatin, MDA, GSH-Px düzeylerinde anlamlı bir

azalma görülürken, GSH, CAT düzeyinde anlamlı bir artış olduğu rapor edilmiştir (16). Sıçanlarda yanık oluşturarak termal hasara bağlı böbrek hasarı modelinde 50 mg/kg dozunda likopenin gavaj yoluyla uygulandığı çalışmada, MDA seviyesinde anlamlı azalma, GSH, SOD ve CAT düzeylerinde anlamlı bir artış olduğu rapor edilmiştir (84). Sıçanlarda obstruktif sarılıkta 100 mg/kg dozunda likopenin 14 gün boyunca gavaj yolu ile verildiği bir çalışmada, ALT, AST, direk bilirubin, MDA, NO düzeylerinde anlamlı azalma görülürken, GSH, CAT, SOD ve GST düzeylerinde anlamlı derecede arttığı rapor edilmiştir. Histopatolojik bulgulara bakıldığında ise glomerüler hasar, intertisyel inflamasyon, tübüler nekroz, tübüler dilatasyon, hidropik dejenerasyon ve tübüler dökülmeye anlamlı düzeyde bir azalma olduğu bildirilmiştir (85). Sıçanlarda doksorubisin ile oluşturulan nefrotoksisitede 5 mg/kg dozunda likopenin 24 gün boyunca gavaj yolu ile verildiği çalışmada, MDA, üre anlamlı düzeyde azalma görülürken kreatinin düzeyinde ki azalma anlamlı düzeyde olmadığı bildirilmiştir. Redükte GSH, CAT artma ve SOD, Glutasyon s transferazda azalma anlamlı düzeyde olduğu bildirilmiştir. Glutasyon redüktaz ve glutasyon peroksidazdaki artış anlamlı düzeyde bulunmamıştır. Histopatolojik olarak böbrek hasarında azalma olduğu bildirilmiştir (86). Sıçanlara kadmiyumun verdiği bir çalışmada, likopen 10 mg/kg dozunda 20 gün süresince gavaj yolu ile verilmiştir. MDA, Plazma NO, CAT düzeyinde anlamlı bir azalma, GSH-Px düzeyinde anlamlı artış olduğu rapor edilirken, doku NO düzeyindeki artışın anlamlı olmadığını ve SOD seviyesinin değişmediği rapor edilmiştir (87). Farelerde anti-diyabetik nefropati çalışmasında 40 ve 80 mg/kg dozunda likopen uygulamasının enflamatuvar yanıt ve oksidatif stresi azaltılmasının koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmada, her iki likopen dozunda da 24 saatlik protein üri, MDA düzeyinde anlamlı bir azalma, SOD ve GSH-Px düzeyinde anlamlı artma olduğu rapor edilmiştir (88). Sıçanlarda streptozotisin verilerek oluşturulan diabetes modelinde böbrek fonksiyonları üzerine likopenin olumlu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, 20 mg/kg dozunda 8 hafta boyunca gavaj ile likopen verilmiştir. BUN, kreatin, üre protein, MDA düzeylerinde anlamlı azalma görülürken SOD anlamlı artış olduğu rapor edilmiştir (89).

Likopenin farklı ajanlarla böbrek hasarı oluşturulan deneysel modellerde böbrek hasarına karşı koruyucu rol oynadığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Mevcut çalışmamızda yükselmiş olan serum CK, LDH, AST, ALT enzim aktiviteleri ile serum üre, kreatinin düzeyleri böbrek MDA düzeyi ve FeNa atılımının anlamlı düzeyde azaltarak, diğer taraftan GSH, kreatin klirensinde anlamlı düzeyde artırarak koruyucu rol oynadığı gösterildi. Çalışmamızda likopenin NO düzeyleri üzerinde anlamlı değişiklik oluşturmadığı görüldü.

Ancak böbrek dokusundaki immünohistokimyasal incelemelerde likopen tedavisi verilen MABH grubunda düşmüş olan eNOS yoğunluğu ve yaygınlığının anlamlı düzeyde arttığı, artmış olan iNOS yoğunluğu ve yaygınlığı ise anlamlı düzeyde azaldığı görüldü. Likopen tedavisinin NO düzeyleri ile anlamlı değişiklikler oluşturmamasının birkaç nedeni olabilir. Likopen literatürde birçok çalışmada 10 mg/kg kullanılmasına rağmen, Aydın ve ark'nın (85) çalışmalarında NO düzeyinde anlamlı değişiklik olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada 14 gün boyunca 100 mg/kg dozunda gavaj yoluyla likopen verildiği görülmektedir. Rencüzoğulları ve Erdoğan'ın (87) yaptıkları çalışmada sıçanlarda karmiyum nefrotoksisitesine karşı 20 gün boyunca 10 mg/kg dozunda likopen verilmesinin plazma NO düzeyini anlamlı düzeyde azalttığı, böbrek NO düzeyindeki artışın anlamlı olmadığını bildirmiştir. Mevcut literatür çalışmalarında likopenin yüksek ve tekrarlayan dozlarda verilmesinin NO düzeylerinde anlamlı değişiklikler oluşturduğu görülmektedir. Çalışmamızda likopenin 4 doz ve 10 mg/kg dozunda verilmesinin etkilerinin daha az görülmüş olmasına neden olabilir. Ayrıca deneysel MABH patogenezinde etkili faktörlerin diğer deneysel böbrek hasarı modellerinden farklı olması sonucunda olabilir.

Çalışmamızın bulguları mevcut literatür sonuçları ile değerlendirildiğinde sıçanlarda yapmış olduğumuz deneysel MABH'de likopen tedavisinin birçok parametre üzerinde koruyucu etki gösterdiği görüldü. Mevcut bulgularımız ve literatür sonuçları bir arada değerlendirildiğinde likopenin deneysel MABH modelinde tedavi edici etki mekanizmasını kesin olarak göstermekte yetersiz kalmaktadır. Bu konuda likopenin farklı dozlarda ve sürelerde verilerek böbrek kan akımı, böbrek fonksiyonları, oksidatif hasar derecesini gösteren parametreler ile NO metabolizması üzerindeki etkilerini, ultrastürüktürel değişikliklerin elektron mikroskobu ile gösterilmesi ve moleküler düzeyde araştırmalar yapılması gerektiği düşüncesindeyiz. Bu çalışmaların ön klinik çalışmalara ışık tutacağı görüşündeyiz. Klinik çalışmalarda insanlarda likopen kullanımının yan etkiler oluşturmaması bu ajanın iskelet kası hasarı sonucu görülen böbrek hastalıklarında tedavi protokollerine eklenmesi için klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

SONUÇLAR

Çalışmamızda deneysel MABH'nın sıçan böbreklerinde yol açtığı oksidatif hasarda, iskelet kası hasarı oluştuğundan sonra likopen verilmesinin; antioksidan enzimler; MDA, NO, GSH düzeylerine, böbrek fonksiyonları, histopatolojik ve immünohistokimyasal değişiklikler üzerindeki etkilerini inceledik.

Karşılaştırılan deney gruplarının sonuçları incelendiğinde;

K grubuna göre sadece likopen verilen K+LK grubunda, incelenen parametrelerden GSH düzeyinin anlamlı olarak yükseldiği, idrar Na⁺ atılımında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü.

K grubuna göre %50'lik gliserol ile iskelet kası hasarı oluşturulan MABH grubunda, incelenen parametrelerden böbrek fonksiyon belirteçleri olan serum üre, serum kreatinin düzeylerinde, ALT, AST, MDA, total glutatyon, serum NO seviyelerinde, tübüler fonksiyonun göstergesi olan FeNa atılımında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artma, idrar kreatin, idrar Na⁺, idrar NO, böbrek NO düzeyleri ile glomerüler filtrasyonun belirteci olan kreatin klirensinde istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü. Histopatolojik kesitlerde yapılan incelemelerde nekroz ve tübüler kast birikimi izlendi. İmmünohistokimyasal olarak aktiviteleri incelenen iNOS aktivitelerinde anlamlı yükselme, eNOS aktivitelerinde ise anlamlı düşüş görüldü. Bu sonuçlar modelimizin oluştuğunu göstermektedir.

MABH grubu ile %50'lik gliserol ile iskelet kası hasarı oluşturulduktan sonra 1, 24, 48 ve 72. saatlerde likopen verdiğimiz MABH+LK grubunda, incelenen parametrelerden serum CK, LDH, AST, ALT enzim aktiviteleri ile serum üre, kreatinin düzeyleri böbrek

MDA düzeyi ve FeNa atılımının anlamlı düzeyde azaldığı, GSH ve kreatin klirensinde istatistiksel olarak anlamlı artma görüldü. Histopatolojik kesitlerde yapılan incelemelerde nekroz ve tübüler kast birikiminde anlamlı düzeyde azalma izlendi. İmmünohistokimyasal olarak aktiviteleri incelenen iNOS aktivitelerinde anlamlı düşme, eNOS aktivitelerinde ise anlamlı yükselme görüldü.

Bu sonuçlar dikkate alındığında, likopenin gliserol ile oluşturulan MABH üzerindeki koruyucu etkilerinin incelendiği çalışmamızda birçok parametre üzerinde koruyucu etki gösterdiği ancak likopenin deneysel MABH modelinde tedavi edici etki mekanizmasını kesin olarak göstermekte yetersiz kaldığı görüldü.

ÖZET

Miyoglobinürik akut böbrek hasarının fizyopatolojisinde nitrik oksit ve reaktif oksijen metabolitlerinin önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Çalışmamızda antioksidan etkisi olan likopenin, miyoglobinürik akut böbrek hasarında nitrik oksit, böbrek fonksiyonları ve böbrek hasarı üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda erkek Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Kontrol ve Kontrol+Likopen gruplarındaki sıçanlara fizyolojik serum, Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı ve Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı+Likopen gruplarındaki, sıçanlara %50'lik gliserol solüsyonundan 8 ml/kg dozunda intramüsküler enjekte edildi. Kontrol ve Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı gruplarındaki sıçanlara mısır yağı, Kontrol+Likopen ve Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı+Likopen gruplarındaki sıçanlara da 1, 24, 48 ve 72 saat sonra 10 mg/kg dozunda likopen gavaj yolu ile verildi. Sıçanların idrar örnekleri, 96. saatte anestezi altında kanları ve her iki böbreği alınarak ötenazi uygulandı. İki grup arasındaki farkın anlamlılığı için Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Çalışmamızda Kontrol grubu ile Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı grubu parametreleri karşılaştırıldığında; Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı grubu serum üre, kreatinin düzeyleri, böbrek glutatyon düzeyi, histopatolojik olarak böbrek hasarı ve tübüler kast birikimi ($p<0.001$), serum NO düzeyi, AST aktivitesi ($p<0.01$), ALT aktivitesi, FeNa atılımı, malondialdehit düzeyinde ($p<0.05$) anlamlı artma bulundu. Aynı grupta glomerüler fonksiyonun bir göstergesi olan kreatinin klirensi ($p<0.01$), böbrek NO düzeyinde ($p<0.05$) anlamlı azalma görüldü. Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı grubu ile Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı+Likopen grubu karşılaştırıldığında; böbrek fonksiyonları ile oksidatif hasar parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı iyileşmeler olduğu gözlemlendi ($p<0.05$).

Miyoglobinürik akut böbrek hasarında likopenin antioksidan aktivite göstererek böbrek hasarı ve fonksiyonları üzerinde koruyucu rolü olduğu görüldü. Likopenin rabdomiyoliz sonrası gelişen akut böbrek hasarına karşı tedavi protokollerine eklenerek klinik çalışmalar yapılmasının yararlı olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Miyoglobinürik akut böbrek hasarı, likopen, lipid peroksidasyonu, nitrik oksit, rabdomiyoliz

THE EFFECTS OF LYCOPENE ON MYOGLOBINURIC ACUTE KIDNEY INJURY

SUMMARY

It is reported that the nitric oxide and reactive oxygen metabolites have an important role on the physiopathology of myoglobinuric acute kidney injury. In this study, we aimed to investigate the effects of lycopene, as an antioxidant, on the kidney injury, renal functions and nitric oxide in the myoglobinuric acute kidney injury.

In this research, male Sprague Dawley rats were used. The rats in Control and Control+Lycopene groups were injected physiological saline solution, the ones in Myoglobinuric Acute Kidney Injury and Myoglobinuric Acute Kidney Injury+Lycopene groups were injected 8 ml/kg intramuscular glycerol (%50). The ones in Control and Myoglobinuric Acute Kidney Injury groups were received corn oil, the ones in group Control and Myoglobinuric Acute Kidney Injury+Lycopene groups were also taken 10 ml/kg lycopene via gavage after 1, 24, 48 and 72 hours. The rats were euthanized by collecting the 24-hour urine samples, taking the blood under anesthesia at the 96th hour and taking both of their kidneys. Mann-Whitney U test was used to investigate the relevance of the difference between two groups.

When the parameters of Control and Myoglobinuric Acute Kidney Injury groups were compared, there was a significant increase in the serum urea, creatinine, NO levels, AST ($p<0.01$) and ALT activities, kidney tissue glutathione, histopathological renal damage and

tubular cast accumulation ($p<0.001$) and FeNa release and the malondialdehyde levels ($p<0.05$) in Acute Kidney Injury group. In the same group, there was a significant decrease in the renal NO level ($p<0.01$) and in the clearance of creatinine ratio ($p<0.05$). When Myoglobinuric Acute Kidney Injury and Myoglobinuric Acute Kidney Injury+Lycopene groups were compared, we observed that lycopene treatment had some positive effect on the renal functions and oxidative stress indicators ($p<0.05$).

Lycopene was found to be potential protective agent on renal failure and renal functions in the Myoglobinuric Acute Kidney Injury. We suggest that it could be useful adding the lycopene to the treatment protocols against acute kidney injury development after rhabdomyolysis.

Key Words: Myoglobinuric acute kidney injury, lycopene, lipid peroxidation, nitric oxide, rhabdomyolysis

KAYNAKLAR

1. Sever M. Crush (ezilme) sendromu ve Marmara depreminden çıkarılan dersler. İstanbul: Türk Nefroloji Derneği Yayınları 2002;13-74
2. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin Ö, Batcioglu K, Kaymak K. Effects of exogenous melatonin on myoglobinuric acute renal failure in the rats. *Ren Fail* 2004;26(5):479-86.
3. Shan SV, Walker PD. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in glycerol-induced acute renal failure. *Am J Physiol* 1988;255:438-43.
4. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Taşkıran R, Taştekin E, Kaymak K. The protective effects of l-carnitine on myoglobinuric acute renal failure in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006;33(1-2):119-24.
5. Zager RA. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. *Kidney Int* 1996;49(2):314-26
6. Palabiyik SS, Erkekoglu P, Zeybek ND, Kizilgun M, Baydar DE, Sahin G, et al. Protective effect of lycopene against ochratoxin A induced renal oxidative stress and apoptosis in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2013;65(6):853-61.
7. Cavusoglu K, Oruc E, Yapar K, Yalcin E. Protective effect of lycopene against mercury-induced cytotoxicity in albino mice: pathological evaluation. *J Environ Biol* 2009;30(5 Suppl):807-14.
8. Dai C, Tang S, Deng S, Zhang S, Zhou Y, Velkov T, et al. Lycopene attenuates colistin-induced nephrotoxicity in mice via activation of the Nrf2/HO-1 pathway. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59(1):579-85.

9. Takeshima M, Ono M, Higuchi T, Chen C, Hara T, Nakano S. Anti-proliferative and apoptosis-inducing activity of lycopene against three subtypes of human breast cancer cell lines. *Cancer Science* 2014;105(3):252-7.
10. Karahan İ, Yılmaz S, Ateşşahin A. Ratlarda cisplatin ve gentamisin kan ile karaciğerde oluşturdukları oksidatif stres üzerine likopenin etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 2006;20(1):039-043.
11. Yang H, Xu Z, Liu W, Deng Y, Xu B. The protective role of procyanidins and lycopene against mercuric chloride renal damage in rats. *Biomed Environ Sci* 2011;24(5):550-9.
12. Buyuklu M, Kandemir FM, Ozkaraca M, Set T, Bakirci EM, Topal E, et al. Beneficial effects of lycopene against contrast medium-induced oxidative stress, inflammation, autophagy, and apoptosis in rat kidney. *Hum Exp Toxicol.* 2015;34(5):487-96.
13. Dogukan A, Tuzcu M, Agca CA, Gencoglu H, Sahin N, Onderci M, et al. A tomato lycopene complex protects the kidney from cisplatin induced injury via affecting oxidative stress as well as Bax, Bcl-2, and HSPs expression. *Nutr Cancer.* 2011;63(3):427-34.
14. Pektaş A, Gemalmaz H, Balkaya M, Ünsal C, Yenisey Ç, Kılıçarslan N, et al. The short-term protective effects of lycopene on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Turk J Urol.* 2014;40(1):46-51.
15. Kaya C, Karabulut R, Turkyilmaz Z, Sonmez K, Kulduk G, Gülbahar Ö, et al. Lycopene has reduced renal damage histopathologically and biochemically in experimental renal ischemia-reperfusion injury. *Ren Fail.* 2015;37(8):1390-5.
16. Atessahin A, Yilmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology.* 2005;1;212(2-3):116-23.
17. Albright RC Jr. Acute renal failure: A practical update. *Mayo Clin Proc* 2001;76(1):67-74.
18. Kim HY, Yokozawa T, Nakagawa T, Sasaki S. Protective effect of gamma aminobutyric acid against glycerol-induced acute renal failure in rats. *Food Chem Toxicol* 2004;42(12):2009-14.
19. Srisawat N, Kellum JA. Acute kidney injury: definition, epidemiology, and outcome. *Curr Opin Crit Care* 2011;17(6):548-55.

20. Rewa O, Bagshaw SM. Acute kidney injury-epidemiology, outcomes and economics. *Nat Rev Nephrol* 2014;10(4):193-207.
21. Boutaud O, Roberts LJ 2nd. Mechanism based therapeutic approaches to rhabdomyolysis induced renal failure. *Free Radic Biol Med*. 2011;1;51(5):1062-7.
22. Zimmerman JL, Shen MC. Rhabdomyolysis. *Chest* 2013;144(3):1058-65.
23. Petejova N, Martinek A. Acute kidney injury due to rhabdomyolysis and renal replacement therapy: a critical review. *Crit Care* 2014;28;18(3):224.
24. Zutt R, van der Kooi AJ, Linthorst GE, Wanders RJ, de Visser M. Rhabdomyolysis: Review of the literature. *Neuromuscul Disord* 2014;24(8):651-9.
25. Groebler LK. Therapeutic approaches to minimise acute renal failure in an animal model of myoglobinuria (Dissertation). Berlin: Freie Universität Berlin; 2012.
26. Khan FY. Rhabdomyolysis: a review of the literature. *Neth J Med*. 2009;67(9):272-83.
27. Torres PA, Helmstetter JA, Kaye AM, Kaye AD. Rhabdomyolysis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Ochsner J*. 2015;15(1):58-69.
28. Guis S, Mattei JP, Cozzone PJ, Bendahan D. Pathophysiology and clinical presentations of rhabdomyolysis. *Joint Bone Spine* 2005;72(5):382-91.
29. Yavuz M. Crush sendromu ve akut böbrek yetmezliği. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1999;4:163-6.
30. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012;33(7):829-37.
31. Mount PF, Power DA. Nitric oxide in the kidney: functions and regulation of synthesis. *Acta Physiol (Oxf)* 2006;187(4):433-46.
32. Güray A, Samancı N, Ovalı F, Dağoğlu T. Nitrik Oksit: Fizyolojisi ve Klinik Önemi. *T Klin Tıp Bilimleri* 1997;17:115-9
33. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001;1;357(Pt 3):593-615.
34. Davis KL, Martin E, Turko IV, Muard F. Novel effect of nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:203-36.

35. Abassi ZA, Hoffman A, Better OS. Acute renal failure complicating muscle crush injury. *Semin Nephrol* 1998;5(18):558-65.
36. Baylis C. Nitric oxide synthase derangements and hypertension in kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2012;21(1):1-6.
37. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* 1996;271(5Pt1):1424-37.
38. Gow AJ, Luchsinger BP, Pawloski JR, Singel DJ, Stamler JS. The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;3;96(16):9027-32.
39. Veeramachaneni NK, Harken AH, Cairns CB. Clinical implications of hemoglobin as a nitric oxide carrier. *Arch Surg*. 1999;134(4):434-57.
40. Flögel U, Merx MW, Godecke A, Decking UK, Schrader J. Myoglobin: A scavenger of bioactive NO. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;16;98(2):735-40.
41. Witting PK, Douglas DJ, Mauk AG. Reaction of human myoglobin and nitric oxide. Heme iron or protein sulfhydryl (s) nitrosation dependence on the absence or presence of oxygen. *J Biol Chem*. 2001;9;276(6):3991-8.
42. Durmuş AS, Ünsaldı E. Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve kırık iyileşmesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları* 2005;20-7.
43. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998;11:336-41.
44. Araujo M, Welch WJ, Oxidative stress and nitric oxide in kidney function. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2006;15(1):72-7.
45. Müller L, Caris-Veyrat C, Lowe G, Böhm V. Lycopene and Its Antioxidant Role in the Prevention of Cardiovascular Diseases - A Critical Review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2015;12:0.
46. Karahan I, Ateşşahin A, Yılmaz S, Ceribaşı AO, Sakin F. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology*. 2005;15;215(3):198-204.
47. Makon-Sébastien N, Francis F, Eric S, Henri VP, François LJ, Laurent P, et al. Lycopene modulates THP1 and Caco2 cells inflammatory state through transcriptional and nontranscriptional processes. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:507272.

48. Bernal C, Martín-Pozuelo G, Lozano AB, Sevilla A, García-Alonso J, Canovas M, et al. Lipid biomarkers and metabolic effects of lycopene from tomato juice on liver of rats with induced hepatic steatosis. *J Nutr Biochem* 2013;24(11):1870-81.
49. Gupta P, Bansal MP, Koul A. Lycopene modulates initiation of N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis: Studies on chromosomal abnormalities, membrane fluidity and antioxidant defense system. *Chemico-Biological Interactions* 2013;25;206(2):364-74.
50. Sheik Abdulazeez S, Thiruvengadam D. Effect of lycopene oxidative stress induced during D-galactosamine/lipopolysaccharide-sensitized liver injury in rats. *Pharm Biol* 2013;51(12):1592-9.
51. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-8.
52. Devi GS, Prasad MH, Saraswathi I, Raghu D, Rao DN, Reddy PP. Free radicals, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. *Clin Chim Acta* 2000;293(1-2):53-62.
53. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959;82:70-7.
54. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990;36:1440-3.
55. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193(1):265-75.
56. Korkmaz A, Kolankaya D. Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Can J Surg* 2013;56(1):6-14.
57. Erdogan H, Fadilloğlu E, Yagmurca M, Uçar M, Irmak M K. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: Protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. *Urol Res* 2006;34:41-6.
58. Homsí E, Janino P, de Faria JB. Role of caspases on cell death, inflammation, and cell cycle in glycerol-induced acute renal failure. *Kidney Int.* 2006;69(8):1385-92.
59. Homsí E, de Brito SM, Janino P. Silymarin exacerbates p53-mediated tubular apoptosis in glycerol-induced acute kidney injury in rats. *Ren Fail.* 2010;32(5):623-32.

60. Shanu A, Groebler L, Kim HB, Wood S, Weekley CM, Aitken JB, et al. Selenium inhibits renal oxidation and inflammation but not acute kidney injury in an animal model of rhabdomyolysis. *Antioxid Redox Signal*. 2013;1;18(7):756-69.
61. Korrapati MC, Shaner BE, Schnellmann RG. Recovery from glycerol-induced acute kidney injury is accelerated by suramin. *J Pharmacol Exp Ther*. 2012;341(1):126-36.
62. Aydoğdu N, Atmaca G, Yalcin O, Batçioğlu K, Kaymak K. Effects of caffeic acid phenethyl ester on glycerol-induced acute renal failure in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004; 31(9), 575-9.
63. Chander V, Chopra K. Molsidomine, A nitric oxide donor and l-arginine protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. *Biochimica et Biophysica Acta* 2005;1723(1-3):208-14.
64. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(6):757-67.
65. Ayvaz S, Aksu B, Kanter M, Uzun H, Erboga M, Colak A, et al. Preventive effects of hyperbaric oxygen treatment on glycerol-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. *J Mol Histol*. 2012;43(2),161-70.
66. Yang FL, Subeq YM, Chiu YH, Lee RP, Lee CJ, Hsu BG. Recombinant human erythropoietin reduces rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. *Injury*. 2012;43(3):367-73.
67. Aydoğdu N, Erbas H, Altaner S, Sut N, Effects of arginase enzyme inhibitor N Hydroxy nor L Arginine (nor-NOHA) on myoglobinuric acute kidney injury in rats, Joint FEPS&Spanish Physiological Society Scientific Congress, Santiago de Compostela Spain, (2012), pp:254.
68. Subeq YM, Wu WT, Lee CJ, Lee RP, Yang FL, Hsu BG. Pentobarbital reduces rhabdomyolysis-induced acute renal failure in conscious rats. *J Trauma*. 2009;67(1):132-8.
69. Plotnikov EY, Chupyrkina AA, Pevzner IB, Isaev NK, Zorov DB. Myoglobin causes oxidative stress, increase of NO production and dysfunction of kidney's mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1792(8):796-803.
70. Stefanovich V, Savic V, Vlahovic P, Cvetkovic T, Najman S, Zlatkovic MM. Reversal of experimental myoglobinuric acute renal failure with bioflavonoids from seeds of grape. *Ren Fail* 2000;22(3):255-66.

71. Boutaud O, Moore KP, Reeder BJ, Harry D, Howie AJ, Wang S, et al. Acetaminophen inhibits hemoprotein-catalyzed lipid peroxidation and attenuates rhabdomyolysis-induced renal failure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107(6),2699-704.
72. Akpolat T, Ulaş C, Süleymanlar G. Nefroloji el kitabı. Nobel Tıp Kitabevleri 2000:249-67.
73. Ustündag S, Sen S, Yalcin O, Ciftci S, Demirkan B, Ture M. L-Carnitine ameliorates glycerol-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. *Ren Fail* 2009;31(2),124-33.
74. Kim HY, Yokozawa T, Nakagawa T, Sasaki S. Protective effect of γ -aminobutyric acid against glycerol-induced acute renal failure in rats. *Food Chem Toxicol* 2004;42(12):2009-14
75. Rodrigo R, Bosco C, Herrera P, Rivera G. Amelioration of myoglobinuric renal damage in rats by chronic exposure to flavonol-rich red wine. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(9):2237-44.
76. Savic V, Vlahovic P, Djordjevic V, Mitic-Zlatkovic M, Avramovic V, Stefanovic V. Nephroprotective effects of pentoxifylline in experimental myoglobinuric acute renal failure. *Pathol Biol* 2002;50(10):599-607.
77. Palm F, Teerlink T, Hansell P, Nitric oxide and kidney oxygenation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009;18(1),68-73.
78. Baylıs C. Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease, *Nat Clin Pract Nephrol* 2006;2(4),209-20.
79. Park CH, Tanaka T, Cho EJ, Park JC, Shibahara N, Yokozawa T. Glycerol-induced renal damage improved by 7-O-galloyl-D-sedoheptulose treatment through attenuating oxidative stress. *Biol Pharm Bull*. 2012;35(1):34-41.
80. Yousefipour Z, Hercule H, Truong L, Oyekan A, Newaz M. Ciglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor gamma inducer, ameliorates renal preglomerular production and activity of angiotensin II and thromboxane A2 in glycerol-induced acute renal failure. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007;322(2):461-8.
81. Ateşşahin A, Ceribaşı AO, Yılmaz S. Lycopene, a carotenoid, attenuates cyclosporine-induced renal dysfunction and oxidative stress in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2007;100(6):372-6.

82. Yilmaz S, Atessahin A, Sahna E, Karahan I, Ozer S. Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology*. 2006;1;218(2-3):164-71.
83. El-Gerbed MS. Protective effect of lycopene on deltamethrin-induced histological and ultrastructural changes in kidney tissue of rats. *Toxicol Ind Health*. 2014;30(2):160-73.
84. Cevik O, Oba R, Macit C, Cetinel S, Kaya OT, Sener E, et al. Lycopene inhibits caspase-3 activity and reduces oxidative organ damage in a rat model of thermal injury. *Burns*. 2012;38(6):861-71.
85. Aydın S, Tokaç M, Taner G, Arıkök AT, Dündar HZ, Ozkardeş AB, et al. Antioxidant and antigenotoxic effects of lycopene in obstructive jaundice. *J Surg Res*. 2013;15;182(2):285-95.
86. Koul A, Shubrant, Gupta P. Phytomodulatory potential of lycopene from *Lycopersicon esculentum* against doxorubicin induced nephrotoxicity. *Indian J Exp Biol*. 2013;51(8):635-45.
87. Rencuzogullari N, Erdogan S. Oral administration of lycopene reverses cadmium-suppressed body weight loss and lipid peroxidation in rats. *Biol Trace Elem Res*. 2007;118(2):175-83.
88. Guo Y, Liu Y, Wang Y. Beneficial effect of lycopene on anti-diabetic nephropathy through diminishing inflammatory response and oxidative stress. *Food Funct*. 2015;6(4):1150-6.
89. Li W, Wang G, Lu X, Jiang Y, Xu L, Zhao X. Lycopene ameliorates renal function in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;15;7(8):5008-15.

RESİMLEMELER LİSTESİ

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Rabdomiyolizin oluşum mekanizmaları	7
Şekil 2. Rabdomiyoliz komplikasyonları	8
Şekil 3. Rabdomiyolizin neden olduğu ABH gelişiminin fizyopatolojisi.....	9
Şekil 4. Nöronal NOS ve Endotelyal NOS'un böbrekteki fosforilasyon alanları.....	12
Şekil 5. Likopenin moleküler yapısı.....	16
Şekil 6. Böbrek MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	33
Şekil 7. Böbrek GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı	34
Şekil 8. Böbrek NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı	34
Şekil 9. Serum AST düzeylerinin gruplara göre dağılımı	35
Şekil 10. Serum ALT düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	36
Şekil 11. Serum CK düzeylerinin gruplara göre dağılımı	36
Şekil 12. Serum LDH düzeylerinin gruplara göre dağılımı	37
Şekil 13. Serum üre düzeylerinin gruplara göre dağılımı	38
Şekil 14. Serum kreatinin düzeylerinin gruplara göre dağılımı	38
Şekil 15. Serum sodyum düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	39
Şekil 16. Serum potasyum düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	39
Şekil 17. Serum NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	40
Şekil 18. İdrar kreatinin düzeylerinin gruplara göre dağılımı	41
Şekil 19. İdrar sodyum düzeylerinin gruplara göre dağılımı.....	41
Şekil 20. İdrar NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı	42

Şekil 21. Kreatin klirensi düzeylerinin gruplara göre dağılımı	43
Şekil 22. FeNa düzeylerinin gruplara göre dağılımı	43
Şekil 23. Böbrek hasarı derecelerinin gruplara göre dağılımı	46
Şekil 24. % kast değerlerinin gruplara göre dağılımı	47
Şekil 25. K grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)].....	48
Şekil 26. K+LK grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]	48
Şekil 27. MABH grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)].....	49
Şekil 28. MABH+LK grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)].....	49
Şekil 29. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi ile belirlenen böbrek iNOS aktivite skorlarının gruplara göre dağılımı	53
Şekil 30. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi ile belirlenen böbrek eNOS aktivite skorlarının gruplara göre dağılımı	54
Şekil 31. K grubunun böbrek kesiti [iNOSx200].....	55
Şekil 32. K+LK grubunun böbrek kesiti [iNOSx200]	55
Şekil 33. MABH grubunun böbrek kesiti [iNOSx200].....	56
Şekil 34. MABH+LK grubunun böbrek kesiti [iNOSx200]	56
Şekil 35. K grubunun böbrek kesiti [eNOSx200]	57
Şekil 36. K+LK grubunun böbrek kesiti [eNOSx200].....	57
Şekil 37. MABH grubunun böbrek kesiti [eNOSx200]	58
Şekil 38. MABH+LK grubunun böbrek kesiti [eNOSx200].....	58

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. ABH için risk faktörleri.....	4
Tablo 2. K grubunun biyokimyasal verileri.....	28
Tablo 3. K+LK grubunun biyokimyasal verileri	29
Tablo 4. MABH grubunun biyokimyasal verileri.....	30
Tablo 5. MABH+LK grubunun biyokimyasal verileri	31
Tablo 6. Çalışma gruplarının değişkenlerine ait ortalamaları.....	32
Tablo 7. Çalışma gruplarının böbrek hasarı derecesi verileri	45
Tablo 8. Çalışma gruplarının % kast değerleri verileri.....	45
Tablo 9. Grupların iNOS immünohistokimyasal boyanma skorları.	51
Tablo 10. Grupların eNOS immünohistokimyasal boyanma skorları	52

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Çanakkale'nin Ezine ilçesinde doğdum. Lise eğitimimi 2007 yılında Çanakkale İbrahim Bodur Lisesi'nde tamamladım. Lisans eğitimimi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu Ebelik Bölümü'nde 2011 yılında tamamladım. 2011 yılında Uzunköprü Toplum Sağlığı Merkezi Hasanpınar Köyü Sağlık Evinde Ebe olarak çalışmaya başladım. Aynı görevde çalışmaya devam etmekteyim.

2012-2013 Eğitim-Öğretim Yılı Bahar yarıyılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimime başladım.

Yayınlar

Poster: Dinç A, Tek Aydın S, Yıldırım Aydaş F, Maden Ş, Bülbül H, Uzun S. Çanakkale Devlet Hastanesi Jinekoloji Polikliniğine Başvuran Kadınlarda Üriner İnkontinans Yaşama Durumu ve Risk Faktörlerinin Varlığı. II. Ulusal Ebelik Öğrenci Kongresi, Aydın 27-29 Nisan 2011.

Poster: Uzun S, Aydoğdu N, Taştekin E. Deneysel Miyoglobürik Akut Böbrek Hasarında Likopenin Etkileri. TFBD 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Çanakkale 9-13 Eylül 2015

EKLER

EK-1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

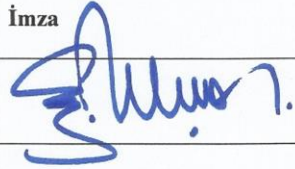
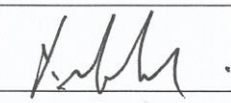


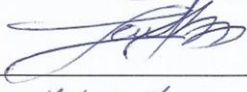
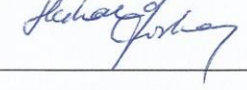
EDİRNE

Oturum Sayısı: 09

Karar Tarihi: 27.12.2013


KARAR NO: 2013.09.04

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'nun yaptığı, Semiha UZUN'un Yüksek Lisans tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2013/66 protokol nolu "Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Hasarında Likopenin Etkileri" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet. Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Tevfik AKTOZ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	

EK-2

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI
ORJİNALLİK RAPORU

Öğrencinin Adı Soyadı: Semiha UZUN										
Numarası: 1128308151										
Anabilim Dalı: Fizyoloji										
Programı: <input checked="" type="radio"/> Yüksek Lisans <input type="radio"/> Doktora										
Tez başlığı/Konusu: DENEYSEL MİMOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARINDA LİKOPENİN ETKİLERİ										
Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne										
<p>Yukarıda açık adı bulunan tezimin "Kapak Sayfası, Giriş ve Amaç, Genel Bilgiler, Bulgular, Tartışma, Sonuçlar, Özet ve Summary" bölümlerinden oluşan toplam ...63... sayfalık kısmına ilişkin ..29../03../2016 Tarihinde tez danışmanım tarafından <i>turnitin</i> adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanmış olan orijinallik raporuna göre tezimin benzerlik oranı % ...17..... olarak belirlenmiştir.</p> <p><u>Uygulanan filtrelemeler:</u></p> <table><tr><td>1-Kabul ve Onay Sayfası hariç</td><td>6-Kaynaklar hariç</td></tr><tr><td>2-Teşekkür hariç</td><td>7-Şekiller Listesi hariç</td></tr><tr><td>3-İçindekiler hariç</td><td>8-Özgeçmiş hariç</td></tr><tr><td>4-Simge ve Kısaltmalar hariç</td><td>9-Ekler hariç</td></tr><tr><td>5-Gereç ve Yöntemler Hariç</td><td></td></tr></table> <p>Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen maksimum benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini, aksinin ispat edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğruluğunu beyan ederim. 30/03/2016</p>	1-Kabul ve Onay Sayfası hariç	6-Kaynaklar hariç	2-Teşekkür hariç	7-Şekiller Listesi hariç	3-İçindekiler hariç	8-Özgeçmiş hariç	4-Simge ve Kısaltmalar hariç	9-Ekler hariç	5-Gereç ve Yöntemler Hariç	
1-Kabul ve Onay Sayfası hariç	6-Kaynaklar hariç									
2-Teşekkür hariç	7-Şekiller Listesi hariç									
3-İçindekiler hariç	8-Özgeçmiş hariç									
4-Simge ve Kısaltmalar hariç	9-Ekler hariç									
5-Gereç ve Yöntemler Hariç										
Öğrencinin Adı Soyadı, İmza Semiha UZUN Semihan										
Ek:Orijinallik Raporu (2 Sayfa)										
UYGUNDUR 30/03/2016 Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU  Danışman Adı Soyadı, İmza										