

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİMDALI**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**SIÇANLARDA DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT
BÖBREK YETMEZLİĞİNDE SARIMSAĞIN ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Elif Ezgi GÜREL

EDİRNE-2008

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİMDALI**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**SIÇANLARDA DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT
BÖBREK YETMEZLİĞİNDE SARIMSAĞIN ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Elif Ezgi GÜREL

Destekleyen Kurum: TÜBAP-818

Tez No:

EDİRNE-2008

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde beni yetiştiren, çalışmam sırasında bilimsel katkıları ile yardımlarını esirgemeyen tez danışman hocam sayın Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Kadir KAYMAK'a, çalışmalarında yardımlarıyla yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA ile Yrd. Doç. Dr. Necdet SÜT'e, Deney Hayvanları Araştırma Birimi çalışanlarına, Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne ve yetişmemde emek veren tüm hocalarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ	3
MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ	4
GEREÇ VE YÖNTEMLER	21
BULGULAR	34
TARTIŞMA	62
SONUÇLAR	70
ÖZET	71
SUMMARY	73
KAYNAKLAR	75
RESİMLEMELER LİSTESİ	83
ÖZGEÇMİŞ	85
EKLER	86

SİMGE VE KISALTMALAR

ABY:	Akut Böbrek Yetmezliği
ATN:	Akut Tübüler Nekroz
ATP:	Adenozin trifosfat
BH₄:	Tetrabiyopterin
CAT:	Katalaz
cGMP:	Siklik Guanozin Monofosfat
DADS:	Diallil disülfit
DAS:	Diallil sülfid
DATS:	Diallil trisülfit
ĐİK:	Disemine İnvasküler Koagülasyon
eNOS:	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
FAD:	Flavin Adenin Dinükleotid
FMN:	Flavin Mononükleotid
GPx:	Glutasyon Peroksidaz
GSH:	Okside Glutasyon
GSSG:	Redükte Glutasyon
GST:	Glutasyon S Transferaz
Hb:	Hemoglobin
H₂O₂:	Hidrojen peroksit
HO:	Hem oksijenaz enzimi
iNOS:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
LDL:	Low Dansity Lipoprotein

mABY:	Miyoglobinin Akut Böbrek Yetmezliği
MDA:	Malondialdehit
NADP:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (Okside)
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (Redükte)
NO:	Nitrik oksit
NOS:	Nitrik Oksit Sentaz
O₂⁻:	Süperoksit Radikali
¹O₂:	Singlet Oksijen
OH[•]:	Hidroksil Radikali
ONOO⁻:	Peroksinitrit Anyonu
RNA:	Ribonükleik Asit
RO[•]:	Alkoksil Radikali
ROO[•]:	Peroksil Radikali
SOD:	Süper Oksit Dismutaz

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek yetmezliği (ABY), böbrek fonksiyonlarında saatler veya birkaç gün içinde bozulma sonucu üre ve kreatinin gibi nitrojen artık ürünlerinin birikmesi olarak tanımlanabilir (1).

Tanım olarak çizgili kas hücrelerinin harabiyeti anlamına gelen rabdomiyoliz sonrasında birçok sistemik sorunla karşılaşılabilir. Bunların en önemlisi ise akut böbrek yetmezliğidir (1). Miyoglobinin akut böbrek yetmezliği (MABY), travmatik ve non-travmatik kas hasarı sonrası gelişir (2). Crush (ezilme) sendromu, travmanın yol açtığı rabdomiyoliz sonucunda ortaya çıkan, medikal/cerrahi pek çok komplikasyona zemin hazırlayan ve travmanın doğrudan etkisinden sonra, depremlerde ikinci sırada ölüme yol açan sistemik bir tablodur (3). Rabdomiyolizin birçok travma dışı nedeni bulunmasının yanında maden göçükleri, trafik kazaları, savaşlar, doğal afetler ve depremler gibi travmatik nedenleri de bulunmaktadır. Travmatik nedenler arasında depremler, ülkemiz için azımsanamayacak düzeyde önemli bir yer tutar (4).

Deneysel MABY oluşturmak için, sıçanlara hipertonic gliserolün intramüsküler enjeksiyonu yaygın olarak kullanılan bir modeldir (4). Bu model insanlarda gelişen MABY'ye özdeş olarak kabul edilmektedir (5). İntramüsküler gliserol enjeksiyonu, miyoliz, hemoliz ve hipovolemiye sebep olur. Miyoliz ve hemoliz sonucu dolaşıma salınan miyoglobin ve hemoglobinin içeriğindeki demir, serbest radikal oluşumuna ve lipid peroksidasyonuna neden olarak MABY patogeneğinde önemli bir rol oynar (6-8).

Sarımsağın hastalıklara karşı önleyici etkisi yüzyıllardır bilinmekte ve son 10-15 yıldır sarımsağın antioksidan özellikleri üzerinde durulmaktadır. Sarımsağın antioksidan etkileriyle ilgili birçok çalışma yapılmış olup çeşitli hastalıklar üzerindeki olumlu etkileri

bildirilmiştir (9). Sarımsak antioksidan etkileri, reaktif oksijen radikellerini temizleme, endojen antioksidan sistemleri arttırma, lipid peroksit oluşumunu ve LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) oksidasyonunu engelleme özelliklerine bağlı olarak oluşturduğu rapor edilmektedir (9).

Sıçanlara intramüsküler (im) hipertonic gliserol verilmesiyle oluşturulan deneysel miyoglobinürik ABY'nin patogeneğinde, nitrik oksit (NO) azalması ve oluşan serbest radikaller önemli rol oynamaktadır (2). Çalışmamızda, sarımsağın NO düzeyleri, oksidatif stres üzerindeki etkileri, böbrek fonksiyonları ve böbrek dokusundaki histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

Böbrek fonksiyonların akut kaybı olarak da nitelendirilen ABY; renal fonksiyonların saatler ve günler içerisinde gerilemesi veya kaybı, böbrek hasarı nedeni ile nitrojenli artıkların atılımının gerçekleşmemesi, vücut sıvı ve elektrolit dengesinin korunamaması gibi belirtilerle birçok organ ve sistemi de etkileyen bir hastalıktır (10-12).

ABY tanımının kantitatif değerlendirmesinde farklı görüşler yer alır ancak genel olarak ABY varlığından söz etmek için şu koşulların varlığının bulunması gerektiği rapor edilmiştir:

- Serum kreatinin değerinde bazal değer üzerinde 0.5 mg/dl artış
- Serum kreatininin %50 artışı
- Kreatin klirensinin %50 azalması
- Renal fonksiyonların diyaliz gerektirecek düzeyde azalmasıdır (13).

ABY oluşum nedenlerini tanı ve tedavi bakımından üç grupta toplayabiliriz:

- 1- Prerenal ABY: Klirensin, böbrek perfüzyonunu bozan faktörlerce sınırlanması sonucu gelişir. Kan üre ve serum kreatininde artış görülür. Geri dönüşümlüdür.
- 2- İntrinsik ABY: Primer intrarenal nedenlere bağlı akut böbrek yetmezliği, intrinsik böbrek yetmezliği ya da prerenal azotemi olarak değerlendirilir. Glomeruler yapı, tübüller, damarlar ya da interstisyumun etkilenmesi sonucu gerçekleşir.
- 3- Postrenal ABY: Üriner traktusun obstrüksiyonuna bağlı gelişen ABY tipidir (3,13).

Akut böbrek yetmezliği ile akut tübüler nekroz (ATN) arasında yanlış kullanımdan doğan bir kavram kargaşası söz konusudur. ATN, genellikle iskemik ve toksik hasarın sonucu olarak karşımıza çıkan patolojik bir tanımdır (14,15)

Sağlık alanındaki tüm gelişmelere rağmen son 50 yılda ne yazık ki diyaliz vakalarının ve ölümlerin önüne geçilememiştir. ABY hastalarının %20 ile %60'ında diyalize ihtiyaç duyulmakta olup, bunların %25'ten azında uzun süreli diyaliz gerekmektedir. ABY nedeniyle ölüm oranı %7 civarında seyrederken, hastanede yatan hastalarda bu oran %80'in üzerine çıkabilmektedir (12). Akut böbrek yetmezliği sıklığının klinik duruma göre farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir. Hastaneye kabul edilen vakalar arasında, kabulde %1 olan ABY oranı, hastaneye yatırılarak izlenen hastalarda %2.5, kardiyopulmoner bypass sonrasında %4-15 olarak rapor edilmiştir (14).

Türk hemodiyaliz, transplantasyon ve nefroloji derneğinin 2006 yılı kayıtlarına göre; 2006 yılında tanı alan ABY'li hasta sayısı 3.486 olup, bu hastaların %53.9'unda diyalize ihtiyaç duyulmuştur. Düzenli hemodiyaliz gören hasta sayısı 2006 yılı sonunda 33.950'dir ve bu hastaların %1.5 'i haftada bir kez; %9.3'ü haftada iki kez; %89.2'si haftada üç kez diyalize ihtiyaç duymaktadır. Diyaliz hastalarından sadece %34'ü tam gün çalışabilmekte ve fiziki aktivitelerini normal olarak sürdürebilmekte iken, %39.4'ü yarım gün çalışabilmekte ve sınırlı fiziki aktivitede bulunabilmekte, %18.6'sı ancak kendi ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde sedanter bir yaşam sürmekte, %8'i ise yardım almadan günlük yaşamını sürdürememektedir. Halen toplam diyaliz hasta sayısı 40.000'i aşmış olup bunun sağlık bütçesine yılda 1 milyar amerikan doları maliyeti vardır. Diyalize giren hasta sayısının 10 yıl sonra 100.000, tedavi giderinin de 2-2.5 milyar amerikan doları olacağı tahmin edilmektedir. Bu veriler ışığında, hastaların düşen yaşam standardının yanısıra, organ transplantasyonun da sınırlı sayılarda gerçekleştirilebilmesi ve hem transplantasyon hem de diyaliz tedavi maliyetlerinin yüksek olması gerçeği, bu hastalığın gelişmeden önlenmesini gerekli kılmaktadır (16).

MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

Miyoglobinin akut böbrek yetmezliği, travmatik ya da travma dışı nedenlerle iskelet kaslarının hasarı ve kas hücre içeriğinin dolaşıma geçmesi sonucu gelişen üremik bir sendromdur (3). "Crush", sözcük anlamı olarak ezme, ezilme, sıkışma, baskıya maruz kalma anlamlarına gelir. Crush hasarı yalnızca travmayı anlattığı halde, crush sendromu terimi bu travmanın yol açtığı rabdomiyoliz ve buna bağlı olarak gelişen cerrahi/medikal belirti ve

bulguları içeren komplike tablodur. Geniş vücut travmalarına yol açan olaylar bu sendromun oluşumuna sebep olurlar (2,3,17-19).

Travmatik kas yıkımı ilk defa Messina depremi sonrasında Alman Von Colmers tarafından tanımlanmıştır. Frankenthal, ilk kez 1916 yılında, savaş yaralanmaları sonucu gelişen travmatik rabdomiyoliz ile ABY ilişkisini rapor etmiştir. 1923 yılında Minami, travmatik nedenlerle ortaya çıkan kas hasarı dahil olmak üzere diğer kas hasarlarının da böbrek yetmezliği oluşumuna neden olabileceğini belirtmiştir (13). Crush sendromu ilk defa Londra'nın bombalanması sırasında Bywaters ve Beall tarafından travmaya maruz kalmış geniş kapsamlı kas hasarı bulunan hastalarda tanımlanmıştır (13,20,21).

Crush sendromunda pek çok cerrahi ve/veya medikal belirti ve bulgu sözkonusudur. Kas gruplarının baskı altında kalması sonucunda, kas hücrelerinin membranının geçirgenliği artar, böylece elektrokimyasal gradyanlara göre sodyum, klorür, su ve kalsiyum hücre içine; potasyum, pürinler, laktik asit ve diğer organik asitler, miyogloblin, tromboplastin, kreatin fosfokinaz ve kreatinin ise hücre dışına geçer. Tüm bu değişimler hipovolemik şok, hiperpotasemi, asidoz, kalp yetmezliği, solunum yetmezliği, infeksiyonlar ve ABY gelişimine neden olur (3,22). Tüm bu sistemik bulguların oluşumunun nedeni, travma sonucu hasar görmüş olan kaslardan dolaşıma geçen intraselüler maddelerdir (3).

Rabdomiyolizin tam anlamı, çizgili kasın erimesi, dağılması ya da parçalanması olup, potansiyel olarak ölümcül, klinik ve biyokimyasal bir sendromdur. Kasların kompresyonu ile miyositlerde hasar oluşumu ve hücre içindeki yapıların sistemik dolaşıma salınımı ile karakterizedir (23). Amerika Birleşik Devletlerinde her yıl yaklaşık 26.000 rabdomiyoliz vakası rapor edilmektedir. Rabdomiyolizin başlangıçta klinik özelliklerinin tanımı yetersiz olabilmekle birlikte yaygın olarak, ciddi komplikasyonlar gözlenir. Bu komplikasyonlar arasında dissemine intravasküler koagülasyon (DİK), hiperkalemi ve diğer metabolik düzensizlikler, akut kardiyomiopati ve ABY sayılabilir (3,17).

Rabdomiyoliz, kasın enerji üretimi ile tüketimi arasında bir dengesizlik sonucu ortaya çıkar. Enerji üretiminde yer alan maddelerin kasa yeterli oranda ulaşamaması, hücresel enerji üretimindeki bozukluklar ile hücre içine kalsiyum göçü rabdomiyolize zemin yaratır (3). Aşırı kalsiyum, aktin ve miyozin filamentleri arasında patolojik etkileşime neden olarak, liflerde nekroza ve kasın yıkımına neden olur. Kas hasarıyla birlikte, büyük miktarlarda potasyum, fosfat, miyogloblin, kreatin kinaz ve ürat da dolaşıma sızar (24).

Rabdomiyoliz farklı nedenlere bağlı olarak ve çok farklı alanlarda ortaya çıkabilmektedir. Buna bağlı olarak da (endojen-eksojen, herediter-edinsel gibi) çok farklı sınıflamaları yapılmıştır. Rabdomiyolizin nedene bağlı olarak sınıflandırılmasında ise

travmatik ve travma dışı nedenler olarak iki grup mevcuttur (3,20,25). Rabdomiyoliz nedenlerinin rastlanma oranları ülkeler arasında farklılık gösterir. Gelişmiş ülkelerde ilaç suistimalleri daha yaygın olarak rapor edilirken, gelişmekte olan ülkelerde travmatik nedenlere daha sık rastlanmaktadır. Pratikte en çok karşılaşılan nedenler travma dışıdır. Ancak savaşlar, doğal afetler ve kazalar göz önüne alındığında travmatik nedenlere daha sık rastlanmaktadır (3).

Crush sendromu özellikle savaş bölgelerinde, maden göçüklerinde, endüstriyel kazalarda, trafik kazalarında ve depremlerde görülür (23). Depremler neticesinde meydana gelen yaralanmaların yaklaşık olarak %2-5'inde Crush sendromu gelişmektedir (13).

Ülkemizde 17 ağustos 1999 yılında gerçekleşen Richter ölçeğine göre 7.4 şiddetinde olan ve 45 saniye süren Marmara depreminde, resmi raporlara göre 17.480 kişi hayatını kaybetmiş, 43.953 kişi yaralanmıştır. Bu deprem sonucunda 639 hastada Crush sendromuna bağlı akut renal problemler gelişmiş, bu olguların 477'sinde diyaliz tedavisine başvurulmuştur. Literatürde, Marmara depremine kadar en fazla crush olgusu, 1995 yılında Japonya'da gerçekleşen Kobe depreminde rapor edilmiş olup bu felakette 202 hastada ABY gelişimi görülmüş ve bu hastaların 123'ünde diyaliz tedavisine ihtiyaç duyulmuştur (4). Bu durum da göstermektedir ki Marmara depremi, şu ana kadar dünyadaki bu tür felaketler arasında ilk sırada yer almaktadır (3).

Ülkemiz bazında kısa bir süre öncesi için en fazla sayıda ezilme sendromuna yol açan olay olan depremlerde ölümlerin en sık nedeni travmanın doğrudan etkisi olmakla beraber, ikinci sırayı crush sendromu ve yol açtığı komplikasyonlar alır. Ülkemiz ne yazık ki bir deprem kuşağında yer almakta ve yakın bir gelecekte öncelikle İstanbul'da buna ek olarak da birçok kentimizde afetler beklenmektedir . Marmara denizinde, İstanbul yakınlarında yıkıcı bir deprem gerçekleşmesi ihtimalinin önümüzdeki 10 yıl içinde %32, 30 yıl içinde %62 olduğu rapor edilmiştir (3). Dolayısıyla bu felaketlerin sonrasında can kaybını azaltmanın yolu, crush sendromunu, tedavisini ve korunma yollarını bilmektir.

Fizyopatoloji

Sağlıklı bir insanda kaslar vücudun en büyük organıdır ve vücut ağırlığının yaklaşık %40'ını oluştururlar. Ortalama vücut yapısında bir yetişkinde yaklaşık 30 kg kadar kas bulunur (21,26). Vücuttaki tüm potasyumun yaklaşık olarak %75'i, Na⁺-K⁺-ATPaz pompalarının çoğu ve toplam vücut sıvısının önemli bir kısmı kasların içinde yer alır.

Sarkoplazma bol miktarda potasyum, magnezyum, fosfat, proteolitik enzimler ile ATP sağlayarak kontraksiyonda kasa enerji sağlayan mitokondrileri içerir (3).

Miyoglobin molekülü, hemoglobin ile beraber demirce zengin proteinler grubunun birer üyesi olduklarından kısaca “hem proteinleri” olarak isimlendirilirler. Miyoglobinin ağırlığı 17.800 dalton olup proteinlere zayıf bağlanabilme özelliğindedir. Miyoglobin, iskelet kasının kuru ağırlığının %1-3’ünü oluştururken, yaş ağırlığının ise her gramında 4 mg kadar bulunur. Miyoglobin molekülünün kastaki görevi oksijeni taşımak ve artmış kas metabolizması için oksijen depolamaktır. Miyoglobinin yaklaşık %50’si ile %85’i plazma globulinlerine (haptoglobulin ve α -2 globulin) zayıf olarak bağlanır ve idrara çok az bir bölümü geçer. Miyoglobinin için renal eşik değeri 1.5 mg/dl’dir. Serum miyoglobininin bu eşik değeri aşabilmesi için 100 gr kasın hasara uğraması gereklidir. Miyoglobinin yarılanma ömrü yaklaşık 3 saat olup, 6 saat içinde plazmadan kaybolarak bilirubine dönüşür. Böbrek yetmezliğinde miyoglobinin yarı ömrü uzar (3).

Crush sendromunda ortaya çıkan ABY’nin büyük çoğunluğu ATN’ye bağlıdır. Miyoglobinin akut böbrek yetmezliği için 3 patolojik mekanizma söz konusudur: a) Direkt hem proteinlerinin oluşturduğu oksidatif stres , b) Tübüler obstrüksiyon ile intraluminal kast oluşumu , c) Renal vazokonstriksiyondur (27-30).

a. Direkt hem proteinlerince oluşturulan oksidatif stres: Miyoglobin rabdomiyoliz ile meydana gelen akut böbrek yetmezliğinde, lipid peroksidasyonu ve tübüler obstrüksiyonda önemli rol oynadığı bildirilmiştir (31). Miyoglobinin kendisi toksik bir etkiye sahip değildir ancak, idrar pH’sının 5.5’in altına düşmesinin ardından toksik olan miyoglobin ferrihemata dönüşür. Miyoglobin ferrihemat ile birlikte gelişen dehidratasyon ve asideminin bu toksisiteyi arttırdığı bildirilmiştir. Miyoglobin ile birlikte kaslardan salınan diğer toksik maddelerin de tübülüste nekroz yapabileceği öne sürülmüştür (3). Miyoglobinin kendisinin ve/veya metabolitlerinin nefronal düzeydeki toksisitesi farklı mekanizmalar sonucu ortaya çıkar:

- Hem proteinin tübülüs hücrelerine geri emilmesi bu hücreleri iskemiye daha duyarlı hale getirir, zararlı sitokinlerin ve serbest radikallerin oluşumunu uyarır, bu olaylar da ATN’ye zemin hazırlar.
- Miyoglobinin içerdiği demir iyonu ABY patogenezinde katkıda bulunabilir. Glomerüller filtrata geçen miyoglobin proksimal tübülüsten geri emilir. Bu maddenin içerdiği porfirin halkası tübülüs hücresi içinde metabolize olur ve serbest demir iyonu açığa çıkar. Normalde serbest demir hızla depo demiri olan ferritin haline çevrilir. Rabdomiyoliz sırasında ise, proksimal tübülüsa ferritine çevrilebilme kapasitesinden daha fazla miktarda demir gelir;

böylece tübülüs içinde serbest demir düzeyi artar. Demir, elektronları kolayca kabul eden veya bırakan bir metaldir. Bu özelliği sayesinde oksijen içeren ve içermeyen serbest radikalleri oluşturabilir. Sonuçta ortaya çıkan oksidan stres böbrek hücresinde hasara yol açar. Demir iyonu ayrıca ATP depolarını tüketerek enerji krizine de sebep olabilir; böylece tübüler nekroza zemin hazırlar (3).

b. Tübüler obstrüksiyon: Miyogloblin tıkaçlarının yol açtığı tübülüs obstrüksiyon da rabdomiyolize bağlı ABY'nin patogeneze katkıda bulunur. Obstrüksiyon öncelikle nekroza uğramış epitel hücrelerinin lümenine düşmesine bağlıdır. Ayrıca dehidrate hastalarda idrar dansitesinin yüksek olması miyogloblinin konsantrasyonunu artırır. İdrarın asit olması miyogloblin ile Tamm-Horsfall proteinleri arasındaki interaksyonu uyarır ve silindir oluşması ile tübüler obstrüksiyon ortaya çıkar. Miyogloblinin sulu solüsyonlarda çökmesi ve silindir oluşturması ancak ortamda Tamm- Horsfall proteinleri varsa mümkün olur. Hiperürisemi de ürik asit tıkaçları vasıtasıyla intranefronal obstrüksiyona katkıda bulunur (3).

c. Renal vazokonstriksiyon: Rabdomiyolizin kendisi birçok inflamatuvar mediyatörü aktive eder; ayrıca hipovolemi tarafından uyarılan değişik hormonlar renal vazokonstriksiyona ve mezengiyal kontraksiyona yol açarak filtrasyon olayını bozar. Nitrik oksit çok etkin bir vazodilatatör maddedir; bir NO çöpçüsü (scavenger) olan miyogloblinin NO'yu tüketmesi de böbrek vazokonstriksiyonuna katkıda bulunur (3).

Nitrik Oksit

Nitrik oksit, çeşitli formlardaki nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri tarafından, L-argininin terminal guanidin grubunun NO'ya çevrilmesiyle üretilir. Bu işlemlerin gerçekleşebilmeleri için ise, oluşum sırasında moleküler oksijen ile, kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN), kalmodulin ve tetrahidrobiopterin (BH₄⁺)'e ihtiyaç duyulmaktadır. Üretilen ve işlevini tamamlayan NO; hemoglobin ve miyogloblin, metilen mavisi ve süperoksit anyonu tarafından nötr hale getirilip, yaklaşık 10 sn içerisinde de nitrat ya da nitrit haline dönüşür (32).

Nitrik oksit sentezinde anahtar rol oynayan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri, kinetik ve fizikokimyasal özelliklerine göre 2 gruptur:

- Constitutive (yapısal) NOS

- Inducible (indüklenebilir) NOS

Nitrik oksit sentazları sentezleyen 3 gen bulunur ve her gen bir NOS izoformunu sentezlemekten sorumludur. Yapısal NOS enzimleri hücre içinde lokalizedirler ve aktif hale gelmek için Ca^{2+} 'a ihtiyaç duyarlar. Bu özellikte, kromozom 12 tarafından kodlanan nöronal NOS (NOS₁- nNOS) ve kromozom 16 tarafından kodlanan endotelial NOS (NOS₃- eNOS) olmak üzere 2 adet NOS enzimi vardır. Nöronlardan ve endotelial hücrelerden izole edilebilen yapısal NOS'ların sentez süreleri kısa ve ürettikleri NO miktarı da çok azdır. Bunun nedeni, Ca^{+2} konsantrasyonu azalmaya başladığı anda enzimin inaktif hale geçmesidir. İndüklenebilir NOS (NOS₂- iNOS) enzimi ise, nNOS ve eNOS'un aksine hücre içinde bulunmaz ve aktivasyon için Ca^{+2} 'a ihtiyaç göstermez. Kromozom 7 tarafından kodlanan NOS₂ endotoksin ve/veya farklı sitokinlere cevap olarak makrofajlar ve diğer ilgili hücrelerce salgılanır ve bu uyarılma (indüklenebilme) yeteneği neticesinde de iNOS olarak anılır. İmmün sistem ile ilişkisi göz önüne alınarak immünolojik NOS da denir. İnterferon gama ve bakteri polisakkaritleri tarafından uyarılan iNOS'un etkisinin 2 saatte başlayıp 24 saat devam ettiği bildirilmiştir (33,34). Rapor edilen bir diğer NOS enzimi ise mitokondrial NOS (mNOS)'tur. mNOS'un nNOS'un spesifik post translasyonel modifikasyonu ile oluştuğu düşünülmektedir (35).

Nitrik oksit, guanilat siklazın hem molekülüne bağlanarak hücrede cGMP artışına neden olur. cGMP de hücre içerisindeki Ca^{2+} 'yı sarkoplazmik retikuluma ve hücre dışına geri pompalar. Ayrıca hücre içi Ca^{2+} miktarındaki azalma, K^+ kanallarının da açılmasına neden olur ve hiperpolarizasyonun da yardımıyla damar dilatasyonu meydana getirir. NO'nun hedef olarak etkilediği yapılar; hem molekülü, Fe-S bileşikleri, tiol grupları ve süper oksit radikalleridir. NO ayrıca siklooksijenaz aktivitesini de uyarır. Balık yağı, E vitamini ve SOD'un, NO'nun ortamda kalış süresini uzatarak vazodilatasyon yaptığı gösterilmiştir (32).

Nitrik oksidin böbreklerdeki rolü: Nitrik oksit, böbreklerde birçok önemli fizyolojik role sahiptir. Bunlar; renal ve glomerüler hemodinamiğin düzenlenmesi, basınç natriürezine aracılık etmek, medullar perfüzyonun korunması, tübüloglomerüler geribildirim kontrolü, tübüler Na^+ reabsorpsiyonunun inhibisyonu ve renal sempatik sinir aktivitesinin düzenlenmesidir. Böbreklerdeki NO'nun net etkileri ise natriürez ve diürez sağlamaktır. NO, günlük tuz alımındaki değişikliklere karşı adaptasyonda önemli bir role sahiptir. Diyet ile fazla tuz alındığında NO düzeyinin azaldığı ve bunun hipertansiyon patogenezinde rol oynadığı bildirilmektedir (36).

Nitrik oksidin renal solüt transportuna etkileri: Nitrik oksit, böbrek kan dolaşımı, afferent ve efferent sinir aktivitesi, elektrolit ve sıvı reabsorpsiyonunda direkt tübüleri etkileyerek, solüt ve sıvı taşınmasında önemli bir rol oynar. Proksimal tübülde, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPaz}$ aktivitesinin $\text{Na}^+\text{-H}^+$ antiportu üzerine inhibitör etkisi olmasına karşın, HCO_3^- ve sıvı akımını stimüle ettiği rapor edilmiştir. Bu etkide nNOS ve iNOS kaynaklı NO etkili olmasına rağmen, eNOS kaynaklı NO'nun düzenlenmede proksimal tübül üzerine etkisinin olmadığı bildirilmektedir. Henle kıvrımının çıkan kalın kolunda, NO'nun, $\text{Na}^+\text{-H}^+$ değişimi ve $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}$ kotransportu üzerindeki direkt inhibitör etkisiyle, Cl^- ve HCO_3^- emilimini inhibe ettiği, buna karşın bu segmentte, NO'nun apikal K^+ kanal aktivitesini uyardığı bildirilmiştir. Toplayıcı kanallarda NO; Na^+ emilimini ve vazopressini uyararak oluşturduğu suya karşı geçirgenliği engeller. Ayrıca NO'nun toplayıcı kanallardaki ara hücrelerde bulunan $\text{H}^+\text{-ATPaz}$ ı da inhibe ettiği ve toplayıcı kanalların bazolateral membranındaki K^+ kanal aktivitesi üzerinde, angiotensin II'nin uyarıcı etkisine aracılık ettiği gösterilmiştir (33,37).

Nitrik oksidin böbrekteki mikrovasküler etkileri: Nitrik oksit böbrek ve glomerüler hemodinamiğin önemli bir düzenleyicisidir. Böbrekteki NO, böbreğin normal kan akımının 1/3'ünün gerçekleşmesinden sorumludur ve normal koşullarda, böbrekte düşük vasküler direncin devam etmesine yardım eder. NOS inhibisyonu glomerülüsün temel iç düzenleyici mekanizmasını engellememesine rağmen, toplam kan akımını azaltır. Hayvan modellerinde NOS inhibisyonunun böbrek mikrovasküler sistem üzerindeki etkileriyle ilgili çalışmalar, afferent ve efferent arteriyollerin dirençlerinde NO'nun önemli rolü olduğunu göstermiştir (33).

Nitrik oksit tübüler geri emilim fonksiyonunun bir düzenleyicisi olduğu gibi, böbrekteki arteriyel basıncın oluşturduğu natriüretik tepkinin majör bir düzenleyicisi olarak da işlem görür, böbrek medulla perfüzyonunun düzenlenmesinde de anahtar rol oynar. Deney hayvanlarında, iNOS inhibitörlerinin böbreklere lokal olarak verilmesinin, medullar kan akımını azalttığı, tuz tutulumunu arttırdığı ve hipertansiyona sebep olduğu bildirilmiştir. Buna karşın, L-arginin verilmesinin ise NO düzeyini arttırıp, medullar kan akımını yükselttiği ve bu modellerde, hipertansiyonu engellediği rapor edilmiştir. Yüksek tuz alımının böbrek medullasında, NOS aktivitesini ve buna bağlı NO konsantrasyonu artışıyla sonuçlandığı, buna karşın Dahl tuza duyarlı sıçanlarda renal medullada NOS aktivitesinin azaldığı bulunmuştur. Bu yüzden NO, tuz alımındaki farklılıklarda medulladan Na^+ atılımını düzenleyerek arteriyel kan basıncının dengelenmesine yardım eder (38,39).

SERBEST RADİKALLER

Bir ya da daha fazla ortaklanmamış elektrona sahip reaktif durumda bulunan atom ya da moleküllere serbest radikaller adı verilir. Serbest radikal oluşumunda 3 mekanizma söz konusudur:

- 1- Kovalent bağlı nötr haldeki bir molekülün homolitik bölünmesiyle ortak kullanılan elektronlarından her birinin bir parçada kalması sonucu
- 2- Normal haldeki bir molekülden bir elektronun kaybı ile
- 3- Normal haldeki bir moleküle bir elektronun eklenmesi sonucu oluşur (40).

Biyolojik sistemlerdeki serbest radikal oluşumlarında en sık rastlanan yöntem elektron transferi olup, en önemli serbest radikaller ise oksijenden oluşanlardır (40). En önemli reaktif oksijen kaynakları, mitokondrial elektron transportu, proksimal yağ asidi mekanizması, sitokrom P₄₅₀ reaksiyonları ve solunumsal patlama olarak sayılabilir (41). Serbest radikaller elektriksel olarak; negatif, pozitif ya da nötr haldeki organik ya da inorganik moleküller olabilirler (42).

Serbest oksijen radikali biyokimyasında en önemli rolleri oynayan maddeler, oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları, ve hidroksil radikalidir. Oksijenin elektron dağılımında eşleşmemiş 2 elektronu olması onun diradikal olarak adlandırılmasına neden olur ve diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar (40,42).

Reaktif Oksijen Türleri

Süperoksit radikali: Aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu serbest süperoksit radikal anyonu (O_2^-) oluşur (43). Süperoksit radikali, hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metallerinin iyonlarının indirgeyicisi olarak zararlı olmasının yanısıra, fizyolojik bir serbest radikal olan NO ile birleşerek reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitriti meydana getirir ve NO'nun normal etkilerini inhibe eder (44). Peroksinitritlerin, doğrudan proteinlere zarar vermelerinin yanısıra, azot dioksit, hidroksil radikali ve nitronyum iyonu gibi farklı toksik ürünlere dönüşerek de zararlı olmaları söz konusudur. Süperoksit radikali, düşük pH düzeylerinde daha reaktiftir ve perhidroksi radikalini oluşturmak için protonlanır. Bu anyon, redüktan ve oksidan özelliklere sahiptir. Redüktan olduğunda oksijene okside olur, oksidan olduğunda ise hidrojen perokside indirgenir. Süperoksit ve perhidroksil radikalleri birlikte reaksiyona girdiklerinde ise, biri okside olur, diğeri indirgenir ve bu

reaksiyon sonucu oksijen ve hidrojen peroksit oluşur. Süperoksit, hem hidrojen peroksit kaynağı hem de geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir (40,45).

Hidrojen peroksit: Süperoksidin bir ya da moleküler oksijenin iki elektron almasıyla oluşan peroksit iki hidrojen atomu eklenmesiyle hidrojen peroksit meydana gelir. Biyolojik sistemlerdeki hidrojen peroksit ise asıl olarak, iki süperoksit molekülünün iki proton almasıyla, moleküler oksijenle beraber oluşur. H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır. Hidrojen peroksidin kendisi bir serbest radikal değildir ancak süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere yıkılabilme yeteneğindedir. Bu reaksiyona “Haber – Weiss reaksiyonu” denir. Bu reaksiyon katalizörlü ya da katalizörsüz ilerleyebilmektedir, ancak katalizörsüz oldukça yavaş meydana gelen reaksiyon, demir ile katalizlendiği takdirde son derece hızlı gelişir. Bu reaksiyonun gelişiminde öncelikle ferri demir (Fe^{3+}), süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{2+}) indirgenir. Ardından da Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten $\cdot OH$ ve OH^- üretilir (40,46-48).

Başta demir ve bakır olmak üzere geçiş metalleri, fizyolojik koşullarda oksidasyon basamaklarında yer alırlar ve bu oksidasyon basamakları arasındaki elektron alışverişi redoks reaksiyonları ile gerçekleşir. Geçiş metalleri bu özellikleri sayesinde bu tür reaksiyonlarda katalizör olarak görev yaparlar. Bu tip maddelere “oksidan stressor” denir (40,49). Hidrojen peroksidin enzimatik mekanizmalarla hücrel detoksifikasyonunda, katalaz ve glutatyon peroksidazın önemli rol oynadıkları rapor edilmiştir (50).

Hidroksil radikali: Son derece reaktif bir oksidan olan hidroksil radikali ($\cdot OH$), hidrojen peroksitten Fenton reaksiyonuyla ya da suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda meydana gelir. Hidroksil radikalinin yarılanma ömrü çok kısa olup, oluştuğu yerde çok büyük zararlar verir. Tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden kopardığı protonla farklı yeni radikallerin oluşumuna katkıda bulunur (40,46,51).

Singlet oksijen: Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana gelebilen ve serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da neden olabilen singlet oksijen (1O_2), ortaklanmamış elektronu bulunmadığından radikal olarak kabul edilemeyen reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin elektronlarından birinin enerji ile kendi spinine zıt yönde başka bir orbitale geçmesi sonucunda meydana gelir. Delta ve sigma olmak üzere 2 tipi mevcuttur.

Serbest oksijen radikallerinin katkısı ile karbon merkezli radikaller ($R\cdot$), peroksil radikalleri ($ROO\cdot$), alkoksil radikalleri ($RO\cdot$), tiyl radikalleri ($RS\cdot$) gibi farklı serbest radikaller de meydana gelebilmektedir (40).

Serbest Radikallerin Etkileri

Normal koşullarda sağlıklı bir insanda vücuttaki savunma mekanizmaları ile serbest radikal düzeyleri dengededir. Ancak serbest radikaller organizmanın savunma mekanizmalarının karşılayamayacağı oranda oluştuğları takdirde, vücutta çeşitli bozukluklara yol açarlar. Birçok biyomolekül grubu bu durumdan olumsuz etkilenir. Serbest radikaller, hücrelerin protein, lipid, nükleik asit, hücresel organel, karbonhidrat, enzim gibi yaşamsal komponentlerini olumsuz yönde etkilerler. Mitokondrilerde aerobik solunumu bozarlar, kapiller permeabiliteye zarar verirler, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu arttırmaları, bazı litik enzim gruplarını aktive ederlerken, bazı savunma sistemlerini inaktive ederler (40).

Membran lipidlerine etkileri: Serbest radikal hasarından en çok etkilenen grup lipidlerdir. Membran yapılarında bulunan kolesterol ve yağ asitleri içeriğindeki doymamış bağların, serbest radikallerle reaksiyona girmesiyle peroksidasyon ürünleri meydana gelir. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımına lipid peroksidasyonu denir. Spontan zincir reaksiyonu şeklinde ilerleyen lipid peroksidasyonu ile ilerleyen membran hasarları, geri dönüşümsüzdür. Bu nedenle de organizma büyük zarar görür (40).

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin etkisiyle membranlarda bulunan poliansatüre yağ asidi zincirinden koparılan hidrojen atomu sonucunda, yağ asidi zincirinin lipid radikali karakteri kazanması ile başlar. Dayanıksız bir kompleks olan lipid radikalinde molekül çift bağlarının yer değiştirmesi sonucu önce dien konjugatları meydana gelir. Ardından da lipid radikali moleküler oksijenle etkileşerek lipid peroksil radikali oluşur. Bu radikaller bir yandan membrandaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkilerler ve yeni lipid radikallerinin oluşmasını sağlarlar; diğer yandan ise kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerini oluştururlar. Lipid peroksidasyonu toplayıcı reaksiyonlarla sonlanır veya otokatalitik reaksiyonlarla sürer (42).

Lipidlerden araşidonik asit metabolizmasıyla serbest radikal üretimine “enzimatik lipid peroksidasyonu”, diğer radikaller yoluyla oluşan lipid peroksidasyonuna ise “non-enzimatik lipid peroksidasyonu” denir (40).

Lipid peroksidasyonuyla oluşan lipid hidroperoksitlerinin yıkımı, geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Lipid hidroperoksitleri yıkıldığında ise, aldehitler meydana gelir. Aldehitler, hücrede metabolize edilebilirler ya da hücrenin diğer bölümlerine diffüze olarak hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbütirik asitle ölçülebilen malondialdehit (MDA) oluşur. Malondialdehit, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu durum da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi, hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerinde değişimlerle sonuçlanır. Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun derecesiyle korelatif olduğundan lipid peroksit seviyesinin ölçümünde kullanılır (40).

Lipid peroksidasyonu, direkt membran yapısına zarar verirken, indirekt olarak ürettiği reaktif aldehitlerle diğer hücre komponentlerini hasarlar. Bu sayede birçok hastalığa ve dokularda hasara sebep olur (42). Hidrofobik durumdaki lipid radikalleri nedeniyle çoğu reaksiyon özellikle membran komponentlerinde meydana gelir. Reaksiyonlar sonucu membran permeabilitesi ve mikroviskositesi zarar görür (40,42).

Proteinlere etkileri: Proteinler, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha dayanıklıdır ve etkilenme dereceleri aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Zincirleme reaksiyonlarla hasara yol açan tepkimeler proteinlerde daha yavaş ilerler. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksektir. Bu nedenle de triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler kolay etkilenebilen grupta yer alırlar. Bu tür proteinlerle etkileşimlerde sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşurlar. Bu reaksiyonlar sonucunda fazla disülfid bağı içeren protein yapılarında bozulmalar ve proteinlerin işlevlerinde sorunlar gözlenir. Sitoplazmik proteinler ve membran proteinleri, okside edici ajanlara (ozon ya da protoporfirin IX gibi) maruz kaldıkları takdirde çapraz bağlanarak dimerleşirler ya da daha büyük agregatlar oluştururlar. Prolin ve lizin aminoasitleri, süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali reaksiyonları sonucunda non enzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler.

Proteinler üzerindeki serbest radikal hasarı birikimi veya bazı proteinlerin belli bölgelerinde yoğunlaşmış çeşitli hasarlar hücrenin canlılığını olumsuz yönde etkiler. Hem proteinleri de serbest radikallerin yarattıkları olumsuz etkilerden hasar görürler. Oksihemoglobinin, O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobini oluşturur (40).

Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri: İyonize radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA (deoksiribonükleik asit) yapısını etkileyerek ona ciddi hasarlar verirler. Sitotoksiste genellikle nükleik asitlerin bazlarında oluşan modifikasyonlarından kaynaklı kromozom değişiklikleriyle DNA yapısında meydana gelebilen diğer bozukluklara bağlıdır. Oluşan hasarlar sonucunda hücrede mutasyon ve ölüm meydana gelebilir.

DNA, serbest radikallerden kolayca hasar görebilir bir konumdur. Hidroksil radikali DNA'nın önemli bir komponenti olan deoksiriboz ve bazlarıyla zorlanmadan reaksiyona girer ve değişimler geçirir. Hidrojen peroksit, aktive haldeki nötrofillerden kaynaklıdır ve membranlardan kolayca geçebilen tehlikeli bir radikaldir. Bu özelliği ile nukleusa da ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hücrenin ölümüne yol açabilir (40,41).

Karbonhidratlara etkileri: Serbest radikallerin karbohidratlar üzerine önemli etkileri bulunmaktadır. Hidrojen peroksit diğer peroksitler ile; oksaloaldehytler ise monosakkaritlerin otooksidasyonu ile oluşurlar. Oluşan serbest radikaller, zararlı etkileri ile birçok hastalık oluşumuna katkıda bulunurlar. Bunlardan oksaloaldehytler, DNA, RNA (ribonükleik asit) ve proteinlere bağlanır ve çapraz bağlar oluşturarak antimitotik etki gösterirler. Bu sayede kanser ve yaşlanma gibi olaylarda rol oynarlar. Poliansatüre yağ asitleri ve karbonhidrat oksidasyonu ürünü olan glyoxal ise hücre bölünmesini inhibe ederek zararlı olur.

Diyabet komplikasyonları, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psoriasis, romatoid artrit, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretimi arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının ise bu durumda yetersiz kaldığı rapor edilmiştir (40).

ANTIOKSIDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Vücutta serbest radikallerin normalin üzerinde oluşumunun engellenmesi ve bu radikaller nedeniyle oluşan hasarların önlenmesi amacıyla gelişmiş savunma sistemine antioksidan savunma sistemi ya da kısaca antioksidanlar denir.

Antioksidanlar; endojen (doğal) kaynaklı-eksojen kaynaklı antioksidanlar; serbest radikal oluşumunu önleyenler-mevcut radikaller etkisizleştirilenler; enzim olanlar-enzim olmayanlar şeklinde farklı sınıflamalara tabi tutulabilirler. Antioksidanlar 4 farklı şekilde etkinliklerini gösterebilirler:

1. Toplayıcı (scavenging) etki

2. Bastırıcı (quencer) etki
3. Onarıcı (repair) etki
4. Zincir kırıcı (chain breaking) etki

Serbest oksijen radikallerini tutarak zararlı etkilerini engelleme veya zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denir. Antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük moleküller bu tür etki gösterirler.

Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif şekle dönüştüren olaya “bastırıcı etki” denir. Vitaminler, flavanoidler, trimetazidin ve antosiyanidler bu tür etkiye sahiptirler.

Serbest oksijen radikallerinin yarattıkları hasarlar onarıcı etki sayesinde onarılırlar.

Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyen etki “zincir kırıcı etki” olup; hemoglobinin, seruloplazmin ile minerallerin etki gösterme tarzıdır (40).

Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksit dismutaz (EC-SOD) enzimi, süperoksidin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir. İnsanda SOD’un iki tipi mevcuttur. Bunlar sitosolde yer alan dimerik Cu ve Zn içeren izomer (Cu-Zn SOD) ve mitokondride bulunan tetramerik Mn içeren izomerdir (Mn SOD).

Genelde hücrelerde en çok bulunan izomer sitosolik Cu-Zn SOD’dur. Cu-Zn SOD 21 no’lu kromozomda, Mn-SOD ise 6 no’lu kromozomda yer alır. Her iki SOD’un da katalizlediği reaksiyon aynıdır. Enzimin işlevi, oksijen metabolizesini gerçekleştiren hücreleri süperoksit radikallerinden zarar görmelerini önlemektir. Bu işlev gereği de SOD, lipid peroksidasyonunu inhibe eder. SOD, özellikle oksijenlenmesi fazla olan dokularda işlevseldir ve dokunun oksijen miktarı artışıyla da orantılı olarak artar. Normal metabolizma esnasına hücrelerce fazla miktarda süperoksit üretilirken bu enzim sayesinde intraselüler süperoksit düzeylerinin tehlikeli boyutlara ulaşması engellenir.

Süperoksit dismutazın süperoksit anyonuna etkisinde, süperoksit anyonu, Cu^{2+} ve bir arginin rezidüsünün guanido grubuna bağlanır. Bu bağlanmada, süperoksidten bir elektron Cu^{2+} ’ya transfer olurken, Cu^{2+} ve moleküler oksijen meydana gelir. İkinci bir süperoksit anyonu Cu^{2+} ’dan bir elektron, bağlanma ortağından ise iki proton alarak hidrojen peroksidi oluştururken, enzim tekrar Cu^{2+} formatına dönüşür.

Süperoksit dismutaz, fagosite edilmiş bakterilerin intraselüler imhasında da görev yapar. Bu nedenle de granüosit fonksiyonları için son derece önemlidir. Lenfositlerde, granüositlerden de fazla miktarda SOD yer almaktadır (40,45).

Glutasyon peroksidaz: Glutasyon peroksidaz (glutasyon oksidoredüktaz), tetramerik yapıda, içeriğinde dört selenyum atomu yer alan, hemen hemen tüm memeli hücrelerinde yüksek konsantrasyonda oluşan sitosolik bir enzimdir.

Bu enzim, hidroperoksitleri indirgeyerek, oksidatif hasara karşı korunmada görevlidir. GSH, hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine çevriminin önlenmesinde rol alır (52).

Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz da (PLGSH-Px) monomerik yapıda, selenyum içeren sitosolik bir enzimdir. Görevi, membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirgemektir. Membrana bağlı en önemli antioksidan E vitamindir. Vitamin E yetersizliğinde PLGSH-Px membranın peroksidasyona karşı korunmasında önemli rol oynar.

Glutasyon peroksidaz fagositoz yapan hücrelerde önemli işlevlere sahiptir. GSH-Px ve diğer antioksidanlar beraber solunum patlaması sırasında, serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engellerler. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı son derece önemli ve etkili bir antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki bir azalma hidrojen peroksit artışına ve bununla beraber şiddetli hücre hasarına neden olur (40).

Glutasyon-S- transferazlar: Glutasyon-S-transferazların her biri iki alt birimden oluşan (dimerik) bir enzim grubudurlar. İlk defa 1961 yılında tanımlanmışlardır. GST 2'ler ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda da etkin roller oynarlar.

Glutasyon-S-transferazlar araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri başta olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi gösterirler ve bu sayede bir savunma mekanizması oluştururlar.

Glutasyon-S-transferazlar dört gruba ayrılırlar. Bunların üçü sitozolik, biri mikrozomaldır. GST'ler homodimerik ya da heterodimerik yapıda bulunabilirler. Araştırılan tüm canlıların vücutlarında bu enzimlerin bulunması hayati öneme sahip olduklarının bir göstergesidir. GST'lerin katalitik ve katalitik olmayan fonksiyonları mevcuttur. Detoksifikasyon yapmalarının yanısıra hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı olarak da görev yaparlar. Katalitik rollerinde ise, yabancı maddeleri GSH'daki sisteine ait (-SH) grubu ile bağlarlar ve onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederek ürünün suda daha fazla çözünür hale gelmesini sağlarlar. Böylece bu GSH konjugatlarının organizmadan atılabilmeleri ya da daha ileri metabolize olmaları sağlanır. GSH'dan glutamat ve glisin koparılmasından sonra sisteinin

serbest amino grubu asetillenerek merkaptürük asitlere dönüştürülür. Merkaptürük asitler ksenobiyotiklerin klasik atılım ürünleri olup ve safra ile atılırlar. Bu durum GST'lerin kanserojen, mutajen ve diğer zararlı kimyasalların hücre içi detoksifikasyonunda rol oynadıklarını gösterir.

Metabolize edilmeyen lipofilik-hidrofobik pek çok bileşiği bağlamaları, bu enzimlerin hücre içinde sınırlı çözünebilen molekülleri depo ve taşıma görevlerini yerine getirdiğini gösterir. Pek çok pigment de (bilirubin, hematin, bromsülfataleyn, indosiyanin **gren** gibi) kolik asitler, steroid hormonlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar bu proteinlerce bağlanır ve taşınırlar (40).

Katalaz: Katalaz, dört adet hem grubu ihtiva eden bir hemoproteindir. Hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçayabilir ve bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak diğerini ise oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Peroksizomlarda yerleşmiştir.

Katalazın indirgeyici aktivitesi, hidrojen peroksit ve metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü hidroperoksitlere etkisizdir (40).

Sarımsak

Kaynağı Orta Asya olan ve eski çağlardan beri bilinen sarımsak, hem baharat hem de ilaç olarak kullanılan bir bitkidir. Ortaçağda özellikle salgın hastalıklar için antiseptik, idrar arttırıcı, solucan düşürücü (özellikle askarit ve oksiyürlere karşı) ve iştah açıcı olarak kullanılmıştır (53,54).

Sarımsağın içeriğinde; %65 su, serbest aminoasitler, fruktoz içeren karbonhidratlar, proteinler, çeşitli mineraller, çeşitli vitaminler (B kompleks ile A ve C vitaminleri), allinaz ve katalaz enzimleri ile sülfür bileşikleri DAS-diallil sülfid, DADS-diallil disülfid, DATS-diallil trisülfid, allicin bulunur (53).

Sarımsağın terapötik olarak aktif komponenti alliin'dir. Sarımsak, ezildiğinde ya da kesildiğinde, alliin maddesi, allinaz enzimi ile tiyosülfat allisin'e dönüşmektedir. (9,54). Allisin de çeşitli organosülfür bileşiklerine ayrışır. Sarımsağın, immün bozukluk, intestinal düzensizlik, arteroskleroz, kanser, artrit, respiratuvar enfeksiyon, yaşlanma karşıtı, hipolipidemik, hipoglisemik, antihipertansif, ve antitrombolitik etkilerinin olduğu bildirilmektedir (9,51,54,55). Araştırmalar sarımsak tüketiminin artmasıyla, kanser olgularının azalması arasında da yakın ilişki olduğunu ortaya koymuştur (9). Sarımsağın

insanda; kolon, akciğer ve deri kanserinde, kanserli hücrelerin artışıını inhibe ettiği, lipid peroksidasyonunu azaltıp, antioksidan kapasiteyi arttırarak kimyasal koruyucu bir rol oynadığı bildirilmiştir. Ayrıca; alojen, allisin, DAS, DADS ve DATS'in antikanserojen aktivitelerinin güçlü olduğu ve NAD(P)H-kinon oksiredüktaz uyarılmasının bu etkinlikte önemli bir rolü olabileceği bildirilmektedir (9).

Sarımsağın bilinen kokusuna, içerdiği alilik kükürtlü bileşikler neden olmaktadır. Sarımsak, kesildiği veya yaralandığı zaman içerisindeki dönüştürücü enzim olan allinaz etkisiyle; alliin, allisin maddesine dönüşür ve karakteristik kokusu açığa çıkar.

Son yıllarda sarımsak, bitkisel ilaç sanayinin önemli bir maddesi olmuştur. Sarımsak preparatlarının tansiyon ve kolesterolü düşürmek için tüketildikleri rapor edilmiştir.

Almanya'da yaklaşık 7 milyon kişinin düzenli olarak sarımsak ilacı kullandığı ve Alman ilaç piyasasında sarımsak ürünlerinin, doğal antiarteriosklerotiklerin %84'ünü oluşturduğu rapor edilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1996 verilerine göre beş bitkisel ilacın %33'lük pazar payına sahip olduğu, bu oranın da %7.2'lik kısmını sarımsağın oluşturduğu bildirilmektedir (9,53).

Sarımsağın en önemli biyokimyasal özelliklerinden birisi de çeşitli patolojik süreçlere karşı savunmayı sağlayan antioksidan etkisidir (9,57). Sarımsağın antioksidan etkilerini, reaktif oksijen türevlerini temizleme, lipid peroksit oluşumunu ve LDL oksidasyonunu inhibe etme ile endojen antioksidan sistemleri arttırma özelliklerine bağlı olarak gösterdiği rapor edilmiştir. Sarımsağın antioksidan aktivitesi, in vivo reaksiyonlarda, materyalin elektron durumuyla da ilişkilidir (9).

Banerjee ve ark. (56), sarımsağın, SOD ve katalaz gibi endojen antioksidan enzim düzeylerini arttırarak böbrek ve karaciğer hücrelerinde oksidatif hasara karşı koruyucu olduğunu göstermişlerdir. Sarımsağın aktif komponentlerinin türü de antioksidan aktivite açısından önem taşır. Sarımsağın önemli komponentleri olan DAS, DADS ve DATS çeşitli oksidanları indirgeyerek ve temizleyerek biyolojik sistemleri oksidatif strese karşı korurlar (9). Bu bileşiklerin ve sarımsak içeriğindeki diğer öğelerin, antioksidan etkilerinin, tedavi edici gücü ve etkinliği birbirilerinden oldukça farklıdır. Alliin; süperoksit radikallerini ve jenerasyonlarını, ksantin ve ksantin oksidaz sistemini inhibe ederek etkisiz hale getirir. Allil-sistein, allicin ve allil-disülfidin bu konuda etkinlikleri yoktur (9). Yapılan çalışmalarda, sarımsak içeriğindeki komponentlerden biri olan alliin, hidroksil radikalının inhibisyonu şeklinde süpürücü (scavenger) etkisinin olduğu bildirilmiştir (57,58,59). Ayrıca sarımsağın, lipid peroksidasyonunu inhibe ederek, vasküler endotel hücrelerini H₂O₂ tarafından teşvik edilen oksidatif hasardan koruduğu rapor edilmiştir (57). Kuru sarımsak ekstralarının

antioksidan aktivitesinden S-allil-sistein, alil-merkapt-L-sistein ve N:(alfa)-fruktosil arginin gibi organosulfür bileşiklerinin sorumlu olduğu bildirilmektedir. Düşük konsantrasyonlarda, sarımsağa antioksidatif özellikler kazandıran allisin; yüksek konsantrasyonlarda, bir pro-oksidan gibi davranabileceği bildirilmiştir (9).

Yapılan çalışmalarda; sarımsağın süperoksit radikallerini ve hidrojen peroksidi baskılayarak, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidazı (GPx) enzim aktivitelerini arttırdığı ve böylece lipid peroksidasyonunu önlediği pulmoner arter endotel hücrelerinde gösterilmiştir (58). Sarımsağın bazı komponentlerinin neden olduğu pro-oksidan etkilerden genellikle yağda eriyebilir organo-sulfür bileşikleri sorumludur (9).

Şener ve ark. (57) kemotaksik yanıtlar ve süperoksit radikali üretimini arttıran nikotin toksisitesine karşı sarımsağın, nötrofil infiltrasyonunu azalttığını ve lipid peroksidasyonunu engellediğini rapor etmişlerdir.

Deneysel çalışmalar sarımsağın;endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivasyonu, düz kas hücre hiperpolarizasyonu, pulmoner vasküler tonusta indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) aktivitesinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (9).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda; Trakya Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen ve standart laboratuvar koşullarında (22 ± 1 °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutulan, 180-250 g ağırlığında Spraque-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Çalışma için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan (Ek) onay alındı.

Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda sıçanlara standart sıçan yemi ve musluk suyu verildi. Sıçanlar 2-2.5 aylık iken deneysel çalışmaya başlandı.

Çalışmamızda 4 grupta 10'ar adet olmak üzere 40 adet sıçan kullanıldı. 1. ve 2. grup sıçanlar fizyolojik serum (FS), diğer gruplar intramüsküler (im) gliserol enjeksiyonundan 24 saat önce susuz bırakıldı (ilk enjeksiyondan sonra serbest diyet ve su alımı sağlandı). 1. ve 2. grup sıçanlara FS, 3. ve 4. gruplardaki sıçanlara %50'lik gliserol solüsyonundan 10 ml/kg'a göre bulunan toplam hacim eşit miktarlarda hafif eter anestezisi altında her iki arka bacak kaslarına enjekte edildi.

1. Grup (kontrol) sıçanlara FS'in im enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra oral yolla distile su verildi.
2. Grup (kontrol+sarımsak) sıçanlara FS'in im enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra oral yolla 250 mg/kg dozunda sarımsak verildi.
3. Grup (ABY) sıçanlara gliserol enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra oral yolla distile su verildi.
4. Grup (ABY+sarımsak) sıçanlara gliserol enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra oral yolla 250 mg/kg dozunda sarımsak verildi.

Çalışmada kullanılan sarımsak, Kastamonu ili Taşköprü ilçesinden temin edildi. Kastamonu sarımsağı etki derecesi ve dayanıklılık bakımından diğer sarımsak türlerinden daha fazla tercih edilmektedir. Sarımsaklar üst kabuğu soyulduktan sonra, bistüri ile küçük parçalara bölündü. El tipi homojenizatör ile bidistile suda 100 mg/ml olacak şekilde homojenize edildi. Ardından soğutmalı santrifüj cihazında +4 °C’de, 10 dk 3000xg’de santrifüj edildi ve deneyde supernatant kısmı kullanıldı. Sarımsağın bu şekildeki hazırlanmasında süpernatant fraksiyonlarında aktivitenin %96’sının kaldığı bildirilmektedir (60).

Gruplara oral yolla verilen sıvı miktarı eşit tutuldu. Tüm gruplarda 24. saatteki oral yolla sarımsak verilmesinden hemen sonra sıçanlar metabolik kafese alınarak 24 saatlik idrarları toplandı.

Metabolik kafese alınan sıçanların 24 saatlik idrarları toplandıktan sonra yani gliserol enjeksiyonundan 48 saat sonra sıçanlar 10 mg/kg rompun ve 50 mg/kg ketamin anestezisi altında deney masasına alındı. Batın ön duvarı insizyonla açıldı. Diyafram kalbe ulaşılarak ponksiyonla alınan kan örnekleri biyokimyasal incelemeler için heparinle yıkanmış tüplere alındı.

Daha sonra her iki böbrek çıkarılarak buz kabı üzerindeki kurutma kağıtlarının üzerine konuldu, böbrek kapsülü sıyrıldıktan sonra bistüri yardımıyla longitudinal kesiyle ikiye ayrıldı. Sağ böbreğin bir yarısı ışık mikroskopisi için %10’luk formalin solüsyonuna konuldu, diğer yarısı ve sol böbreğin her iki yarısı fizyolojik serumla yıkandıktan sonra kurutma kağıdı ile kurutulup alüminyum folyo içinde paketlenildi. Doku SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri ile GSH, nitrat/nitrit ve MDA düzeylerinin analizleri yapılmaya kadar -80 °C’ de saklandı.

İdrar hacimleri ölçüldükten sonra kan ve idrar örnekleri soğutmalı santrifüjde +4 °C’de 3000xg’de 10 dk santrifüj edilerek plazma ve idrar örnekleri ependorf tüplere alınarak -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

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	: Achiteet C 8000: Abbott, ABD

Kullanılan Kimyasal Maddeler

Gliserol	: Merck, Almanya
NaOH	: Merck, Almanya
Na-K tartarat	: Merck, Almanya
Folin fenol reaktifi	: Merck, Almanya
KH ₂ PO ₄	: Merck, Almanya
Na ₂ HPO ₄	: Merck, Almanya
EDTA	: Merck, Almanya
H ₂ O ₂	: Merck, Almanya
NaN ₃	: Merck, Almanya
Tiyobarbitürik asit	: Merck, Almanya
Piridin	: Merck, Almanya
Sodyum dodesil sülfat	: Merck, Almanya
Ksantin	: Sigma, Almanya
Ksantin oksidaz	: Sigma, Almanya
Glutasyon	: Sigma, Almanya
Glutasyon redüktaz	: Sigma, Almanya
NADPH	: Sigma, Almanya
Bovin serum albumin	: Sigma, Almanya
CuSO ₄	: Panreac, İspanya
Butanol	: Riedel de Haen, Almanya
Na ₂ CO ₃	: Riedel de Haen, Almanya
Etanol	: Riedel de Haen, Almanya
Asetik asit	: Riedel de Haen, Almanya

Biyokimyasal Çalışmalar

Plazma ve idrar örneklerinde; üre, kreatinin, Na⁺ ve K⁺ ölçümleri Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Laboratuvarı'nda, Achiteet C 8000: Abbott, ABD otoanalizörde yapıldı.

Histolojik Çalışmalar

Sagittal olarak ikiye bölünen böbrek dokuları tamponlu %10 formaldehit içinde gece boyunca tespit edilmiş ve ardından 16 saatlik alkol takibine alınmıştır. Parafine gömülen dokulardan 5 mikron kalınlığında kesitler alınmış ve hematoksilin-eozin ile boyandıktan sonra ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir.

İlk değerlendirmenin ardından mikroskopun objektifine 400 bölmeli grid yerleştirilerek 10'luk objektifte nekroz yüzdesi hesaplanmıştır. Daha sonra her lam için 10 büyük büyütme alanında (BBA = x400) subkortikal alanda biriken luminal kastlar sayılmış ve ortalamaları alınmıştır. Sayım yapılırken toplayıcı kanalların olmadığı, sadece proksimal ve distal tübüllerin bulunduğu alanlarda sayım yapılmasına özen gösterilmiştir.

Böbrek Dokusu Homojenizasyonu

Böbrek dokusu -80 °C'den çıkarıldıktan sonra buzu çözülmeden kesilerek tartıldı. GSH ve MDA için 0.15 M KCl solüsyonu; SOD, CAT GPx ve NO enzim aktiviteleri için 50 mM fosfat tamponu (pH 7.4) ile %10'luk (w:v) olacak şekilde hazırlandı. Bistüri ile kesilen dokular tüplere konuldu. Tüpler buz üzerinde tutularak homojenizatör ile homojenize edildi. Hazırlanan homojenatlar 4000xg'de 10 dk +4 °C'de santrifüj edildi ve süpernatant ayrıldı. Ayrılan süpernatantlar spektrofotometrik MDA, GSH, NO düzeyleri ve SOD, CAT, GPx, enzim aktiviteleri ile protein ölçümlerinde kullanıldı.

Protein Miktar Tayini

Protein miktar tayini Lowry metoduna göre yapıldı. Bu metod, proteinin yapısında bulunan tirozin ve triptofan aminoasitlerinin fosfotungstat kompleksini molibden mavisine indirgemesi prensibine dayanır. Reaksiyon bakır (Cu²⁺) ile belirginleştirilir (61).

Çözeltiler

A Çözeltisi: %2'lik Na_2CO_3 'm 0.1 N NaOH'teki çözeltisi

B Çözeltisi: %1'lik CuSO_4 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 çözeltiden 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. Oda ısısında karanlıkta 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.

Malondialdehit Miktar Tayini

Lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçülür (62).

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 °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 vorteksle 1 dakika karıştırıldı. Organik faz 4000xg'de 10 dk santrifüj edilerek ayrıldı. 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
E : Tüketim katsayısı ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
Vt : Total reaksiyon hacmi
Vs : Total reaksiyon içindeki numune hacmi
L : Küvet çapı
 10^9 : Molün nanomole çevrilmesi
 10^3 : Litrenin mililitreye çevrilmesi
Sonuçlar MDA nmol/g yaş doku olarak ifade edildi.

Glutasyon Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Doku homojenatlarındaki serbest sülfidril gruplarının Ellman ayıracağı ile oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak saptanması, glutasyon içeriğinin belirtilmesi için kullanıldı (63).

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 (Na_2HPO_4)

3. 1 mM Elman ayıracı: 4mg 5.5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DNTB), 10 ml %1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözüldü.

4. Glutasyon standardı: 10 mg/dl GSH

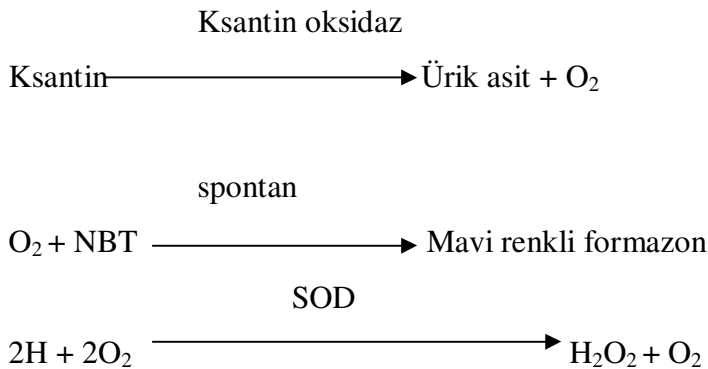
Deneyin yapılışı

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 Na_2HPO_4 ve 0.5 ml Ellman ayıracı eklendi. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 412 nm'de okundu. GSH düzeyleri ekstinksiyon katsayısı ($\Sigma=1.36 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar nmol GSH/mg protein olarak ifade edildi.

Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Bu araştırmada SOD enzim aktivitesinin tayini, ksantin \longrightarrow ksantin oksidaz sistemiyle üretilen süperoksit radikallerinin, SOD tarafından H_2O_2 'ye dönüştürülmesi ya da NBT (nitroblue tetrazolium)'yi indirgemesi esasına dayanır. İndirgenen NBT 560 nm'de maksimum absorbans veren mavi renkli formazona dönüşür. SOD ise, süperoksidi dismute ederek hidrojen perokside dönüştürmektedir. Öyleyse, belli bir miktar NBT'yi içeren deney ortamında, oluşan süperoksidin miktarı standardize edildiği takdirde; bu ortamda bulunan SOD enziminin aktivitesiyle ters orantılı olarak mavi renkli formazon oluşacaktır (64).

Olayı şu şekilde formüle edebiliriz:



Kullanılan reaktifler

1- Assay reaktifi:

a- 0.3 mmol/l ksantin: 9.13 mg alınıp son hacim 200 ml olacak şekilde bidistile suda çözüldü. Ksantin zor çözüldüğünde bu işlem ısıtılarak ya da ortama 1 M NaOH çözeltisinden 1-2-damla eklenerek yapılabilir.

b- 0.6 mmol/l Na₂EDTA: 23 mg alınıp son hacim 100 ml olacak şekilde bidistile suda çözüldü.

c- 150 µmol/l NBT: 12.3 mg alınıp son hacim 100 ml olacak şekilde bidistile suda çözüldü.

d- 400 mmol/l Na₂CO₃: 2.54 g alınıp son hacim 60 ml olacak şekilde bidistile suda çözüldü.

e- 1 g/l bovine serum albumin (BSA): 30 mg alınıp son hacim 30 ml olacak şekilde bidistile suda çözüldü.

Hazırlanan tüm çözeltiler karıştırılarak (toplam hacim 490 ml olacak) koyu renkli bir şişede +4 °C'de muhafaza edildi.

2- Ksantin Oksidaz: ksantin oksidaz stok çözeltisi +4 °C'de soğutulmuş 2M (NH₄)₂SO₄ çözeltisi ile 167 Ü/l olacak şekilde hazırlandı.

3- CuCl₂ (0.8 mmol/l): 13.6 mg CuCl₂ alınıp bir miktar bidistile suda çözülerek toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı.

4- 2M (NH₄)₂SO₄: 2.64 g amonyum sülfat tartıldı bir miktar distile suda çözülerek toplam hacim 10 ml'ye tamamlandı. Bu çözelti ksantin oksidazın dilüsyonunda kullanıldı.

Deneyin yapılışı

Deneye başlarken, +4 °C'de koruduğumuz hemolizat, fosfat tamponu ile 50 kez dilüe edildi. Ardından karışım iyice vortekslendi ve +4° C, 10000xg 'de 10 dakika santrifüj edildi. Böylece numunelerimiz analize hazır hale geldi. Numuneler, spektrofotometrede 560 nm'de assay reaktifi ile sifıra ayarlanarak, kör ve tüm numune tüplerinin absorbansları kaydedildi.

Tablo 1. SOD tayin yöntemi

	Kör tüpü	Test küveti
Assay reaktifi	2.850	2.850
Numune (hemolizat)		0.100
Bidistile su	0.100	
Ksantin oksidaz	0.050	0.050
25 °C'de 20 dk. inkübasyon		yapıldı
CuCl ₂ (ml)	1.00	1.00

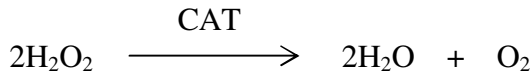
SOD aktivitesinin hesaplanması

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{\text{Kör'ün absorbens(Ak)} - \text{Numunenin absorbensı (An)}}{\text{Kör'ün absorbensı}} \times 100$$

1 ünite SOD= NBT redüksiyonunu %50 inhibe eden enzim aktivitesidir.

CAT enzim aktivitesinin hesaplanması

CAT katalitik aktivitesiyle H₂O₂, dekompoze ederek su ve oksijene dönüştürmektedir.



H₂O₂ ultraviyole spektrumunda absorpsiyon veren bir maddedir. Maksimal absorbens 240 nm'de meydana gelmektedir. Deney ortamına ilave edilen H₂O₂'nin CAT tarafından su ve oksijene parçalanması 240 nm'de absorbens azalması ile kendini gösterir. Absorbansta gözlenen bu azalma ortamdaki CAT enzim aktivitesi ile doğru orantılı bir eğilim göstermektedir (65).

Çözeltiler

1. 50 mM pH 7.0 olan fosfat tamponu hazırlanır.

2. H₂O₂'li ve absorbanası 0.500 olan fosfat tamponu: Spektrofotometre 240 nm'ye ayarlandı ve fosfat tamponu ile aletin sıfır absorban okuması sağlandı. H₂O₂'li fosfat tamponu, absorban 0.500 oluncaya kadar damla damla H₂O₂ eklenerek ayarlandı.

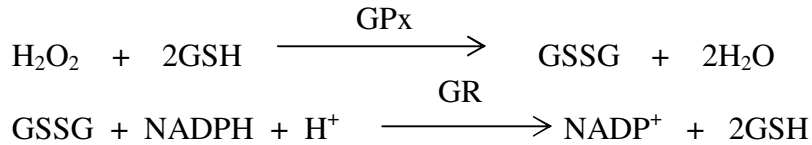
Deneyin yapılışı

Spektrofotometre 240 nm'ye ayarlandı ve fosfat tamponu ile sıfır absorban ayarlandı. 3 ml'lik küvete 2.99 ml H₂O₂'li fosfat tamponu ve 0.01 ml 50 kat dilüe edilmiş numune ilave edilerek hızla karıştırıp absorbanı okundu, bu başlangıç absorban değeridir. Daha sonra 60 saniye süreyle absorban azalması takip edildi. Sürenin sonunda okunan absorban değeri kaydedildi. Sonuçlar κ/mg protein şeklinde ifade edildi.

$$\kappa = \frac{2.3 \times \log \frac{\text{İlk absorban}}{\text{Son absorban}}}{\Delta t \text{ (ölçüm süresi, sn)}} \times \text{Sulandırma katsayısı}$$

Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

GPx, GSH'ı kullanarak H₂O₂'in suya dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Reaksiyon sonunda GSH okside forma dönüşürken, H₂O₂ ise suya katalizlenir. Oluşan GSSG'un tekrar kullanılabilmesi için GSSG'nin GSH'a dönüşmesi gerekir. Bu dönüşüm, ortamda redükte NADP (NADPH) ve GR enzimi varlığında gerçekleşir. Bu durumda redükte NADP okside NADP'ye çevrilirken GSSG redükte forma dönüşür (66).



Redükte NADP 340 nm'de maksimal absorban gösteren bir maddedir. GR katalizi devam ettikçe, ortamdaki NADPH miktarı giderek azalacak ve buna paralel olarak 340 nm'de absorban azalması meydana gelecektir. Absorbanstaki bu azalma hızı ortamdaki GPx aktivitesi ile doğru orantılı olacaktır.

Çözeltiler

1. 5 mM EDTA içeren 50 mM pH 7'lik fosfat tamponu.
2. 150 mM GSH EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
3. 1 M NaN₃ EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
4. 3 mM NADPH EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
5. 50 mM H₂O₂ EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
6. 1 Ü/10 µl GR olacak şekilde fosfat tamponunda dilüe edildi.

Deneyin yapılışı:

Kör tüpüne 2.680 ml ve test tüplerine 2.670 ml EDTA'lı fosfat tamponu, 0.1 ml GSH, 0.1 ml NADPH, 0.01 ml GR, 0.01 ml NaN₃, ayrıca test tüplerine 0.01 ml 10 kat dilüe edilmiş numune ilave edildikten sonra 30 dk oda ısısında inkübe edildi. Spektrofotometre 340 nm'de fosfat tamponu ile sıfırlandı. Sürenin sonunda her tübe 100 µl H₂O₂ ilave edilip reaksiyon başlatıldı ve hemen küvetler spektrofotometreye konarak 3 dk süreyle absorbans azalması takip edildi. Absorbans azalmasının bu süre içerisinde tam olarak lineer olduğu görüldü.

Sonuçların hesaplanması

1 Ünite GPx: 1 dakikada okside olan NADPH'ın µmol cinsinden miktarıdır.

$$\text{Ü/L (µmol/dk/L)} = \frac{\Delta A/t \times V_t \times 10^6}{E \times V_s \times L}$$

E : NADPH'ın tüketim katsayısı ($6.22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

V_t : Total reaksiyon hacmi

V_s : Total reaksiyon içindeki numune hacmi

L : Küvet çapı

ΔA/t : Dakikadaki absorbans değişimi

10⁶ : Molün mikromole çevrilmesi

Spesifik aktivite için bulunan sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

Nitrat ve Nitrit Tayini

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 ($Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$) 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 kurutulur.

Sonucun hesaplanması

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. Süre sonunda **Nitrit ölçümü**

için 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: NaNO_2 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 konulur. Üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA eklenir. 45 dk sonra 545 nm'de okuma yapılır (67).

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 milimol/litre olarak hesaplanmış olur.

İstatistik

Verilerin istatistiksel analizleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD'da yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu tek örneklem Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Değişkenlerin tümü normal dağılıma uygun olduğu için gruplar (1. grup ve 4. grup) arası farkı araştırmak için tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Tek yönlü varyans analizi sonucunda anlamlı fark bulunduğu, farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemede, grup varyansları homojen ise Tukey, homojen değilse Tamhane çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Nekroz ve kast bulguları sayım yapılarak elde edildiğinden 3. grup ile 4. grup arası farklılık non-parametrik bir yöntem olan Mann-Whitney U testi ile incelendi. $P < 0.05$ istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizlerde Statistica 7.0 (seri no: 31N6YUCV38) paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Sıçanlarda hipertonic gliserolün im uygulanmasıyla oluşturulan deneysel miyoglobinürik ABY modeli, 4 grupta 40 sıçan üzerinde çalışıldı. Gliserol enjeksiyonunun 48. saatinde anestezi altında sıçanların kan ve doku örnekleri alındı. Ancak 3. grupta 2 sıçan 48 saat dolmadan, gelişen komplikasyonlarla öldü. Ayrıca 3. grupta 1 sıçandan idrar örneği alınamadı. Fraksiyonel sodyum atılımı= idrar sodyumu / serum sodyumu x serum kreatinin / idrar kreatinin x 100 formülü kullanılarak hesaplandı.

Tüm gruplardaki sıçanlara ait doku MDA düzeyi nmol/g doku, GSH düzeyleri $\mu\text{mol/g}$ doku, NO düzeyi $\mu\text{mol/mg}$ protein, SOD aktivitesi U/mg protein, CAT aktivitesi κ/mg protein ve GPx aktivitesi U/mg protein, plazma NO (P_{NO}) düzeyi $\mu\text{mol/l}$, üre ($P_{\text{üre}}$) düzeyi mg/dl, kreatinin (P_{krea}) düzeyi mg/dl, sodyum (P_{Na^+}) düzeyi mEq/l, potasyum (P_{K^+}) düzeyi mEq/l idrar NO (\dot{I}_{NO}) düzeyi $\mu\text{mol/l}$, üre ($\dot{I}_{\text{üre}}$) düzeyi mg/dl, kreatinin (\dot{I}_{krea}) düzeyi mg/dl, sodyum (\dot{I}_{Na^+}) düzeyi mEq/l, potasyum (\dot{I}_{K^+}) düzeyi mEq/l, kreatinin klirensi standart klirens formülüne göre hesaplanıp kg/vücut ağırlığına bölündü. Fraksiyonel sodyum atılımı (FeNa) % olarak hesaplandı. 1. grubun verileri Tablo 2’de, 2. grubun verileri Tablo 3’te, 3. grubun verileri Tablo 4’te ve 4. grubun verileri Tablo 5’te gösterilmiştir.

Çalışma gruplarının değişkenlere ait istatistik verileri Tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 2. 1. grubun biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	SOD	GPx	CAT	P _{üre}	P _{krea}	P _{Na⁺}	P _{K⁺}	P _{NO}	İ _{üre}	İ _{krea}	İ _{Na⁺}	İ _{K⁺}	İ _{NO}
1	0.17	2.38	6.60	16.95	2.23	1.27	30	0.44	147	3.7	19.17	8948	132.3	19	541.9	126.17
2	0.18	2.66	12.54	16.32	2.06	1.88	31	0.45	148	4.7	20.00	8591	102.3	43	472.2	86.00
3	0.23	3.98	18.23	18.62	1.97	1.79	40	0.44	145	4.5	14.17	9105	97.3	41	505.7	12.33
4	0.25	3.92	15.60	19.91	2.16	2.66	37	0.63	147	8.5	25.00	8162	84.6	27	578.6	13.75
5	0.26	3.73	7.16	16.21	1.90	2.22	30	0.47	147	4.2	25.00	9063	11.3	20	507.3	10.75
6	0.15	3.28	8.46	19.40	2.28	2.48	31	0.47	147	4.4	24.17	10555	11.6	32	530.1	13.33
7	0.28	5.31	13.96	20.06	2.67	2.28	30	0.45	144	4.2	23.33	10446	109.1	41	514.2	15.67
8	0.16	2.84	15.67	16.44	1.97	1.83	25	0.45	140	6.2	27.50	10924	119.9	21	534.4	145.75
9	0.24	4.25	13.42	15.88	2.12	1.94	24	0.45	145	3.7	22.50	8712	124.3	53	432.1	147.58
10	0.25	5.07	10.06	14.27	1.89	2.42	25	0.41	147	3.5	26.67	6891	75.5	19	356	111.08

Tablo 3. 2. grubun biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	SOD	GPx	CAT	P _{üre}	P _{krea}	P _{Na⁺}	P _{K⁺}	P _{NO}	İ _{üre}	İ _{krea}	İ _{Na⁺}	İ _{K⁺}	İ _{NO}
1	0.15	2.45	13.67	17.19	1.94	2.49	33	0.47	146	4.3	27.50	9818	123.5	83	525.4	113.67
2	0.19	3.27	14.10	16.58	1.55	1.98	31	0.42	144	3.8	22.50	8833	120.2	51	448.5	120.42
3	0.15	2.63	15.43	14.84	1.49	1.80	33	0.48	141	6.4	21.67	8090	103.9	57	448.8	101.33
4	0.15	3.19	14.76	17.66	2.26	1.01	34	0.45	143	5.1	19.17	7936	101.2	49	539.2	124.00
5	0.24	3.99	8.87	16.19	2.46	1.36	44	0.46	144	4.7	24.17	7782	72.7	51	401.2	102.08
6	0.18	2.79	21.34	16.91	2.32	2.23	29	0.44	146	3.7	40.00	10440	132.8	88	593.8	135.92
7	0.15	2.29	24.13	18.63	2.27	1.53	58	0.56	147	4.7	39.17	10096	132.3	93	248.5	79.83
8	0.22	4.46	17.59	14.06	1.95	2.32	29	0.47	146	4.6	28.33	11782	143.8	104	589.6	138.58
9	0.37	5.98	22.12	15.93	2.29	2.75	30	0.49	146	4.1	40.00	10066	134.2	100	529.4	134.58
10	0.25	4.62	17.56	16.57	1.94	1.90	30	0.49	148	5.2	25.83	8700	121.2	31	462.7	127.17

Tablo 4. 3. grubun biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	SOD	GPx	CAT	P _{üre}	P _{krea}	P _{Na⁺}	P _{K⁺}	P _{NO}	İ _{üre}	İ _{krea}	İ _{Na⁺}	İ _{K⁺}	İ _{NO}
1																
2	0.22	1.62	5.62	13.72	0.91	0.64	473	6.55	125	5.9	60.00	987	15.8	83	43.6	10.42
3	0.30	2.21	7.50	13.38	1.00	0.51	521	6.92	125	5	70.83	932	16.5	93	31.4	8.92
4	0.24	1.68	5.71	13.44	0.73	0.47	467	6.46	120	5.1	73.33	919	14.4	74	31.8	2.42
5																
6	0.33	2.12	7.96	13.29	0.96	0.60	580	7.09	132	6.7	54.17					
7	0.30	2.07	8.83	13.54	0.77	0.73	546	5.3	140	9	40.83	1085	13.4	113	46.1	2.17
8	0.65	3.77	7.68	13.75	0.33	0.63	592	5.85	142	8.1	33.33	1173	14.5	94	51.7	3.25
9	0.42	2.30	5.14	13.19	0.64	0.73	515	5.13	142	6.7	36.67	1139	14.3	67	59.2	0.83
10	0.31	1.74	4.22	12.34	0.30	0.52	415	4.11	143	4.8	44.17	1264	16.9	39	58.3	2.67

Tablo 5. 4. grubun biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	SOD	GPx	CAT	P _{üre}	P _{krea}	P _{Na⁺}	P _{K⁺}	P _{NO}	İ _{üre}	İ _{krea}	İ _{Na⁺}	İ _{K⁺}	İ _{NO}
1	0.15	3.44	13.71	16.71	0.97	0.71	180	1.67	146	3.5	34.17	1865	24.3	24	66.4	5.42
2	0.17	3.39	11.56	14.93	0.77	0.75	568	4.89	144	6.6	50.83	1100	14.8	59	54.8	12.00
3	0.18	2.58	13.35	18.80	0.61	0.71	518	5.05	138	8.1	40.00	1062	13.4	47	52.9	6.75
4	0.18	2.66	21.84	19.62	0.52	0.66	409	4.06	137	3.4	43.33	1026	14.2	25	42.2	5.33
5	0.16	3.69	14.95	17.03	0.27	0.72	281	2.42	140	3.6	40.00	1752	33.1	29	63.9	11.58
6	0.28	2.36	13.86	16.43	0.92	0.71	679	6.58	137	9	36.67	1271	14.3	118	36.6	10.25
7	0.24	2.41	13.59	14.29	0.95	0.61	494	5.15	138	5.5	35.83	970	14.3	49	46.6	8.92
8	0.21	2.69	10.74	17.53	0.72	0.45	561	4.77	139	8.2	19.17	1009	11.1	62	46.4	7.50
9	0.24	3.62	11.02	17.87	0.94	0.82	596	5.16	141	7.2	34.17	1021	16.1	72	61.7	6.75
10	0.20	2.21	21.48	15.72	0.84	0.65	594	5.9	135	7.5	35.83	1314	21.5	64	66.2	8.42

Tablo 6. Çalışma gruplarının değişkenlere ait istatistik verileri

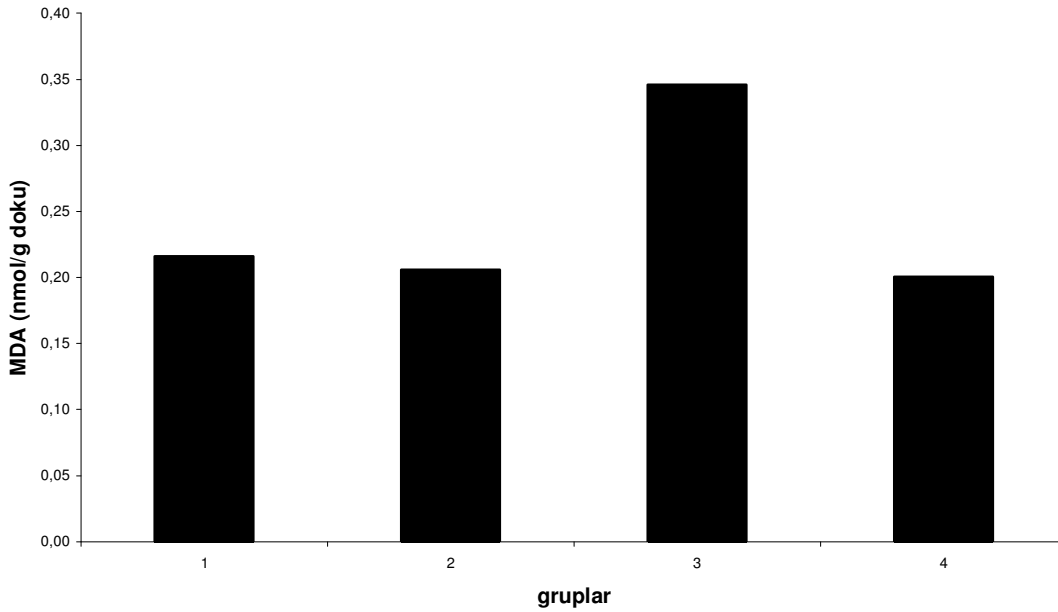
	GRUP 1 (n= 10)	GRUP 2 (n= 10)	GRUP 3 (n= 8)	GRUP 4 (n= 10)	p*
Parametreler	Ort. ± SD	Ort. ± SD	Ort. ± SD	Ort. ± SD	
MDA nmol/g doku	0.22±0.05	0.21±0.07	0.35±0.14	0.20±0.04	0.001
GSH µmol/g doku	3.74±0.98	3.57±1.18	2.19±0.69	2.91±0.57	0.003
NO Doku	12.17±3.94	16.95±4.59	6.58±1.62	14.61±3.95	0.001
SOD U/mg protein	17.41 ± 1.96	16.46 ± 1.32	13.3±0.45	16.89±1.66	0.000
GPx U/mg protein	2.12±0.23	2.05±.33	0.70±0.27	0.75±0.23	0.000
CAT κ/mg protein	2.08±0.41	1.94±0.53	0.61±0.10	0.68±0.1	0.000
P _{üre} mg/dl	30.30±5.12	35.10±9.17	513.63±60.01	488.00±154.92	0.000
P _{krea} mg/dl	0.47±0.6	0.47±0.04	5.93±1.02	4.56±1.50	0.000
P _{Na⁺} mEq/l	145.70±2,36	145.10±2,08	133.63±9.30	139.50±3.38	0.000
P _{K⁺} mEq/l	4.76±1.52	4.66±0.79	6.41±1.53	6.26±2.13	0.029
NO Plazma µmol/l	22.75±4.01	28.83±7.99	51.67±15.34	37.00±8.07	0.000
İ _{üre} mg/dl	9139.70±1221.73	9354.30±1296.41	1071.29±130.35	1239.00±321.54	0.000
İ _{krea} mg/dl	497.25±63.55	478.71±102.75	46.01±11.39	53.77±10.62	0.000
İ _{Na⁺} mEq/l	31.60±12.25	70.70±25.66	80.43±23.62	54.90±27.97	0.001
İ _{K⁺} mEq/l	497.25±63.56	478.71±102.75	46.01±11.39	53.77±10.62	0.000
İNO µmol/l	128.14±21.18	117.76±18.71	4.36±3.44	8.29±2.39	0.000
Kreklirensi ml/dk/100gx vüc ağırlığı	0.51±0.09	0.49±0.07	0.01±0.01	0.03±0.04	0.000
FeNa %	144.33±71.203	412.99±154.135	4024.08±1489.28	3248.80±3053.49	0.000

*Tek yönlü varyans analizi (Anova)

Gruplar arası MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası MDA düzeyinde 1. grup ile 3. grup arasında ve 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı artma, 3. grup ile 4. grup arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). MDA düzeylerinin Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 7’de, gruplara göre dağılım Şekil 1’de gösterilmiştir.

Tablo 7. MDA düzeylerinin Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.01$	$p<0.01$	
4. grup	$p>0.05$	$p>0.05$	$p<0.01$

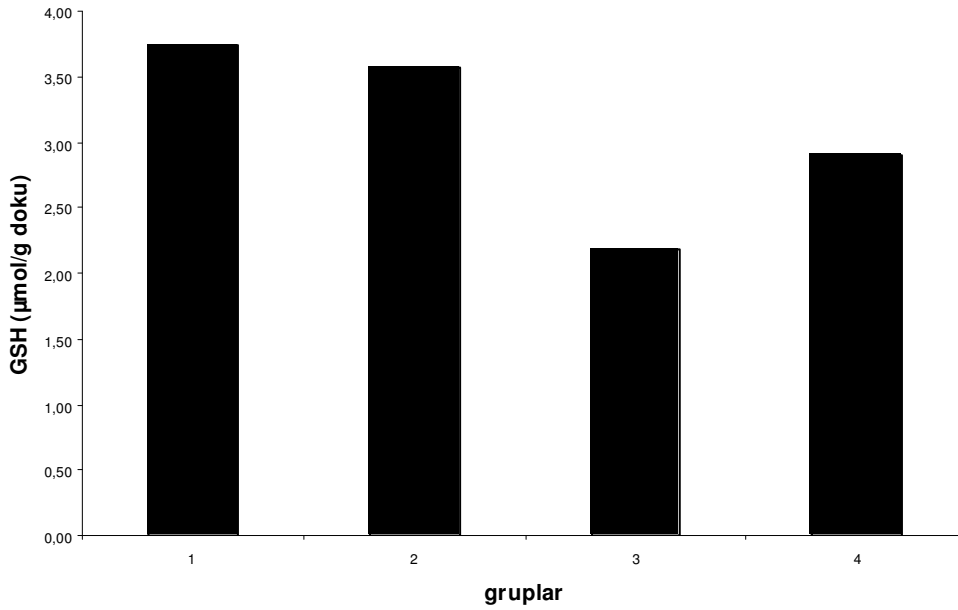


Şekil 1. Gruplara göre MDA düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası GSH düzeyinde, 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı azalma ve 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlemlenmedi ($p>0.05$). GSH düzeylerinin Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 8’de, gruplara göre dağılım Şekil 2’de gösterilmiştir.

Tablo 8. GSH aktivitelerinin Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.01$	$P<0.05$	
4. grup	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$

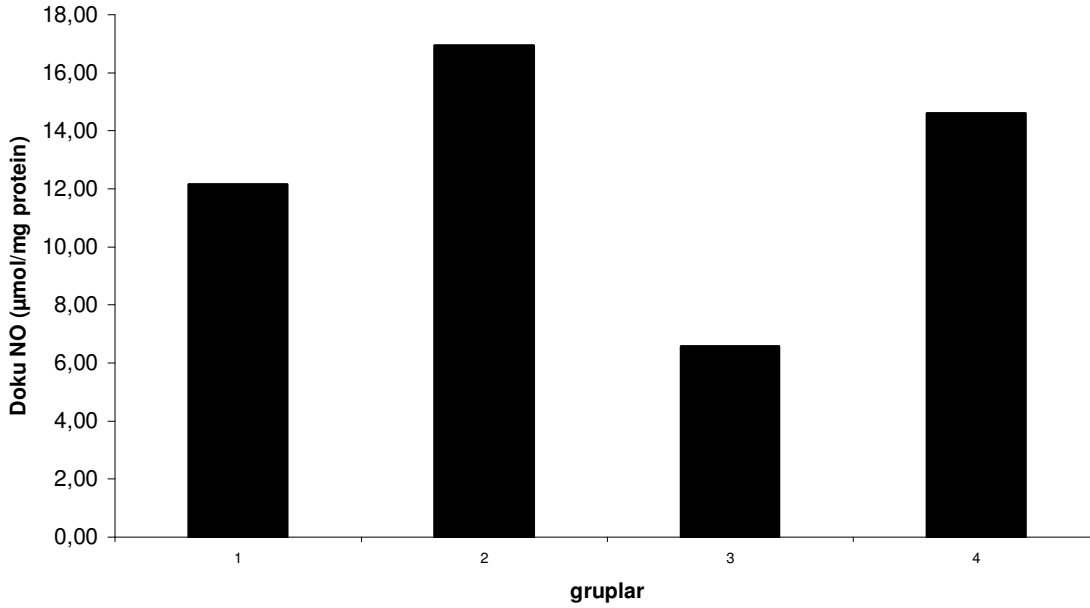


Şekil 2. Gruplara göre GSH düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası doku NO düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası doku NO düzeylerinde 1. grup ile 2. grup arasında $p<0.05$ düzeyinde ve 3. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı artma, 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.05$ düzeyinde ve 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 9’da, gruplara göre dağılım Şekil 3’te gösterilmiştir.

Tablo 9. Doku NO düzeylerinin Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p<0.05$		
3. grup	$p<0.05$	$p<0.001$	
4. grup	$p>0.05$	$p>0.05$	$p<0.001$

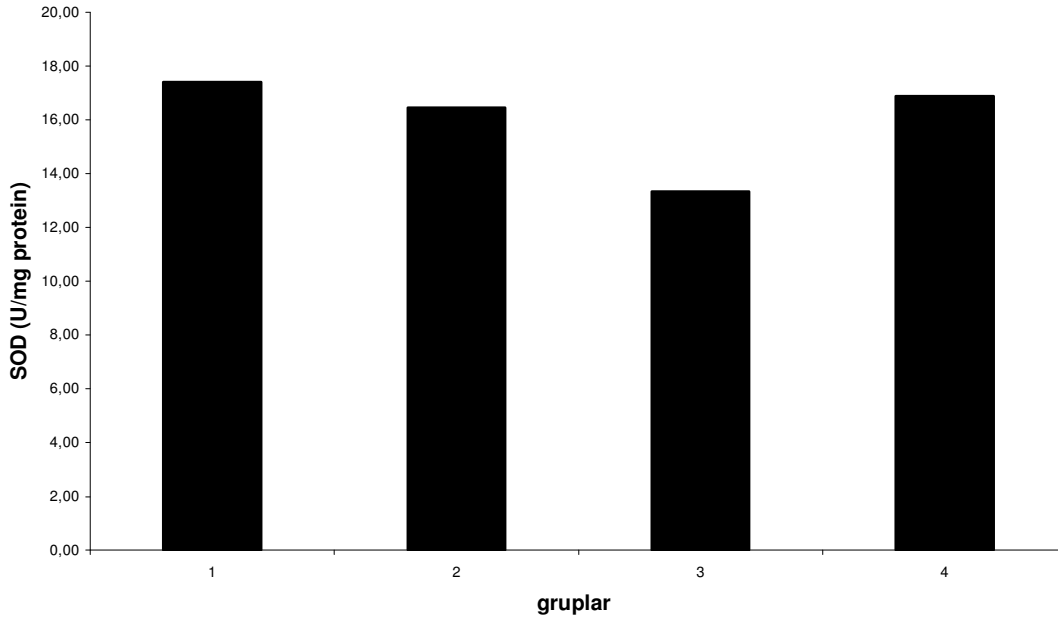


Şekil 3. Gruplara göre doku NO düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası SOD düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası SOD enzim aktivitesinde 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı azalma, 3. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 10'da, gruplara göre dağılım Şekil 4'te gösterilmiştir.

Tablo 10. SOD aktivitelerinin Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	
4. grup	$p>0.05$	$p>0.05$	$p<0.001$

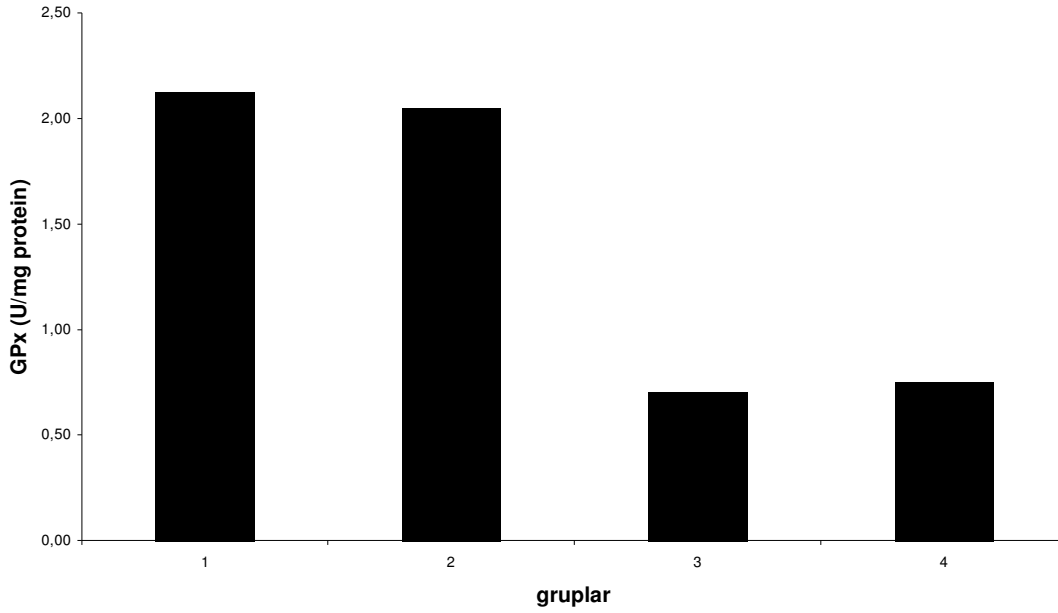


Şekil 4. Gruplara göre SOD düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası GPx düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası GPx enzim aktivitesinde 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 1. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde, 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 2. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 11’de, gruplara göre dağılım Şekil 5’te gösterilmiştir.

Tablo 11. GPx düzeylerinin Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	
4. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	$p>0.05$

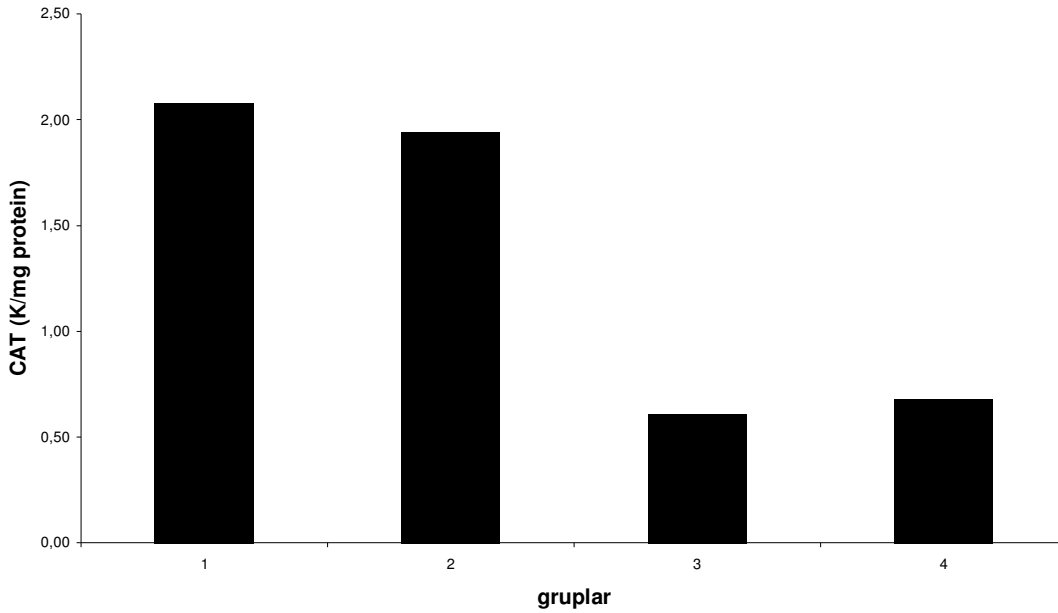


Şekil 5. Gruplara göre GPx düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası CAT düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası CAT enzim aktivitesinde 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 1. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde; 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 2. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 12’de, gruplara göre dağılım Şekil 6’da gösterilmiştir.

Tablo 12. CAT aktivitelerinin Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	
4. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	$p>0.05$

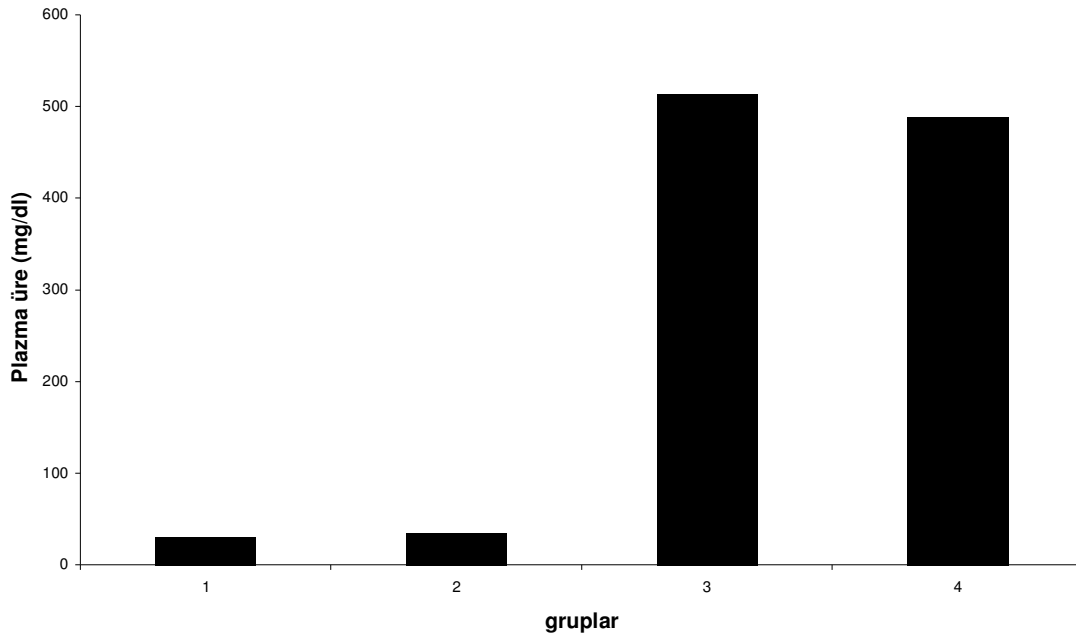


Şekil 6. Gruplara göre CAT düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası $P_{\text{üre}}$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası $P_{\text{üre}}$ düzeylerinde 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 1. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde; 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 2. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı artma gözlenmiştir. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 13'te, gruplara göre dağılım Şekil 7'de gösterilmiştir.

Tablo 13. Plazma üre düzeylerinin Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	
4. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	$p>0.05$

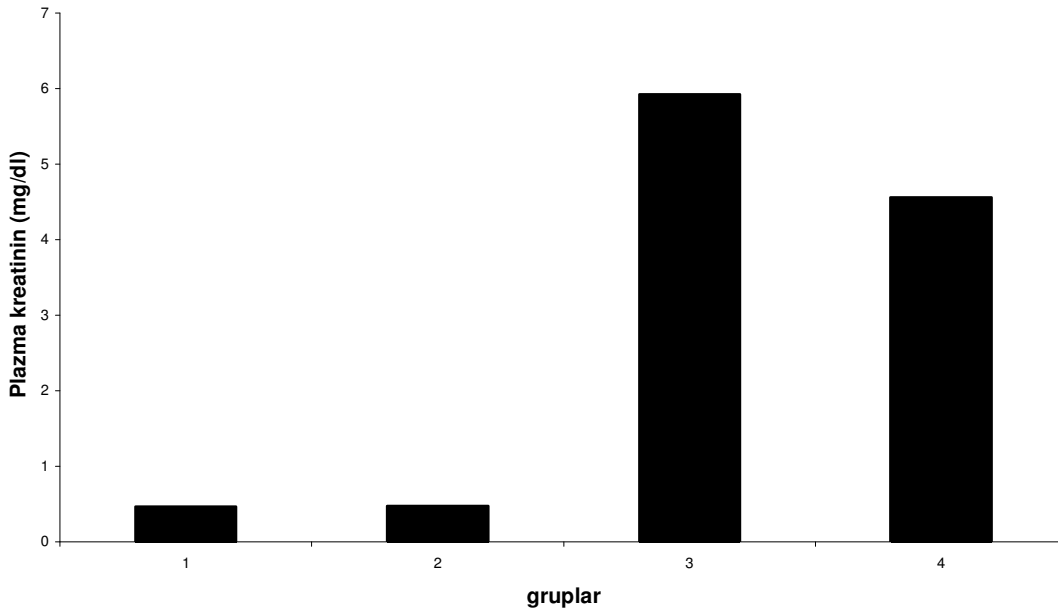


Şekil 7. Gruplara göre plazma üre düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası P_{krea} düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası P_{krea} düzeylerinde 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 1. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde; 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 2. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 14’te, gruplara göre dağılım Şekil 8’de gösterilmiştir.

Tablo 14. Plazma kreatinin düzeylerinin Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	
4. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	$p>0.05$

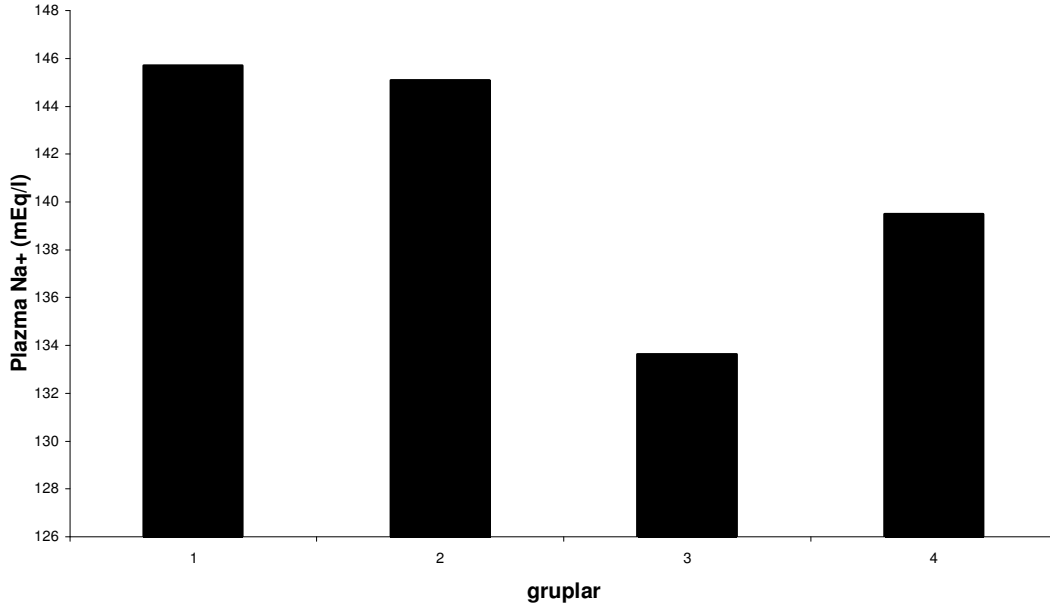


Şekil 8. Gruplara göre plazma kreatinin düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası P_{Na^+} düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası P_{Na^+} düzeylerinde 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.05$ düzeyinde ve 1. grup ile 4. grup arasında $p>0.01$ düzeyinde; 2. grup ile 4. grup arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 15'te, gruplara göre dağılım Şekil 9'da gösterilmiştir.

Tablo 15. Plazma Na^+ düzeylerinin Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.05$	$p>0.05$	
4. grup	$p<0.01$	$p<0.01$	$p>0.05$

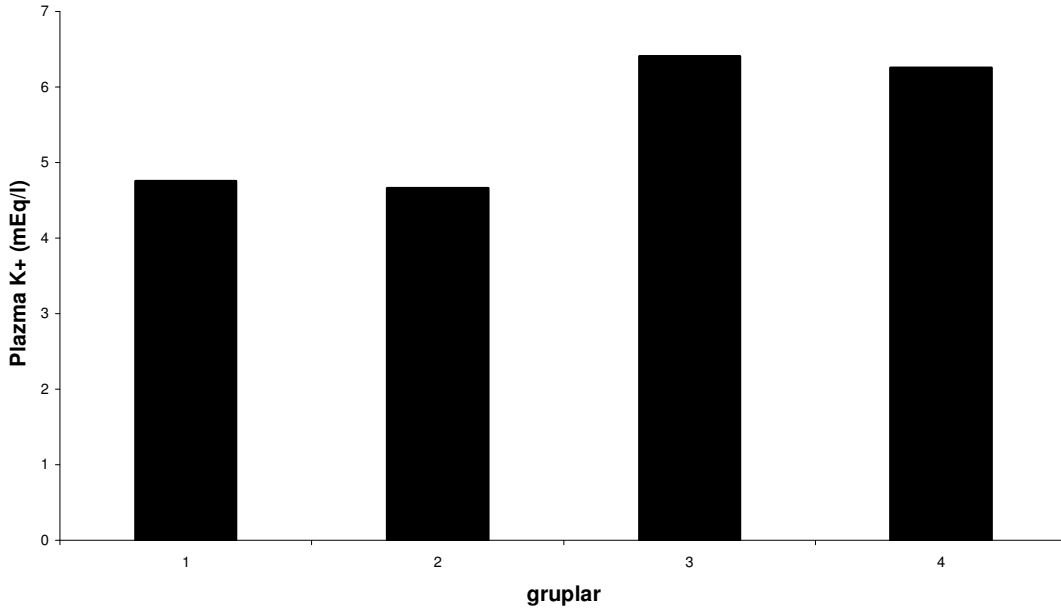


Şekil 9. Gruplara göre plazma Na^+ düzeyleri dağılımı

Gruplar arası P_{K^+} düzeylerinde fark gözlemlenmedi ($p < 0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 16’da, gruplara göre dağılım Şekil 10’da gösterilmiştir.

Tablo 16. Plazma K^+ düzeylerinin Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p > 0.05$		
3. grup	$p > 0.05$	$p > 0.05$	
4. grup	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$

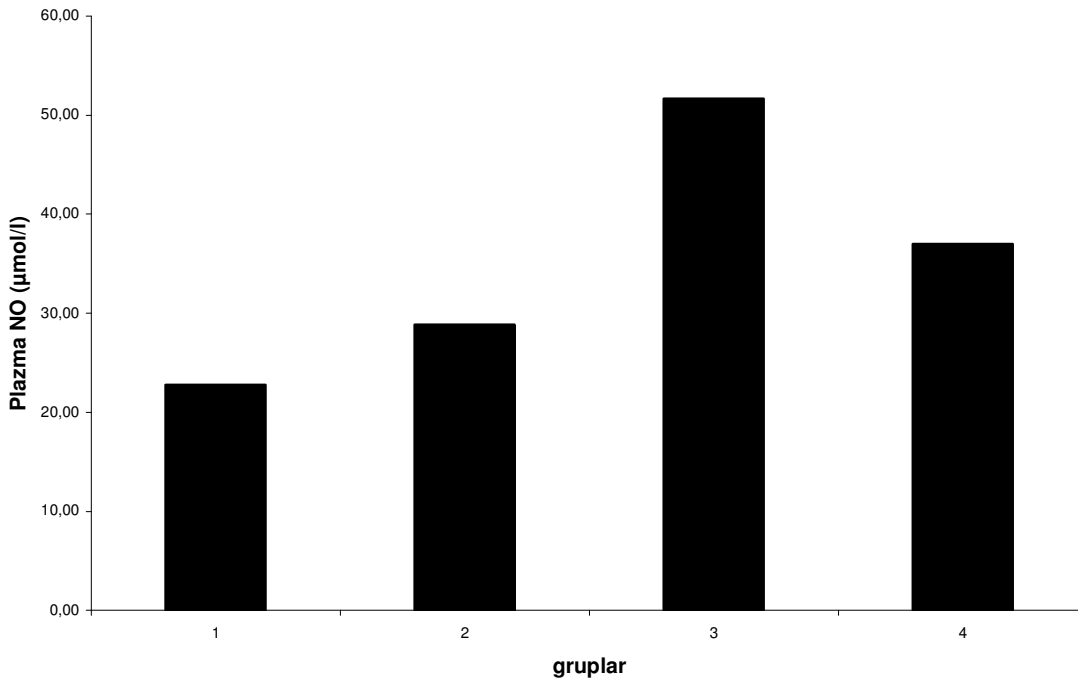


Şekil 10. Gruplara göre plazma K^+ düzeyleri dağılımı

Gruplar arası P_{NO} düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası P_{NO} düzeylerinde grup 1 ile grup 3 arasında $p<0.01$ düzeyinde ve 1. grup ile 4. grup arasında $p<0.01$ düzeyinde; 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 17’de, gruplara göre dağılım Şekil 11’de gösterilmiştir.

Tablo 17. Plazma NO düzeylerinin Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.01$	$p<0.05$	
4. grup	$p<0.01$	$p>0.05$	$p>0.05$

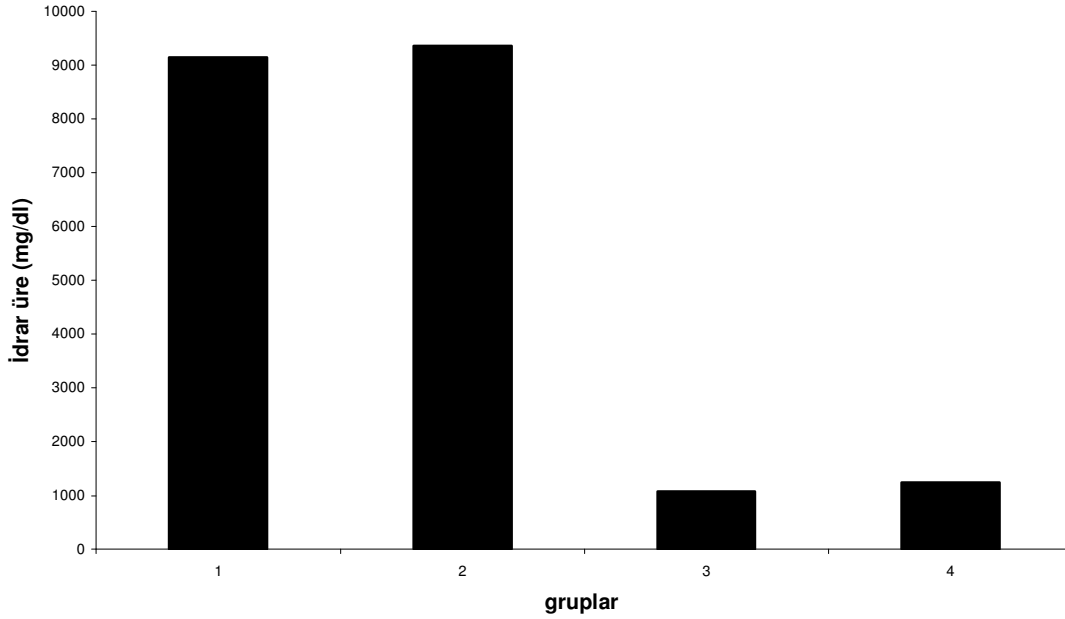


Şekil 11. Gruplara göre plazma NO düzeyleri dağılımı

Gruplar arası İ_{üre} düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (p=0.001). Gruplar arası İ_{üre} düzeylerinde 1. grup ile 3. grup arasında p<0.001 düzeyinde ve 1. grup ile 4. grup arasında p<0.001 düzeyinde; 2. grup ile 3. grup arasında p<0.001 düzeyinde ve 2. grup ile 4. grup arasında p<0.001 düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi (p>0.05). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 18’de, gruplara göre dağılım Şekil 12’de gösterilmiştir.

Tablo 18. İdrar üre düzeylerinin Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	p>0.05		
3. grup	p<0.001	p<0.001	
4. grup	p<0.001	p<0.001	p>0.05

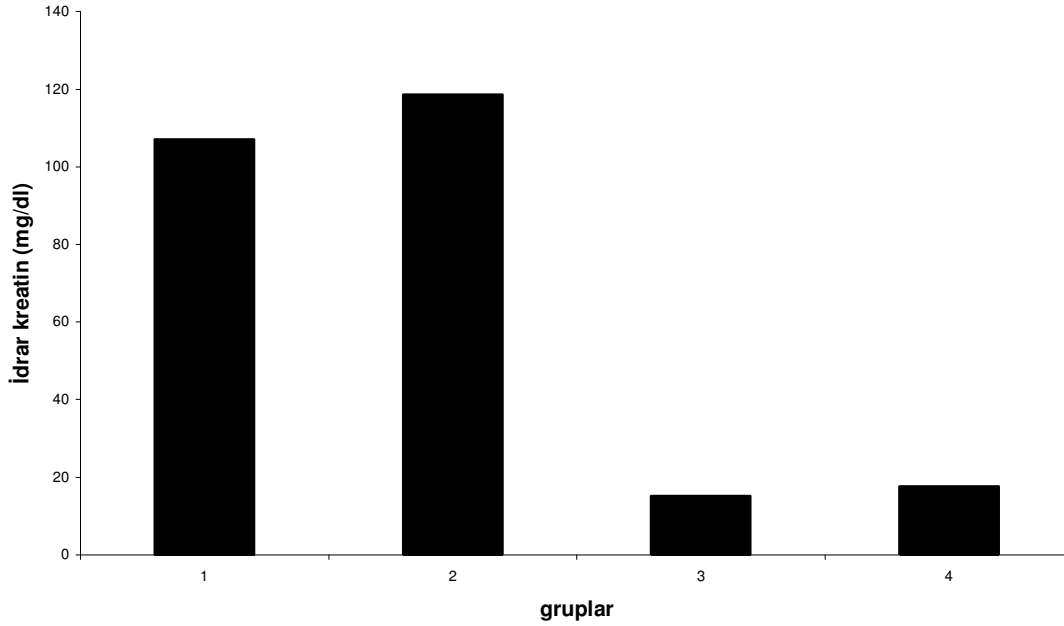


Şekil 12. Gruplara göre idrar üre düzeyleri dağılımı

Gruplar arası \dot{I}_{krea} düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası \dot{I}_{krea} düzeylerinde 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 1. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde; 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 2. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 19’da, gruplara göre dağılım Şekil 13’te gösterilmiştir.

Tablo 19. İdrar kreatinin düzeylerinin Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	
4. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	$p>0.05$

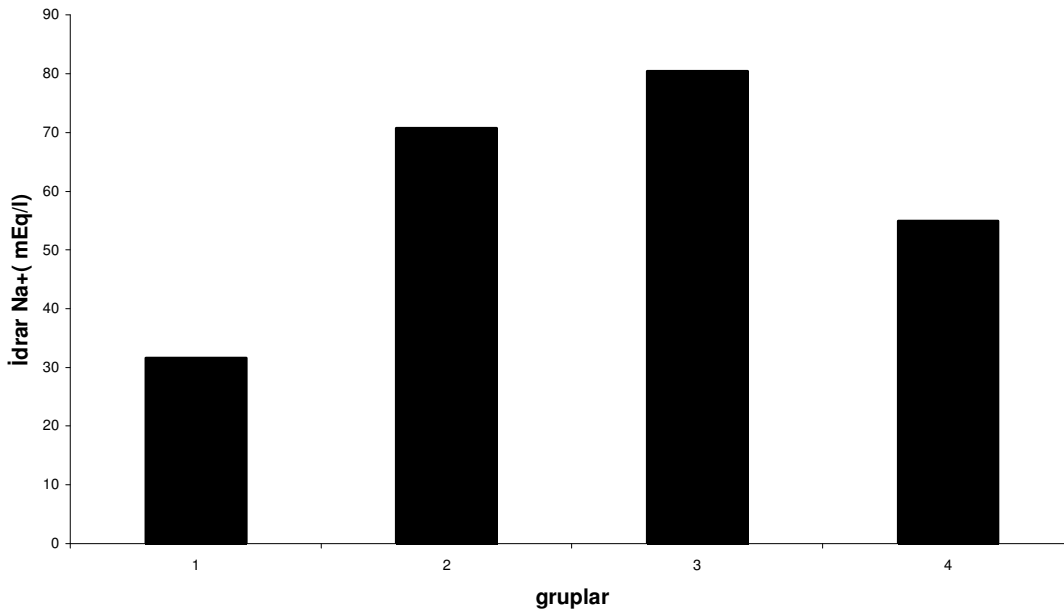


Şekil 13. Gruplara göre idrar kreatinin düzeyleri dağılımı

Gruplar arası \dot{I}_{Na^+} düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası \dot{I}_{Na^+} düzeylerinde 1. grup ile 2. grup arasında $p<0.01$ düzeyinde ve 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 20’de gruplara göre dağılım Şekil 14’te gösterilmiştir.

Tablo 20. İdrar Na^+ düzeylerinin Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p<0.01$		
3. grup	$p<0.01$	$p>0.05$	
4. grup	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$

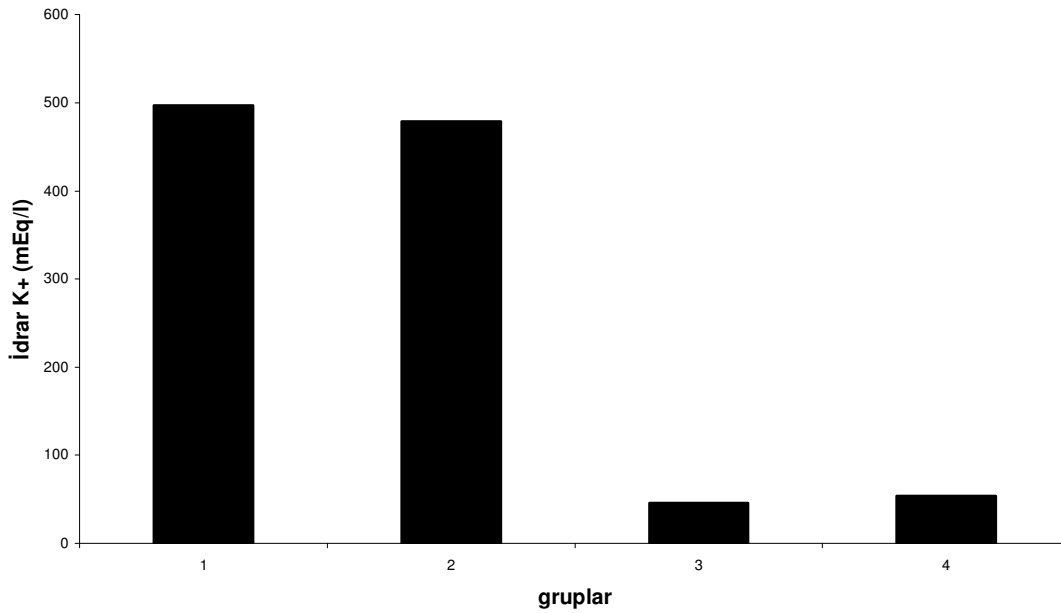


Şekil 14. Gruplara göre idrar Na^+ düzeyleri dağılımı

Gruplar arası \dot{I}_K^+ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası \dot{I}_K^+ düzeylerinde 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 1. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde; 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 2. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 21’de, gruplara göre dağılım Şekil 15’te gösterilmiştir.

Tablo 21. İdrar K^+ düzeylerinin Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	
4. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	$p>0.05$

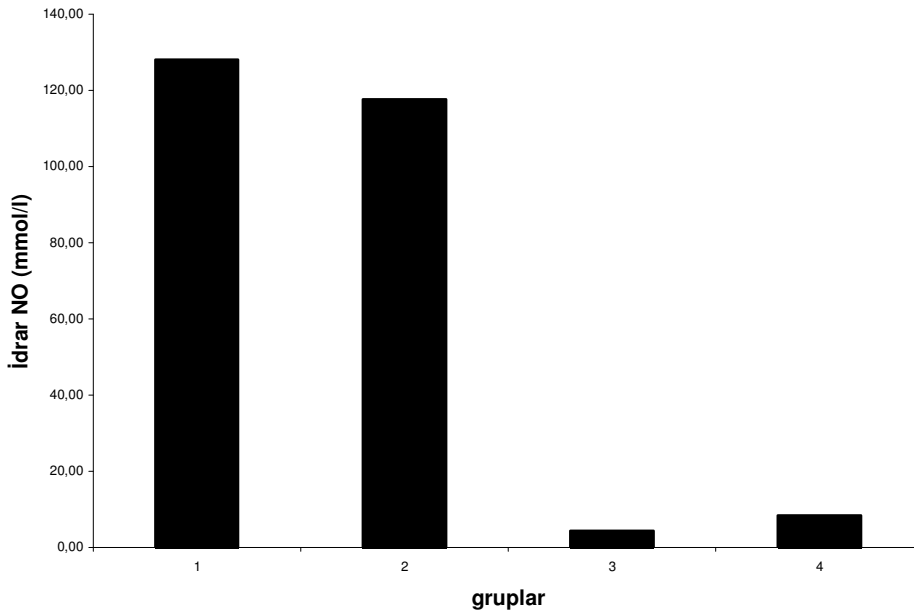


Şekil 15. Gruplara göre idrar K^+ düzeyleri dağılımı

Gruplar arası İ_{NO} düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (p=0.001). Gruplar arası İ_{NO} düzeylerinde 1. grup ile 3. grup arasında p<0.001 düzeyinde ve 1. grup ile 4. grup arasında p<0.001 düzeyinde; 2. grup ile 3. grup arasında p<0.001 düzeyinde ve 2. grup ile 4. grup arasında p<0.001 düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi (p>0.05). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 22’de gruplara göre dağılım Şekil 16’da gösterilmiştir.

Tablo 22. İdrar NO düzeylerinin Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	p>0.05		
3. grup	p<0.001	p<0.001	
4. grup	p<0.001	p<0.001	p>0.05

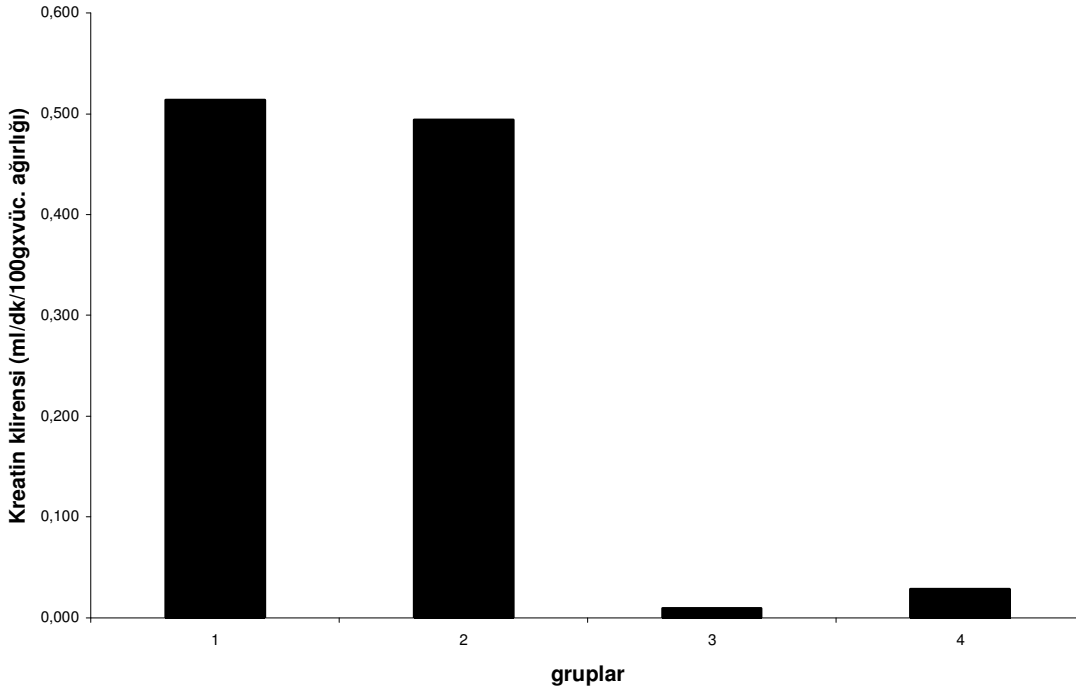


Şekil 16. Gruplara göre idrar NO düzeyleri dağılımı

Gruplar arası kreatin klirensi düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0.001$). Gruplar arası kreatin klirensi düzeyinde 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 1. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde; 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde ve 2. grup ile 4. grup arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlemlenmedi ($p>0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 23’te, gruplara göre dağılım Şekil 17’de gösterilmiştir.

Tablo 23. Kreatin klirens düzeylerinin Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p>0.05$		
3. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	
4. grup	$p<0.001$	$p<0.001$	$p>0.05$

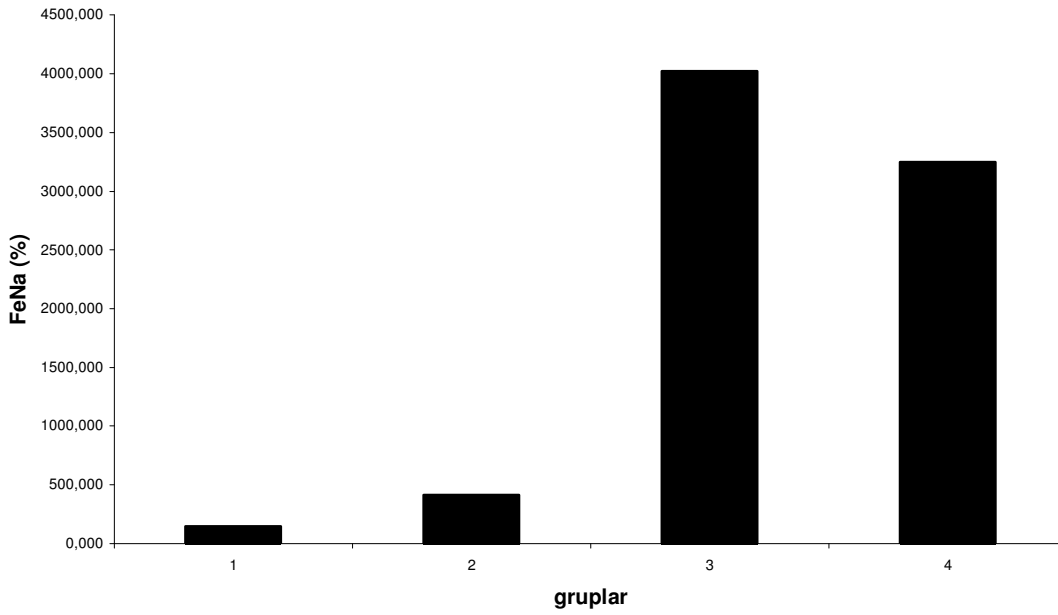


Şekil 17. Gruplara göre kreatin klirens düzeyleri dağılımı

Gruplar arası FeNa düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0.001$). Gruplar arası FeNa düzeyinde 1. grup ile 2. grup arasında $p<0.01$ düzeyinde ve 1. grup ile 3. grup arasında $p<0.01$ düzeyinde; 2. grup ile 3. grup arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tamhane çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 24’te gruplara göre dağılım Şekil 18’de gösterilmiştir.

Tablo 24. FeNa aktivitelerinin Tukey çoklu karşılaştırma testi sonuçları

	1. grup	2. grup	3. grup
2. grup	$p<0.01$		
3. grup	$p<0.01$	$p<0.05$	
4. grup	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$



Şekil 18. Gruplara göre FeNa düzeyleri dağılımı

Histopatolojik Sonuçlar

Çalışmamızda böbrek dokularının histopatolojik incelenmesinde; 100 alanda nekroz ve kast miktarı her bir sıçan için hesaplandı ve % nekroz ve % kast değerleri için her bir grubun ortalamaları hesaplanarak Tablo 25'te verildi.

1. gruptaki sıçanların hematoxilen-eosin (HE) boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; hiçbirinde tübül içlerinde hücre kastle (debris) görülmedi. Tübüllerde nekroz yoktu. Bazı kesitlerde %25-50 arasında değişen oranlarda tübüler dilatasyon mevcuttu. Rejenerasyon yok denecek kadar azdı. Glomerüllerde herhangi bir değişiklik izlenmedi. Peritübüler stromada ödem yanısıra kan damarlarında konjesyon mevcuttu. Tübüllerde minimal derecede hidropik şişmiş ve vakuollu sitoplazmalı hücreler dikkati çekti (Şekil 19).

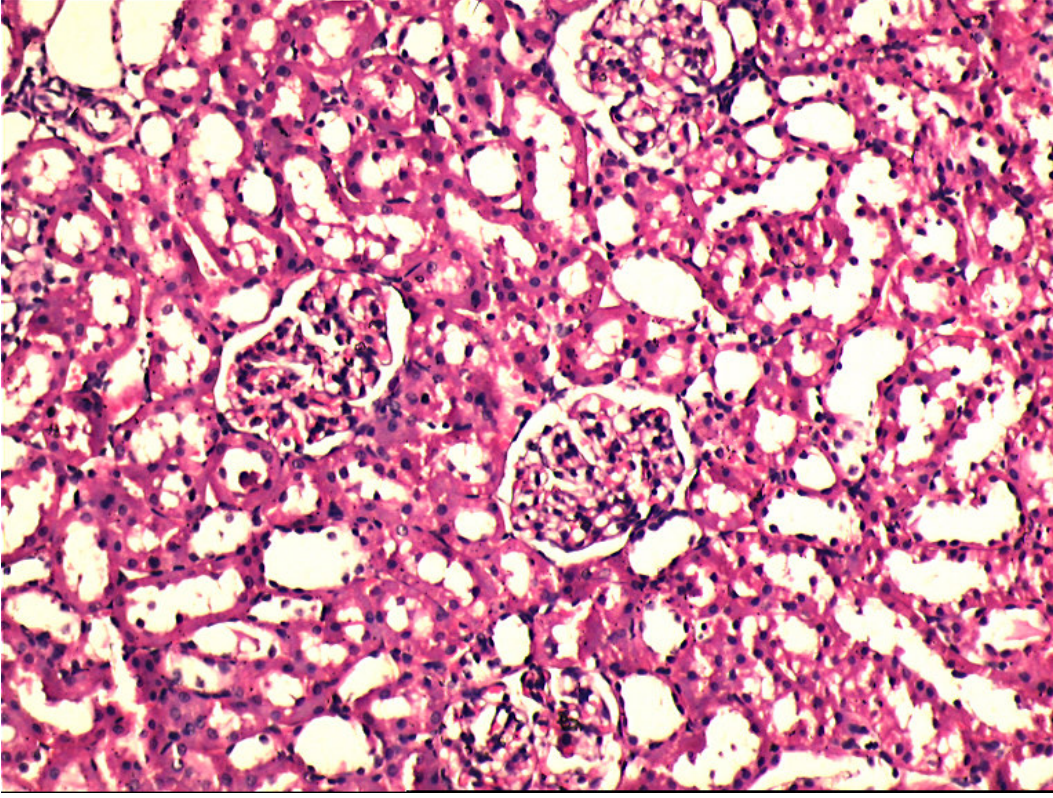
2. gruptaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; tübül içi hücre kast birikimine rastlanmadı. Glomerüllerde bir değişiklik göze çarpmadı. Tübüler hücre rejenerasyonu sağlıklı kontrole göre biraz daha belirgindi. Tübüler hücrelerde daha belirgin hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekmekteydi. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon izlendi (Şekil 20).

3. gruptaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopisinde incelendiğinde; korteksteki proksimal tübül epitelinde %96'ya varan oranlarda nekroza rastlandı (tübüler nekroz ortalama %80.3). Glomerüllerle proksimal tübüller arasında bulunan distal tübüller nispeten korunmuş görünümdeydiler. Proksimal, distal ve kolektör tübül lümeninde subkortikal alandan başlayan ve renal pelvise kadar uzanan kast şeklinde dens proteinöz madde birikimi (tübüler kast ortalama %14.09) izlendi. Tübüllerde belirgin bir dilatasyon vardı. Tübüler hücrelerde hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekti. Glomerüllerde bir değişiklik görülmedi. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübüler hücrelerde rejenerasyon izlenmekteydi (Şekil 21).

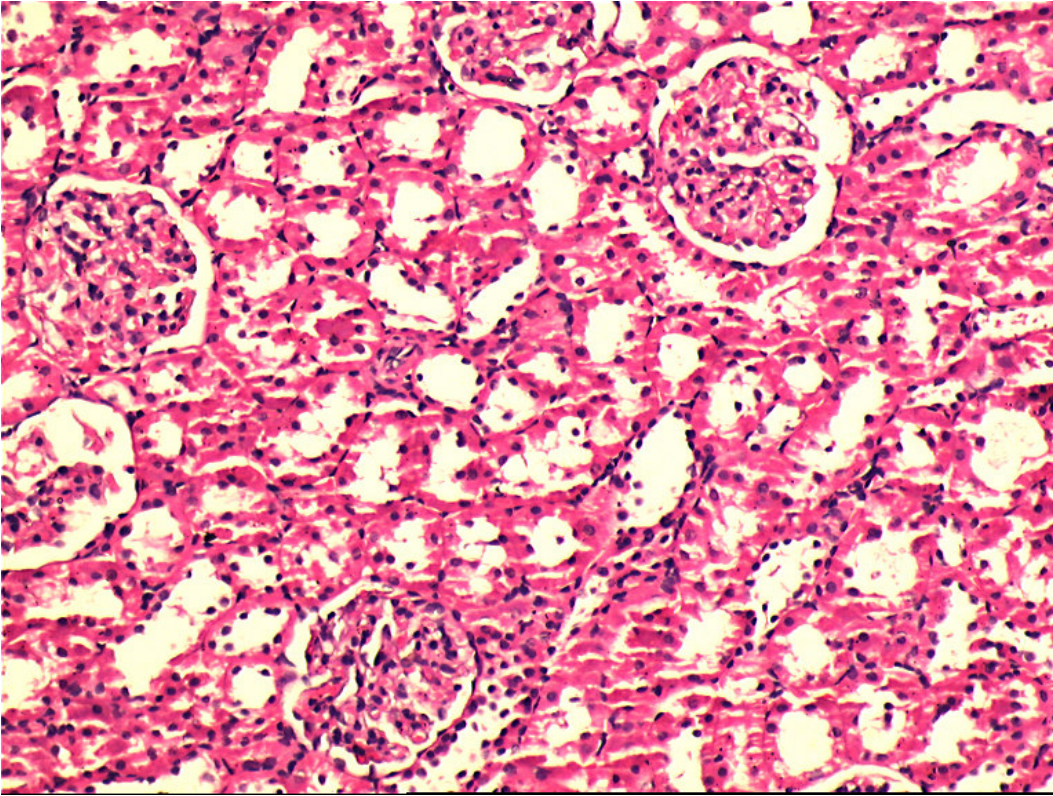
4. gruptaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopisinde incelendiğinde; 3. gruba oranla proksimal tübül epitelinde nekroz ve kast miktarı $p<0.05$ düzeyinde anlamlı olarak azaldığı izlendi (tübüler nekroz ortalama %64.4; tübüler kast ortalama %12.10). Tübüllerde belirgin bir dilatasyon vardı. Tübüler hücrelerde hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon görüldü. Glomerüllerde bir değişiklik görülmedi. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübüler hücrelerde rejenerasyon izlenmekteydi.

Tablo 25. Grupların histopatolojik nekroz ve kast miktarlarının % olarak değerleri

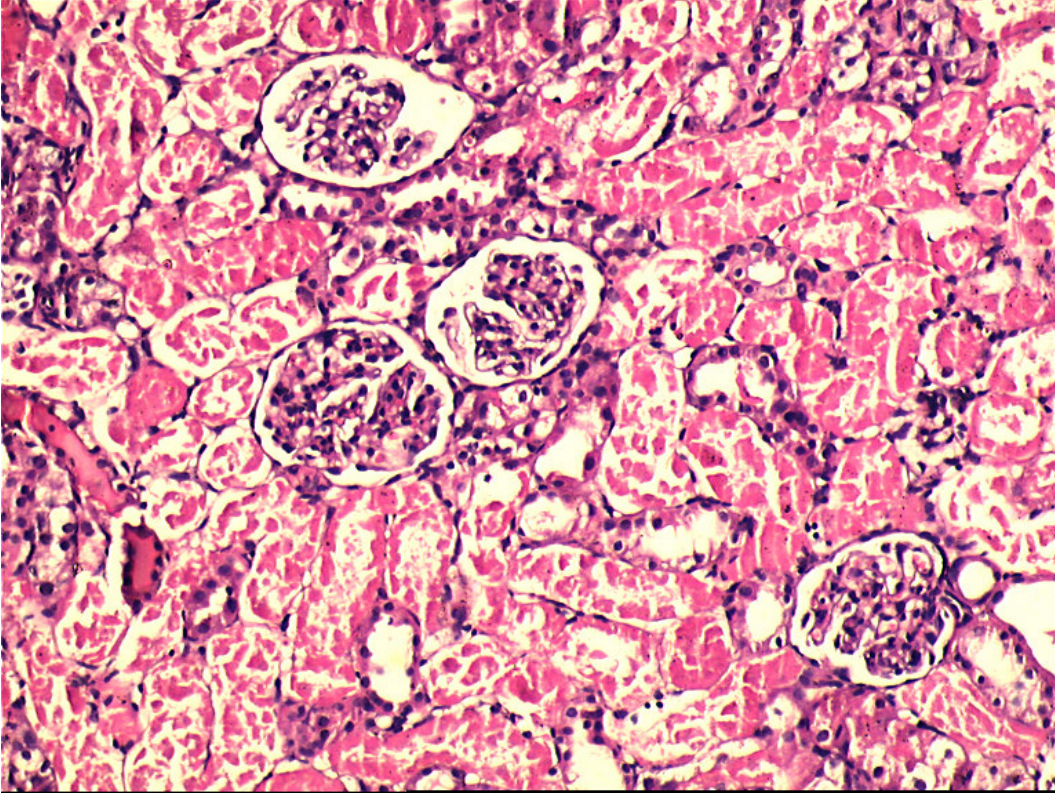
SN	1. grup		2. grup		3. grup		4. grup	
	Nekroz %	Kast %	Nekroz %	Kast %	Nekroz %	Kast %	Nekroz %	Kast %
1	0	0	0	0			75	11.8
2	0	0	0	0	88	14.6	64	10.3
3	0	0	0	0	94	15.2	58	13.0
4	0	0	0	0	90	10.5	52	9.7
5	0	0	0	0			60	11.3
6	0	0	0	0	92	14.4	85	17.8
7	0	0	0	0	76	15.9	70	13.2
8	0	0	0	0	42	12.0	62	11.8
9	0	0	0	0	65	13.4	40	8.8
10	0	0	0	0	80	14.1	78	13.3
Ort. ± SD	00.00 ± 00.00	00.00 ± 00.00	00.00 ± 00.00	00.00 ± 00.00	78.38 ± 17.60	13.76 ± 1.76	64.40 ± 13.20	12.10 ± 2.51



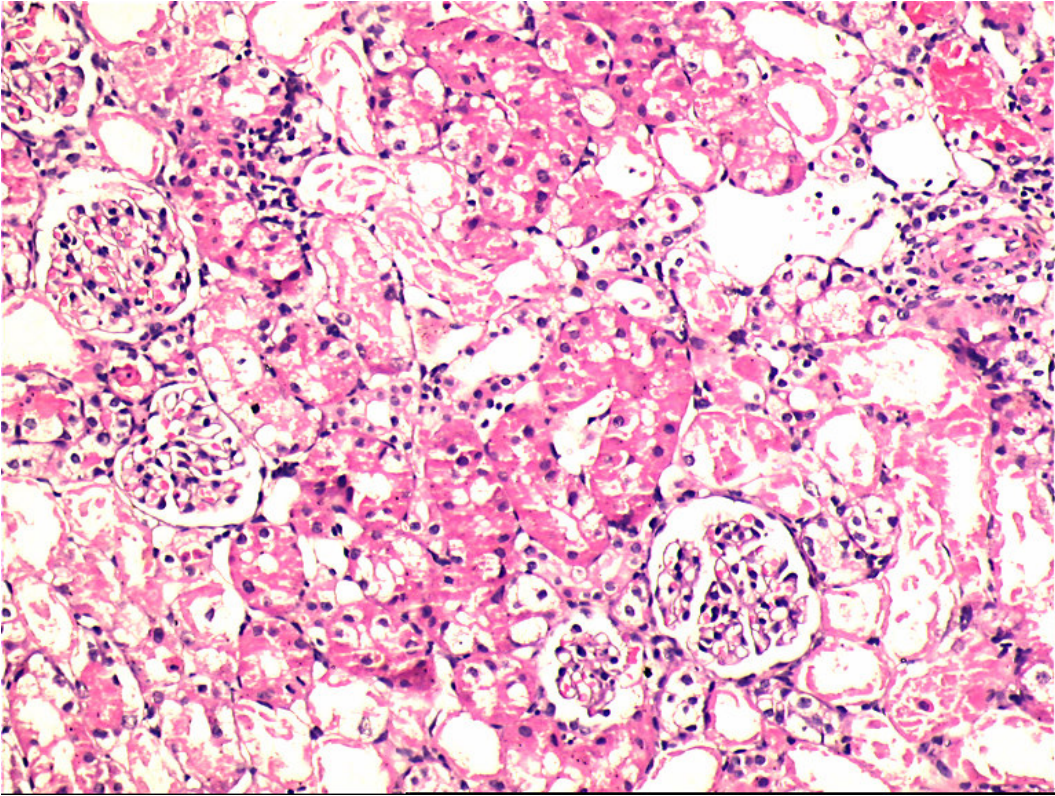
Şekil 19. 1. grubun normal böbrek kesiti (HE x 200)



Şekil 20. 2. grubun böbrek kesiti (HE x 200)



Şekil 21. 3. grubun böbrek kesiti (HE x 200)



Şekil 22. 4. grubun böbrek kesiti (HE x 200)

TARTIŞMA

Büyük felaketler sonrasında travma sonucu oluşan kas hasarına bağlı olarak gelişen akut böbrek yetmezliği vakaları sıklıkla görülmektedir. Çizgili kas hücrelerinin harabiyeti olarak tanımlanan rabdomiyoliz sonrasında birçok sistemik sorunla karşılaşılabilir. Bunların en önemlisi ise, akut böbrek yetmezliğidir. Doğal felaketler arasında en sık depremler görülmektedir. Depremler hem dünya ülkelerinde hem de ülkemizde sıklıkla görülmekte ve yakın bir gelecekte yeni afetlerin de beklendiği belirtilmektedir. Depremler sırasında ölümlerin en sık nedeni bekleneneği gibi travmanın direkt etkisidir. İkinci sıradaki ölüm nedeni ise, ezilme sendromu ve yol açtığı komplikasyonlardır (3,68).

Hipertonik gliserolün im verilmesi sıçanlarda deneysel rabdomiyolize sekonder olarak gelişen ABY oluşturmak için en çok kullanılan ve kabul gören bir model olmuştur. Bu model insanlardaki miyoglobürik ABY'nin deneysel modeli olarak kullanılmaktadır (39,42,69-72). Hipertonik gliserolün im enjeksiyonu bölgesel miyoliz, hemoliz ve intravasküler hacim azalmasına neden olur. İntravasküler 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'ı yakalayıcı etkileri renal damarlarda konstriksiyona neden olur. Farklı deneysel ABY modellerinde, NO azalmasının ABY patogenezi şiddetlendirdiği, NO artışının koruyucu rol oynadığı rapor edilmektedir. Hipertonik gliserolün im verilmesiyle oluşturulan ABY modelinde; hem proteinlerinin direkt NO'ı yakalayıcı etkileri nedeniyle böbreklerde hipoperfüzyona ve direkt doku hasarına yol açabileceği rapor edilmektedir (2,39,69)

Serbest radikaller miyoglobürik ABY'nde içinde yer aldığı farklı böbrek hastalıklarının patogenezi önemli rol oynamaktadır. Serbest radikaller diğer organ ve

dokularda olduğu gibi böbrek hasarının oluşumunda da kritik bir rol oynamaktadır. Serbest oksijen radikalleri değişik alt türlerine bağlı olarak farklı vazoaaktif etkiler oluştururlar (39,69,70). ABY'nin ya da sıklıkla aynı anlamda kullanılan ATN'nin başlangıç ve yerleşim fazlarında; endotelyal şişme ve hasar, hasarlanmış endotele lökosit adhezyonu, endotelden salınan vazokonstriktör maddelerin artması, endotel kaynaklı vasküler gevşemenin bozulması, vazokonstriktör maddelere karşı duyarlılık artışı, nöral uyarıya duyarlılıkta artış, artmış dinlenim damar tonusu ve otoregülasyonda bozukluklar görülür. Bu etkiler temelde, renal hemodinamik ve vasküler bozukluklara neden olur ve bu bozuklukların çoğunda serbest radikaller rol oynayabilir. Gliserol verilerek oluşturulan miyoglobinin ABY'inde, oksidan maddelerin oluşumuna sebep olduğu vazokonstriktif maddelerin hem proteinlerinin oluşturduğu böbrek hasarını arttırdığı bildirilmektedir (73).

Rabdomiyolizde meydana gelen hem proteinlerinin oluşturduğu ATN hem proteinlerinin vazokonstriktif etkileri sonucu oluşan iskemiyle birlikte görülür. İskemik dokudaki oksidatif hasar mekanizmalarından birisi oksidanlara bağlı olarak iskemi süresince glutasyon miktarının tükenmesi ile ilişkilidir. İskemi sonucu glutasyonun tükenmesi nefrotoksinlerin vazokonstriktör etkilerini artırır (73). Ayrıca iskemik dokuda SOD, CAT ve GPx gibi enzimlerin inaktivasyonu da hızlanır. Bu durumda hücre reperfüzyon sırasında hızla oluşan oksijen radikallerinin etkisine daha duyarlı hale gelir (74).

Sarımsak diyetinin sağlığa yararları yüzyıllardır kabul edilmektedir. Sarımsak, organosülfür komponentleri bakımından zengin olduğundan farmakolojik aktivitesinin en çok buna bağlı olduğu düşünülmektedir (75). Sarımsağın; immün bozukluk, intestinal düzensizlik, arteroskleroz, kanser, artrit, respiratuvar enfeksiyon, yaşlanma karşıtı, hipolipidemik, hipoglisemik, antihipertansif, ve antitrombolitik etkilerinin olduğu bildirilmektedir (9,51,54,56,76). Sarımsağın en önemli etkilerinden biri de, hastalıklara karşı koruyucu olmasında rol oynayan antioksidan etkisidir. Sarımsağın antioksidan etkilerinin, reaktif oksijen türevlerinin temizlenmesi, lipid peroksit oluşumunun engellenmesi ve LDL oksidasyonunu inhibe edilmesinde, endojen antioksidan sistemleri arttırmasının rolü olduğu bildirilmektedir. Sarımsağın antioksidan aktivitesi, aktif komponentlerinin türüne bağlı olarak değişir. Yapılan çalışmalar, her komponentin farklı antioksidan aktiviteye ve güce sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır (9). Banerjee ve ark. (56) sarımsağın, SOD ve katalaz gibi endojen antioksidan enzim düzeylerini arttırarak böbrek ve karaciğer hücrelerinde oksidatif hasara karşı koruyucu olduğunu göstermişlerdir.

ABY mortalite hızında diyaliz ve tıp alanındaki ilerlemelere rağmen son 30 yıl içerisinde bir azalma görülmemiştir. Yüksek mortalite hızı, diyaliz tedavisindeki maliyetin

yüksekliği ve kalıcı böbrek hasarlarının oluşması nedeniyle, ABY'nin önlenmesi ya da hastalığın şiddetinin azaltılmasına yönelik tedavi şekillerinin denenmesi artarak devam etmektedir (77). Depremde akut travmanın etkisiyle görülen ölümler karşısında yapabilecek bir şey yoktur; bu nedenle felaketler sonrasında can kaybını azaltmanın en etkin çaresi ezilme sendromunu ve tedavisini iyi bilmektir (3).

Çalışmamızda miyoglobinürik ABY deneysel modeli kullanılarak sarımsağın miyoglobinürik ABY üzerine etkileri araştırıldı. Kas içi ve oral olarak FS uygulanan ve sağlıklı kontrol grubu olarak kabul edilen 1. grubun tüm parametreleri bazal olarak alındı. Bu gruptaki deneklerin HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; glomerüllerde, tübülüslerde ve interstisyel alanda belirgin bir patolojik bulguya rastlanmadı.

Sarımsağın sağlıklı hayvanlarda etkisinin incelendiği; kas içi FS ve oral olarak sarımsak verilen 2. grup ile 1. grup parametreleri karşılaştırıldığında doku NO düzeylerinde $p < 0.05$ düzeyinde artma gözlemlendi. Çalışmamızda doku NO düzeyindeki artış, daha önce yapılan çalışmalarda sarımsağın NO düzeyini arttırarak oluşturmuş olduğu hipotansif etkisiyle uyum göstermektedir. Ayrıca, sarımsağın arginin içermesi nedeniyle NO sentezini arttırdığı bildirilmiştir (78). Çalışmamızda sarımsak verilen 2. grupta idrar sodyum atılımında $p < 0.01$ ve FeNa'da $p < 0.01$ düzeyinde artış görüldü. Sağlıklı sıçanlarda görülen sarımsağın bu etkisi, daha önceki çalışmalarda natriüretik ve diüretik etkilerine bağlı olarak, hipotansif etki oluşturduğu ve in vitro olarak $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPaz}$ pompasını da inhibe ettiği rapor edilmiştir (78). Pantoja ve ark. (79) tarafından anestezi altındaki köpeklerde yapmış olduğu çalışmada, idrar sodyum atılımını arttırdığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada sarımsağın diüretik ve natriüretik etkisinin böbrekteki $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPaz}$ aktivitesini inhibe ederek gösterdiği rapor edilmiştir. Sarımsak verilen 2. grup sıçanlarda MDA, GSH düzeyi, SOD, CAT, GPx enzim aktivitelerinde, böbrek fonksiyonu parametrelerinde ve histopatolojik bulgular 1. grup parametreleri ile karşılaştırdığımızda anlamlı farklılık olmadığı görüldü. Kabasakal ve ark. (80) tarafından sıçanlarda böbrek iskemi reperfüzyon hasarına karşı sarımsağın etkisinin araştırıldığı çalışmalarında kontrol grubu ile sadece sarımsak verdikleri gruplar arasında böbrek fonksiyonları, MDA ve glutatyon düzeyleri, histopatolojik bulgular arasında anlamlı farklılığın olmadığını bildirmişlerdir. Pedraza-Chaverri ve ark. (81) sıçanlarda gentamicin vererek oluşturdukları böbrek hasarı ve oksidatif strese karşı sarımsağın kontrol grubu ile sağlıklı hayvanlara sarımsak verilen grupta böbrek fonksiyonları, plazma GPx aktivitesinde, böbrek SOD, CAT ve GPX enzim aktiviteleri arasında anlamlı farklılığın olmadığını gösterilmiştir. Bu çalışmalardaki sonuçlar ile sonuçlarımız arasında uyumluluk görülmektedir.

Kas içi gliserol uygulanarak miyoglobinürik ABY geliştirilen ve oral FS verilen 3. grup sıçanlarda, 1. grup ile karşılaştırıldığında MDA düzeyinde $p < 0.01$ düzeyinde artma, GSH düzeyinde $p < 0.01$, SOD, GPx ve CAT enzim aktivitelerinde $p < 0.001$ düzeyinde azalma görüldü. Gliserolün im verilmesiyle oluşturulan miyoglobinürik ABY’inde serbest oksijen radikallerinin rolü yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Miyoglobinüri sırasında sıçan böbreğinde H_2O_2 üretiminin arttığı bildirilmektedir. H_2O_2 serbest demir varlığında Haber-Weis ve Fenton reaksiyonlarıyla daha toksik olan $\cdot OH$ radikaline dönüşmektedir (4). Nath ve ark. (82) deneysel miyoglobinürik ABY’inde serbest demirin sebep olduğu oksidatif hasarda hem oksijenaz (HO) enzimi ve ferritinin kritik rol oynadığını rapor etmişlerdir. HO enzimi protoporfirin halkasının parçalanmasında rol oynayarak serbest demirin açığa çıkmasında ve ferritinin intrasellüler düzenlenmesinde rol oynar. Ayrıca ferritinin oksidatif strese karşı intrasellüler koruyucu sistemde rol aldığı ileri sürülmektedir (83). HO serbest demirin sebep olduğu doku hasarına karşı savunmada da anahtar rol oynar. HO enzimi aktivite artışının koruyucu olduğu, inhibisyonunun ise ABY patogenezini şiddetlendirdiği rapor edilmektedir. Aynı çalışmada gliserol verilerek miyoglobinürik ABY geliştirilen grupta CAT ve GPx enzim aktivitelerinin de anlamlı düzeyde azaldığı rapor edilmiştir (82). Paller (49) bu modelde verilen desferoksamin (DFO) ve 2,3 dihidrobenzoik asit gibi demir şelatörlerinin koruyucu bir rol oynadıklarını belirtmektedir. DFO ve $\cdot OH$ radikal süpürücülerinin, im gliserol verilerek oluşturulan miyoglobinürik ABY’de oluşan oksidatif hasara karşı koruyucu rol oynadıklarını, lipid peroksidasyonunun böbreklerde anlamlı düzeyde yükseldiği ve $\cdot OH$ radikal süpürücülerinin MDA’nın artışını engellediği belirtilmektedir (4,50).

Daha önce yapılan çalışmalarda gliserol verilerek miyoglobinürik ABY oluşturulan sıçanların böbreklerinde, serbest radikallerin neden olduğu hasarın bir göstergesi olan lipid peroksidasyonun son ürünü MDA seviyesinin anlamlı düzeyde arttığı bildirilmiştir. Çalışmamızda MDA seviyesindeki anlamlı artış araştırmacıların bulguları ile uyumludur (49,50,84,85).

Deneysel miyoglobinürik ABY modelinde daha önce yapılan çalışmalarda GSH düzeyinin çalışmamızla uyumlu olarak anlamlı düzeyde azaldığı birçok araştırmada rapor edilmiştir (17,52,86). Abul-Ezz ve ark. (52) tarafından miyoglobinürik akut böbrek yetmezliği modelinde eksojen glutatyonun verilmesinin koruyucu rol oynadığı belirtilmektedir. Aynı çalışmada L-buthionine-sulfoximine verilerek glutatyon miktarının azalması sağlanmış ve bu durumun ABY prognozunu kötüleştirdiği bildirilmiştir. Gliserol verilerek miyoglobinürik akut böbrek yetmezliği oluşturulan daha önceki çalışmalarda SOD, CAT, glutatyon peroksidaz enzim aktivitelerinin anlamlı düzeyde azaldığı rapor edilmiştir (8,17,86-89).

Çalışmamız 3. grup deneklerindeki böbrek dokusu NO düzeylerinde $p<0.05$ düzeyinde azalma görüldü. Bu modelde yapılan çalışmalarda NO ve NOS enziminin inhibisyonunun patogenezi kötüleştirdiği, NO verilmesinin koruyucu etki oluşturduğu belirtilmektedir (2,39). Valdivielso ve ark. (90) tarafından im gliserol verilerek oluşturulan miyoglobinin ABY'de glomerüler NO üretiminin azaldığı ve bu durumun böbrek fonksiyonlarının azalmasında önemli rol oynadığı ifade edilmektedir. Ayrıca tek taraflı nefrektomi sonrasında glomerüllerde NO sentezinin arttığı ve bu durumun da gliserol ile oluşturulan ABY'ne karşı koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir. Laboratuvarımızda, daha önce gliserol vererek oluşturulan deneysel miyoglobinin akut böbrek yetmezliği çalışmalarında da kontrol grubuna göre böbrek NO düzeyinin anlamlı düzeyde azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmamızdaki doku NO bulguları ile önceki çalışmalardaki bulgular benzerlik göstermektedir. Bizim önceki çalışmalarımızda ve diğer araştırmacıların çalışmalarında gliserol ile oluşturulan akut böbrek yetmezliği modelinde NO düzeyinin azaldığı görülmektedir ve buna bağlı olarak da böbreklerde kan akımının azaldığı rapor edilmiştir (28,44,91). Çalışmamızda P_{NO} miktarında $p<0.01$ düzeyinde artma görüldü. Çalışmamızda plazma NO düzeyindeki artış daha önce laboratuvarımızda yaptığımız çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermemektedir (8,88,89). Çalışmamızda \dot{I}_{NO} düzeyinde $p<0.001$ oranında azalma gözlemlendi. Çalışmamızda görülen idrar NO (nitrat-nitrit atılımı) düzeyindeki artış yakın zamanda yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (28,44,91).

$P_{üre}$ ve P_{krea} düzeyinde $p<0.001$ değerinde artma görüldü. Glomerüler fonksiyon bozukluğunun bir göstergesi olan $P_{üre}$ ve P_{krea} seviyeleri 1. gruba göre $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artış görüldü. $P_{üre}$ ve P_{krea} düzeylerindeki anlamlı artış daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışma sonuçları ve diğer araştırmacıların bu modelde yapılan çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (2,4,5,8,28,44,84,88,89,91-94). Kreatin klirensinde $p<0.001$ düzeyinde azalma görüldü. Huang ve ark. (95) tarafından gliserol vererek oluşturulmuş olan miyoglobinin akut böbrek yetmezliğinde glomerüler filtrasyon hızının belirlenmesinde kullanılan inülin klirensinin anlamlı düzeyde azaldığı gösterilmiştir. Kim ve ark. (11) bu modelde yapmış oldukları çalışmada glomerüler filtrasyon hızının belirlenmesinde kullanılan kreatinin klirensinin anlamlı düzeyde azaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar bizim çalışmamızda bu grupta elde ettiğimiz sonuçlar ile benzerlik göstermektedir (44).

P_{Na^+} miktarında $p<0.05$ düzeyinde azalma, \dot{I}_{Na^+} miktarında $p<0.01$ ve FeNa atılımında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı artma görüldü. Tübüler fonksiyonun bir belirteci olan FeNa'daki artış, çalışmamızda, önceki çalışmalarda olduğu gibi tübüler fonksiyonların bozulduğunu

göstermektedir (87). Çalışmamız sonuçları Kim ve ark. (11) tarafından yapılmış olan ve sıçanlarda gama-amino bütirik asidin etkisinin araştırıldığı çalışmanın sonuçları ile uyumluluk göstermektedir.

Gliserol verilerek miyoglobinürik akut böbrek yetmezliği oluşturulan 3. grup sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopisinde incelendiğinde; korteksteki proksimal tübül epitelinde %96'ya varan oranlarda nekroza rastlandı (%78.38 ± 17.60). Proksimal, distal ve kolektör tübül lümeninde subkortikal alandan başlayan ve renal pelvise kadar uzanan kast şeklinde dens proteinöz madde birikimi (%13.76 ± 1.76) izlendi. Tübüllerde belirgin bir dilatasyon vardı. Tübüler hücrelerde hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekti. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Bu bulgularımız daha önce yapılan çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir (8,88,89,93,96).

Kas içi gliserol uygulanarak miyoglobinürik ABY geliştirilen, gliserol enjeksiyonuyla 1 ve 24 saat sonra 250 mg/kg dozunda oral yolla sarımsak verilen 4. grup sıçanlarda elde edilen sonuçlar ile 3. grupta elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında; doku NO oranlarında $p<0.001$ düzeyinde artış, SOD enzim aktivitesinde $p<0.001$ düzeyinde artış ve MDA düzeyinde $p<0.01$ oranında azalma saptandı. Bu grubun HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopisinde incelendiğinde; 3. gruba oranla proksimal tübül epitelinde nekroz ve kast miktarının $p<0.05$ düzeyinde anlamlı olarak azaldığı görüldü (tübüler nekroz ortalama %64.40 ± 13.20; tübüler kast ortalama %12.10 ± 2.51). Diğer bulgular arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi.

Hipertonik gliserolün im verilmesiyle oluşturulan miyoglobinürik ABY modelinde sarımsağın etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Sarımsağın in vitro ve in vivo şartlarda endojen antioksidan sistemi güçlendirdiği rapor edilmektedir (76). Farklı organ ve dokulardaki hasara karşı sarımsağın birçok çalışmada güçlü antioksidan etkisinin olduğu ve NO düzeyini arttırdığı gösterilmiştir (57,97-102). Sarımsağın serbest radikallere karşı göstermiş olduğu antioksidan etkisinin, sarımsağın yapısında bulunan allil sistein, alliin, alisin ve allil disülfid gibi bileşiklere bağlı olarak gösterdiği rapor edilmiştir (103). Pal ve ark. (100) tarafından isoniazid ve rifampisin sığın karaciğerinde oluşturduğu hasara karşı 250 mg/kg dozunda 28 gün boyunca taze olarak hazırlanan sarımsak homojenatının lipid peroksidasyonunu azalttığı ve glutasyon düzeyini arttırarak koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir. Duda ve ark. (106) tarafından hipertansif kişilere sarımsak verilmesinin E vitamini düzeyini arttırdığı, plazma lipid peroksidasyonu düzeyini azalttığı bildirilmiştir. Şener ve ark. (57) tarafından kronik nikotin toksisitesine karşı nikotin ile birlikte 21 gün boyunca 125

mg/kg sarımsak verilmesinin serum, aort, kalp, böbrek ve mesanede artmış olan lipid peroksidasyonu düzeyini azalttığı; nikotin verilen grupta düşmüş olan glutasyon düzeyini ise arttırdığı rapor edilmektedir. Balasenthil ve ark. (60) tarafından hamsterlarda DMBA'nın oluşturmuş olduğu kansere karşı 250 mg/kg dozunda 14 hafta boyunca haftada 3 kez sarımsak verilmesinin artmış eritrosit lipid peroksidasyonunu azalttığı, azalmış glutasyon düzeyi ile GPx, SOD ve CAT enzim aktivitelerini ise arttırdığı bildirilmiştir. Yüncü ve ark. (97) tarafından da kemoterapik amaçla kullanılan metotraksatin oluşturduğu ince barsak hasarına karşı 7 gün boyunca 250 mg/kg dozunda sarımsak verilmesinin lipid peroksidasyonunu azalttığı rapor edilmiştir. Chang ve ark. (101). tarafından hücre kültüründe sarımsağın NO düzeyini arttırdığı rapor edilmiştir. Morihara ve ark. (105). tarafından sağlıklı farelerde yaptıkları sarımsağın NO üretimi üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmalarında sarımsağın NO üretimini %30 ile %40 arasında arttırdığı bildirilmektedir. Al-Quattan ve ark. (78) tarafından sıçanlarda 2 böbreğe klip uygulayarak oluşturmuş oldukları hipertansiyon modelinde 500 mg/kg dozunda sarımsak verilmesinin NO düzeyini artırarak kan basıncını düşürdüğü rapor edilmektedir. El-Shenawy ve Hassan'ın (104) civa klorürle oluşturmuş oldukları böbrek ve karaciğer hasarına karşı sıçanlarda 63 mg/kg dozunda 30 gün süre ile sarımsak verilmesinin böbrek ve karaciğer fonksiyonlarını koruduğu rapor edilmiştir. Kabasakal ve ark. (80) tarafından böbrek iskemi reperfüzyonuna karşı 500 mg/kg dozunda ip olarak sarımsak verilmesinin üre ve kreatinin düzeylerini azaltarak böbrek fonksiyonlarını koruduğu, artmış MDA düzeyini azalttığı, azalmış glutasyon düzeyini arttırdığı ve histopatolojik olarak oluşan nekroz ve kaslara karşı koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir. Chaverri ve ark. (81) tarafından gentamicinin oluşturduğu oksidatif strese karşı %2 oranında sarımsak diyetinin 2 hafta boyunca verilmesinin böbrek fonksiyonlarını koruduğu, histolojik tübüler hasarı azalttığı, lipid peroksidasyonunu azalttığı ve SOD ve glutasyon peroksidaz enzim aktivitesini arttırdığı; katalaz enzim aktivitesinde ise anlamlı bir farklılığın olmadığı bildirilmiştir. Durak ve ark. (102) tarafından siklosporinin böbrekte oluşturmuş olduğu nefrotoksisiteye karşı sarımsak verilmesinin SOD, CAT, GPx enzim aktivitelerinde anlamlı farklılık oluşturmadığı, buna karşın, siklosporin verilen grupta yükselmiş olan MDA düzeyinin anlamlı düzeyde azaldığı rapor edilmiştir. Yine Wongmekiat-Thamprasert ve ark. (55) tarafından siklosporin vererek oluşturmuş oldukları hasara karşı 250 mg, 500 mg, 1000 mg ve 2000 mg/kg dozunda 13 gün (siklosporin verilmesinden 3 gün önce ve 10 gün birlikte) boyunca sarımsak verilmesinin doz bağımlı olarak serum üre, kreatinin düzeylerini azalttığı, kreatin klirensini 1000 ve 2000 mg/kg dozunda sarımsak verilen gruplarda anlamlı düzeyde ve FeNa'yı ise 500, 1000 ve 2000 mg/kg dozunda verilmesinin kontrol grubuna yaklaştırdığı

rapor edilmiştir. Ayrıca, 500, 1000 ve 2000 mg/kg dozlarında histopatolojik değişikliklerin anlamlı düzeyde azaldığı gösterilmiştir. Chaverri ve ark. (59) tarafından potasyum dikromat ile oluşturulan oksidatif stres ve nefrotoksisiteye karşı 1 ay boyunca %2 oranında sarımsak diyetinin verilmesinin üre ve kreatin ile renal MDA düzeyini azalttığı ve serum GPx aktivitesini arttırdığı rapor edilmiştir .

Yukarıda özetlenen daha önce yapılmış çalışmalarda sarımsağın farklı organ ve dokularda ve böbrek hasarına karşı koruyucu rol oynadığı bildirilmektedir. Çalışmamızda kas içi gliserol uygulanarak miyoglobinürik ABY geliştirilen ve 250 mg/kg dozunda oral yolla sarımsak verilen grupta; doku NO $p<0.001$ düzeyinde, SOD enzim aktivitesinde $p<0.001$ düzeyinde artış ve MDA düzeyinde $p<0.01$ oranında azalma saptandı. Bu grubun nekroz ve kast miktarının $p<0.05$ düzeyinin de anlamlı olarak azaldığı görüldü. Bizim çalışma sonuçlarımızdaki böbrek fonksiyonlarının, CAT ve GPx aktiviteleri, GSH düzeylerinin daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olmaması; sarımsağın dozu, veriliş yolu, verilme zamanı, verilme sürelerindeki farklılıklar ve miyoglobinürik ABY oluşum mekanizmasında etkili faktörlerin diğer böbrek hastalıklarından farklı olmasına bağlı olabilir. Sarımsak, daha önceki böbrek hasarı oluşturulan modellerdeki çalışmaların çoğunda bu hasardan önce verilmiştir. Bizim çalışmamızda sarımsağın gliserol enjeksiyonundan önce verilmesi klinik duruma uygun olmayacağı için, biz sarımsağı gliserol enjeksiyonundan 1 saat sonra vermeyi uygun gördük.

Çalışmamızda sarımsağın bazı olumlu etkileri saptanmış olmasına rağmen, bütün bu bulgular ve gözlemler, deneysel miyoglobinürik ABY modelinde sarımsak etkisini kesin olarak göstermede yetersiz kalmaktadır. Bu konuda sarımsağın dozu, veriliş yolu, verilme zamanı ve verilme sürelerinde yapılacak düzenlemeler ile etkilerini araştıran daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

SONUÇ

Çalışmamızda hipertonic gliserolün im verilmesiyle oluşturduğumuz miyoglobinürik ABY'de sarımsağın antioksidan enzimler, MDA, NO düzeyi ve böbrek fonksiyonlarına etkilerini inceledik. Sarımsağın, bu modelde etkisi bilgilerimize göre ilk kez araştırıldı. Sonuçlar incelendiğinde;

1. ve 2. grup arasında, doku NO, FeNa ve \dot{I}_{NO} düzeylerinde artma gözlendi.

1. ve 3. grup arasında, MDA, $P_{üre}$, $P_{kreatin}$, P_{NO} , \dot{I}_{Na}^+ ve FeNa düzeylerinde artma gözlenirken; GSH, doku NO, SOD, GPx, CAT, \dot{I}_K^+ , \dot{I}_{NO} , kreatin klirensi P_{Na}^+ , $\dot{I}_{üre}$, $\dot{I}_{kreatin}$ düzeylerinde ise azalma gözlendi.

3. ve 4. grup arasında, SOD, doku NO düzeylerinde artma gözlenirken; MDA düzeylerinde azalma gözlendi. Böbrek kesitleri ışık mikroskopisinde incelendiğinde; nekroz ve kast miktarının anlamlı olarak azaldığı görüldü. Çalışma sürecimizde 3. grupta iki deney hayvanımız gelişen komplikasyonlar sonucu öldü.

Bu sonuçlar ışığında, sarımsağın hipertonic gliserolün im verilmesiyle oluşturulan miyoglobinürik ABY üzerindeki etkilerinin; SOD enzim aktivitesinde ve doku NO düzeylerini arttırarak, MDA düzeyini, nekroz ve kast oluşumunu azaltarak koruyucu rol oynadığını düşünüyoruz. Sonuçlarımız sarımsağın bu modeldeki etkisini tam olarak açıklamamaktadır. Sarımsağın bu modeldeki etkisinin doz, veriliş yolu, verilme zamanı ve verilme sürelerinde yapılacak düzenlemeler ile daha kapsamlı çalışmalarla ayrıntılı olarak araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

ÖZET

SIÇANLARDA DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİNDE SARIMSAĞIN ETKİLERİ

Elif Ezgi GÜREL

Miyoglobinürük akut böbrek yetmezliği iskelet kaslarının travmatik ya da travma dışı nedenlerle hasarlanması sonucu ortaya çıkan üremik bir sendromdur. Miyoglobinürük akut böbrek yetmezliği patogeneğinde serbest radikallerin ve nitrik oksidin önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Sarımsağın farklı organ ve dokularda antioksidan etki gösterdiği ve nitrik oksit düzeyini arttırdığı rapor edilmektedir. Sarımsağın deneysel miyoglobinürük akut böbrek yetmezliğinde etkilerini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda; Trakya Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen, 180-250 gram ağırlığında 40 adet Sprague-Dawley erkek sıçan kullanıldı. 1. ve 2. grup sıçanlar fizyolojik serum, diğer gruplar intramüsküler gliserol enjeksiyonundan 24 saat önce susuz bırakıldı. 1. ve 2. grup sıçanlara fizyolojik serum, 3. ve 4. gruplardaki sıçanlara %50'lik gliserol solüsyonundan 10 ml/kg'a göre bulunan toplam hacim eşit miktarlarda hafif eter anestezisi altında her iki arka bacak kaslarına enjekte edildi. 2. grup sıçanlara intramüsküler fizyolojik serum enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra, 4. grup sıçanlara gliserol enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra oral yolla 250 mg/kg dozunda sarımsak verildi. Gliserol enjeksiyonundan 48 saat sonra sıçanların rompun-ketamin anestezisi altında kan ve böbrekleri alındı. Böbrek dokusunda nitrik oksit, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon

peroksidaz enzim aktiviteleri, glutatyon, malondialdehit düzeyi; plazmada nitrik oksit, üre, kreatinin, sodyum ve potasyum düzeyleri; idrarda nitrik oksit, üre, kreatinin, sodyum, potasyum düzeyleri ile böbrekte histopatolojik değişiklikler incelendi.

Çalışmamızın bulguları sonucunda 3. ve 4. grup arasında malondialdehit düzeyinde azalma ve doku nitrik oksit düzeyinde ve süperoksit dismutaz enzim aktivitesinde artma ile nekroz ve kast oranlarında azalma görüldü. Bu sonuçlar göz önüne alındığında sarımsağın miyoglobinürik akut böbrek yetmezliği üzerinde olumlu etkileri olduğu görüşündeyiz.

Anahtar Kelimeler: Sarımsak, Miyoglobinürik Akut Böbrek Yetmezliği, Serbest Radikaller, Nitrik oksit, Antioksidan Enzimler

SUMMARY

EFFECTS OF GARLIC ON EXPERIMENTAL MYOGLOBINURIC ACUTE RENAL FAILURE IN RATS

Elif Ezgi GÜREL

Myoglobinuric acute renal failure is a uremic syndrome which develops due to traumatic or non-traumatic causes to skeletal muscle. Free oxygen radicals and nitric oxide play a crucial role in the pathogenesis of myoglobinuric acute renal failure. Garlic has been reported to have some antioxidant effects and increases nitric oxide levels in different tissues and organs. In this study, we aimed to investigate the effect of garlic on the experimental myoglobinuric acute renal failure.

In our study, 40 male Spraque Dawley rats, 180-250 grams in weight, were used. The rats were randomly divided into 4 groups. After 24 hours water restriction in the diet, the rats in 1. groups and 2 received saline and those in 3. groups and 4, glycerol solution (50 %) were injected with at a ratio of 10 ml/kg in equal amounts in their hind limbs. One and 24 hours later, 1. groups and 3 received saline orally and 2. groups and 4 have taken 250 mg/kg of aqueous garlic. 48 hours after the glycerol injection, the blood samples and kidneys of the rats were taken under the anesthesia with xylazine-ketamin. The enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), catalase and glutathione peroxidase and the level of nitric oxide, glutathione and malondialdehit were determined in the kidney tissue. The levels of urea,

creatinine, nitric oxide, sodium and potassium were measured in the plasma samples and the levels of urea, creatinine, sodium, potassium and nitric oxide were examined in the urine specimens. Histopathological changes were also studied.

The findings of study showed that when the 4. group compared to 3. group, the tissue MDA levels decreased, tissue nitric oxide levels and SOD enzyme activity significantly increased. In addition, necrosis and cast percentage significantly decreased. In the conclusion, we may suggest that garlic may have a protective effect on the experimental myoglobinuric ARF.

Key words: Garlic, Miyoglobinuric Acute Renal Failure, Free Radicals, Nitric oxide, Antioxidant Enzymes

KAYNAKLAR

1. Akpolat T, Ulaş C, Süleymanlar G. Nefroloji el kitabı. Nobel tıp kitabevleri 2000:249-67.
2. 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; 0:1-9.
3. Sever MŞ. Crush (ezilme) sendromu ve Marmara depreminden çıkarılan dersler. İstanbul: Türk Nefroloji Derneği Yayınları, 2002; 13-74.
4. Shah SV, Walker PD. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in glycerol-induced acute renal failure. Am J Physiol 1988; 255:F438-43.
5. Ishizuka S, Yano T, Hagiwara K, Sone M, Nihei H, Ozasa H, Horikawa S. Extracellular signal-regulated kinase mediates renal regeneration in rats with myoglobinuric acute renal injury. 1 Biochem Biophys Res Commun 1999; 254:88-92.
6. Vanholder R, Sever MS, Ereğ E, Lameire N. Rhabdomyolysis. J Am Soc Nephrol 2000; 11:1553-61.
7. Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. Am J Kid Dis. 1997; 29(3):465-77.
8. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Taskiran R, Tastekin E, Kaymak K. Protective effects of L-Carnitine on myoglobinuric acute renal failure in rats. Clin Exp Pharmacol 2006; 33:119-24.
9. Atmaca G. Sarımsağın ve tiol içeren bazı bileşiklerin antioksidatif etkileri. Trakya Üniv Tıp Fak Derg 2003; 20(1-3):54-60.

10. Albright RC, Do J. Acute renal failure: A practical update. *Mayo Clin Proc* 2001; 76: 67-74.
11. 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;42:2009-14.
12. Thadhani R, Pascual M, Bonvertre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996;334(22):1448-60.
13. Beter OS. History of the Crush syndrome: from the earthquakes of Messina, Sicily 1909 to Spitak, Armenia 1988. *Am J Nephrol* 1997;17:392-4.
14. Arık N. Akut böbrek yetmezliğinde tanımlamalar ve klinik değerlendirme. In: Arık N, editör. *Nefroloji*. İstanbul: Deniz Yayıncılık, 2001; 155-61.
15. Lameire N. The pathophysiology of acute renal failure. *Crit Care Clin* 2005; 197-210.
16. Türk nefroloji derneği yayınları. Türkiye 2006 yılı ulusal hemodiyaliz, transplantasyon ve nefroloji kayıt sistemi raporu. Türkiye’de nefroloji-diyaliz ve transplantasyon 2006; 2-22. www.tsn.org.tr.
17. Singh D, Chander V, Chopra K. Protective effect of naringin, a bioflavonoid on glycerol-induced acute renal failure in rat kidney. *Toxicology* 2004; 201:143-51.
18. Chander V, Chopra K. Protective effect of resveratrol, a polyphenolic phytoalexin on glycerol-induced acute renal failure in rat kidney. *Ren Fail* 2006; 28:161-9.
19. Mining JL, Valentovic MA. Characterization of myoglobin toxicity in renal cortical slices from Fischer 344 rats. *Toxicology* 2003;184:113-23.
20. Beetham R. Biochemical investigation of suspected rhabdomyolysis. *Ann Clin Biochem* 2000; 37:581-87.
21. Sandhu JS, Sood A, Midha V, Singh AD, Jain D, Sandhu P. Non-traumatic rhabdomyolysis with acute renal failure. *Ren Fail* 2000; 22 (1):81-6.
22. Demirkıran O, Dikmen Y, Utku T, Urkmez S. Crush syndrome patients after the Marmara earthquake. *Emerg Med J* 2003; 20:247-250.
23. Altıntepe L, Güney İ, Tonbul HZ, Türk S, Mazı M, Ağca E, ve ark. Konya ‘da Zümrüt apartmanı çökmesi sonucu oluşan Crush sendromu olguları. *Türk nefroloji ve transplantasyon derg* 2005; 14(1):18-22.
24. Sauret JM, Marinides G, Wang GK. Rhabdomyolysis. *Am Fam Physician* 2002; 5(65):907-12.
25. Russell TA. Acute renal failure related to rhabdomyolysis: pathophysiology, diagnosis and collaborative management. *Nephrology nursing journal* 2000; 6(27):567-75.

26. Guyton AC, Hall JE. Tibbi fizyoloji. Nobel tıp kitabevleri 1996: 73.
27. Gburek J, Birn H, Verroust PJ, Goj B, Jacobsen C, Moestrup SK, Willnow TE, Christensen EI. Renal uptake of myoglobin is mediated by the endocytic receptors megalin and cubilin. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285:F451-8.
28. Yousefipour Z, Hercule H, Truong L, Oyekan A, Newaz M. Ciglitazone, a peroxisome proliferator- activated receptor gama inducer, ameliorates renal preglomerular production and activity of renal angiotensin II and thromboxane A₂ in glycerol-induced acute renal failure. *JPET* 2007; 322:461-8.
29. Polo-Romeo FJ, Fernandez-Funez A, Viana LB, Atienza MP, Gascon FS. Effect of N-acetylcysteine on antioxidant status in glycerol-induced acute renal failure in rats. *Ren Fail* 2004; 6(26):613-8.
30. Vanholder R, Sever MS, Erek E, Lameire N. Acute renal failure related to crush syndrome: towards an era of seismo-nephrology. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1517-21.
31. Lappalainen H, Tiula E, Uotila L, Manttari M. Elimination kinetics of myoglobin and creatine kinase in rhabdomyolysis: Implication for follow-up. *Crit Care Med* 2002; 10(30):2212-5.
32. Karataş Y. Endotel ve Nitrik oksit. In: Şan M (Eds). *Endotel ve sistemlerimiz*. İstanbul: Printaş basım A.Ş: 2005;p33-50.
33. P.F. Mount, D.A. Power. Nitric oxide in the kidney: functions and regulation of synthesis. *Acta Physiol* 2006, 187:433-46.
34. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327:524-6.
35. Kone B.C, Baylis C. Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in normal kidney. *Am J Physiol* 1997; 272 (Renal Physiol 41):561-78.
36. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Reviews* 1991; 43(9):109-37.
37. Ortiz PA, Garvin JL. Role of nitric oxide in regulation of nephron transport. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 282:777-84.
38. Araujo M, Welch W.J. Oxidative stress and nitric oxide in kidney function. *Curr opin in Nephrol hypertens* 2006; 15:72-7.
39. Abassi ZA, Hoffman A, Better OS. Acute renal failure complicating muscle crush injury. *Semin Nephrol* 1998; 5 (18):558-65.

40. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları, 1995: 1-73.
41. Rahman K. Garlic and aging: new insights into an old remedy. *Ageing Res Rev* 2003; 2:39-56.
42. Slater MS, Mullins RJ. Rhabdomyolysis and myoglobinuric renal failure in trauma and surgical patients: a review. *J Am Coll Surg* 1998; 6(186):693-716.
43. Guidet BR, Shah SV. In vivo generation of hydrogen peroxide by rat kidney cortex and glomeruli. *Am J Physiol* 1989; 256:158-64.
44. Chander V, Chopra K. Molsidomine, a nitric oxide donor and L-arginine protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. *Biochim Biophys Acta* 2005; 25;1723(1-3):208-14.
45. Schnackenberg CG. Physiological and pathophysiological roles of oxygen radicals in the renal microvasculature. *Am J Physiol* 2002; 282:335-42.
46. Baud L, Ardaillou R. Reactive oxygen species: Production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 765-76.
47. Zager RA. Studies of mechanisms and protective maneuvers in myoglobinuric acute renal injury. *Lab Invest* 1989; 5(60):619-29.
48. Urakami H, Grisham MB. Divergent roles of superoxide and nitric oxide in reduced-size liver ischemia and reperfusion injury: Implications for partial liver transplantation. *J Pathophys* 2006; 13:183-93.
49. Paller MS. Hemoglobin-and myoglobin-induced acute renal failure in rats: role of iron in nephrotoxicity. *Am J Physiol* 1988; 255:539-44.
50. Guidet B, Shah SV. Enhanced in vivo H₂O₂ generation by rat kidney in glycerol-induced renal failure. *Am J Physiol* 1989; 257:440-5.
51. Zager RA, Burkhart KM, Conrad DS, Gmur DJ. Iron, heme oxygenase and glutathione: effects on myohemoglobinuric proximal tubular injury. *Kidney Int* 1995; 48:1624-34.
52. Abul-Ezz SR, Walker PD, Shah SV. Role of glutathione in an animal model of myoglobinuric acute renal failure. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:9833-7.
53. Erdemir A, Elçioğlu Ö. Sarımsak ve kyolic. *Nobel tıp kitabevleri* 1999; 1-95.
54. Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y. Intake of garlic and bioactive compounds. *J Nutr* 2001;131:955-62.

55. Wongmekiat O, Thamprasert K. Investigating the protective effects of aged garlic extract on cyclosporin-induced nephrotoxicity in rats. *Fundam Clin Pharmacol* 2005; 19:555-62.
56. Banerjee SK, Maulik M, Manchanda SC, Dinda AK, Das TK, Maulik SK. Garlic-induced alteration in rat liver and kidney morphology and associated changes in endogenous antioxidant status. *Food Chem Toxicol* 2001; 39:793-97.
57. Şener G, Şehirli AÖ, İpçi Y, Çetinel Ş, Cıkler E, Gedik N. Chronic nicotine toxicity by aqueous garlic extract. *Plant Foods Hum Nutr* 2005; 60:77-86.
58. Amagase H. Clarifying the real bioactive constituents of garlic. *J Nutr* 2006; 136:716-25.
59. Chaverri PJ, Yam-Canul P, Chirino YI, Sanchez-Gonzales DJ, Martinez-Martinez CM, Cruz C, et. al. Protective effects of garlic powder against potassium dichromate-induced oxidative stress and nephrotoxicity. *Food Chem Toxicol* 2008; 46:619-27.
60. Balasenthil S, Arivazhagan S, Nagini S. Garlic enhances circulatory antioxidants during 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *J Ethnopharmacol* 2000; 72:429-33.
61. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RI. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-75.
62. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95:351-8.
63. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82:70–7.
64. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34:497–550.
65. Aebi H. Catalase invitro assay methods. *Methods in Enzymology* 1984; 105:121-6.
66. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967; 70:158-69.
67. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 36:1440-3.
68. Vanholder R, Van der Tol A, De Smet M, Hoste E, Koç M, Hussain A, et al. Earthquakes and crush syndrome casualties: Lessons learned from the Kashmir disaster. *Kidney Int* 2007; 71:17-23.
69. Zager RA. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. *Kidney Int* 1996; 49:314-26.

70. Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Am J Kid Dis* 1997; 29(3):465-77.
71. Vanholder R, Sever MŞ, Erek E, Lameire N. Rhabdomyolysis. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:1553-61.
72. Visweswaran P, Guntupalli J. Rhabdomyolysis. *Crit Care Clin* 1999; 15(2):415-28.
73. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109:655-78.
74. Seven A, Candan G. Radikal ve lipid peroksid düzeyini arttıran etkenler. *Biyokimya Der* 1995; 20(4):43-56.
75. DAJM Kerckhoffs, Brouns F, Hornstra G, Mensink R. Effects on the human serum lipoprotein profile of β -glucan, soy protein and isoflavones, plant sterols and stanols, garlic and tocotrienols. *J Nutr* 2002; 132:2494-505.
76. Rahman K, Lowe GM. Garlic and cardiovascular disease: a critical review. *J Nutr* 2006; 136:736-40.
77. Star RA. Treatment of acute renal failure. *Kidney Int* 1998; 54:1817-31.
78. Al-Quattan KA, Thomson M, Al-Mutawa'a S, Al-Hajeri D, Drobiva H, Ali M. Nitric oxide mediates the blood-pressure lowering effect of garlic in the rat two-kidney, one-clip model of hypertension. *J Nutr* 2006; 136:774-6.
79. Pantoja CV, Martin NT, Norris BC, Contreras CM. Purification and bioassays of a diuretic and natriuretic fraction from garlic. *J Ethnopharmacol* 2000; 70:35-40.
80. Kabasakal L, Şehirli Ö, Çetinel Ş, Cikler E, Gedik N, Şener G. Protective effect of aqueous garlic extract against renal ischemia/reperfusion injury in rats. *J Med Food* 2005; 8(3):319-26.
81. Chaverri PJ, Maldonado PD, Medina-Campos ON, Olivares-Corichi IM, Granados-Silvestre MA, Hernandez-Pando R, et al. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: Relation to antioxidant enzymes. *Free Radic Biol Med* 2000; 7(29):602-11.
82. Nath KA, Balla G, Vercellotti GM, Balla J, Jacob HS, Levitt MD, et al. Induction of heme oxygenase is a rapid, protective response in rhabdomyolysis in the rat. *J Clin Invest* 1992; 90:267-70.
83. Ishizuka S, Nagashima Y, Numata M, Yano T, Hagiwara K, Ozasa H, et al. Regulation and immunohistochemical analysis of stress protein heme oxygenase-1 in rat kidney with myoglobinuric acute renal failure. *Bioc Biop Res Com* 1997; 240:93-8.

84. 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.
85. Vlahović P, Cvetković T, Savić V, Stefanović V. Dietary curcumin does not protect kidney in glycerol-induced acute renal failure. *Food Chem Toxicol* 2007; 45:1777-82.
86. Singh D, Chander V, Kanwaljit C. Carvedilol, an antihypertensive drug with antioxidant properties, protects against glycerol-induced acute renal failure. *Am J Nephrol* 2003; 23:415-21.
87. 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; 1-8.
88. Aydogdu 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.
89. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Batçioğlu K, Kaymak K. Effects of exogenous melatonin on myoglobinuric acute renal failure in the rats. *Ren Fail* 2004; 26(5):479-86.
90. Valdivielso JM, Lopez-Novoa JM, Eleno N, Barriocanal FP. Tole of glomerular nitric oxide in glycerol-induced acute renal failure. *Can J Physiol Pharmacol* 2000; 78:476-82.
91. Yousefipour Z, Hercule H, Oyekan AO, Newaz MA. Antioxidant U74389G improves glycerol-induced acute renal failure without affecting PPAR γ gene. *Ren Fail* 2007; 29:903-10.
92. Baliga R, Zhang Z, Baliga M, Shah SV. Evidence for cytochrome p-450 as a source of catalytic iron in myoglobinuric acute renal failure. *Kidney Int* 1996; 49(2):362-9.
93. Akpolat T, Akpolat İ, Öztürk H, Sarıkaya Ş, Coşar AM, Bedir A, et. al. Effect of Vitamin E and Pentoxifylline on glycerol-induced acute renal failure. *Nephron* 2000; 84:243-7.
94. Ersin S, Zeybek A, Şen S, Akalın T, Akyıldız M. Deneysel akut böbrek yetmezliğinde mannitol ve furosemidin profilaktik etkisi. *İzmir Eğt Hast Tıp Der* 1999; 37(1-2):27-31.
95. Huang Z, Murakami T, Okochi A, Yumoto R, Nagai J, Takano M. Expression and function of P-glycoprotein in rats with glycerol-induced acute renal failure. *Eur J Pharmacol* 2000; 406:453-60.

96. Nagano T, Mori-Kudo I, Tsuchida A, Kawamura T, Taiji M, Noguchi H. Ameliorative effect of hepatocyte growth factor on glycerol-induced acute renal failure with acute tubular necrosis. *Nephron* 2002; 91:730-8.
97. Yüncü M, Eralp A, Çelik A. Effect of aged garlic extract against methotrexate-induced damage to the small intestine in rats. *Phytoter Res* 2006; 20: 504-10.
98. Sun X, Ku DD. Alicin in garlic protects against coronary endothelial dysfunction and right heart hypertrophy in pulmonary hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291:2431-8.
99. El Shenawy NS, Soliman MFM, Reyad SI. The effect of antioxidant properties of aqueous garlic extract and *Nigella sativa* as anti-schistomiasis agents in mice. *Rev Inst Med* 2008; 50(1):29-36.
100. Pal R, Vaiphei K, Sikander A, Singh K, Rana SV. Effect of garlic on isoniazid and rifampicin-induced hepatic injury in rats. *World J Gastroenterol* 2006; 28;12(4):636-9.
101. Chang H, Chen Y. Differential effects of organosulfur compounds from garlic oil on nitric oxide and prostaglandin E₂ in stimulated macrophages. *Nutrition* 2005; 21:530-6.
102. Durak İ, Çetin R, Çandır Ö, Devrim E, Kılıçoğlu B, Avcı A. Black grape and garlic extracts protects against cyclosporine a nephrotoxicity. *Immunol Invest* 2007; 36:105-14.
103. Chang LY. The antioxidant properties of garlic compounds: Allyl cysteine, Alliin, Allicin and Allyl disulfite. *J Med Food* 2006; 9(2):205-13.
104. El-Shenawy SMA, Hassan NS. Comparative evaluation of the protective effect of selenium and garlic against liver and kidney damage induced by mercury chloride in the rats. *Pharmacol Rep* 2008; 60:199-208.
105. Morihara N, Sumioka I, Ide N, Moriguchi T, Uda N, Kyo E. Aged garlic extract maintains cardiovascular homeostasis in mice and rats. *J Nutr* 2006; 136:777-81.
106. Duda G, Suliburska J, Pupek-Musialik D. Effects of short-term garlic supplementation on lipid metabolism and antioxidant status in hypertensive adults. *Pharmacol Rep* 2008; 60:163-70.

RESİMLEMELER LİSTESİ

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Gruplara göre MDA düzeyleri dağılımı	40
Şekil 2: Gruplara göre GSH düzeyleri dağılımı	41
Şekil 3: Gruplara göre doku NO düzeyleri dağılımı	42
Şekil 4: Gruplara göre SOD düzeyleri dağılımı	43
Şekil 5: Gruplara göre GPx düzeyleri dağılımı	44
Şekil 6: Gruplara göre CAT düzeyleri dağılımı	45
Şekil 7: Gruplara göre $P_{üre}$ düzeyleri dağılımı	46
Şekil 8: Gruplara göre $P_{kreatin}$ düzeyleri dağılımı	47
Şekil 9: Gruplara göre P_{Na^+} düzeyleri dağılımı	48
Şekil 10: Gruplara göre P_{K^+} düzeyleri dağılımı	49
Şekil 11: Gruplara göre P_{NO} düzeyleri dağılımı	50
Şekil 12: Gruplara göre $I_{üre}$ düzeyleri dağılımı	51
Şekil 13: Gruplara göre $I_{kreatin}$ düzeyleri dağılımı	52
Şekil 14: Gruplara göre I_{Na^+} düzeyi dağılımı	53
Şekil 15: Gruplara göre I_{K^+} düzeyleri dağılımı	54
Şekil 16: Gruplara göre I_{NO} düzeyleri dağılımı	55
Şekil 17: Gruplara göre kreatin klirensi düzeyleri dağılımı	56
Şekil 18: Gruplara göre FeNa düzeyleri dağılımı	57
Şekil 19: 1. grubun böbrek kesiti (HE x 200)	60

Şekil 20: 2. grubun böbrek kesiti (HE x 200)	60
Şekil 21: 3. grubun böbrek kesiti (HE x 200)	61
Şekil 22: 4. grubun böbrek kesiti (HE x 200)	61

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: SOD tayin yöntemi	29
Tablo 2: 1. grubun biyokimyasal verileri	35
Tablo 3: 2. grubun biyokimyasal verileri	36
Tablo 4: 3. grubun biyokimyasal verileri	37
Tablo 5: 4. grubun biyokimyasal verileri	38
Tablo 6: Çalışma gruplarının değişkenlerine ait istatistik verileri	39
Tablo 7: MDA düzeylerinin Tukey karşılaştırma testi sonuçları	40
Tablo 8: GSH düzeylerinin Tukey karşılaştırma testi sonuçları	41
Tablo 9: Doku NO düzeylerinin Tukey karşılaştırma testi sonuçları	42
Tablo 10: SOD düzeylerinin Tamhane karşılaştırma testi sonuçları	43
Tablo 11: GPx düzeylerinin Tukey karşılaştırma testi sonuçları	44
Tablo 12: CAT düzeylerinin Tamhane karşılaştırma testi sonuçları	45
Tablo 13: P _{üre} düzeylerinin Tamhane karşılaştırma testi sonuçları	46
Tablo 14: P _{krea} düzeylerinin Tamhane karşılaştırma testi sonuçları	47
Tablo 15: P _{Na⁺} düzeylerinin Tamhane karşılaştırma testi sonuçları	48
Tablo 16: P _{K⁺} düzeylerinin Tamhane karşılaştırma testi sonuçları	49
Tablo 17: P _{NO} düzeylerinin Tukey karşılaştırma testi sonuçları	50
Tablo 18: İ _{üre} düzeylerinin Tamhane karşılaştırma testi sonuçları	51
Tablo 19: İ _{krea} düzeylerinin Tamhane karşılaştırma testi sonuçları	52
Tablo 20: İ _{Na⁺} düzeylerinin Tamhane karşılaştırma testi sonuçları	53
Tablo 21: İ _{K⁺} düzeylerinin Tamhane karşılaştırma testi sonuçları	54
Tablo 22: İ _{NO} düzeylerinin Tamhane karşılaştırma testi sonuçları	55
Tablo 23: Kreatin klirens düzeylerinin Tukey karşılaştırma testi sonuçları	56
Tablo 24: FeNa düzeylerinin Tukey karşılaştırma testi sonuçları	57
Tablo 25: Grupların histopatolojik nekroz ve kast miktarlarının % olarak değerleri	59

ÖZGEÇMİŞ

İstanbul'da 1981 yılında doğdum. İlk öğrenimimi 1992 yılında Tekirdağ Süleyman Paşa İlkokulu'nda, orta öğrenimimi 1995 yılında Tekirdağ 50. yıl Ortaokulu'nda, lise öğrenimimi 1998 yılında Tekirdağ Tuğlacılar Lisesi'nde, yüksek öğrenimimi 2005 yılında Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde tamamladım.

2006 Bahar yarıyılında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım.

Katıldığım çalışmalar:

Aydoğdu N, Atakan İH, Usta U, Erbaş H, Gürel EE, Yılmaz E, Kaymak K.
“Aspirinin Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Yetmezliğinde Koruyucu Etkileri,” 32.
Ulusal Fizyoloji Kongresi, Özet Kitabı, 71, Sözlü sunu S-15, Denizli, 2006.

EKLER



T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı: 19

Karar Tarihi: 16.11.2006

5-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 16.11.2006 tarihinde “Sıçanlarda Deneysel Miyoglobürik Akut Böbrek Yetmezliğinde Sarımsağın Etkileri” adlı TÜTFEK-2006/175 protokol no.lu Elif Ezgi GÜREL’in tez çalışmasını incelemek üzere toplandı. Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA araştırmacıdan olması nedeniyle katılamadı ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz Fiziyoloji Anabilim Dalında yapılacağı, Yrd. Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU’nun yürütücüsü olduğu araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) tarafından desteklenmesi koşuluyla yapılabileceğine mevcudun oybirliği ile karar verildi.

Ünvanı/Adı/Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN Üye	Endokrinoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Filiz AKATA
Dekan