

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ACİL TIP  
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi  
Doç. Dr. Ömer SALT

**RADYOKONTRAST MADDEYE BAĞLI  
GELİŞEN AKUT BÖBREK HASARINDA  
KARNOSİK ASİD'İN KORUYUCU  
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Uzmanlık Tezi)

**Dr. Nejmi KÜÇÜKYAĞCI**

EDİRNE-2020



## **TEŐEKKÜR**

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden sonsuz yararlandđđm kıymetli hocalarım Doç. Dr. Ömer SALT ve Prof. Dr. Mustafa Burak SAYHAN'a ve projemin gerçekleştirilmesindeki desteklerinden ötürü TÜBAP birimi yetkililerine teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	3
<b>PRERENAL AZOTEMİ</b> .....	4
<b>İNTRENSEK AKI</b> .....	5
<b>Sepsis İlişkili AKI</b> .....	5
<b>İskemi ilişkili AKI</b> .....	6
<b>Postoperatif AKI</b> .....	7
<b>Yanıklar ve Akut Pankreatit</b> .....	8
<b>İskemiye Yolaçan Mikrodamar Hastalığı</b> .....	8
<b>Nefrotoksin İlişkili AKI</b> .....	8
<b>POSTRENAL AKI</b> .....	11
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	21
<b>BULGULAR</b> .....	24
<b>TARTIŞMA</b> .....	39
<b>SONUÇLAR</b> .....	43
<b>ÖZET</b> .....	45
<b>SUMMARY</b> .....	46
<b>KAYNAKLAR</b> .....	47
<b>EKLER</b>	

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>AKI</b>	: Acute Kidney Injury ( Akut Böbrek Hasarı )
<b>CIN</b>	: Contrast Induced Nephropathy ( Kontrast Kaynaklı Nefropati )
<b>CK</b>	: Creatin Kinase ( Kreatin Kinaz )
<b>CKD</b>	: Chronic Kidney Disease ( Kronik Böbrek Hastalığı )
<b>GFR</b>	: Glomerular Filtration Rate ( Glomerüler Filtrasyon Oranı )
<b>INOS</b>	: Inducible Nitric Oxide Synthase ( İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz )
<b>NO</b>	: Nitric Oxide ( Nitrik Oksit )

## GİRİŞ VE AMAÇ

Görüntüleme tekniklerindeki gelişmeye paralel olarak kontrast madde kullanımı da giderek artmaktadır. Kontrast madde glomeruler filtrasyon hızı (GFR) normal olan böbreklerde kullanım sonrası yapısal ve fonksiyonel bozulma oluşturmamakta veya çok az oluşturmakta, fakat renal fonksiyonlarda bozukluk bulunan bireylerde 24-72 saat arasında akut böbrek hasarına (AKI) yol açabilmekte ve bu durum kontrast madde ilişkili akut böbrek hasarlanması olarak tanımlanmaktadır. Gerek nefropati oluşumunu önlemek ve gerekse de tedavi etmek amacıyla birçok çalışma yürütülmektedir.

İnsan ve hayvanların tedavisinde medikal özelliği olan bitkiler uzun yıllardan beri kullanılmaya gelmiştir(1). Son zamanlarda kullanıma giren modern ilaçların çoğu medikal bitkilere ait bileşiklerden izole edilmek suretiyle geliştirilmişlerdir (2-5). Kontrast madde nefropatisini önleme amacıyla da çeşitli farmakolojik ajan ve tedavi protokolleri denenmiş ve bunlar içinde intravenöz hidrasyon en etkili bulunmuştur (6).

Diabetik ratlar üzerinde 2018 yılında yapılan bir çalışmada Karnosik asid'in diabetik nefropati üzerinde tedavi edici etkinliği araştırılmış ve yüksek glukoz düzeylerinin yol açtığı inflamasyonu inhibe ettiği, karbonhidrat ve lipid metabolizmasındaki bozukluğu düzelttiği, diabetik nefropatiyi iyileştirdiği, diabetik fare glomerülünde NrF2 yi aktive ettiği ( hücrede antioksidan cevabın ana düzenleyicisidir ve aktivasyonu; reaktif oksijen ürünlerinin temizlenmesi ve oksidatif hasarın azalmasıyla sonuçlanır ) uzun dönem tedavide de belirgin doku toksisitesine yol açmadığı saptanmıştır (7). NrF2 aktivasyonunun diabetik nefropati üzerinde iyileştirici etkileri olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (8).

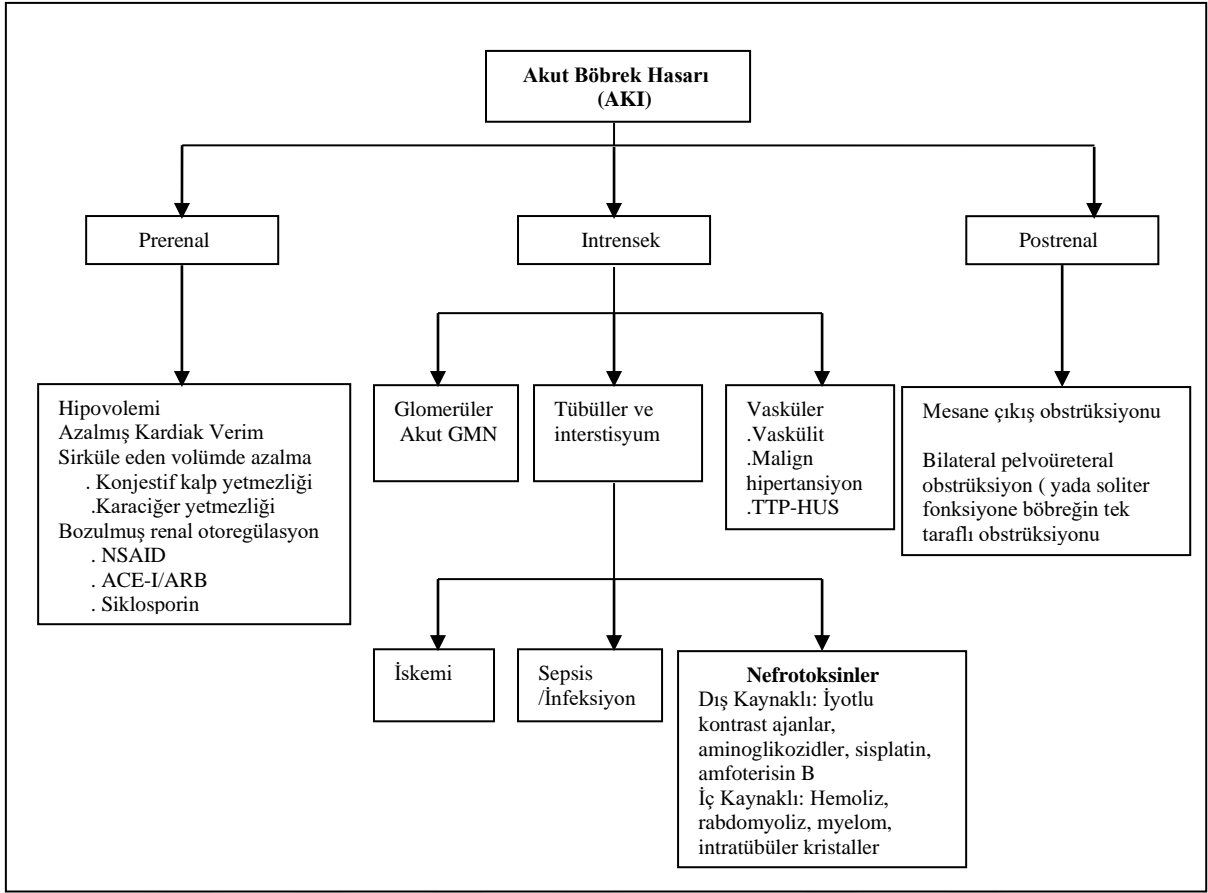
Karnosik asidin kontrast madde nefropatisi üzerinde iyileştirici etkisi olup olmadığının araştırıldığı bu çalışma sonucunda eğer pozitif bulgular saptanır ve kontrast madde nefropatisi

önlenebilirse optimal tedavi modifiye edilerek olası morbidite ve renal yetmezlik ilişkili mortalitenin de önüne geçilebileceği, aynı zamanda tedavi maliyetlerinin de azaltılabileceği düşünülmektedir.



## GENEL BİLGİLER

Böbrek hasarı sonrası böbreğin kanı temizleme fonksiyonlarının ani olarak bozulması ve bazı biyokimyasal ürünlerin kanda miktarının artması akut böbrek yaralanması (AKI ) olarak bilinir. Toksik metabolitlerde ani artış renal fonksiyonların bozulmasına yol açar ve serum kreatinin, elektrolit ve sıvı dengesinde bozulma meydana gelir (9). AKI hastane kaynaklı ve toplumdaki kazanılmış olabilir. Toplum kökenli olanın en sık sebepleri dehidratasyon, ilaç yan etkileri ve üriner yoldaki tıkanıklıklardır. İnsidansla ilgili birçok veri mevcuttur ve oran % 10- 45 arasında değişmektedir (10,11). Hastane kaynaklı AKI nin en sık sebepleri ise sepsis, karaciğer ve kalbi ciddi düzeyde etkileyen hastalıklar, nefrotoksik ilaç uygulamaları, büyük cerrahi girişimler ve kontrast madde kullanımımıdır. AKI 3 ana gruba ayrılır, bunlar; prerenal azotemi, intrinsek renal parankimal hastalık ve postrenal tıkanıklıktır (12). Bu durumlar Şekil 1’de gösterilmiştir (12).



**Şekil 1. Akut böbrek yaralanması etyolojisi (12)**

## PRERENAL AZOTEMİ

Prerenal azotemi AKI nin en sık sebebidir. Yetersiz renal perfüzyon ve glomerül içi hidrostatik basınçtan dolayı serum kreatinin ve üre değerlerinde yükselme olur. Prerenal azotemi ile en sık ilişkide olan durumlar, hipovolemi, azalmış kardiak debi, renal kompanseman mekanizmalarını bozan nonsteroid antiinflatuar ilaçlar veya angiotensin 2 inhibitörleri gibi ilaçlardır. Prerenal azotemi direkt olarak renal parankimi bozan diğer intrinsik AKI formları ile de birlikte olabilir. Prerenal azoteminin uzamış formları akut tübüler nekroz olarak da adlandırılan iskemik yaralanmaya yol açabilir. Prerenal azotemide renal parankimal hasar yoktur ve glomerül içi hemodinamikler düzeltilirse tablo hızla düzelir. Kardiak debideki azalma yada azalmış efektif sirküle edilen volüme bir cevap olarak renal vazokonstriksiyon ve su ve tuz reabsorpsiyonu artırılarak kan basıncının düzeltilmesi ve koroner ve serebral perfüzyonun yeterli seviyeye getirilmesi sağlanmaya çalışılır. Bu cevapta, angiotensin 2, norepinefrin ve antidiüretik hormon olarak da bilinen vasopressin rol oynar. Angiotensin 2 etkisiyle renal efferent vazokonstriksiyon oluşturularak azalmış renal kan



akımına rağmen yeterli glomerüler kapiller basınç sağlanmaya çalışılır. Buna ek olarak myojenik bir refleksiyle afferent arteriolda dilatasyon oluşturulur ve düşük perfüzyon basıncının önüne geçilmeye çalışılır. Vazodilatör prostoglandinler (prostasiklin, prostoglandin E2), kallikrein ve kininler ve aynı zamanda nitrik oksidin (NO) intrarenal biyosentezi de düşük renal perfüzyona cevap olarak artar. Nitrik oksit böbrek aferent ve eferent vasküler tonusu, ultrafiltrasyon katsayısı ve medüller kan akımını kontrol eder. Tübüloglomerüler refleksiyle otoregülasyon sağlanır. GFR yi sağlamaya yönelik tüm bu mekanizmaların da bir sınırı vardır. Sağlıklı insanlarda dahi sistolik kan basıncı 80 mmHg nin altına düştüğünde renal otoregülasyon GFR yi sağlama açısından başarısız olur. Ateroskleroz, uzun süren hipertansiyon, ve ileri yaş, hyalinosis ve myointimal hiperplazi oluşturmak suretiyle intrarenal arteriollerin daralmasına yol açar ve renal afferent vazodilatasyon kapasitesinde bozulma oluşturabilir. Kronik böbrek hastalığında renal afferent vazodilatasyon, azalmış fonksiyonel renal kütleyle bir cevap olarak GFR yi maksimize edecek şekilde fonksiyon görebilir. İlaçlar kompensatuar mekanizmaları etkilemek suretiyle GFR yi değiştirebilirler. Steroid yapılı olmayan antiinflamatuvar ilaçlar renal prostoglandin yapımını inhibe eder, renal afferent vazodilatasyonu sınırlandırır. Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve anjiotensin reseptör blokörleri renal efferent vazokonstriksiyonu sınırlandırır; bu etki bilateral renal arter stenozlu yada unilateral renal arter stenozlu hastalarda (soliter fonksiyone böbrek durumunda ) özellikle önem taşır. Çünkü düşük renal perfüzyondan dolayı GFR yi sağlamak için renal efferent vazokonstriksiyon gereklidir. Steroid yapılı olmayan antiinflamatuvar ilaçlarla birlikte anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri yada anjiotensin reseptör blokörlerinin birlikte kullanımı prerenal azotemi oluşumu açısından özellikle yüksek bir risk oluşturur (12).

### **İNTRENSEK AKI**

İntrensek AKI nin en sık sebepleri sepsis, iskemi ve endojen/eksojen endotoksinlerdir. Birçok vakada prerenal azotemi tübüler hasara ilerler. Her ne kadar klasik olarak akut tübüler nekroz olarak isimlendirilse de, sepsis ve iskemide eksikler olmakla birlikte, inflamasyon, apoptozis ve bölgesel perfüzyondaki dalgalanmalar gibi değişiklikler patofizyolojik olarak etkileşen önemli faktörler olabilir. İntrensek AKI' nin renal vaskülatür (glomerülonefrit ve vaskülitler, yaygın damar içi koagülasyon, atheroemboli, malign hipertansiyon, sepsis), tübüller ( toksik ve iskemik akut tübüler nekroz, sepsis, myelom proteinleri ve tümör lizis sendromu kaynaklı endojen ve kemoterapi kaynaklı eksojen tıkanıklık) ve interstisyumu

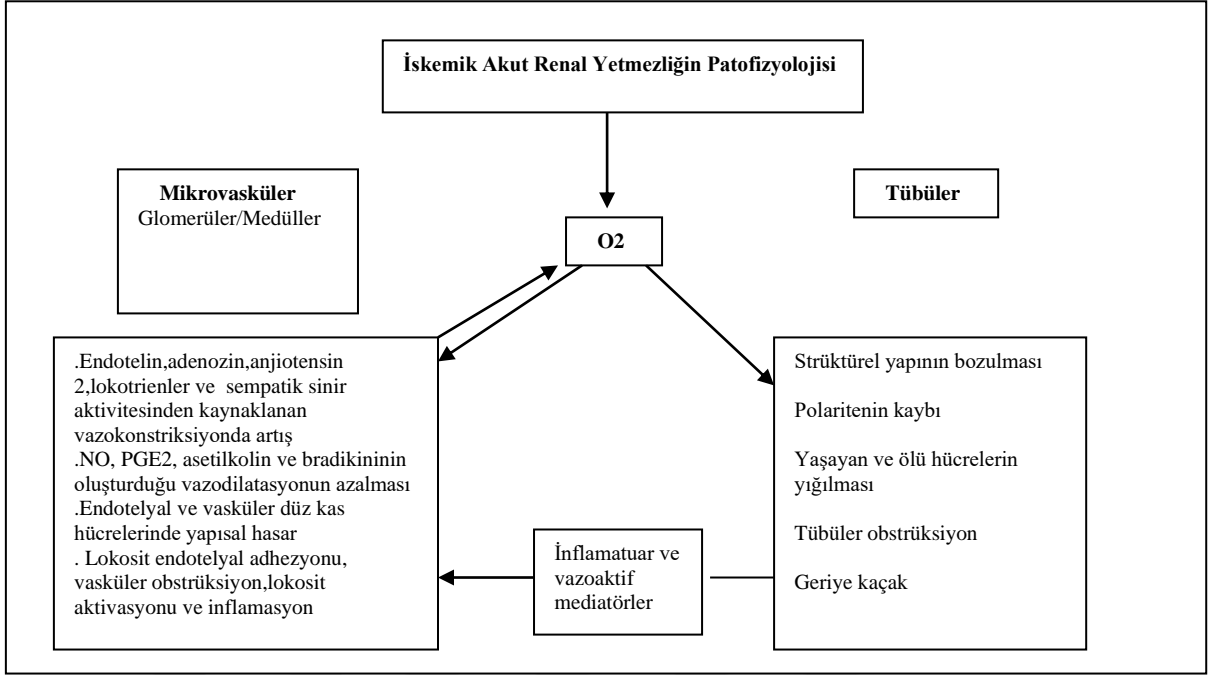
ilgilendiren ( alerjik, enfeksiyöz, lenfoma ve lösemi sebepli infiltratif ve inflamatuvar ) çeşitli sebepleri mevcuttur (12).

### **Sepsis İlişkili AKI**

AKI ağır sepsisli vakaların %50 den fazlasını komplike eder ve ölüm riskini belirgin derecede artırır. Aynı zamanda sepsis gelişmekte olan ülkelerde AKI' nin en önemli sebebidir. Belirgin hipotansiyon olmasa dahi sepsis durumunda GFR de azalma görülebilir, ancak ağır AKI, birçok vakada vazopressör destek gerektiren hemodinamik kollaps durumunda görülür. Sepsisin hemodinamik etkileri yaygın arteriel vazodilatasyondan doğar, sitokinler aracılığıyla yönetilir ki bu durum vasküler yatakta indüklenebilir nitrik oksit sentazın (INOS) ekspresyonunu artırır. Bu durum GFR de azalmaya yol açabilir. Operatif mekanizmalar aşırı efferent arteriel vazodilatasyon yada sempatik sinir sistemi, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi, vazopressin ve endotelinden kaynaklanan renal vazokonstriksiyon şeklinde karşımıza çıkabilir. Sepsis endotelial hasara yol açabilir, bu durum mikrovasküler tromboz, reaktif oksijen ürünlerinin aktivasyonu ve lokosit adhezyon ve migrasyonu ile sonuçlanır, bunların tümü renal tübül hücrelere zarar verebilir (12).

### **İskemi İlişkili AKI**

Sağlıklı böbrekler kardiyak outputun yüzde 20'sini alır ve insan vücut kütlelerinin % 0.5' ini oluşturmasına rağmen istirahatteki oksijen tüketiminin %10'undan sorumludur. Renal medulla açısından bakıldığında böbrekler aynı zamanda vücuttaki en hipoksik bölgelerden birini oluşturur. Dış medulla kan damarlarının yerleşim şekli sebebiyle hipoksiye özellikle hassastır. Normal bir böbrekte ağır AKI oluşturmak için iskemi tek başına genellikle yeterli değildir, bu durum suprarenal aortik klempleme yada kardiyak arrest sonrasında belirgin şekilde düşük sayıda ağır AKI görülmesi ile de ortaya konmuştur. Klinik olarak AKI daha sıklıkla sınırlı renal rezervi olanlar ( örneğin kronik böbrek hastalığı yada ileri yaş gibi ) yada sepsis , vazoaktif yada nefrotoksik ilaçlar , rabdomyoliz yada yanık veya pankreatitle ilişkili sistemik inflamatuvar durumlarda görülür. İskemik akut renal yetmezliğin patofizyolojisi Şekil 2 de gösterilmiştir (12).



**Şekil 2. Akut iskemik renal yetmezliğin patofizyolojisindeki bileşenler (12)**

### **Postoperatif AKI**

Özellikle önemli kan kaybı ya da intraoperatif hipotansiyon durumunda iske mi ilişkili AKI postoperatif periyotta ciddi bir komplikasyon olarak karşımıza çıkar. AKI'yle sıklıkla ilişkili prosedürler; kardiopulmoner bypasslı kardiak cerrahi (özellikle valv ve bypassın birlikte yapıldığı prosedürler), aortik kross klemp li vasküler prosedürler, ve intraperitoneal prosedürlerdir. Postoperatif AKI için sık görülen risk faktörleri kronik böbrek hastalığının mevcudiyeti, ileri yaş, diabetes mellitus, konjestif kalp yetmezliği ve acil prosedürlerdir. Kardiak cerrahi sonrası gelişen AKI'nın patofizyolojisi multifaktöriyeldir. Kardiak cerrahi uygulanan grupta AKI için risk faktörleri sıktır. Kardiak görüntüleme için iodinize kontrast madde gibi nefrotoksik ajanların kullanımı AKI riskini artırabilir. Kardiopulmoner bypass süresinde uzama AKI için bir risk faktörüdür. Gizli hipoperfüzyondan kaynaklanan iskemik yaralanmaya ek olarak kardiopulmoner bypass bazı mekanizmalar sebebiyle de AKI için bir sebep olabilir; örneğin lökositlerin ekstrakorporal devrede aktivasyonu ve inflamatuvar süreçler, pigment nefropatisi ile sonuçlanan hemoliz ve atheroemboliyle sonuçlanan aortik yaralanma gibi (12).

### **Yanıklar ve Akut Pankreatit**

Vücutun ekstrasvasküler kompartmanları içine aşırı sıvı kaybı sıklıkla ağır yanıklar ve akut pankreatitle birlikte görülür. AKI, yanıkların korkulan bir komplikasyonudur ve total vücut yüzeyinin % 10' dan fazlasının yandığı bireylerin % 25' ini etkiler. Azalmış kardiyak output ve artmış nörohormonal aktivasyonla sonuçlanan ağır hipovolemiye ek olarak yanıklar ve akut pankreatitin her ikisi de inflamasyonun regülasyonunda bozulma, sepsis ve akut akciğer hasarı riskinde bir artışa yol açabilir ki, bunların hepsi AKI nin gelişimi ve kötüleşmesini kolaylaştırır. Travma , yanık yada akut pankreatit sebebiyle massiv sıvı resüsitasyonu yapılan bireylerde intraabdominal basınç belirgin derecede artarak genellikle 20 mmHg nın üzerine çıkmak suretiyle abdominal kompartman sendromu oluşabilir ve bu durum renal ven kompresyonu ve GFR de azalma ile sonuçlanabilir (12).

### **İskemiye Yolaçan Mikrodamar Hastalığı**

AKI'ye yol açan mikrovasküler hastalıklar trombotik mikroanjiopatiler (antifosfolipid antikor sendromu, radyasyon nefriti, malign nefroskleroz ve trombotik trombositopenik purpura/hemolitik üremik sendrom), skleroderma ve ateroembolik hastalıktır. AKI ile ilişkili büyük damar hastalıkları renal arter diseksiyonu, tromboembolizm, tromboz ve renal venin kompresyon yada trombozudur (12).

### **Nefrotoksin İlişkili AKI**

Böbrekler nefrotoksinlere aşırı derecede hassastır, suyun reabsorbe edilmesi sonrası tübüller, interstisyum ve endotelial hücreler toksinlere aşırı derecede maruz kalır. Bunlar endojen ürünler veya çevresel toksinler olabilir. Böbreğin tüm bileşenleri toksik yaralanmaya duyarlıdır. AKI nin diğer formlarında olduğu gibi nefrotoksinlerde de ileri yaş, kronik böbrek hastalığı ve prerenal azotemi birer risk faktörüdür. Hipoalbuminemi sirküle olan serbest ilaç konsantrasyonunu artırabileceğinden bazı tip nefrotoksin ilişkili AKI riskini artırabilir (12).

**Kontrast ajanlar:** Bu ajanlara bağlı ilk raporlar 1950 de multipl myelom sebebiyle renal hastalığı bulunan hastalarda intravenöz piyelografiyi takiben gelişen akut renal yetmezlik vaka raporları olarak ortaya çıkmıştır (13,14). Teknik ilerlemelere rağmen hastane ilişkili akut böbrek hasarının (AKI) 1/3' ünden kontrast ilişkili nefropati (CIN) sorumludur (15,16) ve koroner anjiyografi yada perkutanöz koroner girişim uygulanan genel popülasyonun % 1-2'sini, yüksek riskli grupların ise %50 den fazlasını etkiler (17). Kardiyovasküler prosedürler ve kompute tomografi için iodin içeren kontrast madde kullanımı AKI nin

önemli sebeplerindendir. AKI yada kontrast nefropati riski normal renal fonksiyonu olanlarda çok düşüktür ancak bu risk kronik böbrek hastalığı ,özellikle de diyabetik nefropati varlığında belirgin şekilde artmaktadır. Kontrast nefropatinin en bilinen seyri, serum kreatinin düzeyinde kontrast maddeye maruziyetin 24-48 saat sonrasında ortaya çıkan yükselme şeklindedir. 3-5 gün içinde pik yapar ve 1 hafta içinde düzelir. Dializ gerektiren AKI gibi daha ağır vakalar önemli derecede kronik böbrek hastalığı olanlar dışında beklenen bir durum değildir, bu durumda konjestif kalp yetmezliği ve iskemi ilişkili AKI'ye neden olabilecek diğer durumlar da sıktır. Multipl myelom ve renal hastalıkları olan hastalar özellikle yatkındır. Düşük fraksiyone sodyum atılımı ve tübüler nekroz özellikleri olmaksızın göreceli benign üriner sediment sık görülen bulgulardır. Kontrast nefropati sürecinde; küçük damarlarda tıkanma ve renal mikrodolaşımda bozulmadan dolayı renal dış medullada hipoksi, tübüle direkt olarak yada serbest oksijen radikalleri oluşumu sebebiyle sitotoksik hasar ve kontrast maddenin presipite ettiği geçici tübül obstrüksiyonu görülmektedir. Manyetik rezonans görüntüleme için yüksek doz gadolinium kullanımı ve barsak purgativi amaçlı oral sodyum fosfat solüsyonları kullanımı da AKI için birer sebep oluşturmaktadır (14).

**Antibiyotikler:** Birkaç antimikrobiale ajan AKI'yle sıklıkla ilişkilidir. Aminoglikozidler ve Amfoterisin B tübüler nekroz oluştururlar. Plazma düzeyleri terapötik düzeyde olsa dahi aminoglikozid içeren tedavilerin % 10-30 da nonoligürik AKI eşlik etmektedir. Penisilinler, sefalosporinler, kinolonlar, sülfonamidler ve rifampin akut interstisyel nefrit oluşturmak suretiyle AKI'ye yolaçabilirler. Aminoglikozidler glomerülden serbestce filtre olur ve renal kortekste birikirler, buradaki konsantrasyon plazma düzeyini büyük miktarda aşar. Burada AKI tipik olarak tedavinin 5-7 gün sonrasında meydana gelir ve ilaç bırakıldıktan sonra dahi görülebilir. Hipomagnezemi sık görülen bir bulgudur (12).

Amfoterisin B reaktif oksijen ürünleriyle oluşan direkt tübüler toksisite kadar tübüloglomerüler geribeslemede bir artıştan kaynaklanan renal vazokonstriksiyona da yol açar. Amfoterisin B kaynaklı nefrotoksisite doz ve süre bağımlıdır. Bu ilaç tübüler membrandaki kolesterole bağlanır ve delikler oluşturur. Amfoterisin B toksisitesinin klinik özelliği poliüri, hipomagnezemi, hipokalsemi ve nongap metabolik asidozu içerir. Vankomisin; özellikle yüksek düzeylere ulaştığı zaman AKI sebebi olabilir ancak nedensel bir ilişki henüz kurulamamıştır (12).

**Asiklovir:** Özellikle intravenöz bolus yüksek dozda (500 mg/m<sup>2</sup>) verildiğinde yada hipovolemi durumunda tübülde çökerek tübüler obstrüksiyon oluşturmak suretiyle AKI sebebi olabilir. Foskarnet, pentamidin, tenofovir ve sidofovir de tübüler toksisite yoluyla sıklıkla AKI oluştururlar (12).

**Kemoterapötik ajanlar:** Sisplatin ve Karboplatin proksimal tübüler hücrelerde birikerek nekroz ve apoptozise yol açarlar. Hidrasyon uygulamaları ile sisplatin nefrotoksisitesi azalsada doz sınırlayıcı toksisite devam etmektedir. Ifosfamid hemorajik sistit ve tübüler toksisiteye yol açabilir, tip 2 renal tübüler asidoz, poliüri, hipokalemi ve GFR de hafif bir düşme şeklinde karşımıza çıkabilir (12).

**Toksik oral alım:** Etilen glikol motor soğutma sisteminde donma önleyici olarak bulunur ve oxalic acid, glikolaldehid ve glioksilat metabolize olur, bunlar direkt tübüler yaralanma yoluyla AKI ye yol açabilirler. Dietilen glikol hileli farmasötik uygulamalar sebebiyle dünya genelinde ağır AKI salgınlarına yol açan endüstriyel bir ajandır (12).

**Endojen toksinler:** Myoglobin, hemoglobin, ürik asid ve myelom hafifi zincirleri gibi endojen bileşikler AKI sebebi olabilir. Myoglobin travmatize kas hücrelerinden, hemoglobin ise masif hemoliz sırasında açığa çıkmak suretiyle pigment nefropatisine yol açabilirler. Travmatik ezici yaralanmalar, vasküler ya da ortopedik cerrahi sırasında oluşan kas iskemisi, koma yada immobilizasyon sırasında oluşan baskı, uzamış nöbet aktivitesi, aşırı egzersiz, kardiyak inme ya da malign hipertermi, infeksiyonlar, metabolik hastalıklar (örneğin hipofosfatemi, ağır hipotiroidizm) ve myopatiler (ilaç tarafından oluşturulan, metabolik ya da inflamatuvar) sebebiyle rabdomyoliz görülebilir. AKI için patojenik faktörler intrarenal vazokonstriksiyon, direkt proksimal tübüler toksisite ve distal nefron lümeninin myoglobin ya da hemoglobin sebepli Tomm-Harsfall proteini ile mekanik obstrüksiyonudur (12).

Sitotoksik tedavi sonrası gelişen tümör lizis sendromu da ürik asidin renal tübülde çökelti oluşturması sebebiyle AKI' ye yol açabilir. Tümör lizis sendromunun diğer bileşenleri hiperkalemi ve hiperfosfatemidir. Multipl myelomda da hafif zincirler direkt toksisite ya da Tomm-Harsfall proteini ile bağlanarak tübülde obstrüksiyon yapmak suretiyle AKI oluşturabilir. Hiperkalsemi de multipl myelomda görülebilir ve belirgin renal vazokonstriksiyon ve volüm kaybı oluşturarak AKI' ye sebep olabilir (12).

## POSTRENAL AKI

Normal üriyer akım parsiyel veya total olarak akut şekilde tıkanırse postrenal AKI meydana gelir, artmış retrograd hidrostatik basınç ve glomerüler filtrasyonla etkileşim ortaya çıkar. Üriyer akımın obstrüksiyonu renal pelvisten üretral uç noktasına kadar herhangi bir yerde fonksiyonel yada yapısal olarak oluşturulabilir. Normal üriyer akım oranı parsiyel obstrüksiyon olasılığını dışlamaz. Sağlıklı bireylerde AKI gelişebilmesi için her 2 böbreğin obstrükte olması gerekir. Önemli derecede kronik böbrek hastalığı durumunda ya da kontrateral böbreğin refleks vazospazmı gibi nadir durumlarda da tek taraflı obstrüksiyon da AKI' ye yol açabilir.

Mesane boynu obstrüksiyonu postrenal AKI' nin sık bir sebebidir ve prostat hastalığı (benign prostatik hipertrofi ya da prostat kanseri), nörojenik mesane ya da antikolinergik ilaçlarla tedaviden kaynaklanabilir. Eğer tanı konup çıkarılmazsa tıkalı foley kateterler de postrenal AKI sebebi olabilir. Alt üriyer trakt obstrüksiyonunun diğer sebepleri; kan pıhtıları, taşlar ve üretral daralmalardır. İntraluminal obstrüksiyon (örneğin kalkül, kan pıhtıları, renal papillanın kangrenleşmesi), üreter duvarının infiltrasyonu (örneğin neoplazi), ya da eksternal bası sebebiyle (örneğin retroperitoneal fibrozis, neoplazi, abse ya da dikkatsizce yapılan cerrahi yaralanmalar) üreter obstrüksiyonu gelişebilir. Postrenal AKI nin patofizyolojisi intratübüler basınçta ani bir artışla tetiklenen hemodinamik değişiklikleri kapsar. Afferent arteriolar dilatasyondan kaynaklanan ve hiperemi oluşturan başlangıç periyodunu; angiotensin 2, tromboksan A2 ve vazopressin kaynaklı bir intrarenal vazokonstriksiyon ve NO üretiminde azalma izler. Azalmış GFR; glomerülün perfüzyonunun bozulması ve glomerüler ultrafiltrasyondaki olası değişiklikler sebebiyledir. Kontrast madde tarafından indüklenen nefropatiyi yakından inceleyecek olursak; görüntüleme metodlarının artması, gerek non kardiyak uygulamalar (vasküler tomografik anjiyo ve girişimsel vasküler anjiyografi ) ve gerekse kardiyak anjiyografi, perkütan kardiyak girişimler ve transkateter aortik valv replasmanı şeklinde kardiyak prosedürler sebebiyle kontrast maddeye maruz kalan hasta sayısı ve böylece CIN riski artmaktadır. Birçok terapötik yaklaşıma rağmen kontrast madde alan kardiyak hastaların geniş komorbidite durumları ve artan yaş sebebiyle CIN'in önlenmesi önemli bir klinik sorun olarak karşımızda durmaktadır (18).

Mevcut klinik risk faktörleri ve periprosedürel risk faktörlerin kullanılmasıyla CIN gelişme riski hesaplanabilir. Bunlar CIN in bilinen patolojik mekanizmaları ile de uyumludur. Evre 3 kronik böbrek hastalığı 3 aydan daha uzun süre GFR nin <60 mL/dk/1,73 m<sup>2</sup> olmasıdır

ve bu durum CIN için en sık tanımlanan risk faktörüdür, ancak kronik böbrek hastalığı olmasa dahi eğer diğer risk faktörleri mevcut ise CIN gelişebilir (17). Risk skorlama sistemleri kohort çalışmaları sonucu geliştirilmekte ve klinisyenlere CIN gelişme olasılığını tahmin etme ve böylelikle önleyici tedavileri kullanma açısından da yol gösterici olmaktadır (19,20).

### **CIN Tanımı ve Tanısal Kriterler**

Kontrast kaynaklı nefropatinin genelde kabul edilen tanımı; bu değişimi açıklayacak başka bir alternatifin olmaması durumunda kontrast maddeye maruziyetin 72 saati içinde serum kreatinininde % 25 lik relatif bir artış yada 0,5 mg/dl ( 44 mikromol/L)' lik kesin bir artıştır (21). Bu tanım üzerindeki tartışmalar kötü yan tesirlerle ilişkili olduğu gösterilen minör serum kreatinin düzeylerine hassasiyet açısından zayıf oluşu ve relatif ve kesin serum kreatinin düzeyi değişikliklerinin her ikisinin bir arada bulunabilmesi ve diğer klasifikasyon sistemlerinde kullanılan idrar outputu gibi fonksiyonel değerlendirmelerin bulunmayışıdır (22-24).

Bununla birlikte bu tanımın avantajı; CIN çalışmalarının çoğunda son nokta olarak geniş çapta kullanımı ve kötü klinik sonuçları göstermede iyi bir korelasyon göstermesidir. Harjai ve arkadaşlarınca (24) önerilen diğer bir tanımlamada CIN ;3 relatif ve kesin kreatinin düzeyini kapsayan 3 sınıfa ayrılmıştır, burada yalnızca minör yükselmenin ( <25% yada 0,5 mg/dL) olduğu bir grup da mevcuttur ve uzun dönem açısından kötü sonuçlarla ilişkilidir. CIN derecelendirme sistemi Tablo 1' de gösterilmiştir (25).

**Tablo 1. CIN derecesi ve kötü sonlanımlarla ilişkisi (25)**

<b>CIN Derecesi</b>	<b>Serum Kreatinininde Değişiklik</b>	<b>6 Aylık Sonuçlar</b>
<b>0. Derece</b>	Serum Kreatini artışı < %25 ve bazal değer üzerindeki artış < 0,5 mg/dL	MaKO % 12,4 Mortalite % 10,2
<b>1. Derece</b>	Serum Kreatinin artışı ≥ %25 ve bazal değer üzerindeki artış < 0,5 mg/dL	MaKO % 19,4 Mortalite % 10,4
<b>2. Derece</b>	Bazal değer ≥25 düzeyinde serum kreatinin artışı	MaKO % 28,6 Mortalite % 40,9

**MaKO:** Majör Kardiyovasküler Olay.

Serum kreatinini ile ilgili önemli bir problem AKI'de görülen hızlı GFR değişikliklerine özellikle normal bazal renal fonksiyonu olan bireylerde relatif olarak duyarsız olmasıdır (26). Bir akut renal hasarlanmada serum kreatinininin tanısal sınıra ulaşması 2-3 gün süre alır, bu da onun AKI de bir marker olarak kullanılabilirliğini azaltır. Erken ve minör kademeli değişiklikler CIN de faydalı birer belirteç olabilir; Ribichini ve arkadaşlarınca koroner anjiyografi yapılan ve risk altındaki 216 hastada yapılan yeni bir çalışmada, serum

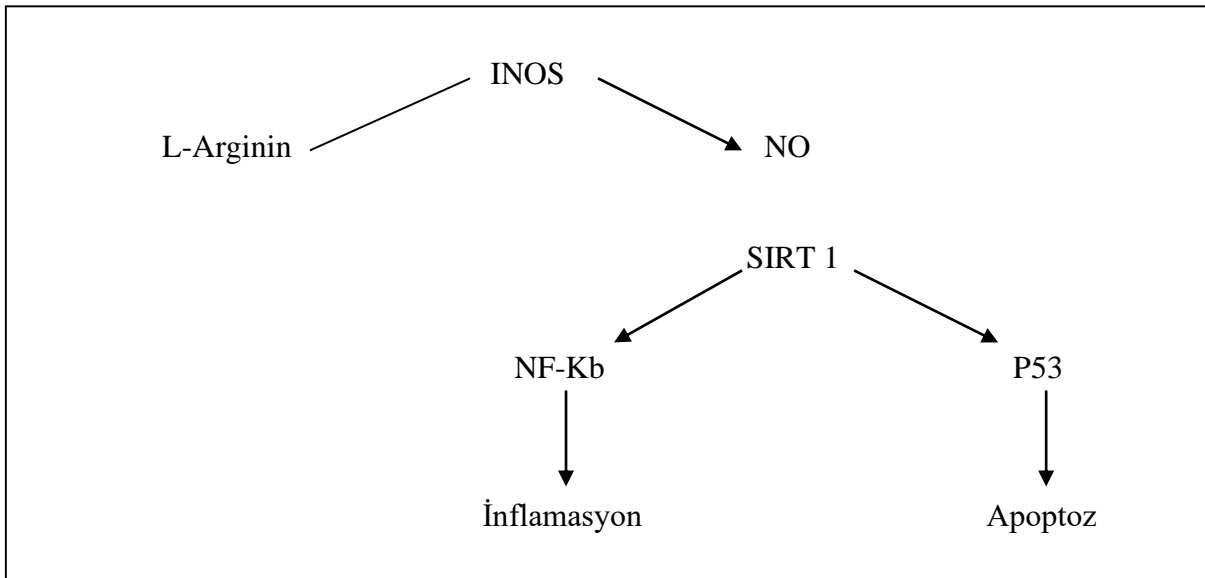


kreatininde 12.saatdeki bazal değerden %5 'lik bir artış bir CIN markerı olarak 48.saatde %75 lik' bir sensitivite ve % 72' lik bir spesifiteye sahipti ve 30 günde renal fonksiyonların persistan bozulmasına işaret etmekteydi (27).

### CIN Sonrası Kötü Sonuçlar

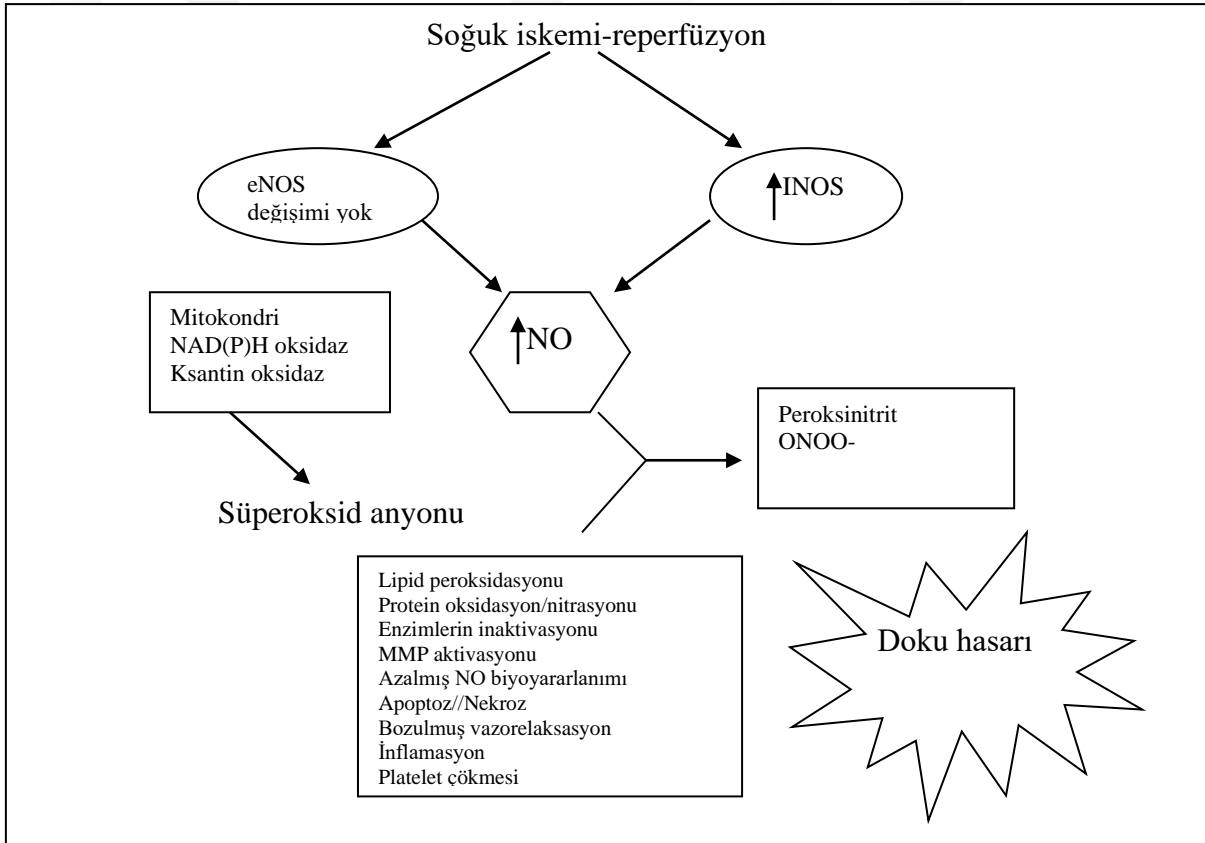
CIN klinik pratikte geçici bir durum olarak kabul edilir, vakaların %80' inde serum kreatinin düzeyleri yaklaşık 1-3 hafta içinde normale döner (27). Bununla birlikte bazı klinik çalışmalarla da ortaya konduğu şekilde CIN kısa dönem ve uzun dönem kötü sonuçlarla birlikte olabilir (28). Komorbiditelerin eşitlenmesi sonrası CIN gelişen hastalarda hastane mortalitesinin kontrast madde uygulanıp CIN gelişmeyenlere göre 5 kat ve 1 ve beşinci yıllardaki mortalite oranlarının yaklaşık 4 kat daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bazı çalışmalarda 1 yıl için mortalite oranları % 20 ile % 38 arasında bulunmuştur (29-32). Ancak CIN ile mortalite arasında direkt bir ilişkinin bu gözlemsel çalışmalarda kurulamadığı da bilinmelidir. CIN'i oluşturan olası mekanizmaların patogenezi tam anlaşılamamakla beraber adenozin, endotelin ve NO gibi çeşitli vazoaktif ürünler, oksidatif yaralanma ve apoptoz ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır ( 17,33).

İndüklenebilir nitrik oksit sentaz aktivasyonu ile oluşan NO' in SIRT1 üzerinden etki oluşturarak NF-kB ve p53 yollarını aktive etmek suretiyle inflamasyon ve apoptozu indüklediği Şekil 3'te gösterilmiştir ( 34).



Şekil 3. Nitrik oksit SIRT1 üzerinden etkileşerek inflamasyon ve apoptozu indükler (34)

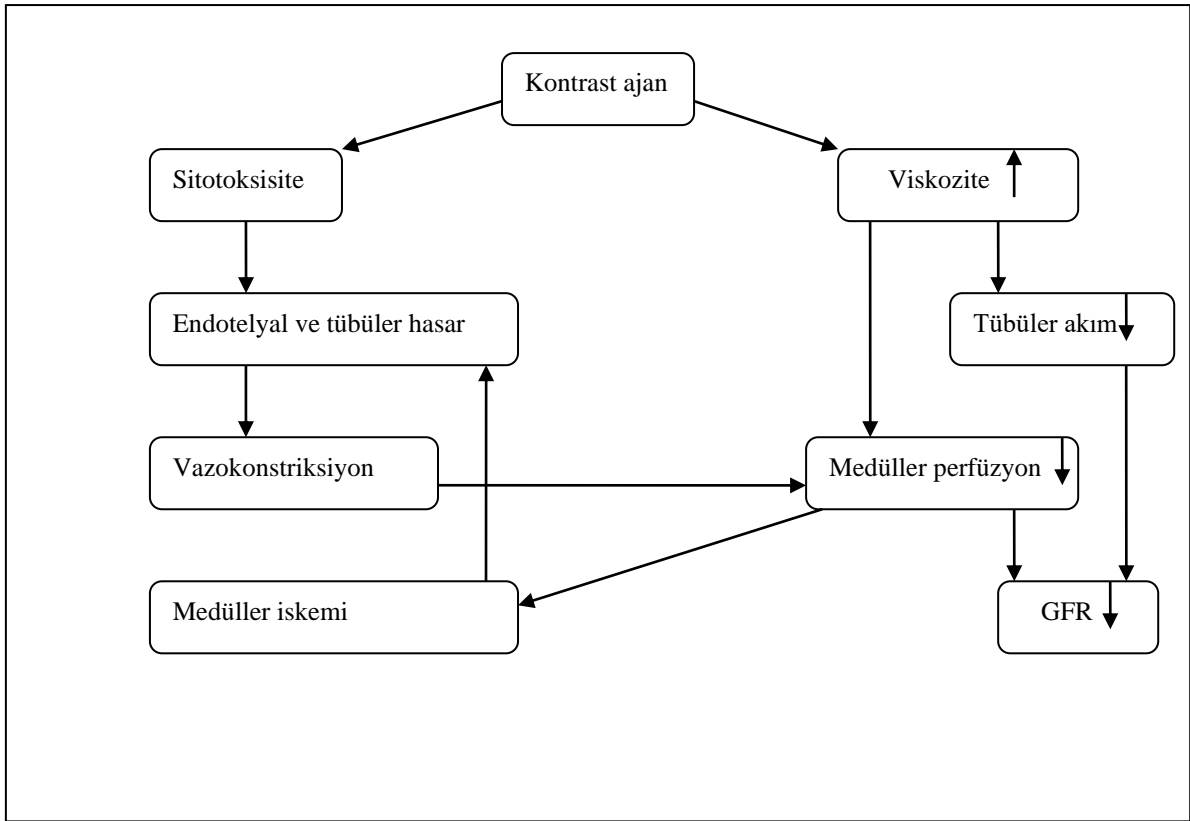
İndüklenebilir nitrik oksit sentaz nitrik oksidin (NO) aşırı üretiminden sorumlu ana enzimdir. NO' in kanserin başlaması ve gelişimdeki rolünü inceleyen çalışmalarda çeşitli insan kanserlerinde INOS' un spesifik rolü araştırılmıştır. Toplanan bulgular INOS'un aşırı ekspresyonunun anjiogenez, kemoterapötik rezistans, metastaz ve bazı malign tümörlerde immün cevapla önemli derecede ilişkide olduğunu göstermiştir ( kolorektal kanser, meme kanseri, mesane kanseri ). NO süperoksit anyonu ile etkileşerek peroksinitriti meydana getirmekte ve bu da doku yaralanması ile sonuçlanmaktadır. Şekil 4 te nitrik oksidin diğer bileşenlerle etkileşerek oluşturduğu doku hasarına bir örnek olarak soğuk iskemi-reperfüzyon hasarı görülmektedir (35).



**Şekil 4. Nitrik oksit aracılı hasarını gösteren soğuk iskemi-reperfüzyon yaralanması (35)**

Nitrik oksit önemli bir sinyal iletilici molekül ve sitotoksindir. Nitrik oksit sentaz enzimi ile üretilir. Nöronal nitrik oksit sentaz nöronal dokuda bir nörotransmitter olarak, indüklenebilir nitrik oksit sentaz makrofajlarda bir sitotoksin olarak, endotelial nitrik oksit sentaz endotelial hücrelerde bir vazodilatör olarak görev yapar.

Kontrast madde intravasküler uygulandıktan sonra kontrast madde sitotoksitesine direkt cevap olarak vasküler endotelyumdan nitroz oksit, adenozin, endotelin, prostoglandin ve reaktif oksijen ürünleri gibi lokal vazoaaktif mediatörler salınır ve bunların uyumsuzluğu sonucu uzamış bir renal vazokonstriksiyon periyodu meydana gelir. Bu etkiler altında iskemik doku reaktif oksijen ürünleri gibi daha zararlı vazoaaktif mediatörler salar, vazokonstriksiyonun süresi daha da uzar (36). Şekil 6'da kontrast madde aracılı yaralanmanın mekanizması gösterilmiştir (36).



**Şekil 5. Kontrast madde kaynaklı yaralanma mekanizması (36)**

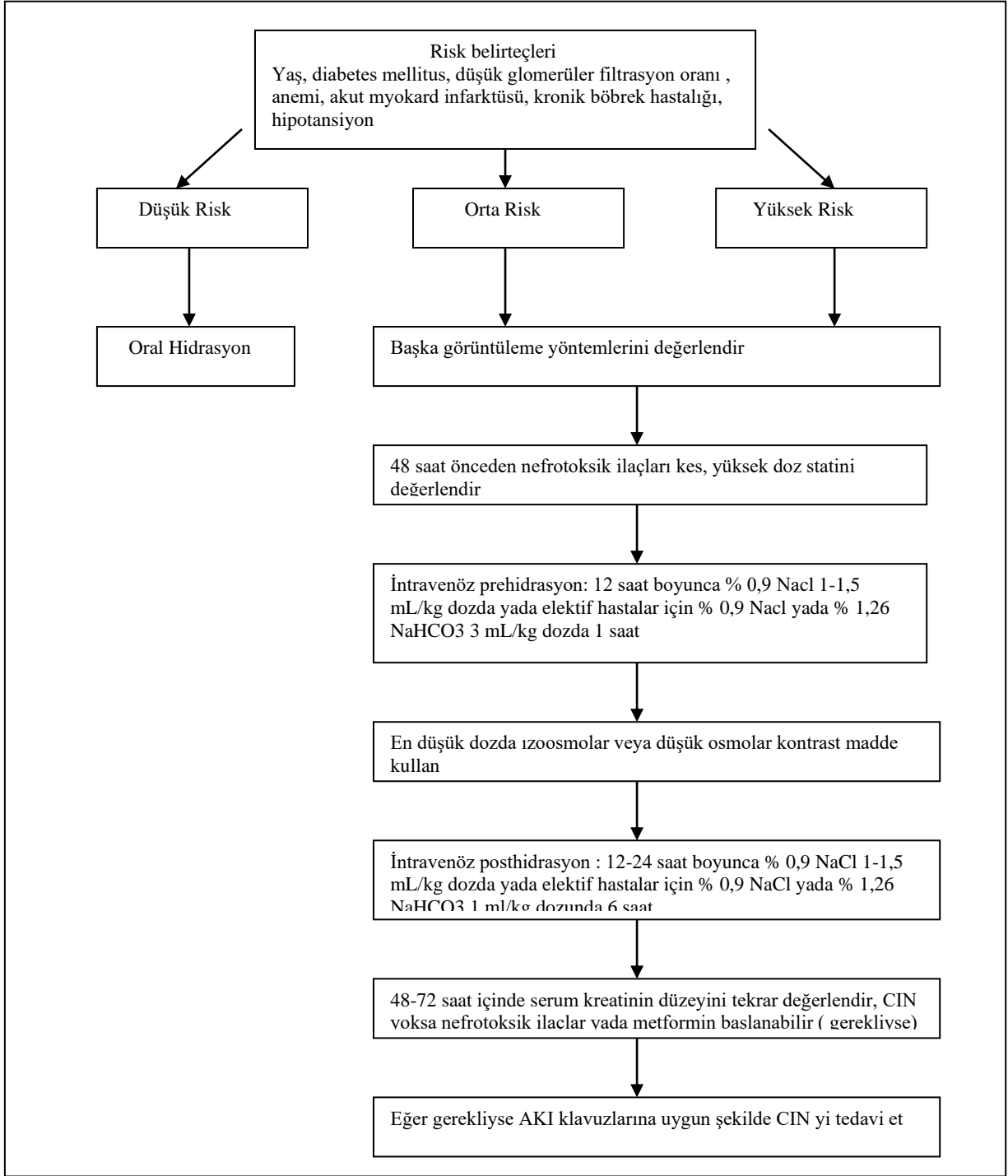
Klinik deneyimlere göre dehidratasyon CIN için majör bir risk faktörüdür. Hipotansiyon sistolik kan basıncının 60 dk' dan daha uzun süre 80 mmHg' nın altında olmasıdır ve risk faktörüdür. Sebepleri intravasküler volüm azlığı (örneğin ağır dehidratasyon, hemoraji yada sepsis), kardiojenik şok (örneğin akut myokard infarktüsü) yada aşırı vazodilatasyon (örneğin anafilaksi ) olabilir, bu durumlarda renal hipoperfüzyon oluşur ve kontrast madde tarafından oluşturulan renal iskemiye hassasiyet artar. Üçüncü ve 4. evre kalp yetmezliği (New York Kalp Yetmezliği Derneği sınıflamasına göre), yeni geçirilmiş

pulmoner ödem, akut myokard infarktüsü ya da % 45'den daha düşük sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu bağımsız risk faktörleridir (20,37-39). Diabetes mellitus da özellikle kronik böbrek hastalığı ile birliktelik durumunda bağımsız bir risk faktörüdür (40). İleri yaş da CIN ile ilişkilidir (20). Anemi diğer bir önemli risk faktörüdür, hematokritin (Hct) erkeklerde 0,39 ya da kadınlarda 0,36'nın altında olmasıdır. Nefrotoksik ajanların birlikte uygulanması da CIN riskini artırır ancak bu durum klinik çalışmalarla tam ortaya konmuş değildir. Kontrast maddenin total volümü (>350 mL yada >4 ml/kg) yada 72 saat içerisinde kontrast maddeye tekrardan maruz kalmak gibi prosedürel faktörler CIN gelişimiyle direkt olarak ilişkilidir (19,20). Maksimum güvenli volümü hesaplamak için Laskey ve arkadaşlarınca kontrast madde volümünün kreatinin klirensine oranı (V/CrCl) önerilmiştir, bu oranın 3,7 den büyük olmasının koroner anjio yapılan ve hafif kronik böbrek hastalığı bulunan bireylerde CIN gelişimi açısından güçlü belirteç olduğu gösterilmiştir (41). Ek olarak pozitif inotrop ajan yada intraarteriyel balon pompası kullanımını gerektiren periprosedürel hemodinamik instabilitenin mevcudiyeti de özellikle yüksek risk arz etmektedir. Bu risk faktörlerini kapsayan ve postprosedürel risk skorlamasına yarayan iyi bilinen bir skorlama sistemi Mehran ve arkadaşlarınca geliştirilmiştir (20). Tablo 2'de kontrast madde nefropatisi riskini hesaplamada kullanılan Mehran risk skoru gösterilmiştir (20).

**Tablo 2. CIN gelişme riskini hesaplamada kullanılan Mehran Risk Skoru (19)**

Periprosedürel CIN İçin Mehran Risk Faktörleri		Skor			
Hipotansiyon ( Sistolik kan basıncı < 80 mmHg yada >1 saat inotrop desteği)		5			
İntraarteriyel balon pompa tedavisi		5			
Kronik kalp yetmezliği ( Newyork kalp yetmezliği derneği evre 3veya 4 yada yeni pulmoner ödem)		5			
Yaş > 75		4			
Diabetes mellitus		3			
Anemi ( Erkek için Htc < 0,39, kadın için Htc < 0,36 )		3			
GFR < 20 mL/ dk		6			
GFR =20-40 mL/dk		4			
GFR = 40-60 mL/dk		2			
Kontrast madde volümü		Her cc için 1			
Skor	< 5	6-10	11-16	> 16	
CIN riski	Düşük % 7,5	Orta % 14	Yüksek % 26,1	Çok yüksek % 57,3	
Dializ riski	% 0,04	% 0, 12	% 1,09	% 12,6	

Şekil 6'da 3 ayrı risk gruplaması oluşturularak CIN' yi önlemeye yönelik öneriler sıralanmaktadır (6).



**Şekil 6. CIN' yi önleme algoritması (6)**

Akut böbrek hasarının diğer sebeplerini ekarte etmede idrar analizi yararlıdır, genellikle akut nekroz bulgularını içerir ki, bunlar kirli kahverengi cisimcikler ve tübüler epitelyal hücrelerdir. Ancak bu bulguların olmaması tanıyı ekarte ettirmez. Proteinüri genellikle hafif düzeyde ya da yoktur. AKI tübüler yaralanma sebebiyle olmasına rağmen,

sodyumun fraksiyone atılımının  $< \%1$  olduğu rapor edilmektedir ki ,bu da postkontrast sekelde tipiktir ve önemli derecede renal arteriolar hipoperfüzyonun göstergesidir. Postkardiak kateterizasyon hastalarında AKI nin göz önünde tutulması gereken diğer sebepleri; ateroembolik hastalık, kardiyorenal sendrom ve kontrast maddeden bağımsız iskemik akut tübüler nekroza yol açabilecek hipoperfüzyon yapabilecek her türlü prosedürdür (39).

Kontrast kaynaklı nefropati oluşuktan sonra geri çevirme ya da iyileştirme sağlayan bir tedavi yoktur. En iyi yol CIN gelişimini önleyici stratejileri izlemektir. CIN önleme stratejileri açısından birçok öneri mevcuttur, bunlardan biri de Avrupa Kardiyoloji Cemiyetinin 2014 te yayınladığı bir klavuzdur (42). Bu klavuzda izotonik salinle intravenöz hidrasyon ve isosomolar kontrast madde kullanımı 1A öneri olarak yer almaktadır. CIN önlemede kesin değeri olanlar parenteral hidrasyon, düşük osmolar yada iso osmolar kontrast madde kullanım ve düşük dozda kontrast madde kullanımındır. Hidrasyonun hafif veya yüksek riskli hastalarda yada hospitalize olanlarda kristaloid infüzyonuyla intravenöz yapılmasının oral uygulamaya üstün olduğu klinik çalışmalarla gösterilmiştir (43).

Akut böbrek hasarında renal replasman tedavisinin hedefleri; sıvı, elektrolit, asid baz ve solut balansını sağlamak, hastalığın ilerlemesini önlemek ve iyileşmeyi hızlandırmaktır. Diüretik tedaviye rezistan volum fazlalığı, ağır elektrolit bozukluğu (özellikle elektrokardiografi değişikliklerinin eşlik ettiği hiperkalemi) asid baz bozuklukları ve üremik semptomlar (metabolik ensefalopati yada santral sinir sistemi toksisitesini gösteren diğer bulguları olan hastalar, perikardit ve üremik platelet disfonksiyonundan kaynaklandığı düşünülen kanama) bulunan hastalarda renal replasman tedavisi göz önünde tutulmalıdır. Gerek nefropati ve gerekse diğer hastalıkların tedavisinde bitkisel kaynaklı ürünlerin kullanımı son yıllarda giderek artmış ve bitkisel kaynaklı çeşitli kimyasal maddeler birçok hastalığın tedavisi için çalışmalara konu olmaktadır. Tedavide bitkisel ürünlerin kullanımı çok eskilere dayanmaktadır (44).

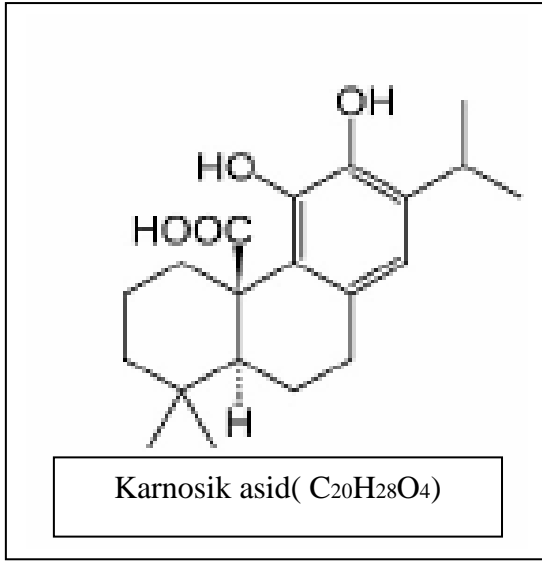
Karnosik asid bir abietan diterpenoiddir, karbotrisiklik yapıdadır ve katekol ailesinin bir üyesidir. Moleküler formülü  $C_{20}H_{28}O_4$  şeklindedir, formal ismi Karnosik asid (4aR,10aS)-5,6-dihydroxy-1,1dimethyl-7-propan-2-yl-2,3,4,9,10,10a-exahydrophenanthrene-4a-carboxylic aciddir (45). Moleküler ağırlığı 332,4 g/moldür. Biberiye olarak bildiğimiz Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) ve Common sage (*Salvia officinalis*) bitkilerinde bulunur. Bu iki bitkinin kuru yaprakları % 1,5-2,5 oranında karnosik asid içerir. Karnosik asid ilk kez Linde tarafından *Salvia officinalis*te keşfedildi (46). Daha sonra *Rosmarinus officinalis* L. yapraklarında daha yüksek düzeyde bulundu . Molekül diğer *Salvia* türlerinde ve *Lamiceae*

ailesi üyelerinde de bulundu (47). İsoprenoid yada terpenler olarak da bilinen ve terpenoidler olarak adlandırılan 50000 in üzerindeki bitkisel sekonder metabolit sınıfına aittir (48). Karnosik asid ile ilgili genel bilgilere aşağıda sıralanmıştır ve Şekil 7’de karnosik asidin moleküler yapısı görülmektedir (49).

Kimyasal bileşiğin kayıt numarası (CAS number ): 3650-09-07

Sinonimleri: Rosamax, RoseOx, Salvin

Moleküler formülü: C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub>



**Şekil 7. Karnosik asidin moleküler yapısı (49)**

Karnosik asid fenolik grup içerdiği için sıklıkla polifenoller arasında sınıflandırılır. Bu bileşik lipidleri peroksidasyondan, proteinleri ise karbonilasyondan korur. Karnosik asid; antiinflamatuvar, antimikrobial, antiviral, nöroprotektif, antineoplastik, apoptoz önleyici, yiyeceklerin bozulmasını önleyici ve benzeri özellikleri açısından birçok çalışmaya konu olup başarılı sonuçlar alınmış ve bu çalışmalar halen birçok alanda yoğun bir şekilde devam etmektedir (50-53).

Her ne kadar sistematik olarak doğrulanmasa da rosemary ekstraktının antioksidan özelliklerinin % 90 dan fazlası Karnosik asid + Karnosole bağlıdır. Karnosik asidden zengin rosemary ekstraktlarının antimikrobial etkinliği vardır (54). Antilisterial etki üzerine yapılan bir çalışmada % 40 oranında karnosik asid içeren rosemary ekstraktının % 20 oranında karnosik asid içeren diğer ekstraktan 2 kat daha düşük minimum inhibe edici konsantrasyon oranıyla etkili olduğu görülmüş ve karnosik asid en etkin bileşik olarak bulunmuştur. Yine

yapılan diğler bazı çalışmalarda Bacillus, Enterococcus, Streptococcus yada Staphylococcus gibi gram pozitif bakteriler yada Escherichia, Salmonella ya da Campylobacter gibi gram negatif bakteriler de karnosik aside duyarlı bulunmuştur (55-61).

Karnosik asid ve karnosol avrupada yiyeceklerde kullanılan ana aktif antioksidanlardır. Rosemary ekstraktları 20 yılı aşkın süredir yiyecek endüstrisinde antioksidan olarak kullanılmaktadırlar. 2018 yılında diabetik ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada karnosik asid'in Nrf2/ARE yi aktive etme ve NF-kB yolağını inhibe etme suretiyle diabetik nefropati bulgularını iyileştirdiği ortaya konmuştur (7).

Bu bileşiğin kontrast madde nefropatisinde tedavi edici etkinliğinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Eğer bu etkinlik kanıtlanabilirse morbidite ve özellikle kötü kondisyonu bulunan hastalarda bu patolojiye bağlı mortalite önlenabilir, aynı zamanda bu veriler paralelinde hastane maliyetlerinin de azaltılabileceğini düşünmekteyiz.



## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deney için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulundan 2018.12.01 numarası ile izin alındı. Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Biriminden TUBAP-2019/44 nolu başvuru numarası ile mali finansman sağlandı. Denekler Trakya Üniversitesi deney hayvanları biriminde tutuldu. Tüm deney ve hayvan bakımı Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu ilkelerine göre sürdürüldü. Tüm denekler çelik kafeslerde tutuldu, ortalama ısı  $21\text{ C} \pm 4\text{ C}$  idi. Deneyde 250-300 gr ağırlığında erkek ratlar kullanıldı. 8 erli 3 grup oluşturuldu. Kontrol grubu olan 1. grup hiçbir kısıtlama ve/veya medikasyona tabi tutulmadı. İkinci grup model grubu idi. Bu gruptaki ratlara yeni bir yöntemle kontrast nefropati oluşturuldu (62). Denekler öncelikle 48 saat süreyle susuz bırakılarak dehidrate olmaları sağlandı. Bu sürenin sonunda 10 ml/kg dozunda furosemid intramuskuler olarak enjekte edildi. Sıcak ışık yayan lamba kullanılarak kuyruk veninin belirgin hale gelmesi sağlandı. 30 dakika sonra denekler 10 mg/kg dozunda intramuskuler Ksilazin Hidroklorid ve 90 mg/kg dozunda intramuskuler Ketamin kullanılarak anestetize edildi. Iohexsol içeren kontrast madde 15 ml/kg dozunda olacak şekilde ( 300 mg/ml de ) kuyruk veninden 0,5 ml/dk hızında enjekte edildi. Üçüncü grup ise nefropati + karnosik asid grubu idi. Bu gruptaki denekler de yine 48 saat süreyle susuz bırakılarak dehidrate edildiler ve biraz önce anlatıldığı şekilde 10 ml/kg dozunda Furosemid intramuskuler enjeksiyonu yapıldı, 30 dakika sonra denekler yukarıda anlatıldığı şekilde anestetize edilerek venöz dilatasyon için gerekli prosedür sonrası 15 ml/kg dozunda iohexsol kuyruk veninden 0,5ml/dk hızında uygulanmak suretiyle nefropati sürecine sokuldular. Bu gruptaki deneklere 1-5 günler arasında 5 gün süreyle 30 mg/kg /gün dozunda karnosik asid verildi, uygulama orogastrik kateter vasıtasıyla gerçekleştirildi. Birinci grup tüm deney süresince herhangi bir kısıtlamaya

tabi tutulmadı. Model grubu ve tedavi grubundaki deneklere uygulanan sıvı kısıtlaması nefropati prosedürü uygulandıktan sonra kaldırıldı. Beşinci günün sonunda tüm denekler anestezize edilerek kan örnekleri alındı ve anterior insizyonla abdomene girilerek nefrektomi yapıldı, işlem sonrası böbrekler derhal longitudinal ekseninde ikiye ayrıldı ve % 10 formol solüsyonuna konuldu. Sonrasında denekler servikal dislokasyonla sakrifiye edildi.

## **BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER**

Serum üre, serum kreatinin, Na, K ve kreatin kinaz ölçümleri otomatik ölçümleme cihazları vasıtasıyla yapıldı. (Cihaz adı: Beckman Coulter AU 5811, Seri No: 2016082866, Üretim yılı: 2016, USA.)

## **HİSTOLOJİK ÇALIŞMALAR**

Işık mikroskopik inceleme: Sagital olarak ikiye bölünen sağ böbrek dokularının birer yarısı %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda 24 saat boyunca fikse edildi. Dokular parafin bloklara gömülerek, 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler ışık mikroskopunda patolojik değerlendirme için hematoksilin-eozin ile boyandı. Renal hasarın derecesini değerlendirmek için semikantitatif bir skala ile skorlama yapıldı (63). Grupların ilişkin herhangi bir bilgi patoloji ile paylaşılmadı ve kör çalışıldı. Renal hasarın derecesi; tübüler hücre nekrozu, sitoplazmik vakuol oluşumu, tübüler dilatasyon değerlendirilerek belirlendi.

### **Skala Değerlendirmesi**

- 0: Normal böbrek
- 1: Minimal hasar (%0-5 tutulum)
- 2: Hafif dereceli hasar ( % 5-25 tutulum)
- 3: Orta dereceli hasar (%25-75 tutulum)
- 4: Şiddetli hasar (%75-100 tutulum) olarak değerlendirilmiştir.

## **İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME**

İmmünohistokimyasal inceleme için, formalin tespitli, parafine gömülü dokulardan hazırlanan 4 µm kalınlıktaki kesitler kullanıldı. Doku kesitleri, elektrostatik yüklü lamlara alındı ve 70 °C'de en az 1 saat kurutuldu. Deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarma işlemleri de dahil olmak üzere tüm immünohistokimyasal boyama süreci tam otomatik immünohistokimya boyama cihazında (Ventana BenchMark Ultra, Ventana Medical System, Tucson, AZ) gerçekleştirildi. İşlem için uygun, biyotinsiz, multimer bazlı, hidrojen peroksit

substrat ve 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorit kromojeni içeren hazır kit (ultraViev Universal DAB Detection Kit, Cat: 760-500) kullanıldı. Olgulara göre farklılık göstermekle birlikte tanı ve ayırıcı tanı için uygulanan immünohistokimyasal antikor indüklenebilir nitrik oksit sentaz 'INOS' ( Marka adı : Bioss, Katolog no : AH02023741, Rabbit poliklonal) idi. Zıt boyaması boyama cihazında, hematoksilen ve mavileştirici solüsyon ile tanımlanan kesitlerin dehidratasyonu, ksilen ile şeffaflandırılması ve lamel ile kapatılması aşamaları elde yapılarak işlem sonlandırıldı. Tüm immünopozitif hücreler, 10 büyük büyütme alanının (x200) rastgele bir bölümünde değerlendirildi. Her vaka için boyanmış hücreler puanlandı ve yüzde olarak verildi. Boyama yaygınlığı 0 (% 0-5), 1 (% 6-24), 2 (% 25-49), 3 (% 50-74) ve 4 ( $\geq$ % 75) olarak derecelendirildi. Boyanma yoğunluğu, 0 (negatif), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (güçlü) olarak derecelendirildi. 0-300 arasında immünoreaktivite skoru almak için iki değer çarpıldı (64).

### **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Veride yer alan nicel değişkenler için grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Grup farklılığı saptandıktan sonra çoklu karşılaştırma için Dunn-Bonferroni post hoc testi ile farklılığı yaratan grup veya gruplar belirlendi. Tanımlayıcı istatistik olarak nicel değişkenler için en büyük ve en küçük değer ile birlikte ortalama ve standart sapma, ortanca ve 25. yüzdeler ile 75. yüzdeler değerleri verilirken nitel türde değişkenler için sıklık ve yüzde değerleri verildi. Hata payının 0,05 olarak belirlendiği tüm istatistiksel analizler IBM SPSS 20.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. (IBM SPSS 20.0 Program no: 10240642, USA. )

## BULGULAR

Çalışma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi deney hayvanları laboratuvarında gerçekleştirildi. Her biri 8'er ratdan oluşan Kontrol (K), Model (M) ve Tedavi (T) gruplarına ait biyokimyasal ve immünohistokimyasal veriler Tablo 3'te gösterilmiştir.

**Tablo 3. Gruplara ait biyokimyasal ve immünohistokimyasal skor değerleri**

Gruplar	Üre	Kreatinin	Na	K	CK	INOS
K1	50	0,33	141	4,8	883	10
K2	43	0,23	140	5	643	10
K3	48	0,26	143	5,1	771	10
K4	45	0,24	141	4,1	757	20
K5	44	0,26	141	4,3	648	10
K6	46	0,25	141	5	965	10
K7	53	0,31	142	4	836	20
K8	45	0,25	136	4,5	682	10
M1	93	1,85	136	5,6	1808	270
M2	84	1,79	128	4,8	1398	240
M3	66	1,68	139	4,8	1577	240
M4	141	2,3	134	6,8	1571	270
M5	90	1,66	124	5,4	1225	240
M6	110	1,96	126	6	2049	240
M7	165	2,64	132	6,6	1406	270
M8	174	2,19	113	5,5	1343	240
T1	51	1,11	141	4,7	848	240
T2	45	0,97	141	5,1	1029	210
T3	42	1,24	140	4,3	970	210
T4	49	0,73	136	4,6	962	220
T5	39	0,52	141	5,2	728	240
T6	50	0,88	141	4,8	1204	220
T7	41	1,01	140	5,1	1012	210
T8	50	0,76	138	5	974	210

**K:** Kontrol, **M:** Model, **T:** Tedavi. **CK:** Kreatin kinaz, **INOS:** İndüklenebilir nitrik oksit sentaz.

Doku örnekleme sırasında renal boyutlar bakımından gruplar arasında bir farklılık olmadığı görüldü.

### Üre Değerine İlişkin İstatistiksel Değerlendirme

Tablo 4’de üre için oluşturulan Kruskal Wallis test sonuçları gösterilmiştir. Üre açısından kontrol grubunda 43-53 mg/dl aralığında değişen üre değerlerinin ortalaması 46,75±3,4 mg/dl, model grubunda 66 -174 mg/dl aralığında değişen üre değerlerinin ortalaması 115,375±39,9 mg/dl ve tedavi grubunda 39 -51 mg/dl aralığında değişen üre değerlerinin ortalaması 45,875±4,7 mg/dl idi. Gerçekleştirilen analizde üre değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark görüldü (p<0,001).

**Tablo 4. Üre için Kruskal Wallis testi**

		Kontrol	Model	Tedavi	p*
ÜRE (mg/dl)	Ort±SS	46,75 ± 3,4	115,375 ± 39,9	45,875 ± 4,7	<0,001
	Med (25.-75.)	45,5( 44,25± 49,5 )	101,5 (85,5-159 )	47 (41,25-50)	
	Min-Maks	43-53	66-174	39-51	

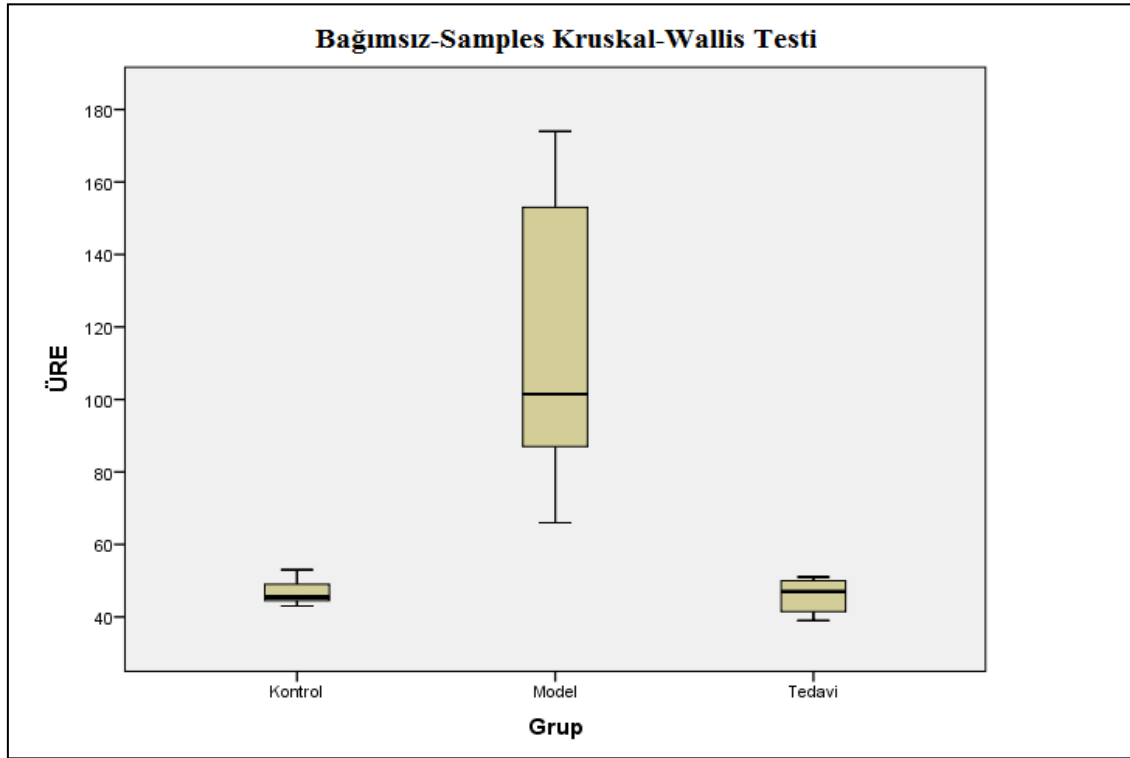
Ort; ortalama, SS; standart sapma, Med; ortanca değer, (25.-75.); 25. yüzdeler ve 75. yüzdeler değerleri, Min; en küçük değer, Maks; en büyük değer.  
p\*; Kruskal Wallis testine ait p değeri.

Tablo 5’te üre değeri için yapılan çoklu karşılaştırma sonuçları gösterilmiştir. Burada istatistiksel anlamlılık oluşturan grubun model grubu olduğu görüldü. Model grubunda elde edilen üre değerleri kontrol ve tedavi gruplarından elde edilen üre değerlerine göre anlamlı derecede yüksek idi. Aynı zamanda model ve tedavi grupları arasında da anlamlı istatistiksel fark bulundu (p=0,001).

**Tablo 5. Üre için yapılan çoklu karşılaştırma analizi**

Örnek 1-Örnek 2	Test İstatistiği	Standart Hata	St. Test İstatistiği	Önem	Düzeltilmiş Önem
Tedavi-Kontrol	,750	3,529	,213	,832	1,000
Tedavi-Model	12,375	3,529	3,506	,000	,001
Kontrol-Model	-11,625	3,529	-3,294	,001	,003

Grafik 1 Üre değerlerine ilişkin kutu grafiğini göstermektedir. Üre değerlerine ilişkin kutu grafiğinde model grubunda gerek minimum ve maksimum değerlerin ve gerekse ortanca değerlerin diğer iki gruptan belirgin derecede yüksek olduğu görüldü, bu durumun istatistiksel anlamlı farklılık oluşturduğu tespit edildi (p<0,001 ).



**Grafik 1. Üre değerlerine ilişkin kutu grafiği**

### Kreatinin Değerine Ait İstatistiksel Değerlendirme

Tablo 6'da Kreatinin değerleri için yapılan Kruskal Wallis testi sonuçları görülmektedir. Kontrol grubunda 0,23-0,33 mg/dl aralığında değişen kreatinin değerlerinin ortalaması  $0,266 \pm 0$  mg/dl , model grubunda 1,66-2,64 mg/dl aralığında değişen kreatinin değerlerini ortalaması  $2,009 \pm 0,3$  mg/dl ve tedavi grubunda 0,52-1,24 mg/dl aralığında değişen kreatinin değerlerinin ortalaması  $0,903 \pm 0,2$  mg/dl idi. Gerçekleştirilen analizde gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü ( $p < 0,001$ ).

**Tablo 6. Kreatinin için Kruskal Wallis testi**

		KONTROL	MODEL	TEDAVİ	p*
KREATİNİN (mg/dl)	Ort±SS	$0,266 \pm 0$	$2,009 \pm 0,3$	$0,903 \pm 0,2$	< 0,001
	Med (25.-75.)	0,255( 0,24-0,3 )	1,905 ( 1,71-2,27)	0,925( 0,74-1,09)	
	Min-Maks	0,23-0,33	1,66-2,64	0,52-1,24	

Ort; ortalama, SS; standart sapma, Med; ortanca değer, (25.-75.); 25. yüzdilik ve 75. yüzdilik değerleri, Min; en küçük değer, Maks; en büyük değer.

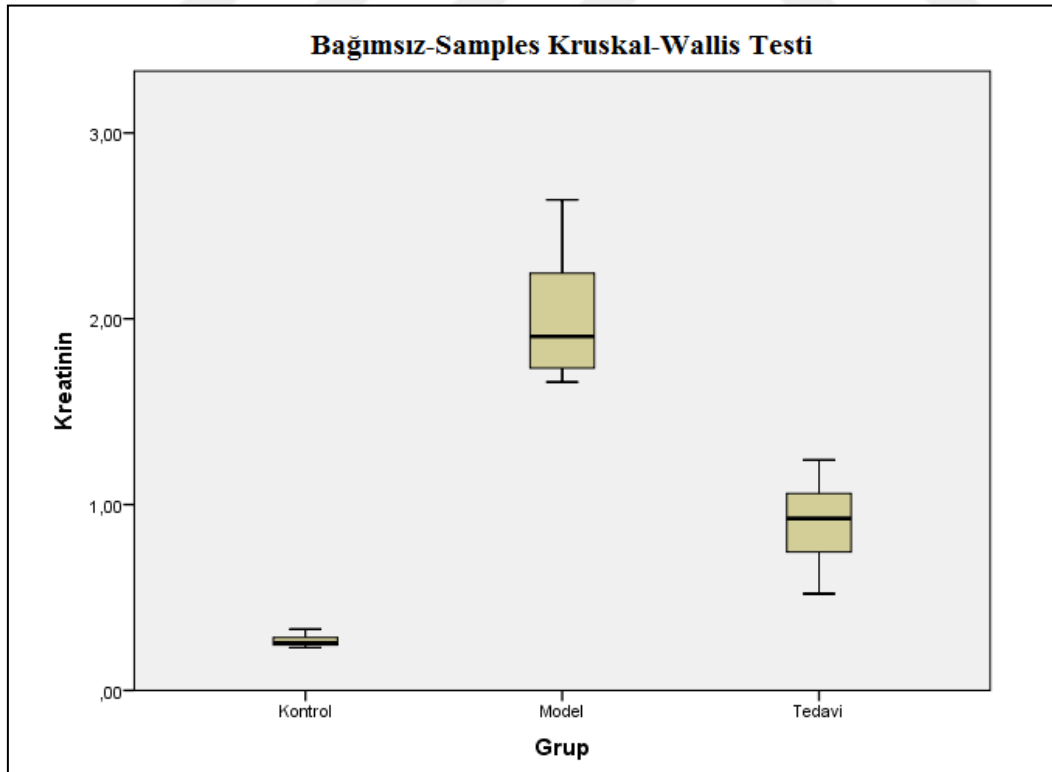
p\*; Kruskal Wallis testine ait p değeri.

Tablo 7’de Kreatinin için yapılan çoklu karşılaştırma analizi sonuçları görülmektedir. Yapılan çoklu karşılaştırma analizinde istatistiksel anlamlı farklılığın model grubundan kaynaklandığı görüldü. Model grubundan elde edilen kreatinin değerleri kontrol ve tedavi gruplarından elde edilen kreatinin değerlerine göre anlamlı derecede yüksek idi. Model ve tedavi grupları arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmadı ( $p= 0,071$ ).

**Tablo 7. Kreatinin için yapılan çoklu karşılaştırma analizi**

ÖRNEK1-ÖRNEK2	TEST İSTATİSTİĞİ	STANDART HATA	ST TEST İSTATİSTİĞİ	ÖNEM	DÜZELTİLMİŞ ÖNEM
TEDAVİ-KONTROL	-8,000	3,534	-2,264	,024	,071
KONTROL-MODEL	-16,000	3,534	-4,527	,000	,000
TEDAVİ-MODEL	8,000	3,534	2,264	,024	,071

Grafik 2 de Kreatinin değerlerine ait kutu grafiği görülmektedir. Kreatinin değerlerine ilişkin kutu grafiğinde model grubunda gerek minimum ve maksimum değerlerinin ve gerekse ortanca değerinin diğer iki gruptan belirgin derecede yüksek olduğu görüldü, bu durumun istatistiksel anlamlı farklılık oluşturduğu tespit edildi ( $p<0,001$ ).



**Grafik 2. Kreatinin değerlerine ilişkin kutu grafiği**

### Sodyum (Na) Değerlerine İlişkin İstatistiksel Değerlendirme

Sodyum değerlerine ait Kruskal Wallis test sonuçları Tablo'8 de görülmektedir. Kontrol grubunda 136-143 mmol/L aralığında değişen Na değerlerinin ortalaması 140,625±2,1 mmol/L, model grubunda 113-139 mmol/L aralığında değişen Na değerlerinin ortalaması 129±8,2 mmol/L ve tedavi grubunda 136-141 mmol/L aralığında değişen Na değerlerinin ortalaması ise 139,75±1,8 mmol/L olarak bulundu. Gerçekleştirilen analizde Na açısından gruplar arasında anlamlı farklılığın olduğu saptandı (p= 0,001).

**Tablo 8. Sodyum (Na) için Kruskal Wallis testi**

		KONTROL	MODEL	TEDAVİ	p*
Na (mmol/L)	Ort±SS	140,625±2,1	129±8,2	139,75±1,8	0,001
	Med (25.-75.)	141( 140,25±141,75)	130(124,5±135,5)	140,5(138,5-141)	
	Min-Maks	136-143	113-139	136-141	

Ort; ortalama, SS; standart sapma, Med; ortanca değer, (25.-75.); 25. yüzdeler ve 75. yüzdeler değerleri, Min; en küçük değer, Maks; en büyük değer.  
p\*; Kruskal Wallis testine ait p değeri.

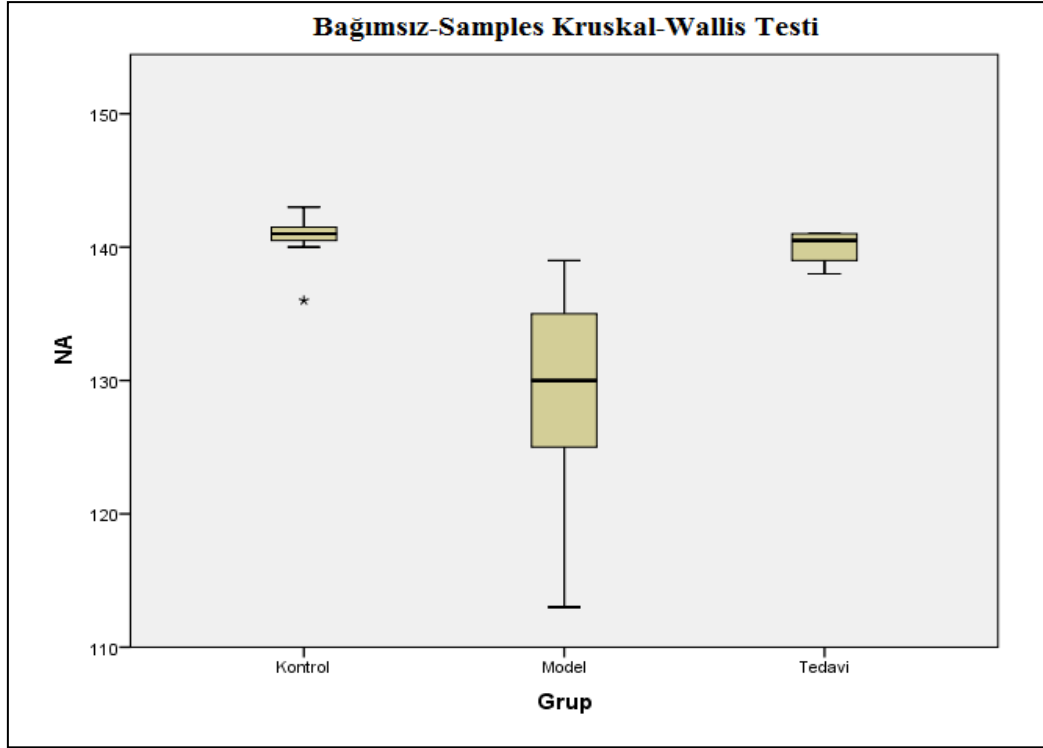
İstatistiksel farklılığı yaratan grubun hangisi olduğunun tesbiti için yapılan çoklu karşılaştırma analizi sonuçları Tablo 9'da görülmektedir. Yapılan çoklu karşılaştırma analizinde istatistiksel farklılığı oluşturan grubun model grubu olduğu görüldü. Model grubundan elde edilen Na değerleri kontrol ve tedavi gruplarından elde edilen Na değerlerine göre anlamlı derecede daha düşük idi. Model ve tedavi grupları arasında da anlamlı istatistiksel fark bulundu ( p= 0,015).

**Tablo 9. Sodyum (Na) için yapılan çoklu karşılaştırma analizi**

ÖRNEK 1-ÖRNEK 2	TEST İSTATİSTİĞİ	STANDART HATA	ST TEST İSTATİSTİĞİ	ÖNEM	DÜZELTİLMİŞ ÖNEM
MODEL-TEDAVİ	-9,750	3,464	-2,815	0,005	0,015
MODEL-KONTROL	12,750	3,464	3,681	0,000	0,001
TEDAVİ-KONTROL	3,000	3,464	0,866	0,386	1,000

Sodyum değerlerine ait kutu grafiği Grafik 3' te görülmektedir. Na değerlerine ilişkin kutu grafiğinde model grubunda elde edilen Na değerlerinin kontrol ve tedavi gruplarından elde edilen Na değerlerine göre daha düşük olduğu görülüyor. Bu durumun istatistiksel anlamlı farklılık oluşturduğu tespit edildi (p<0,001).





**Grafik 3. Sodyum değerlerine ilişkin kutu grafiği**

### Potasyum( K) değerlerin ilişkin istatistiksel değerlendirme

Potasyum değerlerine ilişkin Kruskal Wallis test verileri Tablo 10'da görülmektedir. Kontrol grubunda 4-5,1 mmol/L aralığında değişen K değerlerinin ortalaması  $4,6 \pm 0,4$  mmol/L ,model grubunda 4,8 -6,8 mmol/L aralığında değişen K değerlerinin ortalaması  $5,688 \pm 0,7$  mmol/L ve tedavi grubunda 4,3-5,2 mmol/L arasında değişen K değerlerinin ortalaması ise  $4,85 \pm 0,3$  mmol/L idi. Gerçekleştirilen analizde gruplar arasında K açısından anlamlı farklılık olduğu saptandı ( $p= 0,008$ ).

**Tablo 10. Potasyum için Kruskal Wallis testi**

		KONTROL	MODEL	TEDAVİ	p*
<b>K</b> <b>(mmol/L)</b>	<b>Ort±SS</b>	4,6±0,4	5,688±0,7	4,85±0,3	0,008
	<b>Med (25.-75.)</b>	4,65(4,15-5)	5,55( 4,95-6,45)	4,9(4,63-5,1)	
	<b>Min-Maks</b>	4-5,1	4,8-6,8	4,3-5,2	

Ort; ortalama, SS; standart sapma, Med; ortanca değer, (25.-75.); 25. yüzdilik ve 75. yüzdilik değerleri, Min; en küçük değer, Maks; en büyük değer.

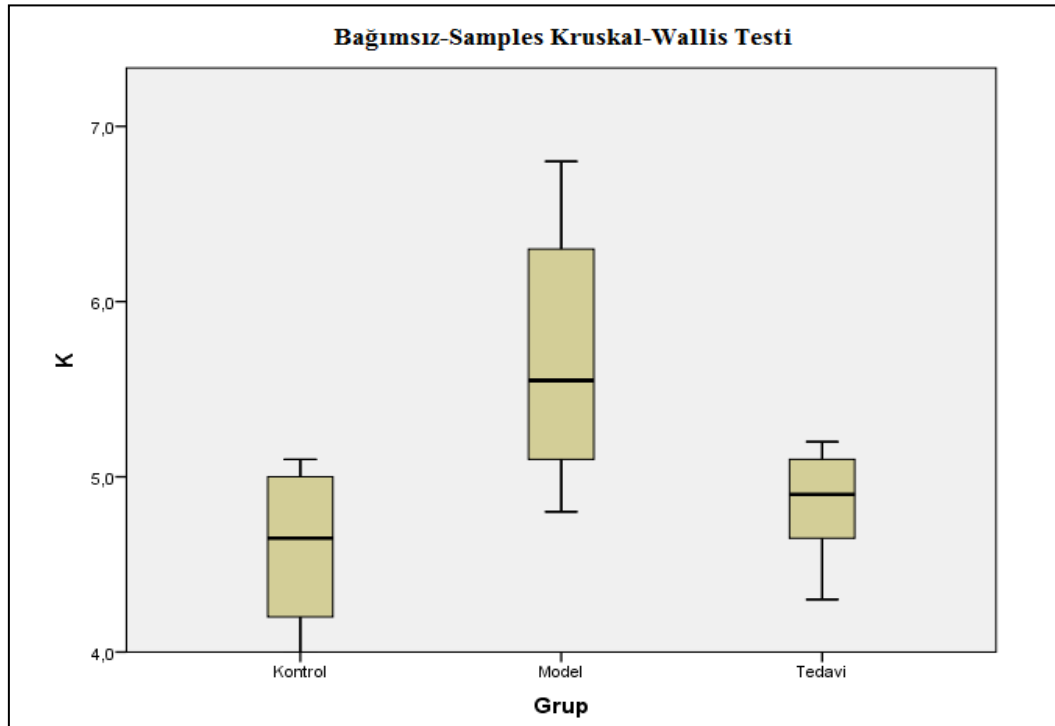
p\*; Kruskal Wallis testine ait p değeri.

Potasyum için yapılan çoklu karşılaştırma analizi verileri Tablo 11’de gösterilmiştir. Yapılan çoklu karşılaştırma analizinde gruplar arasında anlamlı farklılığı oluşturan grubun model grubu olduğu görülmektedir. Model grubunda elde edilen K değerleri kontrol ve tedavi gruplarından elde edilen K değerlerine göre daha yüksek idi. Model ve tedavi grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,109$ ).

**Tablo 11. K için yapılan çoklu karşılaştırma analizi**

ÖRNEK 1-ÖRNEK 2	TEST İSTATİSTİĞİ	STANDART HATA	ST TEST İSTATİSTİĞİ	ÖNEM	DÜZELTİLMİŞ ÖNEM
TEDAVİ-KONTROL	-3,250	3,521	-,923	,356	1,000
MODEL-KONTROL	-10,625	3,521	-3,018	,003	,008
MODEL-TEDAVİ	7,375	3,521	2,095	,036	,109

Grafik 4’te Potasyum değerlerine ait kutu grafiği görülmektedir. Potasyum değerlerine ilişki kutu grafiğinde model grubundan elde edilen potasyum değerlerinin kontrol ve tedavi gruplarından elde edilen K değerlerinden daha yüksek olduğu tespit edildi. Bu durum istatistiksel anlamlılık oluşturmuyordu ( $p =0,008$ ).



**Grafik 4. Potasyum değerlerine ait kutu grafiği**

### Kreatin Kinaz (CK) değerlerine ilişkin istatistiksel değerlendirme

Kreatin Kinaz değerlerine ait Kruskal Wallis test verileri Tablo 12 'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda 643-965 IU/L aralığında değişen CK değerlerinin ortalaması 773,125±115,9 IU/L, model grubunda 1225-2048 IU/L aralığında değişen CK değerlerinin ortalaması 1547,125±269,7 IU/L ve tedavi grubunda 728-1204 IU/L aralığında değişen CK değerlerinin ortalaması 965,875±138 IU/L idi. Gerçekleştirilen analizde CK açısından gruplar arasında anlamlı farklılık görüldü ( $p<0,001$ ).

**Tablo 12. Kreatin Kinaz için Kruskal Wallis testi**

		KONTROL	MODEL	TEDAVİ	p*
CK (IU/L)	Ort±SS	773,125±115,9	1547,125±269,7	965,875±138	<0,001
	Med (25.-75.)	764(656,5-871,25)	1488,5(1356,75-1750,25)	972(876,5-1024,75)	
	Min-Maks	643-965	1225-2049	728-1204	

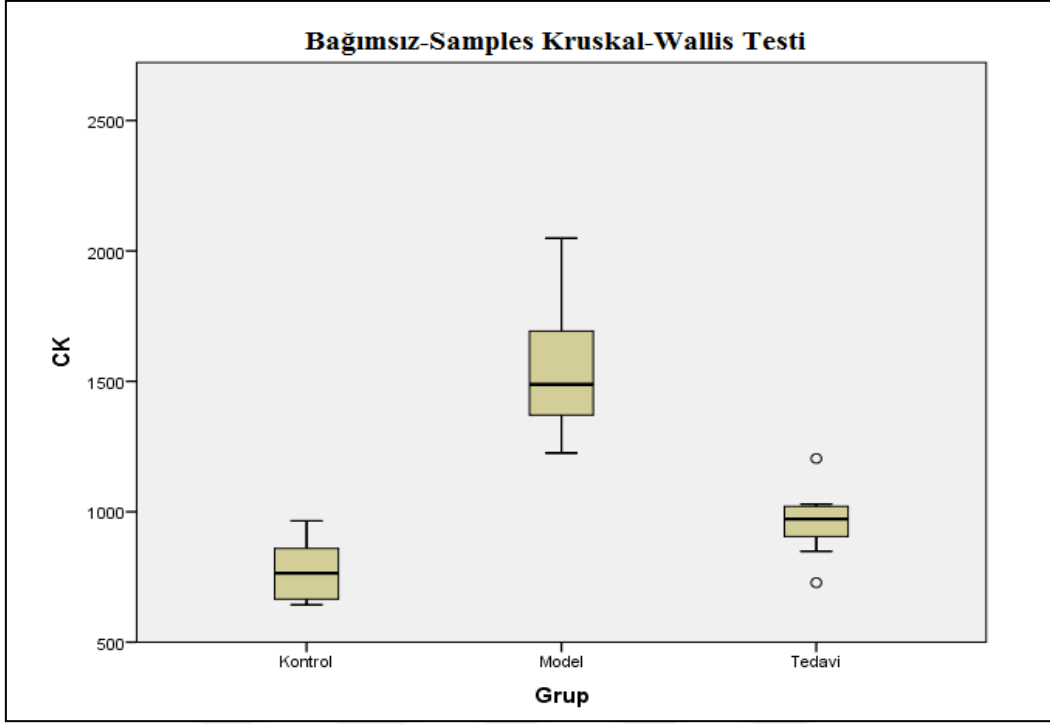
Ort; ortalama, SS; standart sapma, Med; ortanca değer, (25.-75.); 25. yüzdeler ve 75. yüzdeler değerleri, Min; en küçük değer, Maks; en büyük değer.  
p\*; Kruskal Wallis testine ait p değeri.

Kreatin Kinaz için yapılan çoklu karşılaştırma analiz sonuçları Tablo 13'te gösterilmiştir. Yapılan çoklu karşılaştırma analizinde istatistiksel olarak farklılık oluşturan grubun model grubu olduğu görüldü. Model grubunda elde edilen CK değerleri kontrol ve tedavi gruplarından elde edilen CK değerlerine göre daha yüksek idi. Model grubu ile tedavi grubu arasında da istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttu ( $p=0,033$ ).

**Tablo 13. CK için yapılan çoklu karşılaştırma analizi**

ÖRNEK1- ÖRNEK 2	TEST İSTATİSTİĞİ	STANDART HATA	ST TEST İSTATİSTİĞİ	ÖNEM	DÜZELTİLMİŞ ÖNEM
KONTROL-TEDAVİ	-6,000	3,536	-1,697	,090	,269
KONTROL-MODEL	-15,000	3,536	-4,243	,000	,000
TEDAVİ-MODEL	9,000	3,536	2,546	,011	,033

Kreatin Kinaz değerlerine ait kutu grafiği Grafik 5 de görülmektedir. CK değerlerine ilişkin kutu grafiğinde model grubunda elde edilen CK değerlerinin kontrol ve tedavi gruplarından elde edilen CK değerlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durumun istatistiksel anlamlı farklılık oluşturduğu tespit edildi ( $p<0,001$ ).



**Grafik 5. Kreatin Kinaz değerlerine ait kutu grafiği**

#### INOS değerlerine ilişkin istatistiksel değerlendirme

INOS değerlerine ait Kruskal Wallis test verileri Tablo 14 te görülmektedir. Kontrol grubunda 10-20 aralığında değişen INOS değerlerinin ortalaması  $12,5 \pm 4,6$ , model grubunda 240-270 aralığında değişen INOS değerlerinin ortalaması  $251,25 \pm 15,5$  ve tedavi grubunda 210-240 aralığında değişen INOS değerlerinin ortalaması  $220 \pm 13,1$  olarak bulundu. Gerçekleştirilen analiz sonucunda INOS değerleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık olduğu görüldü ( $p < 0,001$ ).

**Tablo 14. INOS için Kruskal Wallis testi**

		KONTROL	MODEL	TEDAVİ	p*
INOS	Ort±SS	12,5±4,6	251,25±15,5	220±13,1	<0,001
	Med (25.-75.)	10( 10-17,5)	240(240-270)	215(210-235)	
	Min-Maks	10-20	240-270	210-240	

Ort; ortalama, SS; standart sapma, Med; ortanca değer, (25.-75.); 25. yüzdalık ve 75. yüzdalık değerleri, Min; en küçük değer, Maks; en büyük değer.

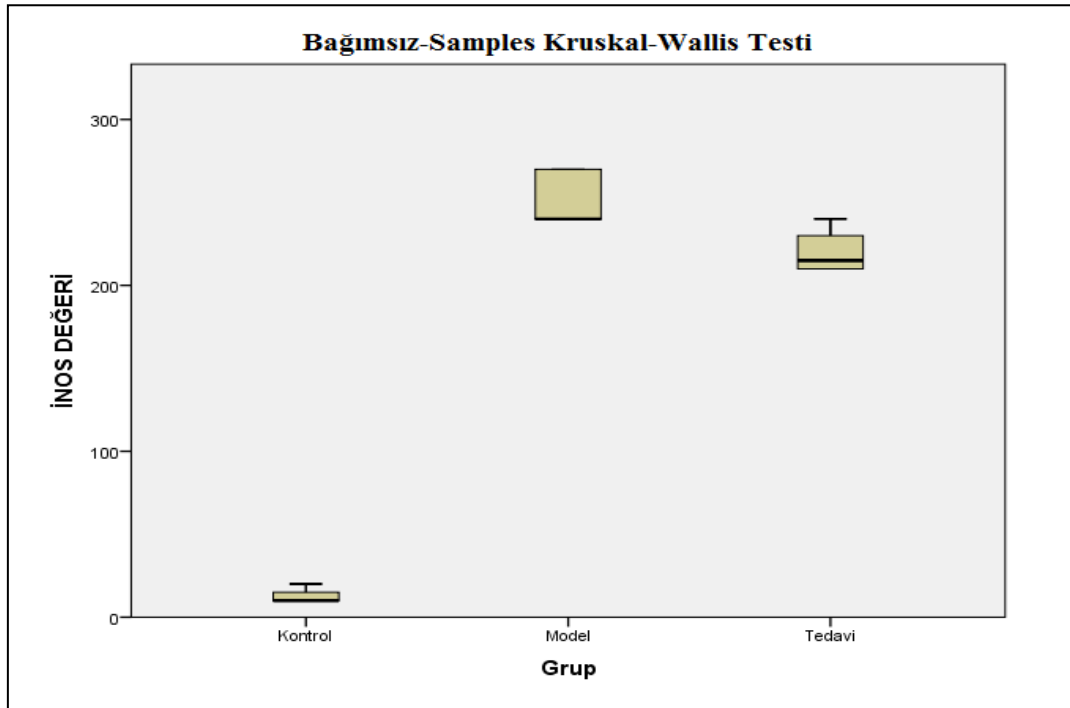
p\*; Kruskal Wallis testine ait p değeri.

INOS değerleri için yapılan çoklu karşılaştırma analizi verileri Tablo 15'te gösterilmiştir. Yapılan oklu karşılaştırma analizinde istatistiksel anlamlılığı doğuran grubun kontrol grubu olduğu görüldü. Kontrol grubundan elde edilen INOS değerleri, model ve tedavi gruplarından elde edilen INOS değerlerine göre anlamlı derecede daha düşüktü. Model ve tedavi grupları arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmadı (  $p= 0,152$ ).

**Tablo 15. INOS için yapılan çoklu karşılaştırma analizi**

RNEK1-RNEK2	TEST İSTATİSTİğİ	STANDART HATA	ST TEST İSTATİSTİğİ	ÖNEM	DüZELTİLMİş ÖNEM
KONTROL-TEDAVİ	-8,625	3,452	-2,498	0,012	0,037
KONTROL-MODEL	-15,375	3,452	-4,454	0,000	0,000
TEDAVİ-MODEL	6,750	3,452	1,955	0,051	0,152

INOS değerlerine ait kutu grafiği Grafik 6' da görülmektedir. INOS değerlerine ait kutu grafiğinde kontrol grubunda elde edilen INOS değerlerinin model ve tedavi gruplarından elde edilen INOS değerlerine göre daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum aynı zamanda istatistiksel anlamlılık farklılık oluşturduğu tespit edildi ( $p<0,001$ ).



**Grafik 6. INOS değerlerine ait kutu grafiği**

İndüklenebilir nitrik oksit sentaz, Sodyum, Potasyum, Üre, Kreatinin ve Kreatin Kinaz parametrelerine ait istatistiksel veriler Tablo 16’da gösterilmiştir.

**Tablo 16. Tüm gruplara ait istatistikleri gösteren tablo**

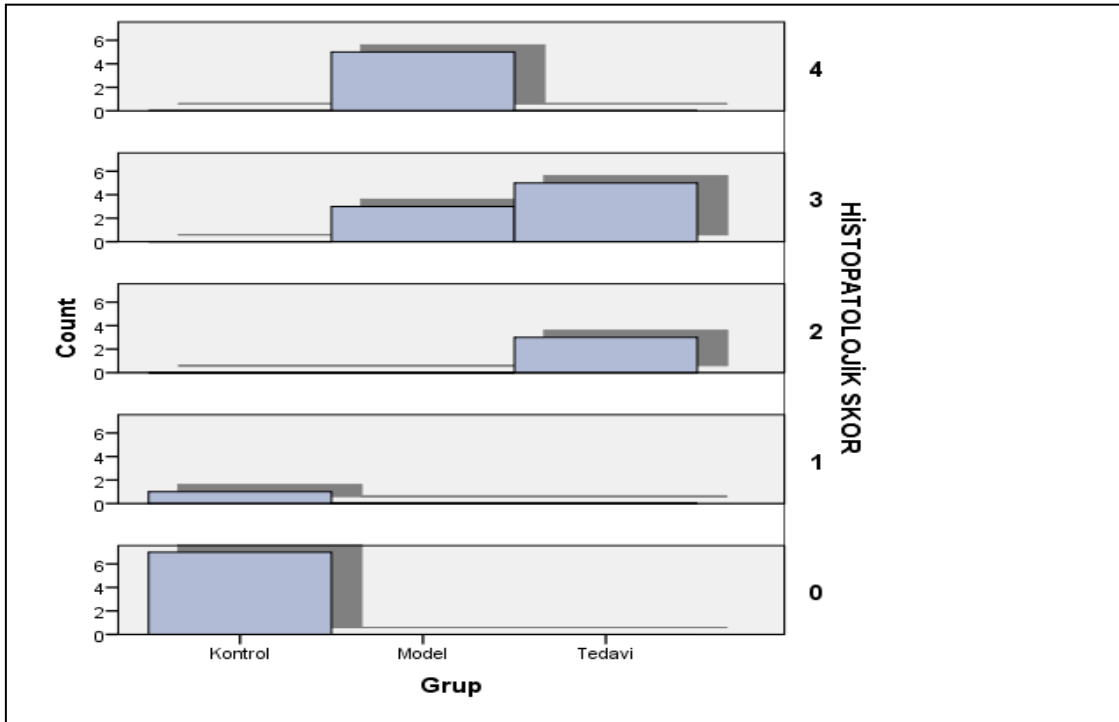
		INOS	Na (mmol/L)	K (mmol/L)	Üre (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)	CK (IU/L)
N	Geçerli	24	24	24	24	24	24
	Eksik	0	0	0	0	0	0
Ortalama		161,25	136,46	5,046	69,33	1,0592	1095,38
Ortanca		215,00	140,00	5,000	50,00	0,9250	972,00
Standart sapma		108,840	7,127	0,6928	40,016	0,77008	380,727
Minimum		10	113	4,0	39	0,23	643
Maksimum		270	143	6,8	174	2,64	2049
Yüzdeler	25	12,50	134,50	4,625	45,00	0,2725	787,25
	75	240,00	141,00	5,350	88,50	1,7625	1384,25

Tablo 17’de gruplara ait histopatolojik skorlar görülmektedir. Histopatolojik değerlendirmede kontrol grubunun % 87,5’inin histopatolojik skoru 0, % 12,5’inin 1 olarak belirlendi. Model grubunda % 37,5 de histopatolojik skor 3 iken % 62,5 de bu skor 4 idi. Tedavi grubunda % 37,5 de histopatolojik skor 2 iken, % 62,5 de bu skor 3 idi.

**Tablo 17. Histopatolojik skorlar**

			HİSTOPATOLOJİK SKOR					Toplam
			0	1	2	3	4	
Grup	Kontrol	Sayı	7	1	0	0	0	8
		% değeri	% 87,5	% 12,5	% 0,0	% 0,0	% 0,0	% 100
	Model	Sayı	0	0	0	3	5	8
		% değeri	% 0,0	% 0,0	% 0,0	% 37,5	% 62,5	% 100
	Tedavi	Sayı	0	0	3	5	0	8
		% değeri	% 0,0	% 0,0	% 37,5	% 62,5	% 0,0	% 100
Toplam		Sayı	7	1	3	8	5	24
Toplam		% değeri	% 29,2	% 4,2	% 12,5	% 33,3	% 20,8	% 100

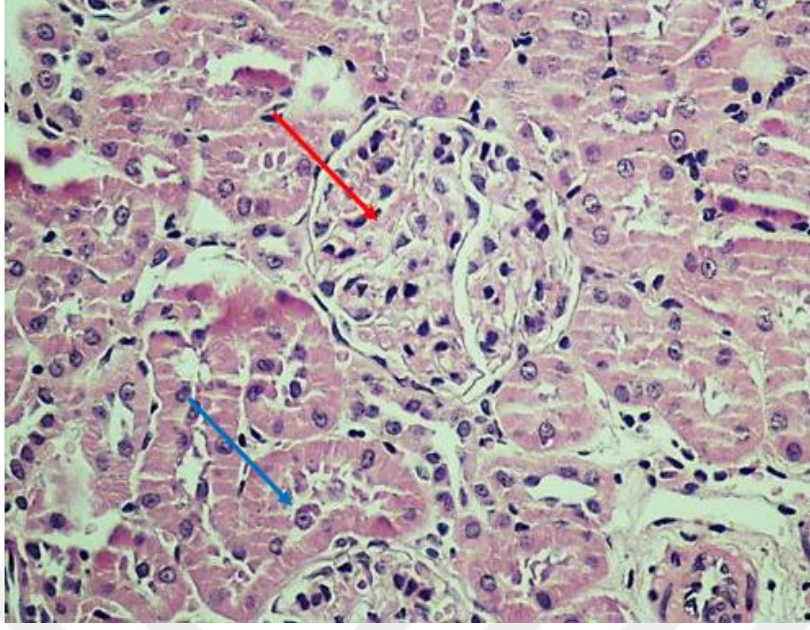
Histopatolojik skorlamada en büyük grubu % 33,3 ile üçüncü grup oluşturmaktaydı ve bunun % 62,5 i tedavi grubu kökenli idi. Gruplara ait histopatolojik skorlar Grafik 7’ de gösterilmiştir. Grafik 7’de model grubuna ait deneklerde histopatolojik skorların ağırlıklı olarak 4 puan alırken ,bu skorların tedavi grubunda ağırlıklı olarak 3 puan aldığı görülmektedir. Kontrol grubu ise büyük çoğunlukla 0 puandan oluşan bir skor göstermektedir. İstatistiksel analiz için yeterli örneklem büyüklüğü bulunmadığından histopatolojik skorlar açısından gruplar karşılaştırılmadı.



**Grafik 7. Gruplara ait histopatolojik skor grafiği**

Doku örnekleri alındıktan sonra gerekli histolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar sonrası Kontrol, Model ve Tedavi gruplarına ait Hematoksilen Eozin boyama ve INOS tutulum ve yaygınlığını gösterir kesitler elde edildi.

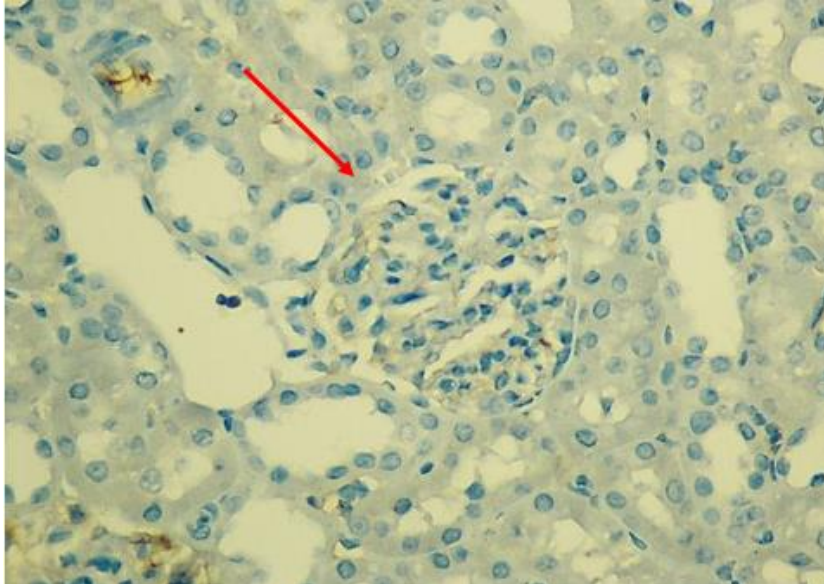
Kontrol grubu için Hematoksilen Eozin boyama sonucu Resim 1’de görülmektedir. Kontrol grubuna ait kesitte glomerül ve tübüllerde normal morfoloji izlenmekte idi.



**Kırmızı ok:** Glomerül, **Mavi ok:** Proksimal tübül

**Resim 1. Hematoksilen eozin boyamada kontrol grubuna ait renal kesit**

Kontrol grubu INOS çalışmasına ait kesit Resim 2’de görülmektedir. Kontrol grubuna ait kesitte tübüllerin boyanma göstermediği, yani INOS hiperaktivitesine ait bulgu olmadığı görülmektedir.

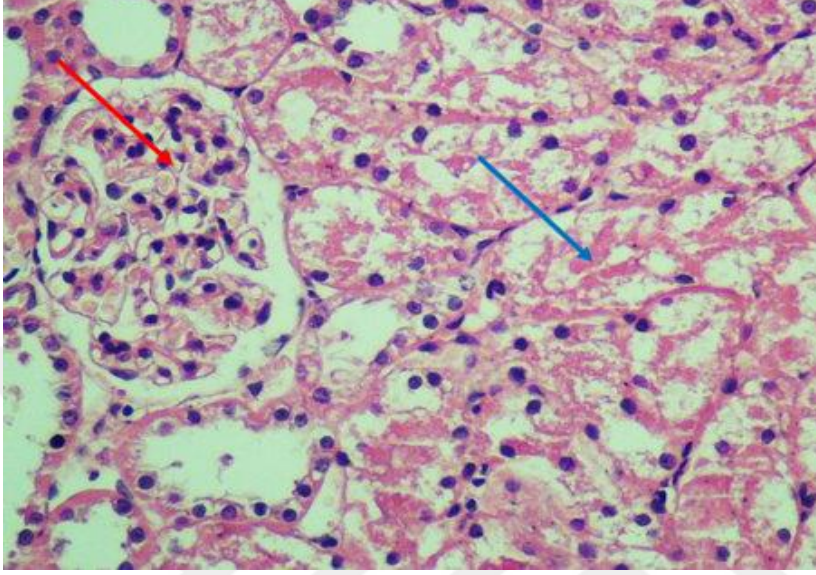


**Ok:** Proksimal tübüller

**Resim 2. Kontrol grubuna ait renal kesitte INOS çalışması**



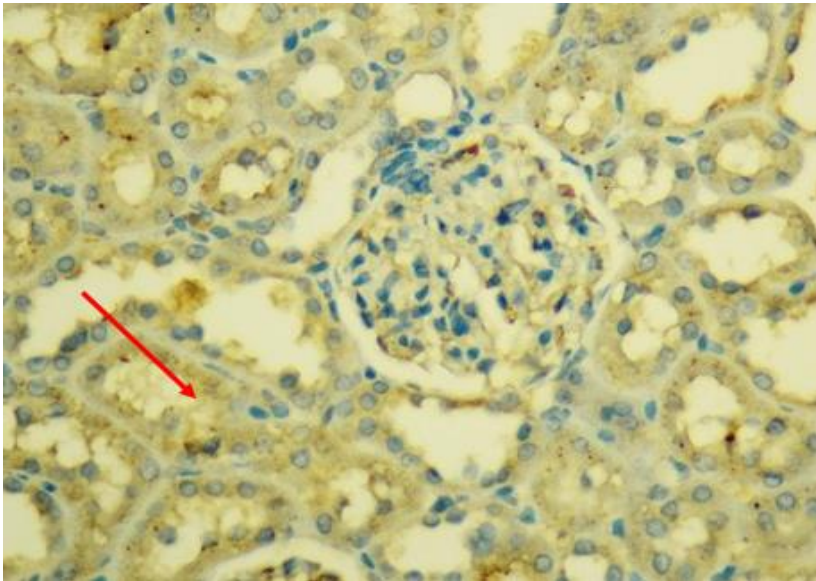
Model grubuna ait Hematoksilen Eozin boyama sonucu Resim 3’de gösterilmiştir. Model grubuna ait kesitte renal glomerülde patoloji izlenmemekle birlikte hasarlı proksimal tübül görülmektedir. Kesit yaygın tübül hasarını göstermekte idi.



**Kırmızı ok:** Glomerül, **Mavi ok:** Hasarlı proksimal tübül

**Resim 3. Hematoksilen eozin boyamada model grubuna ait renal kesit**

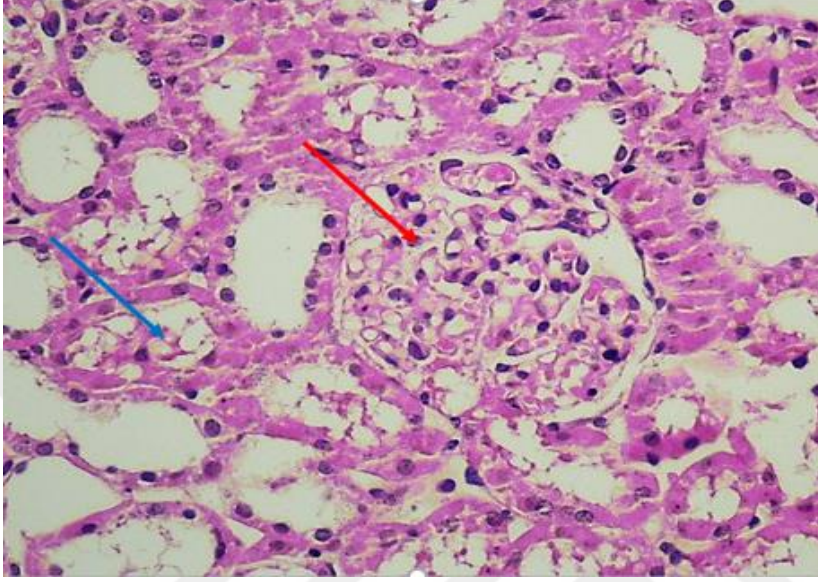
Model grubuna ait INOS çalışmasını gösteren kesit Resim 4’te görülmektedir. Model grubuna ait kesitte tübüllerde yüksek INOS aktivitesine işaret eden yaygın şiddetli boyanma izlenmektedir , glomerülde patoloji gözlenmemiştir.



**Ok:** Proksimal tübüller

**Resim 4. Model grubuna ait renal kesitte INOS çalışması**

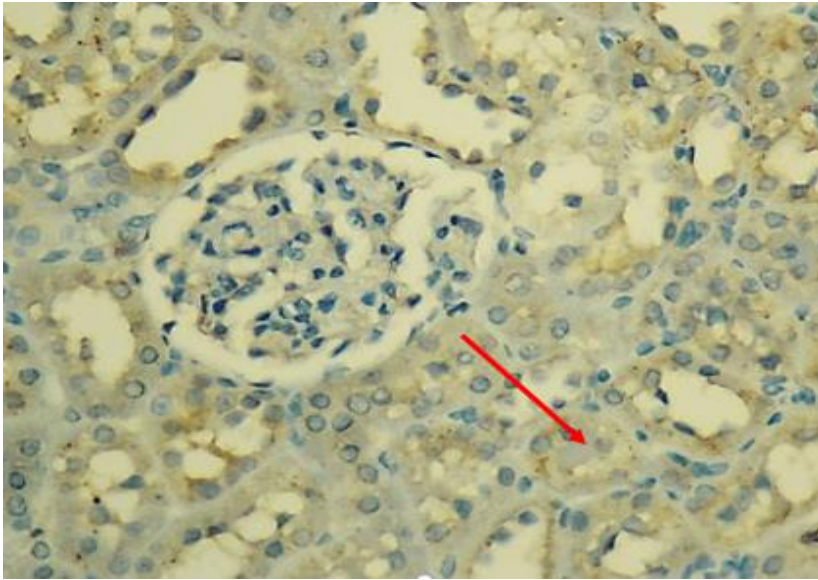
Tedavi grubuna ait Hematoksilen Eozin boyama sonucu Resim 5’de gösterilmiştir. Tedavi grubuna ait kesitte tübül hasarında azalma izleniyor, glomerül morfolojisinin doğal olduğu görülmektedir.



**Kırmızı ok: Glomerül, Mavi ok: Proksimal tübül**

**Resim 5. Hematoksilen eozin boyamada tedavi grubuna ait renal kesit**

Tedavi grubuna ait INOS çalışmasını gösterir kesit Resim 6’da gösterilmiştir. Tedavi grubuna ait kesitte tübüllerde boyanma yoğunluğu ve yaygınlığında azalma izlenmekte, glomerülde patolojik değişiklik izlenmemekte idi.



**Ok: Proksimal tübüller**

**Resim 6: Tedavi grubuna ait kesitte INOS çalışması**

## TARTIŞMA

Kontrast kaynaklı nefropati akut renal yetmezliğin reversibl bir formudur, anjiografi yada örneğin ürografi, bilgisayarlı tomografi gibi görüntüleme prosedürlerinde kontrast maddeye maruziyet sonrasında gelişir. Üçüncü sırada yer almak suretiyle CIN; hastane ilişkili AKI nin en önemli sebeplerinden biridir ve özellikle komorbid hastalıkları bulunan bireylerde morbidite ve mortalite artışı ile birlikte (16).

Klinik değerlendirmeye girmeden önce bu antitenin getirdiği ekonomik yükü irdelenecek olursak CIN gelişen hastalarda daha fazla oranda yan tesir gelişme, dialize girme, daha uzun yatış süresi ve yoğun bakım ihtiyacı riskinin artmış olduğu görülür. Tüm bu faktörlerin oluşturduğu ekonomik yükü irdelleyen bir çalışmada hastane içi maliyet ortalama 10.345 \$/hasta, CIN’li bir hastanın 1 yıllık tedavi maliyeti ise 11.812 \$ olarak bulunmuştur. (65). Ülkemizde ise konuyla ilgili veri bulunmamaktadır.

Kontrast maddenin oluşturduğu akut böbrek hasarı sonrası üre ve kreatinin değerlerinde yükselme olması beklenen bir sonuçtur. Çalışmamızda da Üre ve Kreatinin değerlerinin genel kabul gören AKI kriterlerini karşılayacak değerlere yükseldiği tesbit edilmiştir.

Kreatinin esas olarak kas metabolizmasının bir ürünüdür, glomerül tarafından filtre edilir ve idrarla atılır. Böbrek hasarı geliştiği zaman kreatinin atılımı bozulur ve böylelikle kan kreatinin düzeyi yükselir ( 12). Çalışmamızda kreatinin düzeylerinde model grubuna göre daha düşük düzeyler saptanmakla beraber  $p=0,071$  değeri sebebiyle istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

Üre: Protein metabolizmasının nitrojenöz kısmına ait bir son ürün olan üre idrarla atılır. Renal yetmezlik durumunda atılımı azaldığından dolayı kanda yüksek değerler saptanır

(12). Çalışmamızda model grubunda yüksek bulunan üre değerlerinin model ve tedavi grupları arasında anlamlı farklılık oluşturacak şekilde tedavi grubunda düşük olduğu saptandı ( $p < 0,001$ ). Bu sonucun karnosik asidin kontrast madde kaynaklı nefropatide iyileştirici etkisi olabileceği tezini desteklediğini düşünmekteyiz.

**Kreatin kinaz:** Primer olarak kas dokusunda bulunan bu enzim kreatin ve adenzin trifosfatın fosfokreatin ve adenzin difosfata dönüşümünü katalize eder. Kas travması ya da inflamasyonu durumunda sarkoplazmik membran geçirgen özellik kazanır ve kreatin kinaz gibi sitozolik enzimleri kana karıştır (66). Serum, plazma ve idrarda bulunur. Kreatin kinaz yüksekliğinin ayırıcı tanısı uzun ve kompleksdir. Kas iskelet travması, myokardial yaralanma, infeksiyon, ilaçlardan kaynaklanan myozitler en sık sebeplerdir (67,68). Bununla birlikte endokrinolojik, nöropsikiyatrik, nöromuskuler, metabolik ve romatolojik olmak üzere diğer birçok sebebi de vardır ve ciddi CK yüksekliği durumunda bunlarda göz önünde tutulmalıdır (69-71). Bunlardan biri de bilindiği gibi akut renal yetmezliktir. AKI de CK yüksekliği renal dokunun kreatin kinazdan zengin olması ve mevcut yaralanma sebebiyledir (68).

Çalışmamızda CK yüksekliğinin hem renal hasarlanma hem de çalışma esnasında deneklerin fiziksel olarak manipülasyonuna bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Kreatin kinaz düzeyleri model ve tedavi gruplarında renal hasarlanma ve sonrasında gelişen yetmezliğe bağlı olarak yüksek bulundu. Tedavi grubu ile model grubu arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulunması ( $p = 0,033$ ) karnosik asidin CIN üzerinde iyileştirici etkinliği olduğu görüşünü desteklediğini düşünmekteyiz.

**Sodyum:** Ekstrasellüler sıvının önemli bir katyonu olan Na değeri renal yetmezliklerde hipervolemi sebebiyle düşebilir (12). Çalışmamızda model grubunda Na değerinin tedavi grubuyla arasında anlamlı farklılık oluşturacak derecede düşük olmasının ( $p < 0,001$ ) da karnosik asidin anlamlı etkinliğinin bir sonucu olduğunu düşünmekteyiz.

**Potasyum:** İntrasellüler alanın önemli bir katyonu olan K değeri renal yetmezliklerde atılımın azalmasına bağlı olarak yükselir (12). Çalışmamızda K düzeyi tedavi grubunda model grubuna göre daha düşük olmakla beraber istatistiksel düzeyde anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

**INOS:** Bilindiği üzere nitrik oksit 3 ayrı nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla L argininden sentezlenen serbest bir radikaldir. İmmün cevap, nörotransmisyon ve vazodilatasyon gibi çeşitli fizyolojik olaylarda rol alır. Diğer 2 nitrik oksit sentaz relatif olarak küçük miktarlarda üretilmekte iken INOS inflamatuvar stimulus sonucu oluşturulan bir izoformdur ve NO in aşırı üretiminden sorumlu olan ana enzimdir (64).

Bazı inflamatuvar stimuluslar bazı hücre tiplerinde (makrofaj, dendritik hücreler, nötrofil, epitelyal hücreler, düz kas hücreleri ve sekonder lenfoid organların stromal hücreleri) INOS ekspresyonuna yol açabilirler. INOS aynı zamanda mikroglial hücreler, astrositler, Santral sinir sistemindeki nöronlar ve kan beyin bariyerindeki endotelyal hücrelerde de eksprese edilebilir. Multipl skleroz ve deneysel otoimmün ensefalomyelit dahil olmak üzere birçok organ spesifik otoimmün inflamatuvar hastalık ile INOS arasındaki ilişki rapor edilmiştir. Sitokin ve stres gibi immün mediatörlerle aktive edilene kadar INOS un düşük bazal bir düzeyi mevcuttur. Her ne kadar NO potent bir vazodilatör molekül olsa da aşırı üretimi, tübüler epitelyal hücrelerde üretimle ilişkili apoptoz ve nekrotik yaralanmaya yol açabilir. Renal vaskülatürde vazodilatasyon oluşturmak suretiyle böbreği hipoksi veya direkt tübüler yaralanmadan korumakta görev alan NO eğer yanlış regüle edilirse renal fonksiyonları bozmak da dahil olmak üzere birçok patolojiye sebep olabilir (72).

Nitrik oksit aşırı miktarda üretildiği zaman reaktif oksijen ürünleri oluşumuna yol açacak lipid peroksidasyonunu da tetikleyebilir. Bu, direkt olarak DNA hasarına yol açar, mitokondrial membrana zarar verir ya da P53 tümör supresör geni ile etkileşerek ve intrasellüler protein ve enzimlere zarar vererek apoptoz oluşturabilir (73,74). NO de yükselme tübüler epitelyal hücrelerde apoptotik yada nekrotik yaralanmaya yol açabilir. AKI esnasındaki tübüler yaralanmada INOS un rol alabileceğine dair kanıtlar deneysel çalışmalarda saptanmıştır (75).

Yine INOS un upregülasyonunu önlemek için antisense oligonükleotid kullanımı; rat modellerinde iskemiyle oluşan AKI'ye karşı koruyucu bulunmuştur (76). Diğer bir çalışmada da ana kaynağı INOS olan NO üretiminin toksik olabileceği ve selektif INOS inhibisyonunun renal hasarı azalttığı saptanmıştır (77). Birçok çalışmada iskemi reperfüzyon hasarında INOS tarafından üretilen NO in zararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (78,79). Nitrik oksit; süperoksit radikal ile kombine olarak güçlü bir sitotoksik metabolit olan peroksinitrit oluşumuna yol açar, bu da doku hasarına yol açar (80,81). Chatterjee ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada L-NİL (L-N<sup>6</sup>- (1-iminoethyl)lysine (L-NIL) kullanılarak selektif olarak INOS inhibisyonu yapılmış ve iskemi reperfüzyon hasarında renal disfonksiyon ve hasarlanmanın azaltılabileceği gösterilmiştir (82).

Çalışmamızda INOS düzeyleri model ve tedavi grubunda yüksek saptanmıştır. Model grubunda INOS un yüksek saptanması literatür ile de uyumlu olarak kontrast maddenin böbrekte oluşturduğu hasara sekonder olarak gelişmiştir ve daha önce de belirtildiği gibi bu durumda her ne kadar bu enzim sebebiyle üretilen NO vazodilatör bir kimyasal ürün olsa da aşırı üretim ve bozuk regülasyon sebebiyle böbreğin aleyhinedir. Tedavi grubunda ise

karnosik asid istediğimiz etkiyi göstermiş ve INOS değeri daha düşük bulunmuştır, ancak model ve tedavi grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Teknik sebeplerle günlük idrar volümüne ait verilerin toplanamaması sebebiyle çalışmada AKI-oligüri/anüri ilişkisine ait bilgi elde edilememiştir. 5 günlük karnosik asid tedavisi sonrası model ve tedavi grubu arasında Üre, Sodyum ve kreatin kinaz değerleri açısından saptanan anlamlı istatistiksel farklılıkla kontrast madde nefropatisinde etkinlik ortaya konmuştur. Kreatinin açısından anlamlı derecede istatistiksel farklılık saptanmamakla beraber çok yakın bir değer bulunması sebebiyle etkinliği göz önünde bulundurulması gerektiğini düşünmekteyiz.

Histolojik değerlendirmede kontrol grubunun %87,5'inin histopatolojik skoru 0, %12,5'inin 1 olarak belirlendi, nefropati grubunun 3 puan % 37,5 ve 4 puan % 62 oranı ile en yüksek yaralanma skoruna sahip olduğu, tedavi grubunda bu skorlar daha düşük olmakla birlikte istatistiksel anlamlı farklılık doğurmadığı görüldü. Ancak yine bu değerlerin tedavi grubunda düşük olmasının daha ileri araştırmalar için bir yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz.

İndüklenebilir nitrik oksit sentaz düzeyini düşürmeye yönelik uygulanan tedavilerin CIN de de denenmesi ve olası etkilerinin incelenmesinin de ek bilgiler sağlayıp tedavi modalitelerini geliştirmede yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz.

Karnosik asitle ilgili çalışmalarda çok farklı tedavi ve dozaj farklılıkları mevcuttur. Literatür incelemelerinde doz aralığının 10-100 mg kg/gün aralığında değiştiği ve yine farklı tedavi süreleri içerdiği görülmüştür (83,84). Çalışmamızda tedavi süresi 5 gün ile sınırlı idi, bu sürenin ve dozajın optimize edilmesi suretiyle tedavi ve nefroti grupları arasında da anlamlı farklılık oluşturabilecek değerlerin elde edilmesinin mümkün olabileceğini düşünmekteyiz.

## SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Hayvan Denepleri Laboratuvarında 24 adet rat üzerinde gerçekleştirilen deneysel çalışmada karnosik asidin kontrast maddeyle oluşturulan nefropatide iyileştirici etkisi olup olmadığı araştırıldı.

1- Üre, kreatin kinaz ve Na değerleri açısından tedavi grubu ile model grubu arasında istatistiksel anlamlılık oluşturan fark mevcuttu. Karnosik asidin, tedavi grubunda, belirtilen parametreler üzerine olumlu etkisinin olduğu tespit edildi ( $p < 0,05$ ).

2- Kreatinin değerleri açısından değerlendirildiğinde tedavi grubu değerleri model grubuna göre daha düşük olmakla birlikte  $p = 0,071$  bulunması sebebiyle istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

3- INOS ve K değerleri açısından tedavi grubu değerleri model grubuna göre daha düşük olmakla beraber istatistiksel anlamlılık oluşturacak düzeyde fark saptanmadı.

4- Histopatolojik skorlamada tedavi grubu skorları model grubuna göre daha düşük idi ancak istatistiksel değerlendirmeye yeterli olacak sayıda örneklem bulunmadığından bu açıdan değerlendirme yapılamadı. Ancak skorların düşük olması sebebiyle karnosik asid bu parametrede de etkili kabul edildi.

Veriler CIN tedavisinde karnosik asidin iyileştirici etkisi olduğu yönündedir. Kontrast madde uygulamalarının gerek tanı ve gerekse tedavi için giderek daha sık kullanılabilir hale geldiği günümüzde Common sage ve Rosmarinus officinalis bitkilerinden elde edilen bir biyokimyasal ürün olan Karnosik asidin gerek anlamlı bulunan biyokimyasal parametreler ve gerekse doku düzeyinde iyileştirici etkileri olduğunu saptadık. Diğer parametrelerde de anlamlı istatistiksel başarının ek çalışmalarla sağlanabileceği kanaatindeyiz. Bu sebeple;

karnosik asidin uygulandığı tedavi süresi başta olmak üzere dozu da kapsayacak şekilde yeni çalışmalar yapılması gerekmektedir.





## ÖZET

CIN hastane ilişkili akut renal yetmezliğin üçüncü en sık sebebinin oluşturur ve akut renal yetmezlik vakalar içinde yaklaşık % 10 insidansa sahiptir. Kontrast madde kaynaklı nefropati; özellikle işlem öncesi kronik böbrek hasarı bulunan bireylerde daha fazla olmak üzere birçok risk faktörü ile birlikte görülebilen ve mortalite ve morbiditede ciddi artışa yol açan klinik bir antitedir.

Kontrast madde nefropatisi için risk arzeden gruplardan biri de özellikle nefropati gelişmiş olanlar olmak üzere diyabetik hasta grubudur. Diyabetik nefropatide iyileştirici etkileri saptanan karnosik asidin kontrast madde nefropatisinde tedavi edici etkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

24 ratın kullanıldığı deneyde 8'er denekten oluşan biri kontrol, diğerleri model ve tedavi grupları olmak üzere 3 ayrı grup oluşturuldu. Model ve tedavi grubundaki deneklerde 48 saatlik dehidratasyondan sonra 10 ml/kg intramusküler Furosemid ve 10 ml/kg intravenöz Iohexsol kullanılarak nefropati geliştirildi. Tedavi grubuna 1 ve 5. günler arasında 5 gün süreyle karnosik asid 30 mg/kg/gün dozunda orogastrik kateter vasıtasıyla verildi.

Çalışma sonucunda karnosik asitle tedavi edilen grupta Üre, Sodyum ve Kreatin kinaz düzeylerinde istatistiksel anlamlı farklılık saptandı. Histopatolojik incelemede de tedavi grubunda iyileştirici etki gözlemlendi ancak istatistiksel değerlendirmeye yetecek sayıda örneklem olmadığından bu yönde bir hesaplama yapılamadı.

Bu bulgular neticesinde özellikle tedavi süresi ve doz üzerinde yapılacak değişikliklerle optimal etkinin sağlanacağı değerlerin bulunmasıyla karnosik asidin CIN tedavisinde kullanılabileceği kanaatindeyiz. Bu doğrultuda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** Kontrast madde , Kontrast madde nefropatisi, Karnosik asid

# **THE RESEARCH OF PROTECTIVE EFFECT OF CARNOSIC ACID ON RADIOCONTRAST MEDIA RELATED ACUTE KIDNEY INJURY**

## **SUMMARY**

Contrast-induced nephropathy is the third most common cause of hospital-related acute renal failure, and acute renal failure has an incidence of about 10% in cases of insufficiency. CIN is a clinical entity that leads to serious increase on mortality and morbidity which can be present with several risk factors, especially in individuals with chronic kidney damage before the procedure.

One of the risk groups for contrast-induced nephropathy is diabetic patients, especially those with nephropathy. We aimed to investigate whether carnosic acid has a therapeutic effect on contrast media nephropathy, which has curative effect in diabetic nephropathy. In the experiment using 24 rats, one of the 8 subjects was used as a control and the other groups were formed as a model ( 8 rats ) and treatment groups (8 rats). Nephropathy was developed using intramuscular Furosemide (10 ml/ kg) and intravenous Iohexol (10 ml/ kg) after 48 hours of dehydration in the model and treatment groups. Carnosic acid was given to the treatment group between the 1st and 5th days for 5 days via using an orogastric catheter at 30 mg/ kg/ day. Urea, sodium and creatine kinase levels were found statistically significant in carnosic acid treated group.

Histopathological examination also showed improvement effect in the treatment group but sample size was not enough for statistical evaluation.

As a result of these findings, especially on the duration of treatment and dose, values for optimal effect of carnosic acid can be found and we believe that it can be used in the treatment of CIN. In this respect, new studies are needed.

**Key words:** Contrast media , Contrast-induced nephropathy , Carnosic acid.



## KAYNAKLAR

1. Batanouny KH, Aboutabl E, Shabana MC, Soliman F. Wild medicinal plants in Egypt: an inventory to support conservation and sustainable use. Academy of Scientific Research & Technology; Cairo, Egypt: 1999.
2. Cragg GM, Newman DJ. Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830(6):3670–95.
3. Mukherjee PK, N SK, Heinrich M. Plant Made Pharmaceuticals (PMPs)–development of natural health products from bio-diversity. *Indian J. Pharm Educ. Res* 2008;42(2):113–21.
4. Jardak M, Elloumi-Mseddi J, Aifa S, Mnif S. Chemical composition, anti-biofilm activity and potential cytotoxic effect on cancer cells of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil from Tunisia. *Lipids Health Dis*. 2017;16(1):190.
5. Habtemariam S. The therapeutic potential of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) diterpenes for Alzheimer's disease. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2016;2016:2680409.
6. Roger Rear, Robert M Bell, Derek J Hausenloy. Contrast-induced nephropathy following angiography and cardiac interventions. *Heart* 2016;102:638–48.
7. Xie Z, Zhong L, Wu Y, Wan X, Yang H, Xu X, Li P. Carnosic acid improves diabetic nephropathy by activating Nrf2/ARE and inhibition of NF- $\kappa$ B pathway. *Phytomedicine*. 2018 Aug 1;47:161-73. doi: 10.1016/j.phymed.2018.04.031. Epub 2018 Apr 17. PMID:30166101
8. Gao P, Li L, Ji L, Wei Y et al. Nrf2 ameliorates diabetic nephropathy progression by transcriptional repression of TGF $\beta$ 1 through interactions with c-Jun and SP1. *Biochim Biophys Acta*.2014 Nov; 1839(11):1110-20.
9. Andreoli S. Clinical evaluation and management. In: Avner E, Harmon W, Niaudet P (eds). *Pediatric Nephrology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2004:1233-35.

10. Schneider J, Khemani R, Grushkin C, Bart R. Serum creatinine as stratified in the RIFLE score for acute kidney injury is associated with mortality and length of stay for children in the pediatric intensive care unit. *Crit Care Med.* 2010;38: 933-9.
11. Palmieri T, Lavrentieva A, Greenhalgh D. An assessment of acute kidney injury with modified RIFLE criteria in pediatric patients with severe burns. *Intensive Care Med.* 2009;35:2125-9.
12. Sushrut S, Waikar, Joseph V Bonventre. Acute Kidney Injury. In: Dennis L.Kasper, Stephen L.Hauser, J.Larry Jameson (Eds). *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 19 th Edition, New York: McGraw-Hill Education; 2015:1799- 811.
13. Vanholder R, Massy Z, Argiles A, et al., European Uremic Toxin Work G. Chronic kidney disease as cause of cardiovascular morbidity and mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20:1048–56.
14. Heinrich MC, Kuhlmann MK, Grgic A, et al. Cytotoxic effects of ionic high-osmolar, nonionic monomeric, and nonionic iso-osmolar dimeric iodinated contrast media on renal tubular cells in vitro. *Radiology* 2005;235:843–9
15. Barrett BJ, Carlisle EJ. Metaanalysis of the relative nephrotoxicity of high- and low-osmolality iodinated contrast media. *Radiology* 1993;188:171–8.
16. Pannu N, Wiebe N, Tonelli M, Alberta Kidney Disease N. Prophylaxis strategies for contrast-induced nephropathy. *JAMA* 2006;295:2765–79.
17. Mehran R, Nikolsky E. Contrast-induced nephropathy: definition, epidemiology, and patients at risk. *Kidney Int Suppl* 2006: S11–15.
18. Solomon R. Contrast-medium-induced acute renal failure. *Kidney Int* 1998;53:230–42.
19. Maioli M, Toso A, Gallopin M, et al. Preprocedural score for risk of contrast-induced nephropathy in elective coronary angiography and intervention. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2010; 11:444–9.
20. Mehran R, Aymong ED, Nikolsky E, et al. A simple risk score for prediction of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention: development and initial validation. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44:1393–9.
21. Morcos SK, Thomsen HS, Webb JA. Contrast-media-induced nephrotoxicity: a consensus report. Contrast media safety committee, European society of urogenital radiology (ESUR). *Eur Radiol* 1999;9:1602–13.
22. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, et al., Acute Dialysis Quality Initiative w. Acute renal failure—definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the second international consensus conference of the acute dialysis quality initiative (ADQI) group. *Crit Care* 2004;8: R204–12.

23. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, et al., Acute Kidney Injury N. Acute kidney injury network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007;11:R31.
24. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) AKI Work Group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Inter Suppl* 2012;2:1–138.
25. Harjai KJ, Raizada A, Shenoy C, et al. A comparison of contemporary definitions of contrast nephropathy in patients undergoing percutaneous coronary intervention and a proposal for a novel nephropathy grading system. *Am J Cardiol* 2008;101:812–19.
26. Waikar SS, Bonventre JV. Creatinine kinetics and the definition of acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:672–9.
27. Ribichini F, Graziani M, Gambaro G, et al. Early creatinine shifts predict contrast-induced nephropathy and persistent renal damage after angiography. *Am J Med* 2010;123:755–63.
28. Finn WF. The clinical and renal consequences of contrast-induced nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:i2–10.
29. McCullough PA, Wolyn R, Rocher LL, et al. Acute renal failure after coronary intervention: incidence, risk factors, and relationship to mortality. *Am J Med* 1997;103:368–75.
30. Levy EM, Viscoli CM, Horwitz RI. The effect of acute renal failure on mortality. A cohort analysis. *JAMA* 1996;275:1489–94.
31. Weisbord SD, Chen H, Stone RA, et al. Associations of increases in serum creatinine with mortality and length of hospital stay after coronary angiography. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2871–7.
32. Gruberg L, Mintz GS, Mehran R, et al. The prognostic implications of further renal function deterioration within 48 h of interventional coronary procedures in patients with pre-existent chronic renal insufficiency. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1542–8.
33. KDIGO AKI. Work Group: KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Int Suppl*. 2012;2:1–138.
34. [www.abcam.com](http://www.abcam.com) (Internet). Son güncellenme tarihi: 2019. Erişim adresi : [www.abcam.com/primary-antibodies/inos-inflammation-and-apoptosis](http://www.abcam.com/primary-antibodies/inos-inflammation-and-apoptosis). [ Erişim tarihi: 13-01-2020].
35. Hassen Ben Abdennebi, Mohamed Amine Zaoualí, Izabel Alfany-Fernandez, Donia Tabka, Joan Roselló-Catafau. How to protect liver graft with nitric oxide. *World J Gastroenterol* 2011 June 28; 17(24): 2879-889.
36. Seeliger E, Sendeski M, Rihal CS, et al. Contrast-induced kidney injury: Mechanisms, risk factors, and prevention. *Eur Heart J* 2012;33:2007–15.

37. Marenzi G, Lauri G, Assanelli E, et al. Contrast-induced nephropathy in patients undergoing primary angioplasty for acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1780–5.
38. Rihal CS, Textor SC, Grill DE, et al. Incidence and prognostic importance of acute renal failure after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2002;105:2259–64.
39. Dangas G, Iakovou I, Nikolsky E, et al. Contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary interventions in relation to chronic kidney disease and hemodynamic variables. *Am J Cardiol* 2005;95:13–19.
40. Parfrey PS, Griffiths SM, Barrett BJ, et al. Contrast material-induced renal failure in patients with diabetes mellitus, renal insufficiency, or both. A prospective controlled study. *N Engl J Med* 1989;320:143–9.
41. Laskey WK, Jenkins C, Selzer F, et al. Volume-to-creatinine clearance ratio: a pharmacokinetically based risk factor for prediction of early creatinine increase after percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:584–90.
42. Windecker S, Kolh P, Alfonso F, et al., Authors/Task Force members. 2014 ESC/EACTS guidelines on myocardial revascularization: the task force on myocardial revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *Eur Heart J* 2014;35:2541–619.
43. Trivedi HS, Moore H, Nasr S, et al. A randomized prospective trial to assess the role of saline hydration on the development of contrast nephrotoxicity. *Nephron Clin Pract* 2003; 93:C29–34.
44. Santic Z, Pravdic N, Bevanda M, Galic K. The historical use of medicinal plants in traditional and scientific medicine. *Pyschiatr Danub.* 2017 Dec; 29 Suppl 4 ( Suppl 4):787-792.
45. Das S, Joardar S, Manna P, Dua TK, Bhattacharjee N et al. Carnosic Acid, a Natural Diterpene, Attenuates Arsenic-Induced Hepatotoxicity via Reducing Oxidative Stress, MAPK Activation, and Apoptotic Cell Death Pathway. *Oxid Med Cell Longev.*2018; 2018: 1421-38.
46. Linde, H.. Ein neues Diterpen aus *Salvia officinalis* L. und eine Notiz zur Konstitution von Pikrosalvin. 1964, *Helv. Chim. Acta* 47, 1234–39.
47. Luis, J.G.. Chemistry, biogenesis, and chemotaxonomy of the diterpenoids of *Salvia*. In: Harborne, J.B., Tomas-Barberan, F.A. (Eds.), *Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids.*1991, Clarendon Press, Oxford. UK, pp. 63–82.
48. Hill, R.A., Connolly, J.D., Triterpenoids.2013, *Nat. Prod. Rep.* 30, 1028–65.
49. [www.caymanchem.com](http://www.caymanchem.com) (İnternet). Son güncellenme tarihi: 2019. Erişim adresi: [www.caymanchem.com/product/89820/carnosic-acid](http://www.caymanchem.com/product/89820/carnosic-acid). [ Erişim tarihi : 13-01-2020].

50. Loussouarn M, Krieger-Liszky A, Svilar L, Bily A, Birtić S, Havaux M. Carnosic acid and Carnosol , Two Major Antioxidants of Rosemary, Act through Different Mechanisms. *Plant Physiol.* 2017 Nov;175(3):1381-94. doi: 10.1104/pp.17.01183. Epub 2017 Sep 15.
51. Del Campo J, Amiot MJ, Nguyen-The C. Antimicrobial effect of rosemary extracts. *J Food Prot.* 2000 Oct;63(10):1359-68.
52. Einbond LS , Wu HA, Kashiwazaki R, He K, Roller M, Su T, Wang X, Goldsberry S. Carnosic acid inhibits the growth of ER-negative human breast cancer cells and synergizes with curcumin. *Fitoterapia.* 2012 Oct;83(7):1160-8. doi: 10.1016/j.fitote.2012.07.006. Epub 2012 jul 22.
53. Shin HB, Choi MS, Ryu B, Lee NR, Kim HI, Choi HE, Chang J, Lee KT, Jang DS, Inn KS., Antiviral activity of carnosic acid against respiratory syncytial virus, *Virology.* 2013;10:303-18.
54. Campo, J.D., Amiot, M.J., 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. *J. Food Prot.* 63, 1359–68.
55. Bernardes, W.A., Lucarini, R., Tozatti, M.G., Souza, M.G., Silva, M.L., Filho, A.A., Martins, C.H., Crotti, A.E., Pauletti, P.M., Groppo, M., Cunha, W.R., 2010. Antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* against oral pathogens: relevance of carnosic acid and carnosol. *Chem. Biodivers.* 7, 1835–40.
56. Horiuchi, K., Shiota, S., Kuroda, T., Hatano, T., Yoshida, T., Tsuchiya, T., 2007. Potentiation of antimicrobial activity of aminoglycosides by carnosol from *Salvia officinalis*. *Biol. Pharm. Bull.* 30, 287–90.
57. Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S., Vojnov, A.A., 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Res.* 40, 223–31.
58. Rozman, T., Jeršek, B., 2009. Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. *Acta Agric. Slov.* 93, 51–8.
59. Shayma'a, J.A., Khaleel, I.R., Ranin, K.A.-A., Marwa, M.A.-K., 2011. Study of the antimicrobial activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) callus extract and selected types of antibiotics against some bacterial species. *Al-TAAqani* 24, 128– 38.
60. Klancnik, A., Guzej, B., Hadolin Kolar, M., Abramović, H., Mozina, S.S., 2009. In vitro antimicrobial and antioxidant activity of commercial rosemary extract formulations. *J. Food Protect.* 72, 1744–52.
61. Klancnik, A., Piskernik, S., Jeršek, B., Mozina, S.S., 2010. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *J. Microbiol. Methods* 81, 121–26.



62. Cheng W, Zhao F, Tang CY, Li XW, Luo M, Duan SB. Comparison of iohexol and Iodixanol induced nephrotoxicity, mitochondrial damage and mitophagy in a new contrast-induced acute kidney injury rat model. *Arch Toxicol.* 2018 Jul; 92(7): 2245- 57.
63. Mauro Canzian, Alexandre de Matos Soeiro, Marcel Frederico de Lima Taga, Cecilia Farhat, Carmen Silvia Valente Barbas, Vera Luiza Capelozzi. Semiquantitative assessment of surgical lung biopsy: predictive value and impact on survival of patients diffuse pulmonary infiltrate. *Clinics (Sao Paulo).* 2007 Feb; 62(1): 23-30.
64. Asli Korkmaz, Durdane Kolankaya, Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/ reperfusion injury. *Can J Surg* 2013 Feb;56(1): 6–14.
65. Subramanian S, Tumlin J, Bapat B, Zyczynski T. Economic burden of contrast-induced nephropathy: implications for prevention strategies. *J Med Econ* 2007;10(2):119-34.
66. Iaccarino L, Pegoraro E, Bello L. Assessment of patients with idiopathic inflammatory myopathies and isolated creatin-kinase elevation. *Auto Immun Highlights.* 2014;5(3):87–94.
67. Grunau BE, Pourvali R, Wiens MO, et al. Characteristics and thirty-day outcomes of emergency department patients with elevated creatine kinase. *Acad Emerg Med* 2014;21(6):631–6.
68. Amir KA, Chen SX, Bobba RK, Arsura EL. Elevation of serum creatine phosphokinase in hospitalized patients. *Am J Med Sci.* 2009;338(5):353–6.
69. Nirmalanathan N, Holton JL, Hanna MG. Is it really myositis? A consideration of the differential diagnosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2004;16(6):684–91.
70. Rendt K. Inflammatory myopathies: narrowing the differential diagnosis. *Cleve Clin J Med.* 2001 Jun; 68(6): 509–14.
71. Hilton-Jones D. Myositis mimics: how to recognize them. *Curr Opin Rheumatol* 2014;26(6):663–70.
72. Romano G, Briguori C, Quintavalle C, et al. Contrast agents and renal cell apoptosis. *Eur Heart J.* 2008;29:2569–76.
73. Thomas DD, Espey MG, Ridnour LA, et al. Hypoxic inducible factor 1alpha, extracellular signal-regulated kinase, and p53 are regulated by distinct threshold concentrations of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:8894–99.
74. Hannibal L. Nitric oxide homeostasis in neurodegenerative diseases. *Curr Alzheimer Res.* 2016;13:135–149.
75. Schrier RW, Wang W, Poole B, Mitra A., Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy., *J Clin Invest.* 2004 Jul;114(1):5-14. Review. Erratum in: *J Clin Invest.* 2004 Aug;114(4):598.

76. Noiri E, Peresleni T, Miller F, Goligorsky MS., In vivo targeting of inducible NO synthase with oligodeoxynucleotides protects rat kidney against ischemia., *J Clin Invest.* 1996 May 15;97(10):2377-83.
77. Chirino YI, Trujillo J, Sánchez-González DJ, Martínez-Martínez CM, Cruz C, Bobadilla NA, Pedraza-Chaverri J. ,Selective INOS inhibition reduces renal damage induced by cisplatin ,*Toxicol Lett.* 2008 Jan 4;176(1):48-57. Epub 2007 Oct 24
78. Walker LM, Walker PD, Imam SZ, et al. Evidence for peroxynitrite formation in renal ischemia-reperfusion injury: studies with the inducible nitric oxide synthase inhibitor L-N6-(-1-iminoethyl) lysine. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000;295:417–22.
79. Joles JA, Vos IH, Grone HJ, et al. Inducible nitric oxide synthase in renal transplantation. *Kidney Int.* 2002;61:872–5.
80. Liaudet L, Soriano FG, Szabó C. Biology of nitric oxide signaling. *Crit Care Med.* 2000; 28 (4 Suppl):N37–52.
81. Goligorsky MS, Brodsky SV, Noiri E. NO bioavailability, endothelial dysfunction and acute renal failure: new insights into pathophysiology. *Semin Nephrol.* 2004;24:316–23.
82. Cahtterjee PK, Patel NS, Kvale EO, Cuzzocrea S, Brown PA, Stewart KN, Mota-Filipe H, Thiernemann C, Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int.* 2002 Mar;61(3):862-71.
83. Quan Li, Ling Liu, Kunyue Cao. Carnosic acid protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *Exp Ther Med.* 2019 Nov; 18(5): 3707-3714.
84. Neng Yang, Zongling Xia. Yilin Yang. Carnosic acid prevents dextran sulfate sodium-induced acute colitis associated with the regulation of the Keap1/Nrf2 pathway. *Sci Rep.* 2017; 7: 11036.

## **EKLER**



## Ek 1



T.C.  
**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu**  
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

### HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 2018/12  
Karar No: 2018.12.01  
Hayvan Sayısı ve Cinsi: 24 Sıçan

Karar Tarihi: 27.12.2018

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dr. Öğr. Üyesi Ömer SALT'ın yaptığı, Dr. Nejmi KÜÇÜKYAĞCI'nın uzmanlık tezi olarak planlanan, TÜHADYEK-2018/36 protokol nolu **"Radyokontrast Maddeye Bağlı Gelişen Akut Böbrek Hasarında Carnosic Acid' in Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması"** başlıklı çalışma görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri etik kurullarının çalışma usul ve esaslarına dair yönetmelik ve Trakya Üniversitesi hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Enis ULUÇAM

Başkan

Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Vet. Hekim Didem DÖNMEZ  
Vet. Hek. Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

**-KATILMADI-**

Dr. Öğr. Üyesi Hayati ARDA  
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Dr. Öğr. Üyesi Beytullah ÖZKAN  
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Prof. Dr. K. Arakan SEZER  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Prof. Dr. Tevfik AKTOZ  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Doç. Dr. Hakan GÜRKAN  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Doç. Dr. Elvan BAKAR  
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

**-KATILMADI-**

Ecz. F. Uygur GÜLER  
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Ayhan YILMAZ  
Sivil Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

## Ek 2

Evrak Tarih ve Sayısı: 18/10/2019-374783



T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
İdari ve Mali İşler Daire Başkanlığı

Sayı : 59803669-604.99  
Konu : 2019/44

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ömer SALT

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz TÜBAP-2019/44 numaralı ve Arş. Gör. Dr. Nejmi KÜÇÜKYAĞCI'nın "Kontrast Maddeye Bağlı Gelişen Akut Böbrek Hasarında Carnosic Acid'in Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması" başlıklı tıpta uzmanlık projesinin 1. gelişme raporu görüşülerek, anılan projenizin devamına, Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun 15.10.2019 tarih ve 2019/13 sayılı toplantısında mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

**e-İmzalıdır**

Prof. Dr. Osman Nuri HATİPOĞLU  
Rektör Yardımcısı

Adres:Trakya Üniversitesi Rektörlüğü İdari ve Mali İşler Daire Başkanlığı Balkan Yerleşkesi  
Edirne 22030  
Telefon:2842234210 Faks:2842235507  
E-Posta: idamali@trakya.edu.tr Elektronik Ağ: <http://imdb.trakya.edu.tr/>

Bilgi için: Cennet ŞAHİN  
Unvanı: Bilgisayar İşletmeni



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.