

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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL MİYOglobİNÜRİK AKUT BÖBREK
YETMEZLİĞİNDE ERDOSTEİNİN ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Çiğdem ATAGÜN BANA

Referans no: 10053857

EDİRNE - 2014

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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK
YETMEZLİĞİNDE ERDOSTEİNİN ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Çiğdem ATAGÜN BANA

Tez No :

EDİRNE - 2014

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve **Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU** danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi **Çiğdem ATAGÜN BANA** tarafından tez başlığı “**Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Yetmezliğinde Erdosteininin Etkileri**” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **24/09/2014** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK
JÜRİ BAŞKANI



Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU
ÜYE



Prof. Dr. Hakan ERBAŞ
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Doç. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca beni yetiştiren, çalışmam sırasında bilimsel katkıları ile yardımlarını esirgemeyen ve bana yol gösteren tez danışman hocam sayın Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK, Doç. Dr. Arzu VARDAR ve Yrd. Doç. Dr. Mevlüt YAPRAK'a, çalışmamda yardımlarıyla yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Ebru TAŐTEKİN, Meryem D. POYRAZ, Özlem YALÇINKAYA'ya, canım eşim ve aileme, Deney Hayvanları Araştırma Birimi çalışanlarına, diğer tüm anabilim dalımız Lisansüstü öğrenci ve çalışanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ	3
MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ	6
RABDOMİYOLİZ	7
CRUSH SENDROMU	8
NİTRİK OKSİT (NO)	9
SERBEST RADİKALLER	11
ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	19
ERDOSTEİN	20
GEREÇ VE YÖNTEMLER	22
BULGULAR	29
TARTIŞMA	47
SONUÇLAR	54
ÖZET	55
SUMMARY	57
KAYNAKLAR	59
RESİMLEMELER LİSTESİ	67
ÖZGEÇMİŞ	69
EKLER	70

SİMGE VE KISALTMALAR

ABY	:Akut Böbrek Yetmezliği
ACE	:Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
ARB	:Anjiotensin Reseptör Blokörleri
ATN	:Akut Tübüler Nekroz
ATP	:Adenozin Trifosfat
BUN	:Kan Üre Nitrojeni
cGMP	:Siklik Guanozin Monofosfat
cNOS	:Yapısal Nitrik Oksit Sentaz
Cr	:Kreatin
CK	:Kreatin Kinaz
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
eNOS	:Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
FAD	:FlavinAdeninDinükleotid
FeNa	:Fraksiyonel Sodyum Atılımı
GFR	:GlomerülerFiltrasyon Hızı
GSH	:Okside Glutasyon
H₂O₂	:Hidrojen peroksit
iNOS	:İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
K⁺	:Potasyum
L-NAME	:N-nitro-L-arjinin-metil ester
MABY	:Miyoglobürik Akut Böbrek Yetmezliği
MDA	:Malondialdehit

Na⁺	:Sodyum
NADPH	:NikotinamidAdeninDinükleotid Fosfat (Redükte)
nNOS	:Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NSAID	:Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar
NO	:Nitrik oksit
NO₂	:Nitrojen dioksit
NOS	:Nitrik Oksit Sentaz
·O₂	:Süperoksit Radikali
·OH	:Hidroksil Radikali
RNA	:Ribonükleik Asit
ROS	:Reaktif Oksijen Türleri
RRT	:Renal Replasman Tedavisi
SOD	:Süper Oksit Dismutaz
TBA	:Tiyobarbutirik Asit
XO	:Ksantinoksidaz

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek yetmezliği (ABY); glomerüler filtrasyon hızında (GFR) azalma ve böbrek fonksiyonlarında hızlı bir gerileme ile karakterize, saatler veya günler içerisinde azotlu atık ürünlerin tutulumudur (1).

Miyoglobinürik akut böbrek yetmezliği (MABY) iskelet kasının hasarı ile oluşan üremik bir sendromdur (2). Bazı çalışmalar gösteriyor ki miyoglobinin serbest bırakılması plazma demir içeriğinin artmasına ve serbest radikal oluşumuna, sonuçta lipid peroksidasyonunu ve böbrek fonksiyon bozukluğuna sebep olmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) MABY pathogenezinde önemli rol oynadığı birçok çalışmada gösterilmiştir (3).

Rabdomiyoliz, çizgili kasın hızlı parçalanmasını tanımlamak için kullanılan bir terimdir, kas liflerinin nekrozu ve rüptürü ile karakterizedir. Bu süreç ekstrasellüler sıvı ve kana hücre yıkım elemanlarının serbest bırakılması ile sonuçlanır (4). Rabdomiyoliz travmatik veya travmatik olmayan nedenlerle oluşabilir (3). Rabdomiyolizin travmatik nedenleri kazalar, doğal afetler ve yoğun egzersizdir. Rabdomiyolizin travmatik olmayan en yaygın nedenleri alkol bağımlılığı, ilaçlar, nöbet ve koma sayılabilir (5). Şiddetli rabdomiyoliz olan hastaların pek çoğunda ABY gelişir, hatta bazılarında akut tübüler nekroz oluşur (3).

Crush sendromu travma sonucu oluşan rabdomiyoliz ve buna bağlı olarak gelişen cerrahi/medikal belirti ve bulguları içeren sistemik ve karmaşık bir durumdur (6).

Böbrekte, nitrik oksit (NO) mikrovasküler tonun düzenlenmesinde önemli bir moleküldür ve pek çok çalışma böbrek içi oksijen kaynağının NO olduğunu göstermektedir (3). Serbest radikaller hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve süperoksit anyonu gibi ROS'nin bir grubunu oluşturmaktadır. ROS düşük konsantrasyonlarda hücrel tepkiler ve bağışıklık fonksiyonu için yararlı iken yüksek seviyelerde vücuda zararlıdır. Antioksidanlar ROS'nin neden olduğu hasarı serbest radikal temizleyici etkileri ile azaltabilirler (7).

Erdostein [N-(caboxymethylthio asetil)-homosistein tiyolaktin], NAC gibi, pulmoner hastalıkların tedavisinde kullanılan mukolitik bir ajandır. Erdostein molekül yapısında iki bloke tiyol gruplarını içerir (8). Erdostein hepatik metabolizmanın ardından sülfidril gruplarını serbest bırakır. Bu sülfidril gruplar erdosteinin antioksidan ve serbest radikal süpürücü aktivitelerinden sorumludur (9). Deneysel ve klinik çalışmalar erdosteinin antioksidan olarak serbest radikal temizleyici fonksiyonlarını göstermiştir (10,11).

Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda deneysel olarak intramusküler hipertonic gliserol uygulanması ile oluşturulan MABY'de erdostein takviyesinin malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), böbrek ve serum NO düzeylerine, böbrek fonksiyonu ve histopatolojisi üzerine olan etkilerini değerlendirmektir.

GENEL BİLGİLER

AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

Böbrek vücut tuzunun ve su balansının düzenlenmesinde merkezi rol oynar (12). Memeli böbreği kan basıncı, pH ve diğer metabolik süreçlerin (örneğin nitrojenli atıkların atılımı) düzenlenmesinde önemli rol oynar (13).

Böbrek fonksiyonlarının akut kaybı olarak tanımlanan akut böbrek yetmezliği; renal fonksiyonların saatler ve günler içerisinde gerilemesi ve kaybı, böbrek hasarı nedeniyle nitrojenli artıkların atılımının gerçekleşmemesi, vücut sıvı elektrolit dengesinin korunamaması gibi belirtilerle birçok organ ve sistemi etkileyen bir hastalıktır (14,15).

ABY'de serum kreatinin (Cr) ve kan üre azotu (BUN) seviyeleri yükselir (16). Böbrek yetmezliği için kullanılan bir belirteç serum Cr'dir, fakat Cr yavaş, duyarsız ve hafif yetmezlikleri tespit etmesi mümkün değildir. Serum Cr bir günde birikmesi bir kaç saat gerektirir.

Renal perfüzyonun bozulması ve miyoglobin hasarı ABY gelişmesinin iki önemli nedenidir (17,18). Miyoglobinüri ve tübüler nekroz ile karakterize ABY renal iskemi ve artmış renal vazokonstriksiyon ile bağlantılıdır (19). Miyoglobin direk toksik etki ederek ve tübüler tıkaç oluşturarak ABY oluşturur (18). Miyoglobin, MABY'nin patofizyolojisinde önemli bir rol oynar ve klinikte kas doku hasarı ile karakterizedir (20). Dehidratasyon tabloyu ağırlaştırır (21). Renal iskemik olaylar, kalp hastalıkları, bozulmuş sistemik dolaşım, karaciğerde bozulma, sepsis, rabdomiyoliz ve nörotoksik maddelere maruz kalma gibi çok çeşitli nedenler ABY'ni tetikleyebilir (18).

İlaçlar ABY vakalarının %8-60'ından sorumludur. İlaçlar benzer mekanizmayla ABY'ne neden olur. Örneğin kalsinörin inhibitörleri ve vazopresör vazokonstrüksiyonla böbrek hastalıklarına neden olur iken anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri, anjiotensin-reseptör blokörleri (ARB), nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID) intraglomerüler hemodinamiği değiştirebilir (22).

Akut böbrek yetmezliği yüksek mortalite ve morbidite hızıyla seyreden bir sendromdur (23). Akut böbrek yetmezliği özellikle hastane ortamında insidans hızları yüksek, yaygın bir problemdir. Akut böbrek yetmezliği tüm hastaneye yatışların %1'inden sorumludur ve yoğun bakım hastalarında görülme sıklığı %40-60 oranındadır (24).

Sıvı replasmanı ve idrar alkalizasyonu tedavinin en önemli komponentleridir (21). Şiddetli akut böbrek yetmezliği olanlar arasında % 50-70'i renal replasman tedavisi (RRT) gerektirdiği bildirilmektedir (25). Son zamanlarda, intramusküler gliserol ile oluşturulan akut böbrek yetmezliğinde reaktif oksijen metabolitlerine karşı antioksidanların önemli rol oynadığı bildirilmektedir (26).

ABY, rabdomiyolizin en yaygın komplikasyonudur. Akut tübüler nekroza (ATN) bağlı gelişir. ATN'un en sık iki nedeni iskemi ve toksinlerdir. Miyogloblin, 'hem' içerir, ATN'a en sık neden olan nefrotokstindir. Nefrotik kas hücrelerinden salınan çok miktarda miyogloblin glomerüllerden serbestçe filtre olur, renal tübüllerden reabsorbe olarak direkt hasara yol açar. Pigment ayrıca, distal tübüllerde oluşturduğu obstrüksiyonla hasar oluşturabilir (21).

Kas hasarı sonucu fazla potasyum tutulması, ABY hastalarında daha ciddi tehlikelere neden olabilir, zira plazma potasyum konsantrasyonunun 8mEq/litre'den daha fazla artışı yani normalin iki katı artışı (hiperkalemi) öldürücü olabilir. Yeterli hidrojen iyonu atılmadığı için ABY olan hastalarda metabolik asidoz gelişebilir ve bu da öldürücü olabilir veya hiperkalemiyi ağırlaştırabilir. Şiddetli ABY vakalarının çoğunda tam anüri görülür. Böbrek fonksiyonları normale döndürülemezse veya vücuttaki fazla su, elektrolit ve metabolik atık ürünlerin atılması için böbrek diyalizi kullanılmazsa hasta 8-14 gün içinde ölebilir (27).

ABY'ini böbrek hasarını meydana getiren faktörlere bağlı olarak 3 kısımda incelemek mümkündür.

Prerenal Akut Böbrek Yetmezliği

Renal glomerül ve tübülus fonksiyonları normal iken böbrek kan akımının azalmasına bağlı olarak gelişir. Prerenal nedenler ABY oluşumuna zemin hazırlar (28). Prerenal ABY' de böbrek su reabsorbsiyonunu arttırıp normovolemiyi devam ettirebilmek için fazla miktarda

sodyum tutar. Bundan dolayıdır ki, fraksiyonel sodyum atılımı (FeNa) $<1\%$ 'in altındadır. Prerenal ABY genellikle efektif arteriyel kan volümünde azalmanın bir sonucudur. Effektiv arteriyel kan volümünde meydana gelen azalma karotis sinüs ve aortik arkta yerleşen ve efektif arteriyel kan volümü ile ilişkili olan gerilmenin azalması ile aktive olan baroreseptörlerce algılanır. Efektiv arteriyel kan volümün'deki azalma hafif ve orta derecede olduğu zaman böbrek kan akımı ve GFR bu otheregülatuvar cevap ile devam ettirilmeye çalışılır. GFR'nin başlıca belirleyicilerinden biri olan glomerül içi kapiller basınç kısmen lokal prostasiklin üretimine bağlı gelişen afferent arteriolar dilatasyon ve anjiotensin II ile sağlanan efferent arteriolar vazokonstriksiyon ile korunmaya çalışılır (29).

Prerenal ABY, efektif arteriyel kan volümünde meydana gelen azalmanın bu adaptif mekanizmaları aşması veya efektif arteriyel kan volümündeki azalmayı kompanse edecek bu mekanizmaların sağlıklı çalışmaması durumunda gelişmektedir. Azalmış böbrek kan akımına bağlı gelişen iskeminin uzun sürmesi ve şiddetli olması ATN neden olabilmektedir. Dolayısıyla, böbrek kan akımının mümkün olduğunca çabuk düzeltilmesi böbreğin iskemik kaldığı süreyi azaltacak ve parankim hasarının önlenmesine neden olacaktır. Prerenal ABY'de böbrek kan akımının normalleştirilmesi ile 24-48 saat içerisinde böbrek fonksiyonlarında düzelmeye başlamaktadır (29).

İntrinsik Akut Böbrek Yetmezliği

Böbreğin bizzat kendisini ilgilendiren hastalıklar sonucu gelişen ABY'dir. ATN'un en sık nedenidir (28). İntrarenal hemodinamik değişikliklere bağlı olarak tubül hücrelerinin iskemi ve toksinlerle hasar görmesidir. Bu anormalliklerin birbiri ile etkileşimi GFR'de akut bir düşmeye neden olur. GFR'deki bu düşüş glomerüler filtrasyon basıncında azalma, tübüler tıkanıklık, filtratın tübüler boyunca geri sızması ve interstisyel inflamasyonla birlikte olan intrarenal vazokonstriksiyonun bir sonucudur. İntrinsik renal ABY'de böbrek parankiminde hasar oluşmaktadır. Parankimde oluşan bu hasara bağlı olarak FeNa 1% 'in üzerinde ve idrar ozmolaritesi (250-300) izotoniktir (29).

Postrenal Akut Böbrek Yetmezliği

Üriner toplayıcı sistemin tıkanması sonucu gelişir (28). Postrenal ABY her iki veya tek böbreği olan bireylerde böbreğin idrar akımının bozulmasıyla oluşur. Tıkanıklığın erken evrelerinde glomerüler filtrasyon devam eder ve tıkanıklığın olduğu bölgeden yukarı doğru lümen içi basıncın artmasına neden olur. Sonuç olarak proksimal üreter, renal pelvis ve kalikslerde distansiyon ve en nihayetinde GFR'da düşme meydana gelir. Akut tıkanıklık

başlangıçta renal kan akımında ılımlı bir azalma ile birlikte iken, buna arteriolar vazokonstriksiyon eklenir ve GFR'daki düşüş daha da artar (29).

MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

Bywaters ve Beall tarafından 1941'de tanımlanan MABY yükselmiş kreatinin kinaz, hipofosfatemi, hipokalemi, kanda idrar dipstick pozitif olan hastada asidoz ile karakterizedir (30,31). ABY tüm vakalarının yaklaşık %10-40'da Rabdomiyoliz'e bağlı MABY oluşur (32). MABY travma ve travma dışı sebepler ile iskelet kası parçalanması ve hücre içi elemanlarının kan dolaşımına salınması ile oluşan üremik bir sendromdur (33). MABY'nin nedenleri oksidatif stresi artırır (20,33).

Miyoglobinin akut böbrek yetmezliğinin üç temel mekanizması:

Renal Vazokonstriksiyon: Miyoglobinin vazokonstriktör etkiye sahiptir. Bu etki NO süpürücü olmasından ve vazodilatatör etkili NO'in tükenmesinden kaynaklanır. Ayrıca miyoglobinin salınımına katkıda bulunan endotoksin ve sitokinler vazokonstriksiyona neden olur (6).

Tübüler Obstrüksiyon: Rabdomiyolize bağlı oluşan ABY lipid peroksidasyonu ve tübüler obstrüksiyonda önemli rolü vardır. Fazla miktarda miyoglobinin glomerülden filtre edilmesiyle miyoglobinin tübülerde konsantrasyonu artar, asidik idrar Tamm-Horsfall proteinleri ile miyoglobinin arasındaki etkileşimi artırır ve distal tübülde çöküntü oluşturur. Çöküntü tübüler tıkanmaya ve tübül içi basıncın artmasına neden olur. Hiperürisemi de oluşturduğu ürik asit tıkaçları ile obstrüksiyona katkıda bulunur (34).

Heme Proteinlerine Bağlı Tübüler Nekroz: Miyoglobinin toksik etkili değildir, fakat idrar pH'nı asidikleştirerek toksik miyoglobinin ferrihemata dönüşür. Miyoglobini ferrihemata dönüşmesi ile toksisiteyi artıran asidemi ve dehidratasyon oluşur. Miyoglobinin ile birlikte hareket eden diğer toksik maddelerin tübülüste farklı mekanizmalar ile nekroz oluşturabileceği bildirilmiştir. Heme proteininin tübülüs hücrelerine reabsorpsiyonu hücreleri iskemiye daha duyarlı hale getirir, toksik sitokinlerin ve serbest radikallerin oluşumunu uyarır bu olaylarda ATN'un oluşmasını sağlar (34).

Miyoglobinin glomerüler filterata geçtikten sonra proksimal tübülde geri emilir. Miyoglobininin moleküler yapısında bulunan porforin halkasının metabolize olmasıyla serbest demir iyonu açığa çıkar. Açığa çıkan serbest demir iyonlarının tamamı normalde hızlı bir şekilde ferritine dönüştürülür ancak rabdomiyolizden dolayı normalden daha çok miktarda

serbest demir ortaya çıkmıştır ve ferritine dönüştürme kapasitesinden fazla miktarda olduğu için serbest demir miktarı tübül içinde artar. Bu artış ile nefrotoksisiteye bağlı ATN meydana gelir (34).

RABDOMİYOLİZ

Vücut ağırlığının yaklaşık %40'ı iskelet kasıdır ve yoğun nekroz sonrası oluşan hasara rabdomiyoliz denir (35). Rabdomiyoliz dolaşım sistemi içine hücre içi içeriğinin serbest bırakılması ile sonuçlanan iskelet kasının parçalanması, kas liflerinin yırtılması ve nekrozu ile karakterize, potansiyel hayatı tehdit edici bir sendromdur (36,37). Bu maddeler arasında, laktik asit, tromboplastin, kreatin kinaz (CK), nükleik asitler, fosfat ve Cr sayılabilir, kas hasarı sonucu en önemli olanları ise, miyogloblin ve potasyum (K)'dur (31). Kas hasarı sonucu, hücre bileşenleri özellikle miyogloblinin hücre dışı sıvı ve dolaşıma geçmesi ile sonuçlanır. Salınan miyogloblin glomerülüs tarafından filtre edilir ve tübüllere ulaşır, tübüllerde tıkanıklık ile böbrek fonksiyon bozukluğuna, tübüler hücre içinde lipit peroksidasyonuna ve renal vazokonstrüksiyona neden olabilir (38,39).

Membran geçirgenliğinin artmasının en önemli sonuçlarından biri de hücre içi (sitolik) kalsiyum düzeyinin yükselmesidir. ATP (Adenozin trifosfat) eksikliğine bağlı olarak sarkolemmadaki Na^+ (sodyum) - K^+ -ATP'az ve Ca^{+2} (kalsiyum) -ATP'az pompalarında yetersizlik ortaya çıktığı için, sitozolik Ca^{+2} normale dönmez. Artmış Ca^{+2} proteolitik enzimleri aktive eder, kas liflerinin lizisi sonucu rabdomiyoliz ortaya çıkar. Proteolitik enzim aktivasyonu, ATP deplasyonunu daha belirgin hale getirerek kalsiyum yüksekliğini devam ettirir, sonuçta bir kısır döngü ortaya çıkar. Sitolik kalsiyum artışı mitokondriyal hasara yol açar, böylece reaktif oksijen metabolitleri ortaya çıkar, bu faktörde rhabdomiyoliz pathogenezinde rol oynar (13).

Rabdomiyoliz belirtileri hafif geçici hiperpotasemi, hipokalsemi, miyogloblinürik ABY, kardiyak aritmi ve hipovolemik şok yaşamı tehdit eden belirtiler ile karakterize crush sendromuna sebep olabilir (33). Serum CK değerleri kas yaralanma derecesi ile ilişkilidir ve rabdomiyolizin şiddetini belirlemek için de kullanılabilir (40).

Rabdomiyoliz maraton koşucuları, buz patencileri ve futbolcular dâhil olmak üzere görünüşte normal bireylerde uzun süreli ağır egzersiz sonrasında, madenlerin yıkılmasından sonra, şiddetli dayak, ezilme yaralanmaları, yanıklar, enfeksiyonlar ve depremlerden sonra oluşabilir (26,38,40). Rabdomiyolizin nedeni sıklıkla multifaktöryeldir (39)

Felaketlerden sonra, özellikle depremler, binaların çöken yapıları beyin, akciğer ve karaciğer gibi hayati organlara isabet edebilir, böylece anlık ölüme neden olabilir. Ayrıca bu malzemeler kas gibi hayati önemi olmayan organları sıkıştırabilir, bunun sonucu olarak rabdomiyoliz, crush sendromu ve ABY oluşabilir (31). Rabdomiyoliz hastalarının yaklaşık % 8-20'sinde MABY gelişir (39). Amerika Birleşik Devletlerinde uzun süreli kas sıkıştırması ve nöbet ile ilişkili olarak alkol intoksikasyonu rabdomiyolizin en sık nedeni olduğu bildirilmiştir (40).

CRUSH SENDROMU

İngilizce bir terim olan 'crush' 'ezilme' veya 'sıkışma' anlamına gelir (6,28). Deprem sonrası sık görülen komplikasyonlardan Crush sendromu, ilk kez 1909 yılında Messina depremi ve arkasından 1. Dünya savaşı sonrası Alman literatüründe bildirilmiştir. Yine 1940-1941 yıllarında Londra'nın bombalanması sırasında yaralananlarda rabdomiyoliz, myoglobinüri ile renal yetmezlik arasındaki ilişki ilk kez tanımlanmıştır. O zamandan bu yana salgın hastalıklar, savaşlar ve toplumsal olayları sonrası birçok Crush sendromu olgusu rapor edilmiştir. Son çeyrek yüzyılda ise Crush sendromlu çok sayıda hastanın bildirildiği büyük depremler olmuştur. Bunlar arasında 1976 Tangashan-Çin, 1980 Güney İtalya, 1988 Ermenistan, 1995 Hanshin-Awaji (Japonya) ve 1999 Marmara depremleri sayılabilir (31,41).

Birçok deprem mağdurunda depremden birkaç gün sonra böbrek problemleri oluşur (42). Travmatik rabdomiyoliz sonucu oluşan crush yaralanmaları ABY'nin en önmeli nedenidir(40). Depremlerden en sık ikinci sebebi ise vital olmayan bir organ olan kaslara gelen ve çoğu kez künt travmaların yol açtığı 'crush' sendromu ve komplikasyonlarıdır (28).

Crush yaralanması sadece travmaya işaret etmesine rağmen, crush sendromu terimi iskemi reperfüzyon veya direk travma sonrası kas crush yaralanması sistemik belirtilerin oluşmasına neden olabilir. Bu tür bulgular gergin, ödemli ve ağrılı kas, hipovolemik şok, akut böbrek yetmezliği (ABY), hiperkalemi, asidoz, kalp yetmezliği, solunum yetmezliği ve enfeksiyonları içerebilir (31). Crush sendromu insidansı en az % 2 ila 5 olduğu tahmin edilmektedir. Crush sendromlu hastaların yaklaşık % 50'sinde ABY gelişir ve ABY olanların yaklaşık % 50'sine diyaliz gerekir (43). Önceden çok iyi bilinmeyen bu gerçek 17 Ağustos 1999 Marmara depremi sonrasında ülkemiz tıp gündemine girmiştir. Merkezi Gölcük olan 7.4 şiddetindeki bu felaket resmi rakamlara göre 17.480 kişinin ölümüne ve 43.953 kişinin de yaralanmasına yol açmıştır. Ayrıca bu deprem sonrasında ortaya çıkan ezilme sendromuna

bağlı ABY'yi 'epidemisi' tıp tarihi boyunca dökümante edilebilen en büyük nefrolojik felaket olma özelliğini kazanmıştır. Marmara Depremi'nin ertesinde 639 hastada ezilme sendromuna bağlı ABY ortaya çıktığı saptanmış (28). Marmara depreminden sonra böbrek yetmezliği olan hastaların yüzdesi kaydedilmiş ve % 75'inde renal replasman tedavisinin bir şeklinin gerekli olduğu bildirilmiştir (42).

NİTRİK OKSİT (NO)

Memelilerde NO'nun varlığı ilk kez 1916 yılında gösterilmiş, 1985'de aktive olmuş makrofajların NO saldığı bulunmuştur. Sonrasında NO sentezi için L-argininin öncü madde olduğu ve NO sentezinin inhibisyonu için L-arginin bazlı hem analoglarının kullanılabileceğı gösterilmiştir (44). NO, endotelyum-türevli gevşeme faktörü olarak tanımlanmıştır, sistemik ve renal hemodinamiler de önemli bir düzenleyicidir ve onun bazal vazodilatasyonun korunmasında çok önemli bir rolü vardır (45). NO, suda ve yağda çözünebilen, solüsyon içinde yarılanma ömrü 30 saniye olan, nitrit ve nitrata okside olabilen renksiz ve kararsız bir gazdır (44,46).

NO vasküler tonusun kontrolü, nörotransmisyon, ventilasyon, hormon sekresyonu, inflamasyon ve immünite gibi birçok biyolojik olayda kritik rol oynar. Bunun yanında Ribonükleik asit (RNA) sentezi, mitokondrial solunum, glikoliz ve demir (Fe) metabolizması gibi hücrenin temel fonksiyonlarında da görev alır (47). NO nöral faaliyet, tromboz, kan akışı modülasyonu ve omurgalılarda intersellüler haberleşmeyi sağlar. NO'nun üretimi hücre içi patojenleri ve tümörleri ortadan kaldırmak için yardımcı olur, aynı zamanda non-spesifik konakçı savunması için önemlidir. Sitotoksiste de genellikle doğrudan NO'e bağlanmaktadır (48).

NO, taşıdığı çiftlenmemiş elektron nedeniyle bir radikal olarak isimlendirilir (46). Serbest radikal özelliğı ile vücut için zararlı bir maddedir (47). NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol alır. NO'nun aşırı ve kontrolsüz sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO bu özelliğı ile çok ideal fizyolojik haberci moleküldür (46). NO'nun vücut direnci üzerinde faydalı etkileri olmasına karşılık, fazla miktarda üretimi NO'nun reaktif oksijen ve nitrojen ile reaksiyona girerek peroksinitrit anyon formasyonu, protein tirozin nitasyonu ve hidroksi radikal üretimine neden olarak sitotoksik etki yapabilir (43,47,49).

NO oluşumu NO sentetaz (NOS) tarafından katalize edilir (36,47,51,52). NOS üç izoformu bulunmaktadır (45,53).

1. Nöronal NOS (nNOS) gastrointestinal sistem ve nöronlarda bulunur (54). Merkezi ve periferik sinir sisteminde aracı madde olarak görev yapar ve nörokimyasal sistemin önemli bir parçasıdır (55).

2. İndüklenebilir NOS (iNOS) makrofajlar, nötrofiller ve damar endotel hücrelerinde bulunan önemli bir izoformdur (46,54). iNOS bakteri, parazit ve tümör hücrelerine sitotoksik etki yaparken, DNA ve RNA virüslerinin bazılarının yayılmasını önler (55). Bu hücrelerin spesifik sitokinlerle aktivasyonu NOS'ın indüksiyonuna ve NO sentezine yol açmaktadır (46).

3. Endotelial NOS (eNOS) hücre fizyolojisinde önemli bir rol oynar (45). Endotel hücrelerinde bulunur ve organizma için yararlı etkileri vardır (54). Damar bütünlüğünün korunması, lökositlerin endotel hücrelerine yapışmasının ve düz kas hücre proliferasyonunun önlenmesi gibi etkilerinin yanında trombosit adezyonu ve agregasyonunu inhibe etme gibi etkileri vardır. Bu nedenle kardiyovasküler hemostazda önemli rolü vardır (55).

eNOS ve NO T hücresi aktivasyonu ve klirensinde rol oynar (45). nNOS ve eNOS yapısal olarak ifade edilir ve Ca^{2+} /Kalmodüline bağlı olarak aktive edilir (51). nNOS ve eNOS aktif hale gelmek için Ca^{++} ihtiyaç duyduğu için yapısal NOS (cNOS) olarak isimlendirilir. Nöronlardan ve endotelial hücrelerden izole edilen cNOS'ın sentez süresi kısa ve hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonu azalmaya başladığı anda enzimin inaktif duruma geçmesi nedeniyle üretilen NO miktarı çok düşüktür (55). iNOS enflamatuar sitokinler de dahil olmak üzere, hipoksi ve çeşitli uyarılar tarafından indüklenir ve büyük miktarda NO üretilir (51).

Böbrekte Nitrik Oksit Etkileri

Böbrekte NO glomerüler ve medüller hemodinamiğin sağlanması, tübüloglomerüler "feedback" yanıtı, renin salgısı ve ekstraselüler sıvı volümünün sağlanması gibi birçok vital olayın kontrolünde en önemli parakrin modülatör ve mediyatördür (47,56). Böbrekte NO çok sayıda mekanizma ile sodyum ve su homeostazisini düzenler. Böbrekte NO net etkisi natriürez ve diürezi artırmaktır. Artmış beslenme tuzuna cevaben NO üretimi yetersizliği hipertansiyonun patogenezinde önemli rol oynar (53).

NO ayrıca diyabetik nefropati, inflamatuvar glomerüler bozukluk, septik şokta görülen akut böbrek yetmezliği, kronik böbrek yetmezliği, ilaçların nefrotoksik etkileri gibi bir takım böbrek bozukluğu durumlarında da önemli rol oynar. NO, bazen hemodinamik fonksiyonlarından dolayı faydalı olabilirken iNOS'tan yüksek miktarda salgılandığı durumlarda zararlı olabilmektedir. NO, afferent arteriol tonusu üzerinde efferent arteriole göre daha fazla rol oynar. NOS inhibitörleri afferent arteriollerini daha fazla daraltır. NO, renin salgılanmasını güçlü bir şekilde uyarır (56).

Hem proteinleri tarafından NO süpürücü etki doku hasarı ve renal hipoperfüzyona doğrudan katkı sağlar. NO renal hemodinaminin ve fonksiyonların düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Çalışmaların büyük bir kısmı göstermektedir ki NO sadece renal vasküler endotelde değil aynı zamanda mesangium, makula densa ve tübüler hücreler gibi diğer renal hücrelerde de oluşur. Endojen NO renal kan akışı, renal perfüzyon basıncı, renal vasküler ton, renal tübüler reabsorpsiyonu ve GFR'nin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (50).

Tübüler Na⁺ taşınmasında NO'in etkisi nefronun farklı bölümlerinde değişiklik gösterir. NO'in bilinen natriüretik ve diüretik etkileri ile ilişkili olarak Na⁺ transportunu inhibe etmektedir (53). NO guanilat siklazın çözünür heme fraksiyonu ile aktive olur. Guanilat siklazın guanozin trifosfat (GTP)'dan ikinci bir haberci olan cGMP oluşumunu artırır. cGMP'nin yüksek konsantrasyonu hücre içi Ca⁺²-u azaltmakta ve bu da düz kas hücrelerinin gevşemesine yol açmaktadır (46,50).

SERBEST RADİKALLER

Gerschmann ve arkadaşları 1954'te oksijen kullanılırken oluşan bazı reaktif ürünlerin iyonize radyasyona benzer toksisiteye neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir (57). Serbest radikaller, atomik orbitali üzerinde bir veya daha çok eşleşmemiş elektron taşıyan, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır (58-60).

Serbest radikaller insan sağlığını korumada önemli bir rol oynamaktadır (63). Serbest radikaller tek sayıda elektron içeren organik veya inorganik moleküllerdir; çok aktif oldukları için hücre içi fizyolojik olaylarda önemli rol oynarlar. Serbest radikaller hyaluronik asit ve deoksiribonükleik asit gibi hücre içi ve hücre dışı moleküllere zarar verir; makrofajlar ile reaksiyona girerek onları aktive eder veya hasara uğratar. Ayrıca serbest radikaller okside olduğunda lipid peroksidasyonu oluşur ve hücre zarlarının ikili lipid tabakasına zarar verebilir (6,40).

Serbest oksijen radikalleri renal iskemi deneysel modelleri sonrası gelişen ABY'nin patofizyolojisinde önemli rol oynar (64). Serbest radikal oluşumunun artması oksidatif stresi tetiklemektedir (59). Yetersiz beslenme, sigara, stres vb. durumlarda serbest radikal üretiminde, antioksidan savunma sistemini aşan bir üretim artışı neticesinde veya antioksidan sistemdeki aktivite azalması nedeniyle serbest radikallerin zararlı etkileri ortaya çıkmaya başlar. Serbest radikallerin hücre membran yapı ve fonksiyonlarındaki bozukluklardan başlamak üzere kanser oluşumuna kadar uzanan bir dizi patolojik bozuklukların ve hastalıkların ortaya çıkışında rol aldıkları yapılan birçok çalışmayla ortaya koyulmuştur (61).

Serbest radikallerin oluşumunu önlemek veya önceden oluşmuş fazla miktarları temizlemek için çeşitli koruma sistemleri memeli hücrelerinde faaliyet göstermektedir (65). Kendilerini nötralize etmek için diğer maddelerden elektron alırlar (57). Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse hücre membran proteinlerini yıkarak, membran lipid ve proteinlerini yok ederek, hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engelleyerek, nükleer membranı geçip nükleustaki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirerek, bağışıklık sistemindeki hücreleri yok edip bağışıklık sistemini zorlayarak vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler (62).

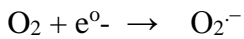
Serbest radikaller konsantrasyonları yüksek olduğunda hücre içi ve hücre dışı moleküllere zarar veren güçlü oksitleyici ajanlardır (40). Serbest radikallerin membran fosfolipidleri, proteinler, DNA ve karbonhidratlar gibi birçok basit ve kompleks molekül üzerin de gösterdikleri etkiyle yapı ve fonksiyonlarında değişimlere neden olduğu ve buna bağlı olarak da başta beyin dokusu olmak üzere birçok doku ve hücrelerde fonksiyon kaybı ve bozukluklarının oluşumunda rol oynadığı bilinmektedir. Serbest radikallerin zararlı etkisine karşı organizmadaki koruyucu sisteme antioksidan savunma sistemi adı verilir. Endojen-eksojen, enzimatik-enzimatik olmayan şekilde değişik sınıflandırmalara tabi tutulabilen antioksidan sistem sağlıklı şartlarda serbest radikal üretimiyle denge halinde bulunur (61).

Oksidasyon reaksiyonları serbest radikaller üretebilir. Zincir reaksiyonlar başlatabilen bu radikaller hücrelere zarar verir (65). Oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilirler. Hepsisi çeşitli reaksiyonlar için önemli olmakla beraber aerob organizmalar için oksijen kaynaklı ROS çok önemlidir (57). Oksijenin zararlı etkilerinin çoğu ROS kaynaklanmaktadır ki diğer maddelere oksijen vermek için bir eğilim vardır. Birçok reaktif türleri serbest radikallerdir ve bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronlara sahiptirler, çiftleri uyumlu olanlardan çok ve bu nedenle dengesiz ve kararsız ve yüksek ölçüde reaktiflerdir (65).

ROS fizyolojik ve patolojik koşullarda oluşabilir. Herşeyin yolunda gittiği aerobik metabolizma esnasında normal koşullarda yaklaşık %1 oranında ROS oluşur. Zorlu egzersiz gibi hücresel metabolizmanın hızlandığı durumlarda, inflamatuvar hücrelerin varlığında (enfeksiyonlar, kronik inflamatuvar hastalıklar, alerjik hastalıklar), yüksek oksijen basıncında, hava kirliliği, sigara dumanı, pestisid, insektisid, radyasyon, ilaç ve çeşitli maddelere maruziyetlerde, iskemi-reperfüzyon durumlarında ve yaşlanma sürecinde ROS üretimi artar. ROS'nin hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptoz, immun cevaplar ve sinyal ileti yollarında çeşitli fonksiyonları vardır. Düşük seviyelerde ROS çeşitli moleküllerin kontrollü oksidasyonuna neden olur. İmmun savunma ve normal hücre fonksiyonları için fizyolojik seviyede ROS gereklidir (57). Çok kısa bir yarı ömrü(mikrosaniye)vardır. Serbest radikal türleri Süperoksit radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil iyonları (OH) ve lipid peroksil radikallerini (LOO) içerir.

Süperoksit Radikali (O_2^-)

Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu ve süperoksit çeşitli mekanizmalar ile in vivo olarak üretilbildiği bulunmuştur (58,66,67). Glikoz, flavin nükleotidleri, tiol bileşikleri ve adrenalin dahil olmak üzere çeşitli moleküller süperoksit üretmek için oksijen varlığında okside olabilir ve bu reaksiyonlar büyük ölçüde demir veya bakır gibi geçiş metallerinin varlığında hızlandırılır (67). Aerobik hücrelerin tamamına yakınında süperoksit radikali oluşur ve olduğu yerden fazla uzağa diffüze olamaz (58,66). Bu radikalın moleküler düzeyde önemli özelliği, sekonder olarak ürettiği radikallerdir. Doğal oksijen molekülünün başka bir molekülden elektron almış hali olan O_2^- mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte nikotinamid adenin dinükleotid (NADPH)'ın okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+)'a okside olması ile üretilir. Ayrıca pek çok oksidaz tarafından da üretilir. O_2 genel olarak anyon şeklinde tarif edildiği halde, ortamın pH'ına bağlı olarak protonlanarak katyon haline dönüşebilir. Bu durumda perhidroksi radikali (HO^2-) ismini alır (58). İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit meydana getirebilir (68).



Süperoksit, serbest radikal olmakla birlikte kendisi direk olarak fazla zarar vermez. Bu radikalın zararlı etkileri H_2O_2 için substrat olmasından ve geçiş metal iyonlarının indirgeyici olmasından kaynaklanır (58,66). Süperoksit nötrofillerin bakterisidal aktivitesi, apoptozis, inflamasyon ve vasküler fonksiyonların regülasyonu gibi yararlı etkilere sahiptir. Azalmış süperoksid düzeyleri, bakteriyal enfeksiyonlara artmış bir yatkınlığa yol açabilir. Artmış

superoksid düzeyleri ise süperoksid dismutaz (SOD) enzimi ile H₂O₂ ve oksijene dönüştürülerek azaltılır. Böylece hücrel süperoksid düzeyleri sıkı kontrol altındadır (58).

Süperoksidin nitrik oksit ile birleşmesi sonucu peroksinitrit oluşur. Doğrudan proteinlere zararlı olan peroksinitrit azot dioksit (NO₂), OH⁻ radikali ve nitronyum iyonu (NO₂⁺) gibi toksik ürünlere dönüşür. Süperoksid radikali ve perhidroksil radikali birbirleri ile reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir (66). Süperoksid radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin ferrisitokrom c ya da nitroblue tetrazolium ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur (68). Bu dismutasyon reaksiyonunda oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir (66,68).



Hidroksil Radikali (OH)

Hidroksil, bilinen en reaktif radikaldır. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipitler ve şekerler gibi biyokimyasalların çoğu ile reaksiyona girebilir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile (hidrojen) H'nin birleşmesinden oluşur. Gamma radyasyona maruz kalan dokularda da hidroksil radikali oluşabilir. Alınan enerji hücre suyu tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanmasına neden olur. Böylece hidrojen ve oksijen üzerinde dış orbitalde tek elektron kalır ve iki radikal oluşur. Hidroksilin yarılanma ömrü çok kısadır ve pek çok molekülden H atomu çıkarılmasını sağlar (58).

Hidrojen peroksit hidroksil radikali oluşturmak için demir II veya bakır I ile reaksiyona girebilir, ilk kez 1894 yılında Fenton tarafından açıklanan reaksiyon:

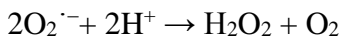


Haber-Weiss reaksiyonu:



Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Biyolojik sistemlerde asıl H₂O₂ üretimi süperoksidin dismutasyon tepkimesiyle gerçekleşir. Bu reaksiyonda serbest radikal reaktifleri, radikal olmayan ürünler meydana getirdiğinden, bu bir dismutasyon reaksiyonudur. Bu reaksiyon aerobik organizmalarda SOD tarafından katalize edilir (69).



Serbest radikal olmadığı halde hidrojen peroksit serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Süperoksid radikali ile tepkimeye girerek en reaktif ve zarar verici olan

hidroksil radikalini oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Bu oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerden derhal uzaklaştırılmaz. Bu görevi peroksidaz ve katalaz enzimleri yerine getirmektedir (69).

Hidrojen peroksit hücre bölümleri arasındaki ve hücreler arası serbest radikallerin neden olduğu hasarı iletmek için bir araç olarak görev yapar. Hidrojen peroksit varlığında, miyeloperoksidaz hipoklorik asit ve singlet oksijen üretir, fagositler tarafından bakteri öldürmede önemli bir rol oynayan reaksiyon üretir (67).

Singlet Oksijen

Singlet oksijen yapısında ortaklanmamış elektron bulunmaması nedeniyle gerçek bir radikal değildir. Serbest radikal tepkimelerinin başlatıcı olması nedeniyle önemlidir. Elektronlarının dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün ters yönünde olan başka bir yörüngeye yer değiştirmesi ile oluşabileceği gibi süperoksit radikalinin dismutasyonu ve H_2O_2 'in hipoklorit ile tepkimesi sonucunda da meydana gelebilir (69). Singlet oksijen normal oksijenden çok daha hızlı biyolojik moleküldür. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksidlerin oluşumuna yol açar (70).

Oksidatif Stres

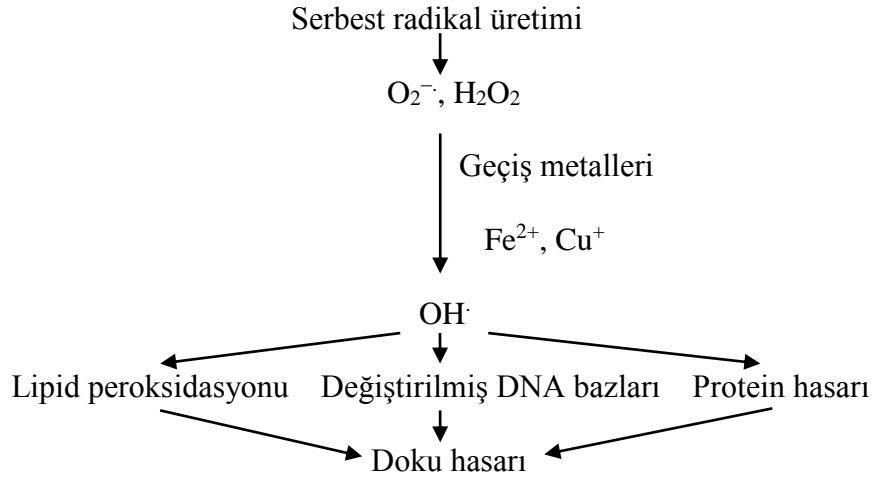
Organizmada devamlı olarak serbest radikaller oluşmasının yanında güçlü savunma sistemleri vardır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı yani oksidatif denge sağlandığı sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Antioksidan savunma sistemleri yeterince etkili olmadığında, organizmada serbest radikal üretimi artar ve doku hasarı meydana gelir. Bu duruma oksidatif stres adı verilir (71). Yani oksidatif stres, biyolojik sistemde prooksidanlarla antioksidanlar arasındaki dengenin, prooksidanlar lehine bozulmasıdır (59,60). Hücreler hafif oksidatif stresi tek başlarına tolere edebilseler de genellikle antioksidan enzim sistemlerini aktive ederler. Ancak, hücre içi savunma sistemlerinin yeterli olmadığı durumlarda, oksidatif stresin tanımında belirtildiği üzere, reaktif oksijen bileşikleri ile antioksidanlar arasındaki denge bozulur, dolayısıyla oksidan hasara duyarlı DNA, protein, karbonhidratlar ve lipitler gibi hücrel makromoleküller zarar görür (59).

Oksidatif stres lipit peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, DNA mutasyon ve kırıklarına, sitotoksik etkilere ve sinyal iletilerinde bozulmaya neden olabilir. Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarının yaşlanma süreci ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif hastalıkların (ateroskleroz, katarakt, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, immun sistem

bozuklukları, kanser oluşumu) progresyonunda önemli rol oynadığına inanılmaktadır. Oksidatif stres yaklaşık 50 kadar hastalık patogeneziyle ilişkilendirilmiştir (57).

Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikal mekanizmalarının mitokondriyal oksidasyon, hemoglobin tarafından oksijen transportu ve P450 aktivitesi gibi birçok fizyolojik reaksiyonlarda temel bir oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca prostaglandinlerin sentezi sırasında açığa çıkan bir serbest radikal ara ürünü negatif bir feed-back halkası üzerinden prostaglandinlerin akışını ve dolayısıyla inflamatuvar süreci modüle etmektedir (72).



Şekil 1. Vücutta serbest radikallerin önemli kaynakları ve serbest radikal hasarının sonuçları (67).

Deoksiribonükleik Asit (DNA) üzerine etkileri

DNA üzerine serbest radikal saldırısını takiben sarmal ayrılması, ile baz ve deoksiriboz fragmentasyonu bildirilmiştir. Sonuçta sitotoksosite, mutasyon ve malign değişim potansiyeli meydana gelir (72).

DNA molekülü yeniden sentezlenemeyen ancak kopyalanabilen bir molekül olduğundan DNA modifikasyonları mutasyonlara ve genetik bozukluklara neden olmaktadır. Bu yüzden DNA hasarının ROS ile indüklenen hücrel modifikasyonların en ciddi olduğu düşünülmektedir (62).

Oksidatif DNA modifikasyonları memeli DNA'sında sıktır. Bu modifikasyonların karsinojenez, diyabet ve yaşlanmanın katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür. Hidroksil radikalının DNA molekülünün tüm bileşenleri ile reaksiyona girdiği bilinmektedir. Pürin,

primidin bazlarında ve deoksiriboz iskelette hasara yol açmaktadır. Hidroksil radikali DNA'nın çapraz bağlarına eklenebilmekte, timinin metil grubundan bir hidrojen atomu ve 2'deoksiribozun beş karbon atomunu çıkarmaktadır. Baz ve şekerin reaksiyonları, oluşan modifiye baz ve şekerlerin, baz-serbest bölgelerin, kenar kırılmalarının ve DNA-protein çapraz bağlanmalarının çeşitliliğine yol açmaktadır (62).

Ayrıca peroksinitrit ve nitrojen oksit gibi reaktif nitrojen türleri de DNA hasarına neden olmaktadır. Bununla birlikte, dokularda oksidatif DNA modifikasyonunun artmış düzeylerinin veya oksidatif modifiye nükleik asid ürünlerinin artmış üriner atılımının insanlarda kanser gelişimini öngörebileceğine ilişkin epidemiyolojik kanıtlar mevcut değildir. Bu nedenle kanser gelişimi, yaşlanma ve diğer hastalıkların DNA oksidasyonu ile ilişkisini gösteren ileriki çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır (62).

ROS'nin mutajeniteye yol açabilen bazı DNA baz modifikasyonlarını onarabilen spesifik ve genel mekanizmalar vardır. ROS'ne maruz kalma sonrasında onarıcı mekanizmaların verimliliğinin ilginç olarak artması oksidatif stresi takiben birçok DNA onarıcı enzimin ekspresyonunun artmasına bağlıdır (62).

Membran Lipidlerine Etkileri

Serbest radikaller hücrenin membranına saldırdıklarında gerçekleşir. Serbest radikaller, hücre membranını stabilizasyonunu ortadan kaldırarak, hızlı hücre ve doku bozulmalarına neden olurlar (62). Poliaansatüre yağ asitleri serbest radikal hasarına özellikle hasastırlar (72). Reperfüzyon sırasında serbest oksijen radikallerinin hücre membranının lipid komponentlerini okside ederek hasara uğratmasına lipid peroksidasyonu adı verilir. Bu hasar sarkolemanın bütünlük ve geçirgenliğini bozduğu için, hücre içine sodyum, kalsiyum ve suyun girmesine, sonuçta hücre lizisine katkıda bulunur ve kas hücrelerinin hücre içi içeriği dolaşıma salınmaktadır (6,40,72).

Demir-ferrik iyon çifti miyoglobin katalizinde porfirin halkası içindeki demir tarafından sağlanır ve kas dokusunda lipid peroksidasyonunun yaygınlaşmasını kolaylaştırır (6,40). Demir fenton reaksiyonları yolları ile serbest radikallerin oluşumunu katalize eder ki bu da renal tübüllerde lipid peroksidasyonuna yol açar. Lipid peroksidasyonu hücre zar sızıntısına yol açar ve ATP tükenmesinin neden olduğu aktif iyonik ekstrüzyon ile bir araya geldiğinde hücre şişmesi ve interstisyel boşluk içinde sıvı birikimine neden olur. Miyoglobinin molekülü heme grubu ayrıca onun farklı oksidasyon dereceleri arasında redoks döngüsü sırasında lipid peroksidasyonu artabilir (40).

Lipid peroksidasyonuna en duyarlı bileşikler, membran fosfolipidlerinin yapısında bulunan çoklu doymamış uzun zincirli yağ asitleri özellikle araşidonik asit ve dekosheksaenoik asittir. Bu yüzden lipid peroksidasyonunun yol açtığı en önemli hasar hücre membranında gözlenir. Lipid peroksidasyonu otokatalitik zincir reaksiyonu ile hasar yapar. Kuvvetli bir oksidanın etkisiyle çoklu doymamış uzun zincirli yağ asitleri zincirindeki α -metilen grubundan bir hidrojen atomunun ayrılmasıyla başlar ve lipid hidroperoksitlerin doymamış yağ asidi aldehitleri, alkanlar, epoksi yağ asitleri, hidroksi yağ asitleri gibi ürünlere yıkılması ile etan, pentan gibi uçucu gazların oluşumu ile sonlanır. Bunlarda direkt olarak membran yapısına, indirekt olarak da hücre komponentlerine zarar verirler. Aldehitler lipid peroksidasyonu sonucu oluşan en toksik ürünlerdir (71).

Lipid peroksitler malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktir (58). MDA non-enzimatik oksidatif lipid peroksit dekompozisyonu sonucu oluşur ve peroksidasyonun son ürünüdür (71). Buda tiyobarbutirik asit reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir (58).

Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler lipidlere göre serbest radikallere karşı daha az duyarlılık gösterir. Aminoasit bileşimi etkilenme dereceleri ile doğrudan ilişkilidir. Sülfür ve doymamış bağ içeren tirozin, histidin, sistein, fenil alanin, triptofan gibi amino asitlerden oluşan proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşur. Karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçümüyle proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir (69).

Serbest radikallerin neden olduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmantasyon, çapraz bağlanma, protein agregasyonu ve in vitro olarak ölçülebilen otofluoresan indüksiyonu olmaktadır. Yine bu nedenlere bağlı olarak bazı enzimler inaktive, bazı enzimler ise uygun inhibitörün inaktivasyonu ile aktive olurlar (69,72). Oransal olarak fazla miktarda disülfit bağ içeren ekstrasellüler proteinler hidroksil ve peroksi radikal saldırısına daha hassastırlar (72).

Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Fizyolojik pH ve ısıda glukoz gibi monosakkaridlerin otooksidasyonu ile H₂O₂, peroksitler ve okzaldehitler oluşabilir (69,72). Bu maddeler kanser, DM, sigara içimi ile ilgili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde rol oynarlar. DNA, RNA proteinlere bağlanması ve aralarında çapraz bağlar meydana getirme özelliklerinden dolayı okzaldehitler antimikotik etki gösterirler. Bu nedenle kanser ve yaşlanma olaylarında etkisi olduğu göz önünde bulundurulmaktadır (69).

ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidanlar denir (58). Yaklaşık 4000 antioksidan tespit edilmiş olsada, en iyi bilinenler Vitamin E, Vitamin C, karotenoidlerdir. Birçok diğer besin değeri olmayan gıda maddeleri, genellikle fenolik veya polifenolik bileşikler, antioksidan özelliği gösterir ve sağlık için önemli olabilir (65). Böbrek ROS süpürücü antioksidan savunma sistemine sahip olmasına rağmen, bu sistemin kapasitesi miyoglobini sırasında bastırılmış olabilir. Doğal olarak oluşan antioksidanlar ROS temizlemek için endojen antioksidan sistemlerini güçlendirerek harekete geçer ve bu sağlığa faydalı etkilerine katkıda bulunur. Antioksidan etki mekanizması henüz tam olarak kanıtlanmamış olmasına rağmen, onlar böbrek oksidatif sorunların etkilerini hafifletebilir (20).

Birçok çalışmada, antioksidanların sitostatik ilaçların yol açtığı mutajenik etkiye karşı koruyucu oldukları in vivo ve in vitro olarak saptanmıştır. Antioksidanlar serbest radikalleri ve serbest radikal aracılıklı oksidatif reaksiyonları nötralize etmektedir (59).

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler.

1.Süpürücü Etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki antioksidan enzimler ve mikromoleküller tarafından yapılır (58,74).

2.Bastırıcı Etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır (58,74).

3.Onarıcı Etkisi: Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar (74).

4.Zincir Kırıcı Etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır (58,74).

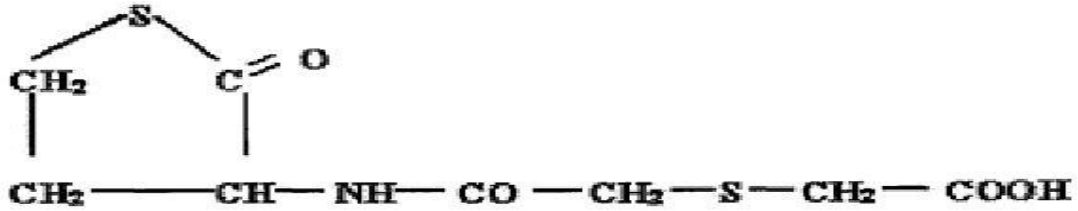
Glutasyon

Hücre içerisinde indirgen formda bulunur. Endojen üretilen peroksidlere karşı okside olarak onları indirger. Glutasyon peroksidaz bu reaksiyonu katalizler. Glutasyon etkin olarak hücreyi koruyabilmesi için büyük kısmı redükte halde tutulmalıdır. Bu reaksiyonu da glutasyon redüktaz katalizler. Glutasyonun glutasyon redüktazla indirgenmesi reaksiyonu NADPH'a ihtiyaç duyduğu için heksoz monofosfat yoluyla bağlantılıdır (58).

Glutasyon hücre içi redoks dengesini sağlamadan sorumlu önemli suda çözünen antioksidan bir bileşiktir (57,75). Glisin, glutamat, sisteinden oluşur. Ksenobiyotik metabolizmada önemlidir. C vitamini ile sinerjik çalışır. Oral yoldan verilmesinin kan seviyesini etkilemediği görülmüştür (57).

ERDOSTEİN

Doğal bir amino asit olan homosisteinin bir formu olan Erdosteın, bu amino asidin N-tiolaktonik şeklidir. Acı, beyaz mikro kristalli ve toz görünümündedir. Kimyasal kapalı formülü $C_8H_{11}O_4N_1S_2$ 'dir. Kimyasal adı N-karboksimetil tioasetil homosistein tiolakton olan erdosteının kimyasal yapısı aşağıda görüldüğü gibidir (69).



Şekil 2. Erdosteının açık formülü (69)

Erdosteın Metabolit I, II, III olmak üzere üç aktif metaboliti vardır. Metabolit I N-tiyoglikol homosistein, metabolit II N-asetil homosistein, metabolit III homosisteindir. Aktif metabolitlerin üçü de mukolitik ve serbest radikal temizleyici aktive göstermektedir. Bronşiyal mukus salgısını seyreltici ve ekspektoran özelliği yanında hem serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek, hem de elastaz enziminin aktivitesini inhibe ederek etki gösterir (66,69,76). Plazma proteinlerine %64,5 oranında bağlanır. Eliminasyon yarılanma ömrü 1.4 saattir. Erdosteın oral alım sonrası çabuk absorbe olur ve absorpsiyonu gıdalardan etkilenmez. Barsaklardan emilerek portal dolaşıma geçer. Karaciğerde aktif metabolitlere dönüşür (66,76).

Erdostein, kullanımı yaygındır ve kliniklerde mukolitik ve ekspektoran olarak oral kullanılır, molekül yapısında iki bloke tiyol grubu içerir (77). Bu ajan genellikle kronik bronşitin semptomatik tedavisinde kullanılır (78). Erdostein kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve solunum yolu mukopürülan hastalığı olan hastaların tedavisinde mukolitik bir ajan olarak kullanılır (10,79). Bu ajan ancak karaciğer metabolizması ile serbestleştirilebilen iki adet bağlı sülfidril (tiyol = -SH) grubu içerir (80). Bu tiyol grupları sayesinde çok yönlü etki mekanizması vardır (50). Erdostein antibakteriyel, antioksidan ve en önemlisi antiinflamatuvar etkileri olan birçok mekanizmalı maddedir (81,82).

Erdostein solunum sisteminde bakterinin mukozaya kolonize olmasında en önemli aşama olan adezyonu önler ve kullanılan antibiyotiğin balgamdaki konsantrasyonunda artış sağlayarak antibiyotikler ile sinerjik etki gösterir. Erdostein antiadeziv etkisini bakteri fimbriasındaki disülfid bağlarını kırarak bakterinin hücre reseptörlerine bağlanmasını sağlayan kimyasal yapıyı bozma suretiyle gösterir. Bu etkisi kanıtlanmış tek mukolitik ajandır (66). Erdosteinin serbest radikalleri temizleyici ve antioksidan mekanizmasında redüksiyon potansiyelinden dolayı iki sülfhidril grubu rol oynar (76,80). Erdosteinin etkileri olabilir ancak, mukus viskozite modülasyonunu çok daha fazla uzatabilir, trakeabronşiyal klirensi artırır; bloke sülfidril grup, sonra hepatik metabolizasyonu, antioksidan aktive de ve serbest radikal süpürücü olarak kullanılır (79). İn vivo ve in vitro çalışmalar Erdosteinin ROS-süpürücü özelliğini göstermiştir (78,81).

Erdostein esas olarak akciğerlerde mukolitik etkiyle antitusif fonksiyon gösterir ve siliyer fonksiyonları artırır. Bununla birlikte Erdosteinin inflamasyon sürecinde yer alan bazı mediatörleri ve proinflamatuvar sitokinleri inhibe ettiği öne sürülmüştür. Erdostein epitelyum hücrelerinden kemokinlerin salınımını inhibe ederek antiinflamatuvar etki göstermektedir (76).

Çeşitli farmakolojik veya zararlı ajanlarla oksidatif stres ürünleri aracılığıyla indüklenen akut yaralanmada Erdosteinin koruyucu etkisini birçok deneysel çalışma desteklemektedir. Erdostein dokuda superoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim aktivitelerini artırır. Sadece toksik ajan ile karşılaşıldığında dokuda üretilen nitrik oksit ve ksantin oksidaz gibi serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin azaltmaktadır. Kısacası Erdostein hızlandırılmış SOR birikimini önler ve hücrel koruyucu antioksidan mekanizmayı artırır. Sonuç olarak dokular üzerindeki koruyucu etkisini lipid peroksidasyonunu, nötrofil infiltrasyonunu veya zararlı maddeler ile hücrel apoptozisi azaltarak yapmaktadır (76).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvar'ında yetiştirilen 145-185 gram ağırlığında erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı. Laboratuvar koşulları standart (22 ± 1 °C ve 12 saat aydınlık /karanlık siklusunda) tutuldu. Sıçanlara standart sıçan yemi ve musluk suyu verildi. Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Ek-1) çalışma için onay alındı.

Çalışmamızda her grupta 7'şer adet olmak üzere toplam 28 adet sıçan 4 gruba ayrıldı. 1. ve 2. grup sıçanlar serum fizyolojik (FS), 3. ve 4. gruplar gliserol intramüsküler (im) enjeksiyonundan 24 saat önce serbest diyetle susuz bırakıldı. İlk enjeksiyondan sonra serbest diyet ve su alımı sağlandı. 1. ve 2. grup sıçanlara FS, 3. ve 4. gruplardaki sıçanlara %50'lik gliserol solüsyonundan 8 ml/kg'a göre bulunan toplam hacim her iki arka bacak kaslarına eşit miktarda enjekte edildi.

1. Grup (kontrol) sıçanlara FS'nin im enjeksiyonundan 1 saat sonra FS gavaj ile verildi.

2. Grup (kontrol + Erdosteın) sıçanlara FS'in im enjeksiyonundan 1 saat sonra 10 mg/kg dozunda Erdosteın gavaj ile verildi.

3. Grup (ABY) sıçanlara gliserol im enjeksiyonundan 1 saat sonra FS gavaj ile verildi.

4. Grup (ABY+ Erdosteın) sıçanlara gliserol im enjeksiyonundan 1 saat sonra 10 mg/kg dozunda Erdosteın gavaj ile verildi.

1. ve 2. gruplara im FS enjeksiyonundan sonra, 3 ve 4 gruplardaki sıçanlara ise im gliserol verildikten sonra sıçanlar metabolik kafeslere alınarak 24 saatlik idrarları toplandı. Gliserol enjeksiyonundan 24 saat sonra sıçanlar 10 mg/kg rompun ve 50 mg/kg ketamin anestezisi altında kanları ve her iki böbreği alınarak, sakrifiye edildi. Böbrekler buz kabı üzerinde kapsülü sıyrıldıktan sonra bistüri yardımıyla longitudinal kesiyle ikiye ayrıldı. Sağ böbreğin bir yarısı histopatolojik incelemeler için % 10'luk formalin solüsyonuna alındı, diğer yarısı ve sol böbreğin her iki yarısı soğuk fizyolojik serumla yıkandıktan sonra alüminyum folyo ile paketlenildi ve laboratuvar çalışmaları yapılincaya kadar -80 °C'de koruma altına alındı. Metabolik kafeslerde toplanan idrar hacimleri ölçüldükten sonra kan ve idrar örnekleri soğutmalı santrifüjde +4 derecede, 3000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilerek serum ve idrar örnekleri ependorf tüplere alınarak laboratuvar çalışmaları yapılincaya -80 °C'de muhafaza edildi.

Kullanılan Cihazlar

Spektrofotometre	: Spectronic Unicam Helios α , İngiltere
Hassas terazi	: Mettler Toledo, AB204-S, İsviçre
Soğutmalı santrifüj	: MPW 350R, Polonya
Su banyosu	: Nickel Clifton Elektro LTD, İngiltere
Otomatik pipetler	: Biohit Proline, Finlandiya, Mettler Toledo, İsviçre
Vorteks	: Heidolp, Almanya
Derin dondurucu	: Thermo Elektron Corporation, USA
pH metre	: InoLab, Level 1, Almanya
Manyetik karıştırıcı	: Remi equipments, Hindistan
Homojenizatör	: Polytron Kinematica AG, İsviçre
Otoanalizör	: Kanelab Prime 60i, Finlandiya

Kullanılan Kimyasal Maddeler

Erdosteine	: Sandoz, Türkiye
Tiyobarbitürik asit	: Sigma, Almanya
Sülfanilamid	: Sigma, Almanya
DTNB	: Sigma, Almanya
NaCl	: Sigma, Almanya
NNDA	: Sigma, Almanya
CuSO ₄	: Panreac, İspanya

EDTA	: Merck, Almanya
Piridin	: Merck, Almanya
Sodyum dodesil sülfat	: Merck, Almanya
NaOH	: Merck, Almanya
KH ₂ PO ₄	: Merck, Almanya
Na ₂ HPO ₄	: Merck, Almanya
Glisin	: Merck, Almanya
KCl	: Merck, Almanya
HCl	: Merck, Almanya
Butanol	: Riedel de Haen, Almanya
Etanol	: Riedel de Haen, Almanya
Asetik asit	: Riedel de Haen, Almanya
Na ₂ CO ₃	: Riedel de Haen, Almanya

Biyokimyasal Çalışmalar

Serum üre, kreatinin, sodyum (Na⁺), potasyum (K⁺) düzeyleri ile Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat aminotransferaz (AST) ve Kreatin kinaz (CK) aktiviteleri; idrar kreatinin ve sodyum ölçümleri Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Laboratuvarı'nda bulunan otoanalizörde (Kanelab Prime 60i, Thermo Scientific, Finlandiya) yapıldı.

Histolojik Çalışmalar

Işık mikroskobu incelenmesi için % 10 formalinde fikse edilmiş ve sagittal olarak kesilen böbrekler parafin bloklara gömüldü. Bu işlemin ardından 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak, hematoksilin-eozin ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu altında değerlendirilmiştir. Böbrek hasarı (tübüler hücre nekrozu, stoplazmik vakuol formasyonu ve tübüler dilatasyon) derecesini belirlemek için semikantitatif bir skorlama kullanıldı. Bu skalada hasarın yayılımı ve tutulan böbrek alanı yüzdesi derecelendirildi. Skala değerleri 0-4 arası olarak belirlendi (83,84).

- 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)

Ayrıca kast izlenen tübüller % olarak belirtildi. Sayım yapılırken toplayıcı kanalların olmadığı, sadece proksimal ve distal tübüllerin bulunduğu alanlarda sayım yapılmasına özen gösterilmiştir.

Böbrek Dokusu Homojenizasyonu

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

Malondialdehit Miktar Tayini

Lipit peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renk spektrofotometrik olarak ölçüldü (85,86).

Çözeltiler:

1. %8.1'lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)
2. %20'lik Asetik asit (NaOH ile pH 3.5'e ayarlandı)
3. %0.8'lik tiyobarbitürik asit (TBA)

Deneyin yapılışı: 0.2 ml 10 kat dilüe edilmiş doku homojenatı; 0.2 ml %8.1'lik SDS, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik TBA ve 0.6 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'deki sıcak su banyosunda 1 saat tutuldu. Musluk suyu ile soğutulduktan sonra 4000 rpm 'de 10 dk santrifüj edildi. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 650 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Sonuçların hesaplanması:

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

A : Absorbans

V_t : Total reaksiyon hacmi

10⁹ : Molün nanomole çevrilmesi

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

V_s : Total reaksiyon içindeki numune hacmi

L : Küvet çapı

10³ : Litrenin mililitreye çevrilmesi

Sonuçlar MDA nmol/g yaş doku olarak ifade edildi.

Glutasyon Düzeyinin Ölçümü

Doku homojenatlarındaki serbest sülfidril gruplarının Ellman ayırıcı ile oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak saptanması, glutasyon içeriğinin belirtilmesi için kullanıldı (87).

Çözeltiler:

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

Deneyin yapılışı: 0.5 ml doku homojenatı üzerine 1.5 ml 0.15 M KCl ve 3 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi. Bu karışım 3000xg'de 20 dk santrifüj edildikten sonra 0.5 ml süpernatant alınarak üzerine 2 ml, 0.3 M Na₂HPO₄ ve 0.5 ml Ellman ayırıcı eklendi. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 412 nm'de okundu. GSH düzeyleri ekstinksiyon katsayısı ($\Sigma=1.36 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar $\mu\text{mol GSH/g}$ doku olarak belirtildi.

Nitrat ve Nitrit Tayini

Nitrat ve nitrit tayini Cortas ve Wakid'in tarif ettiği yönteme göre ölçüldü (88).

Kullanılan reaktifler:

1. Kadmiyum granülleri: 0.1 mol/L H₂SO₄ içinde saklandığı sürece 9 ay stabildir.

2. Glisin-NaOH buffer: 7.5 g glisin bir miktar distile suda çözüldü. 2 mol/L NaOH çözeltisi ile pH'sı 9.7'ye ayarlandı. Bu çözelti 1 ay 0-8 °C'de stabildir.

3. Sülfanilamid: 2.5 g sülfanilamid 250 ml sıcak 3 mol/L HCl içinde çözüldü ve daha sonra soğumaya bırakıldı. 1 yıl oda sıcaklığında stabil kalabilir.

4. N-Naphthylethylene diamine (NNDA): 50 mg NNDA 250 ml distile su içinde çözüldü. 2 ay 0-8 °C de stabildir.

5. Çinko Sülfat (ZnSO₄): 75 mmol/L; 10.8 mg alınıp 500 ml'ye tamamlandı.

6. Bakır Sülfat (CuSO₄): 5 mmol/L; 250 mg alınıp 200 ml'ye tamamlandı.

7. Sodyum Hidroksit (NaOH): 55 mmol/L; 1.1 g alınıp 500 ml'ye tamamlandı.

8. Standartlar: NaNO₂ standardı 10 mmol/L'lik sodyum tetra borat çözeltisi içinde hazırlanır. (69 mg NaNO₂, 380 mg borat (Na₂B₄O₇.10 H₂O) 100 ml içinde çözülür).

KNO₃ standardı; 102 mg potasyum nitrat alınıp 10 mmol'lik 100 ml sodyum tetra borat içinde çözülür.

Deneyin yapılışı:

Deproteinizasyon: Test tüpüne 0.5 ml numune 0,5 ml distile su, 2 ml ZnSO₄, 2.5 ml NaOH ilave edilip vorteksle karıştırılır. 10 dk oda ısısında beklettikten sonra 4000 xg'de 10 dk santrifüj edildi.

Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu: Granüller 3 defa distile su ile yıkanır. 1-2 dk içinde CuSO₄'de çalkalanarak bekletilip, 3 defa da glisin-NaOH ile yıkanıp 10 dk içinde kullanılmak üzere kurutma kağıdı ile kurutuldu.

KNO₃ standardından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlanır ve numunelere uygulanan tüm işlemler standartlara da uygulanır. 1ml glisin-NaOH buffer tüm tüplere konulur. 1'er ml deproteinize numunelerden ve standartlardan alınır. 2.5 g tartılan ve aktivasyon işleminden geçirilen kadmiyumlardan tüm tüplerin üzerine konulur. 90 dk oda ısısında karıştırarak beklenir.

Nitrit Ölçümü

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

Nitrat Ölçümü

Bulunan nitrat değerlerinden nitrit değerleri çıkarıldıktan sonra sulandırma faktörü olan 20 ile çarpılıp yine nitrat standardından elde edilen faktör ile çarptıktan sonra çıkan sonuç $\mu\text{mol/mg}$ protein olarak hesaplanmış olur.

İstatistiksel Analiz

Bulguların istatistiksel analizleri ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Tek Örneklem Kolmogorov-Smirov test ile incelendi. Normal dağılım göstermeyenler için Kruskal Wallis test kullanıldı, gruplar arasında fark bulunduğu bu farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığını tespit etmek için Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel bakımdan anlamlı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizlerde Statica 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Sıçanlarda hipertonic gliserolün im uygulanmasıyla oluşturulan deneysel miyoglobinin ABY modeli 1., 2., 3. ve 4. grupta 7 adet sıçan olmak üzere 4 grupta toplam 28 adet sıçan üzerinde çalışıldı. Gliserol enjeksiyonunun 24. saatinde anestezi altında sıçanların kan ve doku örnekleri alındı. 3. ve 4. Gruptaki bazı sıçanlardan idrar alınmadığı için; 3. ve 4. grupta 4'er adet sıçanın idrar kreatinin ve idrar sodyum sonuçları elde edildi.

Tüm gruplardaki sıçanlara ait doku MDA düzeyi nmol/g doku, GSH düzeyleri $\mu\text{mol/g}$ doku, NO düzeyi $\mu\text{mol/mg}$ protein, serum aspartat aminotransferaz (AST) düzeyi U/L, serum alanin aminotransferaz (ALT) düzeyi U/L, kreatin kinaz (CK) düzeyi U/L, NO (S_{NO}) düzeyi $\mu\text{mol/L}$, üre ($S_{\text{üre}}$) düzeyi mg/dl, kreatinin (S_{krea}) düzeyi mg/dl, sodyum (S_{Na}) düzeyi mmol/L, potasyum (S_{K}) düzeyi mmol/L, idrar kreatinin (\dot{I}_{krea}) düzeyi mg/dl, idrar sodyum (\dot{I}_{Na}) düzeyi mmol/L, kreatinin klirensi standart klirens formülüne göre hesaplanıp kg/vücut ağırlığına bölündü. Fraksiyone sodyum itrahi (FeNa) % olarak hesaplandı. Fraksiyone sodyum itrahi = idrar sodyumu/serum sodyumu x serum kreatinin / idrar kreatinin x 100 formülü kullanılarak hesaplandı. Gruplara ait verilere tablolarda yer verilmiştir (Tablo 1-5).

Tablo 1. Grup 1 (kontrol)'in biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	ALT	CK	Süre	S _{krea}	S _{Na}	S _K	S _{NO}	İ _{krea}	İ _{Na}
1	0.21	2.09	135.47	154	63	599	44.9	0.39	144	4.4	14.5	50.44	71
2	0.11	2.24	19.97	152	74	600	42.8	0.34	140	4.5	20.08	48.11	50
3	0.17	3.02	71.3	148	69	477	40.7	0.34	142	5.1	17.25	60.22	89
4	0.09	2.03	98.16	146	65	888	49.2	0.38	137	6	13.25	56.11	82
5	0.19	2.41	32.01	156	43	1118	66.3	0.44	134	5.2	27.17	119.6	200
6	0.09	2.33	9.08	146	66	665	42.8	0.34	138	4.9	6.25	53.33	83
7	0.14	1.81	112.86	163	61	1117	55.6	0.42	137	6.2	15.83	64.92	89

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutasyon; NO: Böbrek Nitrik Oksit; AST: Aspartat aminotransferaz; ALT: Alanin aminotransferaz; CK: Kreatin kinaz; Süre: Serum üre; S_{krea}: Serum kreatinin; S_{Na}: Serum sodyum; S_K: Serum potasyum; S_{NO}: Serum NO; İ_{krea}: İdrar kreatinin; İ_{Na}: İdrar sodyum.

Tablo 2. Grup 2 (kontrol+erdostein)'nin biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	ALT	CK	Süre	S _{krea}	S _{Na}	S _K	S _{NO}	İ _{krea}	İ _{Na}
1	0.13	2.42	33.6	181	54	716	34.21	0.29	138	4.3	6.67	48.28	58
2	0.1	2.19	19.47	151	35	1028	32.1	0.27	140	4.5	10.75	41.26	140
3	0.11	1.83	17.53	189	50	801	25.7	0.32	135	4.6	9.75	56.25	66
4	0.13	1.94	28.33	194	48	900	38.5	0.31	139	5.1	11.33	59.1	97
5	0.15	2.14	23.72	183	58	731	51.4	0.4	137	5.5	18.75	51.81	89
6	0.12	2.1	40.08	160	39	569	32.1	0.31	140	4.3	14.92	56.81	60
7	0.12	1.89	13.65	145	44	612	38.5	0.3	140	5	11.08	51.2	90

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek Nitrik Oksit; AST: Aspartat aminotransferaz; ALT: Alanin aminotransferaz; CK: Kreatin kinaz; Süre: Serum üre; S_{krea}: Serum kreatinin; S_{Na}: Serum sodyum; S_K: Serum potasyum; S_{NO}: Serum NO; İ_{krea}: İdrar kreatinin; İ_{Na}: İdrar sodyum.

Tablo 3. Grup 3 (ABY)'ün biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	ALT	CK	Süre	S_{krea}	S_{Na}	S_K	S_{NO}	İ_{krea}	İ_{Na}
1	0.45	2.02	178.22	5559	472	16031	571.4	4.04	130	7.8	16.42		
2	0.5	1.95	119.38	2988	317	43655	560.7	3.23	133	7.2	12.58		
3	0.64	2.26	115.75	3330	276	26735	567.1	2.95	130	8.3	17.67	22.57	83
4	0.44	2.01	109.75	5161	463	16979	592.8	3.26	129	8.5	29.08	15.51	64
5	0.44	2.15	49.84	905	114	1310	490.1	2.43	137	6.1	16.17	19.28	51
6	0.52	2.36	39.08	3666	268	21989	556.4	3.29	136	7.9	19.83		
7	0.43	2.06	37.46	2084	200	2230	573.5	4.11	136	7.9	8.67	22.82	95

SN: Sıra numarası; **MDA:** Malondialdehit; **GSH:** Glutatyon; **NO:** Böbrek Nitrik Oksit; **AST:** Aspartat aminotransferaz; **ALT:** Alanin aminotransferaz; **CK:** Kreatin kinaz; **Süre:** Serum üre; **S_{krea}:** Serum kreatinin; **S_{Na}:** Serum sodyum; **S_K:** Serum potasyum; **S_{NO}:** Serum NO; **İ_{krea}:** İdrar kreatinin; **İ_{Na}:** İdrar sodyum.

Tablo 4. Grup 4 (ABY+erdostein)'ün biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	ALT	CK	Süre	S _{krea}	S _{Na}	S _K	S _{NO}	İ _{krea}	İ _{Na}
1	0.78	2.41	2.5	5836	559	20158	714.8	4.75	138	7.2	14.67		
2	0.45	1.98	6.6	2463	342	7668	599.2	4.45	137	5.9	8.25		
3	0.61	2.2	6.54	3623	287	15343	560.7	3.85	129	7.6	17.17		
4	0.35	1.83	25.23	1406	178	2165	556.4	3.34	137	6.8	18.25	22.94	65
5	0.35	2.11		1395	138	1306	455.8	1.9	137	6.6	17	16.85	52
6	0.31	3.59	61.46	915	140	743	449.4	1.98	138	5.4	24.42	27.52	51
7	0.23	2.35	84.97	693	105	453	143.4	0.72	140	4.8	14.75	26.25	32

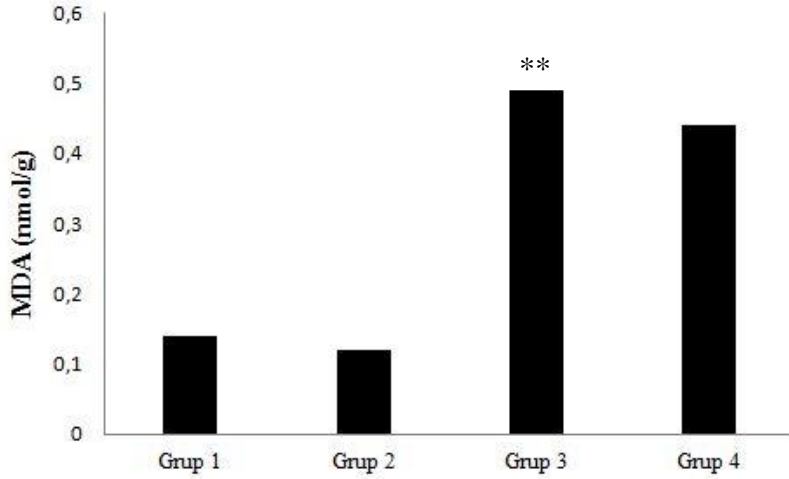
SN: Sıra numarası; **MDA:** Malondialdehit; **GSH:** Glutatyon; **NO:** Böbrek Nitrik Oksit; **AST:** Aspartat aminotransferaz; **ALT:** Alanin aminotransferaz; **CK:** Kreatin kinaz; **Süre:** Serum üre; **S_{krea}:** Serum kreatinin; **S_{Na}:** Serum sodyum; **S_K:** Serum potasyum; **S_{NO}:** Serum NO; **İ_{krea}:** İdrar kreatinin; **İ_{Na}:** İdrar sodyum.

Tablo 5. Çalışma gruplarının değişkenlere ait istatistiksel verileri

	1. GRUP	2. GRUP	3. GRUP	4. GRUP
Parametreler	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD
MDA nmol/g doku	0.14 ± 0.04	0.12 ± 0.01	0.49 ± 0.07	0.44 ± 0.19
GSH µmol/g doku	2.28 ± 0.39	2.07 ± 0.20	2.11 ± 0.14	2.36 ± 0.59
NO µmol/mg protein	68.40 ± 49.26	25.19 ± 9.39	92.79 ± 52.61	31.21 ± 34.29
AST U/L	152.14 ± 6.18	171.86 ± 19.53	3384.71 ± 1631.10	2333.00 ± 1843.52
ALT U/L	63.00 ± 9.79	46.86 ± 8.13	301.42 ± 130.79	249.86 ± 161.33
CK U/L	780.58 ± 261.30	765.29 ± 160.24	18418.42 ± 14613.54	6833.71 ± 7966.63
S_{üre} mg/dl	48.90 ± 9.18	36.08 ± 8.06	558.86 ± 32.48	497.10 ± 180.02
S_{krea} mg/dl	0.38 ± 0.04	0.31 ± 0.04	3.33 ± 0.59	2.99 ± 1.49
S_{Na} mmol/L	138.86 ± 3.39	138.42 ± 1.90	133.00 ± 3.37	136.58 ± 3.50
S_K mmol/L	5.19 ± 0.69	4.76 ± 0.46	7.68 ± 0.80	6.32 ± 1.00
S_{NO} µmol/L	16.33 ± 6.41	11.89 ± 3.88	17.20 ± 6.38	16.36 ± 4.84
İ_{krea} mg/dl	64.68 ± 24.89	52.10 ± 6.07	20.04 ± 3.42	23.39 ± 4.77
İ_{Na} mmol/L	94.86 ± 48.32	85.71 ± 28.63	73.25 ± 19.57	50.00 ± 13.59
Kreatin klirensi ml/dk/100gxvücut	0.66 ± 0.16	0.83 ± 0.08	0.009 ± 0.16	0.09 ± 0.12
FeNa %	0.39 ± 0.08	0.39 ± 0.15	9.01 ± 3.36	3.62 ± 2.65

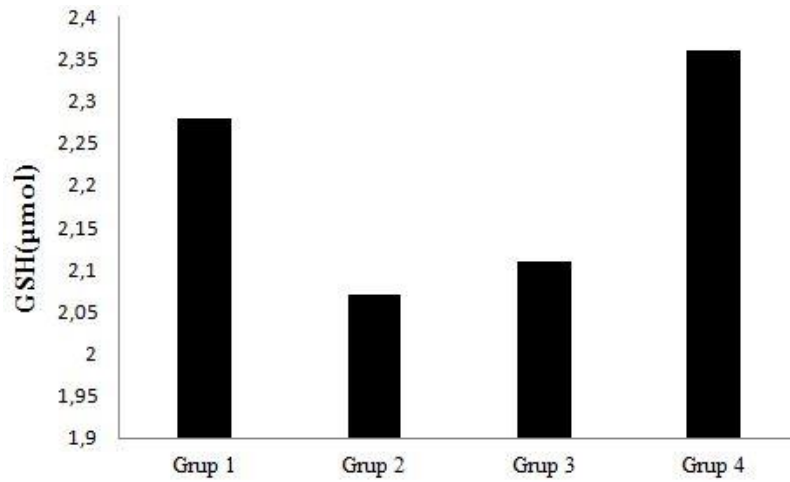
MDA: Malondialdehit; **GSH:** Glutatyon; **NO:** Böbrek nitrik oksit; **AST:** Aspartat aminotranferaz; **ALT:** Alanin aminotranferaz; **CK:** Kreatin kinaz; **S_{üre}:** Serum üre; **S_{krea}:** Serum kreatinin; **S_{Na}:** Serum sodyum; **S_K:** Serum potasyum; **S_{NO}:** Serum NO; **İ_{krea}:** İdrar kreatinin; **İ_{Na}:** İdrar sodyum; **FeNa:** Fraksiyone sodyum itrahi; **1.Grup** (kontrol), **2. Grup** (kontrol + erdostein), **3. Grup** (ABY), **4. Grup** (ABY+erdostein).

Gruplar arası MDA düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p> 0.05$). Ortalama MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 3’de gösterildi.



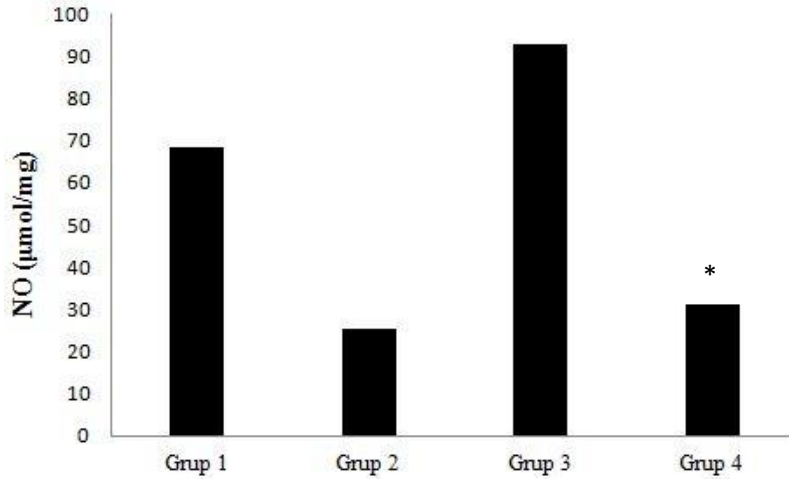
Şekil 3. Ortalama Böbrek MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1. Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY) ** $p<0.01$

Gruplar arası GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p> 0.05$). Ortalama GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 4’te gösterildi.



Şekil 4. Ortalama Böbrek GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

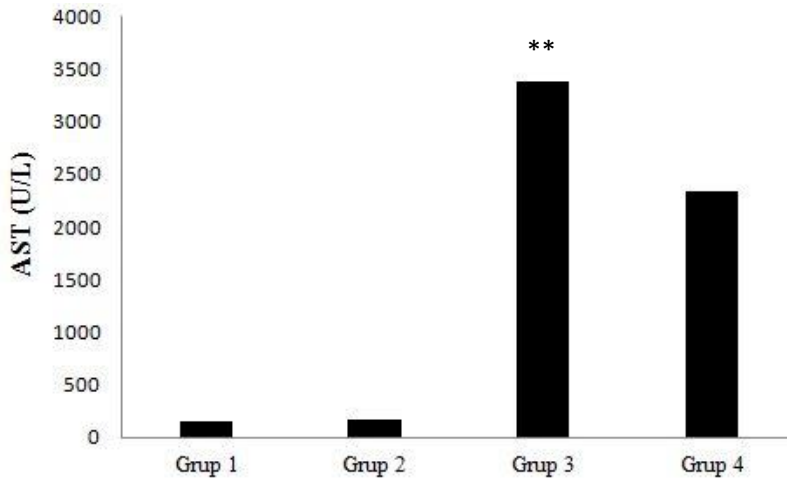
Gruplar arası böbrek NO 3. ile 4. grup arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. 1. ile 3. ve 1. ile 2. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 5'te gösterildi.



Şekil 5. Ortalama Böbrek NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: 3. Grup (ABY) ile 4. Grup (ABY+Erdostein) * $p < 0.05$

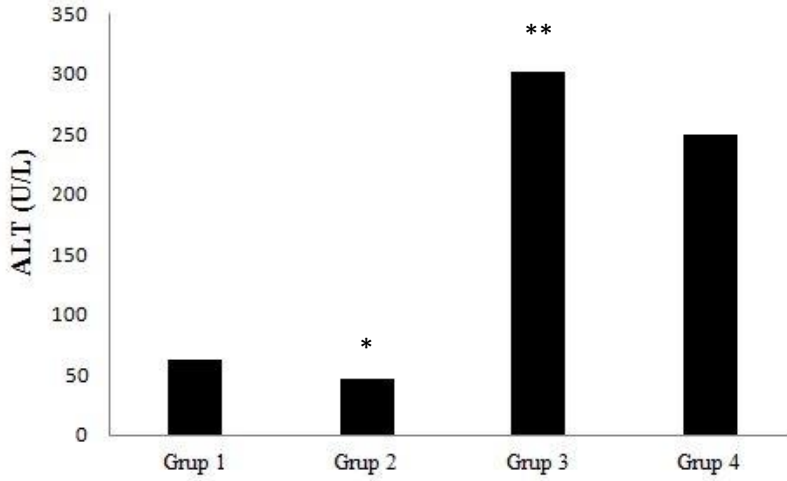
Gruplar arası AST düzeyinde 1. ile 3. gruplar arasında $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir artış gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 6'da gösterildi.



Şekil 6. Ortalama Serum AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: 1. Grup (Kontrol) ile 3. Grup (ABY) ** $p < 0.01$

Gruplar arası ALT düzeyinde 1. ile 2. grup arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma ve 1. ile 3. grup arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama ALT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 7’de gösterildi.

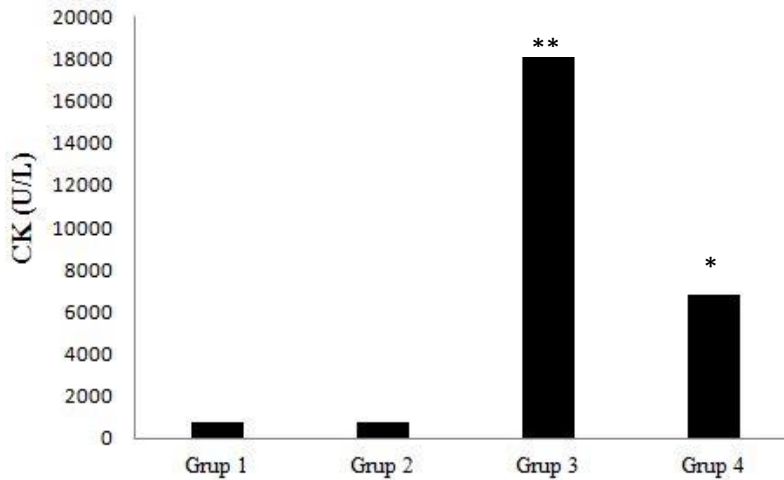


Şekil 7. Ortalama Serum ALT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: 1. Grup (Kontrol) ile 2. Grup (Kontrol+Erdosteine) * $p < 0.05$

1. Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY) ** $p < 0.01$

Gruplar arası CK düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 3. ile 4. grup arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. 1. ile 2. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama CK düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 8’de gösterildi.

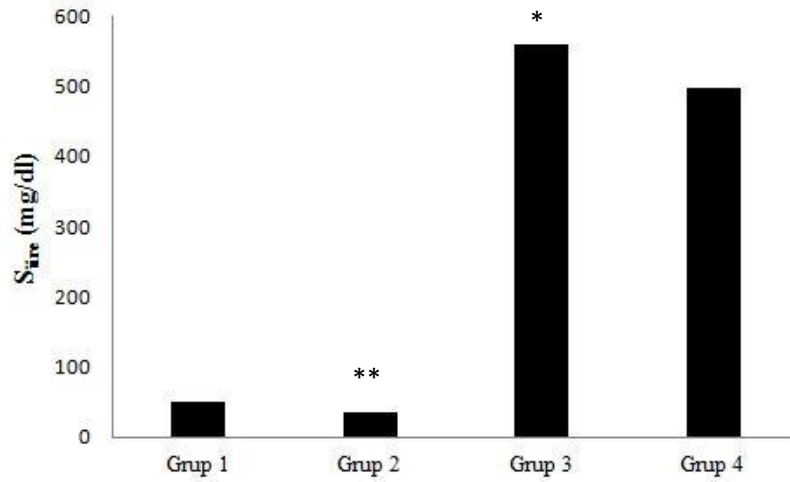


Şekil 8. Ortalama Serum CK düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: 1. Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY) ** $p < 0.01$

3. Grup (ABY) ile 4. Grup (ABY+Erdosteine) * $p < 0.05$

Gruplar arası serum üre düzeyinde 1. ile 2. grup arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma ve 1. ile 3. grup arasında $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 3. ile 4. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama serum üre düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 9’da gösterildi.

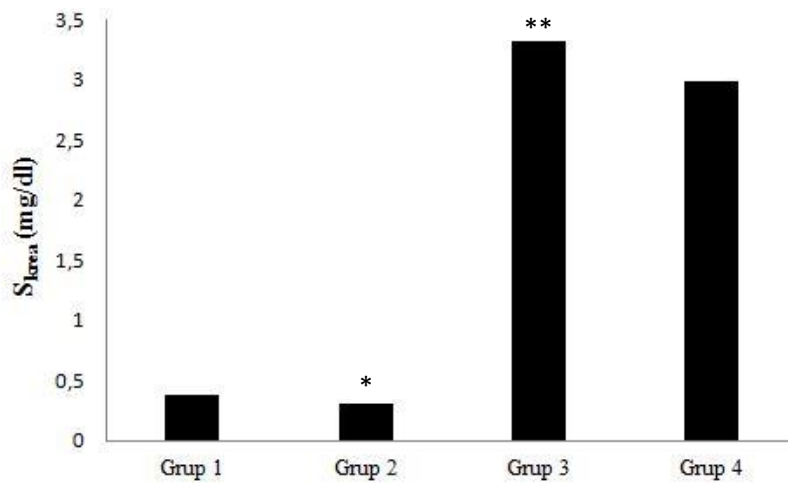


Şekil 9. Ortalama Serum Üre düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: 1. Grup (Kontrol) ile 2. Grup (Kontrol+Erdostein) ** $p < 0.05$

1. Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY) * $p < 0.01$

Gruplar arası serum kreatinin düzeyinde 1. ile 2. grup arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma ve 1. ile 3. grup arasında $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 3. ile 4. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 10’da gösterildi.

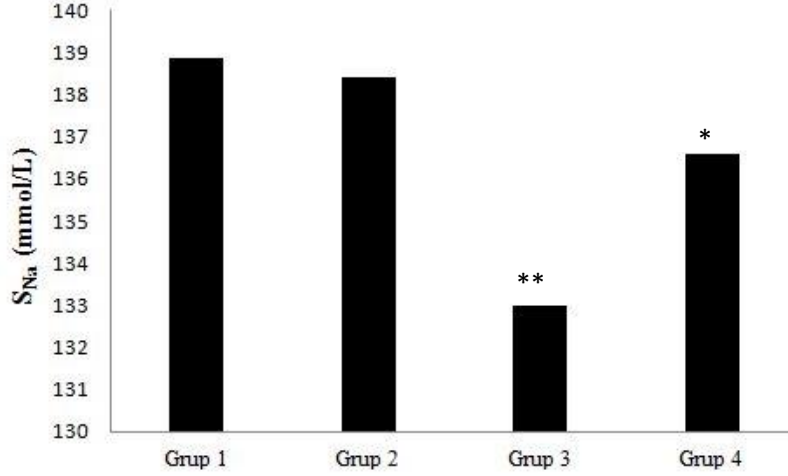


Şekil 10. Ortalama Serum Kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: 1. Grup (Kontrol) ile 2. Grup (Kontrol+Erdostein) * $p < 0.05$

1. Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY) ** $p < 0.01$

Gruplar arası serum sodyum düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma ve 3. ile 4. grup arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama serum sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 11’de gösterildi.

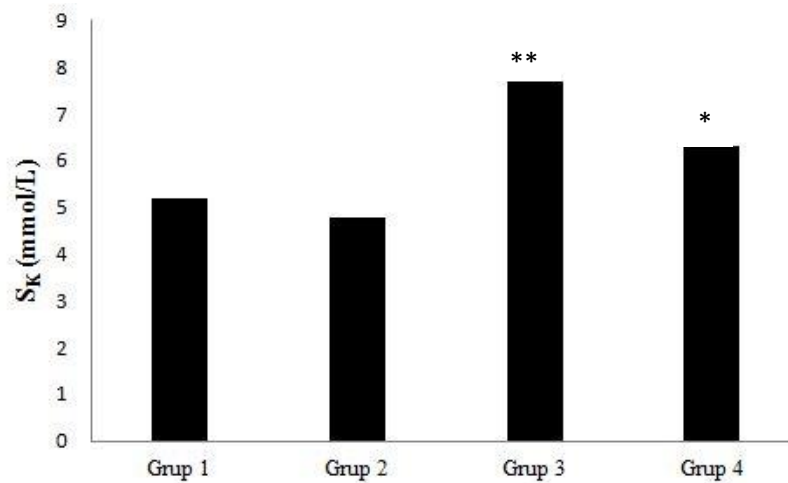


Şekil 11. Ortalama Serum Sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: 1. Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY) ** $p < 0.01$

3. Grup (ABY) ile 4. Grup (ABY+Erdostein) * $p < 0.05$

Gruplar arası serum potasyum düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma ve 3. ile 4. grup arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. 1. ile 2. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama serum potasyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 12’de gösterildi.

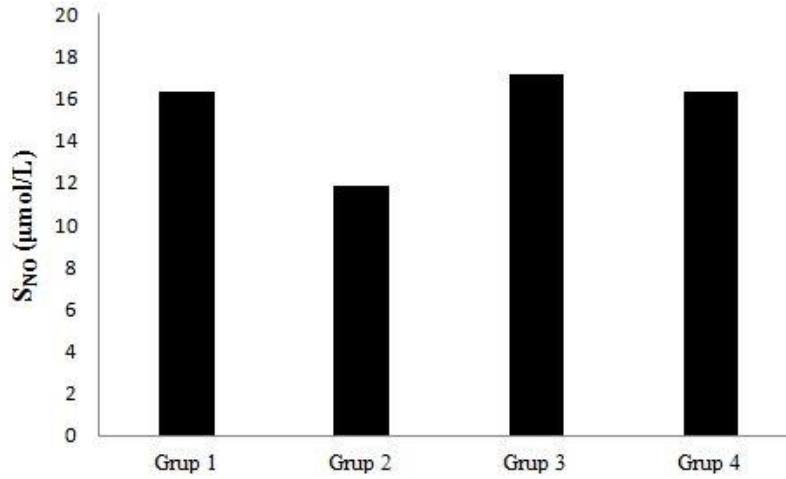


Şekil 12. Ortalama Serum Potasyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: 1. Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY) ** $p < 0.01$

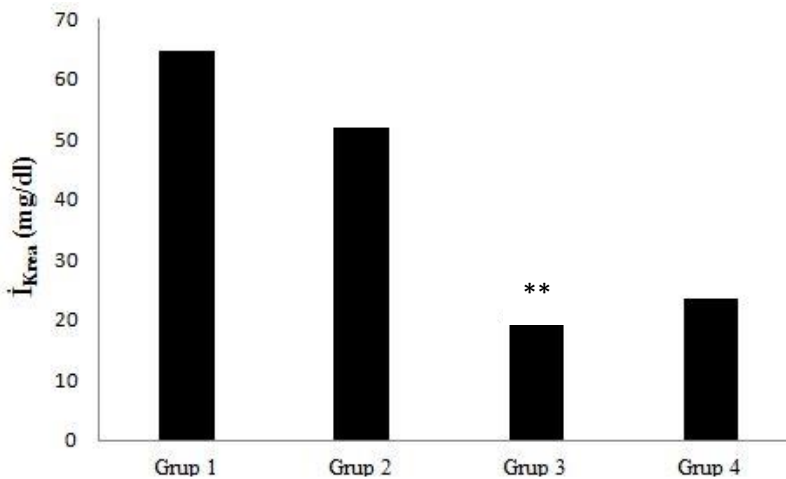
3. Grup (ABY) ile 4. Grup (ABY+Erdostein) * $p < 0.05$

Gruplar arası serum NO düzeyinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama serum NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 13’de gösterildi.



Şekil 13. Ortalama Serum NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

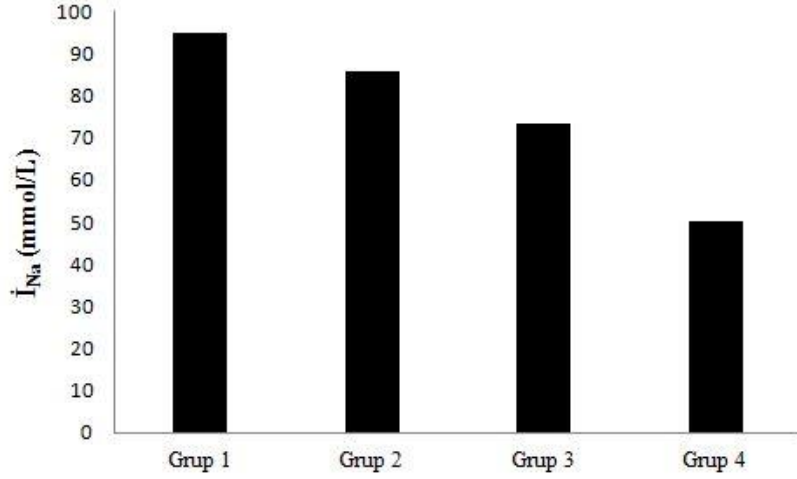
Gruplar arası idrar kreatinin düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 14’de gösterildi.



Şekil 14. Ortalama İdrar Kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

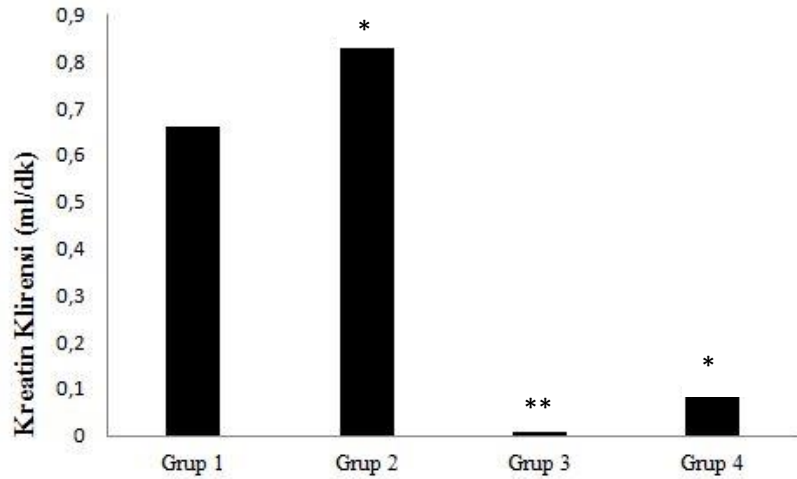
Karşılaştırmalar: 1. Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY) ** $p < 0.01$

Gruplar arası idrar Na düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama idrar Na düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması şekil 15’te gösterildi.



Şekil 15. Ortalama İdrar Sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası kreatin klirensi düzeyinde 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 3. grup arasında istatistiksel olarak $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Ortalama kreatin klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 16’ da gösterildi.



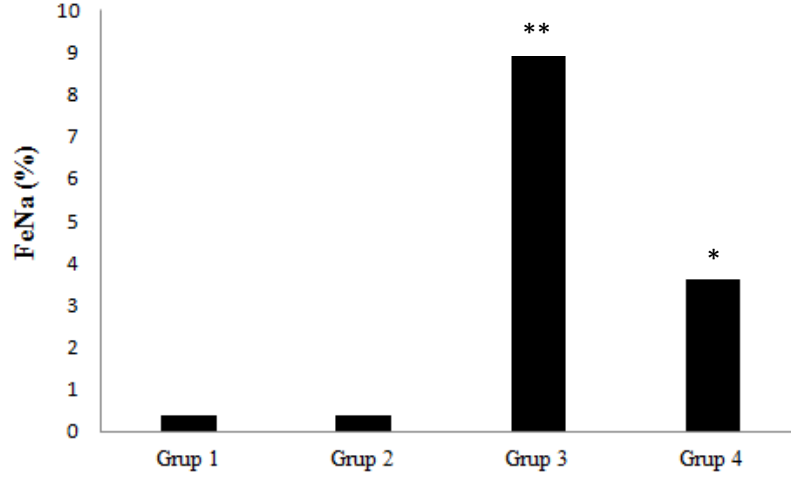
Şekil 16. Ortalama Kreatin Klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: 1. Grup (Kontrol) ile 2. Grup (Kontrol+Erdosteine) * $p < 0.05$

1. grup ile 3. Grup (ABY) ** $p < 0.01$

3. Grup (ABY) ile 4. Grup (ABY+Erdosteine) * $p < 0.05$

Gruplar arası FeNa % düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 3. ile 4. grup arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. 1. ile 2. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi ($p > 0.05$). Ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 17’de gösterildi.



Şekil 17. Ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: 1. grup ile 3. Grup (ABY) $**p < 0.01$

3. Grup (ABY) ile 4. Grup (ABY+Erdosteine) $*p < 0.05$

Histopatolojik Sonuçlar

Çalışmamızda böbrek dokularının histopatolojik incelenmesinde; 100 alanda, 0-4 skalası kullanılarak böbrek hasarı derecesi ve ayrıca % kast değerleri her bir sıçan için hesaplandı. Hesaplanan bu değerler Tablo 6 ve 7’de gösterildi.

1.grubtaki sıçanların hematoksilen-eosin (HE) boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; mikroskobik kesitlerde tübül ve glomerüllerin normal görünümde izlendi, herhangi bir nekroz veya kast oluşumu gözlenmedi (şekil 18).

2. grubtaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; 1.gruba benzer özelliklerde olduğu, bunların glomerüler ve tübüller yapılarının normal görünümde olduğu izlendi. Glomerüllerde bir değişiklik göze çarpmadı. Tübüllerde herhangi bir nekroz veya kast oluşumu gözlenmedi (şekil 19).

3. grubtaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde tübül epitelinde nekroza rastlandı. Proksimal, distal ve kollektör tübül lümeninde subkortikal alandan başlayan ve renal pelvise kadar uzanan kast şeklinde dens proteinöz madde birikimi izlendi. Tübüllerde belirgin dilatasyon vardı. Distal tübül hücrelerinde hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekti. Glomerüllerde belirgin konjesyon dışında bir değişiklik görülmedi. Peritübüler stromada dem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübüler epitel hücrelerde nükleer irileşme ve nükleus belirginleşme gibi dejenerasyon bulguları izlendi (şekil 20).

4. grubtaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; 3.gruba benzer şekilde tübüllerde belirgin dilatasyon, tübül epitel hücrelerinde hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon görüldü. Glomerüllerde değişiklik yoktu. Peritübüler stromada dem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübül epitelinde rejeneratif değişiklikler izlendi. Ayrıca sıçan böbreklerde tübül lümenlerinde kast birikimi ve nekroz bulgularda anlamlı azalma görüldü (şekil 21).

Tablo 6. Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçlar

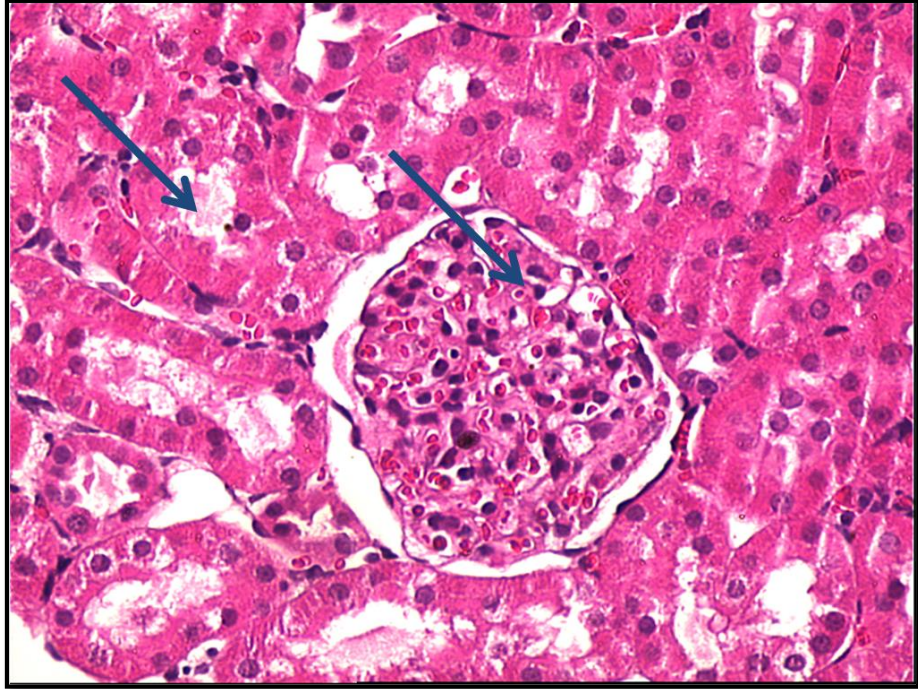
SN	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup
1	0	0	4	2
2	0	1	3	2
3	1	0	4	2
4	0	0	3	3
5	0	0	4	2
6	0	0	4	2
7	0	0	4	2
Ort ± SD	0,14 ± 0,38	0,14 ± 0,38	*3,71 ± 0,49	**2,14 ± 0,38

SN: Sıra numarası; 1.Grup (kontrol), 2. Grup (kontrol + erdostein), 3. Grup (ABY), 4. Grup (ABY+erdostein), *p < 0.01 düzeyinde 1.gruba göre anlamlı artma izlendi. **p < 0.01 düzeyinde 3.gruba göre anlamlı azalma izlendi.

Tablo 7. Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçlar

SN	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup
1	0	0	80	50
2	0	0	70	45
3	0	0	85	50
4	0	0	82	55
5	1	0	70	40
6	0	1	75	45
7	0	0	85	40
Ort ± SD	0,14 ± 0,38	0,14 ± 0,38	*78,14 ± 6,52	**46,43 ± 5,56

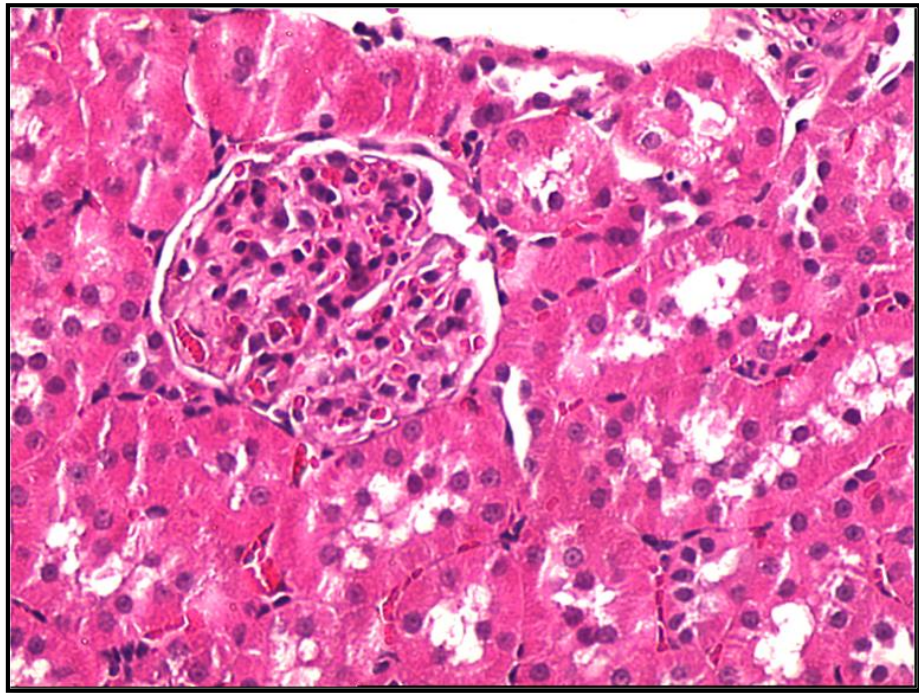
SN: Sıra numarası; 1.Grup (kontrol), 2. Grup (kontrol + erdostein), 3. Grup (ABY), 4. Grup (ABY+erdostein), *p < 0.01 düzeyinde 1.gruba göre anlamlı artma izlendi. **p < 0.01 düzeyinde 3.gruba göre anlamlı azalma izlendi.



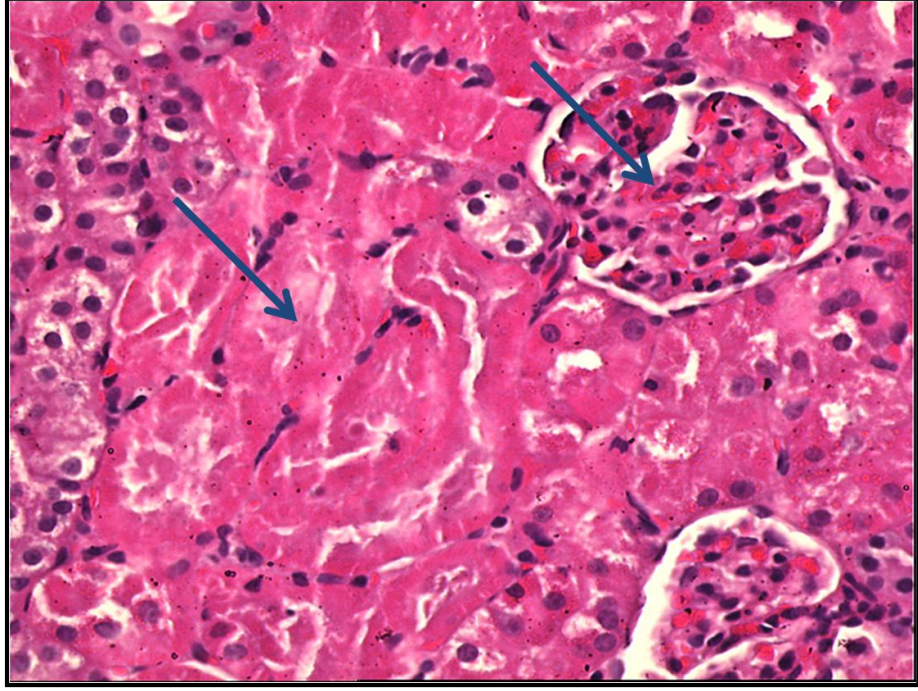
Şekil 18. 1.Grubun (kontrol) böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]

Sol yandaki ok: Proksimal tübül.

Ortadaki ok: Normal glomerül yapısı



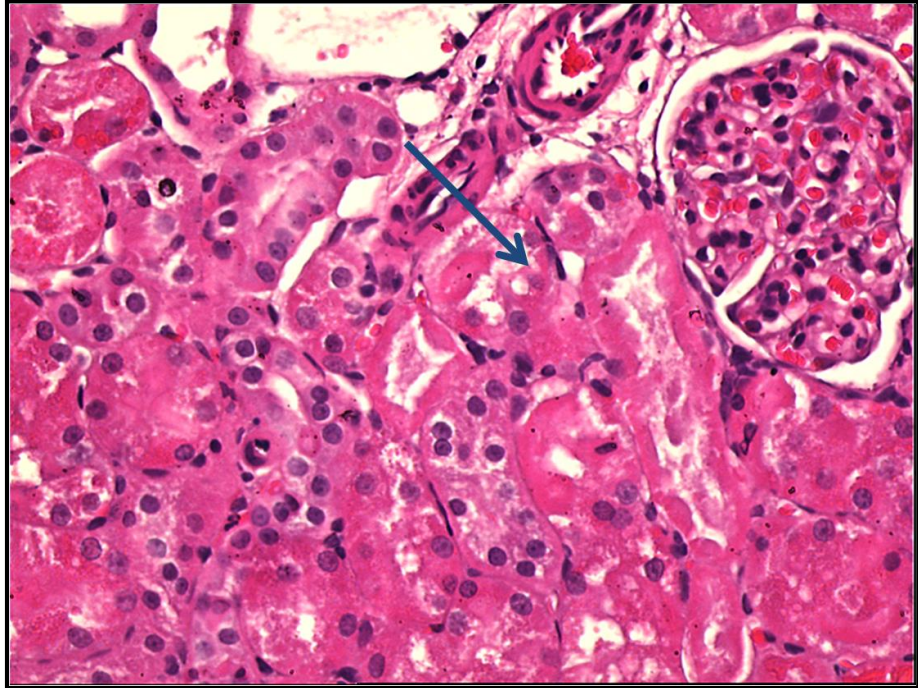
Şekil 19. 2. Grubun (kontrol + erdosteın) böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]



Şekil 20. 3. Grubun (ABY) böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]

Sağdaki ok: Glomerül yapısı.

Soldaki ok: Nekrotik tübül ve lümende kast varlığı.



Şekil 21. 4. Grubun (ABY + erdosteine) böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]

Ok: Hasarlı tübül yapısını göstermektedir. Tübüler hasar 3. Gruba göre daha lokal ve hafif izlendi.

TARTIŞMA

Kas hasarına bağlı olarak gelişen MABY, sıçanlara %50`lik gliserolün intramusküler verilmesiyle modelimiz oluşturuldu. Deneysel ABY oluşturulan grubumuzda serum üre, serum kreatinin düzeyleri ile AST, ALT, kreatinin kinaz aktivitelerinde ve serum potasyum düzeyinde anlamlı bir artma görüldü. Serum sodyum düzeyinde ise anlamlı bir azalma görüldü. Hematoksilen-eozin boyalı böbrek kesitleri incelendiğinde nekroz ve tübül lümenlerinde yoğun kast oluşumu izlendi. GFR`nın göstergesi olan kreatinin klirensi azaldı, tübüler fonksiyonun göstergesi olan fraksiyonel sodyum atılımı istatistiksel olarak anlamlı arttı. Oksidatif stresin bir belirteci olarak kabul edilen ve lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeyinde anlamlı bir artış görülürken, endojen güçlü bir antioksidan olan GSH düzeyinde anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. Böbrek dokusu NO`in metabolitleri olan total nitrit ve nitrat düzeyinde anlamlı bir farklılık saptanmadı. Birçok böbrek hasarı oluşturularak yapılan deneysel modellerde koruyucu etkileri olduğu bildirilen erdosteinin; kas içi %50`lik gliserolden bir saat sonra 10 mg/kg dozunda verildiği çalışmamızın MABY grubunda kas hasarına bağlı olarak yükselmiş olan kreatin kinaz aktivitelerinde anlamlı bir azalma görüldü. Serum sodyum düzeyinde artış görülürken fraksiyonel sodyum atılımında anlamlı bir azalma olduğu saptandı. Kas hasarı sonucu artan serum potasyum seviyesi anlamlı olarak azaldı. GFR`nın belirteci olan kreatin klirensinde de artma görüldü. Histopatolojik nekroz ve kast bulgularında anlamlı bir azalma gözlemlendi.

Rabdomiyoliz iskelet kasının parçalanması sonucu miyogloblin ve kreatin kinaz gibi kas hücre içi elemanlarının kan dolaşımını ve idrara karışması ile karakterize bir sendromdur. Bu sendrom kreatin kinaz seviyesindeki küçük bir artıştan yaşamı tehdit edebilecek kadar yüksek kreatin kinaz seviyesine elektrolit bozukluğuna, akut böbrek hasarına ve disemine

intravasküler koagülasyona sebep olabilir (6,89). Rabdomiyolizin oluşturduğu akut böbrek hasarının patogenezi tam olarak anlaşılamamış olsa da yapılan deneysel çalışmalarda intrarenal vazokonstriksiyon, direk veya iskemik tübül hasarı, tübüler obstrüksiyonun temel mekanizmalar olduğu rapor edilmektedir. Periferal kana geçen önemli bir bileşik olan miyogloblin 17,8 kDA ağırlığında oksijen taşıyıcı, yalnızca bir heme grubunu içerir. Miyogloblin glomerülüs tarafından filtre edilerek tübüllere ulaşır, burada asidik idrarda Tamm-Horsfall proteinleri ile etkileştiği zaman obstrüksiyona neden olur. Proton, fosfat, potasyum, nükleotidler ve ürik asit gibi diğer intrasellüler maddeler de hasarlı kas hücrelerinden salınır ve rabdomiyolize bağlı gelişen akut böbrek yetmezliğinin pathofizyolojisinde önemli rol oynarlar (89).

Rabdomiyolizin sonucu gelişen akut böbrek yetmezliği Amerika Birleşik Devletlerinde tüm akut böbrek hasarı vakalarının % 7 ile 10'unu oluşturmaktadır. Akut böbrek hasarının insidansı % 13 ile % 50 arasında değişmektedir. Mortalite oranı; akut böbrek hasarına eşlik eden hastalıkların şiddetine göre değişebilir. Yoğunbakım ünitesindeki hastalarda mortalite oranı akut böbrek yetmezliği var iken % 59 ve olmadığı zaman % 22 olduğu bildirilmiştir (90,91).

Rabdomiyoliz sonrası böbrek fonksiyonlarını bozan faktörler ikiye ayrılabilir. Bu faktörlerde birincisi böbrek kan akımını bozan ve hipoperfüzyona yol açan faktörler, ikincisi ise iskelet kaslarının hasarı sonrası ortaya çıkan miyogloblinin oluşturduğu komplikasyonlardır (6,31). Sıçanlara hipertonic gliserolün im verilmesiyle deneysel MABY oluşturulur. Bu model en yaygın kullanılan, kabul gören ve insanlarda gelişen mABY'nin deneysel modeli olarak kullanılmaktadır (92).

Erdosteine kronik obstrüktif akciğer hastalıklarının tedavisi için ve solunum yolu hastalıklarında mukopürülan olarak kullanılan Türkiye ve birçok Avrupa ülkelerinde onaylanmış ajandır (10,11). Erdosteine metabolitlerinin serbest radikal temizleme aktivitesi son yıllarda birçok araştırma grubu tarafından incelenmiştir. Erdosteinin kendisi serbest tiyole sahip değildir ve bu nedenle ROS süpürücü işlevi bulunmamaktadır (11). Erdosteine karaciğer metabolizması sonrasındaki kimyasal yapısındaki -SH grubu ile antioksidan ve serbest radikal temizleme faaliyeti kazanır (10,11,93). Bu nedenle, serbest radikallerin patogenezinde yer aldığı hastalıkların önlenmesinde veya tedavisinde ümit verici ilaç olarak görülmektedir (93). Önceki çalışmalarda yan etkiler olmadan erdosteinin tolere edilebilir dozu insanlarda günde 900 mg, sıçanlarda ise 500-1000 mg kg⁻¹ olduğu gösterilmiştir (8,93). Bu ilaç grubunun en sık görülen yan etkisi mukolitik etkisi nedeniyle mide mukozasının tahriş

olmasıdır. Erdosteinin bu yan etkisi çok nadir görülür çünkü erdosteinin mukolitik etkisi karaciğer metabolizmasından sonra oluşur (93). Son yıllarda erdostein gentamisin, doksorubisin, parasetamol ve cisplatin gibi toksik bileşiklerin oluşturduğu böbrek hasarına karşı deneysel hayvan modellerinde etkilerinin incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır (8,10, 93). Bu çalışma araştırmalarımıza göre erdosteinin sıçanlarda MABY hasarına karşı etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu çalışma rabdomiyoliz sonrası hastalarında gelişen akut böbrek yetmezliği gelişmesinin klinik ve laboratuvar parametrelerini göz önüne alınarak planlanmıştır.

Çalışmamızda erdosteinin sağlıklı hayvanlarda etkisinin incelendiği kas içi fizyolojik serum ve orak olarak gavaj yoluyla 10 mg/kg dozunda erdostein verilen 2. Grup sıçanlar ile 1. grup kontrol sıçanların parametreleri karşılaştırıldığında böbrek fonksiyon belirteçleri olarak kabul edilen üre, kreatinin ve kreatin klirensinde anlamlı düzeyde bir azalma olduğu saptandı. Ayrıca ALT düzeyinde de azalma olduğu saptandı. Bu veriler erdosteinin sağlıklı sıçanlarda fizyolojik parametreler üzerinde toksik etkisinin olmadığı ve hatta karaciğer ve böbrek fonksiyonları üzerinde düzenleyici etkisinin olduğu söylenebilir. Tutunç ve ark. (10) siklosporin A'nın yaptığı nefrotoksositeye karşı erdosteinin etkilerinin incelendiği, sadece verilen sağlıklı sıçanlarda 7 gün süresince günlük 10 mg/kg dozunda erdostein verilen sıçanlarda erdosteinin MDA düzeyini azalttığı, kreatinin düzeyinde anlamlı artma bildirilmiştir. NO ve üre düzeyinde ise çalışmamıza benzer parametreler olan anlamlı farklılık olmadığı bildirilmektedir. Bu çalışmada sağlıklı hayvanlarda görülen bu farklılığın erdosteinin uzun süreli verilmesinin sonucu olabilir.

Çalışmamızda kas içi % 50'lik gliserol verilerek deneysel MABY geliştirilen ve gavaj yoluyla FS verilen sıçanlarda 1. kontrol grubu ile karşılaştırıldığında üre, kreatinin, ALT, AST, kreatinin kinaz, potasyum sonucunda anlamlı artma oldu. Fraksiyonel sodyum atılımında da anlamlı artma oldu. Serum sodyum düzeyi ile kreatin klirensi ise istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi. 3. gruptaki sıçanların hemotoksilen eozin boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopisinde incelendiğinde tübül epitelinde nekroz görüldü. Genel hasar derecesi anlamlı düzeyde artış gösterdi. Tübüllerde belirgin dilatasyon glomerüllerde belirgin konjesyon görüldü. Proksimal, distal ve kollektör tübül lümenlerinde kast şeklinde dens protenöz madde birikimi yoğun bir şekilde izlendi. Çalışmamızda glomerüler fonksiyon bozukluğunun göstergesi olan serum üre ve kreatinin düzeylerindeki artış ve kreatin klirensindeki azalma daha önce yapılan çalışmaların sonuçları ile uyumluluk gösterdi (2,3,18,32-34,95,96). Tübüler fonksiyonun bir göstergesi olan fraksiyonel sodyum atılımında

bir artış gözlemlendi. Çalışmamızda tübüler fonksiyonun bir belirteci olan fraksiyonel sodyum atılımındaki artış önceki çalışmalarda belirtildiği gibi tübüler fonksiyonun bozulduğunu göstermekteydi (18,97).

Serbest radikallerin MABY'nin patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Böbreklerde serbest radikallerin oluşturduğu hasarın bir belirteci olan lipid peroksidasyonunun son ürünü MDA düzeyinin MBAY gelişen gruplarda arttığı daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bizim çalışma sonuçlarımız daha önce bu modelde yapılan çalışmaların MDA sonuçları ile uyumluluk gösterdi (95,96,98). Fakat ilginç bir şekilde endojen antioksidan savunmasının bir göstergesi olan glutatyon düzeyinde anlamlı bir değişiklik saptanmadı. Daha önce yapılan bir çalışmada gliserol enjeksiyonunda 2, 6 ve 24 saat sonra böbreklerde glutatyon düzeyinin kontrol grubuna göre MABY grubunda 2. saatte anlamlı düzeyde azalma olmasına rağmen 6. ve 24. saatte anlamlı bir farklılığın olmadığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada tespit edilen glutatyon sonuçları ile çalışmamızdaki sonuçlar benzerlik göstermektedir (97).

İskelet kasında metabolik ve mekanik nedenlere bağlı olarak oluşan hasarın derecesini anlamak için troponin, kreatin kinaz, LDH, aldolaz, miyogloblin, AST, ALT, gibi serum belirteçlerinin kullanıldığı bildirilmektedir (94). Bu çalışmamızda gliserol enjeksiyonundan 24 saat sonra iskelet kası hasarının tespitinde potasyum, kreatin kinaz, ALT, AST, düzeylerini belirteç olarak inceledik. 3. grupta bu belirteçlerin artması yoğun bir kas hasarının olduğunu gösterdi. Çalışma sonuçlarımız ile daha önce yapılan çalışmaların bulgularının benzer olduğu görüldü (33,37,99). Deneysel MABY modelinde potasyum düzeyindeki yükselmenin ABY nedeniyle idrar atılımının azalması ve yoğun kas hasarı sonucu açığa çıkan hücre içi potasyumdan kaynaklandığı rapor edilmiştir (98).

MABY'nin fizyopatolojisinde renal vazokonstriksiyon temel mekanizmalardan bir tanesidir. Renal vazokonstriksiyon çeşitli mekanizmalarla oluşur. Bunlardan birincisi, kas hasarı sonucu büyük miktarda intravasküler sıvının hasarlı bölgeye birikerek hipovolemiye yol açmasıdır. İkincisi, hasar sonucu kaslarda salınan çeşitli sitokinlerin vazokonstriktör etkileridir. Üçüncüsü ise, parçalanmış kas hücrelerinden dolaşıma salınan miyogloblinin NO tüketmesi de böbreklerde vazokonstriksiyona sebep olur. NO böbreklerde glomerüler hmeodinaminin kontrolünde, tübülo glomerüler feedback, renin salgılanması, sodyum ve su atılımında önemli rol oynamaktadır. Çok kısa yarı ömre sahip olan NO, birçok fizyolojik ve patolojik olaylarda serbest bir radikal gibi davranabilir. MABY sırasında oluşan aşırı NO ya stabil son ürünleri olan nitrit ve nitrate dönüşür yada süperoksit dismutaz enzimi ile

yarışmaya girerek süperoksit radikali ile etkileşimi sonucu peroksinitriti oluşturur. Böylece nitrik oksitin fizyolojik etkisi inhibe edilir. Oksidatif etkisi ortaya çıkar. Peroksinitrit NO toksisitesinin başlıca sorumlusudur. Peroksinitirtin azot dioksinin, hidroksil radikali, nitranyum iyonu gibi toksik ürünlere dönüşebilir. Ayrıca proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır (3). Çalışmamızdaki NO sonuçlarımız daha önce laboratuvarımızda yaptığımız çalışma sonuçları ile uyumluluk gösterdi (2).

Çalışmamızda % 50 gliserol enjeksiyonundan 1 saat sonra gavaj yoluyla erdostein verilen 4. grup ile 3. grup verilerini karşılaştırdığımızda, yükselmiş olan serum kreatin kinaz aktivitesi ile potasyum düzeyleri, böbrek NO düzeyleri ve artmış fraksiyonel sodyum seviyelerinin anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi. Diğer taraftan azalmış olan serum sodyum düzeyi ile kreatin klirensinde anlamlı düzeyde artma gözlemlendi. 4. gruptaki diğer parametrelerin anlamlı düzeyde farklılık oluşturmadığı gözlemlendi.

Yapılan literatür araştırmalarına göre daha önce bir çok deneysel böbrek hasarı modelinde erdosteinin korucu etkisinin olduğu rapor edilmiştir (8,10,80,93,100-105). Kas hasarına bağlı oluşan nefrotoksisiteye karşı, erdosteinin etkisinin incelendiği, herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

Turgut ve ark. (80) sıçanlarda alloksan ile oluşturulan diyabete bağlı gelişen böbrek hasarı üzerine 4 hafta boyunca 10 mg/kg/gün oral yolla erdostein tedavisinin histopatolojik parametreler üzerine koruyucu rol oynadığını rapor etmişlerdir.

Tutanc ve ark. (10)'nın organ transplantasyonundan sonra yaygın olarak kullanılan siklosporin A'nın yan etkisi olarak oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı 7 gün süresince 10 mg/kg/gün verilen nefrotoksisitenin lipid peroksidasyonunu azalttığı, yükselmiş kreatinin düzeyini anlamlı düzeyde düşürdüğü ve histopatolojik hasarı azalttığını bildirmektedirler. Ayrıca Uz ve ark. (100) siklosporinin oluşturduğu kronik nefrotoksisiteye karşı sıçanlara 21 gün boyunca 10 mg/kg/gün dozunda gavaj yoluyla erdostein verilmesinin koruyucu rol oynadığını bildirmişlerdir.

Söğüt ve ark. (101) kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan sisplatinin oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı 5 gün boyunca oral olarak günlük 10 mg/kg dozunda verilen erdosteinin sıçanlarda koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca Özyurt ve ark. (93)'nin sisplatinin oluşturduğu ABY'ne karşı 6 gün boyunca 25, 50, 75 mg/kg/gün dozunda gavaj yoluyla verdikleri erdosteinin 25 mg/kg dozunun plazma üre ve kreatinin düzeylerinde anlamlı böbrek fonksiyonlarını, oksidatif stresi ve böbrek hasarı üzerinde koruyucu rol oynamadığı, buna karşın 50, 75 mg/kg dozlarının koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir.

Erdostein 50 ve 75 mg/kg dozlarının oluşturduğu koruyucu etki açısından anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir.

Cabuk ve ark. (102)'nin gentamisinini oluşturmuş olduğu böbrek hasarına karşı 6 gün boyunca 50 mg/kg/gün dozunda erdosteine verilmesinin hem böbrek fonksiyonlarını koruduğu hem de oluşan oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir. Yesilyurt ve ark. (103)'nin radyokontrast nefrotoksitesi sonucu oluşan ABY'ne karşı 50 mg/kg dozunda 4 gün boyunca oral olarak verilen erdosteinin koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir. Erdogan ve ark. (83) böbrek iskemi reperfüzyonunda önce 2 gün süre ile 50 mg/kg/gün dozunda oral yolla erdosteine verilmesinin 30 dakika iskemi sonrası 2 saat reperfüzyon süresince koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir. Oktem ve ark. (104)'nin vankomisinini oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı 10 mg/kg 7 gün boyunca oral yolla erdosteine verilmesinin böbrek fonksiyon bozukluğu ve hasarına karşı koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir. Isık ve ark. (105) tarafından parasitemolün böbrekte oluşturduğu hasara karşı 7 gün boyunca 150 ve 300 mg/kg/gün dozunda erdosteine verilmesinin böbrek fonksiyonlarına ve oksidatif strese karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir.

Erdosteinin farklı ajanların oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı oluşturulan in vivo çalışmalarda böbrek hasarına karşı koruyucu rol oynadığı literatürde görülmektedir. Bizim yaptığımız çalışmamızda erdosteine yükselmiş olan serum kreatin kinaz aktivitesi, potasyum düzeyi ve böbrek NO düzeyleri ile artmış fraksiyonel sodyum atılımını anlamlı olarak azalttığı görüldü. Diğer taraftan azalmış olan serum sodyum düzeyi ile kreatin klirensinde anlamlı düzeyde artışa neden olduğu görüldü.

Çalışmamızda incelendiğimiz diğer parametreler üzerinde erdosteinin anlamlı koruyucu değişiklikler oluşturmamasının birkaç nedeni olabilir. Erdosteine literatürde birçok çalışmada 10 mg/kg ve tekrarlayan dozlarda verilmesine rağmen çalışmamızda tek doz olarak verildi. Ayrıca erdosteinin birçok çalışmada yüksek ve tekrarlayan dozlarda verilmesinin koruyucu rol oynadığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda erdosteinin tek ve düşük doz olarak verilmesi koruyucu etkilerinin daha az görülmesine neden olmuş olabilir. Ayrıca deneysel MABY patogenezinde etkili faktörlerin, erdosteinin koruyucu rol oynadığı diğer deneysel böbrek hasarı modellerinde farklı olması sonucu olabilir.

Çalışmamızın bulguları ile literatür sonuçlarını bir arada değerlendirdiğimizde deneysel MABY'de erdosteinin koruyucu etki gösterdiği, ancak bu etkinin bazı parametreler üzerinde olduğu görülmektedir. Bütün bu bulgular ve literatür bir arada değerlendirildiğinde erdosteinin deneysel MABY'deki etki mekanizması kesin olarak göstermekte çalışmamız

yetersiz kalmaktadır. Bu konuda erdosteinin etkin dozu belirlenerek verilme süresinde de yapılacak düzenlemeler ile renal kan akımı, böbrek fonksiyonları, oksidatif hasarın derecesini gösteren parametreler ile NO metabolizması üzerindeki etkilerini, histopatolojik değişikliklerin elektronmikroskopisi ile gösterilmesi ve moleküler düzeyde araştırılan daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği düşüncesindeyiz. Ayrıca bu çalışmada elde edilen verilerin ön klinik çalışmalara da ışık tutacağı görüşündeyiz.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yapılan çalışmamızda hipertonic gliserolün im verilmesiyle oluşturduğumuz MABY'de erdosteinin; böbrek dokusunda glutatyon ve malondialdehit düzeyi ile böbrek ve serum NO düzeyleri, serum üre, kreatinin, sodyum, potasyum düzeyleri, ALT, AST ve CK aktiviteleri; idrar kreatinin ve sodyum düzeyleri ile kreatin klirensi ve fraksiyonel sodyum atılımı incelendi. Böbrek dokusunda hematoksilen-eozin boyaması ile histopatolojisi değerlendirildi. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda sıçan böbrek MABY'de erdostein etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. İncelemeler sonucunda aşağıdaki veriler elde edilmiştir.

1. ve 2. grup parametreleri karşılaştırıldığında; kreatin klirensinde 2. grupta anlamlı bir artma görüldü. Serum ALT, üre ve kreatinin düzeyinde 2. grupta anlamlı bir azalma görüldü.

1. ve 3. grup parametreleri karşılaştırıldığında; böbrek dokusunda MDA düzeyi serum üre, kreatinin, potasyum, AST, ALT ve CK aktiviteleri 3. grupta anlamlı bir artma gözlemlendi, serum sodyum, idrar kreatinin, kreatin klirensi, 3. grupta anlamlı bir azalma gözlemlendi.

3. ve 4. grup parametreleri karşılaştırıldığında; serum sodyum ve kreatin klirensinde 4. grupta anlamlı bir artma, böbrek NO düzeyinde, serum potasyum, kreatin kinaz ve fraksiyonel sodyum atılımında anlamlı azalma gözlemlendi.

Bütün bu bulgular ve literatür bir arada ele değerlendirildiğinde, erdosteinin deneysel MABY etki mekanizmasının kesin olarak göstermede çalışmamız yetersiz kalmaktadır. Bu konuda erdosteinin etkin dozu belirlenerek verilme süresinde yapılacak düzenlemeler ile renal kan akımı böbrek fonksiyonları, oksidatif hasarın derecesini gösteren parametreler ile NO metabolizması üzerindeki etkilerini histopatolojik değişiklikleri elektromikroskobu ile gösterilmesi ve moleküler düzeyde araştıran daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği düşüncesindeyiz.

ÖZET

Miyoglobinürik akut böbrek yetmezliğinin patofizyolojisinde nitrik oksit ve reaktif oksijen metabolitlerinin önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Bizde çalışmamızda antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkisi olan erdosteine, miyoglobinürik ABY'nin sıçan böbreklerinde yol açtığı hasara karşı antioksidan, histopatolojik ve böbrek fonksiyonları üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda her grupta 7 adet olmak üzere toplam 28 adet 145-185 gram ağırlığında erkek Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar 24 saat susuz bırakıldı. 1. ve 2. grup sıçanlara FS, 3. ve 4. gruptaki sıçanlara % 50'lik gliserol solusyonundan 8 ml/kg intramüsküler enjekte edildi. 1 saat sonra 1. ve 3. gruba ip FS, 2. ve 4. gruba 10 mg/kg dozunda gavaj yoluyla erdosteine verildi. Gliserol enjeksiyonundan 24 saat ve idrarları alındıktan sonra sıçanlar anestezi altında kanları ve her iki böbreği alınarak, kurban edildi.

Çalışmamızda 2. grupta kreatin klirensinde anlamlı bir artma, serum ALT, üre ve kreatinin düzeyinde anlamlı bir azalma görüldü. 3. grup parametreleri 1. Grup ile karşılaştırıldığında; böbrek dokusunda MDA düzeyi ile serum üre, kreatinin, potasyum, AST, ALT ve CK aktiviteleri anlamlı bir artma, serum sodyum ve kreatin klirensi anlamlı bir azalma gözlemlendi. 3. ve 4. grup parametreleri karşılaştırıldığında; serum sodyum ve kreatin klirensinde 4. grupta anlamlı bir artma, böbrek NO düzeyinde, serum potasyum, kreatin kinaz ve fraksiyonel sodyum atılımında anlamlı azalma gözlemlendi.

Çalışmamızda erdosteine'nin sınırlı koruyucu etkileri görüldü. Bu sonuçlar göz önüne alındığında erdosteine'nin MABY'deki koruyucu etkisini belirlemek için; erdosteine'nin koruyucu etkilerini belirlemek için bu modeldeki etkin dozunun belirlendikten sonra verilme sürelerinde yapılacak düzenlemeler ile daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: Erdostein, Miyoglobinürik Akut Böbrek Yetmezliği, Serbest Radikaller, Nitrik oksit, Antioksidant

THE EFFECTS OF ERDOSTEINE ON EXPERIMENTAL MYOGLOBINURIC ACUTE RENAL FAILURE IN RATS

SUMMARY

Free radicals and nitric oxide play an important role in the pathogenesis of myoglobinuric acute renal injury. In our study, we aimed to investigate the effects of erdosteine on myoglobinuric acute renal injury that has been reported to have antioxidant, free radical scavenger properties.

In our study, 28 male Sprague Dawley rats, 145-185 grams in weight, were used. The rats were deprived of water for 24 hours before injection. 1st and 2nd groups were injected with physiological serum, 3rd and 4th groups were injected with intramuscular 50 % glycerol 8 ml/kg. One hour later, 1st and 3rd groups received ip FS and 2nd and 4th groups were given 10 mg/kg erdosteine orally. 24 hours after the glycerol injection, the blood samples and kidneys of the rats were taken under the anesthesia.

In our study, we found that levels of urea, creatinine, ALT in serum samples were reduced in 2nd group when it's compared with the 1st group. Levels of creatinine clearance were statistically significantly increased in the 2nd group when compared with the 1st group. We found that the levels of urea, creatinine, potassium, ALT, AST and CK in serum samples, and MDA in renal tissue samples, and fractional excretion of sodium were increased in the 3rd group when it's compared with the 1st group. Levels of serum sodium and creatinine clearance were statistically significantly reduced in the 3rd group when compared with the 1st group. When the parameters of 3rd and 4th groups compared, in group 4, a significant increase in serum sodium and creatinine clearance were observed, however, there were a significant

decrease in the levels of kidney NO, and serum potassium and creatin kinase, and fractional sodium excretion.

In this study, measurable protective effects of erdostein were detected. Given these results, to determine the protective effect of erdostein on MABY in this model, we concluded that after determining the effective dose of erdostein more comprehensive study should be planned targeting the treatment time modality.

Key words: Erdosteine, Myoglobinuric Acute Renal Failure, Free Radicals, Nitric oxide, Antioxidant.

KAYNAKLAR

1. Singh AP, Junemann A, Muthuraman A, Jaggi AS, Singh N, Grover K et al. Animal models of acute renal failure. *Pharmacol Rep* 2012;64(1):31-44.
2. Kaya O, Aydogdu N, Tastekin E, Karadag HC, Gunduz O, Sut N. Effects of losartan on glycerol-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2013;19 (2): 253-258.
3. Liu Y, Fu X, Gou L, Li S, Lan N, Zheng Y, et al. L-Citrulline protects against glycerol-induced acute renal failure in rats. *Ren Fail* 2013;35 (3) ; 367-373.
4. Yang FL, Subeq YM, Chiu YH, Lee RP, Lee CJ, Hsu BG. Recombinant human erythropoietin reduces rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. *Injury* 2012;43(3):367-373.
5. Chatzizisis YS, Misirli G, Hatzitolios AI, Giannoglou GD. The syndrome of rhabdomyolysis: complications and treatment. *Eur J Intern Med* 2008;19(8):568-574.
6. Sever MŞ. Crush (Ezilme) sendromu ve marmara depreminden çıkarılan dersler. *Türk Nefroloji Derneği Yayınları* 2003.
7. Kumar S, Gupta A, Pandey AK. Calotropis procera root extract has the capability to combat free radical mediated. *ISRN Pharmacol* 2013;9:doi:10.1155/2013/691372
8. Kandiş H, Erkan ME, Yildirim U, Güneş H, Erbaş M, Yildirim HA ve ark. Comparison of the effects of N acetyl cysteine and erdosteine in rats with renal injury caused by paracetamol intoxication. *Hum Exp Toxicol* 2011;30(9):1350-1358.
9. Elyasi S, Khalili H, Hatamkhani S, Dashti-Khavidaki S. Prevention of vancomycin induced nephrotoxicity: a review of preclinical data. *Eur J Clin Pharmacol* 2013;69(4):747-754.

10. Tutanc M, Arica V, Yılmaz N, Nacar A, Zararsiz I, Basarslan F ve ark. Effects of erdosteine on cyclosporin-A-induced nephrotoxicity. *Hum Exp Toxicol* 2012;31(6):565-573.
11. Yurdakul T, Kulaksizoglu H, Pişkin MM, Avunduk MC, Ertemli E, Gokçe G ve ark. Combination antioxidant effect of α -tocoferol and erdosteine in ischemia-reperfusion injury in rat model. *Int Urol Nephrol* 2010;42(3):647-655.
12. Kim EJ, Lee YJ, Ahn YM, Lee H, Kang DG, Lee HS. Renoprotective effect of *Alpinia oxyphyllae* Fructus on ischemia reperfusion-induced acute renal failure. *Arch Pharm Res* 2013;36(8):1004-1012.
13. Al B, Güllü MN, Kaplan M, Güloğlu C, Aldemir M. Crush Sendromu. *Tıp Araştırmalar Dergisi* 2006;4 (2): 31-38.
14. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996;334:1448-1460.
15. Albright RC, Do J. Acute renal failure: A practical update. *Mayo Proc* 2001;76:67 -74.
16. Funk JA, Schnellmann RG. Persistent disruption of mitochondrial homeostasis after acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012;1;302(7):F853-864.
17. Patel M, Sachan R, Gangwar R, Sachan P, Natu S. Correlation of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin with acute kidney injury in hypertensive disorders of pregnancy. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2013;2;6:181-186.
18. Rodrigo R, Bosco C, Herrera P, Rivera G. Amelioration of myoglobinuric renal damage in rats by chronic exposure to flavonol-rich red wine. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(9):2237-2244.
19. Newaz MA, Oyekan AO. Contribution of renal oxygenases to glycerol-induced acute renal failure in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002;39(6):834-841.
20. Wang J, Wang D, Li Y, Zuo H, Wang S, Xu X et al. Rhabdomyolysis-induced acute kidney injury under hypoxia and deprivation of food and water. *Kidney Blood Press Res* 2013;10;37(4-5):414-421.
21. Pişkinpaşa S, Özkayar N, Çoşkun HY, Akoğlu H, Koç E, Gönül İİ ve ark. Akut böbrek yetmezliğinin nadir bir nedeni: glomerüler tip lezyon olgusu. *Turk Neph Dial Transpl* 2012;21(3):298-300
22. Pham AQ, Scarlino C. Diphenhydramine and acute kidney injury. *Pt* 2013;38(8):453-461.
23. Qi S, Wu D. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells protect against cisplatin-induced acute kidney injury in rats by inhibiting cell apoptosis. *Int J Mol Med* 2013;32(6):1262-1272.
24. Peres LA, Cunha Junior AD, Schafer AJ, Silva AL, Gaspar AD, Scarpari DF et al. Biomarkers of acute kidney injury. *J Bras Nefrol* 2013; 35(3):229-236.

25. Smith OM, Wald R, Adhikari NK, Pope K, Weir MA, Bagshaw SM. Standard versus accelerated initiation of renal replacement therapy in acute kidney injury. *Trials* 2013;5;14(1):320.
26. Abul-Ezz SR, Walker PD, Shah SV. Role of glutathione in an animal model of myoglobinuric acute renal failure. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;1;88(21):9833-9837.
27. Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi fizyoloji*. Ankara: Nobel tıp kitabevleri 2011.
28. Altıparmak MR. İç hastalıklarında aciller 2010;223-253.
29. Horoz M, Özgür Ö. Akut böbrek yetmezliği. *Harran Üniv Tıp Fak Derg* 2004;1(3): 48-63.
30. Simcock D. Gastroenteritis, fever and myoglobinuric renal failure. *J R Soc Med* 2004;97(4):185-6.
31. Sever MS, Vanholder R. Management of crush syndrome casualties after disasters. *Rambam Maimonides Med J* 2011;30;2(2):e0039.
32. Ustundag S, Sen S, Yalcın O, Ciftci S, Demirkan B, Ture M. L-Carnitine ameliorates glycerol-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. *Ren Fail* 2009;31(2):124-133.
33. Ayvaz S, Aksu B, Kanter M, Uzun H, Erboga M, Colak A et al. Preventive effects of hyperbaric oxygen treatment on glycerol-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. *J Mol Histol* 2012;43(2),161-170.
34. Yavuz YÖ. Deneysel miyoglobinürik akut böbrek yetmezliğinde baicalinin etkileri (tez). *Trakya Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü* 2013.
35. Savic V, Vlahovic P, Djordjevic V, Mitic-Zlatkovic M, Avramovic V, Stefanovic V. Nephroprotective effects of pentoxifylline in experimental myoglobinuric acute renal failure. *Pathol Biol* 2002;50(10):599-607.
36. Singh AP, Singh AJ, Singh N. Pharmacological investigations of punica granatum in glycerol-induced acute renal failure in rats. *Indian J Pharmacol* 2011;43(5):551-556.
37. Yang FL, Subeq YM, Chiu YH, Lee RP, Lee CJ, Hsu BG. Recombinant human erythropoietin reduces rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. *Injury* 2012;43(3),367-373.
38. Kim HW, Choi JR, Jang SJ, Chang YS, Bang BK, Park CW. Recurrent rhabdomyolysis and myoglobinuric acute renal failure in a patient with polymyositis. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20(10):2255-2258.
39. Naka T, Jones D, Baldwin I, Fealy N, Bates S, Goehl H et al. Myoglobin clearance by super high-flux hemofiltration in a case of severe rhabdomyolysis: a case report. *Crit Care* 2005;9(2):R90-95.
40. Malinoski DJ, Slater MS, Mullins RJ. Crush injury and rhabdomyolysis. *Crit Care Clin* 2004;20(1):171-192.

41. Yavuz M. Crush syndrome and Acute Renal Failure. *Turk Neph Dial Transpl* 1999;4: 163-166.
42. Tolouian R, Wild D, Lashkari MH, Najafi I. Oral alkalinizing solution as a potential prophylaxis against myoglobinuric acute renal failure: preliminary data from healthy volunteers. *Neph Dial Transpl* 2005;20(6):1228-1231.
43. Vanholder R, Sever MS, De Smet M, Ereke E, Lameire N. Intervention of the renal disaster relief task force in the 1999 Marmara, Turkey earthquake. *Kidney Int* 2001;59(2):783-791.
44. Kuyumcu A, Düzgün AP, Özmen MM, Besler HT. travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus Travma Derg* 2004;10(3):149-159.
45. Gilkeson GS, Mashmoushi AK, Ruiz P, Caza TN, Perl A, Oates JC. Endothelial nitric oxide synthase reduces crescentic and necrotic glomerular lesions, reactive oxygen production, and MCP1 production in murine lupus nephritis. *Plos One* 2013;31;8(5):e64650.
46. Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. *Turgut Özal Tıp Merk Derg* 1997;4(4):453-461.
47. Çıtak EÇ, İleri T. Nitrik oksitin böbrek fonksiyonları ve hastalıklarındaki yeri. *Turk Klin J Pediatr* 1999;8(2):98-105.
48. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxyxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* 1996;271(5 Pt 1):C1424-1437.
49. Meenakshi SR, Agarwal R. Nitric oxide levels in patients with chronic renal disease. *J Clin Diagn Res* 2013;7(7):1288-1290.
50. Chander V, Chopra K. Molsidomine, a Nitric oxide donor and L-arginine protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. *Biochimi Biophys Acta* 2005;1723:208–214.
51. Kurohane Kaneko Y, Ishikawa T. Dual Role of nitric oxide in pancreatic β -cells. *J Pharmacol Sci* 2013;26.
52. Persson AE, Lai EY, Gao X, Carlström M, Patzak A. Interactions between adenosine, angiotensin II and nitric oxide on the afferent arteriole influence sensitivity of the tubuloglomerular feedback. *Front Physiol* 2013;18;4:187.
53. Mount PF, Power DA. Nitric oxide in the kidney: functions and regulation of synthesis. *Acta Physiol* 2006;187(4):433-446.
54. Yağmurca M, Uçar M, Fadıllıoğlu E, Erdoğan H, Öztürk H. The effects of nitric oxide on rat stomach injury induced by acetylsalicylic acid. *Turk J Med Sci* 2009; 39 (1): 13-19.
55. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. *T Klin Tıp Bilim* 2000;20: 107-111.

56. Büyükaşar K. Nitrik oksidin fizyolojik ve fizyopatolojik olaylardaki rolü. Türk farmakoloji derneği farmakoloji eğitim sempozyumları programı nitrik oksidin farmakolojisi seminer özetleri 2005;1-2
57. Derviş E. Oral Antioksidanlar (Derleme). *Dermatoz* 2011;2(1),263-267.
58. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fak Derg* 2005;3:30-39.
59. Sabuncuoğlu S, Özgüneş H. Kemoterapi serbest radikaller ve oksidatif stres. *Hacet Univ Eczacı Fakult Derg* 2011;Cilt 31/ Sayı 2 /137-150.
60. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg* 2004;15 (1-2):91-96.
61. Herken H, Tıftık AM, Kaya N, Haliloğlu S, Dağlar C, Gederet Y. Bilişsel değişiklikler ile serbest radikal ve oksidatif savunma mekanizmaları arasındaki ilişki. *Düşünen Adam* 1999;12 (4): 16-22.
62. Tekcan M. Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis. *Androloji Bülteni* 2009;37(2):131-136.
63. Abdel-Hameed el-SS, Bazaid SA, Salman MS. Characterization of the phytochemical constituents of taif rose and its antioxidant and anticancer activities. *Biomed Res Int* 2013;345-465.
64. Yüceyar S, Gümüştaş K, Ertürk S, Hamzaoğlu IH, Uygun N, Ayaz M et al. The role of oxygen free radicals in acute renal failure complicating obstructive jaundice: an experimental study. *HPB Surg* 1998;10(6):387-93.
65. Hatwalne MS. Free radical scavengers in anaesthesiology and critical care. *Indian J Anaesth* 2012;56(3):227-233.
66. Ayan M. Deneysel sepsis modelinde glutasyon, myeloperoksidaz, plazma ve doku MDA düzeylerine N-asetilsistein ve erdostein'in etkilerinin karşılaştırılması (Uzmanlık Tezi). Konya: Selçuk Üniv Meram Tıp Fak Acil Tıp AD 2006.
67. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001;54(3):176-186.
68. Altınışik M. Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar. www.mustafaaltinişik.org.uk/21-adsem-01.pdf
69. Sak Z. Siklosporin A'nın Rat Testis Dokusunda oksidatif-antioksidatif duruma etkisi ve erdosteinin koruyucu rolü (tez). Hatay: Mustafa Kemal Paşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2013.
70. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Turk Neph Dial Transpl* 1997;3-4: 92-95.

71. Erdal N, Altunkaynak Y, Altunkaynak E, Öztürk M, Mutluay B, Köksal A ve ark. Migrenli hastalarda oksidatif stresin göstergesi olarak lipid peroksidasyonunun incelenmesi. *Düşünen Adam* 2005;18(3):129-135.
72. Erenel G, Erbaş D, Arıcioğlu A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Derg* 1992;3: 243-250.
73. Delibaş N, Özcanakaya R. Serbest radikaller. *SDÜ Tıp Fak Derg* 1995;2 (3): 11-17.
74. Gökpinar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. Algal antioksidanlar. *Ege Üniv Su Ürün Derg* 2006;Cilt 23, Ek (1/1): 85-89.
75. Rios-Arrabal S, Artacho-Cordon F, Leon J, Roman-Marinetto E, Del Mar Salinas-Asensio M, Calvente I at al. *Involvement of free radicals in breast cancer*. *Springerplus* 2013;2:404.
76. Karapolat B. Deneysel akut pankreatit modelinde erdosteinin etkileri (Uzmanlık Tezi). *Düzce: Düzce Üniv Tıp Fak Genel Cerrahi AD* 2012.
77. Kuvandık G, Duru M, Nacar A, Yonden Z, Helvacı R, Koc A et al. Effects of erdosteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicol Pathol* 2008;36:714-719.
78. Kurtoglu T, Sacar M, Inan BK, Duver MH, Guler A, Ucak A et al. Erdosteine ameliorates lung injury induced by transient aortic occlusion in rats. *Cardiovasc J Afr* 2007;18(6):367-370.
79. Lee J-Y, Kim H-S, Park C-S, Kim M-C. Erdosteine in renal ischemia-reperfusion injury. an Experimental Study in Pigs. *J Vet Med Sci* 2010;72(1): 127–130.
80. Turgut F, Çarlıoğlu A, Alkan R, Akdeniz D, Haltaş H, Balçık ÖŞ ve ark. Erdosteinin diyabetik ratlarda böbrek hasarı üzerine koruyucu etkisi. *Turk Nefrol Diyal ve Transplant Derg* 2010;Cilt: 19, No: 3:157-161.
81. Nazıroğlu M, Yoldaş N, Uzgur EN, Kayan M. Role of contrast media on oxidative stress, Ca(2+) signaling and apoptosis in kidney. *J Membr Biol* 2013;246(2):91-100.
82. Hoza J, Salzman R, Starek I, Schalek P, Kellnerova R. Efficacy and safety of erdosteine in the treatment of chronic rhinosinusitis with nasal polyposis - a pilot study. *Rhinology* 2013;51(4):323-327.
83. Erdoğan H, Fadillioglu E, Yagmurca M, Uçar M, Irmak MK. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. *Urol Res* 2006;34: 41–46.
84. Kusaka J, Koga H, Hagiwara S, Hasegawa A, Kudo K, Noguchi T. Human atrial natriuretic peptide attenuates renal ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2010;173(2):348-353.
85. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbutiric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-358.

86. Devi GS, Prasad MH, Saraswathi I, Raghu D, Rao DN, Reddy PP. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. *Clin Chim Acta* 2000;(293):53–62.
87. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959;82:70-77.
88. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990;36/8:1440-1443.
89. Rodríguez E, Soler MJ, Rap O, Barrios C, Orfila MA, Pascual J. Risk factors for acute kidney injury in severe rhabdomyolysis. *Plos One* 2013;18;8(12):e82992.
90. Mikkelsen TS, Toft P. Prognostic value, kinetics and effect of CVVHDF on serum of the myoglobin and creatine kinase in critically ill patients with rhabdomyolysis. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005;49: 859–864.
91. Goldfarb DS, Chung S The absence of rhabdomyolysis-induced renal failure following the World Trade Center collapse [Letter]. *Am J Med* 2002;113: 260.
92. Zager RA. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. *Kidney int* 1996;49:314-326.
93. Ozyurt H, Yildirim Z, Kotuk M, Yilmaz HR, Yağmurca M, Iraz M et al. Cisplatin-induced acute renal failure is ameliorated by erdosteine in a dose-dependent manner. *J Appl Toxicol* 2004;24(4):269-275.
94. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48(6),757-767.
95. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Taskiran R, Tastekin E, Kaymak K. Protective effects of L-carnitine on myoglobinuric acute renal failure in rats. *Clin Exp Pharmacol* 2006;33:119-124.
96. Aydoğdu N, Atmaca G, Yalcin O, Batçioğlu K, Kaymak K. Effects of caffeic acid phenethyl ester on glycerol-induced acute renal failure in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004;31(9),575-579.
97. Kaliman PA, Strelchenko EV, Nikitchenko IV, Filimonenko VP. Heme oxygenase activity and some indices of antioxidant protection in rat liver and kidney in glycerol model of rhabdomyolysis. *Bull Exp Biol Med* 2003;135(1),37-39.
98. Stefanovich V, Savic V, Vlahovic P, Cvetkovic T, Najman S, Zlatkovic MM. Reversal of experimental myoglobinuric acute renal failure with bioflavonoids from seeds of grape. *Ren Fail* 2000;22(3):255-266.
99. Subeq YM, Wu WT, Lee CJ, Lee RP, Yang FL, Hsu BG. Pentobarbital reduces rhabdomyolysis-induced acute renal failure in conscious rats. *J Trauma* 2009;67(1),132-138.

100. Uz E, Uz B, Kaya A, Akdeniz D, Bavbek RN, Uz E ve ark. Protective effect of erdosteine on cyclosporine induced chronic nephrotoxicity in rats. *Nephro-Urol Mon* 2011;3(4):280-284.
101. Söğüt S, Kotuk M, Yılmaz HR, Ulu R, Özyurt H, Yıldırım Z. In vivo evidence suggesting a role for purine-catabolizing enzymes in the pathogenesis of cisplatin-induced nephrotoxicity in rats and effect of erdosteine against this toxicity. *Cell Biochem Funct* 2004; 22: 157–162.
102. Cabuk M, Gurel A, Sen F, Demircan N. Renoprotective effect of erdosteine in rats against gentamicin nephrotoxicity: a comparison of ^{99m}Tc-DMSA uptake with biochemical studies. *Mol Cell Biochem* 2008;308:35–42.
103. Yesilyurt A, Erden AI, Bilgic I, Erden G, Albayrak A. The protective effect of erdosteine on radiocontrast induced nephrotoxicity in rats. *Environ Toxicol* 2011;26: 395–402.
- 104 Oktem F, Arslan FK, Ozguner F, Candir O, Yilmaz HR, Ciris M ve ark. In vivo evidences suggesting the role of oxidative stress in pathogenesis of vancomycin-induced nephrotoxicity: protection by erdosteine. *Toxicology* 2005;215:227–233.
105. Isik B, Bayrak R, Akcay A, Sogut S. Erdosteine against acetaminophen induced renal toxicity. *Molecular Cell Biochem* 2006;287: 185–191.

RESİMLEMELER LİSTESİ

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Vücutta serbest radikallerin önemli kaynakları ve serbest radikal hasarının sonuçları	16
Şekil 2: Erdosteinin açık formülü	20
Şekil 3: Ortalama Böbrek MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	35
Şekil 4: Ortalama Böbrek GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	35
Şekil 5: Ortalama Böbrek NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	36
Şekil 6: Ortalama Serum AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	36
Şekil 7: Ortalama Serum ALT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	37
Şekil 8: Ortalama Serum CK düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	37
Şekil 9: Ortalama Serum Üre düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	38
Şekil 10: Ortalama Serum Kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	38
Şekil 11: Ortalama Serum Sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	39
Şekil 12: Ortalama Serum Potasyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	39
Şekil 13: Ortalama Serum NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	40
Şekil 14: Ortalama İdrar Kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	40
Şekil 15: Ortalama İdrar Sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	41
Şekil 16: Ortalama Kreatin Klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	41
Şekil 17: Ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	42
Şekil 18: 1.Grubun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX200)].....	45
Şekil 19: 2. Grubun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX200)].....	45
Şekil 20: 3. Grubun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX200)].....	46
Şekil 21: 4. Grubun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX200)].....	46

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Grup 1'in biyokimyasal verileri	30
Tablo 2. Grup 2'nin biyokimyasal verileri	31
Tablo 3. Grup 3'ün biyokimyasal verileri	32
Tablo 4. Grup 4'ün biyokimyasal verileri	33
Tablo 5. Çalışma gruplarının değişkenlere ait istatistiksel verileri	34
Tablo 6. Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçlar.....	44
Tablo 7. Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçlar	44

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Adana'nın Seyhan ilçesinde doğdum. İlköğrenimimi 1991-1998 yılları arasında Akşemseddin İlköğretim okulunda, lise öğrenimimi 1998-2001 yılları arasında Ramazan Atıl Lisesi'nde tamamladım. Lisans öğrenimimi ise Mersin Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu Hemşirelik Bölümü'nde 2006 yılında tamamladım. 2007-2013 yılları arasında İstanbul Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Hemşire olarak çalıştım. 2013 yılı Ekim ayından itibaren Bitlis Tatvan Devlet Hastanesinde Hemşire olarak çalışmaktayım.

2011 bahar yarıyılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım.

EKLER

EK-1

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


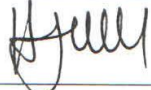


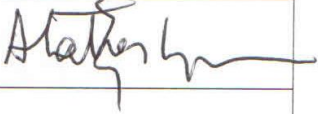

EDİRNE

Oturum Sayısı: 01

Karar Tarihi: 25.01.20113

KARAR NO: 2013.01.06

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU'nun yaptığı Yüksek Lisans Öğr. Çiğdem ATAGÜN'ün Yüksek Lisans tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2013/06 protokol nolu "Deneysel Miyoglobürik Akut Böbrek Yetmezliğinde Erdoste'in Etkileri." başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

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