

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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL MİYOglobİNÜRİK AKUT BÖBREK
YETMEZLİĞİNDE BAİCALİNİN ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Özlem YALÇINKAYA YAVUZ

Referans no: 10017559

EDİRNE 2013

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

ONAY

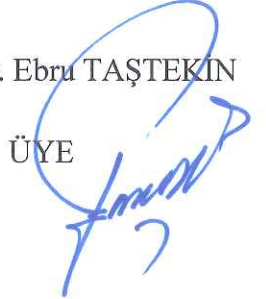
Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi **Özlem YALÇINKAYA YAVUZ** tarafından tez başlığı **Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Yetmezliğinde Baicalinin Etkileri** olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 26/09/2013 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **“Yüksek Lisans Tezi”** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK

JÜRİ BAŞKANI


Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

ÜYE


Yrd. Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN

ÜYE

Yukarıda imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Tammam SİPAHİ

Enstitü Müdürü

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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK
YETMEZLİĞİNDE BAİCALİNİN ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Özlem YALÇINKAYA YAVUZ

Destekleyen Kurum: TÜBAP-2012/199

Tez No:

EDİRNE 2013

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde beni yetiştiren, çalışmam sırasında bilimsel katkıları ile yardımlarını esirgemeyen tez danışman hocam sayın Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya, yetişmemde emeği olan 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 TAŞTEKİN, Doç. Dr. Necdet SÜT, Meryem D. POYRAZ, Çiğdem ATAGÜN ve sevgili eşime, Deneş Hayvanları Araştırma Birimi çalışanlarına, diğer tüm anabilim dalımız Lisansüstü öğrenci ve çalışanlarına ve TÜBAP'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
KASLARIN YAPISI VE FONKSİYONU	3
RABDOMİYOLİZ	3
KOMPARTMAN SENDROMU	5
AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ	6
MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ	7
NİTRİK OKSİT	8
SERBEST RADİKALLER	10
ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	15
BAİCALİN	16
GEREÇ VE YÖNTEMLER	19
BULGULAR	27
TARTIŞMA	52
SONUÇLAR	61
ÖZET	63
SUMMARY	65
KAYNAKLAR	67
EKLER	80

SİMGE VE KISALTMALAR

ABY :	Akut Böbrek Yetmezliği
ALT :	Alanin Aminotransferaz
AST :	Aspartat Aminotranferaz
ATN :	Akut Tübüler Nekroz
ATP :	Adenozin Trifosfat
BH₄ :	Tetrahidrobiopterin
cGMP :	Siklik Guanozin Monofosfat
CK :	Kreatin kinaz
cNOS:	Yapısal Nitrik Oksit Sentaz
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
eNOS:	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
FAD:	Flavin Adenin Dinükleotid
FMN:	Flavin Mononükleotid
GFR:	Glomerüler Filtrasyon Hızı
GSH:	Okside Glutatyon
H₂O₂:	Hidrojen Peroksit
HPETE :	Hidroperoksi Eikosatetraenoik asidin
IL:	İnterlökin
I/R:	İskemi/Reperfüzyon
im :	İntramüsküler
iNOS:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

ip :	İntraperitonal
MABY :	Miyoglobürik Akut Böbrek Yetmezliği
MDA:	Malondialdehit
NADP:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz
NF-κB :	Nükleer Faktör Kappa B
nNOS :	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO :	Nitrik oksit
NO₂:	Nitrojen dioksit
NO₃⁻ :	Nitrat
NOS:	Nitrik Oksit Sentaz
O₂⁻:	Süperoksit Radikali
OH:	Hidroksil Radikali
PPARγ :	Peroxisome Proliferators-Activated Receptors Gamma
RNA:	Ribonükleik Asit
SDS :	Sodyum Dodesil Sülfat
SOD:	Süper Oksit Dismutaz
TBA:	Tiyobarbutirik Asit
TNFα:	Tümör Nekroz Faktör α
UVB:	Ultraviyole B

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek yetmezliği (ABY), lokal ve sistemik sebeplere bağı olarak gelişen ve tüm sistemleri etkileyen, renal fonksiyonlarda ani azalma ile karakterize, yaygın bir klinik sendromdur. Glomerüler filtrasyon hızındaki (GFR) azalma, vücutta üretilen toksik metaboliklerin atılımındaki bozukluklar ABY'yi gösterir (1).

Rabdomiyoliz, travma ve travma dışı çizgili kas hücrelerinin hasara uğraması, sonrasında kas hücresi içeriğinin dolaşıma geçerek klinik ve laboratuvar bulgularına yol açar (2,3). Rabdomiyolizin oluşma nedenleri arasında kronik potasyum eksikliği, alkolizm, ağır egzersiz, kas kompresyonları, viral enfeksiyonlar sayılabilir (2,4). Rabdomiyolizin non-travma nedenlerinin yanında maden göçükleri, trafik kazaları, savaşlar, doğal afetler ve depremler gibi travma nedenleri de bulunmaktadır (5). Rabdomiyoliz sonrasında birçok sistemik sorunla karşılaşılabilir. Bunlar arasında en önemlisi ise akut böbrek yetmezliğidir (6).

Miyoglobürik akut böbrek yetmezliği (MABY), travmatik ve non-travmatik nedenlerle iskelet kaslarının hasarı sonrası gelişen üremik bir sendromdur (7). Crush (ezilme) sendromu, travmanın neden olduğu rabdomiyoliz sonucunda meydana gelen, medikal ve cerrahi zeminde birçok komplikasyona yol açan sistemik bir tablodur (2). İnsanlarda gelişen MABY'nin sıçanlardaki deneysel modelinde; hipertonic gliserolün intramüsküler (im) enjeksiyonu ile MABY geliştirilir. Bu model insanlarda gelişen MABY'ye özdeş kabul edilir. Hipertonic gliserolün im enjeksiyonu miyoliz, hemoliz ve hipovolemiye neden olur. Miyoliz ve hemoliz sonucu dolaşıma salınan miyoglobin ve hemoglobin gibi hem proteinleri içerdikleri serbest demir aracılığıyla miyoglobürik ABY'nin patogeneğinde kritik bir rol oynarlar (7).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda MABY'nin patofizyolojisinde nitrik oksit (NO) ve reaktif oksijen metabolitlerinin önemli rol oynadığı belirtilmektedir. Antioksidanların esas görevi, serbest radikal oluşumunu önlemektir (8).

Çin tıbbında epilepsi, hepatit, kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan baicalin ‘‘Scutellaria baicalensis’’ bitkisinin köklerinden baicalin elde edilmektedir. Baicalinin laboratuvar çalışmalarında karaciğer kanseri ve lösemi hücrelerini öldürdüğü, aynı zamanda bakterisit, antioksidan ve antiinflamatuvar etkili olduğu gösterilmiştir (9,10).

Çalışmamızda sıçanlara hipertonic gliserolün im verilmesiyle oluşturulan MABY'nin deneysel modelinde; Baicalinin lipit peroksidasyonun bir parametresi olan malondialdehit (MDA) ve Glutasyon düzeyini, doku, serum ve idrar NO düzeylerini, böbrekteki histopatolojik değişiklikleri ile böbrek fonksiyonları üzerindeki etkilerini ve etki mekanizmasını araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

KASLARIN YAPISI VE FONKSİYONU

Sağlıklı bir insanın vücudundaki en büyük organı iskelet kaslarıdır, vücut ağırlığının yaklaşık %40'ını oluşturur. Kas hücreleri birleşerek kas liflerini, kas lifleri de kasları oluştururlar. İnsanda yapı ve çalışma bakımından üç çeşit kas bulunur: Düz (beyaz) kaslar, çizgili (iskelet veya kırmızı) kaslar ve kalp kaslarıdır (2).

Kasın görevi, biyokimyasal enerjiyi mekanik enerjiye çevirmektir, dolayısıyla hareketleri gerçekleştirmektir. Hareketleri gerçekleştirmek için kasların ve sinir sisteminin birbirleri ile uyumlu bir şekilde çalışması gerekir. Bir hareket yapılacağında sinir ve kas hücrelerinde uyarının iletilmesi için hücre içi ve dışı ortamları arasındaki elektrolit düzeylerinin birbirinden farklı olması önemli rol oynar. İskelet kası 5 mg/g veya daha çok miyoglobülin içerir. Kasta oksijen taşıyan protein miyoglobindir, kas kontraksiyonu sırasında fazla miktarda oksijene ihtiyaç vardır, bu oksijeni özel bir protein olan miyoglobin depolar (2).

RABDOMİYOLİZ

Rabdomiyoliz; çizgili kasın travma ya da travma dışı nedenlerle erimesi, parçalanması olup kas hücre içi elemanlarının sistemik dolaşıma geçmesidir (11). Rabdomiyoliz oluşumuna neden olan komplikasyonlar arasında; ABY, dissemine intravasküler koagülasyon, hiperkalemi, hipovolemik şok akut kardiyomiyopati, kompartman sedromu, gergin, ödemli, ağırlı kaslar, hiperpotasemi, asidoz, kalp yetersizliği, solunum yetmezliği ve infeksiyondur (12).

Kas hücrelerine enerji üreten maddelerin yeterli düzeyde ulaşamaması, enerji üretiminde bozukluklar ve hücre içine kalsiyum göçü rabdomiyolizin oluşmasına zemin hazırlar. Kasta çok miktarda kalsiyum, aktin, miyozin filamentleri birikimi nekroza ve kasın yıkımına neden olur. Kasın yıkımı ile birlikte çok fazla fosfat, potasyum, miyogloblin, urat ve kreatin kinaz da dolaşıma sızar (13).

İskelet kası 5 mg/g veya daha çok miyoglobülin içerir. Kas zedelenmesi olduğunda dolaşıma çok miktarda miyoglobülin geçer. Miyoglobülin 17 kDa ağırlığındadır ve serbest kısmı glomerül filtrasyonu ile ultrafiltrata geçer. Proksimal tüpte reabsorbe olur ve kalanı idrar ile miyoglobülin olarak atılır Miyogloblinürinin renal eşik değeri 1.5 mg/dl'dir. Plazma miyogloblin miktarı eşik değeri aşabilmesi için 100 g kasın hasara uğraması gereklidir. Miyogloblin miktarı eşik değeri aştığında ultrafiltrata çok miktarda miyogloblin geçer. Proksimal tüpteki ultrafiltrat pH'sı yoğun bikarbonat emilimine bağlı olarak asidiktir (14).

Rabdomiyolizin Epidemiyolojisi

Ezilme sendromu daha çok orta yaş grubundaki hastalarda görülür. Yaşlıların, felaket sırasındaki ölüm riskinin daha yüksek olduğu, çocuklarda da ise ezilme sendromunun daha az görüldüğü saptanmıştır. Çocuklarda kas kütleleri az olduğu için rabdomiyoliz ve buna bağlı ezilme sendromu daha seyrek ortaya çıkar. Öte yandan bu sendromun gelişmesi riski erkek ve kadınlar arasında anlamlı bir farklılık göstermez. Yerleşim merkezleri dikkate alındığında ezilme sendromu gelişmesi bakımından en yüksek risk, depremin merkez üssünde yaşayanlarda ortaya çıkar; bölgeden uzaklaştıkça risk de azalır. Depremler ertesindeki tüm yaralanmaların yaklaşık %2 ile %5'inde ezilme sendromu, yine tüm yaralanmaların yaklaşık %1,5'inde ABY gelişeceği varsayılır. İlk bakışta düşük gibi görünen söz konusu oranlar, felaketler sonrasındaki on binlerce yaralı göz önüne alındığında, çok sayıda ABY'li olgu ortaya çıkabileceğine işaret eder (2).

Rabdomiyolizin Etyolojisi

Rabdomiyoliz sebepleri fiziksel olan ve fiziksel olmayanlar şeklinde 2 gruba ayrılır. Fiziksel olmayan nedenlerden sık rastlananları alkol ve değişik ilaçların kullanımı, elektrolit bozuklukları (özellikle hipopotasemi ve hipofosfatemi) ve infeksiyonlardır. Fiziksel nedenler arasında ise trafik, depremler ve maden kazaları, elektrik çarpmaları, aşırı egzersiz ve belirli pozisyonlarda uzun süre kalınması (ameliyatlar sırasında hastaya yanlış pozisyon verilmesi, uzun süreli şuur kayıpları vb.) şeklindedir. Fiziksel sebeplere bağlı gelişen rabdomiyolizde kasın baskı altında kalması (baromiyopati) ön planda rol oynar (2).

Baromiyopati sonucunda sarkolemmanın geçirgenliği bozulur; kas hücresi içinde aşırı miktarda bulunan potasyum, miyoglobin, kreatin gibi maddeler hücre dışı ortama geçer; sodyum, klorür, su ve kalsiyum hücre içine süzülür, böylece hücre ödemi ortaya çıkar. Oluşan ödem klinikte “kompartman sendromu”na yol açar. Membran geçirgenliği artmasının en önemli sonuçlarından biri de hücre içi kalsiyum düzeyinin yükselmesidir. Değişik nedenlere bağlı olarak gelişen ATP eksikliği sonucunda, sarkolemmadaki $Na^+ -K^+$ ATPaz ve Ca^{2+} ATPaz pompalarında yetersizlik ortaya çıktığı için, sitozolik kalsiyum düzeyi normale çekilemez. Artmış kalsiyum proteolitik enzimleri aktive eder; bu enzimlerin de kas liflerinde lizise yol açması ile rabdomiyoliz ortaya çıkar. Baromiyopatiye veya başka nedenlere bağlı olarak gelişen kas iskemisi ile bu iskeminin düzelmesi ile gelişen iskemi-reperfüzyon hasarı da rabdomiyoliz patogeneğinde rol alan önemli faktörlerdir (2).

Rabdomiyoliz seyrinde ezilme sendromu ve ABY ortaya çıkmasında değişik etkenler rol oynar. Bunların içinde en önemlisi kompartman sendromuna sekonder hipovoleminin böbrek kanlanması bozmasıdır. Kaslardan açığa çıkan miyoglobin hem doğrudan toksik etki ile, hem de tübüler tıkaçlara yol açarak ABY patogeneğine katkıda bulunur. Bunun dışında, hipovoleminin uyardığı vazokonstriktör hormon ve sitokinler de perfüzyon bozukluğunu artırır. Diğer bazı faktörler de (miyoglobinden açığa çıkan demir iyonları, reperfüzyon hasarı, endotoksinler, hiperfosfatemi, hiperürisemi ve dissemine intravasküler koagülasyon) ezilme sendromu seyrinde ortaya çıkan ABY'nin patogeneğinde rol alabilir (2,14).

KOMPARTMAN SENDROMU

Bir grup organ veya kas, vücutta kompartman denen alanların içinde toplanmıştır. Bu kompartmanların yüzeyinde fasya adında kalın bağ doku ağları bulunur. Bir yaralanma sonrasında, bu kompartmanların içinde darbe veya iltihaplanma sonucu oluşan kan ve ödem birikebilir. Fasyanın kalın duvarları bu durum karşısında kolayca genişleyemez ve kompartmandaki iç basınç artmaya başlar. Bu bölgedeki basıncın, kompartman içindeki kan dolaşımını bozması ve buradaki dokuların fonksiyonunu engelleyecek kadar artması sonucu kompartman sendromu meydana gelir. Bu durum, vücudun işlevini olumsuz etkileyecek, hatta ölüme neden olacak kadar ciddi doku hasarına yol açabilir (2,14).

AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

Akut böbrek yetmezliği; böbrek fonksiyonlarının saatler ve günler içerisinde azalması ya da kaybı, nitrojenli artıkların atılımının gerçekleşmemesi, sıvı ve elektrolit dengesinin korunamaması gibi belirtilerle ortaya çıkan böbrek fonksiyonlarının ani kaybı olarak da nitelendirilen, pek çok organ ve sistemi de etkileyen bir hastalıktır.

ABY'den söz edebilmek için aşağıdaki koşulların bulunması gerekir:

- Serum kreatinin bazal değer üzerinde 0,5 mg/dl artışı,
- Serum kreatininin %50 artışı,
- Kreatin klirensinin %50 azalması,
- Renal fonksiyonların diyaliz gerektirecek düzeyde azalmasıdır (15).

ABY'nin nedenleri olarak: prerenal, intrinsik renal ve postrenal ABY olmak üzere üç sınıfa ayrılır:

Prerenal Akut Böbrek Yetmezliği

Böbrek parankimasının korunarak böbrek kan akımı bozukluğuna karşı oluşan fonksiyonel bir yanıtır. Böbrek kan akımı normale döndüğünde geriye döner. Atım hacminde azalma, hipovolemi, sistemik vazodilatasyon ve renal vazokonstriksiyon prerenal ABY nedenleridir (15,16).

İntrinsik Renal Akut Böbrek Yetmezliği

İskemik ve nefrotoksik yaralanmalar sonucunda böbreğin glomerül, tübül, damar, interstisyum gibi bölümlerinin etkilenmesiyle yapısal değişiklikler meydana gelir (17). Prerenal ABY'den farkı böbrek parankiminde hasar oluşmasıdır, fraksiyonel sodyum atılımı %1' in altındadır ve idrar ozmolaritesi izotoniktir. Tedavi edilmeyen prerenal yetmezlikte tübüler hasar ve nekroz meydana gelir; bu da intrinsik ABY oluşumuna neden olur. Akut tübüler nekroz (ATN) intrinsik ABY'nin oluşmasının en büyük nedenidir. Bundan dolayı sıklıkla ATN ile aynı anlamda kullanılmaktadır (5,16-18).

Postrenal Akut Böbrek Yetmezliği

En sık sebepleri, mesane boynu tıkanmasıdır ki; prostatik hastalık, nörojenik mesane ve antikolinergik tedavi sonucu ortaya çıkabilir. Daha az sık sebepleri; alt üriner yolun taş, pıhtı, spazmlı üretrit ile tıkanmasıdır. Tıkanmanın erken dönemlerinde (saatler-günler) glomerüler filtrasyon daha devam ettiğinden proksimalde genişleme olur ve GFR azalır.

Başlangıçta renal kan akımı artar. Ancak daha sonra vazokonstriksiyon oluşarak böbrek kan akımı azalır. Bu da GFR'nin daha da azalmasına sebep olur (19-22).

Akut Tübüler Nekroz

İskemik ATN, daha çok majör cerrahi girişim, travma, ileri hipovolemi, ağır yanık ve sepsis sonucu oluşur, Prerenal ABY de olduğu gibi renal perfüzyonun düzelmesi ile tekrar düzelmez ve ileri formunda renal hipoperfüzyon, kortikal nekroz ve geri dönüşümsüz böbrek yetmezliğine yol açar.

Nefrotoksik ATN, endojen veya ekzojen toksinlere bağlıdır. Toksinler, intrarenal vazokonstriksiyon, doğrudan tübül toksisitesi veya intratübül obstrüksiyona yol açarak ABY'ye sebep olurlar. MABY'nin patolojik mekanizmalarından birisi olan hem proteinlerinin oluşturduğu tübüler nekroz ATN'ye zemin hazırlar (19-22).

MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

Miyoglobinürik akut böbrek yetmezliği, travmatik ya da travma dışı nedenlere bağlı gelişen iskelet kaslarının hasarı ve hasar sonucu hücre içi elemanlarının sistemik dolaşıma geçmesi ile gelişen üremik bir sendromdur (2).

“Crush” kasın ezilmeye, travmaya maruz kalması anlamlarına gelir. Crush sendromu terimi bu travmanın yol açtığı rabdomiyoliz ve buna bağlı olarak gelişen bulguları içeren komplike tablodur (2,6,19).

Miyoglobinürik akut böbrek yetmezliği için 3 patolojik mekanizma:

- a) Hem proteinlerinin oluşturduğu tübüler nekroz ,
- b) Tübüler obstriksiyon
- c) Renal vazokonstriksiyondur (23,24).

a) Hem proteinlerince oluşturulan tübüler nekroz: Rabdomiyoliz ile oluşan akut böbrek yetmezliğinde, lipit peroksidasyonunun ve tübüler obstrüksiyonunda önemli rolü vardır. Miyoglobinin kendisi toksik etkili değildir ancak, idrar pH'nı asidikleştirmesi ile toksik olan miyoglobin ferrihemata dönüşür. Miyoglobin ferrihemat ile birlikte oluşan asidemi ve dehidratasyonun bu toksisiteyi artırdığı gösterilmiştir. Miyoglobin ile birlikte göç eden diğer toksik maddelerin de tübülüste farklı mekanizmalar ile nekroz oluşturabileceği bildirilmiştir (3). Hem proteinin tübülüs hücrelerine reabsorbsiyonu hücreleri iskemiye daha duyarlı hale getirir, toksik sitokinlerin ve serbest radikallerin oluşumunu uyarır, bu olaylar da ATN'ye zemin hazırlar (25).

Miyoglobin glomerüler filtarata 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 (2).

b) Tübüler obstrüksiyon: Fazla miktarda miyoglobinin glomerülden filtre edilmesiyle miyoglobinin tübülerde konsantrasyonu artar, asidik idrar Tamm-Horsfall proteinleri ile miyoglobin 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 (2)

c) Renal vazokonstriksiyon: NO renal dolaşımda vazodilatatör etkilidir; ancak rabdomiyoliz ile açığa çıkan demir proteinleri güçlü NO çöpçüleridir. Süperoksitin NO ile reaksiyonu sonucu NO depoları biter ve bu durum vazokonstriksiyona neden olur. Rabdomiyoliz sonucu oluşan hipovolemi; sempatik sinir sistemi ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini aktive ederek vazokonstriksiyona neden olan anjiyotensin-II, tromboksan A2, endotelin ve vazopressin hormonlarını uyarmaktadır (2,26).

NİTRİK OKSİT

Nitrik oksit difüzyon yoluyla hücre membranından kolayca geçebilen renksiz bir gaz molekülü olup, endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak da tanımlanır. Çeşitli formlardaki nitrik oksit sentezleyen (NOS) enzim L-arjinin aminoasidinden guanido grubunun hidrosilasyonu ile NO ve L-sitrülin sentezini katalizlemektedir. Reaksiyonda tetrahidrobiopterin (BH₄), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve demir protoporfirin IX (hem) kofaktör olarak kullanılmaktadır ve sonuçta NO, L-sitrülin ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP) oluşmaktadır. NO, dokularda ve oksijenlenmiş fizyolojik sıvılarda çabuk yıkılır ve yarılanma ömrü kısadır (27).

Böbrek kan akımında, tübüler geri emilimde, vasküler tonusun ayarlanmasında ve GFR'de NO önemli rol oynamaktadır. Ayrıca böbrek afferent arteriyolünde ve mikrosirkülasyonda vazodilatatör etkilidir (28).

NOS enzimleri aktif haldeyken 134 kd'luk iki monomerden oluşan dimerik yapıdadır. N- terminal oksijenaz bölgesinde hem, BH₄ ve L-arjinin bağlanma bölgeleri bulunmakta, C terminal redüktaz bölgesinde ise FAD, FMN ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz

(NADPH) için bağlanma bölgeleri bulunmaktadır. Bu iki bölge Ca^{2+} /kalmodulin tanınma sahası ile birbirine bağlanmıştır.

Vücutta yaygın olarak bulunan ve çeşitli fonksiyonlarda görev alan NOS enzimlerinin, üç farklı izoformu bulunmaktadır. Bu izoformlar farklı genler tarafından kodlanmakta ve her bir izoformun lokalizasyonları, regülasyonları, katalitik özellikleri ve inhibitör duyarlılıkları farklıdır (27).

NOS'un 3 izoformu bulunmaktadır:

1) NOS-1, Tip-1 NOS, nöronal NOS (nNOS) olarak bilinir. Nöronal ve epitel hücreleri tarafından üretilir. nNOS esas olarak santral sinir sisteminde ve periferik nitrejik sinirlerde bulunmakta ve nörotransmitter/nöromodülatör olarak görev yapmaktadır.

2) NOS-2, Tip-2 NOS, indüklenmiş NOS (iNOS) olarak bilinir. Makrofajlarda ve düz kas hücreleri tarafından üretilir. Hücre ve dokularda yaygın olarak bulunmaktadır. Fizyolojik olarak non-spesifik immünitede görev almasının yanı sıra esas olarak şok durumları, inflamatuvar hastalıklar gibi patolojik olaylarda rol oynamaktadır.

3) NOS-3, Tip-3 NOS, endotelial NOS (eNOS) olarak bilinir. İlk olarak vasküler endotelial hücrelerde tanımlanmıştır. eNOS kardiyovasküler sistemde vasküler düz kas gevşemesi, damar tonüsü, trombosit agregasyonunun inhibe edilmesi gibi fizyolojik olaylarda görev almaktadır. Her üç izoform da ilk tanımlandıkları yerler dışında çeşitli dokularda yaygın olarak bulunmakta ve fizyolojik ve patolojik olaylarda görev almaktadırlar (28-30).

NOS-1 ve NOS-3 ikisi birlikte yapısal NOS (cNOS) enzimleri olarak bilinirler. Bu enzimler hücre içinde lokalizedirler ve aktif hale gelmek için kalsiyum ve kalmodiline ihtiyaç duyarlar. iNOS, farklı sitokin ve endotoksinlere (interlökin-1, $TNF\alpha$) cevap olarak makrofajlar ve diğer ilgili hücrelerden sentezlenir. Bu indüklenbilme yeteneği neticesinde de iNOS olarak tanımlanır. İmmün sistem ile olan ilişkisinden dolayı da immünolojik NOS da denir. iNOS enziminin fonksiyonu kalsiyum ve kalmodiline bağlı değildir. iNOS, diğer NOS izoformlarına göre, uzun süreli ve daha çok miktarda NO sentezlenmesine sebep olur bu da NO'nun fizyolojik etkilerini şiddetlendirir (28-30).

Yarılanma ömrü kısa ve kararsız bir molekül olan nitrik oksit, endotelden salındıktan sonra guanilat siklazın hem molekülüne bağlanarak hücrede cGMP artışına neden olur. Ardından bu enzimden ayrılan NO, nitrite dönüşür, önce plazmaya sonra da eritrositlere geçer. cGMP hücre içindeki kalsiyumu sarkoplazmik retikuluma ve hücre dışına geri pompalar. Hücre içi kalsiyum miktarındaki azalma, potasyum kanallarının açılmasına ve hiperpolarizasyon ile birlikte damar dilatasyonunu meydana getirir. Eritrositlere geçen NO,

oksi-hemoglobinden (HbO_2) gelen oksijenin ilavesi ile nitrata (NO_3) dönüşür. Oluşan nitrat plazmaya verilerek böbrekler yoluyla atılır. (30).

NO 'ın direkt ve dolaylı etkileri vardır: Direkt etkisi, NO 'ın metal komplekslerle birleşmesi sonucu açığa çıktığı belirtilmektedir. Endotelde üretilen NO damar düz kasına difüze olur, burada çözünmüş guanilat siklazın demirine bağlanarak bu enzimi aktive eder (29). Bu enzimin aktivasyonu guanozin monofosfat (GMP) miktarının artmasına (30). Miktarı artan cGMP hücrelerarası kalsiyum düzeyini azaltır ve düz kas hücrelerinde gevşemeyi sağlar (31). iNOS katalizörlüğünde meydana gelen fazla miktardaki NO 'nun, süperoksit ile reaksiyonu sonucu peroksinitrit oluşması NO 'nun dolaylı etkisidir. Peroksinitritin parçalanması ile güçlü oksidan özelliğe sahip NO_2 ve OH^- oluşur, bu moleküller lipit peroksidasyonuna yol açarlar (29,32).

Nitrik oksit, böbreklerde birçok önemli fizyolojik rolü vardır. Bunlar; renal ve glomerüler hemodinamiğin, medullar perfüzyonun korunması, tübüloglomerüler geribildirim kontrolü ve tübüler sodyum geri emiliminin inhibisyonudur (27). Nitrik oksit, elektrolit ve sıvı geri emiliminde direkt tübüleri etkileyerek, solüt ve sıvı taşınmasında da önemli bir rol oynar (34,35).

NO proksimal tüpte $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ değişimini, henle kulpunda Cl^- emilimini, toplayıcı kanallarda antidiüretik hormon (ADH)'a bağlı olarak ozmotik su geçirgenliğini sağlar ayrıca proksimal tüp ve henle kulpunda $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz'ı inhibe eder (34,35).

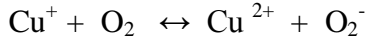
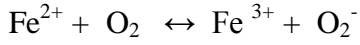
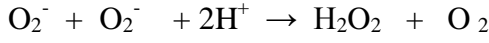
SERBEST RADİKALLER

Bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektronu yapılarında bulunduran reaktif durumda atom ya da moleküllerdir. Serbest radikaller dayanıksız moleküller olup elektronları diğer moleküllerle hızlı şekilde etkileşime girerek oksidatif stres meydana getirir. Geçiş metallerinin (Fe^{+3} , Cu^{+2} , Mn^{+2}) eşleşmemiş elektronları olmasına rağmen serbest radikal değildirler; fakat bu iyonlar kimyasal reaksiyonlar sırasında katalizörlük görevi yaparlar ve serbest radikal oluşumuna katkıda bulunurlar (33,36,37).

Oksijen, serbest radikallerin üretiminde önemli rolü vardır. Eşleşmemiş iki tane elektronu olması serbest radikallerle kolayca reaksiyona girebilmesine neden olur. Oksijen hücre içinde enerji üretimi için gerçekleşen reaksiyonların ardından suya dönüşür; fakat oksijenin %1-3'ü suya dönüşmez ve çok sayıda reaktif ürünler oluşabilir. Hidrojen peroksit, peroksinitrit, hidroksil, süperoksit anyonu, singlet oksijen radikali böbrekte üretilen başlıca oksijen radikalleridir (38).

Süperoksit Radikali

Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikal anyonu oluşur. Süperoksit radikali, hidrojen peroksiti oluşturur ve geçiş metallere iyonlarının indirger.

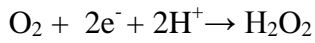
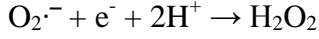


Süperoksit radikali, serbest radikal olmasına rağmen direkt zarar vermez, hidrojen peroksiti oluşturması ve geçiş metal iyonlarını indirgeyerek zarar verir (35, 36). Ayrıca süperoksit radikali serbest bir radikal olan NO ile birleşerek reaktif proksinitriti oluşturur, oluşan ürün NO'nun etkilerini inhibe eder, protein, lipid, nükleik asitler üzerine de zararlı etkileri vardır. Süperoksit radikalının perhidroksil radikali ile reaksiyona girmesi durumunda hidrojen peroksit ve oksijen meydana gelir (39).



Hidrojen Peroksit

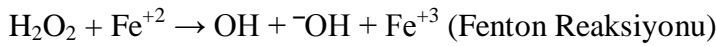
Biyolojik sistemlerde süperoksidin indirgenmesi sonucu oluşan, membrandan kolayca geçebilen ve uzun ömürlü bir oksidandır.



Hidrojen peroksidin kendisi serbest radikal olmamasına rağmen süperoksit ile birleşerek, en reaktif toksik etkili hidroksil radikalini oluşturur (40).

Hidroksil Radikali

Hidroksil radikalleri birkaç yolla oluşur; suyun hidrolizi ile oluşabilirken (Haber Weiss Reaksiyonu), aynı zamanda hidrojen peroksit ve demirin birleşmesi (Fenton Reaksiyonu) ile de oluşur



Hidroksil radikalleri en reaktif serbest radikallerdir, vücuttaki serbest radikal hasarının önemli sorumlularıdır (33).

Singlet Oksijen

Eşleşmemiş elektronu bulunmadığından radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu oluşur. Singlet oksijen molekülü diğer moleküllerle tepkimeye girdiğinde ya enerjisini transfer eder ya da kovalent tepkimelere girer.

Özellikle doymamış yağ asitlerindeki gibi karbon-karbon çift bağları ile girer ve peroksi radikalının oluşmasına neden olur (41).

Serbest Radikallerin Etkileri

Normal şartlar altında sağlıklı bir vücuttaki savunma mekanizmaları ile serbest radikal düzeyleri dengededir. Serbest radikallerin oluşumu savunma mekanizmasının kapasitesini aşmaları durumunda organizmada çeşitli bozukluklar ortaya çıkar (33,36). Serbest radikaller, hücrelerin nükleik asit, lipit, protein, karbonhidrat, enzim, hücrenel organel, gibi yaşamsal komponentlerini olumsuz yönde etkilerler. Hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu arttırırken, mitokondrilerde aerobik solunuma ve kapiller geçirgenliğe zarar verirler. Ayrıca bazı savunma sistemlerini inhibe ederler (36).

Nükleik asit ve Deoksiribonükleik Asit (DNA) üzerine etkileri

İyonize radyasyonla oluşan serbest radikallerin hücrede zarar verdiği önemli moleküllerden biridir. DNA'nın temel yapısındaki pürin ve pirimidin bazlarını etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar (36,42). Hidroksil radikali DNA molekülünün oluşturan tüm yapılarla kolayca reaksiyona girebilmektedir; reaksiyon sonucunda oluşan modifiye şeker ve bazlar ise DNA-protein çapraz bağlarında çeşitliliğe neden olur. Hücre zarından kolayca geçebilen hidrojen peroksit hücre çekirdeğine ulaşır DNA hasarına, hatta hücre ölümüne neden olur. Bu nedenle DNA serbest radikaller için kolay zarar görebilir bir hedefdir (33,36).

Membran lipitlerine etkileri

Normal şartlar altında bir metabolizmada mitokondri sitokrom sistemi, hücrenin organellerini oksidanların zararlı etkilerinden korur. Bu sistem cevap veremediği durumlarda doğal enzimler devreye girer. Eğer enzimler gerekli cevabı veremedikleri takdirde oksidanlar hücrede ilk olarak hücre zarındaki lipitleri etkilerler (42). Serbest oksijen radikallerinin membran yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girmesi ve bu reaksiyon sonunda çeşitli peroksitler, aldehitler, alkoller gibi ürünlerin açığa çıktığı reaksiyonlara lipit peroksidasyonu denir. Spontan olarak zincir reaksiyonu şeklinde başlayan lipit peroksidasyonu otokatalitik reaksiyonlarla devam eder (40).

Lipit peroksidasyonu enzimatik ve non-enzimatik olarak ikiye ayrılır;

- Enzimatik lipit peroksidasyonu; lipitlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimidir
- Non enzimatik lipit peroksidasyonu ise diğer radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonudur.

Lipit peroksidasyonunu başlatan radikaller hidroksil radikali, süperoksit radikali, peroksil radikali ve alkoksil radikalidir. Lipit peroksitleri hücre zarlarının önemli bir bileşeni olup; Fe, Cu gibi geçiş metallerinin varlığında lipit peroksidasyonunu hızlandırır ve alkoksil, peroksil radikallerini oluşturular. Reaksiyonlar sırasında membranın akışkanlığını ve geçirgenliğini bozarak geri dönüşümsüz hasarlar oluşur; bu da organizmaya büyük zarar verir (42,44).

Lipit peroksidasyonu, kuvvetli bir oksidan sayesinde doymamış yağ asidi zincirindeki metilen grubundan hidrojen atomunun ayrılması ile başlar. Bundan sonra yağ asidi zinciri dayanıksız bir kompleks olan lipit radikali karakteri kazanır. Lipit radikali oksijen molekülü ile etkileşerek lipit peroksil radikalini oluşturur, bu radikal de membrandaki diğer doymamış yağ asitleri ile etkileşerek yeni lipit radikallerini oluştururken diğer yandan açıkta bulunan hidrojen atomunu alarak lipit hidroperoksitlerini oluşturur (44).

Lipit hidroperoksitlerinin yıkımı, geçiş metalleri iyonlarının katalizini gerektirir ve bu yıkım sonunda aldehitler meydana gelir. Aldehitler lipit peroksidasyonu sonucu oluşan en toksik ürünlerdir ya hücrede enzimler tarafından metabolize olur ya da hücrenin diğer bölümlerine geçerek hasarı yayarlar. Kaslarda hasarla birlikte gelişen peroksidasyon şu mekanizmayla oluşur; kaslardaki hasarla birlikte hücre içi kalsiyum seviyesinde bir artış meydana gelir. Hem bu artışın hem de kaslardaki hasarın etkisi sonucunda hücre zarı fosfolipitlerinden fosfolipaz A2 salıverilir. Bunun sonucunda araşidonik asit miktarında artışa, bu artışta lipooksijenaz yolu üzerinden hidroperoksi eikosatetraenoik asidin (HPETE) oluşmasına neden olur. Bu olay sonucunda HPETE nin etkisi ile peroksidasyon ve sonuçta hücre canlılığının kaybolması gelişir. Peroksidasyon sonucu oluşan mutajenik etki gösteren ürünler; malondialdehit ve Hidroksinonenaldır (45).

Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden non-enzimatik oksidatif lipit peroksidasyonun son ürünü olan ve yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbütirik asitle ölçülebilen malondialdehit (MDA) oluşur. MDA, proteinlerle reaksiyona girebilir, membranlardan kolayca geçerek DNA yapısındaki nitrojen bazlar ile reaksiyona girebilir, bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik etkileri vardır (37).

Membran yapısında deformasyon, enzim aktivitesi, iyon transportu gibi değişimler, membran permeabilitesi ve mikroviskozitesinin zarar görmesi, MDA'nın membran bileşenlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyonu sonucu oluşur (44,46).

MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir. Fakat lipit peroksidasyonunun derecesi ile iyi korelasyon gösterdiği için lipit peroksit seviyesinin ölçümünde kullanılır (44).

Proteinler üzerine etkileri

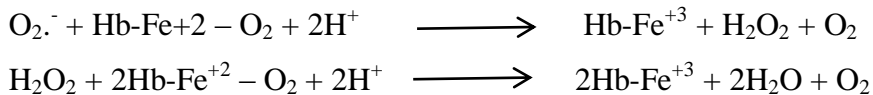
Serbest radikallere duyarlı aminoasit kompozisyonları etkileşimi sonucunda protein yapıları etkilenir. Metionin, fenilalenin, histinin triptofan, tirozin gibi doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlere sahip proteinlerin serbest radikal reaktivitesi yüksektir bu yüzden kolaylıkla serbest radikallerden etkilenir. Proteinler serbest radikal hasarından ne kadar etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır (47).

Protein moleküllerinin sülfür radikaller ve karbon merkezli radikaller ile etkileşmesi sonucunda proteinlerde yapısal olarak değişiklikler oluşur. Bu değişiklikler sonucunda fazla disülfid bağı içeren protein yapılarında bozulmalar ve proteinlerin işlevlerinde sorunlar gözlenir;

- 1) Aminoasitlerin modifikasyonu,
- 2) Proteinlerin fragmentasyonu,
- 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır (37).

Serbest radikallerin etkisiyle fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapısı zarar görür ve normal fonksiyonlarını yerine getiremezler, hücrenin canlılığını olumsuz yönde etkiler. Membranda bulunan enzim veya reseptörlerde protein yapısında oldukları için serbest radikallere oldukça duyarlıdır ve protein oksidasyonu sonucu hücrenel ve membran fonksiyonları önemli derecede zarar görür (42).

Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar gören proteinlerden olup, özellikle oksihemoglobinin, süperoksit ve hidrojen peroksit ile reaksiyonu sonucu methemoglobini oluşturur (48).



Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratların üzerinde de önemli etkileri bulunmaktadır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler, okzoaldehitler oluşur

ve bu oluşan serbest radikaller, zararlı etkileri ile birçok hastalığın ortaya çıkmasına katkıda bulunurlar (37).

Koroner kalp hastalığı, diyabet komplikasyonları, hipertansiyon, psoriasis, romatoid artrit, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretimi arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının ise bu durumda yetersiz kaldığı rapor edilmiştir (37).

Serbest radikallerden oksaloaldehytler, DNA, ribonükleik asit (RNA) ve proteinlere bağlanır ve çapraz bağlar oluşturarak antimitotik etki gösterirler. Bu sayede kanser ve yaşlanma gibi olaylarda rol oynarlar. Doymamış yağ asitleri ve karbonhidrat oksidasyonu ürünü olan glikokaliks ise hücre bölünmesini inhibe ederek zararlı olur (36).

ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Hücrelerde serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidan hasarı önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere geliştirilen savunma mekanizmasına antioksidan savunma sistemi veya antioksidanlar denir. Serbest radikallerin oluşma hızı ve organizmanın savunma hızı dengede olduğu sürece organizma serbest radikallerden etkilenmez. Ancak savunma azalır ya da bu zararlı birleşiklerin oluşma hızı organizmanın savunma hızını aşarsa, bu denge bozulur ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler meydana gelir (33,36).

Antioksidan savunma sistemi dört yolla etki göstermektedir.

- 1. Süpürücü Etki:** Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma, çok daha zayıf yeni moleküle çevirme, yok etme şeklindedir. Antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük moleküller bu tür etki gösterirler.
- 2. Bastırıcı Etki:** Serbest oksijen radikalleri ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürücü etkidir. Vitaminler, antosiyanidler, flavanoidler ve trimetazidin ve bu tür etkiye sahiptirler
- 3. Zincir Kırıcı Etki:** Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını engelleyen etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu şekilde etki gösterirler.
- 4. Onarıcı Etki:** Serbest radikallerin oluşturdukların hasarın onarılması ve temizlenmesi işlemidir (33,40).

Antioksidanları iki şekilde sınıflandırabiliriz; birincisi endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı antioksidanlar, ikincisi serbest radikallerin oluşumunu önleyenler ve etkisiz hale getirenler şeklinde de ayrılabilirler. Endojen kaynaklı antioksidanlar ise enzimsel olanlar ve enzimsel olmayanlar olarak 2'ye ayrılır. Enzimatik yapısında olan antioksidanlar; süperoksit

dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimlerdir. Enzimatik olmayanlar ise glutatyon (GSH), askorbik asit, melatonin, urat, tokoferol β karoten, sistein, seruloplasmin, transferrin ve albümindir (49). Ekzojen antioksidanlar ise folik asit, oksipürinol gibi ksantin oksidaz inhibitörleri soya fasülyesi inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz, trolox-C örnek verilebilir.

Böbrekte üretilen radikalleri enzimatik katalaz, SOD, glutatyon peroksidaz antioksidanları ve non-enzimatik glutatyon (GSH), askorbik asit antioksidanları etkisiz hale getirir (33).

Glutatyon

Glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden sentezlenen glutatyon bir çok dokuda yüksek düzeyde bulunan bir tripeptittir. Suda çözünebilir bir antioksidan ve indirgeyici bir ajandır. Ksenobiyotik metabolizmada oldukça önemlidir ve C vitamini ile sinerjik olarak etkisini gösterir. Glutatyon, oksidatif strese karşı temel koruyucu mekanizmanın bir parçasıdır ve hücreleri strese karşı iki farklı yolla korur: Birincisi oksitleyici koşullarda hücrede biriken serbest radikaller veya peroksitler gibi bileşikleri enzimatik olmayan bir yolla azaltır. Hücrede indirgen bir ortam oluşturduğundan hücre içi proteinlerdeki tiyol gruplarının oksitlenerek disülfid bağları oluşturmasını engeller (50).

Glutatyon, glutatyon peroksidazla birlikte benzer bir iş görür. Glutatyon peroksidaz H_2O_2 'yi suya; lipit peroksitleri ve alkil hidroperoksitleri ise alkollere indirgeyerek hücreleri bu moleküllerin oksidatif hasarından korur. Glutatyon peroksidaz enziminin katalizlediği metabolik reaksiyonlarda elektron verici ya da substratı olarak rol alır. İkinci yol ise Glutatyon S-transferaz ile birlikte organik halojenürlerin, lipit oksidasyonu sonucu oluşan yağ asidi peroksitlerinin detoksifikasyonunda görev alır (46).

BAİCALİN

Baicalin, Çin takke bitkisi olan “*Scutellaria baicalensis*” (Georgi)’in kuru köklerinden izole edilir. Çin’de hepatit, astım gibi alerjik ve inflamatuvar hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan önemli bir tıbbi bitkidir. Çalışmalar göstermiştir ki baicalin, antiapoptotik, antioksidatif, antiviral, antitümör, antitrombotik ve vazodilatör özelliklere sahiptir (51).

Çalışmamızda kullandığımız Baicalin maddesinin kimyasal yapısı aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 1. Baicalinin kimyasal yapısı (51).

Flavonoid bileşiği olan baicalinin serbest radikalleri süpürücü etkileri olup, kardiyomiyositlerde ve sinir hücrelerinde oksidatif stresi azaltıcı etkileri vardır. Çalışmalardan elde edilen verilere göre, hepatositleri karbon tetraklorürün oluşturduğu oksidatif hasara karşı koruduğu; ayrıca oksidan süpürücü özelliğinden dolayı beyin ve kardiyomiyositleri iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarına karşı koruduğu saptanmıştır. Flavonoid glikozid özellikteki baicalin aşırı demir yüklenmesi, concanavalin veya asetaminofen ile oluşturulan deneysel modellerde akut ya da kronik karaciğer hasarına karşı koruyucu etkileri mevcuttur (52). Gao ve ark. (53) 1999 yılında baicalinin aktif bir antioksidan olduğunu göstermişlerdir. 2002 yılında Gleis ve ark. (54) ise kolon kanserinde risk faktörü olan, aşırı demir yükünün flavonoidler tarafından zayıflatıldığını; Singh ve ark. (55) 2004 yılında Quercetin gibi flavonoidlerin, demirin oluşturduğu böbrek toksisitesine karşı koruyucu etkilerinin bulunduğunu göstermiştir (56). Daha önce yapılan bazı araştırmalarda ise baicalinin insan keratinositlerinde Ultraviyole B (UVB) ışınlama ile uyarılarak apoptozis oranını artırdığı ve IL-6 salgılanma miktarını azalttığı gösterilmiştir (57). Ayrıca çalışmalar baicalinin fokal serebral I/R hasarını azalttığını da göstermiştir (58). Yapılan çalışmalarda Baicalin nötröfil, monosit veya makrofajlara karşı antiinflamatuvar olarak etkisini gösterir. Son çalışmalarla bu kimyasalın serbest radikal süpürücü ve serbest radikal yapımını önleyici, karaciğer hastalıklarında da önemli bir sitotoksik arabolucu olduğu rapor edilmiştir (52,59).

Baicalinin birden fazla biyolojik etkisi vardır, bu etkilerinden biri de beyin ile ilgilidir. Yapılan bir çalışmada beyin özellikle corpus striatum, hipokampus, korteks ve talamus bölgelerine baicalin dağıtıldığı, sonunda ise serebral çekirdeklerde dopaminin korelasyonunda değişiklik olduğu saptanmış. Beyin ile ilgili yapılan diğer çalışmalar da baicalinin, beyin ödemi ve serebral iskemik hasara karşı koruyucu özelliğinin bulunduğunu, beyin I/R hasarında antiinflamatuvar bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (60,61).

Baicalinin birçok özelliğinin içinde en önemli biyolojik özelliklerinden biri de antioksidan olması, bazı enzimleri inhibe etmesi ve immun yanıtı düzenlemesidir. Bu özelliklerinden dolayı farklı bulaşıcı hastalıklar, patolojiler, kanser, hepatoksisite gibi durumlarda baicalinin kullanımının yararlı olacağı rapor edilmektedir (62).

Çalışılan bir periodontit modelinde baicalin, siklooksijenaz-2 etkilerini inhibe ettiği, iNOS'un ekspresyonunu lipopolisakkarid tedavi ile makrofajları etkilediği bulundu. Baicalinin bu siklooksijenaz-2 ve iNOS yolağındaki etkilerinden dolayı antiinflamatuvar mekanizmalarda da etkili olabileceğini akla getirmektedir (62,63).

Baicalinin deneysel MABY sonucu meydana gelen hasara karşı antioksidan, histopatolojik ve böbrek fonksiyonları üzerindeki olası etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda; Trakya Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen ve standart laboratuvar koşullarında (22 ± 1 °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutulan, 150-200 g ağırlığında 9-10 haftalık Sprague-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Deneysel Hayvanlar Laboratuvarı'nda sıçanlara standart sıçan yemi ve musluk suyu verildi. Çalışma için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Ek-1) onay alındı.

Çalışmamızda 1. ve 2. grupta 8'er adet; 3. ve 4. gruplarda 10'ar adet olmak üzere toplam 36 adet sıçan kullanıldı. 1. ve 2. grup sıçanlara (im) fizyolojik serum (FS), diğer gruplara im gliserol enjeksiyonundan 24 saat önce 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 solusyonundan 8 ml/kg'a göre bulunacak şekilde toplam hacim eşit miktarlarda her iki arka bacak kaslarına enjekte edildi.

1. Grup (kontrol) sıçanlara FS'nin im enjeksiyonundan 1 saat sonra FS intraperitoneal (ip) verildi.

2. Grup (kontrol + baicalin) sıçanlara FS'in im enjeksiyonundan 1 saat sonra 200 mg/kg dozunda Baicalin ip verildi.

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

4. Grup (ABY+baicalin) sıçanlara gliserol im enjeksiyonundan 1 saat sonra 200 mg/kg dozunda Baicalin ip 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. Batın ön duvarı insizyonla açıldı. Diyafragmadan kalbe ulaşılarak ponksiyonla alınan kan örnekleri biyokimyasal incelemeler için jelli tüplere alındı. Daha sonra her iki böbrek çıkarılarak buz kabı üzerine konuldu, böbrek kapsülü sıyrıldıktan sonra bistüri yardımıyla longitudinal kesiyle ikiye ayrıldı. Sağ böbreğin bir yarısı histopatolojik incelemeler için % 10'luk formalin solüsyonuna alındı, diğer yarısı ve sol böbreğin her iki yarısı soğuk fizyolojik serumla yıkandıktan sonra alüminyum folyo ile paketlenildi ve laboratuvar çalışmaları yapılınca 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 yapılınca -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

Baicalin	: Sigma-Aldrich, Güney Kore
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 mikron 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 skala kullanıldı. Bu skalada hasarın yayılımı ve tutulan böbrek alanı yüzdesi derecelendirildi. Skala değerleri 0-4 arası olarak belirlendi (64,65).

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.

İmmünohistokimyasal Çalışmalar

Bu çalışmada aranacak proteine karşı geliştirilmiş işaretli poliklonal ya da monoklonal antikolar kullanıldı. Tüm gruplardaki %10'luk formalinde fikse edilmiş parafine gömülü doku bloklarından 2 mikronluk kesitler Poly-L-lysine (PLL) ile kaplanmış lamlara alındı. 37 derecelik etüvde 1 gece bekletildi. İki defa 15 dakikalık sürelerde ksilol ile deparafinize edildi. Kesitler saf alkolden başlayarak % 90-80-70'lik alkollerden geçirildikten sonra distile su ile yıkandı. Böylece kesitler deparafinize edilmiş oldu. Daha sonra kesitler tampon solüsyon (Citrate Buffer) içinde mikrodalga fırında 4 kez 5 dakika kaynatıldı ve oda

ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldı. Yirmi dakika soğutmadan sonra distile suyla yıkanan kesitler tris-buffer solusyonuna atıldı. Endojen peroksit kaynaklı non spesifik zemin boyanmasını azaltmak amacıyla %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 20 dakika muamele edildi. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra tekrar tris-buffer solusyonuna atıldı. Non spesifik zemin boyanmasını önlemek amacıyla 5 dakika oda ısısında Ultra V-Blok (Protein blokajı) uygulaması yapıldı. Daha sonra ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) primer antikolar ile 30 dakika inkübe edildi. Tris-buffer ile 3 kez yıkanan kesitler biotinyalated seconder antikolar ile 20 dakika, enzim işaretli streptavidin ile 20 dakika inkübe edildi. Tris-buffer'e alınan kesitler amino-etilcarbazol (AEC) kromojen'de (Kromojen hazırlanışı: 1ml substrata 2 damla kromojen) 20'şer dakika tutuldu. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra Mayer's Hematoksilen ile 3 dakika inkübe edilerek zıt boyama yapıldı. Kesitler akan su ile bolca yıkandıktan sonra aqueous-mount jel ile kapatıldı. Her bir olgu için hazırlanan kesitler ışık mikroskopunda incelendi. İmmun boyamanın spesifikliğinin kontrolünde, pozitif kontrol amacıyla antikor üretici firma verilerine uygun olarak sıçan böbrek kesitleri kullanıldı. Olgular sitoplazmik boyamanın yaygınlığı ve yoğunluğu açısından değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı epitelyal komponent yüzdesi esas alınarak yapıldı. Boyanma olmaması 0, < % 25 boyanma +1, % 25-50 boyanma +2, % 50-75 boyanma +3, > %75 boyanma +4 olarak skorlandı. Boyanma yoğunluğu ise, doku kesitlerinde sitoplazmik boyanma gösteren hücrelerin kromojen ile boyanma yoğunluğunu yansıtmakta olup, hiç boyanma gözlenmeyen olgularda 0, hafif boyanan olgularda +1, orta yoğunlukta boyanan olgularda +2, kuvvetli boyanan olgularda +3 olarak skorlandı. Toplam immunohistokimyasal skorlama; boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu skorlarının çarpılması ile elde edildi (66).

Böbrek Dokusu Homojenizasyonu

Böbrek dokuları -80 °C'dan alındıktan sonra buzu 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 4000xg'de 10 dk +4 °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 (67,68).

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 °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 ayıracı ile oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak saptanması, glutasyon içeriğinin belirtilmesi için kullanıldı (69).

Çözeltiler:

1. Proteinsizleştirme çözeltisi: 120 g NaCl, 6.68 g metafosforik asit ve 0.8 g sodyum-EDTA tartıldı ve 400 ml distile suda çözüldü.

2. 0.3 M Disodyum fosfat (Na_2HPO_4)

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

Deneyin yapılışı: 0.5 ml doku homojenatı üzerine 1.5 ml 0.15 M KCl ve 3 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi. Bu karışım 3000xg'de 20 dk santrifüj edildikten sonra 0.5 ml süpernatant alınarak üzerine 2 ml M Na_2HPO_4 ve 0.5 ml Ellman ayıracı eklendi. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 412 nm'de okundu. GSH düzeyleri ekstinksiyon katsayısı ($\Sigma=1.36 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar $\mu\text{mol GSH/g}$ doku olarak belirtildi.

Nitrat ve Nitrit Tayini

Nitrat ve nitrit tayini Cortas ve Wakid'in tarif ettiği yönteme göre ölçüldü (70).

Kullanılan reaktifler:

1. Kadmiyum granülleri: 0.1 mol/L H_2SO_4 içinde saklandığı sürece 9 ay stabildir.

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

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

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

5. Çinko Sülfat (ZnSO_4): 75 mmol/L; 10.8 mg alınıp 500 ml'ye tamamlandı.

6. Bakır Sülfat (CuSO_4): 5 mmol/L; 250 mg alınıp 200 ml'ye tamamlandı.

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

8. Standartlar: NaNO_2 standardı 10 mmol/L'lik sodyum tetra borat çözeltisi içinde hazırlanır. (69 mg NaNO_2 , 380 mg borat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) 100 ml içinde çözülür).

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

Deneyin yapılışı:

Deproteinizasyon: Test tüpüne 0.5 ml numune 0,5 ml distile su, 2 ml 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 µmol/mg protein olarak hesaplanmış olur.

İstatistiksel Analiz

Bulguların istatistiksel analizleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD'da yapıldı. Bulgular ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Tek Örneklem Kolmogorov-Smirov test ile incelendi. Gruplar arası farklılığı saptamada Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı, düzeltme sonrası istatistiksel anlamlılık sınır değeri olarak p<0.017 anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizlerde Statica 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Sıçanlarda hipertonic gliserolün im uygulanmasıyla oluşturulan deneysel miyoglobinürik ABY modeli 1. ve 2. grupta 8 adet 3. ve 4. grupta 10 adet sıçan olmak üzere 4 grupta toplam 36 adet sıçan üzerinde çalışıldı. Gliserol enjeksiyonununun 24. saatinde anestezi altında sıçanların kan ve doku örnekleri alındı. 3. ve 4. Gruptaki bazı sıçanlardan hiç idrar alınmadığı ve bazılarında ise az miktarda idrar alındığı için; 3. grupta 9 adet sıçanın idrar kreatinin ve idrar sodyum sonuçları, 7 adet sıçandan idrar NO sonuçları elde edildi. 4. grupta 8 adet sıçanın idrar kreatinin ve İdrar sodyum sonuçları, 4 adet sıçandan idrar NO 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 NO (\dot{I}_{NO}) düzeyi $\mu\text{mol/L}$, idrar kreatinin (\dot{I}_{krea}) düzeyi mg/dl, 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 1-4).

Tablo 1. 1.Grubun (kontrol) biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	ALT	CK	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	S _{NO}	İ _{krea}	İ _{Na}	İ _{NO}
1	0.18	2.99	72.64	143	54	430	36.4	0.32	138	4.4	10.25	45.59	68	22.67
2	0.25	2.81	67.17	143	67	742	44.9	0.39	139	5.2	19.75	52.03	61	47.67
3	0.1	2.90	39.97	133	56	544	38.5	0.35	137	4.6	16.08	56.09	77	53.83
4	0.09	2.87	77.15	159	50	813	42.8	0.39	138	4.7	13.75	45.46	58	47.83
5	0.1	1.85	107.16	150	72	591	42.8	0.32	139	4.5	8.08	46.22	64	61.67
6	0.09	1.98	32.06	137	50	690	32.1	0.33	127	3.8	6.08	46.54	68	57
7	0.09	2.49	95.94	138	48	715	36.4	0.34	138	4.9	10.17	44.16	59	47.67
8	0.13	2.40	146.97	127	64	691	42.8	0.36	139	5.2	9.5	53.11	98	59.25

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutasyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotranferaz; ALT: Alanin aminotransferaz; 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; İ_{NO}: İdrar nitrik oksit; FeNa: Fraksiyone sodyum itrahi.

Tablo 2. 2. Grubun (kontrol + baicalin) biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	ALT	CK	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	S _{NO}	İ _{krea}	İ _{Na}	İ _{NO}
1	0.16	2.28	34.81	159	61	588	47.1	0.38	139	4	2.83	51.91	52	55.25
2	0.13	2.5	64.08	142	60	776	36.4	0.34	139	3.9	7.42	56.93	62	35.58
3	0.18	2.59	116.7	161	59	1139	44.9	0.36	137	5	18.42	51.54	88	77.83
4	0.1	2.48	44.3	614	412	1058	38.5	0.35	138	4.7	16.92	54.39	70	70
5	0.25	2.66	104.61	202	115	775	40.7	0.3	140	4.2	15.33	56.27	84	69.5
6	0.19	3.04	96.45	156	64	735	44.9	0.33	139	5.2	16.42	48.64	63	55.67
7	0.12	2.71	136.96	159	54	864	42.8	0.37	137	5.3	13.08	54.83	58	53.67
8	0.13	2.43	136.65	131	62	513	42.8	0.34	137	4.7	9.58	52.74	72	57.92

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutasyon; 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; İ_{NO}: İdrar nitrik oksit; FeNa: Fraksiyone sodyum itrahi.

Tablo 3. 3.Grubun (ABY) biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	ALT	CK	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	S _{NO}	İ _{krea}	İ _{Na}	İ _{NO}
1	0.56	4.33	121.95	3102	324	27848	492.2	3.49	137	7.2	19.83			
2	0.52	2.51	203.42	2194	276	22253	520	3.31	137	8.5	20.92	15.13	95	
3	0.55	3.61	183.47	1664	345	4158	455.8	2.23	135	5.7	22.83	13.13	55	34
4	0.37	3.1	231.53	1661	302	4197	434.4	2.77	128	5.7	23.58	22.18	55	22.5
5	0.32	3	170.45	1661	208	5944	490.1	2.87	129	7.6	28.5	12.8	14	17.83
6	0.38	3.47	158.89	885	125	2909	323.1	1.61	128	4.7	29.5	27.02	34	29.17
7	0.73	4.64	140.48	2163	332	49870	498.6	2.9	140	7.4	23.17	15.96	64	
8	0.51	3.74	163.72	2534	256	29228	490.1	2.28	118	7.6	34.08	10.29	48	44.67
9	0.46	2.17	65.95	2855	286	9601	500.8	3.47	134	7.3	29.92	17.91	78	33.17
10	0.34	2.72	123.07	1398	150	1562	485.8	3.23	138	7.3	12.67	22.02	68	13.17

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotranferaz; ALT: Alanin aminotransferaz; 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; İ_{NO}: İdrar nitrik oksit; FeNa: Fraksiyone sodyum itrahi.

Tablo 4. 4.Grubun (ABY+baicalin) biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	ALT	CK	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	S _{NO}	İ _{krea}	İ _{Na}	İ _{NO}
1	0.52	1.96	22.66	3332	528	32210	487.9	3.03	131	6.7	31.25	9.5	102	
2	0.66	3.05	121.72	2136	228	25304	496.5	3.28	141	5.9	22.08	14.14	61	
3	0.49	2.14	40.13	3898	328	24325	485.8	3.52	134	7.4	21.83			
4	0.6	2.05	51.35	1783	223	19798	477.2	3.11	137	7.4	28.83			
5	0.32	1.55	38.47	2471	225	11778	481.5	3.52	127	7.4	29.58	17.2	18	
6	0.38	2.22	0	1494	171	5689	487.9	2.2	136	6	36.75	17.17	36	28
7	0.55	2.45	31.39	2391	297	20066	496.5	3.5	140	6.5	29.17	34.29	91	
8	0.43	2.24	100.16	3283	1067	22832	460.1	2.57	132	6.4	35.25	8.91	58	28.25
9	0.48	2.06	37.78	2445	193	10478	494.3	2.6	130	8.5	43.67	16.6	75	39.33
10	0.53	2.4	85.16	1202	231	6181	470.8	2.74	136	7.1	26.08	24.99	52	11.58

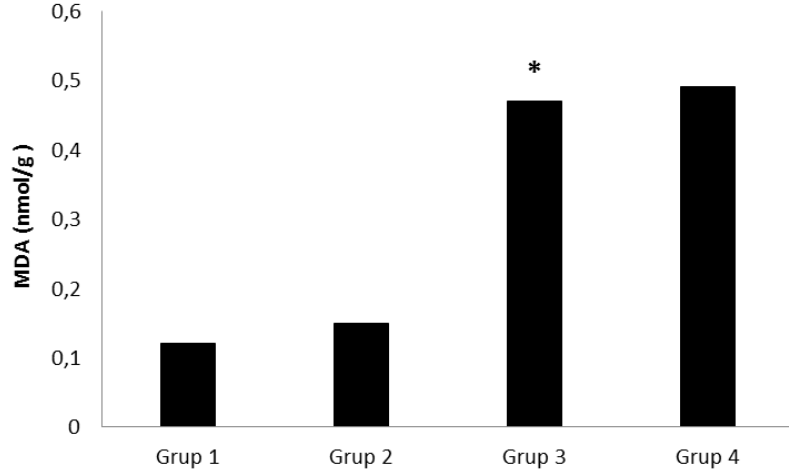
SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotranferaz; ALT: Alanin aminotransferaz; CK: Kreatin kinaz; S_{üre}: Serum üre; S_{krea}: Serum kreatinin; S_{Na}: Serum sodyum; S_K: Serum potasyum; S_{NO}: Serum NO; İ_{krea}: İdrar kreatinin; İ_{Na}: İdrar sodyum; İ_{NO}: İdrar nitrik oksit; FeNa: Fraksiyone sodyum itrahi.

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	0.12 ± 0.05	0.15 ± 0.04	0.47 ± 0.12	0.49 ± 0.10
GSH µmol/g doku	2.53 ± 0.43	2.58 ± 0.22	3.32 ± 0.78	2.21 ± 0.38
NO µmol/mg protein	79.88 ± 37.04	91.82 ± 39.87	156.29 ± 46.63	58.75 ± 34.78
AST U/L	141.25 ± 9.98	215.50± 162.31	2011.70 ± 686.52	2443.50± 855.50
ALT U/L	57.62 ± 8.94	110.87 ±123.21	260.40 ± 76.19	349.10 ± 272.14
CK U/L	652.00 ± 122.83	806.00 ± 213.15	15757.00 ± 15994.74	17866.10 ± 8897.51
S_{üre} mg/dl	39.58 ± 4.41	42.26 ± 3.56	469.09 ± 56.62	483.85 ±11.78
S_{krea} mg/dl	0.35 ± 0.028	0.34 ± 0.025	2.81 ± 0.61	3.00 ± 0.46
S_{Na} mmol/L	136.87 ± 4.05	138.25 ± 1.16	132.40 ± 6.65	134.40 ± 4.45
S_K mmol/L	4.66 ± 0.45	4.62 ± 0.53	6.90 ± 1.15	6.93 ± 0.78
S_{NO} µmol/L	11.70 ± 4.50	12.50 ± 5.42	24.50 ± 6.16	30.44 ± 6.72
İ_{krea} mg/dl	48.65 ± 4.41	53.40 ± 2.73	17.38 ± 5.41	17.85 ± 8.34
İ_{Na} mmol/L	69.12 ± 13.18	68.62 ± 12.47	56.77 ± 23.77	61.62 ± 27.61
İ_{NO} µmol/L	49.69 ± 12.23	59.42 ± 13.02	27.78 ± 10.76	26.79 ± 11.43
Kreatin klirensi ml/dk/100gxvücut	0.65 ± 0.04	0.64 ± 0.09	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.005
FeNa %	0.36 ± 0.05	0.32 ± 0.05	7.47 ± 4.20	9.21 ± 7,19

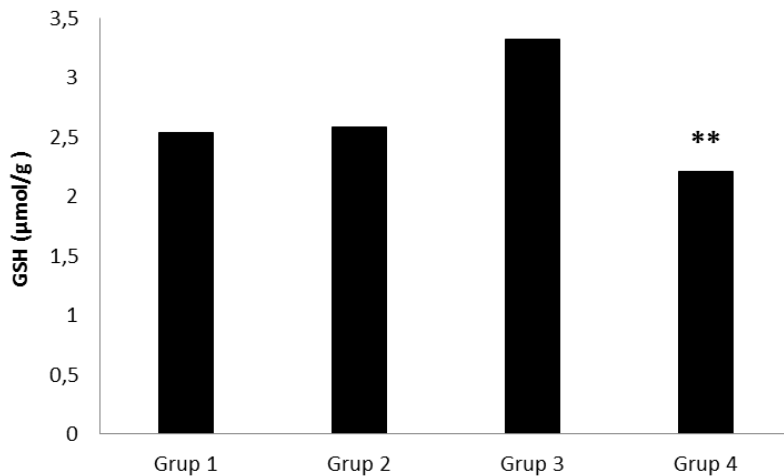
MDA: Malondialdehit; **GSH:** Glutatyon; **NO:** Böbrek nitrik oksit; **AST:** Aspartat aminotranferaz; **ALT:** Alanin aminotransferaz; **CK:** Kreatin kinaz; **S_{üre}:** Serum üre; **S_{krea}:** Serum kreatinin; **S_{Na}:** Serum sodyum; **S_K:** Serum potasyum; **S_{NO}:** Serum NO; **İ_{krea}:**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

Gruplar arası MDA düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.000$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). Ortalama MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 2’de gösterildi.



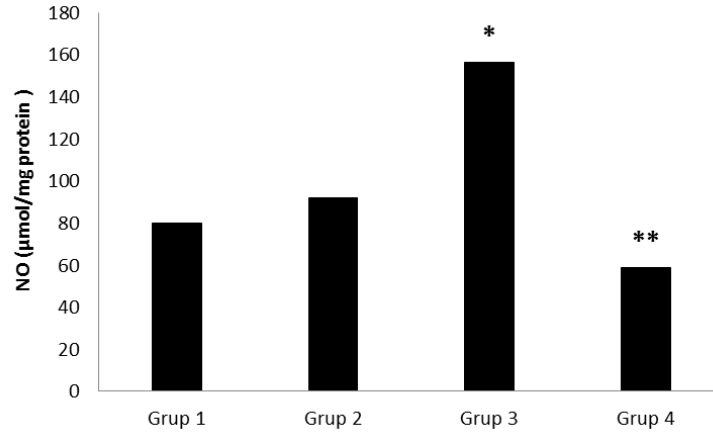
Şekil 2. Ortalama Böbrek MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1.Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY) * $p < 0.000$

Gruplar arası GSH 3. ile 4. grup arasında $p = 0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 1. ile 3. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). Ortalama GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 3’te gösterildi.



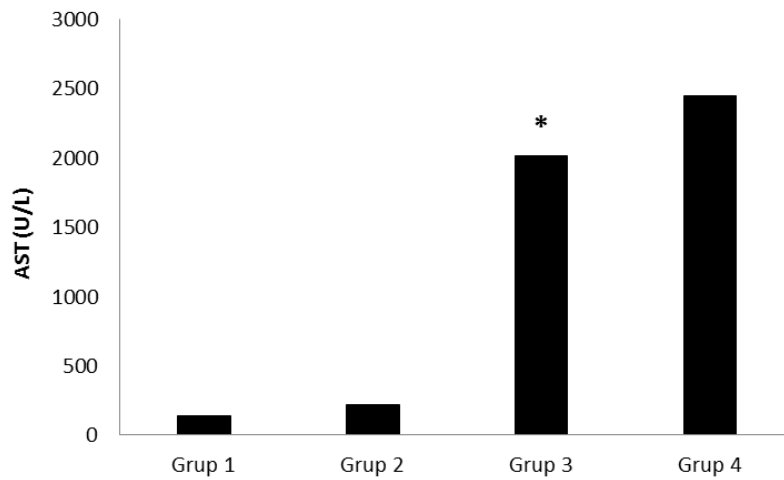
Şekil 3. Ortalama Böbrek GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 3. Grup (ABY) ile 4. Grup (ABY+baicalin)** $p = 0.001$

Gruplar arası NO düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.006$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). 3. ile 4. grup arasında $p = 0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Ortalama NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 4’te gösterildi.



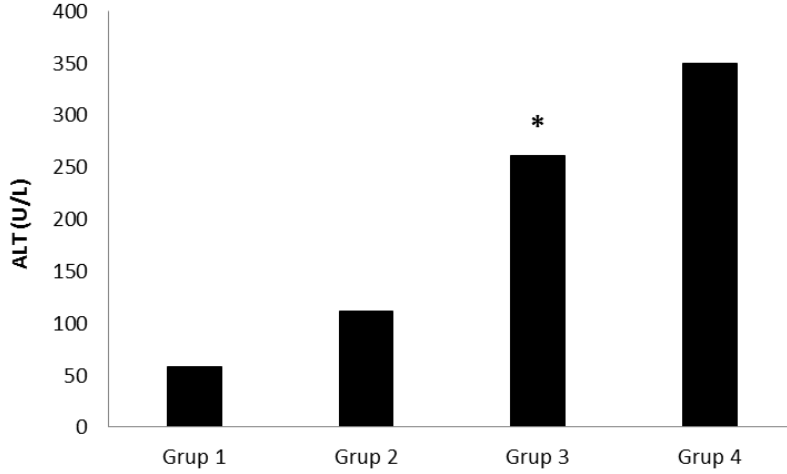
Şekil 4. Ortalama Böbrek NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1. Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY)* $p = 0.006$; 3. Grup (ABY) ile 4. Grup (ABY+baicalin) ** $p = 0.001$

Gruplar arası AST düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.000$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). Ortalama AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 5’te gösterildi.



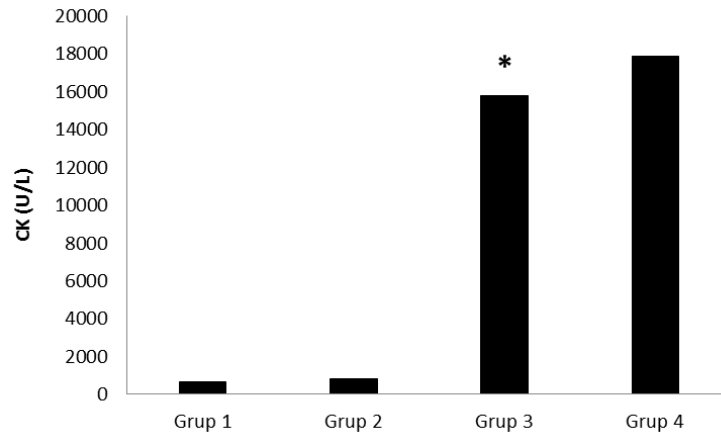
Şekil 5. Ortalama Serum AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1. Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY)* $p = 0.000$

Gruplar arası ALT düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.000$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). Ortalama ALT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 6’da gösterildi.



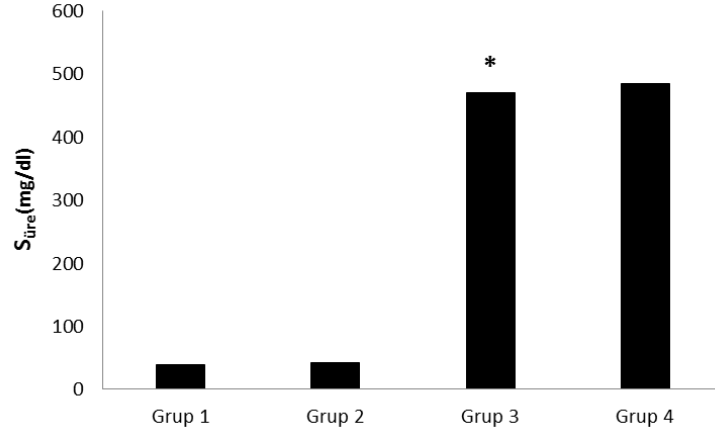
Şekil 6. Ortalama Serum ALT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1.Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY)* $p = 0.000$

Gruplar arası CK düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.000$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). Ortalama CK düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 7’de gösterildi.



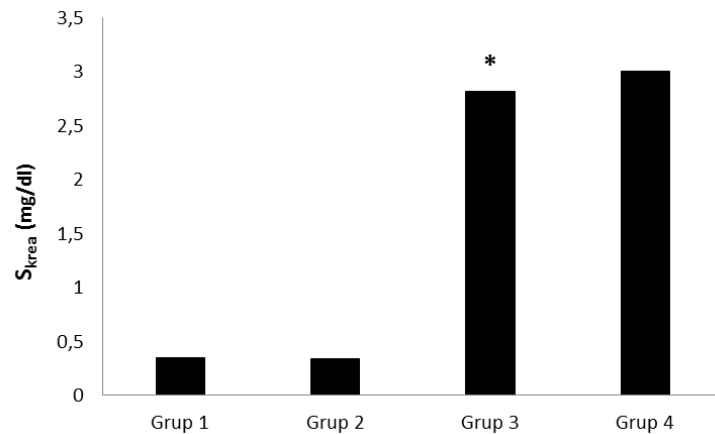
Şekil 7. Ortalama Serum CK düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1.Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY)* $p = 0.000$

Gruplar arası serum üre düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p= 0.000$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). Ortalama serum üre düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 8’de gösterildi.



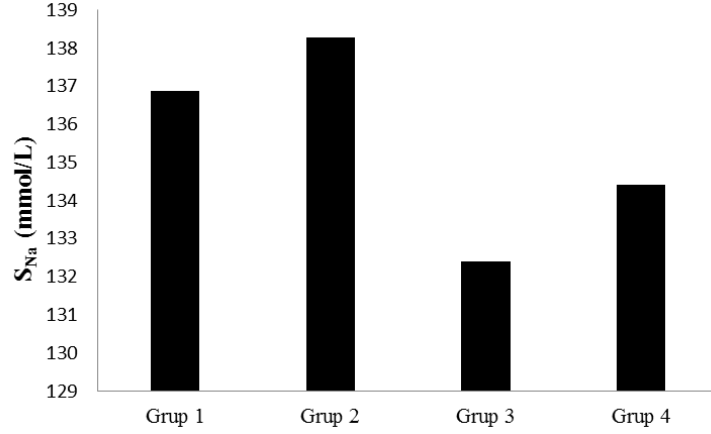
Şekil 8. Ortalama serum üre düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1.Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY)* $p= 0.000$

Gruplar arası serum kreatinin düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.000$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). Ortalama serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 9’da gösterildi.



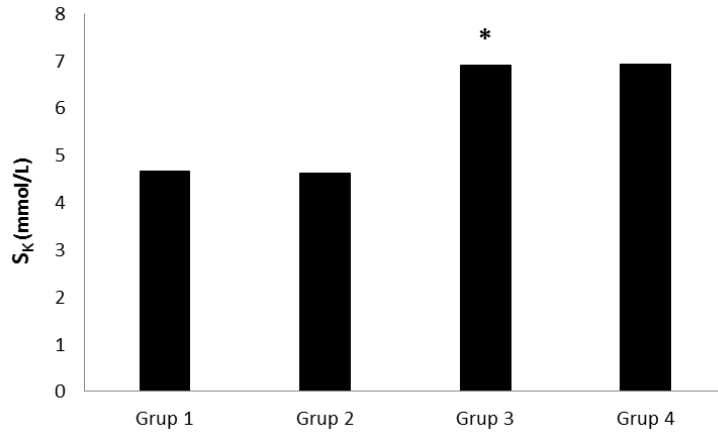
Şekil 9. Ortalama serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1.Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY)* $p = 0.000$

Gruplar arası serum Na düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.017$). Ortalama serum Na düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması şekil 10'da gösterildi.



Şekil 10. Ortalama serum sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

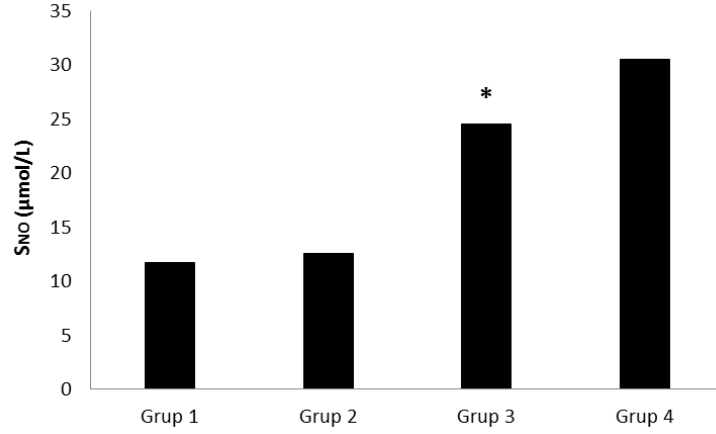
Gruplar arası serum potasyum düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.000$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.017$). Ortalama serum potasyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 11'de gösterildi.



Şekil 11. Ortalama serum potasyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

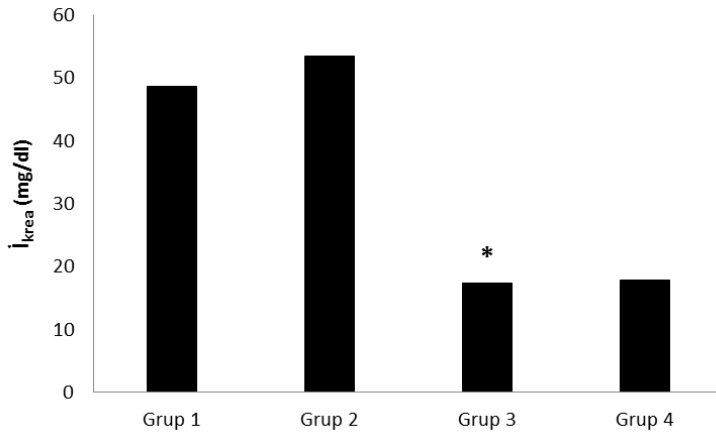
Karşılaştırmalar: 1.Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY)* $p = 0.000$

Gruplar arası serum NO düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). Ortalama serum NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 12’de gösterildi.



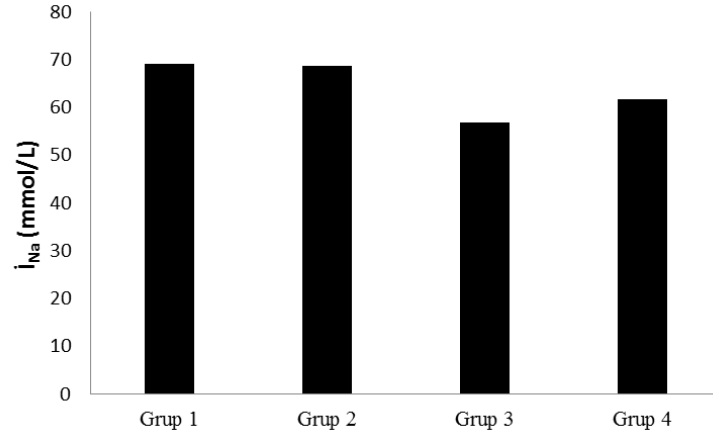
Şekil 12. Ortalama serum NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1.Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY)* $p = 0.001$

Gruplar arası idrar kreatinin düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). Ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 13’te gösterildi.



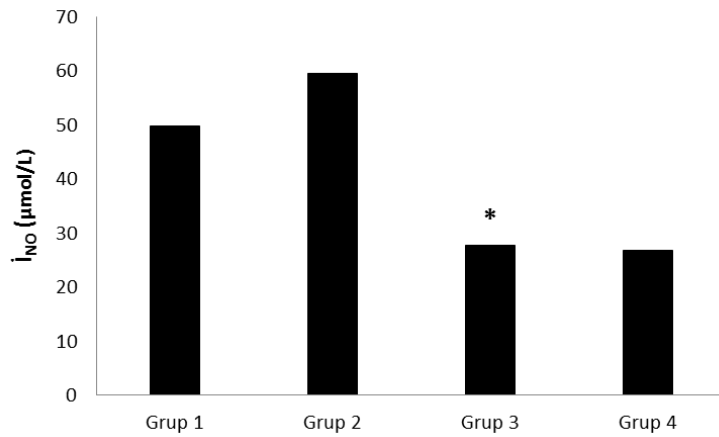
Şekil 13. Ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1.Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY)* $p = 0.001$

Gruplar arası idrar Na düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.017$). Ortalama idrar Na düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması şekil 14'te gösterildi.



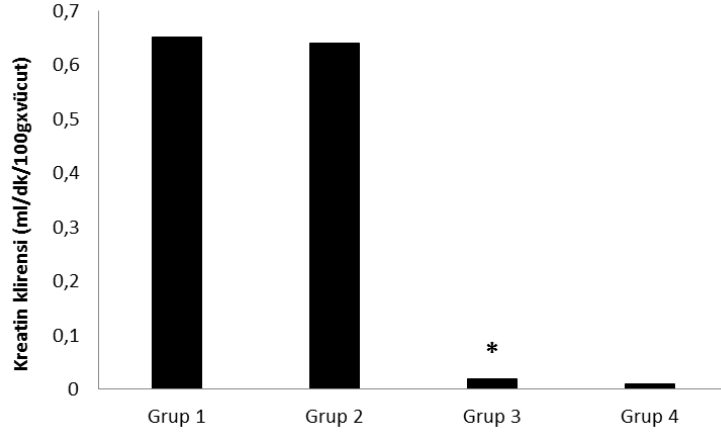
Şekil 14. Ortalama idrar sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası idrar NO düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.005$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.017$). Ortalama idrar NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 15'te gösterildi.



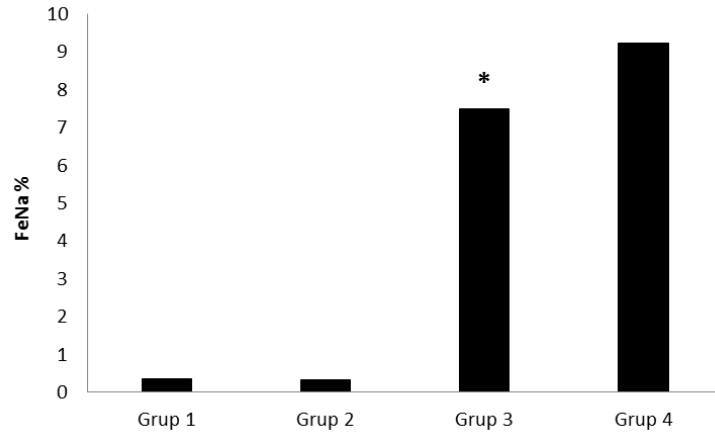
Şekil 15. Ortalama idrar NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1.Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY)* $p = 0.005$

Gruplar arası kreatin klirensi düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.002$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). 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 3. Grup (ABY)* $p = 0.002$

Gruplar arası FeNa % düzeyinde 1. ile 3. grup arasında $p = 0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. 1. ile 2. ve 3. ile 4. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.017$). Ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 17’de gösterildi.



Şekil 17. Ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: 1.Grup (kontrol) ile 3. Grup (ABY)* $p = 0.001$

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 mikroskopunda incelendiğinde; mikroskobik kesitlerde tübül ve glomerüllerin normal görünümde izlendi, herhangi bir nekroz veya kast oluşumu gözlenmedi (şekil 18).

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

3. gruptaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde tübül epitelinde nekroza rastlandı. Proksimal, distal ve kolektör tübül lümeninde subkortikal alandan başlayan ve renal pelvise kadar uzanan kast şeklinde dens proteinöz madde birikimi izlendi. Tübüllerde belirgin dilatasyon vardı. Distal tübül hücrelerinde hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekti. Glomerüllerde belirgin konjesyon dışında bir değişiklik görülmedi. Peritbller stromada dem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübüller epitel hücrelerde nükleer irilieşme ve nükleol belirginleşme gibi rejenerasyon bulguları izlendi (şekil 20).

4. gruptaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; 3.gruba benzer şekilde tübüllerde belirgin dilatasyon, tübül epitel hücrelerinde hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon görüldü. Glomerüllerde değişiklik yoktu. Peritbller stromada dem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübül epitelinde rejeneratif değişiklikler izlendi (şekil 21).

Tablo 6. Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçlar

SN	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup
1	0	0	3	4
2	0	0	3	4
3	0	1	4	3
4	0	0	3	4
5	0	1	3	4
6	1	0	4	3
7	1	1	3	4
8	0	0	4	4
9			4	3
10			4	3
Ort ± SD	0.250 ± 0.46	0.37 ± 0.51	*3.50 ± 0.52	3.60 ± 0.51

SN: Sıra numarası; 1.Grup (kontrol), 2. Grup (kontrol + baicalin), 3. Grup (ABY), 4. Grup (ABY+baicalin)

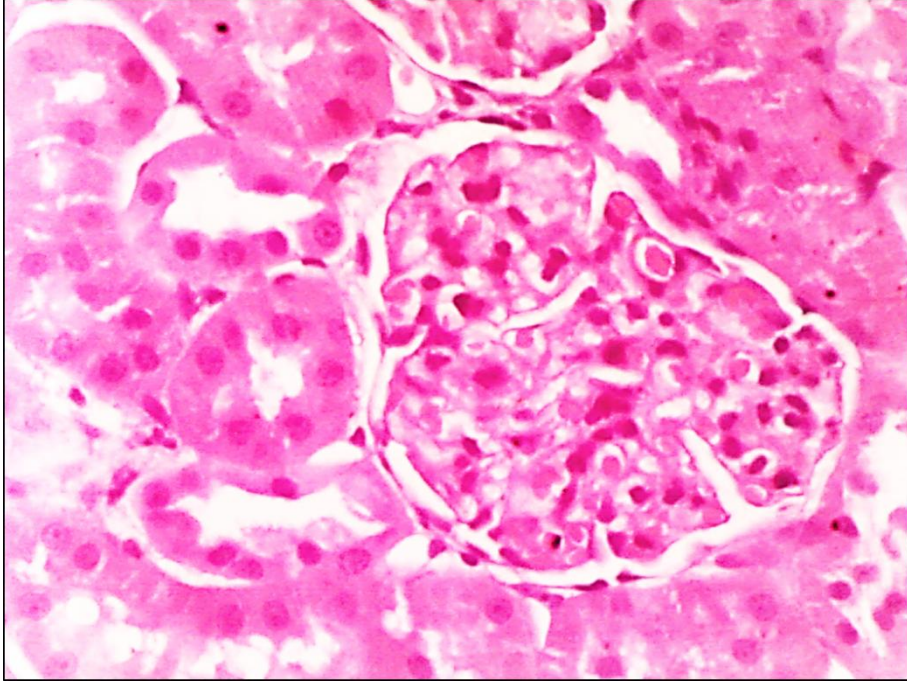
*p = 0.000 düzeyinde 1.gruba göre anlamlı artma izlendi.

Tablo 7. Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçlar

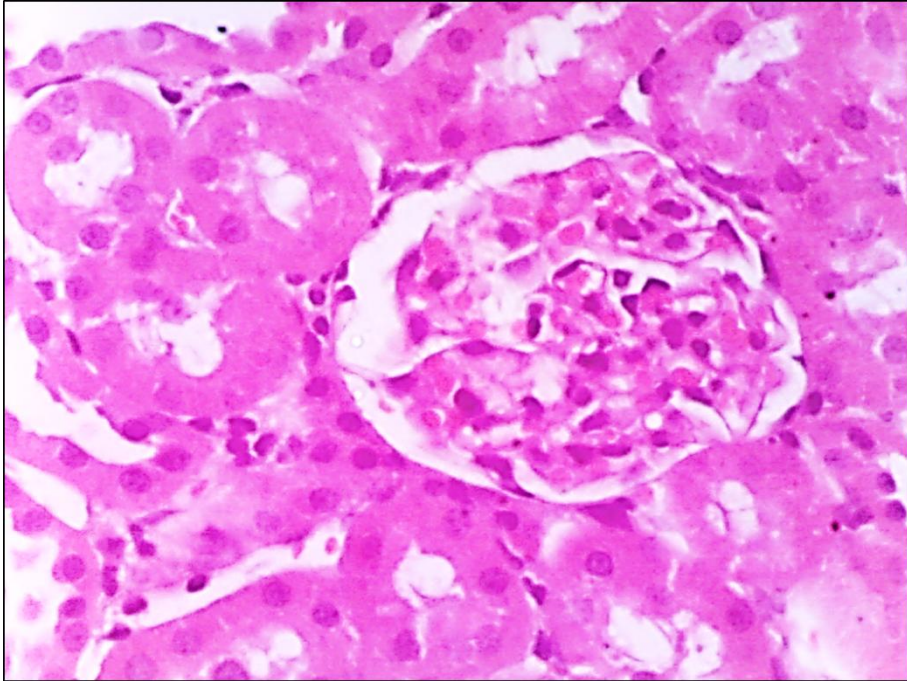
SN	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup
1	0	0	70	80
2	1	1	70	90
3	0	0	80	80
4	0	0	70	80
5	2	2	80	90
6	0	0	80	75
7	1	2	80	80
8	0	0	80	90
9			90	70
10			90	80
Ort ± SD	0.50 ± 0.75	0.62 ± 0.91	*79.0 ± 7.37	81.50 ± 6,68

SN: Sıra numarası; 1.Grup (kontrol), 2. Grup (kontrol + baicalin), 3. Grup (ABY), 4. Grup (ABY+baicalin)

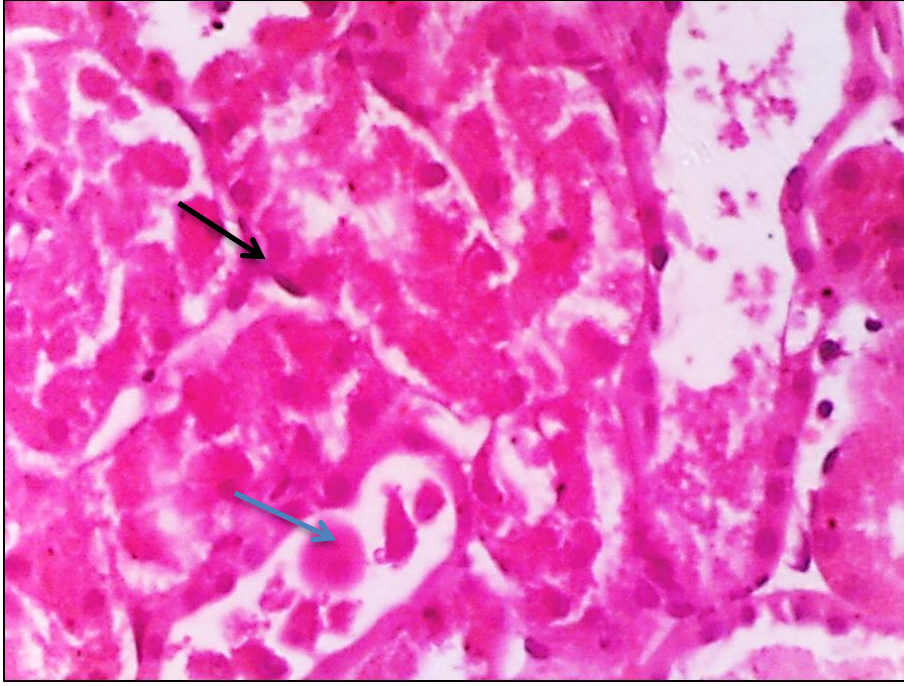
*p = 0.000 düzeyinde 1.gruba göre anlamlı artma izlendi.



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

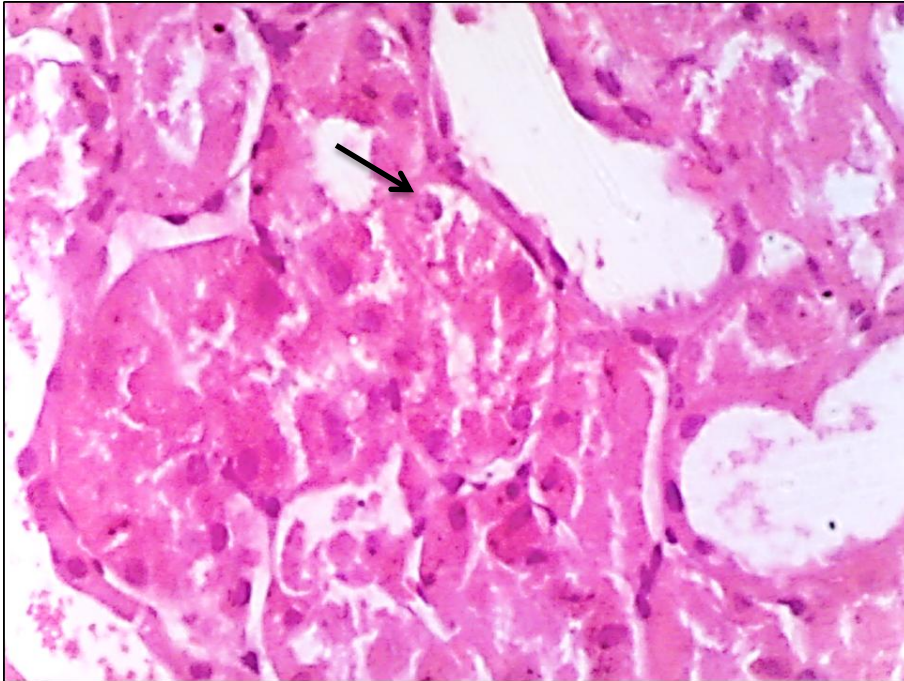


Şekil 19. 2. Grubun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]
2. Grup (kontrol + baicalin)



Şekil 20. 3. Grubun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX200)]

Grup 3'te tübül epitelinde yaygın nekroz (siyah ok) tübüllerin lümeninde kasta oluşumu (mavi ok) izlendi. 3. Grup (ABY)



Şekil 21. 4. Grubun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX200)]

Grup 4'te tübül epitelinde nekroz ve tübül lümeninde kast birikimi devam etmektedir. 4. Grup (ABY+baicalin)

İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Çalışmamızda böbrek dokularının immünohistokimyasal incelenmesinde; olgular sitoplazmik boyamanın yaygınlığı ve yoğunluğu açısından değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı epitelyal komponent yüzdesi esas alınarak yapıldı. Boyanma olmaması 0, < % 25 boyanma +1, % 25-50 boyanma +2, % 50-75 boyanma +3, > %75 boyanma +4 olarak skorlandı. Boyanma yoğunluğu ise, hiç boyanma gözlenmeyen olgularda 0, hafif boyanan olgularda +1, orta yoğunlukta boyanan olgularda +2, kuvvetli boyanan olgularda +3 olarak skorlandı. Toplam immünohistokimyasal skora; boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu skorlarının çarpılması ile elde edilen sonuçlar Tablo 8 ve 9 verildi.

İmmünohistokimyasal boyanma ile 1. grup ve 2. grupta distal tübül epitel hücrelerinde iNOS ve eNOS ile reaksiyon izlenmedi (Şekil 22-25).

3. grup ve 4. grupta şiddetli yaygın ve yoğun boyanma gözlendi (Şekil 26-29).

Tablo 8. Grupların iNOS immünohistokimyasal boyanma skorları

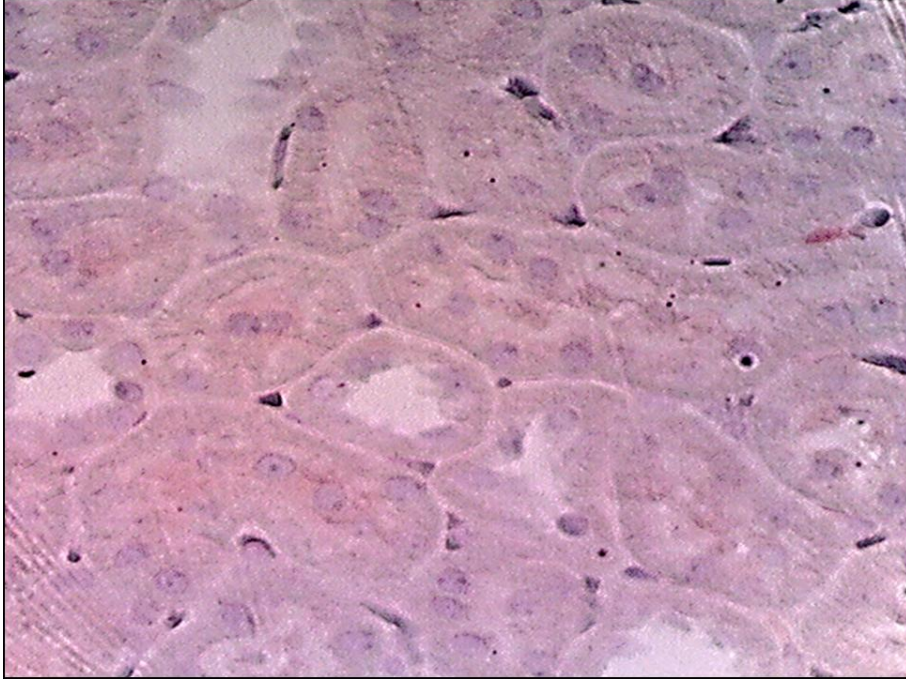
SN	1. Grup			2. Grup			3. Grup			4. Grup		
	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor
1	0	0	0	0	0	0	3	95	285	2	98	196
2	1	5	5	1	5	5	2	97	194	2	98	196
3	0	0	0	0	0	0	3	90	270	3	90	270
4	0	0	0	1	5	5	3	95	285	3	90	270
5	1	5	5	0	0	0	2	98	196	3	95	195
6	0	0	0	0	0	0	3	92	276	2	98	196
7	0	0	0	0	0	0	3	90	270	3	92	276
8	0	0	0	0	0	0	3	95	285	3	95	285
9							2	98	196	2	98	196
10							3	95	285	3	95	285
Ort.±SD	0.25±0.46	1.25 ±2.31	1.25±2.31	2.25±0.46	1.25±2.31	1.25±2.31	2.7 ± 0.48	94.5±2.95	254.20±41.5	2.6 ±0.51	94.90±3.24	236.5±43.19

1.Grup (kontrol), 2. Grup (kontrol + baicalin), 3. Grup (ABY), 4. Grup (ABY+baicalin)

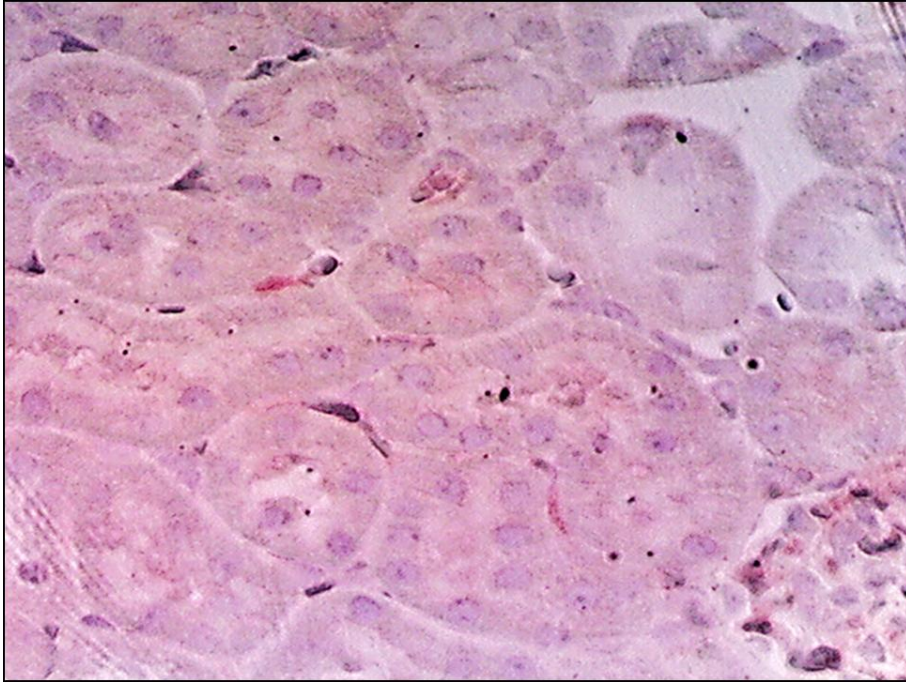
Tablo 9. Grupların eNOS immünohistokimyasal boyanma skorları

SN	1. Grup			2. Grup			3. Grup			4. Grup		
	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor
1	0	0	0	1	5	5	2	98	196	2	98	196
2	0	0	0	0	0	0	3	95	285	2	98	196
3	0	0	0	0	0	0	3	92	276	3	95	285
4	1	3	3	1	5	5	3	95	285	2	98	196
5	0	0	0	0	0	0	2	98	196	2	98	196
6	1	5	5	0	0	0	3	95	285	3	92	276
7	0	0	0	0	0	0	3	92	276	3	95	285
8	0	0	0	1	2	2	3	92	276	3	95	285
9							2	98	196	2	98	196
10							3	95	285	3	95	285
Ort.±SD	0.25±0.46	1.00±1.92	1.00±1.92	0.37±0.51	1.5±2.26	1.5±2.26	2.7 ± 0.48	95±2.44	255.6±41.31	2.5 ±0.52	96.2±2.09	239.6±46.0

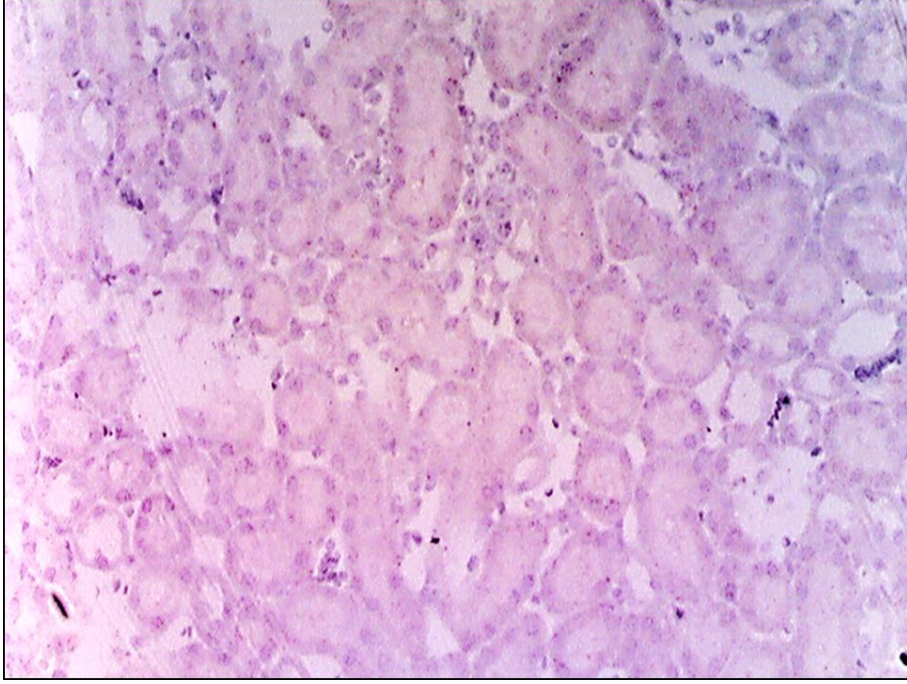
1.Grup (kontrol), 2. Grup (kontrol + baicalin), 3. Grup (ABY), 4. Grup (ABY+baicalin)



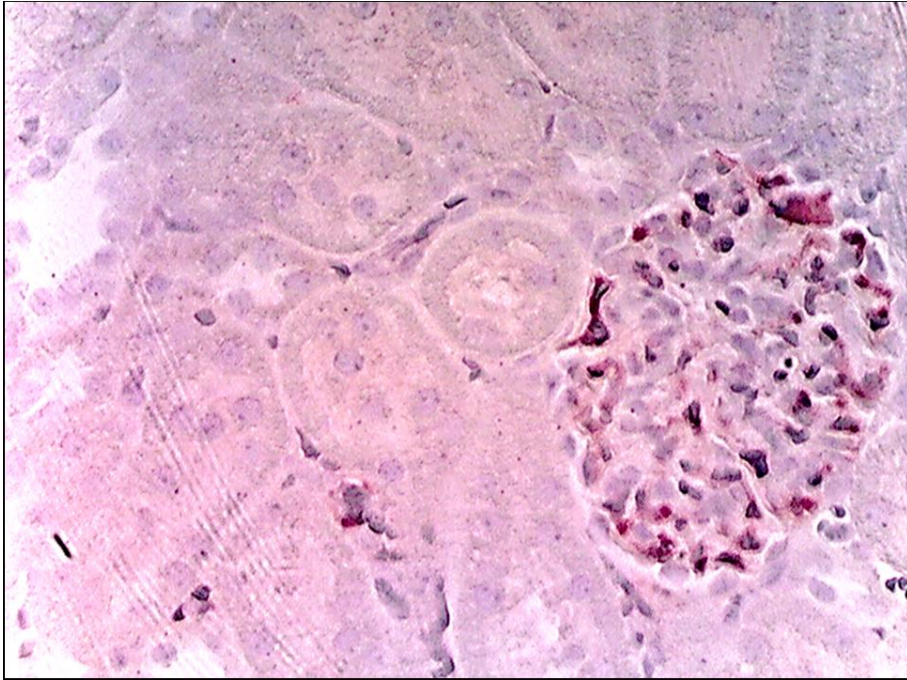
Şekil 22. 1.Grubun böbrek kesiti [iNOSx200]
1.Grup (kontrol)



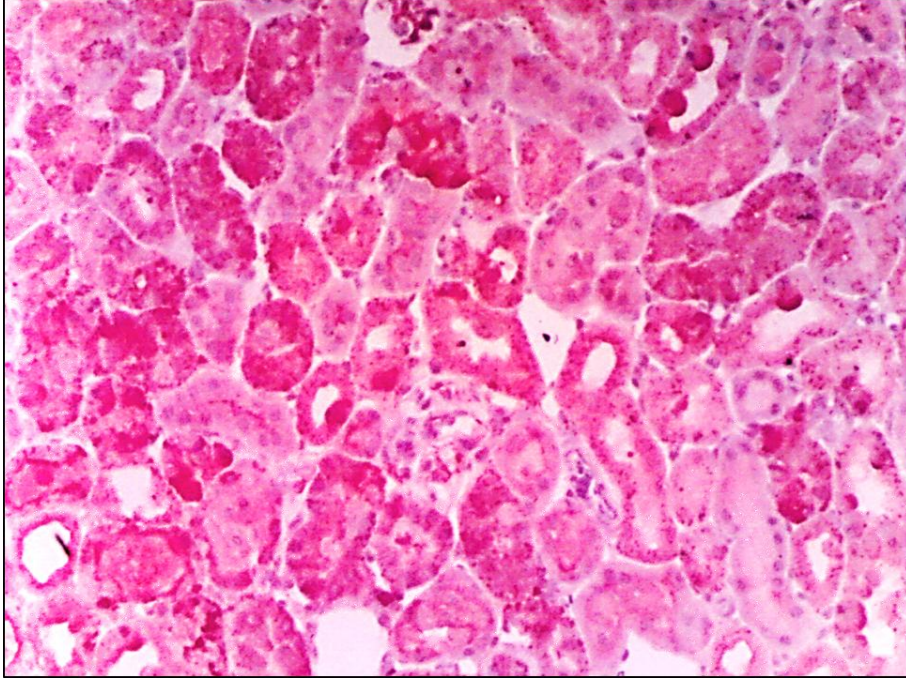
Şekil 23. 1. Grubun böbrek kesiti [eNOSx200]
1.Grup (kontrol)



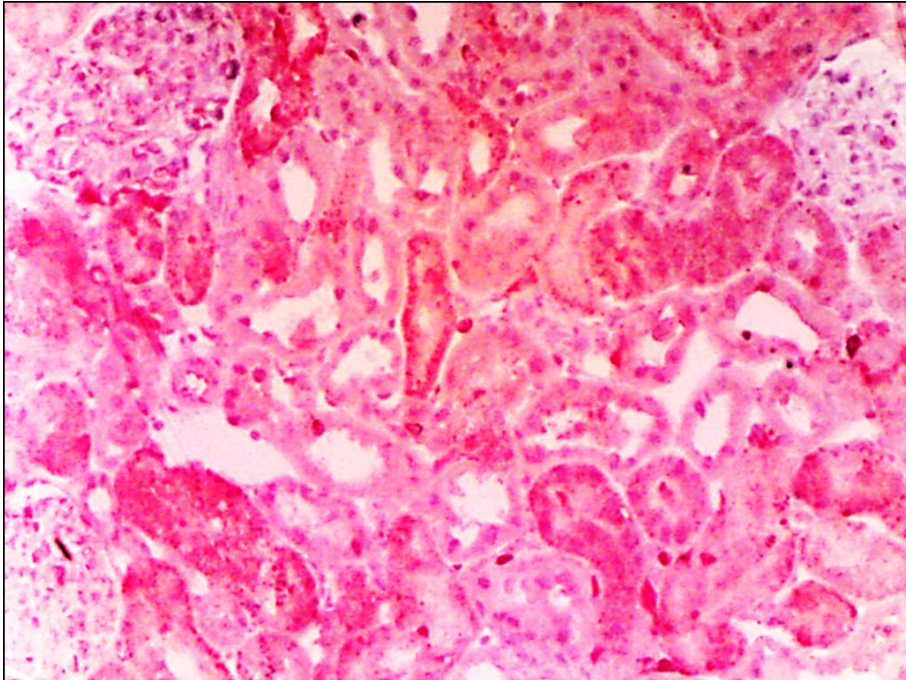
Şekil 24. 2. Grubun böbrek kesiti [iNOSx100]
2. Grup (kontrol + baicalin)



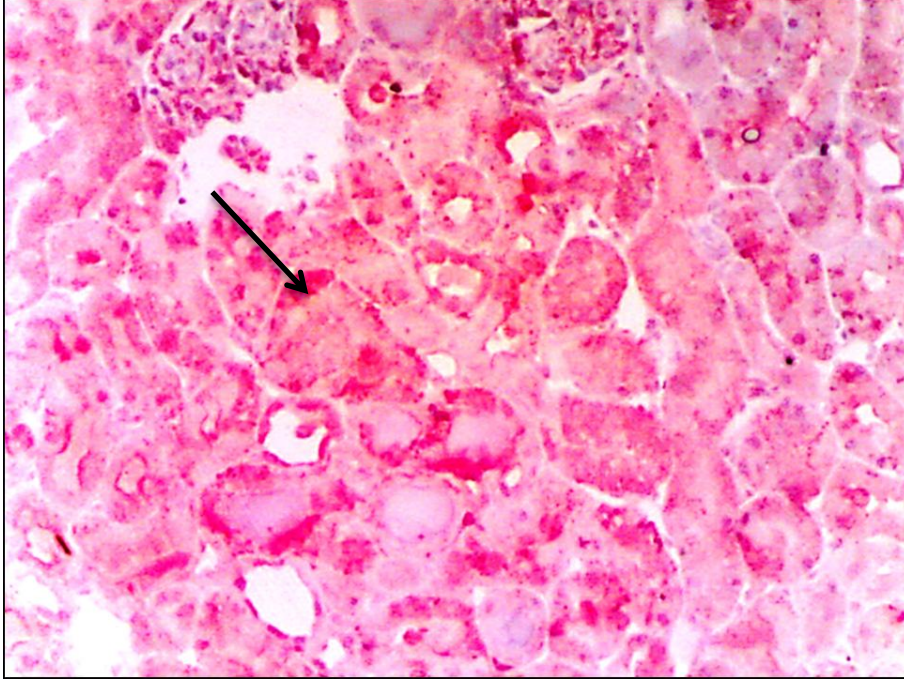
Şekil 25. 2. Grubun böbrek kesiti [eNOSx200]
2. Grup (kontrol + baicalin)



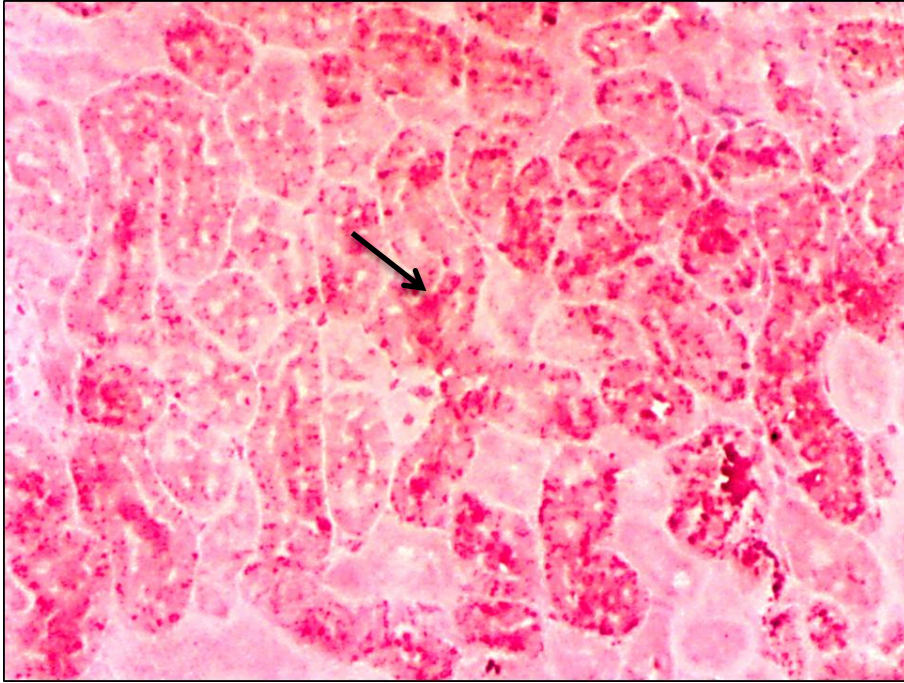
Şekil 26. 3. Grubun böbrek kesiti [iNOSx100]
3. Grup (ABY)



Şekil 27. 3. Grubun böbrek kesiti [eNOSx100]
3. Grup (ABY)



Şekil 28. 4. Grubun böbrek kesiti [iNOSx100]
4. Grup (ABY+baicalin)



Şekil 29. 4. Grubun böbrek kesiti [eNOSx100]
4. Grup (ABY+baicalin)

TARTIŞMA

Sıçanlara %50'lik gliserolün im verilmesiyle oluşturduğumuz MABY modelinde MDA, NO düzeylerinde, böbrek fonksiyonu belirteçlerinden serum üre ile serum kreatinin, AST, ALT, CK düzeylerinde ve serum K düzeyinde anlamlı bir artma; glomerüler filtrasyonun belirteci olan kreatin klirensinde azalma, tübüler fonksiyonun göstergesi olan fraksiyonel sodyum itrahında istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü. Histopatolojik kesitleri incelendiğinde nekroz, tübül lümenlerinde kast oluşumu izlendi. Ayrıca immünohistokimyasal olarak aktivitelerini incelediğimiz iNOS ve eNOS aktivitelerinin böbrek yetmezliği oluşturulan gruplarda artmasına rağmen baicalin tedavisinin yararlı etkisinin olmadığı görüldü. Birçok deneysel modelde koruyucu etkileri saptanan baicalinin etkilerinin incelendiği MABY grubunda lipid peroksidasyonu, böbrek fonksiyonları, histopatolojik değişiklikler üzerinde koruyucu etkilerinin olmadığı görüldü.

Kas hasarı vakalarının %81'i uyuşturucu maddeler ve alkolün etkisiyle oluşmasına rağmen MABY özellikle depremlerden sonra enkaz altından çıkarılan hastalarda çok sık görülmektedir (2). %50'lik gliserolün sıçanların her iki arka bacak kaslarına enjekte edilmesiyle MABY geliştirilir. Bu model en çok kullanılan ve insanlarda gelişen MABY'nin deneysel modeli olarak kabul edilmektedir (7). Hipertonik gliserolün im enjeksiyonu miyoliz, hemoliz ve damar içi sıvı hacminin azalmasına neden olur. Damar içi sıvı azalması, kas hasarı sonucu vazokonstriktör etkili endotoksik sitokinlerin dolaşıma salınması ve miyoliz, hemoliz nedeniyle dolaşıma salınan miyogloblin ve hemoglobinin NO'yu yakalayıcı etkilerinin böbrek damarlarında daralmaya neden olduğu bildirilmiştir (24,71-72). Böbrek damarlarındaki daralma sonucu nefron tübüllerindeki ATP'nin azalmasına, aynı zamanda proksimal

tübüllerde hem proteinlerin endositozla hücre içine alınmasına ve nefron tübüllerinde geri emilim mekanizmasındaki yetersizlik sonucu tübüllerde kast oluşumuna sebep olmaktadır. Nefron tübüllerinde hem proteinlerinin sebep olduğu toksik etkiye serbest demirin oluşturduğu oksidatif stresin aracılık ettiği kabul edilmektedir (48). Ayrıca hipertonic gliserolün im enjeksiyonu ile yapılan çalışmalarda hem proteinin direkt NO yakalayıcı etkileri sonucu böbreklerde perfüzyonun azalmasına ve buna bağlı olarak böbrek hasarına yol açılabileceği bildirilmektedir (6,73).

Baicalin ‘*Scutellaria baicalensis*’ köklerinden elde edilen ve binlerce yıldır Çin de inflamatuvar hastalıklar ile iskemik stroke (felç) tedavisinde yaygın olarak kullanılan önemli bir bitkisel ilaçtır (9). Baicalinin sıçanlarda serebral I/R hasarında, karaciğer I/R hasarında, kalp I/R hasarında demir yüklemesine bağlı olarak oluşan karaciğer, böbrek, kalp dokusu hasarında koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir (9,10,52,54,56).

Bu modelde gliserol enjeksiyonundan sonra 6. saatte MABY olduğu rapor edilmektedir. Biz ise çalışmamızda kas içi gliserol enjeksiyonundan sonra 24. saatteki MABY’deki fizyopatolojik değişiklikleri inceledik (3,74). Çalışmamızda kas içi FS uygulandıktan 1 saat sonra ip FS verilen ve kontrol grubu olarak kabul edilen 1. grubun tüm parametreleri bazal olarak alındı. Bu gruptaki deneklerin HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde glomerüler yapıda, nefron tübüllerinde ve intersitisyel alanlarda belirgin bir patolojik bulguya rastlanmadı.

Baicalinin sağlıklı hayvanda etkisinin incelendiği; kas içi FS ve 1 saat sonra ip olarak baicalin verilen 2. grup ile 1. grup parametreleri karşılaştırıldığında glomerüler ve tübüler fonksiyon belirteçleri, oksidatif stres ve antioksidan sistemleri serum, böbrek, idrar NO düzeyleri ile böbreklerdeki ışık mikroskobu bulguları ve immünohistokimyasal olarak incelenen iNOS ve eNOS aktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Hacı ve ark. (75)’nin sıçanlarda I/R hasarında baicalinin etkisini incelendiği tez çalışmasında, sıçanların böbrek damarları diseksiyonla ayrılmadan 30 dakika önce 200 mg/kg dozunda ip verilen baicalinin böbrek fonksiyon belirteçleri, MDA, GSH, serum ve böbrek NO düzeyleri ve FeNa atılımında istatistiksel olarak bir farklılık oluşturmadığı rapor edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları ile bizim sonuçlarımız benzerlik gösterdi. Bu bulgular baicalinin sağlıklı sıçanlarda toksik etkisinin olmadığını göstermektedir.

Kas içi gliserol uygulanarak MABY geliştirilen ve ip FS verilen 3. grup ile kontrol grubu olan 1. grup karşılaştırıldığında MDA, böbrek NO ile serum üre, kreatinin, potasyum, NO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artma; idrar NO ve idrar kreatinin düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. Karaciğer, kalp, kas dokusu,

böbrek ve beyinde bulunan ve bu dokulardaki hasarda kandaki seviyesi yükselen AST ile daha çok karaciğer hasarına spesifik olan ALT düzeyleri ve kalp kası, iskelet kası hasarına bağlı olarak artan CK enzim aktiviteleri 3.grupta 1.gruba göre anlamlı bir artma izlendi. Böbrek tübül fonksiyonunun bir göstergesi olarak kabul edilen FeNa atılımında anlamlı bir artma, böbrek glomerüler filtrasyon hızının göstergesi olarak kabul edilen kreatin klirensinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü. GSH, serum sodyum ve idrar sodyum düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadığı gözlemlendi. 3. gruptaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopisinde incelendiğinde; kortikal tübüllerde dilatasyon, tübül epitelinde basıklaşma ve yer yer nekroz, tübül lümenlerinde kast oluşumu izlendi. Distal tübülde kast şeklinde dens proteinöz madde birikimi yoğun bir şekilde gözlemlendi. Tübüllerde belirgin bir dilatasyon vardı. Distal tübül hücrelerinde hidropik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekti. 1. grupta immunohistokimyasal boyanma ile gösterilen iNOS ve eNOS ekspresyonu proksimal, distal tübül epitel hücrelerinde bazal seviyede izlenirken, 3.grupta ise yaygın ve yoğun immunohistokimyasal boyanma, distal ve proksimal tübül epitel hücrelerinde artan iNOS ve eNOS ekspresyonu izlendi. Bu sonuçlar; çalışmamızda deneysel miyoglobinürik akut böbrek yetmezliği modelinin oluştuğunu göstermektedir.

Serbest radikallerin MABY’nde içinde yer aldığı farklı böbrek hastalıklarının patogeneğinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Böbrek serbest radikal hasarının bir göstergesi ve lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeyinin anlamlı bir şekilde arttığı daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (76,77). MDA düzeyinin artışı böbrekte antioksidan enzimlerin üstesinden gelemeyeceği kadar fazla radikal oluştuğunu düşündürdü. Bu çalışmada saptanan sıçan böbreklerinde oluşan MDA seviyesindeki anlamlı artış daha önce bu modelde yapılan çalışmaların sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (76-80). Fakat ilginç bir şekilde glutatyon üzerinden işleyen, antioksidan savunmanın bir göstergesi olan GSH düzeyinde 3.grupta anlamlı bir değişiklik bulunamadı. Kaliman ve ark.’nın (81) gliserol enjeksiyonundan sonra 2, 6 ve 24 saat sonra böbreklerde GSH düzeyinin kontrol grubuna göre MABY grubunda 2. Saatte anlamlı düzeyde azaldığı, 6 ve 24. saatte de anlamlı olmayan bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada incelenen GSH sonuçları ile bizim çalışmamızın sonuçları benzerlik göstermektedir (81)

Çalışmamızda glomerüler fonksiyon bozukluğunun göstergesi olan serum üre ve kreatinin düzeylerindeki artış ve kreatin klirensindeki azalma daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumluluk gösterdi (79,80,82-85). Tübül fonksiyonunun bir göstergesi olan fraksiyonel sodyum atılımında da bir artış gözlemlendi, bu artış daha önceki çalışma sonuçlarıyla

uyumluluk gösterdi (86). Çalışmamızda tübüler fonksiyonun bir belirteci olan fraksiyonel sodyum atılımındaki artış önceki çalışmalarda olduğu gibi tübüler fonksiyonun bozulduğunu göstermekteydi. Chander ve ark. (39) gliserol enjeksiyonundan sonra böbrek glomerular fonksiyonlarının bir göstergesi olan kreatinin ve üre düzeylerinin arttığını, MDA düzeyinde anlamlı artmanın olduğunu ancak glutatyon düzeylerinde azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Histolojik kesitlerde ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tübüler nekroz, hemorojik kast, hiyalin kast oluşumları olduğu gösterilmiştir. Singh ve ark. (87) gliserol enjeksiyonu ile oluşturulan ABY modelinde birçok çalışmada lipit peroksidasyonun arttığını, böbrek fonksiyonlarının bozulduğunu ve antioksidan kapasitenin azaldığını rapor etmişlerdir. Kim ve ark. (88) bu model ile yapmış oldukları çalışmada glomerüler filtrasyon hızının belirlenmesinde kullanılan kreatinin klirensinin anlamlı düzeyde azaldığını bildirmişlerdir. Huang ve ark. (89) tarafından gliserol verilerek oluşturulan MABY modelinde kreatinin klirensinin anlamlı düzeyde azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar bizim çalışmamızda 3. grupta elde ettiğimiz sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.

Troponin, CK, LDH, aldolaz, miyogloblin, AST, ALT gibi serum markerleri iskelet kasında hem metabolik hem de mekanik nedenlere bağlı olarak meydana gelen hasarın derecesini anlamak için kullanıldığı rapor edilmektedir (90). Bizde çalışmamızda potasyum, CK, AST ve ALT düzeylerinin iskelet kası hasarının belirteçleri olarak kullandık. MABY grubunda bu belirteçlerin artması yoğun bir kas hasarının olduğunu göstermektedir. Bizim çalışma sonuçlarımız daha önce yapılan çalışmaların bulguları ile benzer olduğu görüldü (85, 91-92). Potasyum düzeyindeki yükselmenin ABY nedeni ile idrar atılımının azalmasında ve yoğun kas hasarı sonucu açığa çıkan hücre içi potasyumdan kaynaklandığı bildirilmiştir (77).

Nitrik oksit, NOS enziminin katalizlediği bir dizi reaksiyon sonucunda L-argininden sentezlenir (93). NO vasküler endotelial hücrelerde oluşturulan önemli bir vazodilatatördür. Ayrıca renal veya glomerüler hemodinamiğin kontrolünde, tübüloglomerüler feedback, renin salgılanması, sodyum ve su atılımında da rol oynamaktadır. eNOS; glomerüler endotelial hücrelerde, intrarenal arteriollerde, glomerüler kapillerde, afferent ve efferent arteriollerde, vaza rektada ve kortikal damar endotelinde bulunmaktadır. iNOS; proksimal tübülün S3 segmentinde, medullar henle kulpunun çıkan kalın kısmında, glomerulusta, kortikal toplayıcı kanallarda, inflamasyonla ilişkili böbrek hastalıklarında, mezengial hücrelerde ve papillar interstisyel hücrelerde bulunmaktadır. iNOS vasıtasıyla oluşturulan NO, antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve bu nedenle nonspesifik konak savunma sisteminin önemli bir parçasıdır (94-96). Bu çalışmada böbrekte oluşturulan MABY esnasında böbrek dokusunda NO düzeyinde anlamlı bir artış meydana geldi. Aynı zamanda serbest bir radikal gibi davranan NO,

birçok fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynar. Böbrek hasarı sırasında NO artarken, büyük miktarlarda moleküler oksijen dokulara taşınır ve böylece çok miktarda serbest oksijen ve nitrojen radikali ortaya çıkar (97,98).

Bilindiği kadarı ile tek başına artmış NO düzeyleri hücresele düzeyde büyük hasara neden olmamaktadır. Tüm inflamatuvar süreçlerde hemen hemen bütün hücreler iNOS indüksiyonu ile yüksek düzeyde NO üretirler. MABY sırasında oluşan aşırı NO, ya bu radikalin stabil son ürünleri olan nitrit ve nitrata dönüşür, ya da SOD enzimiyle yarışmaya girerek ve süperoksit radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitriti oluşturur. Böylece nitrik oksitin fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar. Vasküler tonüsün düzenlenmesi için süperoksit ve nitrik oksit arasındaki fizyolojik dengenin önemli olduğu ileri sürülmektedir. Peroksinitrit, nitrik oksit toksisitesinin başlıca sorumlusudur. Peroksinitritin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır ve azotdioksit, hidroksil radikali, nitronyum iyonu gibi toksik ürünlere dönüşür. NO radikalinin stabil son ürünleri nitrit ve nitrattır. Plazma gibi çoğu vücut sıvısında nitritin çoğu nitrata dönüşmüştür (99). Özetle NO ve süperoksit üretiminin yüksek olduğu süreçlerde peroksinitrit oluşumu kaçınılmazdır. Bu nedenle süper oksit radikali, NO ve peroksinitritten oluşan bu üçgende en önemli hasara peroksinitritin neden olduğu ifade edilebilir (100). NO artışıdaki bir diğer muhtemel mekanizma ise, nötrofillerin aktivasyonu ve etkilenen dokuya sekestrasyonudur (101). Bu durum böbrekte oksidan hasarın halen devam ettiği şeklinde yorumlanabilir. iNOS kaynaklı artmış NO üretiminin kendisinin zararlı olup olmadığı uzun süre tartışılmıştır (78). iNOS inhibisyonu olmaksızın böbrek hasarının azaltılması fizyopatolojik süreçte süper oksit radikalleri veya NO'dan ziyade peroksinitritin önemli olduğunu göstermektedir (102,103).

Böbrek tübüllerinde, özellikle proksimal tübülde sitokinlerin uyardığı iNOS'un artması, gördüğümüz değişikliklerin NO ile ilgili olabileceğini işaret etmektedir. İmmünohistokimyasal boyamada glomerül yumaklarında, iNOS ve eNOS pozitif hücre sayısının arttığı çalışmamızda görüldü. iNOS ve eNOS aktivitesi artışının, glomerul içi nitrit ve nitratin yükselmesiyle paralellik gösterdiği rapor edilmiştir (104). %50'lik gliserol enjeksiyonu ile MABY oluşturulan 3. grup, kontrol grubu olan 1. grup ile karşılaştırıldığında, böbrekte NO düzeyi anlamlı olarak arttı. %50'lik gliserol enjeksiyonu ile MABY oluşturulan ve ip Baicalin verilen 4. grupta ise, NO düzeyinde azalma gözlemlendi. Bu çalışmalarımız Liu ve ark. (102) yaptığı çalışma sonuçları ile uyumluluk gösterdi.

Biz çalışmamızda 3. gruptaki hasarın iNOS aktivitesi artışına bağlı olarak oluşan peroksinitrit artışı sonucu olduğunu düşünmekteyiz. Normal koşullarda NOS enzimi argininden NO oluşturur arginin ve tetrahidrobiopterin düzeylerinden herhangi birinin yetersiz

olması NOS'un ürününün NO yerine süperoksit radikali olması yönünde etkiler. Bu olayın eNOS ta kenetsizlenmeye (uncoupling) neden olduğu bildirilmektedir. Bu durumda NOS enziminin redüktaz bölgesinden oksidaz bölgesine giden elektronlar arginin yerine moleküler oksijene ilgi duyarlar (105). Çalışmamızda eNOS aktivitesi artışının eNOS kenetsizlenmesinin bir sonucu olabilir. Liu ve ark. (102) nin hem iNOS hem de eNOS aktivitelerinin ve NO düzeyinin incelendiği çalışmalarında gliserol verilerek ABY oluşturulan grupta nitrat düzeyi ile iNOS aktivitesinin arttığı ve eNOS aktivitesinin ise azaldığını bildirmişler. Bu çalışmada eNOS aktivitesinin bizim çalışmamızda eNOS sonucu ile uyumlu olmaması bu çalışmanın gliserol enjeksiyonundan 7 gün sonra böbrekte eNOS aktivitesinin incelenmesi sonucu olabilir.

Çalışmamızda kas içi gliserol uygulanarak MABY geliştirilen ve gliserol enjeksiyonundan 1 saat sonra ip baicalin verilen 4. grupta; MDA, Serum üre, kreatinin, serum K ve serum NO düzeylerinde, ALT, AST, CK enzim aktivitelerinde, idrar NO ve idrar kreatinin ile kreatinin klirensi ve fraksiyonel sodyum atılımı 3. grup ile karşılaştırdığımızda anlamlı düzeyde fark olmadığı görüldü. Ancak 4. Gruptaki GSH ve böbrek NO düzeyleri 3. Grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. 4. gruptaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopisi ile incelendiğinde; 3. grup ile histolojik özellikleri benzerdi.

Haci ve ark. (75) nin laboratuvarımızda yapmış olduğu tez çalışmasında sıçanlarda böbrek iskemi reperfüzyon hasarında baicalinin etkilerini araştırmıştır. Sıçanların böbrek damarlarının kan akımı mikrovasküler klemple kesilerek 60 dk. iskemi ve 24 saat reperfüzyon oluşturmuş. İskemi reperfüzyon hasarında bizimde çalışmamızda kullandığımız 200 mg/kg dozunda baicalini ip vermiştir. Reperfüzyon başlamasından 24 saat sonra sıçanların kan ve doku örnekleri alınmış; böbrek dokusunda GSH, MDA, NO, serumda; AST, NO, üre, kreatinin, sodyum ve potasyum düzeyleri, idrarda; kreatinin, NO, sodyum düzeyleri ile histopatolojik değişiklikler incelenmiş. İskemi/reperfüzyon grubu ve İskemi/reperfüzyon oluşturup baicalin verdikleri grubun parametreleri arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı rapor edilmiştir.

Yapılan literatür araştırmalarına göre daha önce sıçanlara gliserol verilerek MABY oluşturulan modellerde baicalinin etkisinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Lim ve ark. (106) yaşlı sıçan böbreklerinde baicalin tarafından aktive edilen Peroxisome proliferators-activated receptors gamma (PPAR γ) ile NF-kB'ye bağlı inflamasyonu inhibe etmesini araştırmışlardır. PPAR γ ; pankreas, karaciğer, böbrek, adipoz doku ve kolonu da içeren çeşitli doku ve hücrelerdeki transkripsiyon faktörüdür. Bu çalışmada

baicalinin antiinflamatuvar etkisini önce PPAR γ aktive ederek ardından NF-kB yi inhibe ederek göstermeyi amaçlamışlar. 10 gün boyunca günlük 10 mg/kg dozunda baicalin verilen 24 aylık sıçanların böbrek dokuları in vitro, endotel hücre kültürleri ise in vivo olarak çalışılmış. PPAR γ 'nın baicalin tarafından aktive edildiğini belirlemek için lipopolisakkarit kullanılmış. Çalışma sonunda baicalin pro-inflamatuvar NF-kB'yi baskılayarak PPAR γ 'yı aktive ettiğini ve böylece yaşla ilişkili inflamasyonu azalttığını bildirmişlerdir.

Zhang ve ark. (63) baicalin ve ocreotidin akut pankreatit oluşturulan sıçanlarda renal hasar üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Akut pankreatit %20-30 mortalite ile seyreden yaygın organ hasarına sebep olan sistemik ölümcül bir hastalıktır. Akut pankreatit tedavisinde tek doz verilen baicalinin kısa yarı ömre sahip olması yüzünden zayıf tedavi etkisinin olduğunu, daha sonra ise yüksek dozda ve birden fazla enjeksiyonun güçlü tedavi etkisine sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmada pankreatit oluşturulduktan 10 dk sonra mikroiñfüzyon pompasıyla eksternal jugular ven aracılığıyla ile saatte bir 10 mg/100 g dozunda olacak şekilde 3, 6 ve 12 saatlik tedavi protokolü uygulamışlardır. Bu çalışmalar sonunda artmış olan serum üre düzeyi, 3 ve 12. saatlerdeki baicalin tedavisi ile anlamlı düzeyde azalmasına rağmen serum kreatinin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğin olmadığını; baicalin tedavisi yapılan grup ile akut pankreatit oluşturulan grubun serum NO düzeyi karşılaştırıldığında, 3 ve 12. saatlerde baicalin verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca baicalinin histopatolojik değişikliklerde hasarı azaltıcı etkisinin olduğu bildirilmektedir. Baicalinin bazı parametreler üzerinde göstermiş olduğu koruyucu etkisinin bizim çalışmamızda görülmemesinin sebebi deneysel model farklılığı, baicalinin veriliş yolu, veriliş süresi ve dozuna bağlı olabilir.

Yang ve ark. (107) yapmış olduğu araştırmada ise; T-helper 17 hücre farklılaşması kontrolü altında baicalini immün sistemin bir bileşeni olarak belirlemeyi amaçlamışlar. T-helper 17 hücre farklılaşmasında baicalinin etkilerini in vivo ve in vitro olarak çalışmışlar. Sonuç olarak ise; baicalin T hücrelerinin çoğalmasını engellemektedir, karaciğer fonksiyonlarını korumaktadır, inflamatuvar mediatörlerin gen ekspresyonunu engellemektedir.

Zhang ve ark. (56) yüksek dozda demire bağlı oluşan hasara karşı, 45 gün boyunca %1 oranında hayvan yemine katılarak baicalin ve quercetin verilen çalışmada; baicalinin verildiği grup ile demir yüklenen grup karşılaştırıldığında; baicalinin lipit peroksidasyon düzeylerinde azalmaya neden olduğu, protein oksidasyonunu azalttığı ve katalaz enzim aktivitesini artırdığı bildirilmiştir.

Yeh ve ark. (108) yaptıkları çalışmada ise farelere ip lipopolisakkarit verilerek glomerülonefritis modeli oluşturup baicalinin invivo şartlarda metabolitlerinden biri olan

baicaleinin etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada baicaleinin 50 ve 100 mg/kg dozlarının, koruyucu etki göstermemesi rağmen 150 mg/kg dozunda baicaleinin 14 gün boyunca gavaj yoluyla verilmesi serum üre, kreatinin miktarını, idrar üre, kreatinin ve idrar protein atılımını azalttığını bildirmişlerdir. Böbrekte histopatolojik değişikliklere karşı koruyucu rol oynadığı, iNOS ve COX-2 ekspresyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada baicelenin etkilerinin görülmesinin nedeni uzun süreli uygulanmasının bir sonucu olabilir.

Park ve ark. (109) karbontetraklorür vererek oluşturdukları karaciğer toksisitesine karşı baicalinin etkilerini incelemişlerdir. Karbontetraklorrn verilmesinden 30 dk önce ve 2 saat sonra 25, 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarında baicalin vermişlerdir. Karbontetraklorür ile karaciğer toksisitesi oluşturdukları gruplarda serum ALT ve AST enzim aktivitesi düzeyleri üzerinde 100 mg/kg dozunun istatistiksel olarak en etkili azalmayı sağladığını, bu dozun hem MDA hem de GSH üzerinde anlamlı olarak etkinlik gösterdiğini, yükselmiş MDA düzeyini azalttığını, GSH düzeyini ise artırdığını, iNOS aktivitesini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

Kim ve ark. (10) sıçan karaciğerinde 60 dk iskemiden sonra 5 saat reperfüzyon uygulayarak baicalinin etkilerini araştırdıkları çalışmada karaciğer iskemisinden 24 ve 1 saat önce 200 mg/kg dozunda baicalinin verilmesinin iskemi grubunda artmış MDA düzeyinde azalmaya, azalmış GSH düzeyinde artmaya neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Jang ve ark. (110) farelerde acetoaminofen uygulayarak oluşturdukları karaciğer toksisitesine karşı uygulanan acetaminofenden 30 dk sonra baicalin verilmesinin, plazma AST ve ALT aktiviteleri ile karaciğer histopatolojik değişikliklerini anlamlı düzeyde azalttığını, düşmüş olan karaciğer GSH düzeyinde ise baicalinin etkisinin olmadığını bildirilmektedir.

Baicalinin farklı in vitro ve in vivo çalışmalarda böbrek, karaciğer, pankreas gibi organlarda immnsistemde oluşan hasara ve inflamatuvar mediatörlere karşı koruyucu rol oynadığı literatürde görülmektedir. Yaptığımız alışmamızda baicalinin etkilerinin parametreler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı koruyucu değişiklikler oluşurmamasının birkaç nedeni olabilir.

Bizim alışma sonuçlarımızın daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olmaması;

Baicalin birçok çalışmada 200 mg/kg doz verilmesine rağmen çalışmamızda etkin dozunun belirlenmemiş olmasına,

Baicalinin veriliş yoluna, verilme zamanındaki ve verilme srelerindeki farklılıklara, Deneysel MABY oluşum mekanizmasında etkili faktörlerin diğer deneysel modellerden farklı olmasına bağlı olabilir.

Ayrıca baicalinin etkileri uzun süreli verilmesinden sonra görülebilir. Zhang ve ark. (63) raporlarında baicalinin yarı ömrünün kısa olmasına bağlı olarak yüksek doz ve birden fazla enjeksiyonunun güçlü tedavi etkisine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda baicalinin tek doz olarak verilmesi koruyucu etkilerinin daha az görülmesine neden olmuş olabilir.

Bütün bu bulgular ve literatür sonuçları bir arada değerlendirildiğinde baicalinin deneysel MABY'deki etki mekanizmasını kesin olarak göstermede çalışmamız yetersiz kalmaktadır. Bu konuda baicalinin dozu, veriliş yolu, verilme zamanı ve verilme sürelerinde yapılacak düzenlemeler ile renal kan akımı, böbrek fonksiyonları, oksidatif hasarın derecesini gösteren parametreler ile NO metabolizması üzerindeki etkilerini, histopatolojik değişiklikleri elektron mikroskobu ve moleküler düzeyde araştıran daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yapılan çalışmamızda hipertonic gliserolün im verilmesiyle oluşturduğumuz MABY'de baicalinin böbrek dokusunda glutasyon ve malondialdehit düzeyi ile böbrek, serum ve idrar 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 hematoksil-eozin boyaması ile histopatolojisi ve iNOS ile eNOS aktiviteleri immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda sıçan böbrek MABY'de baicalinin etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. İncelemeler sonucunda aşağıdaki veriler elde edilmiştir.

1. ve 2. grup parametreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlı fark olmadığı görüldü.

1. ve 3. grup parametreleri karşılaştırıldığında; böbrek dokusunda MDA düzeyi ve NO; serumda üre, kreatinin, potasyum ve NO düzeyleri, ALT, AST ve CK aktiviteleri, fraksiyonel sodyum atılımında 3. grupta anlamlı bir artma gözlemlendi, idrarda kreatinin, NO ve kreatin klirensinde ise 3. grupta anlamlı bir azalma gözlemlendi.

3. ve 4. grup parametreleri karşılaştırıldığında; böbrek NO düzeyinde ve GSH düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Diğer parametreler arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü.

Bütün bu bulgular bir arada ele alındığında baicalinin deneysel böbrek MABY etki mekanizmasının kesin olarak göstermede yetersiz kalmaktadır. Baicalinin bu modeldeki etkisinin açıklanabilmesi için dozu, verilme yolu, verilme zamanı ve verilme sürelerinde

yapılacak düzenlemeler ile daha kapsamlı ve ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

ÖZET

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

Çalışmamızda 1. ve 2. grupta 8'er adet; 3. ve 4. gruplarda 10'ar adet olmak üzere toplam 36 adet 150-200 gram ağırlığında erkek Spraque Dawley sıçan kullanıldı. 1. ve 2. grup sıçanlar im fizyolojik serum (FS), diğer gruplar im. gliserol enjeksiyonundan 24 saat önce susuz bırakıldı. 1. ve 2. grup sıçanlara FS, 3. ve 4. gruplardaki sıçanlara % 50'lik gliserol solusyonundan 8 ml/kg'a göre bulunacak toplam hacim eşit miktarlarda her iki arka bacak kaslarına im enjekte edildi. 1 saat sonra 1. ve 3. gruba ip FS, 2. ve 4. gruba 200 mg/kg dozunda ip baicalin verildi. Deneklere enjeksiyon yapıldıktan sonra metabolik kafeslere alınarak 24 saatlik idrarları toplandı. Gliserol enjeksiyonundan 24 saat sonra sıçanlar anestezi altında kanları ve her iki böbreği alınarak, sakrifiye edildi.

Çalışmamızda 1. ve 3. grup parametreleri karşılaştırıldığında; böbrek dokusunda MDA düzeyi ve NO; serumda üre, kreatinin, potasyum ve NO düzeyleri, ALT, AST ve CK aktiviteleri, fraksiyonel sodyum atılımında 3. grupta anlamlı bir artma gözlemlendi, idrarda kreatinin, NO ve kreatin klirensinde ise 3. grupta anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p < 0.017$).

3. grup ve 4. grup parametreleri karşılaştırıldığında; böbrek NO düzeyi ve GSH düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Diğer parametreler arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü.

Bu sonuçlar göz önüne alındığında baicalinin MABY'deki koruyucu etkisini belirlemek için, doz ve verilme sürelerinde yapılacak düzenlemeler ile daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Baicalin, Miyoglobürik Akut Böbrek Yetmezliği, Serbest Radikaller, Nitrik oksit, Antioksidant

THE EFFECTS OF BAICALIN ON MYOGLOBINURIC ACUTE RENAL FAILURE IN RATS

SUMMARY

Myoglobinuric acute renal injury is a uremic syndrome which develops due to damage of skeletal muscle. It was demonstrated that free radicals and nitric oxide play an important role in pathogenesis of myoglobinuric acute renal injury. In this study, we aimed to investigate the effects of baicalin on myoglobinuric acute renal injury that has been reported to have some antioxidant, antiinflammatory, antiviral, antibacterial properties.

In our study, 36 male Sprague Dawley rats, 150-200 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 10 ml/kg. One hour later, 1st and 3rd groups received ip FS and 2nd and 4th groups have taken 200 mg/kg baicalin. 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, potassium, NO, ALT, AST and CK in serum samples, MDA and NO in renal tissue and fractional excretion of sodium were increased in 3rd group when it's compared with the 1st group. Levels of creatinine, NO and creatinine clearance in urine samples were statistically significant reduced 3rd group when compared with the 1st group.

The findings of our study showed that while the group 4 compared to group 3, the kidney NO levels and GSH levels were significantly decreased. There were no significant differences between other parameters.

In this results, we can conclude that the possible protective effect of baicalin in myoglobinuric acute renal injury need to be further investigation with the regulation on the dose and application periods.

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

KAYNAKLAR

1. Glassok RJ, Massry SG, Humes HD. Diagnosis, clinical presentation, and management. Massry SG, Glassok RJ (Eds). Massry And Glassok's The Textbook of Nephrology. 4th ed. Philadelphia: Caurier Wesford, 2001; 48(2) 968-77
2. Sever M. Crush (ezilme) sendromu ve Marmara depreminden çıkarılan dersler. İstanbul: Türk Nefroloji Derneği Yayınları, 2002; 13-74.
3. Abul-ezz SR, Walker PD, Shah SV. Role of glutathione in an animal model of miyoglobinuric acute renal failure. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88, 9833-7.
4. Türk Tabipleri Birliği. Hekimlerin çalıştıkları yataklı tedavi kurumlarının olağandışı durumlara yönelik hazırlıklılığını değerlendirmeleri araştırması. Ankara: Türk Tabipleri Birliği Yayınları; 2009.
5. Shah SV, Walker PD. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in glycerol - induced acute renal failure. Am J Physiol 1988;255:438-43.
6. Akpolat T, Ulaş C, Süleymanlar G. Nefroloji el kitabı. Nobel Tıp Kitabevleri 2000:249-67.
7. 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;50:599-607.
8. Chander V, Chopra K. Molsidomine, a nitric oxide donor and L-arginine protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. Biochim Biophys Acta 2005;1723(1-3):208-14.

9. Tu XK, Yang WZ, Shi SS, Wang CH, Chen CM. Neuroprotective effect of baicalin in a rat model of permanent focal cerebral ischemia. *Neurochem Res* 2009; 34: 1626–34.
10. Kim SJ, Moon YJ, Lee SM. Protective Effects of baicalin against ischemia/reperfusion injury in rat liver. *J Nat Prod* 2010; 73: 2003-8.
11. Beter OS. History of the Crush syndrome: from the earthquakes of Messina, Sicily 1909 to Spitak, Armenia 1988. *Am J Nephrol* 1997;17:392-4.
12. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. İç hastalıkları. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005:1286-98.
13. Metcalfe W, Simpson M, Khan IH, Prescott GJ, Simpson K, Smith WC et al. Acute renal failure requiring renal replacement therapy: incidence and outcome. *Q J Med* 2002; 95:579–583.
14. Vanholder R, Sever MS, Erek E, Lameire N. Rhabdomyolysis. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:1553-61.
15. Nissenson AR. Acute renal failure: definition and pathogenesis. *Kidney Int* 1998;53:S7-S10.
16. Australian and New Zealand Intensive Care Society (ANZICS) Clinical Trials Group. Low-dose dopamine in patients with early renal dysfunction: a placebo-controlled randomized trial. *Lancet* 2000; 356: 2139-43.
17. Latta K, Krull F, Wilken M. Continuous arteriovenous hemofiltration in critically ill children. *Pediatr Nephrol* 1994; 8: 334-7.
18. Altıntepe L, Güney I, Tonbul HZ, Türk S, Mazı M, Ağca E, ve ark. Konya’da Zümrüt Apartmanı çökmesi sonucu oluşan Crush sendromu olguları. *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Derg* 2005; 14(1):18-22.
19. Singh D, Chander V, Chopra K. Protective effect of naringin, a bioflavonoid on glycerol-induced acute renal failure in rat kidney. *Toxicology* 2004; 201:143-51.
20. Mining JL, Valentovic MA. Characterization of myoglobin toxicity in renal cortical slices from Fischer 344 rats. *Toxicology* 2003;184:113-23.
21. Sauret JM, Marinides G, Wang GK. Rhabdomyolysis. *Am Fam Physician* 2002;5(65):907-12
22. Apaydın SG. Crush sendromu. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, İç Hastalıklarında Aciller, Sempozyum Dizisi 2002;29:247-55.
23. Gburek J, Birn H, Verroust PJ, Goj B, Jacobsen C, Moestrup SK et al. Renal uptake of myoglobin is mediated by the endocytic receptors megalin and cubilin. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285:F451-8.

24. Vanholder R, Sever MS, Ereğ E, Lameire N. Acute renal failure related to crush syndrome: towards an era of seismo-nephrology. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:1517-21.
25. Lappalainen H, Tiula E, Uotila L, Manttari M. Elimination kinetics of myoglobin and creatine kinase in rhabdomyolysis: Implication for follow-up. *Crit Care Med* 2002;10(30):2212-5.
26. Chatzizisis YS, Misirli G, Hatzitolios AI, Ginnoglou GD. The syndrome of rhabdomyolysis: complications and treatment. *Eur J Int Med* 2008; 19:568-74.
27. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001 Aug 1;357(Pt 3):593-615.
28. Abassi ZA, Hoffman A, Better OS. Acute renal failure complicating muscle crush injury. *Semin Nephrol* 1998; 5(18):558-65.
29. Karataş Y. Endotel ve nitrik oksid (NO). Şan M (Editör). Yaşamın gizli gücü endotel ve sistemlerimiz. İstanbul: Printaş Basım AŞ 2005;2:33-41.
30. Davis KL, Martin E, Turko IV, Muard F. Novel effect of nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:203-36.
31. Önder R, Barutçu B. Endotel. 2.baskı. İstanbul: Levent Ofset Basım Ağ; 2007:1-20.
32. Valdivielso JM, Lopez-Novoa JM, Eleno N, Barriocanal FP. Role of glomerular nitric oxide in glycerol-induced acute renal failure. *Can J Physiol Pharmacol* 2000; 78:476-82.
33. Araujo M, Welch WJ, Oxidative stress and nitric oxide in kidney function. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension: Volume 15(1)January 2006p 72-77.*
34. Mount PF, Power DA. Nitric oxide in the kidney: functions and regulation of synthesis. *Acta Physiol* 2006, 187:433-46.
35. Ortiz PA, Garvin JL. Role of nitric oxide in regulation of nephron transport. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 282:777-84.
36. Tekcan M. Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis. *Derleme. İnfertilite* 2007;8(5): 131-5.
37. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 3-4:92-3.
38. Araujo M, Welch WJ. Oxidative stress and nitric oxide in kidney function. *Curr Opin In Nephrol Hypertens* 2006; 15:72-7.
39. Maree A, Peer G, Schwartz D, Serban I, Blum M, Wollman Y et al. Role of nitric oxide in glycerol-induced acute renal failure in rats. *Nephrol Dial Transplant* 1994;4:78-81.

40. Urakami H, Grisham MB. Divergent roles of superoxide and nitric oxide in reduced-size liver ischemia and reperfusion injury: Implications for partial liver transplantation. *J Pathophys* 2006; 13:183-93.
41. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Derg* 2002; 33(2): 110 –8.
42. Akkoç H. Miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı. *Dicle Tıp Derg* 2008; 35 (3): 211-5.
43. Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. Algal Antioksidanlar. *E.U. J Fish Aquat SC* 2006; 23(1/1): 85-9.
44. Slater MS, Mullins RJ. Rhabdomyolysis and myoglobinuric renal failure in trauma and surgical patients: a review. *J Am Coll Surg* 1998; 6(186):693-716.
45. Erdal N, Altunkaynak Y, Altunkaynak E, Öztürk M, Mutluay B, Köksal A ve ark. Migrenli hastalarda oksidatif stresin göstergesi olarak lipit peroksidasyonunun incelenmesi. *Düşünen Adam*; 2005; 18(3):129-35.
46. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Derg* 2005; 3: 30-9.
47. Tekkes Y. Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitamininin dokularda lipit peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması (tez). Kahramanmara Kahraman Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2006.
48. Aydoğdu N. Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Yetmezliğinde eksojen melatoninin böbrek fonksiyonuna etkisi (tez). Edirne: TÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2003.
49. Durmuş AS, Ünsaldı E. Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Kırık İyileşmesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*; 2005
50. Derviş E. Oral antioksidanlar. *Derleme. Dermatoz* 2011; 2(1): 263-7.
51. Kim ME, Kim HK, Park HY, Kim DH, Chung HY, Lee JS. Baicalin from *Scutellaria baicalensis* impairs Th1 polarization through inhibition of dendritic cell maturation. *J Pharmacol Sci* 2013;121(2):148-56.
52. Liu LL, Gong LK, Wang H, Xiao Y, Wu XF, Zhang YH et al. Baicalin protects mouse from Concanavalin A-induced liver injury through inhibition of cytokine production and hepatocyte apoptosis. *Liver Int* 2007; 582-91.
53. Gao ZH, Huang KX, Yang XL, Xu HB. Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1472:643–50.

54. Glei M, Latunde-Dada GO, Klinder A, Becker TW, Hermann U, Voigt K et al. Iron-overload induces oxidative DNA damage in the human colon carcinoma cell line HT29 clone 19A. *Mutat Res* 2002;519:151–61.
55. Singh D, Chander V, Chopra K. Quercetin, a bioflavonoid, attenuates ferric nitrilotriacetate-induced oxidative renal injury in rats. *Drug Chem Toxicol* 2004;27:145–56.
56. Zhang Y, Gao Z, Liu J, Xu Z. Protective effects of baicalin and quercetin on an iron-overloaded mouse: comparison of liver, kidney and heart tissues. *Nat Prod Res* 2011;25(12):1150–60.
57. Caoa Y, Maa X, Sun C, Zheng P, Gao J, Wang X et al. Baicalin attenuates global cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils via anti-oxidative and anti-apoptotic pathways. *Brain Res Bull* 2011; 85: 396–402.
58. Zhou BR, Luo D, Wei FD, Chen EX, Gao J. Baicalin protects human fibroblasts against ultraviolet B-induced cyclobutane pyrimidine dimers formation. *Arch Dermatol Res* 2008; 300: 331–4.
59. Anthony YH, Christopher HKC, Mary MYW. Baicalein protects rat cardiomyocytes from hypoxia/reoxygenation damage via a prooxidant mechanism. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 244– 53.
60. Li H, Hu J, Ma L, Yuan Z, Wang Y, Wang X et al. Comprehensive study of baicalin down-regulating NOD2 receptor expression of neurons with oxygen–glucose deprivation in vitro and cerebral ischemia-reperfusion in vivo. *Eur J Pharmacol* 2010; 649: 92–9.
61. Zhang DM, Liu HY, Xie L, Liu XD. Effect of baicalin and berberine on transport of nimodipine on primary-cultured, rat brain microvascular endothelial cells. *Acta Pharmacol Sin* 2007 Apr; 28 (4): 573–78.
62. Cai X, Li C, Du G, Cao Z. Protective effects of baicalin on the ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodont Res* 2008; 43: 14–21.
63. Zhang XP, Tian H, Lai YH, Chen L, Zhang L, Cheng QH et al. Protective effects and mechanisms of Baicalin and octreotide on renal injury of rats with severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13(38): 5079-89.
64. 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: 41–6.
65. 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):348-53.

66. Aras B. Streptozosin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda pirolidyum dithiyokarbamat'ın böbrek dokusu üzerine koruyucu etkisi (tez). İstanbul: T.C. Sağlık Bakanlığı Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2008
67. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbutiric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95:351-8.
68. 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.
69. Zakowski JJ, Tappel AL. A semiautomated system for measurement of glutathione in the assay of glutathione peroxidase. *Anal Biochem* 1978 Sep;89(2):430-6.
70. Cortas NK, Wakid NW. Determination of Inorganic Nitrate in Serum and Urine by a Kinetic Cadmium-Reduction Method. *Clin Chem* 1990;36/8:1440-3.
71. Zhang J, Li P, Wang Y, Liu J, Zhang Z, Cheng W et al. Ameliorative effects of a combination of baicalin, jasminoidin and cholic acid on ibotenic acid-induced dementia model in rats. *Plos One* 2013. 8(2): e56658.
72. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Taskiran R, Tastekin E, Kaymak K. Protective effects of L-Carnitine on myoglobinuric acute renal failure in rats. *Clin Exp Pharmacol* 2006;33:119-24.
73. Chander V, Chopra K. Protective effect of resveratrol, a polyphenolic phytoalexin on glycerol-induced acute renal failure in rat kidney. *Ren Fail* 2006; 28:161-169.
74. Zager RA. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. *Kidney Int* 1996;49:314-26.
75. Hacı M. Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Baicalinin Etkileri (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2012.
76. İlhan A. Deneysel Miyoglobinürük Akut Böbrek Yetmezliğinde Nevibololün Etkileri (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2009.
77. Stefanovich V, Savic V, Vlahovic P, Cvetkovic T, Najman S, Zlatkovic MM. Reversal of experimental myoglobinuric acute renal failure with bioflavonoids from seeds of grape. *Ren Fail* 2000;22(3):255-66.
78. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* 1996; 271 (5 Pt 1):C1424-37.
79. Aydoğdu N, Atmaca G, Yalcin O, Batçioğlu K, Kaymak K. Effects of caffeic acid phenethyl ester on glycerol-induced acute renal failure in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004; 31(9), 575-9.

80. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Batcioglu K, Kaymak K, Effects of exogenous melatonin on myoglobinuric acute renal failure in the rats. *Ren Fail* 2004; 26(5),479-86.
81. 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),37-9.
82. Ustündag S, Sen S, Yalcin O, Ciftci S, Demirkan B, Ture M. L-Carnitine ameliorates glycerol-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. *Ren Fail* 2009; 31(2),124-33.
83. Boutaud O, Moore KP, Reeder BJ, et al. 2nd. Acetaminophen inhibits hemoprotein-catalyzed lipid peroxidation and attenuates rhabdomyolysis-induced renal failure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107(6),2699-704.
84. Korrapatı MC, Shaner BE, Schnellmann RG. Recovery from glycerol-induced acute kidney injury is accelerated by suramin. *J Pharmacol Exp Ther* 2012 341(1),126-36.
85. Subeq YM, Wu WT, Lee CJ, Lee RP, Yang FL, Hsu BG. Pentobarbital reduces rhabdomyolysis-induced acute renal failure in conscious rats. *J Trauma* 2009; 67(1),132-8.
86. Rodrigo R, Bosco C, Herrera P, Rivera G. Amelioration of myoglobinuric renal damage in rats by chronic exposure to flavonol-rich red wine. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 1-8.
87. Singh D, Chander V, Chobra K, Carvedilol. An antihypertensive drug with antioxidant properties, protects against gliserol- induced acute renal faisure. *Am J Nephrol* 2003; 23:415-42.
88. Kim HY, Yokozawa T, Nakagawa T, Sasaki S. Protective effect of γ -aminobutyric acid against glycerol-induced acute renal failure in rats. *Food Chem Toxicol* 2004; 42:2009-14.
89. Huang Z, Murakami T, Okochi A, Yumoto R, Nagai J, Takano M. Expression and function of P-glycoprotein in rats with glycerol-induced acute renal failure. *Eur J Pharmacol* 2000; 406:453-60.
90. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48(6),757-67.
91. Ayvaz S, Aksu B, Kanter M, et al. Preventive effects of hyperbaric oxygen treatment on glycerol-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. *J Mol Histol.* 2012;43(2),161-70.
92. Yang FL, Subeq YM, Chiu YH, Lee RP, Lee CJ, Hsu BG. Recombinant human erythropoietin reduces rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. *Injury* 2012; 43(3),367-73.

93. Türköz Y, Özerol E. Nitrik Oksit'in Etkileri ve Patolojik Rollerini. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 1997;4(4):453-61.
94. Orida NK, Lai CS. Nitric oxide and renal patient. Dial Transplant 2000; 29(4):174-85.
95. Baylıs C. Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease, Nat Clin Pract Nephrol 2006; 2(4), 209-20.
96. Palm F, Teerlink T, Hansell P, Nitric oxide and kidney oxygenation. Curr Opin Nephrol Hypertens 2009; 18(1),68-7.
97. Ferdinandy P, Schulz R. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischemia-reperfusion injury and preconditioning. Br J Pharmacol 2003;138(4):532-543.
98. Ronson RS, Nakamura M, Vinten-Johansen J. The cardiovascular effects and implications of peroxynitrite. Cardiovasc Res 1999;44(1):47-59.
99. Korkmaz A, Yaren H, Topal T, Oter S. Molecular targets against mustard toxicity: implication of cell surface receptors, peroxynitrite production, and PARP activation. Arch Toxicol 2006; 80 (10):662-70.
100. Beckman JS. -OONO: rebounding from nitric oxide. Circ Res 2001;89(4):295-297.
101. Adams LB, Hibbs JB Jr, Taintor RR, Krahenbuhl JL. Microbiostatic effect of murine-activated macrophages for *Toxoplasma gondii*. Role for synthesis of inorganic nitrogen oxides from L-arginine. J Immunol 1990;144(7):2725-2729.
102. Liu Y, Fu X, Gou L, Li S, Lan N, Zheng Y, Yin X. L-Citrulline protects against glycerol-induced acute renal failure in rats. Ren Fail 2013; 35 (3) ; 367-373
103. Yaren H, Mollaoglu H, Kurt B, Korkmaz A, Oter S, Topal T, Karayilanoglu T. Lung toxicity of nitrogen mustard may be mediated by nitric oxide and peroxynitrite in rats. Res Vet Sci 2007; 83 (1):116-122.
104. Dunlop M. Aldose reductase and the role of the polyol pathway in diabetic nephropathy. Kidney Int Suppl 2000,77:3-12.
105. Kim JH, Bugaj LJ, Oh YJ. Arginase inhibition restores NOS coupling and reverses endothelial dysfunction and vascular stiffness in old rats. J Appl Physiol 2009; 107(4),1249-57.
106. Lim HA, Lee EK, Kim JM, Park MH, Kim DH, Choi YJ, et al. PPAR γ activation by baicalin suppresses NF- κ B-mediated inflammation in aged rat kidney. Biogerontology 2012;133-45. doi: 10.1007/s10522-011-9361-4.
107. Yang J, Yang X, Chu Y, Li M. Identification of Baicalin as an immunoregulatory compound by controlling T(H)17 cell differentiation. PLoS One 2011;6(2):e17164. doi: 10.1371.

108. Yeh JH, Chiu HF, Wang JS, Lee JK, Chou TC. Protective effects of baicalein extracted from *Scutellaria baicalensis* against lipopolysaccharide-induced glomerulonephritis in mice. *Int J Pharmacol* 2010;6(2):81-8.
109. Park SW, Lee CH, Kim YS, Kang SS, Jeon SJ, Son KH et al. Protective effect of baicalin against carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice. *J Pharmacol Sci* 2008;106:136-43.
110. Jang SI, Kim HJ, Hwang KM, Jekal SJ, Pae HO, Choi BM et al. Hepatoprotective effect of baicalin, a major flavone from *scutellaria radix*, on acetaminophen-induced liver injury in mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2003;25(4):585-94.

RESİMLEMELER LİSTESİ

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Baicalinin kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2: Ortalama MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	33
Şekil 3: Ortalama GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	33
Şekil 4: Ortalama NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	34
Şekil 5: Ortalama AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	34
Şekil 6: Ortalama ALT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	35
Şekil 7: Ortalama CK düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	35
Şekil 8: Ortalama serum üre düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	36
Şekil 9: Ortalama serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	36
Şekil 10: Ortalama serum sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	37
Şekil 11: Ortalama serum potasyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	37
Şekil 12: Ortalama serum NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	38
Şekil 13: Ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	38
Şekil 14: Ortalama idrar sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	39
Şekil 15: Ortalama idrar NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	39
Şekil 16: Ortalama kreatin klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	40
Şekil 17: Ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	40
Şekil 18: 1.Grubun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX200)]	43
Şekil 19: 2. Grubun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX200)]	43

Şekil 20: 3. Grubun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]	44
Şekil 21: 4. Grubun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]	44
Şekil 22: 1. Grubun böbrek kesiti [iNOSx200]	48
Şekil 23: 1. Grubun böbrek kesiti [eNOSx200].....	48
Şekil 24: 2. Grubun böbrek kesiti [iNOSx100]	49
Şekil 25: 2. Grubun böbrek kesiti [eNOSx200].....	49
Şekil 26: 3. Grubun böbrek kesiti [iNOSx100]	50
Şekil 27: 3. Grubun böbrek kesiti [eNOSx100].....	50
Şekil 28: 4. Grubun böbrek kesiti [iNOSx100]	51
Şekil 29: 4. Grubun böbrek kesiti [eNOSx100].....	51

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. 1. Grubun biyokimyasal verileri	28
Tablo 2. 2. Grubun biyokimyasal verileri	29
Tablo 3. 3. Grubun biyokimyasal verileri	30
Tablo 4. 4. Grubun biyokimyasal verileri	31
Tablo 5. Çalışma gruplarının değişkenlere ait istatistiksel verileri	32
Tablo 6. Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçlar	42
Tablo 7. Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçlar	42
Tablo 8. Grupların iNOS immünohistokimyasal boyanma skorları	46
Tablo 9. Grupların eNOS immünohistokimyasal boyanma skorları	47

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Ankara'nın Çankaya ilçesinde doğdum. İlköğrenimime 1995 yılında Boztepe İlköğretim okulunda, lise öğrenimime 2003 yılında Seyranbağları Süper Lisesi'nde başladım. Lisans öğrenimimi ise Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde 2010 yılında tamamladım. 2011 yılı Şubat ayında Bülent Ecevit Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi'nde araştırma görevlisi olarak işe başladım. 2011 yılı Eylül ayından itibaren Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

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

Yayımları:

- 1) Aydoğdu N, Poyraz MD, Taştekin E, Öz S, **Yavuz YÖ**, Çukur Z, Tarhan Aİ, Atagün Ç. Sıçanlarda Böbrek I/R hasarında Aspirinin Etkileri. TFBD 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Trabzon 2012, p:027.
- 2) **Yalcinkaya YÖ**, Aydogdu N, Tastekin E, Sut N. The effects of baicalin on rhabdomyolysis induced acute renal injury in rats. IUPS 37. International Congress of Physiological Sciences; 2013 July 21-26; Birmingham, UK.2013, LB111.
- 3) **Yalçinkaya YÖ**, Aydoğdu N, Taştekin E, Süt N. Sıçanlarda gliserol ile oluşturulan kas hasarı sonucu gelişen akut böbrek yetmezliğinde baicalinin etkileri. TFBD 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Ankara 2013, p:005.
- 4) Karaca A, Vardar SA, **Yalçinkaya YÖ**, Turan FN. Fizyoloji eğitiminde deney hayvanı kullanılmasına alternatif bir yöntem: video ile eğitim. TFBD 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Ankara 2013, s:39.

EKLER

EK-1

T.C.


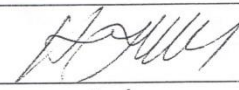

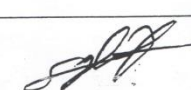
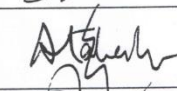
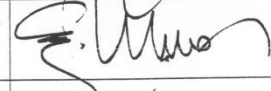
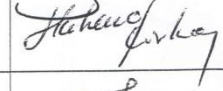
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

EDİRNE

Oturum Sayısı: 03
KARAR NO: 2012.03.04

Karar Tarihi: 27.04.2012

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU'nun yaptığı Yüksek Lisans Öğr. Özlem YALÇINKAYA tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2012/33 "Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Yetmezliğinde Baicalinin Etkileri." başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler 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
Yrd.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 checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi 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	
Yrd.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 checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr.Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	