

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

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**SIÇANLARDA BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON
HASARINDA BAİCALİNİN ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Mustafa HACI

EDİRNE-2012

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

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**SIÇANLARDA BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON
HASARINDA BAİCALİNİN ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Mustafa HACI

Destekleyen Kurum: TÜBAP-2011/55

Tez No:

EDİRNE-2012

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca beni yetiştiren, çalışmam sırasında bilimsel katkıları ile yardımlarını esirgemeyen ve bana yol gösteren tez danışman hocam sayın Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya, yetişmemde emeği olan Emekli Hocamız Prof. Dr. Kadir KAYMAK, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK, Doç. Dr. Arzu VARDAR ve Yrd. Doç. Dr. Mevlüt YAPRAK'a çalışmamda yardımlarıyla yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Ebru TAŐTEKİN, Doç. Dr. Necdet SÜT, Selime ÖZ, Meryem D. POYRAZ, Aziz KARACA, Özlem YALÇINKAYA'ya, Deney 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
BÖBREKLERİN FİZYOLOJİK ANATOMİSİ	3
BÖBREKTE İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI	4
BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ	6
SERBEST RADİKALLER	11
ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	19
BAİCALİN	20
GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
BULGULAR	30
TARTIŞMA	52
SONUÇLAR	58
ÖZET	59
SUMMARY	61
KAYNAKLAR	63
RESİMLEMELER LİSTESİ	70
ÖZGEÇMİŞ	72
EKLER	73

SİMGE VE KISALTMALAR

ABY:	Akut Böbrek Yetmezliği
BH₄:	Tetrahidrobiyopterin
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
GSH-Px:	Glutatyon Peroksidaz
GST:	Glutatyon S Transferaz
H₂O₂:	Hidrojen peroksit
iNOS:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
IL:	İnterlökin
I/R:	İskemi/Reperfüzyon
L-NAME:	N-nitro-L-arjinin-metil ester
MDA:	Malondialdehit
MPO:	Myeloperoksidaz
mTAL:	Henle kulpu çıkan kalın kol
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (Redükte)

NGAL:	Nötrofiljelatinaz ilişkili lipokalin
NO:	Nitrik oksit
NO₂:	Nitrojen dioksit
NO₃⁻ :	Nitrat
NOS:	Nitrik Oksit Sentaz
O₂⁻ :	Süperoksit Radikali
·OH:	Hidroksil Radikali
PMNL:	Polimorfonükleer lökosit
PT:	Proksimal tübül
PUFA:	Poliansatüre yağ asitleri
RAS:	Renin-Angiotensin sistemi
RBF:	Böbrek kan akımı
RNA:	Ribonükleik Asit
RNS:	Reaktif Nitrojen Türleri
ROO[·] :	Peroksil Radikali
ROS:	Reaktif Oksijen Türleri
SOD:	Süper Oksit Dismutaz
TBA:	Tiyobarbutirik Asit
TGF:	Tübüler geri bildirim
TNF-α:	Tümör Nekroz Faktör-alfa
XO:	Ksantinoksidaz

GİRİŞ VE AMAÇ

Tıp alanındaki önemli ilerlemelere rağmen, akut böbrek yetmezliği (ABY) önemli bir klinik problem olmaya devam etmekte ve geçen son 50 yıl içinde hastalığın görülme sıklığında herhangi bir azalma görülmemektedir (1). ABY' nin birincil nedenleri böbrek iskemisi/reperfüzyon (I/R) hasarı, kan akımındaki bozukluğun neden olduğu arter tıkanıklığı, şok ve organ transplantasyonudur. ABY, günlük klinik vakalarda sıklıkla karşılaşılabilen bir durum olup, hastanın kalış süresini uzatabilmekte veya hastanın durumunu belirgin biçimde kötüleştirebilmektedir (2).

İskemik dokuda kan akımının yeniden sağlanması anlamına gelen reperfüzyon sırasında dokunun oksijen ve diğer metabolik ihtiyaçları karşılanırken, dokularda hasar oluşur. İskemik dokuda kan akımının yeniden düzenlenmesi vazgeçilmez bir aşama olmasına rağmen, reperfüzyon hasarı sırasında oksijen paradoksu denilen bir durum oluşmakta ve bu durumda böbrek fonksiyon bozukluğunu şiddetlendirmektedir (3). Özellikle proksimal tübüldeki epitelyal hücreler, akut tübüler nekrozun görüldüğü ve ABY patogenezinde önemli rol oynayan hücrelerdir (4,5).

Çeşitli faktörlerin olası etkilerine ek olarak, kalsiyum aşırı yüklenmesi gibi postiskemik reperfüzyon hasarının büyük ölçüde oksijen kaynaklı serbest radikallerin üretimi üzerine ve nötrofillere bağlı olduğuna dair birçok bulgu vardır. Serbest radikaller, reperfüzyon sırasında oksijenin geri alımına bağlı olarak büyük miktarlarda üretilebilirler. Bu olayı tetikleyen bazı sebepler; serbest radikallerin aktivasyonunu sağlayan ksantin oksidaz gibi enzimler, ikincil mitokondrial solunum sırasındaki sızıntılar serbest radikal oluşumunu neden olabilir. Oluşan radikaller nitrik oksiti inaktive eder, lökosit adezyon moleküllerini ve nötrofil aktivasyonunu tetikler (6).

Serbest radikaller karbonhidratlar, proteinler, nükleik asitler, serbest aminoasitler, lipitler, lipoproteinler ve bağ dokusu makromolekülleri de dahil olmak üzere, canlı organizmaların yapısındaki çoğu biyomoleküllerle reaksiyona girerek bunlar üzerinde geriye dönüşümlü veya dönüşümsüz etkiler meydana getirebilmektedirler. İskemi sırasında küçük oranda serbest radikal oluşuyor ise de, reperfüzyon döneminde dokunun yeniden oksijenlenmesinin ardından çok daha büyük miktarda serbest radikal meydana gelmekte ve bunlar da lipit peroksidasyona yol açarak hasarın derecesini arttırmaktadırlar (7).

Böbrekte reperfüzyon hasarına neden olan başlıca patofizyolojik mekanizmalar; polimorfonükleer lökositlerin adezyonu ve aktivasyonu, proinflamatuvar sitokinlerin salınımı (TNF- α , interlökin-1), reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS)' nin (hidroksi radikali, hidrojen peroksit, nitrik oksit ve peroksinitrit gibi) salınımıdır (8).

Antioksidanların esas fonksiyonu serbest radikal oluşumunu engellemektir. Yapılan deneysel çalışmalarda allopurinol, N-asetilsistein, üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstresi, melatonin gibi antioksidan maddeler kullanılmıştır (7). Baicalin, "Scutellaria baicalensis" Çin takke bitkisinin köklerinden elde edilen aktif bir bileşiktir. Geleneksel Çin tıbbında enfeksiyonlar, epilepsi, hepatit ve kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Laboratuvar çalışmalarda baicalin maddesinin karaciğer kanseri ve lösemi hücrelerini öldürdüğu gösterilmiştir. Baicalin aynı zamanda bakterileri öldürücü, antioksidan ve antiinflamatuvar etkili olduğu bildirilmektedir (9-11).

Çalışmamızda baicalinin, sıçanlarda böbrek I/R hasarı modelinde böbrek fonksiyonları, böbrek malondialdehit, glutatyon ve nitrik oksit düzeyleri ile histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçladık. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda daha önce böbrek I/R hasarında baicalinin etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

GENEL BİLGİLER

BÖBREKLERİN FİZYOLOJİK ANATOMİSİ

Her iki böbrek periton boşluğunun dışında ve karın arka duvarında yer alır. Yetişkin bir insanda her bir böbreğin ağırlığı ortalama 150 gram ve yaklaşık yumruk büyüklüğündedir. Her böbreğin mediyanında hilum denilen kısım bulunur. Böbrekler iç yapılarını koruyan kuvvetli bir kapsülle sarılmıştır (12).

Eğer böbrekleri uzun ekseninden ikiye kesecek olursak dış kısım daha açık renkli olan kısım korteks, iç kısımda daha koyu renkli olan medulla kısmı ayırt edilir. Böbreğin medullasında böbrek piramitleri denen koni biçiminde çok sayıda doku kütlesi mevcuttur. Böbrek pelvisinde büyük kaliks diye isimlendirilen kısım aşağıya doğru uzanır ve her papillada tübüllerden idrar toplayan küçük kalikslere ayrılır. Kalikslerin, pelvis ve üreter duvarının idrarın mesaneye doğru ilerlemesini sağlayan kasılabilir özelliği vardır (12).

Böbreğin Kanlanması

Böbrek kan akımı normal olarak kalp debisinin yaklaşık %22'si kadar diğer bir ifadeyle dakikada yaklaşık olarak 1100 ml'dir. Böbrek arteri hilum bölgesinden böbreğe girer; interlober, arkuat arterlere ve aferent arteriyollere ayrılır. Aferent arteriyoller plazma proteinleri hariç, çok miktarda su ve maddenin filtre edilerek idrar yapımının başladığı kısım olan glomerüler kapillerleri oluşturur. Her glomerüler kapillerinin distal ucu birleşerek, böbrek tübüllerini saran ve peritübüller kapiller diye adlandırılan ikincil bir kapiller ağı oluşturan eferent arteriyolu oluştururlar (12).

Böbrek kan dolaşımı iki ayrı kapiller yatağı bulunan özel bir dolaşım şeklidir. Glomerülere ait ve tübül çevresi kapillerler seri şekilde düzenlenmiş olup, birbirinden her iki

kapiller yatakta hidrostatik basıncın düzenlenmesine yardımcı olan eferent arteriyol ile ayrılır.

Peritübüler kapillerler arteriyol damarlarına paralel olan venöz sistemin damarlarına boşalır. Bunlar da sırası ile interlobüler ven, arkuat ven, interlober ven ve üreterle birlikte böbreği terk eden renal veni oluşturur (12).

Böbreğin İşlevsel Birimi Nefron

İnsanda her böbrek idrar yapma özelliğine sahip yaklaşık olarak bir-bir buçuk milyon kadar nefron içerir. Böbrekler bu yapıları yenileyemezler. Bu yüzden böbrek hasarı, hastalık, yaşlanma gibi durumlarda böbrekteki nefron sayısı azalır. Kırk yaşından sonra işlev gören nefron sayısı genelde her 10 yılda % 10 azalır. Bu kayıp hayatı tehdit edici boyutta değildir. Çünkü kalan nefronlar adaptasyon sağlayarak yeterli miktardaki suyu, elektrolitleri ve metabolik artıkları atarlar. Her nefronda kanın büyük kısmını filtre edildiği yer olan glomerüler (glomerül kapillerler yumağı) ve böbrek pelvisi boyunca, filtre edilen sıvının idrara dönüştüğü uzun bir tübül bulunur (12).

BÖBREKTE İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI

Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı olarak organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu doku veya organların oksijenden yoksun kalması sonucu oluşan iskemik hücrel enerji depolarının tükenmesi ve toksik metabolitlerin birikimi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin uzaklaştırılması amacıyla yeniden kan akımının sağlanması gerekir. Fakat iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemik ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar (13).

Böbrek iskemisi; böbrek transplantasyonu, sepsis, kısmi nefrektomi, çeşitli ürolojik girişimler ve hidronefrozis gibi bazı klinik durumlarda görülebilir. İskemik hasarından sonra gelişen akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, böbrek damarlarında direnç artışı, tübüler nekroz gibi durumlar ile kendini gösterir (7). Reperfüzyon döneminde oluşan hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma etkilidir. Reperfüzyon hasarına karşı en fazla duyarlı olan hücrel düzeyindeki yapılar; nükleik asitler, proteinler, zar lipitleri ve deoksiribonükleik asit molekülleridir (13).

Özellikle proksimal tübül epitelyum hücreleri, akut tübüler nekrozun görüldüğü ve ABY patogenezinde oldukça önemli rolleri olan hücrelerdir. Böbrekte reperfüzyon hasarının oluşumunda etkili olan mekanizmalar (14):

- Polimorfonükleer lökosit (PMNL)' lerin yapışma ve aktivasyonu
- Proinflamatuvar sitokinlerin serbest hale geçmesi
- Reaktif oksijen türleri (ROS)
- Reaktif nitrojen türleri (RNS) sayılabilir (14).

Dokularda bulunan antioksidan savunma sistemlerinin kapasitesini aşacak miktarlarda reaktif oksijen radikallerinin oluşması reperfüzyon hasarına neden olduğu yapılan çalışmalar sonucunda anlaşılmaktadır. Antioksidanların esas fonksiyonu serbest radikallerin oluşumunu önlemektir (15). İskemi döneminde hücrede yapısal ve metabolik değişiklikler görülür. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücrede oksidatif fosforilasyon azalır ve adenosin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezinde azalma olur. Hücrede enerji depolarının boşalması sonucu hücre zarında bulunan Na^+, K^+ -ATP az pompası inhibe olur. Sonuç olarak hücre içinde Na^+ ve Ca^{+2} iyon konsantrasyonları artar. Hücre içinde Ca^{+2} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir. Yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin, lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin yapımında azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki oluşan hasara karşı dayanıksız hale getirir (13).

Böbrek I/R hasarı birçok organda bozukluğa ve dokularda hasara neden olmaktadır. Bu organlardan bazıları karaciğer, akciğer ve kalptir. Böbrekte I/R hasarı sonucu böbrek ve karaciğerde lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyi artar. Antioksidan ve antioksidan enzim aktivitelerinin azaldığı, myeloperoksidase (MPO) aktivitesi ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) düzeylerinin ise önemli ölçüde artış gösterdiği gözlenir (16). Nötrofil ve TNF- α , hücre tipleri ve inflamatuvar mediatörlerin her birinin I/R hasarı patofizyolojisinde büyük önem taşıdığı düşünülmektedir. Reperfüzyonla indüklenen nötrofillerin bölgeye akın ettiği ve TNF-a üretimini sınırlandırarak akut iskeminin tedavisine katkı yaptıkları inanılmaktadır (17).

Böbrek iskemisi, ABY' nin önemli bir nedenidir. Böbrek iskemisi, ABY'ne neden olan karmaşık ve birbiriyle ilişkili bir dizi olayı başlatarak, böbrekte hasar ve sonuçta renal hücrelerin ölümü ile son bulur. Prognoz aslında bu reperfüzyon süreci ile komplike, böbrek iskemisi dokusu hayatta kalmak için gerekli olmasına rağmen ek hasara neden olur. Sonuç

olarak böbrekte, böbrek disfonksiyonu ve hasarla ilişkili olan I/R' la sonuçlanır. Ayrıca, özellikle proksimal tubül (PT)' de I/R' nun yol açtığı hasar belirgin bir şekilde görülür (1,18).

Preoperatif dönemde ABY hasarını iyileştirmede gelişme kaydetmenin zor olduğu yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. ABY' de gelişme kaydetmek için erken tespit ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinin gerekli olduğu anlaşıldı. ABY erken tanısı için çeşitli biomarkırlar vardır. Bu biomarkırlardan bazıları sistein-C, nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL) ve interlökin-18 (IL-18)' dir (19).

Kalp cerrahisi geçiren hastalarda ABY'e yol açan çeşitli faktörler vardır. Bu faktörlerden bazıları hipotansiyon, nefrotoksinler, inflamatuvar mediatörlerdir (19). Böbrek iskemisi, böbrek transplantasyonunda önemli bir klinik sorundur. Böbrek transplantasyonunu takiben erken allograft reddi, kalp damar cerrahisi ve I/R hasarı, ABY ile sonuçlanabilmektedir. ABY, glomerüler filtrasyon hızında önemli bir azalma, geniş tübüler hasar, tübüler hücre nekrozu, glomerüler yaralanma ve hücre artıkları, tübüler obstrüksiyon belirtileri ile karakterize klinik ve deneysel bir sendromdur (20).

BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ

Oksidatif Stres

Serbest radikallerin oluşum hızı ve serbest radikallerin antioksidan sistemler tarafından nötralize edilme hızı arasında daima bir denge olmalıdır. Bu şekilde hücre serbest radikallerin yapmış olduğu olumsuz etkilerinden korunmuş olur. Eğer bu denge serbest radikaller lehine doğru gelişecek olursa, yani serbest radikallerin yapımı nötralize edilmelerinden daha fazlaysa, hücrede serbest radikaller artar. Serbest radikal düzeyinin hücre içinde artması ve bunların hücre fonksiyonları üzerinde yapmış oldukları olumsuz etkiye (oksidatif hasara) "oksidatif stres" denir (21). Oksidatif stres lipid peroksidasyonuna, DNA mutasyon ve kırıklarına, protein oksidasyonuna, sitotoksik etkilere ve sinyal iletiminde bozulmaya yol açabilir. Serbest radikallerin yapmış olduğu hücre hasarının yaşlanma süreci ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif hastalıkların (ateroskleroz, katarakt, nörodejeneratif hastalıklar, immunsistem bozuklukları, kanser oluşumu gibi) progresyonunda önemli role sahip olduğuna inanılmaktadır (22).

Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO) insan vücudunda çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik cevapları düzenleyen bir sinyal molekülüdür. Başta vazodilatasyon olmak üzere sinirsel iletim, konak savunması gibi birçok role sahiptir (23).

1980 yılında Furchgott ve Zawadski asetil kolin etkisiyle endotel hücreleri tarafından yapılan damar düz kasını gevşeten bir madde bildirdiler. Bu maddeye endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF: Endotel Derived Relaxing Factor) adını verdiler. 1987’ de Palmer ve ark. EDRF’nin bilinen biyolojik etkilerinde NO isimli bir gazın yaptığını buldular. 1992 yılına kadar NO’nun fizyolojik ve patolojik olaylarda rolü anlaşılmış ve o yıl yılın molekülü seçilmiştir (24-26).

Nitrik oksit renksiz bir gaz ve oksijen eksikliğinde oldukça stabildir. Fakat hava ile temas ettiğinde hızlı bir şekilde oksijenle reaksiyona girerek nitrojen dioksit (NO₂) dönüşür. Nitrojen Dioksit doku hasarına neden olabilen toksik bir gazdır (24,25). NO bilinen klasik nörotransmitterlerden farklı olup gerektiği yerde, zamanda ve miktarlarda sentezlenerek, sentezlendiği hücreden dışarıya difüze olur ve özel reseptörleri yoktur (24).

Nitrik oksit böbrekler dahil olmak üzere, birçok kapiller damar tonusunu, damar direncini ve kanın perfüzyonunu düzenler. NO aynı zamanda mitokondrial solunumla yarışabilen güçlü bir inhibitördür. Oksijenle sitokrom oksidaz düzeyini arttırmak için rekabet halinde olup, mitokondrideki terminal elektron alıcısıdır. Bu nedenle mitokondrial oksijen tüketiminin inhibisyon büyüklüğü, düşük oksijen basıncını (pO₂) NO arttıracaktır. Bu durum heterojen intrarenal etkisi yaratarak, normal fizyolojik koşullardaki gibi medulla düşük oksijen basıncında çalışır (27).

Nitrik oksit oluşumu: NO, çeşitli formlardaki nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri tarafından, L-argininin terminal guanidin grubunun NO’ya çevrilmesiyle üretilir. Bu işlemlerin gerçekleşebilmeleri için ise, oluşum sırasında moleküler oksijen ile birlikte kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN), kalmodulin ve tetrahidrobiyopterin (BH₄)’ e ihtiyaç vardır (24).

Nitrik oksit sentezinde rol oynayan NOS enzimleri, kinetik ve fizikokimyasal özelliklerine göre 2 gruba ayrılır:

- “Constitutive” (yapısal) NOS (cNOS)
- “Inducible” (indüklenebilir) NOS (iNOS)

Yapısal NOS: Nöronal ve endotelial izoformları mevcuttur. Yapısal NOS özellikle periferik ve santral sinir sistemi, damar endoteli gibi dokularda lokalize olmuştur. Bu dokularda her zaman mevcut olup aktif değildir (26). Kofaktör olarak Ca^{+2} /kalmodulin kullanılıp intrasellüler Ca^{+2} düzeyini yükselten agonistlerle aktive olur. Ca^{+2} miktarının artması kalmodülünün NOS'a bağlanmasını uyarır ve hızlı bir şekilde pikomolar düzeylerde NO sentezi gerçekleşir. Nöronal yapılar, endotel hücreleri, miyokard, endokard ve trombositlerde bulunur (24).

İndüklenebilir NOS: NOS'un bu tipi yapısal tipin aksine hücre içinde bulunmaz. Özellikle makrofaj (nötrofil, monosit, hepatosit gibi) ve damar endotel hücrelerinde sentezi gerçekleşir (26). NOS'un indüksiyonunun gerçekleştiği durumlarda uzun süre ve büyük miktarlarda Ca^{+2} dan bağımsız, NO sentezi gerçekleşir. Makrofaj hücrelerde, epitel hücrelerinde ve damar düz kas hücrelerinde iNOS bulunur (24).

Nitrik oksidin böbrekteki etkileri: Gelişen böbreğin hemodinamisinin şekillenme aşamasında NO önemli bir düzenleyicidir. Yapılan birçok bilimsel çalışmada NO'nin böbrek kan akımının otoregülasyanunu, filtrasyon için gerekli alanı, tübüloglomerüler feedback cevabı ve renin salınımını etkilediği rapor edilmiştir. Yine son yıllarda yapılan çalışmalarda yenidoğan döneminde daha belirgin olmakla birlikte NO'nin gelişmekte olan böbrekte fizyolojik ve patofizyolojik durumlarda renal fonksiyonları düzenleyen en etkili faktörlerden biri olduğu bildirilmiştir (28). Birçok yeni çalışma NO ve süperoksitin normal böbrek ve damar fonksiyonlarına katıldığını göstermektedir. Her iki molekülde damar tonusu ve tübüler fonksiyonun normal olarak devam ettirilmesi sürecinde sinyal molekülü gibi işlev görürler (29).

Nitrik oksit sentaz nefrogenezisin erken evrelerinde distal tübül hücrelerinde bulunur. Gelişen böbrekteki makula densadaki NOS yoğunluğu ve dağılımı erişkinlerden farklıdır. Henle kulpunun çıkan kalın kolunda (mTAL), NOS daha fazla yerleşim göstermekte, buda NO'nin tübüler fonksiyonu doğrudan etkilediğini göstermektedir (28).

Nitrik oksidin hemodinamik etkileri: Böbrek fonksiyonları üzerine kan basıncını değiştirmeksizin etkisini gösteren bir mediatördür. Böbrek kan akımı (RBF) ve glomerüler filtrasyon hızı (GFR) miyojenik cevaba bağlı olarak ve tübüler geri bildirim (TGF) mekanizmalarıyla kan basıncı belli bir aralıkta tutulur. Glomerüler filtrasyonu belirleyen asıl etken renal perfüzyon basıncıdır. Üriner Na^{+} atılımı belirgin bir şekilde artmasına rağmen

RBF ve GFR sabit olarak devam edebilmesi için böbrek perfüzyon basıncının artması otoregülasyonun bir sonucudur (28). Böbrekte NO tübüler elektrolit taşınması ve böbrek fonksiyon bozukluğunun gelişimi ile ilişkili olduğu görülmüştür. Örneğin: Hipertansiyon, diabet, I/R hasarı ve yaşlanma gibi durumlarda etkilidir (29).

Nitrik oksit mikrovasküler tonus üzerindeki etkilerinin yanında, TGF mekanizmasına katılır. Jukstaglomerüler hücrelerden renin salınımını uyararak filtrasyon için gerekli olan glomerüler alanı etkiler. NO' in tübüler geri bildirim sisteminin duyarlılığındaki azalma ile afferent arteriol direnç artışını kompanse ettiği sanılmaktadır. Miyojenik yanıt afferent arteriolde vardır, buna karşın efferent arteriolde yoktur. Perfüzyon basıncının artmasına bağlı olarak oluşan bu cevap lümen çapının daralmasına neden olup, lümendeki kan akımı sabit tutulmasına karşın endoteldeki "shear stresi" artırır. Sonuç olarak damar direncinin düzenlenmesinde etkili olan endotelden NO yapım ve salınımı artar. NO salınımı miyojenik kasılmaya cevap olarak uyarılır (28). Pittner ve ark. (30) izole edilmiş sıçan böbreğinde, böbrek hücrelerinin perfüzyonu sırasında jukstaglomerüler kısımda NO düzeylerinin lokal dağılım gösterdiğini ve afferent arteriolde düzenleyici olmadığını gözlemlediler. Hücre perfüzyonu sırasında afferent arterioldeki kan akımı N-nitro-L-arjinin-metil ester (L-NAME) ya da %20 eritrosit içeren bir solüsyonla düzenlendi. Çalışmacılar yüksek orandaki "shear stresin" NO salınımını uyardığını, NO'nun önleyici etkisiyle otoregülasyondaki düşüşleri düzenlediğini ve normal şartlar altında eritrositleri temizleyebileceğini ifade etmiştir (30).

Nitrik oksit ile renin-angiotensin sistemi (RAS) sürekli etkileşim halindedir. Angiotensin II, sistemik ve intrarenal NOS inhibisyonunu arterioller, mezengium yada endoteli etkileyerek ayarlar. NO afferent ve efferent arteriolde angiotensin II' ye karşı yanıtı düzenler; afferent arteriolde yanıt daha güçlüdür. Angiotensin II glomerüler filtrasyon katsayısı (Kf)' nı azaltarak glomerüler filtrasyon hızını ayarlar. Kf' daki azalma büyük olasılıkla mezengial hücrelerin kasılmasına bağlıdır. Mezengial hücreler aktin-miyozin filamentleri içerip, düz kas hücreleri gibi vazoaktif maddelere karşı kasılıp-gevşeme özelliği gösterirler (28). İzole damarda yapılan ölçümlerde, afferent arteriolde kalsiyum seviyelerdeki değişimlere karşı angiotensin II yanıtının olduğu gözlenmiş. Artmış hücre içi kalsiyum düzeyleri ve süperoksid, hem angiotensin II hem de antioksidanlar tarafından bastırılmıştır. Bu çalışmayla, angiotensin II'nin afferent arteriol direncini hızla değiştirerek süperoksit oluşumunu etkilediği anlaşılmış (31).

Distal tübülde tuz taşınması, renal perfüzyondaki değişimler ve tuz dengesinin sebep olduğu renin salınımındaki değişiklikler makula densada nNOS ekspresyon ve etkisini

doğrudan etkiler. Renin salınımı nNOS tarafından düzenlenir. NO sentezi eğer inhibe edilirse adenilatsiklaza bağlı renin salınım mekanizmasında da bozukluk meydana gelir. Makula densa tarafından salınan NO ise renin salınımını uyarır (28). NO, sinirler aracılığıyla renal vazokonstriksiyonu düzenleyebilir. Böbreğin sinirsel uyarımı ile korteks ve medulladaki konstrüksiyon, artan NO inhibitörleri ve azalan angiotensin II tarafından sağlanır. Bu durum bize endojen kaynaklı NO'nun renal vazokonstriksiyonu dengeleyebileceğini düşündürmektedir (29).

Nitrik oksidin tübüler etkileri: Nitrik oksit, böbrek kan dolaşımını, afferent ve efferent damarlar üzerinde, elektrolit ve sıvı reabsorbsiyonunda direkt tübülleri etki ederek, solüt ve sıvı taşınmasında önemli rol oynar. Proksimalde, $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz aktivitesi $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ değişimi üzerine inhibitör etki göstermesine rağmen, sıvı ve HCO_3^- akımını uyardığı gösterilmiştir. Bu etkiyi gösteren NO, nNOS ve iNOS kaynaklı olmasına karşın, eNOS kaynaklı NO'nun düzenlenme sırasında proksimal tübülde etkisinin olmadığı yapılan çalışmalar sonucunda belirtilmiştir. NO henle kulpunun çıkan kalın kolunda, $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ değişimi ve $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ kotransportu üzerinde doğrudan inhibitör etki göstererek, HCO_3^- ve Cl^- Emilimini inhibe etmesine rağmen, yine mTAL' da NO'nun apikal K^+ kanal etkinliğini stimüle ettiği görülmüştür. NO toplayıcı kanallarda; Na^+ Emilimini ve aynı zamanda vazopressini uyararak oluşturduğu etkiyle suya karşı geçirgenliği baskılar. Buna ek olarak, NO toplayıcı kanallardaki ara hücrelerde bulunan $\text{H}^+ - \text{ATPaz}$ da baskıladığı ve toplayıcı kanalların bazolateral membranında bulunan K^+ kanal etkinliği üzerindeki, angiotensin II' nin uyarıcı etkisine katıldığı bildirilmiştir (32,33).

İskemi sonrası oluşan ABY'de NO sitotoksisiteyi düzenler. NO inhibitörleri, böbrek kortikal tübüllerini hipoksik hasar ve böbrek epitel hücrelerini oksidatif hasardan korur. NOS' un her iki izoformunun inhibisyonu sayesinde tübüler nekroz azaltılır ve iskemi sonrası böbrek fonksiyonları korunmuş olur. Hasarlanma sonrası böbrek hücrelerinin onarımında da NO' nun önemli katkısı vardır. Üremi durumunda ise; normalde plazma arginin düzeyi belli bir aralıkta tutulur. Böbrek sitrülinden arginin sentezinin gerçekleştiği ana organdır. Aşırı böbrek kitle kaybında arginin sentezi ve dolayısıyla NO yapımı azalır. Endotel kaynaklı NO üretiminin azalması hipertansiyon ve aterosklerozise neden olur. Adrenal medulla ve RAS üzerindeki sempatik sistem aktivesinin artması sonucu, NO inhibisyonunun başlatmış olduğu böbrek hasarı artışına ve kan basıncının artmasına neden olur (28).

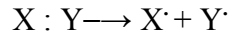
SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller eşlenmemiş elektron içeren, oldukça kararsız, diğer moleküllerle hızlı bir şekilde reaksiyona giren ve kimyasal olarak kararlı hale gelebilmek için dışarıdan elektron almaya ihtiyaç duyan moleküllerdir. Herhangi bir moleküle saldırıp elektronunu çalarak onun okside olmasını sağlar ve bu oluşan yeni molekül bir serbest radikal haline dönüşür. Böylece başlayan bir seri reaksiyonlar dizisi canlı hücrenin zarar görmesi ile sonuçlanır. Serbest radikallerin yapmış olduğu en büyük zarar hücre zarları üzerine olur. Serbest radikaller hücre zarlarından elektron çalarak eşlenir, hücre zarı ve sonuçta hücre yapısını bozmuş olurlar (34).

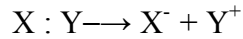
Serbest radikaller; çevresel ajanlar ve stres, aktive olmuş fagositler, antineoplastik ajanlar, radyasyon, alışkanlık yapan maddeler, küçük moleküllerin otooksidasyonu, enzimler ve proteinler, mitokondrial elektron transport sistemleri, peroksizomlar, plazma membranı ve oksidatif stres gibi durumlarda oluşabilirler (35).

Serbest radikaller başlıca üç şekilde oluşabilir (36):

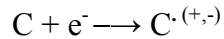
1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar (bölünme sonrası her bir molekülde ortak elektronlardan biri kalır).



2. Normal olan bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi sonucu oluşurlar. Heterolitik bölünme durumunda kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi sonucunda oluşurlar.



Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi sonucu serbest radikal oluşur. Ayrıca iyonize radyasyon da serbest radikal oluşumunu tetikleyebilir (37).

Serbest radikallerin biyolojik sistemlerde oluşturdukları hasar ve bu hasarı önleyici antioksidan mekanizmalar ile ilgili yapılan birçok çalışma sonucunda oksidan hasarın pek çok hastalığın etyopatogenezinde etkin bir şekilde rol aldığı anlaşılmıştır. Elliye yakın hastalık bu patolojik sürecin oluşum süreci ile ilişkilendirilmiştir. Bu hastalıklar arasında kanser, diyabet, ateroskleroz, I/R hasarı, epilepsi, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, serebral iskemi gibi birçok patolojik durum sayılabilir (22,38).

Hücreler serbest radikallere karşı savunma mekanizması olarak işlev gören enzimatik ve enzimatik olmayan serbest radikal süpürücü sistemlerle donatılmıştır. Ayrıca çeşitli I/R hasarı modelleri geliştirilerek serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerine karşı antioksidanlaçların koruyucu etkileri açıkça ortaya konmuştur. Sitotoksik oksijen radikalleri ya endojen ya da eksojen olarak hücre içinde yağlar, proteinler ve nükleik asitlere saldırabilir (39).

Oksijen, yaşam için vazgeçilmez bir molekül olmasının yanında aynı zamanda vücut içinde ROS'un oluşmasına sebep olur. Hücre içi ROS'un % 90'dan fazlası aerobik solunum reaksiyonları sırasında mitokondri iç membranında üretilir. Vücut dengesi için oldukça önemli role sahip olan ROS, düşük dozlarda çeşitli stres tepkilerinde arabulucu görevi üstlenirken, yüksek dozlarda (oksidatif stres gibi) hücrel zararlar açar (35). Reaktif oksijen türleri, I/R hasarı dahil olmak üzere birçok organ hasarında kritik role sahiptirler. Aşırı ROS üretimi ardından; proteinler, DNA, mitokondri, lipidler zarar görmekte ve inflamasyonun indüksiyonunu takiben organ hasarı ile sonuçlanır (40).

Reaktif Oksijen Türleri

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$): Süperoksit radikali moleküler oksijenin indirgenmesinde ara basamak olup, oluştuğu yerden fazla uzağa diffüze olamaz. Bu radikalin moleküler düzeydeki önemli bir özelliği de sekonder olarak ürettiği radikallerdir. Doğal oksijen molekülünün başka bir molekülden elektron almış hali olan $O_2^{\cdot-}$ mitokondrial elektron transfer zincirinde redükte olan nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'ın molekülünün nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+)'a okside olması ile oluşur (37).

Süperoksit, bir serbest radikal olmasına rağmen, kendisi doğrudan fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasından ileri gelmektedir. Süperoksitin, nötrofillerin bakteriyal aktivitesi, inflamasyon, apoptozis ve vasküler fonksiyonların düzenlenmesi gibi olumlu etkileri vardır. Azalmış süperoksit düzeyleri, bakteriyal enfeksiyonlara olan yatkınlığı artırabilir. Artmış süperoksit düzeyleri ise süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile H_2O_2 ve oksijene dönüştürülerek azaltılır. Bu şekilde hücrel süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulur (37).

Hidrojen peroksit (H_2O_2): Oksijen molekülü başka bir molekülden iki elektron alırsa peroksit meydana gelir. Peroksit molekülü iki hidrojen molekülü ile reaksiyona girerse H_2O_2

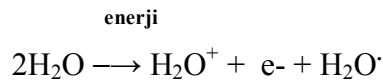
oluşur. H_2O_2 , süperoksidin SOD ile dismutasyonu sonucu yada spontan olarak da oluşabilmektedir. H_2O_2 aslında bir radikal değildir. Ancak üretildiği bölgede kalan süperoksidin tersine membranları geçen, sitozole diffüze olabilen ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinir. Bu nedenle süperoksidin ulaşamadığı birçok yere örneğin membranla korunan yapılara kolay bir şekilde ulaşabilir. Burada süperoksid ile reaksiyona girerek en yıkıcı ve zarar verici radikallerden biri olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Ayrıca hidrojen peroksit serbest Fe^{+2} ile reaksiyona girerse demir okside olurken yine hidroksil radikalinin oluşmasına neden olur. Bu durum da doku hipoksisi ve endotel hasarına neden olabilen vazodilatasyon kaybı ile sonuçlanır (37).

Hidrojen peroksitin oksitleyici olarak bilinmesinin nedeni, Cu, Fe gibi metal iyonları ortamda bulunduğu hidroksil radikalinin öncülü olarak davranmasından ileri gelmektedir. H_2O_2 özellikle proteinlerdeki hem grubuna bağlanarak buradaki demir ile tepkimeye girer, bu reaksiyon yüksek oksidasyon düzeyindeki ferril demir (Fe^{IV}) ve perferril demir (Fe^V) oluşumu ile sonuçlanır. Bu formdaki reaktif demir çok güçlü oksitleyici özelliğe sahiptir ve hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimelerinin başlamasına neden olabilir. Bahsettiğimiz bu potansiyel oksitleyici özelliğinden dolayı biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin hızlı bir şekilde ortamdaki uzaklaştırılması gerekir. Bu uzaklaştırma işi, hücrelerde bulunan ve önemli antioksidan enzimlerden olan katalaz ve peroksidaz enzimleri ile gerçekleşir (41).

Hidroksil radikali ($\cdot OH$): Hidroksil radikali bilinen en reaktif radikallerdendir. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler ve fosfolipidler gibi birçok biyokimyasal madde ile reaksiyon verebilir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H^+ birleşmesinden oluşur. Alınan enerji hücre içindeki su tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanmasına neden olur. Bu şekilde hidrojen ve oksijen üzerinde dış orbitalde tek elektron kalır ve sonuçta iki radikal oluşur. Hidroksil radikalinin yarılanma ömrü çok kısa olup, birçok molekülden H atomu uzaklaşmasına neden olur (37).

Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilebilen hidroksil radikali başlıca iki yolla oluşabilir (41):

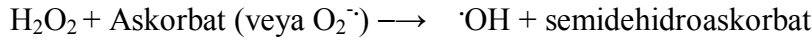
1. İyonlaştırıcı radyasyonun etkisiyle sulu ortamda su molekülleri iyonlaşır.



Uyarılmış su molekülü (H_2O^{\cdot}) homolitik olarak yıkılarak; H_2O^+ ise bir su molekülü ile tepkimeye girerek reaktif radikallerden biri olan hidroksil radikalini oluştururlar. Bu tepkimeler oldukça kısa bir zaman aralığında gerçekleşip, oluşan $\cdot OH$ radyasyonun canlılardaki toksik etkisinden sorumlu temel radikallerdendir.

2. Hidrojen peroksitin eksik indirgenmesi ile $\cdot OH$ oluşumu, vücutta bu radikalın oluşumu için bilinen en iyi kaynaktır. H_2O_2 'nin iki elektron ile indirgenmesi sonucu su meydana gelirken, tek elektronla indirgenme gerçekleşirse $\cdot OH$ oluşumuna neden olur. Bu tür indirgenme tepkimeleri Fe, Cu gibi metal iyonları tarafından katalizlenir. Süperoksit, askorbik asit, gibi indirgeyici özellikteki bileşiklerin de varlığında, oksitlenen metal iyonu tekrar indirgendiğinden, H_2O_2 'den hidroksil radikali oluşumu sürekli bir hal alır. Bahsedilen tepkime şu şekilde gerçekleşir:

Fe, Cu



Bu tepkime Haber-Weiss tepkimesi ya da Fenton tepkimesi olarak isimlendirilir. Bu tepkime ile hangi miktarda $\cdot OH$ oluşacağı, vücutta üretilen H_2O_2 derişimine ve ortamda buluna serbest metal iyonlarının varlığı ile doğru orantılıdır. Süperoksit hem H_2O_2 'nin öncülü hem de metalleri indirgeyicisi durumunda olmasından dolayı; süperoksit proteinlere bağlı metallerin indirgenip serbest kalmasına da sebep olabilmektedir. Biyolojik koşulların söz olduğu durumlarda süperoksit oluşumu arttığından hidroksil radikali yapımı kaçınılmaz bir sonuçtur. Yukarıda bahsedilen Fenton tepkimesinin en aktif katalizörleri demir ve bakır iyonlarıdır (41).

Singlet oksijen: Reaktivitesi oldukça yüksek bir radikaldır. Bu oksijenin enerjistik olarak uyarılması ve spin kısıtlamasının olmamasından kaynaklanır. Enerjiyi alır ve çevreye dalga enerjisi şeklinde vererek oksijene geri dönebildiğinden, ortamdaki oluşumu kemilüminesans ölçümü ile saptanabilir. Vücutta başlıca oluşum şekilleri şunlardır (41):

- a) Pigmentlerin (flavin içeren nükleotidler, retinal, bilurbin gibi) oksijenli ortamda absorplanması sonucu,
- b) Hidroperoksitlerin metal gibi moleküllerin ortamda bulunmasıyla oluşan yıkım tepkimeleri sonucu,
- c) Kendiliğinden dismutasyon tepkimeleri esnasında (örneğin fagozom içinde),
- d) Bazı sitokrom p450 tepkimelerinde, prostoglandin endoperoksit sentaz, miyelo/kloro/laktoperoksidaz gibi enzimlerin aktiviteleri sırasında oluşabilir.

Singlet oksijen diğer moleküllerle reaksiyona girdiği zaman ya içerdiği enerjiyi transfer eder, ya da kovalent tepkimelere girer. Karbon-karbon çift bağları özellikle singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu moleküllerin bazıları tokoferoller, fenoller, bilirubin, karotenler, kolesterol, DNA, NADPH, triptofan, methionin, sistein ve histidin gibi bileşiklerdir. Singlet oksijen doğrudan doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girerek peroksi radikalinin (ROO[•]) oluşmasına neden olur. Sonuç olarak OH[•] kadar aktif bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir (41).

Nitrik oksit (NO): Radikal olarak reaktivitesi düşük olan NO, metal içeren yapılar ve radikaller ile hızlı bir şekilde tepkimeye girer. Özellikle lipid radikallerle tepkime vermesi NO'ya antioksidan bir özellik kazandırmaktadır. Süperoksit ile NO'nun tepkimesi sonucu oluşan peroksinitrit, .OH benzeri aktiviteye sahip olup radikal tepkimeleri başlatmaya ilave olarak biyomoleküllerin nitrasyonuna neden olur. Fizyolojik şartlarda oluşan NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO₃⁻) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılmış olur. Oksijen radikallerinde olduğu gibi burada NO'yu ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim sistemi bulunmamaktadır. Aerobik ortamda NO stabil olmayıp, derişiminin artmasına bağlı olarak oksidasyonu hızlanır (42).

Serbest Radikallerin Etkileri

Vücutta her şey normal şartlar altında işlediğinde düşük miktarda oluşan serbest radikaller temizleyici enzimler ve antioksidan maddeler tarafından etkisiz hale getirilirler. Serbest radikallerin oluşumu organizmanın temizleme olanaklarını aştığında dokuda yıkım başlar (34).

Proteinler üzerine etkileri: Hücrede bulunan protein yapıları, serbest radikallerin özellikle duyarlı amino asitler ile doğrudan etkileşimi sonucunda hasara uğrarlar. Metionin, sistein gibi terminal sülfidril grubu içeren aminoasitler ile triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi hoş kokulu aminoasitler, oksidasyona en fazla uğrayan moleküllerdir. Bu oksidasyon sonucu proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında oluşan değişiklikler fonksiyonlarında değişime neden olmaktadır. Enzim veya reseptör olarak görev yapan membran proteinleri, özellikle serbest radikallerin modifikasyonlarına oldukça duyarlı olmaları nedeniyle protein oksidasyonu ile önemli hücresel ve membran fonksiyonları zarar görmektedir (42).

Serbest radikallerin proteinlerin üzerindeki neden oldukları yapısal değişiklikler şunlardır (43):

1. Aminoasitlerin modifikasyonu
2. Proteinlerin fragmantasyonu
3. Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanması

Aromatik aminoasitler (Fenil alanin, tirozin, triptofan) doymamış yapılar içerdiğinden oksidatif hasara karşı oldukça hassastırlar. Serbest radikaller membran proteinleri ile reaksiyona girerek enzim, reseptör ve reseptör yapıdaki proteinlerin fonksiyonlarını bozarlar (43).

Karbonhidratlar üzerine etkileri: Serbest radikallerin karbohidratlar üzerine de oldukça önemli etkileri vardır. H_2O_2 diğer peroksitler ile oksaloaldehytler ise monosakkaritlerin otooksidasyonu ile oluşurlar. Sonuçta oluşan serbest radikaller, zararlı etkileri ile birçok hastalık oluşumuna yol açarlar. Bunlardan oksaloaldehytler, DNA, RNA (ribonükleik asit) ve proteinlere bağlanır ve çapraz bağlar yaparak antimitotik etki gösterebilirler. Böylece kanser, yaşlanma gibi birçok hastalıkta başrol oynarlar. Poliansatüre yağ asitleri (PUFA) ve karbonhidrat oksidasyonu ürünü olan glyoxal ise zararlı etkisini hücre bölünmesini inhibe ederek gösterir. Diyabet komplikasyonları, koroner kalp hastalığı, psoriasis, romatoid artrit, hipertansiyon, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretimi arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının ise bu durumla mücadelede yetersiz kaldığı yapılan çalışmalar sonucunda bildirilmiştir (32).

Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri: Serbest oksijen radikallerinin, hücrede zarar verdiği bir diğer önemli makromolekül nükleik asitlerdir. ROS, DNA'nın temel yapı taşı olan nükleotidin yapısı içinde yer alan purin ve pirimidin bazları üzerinde etkili olurlar. Özellikle guanin bazının ROS aracılığı ile hidroksilasyonu sonucunda DNA molekülünün yapısında değişme meydana gelmekte ve mutasyonlar ortaya çıkabilmektedir (42).

Oksidatif DNA modifikasyonları memeli DNA'sında sıklıkla görülebilir. Bu tip modifikasyonlar karsinogenez, diyabet ve yaşlanmanın mekanizmasına katkıda bulunduğu gibi teoriler ileriye atılmıştır. DNA molekülünün tüm bileşenleriyle hidroksil radikali reaksiyona girebilmektedir. Bu reaksiyonlar sonucunda purin, pirimidin bazlarında ve deoksiriboz iskelette hasara neden olmaktadır. Hidroksil radikali DNA'nın çapraz bağlarına eklenebilmekte, timinin metil grubundan bir hidrojen atomu ve 2' deoksiribozun beş karbon

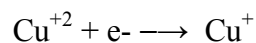
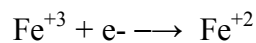
atomunu uzaklaştırmaktadır. Şeker ve bazı daha sonraki reaksiyonları, oluşan modifiye şeker ve bazların, bazı serbest bölgelerin kenar kırılmalarına ve oluşacak olan DNA-protein çapraz bağlarında çeşitliliğe neden olmaktadır (21).

Diğer taraftan peroksinitrit ve nitrojen oksit gibi reaktif nitrojen türleri de DNA hasarına yol açmaktadır. Bununla birlikte, dokularda oksidatif DNA modifikasyonu düzeyinin veya oksidatif modifiye nükleik asid ürünlerinin üriner atılımının artması insanlarda kanser gelişiminin önüne geçilebileceğine epidemiyolojik kanıtlar henüz bulunmamaktadır. Bu nedenle kanser gelişimi, yaşlanma gibi hastalıkların DNA oksidasyonu ile ilişkisini gösteren çalışmaların yapılması gerekmektedir (21).

Lipidler üzerine etkileri: Normal çalışan bir metabolizmada mitokondrial sitokrom sistemi, sitozolde yer alan organelleri oksidanların zararlı etkilerinden korur. Bu sistemin gerekli cevabı veremediği durumlarda ise devreye doğal enzimler girer. Enzimler tarafından da etkisiz hale getirilemeyen oksidanlar ilk olarak etkilerini hücre membranındaki lipidleri etkileyerek yani lipid peroksidasyonunu başlatarak gösterirler (35).

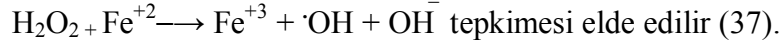
Lipid peroksidasyonu denildiğinde, membranlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler gibi çeşitli ürünlere parçalanması reaksiyonu anlaşılır ve sonuç olarak oluşan biyoaktif aldehitler hücre hasarına sebep olur. Bu reaksiyonun gerçekleşmesi sırasında yeterli miktarda vitamin E ve C gibi antioksidan vitaminlerin bulunması halinde bu tip hücresel hasarlar önlenebilir (35). Lipid peroksidasyonu otokatalitik zincir reaksiyonu ile hasara neden olur. Kuvvetli bir oksidan sayesinde PUFA zincirindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun ayrılmasıyla başlar ve lipid hidroperoksitlerin doymamış yağ asidi aldehitleri, alkanlar, epoksi yağ asitleri, hidroksi yağ asitleri gibi ürünlere yıkılması sonucu etan, pentan gibi uçucu gazların oluşumu ile son bulur. Bunlar da doğrudan membran yapısına, dolaylı olarak da hücre komponentlerine zarar verirler (38).

Geçiş metalleri aşağıdaki tepkimelerde olduğu gibi (37):



Bir elektronun alınması ve verilmesi durumunda bu serbest metal iyonları radikal reaksiyonunu hızlandırır. Metal iyonları lipid peroksidasyonu sırasında önemli rol oynarlar.

Meydana gelen lipid hidroperoksitlerin parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu katalize eder. Bu şekilde normalde daha az zararlı olan radikaller daha zararlı hale gelirler. Bu reaksiyon Fenton reaksiyonu olarak bilinir. Reaksiyon sonucunda Fe^{+2} iyonları H_2O_2 'i indirgeyip $\cdot OH$ meydana getirdikleri bilinir. Reaksiyonu formülüne edecek olursak:



Reperfüzyon dönemi, lipid peroksidasyonu için gerekli koşulları sağlanması bakımından oldukça uygun bir dönemdir. Peroksidasyon ürünleri MDA gibi lipid radikalleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın bir durum aldığı zaman hücresel yapı ve fonksiyon hasarları ortaya çıkmaktadır. Yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığında bozulma, membran geçirgenliğinde değişme, membran uyarlabilirliğinde azalma ve membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde azalma gözlenir. Lipid peroksidasyonu ile lizozomal ve mitokondrial membranlarda organel içeriğinin hücre içine salınması sonucunda proteoliz hızlanır ve doku hasarı artar (42).

Serbest oksijen radikalleri ile uyarılan lipid peroksidasyonunun derecesi PUFA peroksidasyonu sırasında oluşan MDA, organik hidroperoksit, konjuge dien gibi ürünlerin kantitatif ölçümüyle saptanabilmektedir (44). Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan en toksik ürünler aldehitlerdir. Malondialdehit non-enzimatik oksidatif lipid peroksit dekompozisyonu sonucu oluşur ve peroksidasyonun son ürünüdür (38).

Lipid peroksitler daha sonra MDA ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Oluşan yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir özellikle olup mutajeniktirler. MDA, proteinin amino gruplarına, fosfolipitlere ve nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir. Membran bileşenlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona neden olur. Membranlardan kolaylıkla difüze olarak, DNA yapısında yer alan nitrojen bazlarla reaksiyona girer ve mutajen, karsinojen, genotoksik etkiler gösterir. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asidlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. Bu da tiyobarbutirik asid (TBA) reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. Diğer taraftan MDA membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir (37).

ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Çeşitli mekanizmalar sonucu oluşan serbest radikallere karşı koyan vücutta doğal bir savunma mekanizması mevcuttur. Bu savunma mekanizmasını oluşturan bileşiklere

“antioksidanlar” adı verilir. Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler (35):

1. Süpürücü etki: Oksidan molekülleri daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisiz hale getirir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder.

2. İnaktif şekle dönüştürücü etki: Oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktif hale getirmesine denir. Vitaminler, timetazidin, flavanoidler ve mannitol bu şekilde etkisini gösterir.

3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi: Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır mineraller gibi moleküller oksidanları kendilerine bağlayarak inaktif hale getirirler ve böylece bir dizi şeklinde devam eden zincir reaksiyonlar sonlandırılmış olur.

4. Onarıcı etki: Oksidatif hasara uğramış olan biyomolekül bu etkiyle onarılır (35).

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların oluşturduğu hasarı önlemek için vücut tarafından birçok sistem geliştirilmiştir. Bu sistemlere antioksidan sistemler denir. Antioksidanlar peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini ortamdaki kaldırarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanları iki şekilde sınıflandırabiliriz: birincisi doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar, bir diğeri de serbest radikalın oluşumunu önleyenler ve mevcut olanı etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Bundan başka enzim yapısında olan ve olmayanlar diye de sınıflandırabiliriz. Enzimatik yapısında olan antioksidanlar: süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimlerdir. Enzimatik olmayanlar ise askorbik asit, ürat, sistein, tokoferol β karoten, serüloplazmin, transferrin ve albümindir (34).

Reaktif oksijen türlerinin hasarından korunmak için tüm hücreler ekspresen enzimler kullanır, örneğin süperoksit dismutaz (SOD) gibi, SOD süperoksidi; oksijen ve hidrojen peroksidi dönüştürür. Reaksiyonun devamında da katalaz hidrojen peroksidi, su ve oksijene dönüştürür. Süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin düzeylerinde azalma, I/R hasarı sonrası oluşan süperoksit zararını arttırabilir (45).

Glutatyon

Glutatyon peroksidaz enziminin katalizlediği metabolik reaksiyonlarda elektron verici olarak rol alır. Hidroksil radikali ve reaktif singlet oksijeni bağlar (46). Suda çözünebilen bir antioksidandır; glisin, glutamat ve sisteinden oluşur. Ksenobiyotik metabolizmada oldukça büyük öneme sahiptir ve C vitamini ile sinerjik olarak etkisini gösterir. Oral yoldan alınmasının kan seviyesinde bir değişime neden olmadığı gösterilmiştir (22).

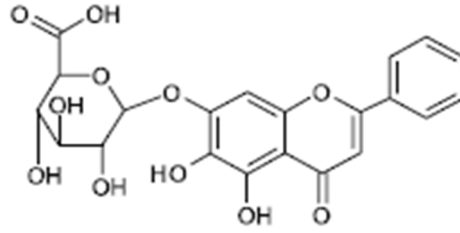
Tiyol grubu olan antioksidanlar, enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak suretiyle görev yapan hücresel antioksidanlardır. Tiyol grubu içeren bir tripeptid olan GSH, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen yada azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin substratı olarak görev yapmaktadır. Suda çözünebilen tiyol özelliği taşıyan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan GSH, biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu rolü oynamaktadır. GSH aynı zamanda hücre içinde tekli oksijen, süperoksit anyonu, hidroksi radikalleri gibi birçok zararlı oksidanla enzim katalizi olmaksızın da reaksiyona girebilmektedir (47).

Hücre içerisinde GSH indirgenmiş formda bulunur. Endojen üretilen peroksidlere karşı okside olarak onları indirgeyici olarak rol alır. Bu reaksiyonu katalizleyen enzim GSH-Px'tir. Glutatyonun etkin bir şekilde hücreyi koruyabilmesi için büyük kısmı redükte formda tutulması gerekir. Bu reaksiyonu katalizleyen enzim ise glutatyon redüktazdır. GSH'ın, glutatyon redüktazla indirgenmesi reaksiyonu NADPH'a ihtiyaç olduğu için heksoz monofosfat yoluyla yakından ilişkilidir (37).

BAİCALİN

Baicalin ve baicalein gibi flavonoidler Çin takke bitkisinin (*Scutellaria baicalensis*) köklerinden elde edilmiştir. Bunların flavonoid bileşenleri arasında serbest radikal süpürücü etkileri olup, kardiyomisitlerde ve sinir hücrelerinde oksidatif stresi düşürücü etkileri vardır. Ancak elde edilen son bilgiler bu flavonoidlerin koruyucu etkisinin sadece antioksidan özellikleri ile açıklanamayacağını göstermektedir. Bu yüzden bu flavonoidlerin koruyucu etkilerini açıklayabilmek için daha birçok bilimsel çalışmanın yapılması gerekmektedir (48). Flavonoid glikozid özellikteki baicalin, karbon tetraklorür, aşırı demir yüklenmesi, asetaminofen veya concanavalin tarafından uyarılan çeşitli deneysel modellerde akut ya da kronik karaciğer hasarına karşı koruyucu etkileri vardır. Yapılan son çalışmalar, hepatositleri karbon tetraklorürün neden olduğu oksidatif hasara karşı koruduğu; buna ilaveten oksidan süpürücü özelliğinden dolayı beyin ve kardiyomisitleri I/R hasarına karşı koruduğu saptanmıştır (11).

Araştırmamızda kullanmış olduğumuz baicalin maddesinin kimyasal yapısı aşağıdaki gibidir:



Baicalin

Şekil 1. Baicalinin kimyasal yapısı (49).

Baicalin *Scutellaria baicalensis* (Georgi) bitkisinin kuru köklerinden izole edilmekte olan önemli bir tıbbi bitki olup, Çin'de hepatit ve astım gibi alerjik ve inflamatuvar hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmıştır. Yapılan çeşitli çalışmalar baicalinin, antiviral, antioksidatif, antitümör, antitrombotik ve antiapoptotik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (49). Yine daha önce yapılan bazı çalışmalarda baicalinin insan keratinositlerinde UVB ışınlama ile indüklenen artmış apoptozis oranı ve IL-6 salgılanması düzeyini azalttığı gösterilmiştir (50). Daha önceki çalışmalar baicalinin fokal serebral I/R hasarını azalttığını göstermiştir. Ancak, fokal beyin iskemi hasarı ile global beyin iskemi hasarı arasında patofizyolojik süreçlerinde bazı farklılıklar vardır (49).

Baicalin (7-glukoronik asit, 5,6-dihidroksiflavon) bronşit, nefrit, astım ve atopik dermatit gibi çeşitli inflamatuvar hastalıklarda tedavi ajanı olarak kullanılır hale gelmiştir. Birçok deneysel çalışmada deneysel olarak oluşturulan akut ve kronik karaciğer hasarına karşı baicalinin koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir. Baicalin nötrofil, makrofaj veya monositlere karşı antiinflamatuvar yolla etkisini gösterir. T-hücre proliferasyonunu ve sitokin üretimi [interlökin(IL)-1b, IL-6, TNF-a, IFN-g, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-1a ve MIP-1b] tarafından indüklenen ekzotoksinleri inhibe ettiği rapor edilmiştir (51).

Baicalin çeşitli kemokinlerin biyolojik fonksiyonlarını kısıtlayıcı yada lökosit adhezyonunu inhibe edici etki göstermiştir. Giderek artan araştırmalarla bu kimyasalın serbest radikal süpürücü ve serbest radikal türlerinin yapımını önleyici, inflamatuvar karaciğer hastalıklarında da önemli bir sitotoksik arabulucu olduğu kanıtlanmıştır (51).

Baicalinin vazodilatör, antioksidant, antitümör gibi birden fazla biyolojik etkisi vardır. Beyin ile ilgili yapılan bir çalışmada baicalinin beynin özellikle hipokampus, corpus striatum, korteks ve talamus bölgelerine dağıtıldığı ve bununla ilgili serebral çekirdeklerde dopaminin korelasyonunda değişiklik saptanmış. Yine beyin ile ilgili yapılan diğer çalışmalar baicalinin beyin I/R hasarında antiinflamatuvar özelliğinin bulunduğunu, beyin ödemi ve serebral iskemik

hasara karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (52,53). En önemli biyolojik özelliklerinden biri de antioksidan olması, bazı enzimleri inhibe etmesi ve immun yanıtı düzenlemesidir. Bu yararlı etkilerinden dolayı farklı patolojiler, kanser, hepatoksisite, bulaşıcı hastalıklar gibi durumlarda baicalinin kullanımını giderek artmaktadır. Bir ishal modelinde baicalin siklooksijenaz-2 etkilerini inhibe ettiği, iNOS'un ekspresyonunu arttırarak lipopolisakkarid tedavi ile makrofajları düzenlediği bulundu. Bu siklooksijenaz-2 ve iNOS yollarındaki etkilerinden dolayı baicalinin anti inflamatuvar mekanizmalara dahil olabileceğini akla getirebilmektedir (23).

Baicalin trombosit agregasyonunu inhibe ederek, serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırabilir. Hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde baicalinin endotoksin üretimini azaltabileceği tespit edilmiştir. Buna ilave olarak baicalinin ilk metaboliti olan baicaleinin, pankreatin inhibisyonunda güçlü bir etkisi vardır. Tüm bu farmakolojik etkileri düşünüldüğünde birden çok aşamada şiddetli akut pankreatiti önleyebilir (54).

1999 yılında Gao ve ark. (55) tarafından aktif bir antioksidan olduğu gösterilmiştir. Gleis ve ark. (56) 2002'de kolon kanserinde risk faktörü olan, aşırı demir yükünün flavonoidler tarafından zayıflatıldığı bulundu. Singh ve ark. (57) 2004 yılında kuersetin gibi flavonoidlerin, demirin indüklediği böbrek toksisitesine karşı koruyucu etkilerinin bulunduğu gösterilmiştir. Bu deneysel çalışmalardan yola çıkarak aşırı demir yükünün yarattığı hasara karşı flavonoidlerin tedavide kullanılabileceğini göstermektedir (58).

Bu deneysel çalışmada oluşturulan böbrek iskemi/reperfüzyon modelinde İ/R sonucu oluşan hasara karşı baicalinin antioksidan, histopatolojik ve böbrek fonksiyonları üzerindeki olası etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda; Trakya Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen ve standart laboratuvar koşullarında (22 ± 1 °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutulan, 190-240 g ağırlığında Sprague-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Deneysel Hayvanları 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 4 grupta 8'er adet olmak üzere toplamda 32 adet sıçan kullanıldı. Sıçanlara 10 mg/kg xylazine ve 90 mg/kg vücut ağırlığına göre kas içi ketamin anestezisi uygulandı ve 37 °C' de ısıtılmış deneysel masası üzerinde karın bölgesi traş edilip betadin ile antiseptisi sağlandı. Median hattın insizyon açılarak karın organları steril gazlı bez üzerine alındı. Sağ ve sol böbrek damarları kör diseksiyonla açığa çıkarılarak, grup 1 ve grup 2'deki sıçanlar hariç; diğer gruplardaki sıçanların böbrek damarlarına (arter ve ven) kan akımı nontravmatik mikrovasküler klemple kesildi ve 60 dk. süreyle iskemi uygulandı. Deneysel süresince, batin açikken, zorunlu kaybedilen sıvıyı yerine koymak amacıyla vücut ağırlığının % 5'i oranında 37 °C' deki steril fizyolojik serum (FS) batin içine verildi. 60 dk iskemi sonunda klempler alınarak kan akımı sağlandı ve 2 dk süreyle böbreklerdeki renk değişimi gözlemlendi. Daha sonra insizyon kapatılarak betadin ile sterilizasyon yapıldı. Grup 1 ve grup 2'deki sıçanlara da aynı prosedür uygulandı, ancak böbrek damarları klemplenmeyerek 60 dk sonunda insizyon kapatıldı.

Grup 1: Sıçanlara böbrek damarları diseksiyonla ayrılmadan 30 dk önce 2 ml/kg vücut ağırlığı dozunda FS intraperitoneal (i.p.) verildi.

Grup 2: Sıçanlara böbrek damarları diseksiyonla ayrılmadan 30 dk önce 200 mg/kg dozunda baicalin (200 mg baicalin 2 ml FS içinde çözüldü) i.p. verildi.

Grup 3: Sıçanlara iskemi yapılmadan 30 dk önce 2 ml/kg vücut ağırlığı dozunda F.S. i.p. verildi.

Grup 4: Sıçanlara iskemi yapılmadan 30 dk önce 200 mg/kg dozunda baicalin i.p. verildi.

Tüm gruplarda insizyon kapatıldıktan hemen sonra sıçanların batin bölgesi steril edilip metabolik kafese alındı ve 24 saatlik idrarları toplandı.

Tüm gruplardaki sıçanlar reperfüzyondan 24 saat sonra 10 mg/kg rompun ve 50 mg/kg ketamin kas içi anestezisi altında sakrifiye edildi. Batin ön duvarı insizyonla açıldı. Diyafram kalbe ulaşılarak alınan kan örnekleri biyokimyasal incelemeler için heparinle yıkanmış tüplere alındı. Daha sonra her iki böbrek çıkarılarak buz kabı üzerindeki kurutma kâğıtlarının üzerine konuldu, böbrek kapsülü sıyrıldıktan sonra bistüri yardımıyla longitudinal kesiyle ikiye ayrıldı. Sağ böbreğin bir yarısı ışık mikroskopisi için %10'luk formalin solüsyonuna konuldu, diğer yarısı ve sol böbreğin her iki yarıları fizyolojik serumla yıkandıktan sonra kurutma kağıdı ile kurutulup alüminyum folyo içinde MDA, NO ve GSH düzeyleri çalışılana kadar -80 °C' de muhafaza edildi.

Kan ve hacmi ölçülen idrar örnekleri soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 3000xg'de 10 dk santrifüj edilerek serum ve idrar örnekleri ependorf tüplere alınarak -80 °C' de saklandı.

Kullanılan Cihazlar

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	: Advia 1800, Chemistry System, Almanya
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

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

Serumda; üre, kreatinin, AST, Na, K ve idrarda; kreatinin, Na ölçümleri Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Laboratuvarı'nda, Advia 1800 (Chemistry System, Almanya) otoanalizör kullanılarak yapıldı.

Histopatolojik Çalışmalar

Işık mikroskobu incelenmesi için % 10 formalinde fikse edilmiş ve koronal 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 (59,60).

0: Normal böbrek

1: Minimal hasar (% 0-5 tutulum)

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

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

4: Şiddetli hasar (% 75-100 tutulum)

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

Böbrek Dokusu Homojenizasyonu

Böbrek dokuları -80 °C'dan alındıktan sonra buz çözülmeye 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

Lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renk spektrofotometrik olarak ölçüldü (61,62).

Çözeltiler:

1. %8.1'lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)

2. %20'lik Asetik asit (NaOH ile pH 3.5'e ayarlandı)

3. %0.8'lik tiyobarbitürik asit (TBA)

4. n-Butanol/Piridin (15:1)

Deneyin yapılışı: 0.2 ml 10 kat dilüe edilmiş doku homojenatı; 0.2 ml %8.1'lik SDS, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik TBA ve 0.6 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım 95

°C'deki sıcak su banyosunda 1 saat tutuldu. Musluk suyu ile soğutulduktan sonra üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) eklenerek vortekle 1 dakika karıştırıldı. Organik faz 4000xg'de 10 dk santrifüj edilerek ayrıldı. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Sonuçların hesaplanması:

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

A : Absorbans

V_t : Total reaksiyon hacmi

10⁹ : Molün nanomole çevrilmesi

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

V_s : Total reaksiyon içindeki numune hacmi

L : Küvet çapı

10³ : Litrenin mililitreye çevrilmesi

Sonuçlar MDA nmol/g yaş doku olarak ifade edildi.

Glutasyon Düzeyinin Ölçümü

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

Çözeltiler:

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

2. 0.3 M Disodyum fosfat (Na₂HPO₄)

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

Deneyin yapılışı: 0.5 ml doku homojenatı üzerine 1.5 ml 0.15 M KCl ve 3 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi. Bu karışım 3000xg'de 20 dk santrifüj edildikten sonra 0.5 ml süpernatant alınarak üzerine 2 ml M Na₂HPO₄ ve 0.5 ml Ellman ayırıcı eklendi. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 412 nm'de okundu. GSH düzeyleri

ekstinksiyon katsayısı ($\Sigma=1.36 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar $\mu\text{mol GSH/g}$ doku olarak belirtildi.

Nitrat ve Nitrit Tayini

Nitrat ve nitrit tayini Cortas ve Wakid'in tarif ettiği yönteme göre  l ld  (64).

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 üzüldü. 2 mol/L NaOH  zeltisi ile pH'sı 9.7'ye ayarlandı. Bu  zelti 1 ay 0-8  C'de stabildir.
3. Sülfanilamid: 2.5 g sülfanilamid 250 ml sıcak 3 mol/L HCl içinde üzüldü ve daha sonra soğumaya bırakıldı. 1 yıl oda sıcaklığında stabil kalabilir.
4. N-Naphthylethylene diamine (NNDA): 50 mg NNDA 250 ml distile su içinde üzüldü. 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  zeltisi 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 üzülür).
 KNO_3 standardı; 102 mg potasyum nitrat alınıp 10 mmol'lik 100 ml sodyum tetra borat içinde üzülür.

Deneyin yapılışı:

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

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

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

Nitrit Ölçümü

90 dk'lık bekleme süresinin ardından bu tüplerden 2'şer ml alınarak üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA ilave edilir. Karıştırılır ve 45 dk beklendikten sonra 545 nm'de okuma yapılır.

Direkt nitrit ölçümü: NaNO_2 standartlarından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlanır ve deproteinize numunelerden kadmiyum ile reaksiyona sokmadan direkt olarak 2'şer ml alınarak ayrı tüplere aktarılır. Üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA eklenir. 45 dk'lık sürenin ardından 545 nm'de okuma yapılır.

Nitrat Ölçümü

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

İstatistiksel Analiz

Bulguların istatistiksel analizleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD'da yapıldı. Bulgular ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Tek Örneklem Kolmogorov-Smirov test ile incelendi. Normal dağılım varsayımı yerine geldiğinde gruplar arasındaki farklılığı belirlemek için Tek Yönlü Varyans analizi (ANOVA) kullanıldı, gruplar arası farklılığı saptamada Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, normal dağılım göstermeyenler için Kruskal Wallis test kullanıldı, gruplar arasında fark bulunduğunda bu farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığını tespit etmek için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel bakımdan anlamlı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizlerde Statistica 7.0 (seri no: 31N6YUCV38) paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Sıçanlarda I/R uygulanmasıyla oluşturulan deneysel iskemik ABY modeli her grupta 8 adet sıçan olmak üzere 4 grup üzerinde ve toplamda 32 adet sıçan üzerinde bu model çalışıldı. Reperfüzyonun başlatılmasından 24 saat sonra sıçanlar anestezide alınıp, sıçanlara ait kan ve doku örnekleri alındı. Deney süresince gruplarda herhangi bir kayıp yaşanmadı.

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) aktivitesi 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 (I_{NO}) düzeyi $\mu\text{mol/L}$, , kreatinin (I_{krea}) düzeyi mg/dl, sodyum (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. Grup 1'in biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	S _{NO}	İ _{krea}	İ _{Na}	İ _{NO}
1	0,709	2,397	58,05	414	38,5	0,3	149	5,20	5,67	100,04	98	117,58
2	0,731	3,057	54,62	269	38,5	0,29	143	5,0	1,42	96,91	95	142,92
3	0,427	2,643	44,56	689	32,1	0,28	146	5,0	3,50	59,63	70	89,92
4	0,533	3,096	39,37	462	30	0,27	143	5,4	0,00	62,43	110	115,08
5	0,505	2,982	25,74	526	34,2	0,31	146	5,0	27,25	74,43	113	89,42
6	0,414	2,286	88,02	240	30,0	0,22	134	5,5	3,83	84,34	171	84,75
7	0,433	2,187	235,72	397	36,4	0,26	145	5,5	6,00	69,47	52	102,00
8	0,591	2,167	40,96	495	44,9	0,23	145	5,8	0,00	75,67	69	72,17

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotranferaz; S_{üre}: Serum üre; S_{krea}: Serum kreatinin; S_{Na}: Serum sodyum; S_K: Serum potasyum; S_{NO}: Serum nitrik oksit; İ_{krea}: İdrar kreatinin; İ_{Na}: İdrar sodyum; İ_{NO}: İdrar nitrik oksit.

Tablo 2. Grup 2'nin biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	S _{NO}	İ _{krea}	İ _{Na}	İ _{NO}
1	0,683	2,608	48,75	557	38,5	0,27	143	6,1	0,50	77,09	85	82,17
2	0,374	2,267	55,14	423	34,2	0,32	145	5,0	2,33	132,91	73	153,75
3	0,651	3,314	40,70	294	42,8	0,25	145	5,1	0,00	107,72	34	156,92
4	0,486	2,914	38,58	419	38,5	0,26	141	5,9	6,17	111,24	28	156,67
5	0,388	7,655	73,84	528	30,0	0,31	145	5,3	12,83	97,5	36	147,50
6	0,637	3,038	380,91	290	32,1	0,29	143	5,0	0,33	56,64	139	80,83
7	0,560	2,480	47,56	485	36,4	0,27	143	5,5	1,42	53,97	105	69,75
8	0,313	2,535	59,73	504	36,4	0,31	143	6,3	8,33	98,76	89	123,42

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotranferaz; S_{üre}: Serum üre; S_{krea}: Serum kreatinin; S_{Na}: Serum sodyum; S_K: Serum potasyum; S_{NO}: Serum nitrik oksit; İ_{krea}: İdrar kreatinin; İ_{Na}: İdrar sodyum; İ_{NO}: İdrar nitrik oksit.

Tablo 3. Grup 3'ün biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	S _{NO}	İ _{krea}	İ _{Na}	İ _{NO}
1	1,021	3,223	43,80	911	306,0	1,74	141	5,3	11,08	11,91	62	43,17
2	0,945	3,567	52,01	804	143,4	0,86	137	4,1	13,00	22,32	44	35,58
3	0,982	1,987	61,22	1309	361,7	2,22	139	6,7	6,67	10,93	89	14,83
4	1,798	1,761	54,71	732	171,2	1,21	139	4,5	12,42	23,67	38	22,67
5	0,764	2,187	50,07	1026	361,7	2,82	134	6,6	10,42	5,55	66	10,42
6	0,274	1,803	55,50	703	301,7	1,86	137	4,7	7,83	11,99	58	16,00
7	0,258	1,067	47,14	892	312,4	3,38	134	7,5	0,00	4,44	97	9,25
8	0,637	1,536	68,57	538	331,7	2,57	133	5,9	6,58	7,04	60	11,83

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotranferaz; S_{üre}: Serum üre; S_{krea}: Serum kreatinin; S_{Na}: Serum sodyum; S_K: Serum potasyum; S_{NO}: Serum nitrik oksit; İ_{krea}: İdrar kreatinin; İ_{Na}: İdrar sodyum; İ_{NO}: İdrar nitrik oksit.

Tablo 4. Grup 4'ün biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	S _{NO}	İ _{krea}	İ _{Na}	İ _{NO}
1	1,939	1,977	80,52	726	233,3	1,33	133	5,9	15,83	17,44	75	14,92
2	0,348	1,472	50,51	562	331,7	2,97	131	8,0	4,83	4,79	115	7,25
3	1,222	3,510	61,59	407	147,7	1,02	110	4,1	13,00	17,68	46	20,00
4	0,302	1,840	210,48	743	310,3	2,35	115	6,5	13,33	6,86	64	13,17
5	0,658	2,755	53,16	440	55,6	0,35	139	4,4	9,92	51,87	28	58,25
6	0,445	1,716	38,43	549	325,3	3,16	134	6,9	11,75	4,40	70	14,58
7	0,397	1,813	64,43	473	357,0	2,64	130	7,3	9,75	6,32	99	11,92
8	0,366	1,870	68,37	727	321,0	2,94	130	7,0	12,75	5,81	71	10,00

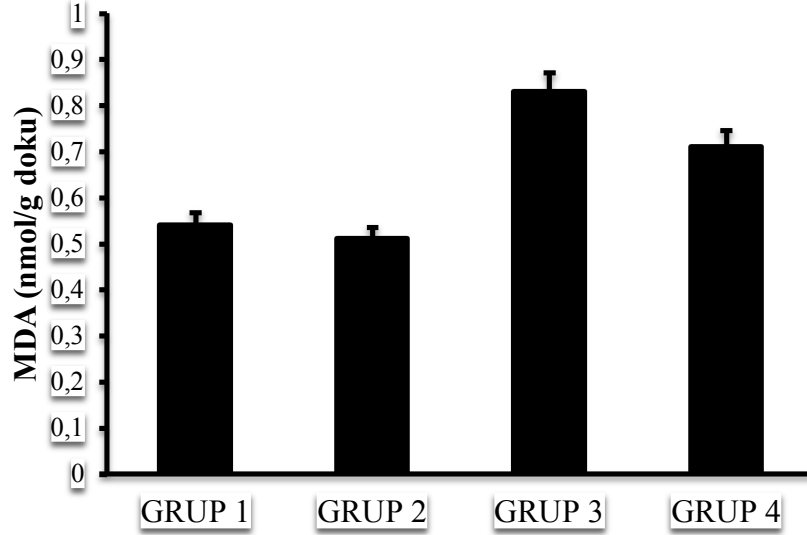
SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotranferaz; S_{üre}: Serum üre; S_{krea}: Serum kreatinin; S_{Na}: Serum sodyum; S_K: Serum potasyum; S_{NO}: Serum nitrik oksit; İ_{krea}: İdrar kreatinin; İ_{Na}: İdrar sodyum; İ_{NO}: İdrar nitrik oksit.

Tablo 5. Çalışma gruplarının değişkenlere ait istatistiksel verileri

	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4
Parametreler	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD
MDA nmol/g doku	0,54 ± 0,12	0,51 ± 0,14	0,83 ± 0,49	0,71 ± 0,58
GSH µmol/g doku	2,60 ± 0,40	3,35 ± 1,77	2,14 ± 0,85	2,12 ± 0,67
NO doku µmol/mg protein	73,38 ± 68,10	93,15 ± 116,81	54,12 ± 7,91	78,44 ± 54,83
AST U/L	436,50 ± 143,71	437,50 ± 101,45	864,38 ± 233,14	578,38 ± 137,18
S_{üre} mg/dl	35,58 ± 5,08	36,11 ± 4,03	286,23 ± 83,16	260,24 ± 107,02
S_{krea} mg/dl	0,27 ± 0,03	0,28 ± 0,03	2,08 ± 0,84	2,10 ± 1,05
S_{Na} mmol/L	143,88 ± 4,42	143,50 ± 1,41	136,75 ± 2,87	127,75 ± 9,93
S_K mmol/L	5,30 ± 0,30	5,52 ± 0,51	5,66 ± 1,21	6,26 ± 1,38
S_{NO} µmol/L	5,96 ± 8,91	3,98 ± 4,67	8,50 ± 4,24	11,40 ± 3,29
İ_{krea} mg/dl	77,87 ± 14,90	91,98 ± 27,48	12,23 ± 7,24	14,40 ± 16,09
İ_{Na} mmol/L	97,25 ± 36,73	73,63 ± 39,08	64,25 ± 20,18	71,00 ± 27,41
İ_{NO} µmol/L	101,73 ± 22,61	121,38 ± 37,97	20,47 ± 12,55	18,76 ± 16,39
Kreatin klirensi ml/dk/100gxvücut	0,63 ± 0,07	0,60 ± 0,09	0,05 ± 0,06	0,09 ± 0,17
FeNa %	0,24 ± 0,08	0,20 ± 0,16	15,65 ± 17,85	22,16 ± 19,29

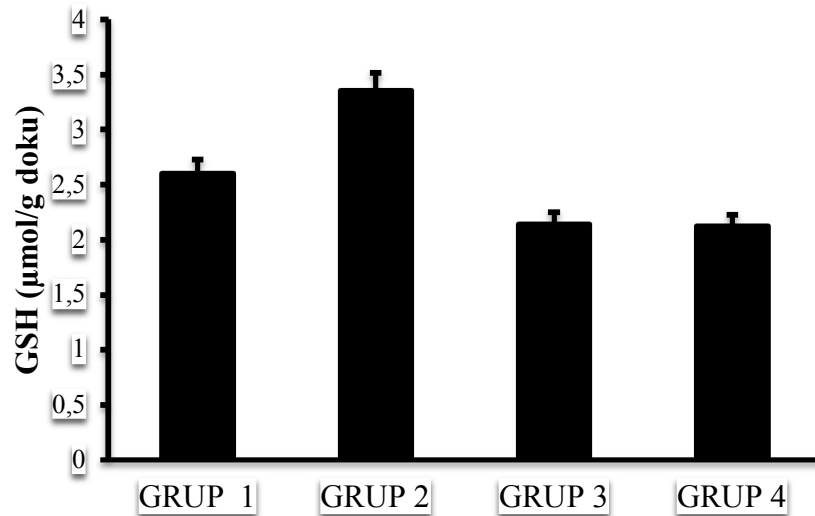
MDA: Malondialdehit; **GSH:** Glutatyon; **NO:** Böbrek nitrik oksit; **AST:** Aspartat aminotranferaz; **S_{üre}:** Serum üre; **S_{krea}:** Serum kreatinin; **S_{Na}:** Serum sodyum; **S_K:** Serum potasyum; **İ_{krea}:** İdrar kreatinin; **İ_{Na}:** İdrar sodyum; **İ_{NO}:** İdrar nitrik oksit; **FeNa:** Fraksiyone sodyum itrahi.

Gruplar arası MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Ortalama MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 2’ de gösterildi.



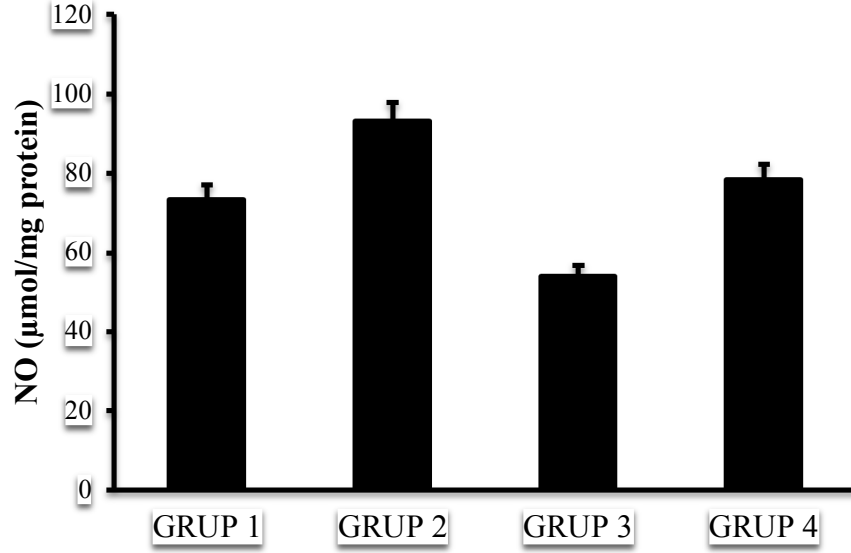
Şekil 2. Ortalama malondialdehit (MDA) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Ortalama GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 3’ te gösterildi.



Şekil 3. Ortalama glutatyon (GSH) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası böbrek dokusu NO düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Ortalama NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 4' te gösterildi.

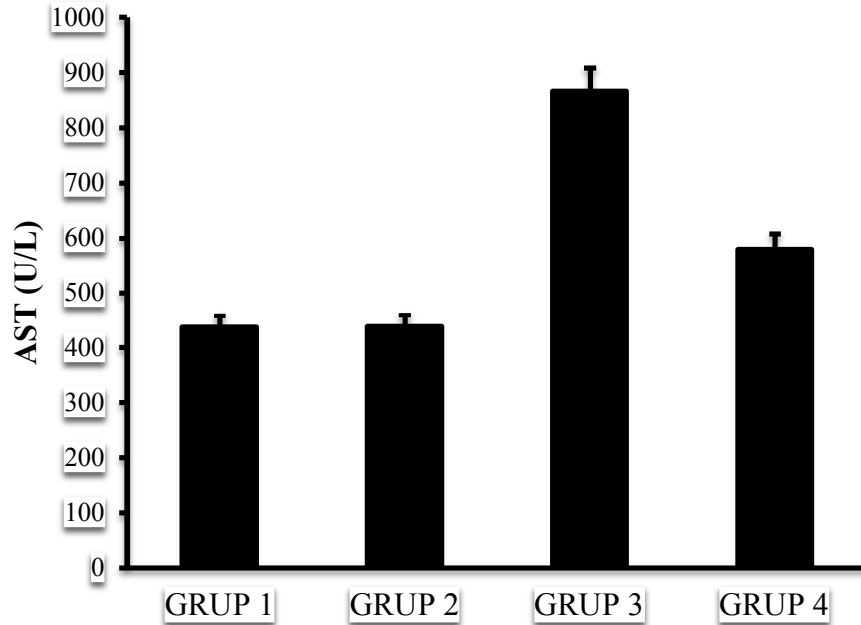


Şekil 4. Ortalama nitrik oksit (NO) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası serum AST aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,01$). Gruplar arası serum AST aktivitesinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p<0,01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Grup 3 ile Grup 4 karşılaştırıldığında $p<0,01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Grup 1 ile Grup 2 arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$). Serum AST aktivitesinin Bonferroni düzeltilmiş Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 6’ da ve ortalama AST aktivitesinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 5’ te gösterildi.

Tablo 6. Serum AST düzeylerinin Bonferroni düzeltilmiş Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p>0,05$	
Grup 3	$p<0,01$	
Grup 4		$p<0,01$

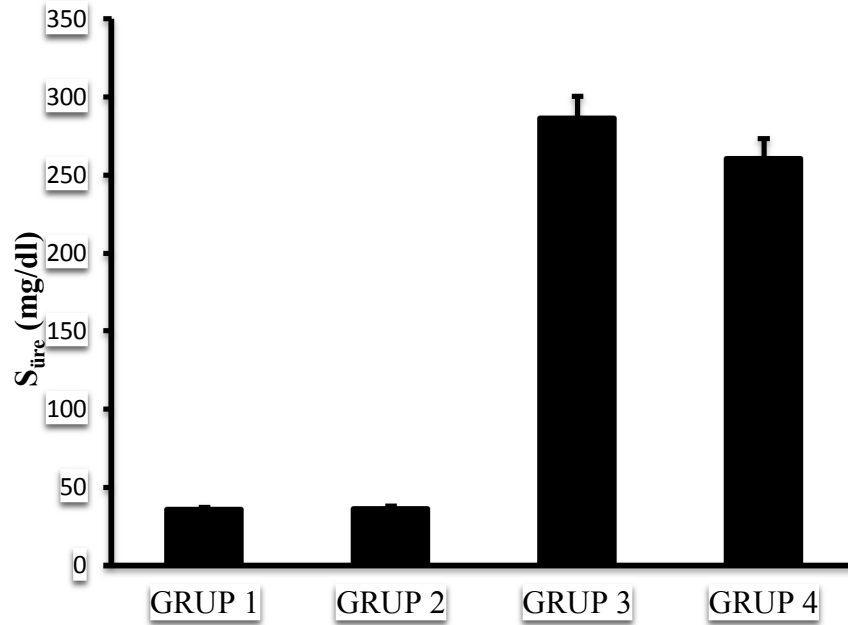


Şekil 5. Ortalama AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası $S_{üre}$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,01$). Gruplar arası $S_{üre}$ düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p<0,01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$). $S_{üre}$ düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 7’ de ve ortalama $S_{üre}$ düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 6’ da gösterildi.

Tablo 7. Serum üre düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p>0,05$	
Grup 3	$p<0,01$	
Grup 4		$p>0,05$

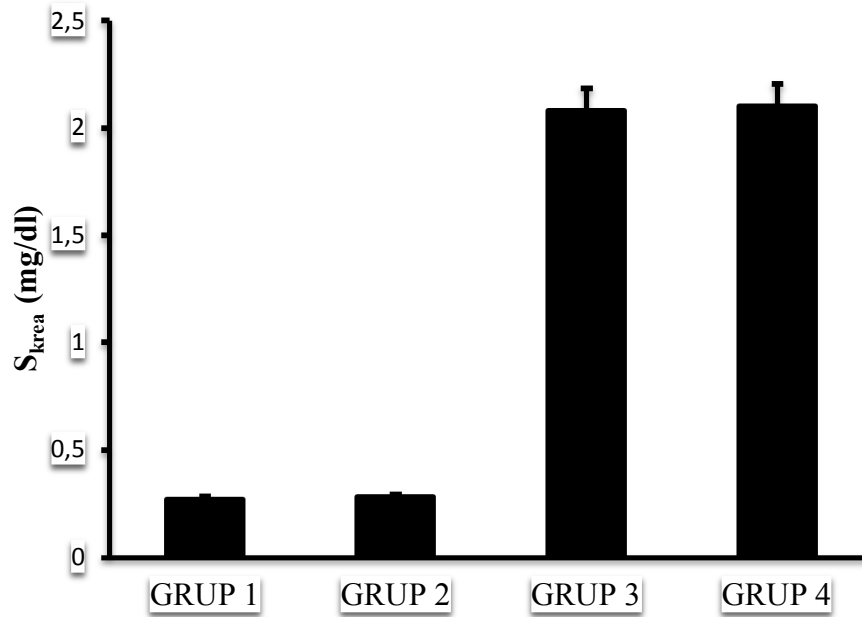


Şekil 6. Ortalama serum üre ($S_{üre}$) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası S_{krea} düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,01$). Gruplar arası S_{krea} düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p<0,01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$). S_{krea} düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 8’ de ve ortalama S_{krea} düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 7’ de gösterildi.

Tablo 8. Serum kreatinin düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p>0,05$	
Grup 3	$p<0,01$	
Grup 4		$p>0,05$

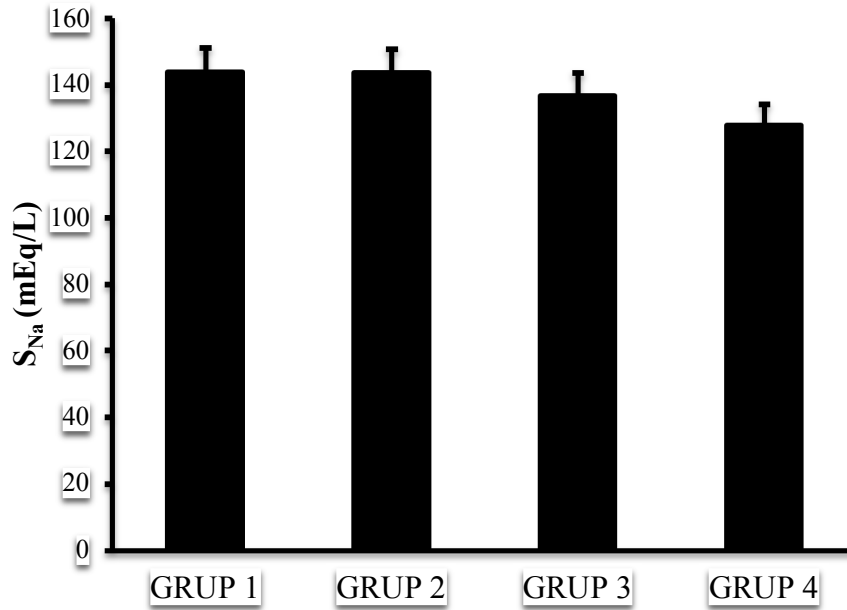


Şekil 7. Ortalama serum kreatinin (S_{krea}) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası S_{Na} düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,01$). Gruplar arası S_{Na} düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p<0,01$, Grup 3 ile Grup 4 arasında $p<0,05$ oranında anlamlı azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlemlenmedi ($p>0,05$). S_{Na} düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 9’ da ve ortalama S_{Na} düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 8’ de gösterildi.

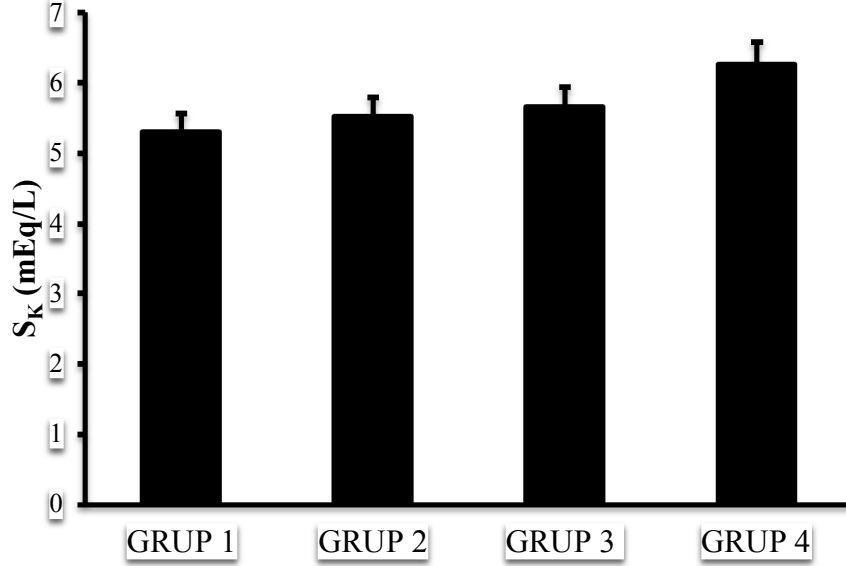
Tablo 9. Serum sodyum düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p>0,05$	
Grup 3	$p<0,01$	
Grup 4		$p<0,05$



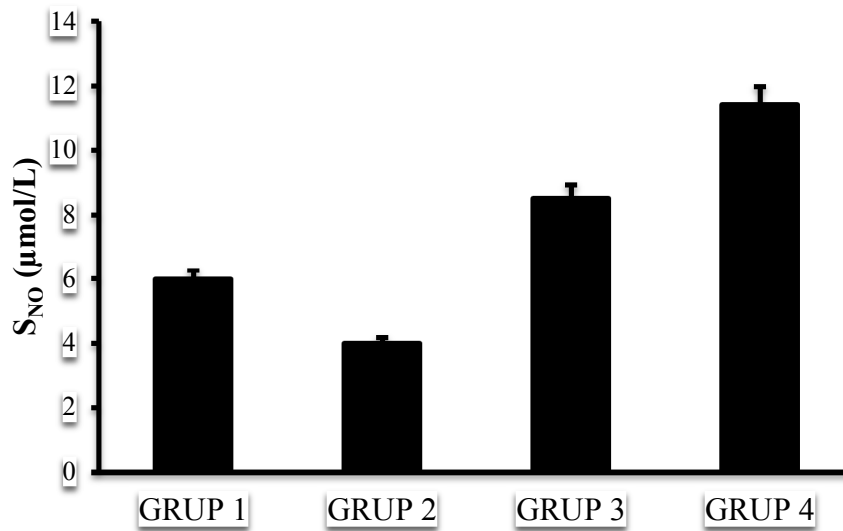
Şekil 8. Ortalama serum sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası S_K düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Ortalama S_K düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 9’ da gösterildi.



Şekil 9. Ortalama serum potasyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası serum NO düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Ortalama serum NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 10’ da gösterildi.

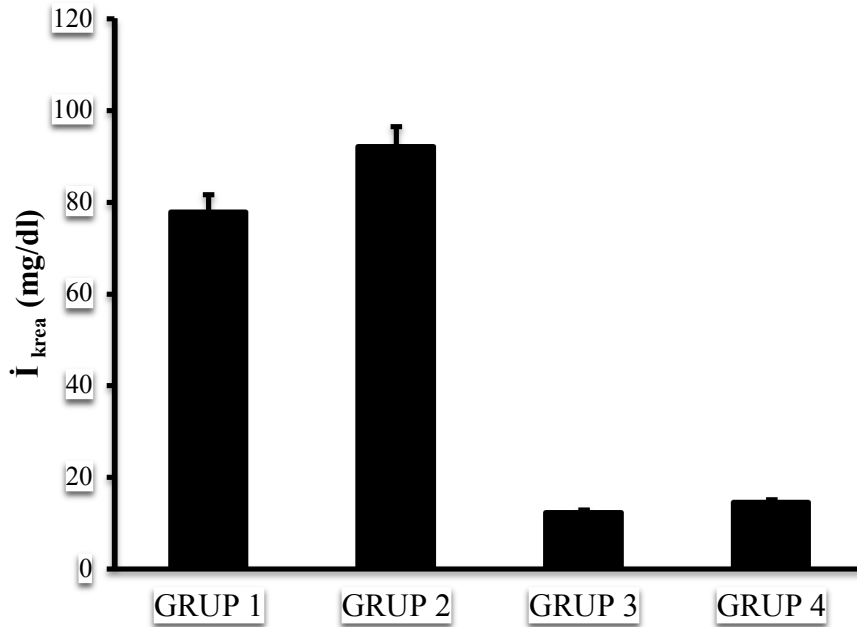


Şekil 10. Ortalama serum nitrik oksit (NO) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası idrar kreatinin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,01$). Gruplar arası idrar kreatinin düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0,05$). İdrar kreatinin düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 10’da ve ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 11’de gösterildi.

Tablo 10. İdrar kreatinin düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p > 0,05$	
Grup 3	$p < 0,01$	
Grup 4		$p > 0,05$

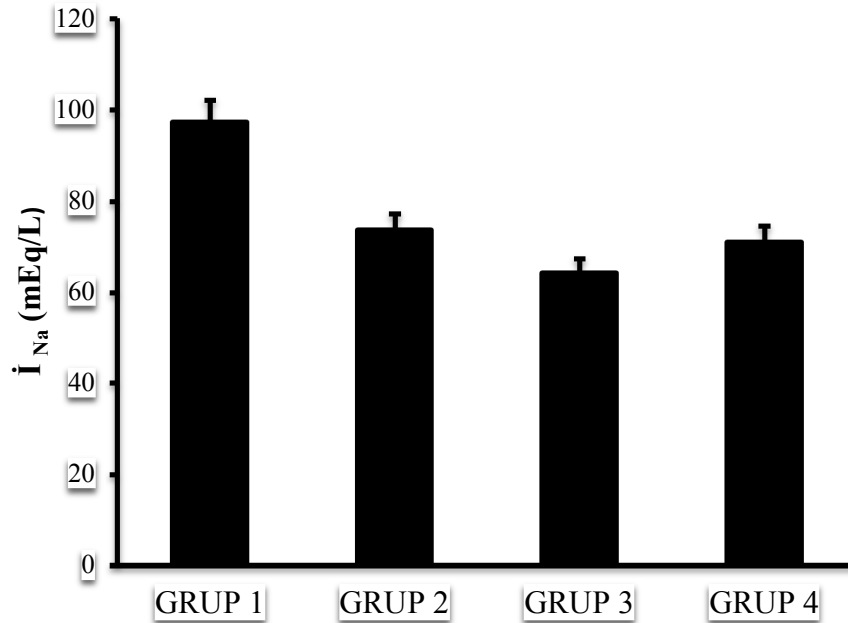


Şekil 11. Ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası idrar sodyum düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,05$). Gruplar arası idrar sodyum düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0,05$). İdrar sodyum düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 11’de ve ortalama idrar sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 12’de gösterildi.

Tablo 11. İdrar sodyum düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p > 0,05$	
Grup 3	$p < 0,05$	
Grup 4		$p > 0,05$

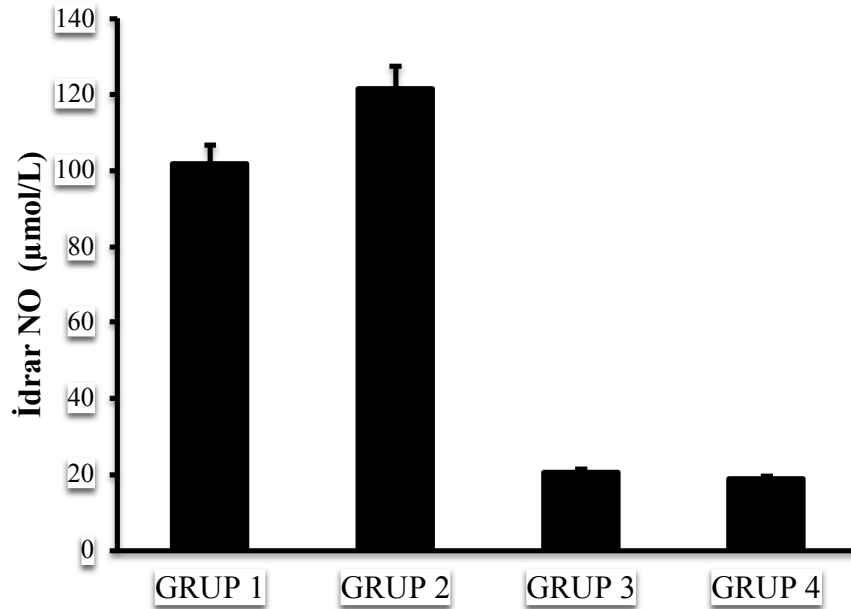


Şekil 12. Ortalama idrar sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası idrar NO düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,01$). Gruplar arası idrar NO düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p<0,01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). İdrar NO düzeylerinin Bonferroni düzeltilmiş Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 12’ de ve ortalama idrar NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 13’ te gösterildi.

Tablo 12. İdrar NO düzeylerinin Bonferroni düzeltilmiş Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p>0,05$	
Grup 3	$p<0,01$	
Grup 4		$p>0,05$

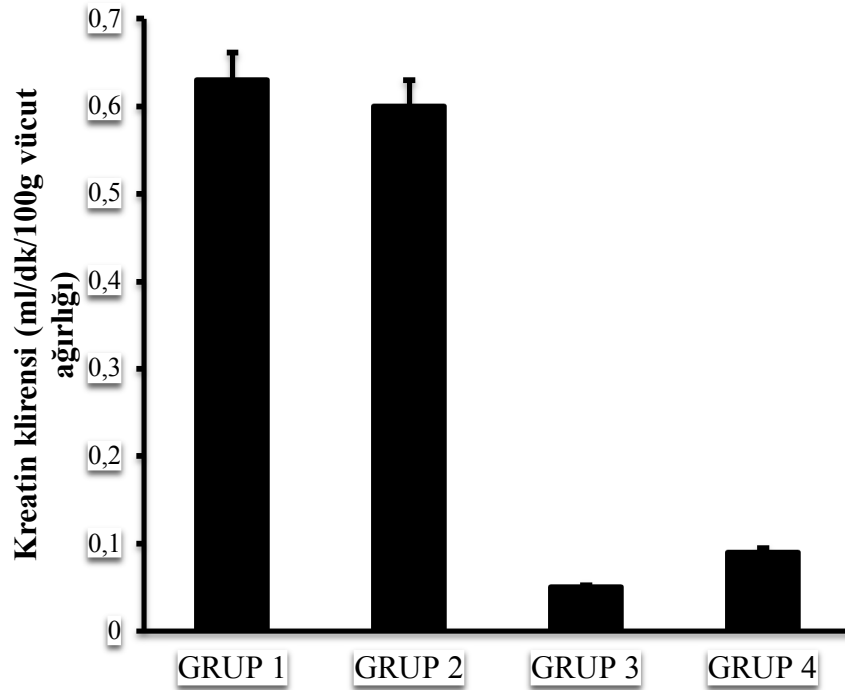


Şekil 13. Ortalama idrar nitrik oksit (NO) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası kreatin klirensi düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,01$). Gruplar arası idrar kreatin klirensi düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0,05$). Kreatin klirensi düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 13’ te ve ortalama kreatin klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 14’te gösterildi.

Tablo 13. Kreatin klirensi düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p > 0,05$	
Grup 3	$p < 0,01$	
Grup 4		$p > 0,05$

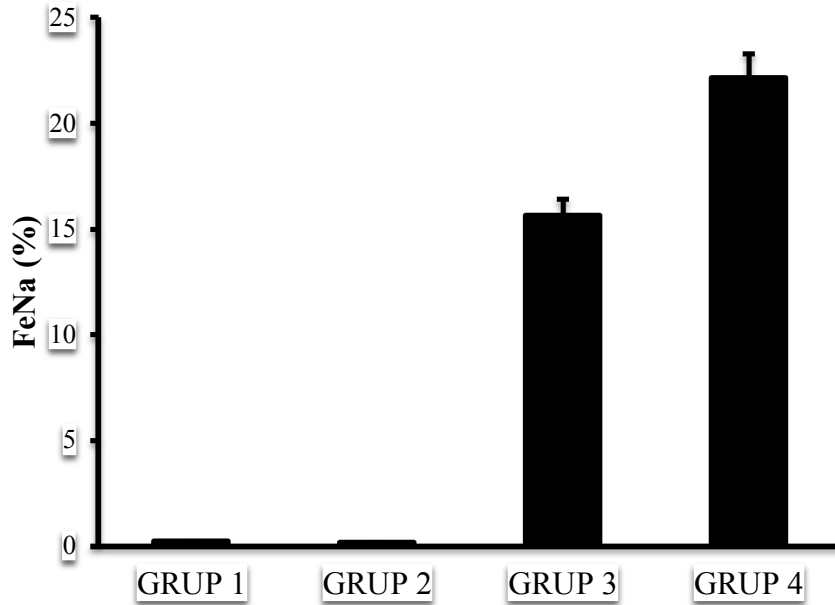


Şekil 14. Ortalama kreatin klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası Fraksiyone Na itrahi (FeNa) düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,01$). Gruplar arası idrar FeNa düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p<0,01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$). FeNa düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 14’ te ve ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 15’ te gösterildi.

Tablo 14. FeNa düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p>0,05$	
Grup 3	$p<0,01$	
Grup 4		$p>0,05$



Şekil 15. Ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

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 15 ve 16'da gösterildi.

Grup 1'deki sıçanların hematoksilen-eosin (HE) boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; mikroskobik kesitlerde tübül ve glomerüllerin normal görünümde izlendi. Tübüllerde herhangi bir nekroz veya kast oluşumu gözlenmedi (şekil 16).

Grup 2'deki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; Grup 1'e 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 17).

Grup 3'teki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; böbrek kortikal tübüllerde dilatasyon, tübül epitellerinde basıklaşma, vakuolizasyon ve yer yer nekroz izlendi. Tübül lümenlerinde kast oluşumu gözlendi (şekil 18).

Grup 4'teki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; böbrek kortikal tübüllerde Grup 3'e benzer şekilde ve oranda tübüller dilatasyon, tübül epitelinde basıklaşma, vakuolizasyon gözlendi. Tübüllerde nekroz ve yaygın kast varlığı izlendi (şekil 19).

Tablo 15. Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçlar

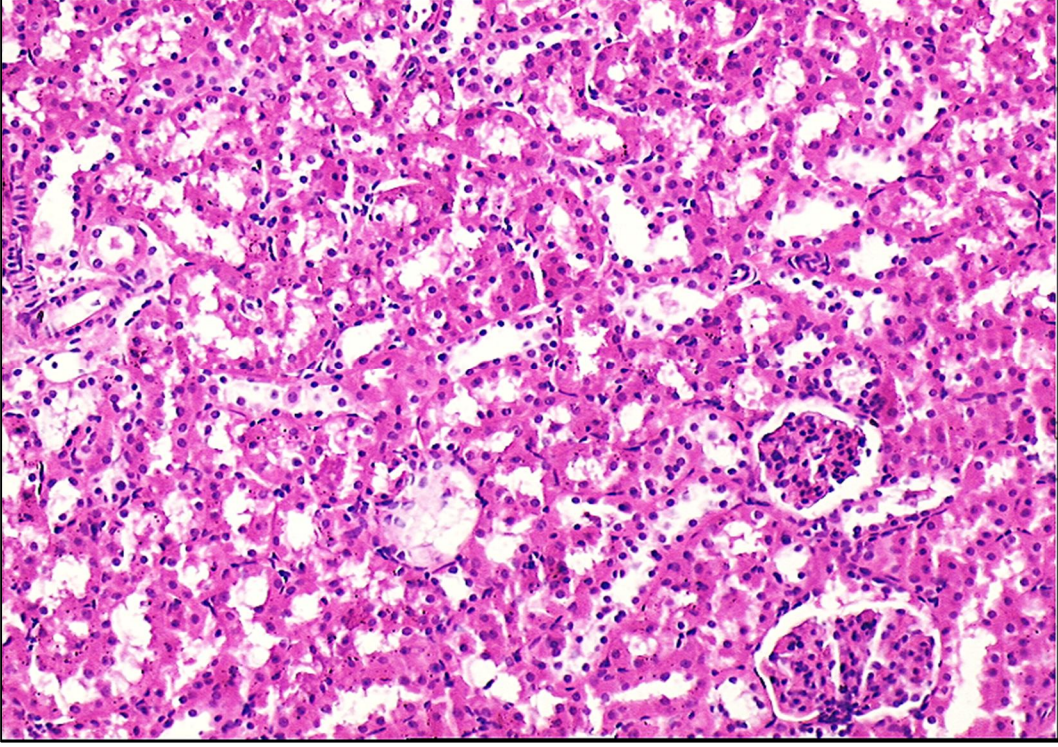
SN	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	0	0	4	4
2	0	0	4	4
3	1	0	4	3
4	0	0	3	4
5	0	1	4	0
6	0	0	4	4
7	0	0	4	4
8	0	0	4	4

SN: Sıra numarası

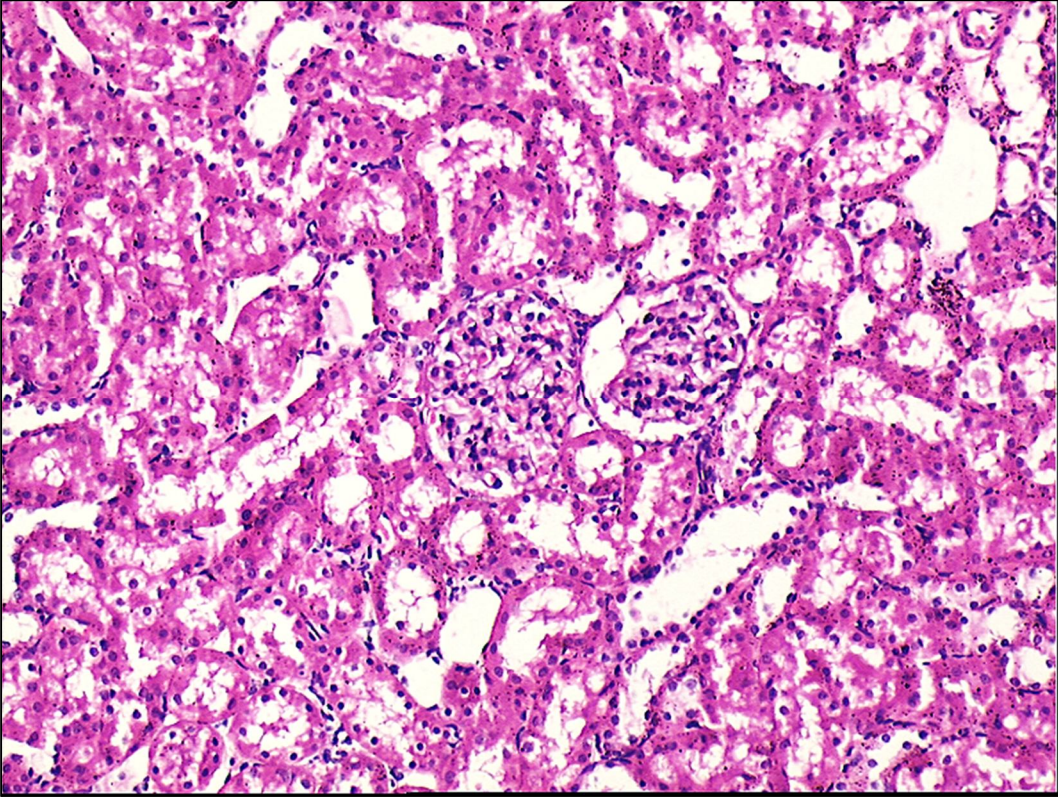
Tablo 16. Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçlar

SN	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	0	0	80	78
2	0	0	82	80
3	1	0	78	85
4	0	0	75	80
5	0	2	80	0
6	0	0	85	82
7	0	0	80	78
8	0	0	82	80

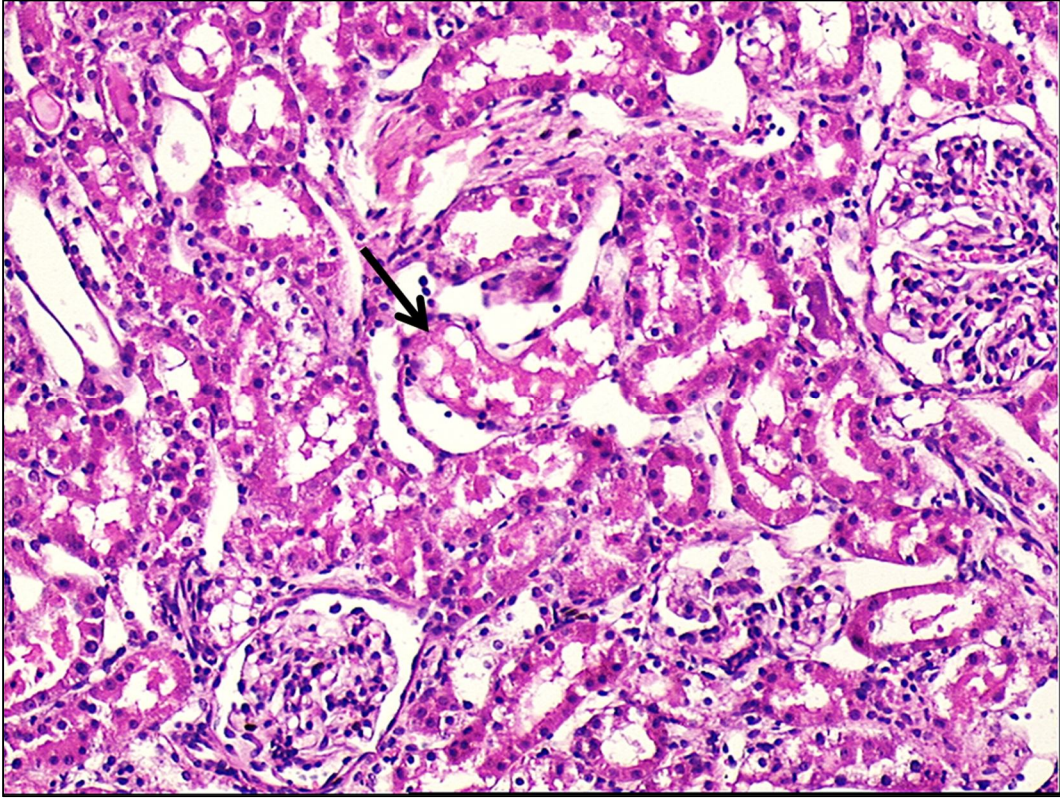
SN: Sıra numarası



Şekil 16. Grup 1 böbrek kesitinin histopatolojik görünümü [kortikal kısım (HEx100)]

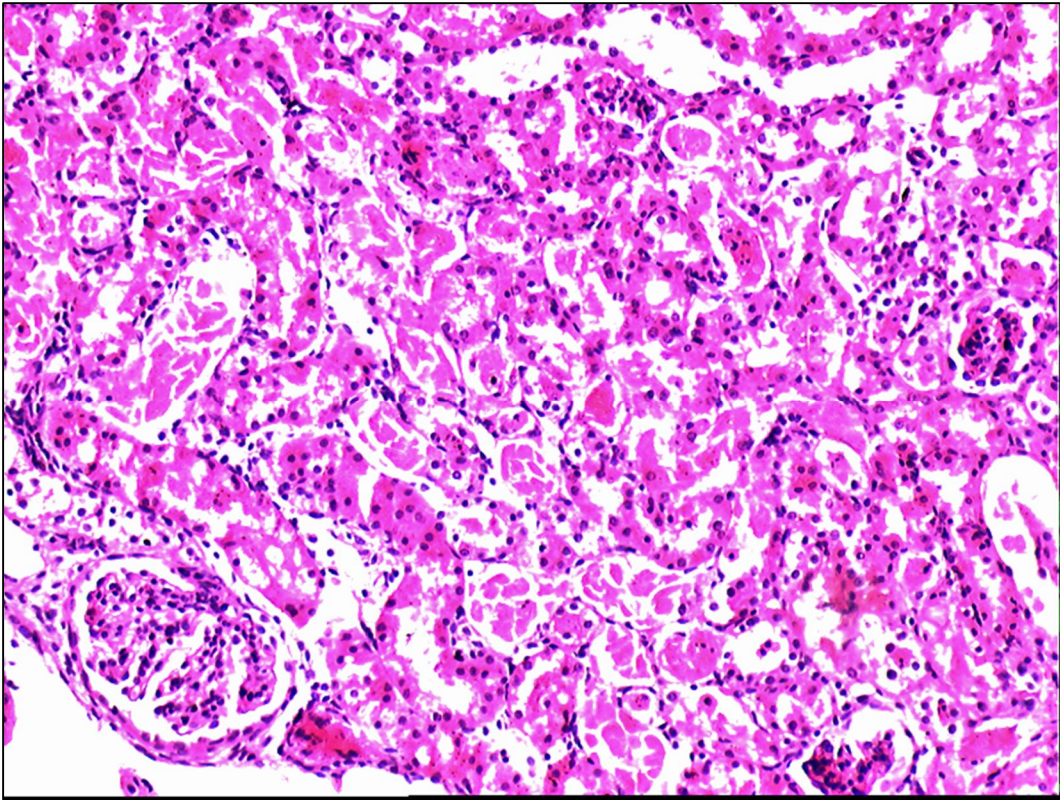


Şekil 17. Grup 2 böbrek kesitinin histopatolojik görünümü [kortikal kısım (HEx100)]



Şekil 18. Grup 3 böbrek kesitinin histopatolojik görünümü [kortikal kısım (HEX100)]

Ok: Tübüler dilatasyon, epitelde nekroz ve lümende kast varlığı



Şekil 19. Grup 4 böbrek kesitinin histopatolojik görünümü [kortikal kısım (HEX100)]

TARTIŞMA

Akut böbrek yetmezliği hastaneye yatan hastaların yaklaşık olarak % 5' inde görülen yaygın bir durumdur (65). ABY gelişen hastaların yaklaşık % 10' nunda böbrek replasman tedavisi gerekmektedir. ABY gelişen yoğun bakım hastalarında son dönem böbrek yetmezliği % 2-10 oranında gelişmekte ve bu hastalara uzun dönem diyaliz tedavisi gerekmektedir. Bu durum ölüm oranını arttırmakta ve yüksek tedavi masrafları gerektirmektedir (66).

Renal iskemi ve reperfüzyon; renal transplantasyon, parsiyel nefrektomiler ve suprarenal aortik anevrizmaların cerrahi tedavisi sırasında görülmektedir (67). İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği; glomerüler filtrasyon hızında (GFR) azalma, tübüler nekroz ve renal damarlarda direnç artışıyla karakterizedir. Reperfüzyon böbrek fonksiyonlarının bozulmasına neden olur. Ayrıca renal iskemi/reperfüzyon sonucu özellikle böbrek proksimal tübül hücrelerinde hasar gelişmektedir. İskemi-reperfüzyon böbrek transplantasyonu sonrası erken dönemde allograftı reddetme ve uzun dönemde allografta karşı zıt etkilerin başlıca neden olduğu bildirilmektedir (68).

Son yıllarda böbrek nakli, son dönem böbrek yetmezlikli hastaların tedavisinde geçerli bir tedavi yöntemi olarak kabul edilmektedir. Böbrek naklinde iskemi/reperfüzyon hasarına bağlı gelişebilecek problemler ise son yıllarda tıp alanındaki gelişmelere rağmen fizyopatolojisi günümüzde hala tam olarak açıklanamamış olmadığından bu hasarın engellenmesine karşı farklı ajanların geliştirilmesi amacıyla deneysel araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir (66).

Böbreklerde deneysel iskemi/reperfüzyon hasarının etkilerinin ortaya çıkması için belli bir iskemi süresine gerek vardır. Sıçan böbreğinde Paller ve ark. 60 dakikalık iskemi süresinden sonra reperfüzyon hasarının ortaya çıktığını göstermişlerdir (69). Biz de

çalışmamızda 60 dakikalık böbrek iskemi ve 24 saatlik reperfüzyon süresini tercih ettik (70). İskemi süresince hücrede, intersellüler dokuda ve sistemik dolaşımda bulunan ve artan pek çok etken madde sorumludur.

Bu çalışmada, Çin takke bitkisi (*Scutellaria baicalensis*) kökünden elde edilen baicalinin sıçanlarda oluşturulan böbrek iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkilerini araştırdık.

Çin ve Japonya geleneksel tıbbında yaygın olarak kullanılan Çin takke bitkisinin (*Scutellaria baicalensis*) kökleri çeşitli alerjik reaksiyonların, inflamatuvar hastalıkların, hiperlipidemi, kanser, arterosklerozis başta olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanıldığı birçok çalışmada bildirilmektedir (10,71,72). Çin takke bitkisinin ana bileşenlerinden biri olan baicalin antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antibakterial etkilerinin olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir (49,51,53,73-75). Bu çalışma araştırmalarımıza göre baicalinin sıçanlarda böbrek I/R hasarına karşı etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

Baicalinin sıçanlara böbrek damarları diseksiyonla ayrılmadan 30 dk önce 200 mg/kg dozunda i.p. olarak verilen 2. grup verileri baicalin yerine 2 ml/kg dozunda i.p. FS verilen yani 1. grup verileri karşılaştırıldığında; MDA, GSH, NO, AST, serum üre, kreatinin, nitrik oksit ve kreatin klirensi ile idrar NO ve FeNa atılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü. Bu veriler baicalinin fizyolojik parametreler üzerinde sağlıklı sıçanlarda toksik etkisinin olmadığı ile ilgili bilgi vermektedir.

Böbrek arter ve venleri birlikte klemplenecek 60 dk iskemi, 24 saat reperfüzyon süresi uygulanan 3. grup sıçan parametreleri ile 1. grup sıçan parametreleri karşılaştırıldığında; MDA, GSH ve böbrek dokusu NO düzeyleri ile serum potasyum, serum NO, düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadığı görüldü. Serum üre ($p<0,01$), kreatinin ($p<0,01$) ve serum AST aktivitesinde ($p<0,01$) düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü. Böbrek tübül fonksiyonunun bir göstergesi olarak kabul edilen FeNa atılımında ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı bir artma, böbrek fonksiyonlarının göstergesi olarak kabul edilen kreatin klirensinde ($p<0,01$) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü. Grup 3 sıçanlar ile Grup 1 sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; Grup 3'te kortikal tübüllerde dilatasyon, tübül epitellerinde basıklaşma ve yer yer nekroz gözlemlendi. Ayrıca tübül lümenlerinde kast oluşumu gözlemlendi. Bu sonuçlar uyguladığımız modelin oluştuğunu göstermektedir. Kwon ve ark. (70) iskeminin oluşturduğu ABY' deki sıçan böbreğinde sodyum taşınmasındaki oluşan bozuklukların değerlendirildiği çalışmalarında farklı I/R süreleri uygulanmıştır. Çalışmalarında 60 dk iskemi, 24 saat

reperfüzyon süresi uygulanan grup ile sham opere edilen grubun verileri karşılaştırıldığında; plazma kreatinin arttığı, kreatin klirensinin anlamlı düzeyde azaldığı ve fraksiyonel Na atılımının aşırı bir şekilde arttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada uygulanan deneysel model ve elde edilen glomerüler ve tübüler fonksiyonların göstergesi olan parametreler bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularımızla benzerlik göstermektedir.

Chiao ve ark. (76) sıçan ve farelerde 40 dk iskemi ve farklı reperfüzyon süreleri uyguladıkları çalışmalarında I/R grubu, sham kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; üre, kreatinin düzeyleri ile böbreklerdeki histopatolojik değişikliklerin anlamlı düzeyde arttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular bizim çalışmamızdaki bulgularla benzerlik göstermektedir. Yanarates ve ark. (77) sıçanlarda 60 dk iskemi 6 saat reperfüzyon süresini inceledikleri çalışmalarında serum üre, kreatinin, AST aktivitesi, MDA ve NO düzeyleri ile histopatolojik olarak böbrek hasarının arttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada proanthocyanidin böbrek I/R hasarında koruyucu rol oynadığını belirtmişlerdir. Camara ve ark. (78) sıçanlarda 45 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında serum üre, AST düzeylerinin ve histopatolojik tübüler hasarın arttığı rapor edilmiştir. Sulfasalazine tedavisinin oluşan I/R hasarına karşı koruyucu rol oynadığını belirtmişlerdir. İskemi ve reperfüzyonun oluşturduğu hasarın böbrek üre, kreatinin ve AST aktivitesi sonuçlarında oluşan bulgular bizim I/R oluşturduğumuz 3. grup verileri ile uyumluluk göstermektedir. Wei ve ark. (79) çalışmasında sıçanlara 45 dk iskemi 24 saat reperfüzyon sonucu serum üre, kreatinin düzeylerinde artma, serum ve böbrek düzeyinde ise istatistiksel olarak anlamlı artma görülmüş. Efrati ve ark. (80) yapmış oldukları sol böbrek nefrektomisinden sonra 1, 24, 48, 168 saat reperfüzyon sürecinde bulguların incelendiği çalışmalarında; 24 saatlik reperfüzyon süresinin incelendiği I/R grubunda kreatinin düzeylerinde artma, kreatinin klirensinde ise anlamlı azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmaların verileri bizim çalışmamızın verileri ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda 60 dk iskemi, 24 saat reperfüzyon uygulanan ve iskemiden 30 dk önce 2 ml/kg dozunda FS verilen Grup 3 ile 60 dk iskemi, 24 saat reperfüzyon uygulanan ve iskemiden 30 dk önce 200 mg/kg i.p. tek doz baicalin verilen Grup 4'ün parametreleri karşılaştırıldığında; serum sodyum miktarında ($p<0,05$) düzeyinde ve reperfüzyon hasarının bir göstergesi olan serum AST aktivitesinde ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı azalma görüldü. Diğer parametreler arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü.

Sekhon ve ark. (81) tarafından erkek köpeklerde 90 dk iskemi ve farklı zamanlarda (24 saat, 2 gün, 4 gün, 7 gün, 10 gün, 15 gün, 21 gün) reperfüzyon süresi uygulanan gruplarda 24 saatlik reperfüzyon süreleri sonunda; uygulanan N-asetil sistein, sodyum nitroprosit ve

phosphoramidonun bozulmuş böbrek foksiyon göstergeleri olarak kabul edilen üre, kreatinin düzeyleri üzerinde etkilerinin olmadığını bildirmişlerdir. Ancak reperfüzyonun diğer sürelerinde koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir.

Zhang ve ark. (54) şiddetli akut pankreatit oluşturulan sıçanlarda baicalin ve ocreotidin renal hasar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Akut pankreatit % 20-30 mortalite ile seyreden yaygın çoklu organ hasarına sebep olan sistemik ölümcül bir hastalıktır. Baicalinin akut pankreatit tedavisinde tek doz verilmesinin kısa yarı ömrüne sahip olması yüzünden zayıf tedavi etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra yüksek dozda ve birden fazla enjeksiyonun güçlü tedavi etkisine sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada araştırmacılar pankreatit oluşturduktan 10 dk sonra mikroinfüzyon pompasıyla eksternal jugular ven aracılığıyla infüzyon tarzında her saatte bir 10 mg/100 gr dozunda olacak şekilde 3, 6 ve 12 saatlik tedavi protokolü uygulamışlardır. Bu çalışmalar sonunda yükselmiş olan serum üre, 3 ve 12'ci saatlerdeki baicalin tedavisi ile anlamlı düzeyde azalmasına rağmen serum kreatinin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığını bildirmişlerdir. Serum NO düzeyinin baicalin tedavisi yapılan grubun ile akut pankreatit oluşturulan gruba göre 3 ve 12'ci saatlerde baicalin verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca baicalin endotelin-1 (ET-1) düzeyini azalttığı ve histopatolojik değişikliklerde hasarı azaltıcı etkisinin olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada baicalinin bazı parametreler üzerinde göstermiş olduğu koruyucu etkisinin bizim çalışmamızda görülmemesinin sebebi deneysel model farklılığı, baicalinin veriliş yolu, veriliş süresi ve dozuna bağlı olabilir.

Yeh ve ark. (82) farelerde i.p. lipopolisakkarit verilerek glomerülonefritis modeli oluşturdukları çalışmalarında baicalinin invivo şartlarda hidrolize olarak dönüştüğü baicaleinin etkinliği araştırılmıştır. Bu modelde baicalein farklı dozlarının 50 ve 100 mg/kg, koruyucu etki göstermemesi sonucu 150 mg/kg dozunda günlük gavaj yoluyla 14 gün boyunca verilen baicaleinin serum üre, kreatinin miktarını, idrar üre, kreatinin ve idrar protein atılımını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca böbrek histopatolojik değişikliklere karşı koruyucu rol oynadığı, iNOS ve COX-2 ekspresyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Bu çalışmadaki etkinliğinin görülmesinin nedeni uzun süreli uygulanmasının bir sonucu olabilir.

Zhang ve ark. (58) yüksek dozda demir verilmesinin oluşturduğu hasara karşı, 45 gün süreyle % 1 oranında hayvan yemine katılarak verilen baicalin ve quercetin verilen çalışmalarında; baicalinin verildiği grupta demir yüklenen gruba göre lipid peroksidasyon düzeylerinde azalmaya neden olduğu, protein oksidasyonunu azalttığı ve katalaz enzim aktivitesini arttırdığı rapor edilmiştir.

Kim ve ark. (11) çalışmasında sıçan karaciğerinde 60 dk iskemiden sonra 5 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında karaciğer iskemisinden 24 ve 1 saat önce 200 mg/kg dozunda baicalinin verilmesinin iskemi grubunda artmış MDA düzeyinde azalmaya, azalmış GSH düzeyinde artmaya neden olduğu rapor edilmiştir.

Park ve ark. (83) karbontetraklorür vererek oluşturmuş oldukları karaciğer toksisitesine karşı karbontetraklorürün verilmesinden 30 dk önce ve 2 saat sonra 25, 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarında baicalin verilen gruplarda serum alanin aminotrasferaz (ALT) ve AST aktivitesi düzeyleri üzerinde 100 mg/kg dozunun etkin olduğu istatistiksel olarak bu dozun en etkili azalmayı sağladığı, bu dozun hem MDA hemde GSH üzerinde anlamlı olarak etkinlik gösterdiği, yükselmiş MDA düzeyini azalttığı, GSH düzeyini ise arttırdığı rapor edilmiştir. Ayrıca araştırmacılar baicalinin iNOS aktivitesini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

Jang ve ark. (84) farelerde acetaminofen vererek oluşturdukları karaciğer toksisitesine karşı acetaminofenin uygulanmasından 30 dk sonra baicalin verilmesinin plazma AST ve ALT aktiviteleri ile karaciğer histopatolojik değişiklikleri anlamlı düzeyde azalttığını, düşmüş olan karaciğer GSH düzeyine baicalinin etkisinin olmadığı bildirilmektedir. Bu sonuç bizim çalışmamızdaki baicalinin etkisi ile benzerlik göstermektedir.

Baicalin farklı deneysel böbrek, karaciğer, pankreas gibi organlarda oluşan hasara karşı koruyucu rol oynadığı literatürde görülmektedir. Bizim çalışmamızda baicalinin deneysel böbrek I/R'da reperfüzyon hasarının bir göstergesi olarak kabul edilen AST aktivitesi dışındaki parametreler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı koruyucu değişiklikler oluşturulmamasında birkaç faktör rol oynayabilir.

1. Baicalinin verilme zamanındaki farklılık

2. Birçok çalışmada 200 mg/kg dozu verilmesine rağmen bizim çalışmamızda etkin dozunun belirlenmemiş olması

3. Zhang ve ark. (54) belirttiği gibi baicalinin yarı ömrünün kısa olmasından dolayı yüksek dozda ve birden fazla enjeksiyonunun güçlü tedavi etkisine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda tek doz olarak verilmesi daha az koruyucu etkilerin görülmesine neden olabilir.

Bütün bu bulgular ve literatür sonuçları bir arada değerlendirildiğinde baicalinin deneysel böbrek I/R hasarında etki mekanizmasının kesin olarak göstermede yetersiz kalmaktadır. Bu konuda baicalinin dozu, verilme yolu, verilme zamanı ve verilme sürelerinde yapılacak düzenlemeler ile renal kan akımı, böbrek fonksiyonları, oksidatif hasarın derecesini gösteren parametreler ile NO metabolizması üzerindeki etkilerini, ışık mikroskopuna ek

olarak histopatolojik deęişikliklerin elektron mikroskobu ve immünohistokimyasal olarak arařtıran daha kapsamlı çalıřmalara ihtiyaç olduęu dūřüncesindeyiz.

SONUÇLAR

Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulan sıçan böbrek I/R modelinde baicalinin; MDA, NO, GSH düzeylerine, AST aktivitesi ve böbrek fonksiyonları ile histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerini inceledik. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda sıçan böbrek I/R hasarında baicalinin etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

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

1. ve 3. grup parametreleri karşılaştırıldığında MDA, GSH, NO düzeyleri ile serum potasyum, nitrik oksit, düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadığı görüldü. Serum üre, kreatinin ve serum AST aktivitesinde anlamlı bir artış görüldü. Böbrek tübüler fonksiyonun bir göstergesi olarak kabul edilen FeNa atılımında anlamlı bir artma, kreatin klirensinde ise anlamlı bir azalma olduğu görüldü.

3. ve 4. grup parametreleri karşılaştırıldığında; serum sodyum miktarında ve reperfüzyon hasarının bir göstergesi olan serum AST aktivitesinde anlamlı bir azalma görüldü. Diğer parametreler arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü.

Bütün bu bulgular bir arada ele alındığında baicalinin deneysel böbrek I/R hasarında 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

Böbrek iskemi/reperfüzyon hasarı, böbrek vazokonstriksiyonu, tübüler hasar ve glomerüler hasar da dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar içeren karmaşık bir sendromdur. İskemi/reperfüzyon hasarının potogenezinde serbest radikaller ve nitrik oksitin rol oynadığı gösterilmiştir. Çalışmamızda antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antibakterial özelliklerinin olduğu bildirilen baicalinin böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında etkilerini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda; 190-240 g ağırlığında 32 adet Spraque-Dawley erkek sıçan kullanıldı. Grup 1 ve Grup 2'deki sıçanlar hariç; diğer gruplardaki sıçanların böbrek damarlarına (arter ve ven) kan akımı nontravmatik mikrovasküler klemple kesildi ve 60 dk. süreyle iskemi, 24 saat reperfüzyon uygulandı. Grup 1 sıçanlara fizyolojik serum, Grup 2 sıçanlara 200 mg/kg dozunda baicalin, Grup 3 sıçanlara iskemi yapılmadan 30 dk önce fizyolojik serum, Grup 4 sıçanlara iskemi yapılmadan 30 dk önce 200 mg/kg dozunda baicalin intraperitoneal verildi. Reperfüzyonun başlatılmasından 24 saat sonra xylazine-ketamin anestezisi altında, sıçanların kan ve doku böbrekleri alındı. Böbrek dokusunda; glutatyon, malondialdehit, nitrik oksit düzeyi, serumda; aspartat aminotransferaz enzim aktivitesi, nitrik oksit, üre, kreatinin, sodyum ve potasyum düzeyleri, idrarda; nitrik oksit, kreatinin, sodyum düzeyleri ile böbrekte histopatolojik değişiklikler incelendi.

Çalışmamızda 3. grup ve 4. grup parametreleri karşılaştırıldığında serum sodyum düzeyinde ve reperfüzyon hasarının bir böstergesi olan serum aspartat aminotrasferaz aktivitesinde anlamlı azalma görüldü. Diğer parametreler arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü.

Bu sonuçlar göz önüne alındığında baicalinin böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında etkisinin belirlenmesi amacıyla doz ve verilme sürelerinde yapılacak düzenlemeler ile daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Baicalin, Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarı, Serbest Radikaller, Nitrik oksit, Antioksidant

THE EFFECTS OF BAICALIN ON RENAL ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY IN RATS

SUMMARY

Renal ischemia/reperfusion injury is a complex syndrome including a variety of mechanisms which are renal vasoconstriction, tubular damage and glomerular damage. It has been shown that free radicals and nitric oxide play a role in the pathogenesis of ischemia/reperfusion injury. In this study, we aimed to investigate the effects of baicalin on renal ischemia that has been reported to have some antioxidant, antiinflammatory, antiviral, antibacterial properties.

In our study, 32 male Sprague-Dawley rats, 190-240 gr in weight, were used. For the all groups 1 and 2, the blood flow into the renal vessels (artery and vein) was interrupted nontraumatic microvascular clamp and ischemia was performed for 60 minutes. Group 1; has received physiological serum of application, Group 2; has taken baicalin in dose of 200 mg/kg, before 30 minutes, performing the rats of Group 3; has received physiological serum and Group 4; has taken baicalin intraperitoneal in dose of 200 mg/kg before 30 minutes the ischemia. 24 hours after reperfusion the blood samples and kidneys of the rats were taken under the anesthesia of xylazine-ketamin. The level of nitric oxide, glutathione and malondialdehit were determined in the kidneys tissues. Aspartate aminotrasferase enzyzme activity and levels of urea, creatinine, nitric oxide, sodium and potassium were measured in the serum. The levels of creatinine, sodium and nitric oxide were determined in the urine specimens. Histopathological changes were also examined.

The findings of our study showed that while the group 4 compared to group 3, the serum aspartate aminotransferase enzyme activity and serum sodium 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 renal ischemia/reperfusion injury need to be further investigation with the regulation on the dose and application periods.

Key words: Baicalin, Renal Ischemia/Reperfusion Injury, Free Radicals, Nitric oxide, Antioxidant

KAYNAKLAR

1. Singh D, Chander V, Chopra K. Carvedilol attenuates ischemia–reperfusion-induced oxidative renal injury in rats. *Fundam Clin Pharmacol* 2004; 18: 627–34.
2. Yamamoto S, Hagiwara S, Hidaka S, Shingu C, Goto K, Kashima K et al. The Antioxidant EPC-K1 Attenuate Renal Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Model. *Am J Nephrol* 2011; 33: 485–90.
3. Beytur A, Binbay M, Sarihan ME, Parlakpınar H, Polat A, Gunaydın MO ve ark. Dose-Dependent Protective Effect of Ivabradine against Ischemia-Reperfusion-Induced Renal Injury in Rats. *Kidney Blood Press Res* 2012; 35: 114–9.
4. Lien YHH, Lai LW, Silva AL. Pathogenesis of renal ischemia reperfusion injury: lessons from knock out mice. *Life Sci* 2003;74:542-52.
5. Thandani R, Pascual M, Bonverte JV. Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996; 360:1148-60.
6. Monsinjon T, Richard V, Fontaine M. Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement. *Fundam Clin Pharmacol* 2001; 15: 293-306.
7. Aydoğdu N, Kaymak K, Yalçın Ö. Effects of N-Acetylcysteine in Renal Ischemia/Reperfusion Injury in the Rats. *Fırat Tıp Derg* 2005; 10(4): 151-55.
8. Avlan D, Tamer L, Ayaz L, Polat A, Öztürk C, Özturhan H ve ark. Effects of trapidil on renal ischemia-reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 2006; 41: 1686–93.

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. Xiping Z, Jie Z, Qin X, Guanghua F, Yang C, Tongfa J et al. Influence of baicalin and octreotide on NF-kappaB and p-selectin expression in liver and kidney of rats with severe acute pancreatitis. *Inflamm* 2009; 32: 1-11.
11. Kim SJ, Moon YJ, Lee SM. Protective Effects of Baicalin against Ischemia/Reperfusion Injury In Rat Liver. *J Nat Prod* 2010; 73: 2003-8.
12. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi fiziyojji. Nobel tıp kitabevleri 1996: 73.
13. Şener G, Yeğen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Geliş* 2009; 22(3): 5-13.
14. Özdamar MY, Yurtçu M, Toy H, Aköz M, Günel E. Renal iskemi/reperfüzyon hasarında üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstresinin etkisi. *Genel Tıp Derg* 2010;20(1):1-5.
15. Başay S, Adsan Ö, İnal G, Çetinkaya M. Verapamil Ve Alfa-Tokoferolün Rat Böbreğindeki Deneysel Reperfüzyon Hasarı Üzerine Karşılaştırmalı Etkileri. *Türk Ürol Derg* 2003; 29(1): 11-5.
16. Wang B, Bai M, Bai Y, Li Q. Liver Injury Following Renal Ischemia Reperfusion in Rats. *Transplant Proc* 2010; 42: 3422–6.
17. Pompermayer K, Souza DG, Lara GG, Silveira KD, Cassali GD, Andrade AA et al. The ATP-sensitive potassium channel blocker glibenclamide prevents renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Kidney Int* 2005; 67: 1785–96.
18. Chatterjee PK, Patel NSA, Kvale EO, Cuzzocrea S, Brown PAJ, Stewart KN et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int* 2002; 61: 862–71.
19. Kim T, Harman K, Lyons R, Gaskins RB, Hobson CE, Evans SM et al. Brain Natriuretic Peptide is Not Reno-Protective during Renal Ischemia-Reperfusion Injury in the Rat. *J Surg Res* 2010; 164: e13-9.
20. Bartošíková L, Nečas J, Bartošík T, Pavlík M, Fráňa P. Effect of pomiferin administration on kidney ischaemia-reperfusion injury in rats. *Interdisc Toxicol* 2010; 3(2): 76–81.
21. Tekcan M. Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis. *İnfertilite* 2007;8(5): 131-5.
22. Derviş E. Oral antioksidanlar. *Dermatoz* 2011; 2(1): 263-7.

23. 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.
24. Atalık KE, Doğan N. Nitrik oksit ve fizyolojik etkileri. *Genel Tıp Derg* 1997;7(3):167-9.
25. Güray A, Samancı N, Ovalı F, Dağoğlu T. Nitrik Oksit: Fizyolojisi ve Klinik Önemi. *T Klin Tıp Bilim* 1997; 17: 115-9.
26. Türköz Y, Özerol E. Nitrik Oksit'in Etkileri ve Patolojik rolleri. *J Turgut Özal Med Cen* 1997; 4(4): 453-61.
27. Palm F, Teerlink T, Hansell P. Nitric oxide and kidney oxygenation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18: 68–73.
28. Elli M, Özkaya O. Böbreğim Gelişiminde Nitrik Oksid'in Fizyopatolojik Rolü. *T Klin Pediatri* 2003; 12: 252-9.
29. Araujo M, Welch WJ. Oxidative stress and nitric oxide in kidney function. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006; 15: 72–7.
30. Pittner J, Wolgast M, Casellas D, Persson AEG. Increased shear stress-released NO and decreased endothelial calcium in rat isolated perfused juxtamedullary nephrons. *Kidney Int* 2005; 67:227–36.
31. Fellner SK, Arendshorst WJ. Angiotensin II, reactive oxygen species, and Ca^{+2} signaling in afferent arteriole. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;289: F1012–9.
32. Gürel EE. Sıçanlarda Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Yetmezliğinde Sarımsağın Etkileri. Edirne: Trakya Üniversitesi Fizyoloji AD; 2008.
33. Tuğtepe H, Şener G, Bıyıklı NK, Yüksel M, Çetinel Ş, Gedik N ve ark. The protective effect of oxytocin on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Regul Pept* 2007; 140: 101–8.
34. Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. Algal Antioksidanlar. *Turk J Fish Aquat Sci* 2006; 23(1/1): 85-9.
35. Durmuş AS, Ünsaldı E. Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Kırık İyileşmesi. *Doğu Anadolu Bölğ Araş*; 2005.
36. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes Mellitus and Oxidative Stress. *Turk J Biochem* 2006; 31(2); 51–6.

37. Memişoğulları R. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. Düzce Tıp Fak Derg 2005; 3: 30-9.
38. Erdal N, Altunkaynak Y, Altunkaynak E, Öztürk M, Mutluay B, Köksal A ve ark. Migrenli Hastalarda Oksidatif Stresin Göstergesi Olarak Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi. Düşünen Adam 2005; 18(3):129-35.
39. Shingu C, Koga H, Hagiwara S, Matsumoto S, Goto K, Yokoi I et al. Hydrogen-rich saline solution attenuates renal ischemia-reperfusion injury. J Anesth 2010; 24: 569-74.
40. Kusaka J, Hagiwara S, Hasegawa A, Kudo K, Koga H, Noguchi T. Cepharanthine Improves Renal Ischemia-reperfusion Injury in Rats. J Surg Res 2010;1-6.
41. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Derg 2002; 33(2): 110 -8.
42. Akkoç H. Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı. Dicle Tıp Derg 2008; 35 (3): 211-5.
43. Delibaş N, Özçankaya R. Serbest Radikaller. SDÜ Tıp Fak Derg 1995;2(3):11-7.
44. Köse K, Çambay N. Behçet Hatalığında Serbest Radikal Üretimi. Erciyes Ü. Sağlık Bil Derg 2000; 9(1): 54-62.
45. Kusaka J, Koga H, Hagiwara S, Hasegawa A, Kudo K, Noguchi T. Age-Dependent Responses to Renal Ischemia-Reperfusion Injury. J Surg Res 2010;1-6.
46. Velioglu S. Doğal Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkisi. Gıda (2000); 25(3): 167-76.
47. Koca N, Karadeniz F. Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri. Gıda Mühendisliği Derg 2002;30(2):32-7.
48. Woo AY, Cheng CH, Waye MM. Baicalein protects rat cardiomyocytes from hypoxia/reoxygenation damage via a prooxidant mechanism. Cardiovasc Res 2005; 65: 244- 53.
49. Caoa Y, Maoa 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.
50. 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.

51. 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;27(4):582-91.
52. 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. *European J Pharmacol* 2010; 649(1-3): 92–9.
53. 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;28(4): 573–78.
54. 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.
55. Gao ZH, Huang KX, Yang XL, Xu HB. Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochimica et Biophysica Acta* 1999; 1472:643–50.
56. Gleis 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. *Mutation Res* 2002;519:151–61.
57. 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.
58. 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.
59. 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.
60. 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; 1-6.
61. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95:351-8.

62. 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.
63. 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.
64. 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.
65. Rabb H, Mendiola CC, Dietz J, Saba SR, Issekutz TB, Abanilla F et al. Role of CD11a and CD11b in ischemic acute renal failure in rats. *Am J Physiol.* 1994;267(6-2):F1052-8.
66. Legrand M, Mik EG, Johannes T, Payen D, Ince C. Renal Hypoxia and Dysoxia After Reperfusion of the Ischemic Kidney. *Mol Med* 2008; 14(7-8):502-16.
67. Rhoden EL, Lima PL, Telöken C, Lucas ML, Klein BA, Rhoden CR. Beneficial effect of α -tocopherol in renal ischemia-reperfusion in rats. *Jpn J Pharmacol* 2001; 87:164-6.
68. Aktan ÖA, Yalçın SA. Ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen metabolites, and the surgeon. *Türk J Med Sci* 1998;1-5.
69. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest* 1984; 74(4):1156-64.
70. Kwon TH, Frokiaer J, Han JS, Knepper MA, Nielsen S. Decreased abundance of major Na(+) transporters in kidneys of rats with ischemia-induced acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000;278(6):F925-39.
71. Lu QY, Zhang L, Moro A, Chen MC, Harris DM, Eibl G et al. Detection of Baicalin Metabolites Baicalein and Oroxylin-A in Mouse Pancreas and Pancreatic Xenografts. *Pancreas* 2011;00(00):1-6.
72. Lai MY, Hsiu SL, Hou YC, Tsai SY, Chao PD. Significant Decrease of Cyclosporine Bioavailability in Rats Caused by a Decoction of the *Scutellaria baicalensis*. *Planta Med* 2004;70:132-7.
73. Hou YC, Lin SP, Tsai SY, Ko MH, Chang YC, Chao PD. Flavonoid Pharmacokinetics and Tissue Distribution after Repeated Dosing of the Roots of *Scutellaria baicalensis* in Rats. *Planta Med* 2011;77:455–60.
74. Chen CM, Wang LF, Cheng KT. Maternal Baicalin Treatment Increases Fetal Lung Surfactant Phospholipids in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011;408(714):1-5.

75. Ma AT, Zhong XH, Liu ZM, Shi WY, Du J, Zhai XH et al. Protective Effects of Baicalin against Bromocriptine Induced Abortion in Mice. *Asian Science and Medicine* 2009;37(1):85-95.
76. Chiao H, Kohda Y, McLeroy P, Craig L, Housini I, Star RA. α -Melanocyte-stimulating Hormone Protects Against Renal Injury after Ischemia in Mice and Rats. *J Clin Invest* 1997;99(6):1165-72.
77. Yanarates O, Guven A, Sizlan A, Uysal B, Akgul O, Atim A et al. Ameliorative Effects of Proanthocyanidin on Renal Ischemia/Reperfusion Injury. *Ren Fail* 2008;30(9):931–8.
78. Camara LCR, Guzman GFJ, Alarcon GG, Cardero PP, Fernandez GNE. Effect of Sulfasalazine on Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Ren Fail* 2009;31(9):822–8.
79. Wei R, Ding R, Wang Y, Tang L. Grape Seed Proanthocyanidin Extract Reduces Renal Ischemia/Reperfusion Injuries in Rats. *Am J Med Sci* 2011;1-6.
80. Efrati S, Berman S, Hamad RA, Siman-Tov Y, Ilgiyaev E, Maslyakov I et al. Effect of captopril treatment on recuperation from ischemia/reperfusion-induced acute renal injury. *Nephrol Dial Transplant* 2011;0:1–10.
81. Sekhon CS, Sekhon BK, Singh I, Orak JK, Singh AK. Attenuation of renal ischemia/reperfusion injury by a triple drug combination therapy. *J Nephrol* 2003;16(1):63-74.
82. 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.
83. 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.
84. 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	21
Şekil 2: Ortalama malondialdehit (MDA) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	36
Şekil 3: Ortalama glutatyon (GSH) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	36
Şekil 4: Ortalama nitrik oksit (NO) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	37
Şekil 5: Ortalama AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	38
Şekil 6: Ortalama serum üre ($S_{üre}$) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	39
Şekil 7: Ortalama serum kreatinin (S_{krea}) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	40
Şekil 8: Ortalama serum sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	41
Şekil 9: Ortalama serum potasyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	42
Şekil 10: Ortalama serum nitrik oksit (NO) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	42
Şekil 11: Ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	43
Şekil 12: Ortalama idrar sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	44
Şekil 13: Ortalama idrar nitrik oksit (NO) düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	45
Şekil 14: Ortalama kreatin klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	46
Şekil 15: Ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	47
Şekil 16: Grup 1 böbrek kesitinin histopatolojik görünümü [kortikal kısım (HEx100)]	50
Şekil 17: Grup 2 böbrek kesitinin histopatolojik görünümü [kortikal kısım (HEx100)]	50
Şekil 18: Grup 3 böbrek kesitinin histopatolojik görünümü [kortikal kısım (HEx100)]	51
Şekil 19: Grup 4 böbrek kesitinin histopatolojik görünümü [kortikal kısım (HEx100)]	51

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1: Grup 1'in biyokimyasal verileri	31
Tablo 2: Grup 2'nin biyokimyasal verileri	32
Tablo 3: Grup 3'ün biyokimyasal verileri	33
Tablo 4: Grup 4'ün biyokimyasal verileri	34
Tablo 5: Çalışma gruplarının değişkenlere ait istatistiksel verileri	35
Tablo 6: Serum AST düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları	36
Tablo 7: Serum üre düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları	39
Tablo 8: Serum kreatinin düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları	40
Tablo 9: Serum sodyum düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları	41
Tablo 10: İdrar kreatinin düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları	43
Tablo 11: İdrar sodyum düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları	44
Tablo 12: İdrar NO düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları	45
Tablo 13: Kreatin klirensi düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları	46
Tablo 14: FeNa düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları	47
Tablo 15: Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçlar	49
Tablo 16: Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçlar	49

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Bulgaristan'ın Gotse Delçev ilçesinde doğdum. İlköğrenimime 1992 yılında Selimşahlar Kasabası İlköğretim okulunda, lise öğrenimime 2000 yılında Manisa Lisesi'nde başladım. Lisans öğrenimimi ise Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde 2007 yılında tamamladım.

2010 Bahar yarıyılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım.

EKLER

EK-1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ


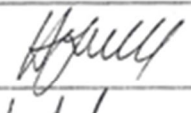
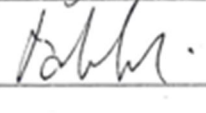


HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 01

Karar Tarihi: 05.01.2011

KARAR NO: 2011.01.07

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU'nun Yüksek Lisans Öğr. Fizyoloji Mustafa HACI'ın Yüksek Lisans tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2011/07 protokol nolu "Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında 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 yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ 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. 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	