

TC
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**RATLARDA NEBİVOLOL VE KARVEDİLOLUN RENAL
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINI ÖNLEYİCİ ETKİSİNİN
İDRAR NGAL VE KİM-1 DÜZEYLERİ VE DOKU DÜZEYİ
OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat KÜÇÜK

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Turgay ARINSOY

ANKARA

TEMMUZ 2015

**TC
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**RATLARDA NEBİVOLOL VE KARVEDİLOLUN RENAL
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINI ÖNLEYİCİ ETKİSİNİN
İDRAR NGAL VE KİM-1 DÜZEYLERİ VE DOKU DÜZEYİ
OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ KULLANILARAK
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat KÜÇÜK

TEZ DANISMANI

Prof. Dr. Turgay ARINSOY

ANKARA

TEMMUZ 2015

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ TUTANAĞI**

Adı Soyadı	MURAT KÜÇÜK
Baba Adı	NEVZAT
Doğum yeri/ Tarihi	BEYOĞLU/11.03.1986
Diploma tarihi/Diploma No	03.08.2010 2010-0601-93
Mezun Olduğu Fakülte	GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İhtisas Yaptığı Ana Bilim Dalı/ Bilim Dalı	İÇ HASTALIKLARI A.B
İhtisas Süresi	4 YIL
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	GAZİ ÜNV.TIP FAKÜLTESİ

UZMANLIK TEZİNİN ADI:Ratlarda nebivolol ve karvedilolun renal iskemi reperfüzyon hasarını önleyici etkisinin, idrar ngal ve kim-1 düzeyleri ve doku düzeyi oksidatif stres belirteçleri kullanılarak karşılaştırılması.

JÜRİ KARARI: İç Hastalıkları Ana Bilim Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Turgay ARINSOY



ÜYE
Prof. Dr. Ülver DERİCİ



ÜYE
Prof. Dr. Bülent ALTUN



TEŞEKKÜR

Tez konusunun bulunmasından son noktanın konulmasına kadar bana her yönden destek olan değerli hocam Prof. Dr. Turgay Arınsoy’a;

Uzmanlık eğitimim sürecinde bilgi ve birikiminden faydalandığım başta İç Hastalıkları ABD Başkanı Prof. Dr. Musa BALİ olmak üzere tüm değerli hocalarıma;

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan aileme ve beni her zaman destekleyen sevgili eşime ve tüm dostlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz 2015

Dr. Murat KÜÇÜK

KISALTMALAR

ABH	Akut Böbrek Hasarı
ABY	Akut Böbrek Yetmezliği
ABY	Akut Böbrek Yetmezliği
AT 2	Anjiotensin 2
ATN	Akut Tübüler Nekroz
Cr	Kreatinin
CrCl	Kreatinin Klirensi
GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S Transferaz
HE	Hematoksilen- eozin
HOCL	Hipoklorik Asit
KBH	Kronik Böbrek Hastalığı
KIM-1	Böbrek Hasar Molekülü
KIM-1	Böbrek Hasar Molekülü-1
MDA	Malonildialdehid
MPO	Miyeloperoksidaz
Na	Sodyum
NAD	Nikoatinamit Adenin Dinükleotid
NGAL	Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin
NGAL	Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin
NO	Nitrik Oksit

O⁻²	Süperoksit
OH⁻	Hidroksil
ONOO⁻	Peroksinitrit
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
SF	Serum Fizyolojik
SOD	Süperoksit Dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikali

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay

Teşekkür

Kısaltmalar

İçindekiler

Tablolar

Şekiller

Resimler

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. İskemik Akut Böbrek Yetmezliği	4
2.1.2. İskemik Böbrek Hasarının Patofizyolojisi	5
2.2.1. İskemi reperfüzyon Hasarı	9
2.2.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Hücrel Etkileri	11
2.2.3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Doğal Savunma Mekanizmaları	14
2.3. Nebivolol ve Antioksidan Özellikleri	16
2.4. Karvedilol ve Antioksidan Özellikleri	18
2.5.1. ABH İçin Kullanılan Yeni Belirteçler	20
2.5.2. Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL)	20
2.5.3. Böbrek Hasar Molekülü-1 (KIM-1)	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Hayvanlar	25
3.2. Çalışma Planı	25
3.3. Biyokimyasal İncelemeler ve Renal Fonksiyon Değerlendirmesi	28
3.4. Böbreğin Histopatolojik İncelemesi	30
3.5. İstatistiksel Analiz	31
4. BULGULAR	32
4.1. Böbrek Fonksiyon Testleri	32
4.3. Histopatolojik Bulgular	44

5. TARTIŞMA	51
6. KAYNAKLAR	62
8. ÖZET	73
9. ABSTRACT	75
10. ÖZGEÇMİŞ	77

TABLÖLAR

Tablo 1. Bir biyokimyasal belirteç olarak NGAL'ın potansiyel kullanım alanları	22
Tablo 2. Plasma NGAL artışına sebep olan ekstrarenal nedenler	22
Tablo 3. Grupların 1. ve 6. günlerdeki, kan ve idrar değerleri	34
Tablo 4. Doku düzeyi oksidatif stres belirteçlerinin gruplar arası karşılaştırılması	41
Tablo 5. Grupların kortikal ve medüller konjesyon, tübüler nekroz,dilatasyon ve intertisyel inflamasyon şiddeti ve yaygınlığı	45

ŞEKİLLER

Şekil 1. İskemik doku hasarında lökositlerin rolü	7
Şekil 2. İskemide membran hasarı	8
Şekil 3. İskemi-reperfüzyon hasarında serbest radikal üretimi	11
Şekil 4. Karvedilolün kimyasal yapısı	19
Şekil 5. Çalışma planı	28
Şekil 6. Bazal ve 6.gün serum Cr düzeyleri bakımından grupların karşılaştırılması	35
Şekil 7. Bazal ve 6. gün serum Cr düzeyleri arası mutlak değişim (Δ Serum Cr) açısından grupların karşılaştırılması	35
Şekil 8. Bazal ve 6.gün GFR (ml/dk/100gr VA) düzeyleri bakımından grupların karşılaştırılması	36
Şekil 9. Bazal ve 5. gün serum GFR (ml/dl/100gr VA) düzeyleri arası mutlak değişim (Δ Cr Klirensi) açısından grupların karşılaştırılması	36
Şekil 10. Bazal ve 6.gün serum BUN düzeyleri bakımından grupların karşılaştırılması	37
Şekil 11. Bazal ve 6. gün serum BUN düzeyleri arası mutlak değişim (Δ BUN) açısından grupların karşılaştırılması	37
Şekil 12. Bazal ve 6.gün 24 saatlik idrar NGAL düzeyleri bakımından grupların karşılaştırılması	38
Şekil 13. Bazal ve 6. gün 24 saatlik idrar NGAL düzeyleri arası mutlak değişim (Δ NGAL) açısından grupların karşılaştırılması	38
Şekil 14. Bazal ve 6.gün 24 saatlik idrar KIM-1 düzeyleri bakımından grupların karşılaştırılması	39
Şekil 15. Bazal ve 6. gün 24 saatlik idrar KIM-1 düzeyleri arası mutlak değişim (Δ KIM-1) açısından grupların karşılaştırılması	39
Şekil 16. Doku düzeyi SOD (Süperoksit dismutaz) enzim düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması	41
Şekil 17. Doku düzeyi katalaz enzim düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması	42

Şekil 18. Doku düzeyi GST (Glutasyon-s-transferaz) enzim düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması	42
Şekil 19. Doku düzeyi MDA (Malondialdehit) düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması	43
Şekil 20. Doku düzeyi NOS (Nitrik oksit sentaz) enzim düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması	43

RESİMLER

Resim 1a. Sham(S) kontrol grubu normale yakın görünümde kortikal parankim hematoksilen eozin X 200	46
Resim 1b. Sham(S) kontrol grubu Gözardı edilebilir düzeyde (skor 0) medüller konjesyon(HE x200)	47
Resim 2a. RN+I/R grubu Tubül epitelinde şişme ve multifokal odakta, >1 tubül kesitini etkileyen tubüler nekroz(Skor 2) (ok), peritubüler ve glomerüler kapiller konjesyon, ,hematoksilen eozin X 200	47
Resim 2b. RN+I/R grubu geniş tubüler nekroz alanları(HE x200)	48
Resim 2c. RN+I/R grubu,şiddetli derecede medüller konjesyon (Skor 3) (HE x200)	48
Resim 3a. RN+K+I/R grubu normale yakın kortikal parankimde, tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri şeklinde izlenen izole tubüler nekroz odağı (ok), hematoksilen eozin X 200	49
Resim 3b. RN+K+I/R grubu,hafif derecede medüller konjesyon (skor 1) (HE x200)	49
Resim 4a. RN+N+I/R grubu, orta derecede medüller konjesyon (skor 2), hematoksilen eozin X 200	50
Resim 4b. RN+N+I/R grubu,kortikal parankimde bir grup tubülde, konflüen tubüler nekroz (HE x200)	50

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi, doku perfüzyonunun bozulması sonucunda, oksijen (O₂) ve diğer maddelerin dokulara yeterli düzeyde ulaşamaması durumu olarak adlandırılır. İskemi sonrasında oluşan hipoksi ile birlikte, hücrede enerji düzeyi düşer. Bu durum, toksik metabolitlerin dokuda birikmesine yol açarak, geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre hasarına neden olur (1,2).

İskemi sonrası doku kanlanmasının tekrar başlamasına reperfüzyon denilmektedir. İskemi sonrasında dokuya yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri (SOR) dokudaki hasarı daha da çok artırır. Bu olay ise reperfüzyona bağlı doku hasarı olarak tanımlanır (3).

Sistemik hipotansiyon, hipovolemik şok, kardiyak arrest, renovasküler cerrahi, parsiyel nefrektomi, renal transplantasyon, sepsis gibi durumlar sonrasında, böbreklerde akut iskemi-reperfüzyon hasarı oluşabilmektedir (4-6). Bu hasar, geri dönüşümlü ve doku hasarı bırakmaksızın olan prerenal azotemiden, tübüler ve kortikal nekroz sonucu oluşan ciddi akut böbrek yetmezliğine kadar farklı klinik tablolara neden olabilmektedir (4,7).

Böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR); proteinler, serbest aminoasitler, nükleik asitler, lipidler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu makromolekülleri gibi, böbrek yapısındaki tüm biyomoleküllerle reaksiyona girer ve bunlar üzerinde geriye dönüşlü/dönüşsüz etkiler oluşturabilir. [8,9] Hücrelerde serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidan yıkıma karşı antioksidanlar olarak isimlendirilen birçok koruyucu mekanizma bulunmaktadır (10).

Hipoksi ve iskemiye bağlı böbrek hasarının etiyopatogenezine ve nlenmesine yönelik çalışmalar devam etmektedir. İşkemik-reperfüzyon hasarının patogenezinde serbest oksijen radikalleri ve antioksidan enzimlerin rolünün belirlenmesinden sonra, bu hasarı önlemek için antioksidan tedavi denemeleri gündeme gelmiştir (11-14).

Karvedilol, [1-[carbazolyl-(4)-oxy]-3-[(2-methoxyphenoxyethyl)amino]-2-propanol], selektif olmayan, üçüncü kuşak beta-adrenerjik reseptör blokörü bir antihipertansiftir (15,16). Antihipertansif etkisine ek olarak aktive nötrofillerden süperoksit anyon salınımını ve lipit peroksidasyonunu inhibe ederek antioksidan etkinlik göstermektedir (17).

Nebivolol 1-(6-fluorochroman-2-yl)-2-[[2-(6-fluorochroman-2-yl)-2-hydroxy-ethyl] amino] ethanol, üçüncü jenerasyon, yüksek sensitiviteli ̢1 adrenerjik reseptör blokörüdür (18). Antihipertansif etkisine ek olarak, antioksidan aktivitesi, endotel disfonksiyonu önleyici etkisi ve renal fibrozisi azaltıcı etkisi de olduğu gösterilmiştir (19,20).

Günümüzde renal hasarı tespit etmede kan, idrar ve doku düzeyinde bakılabilen, serum kreatinin artışlarından daha erken yükselen ve daha güvenilir olduğu öne sürülen moleküller vardır. ABH tanısında erken belirteç olarak son zamanlarda ön plana çıkanlar arasında idrar ve plazmada bulunan nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL) ve böbrek hasar molekülü-1 (KIM-1) bulunmaktadır (21–24).

NGAL 25 kDa'luk küçük bir proteindir ve başlıca nötrofiller olmak üzere renal glomerül ve tübül hücreleri, prostat, respiratuar ve gastrointestinal

dokulardan salgılanmaktadır. Kardiyoplumoner bypass, kardiyak kateterizasyon ve anjiyografi, böbrek transplantasyonu, sistemik lupus eritamatozis ve kronik böbrek hastalığı (KBH) zemininde gelişen ABH’da erken bir biyokimyasal belirteç olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Serum, idrar ve doku düzeyinde tespit edilebilen bir moleküldür (25).

KIM-1 ise böbrek tübüler hücrelerinde normalde bulunmayan ama iskemi ve nefrotoksik ajanlara maruziyet sonrasında ortaya çıkan, idrarda ve doku düzeyinde tespit edilebilen bir moleküldür. Çeşitli çalışmalarda; renal hücreli karsinomda, polikistik böbrek hastalarında ve renal dokununun iskemisi sonrasında idrarda KIM-1 tespit edilmiştir. KIM-1 düzeyinin yüksekliği renal hasarın derecesiyle doğru orantılıdır (25).

Çalışmamızda, ratlarda renal iskemik reperfüzyon hasarı oluşturarak, karvedilol ve nebivololün renal iskemi reperfüzyon hasarını önleyici etkilerini görmeyi amaçladık. Bu olası etkileri de, idrar NGAL ve KIM-1 düzeyleri ve doku düzeyi oksidatif stres belirteçlerini kullanarak ve renal histolojileri inceleyerek karşılaştırmalı olarak ortaya koymayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İskemik Akut Böbrek Yetmezliği

İskemik ABY (Akut Böbrek Yetmezliği), prerenal nedenlere ya da intrarenal mikrovasküler vazokonstriksiyon veya obstrüksiyondan dolayı ani olarak renal kan akımının azalmasına bağlı ortaya çıkar (41,46,50). Kan akımının azalmasına bağlı oluşan medüller hipoksi, hücresel enerji depolarının azalmasına, endotel ve düz kas hücrelerindeki aktin hücre iskeletinin bozulmasına neden olur. Bunun sonucu ise hücresel deformite ve çevre dokularda hipoksinin artmasıdır (55).Prerenal azotemi ve iskemik ABY, renal hipoperfüzyonun aynı spektrumunda yer alan 2 klinik durum olmakla birlikte iskemik ABY’de prerenal azotemiden farklı olarak, hipoperfüzyona bağlı, böbrek hasarı mevcuttur (41,46).

İskemik ABY çoğunlukla major kardiyovasküler cerrahilerde, transplantasyonda, travma, sepsis ve volüm kaybı ile giden durumlarda görülür (4,5,41). Renal hasar öncelikle tübülüslerde oluşur ve renal perfüzyon sağlandıktan 1-2 hafta sonra iyileşir, fakat tam restorasyonu 4 haftayı bulabilir (41,50). En ağır haliyle iskemi sonucu bilateral renal kortikal nekroz ve geri dönüşümlü olmayan böbrek yetmezliği gelişir (4,41). İskemik ABY klinik olarak 3 fazda seyreder (41):

1) Başlangıç Fazı: Saatler ve günler içinde gelişir. Hipoperfüzyon ile birlikte GFR(Glomerül Filtrasyon Hızı); intrarenal vazokonstriksiyon, azalmış glomerüler permeabilite, hücresel artıkların tübüler obstrüksiyonu ve glomerüler filtratın hasarlı tübül epitelinin geri sızması sonucu azalmaya başlar.

2) Gelişim fazı: Epitel hücre hasarının oturduğu fazdır. 1-2 hafta sürer. GFR 5-10 ml/dk'da sabitlenir, idrar çıkışı azdır ve üremik komplikasyonlar ortaya çıkar.

3) İyileşme fazı: Tübülüs hücrelerinin rejenere olduğu ve GFR'in gittikçe düzeldiği fazdır. Bu dönemde izlenen poliüri, durumu komplike hale getirebilir.

2.1.2. İskemik Böbrek Hasarının Patofizyolojisi

Akut böbrek yetmezliğinin (ABY) çoğunlukla nedeni akut tübüler nekrozdur. (ATN).ABY hastanede yatan hastaların %2-5',inde görülmekteyken bu oran yoğun bakımlarda %20-30 civarındadır. Akut tübüler nekrozun en sık nedeni ise renal iskemi ve hipoperfüzyondur.

İskemide başlıca olay enerji kaynağı olan ATP'nin azalmasıdır. ATP eksikliği, hücre membran fonksiyonlarında ve hücre içi ATPaz aktivisinde bozulmaya yol açar. (26,27).Sodyum(Na)-Potasyum(K)-ATPaz aktivitesindeki azalma hücre içinde Na^+ ve K^+ konsantrasyonlarında değişime yol açar ve bu olay hücre şişmesine neden olur. ATP azalması sonucu plazma membran Na^+Ca^{+2} -ATPaz ve intrasellüler Ca^{+2} -ATPaz disfonksiyonu da, Ca^{+2} 'un intrasellüler miktarının yükselmesineneden olur (26, 27). İntrasellüler Ca^{+2} artışı hücre hasarı ile birlikte hücre iskeletinin bozulmasına, Ca^{+2} bağımlı fosfolipazların aktivasyonuna, ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümünün hızlanmasına ve oksidatif fosforilasyonun çözülmesine yol açar.

Hücre içi artan Ca^{+2} kalmmodulin bağımlı proteaz enzimini aktive ederek ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümünü sağlar ki; bu da

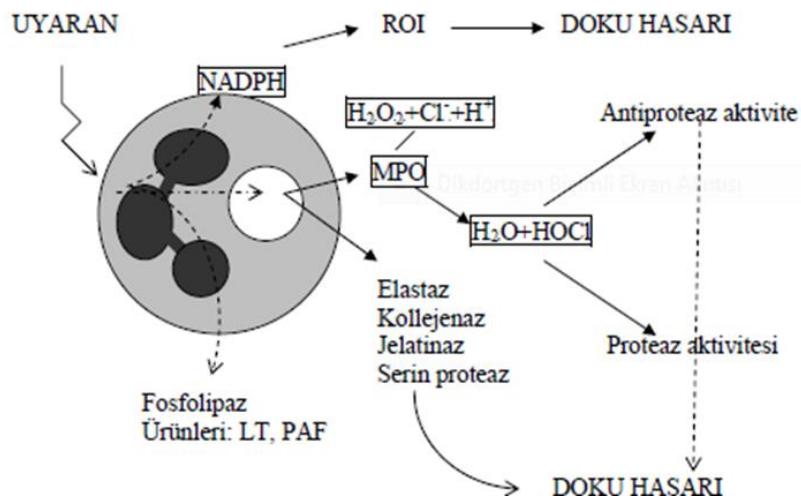
hipoksantinin ksantine dönüşümünü sağlar ve bu olay süperoksid radikallerinin ana kaynağıdır (42). Oluşan ksantin oksidaz ortamda biriken hipoksantini ürik aside dönüştürürken nikoatinamid adenin dinükleotid (NAD) yerine reperfüzyonla dokulara ulaşan oksijeni kullanırlar. Sonuçta ürik asitle birlikte O^{-2} (süperoksit) radikalini oluştururlar (47,48). Bu olay OH^- (hidroksil) iyonunun metabolizasyonu sonucu hücre hasarına neden olur. Hücre membranındaki fosfolipidlerle oksijen radikali lipid hidroperoksitlerini oluşturmak için reaksiyona girerler. Lipid peroksidasyonu membran geçirgenliğini bozarak akışkanlığın şiddetini etkiler. OH^- ve O^{-2} radikali lipid peroksidasyonuna neden olan başlıca radikallerdir. Serbest radikal doymamış yağ asidinin bir metilenkarbonuna bağlı bir hidrojen atomunu yerinden çıkartır ve lipid radikali oluşur. Tiobarbiturik asit lipid peroksidasyonunun gösteren en önemli ajanlardan olup dokularda ölçümü lipid peroksidasyonun ölçüm parametrelerindendir (49).

İskemik ATN sonrası tübül hasarı en çok proksimal tübüllerde olmakla beraber, henle kulpu medüller çıkan kolu ve dital tübülde de hasar gösterilmiştir (42). Proksimal tübülün S3 kısmı iskemiden en çok etkilenen bölgedir. Bunun nedeni bu kısımda aktif solüt geçişinin fazla olması ve normalde böbreğin diğer bölümlerine göre daha az kanlanmasıdır (41,50,51). İskemi sırasında proksimal tübüler hücreler, hücreler arası sıkı bağlantıların (junctional complex) ve hücre iskelet yapısının bozulması ile birbirinden ayrılarak lümen içine dökülür ve silendir birikimler oluşturarak tübüler tıkanmaya ve glomerüler filtratın geriye kaçmasına neden olur (51). Aynı zaman da hücre poleritesindeki kayıp ve fırçalı hücre yapısının kaybolmasıyla bazolateral $Na^+-K^+-ATPaz$ ve integrinlerin

dağılımı değişir. Sonuç olarak su ve elektrolitlerin tübülüs hücresi boyunca transportu ve emilimi bozulur ve GFR 'de azalma meydana gelir (50,51).

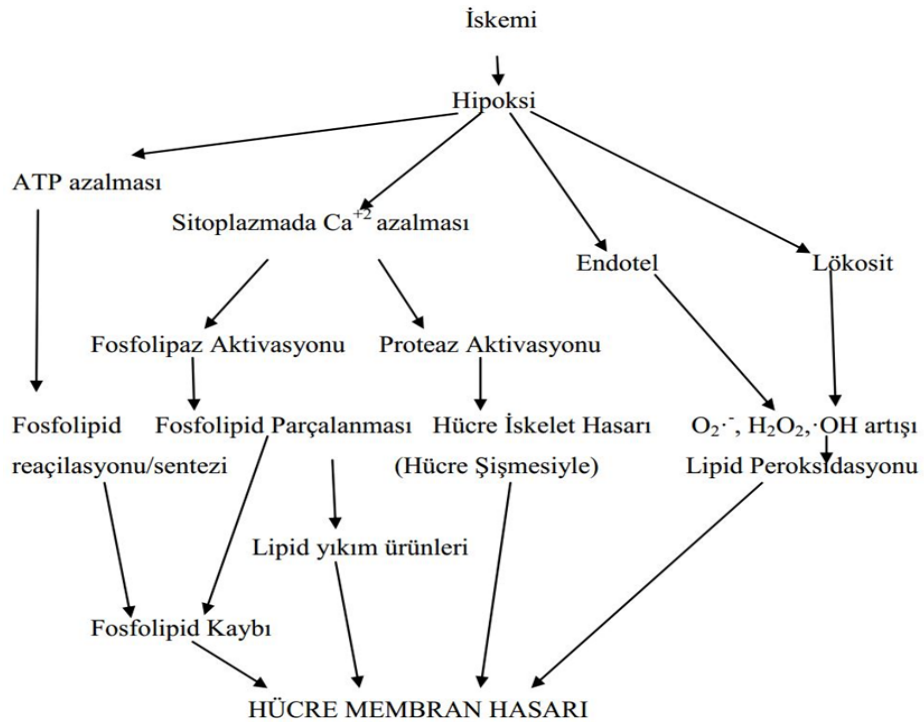
İskemik ATN'da renal kan akımı en az %50 oranında azalır. Vasokonstriksiyon ve lökosit, trombosit ve eritrositlerin meduller vasküler yapılarda konjesyonu bu azalmanın başlıca nedenidir. İskemik hasarda endotel hasarı endotel kaynaklı nitrik oksit üretimini azaltarak ve endotelin üretimini arttırarak intrarenal vasokonstriksiyona neden olur (50). Ayrıca aktin yapılı hücre iskeletinin bozulmasıyla renal kan akımının otoregülasyonu bozulur. Yine anjiotensin 2 (AT2), tromboksan A2, prostaglandin H2, lökotrienler, endotelin-1 ve sempatik sinir sistemi aktivasyonu vazokonstriksiyon ve kan akımı bozulmasından sorumludur (50,51).

Renal iskemide endotel hasarı ile endotel-lökosit adezyonu ve kapillerdeki lökosit ve eritrosit tutulumu artar ve lökosit infiltrasyonu daha çok peritübüler bölgede görülür. Aktive lökositler SOR, eikozonid ve proteaz sentezleyerek renal hasarı arttırırlar (şekil 1) (53).



Şekil 1. İskemik doku hasarında lökositlerin rolü

İskemi-reperfüzyon sırasında salınan inflamatuvar medyatörlerin etkisiyle, endotel-lökosit adezyonunu sağlayan ve hem nötrofil hem de endotel hücrelerde üretilen moleküllerinde artış olur. Adezyon molekülleri integrinler, selektinler ve immun globulin ailesidir (54). Lökositler üzerindeki bu adezyon moleküllerine ve bunların endotelial ligandlarına karşı oluşturulan antikorların, iskemik renal hasarı azalttığına dair veriler bulunmaktadır. Sadece nötrofillerde bulunan miyeloperoksidaz enzimi hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek Cl^- oksidasyonunu katalize edip sitotoksik bir ajan olan hipoklorik asite (HOCL) dönüştürür (52). Dokulardaki MPO aktivitesi ve hasarı nötrofil sayısı ile doğru orantılıdır. Ayrıca nötrofillerde bulunan indirgenmiş nikoatinamit adenin dinükleotid fosfata (NADPH) bağımlı oksidaz sistemide süperoksit radikali oluşumunda önemli derecede etkili bir enzimdir (28).



Şekil 2. İskemide membran hasarı (83)

2.2.1. İskemi reperfüzyon Hasarı

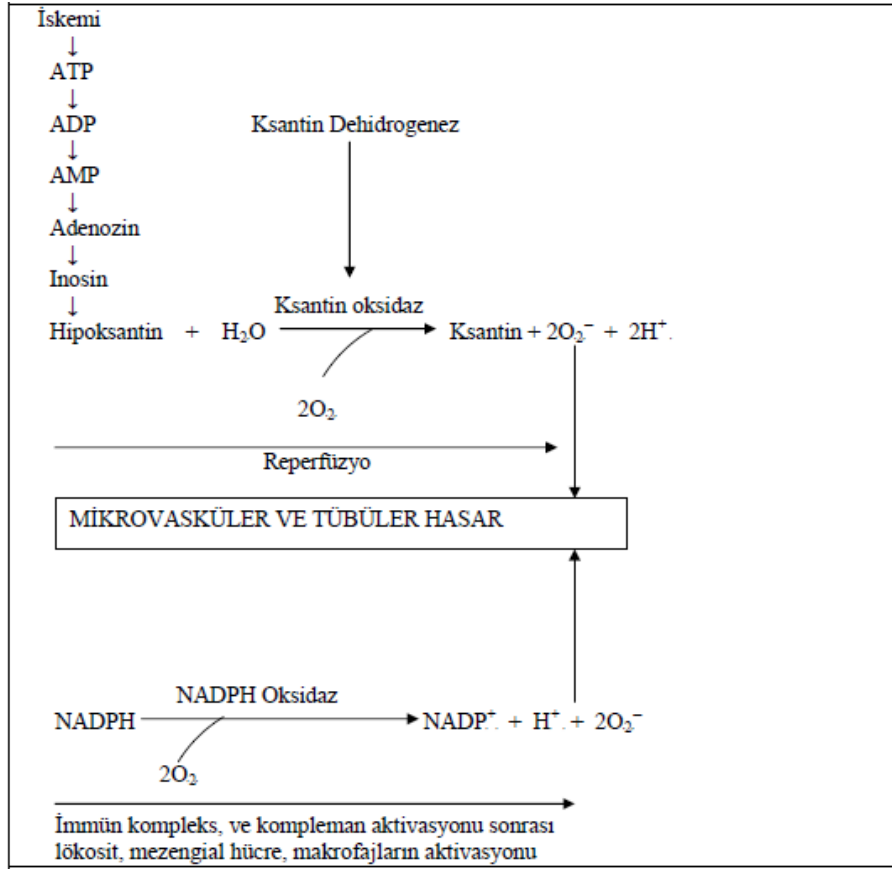
İskemi oluşmuş dokuda, kan akımının tekrar sağlanmasına reperfüzyon denir. Reperfüzyon, iskemik dokunun iyileşmesi için şart olsa da, bu olay ek bir hasara neden olur ve reperfüzyon hasarı gelişebilir. İskemi, dokunun yeterli hücresel fonksiyonunu devam ettirmesi için gerekli olan ATP eksikliğine neden olur. Dokuda geri dönüşümsüz hasarın ortaya çıkması için gerekli iskemi süresine tolerans zamanı denir. Eğer iskemi süresi tolerans zamanını aşarsa, hücre ölümü ve doku nekrozu gelişir. Geri dönüşümsüz hasar oluşmadan önce doku tekrar kanlandırılır reperfüze edilirse doku hasarı gerileyebilir. Ancak reperfüzyon sırasında iskemik dokuda oluşan SOR ile ek hasara maruz kalır (29).

İskemik dokuda oluşan serbest oksijen radikallerinin ana kaynağının ksantin oksidaz olduğu kabul edilmektedir (29). Reperfüzyonda reoksijenizasyonun sağlanmasıyla, iskemi sırasında oluşan ksantin oksidaz enzimi, biriken hipoksantini ksantine dönüştürürken çok sayıda serbest oksijen radikalinde ortaya çıkmasına neden olur (30). Oksijen öncelikle süperoksite (O_2^-), ardından da hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikaline (OH^-) dönüşür. Nötrofillerde bulunan membran bağımlı NADPH oksidaz enzimi ise, iskemi sırasında hücre içerisine kalsiyum akışıyla birlikte aktive olur. Aktive olan enzim NADPH'yi $NADP^+$ 'ye çevirirken reperfüzyonda sağlanan moleküler oksijeni de, süperokside (O_2^-) indirger (31).

Serbest oksijen radikallerinin reperfüzyonda ani ve çok sayıda açığa çıkması direkt endoteliyal hasara neden olduğu gibi postiskemik dokularda nötrofil infiltrasyonuna neden olarak oksidatif hasarı daha da artırır(43). Nötrofillerin

postiskemik dokulara toplanmasıyla birlikte yüzeylerindeki adezyon molekülleride (CD11/CD18) aktive olur ve vasküler endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan karşı reseptörlerle (ICAM-I) reaksiyona girerler. Oluşan CD18/ICAM-I kompleksi, nötrofillerdeki oksidanların kas hücrelerine geçişini sağlarken, endotel hasarıyla mikrovasküler bariyeride bozarak iskemi sonrasında kaslarda kapiller düzeyde akımın olmamasına (no-reflow fenomeni) neden olur (32). Dolayısıyla turnike açılıp akım tekrar sağlansa bile hücre düzeyinde beslenme bozulur.

İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına, post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Reperfüzyonun başlangıç döneminde, mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive edilmiş endotel hücrelerinden fazla miktarda O_2^- oluşurken NO^+ oluşumu ise azalır. Süperoksit radikali ile NO^+ arasındaki dengenin bozulması, endotel hücrelerinden PAF, TNF-a gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adhezyonuna aracılık eden adhezyon moleküllerinin biyosentezinin artmasına neden olur (5).



Şekil 3. İskemi-reperfüzyon hasarında serbest radikal üretimi

2.2.2. Serbest Oksijen Radikalları ve Hücresel Etkileri

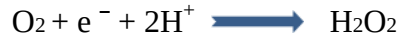
Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Bu tip moleküller ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalıdır. (31)

a) *Süperoksit radikali:* Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu serbest süperoksit radikal anyonu (O₂⁻) meydana gelir.



Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (30,31).

b) *Hidrojen peroksit*: Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen molekülü ile birleşerek hidrojen peroksiti (H_2O_2) meydana getirir (33,34).



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (33)



c) *Hidroksil radikali*: Bu radikal (OH), hidrojen peroksidin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelir (34). Son derece reaktif bir oksijen radikali. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştığı yerde büyük hasara neden olur. Tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına neden olur (33). Doğal enzimler ve glutatyon yetersiz düzeyde ise hidrojen peroksit ve süperoksit ayrı ayrı ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe^{+3} veya Cu^{+2} ile reaksiyona girerek sonunda en güçlü radikal olan hidroksil molekülünün oluşacağı bir dizi reaksiyon oluştururlar (40).





d) *Singlet Oksijen*: Singlet oksijen ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmamasına rağmen çok reaktif olması, üretimi sırasında bazı radikal tepkimeleri oluşturması nedeniyle serbest radikal olarak sayılır. Bu radikalın DNA hasarı oluşturduğu ve mutajenik etkilerinin bulunduğu gösterilmiştir (35).

e) *Nitrojen Oksidler*: Nitrik oksit, serbest radikal olan basit bir gazdır. Memelilerde bulunan en küçük otokoid ve haberci moleküldür. Çok küçük bir molekül olması ve lipofilik olma özelliği, hücre membranlarından kolaylıkla geçmesine izin vermektedir (35). NO, protein fonksiyonlarını değiştirir ve hücre hasarına ya da hücrenin korunmasına aracılık eder

Serbest radikaller başta lipidler olmak üzere, hücrenin protein, DNA, karbonhidrat ve enzimleri gibi tüm bileşenlerine etki edebilirler (34). Hücre membranındaki doymamış yağ asitleri ve kolesterol bileşenleri serbest radikallerle kolayca tepkimeye girerek lipid peroksidasyonuna neden olurlar ve bu membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malonildialdehid (MDA) meydana gelir. MDA ölçümü lipid peroksit seviyeleri için kullanılmaktadır (33).

Protein ve nükleik asitler serbest radikallere poliansatüre yağ asitlerinden daha az duyarlıdır. Yapısal ve enzimatik proteinler serbest radikallere bağlı denatüre olurken, nükleik asitlerde direkt hasar oluşur. Nükleik asit hasarı sonucunda DNA'da baz hidroksilasyonu, çapraz bağlanmalar veya kopmalar oluşur. Sonuçta çeşitli mutasyonlar ya da hücre ölümü meydana gelir (36,39).

Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (53).

2.2.3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Doğal Savunma Mekanizmaları

Normal fizyolojik koşullarda da üretimi olan serbest oksijen radikallerinden korunmak için antioksidan korunma sistemleri vardır. SOR üretiminde artma ya da antioksidan mekanizmalardaki azalma bunlar arasındaki dengeyi bozarak oksidatif hasara neden olur. Antioksidan koruyucu sistemleri iki gruba ayırabiliriz:

1)Endojen antioksidan korunma sistemleri:

a)Enzim olan endojen antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx),glutatyon-s-transferaz(GST),katalaz, mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, hidroperoksidaz (44).

b)Enzim olmayan endojen antioksidanlar; melatonin, seruloplazmin, transferin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, ürat, laktoferrin, albümin (44).

Bu gruplardan serbest oksijen radikallerine karşı temel savunma antioksidan enzim sistemleridir. Bunlardan SOD (süperoksit dismutaz), O_2^- 'ni moleküler oksijeni ve H_2O_2 'ye dönüştürürken, katalaz ve glutatyon peroksidaz da H_2O_2 yi suya dönüştürmektedir. (36.39)

SOD, hücre içinde mitokondride, sitoplazmada, nükleusta,lizozom ve peroksizomda bulunur. Mitokondrial enzimin aktif bölgesinde manganez varken sitoplazma ve diğer yerlerde bakır ya da çinko bulunur (36).

Katalaz ve glutatyon peroksidaz, ikincil bir ara toksik ürün oluşturmada, H_2O_2 'yi direkt suya çevirir. H_2O_2 'nin yüksek konsantrasyonlarında katalaz devreye girerken düşük konsantrasyonlarda glutatyon peroksidaz bu işlemi gerçekleştirir (36,39).

Glutatyon (γ glutamil sisteinil glisin) glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptiddir. Glutatyon genelde GSH olarak kısaltılır; SH sisteinin sülfidril grubuna işaret eder ve molekülün alısveris yapan kısmıdır. Glutatyon reaksiyonunu katalizleyen enzimlere “*glutatyon Stransferazlar*” kısaca “*GST*” denir. Ksenobiyotik metabolizmasında glutatyonun rolü; faz I enzimlerince oluşturulan reaktif türlerin glutatyon ile konjugasyona girmesi ve sonuçta hücre makro-molekülleri (DNA, RNA, protein) ile bağlanmasını engelleyerek hücre hasarını önlemesi şeklinde gerçekleşmektedir.

2)Eksojen antioksidan korunma sistemleri:

a) *Vitamin eksojen antioksidanlar:* a-tokoferol (vitamin E), β -karoten, askorbik asit (vitamin C), folik asit (folat).

b) *İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar;*

Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar), Rekombinant süperoksit dismutaz, Trolox-C (vitamin E analogu), Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein),Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), Demir redoks döngüsü inhibitörleri

(desferroksamin), Nötrofil adezyon inhibitörleri, TNF ve IL-1 inhibitörleri, Barbitüratlar, Demir şelatörleri

Eksojen antioksidan ajanlar serbest radikal hasarını, oksijen kaynaklı serbest radikal üretiminin engellenmesi, oluşan radikallerin tutulması, endojen antioksidan koruma mekanizmalarının arttırılması aracılığı ile önlerler. (36)

2.3. Nebivolol ve Antioksidan Özellikleri

Nebivolol Nitrik oksit (NO) aracılı vazodilatatör etkilerle donatılmış seçici bir β_1 reseptör blokörüdür. (18). Antihipertansif etkisine ek olarak, antioksidan aktivitesi, endotel disfonksiyonu önleyici etkisi ve renal fibrozisi azaltıcı etkisi de gösterilmiştir (19,20).

Böbrekte NO çok önemli fonksiyonlara sahiptir. NOS her üç izoformunun da böbrekte NO sentezine katıldıkları gösterilmiştir. Bunlardan; eNOS izoformu; renal arteriyoler endotelde, nNOS izoformu; makula densada ve iNOS izofomu ise afferent arteriyollerin preglomeruler kısmından salınmaktadır (63). NO böbrekte tübülo-glomerüler feedback yanıtında glomerüler ve tübüler hemodinamiğin bir düzenleyicisidir. Proksimal tübül de sıvı ve bikarbonat geri emilimini destekler bu işlevini Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin Na^+/H^+ değiştiricisinin etkisini inhibe ederek sağlar. Toplayıcı kanalda NO, Na^+ ve sıvı geri emilimini azaltırken medullada henlenin kalın çıkan kolu segmentinde NO, Cl^- ve HCO_3^- geri emilimini inhibe eder. Ayrıca NO, toplayıcı kanalın interkaleted hücrelerinde H^+ -ATPaz aktivitesini inhibe eder (57). Sonuç olarak

böbrekteki net etkisi natriürez,diürezin ve renal glomerüler perfüzyonun arttırmasıdır.

Nebivolol endotelial inositol trifosfat metabolizmasının aktivasyonuyladır intraselüler kalsiyumu harekete geçirir ve sonuçta endotelial nitrik oksit sentaz aktivasyonuna yol açar. Nebivolol hücre içinde serbest kalsiyum konsantrasyonunu arttıran fosfolipaz C aktivitesini artırır. Konstitütif endotelial NO sentaz aktivitesi kalsiyum/kalmodulin bağımlı olduğundan intraselüler serbest kalsiyum konsantrasyonunda artış bu enzimi aktive eder ve NO salınımında artış ile sonuçlanarak vasorelaksasyona neden olur. (59). Ayrıca nebivololün oral yolla antihipertansif dozda kullanımının önemli ölçüde $PGF2\alpha$ 'nın üriner yolla atılımını önemli ölçüde azaltarak antioksidan etki gösterdiğini bildirilmiştir (58).

İskemi reperfüzyon hasarı sonrası artan SOR ile NO tepkimeye girerek peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşturur ki buda fonksiyonel NO eksikliğine neden olur. (37).NO eksikliği renal sempatik aktiviteyi arttırarak böbreklerde aktivitesi en fazla olan $\beta 1$ reseptörü üzerinden etkisini gösterir ve sonuç olarak renin sekresyonunu uyarır (38). Nebivolol, $\beta 1$ reseptör blokörü etkisiyle renin salınımı azaltırken, NO salınımıyla $AT2$ ye karşı oluşan vasküler cevabı azaltarak böbrek ve glomerüler perfüzyonu arttırır ve endotel disfonksiyonunu önler (38). Ayrıca bazı kanıtlar nebivololün reaktif oksijen türleri (ROS) kaynağı enzimler direk ile etkilesime girerek oksidatif stresi azaltabileceğini göstermiştir (20,59). Bununla birlikte doymamış yağ asidinden zengin yağ keselerinde proton vericisi ve elektron stabilleyicisi olarak serbest oksijen radikali temizleyicisi olduğu

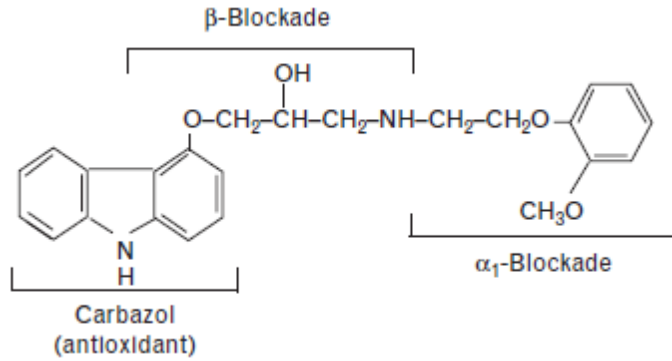
gösterilmiştir (66). Bu nedenle nebivololün endotel disfonksiyonunu önlemede çok yararlı etkileri olduğu bildirilmiştir (65).

İskemi sonrası oluşan reperfüzyonla birlikte çeşitli inflamatuvar uyarıcılar devreye girer. Bunun sonucunda iskemik dokuda nötrofil infiltrasyonu ve kaspas aktivasyonu ile apoptoz ortaya çıkar. Yapılan çalışmalarda NO 'ın antiinflamatuvar etkisini, kaspaz-3 aktivasyonunu inhibe ederek gösterdiğini ortaya koymuştur (56,64).

2.4. Karvedilol ve Antioksidan Özellikleri

Karvedilol, selektif olmayan β blokör etkisine ek olarak α blokör özelliği olan, yarışmalı olarak α_1 , β_1 ve β_2 adrenerjik reseptör blokajı yapan lipofilik üçüncü jenerasyon bir β blokördür ve konjestif kalp yetmezliği, miyokard enfarktüsü ve hipertansiyon hastalıklarında kullanılan bir ilaçtır (60,61). Adrenerjik sistem blokajı etkisine ek olarak direk antioksidan özellikleri de bulunmaktadır ve bu özellikleri nedeniyle de hücre içi oksidatif stres yaratan patolojilerde kullanılmaktadır (60).

Karvedilol ve, SB 211475 ve SB 209995 gibi metabolitleri güçlü antioksidanlardır. Bu etkileri ilacın moleküllerindeki trisiklik karbozol kısmından gelmektedir (62).



Şekil 4. Karvedilolün kimyasal yapısı (67)

Karvedilolün antioksidan mekanizmalarından bahsedilcek olursa, yapılan çalışmalarda oksijen radikalleriyle ilişkili hücre membranı lipid peroksidasyonunu kimyasal, enzimatik ve hücre içi sistemlerle engellediği gösterilmiştir (73). Ayrıca oksijen radikaline maruz kalan LDL partiküllerinin modifikasyonunu engelleyerek endotel hücrelerini korumaktadır. Bunlara ek olarak yüksek lipofilik çözünürlüğü nedeniyle, hücre lipid membranlarına kolaylıkla geçebilmekte ve bu etkilerini direk yağ asidi peroksidasyonunun olduğu bu olanda göstermekte ve endojen antioksidanlardan glutatyon(GSH) ve vitamin E miktarlarını arttırarak etki etmektedir (76).

Yapılan iskemik-reperfüzyon hasarı çalışmalarında iskemik bölgeye nötrofil göçünü ve aktive nötrofillerden salınan myeloperoksidaz ve NADPH oksidaz aktivitesini azaltarak iskemik doku hasarını azalttığı gösterilmiştir. (68,74)Ek olarak granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktörü(GM-CSF) ile uyarılan ve inflamasyon tetikleyici olarak görev yapan IL-10 ve NFκB reseptör modifikasyonu da T hücre aktivasyonlarını azalttığı gösterilmiştir (61,62).

2.5.1. ABH İçin Kullanılan Yeni Belirteçler

ABH'da erken tanı ve tedavi mortalite ve morbidite açısından çok önemlidir. Bu amaçla birçok idrar ve plazma proteini araştırılmaktadır. Sistatin C, NGAL, KIM-1, ve IL-18 serum Cr'e göre ABH tanısında daha etkin rol oynayabilir. Ancak bu belirteçlerin ABH prognozu ve renal replasman tedavisi ihtiyaını belirlemekteki başarısı net değildir. şu anda klinikte rutin kullanılmaları net değildir (21).

Serum Cr düzeyinin böbrek parankim hasarını gstermekteki yetersizliği ve hastanın yaşına, kas kitlesine, cinsiyetine ve hasar öncesi hidrasyon durumuna göre değişiklik göstermesi, ABH tanısında yeni belirteçler araştırılmasını beraberinde getirmiştir (69).

Ayrı ayrı değerlendirildiğinde ABH'da her belirtein güçlü ve zayıf yönleri vardır. Biyokimyasal ölçütlerin bereber değerlendirilmesi, hasarın ve prognozun değerlendirilmesinde daha yararlı olabilir. NGAL ise kombine kullanımlarda ilk tercihler arasında yer almaktadır (75).

2.5.2. Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL)

NGAL lipokalin ailesinden bir proteindir. Lipokalinler fii şeklinde tersiyer yapıya sahiptir (72). NGAL ilk olarak nötrofillerde tespit edilmiştir fakat daha sonra ise böbrek, karaciğer ve epitelyum hücrelerinde, ayrıca infeksiyon, intoksikasyon, iskemi, akut böbrek hasarı ve neoplastik transformasyon gibi patolojik durumlarda da saptanmıştır (72). Plazmada serbest veya tip IV

kollejenaz ile kompleks halinde bulunabilir. Düşük molekül ağırlığı ve aşınmaya dirençli yapısı ile idrara kolayca geçerek tespit edilebilir (70).

Serum Cr'nin, böbrek hasarının göstermede hemodinamik adaptasyonlara bağlı GFH'de azalmanın geçikmesinden etkilenmesi ve böbrek hasarındaki spesifikitenin düşük olması nedeniyle ABH erken tanısında yetersiz kalmaktadır. Bu yüzden ABH tanısında hücresel hasara daha spesifik, erken dönemlerde tespit edilebilen, prognostik önemi olan belirteçlere ihtiyaç vardır (79).

NGAL'in, iskemik hasar sonrası renal yenilenme ve tamirde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Eğer ABH öncesi veya erken evrelerinde dokuda mevcutsa koruyucu etkiye sahip olabilir. Yapılan bir çalışmada, farelerde iskemi-reperfüzyon hasarı modelinde tek doz 10 microgram NGAL infüzyonun böbrek üzerinde koruyucu ve azotemiye azaltıcı etkisi gösterilmiştir (77).

Astma, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) ve subklinik amfizemli hastalarda da bronşial sekresyonlarda NGAL düzeyi artmıştır (78). Bu etkilerinin yanında günümüzde NGAL'ın hastalıklarda erken bir belirteç olarak kullanılması ön plandadır. Aşağıdaki Tablo1'de NGAL'ın belirteç olarak kullanıldığı durumlar özetlenmiştir (72).

Tablo 1. Bir biyokimyasal belirteç olarak NGAL’ın potansiyel kullanım alanları (72)

1.	ABH tanısında erken belirteç
A:	Bilinen böbrek hasar zamanlaması
a.	Kardiak cerrahi sonrası
b.	Kontrastlı işlemler sonrası
B:	Bilimeyen böbrek hasar zamanlaması
a.	Yoğun bakımdaki hastalarda
b.	Çoklu travma sonrası
2.	ABH’de sonuç tahimini
3.	Hastalık aktivite ve şiddetini belirlemede
a.	Pediyatrik lupus nefriti
b.	IgA nefropati
c.	İdiopatik glomerulonefrit
4.	Polikistik böbrek hastalığında kist volüm progresyonunu belirleme
5.	Belirteç olarak
a.	Beyin tümörü tanısı ve terapötik yanıtta
b.	İnflamatuvar barsak hastalığında
c.	Meme tümörlerinde

NGAL’in birçok hüreden sentezlenebilmesi ve tablo2’de belirtildiği gibi bazı hastalıklarda plazma düzeylerinin artması ABH tanısında ve prognozunda yardımcı olabilmektedir. (81)

Tablo 2. Plazma NGAL artışına sebep olan ekstrarenal nedenler (81)

Enfeksiyona bağlı ağır sepsis hastalarında	Ağır pankreatit
KOAH atağı	Mide ve pankreas kanseri
Akut veya stabil koroner arter hastalığı	ST elevasyonlu miyokard enfarktüsü
Kronik myeloid lösemi (moleküler remisyon)	Polisitemia vera/Esansiyel trombositoz
Down sendromu	Glioma
İdiyopatik inflamatuvar bağırsak hastalığına bağlı pelvik inflamatuvar hastalık	
Endometrial hiperplazi	

NGAL glomerüllerden filtre edilir ve proksimal tübüllerden geri emilir. Patolojik olmayan durumlarda düşük seviyelerde böbreklerde tespit edilebilir. ABH sonrasında ise, henlenin çıkan kalın kolu, distal tübül ve toplayıcı tübülde sentezlenir. Nefron epitelinden hem apikal hem de bazolateral taraftan sekrete edildiği için kan ve idrarda seviyesi artar. Proksimal tübül hasarı sonrası tübül reabsorpsiyon fonksiyonu da etkilendiği için idrarda miktarı belirgin olarak artar. Bu karakteristik özellikler NGAL'ı ABH tanısında serum Cr'nine göre daha üstün veya en azından tamamlayıcı bir belirteç haline getirmektedir (77). Böbrek hasarı tespitinde, idrar NGAL düzeyinin, geleneksel yöntemlerden 2 gün öncesine kadar anlamlı olduğu gösterilmiştir. (72,81)

2.5.3. Böbrek Hasar Molekülü-1 (KIM-1)

KIM-1 tip 1 hücre membran glikoproteinidir. Akut veya kronik böbrek hasarına bağlı dilate olan tübülerin apikal membranında lokalizedir. Normal böbreklerde bulunmaz (69). Renal hasara bağlı serumda, idrarda ve doku düzeyinde tespit edilebilir. Deneysel hayvan ve insan çalışmalarında KIM-1'in doku düzeyi ile idrar düzeyi güçlü bir şekilde uyumlu olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden tübulointerstisyel patoloji ve hasar varlığında kullanılabilecek bir belirteçtir (71). KIM-1 düzeyleri, toksik ve iskemik renal hasar gibi ABH sebeplerinde, polikistik böbrek hastalığı ve KBH'da idrar ve dokuda yüksek tespit edilmiştir (80). Yapılan hayvan modeli çalışmalarda, böbrek tübüler histopatolojik değişikliklerle eş zamanlı olarak idrar KIM-1'in tanısallık güvenirliği mevcut belirteçler ile karşılaştırılmış ve birçok deneysel böbrek hasar modelinde

idrar KIM-1 düzeyi, anlamlı olarak serum Cr ve üreden üstün bulunmuştur (82). KIM-1, ABH'ye spesifik değildir, renal hücreli kanser ve orak hücre nefropatisinde de iyi bir belirteç olduğu gösterilmiştir (21).

KIM-1 ABH tanısı için kullanıldığı gibi takiplerdeki yüksekliği tübüler atrofi ve fibrozisin kötü gidişatı ve renal hastalıklarının prognozu ile de ilişkili bulunmuştur (90). Bir başka çalışmada ise glomerulonefritlerde prognostik önemi gösterilmiş ve renal transplant hastalarında proteinüriden bağımsız olarak renal graft kaybını öngörmede kullanılabileceği belirtilmiştir (71).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvanlar

Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde yetiştirilen 24 adet Wistar-albino erkek rat (6 haftalık, ort. 260 ± 13 gr) çalışmaya alındı. 24 saatlik idrar toplanması döneminde (0.gün ve 6.gün) ratlar metabolik kafeste tutuldu, bunun dışındaki süreçlerde polikarbonat kafeslerde barındırıldı. Oda ısısı 22-25 derece ve 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık siklusları içeren ortam sağlandı. Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alındı (No:G.Ü.ET-14.067).

3.2. Çalışma Planı

Literatürlerdeki benzer çalışmalar örnek alınarak iskemi-reperfüzyon modeli oluşturuldu. Ön çalışmada serum ve idrar belirteçlerinde yeterli değişiklik olduğu ve histopatolojik olarak böbrek incelendiğinde kabul edilebilir düzeyde tübüler ve medüller hasar geliştiği nefropatolog tarafından teyit edilince ön çalışma sonlandırıldı. Çalışma protokolü buna göre oluşturularak (Şekil 6) çalışmaya geçildi.

Her grupta 6'şar rat olmak üzere 4 grup oluşturuldu:

1.Grup: Sağ nefrektomi(RN) ve kontralateral böbreğe iskemi/reperfüzyon(I/R) yapılan grup n=6:

2.Grup: Sham(S) kontrol grubu n=6

3.Grup: RN+Karvedilol(K) tedavisi verilen+ I/R yapılan grup n=6:

Arlec 6.25 mg Ali Raif İlaç Sanayi İstanbul/Türkiye

4.Grup: RN+Nebivolol(N) tedavisi verilen+ I/R yapılan grup n=6:

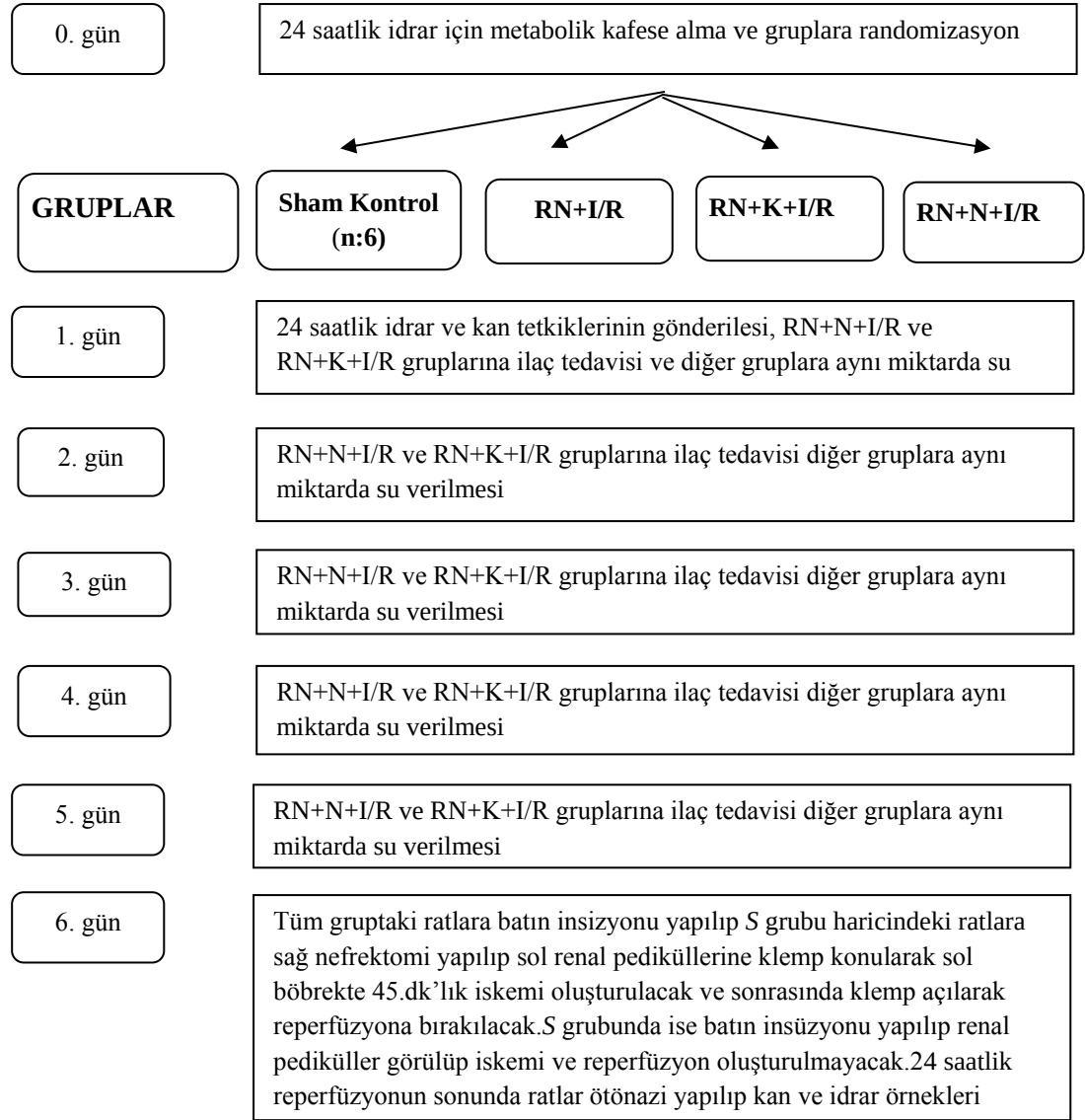
Vasoxen 5 mg Berlin-Chemie AG Berlin/Almanya

Ratlar standart gıda ile limitsiz olarak beslendi. Çalışmanın 0. günü bütün ratlar vücut ağırlıkları kaydedildikten sonra metabolik kafese alınarak 24 saatlik idrarları toplandı. Çalışmanın 1. günü bazal renal fonksiyonları belirlemek üzere ratların kuyruk veninden 0,5 ml kan ve 24 saatlik idrar örnekleri alındı.

Çalışmanın 1-5.günlerinde RN+N+I/R ve RN+K+I/R grubuna 2mg/kg/g dozunda nasogastrik yoldan nebivolol ve karvedilol verildi.Diğer gruplara da nasogastrik yolla eşit hacimde su verildi.

Çalışmanın 6.gününde Bütün denekler 40 mg/kg (i.m.) ketamin HCl (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) anestezisi ile uyutuldu. Deneklerin abdominal bölgeleri tıraş edilip %10 polivinilpirolidon iyot kompleksiyle (Batticon, Adeka) sterilize edildi. Abdominal bölgeye orta hat üzerinde yaklaşık 3 cm'lik cilt kesisi yapıldı. Karın içi görünür hale getirildikten sonra karın içi organlar kenarlara doğru çekildi. Böylece renovasküler yatak görünür hale getirildi. Kontrol sham(S) grubu dışındaki, İskemi-reperfüzyon grubu ve tedavi gruplarında, sağ nefrektomi yapıp, sol renal pediküllerine klemp konularak sol böbrekte 45.dk'lık iskemi oluşturuldu ve sonrasında klemp açıldı. Klemp uygulaması sonrası böbreklerde renk değişikliği gözlendi. S grubunda ise batın insüzyonu yapıp renal pediküller görülüp iskemi ve reperfüzyon oluşturulmadı. Reperfüzyon öncesi RN+N+I/R ve RN+K+I/R grubuna 2mg/kg/g dozunda oragastrik yoldan nebivolol ve karvedilol doz tekrarı yapıldı. İskemi işlemi tamamlandıktan sonra laparotomi insizyonu primer 3/0 ipek iplikle kapatılarak, tüm ratlar tekrar metabolik kafese alındı.24

saatlik reperfüzyonun sonunda idrar örnekleri toplandı. Tüm ratlar ketamin (Ketalar Flakon, 45 mg/kg, Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve xylazine (Rompun Flakon, 5mg/kg, Bayer, İstanbul, Türkiye) anestezisi altında, kalpten kan alımı suretiyle (en az 3 ml) sakrifiye edildi. Bunu takiben, orta hattan minimal insizyon ile sol nefrektomi uygulanadı. Sol böbreğin bir yarısı patoloji çalışmaları için %10'luk formalin solüsyonuna alındı. Diğer yarısı soğuk fizyolojik serumla yıkandıktan sonra alüminyum folyo ile paketleni ve laboratuvar çalışmaları yapılınca kadar -80  C'de koruma altına alındı.



Şekil 5. Çalışma planı

3.3. Biyokimyasal İncelemeler ve Renal Fonksiyon Değerlendirmesi

Sirkadiyen varyasyonları minimize etmek için; ilaç verilmesi ve kan örneklerinin alınması işlemleri 09.00-10.00 arasında gerçekleştirildi. 1. gün Cr ve Bun için kan, ve NGAL, KIM-1, ve CrCl ölçülmesi için 24 saatlik idrar örnekleri elde edildi. 6. gün de Cr ve Na için kan ve NGAL, KIM-1, Na, ve CrCl ölçülmesi için 24 saatlik idrar örnekleri elde edildi.

Serum ve idrar Cr ölçümü Jaffe yöntemi ile yapıldı. CrCl, UxV/Px1440 (U: idrar Cr mg/dl, V: idrar volümü ml/dk/100g, P: Serum Cr mg/dl) formülü kullanılarak hesaplandı ve ml/dk/100g şeklinde düzeltildi.

KIM-1 düzeyi 'pg/ml' olarak ifade edilirken, NGAL düzeyi ise 'ng/ml' olarak ifade edildi. Çalışmada kullanılan biyokimyasal belirteç ve kitlerin markaları ve katalog numaraları aşağıda verilmektedir.

- NGAL rat ELISA kiti Boster Immunoleader (EK0882)
- KIM-1 rat ELISA kiti Boster Immunoleader (EK0855)

Böbrek doku örneklerinde SOD aktivitesi Durak I ve arkadaşları tarafından modifiye edilen metoda göre çalışıldı (86). Metodun prensibi, Ksantin-Ksantin oksidaz sistemi tarafından üretilen süperoksit radikalleri için SOD/NBT yarışması esasına dayanmaktadır.

Böbrek doku örneklerinde katalaz aktivitesinin tayini Aebi H'nın metoduna göre yapıldı. (87) Metodun prensibi, 240 nm'de katalaz tarafından yıkılan hidrojen peroksitin absorbans değişiminin izlenmesi esasına dayanmaktadır.

Böbrek doku örneklerinde glutatyon S-transferaz aktivitesi tayini Habig WH ve arkadaşlarının tarif ettiği metoda göre çalışıldı (88).

Böbrek doku örneklerinde MDA(malondialdehit) düzey tayini Van Ye ve arkadaşlarının tarif ettiği metoda göre (89), NOS aktivitesi de Durak ve arkadaşlarının metoduna göre çalışılmıştır (91).

3.4. Böbreğin Histopatolojik İncelemesi

Rat böbrekleri, %10 'luk tamponlu formalin solüsyonu içerisinde 24 saat süre ile fiksasyona bırakıldı. Rutin doku takip işlemini takiben hazırlanan parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı ve hematoksilin-eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskopisinde, “interstisyel kapiller konjesyon, interstisyel inflamasyon, tübül dilatasyon, tübül epitelindeki sitoplazmik şişme, ve tübül nekroz” değerlendirilerek, akut böbrek zedelenmesi açısından incelendi. Kapiller konjesyon değerlendirilirken, medüller / kortikal / mikst medüller – kortikal olup olmadığı not edildi. Medüller konjesyon derecesi semikantitatif şekilde 0 ile 3 arasında skor verilerek şu şekilde derecelendirildi: Konjesyon yok yada gözardı edilebilir derecede (skor 0, X400 büyütmede fark edilen konjesyon), hafif derecede (skor 1, X200 büyütmede fark edilen konjesyon), orta derecede (skor 2, X100 büyütmede fark edilen konjesyon), şiddetli derecede (skor 3, x40 büyütmede fark edilen konjesyon). Tübül nekroz, tübül epitelindeki sitoplazmik şişme, tübül dilatasyon ve interstisyel inflamasyon, semikantitatif olarak etkilenen parankim alanı (patolojinin izlendiği parankim alanı/toplam alan) değerlendirilerek 0 ile 3 arasında şu şekilde skorlandı (0:yok, 1: hafif <%25, 2: orta %25-50, 3: şiddetli >%50) not edilerek değerlendirildi. İstatistiksel olarak gruplar arasında fark olup olmadığı araştırıldı. P değeri 0.05 den küçük ise, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve tabloların oluşturulması amacıyla SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 15 kullanılmıştır. Ölçümle elde edilen sürekli değişkenlerin (nicel değişkenler) sunumu için ortalama ve standart sapma değerleri, kategorik değişkenlerin (nitel değişkenler) sunumu için ise frekans ve yüzde değerler kullanılmıştır. Nicel bir değişken bakımından birden fazla grubun (S, RN+I/R, RN+K+I/R ve RN+N+I/R grupları) aralarında istatistiksel olarak fark olup olmadığının belirlenmesi amacıyla Kruskal Wallis H testi kullanıldı. Kruskal Wallis H testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı farkın hangi gruplar arasında olduğu ise, Multiple Comparison Test kullanılmıştır. (92) Her bir grubun kendi içerisinde önceki ve sonraki ölçümleri arasında fark olup olmadığı Wilcoxon Signed Rank Test ile yapıldı. Bütün istatistiksel analizlerde önemlilik seviyesi olarak $p<0.05$ değeri kabul edildi.

4. BULGULAR

Ratlarlar yaptığımız bu çalışmada bazal(1.gün), serum Cr, Bun, 24.saatlik idrar volümleri ile GFR ve NGAL ölçümleri, dört grup arasında benzer saptandı. Bazal KİM-1 düzeylerinde ise gruplar arasında farklılık vardı. Grupların bazal karakteristikleri itibariyle homojen dağıldığı görüldü. Çalışma sonu bazal ve 6.günkü değerler karşılaştırıldığında ise S (kontrol) grubu hariç diğer gruplarda farklılık saptandı. Çalışmada rat kaybı yaşanmadı. Bütün grupların 1.gün ve 6. gün,24.saatlik idrarda NGAL, KİM-1 ile, serum Cr ve Bun,GFR değerlerinin başlangıç ve deney sonundaki mutlak değişim değerleri Tablo 3 ve Şekil 6-15’de gösterilmiştir.

4.1. Böbrek Fonksiyon Testleri

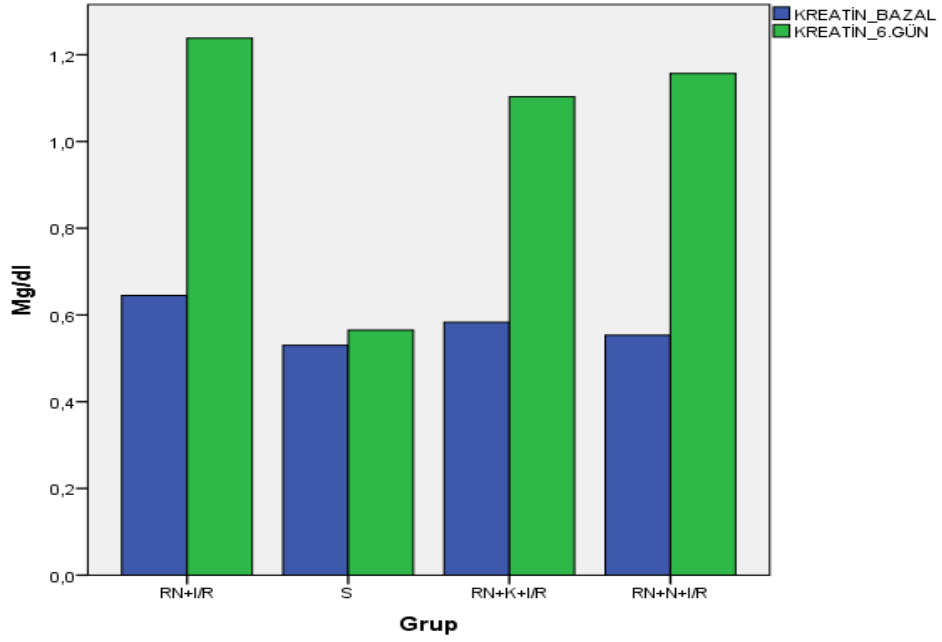
Gruplar karşılaştırıldığında S (Sham kontrol) grubuna göre serum Cr ve Bun düzeylerindeki artışın diğer üç grup için de benzer olduğu görüldü ve S grubu ile diğer gruplar arasında istatiksel olarak fark olduğu tespit edildi. İzole iskemi ve reperfüzyon hasarı yapılan RN+I/R grubundaki artan değişimlerin, karvedilol (RN+K+I/R) ve nebivolol (RN+N+I/R)verilen gruplara göre daha fazla olduğu görüldü ancak istatiksel olarak anlamlılık bulunmadı. İlaç verilen iki grup karşılaştırıldığında ise karvedilol verilen gruptaki artışların nebivolol verilen gruba göre daha az olduğu görüldü ancak istatiksel olarak anlamlı bulunmadı. İlk ve son günlük değerlere bakıldığında kontrol grubuna göre, diğer üç grupta da, CrCl’ de belirgin azalma tespit edildi ve istatiksel olarak anlamlı bulundu. Benzer şekilde RN+I/R grubunda CrCl’indeki azalmanın karvedilol(RN+K+I/R) ve

nebivolol (RN+N+I/R)verilen gruplara göre daha fazla olduğu görüldü, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. CrCl'i için, ilaç verilen iki grup karşılaştırıldığında ise karvedilol verilen grubundaki CrCl azalmasının nebivolol verilen gruba göre daha az olduğu görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. NGAL bazal değerleri açısından gruplar arası farklılık bulunmazken, bazal ve çalışma sonu değerlere bakıldığında S kontrol grubu haricinde diğer gruplar içinde anlamlı farklılık görüldü. S grubuna göre karşılaştırıldığında diğer tüm gruplarda NGAL düzeyinde belirgin artış olmasına rağmen, RN+I/R grubundaki, NGAL artışının karvedilol RN+K+I/R ve nebivolol RN+N+I/R verilen gruplara göre daha fazla olduğu görüldü, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. İlaç verilen iki grup karşılaştırıldığında ise karvedilol verilen grubundaki NGAL artışının nebivolol verilen gruba göre daha az olduğu görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. KIM-1 için bazal değerlere bakıldığında gruplar arası farklılık vardı. Bazal ve çalışma sonu değerlere bakıldığında KIM-1 düzeyindeki artışın, S kontrol grubu haricinde diğer gruplarda anlamlı farklılık görüldü. RN+I/R grubu ile ilaç verilen gruplar karşılaştırıldığında, karvedilol verilen RN+K+I/R grubunda artışın daha az olduğu görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Nebivolol verilen RN+N+I/R grubunda ise artışın izole iskemi yapılan RN+I/R grubuna göre daha az olduğu görüldü ancak istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

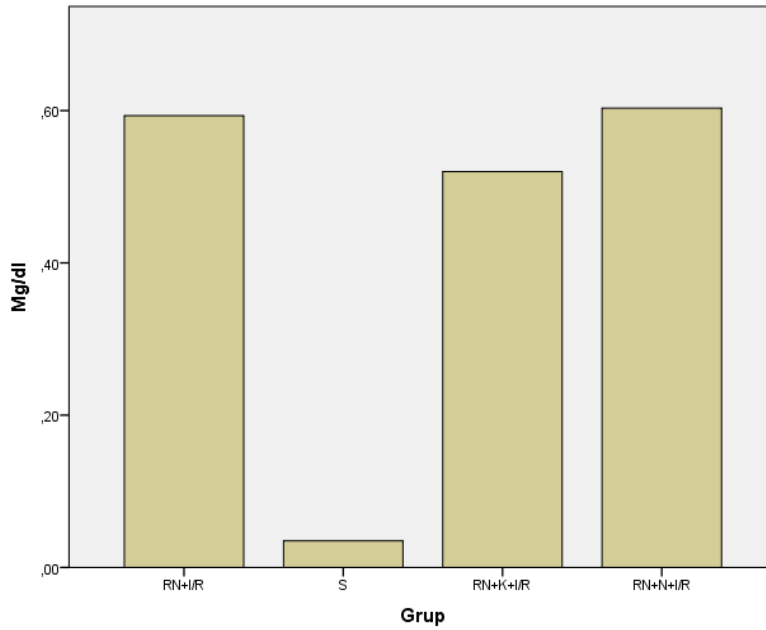
Tablo 3. Grupların 1. ve 6. günlerdeki, kan ve idrar değerleri

		RN+I/R	S	RN+K+I/R	RN+N+I/R
Serum Cr (mg/dl)	Bazal	0.64±0,15	0,53±0,07	0.58±0,10	0,55±0.09
	6.gün	1,2±2,3	0,56±0,12	1,10±1,41	1,15±1,51
	p	0,028	0,140	0.029	0,030
Cr Klirensi (ml/dk/100 gr VA)	Bazal	132,1 ±2,3	126±6,7	119,3±8,4	128±7,4
	6.gün	31,5±11	119,5±12,35	41,1±11,8	40,5±19,6
	p	0.028	0.116	0.028	0.028
Serum Bun (mg/dl)	Bazal	30,5±7,6	23,2±2,7	25,4±3,57	25,16±2,85
	6.gün	84,6±30,6	26,77±3,34	60,25±21,6	75,28±27,5
	p	0.026	0.075	0.027	0.027
İdrar NGAL (ng/ml)	Bazal	73,97 ±53,43	104,44±30,6	71,71±31,11	130,9±33,6
	6.gün	132,44±61,8	103,93±42,3	117,35±43,92	208,98±96,9
	p	0,022	0,345	0,028	0,028
İdrar KİM-1 (pg/ml)	Bazal	59,22±14,24	62,65±9,36	84,25±23,67	88,26±27,55
	6.gün	158,6±21,01	60,54±12,41	133,2±33,90	176,9±47,97
	p	0,025	0,60	0,028	0,028

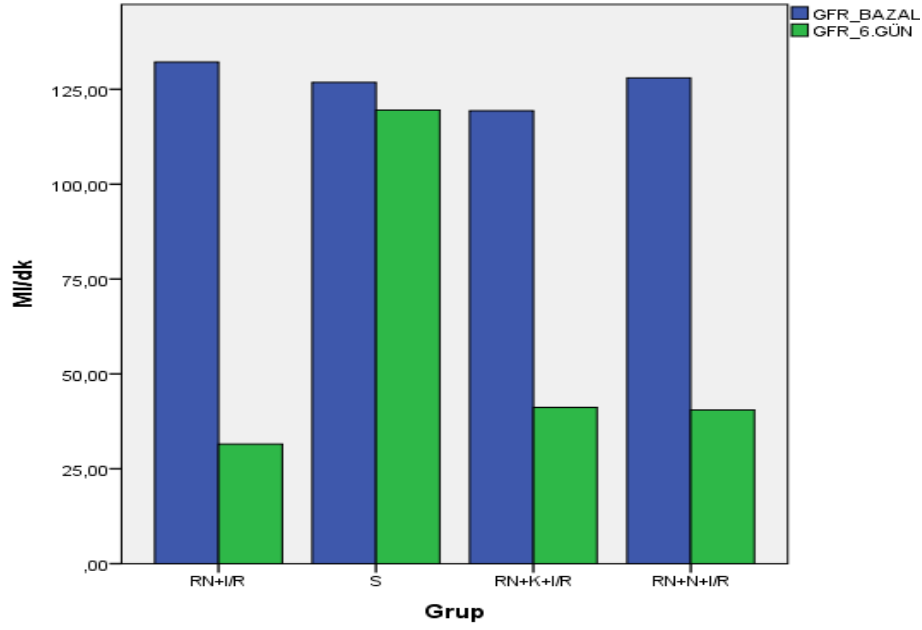
RN+I/R:Sağ nefrektomi ve iskemi/reperfüzyon grubu, **RN+K+I/R:**Sağ nefrektomi karvedilol ve iskemi reperfüzyon grubu,**RN+N+I/R:**Sağ nefrektomi nebivolol ve iskemi reperfüzyon grubu **S:**sham kontrol grubu.Gruplar kendi içinde (0. ve 6. günler arası değerler) Wilcoxon Signed Rank Test ile karşılaştırıldı.p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.Değerler ortalama ± standart sapma olarak verildi.



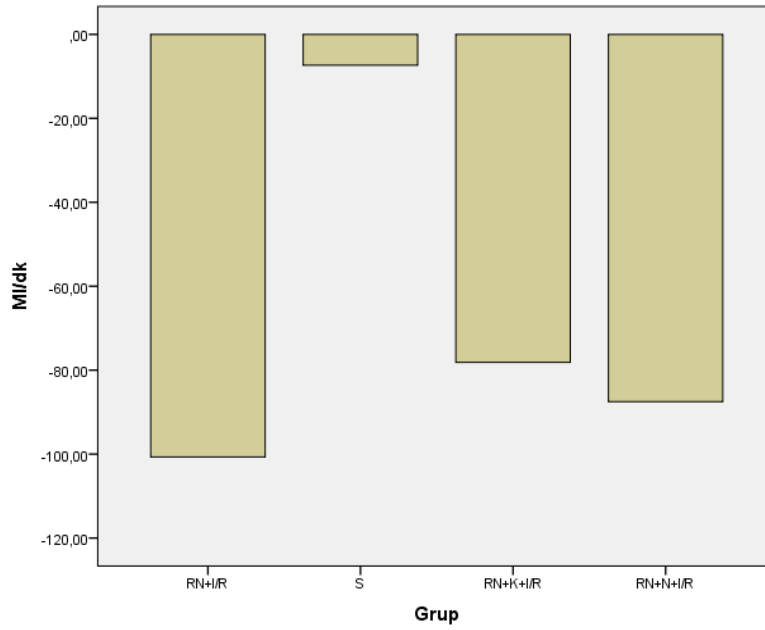
Şekil 6. Bazal ve 6.gün serum Cr düzeyleri bakımından grupların karşılaştırılması (S-Kontrol grubu haricinde diğer tüm gruplarda $p<0.05$)



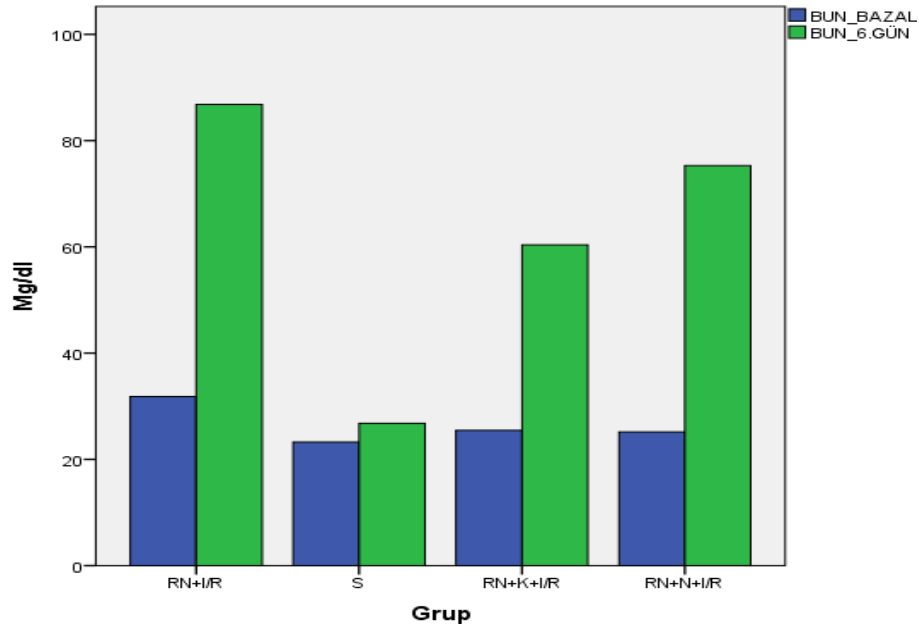
Şekil 7. Bazal ve 6. gün serum Cr düzeyleri arası mutlak değişim (Δ Serum Cr) açısından grupların karşılaştırılması (S-Kontrol grubu ile diğer grupların çalışma sonu mutlak fark değerlerinin karşılaştırılmasında $p<0.05$)



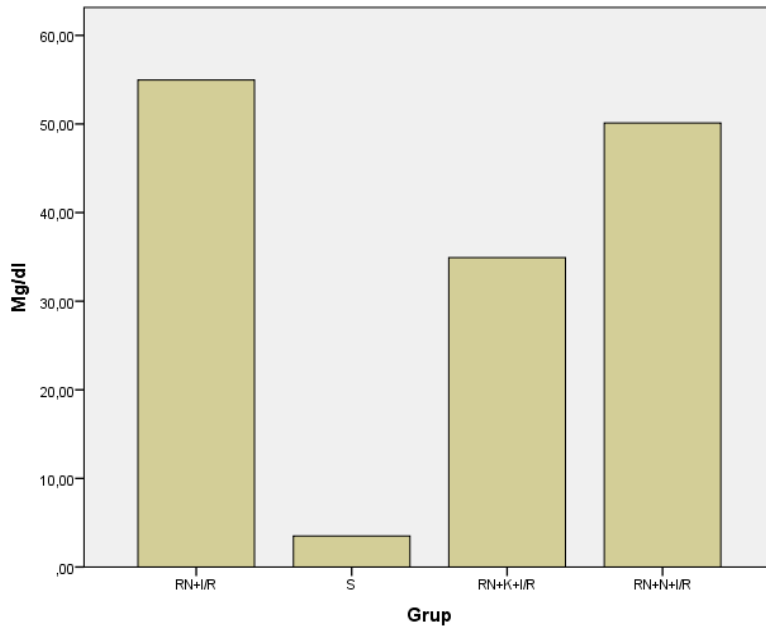
Şekil 8. Bazal ve 6.gün GFR (ml/dk/100gr VA) düzeyleri bakımından grupların karşılaştırılması (S-Kontrol grubu haricinde diğer tüm gruplarda $p<0.05$)



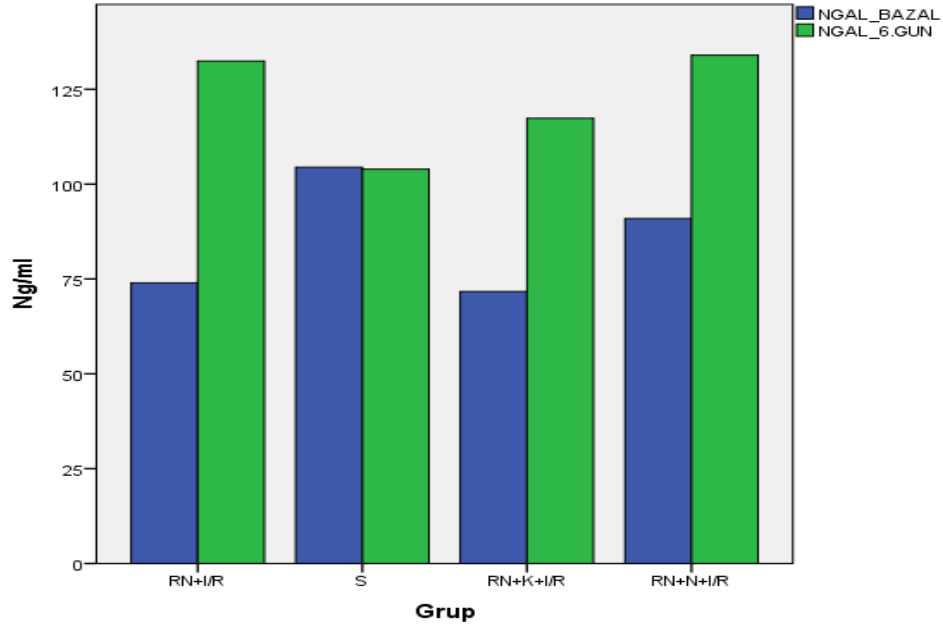
Şekil 9. Bazal ve 5. gün serum GFR (ml/dl/100gr VA) düzeyleri arası mutlak değişim (Δ Cr Klirensi) açısından grupların karşılaştırılması. (S-Kontrol grubu ile diğer grupların çalışma sonu mutlak fark değerlerinin karşılaştırılmasında $p<0.05$)



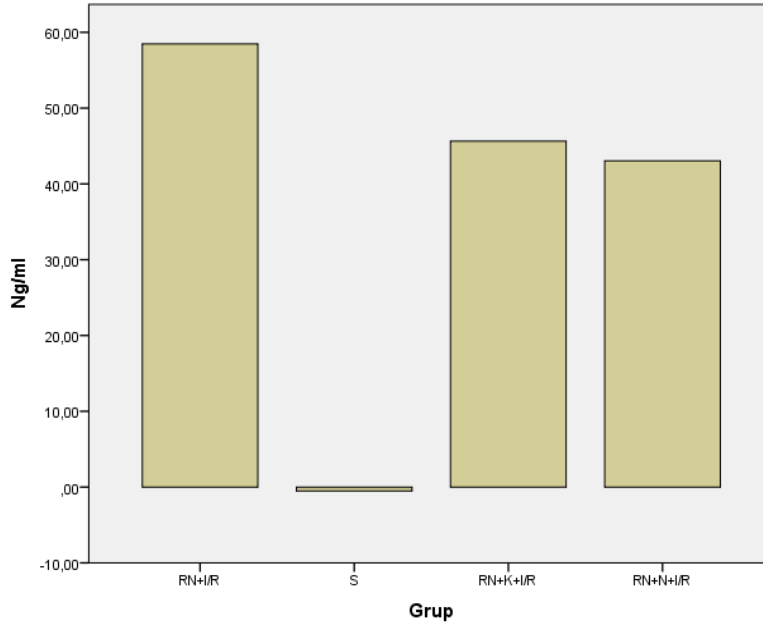
Şekil 10. Bazal ve 6.gün serum BUN düzeyleri bakımından grupların karşılaştırılması (S-Kontrol grubu haricinde diğer tüm gruplarda $p<0.05$)



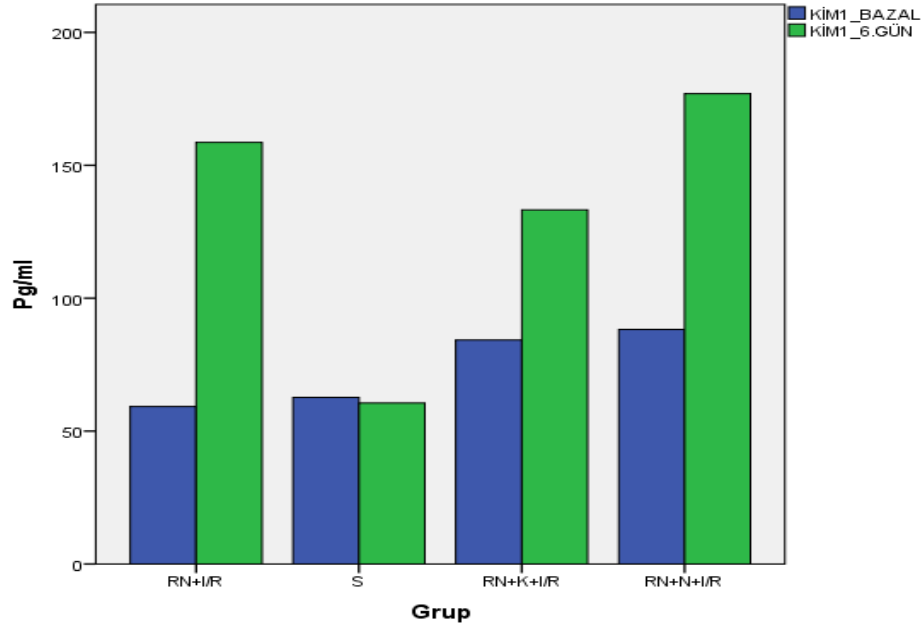
Şekil 11. Bazal ve 6. gün serum BUN düzeyleri arası mutlak değişim (Δ BUN) açısından grupların karşılaştırılması. (S-Kontrol grubu ile diğer grupların çalışma sonu mutlak fark değerlerinin karşılaştırılmasında $p<0.05$)



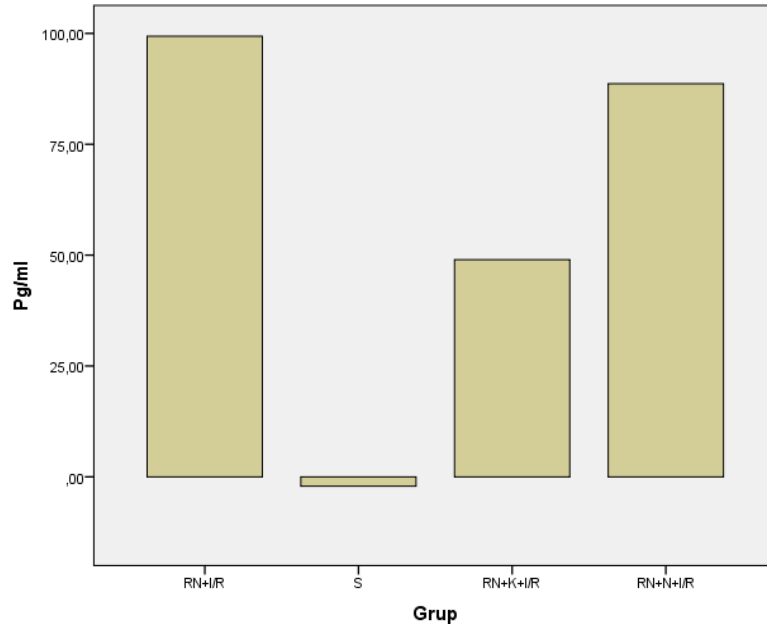
Şekil 12. Bazal ve 6.gün 24 saatlik idrar NGAL düzeyleri bakımından grupların karşılaştırılması (S-Kontrol grubu haricinde diğer tüm gruplarda $p<0.05$)



Şekil 13. Bazal ve 6. gün 24 saatlik idrar NGAL düzeyleri arası mutlak değişim (Δ NGAL) açısından grupların karşılaştırılması(S-Kontrol grubu ile diğer grupların çalışma sonu mutlak fark değerlerinin karşılaştırılmasında $p<0.05$)



Şekil 14. Bazal ve 6.gün 24 saatlik idrar KIM-1 düzeyleri bakımından grupların karşılaştırılması (S-Kontrol grubu haricinde diğer tüm gruplarda $p<0.05$)



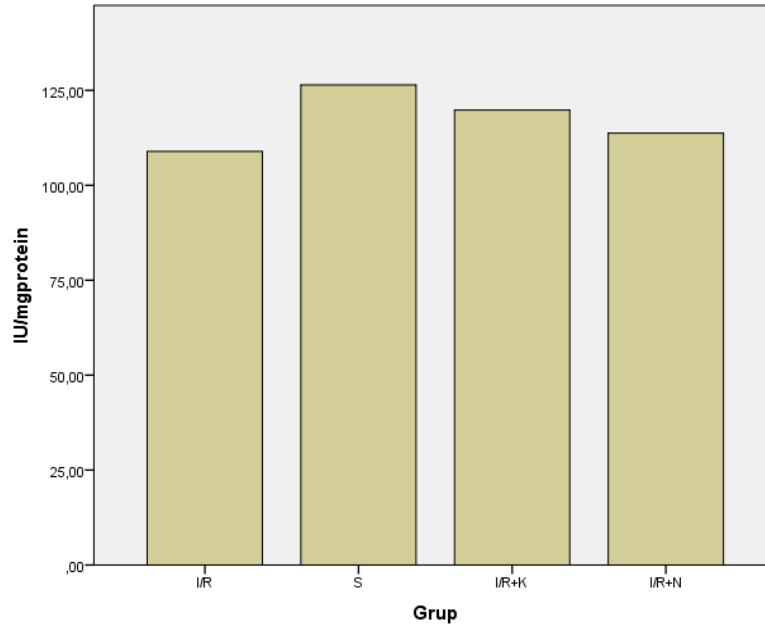
Şekil 15. Bazal ve 6. gün 24 saatlik idrar KIM-1 düzeyleri arası mutlak değişim (Δ KIM-1) açısından grupların karşılaştırılması (S-Kontrol grubu ile diğer grupların çalışma sonu mutlak fark değerlerinin karşılaştırılmasında $p<0.05$, RN+I/R ile RN+K+I/R grubu mutlak fark değerlerinin karşılaştırılmasında $p<0.05$)

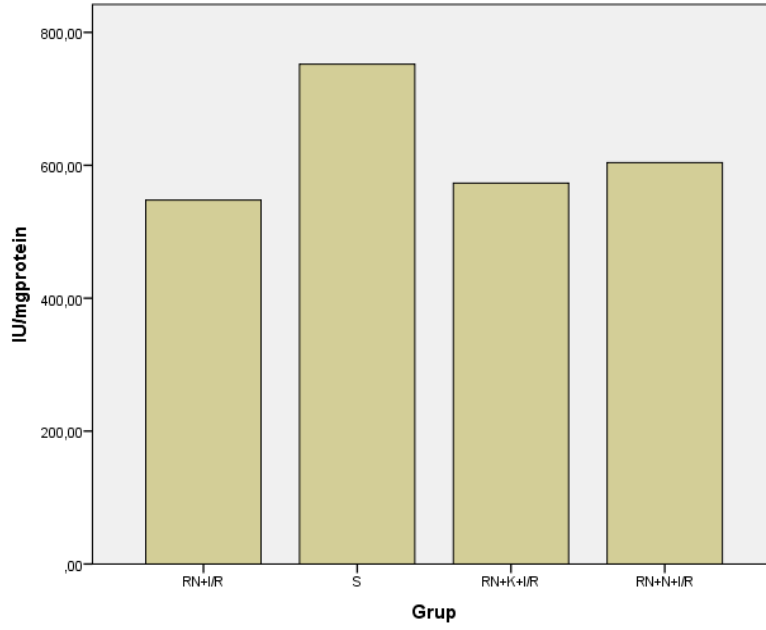
Doku düzeyi oksidatif stres belirteçlerinden SOD, NOS ve Katalaz belirteçlerinin istatistiksel olarak gruplar arası farklılıklarının olmadığı görülmekle beraber, izole iskemi reperfüzyon yapılan RN+I/R grubunda, SOD ve Katalazın kontrol S grubuna göre azaldığı, karvedilol ve nebivolol verilen RN+K+I/R ve RN+N+I/R gruplarında ise bu azalmaların nispeten daha az olduğu görüldü. İlaç verilen gruplar arasında ise değerler birbirine çok yakındı ve aralarında istatistiksel farklılık bulunamadı. Renal doku NOS düzeyine bakıldığında nebivolol verilen RN+N+I/R grubunda diğer gruplara göre artış saptanırken istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. GST enzimi izole iskemi yapılan RN+I/R grubunda kontrol S grubuna göre belirgin azalırken ilaç verilen RN+K+I/R ve RN+N+I/R gruplarında bu azalmanın daha az olduğu görüldü ve RN+I/R grubu ile karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bulundu. İlaç verilen gruplar arasında ise değerler birbirine çok yakındı ve aralarında istatistiksel farklılık bulunamadı. MDA belirteci için gruplar arası istatistiksel farklılık olmakla beraber, S kontrol grubuna göre en fazla artışın izole iskemi reperfüzyon yapılan RN+I/R grubunda olduğu görüldü. Karvedilol ve nebivolol verilen RN+K+I/R ve RN+N+I/R gruplarında ise bu artışın daha az olduğu görüldü ancak RN+I/R grubu ile karşılaştırıldıklarında anlamlı fark bulunmadı. İlaç verilen gruplar arasında ise değerler birbirine çok yakındı ve aralarında istatistiksel farklılık bulunamadı (Tabo 4, Şekil 16-20).

Tablo 4. Doku düzeyi oksidatif stres belirteçlerinin gruplar arası karşılaştırılması

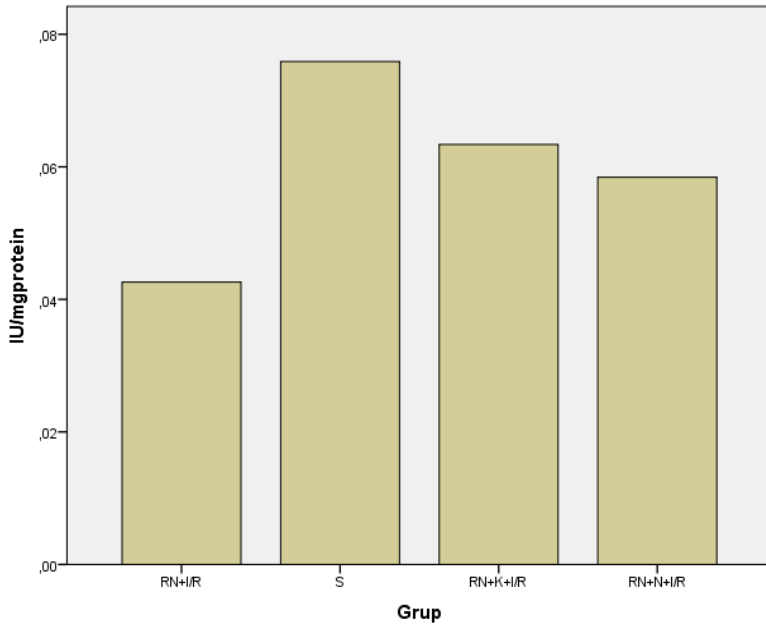
	RN+I/R	S	RN+K+I/R	RN+N+I/R	P
SOD (IU/mgprotein)	108,9±141,8	126,4±148,8	119,7±140,9	113,7±132,6	0,213
KATALAZ (IU/mgprotein)	547,7±228,4	752,08±118,04	573,1±85,2	604,07±122,6	0,126
GST (IU/mgprotein)	0,042±0,007 ^{a,b}	0,072±0,015	0,063±0,015 ^a	0,058±0,007 ^b	0,004
MDA (mikromol/grprotein)	0,62±0,78 ^a	0,049±0,034 ^{a,b,c}	0,24±0,11 ^b	0,23±0,086 ^c	0,02
NOS (IU/grprotein)	1,46±4,57	-1,70±6,53	1,51±9,81	4,91±4,61	0,416

RN+I/R:Sağ nefrektomi ve iskemi/reperfüzyon grubu, **RN+K+I/R:**Sağ nefrektomi karvedilol ve iskemi reperfüzyon grubu,**RN+N+I/R:**Sağ nefrektomi nebivolol ve iskemi reperfüzyon grubu **S:**sham kontrol grubu.Gruplar kendi içinde Wilcoxon Signed Rank Test ile karşılaştırıldı. $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Aynı harfle işaretlenen gruplar arasındaki fark anlamlıdır.

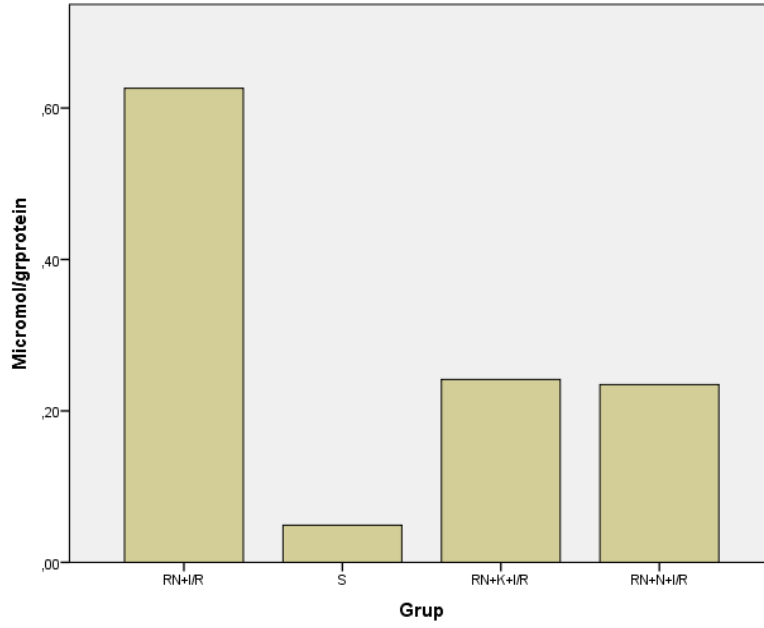
**Şekil 16.** Doku düzeyi SOD (Süperoksit dismutaz) enzim düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması.(p:0,213)



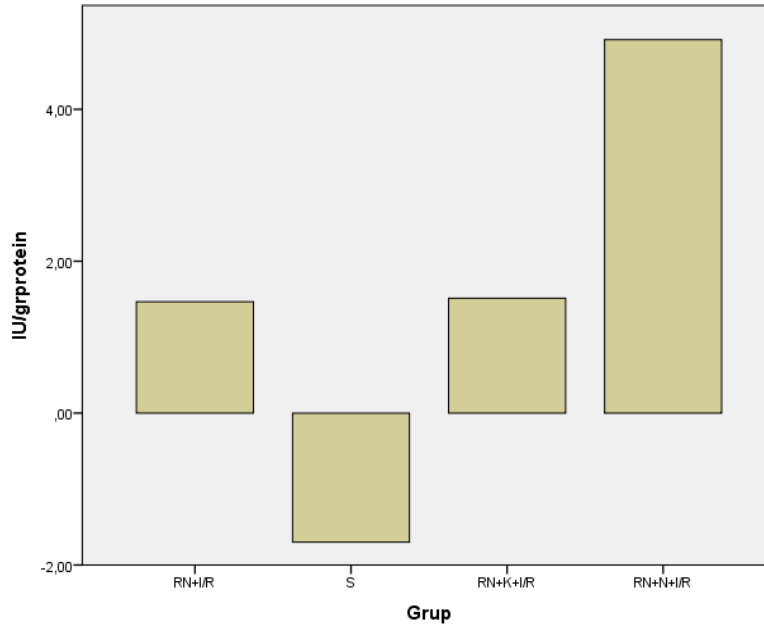
Şekil 17. Doku düzeyi katalaz enzim düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması.(p:0,126)



Şekil 18. Doku düzeyi GST (Glutathion-s-transferaz) enzim düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması. (RN+I/R ile S grubu arası p: 0,002, RN+K+I/R ile RN+I/R grubu arası p: 0,005 RN+N+I/R ile RN+I/R grubu arası p:0,009)



Şekil 19. Doku düzeyi MDA (Malondialdehit) düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması. (RN+I/R ile S grubu arası p :0,006 RN+K+I/R ile S grubu arası p :0,006 RN+N+I/R ile S grubu arası p:0,003)



Şekil 20. Doku düzeyi NOS (Nitrik oksit sentaz) enzim düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması (P:0,416)

4.3. Histopatolojik Bulgular

Grupların kortikal ve medüller konjesyon, tübüler nekroz, dilatasyon ve intertisyel inflamasyon şiddeti ve yaygınlığı tablo 5’te verilmiştir.

Kontrol grubuna ait tüm ratların böbrek dokusunun, Hematoksilen-eozin (HE) boyası ile ışık mikroskopik değerlendirilmesinde hafif derece medüller konjesyonları olduğu görüldü. Tübülüslerde ciddi dilatasyon, dejenerasyon, nekrotik değişiklik bulguların ve intertisyel inflamasyonun olmadığı görüldü.

RN+I/R grubuna ait ratlardan üç tanesinde ciddi, iki tanesinde orta ve bir tanesinde hafif, hem medüller hem de kortikal konjesyon olduğu görüldü. Tübüler dilatasyon ve inflamasyon bulguların olmadığı, ancak üç tanesinde orta bir tanesinde hafif tübüler nekroz saptandı.

RN+K+I/R grubundaki ratlardan bir tanesinde orta derecede medüller ve kortikal konjesyon saptanırken, dört tanesinde hafif medüller nekroz görüldü. Dört tanesinde hafif tübüler dilatasyon saptanırken, iki tanesinde de hafif tübüler nekroz saptandı ve üç ratta intertisyel inflamasyon saptandı.

RN+N+I/R grubundaki ratlardan üç tanesinde orta derecede kortikal ve medüller konjesyon üç tanesinde de hafif medüller konjesyon saptandı. Üç tanesinde hafif derecede tübüler dilatasyon saptanırken üç tanesinde orta derecede tübüler nekroz saptandı ve bir ratta intertisyel inflamasyon bulguları vardı.

HE ile boyanmış böbrek dokusu kesitlerinde kontrol sham (S) grubundaki normale yakın kortikal parankim ve göz ardı edilebilecek düzeyde (skor 0) medüller konjesyon resim 1a ve 1b’de, RN+I/R grubundaki tübüler nekroz (skor 2) ve medüller ve kortikal konjesyon alanları (skor 3) resim 2a ve 2b

ve 2c 'de, RN+K+I/R grubuna ait hafif derecede tübüler nekroz ve hafif derecede kortikal konjesyon alanları resim 3a ve 3b'de, RN+N+I/R grubuna ait orta derecede medüller konjesyon (skor 2) ve orta derecede tübüler nekroz alanları resim 4a ve 4b' de görülmektedir.

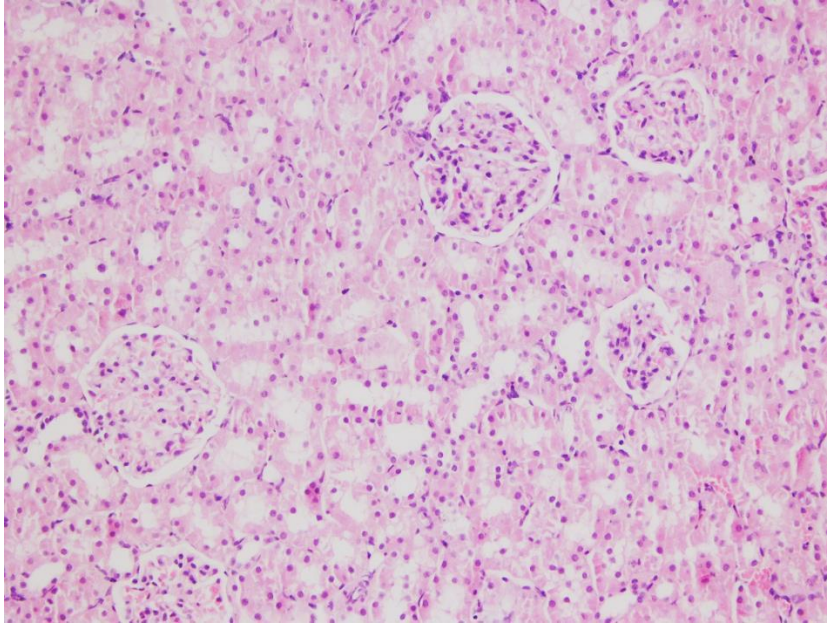
Tablo 5. Grupların kortikal ve medüller konjesyon, tübüler nekroz,dilatasyon ve interstiyel inflamasyon şiddeti ve yaygınlığı

	KONJESYON				İNFLAMASYON				TÜBÜLER NEKROZ				TÜBÜLER DİLATASYON			
SKOR	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
RN+I/R (N:6)	-	1	3	2	6	-	-	-	1	2	3	-	5	1	-	-
S KONTROL (N:6)	-	6	-	-	6	-	-	-	6	-	-	-	6	-	-	-
RN+K+I/R (N:6)	1	4	1	-	3	3	-	-	4	2	-	-	2	3	1	-
RN+N+I/R (N:6)	-	3	3	-	5	1	-	-	1	2	3	-	3	3	-	-

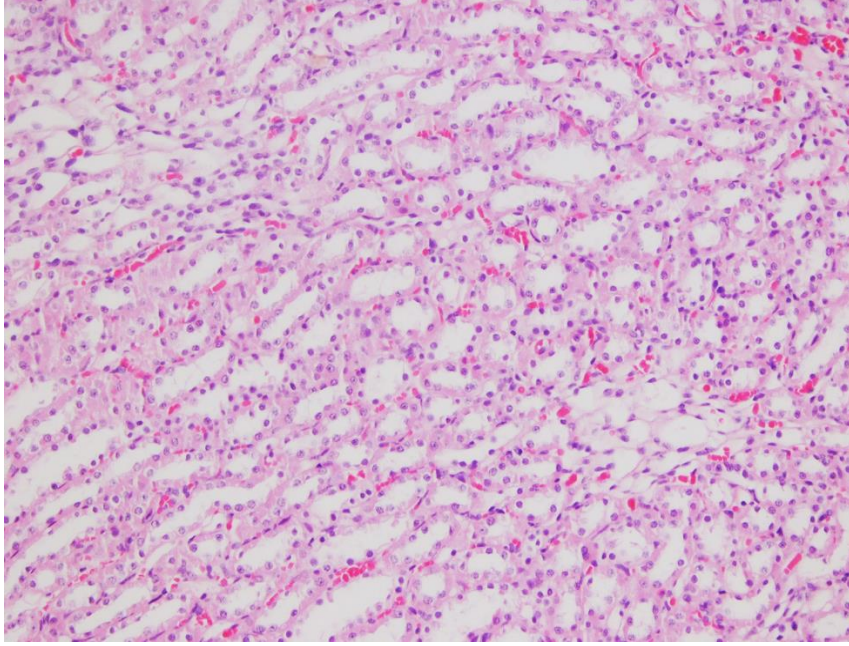
RN+I/R:Sağ nefrektomi ve iskemi/reperfüzyon grubu, **RN+K+I/R:**Sağ nefrektomi karvedilol ve iskemi reperfüzyon grubu,**RN+N+I/R:**Sağ nefrektomi nebivolol ve iskemi reperfüzyon grubu **S:**sham kontrol grubu. **Kortikal ve medüller konjesyon:**yok ya da gözardıedilebilir derecede (skor 0, X400 büyütmede fark edilen konjesyon), hafif derecede (skor 1, X200 büyütmede fark edilen konjesyon), orta derecede (skor 2, X100 büyütmede fark edilen konjesyon), şiddetli derecede (skor 3, x40 büyütmede fark edilen konjesyon) **Tübüler nekroz, tübül epitelindeki sitoplazmik şişme, tübüler dilatasyon ve interstiyel inflamasyon:**semikantitatif olarak etkilenen parankim alanı (patolojinin izlendiği parankim alanı/toplam alan) değerlendirilerek 0 ile 3 arasında şu şekilde skorlandı (0:yok, 1: hafif <%25, 2: orta %25-50, 3: şiddetli >%50)

Gruplar içi böbrek hasarlarına bakıldığında tübüler dilatasyon ve inflamasyon skorlarının gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık yaratmadığı,kortikal ve medüller konjesyon ile tübüler nekroz skorlarınınnsa S kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diğer tüm gruplarda artmış olmakla beraber, RN+I/R grubunda belirgin arttığı saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu.Karvedilol verilen RN+K+I/R grubunda tübüler konjesyon bulgularının

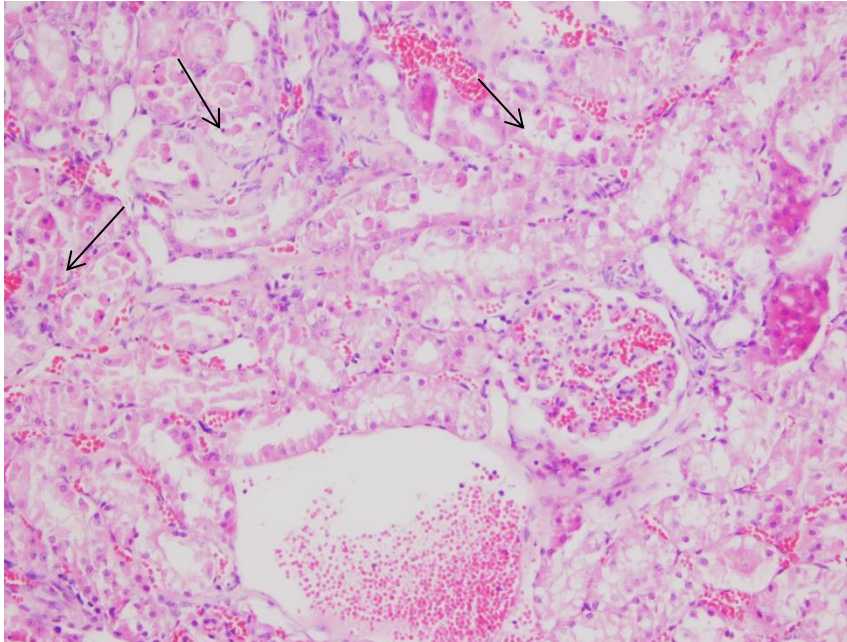
skorlamasında RN+I/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı saptandı ancak tübüler nekroz skorlamasında hasar derecesinin azalmış olmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Nebivolol verilen RN+N+I/R grubu ile RN+I/R grubu karşılaştırıldığında, tübüler nekroz ve konjesyon bulgularının birbirine yakın olduğu görüldü ve istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.



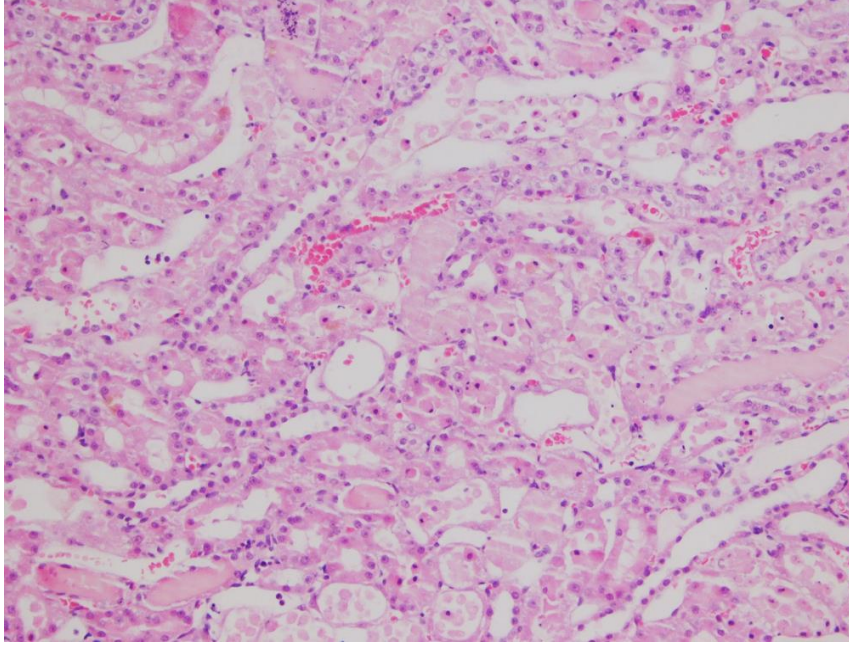
Resim 1a. Sham(S) kontrol grubu normale yakın görünümde kortikal parankim hematoxilen eozin X 200



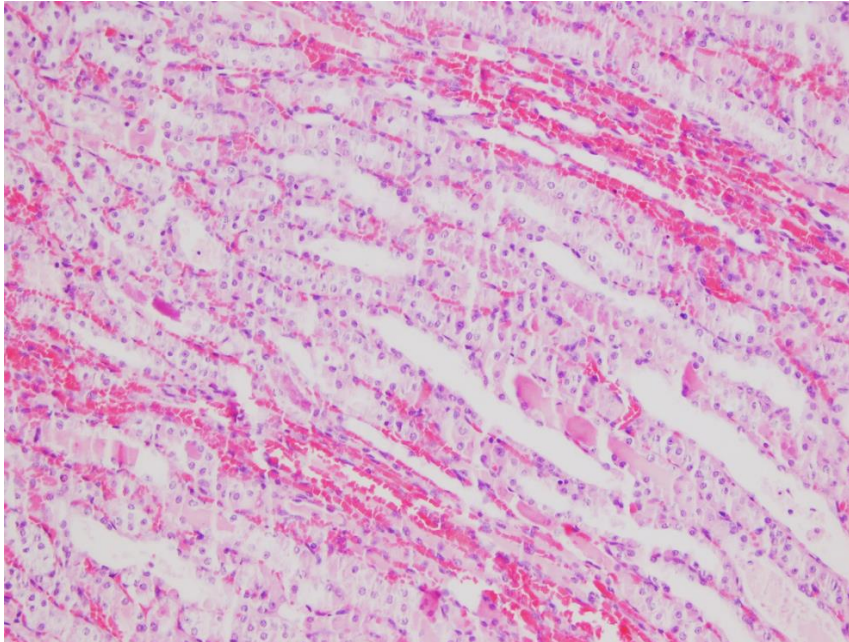
Resim 1b. Sham(S) kontrol grubu Gözardı edilebilir düzeyde (skor 0) medüller konjesyon, hematoksilen eozin X 200



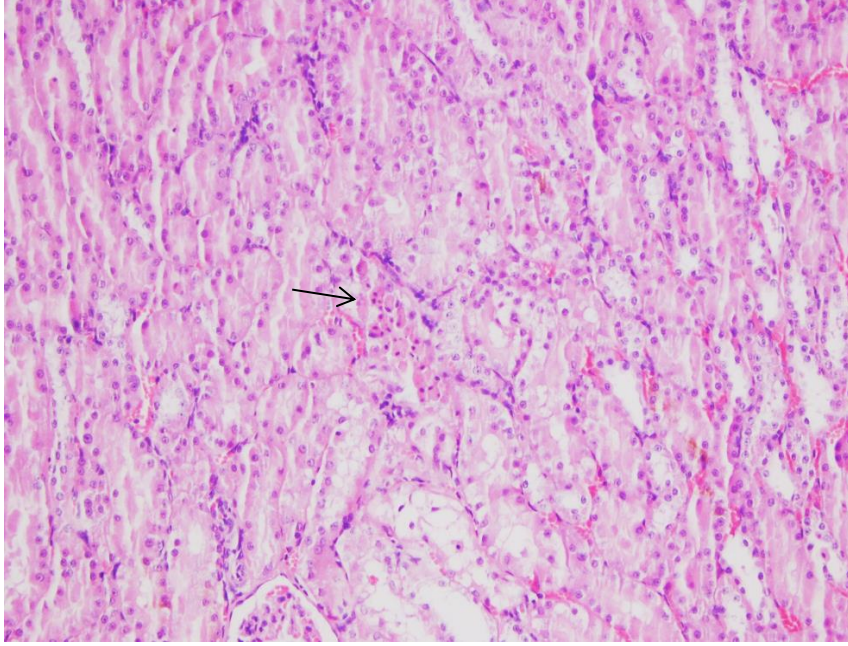
Resim 2a. RN+I/R grubu Tubül epitelinde şişme ve multifokal odakta, >1 tubül kesitini etkileyen tubüler nekroz(Skor 2) (ok), peritübüler ve glomerüler kapiller konjesyon, ,hematoksilen eozin X 200



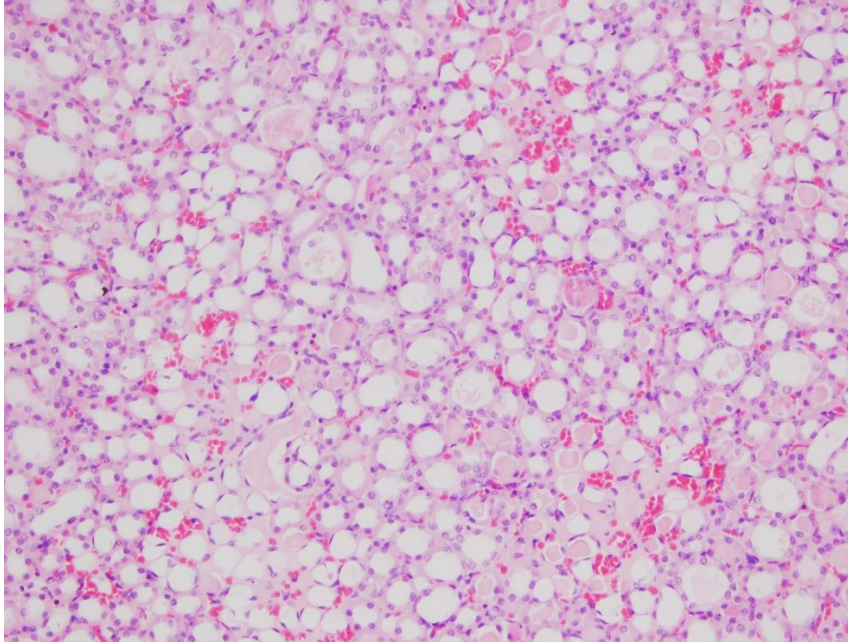
Resim 2b. RN+I/R grubu Hemen tüm tubül kesitlerinde izlenen, geniş tubüler nekroz alanları, hematoksilin eozin X 200



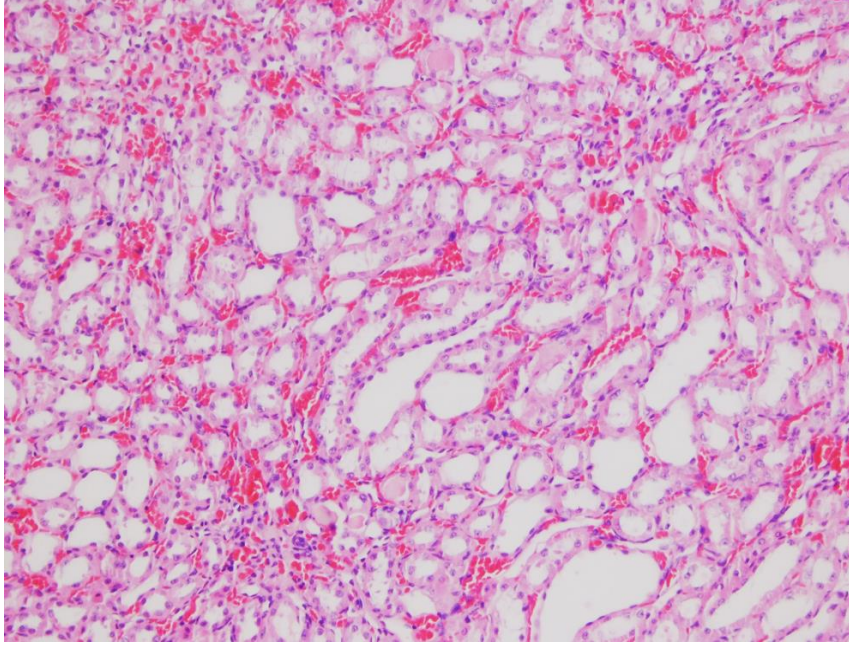
Resim 2c. RN+I/R grubu, şiddetli derecede medüller konjesyon (skor 3), hematoksilin Eozin X 200



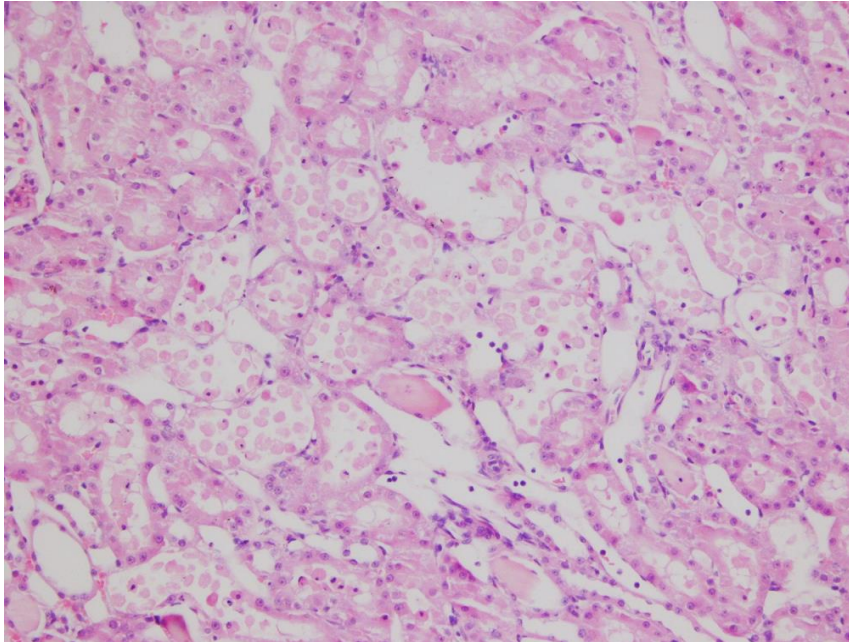
Resim 3a. RN+K+I/R grubu normale yakın kortikal parankimde, tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri şeklinde izlenen izole tubüler nekroz odağı (ok), hematoxilen eozin X 200



Resim 3b. RN+K+I/R grubu, hafif derecede medüller konjesyon (skor 1), hematoxilen eozin X 200



Resim 4a. RN+N+I/R grubu, orta derecede medüller konjesyon (skor 2), hematoksilen eozin X 200



Resim 4b. RN+N+I/R grubu, kortikal parankimde bir grup tubülde, konflüen tubüler nekroz, hematoksilen eozin X 200.

5. TARTIŞMA

Böbrek hipoperfüzyonuna bağlı iskemik ABY toplum kaynaklı ABY'nin % 70'ini, hastane kaynaklı ABY' nin ise %40'ını oluşturur. (84) Bu kadar sık karşılaşılan bir durum olması nedeniyle, renal iskemi ve sonrasında oluşturulan reperfüzyon hayvan modelleriyle birçok çalışma yapılmış, ve değişik ilaçların bu hasarı önlemedeki etkileri ortaya konmuştur.

İskemi, doku perfüzyonunun sağlanamaması neticesinde, oksijen (O₂) ve diğer substratların dokulara yeterli düzeyde sağlanamamasıdır. Başlangıçta etkilenen hücreler geri dönüşümlü doku hasarı fazına girerler, ancak iskemi süresi arttıkça, etkilenen hücrelerin geri dönüşümsüz hasara uğramaları kaçınılmaz olur. Bu hücrelerde doku perfüzyonu sağlansa bile doku hasarı kalıcılık gösterir (31). Geçici iskemi sonrası oluşan doku hasarı ve fonksiyon kayıpları, değişik fizyopatolojik olayların birlikte ve birbiriyle ilişkili olan reaksiyon zincirleriyle oluşur. Bunun yanında hasar gören iskemik dokunun iyileşmesi için mutlaka reoksijenizasyona, yani reperfüzyona ihtiyacı vardır. Fakat reperfüzyon ile, iskemik dokudaki hasara, ek bir hasar eşlik etmekte ve bu hasarın tümüne iskemi–reperfüzyon hasarı denilmektedir (29). Bir başka deyişle iskemik dokunun reperfüze edilmesi, doku canlılığı için zorunlu olsa da reperfüzyonun ek bir hasara yol açması kaçınılmazdır (28). İskemi ve sonrasındaki reperfüzyon ile oluşan doku hasarından serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmuş, ve lipid peroksidasyonu, protein veya nukleik asit moleküllerin çapraz bağlarının degradasyonuna yol açarak hücreye birçok zarar verdikleri gösterilmiştir (49). Buradaki asıl dikkat edilmesi gereken ise, iskemi süresince geri dönüşebilen hücre

hasarı fazında olan dokular, reperfüzyonla nekrotik hale gelebilmektedir (85). Hücre içi ve dışı antioksidan sistemlerin bu bağlamda önemli olduğu vurgulanmış olup, dokulardaki iskemi reperfüzyon hasarı, birçok araştırmacı için güncel bir konu olmuştur.

Bu çalışmamızda iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulan rat modellerinde, günümüzde sıkça kullandığımız karvedilol ve nebivolol ilaçlarını test ederek, daha önce kanıtlanmış antioksidan etkilerini, iskemi reperfüzyon hasarı üzerinde araştırdık. Sonuçların ortaya konmasında daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak, konvansiyonel ABH belirteçleri (BUN, Cr) ile, yeni biyolojik belirteçleri (NGAL, KIM-1) de biyokimyasal açıdan karşılaştırmalı olarak kullandık. Ek olarak I/R hasarında doku düzeyindeki antioksidan savunma enzimleri ve doku hasarı belirteci düzeyleri ile histopatolojik incelemeler yapıldı ve tüm bu verilerle, iki antioksidan ilaç olan karvedilol ve nebivolol ilk kez karşılaştırılmış oldu.

Öncelikle, nebivolol selektif bir β_1 reseptör blokörü olması yanında NO aracılı vasodilatör etkileri olan bir antihipertansiftir (18). Bunlara ek olarak proton vericisi ve elektron stabilleyici etkisi ve SOR'ni direk temizleyerek oksidatif stresi azalttığı, endotel disfonksiyonunu önlediği, renal fibrozisi azalttığı, yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (19,20,66). Nebivololün NO aracılı etkilerine değinecek olursak, öncelikle NO kaynağı olan, NOS'un (Nitrik oksit sentaz) her üç izoformunun da böbrekte NO sentezine katıldıkları gösterilmiştir. Bunlardan; eNOS izoformu; renal arteriyoller endotelde, nNOS izoformu; makula densada ve iNOS izofomu ise afferent arteriyollerin preglomeruler kısmından salınmaktadır. Nebivolol, endotelial inositol trifosfat metabolizmasının aktivasyonu

intraselüler kalsiyumu harekete geçirir ve sonuçta eNOS (endoteliyal nitrik oksit sentaz) aktivasyonuna yol açar ve artan NO düzeyinin net etkisi böbrekte natriürez, diürezin ve renal glomerüler perfüzyonun arttırmasıdır (57,59). İskemi ve sonrasında reperfüzyon hasarı ile birlikte SOR'nin yol açtığı endotel disfonksiyonu ve SOR ile NO tepkimesi, fonksiyonel olarak NO eksikliğine yol açar. Yapılan çalışmalar, iskemi sonrası erken reperfüzyon döneminde, inflamatuvar hücrelerden salınan sitokinlerin iNOS'u (indüklenebilir nitrik asit sentaz) uyardığı ve NO düzeyini pik şeklinde arttırdığını göstermiştir. Ancak eş zamanlı artan SOR ile NO'nin tepkimeye girerek peroksinitrit (ONOO-) formatına döndüğünü ve ONOO-'in hücre ve membran bileşiklerine zarar verdiğini de ortaya konmuştur (93,94). Bu sebeple hayvan modeli çalışmalar üzerinde çeşitli dokularda iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulmuş ve selektif iNOS inhibitörleri kullanılmıştır. Benzer çalışmalarda Mark ve arkadaşları (95) ve Qi ve arkadaşları (96) ratlarda ve maymunlarda renal iskemik reperfüzyon modeli oluşturmuşlar ve selektif iNOS inhibitörü kullanarak renal fonksiyonlar üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak tedavi verilen grupta kontrol grubuna göre böbrek fonksiyon testlerinde belirgin artış ve plazma NO düzeylerinde azalma tespit etmişlerdir. Tsuchihashi ve arkadaşları (97) rat karaciğerinde iskemik reperfüzyon hasarı yaparak iNOS inhibitörü kullanmışlar ve sonuçlarında kontrol grubuna göre karaciğer fonksiyon testlerinde ve karaciğer histopatolojik bulgularında iyileşme tespit etmişlerdir. Yapılan bu ve benzer çalışmalar göstermiştir ki reperfüzyon sonrası iNOS aktivitesinde artış ve NO düzeylerinde belirgin yükselme ve SOR ile NO tepkimesi sonucu oluşan peroksinitrit (ONOO-) I/R hasarını arttırmaktadır

ve aynı zamanda fonksiyonel NO eksikliğine neden olmakta ve bunun sonucunda da renal sempatik aktiviteyi arttırarak böbreklerde aktivitesi en fazla olan $\beta 1$ reseptörü üzerinden etkisini göstermekte ve sonuç olarak renin sekresyonunu uyarırmaktadır (38). Nebivololun I/R hasarında etkilerine bu çerçevede bakarsak, $\beta 1$ reseptör blokörü etkisiyle renin salınımı azaltırken, eNOS aktivitesini arttırarak, NO salınımıyla AT2 ye karşı oluşan vasküler cevabı azaltarak, böbrek ve glomerüler perfüzyonu arttırır ve endotel disfonksiyonunu önler (38). Aynı zamanda endotel hasarına bağlı eNOS çözülmesini de engelliyerek, NO biyoyararlanımını arttırır ve sistemik antikosidan, ve serbest oksidan ajan temizleyici etkisi de kanıtlanmıştır (19,74). Mason ve arkadaşlarının(66) hipertansif rat modelinde yaptıkları çalışmada nebivololun endotelial disfonksiyonunu önlediği, eNOS stabilizasyonu sağladığı ve kontrol grubuna göre NO/ONOO- oranında anlamlı artış sağlayarak NO biyoyararlanımını arttırdığı gösterilmiştir. Bu oranın azalmasında nebivololun O_2^- radikalini temizlemesinin etkisi olduğu açıktır. Toprak ve ark. (45) sıçanlarda kontrast madde nefropatisinde nebivololün etkilerini araştırmışlardır. Nebivololün renal nitrik oksit salgısını arttırması, renal plazma akımı ve glomerüler filtrasyon hızında artış sağlaması, renin anjiyotensin aldosteron sistemini baskılaması, anjiyotensin 2'nin inhibisyonu, endotelin-1 seviyesini azaltması ve antioksidan özelliğe sahip olması gibi özelliklerinden dolayı tercih edildiğini rapor etmişlerdir. Toprak ve ark. (45) kontrast madde vererek oluşturmuş oldukları nefropati çalışmalarında; 2 mg/kg dozunda nebivolol verilmesinin nefropati oluşturulan grubun sonuçlarına göre medullar tıkanıklık, protein atılımı ve tübüler nekrozu azalttığı, sistemik ve renal

oksidatif strese azalmaya yol açtığı, mikroproteinürde azalma ve böbrek nitrit seviyelerinde artısa neden olduğunu rapor etmişlerdir. Groot ve ark.'nın (2) rat aortalarında yapıkları çalışmada nebivololün SOR kaynaklı endotelial hasarı azalttığı ve bu etkisini kendi moleküler etkisiyle direk SOR temizleyici özelliğine bağlamışlardır. Bir başka çalışmada Gandhi ve ark. (37) ratlarda renal iskemi reperfüzyon modeli uygulamışlar ve nebivololün etkilerini incelemişlerdir. Kontrol I/R grubuna göre nebivolol verilen grupta, serum kreatin ve bun değerlerinin anlamlı ölçüde düştüğü, doku düzeyi MDA seviyelerinin azaldığı ve SOD seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir. Doku düzeyi katalaz ve GST enzim aktivitelerinde ise anlamlı değişiklik saptanmamıştır.

Karvedilolün antioksidan mekanizmalarından bahsedilcek olursa, yapılan çalışmalarda oksijen radikalleriyle ilişkili hücre membranı lipid peroksidasyonunu kimyasal, enzimatik ve hücre içi sistemlerle engellediği gösterilmiştir (73). Ayrıca yüksek lipofilik çözünürlüğü nedeniyle, hücre lipid membranlarına kolaylıkla geçebilmekte ve bu etkilerini direk yağ asidi peroksidasyonunun olduğu bu olanda göstermekte ve endojen antioksidanlardan glutatyon (GSH) ve vitamin E miktarlarını arttırarak etki etmektedir (76). Yapılan iskemik-reperfüzyon hasarı çalışmalarında iskemik bölgeye nötrofil göçünü ve aktive nötrofillerden salınan myeloperoksidaz ve NADPH oksidaz aktivitesini azaltarak iskemik doku hasarını azalttığı gösterilmiştir (68,74). Ek olarak granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktörü (GM-CSF) ile uyarılan ve inflamasyon tetikleyici olarak görev yapan IL-10 ve NFκB reseptör modifikasyonu ile da T hücre aktivasyonlarını azalttığı gösterilmiştir (61,62). Singh ve ark (14) renal I/R

modeli ile yaptıkları çalışmada, karvedilol verilen grupta, izole iskemi ve reperfüzyon yapılan gruba göre börek fonksiyon testlerinde anlamlı düzelme, ve doku düzeyi antioksidan enzimlerden SOD, katalaz ve GSH enzim düzeylerinde artış, ve lipid perosidasyonunu gösteren dku düzeyi MDA seviyelerinde anlamlı azalma tespit etmişler ve karvedilolun I/R hasarı sonrası oluşan oksidatif stresi azaltmadaki rolünü ortaya koymuşlardır. Hayashi ve ark. (98) renal I/R modelinde reperfüzyon sonrası kardevilolun uzun zamanlı etkilerini incelemişler ve reperfüzyon sonrası 7.günde karvedilolun tedavi verilmeyen kontrol I/R grubuna renal fonksiyon testlerinde anlamlı düzelme ve histopatolojik skorlamada iyileşme sağladığını ortaya koymuşlardır. Aynı zamanda bir oksidatif DNA hasarı belirteci olan,8-OHdG biyolojik belirtecini kullanmışlar ve karvedilol tedavisi verilen grupta izole I/R yapılan gruba göre anlamlı düşüş tespit etmişlerdir. Ayrıca TUNEL analiz yöntemiyle proximal tübüllerdeki apoptotik indeksi ölçmüşler ve karvedilol verilen grupta anlamlı azalma tespit etmişlerdir. Böylelikle karvedilolün antioksidan ve apopitozise bağlı hücre hasarını önleyici etkisini vurgulamışlardır. Bir başka çalışmada yine Hayashi ve ark (99) renal iskemi reperfüzyon modelinde karvedilol ve metoprolol etkilerini karşılaştırmışlar ve cerrahi işlem sonrası uzun etkilerini incelemişlerdir. Karvedilol ile tedavi verilen grupta cerrahi işlem sonrası iki ve dördüncü günlerde serum kreatin düzeylerinde kontrol ve metoprolol grubuna göre anlamlı azalma tespit etmişlerdir. Parlaktaş ve ark. (100) Rat testislerinde torsiyon uygulayarak testislerde I/R hasarı modeli oluşturmuşlar ve karvedilol tedavisinin etkilerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada karvedilol verilen grupta izole testis I/R yapılan gruba göre serum ve

testis dokularında antioksidan enzimlerden SOD ve GSH-Px'ın anlamlı düzeyde artış ve doku MDA düzeylerinde anlamlı azalma tespit etmişler ve karvedilolün antioksidan etkilerini ortaya koymuşlardır. Ancak histopatolojik açıdan anlamlı fark bulamamışlardır.

Biz de yaptığımız bu çalışmada nebivolol ve karvedilolün benzer çalışmalardaki etkilerini, renal I/R hasarı oluşturarak inceledik. Bu çalışmalardan farklı olarak, böbrek fonksiyon testlerini, yeni biyolojik belirteçlerle karşılaştırarak test ettik. Aynı zamanda böbrek histopatolojisindeki değişimleri ve doku düzeyi oksidatif stres belirteçlerini değerlendirerek karvedilol ve nebivololün I/R hasarında birbirleri üzerine üstünlüklerini görmek istedik. Ratlarla yapılan deneysel hayvan modellerinde 45 ve 60 dakikalık iskemi uygulandığında iskemik hasar olduğu gösterilmiştir. Deneklerde inflamasyon erken başlamakla birlikte

histopatolojik değişiklikler en erken 24 saat sonra ortaya çıkmaktadır. Biz de çalışmamızda 45 dakikalık iskemi uygulayarak 24. saatlerinde iskemik hasar değerlendirmesi yaptık (14,37) ve renal I/R hasarı modelinde benzer çalışmalardaki karvedilol ve nebivolol dozlarını (2mg/kg/gün) 5 gün boyunca ve I/R hasarı 30 dakika öncesi uyguladık (14,45).

Yaptığımız çalışmada gruplar arası bazal Bun, kreatin, CrCl, NGAL düzeylerinde anlamlı fark olmazken KIM-1 düzeylerinde bazal değerler açısından gruplar arası fark saptandı. Renal I/R hasarının konvansiyonel böbrek fonksiyon testlerinde ve benzer şekilde yeni biyolojik belirteçlerde anlamlı düzeyde artışa yol açtığı ve CrCl de azalmaya neden olduğunu gördük. Öncesinde antioksidan

etki mekanizmaları ve I/R hasarında böbrek fonksiyon testlerini iyileştirici etkisi yapılan çalışmalarla gösterilmiş olan karvedilol ve nebivolol'un (14,37,99) bu değerler üzerine etkilerine bakıldığında literatürdeki benzer çalışmalara paralel şekilde serum Cr ve BUN değerlerinde, idrar NGAL seviyelerinde azalma ve CrCl'lerinde artış tespit ettik ancak istatistiksel olarak anlamlılık bulamadık. İki ilaç birbirleriyle karşılaştırıldığında ise karvedilol tedavisinin bu belirteçler üzerinde daha iyi sonuç verdiği görülmüş olup yine istatistiksel olarak anlamlılık göremedik. KIM-1 düzeylerinde ise karvedilol verilen grupta izole iskemi verilen gruba göre anlamlı iyileşme saptandığı görülmüş olup nebivolol verilen grupta bu fark görülmemiştir. KIM-1 düzeyleri hariç bu farkların anlamlı düzeye ulaşmamasında, çalışmaya alınan rat sayısının da etkisi olduğu düşünülmüştür. Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nca daha fazlasına izin verilmediğinden, çalışmamız ancak altışar ratlık gruplarla yürütülmüştür. Literatürde benzer hayvan çalışmalarında sekiz ve on rattan oluşan gruplar üzerinde çalışılmış olduğunu görülmektedir. (14,99). Bir başka husus ABH ' da yeni biyolojik belirteçlerden olan üriner NGAL ve KİM-1'in böbrek fonksiyonlarını noninvaziv bir metod olarak tespit etmekte en az konvensiyonel belirteçler kadar etkili ve güvenilir olduğu görülmüştür.

Doku düzeyi oksidatif stres belirteçlerinden SOD ve katalaz enzim düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık olmamasına rağmen karvedilol ve nebivolol verilen grupta I/R yapılan gruba göre enzim düzeylerinde artış görülmüştür. Bu artış bir başka antioksidan enzim olan GST düzeylerinde ilaç verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup karvedilol verilen grupta

nebivolol verilen gruba göre daha yüksek bulunmuştur. RN+I/R grubunda SOD ve katalaz enzim düzeylerindeki azalmanın istenilen düzeyde olmaması, renal iskemi süresiyle ilişkili olabilmektedir. Özellikle kısa zamanlı (30 dakika) I/R modellerinde SOD aktivitesinde artış olmadığı buna karşın 60 ve 90 dakika gibi uzun iskemi uygulanan I/R modellerinde anlamlı SOD artışı olduğunu ve doku düzeyinde azalma tespit edilen çalışmalar mevcuttur (101). Dolayısıyla uygulanan iskemi süresi SOD aktivitesinin belirginleşmesinde çok önemli gibi görünmektedir. Çalışmamızda ratlara 45 dakikalık renal iskemi uygulanmış olup SOD aktivitesini yansıtan I/R grubundaki azalmanın beklenildiği gibi olmaması bu uygulanan süreyle ilişkili görünmektedir. GST enzim düzeylerindeki artış ise literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Renal I/R sırasında üretilen serbest radikaller lipid peroksidasyonu ile yapısal ve fonksiyonel olarak hücre hasarına neden olurlar. Lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak en sık kullanılan ve doku hasarı konusunda fikir veren bu moleküllerden birisi MDA'dır. Çalışmamızda izole iskemi yapılan RN+I/R grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır. İlaç verilen RN+K+I/R ve RN+N+I/R gruplarında ise bu artışın daha az olduğu görülmüş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ancak hem karvedilolün hem de nebivololün doku düzeyi MDA seviyelerini literatürdeki çalışmalara benzer şekilde (13,14,37,100) azalttığı görülmüştür. İstatistiksel farklılığın olmamasında çalışmaya alınan gruplardaki hayvan sayılarıyla ilişkilendirilebilir.

Çalışmamızda I/R hasarı sonrası histopatolojik bulgular incelendiğinde S (kontrol) grubuna göre izole iskemi yapılan RN+I/R grubunda kortikal-medüller

konjesyon ve tübüler nekroz skorlamalarının istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı. Karvedilol tedavisi verilen RN+K+I/R grubunda kortikal konjesyon bulgularının RN+I/R grubuna göre azaldığı saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu, ancak tübüler nekroz skorlamasında hasar derecesinin azalmış olmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Nebivolol verilen RN+N+I/R grubu ile RN+I/R grubu karşılaştırıldığında ise, tübüler nekroz ve konjesyon bulgularının birbirine yakın olduğu görüldü ve istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

Bu  alışma, I/R hasarında antioksidan etkileri öncesinde kanıtlanmış karvedilol ve nebivolol  karşılaştıran ve bu iki ilacın renal I/R modelinde etkilerini yeni biyolojik belirteçleri kullanarak gösteren ilk çalışmadır. Çalışmamızda, özellikle karvedilolün KIM-1 ve doku düzeyi GST enzim düzeyleri ile renal histopatoji üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkileri ön plana çıkarken, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diğer böbrek fonksiyon testleri ve antioksidan enzim sistemleri üzerine olumlu etkileri görülmüş olup ve lipid peroksidasyon belirteci olan MDA ‘da azalmaya neden olmuştur. Nebivolol için, tüm parametrelerde istatistiksel anlamlı sonuç bulunmasa da böbrek fonksiyonel testleri ve doku düzeyi antioksidan enzimler düzeyinde olumlu etkileri ile MDA seviyelerinde azalma tespit edilmiştir. Ancak doku histopatolojisindeki etkileri istatistiksel olarak anlamsız olup karvedilolün gerisinde kalmıştır. Sonuç olarak renal I/R hasarının önlenmesi ve azaltılmasında gerek biyokimyasal parametrelerde gerekse histopatolojik incelemelerde karvedilolün nebivolole üstünlüğü vardır. Çalışmaya eleştirisel yönden bakacak olursak daha fazla hayvan

deneğiyle çalışılması halinde,her iki ilacın istatistiksel olarak anlamlı olmayan diğer parametrelerdeki olumlu etkilerinin daha net ortaya çıkacağı dūřunılmaktadır.

6. KAYNAKLAR

1. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991; 78: 651-5.
2. Atilla K, Coker A, Sagol O, Coker I. Protective effects of carnitine in an experimental ischemia-reperfusion injury. *Clinical Nutrition* 2002; 4: 309-13.
3. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Temel patoloji*. 2. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi 1995; 4-8.
4. Woolfson RG, Millar CG, Neild GH. Ischaemia and reperfusion injury in the kidney: current status and future direction. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 1529-31.
5. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83: 162-70.
6. Donnahoo KK, Meldrum DR, Shenkar R, Chung CS, Abraham E, Harken AH. Early renal ischemia, with or without reperfusion, activates NFkappaB and increases TNF-alpha bioactivity in the kidney. *J Urol* 2000; 163, 1328-32.
7. Sivarajah A, Chatterjee PK, Patel NS, Todorovic Z, Hattori Y, Brown PA, Stewart KN, Mota-Filipe H, Cuzzocrea S, Thiemermann C. Agonists of peroxisome-proliferator activated receptor-gamma reduce renal ischemia/reperfusion injury. *Am J Nephrol* 2003; 23: 267-76.
8. Kako K, Kato M, Matsuoka T, Mustapha A. Depression of membrane-bound Na⁺ 2K⁺1-ATPase activity induced by free radicals and by ischemia of kidney. *Am J Physiol*.
9. Gailit J, Colflesh D, Rabiner I, Simone J, Goligorsky MS. Redistribution and dysfunction of integrins in cultured renal epithelial cells exposed to oxidative stress. *Am J Physiol* 1993; 264: F149–F157.

10. Simsek F. Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve lipit peroksidasyonu. *T Klin Pediatri* 1999; 8: 42-7.
11. Sahna E, Parlakpınar H, Cihan OF, Turkoz Y, Acet A. Effects of aminoguanidine against renal ischaemia- reperfusion injury in rats. *Cell Biochem Funct* 2004; 22.
12. Sahna E, Parlakpınar H, Ozturk F, Cigremis Y, Acet A. The protective effects of physiological and pharmacological concentrations of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Urol Res* 2003; 31(3): 188-93.
13. Akbas H, Ozden M. Protective antioxidant effects of carvedilol in a rat model of ischaemiareperfusioninjury. *The Journal of International Medical Research* 2005; 33: 528 – 536.
14. Singh D, Chander, V, Chopra K. Carvedilol attenuates ischemia–reperfusioninduced oxidative renal injury in rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 2004; 18(6): 627–634.
15. Feuerstein GZ, and Ruffolo RR Jr, Carvedilol, a novel multiple action antihypertensive agent with antioxidant activity and the potential for myocardial and vascular protection. *EurHeart J* 1995; 16 (Suppl F): 38–42.
16. Dunn CJ, Lea AP and Wagstaff AJ, Carvedilol. A reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use in cardiovascular disorders. *Drugs* 1997; 54: 161–185.
17. Noguchi N, Nishino K, Niki E. Antioxidant action of the antihypertensive drug, carvedilol, against lipid peroxidation. *Biochemical pharmacology* 2000; 59(9): 1069-1076.
18. Michael P. Nebivolol: Pharmacologic profile of an ultraselective, vasodilatory 1-blocker. *J Clin Pharmacol* 2008; 48: 225–239.
19. Pires MJ, Iiguez-Peña MJ, Evalo M, et al. Long-term nebivolol administration reduces renal fibrosis and prevents endothelial dysfunc. *J Hypertens* 2007; 25: 2486–496.

20. Groot AA, Mathy MJ, Zwieten PA, Peters SL. Antioxidant activity of nebivolol in the rat aorta. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 43: 148–153.
21. Gonzalez F, Vincent F. Biomarkers for acute kidney injury in critically ill patients. *Minerva Anesthesiol* 2012; 78(12): 1394-403.
22. Bagshaw SM, Bellomo R. Early diagnosis of acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care*. 2007; 13(6): 638-44.
23. Zhang Z, Lu B, Sheng X, Jin N. Cystatin C in prediction of acute kidney injury: a systemic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2011; 58(3): 356-65.
24. Liang XL, Liu SX, Chen YH, Yan LJ, Li H, Xuan HJ et al. Combination of urinary kidney injury molecule-1 and interleukin-18 as early biomarker for the diagnosis and progressive assessment of acute kidney injury following cardiopulmonary bypass surgery: A prospective nested case-control study. *Biomarkers* 2010; 15(4): 332-9.
25. Song L, Xue L, Yu J, Zhao J, Zhang W, Fu Y. Kidney injury molecule-1 expression is closely associated with renal allograft damage. *Bosn J Basic Med Sci* 2013; 13(3): 1704.
26. Myers BD, Moran SM. Hemodynamically mediated acute renal failure. *New Engl J Med* 1986; 314: 97–105.
27. Garcia FJ, Eleno N. Protective effect of exogenous nitric oxide on the renal function and inflammatory response in a model of ischemia–reperfusion. *Am J Transplant* 1998; 66: 982–90.
28. Çetinkale O, Şengül R, Bilgiç L, Bolayırılı M, Burçak G. Involvement of neutrophils in ischemic injury. Biochemical and histopathological investigation of the effect of FK506 on dorsal skin flaps in rats. *Ann Plast Surg* 1997; 39: 505.
29. Granger DN, Rutili G, Mc Cord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Am J Gastroenterol* 1981; 81: 22–9.

30. McCord JM. Oxygen derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-63.
31. Grisham MB, Granger DN. Metabolic sources of reactive oxygen metabolites during oxidant stress and ischemia and reperfusion. *Clin Chest Med* 1989b; 10: 71-81.
32. Gute DC, Ishida T, Yarimizu K, Korthuis RJ. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. *Mol Cell Biochem* 1998; 179: 169-87.
33. Cadanas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem* 1989; 58: 79–110.
34. Slatter T. Free radicals and tissue injury: Fact and the fiction. *Br J Cancer* 1987; 55: 5–10.
35. Garcia FJ, Eleno N. Protective effect of exogenous nitric oxide on the renal function and inflammatory response in a model of ischemia–reperfusion. *Am J Transplant* 1998; 66: 982–90.
36. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB: Pharmacological Approach to Tissue Injury Mediated by Free Radicals and Other Reactive Oxygen Metabolites. *Am J Surg* 1991; 161: 488-503.
37. Gandhi C, Zalawadia R, Balaraman R. Nebivolol reduces experimentally induced warm renal ischemia reperfusion injury in rats. *Renal failure* 2008; 30(9): 921-930.
38. Claudio S, Mattia L, Urs S. Interaction between nitric oxide and the cholinergic and sympathetic nervous system in cardiovascular control in humans. *Pharmacology & Therapeutics* 2005; 106: 209–220.
39. Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-493.
40. McCord JM. Human disease, free radicals and the oxidant–antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351–7.

41. Brady HR, Brenner BM: Acute Renal Failure: Harrison's Principles of Internal Medicine. Ondördüncü baskı. Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL (ed). The McGraw-Hill Companies USA 1998; 1504-1513.
42. Molitoris BA. Ischemia-induced loss of epithelial polarity. Potential role of the actin cytoskeleton. *Am J Physiol Renal* 1991; 260: F769-78.
43. Kharbanda RK, Peters M, Walton B, Kattenhorn M, Mullen M, Klein N, Vallance P, Deanfield J, MacAllister R. Ischemic preconditioning prevents endothelial injury and systemic neutrophil activation during ischemia-reperfusion in humans in vivo. *Circulation* 2001; 103: 1624-30.
44. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44- 84.
45. Toprak O, Cirit M, Tanrisev M, Yazici C, Canoz O, et al. Preventive effect of nebivolol on contrast-induced nephropathy in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 853-9.
46. Lameire N, Biesen WV, Vanholder R: Acute renal failure. *The Lancet* 365: 417-430, 2005
47. Edelstein CL, Ling H, Schrier RW. The nature of renal cell injury. *Kidney Int* 1997; 51: 1341-51.
48. Nalini S, Mathan MM, Balasubramanian KA. Oxygen free radical induced damage intestinal ischemia reperfusion in normal and xanthine oxidase deficient rats. *Mol Cell Biochem* 1993; 124: 59-66.
49. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1977; 86: 271-8.
50. Sheridan AM, Bonventre JV. Pathophysiology of Ischemic Acute Renal Failure. *Contrib Nephrol* 2001; 132: 7-21.

51. Versteilen AMG, Di Maggio F, Leemreis JR, Groeneveld ABJ, Musters RJP, Sipkema P. Molecular mechanisms of acute renal failure following ischemia/reperfusion. *Int J Artif Organs* 2004; 27: 1019-1029.
52. Haas A, Goebel W. Microbial strategies to prevent oxygen-dependent killing by phagocytes. *Free Radic Res* 1992; 16: 137-57.
53. Heinzelmann M, Mercer-jones MA, Passmore JC. Neutrophils and Renal Failure. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 384-389.
54. Molitoris BA, Marrs J. The Role of Cell Adhesion Molecules in Ischemic Acute Renal Failure. *Am J Med* 1999; 106: 583-592.
55. Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *TKidney Int* 2004; 66: 486-491.
56. Hasan E, Ersin F, Memet HE. Protection from renal ischemia reperfusion injury by an endothelin-A receptor antagonist BQ-123 in relation to nitric oxide production. *Toxicology* 2006; 228: 219-228.
57. Sharma SP. Nitric oxide and the kidney. *Indian J Nephrol* 2004; 14: 77-84.
58. Troost R, Schwedhelm E, Rojczyk S, Tsikas D, Frölich JC. Nebivolol decreases systemic oxidative stress in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 2000; 50: 377-9.
59. Janssen PM, Zeitz O, Hasenfuss G. Transient and sustained impacts of hydroxyl radicals on sarcoplasmic reticulum function: Protective effects of nebivolol. *Eur J Pharmacol* 1999; 366: 223-232.
60. Cleland JGF, Swedberg K. Carvedilol for heart failure, with care. *Lancet* 2006; 47: 1199e201.
61. Packer M, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, et al. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. US Carvedilol Heart Failure Study Group. *N Engl J Med* 1996; 334: 1349e55.

62. Ruffolo RR, Feuerstein GZ. Carvedilol: preclinical profile and mechanisms of action in preventing the progression of congestive heart failure. *Eur Heart J* 1998; 19 (Suppl B): B19–B24.
63. Çekmen MB, Turgut M, Türköz Y, Aygün D, Gözükara E. Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)’ın Fizyolojik ve Patolojik Özellikleri. *T Klin Pediatri* 2001; 10: 226-36.
64. Yasuhiro M, Susumu A, Kino M, Hiroshi I, Mitsuaki I. Nitric oxide inhibits myocardial apoptosis by preventing caspase-3 activity via S-nitrosylation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2005; 38: 163–174.
65. Ignarro LJ, Sisodia M, Trinh K, Bedrood S, Wu G, Wei LH, Buga GM. Nebivolol inhibits vascular smooth muscle cell proliferation by mechanisms involving nitric oxide but not cyclic GMP. *Nitric oxide* 2002; 7: 83-90.
66. Mason RP, Kubant R, Jacob RF, Walter MF, Boychuk B, et al. Effect of nebivolol on endothelial nitric oxide and peroxynitrite release in hypertensive animals: role of antioxidant activity. *Journal of cardiovascular pharmacology* 2006; 48(1): 862-869.
67. Ruffolo RR Jr, Feuerstein GZ. Pharmacology of carvedilol: rationale for use in hypertension, coronary artery disease, and congestive heart failure. *Cardiovasc Drugs Ther* 1997; 11 (Suppl 1): 247–256.
68. Feuerstein G, Liu GL, Yue TL, Cheng HY, Hieble JP, Arch JR, et al. Comparison of metoprolol and carvedilol pharmacology and cardioprotection in rabbit ischemia and reperfusion model. *Eur J Pharmacol* 1998; 351: 341–350.
69. Mårtensson J, Martling CR, Bell M. Novel biomarkers of acute kidney injury and failure: clinical applicability. *Br J Anaesth.* 2012; 109(6): 843-50.
70. Altekin E, Kenesarı Y. Potansiyel Tanısal Bir Biyobelirteç Olarak Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin. *Türk Klinik Biyokimya Derg.* 2013; 11(1): 37-41.

71. Peters HP, Waanders F, Meijer E, van den Brand J, Steenbergen EJ, van Goor H et al. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of end-stage renal disease inpatients with IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26(11): 3581-8.
72. Soni SS, Cruz D, Bobek I, Chionh CY, Nalesso F, Lentini P et al. NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. *Int Urol Nephrol* 2010; 42(1): 141-50.
73. Yue TL, Cheng HY, Lysko PG. et al. Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger. *J Pharmacol Exp Ther* (1992a); 263: 92–98.
74. Mollnau H, Schulz E, Daiber A, Baldus S, Oelze M, August M, et al. Nebivolol prevents vascular NOS III uncoupling in experimental hyperlipidemia and inhibits NADPH oxidase activity in inflammatory cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 615, 621.
75. Ho E, Fard A, Maisel A. Evolving use of biomarkers for kidney injury in acute care settings. *Curr Opin Crit Care* 2010; 16(5): 399-407.
76. Feuerstein GZ, Bril A, Ruffolo RR Jr. Protective effects of carvedilol in the myocardium. *Am J Cardiol* 1997; 80: 41L–45L.
77. Mori K, Lee HT, Rapoport D, Drexler IR, Foster K, Yang J et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest* 2005; 115(3): 610-21.
78. Keatings VM, Barnes PJ. Granulocyte activation markers in induced sputum: comparison between chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155(2): 449-53.
79. Singer E, Markó L, Paragas N, Barasch J, Dragun D, Müller DN et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications. *Acta Physiol (Oxf)* 2013; 207(4): 663-72.

80. Nozaki Y, Kinoshita K, Yano T, Shiga T, Hino S, Niki K et al. Estimation of kidney injury molecule-1 (Kim-1) in patients with lupus nephritis. *Lupus* 2014; 1: 1-9.
81. Giasson J, Li GH, Chen Y. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a new biomarker for non-acute kidney injury (AKI) diseases. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2011; 10(4): 272-82.
82. Vishal S, Vaidya VS, Ozer JS, Dieterle F, Collings FB, Ramirez V et al. Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in multi-site preclinical biomarker qualification studies. *Nat Biotechnol* 2010; 28(5): 478-85.
83. Türkyılmaz Z. Karaciğer iskemi-reperfüzyon zedelenmesinde pentoksifilin, dimetilsülfoksit ve eksojen melatoninin koruyucu etkilerinin karşılaştırılması. (tez). Edirne: TÜ Tıp Fak, 2003.
84. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996; 334: 1448- 1460.
85. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am.* 1992; 72: 65–83.
86. Durak I, Canbolat O, Kavutcu M, Ozturk HS, Yurtarslani Z. Activities of total, cytoplasmic, and mitochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patients with lung cancer. *Journal of clinical laboratory analysis* 1996; 10(1): 17-20.
87. Aebi H. Catalase. In: H.U. Bergmeyer, editor. *Methods of enzymatic analysis*. New York and London: Academic Press 1974; 673-677.
88. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of biological chemistry* 1974; 249(22): 7130-9.

89. Van Ye TM, Roza AM, Pieper GM, Henderson J, Johnson CP. et al. Inhibition of intestinal lipid peroxidation does not minimize morphologic damage. *J Surg Res*, 1993; 55(5): 553-558.
90. Austin HA, Boumpas DT, Vaughan EM, Balow JE. High-risk features of lupus nephritis: importance of race and clinical and histological factors in 166 patients. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10(9): 1620-8.
91. Durak I, Kavutcu, M. Kaçmaz M. Avcı A, Horasanlı E, et al. Effects of isoflurane on nitric oxide metabolism and oxidant status of guinea pig myocardium. *Acta anaesthesiologica scandinavica*, 2001; 45(1): 119-122.
92. Conover WJ. *Practical Nonparametric Statistics* 2nd Ed., John Wiley & Sons Chapter 5 Some methods based on ranks, Section 5.2 Several independent samples, 1980; 229-239.
93. Glantzounis GK, Salacinski HJ, Yang W, Davidson BR, Seifalian AM. The contemporary role of antioxidant therapy in attenuating liver ischemia-reperfusion injury: A review. *Liver Transpl* 2005; 11: 1031–1047.
94. Walker LM, Walker PD, Imam SZ, Ali SF, Mayeux PR. Evidence for peroxynitrite formation in renal ischemia-reperfusion injury: Studies with the inducible nitric oxide synthase inhibitor L-N⁶-(1-iminoethyl)lysine. *J. Pharmacol. Exp Ther* 2000; 295: 417.
95. Mark LA, Robinson AV, Schulak JA. Inhibition of nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*, (2005); 129(2): 236-241.
96. Qi S, Xu D, Ma A et al. Effect of a novel inducible nitric oxide synthase inhibitor, FR260330, in prevention of renal ischemia/reperfusion injury in vervet monkeys. *Transplantation* 2006; 81: 627–631.
97. Tsuchihashi S, Kaldas F, Chida N, Sudo Y, Tamura K, et al. FK330, a novel inducible nitric oxide synthase inhibitor, prevents ischemia and reperfusion injury in rat liver transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6(9): 2013-2022.

98. Hayashi T, De Velasco MA, Saitou Y, Nose K, Nishioka T, et al. Carvedilol protects tubular epithelial cells from ischemia–reperfusion injury by inhibiting oxidative stress. *International journal of urology* 2010; 17(12): 989-995.
99. Hayashi T, Saitou Y, Nose K, Nishioka T, Ishii T, et al. Efficacy of carvedilol for ischemia/reperfusion-induced oxidative renal injury in rats. In *Transplantation proceedings* 2008; 40(7): 2139-2141.
100. Parlaktas BS, Atilgan D, Gencten Y, Akbas A, Markoc F, et al. The effects of carvedilol on ischemia-reperfusion injury in the rat testis. *International braz j urol* 2014; 40(1): 109-117.
101. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defenses. *Molecular and cellular biochemistry* 2000; 205(1-2): 1-11.

8. ÖZET

Akut böbrek yetmezliği klinikte sık olarak karşımıza çıkmakta, çoğu zaman I/R hasarı etyolojide rol oynamaktadır. Bu kadar sık görülen renal I/R hasarının patogenezinin aydınlatılması ve koruyucu bir tedavinin bulunması önemli olup, bu konuda birçok çalışma yapılmaktadır.

Çalışmamızda karvedilol ve nebivololün profilaktik olarak kullanımının, renal I/R hasarından koruyucu etkisinin olup olmadığının gösterilmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, her grupta altışar adet olmak üzere toplam 24 adet Wistar albino rat dört gruba rastgele yöntemle eşit olarak dağıtıldı. Birinci grup İskemi-Reperfüzyon grubu, ikinci grup Sham kontrol grubu olup, bu gruplara, ilaç verilen gruplardakine eşit hacimde su verildi. Üçüncü ve dördüncü gruplar sırasıyla karvedilol ve nebivolol verilen gruplar olup, beş gün boyunca 2mg/kg dozunda ilaç verildi. Beşinci günün sonunda, sham kontrol grubu haricinde tüm gruplara laparotomi sonrası sağ nefrektomi yapıp sol renal artere klempe konarak 45 dakika boyunca iskemi uygulandı, ve 24 saatlik reperfüzyon sonrasında laparotomi yapılarak kan, böbrek dokusu ve idrar örnekleri örnekleri alındı. Sham kontrol grubuna ise laparotomi yapıldıktan sonra bilateral renal pediküller görülüp iskemi-reperfüzyon hasarı yapılmadı.

Tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi için doku MDA, GST, Katalaz, NOS ve SOD düzeyleri ile serum BUN, Kreatinin, idrar NGAL ve KIM-1 düzeyleri ölçüldü ve GFR hesaplandı. Bulguların analizinde, iskemi reperfüzyon hasarının böbrekte ciddi histopatolojik bulgular oluşturduğu, GFR'yi azalttığı, doku düzeyi

oksidatif stresi arttırdığı ve böbrek fonksiyon testleri ve inflamatuvar belirteçlerde artışa yol açtığı görüldü.Çalışmada, özellikle karvedilolün KIM-1 ve doku düzeyi GST enzim düzeyleri ile renal histopatoloji üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkileri ön plana çıkarken,istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diğer böbrek fonksiyon testleri ve antioksidan enzim sistemleri üzerine olumlu etkileri görülmüş olup, lipid peroksidasyon belirteci olan MDA ‘da azalmaya neden olmuştur. Nebivolol için, tüm parametrelerde istatistiksel anlamlı sonuç bulunmasa da böbrek fonksiyonel testleri ve doku düzeyi antioksidan enzimler düzeyinde olumlu etkileri ile MDA seviyelerinde azalma tespit edilmiştir. Ancak doku histopatolojisindeki etkileri istatistiksel olarak anlamsız olup karvedilolün gerisinde kalmıştır. Sonuç olarak renal I/R hasarının önlenmesi ve azaltılmasında gerek biyokimyasal parametrelerde gerekse histopatolojik incelemelerde karvedilolün nebivolole üstünlüğü vardır. Ayrıca ABH tespitinde, non invaziv yöntem olarak yeni inflamatuvar belirteçlerin, geleneksel yöntemler kadar etkin olduğu görülmüş olup, literatürdeki erken hasarın tespitindeki rollerini de unutmamak gerekir. Bu sonuçların daha net ortaya konması için,daha geniş tabanlı hayvan gruplarıyla çalışılmasının yararı olacaktır.

Anahtar kelimeler:

Renal İskemi/ReperfüzyonHasarı, Karvedilol, Nebivolol, NGAL,KIM-1

9. ABSTRACT

Acute renal failure is frequently encountered in clinical practice, most of the time I/R injury plays a role as etiological. Elucidation of the pathogenesis of renal I/R injury which has been encountered frequently and protective treatment of renal I/R injury is important, there have been many studies on this subject.

In our study, the use of carvedilol and nebivolol as a prophylactic agent, was aim to show whether the protective effect of renal I/R injury.

In this study, a total of 24 number, including six Wistar albino rats in each group were evenly distributed randomly into four groups. Ischemia-reperfusion group was the first group, second group was sham control group, to these groups, those in the drug-treated group were given an equal volume of water. The third and fourth groups are provided in groups respectively carvedilol and nebivolol, were given drug 2mg/kg for five days. At the end of the fifth day, after laparotomy, right nephrectomy operated to all groups except the sham control group and ischemia was applied for 45 minutes by clamping the left renal artery concomitantly. 24 hours after reperfusion, kidney tissue, blood and urine samples were taken via laparotomy. Ischemia/reperfusion injury was not performed to the sham control group and we have seen bilateral pediküls in sham control group after laparoskopji.

For evaluation of treatment efficacy tissue MDA, GST, katalaz, NOS, SOD levels and serum BUN, kreatinin levels and urine NGAL, KIM-1 levels measured and GFR was calculated. In the analysis of findings, was seen that ischemia reperfusion injury that causes severe histopathological findings in the kidneys,

decrease GFR, tissue oxidative stress level increases and lead to an increase in inflammatory markers and renal function tests. In the study, especially carvedilol's meaningful effects have been prominent on the KIM-1, tissue GST enzyme level and renal histopathology as istatistically, however, although that is not statistically significant, positive effects was seen on other renal function tests and antioxidant enzyme systems and led to a reduction in the MDA which is a lipid peroxidation marker. Although there is no statistically significant results in all parameters with using nebivolol, positive effects have been determined in renal function tests and tissue antioxidant enzyme levels and found that MDA levels have been reduced after nebivolol. But nebivolol's effects have been insignificant on the tissue histopathology as istatistically and has lagged behind of the carvedilol. As a result, carvedilol has an advantage than nebivolol, for preventing and reducing renal I/R injury both in biochemical parameters and in histopathological examination. In addition, for the detection of AKI, of using new inflammatory markers as a non-invasive method, were found to be as effective as traditional methods and we must not forget the role of detection of early damage in literature. To demonstrate more clearly of these results, working with more broad-based group of animals will benefit.

Key words:

Renal ischemia reperfusion injury, carvedilol, nebivolol, KIM-1,NGAL

10. ÖZGEÇMİŞ

1. KİŞİSEL BİLGİLER

Adı : Murat

Soyadı : Küçük

Doğum Yeri ve Tarihi : BEYOĞLU 1986

2. EĞİTİM

DERECE	ÜNİVERSİTE - FAKÜLTE	BİTİRME YILI
Y. Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi	2010
Doktora/Tıpta Uzmanlık	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye ABD	2011-HALEN

3. AKADEMİK DENEYİM

GÖREV DÖNEMİ (YIL)	ÜNVAN	BÖLÜM	ÜNİVERSİTE
4.YIL	ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ	TIP FAKÜLTESİ DAHİLİYE ABD	GAZİ ÜNİVERSİTESİ