

T.C
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STREPTOZOTOSİNLE İNDÜKLENEN DİABETİK
RATLARDA GİNKGO BİLOBA (EGb 761) EKSTRESİNİN
NEFROPATİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Ümit KILIÇ

Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Histoloji ve Embriyoloji Programı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Meryem ÇAM

DÜZCE
2006

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma jürimiz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı Prof. Dr. Meryem ÇAM
(A.İ.B.Ü Üniversitesi)

Üye Yrd. Doç. Dr. Aysel GÜVEN
(A.İ.B.Ü Üniversitesi)

Üye Prof. Dr. Aysel KÜKNER
(A.İ.B.Ü Üniversitesi)

ONAY:

Bu tez Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu'nun kararıyla kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Murat DÖŞOĞLU
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca yakın ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlanma imkanı sunan, bu tezin planlanması içeriğinin oluşturulması, teze ait yorum ve düzeltmelerin yapılması ve tezin her aşamasındaki katkılarından dolayı, hoşgörüsü ve iyi niyetiyle de destek olan, danışman hocam Prof. Dr. Meryem ÇAM' a, her konuda bilgi ve deneyimlerinden yararlanma imkanı sunan değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Aysel GÜVEN'e, laboratuvar çalışmalarında yardımını esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Şerif DEMİR'e, Histoloji ve Embriyoloji ABD asistanları değerli arkadaşlarım Dr. Mesut Erbaş ve Dr. Günce ÜNVER'e, teknisyen arkadaşım Gamze ŞİMŞEK'e, patoloji teknikeri arkadaşım Dinçer KORKMAZ'a istatistik çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Uzm. Dr. Gülbin SEZEN'e, İngilizce çevirilerimde yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Dr. İlknur YORULMAZ'a, tez çalışmam boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen Fizyoloji bölümü Yüksek Lisans öğrencisi değerli arkadaşım Bayram Ali YILDIZ'a, Yüksek lisans öğrenimim boyunca mesai saatlerimin ayarlanmasında ve desteklerinden dolayı A.İ.B.Ü Düzce Araştırma ve Uygulama Hastanesi Anestezi Teknikeri arkadaşlarım Süzgül SÖNMEZ, Nurdan ÖZDEMİRLİ, Türkan FURUNCU ve Züriye ŞAHİN'e, çalışma arkadaşlarıma, bana her zaman maddi ve manevi destek olan ve benden hiçbir zaman sevgi ve desteklerini eksik etmeyen aileme, Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca her konuda yardımını esirgemeyen, manevi olarak en büyük desteği aldığım iyi niyeti, sabrı ve hoşgörüsüyle beni her zaman destekleyen ve yalnız bırakmayan sevgili eşim **Seval KILIÇ**'a sonsuz teşekkürler.

ÖZET

Bu çalışma, streptozotosin (STZ) ile indüklenen diabetik ratlarda, böbreklerde oluşan histolojik değişiklikler üzerine ginkgo bilobanın etkilerinin araştırılması amacıyla planlandı.

Çalışmada Wistar Albino cinsi 40 adet erişkin erkek rat kullanıldı. Ratlar, kontrol, diabetik grup, ginkgo verilen diabetik grup ve çözücü verilen grup olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deneysel Diabet, diabetik ve ginkgo verilen diabetik gruplarda tek doz STZ'nin (60 mg/kg) intraperitoneal uygulanması ile oluşturuldu. Diabet oluşturulduktan sonra, ginkgo grubuna 40 gün süresince her gün 100 mg/kg ginkgo biloba ekstresi oral olarak verildi. Deney süresince ratların kan-glikoz seviyeleri ve vücut ağırlıkları takip edildi. 40. gün ratlar eter anestezisi altında dekapite edilerek böbrekler alındı. Rutin doku takibinden sonra, parafine gömüldü. Histokimyasal boyamaların ardından, kesitler ışık mikroskopta incelendi.

Diabet grubundaki ve ginkgo verilen gruptaki ratların, kontrol ve çözücü verilen gruba göre kan-glikoz düzeyleri önemli derecede yükselirken, vücut ağırlıkları belirgin şekilde azaldı. Diabetik grupta glomerüllerde, bazal membran kalınlaşması, mezengial matriks genişlemesi, glomerüloskleroz, tübüllerde vakuolizasyon, tübüler nekroz, hidropik dejenerasyon, hücre şişmesi gibi temel histolojik değişiklikler gözlemlendi. Uygulanan ginkgo biloba ekstresi ile bu bulguların önemli ölçüde hafiflediği tesbit edildi.

Ginkgo biloba ekstresi (EGb 761), STZ ile ratlarda oluşturulan diabetin neden olduğu böbrek hasarını azalttı. Bu yüzden Ginkgo biloba ekstresinin diabetik böbrek hasarının gelişimini önleyeceğini veya patolojik bulguları azaltacağını düşünmekteyiz. Yine de diabetik komplikasyonlar üzerindeki yararlı etkisini göstermek için uzun süreli kullanımlarla ilgili, ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Deneysel diabet, Ginkgo biloba, Böbrek, Diabetik Nefropati, Streptozotosin

ABSTRACT

Present study was designed to evaluate the effects of ginkgo biloba extracts on the kidneys of diabetic rats induced by streptozotocine (STZ).

40 adult male Wistar albino rats were used. Rats were divided into four groups as control, diabetic group, ginkgo biloba administered diabetic group and group exposed to solvent only. Experimental diabetes was induced by intraperitoneal application of 60mg/kg STZ to diabetes group and ginkgo biloba administered diabetes group. After the induction of diabetes, every day 100 mg/kg ginkgo biloba extract was administered orally to the ginkgo group for 40 days. Throughout the experiment blood glucose levels and body masses of the rats was monitored. On 40th day rats were decapitated under ether anesthesia and their kidneys were removed. The tissue samples were embedded in paraffine. After histochemical staining the sections were investigated under light microscopy.

While blood glucose level of the diabetes group was significantly higher compared with the control and solvent groups, the body mass significantly decreased. Basic glomerular and tubular histologic changes caused by diabetes, like thickening of the basal membrane, expansion of the mesenchymal matrix, glomerulosclerosis, tubular necrosis, hydropic degeneration, cellular swelling, vacuolization, were observed. These changes were observed significantly less in the ginkgo biloba group

Ginkgo biloba extract (Egb 761) decreased kidney damage in diabetes in rats induced with STZ. We therefore believe that ginkgo biloba extracts may help preventing the development of kidney damage and decrease the amount of pathologic findings in diabetes. Further studies are still necessary to demonstrate the efficacy of long term ginkgo biloba use on diabetic complications.

Key words: Experimental diabetes, ginkgo biloba, kidney, diabetic nephropathy, streptozotocine

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	ix
TABLOLAR	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. BÖBREK ANATOMİSİ	4
2.2. BÖBREK EMBRİYOLOJİSİ	5
2.3. BÖBREK HİSTOLOJİSİ	7
3. GEREÇ VE YÖNTEM	13
3.1. Histolojik Değerlendirme	14
3.2. İstatistiksel Analiz	14
4. BULGULAR	15
4.1. Glomerüllerdeki Değişiklikler	15
4.2. Tübüler Değişiklikler	16
5. TARTIŞMA	26
6. KAYNAKLAR	33

ŞİMGELER VE KISALTMALAR

CDDP	:	Sispilatin
EDRF	:	Endotelium Derived Relaksing Faktör
EGB 761	:	Ginkgo Biloba
GBE	:	Ginkgo Biloba Ekstraktı
GBM	:	Glomerüler Bazal Membran
IDDM	:	İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus
I/R	:	İskemi Reperfüzyon
JG	:	Jukstaglomerüler
MDA	:	Malondialdehid
NIDDM	:	İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
NO	:	Nitrik Oksit
PAF	:	Platelet Activating Faktör
PAS	:	Periyodik Asid Schiff
SOD	:	Süperoksid Dismutaz
SOR	:	Serbest Oksijen Radikalleri
STZ	:	Stereptozotosin
TGF	:	Transforming Growt Faktör

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
Şekil1.Böbreğin genel düzenlenmesi, nefron ve buna bağlı toplayıcı kanal ve tübüllerin bölümleri	11
Resim1. Kontrol grubu; Glomerül ve tübül	18
Resim 2. Diabetik grup; Glomerüloskleroz ve tübülerde hidropik dejnerasyon	18
Resim 3. Ginkgo grubu; Kontrole yakın görünüm glomerül ve tübül	19
Resim 4. Kontrol grubu; Glomerül, kapiller, bazal membran, mezengial hücre	19
Resim 5. Diabetik grup; Glomerülde intertisyel mezengial matriks artışı, bazal membran kalınlaşması ve kapiller	20
Resim 6. Ginkgo grubu; Kontrole yakın görünümde Glomerül intertisyel matriks alanları, bazal membran, kapiller	20
Resim 7. Kontrol grubu; Glomerülde, intertisyel mezengial alan ve kapiller	21
Resim 8. Diabetik grup; Glomerülde, mezengial matriks artışı, kapiller	21
Resim 9. Ginkgo grubu; Glomerülde, kontrole yakın görünümde, mezengial matriks alanları ve kapiller	22
Resim10. Kontrol grubu; Proksimal tübül, distal tübül, kapiller, bazal lamina	22
Resim11. Diabetik Grup; Proksimal tübüllerde vakuolizasyon ve hidropik dejenerasyon. Heterokromatik çekirdek, bazal lamina	23
Resim12 Ginkgo grubu; Kontrole yakın görünümle birlikte yer yer tübüler vakuolizasyon, bazal lamina	23
Resim13. Diabetik grup; Kortekste damar çevresinde lenfosit infiltrasyonu	24
Resim14. Kontrol grubu; Tübüller arası intertisyel alan kapiller,distal tübül, proksimal tübül	24
Resim 15. Diabetik Grup; Proksimal tübüllerde hidropik dejenerasyon Tübüller arası intertisyel alan	25
Resim16. Ginkgo grubu; Kontrole yakın görünümde, tübüller arası intertisyel alan ve kapiller	25

TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
1: Deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları, kan glikoz değerleri	16
2: Deney hayvanlarının glomerül ölçümleri	17
3: Tübüller ve glomerüldeki histolojik değişiklikler	17

1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus, genetik ve çevresel faktörlerden etkilenecek oluşun, kronik bir hiperglisemi durumudur. Hiperglisemi, insülin hormonunun azlığı, yokluğu veya insülin direnci sonucu meydana gelir. (Hasselbaink DM ve ark, 2003)

Günümüzde hastaların yaklaşık %30-40'ında izlenen nefropati diabetin en önemli komplikasyonları arasında gösterilmektedir. (Wang JJ, 2005)

Diabetik nefropati, diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarının en önemlisidir. (American Diabetes Association, 2000; Cha DR, 2004)

Diabetes Mellitus'un uzun dönemli komplikasyonlarından olan diabetik nefropati, erken dönemde glomerül ve tübül bazal membranlarının kalınlaşması, glomerül mezangiumunda ekstrasellüler matriks elemanlarının birikmesi, glomerül ve tübül epitelinde hipertrofi ile ilgili yapısal değişimleri içerir. (Cortes ve ark, 1987; Tucker ve ark, 1991).

Glomerüler bazal membranda kalınlaşma, extraselüler matriks genişlemesi sonucu, glomerüler hiperfiltrasyon ve mikro albuminüri olduğunu gösteren çalışmalar vardır. (Sakharova ve ark, 2001)

Glomerüler, tübüler ve tübülointertisyel yapı değişikliklerini içeren diabetik böbrek hasarının gelişim mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. (Carl-David ve ark, 2002)

DM ile ilişkili çeşitli deneysel modellerde böbrek boyutunda, glomerüler filtrasyon hızında, renal kan akımında ve böbrek fonksiyonlarında belirgin bir artışa bağlı olarak böbrek lezyonlarında, idrar ile albümin atılımında artış olduğu bildirilmiştir. (Hirose ve ark, 1982; Cha T ve ark, 1991; Gambaro ve ark, 1992)

Glomerül hemodinamiğindeki ciddi değişimlerin sonucu ortaya çıkan mikroalbuminüri IDDM ve NIDDM'li hastalarda renal hasarların erken bir bulgusu olarak kabul edilir. (Mogensen ve ark, 1984; Lehmann ve ark, 2000)

Hipergliseminin, serbest oksijen radikallerini arttırması ve koruyucu antioksidan kapasiteyi düşürmesiyle ortaya çıkan oksidatif stresin diğer diabetik komplikasyonlar gibi böbrek üzerinde de önemli etkileri olabileceği bildirilmektedir. (Baynes JW, 1999; Vural ve ark, 2001; Baydas ve ark, 2002)

Düşen antioksidan kapasitenin daha fazla hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktiflerin oluşumunu hızlandırıp, bu şekilde doku hasarını kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Bu yüzden son yapılan çalışmalar, diabet ve serbest oksijen radikallerinin üretimi arasındaki ilişki üzerine yoğunlaşmaktadır. (Vural ve ark, 2001; Baydas ve ark, 2002)

Ginkgo biloba, dünyanın bilinen en eski ağaç türlerinden biridir. Ginkgo biloba ekstreleri binlerce yıldan beri geleneksel Çin tıbbında ürogenital sistem, akciğer, beyin hastalıkları ve dolaşım bozukluklarında tedavi amacı kullanılmaktadır. (Mc Kenna ve ark, 2001)

Ginkgo biloba ekstrelerinin yaşlı hastaların konsantrasyon ve hafıza sorunları, enerji eksikliği ve yorgunluk durumlarında, anksiyetede ve depresif şikayetlerde, baş dönmesi ve kulak çınlamasında düzeltici etkileri olduğu belirtilmiştir. İlaç olarak dejeneratif yada multi infarkt demansta da kullanılmaktadır. (Monograph, 1998)

Ginkgo biloba ekstresinin, kardiovasküler sistemde arter, ven ve kapiller yapıları, eritrosit ve trombositlere, kapiller perfüzyona etkileri olduğu bildirilmektedir. (Mc Kenna ve ark, 2001)

Ginkgo biloba'nın etkisi içeriğindeki tek bir maddeye ya da birçok maddenin kombine etkilerine bağlı olarak ortaya çıkabilir. İçerdiği en önemli maddeler flavonoidler ve terpenoidlerdir. (Monograph, 1998; O'Hara ve ark, 1998)

Ginkgo biloba'nın metabolik ve nörohormonal düzenleyici mekanizmalar yoluyla vasküler yapı, kan elemanları ve diğer vücut sıvılarını da etkilediği düşünülmektedir. Bu mekanizmaların iskemik serebrovasküler olaylarda kombine olarak çalıştığı ve multifaktöriyel rol oynadığı düşünülmektedir.

Günümüzde kullanılan standart Ginkgo Biloba Extresi (Egb 761) içinde %24 oranında flavon glikozidler, %6 oranında terpenoidler ve çeşitli organik asitler bulunur. Flavon glikozidler; quersetin, kempferol ve izorhamnetin bileşiklerinden oluşur. Bunların güçlü antioksidan özellikleri vardır. Ortamda bulunan süperoksit, hidroksil ve peroksil radikalleri gibi serbest radikalleri yakalayarak hücreleri lipid ve protein oksidasyonuna karşı korurlar. (Maitra I ve ark, 1995; Monograph, 1998)

Terpenoidler; bilobalid ve ginkgolidler (ginkgolid A, B, C, M ve J)'den oluşur. Ginkgolid-B, platelet aktive edici faktörün (PAF) kuvvetli inhibitörüdür. (Braquet, 1987; Smith ve MacLenman,1996; Monograph, 1998)

Ginkgo Biloba Ekstresi, dokularda kan dolaşımını arttırarak hücrelerin oksijen alımını arttırır ve ortamda bulunan toksinlerin temizlenmesini sağlar. Bunun yanında güçlü antioksidan, anti inflamatuvar ve nöron koruyucu özelliğinden dolayı birçok hastalığın tedavisinde de yararlı olabileceğini vurgulayan çalışmalar bulunmaktadır. (Leubuisen ve ark, 1986; Monograph, 1998; Liebgott ve ark, 2000)

Bu çalışmanın amacı, diabetik nefropatide görülen patolojilerin antioksidan uygulanmasıyla düzelebileceğine dair görüşler doğrultusunda, stereptozotosinle indüklenen deneysel diabet modelinde böbrekte gelişebilecek histolojik değişiklikler üzerine Ginkgo Biloba Ekstresinin koruyucu etkilerinin histokimyasal olarak incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BÖBREK ANATOMİSİ

Böbrekler, karın boşluğunun arka bölümünde, columna vertebralis'in iki yanında retroperitoneal olarak bulunan iki kırmızımsı, kahverengi organdır. İskelete göre 12. göğüs omurunun üst kenarı ile 3. bel omuru arasındadır. Sağ böbrek karaciğer ile komşuluğu nedeniyle sol böbreğe göre biraz daha aşağıdadır. (Çimen A, 1992)

Böbrek 11 cm uzunluğunda, 6 cm genişliğinde, 3 cm kalınlığındadır. Sol böbrek daha uzun ve dardır. Şekil bakımından fasulye'ye benzeyen böbreğin öne ve dışa bakan ön yüzü (facies anterior), arkaya ve içe bakan arka yüzü (facies posterior), iç ve dış kenarları (margo lateralis, margo medialis), üst ve alt iki ucu (extremitas superior, extremitas inferior) vardır. Böbrekler ayakta iken, sırtüstü yatış konumuna göre 2,5 cm aşağıda yer alır. (Çimen A, 1992)

Böbreklerin medial kenarlarında bulunan yarığa hilum renale denir. Böbrek içindeki sinüs renalis denilen boşluğa uzanır. Bu boşlukta, kaliks'ler, böbrek damarları ve yağ dokusu bulunur. Toplayıcı kanalların açıldığı papilla renalisler, sinüs renalis'in duvarındadır. Sayıları 7–13 arasında olan kaliks minörlerin 2 yada 3 tanesi birleşerek kaliks majörleri oluşturur. Her böbrekte, 2 yada 3 tane olan kaliks majör'ler birleşerek pelvis renalis'i yapar. Böbrekler, dıştan içe doğru; Corpus adiposum pararenale; dışında fascia transversalis vardır. Fascia renalis; böbreği ve suprarenal bezi birlikte sarar. Capsula adiposa (perirenal yağ tabakası) Capsula fibrosa ile sarılıdır. Böbrekleri pozisyonunda tutan esas faktör, komşu organların pozisyonudur. Fascia renalis'in de böbreklerin pozisyonunda tutulmasında rolü vardır. Bu fasya, suprarenal bezi sardıktan sonra, yukarıda diyafragma'nın fasyası, aşağıda ise fascia iliopsoas ile devam eder. Böbrek kesitlerinde; cortex renalis (dışta), ve medulla renalis (içte) denilen iki tabaka görülür. Medulla renalis'i, pyramis renalis denilen 5–11 (genellikle 8) tane koni şeklindeki oluşumlar yapar. Renal piramidlerin uçlarına papilla renalis denir. Her bir kaliks minör'e, 1–3 tane papilla renalis açılır. Bir pyramis renalis ve onu kuşatan korteks parçasına birlikte lobus renalis (bir böbrek lobu) denir. Buna göre, bir böbrekte piramit sayısı kadar böbrek lobu bulunur. Pyramis renalis'lerin arasında, sinüs renalis'e doğru uzanan korteks parçasına

columna renalis (Bertin sütunu) adı verilir. Pyramis renalis'lerin tabanlarından kortekse doğru olan ışınal uzantılara radii medullares denir. Bir stria medullaris ile onun her iki yanındaki korteks parçasına birlikte lobulus renalis (bir böbrek lobçuğu) denir. İki stria medullaris arasında kalan korteks parçasına pars convoluta adı verilir. Corpusculum renale'ler ve idrar kanalcıklarının bir bölümü buradadır.(Ozan H, 2005)

2.1.1. Böbreklerin Damarları ve Sinirleri: Böbrekler, L1-L2 vertebralar arası diskus seviyesinde, aorta abdominalis'ten ayrılan A.renalis'ler tarafından beslenir. V. renalis'ler, v. cava inferior'a açılır. Lenf damarları, nodi aortici laterales (paraaortik lenf düğümleri)'e gider. Sempatikleri T10-L1 den, parasempatikleri n.vagus'tan gelir. (Ozan H, 2005)

2.2. BÖBREK EMBRİYOLOJİSİ

İnsanlarda intrauterin dönemde kranialden kaudala doğru, üç böbrek sistemi oluşur: Pronefroz, mezonefroz ve metanefroz. Bu sistemlerden birincisi rudimenter ve işlevsizdir. İkinci sistem intrauterin yaşamın erken döneminde kısa süre fonksiyon gösterebilir. Üçüncü sistemden ise kalıcı böbrekler oluşur. (Langman's, 1996)

İnsan embriyosunda, pronefroz servikal bölgedeki 7–10 adet solid hücre topluluğu tarafından temsil edilir. Daha kaudaldeki oluşmadan önce, ilk oluşan nefrotomlar regrese olduğundan, 4. haftanın sonunda pronefrik sisteme ait tüm yapıların izleri kaybolmuş olur. (Langman's, 1996)

Mezonefroz ve mezonefrik kanallar, üst torasikle üst lumbar (L3) segmentlerin intermediate mezoderminden gelişirler. Gelişimin 4. haftasının başlarında mezonefroza ait ilk boşaltım tübülleri belirmeye başlar. Bu tübüller boyca hızla uzarlar, S şeklinde bir halka şeklini alırlar ve medial uzantılarının ucunda bir glomerulus elde ederler. Burada tübüller Bowman kapsülünü oluştururlar. Kapsül ve glomerül birlikte renal korpuskülü meydana getirirler. Tübülüs lateralden, mezonefrik veya Wolffian kanalı olarak bilinen longitudinal toplayıcı kanala girer.

İkinci ayın ortasında, mezonefroz orta hattın her iki yanında büyük ve oval şekilli bir organ haline gelir. Kaudaldeki tübüller farklanmaya devam ettiğinden, kranial tübüller ve glomerüller dejeneratif değişiklikler gösterir ve ikinci ayın sonunda büyük bir çoğunluğu tümüyle yok olur. (Langman's, 1996)

Üçüncü üriner organ olan metanefroz veya kalıcı böbrek, 5. haftada belirir. Mezonefrik sistemde olduğu gibi, bu sistemin boşaltım birimi de metanefrik

mezodermiden gelişir. Ancak, kanal sisteminin gelişimi diğer böbrek sistemlerinden farklıdır. Kalıcı böbreğin toplayıcı kanalları, mezonefrik kanalın kloakaya girişine yakın noktasında yer alan, bir çıkıntı halindeki üreter tomurcuğundan gelişir. Bu tomurcuk, metanefrik doku içine penetre olur. Penetrasyonun ardından üreter tomurcuğu genişleyerek primitif renal pelvisi oluşturur ve gelecekteki ana kaliksleri oluşturmak üzere kranial ve kaudal parçalara ayrılır. (Langman's, 1996)

Kalikslerin herbiri, metanefrik dokuya penetre olurken iki yeni tomurcuk oluşturur. Bu tomurcuklar 12 ve daha fazla sayıda tübül oluşturana kadar bölünmeye devam ederler. Bu sırada, periferde de 5. ayın sonuna kadar bir miktar tübül daha oluşur. İkinci jenerasyondaki tübüller genişleyerek, üç ve dördüncü jenerasyona ait tübülleri absorbe ederek renal pelvisin minör kalikslerini oluştururlar. Gelişimin daha sonraki evrelerinde, 5. ve takibeden jenerasyonun toplayıcı tübülleri boyca uzarlar ve minör kaliksler içine doğru toplanarak renal piramidleri meydana getirirler.

Yeni oluşan her toplayıcı tübül, distal uçtan bir metanefrik doku şapkasıyla örtülüdür. Bu metanefrik doku içindeki hücreler, tübüllerin indükleyici etkisiyle renal vesikül olarak bilinen küçük kesecikleri oluştururlar; daha sonra bunlardan da küçük tübüller meydana gelir. Bu tübüller glomerül adı verilen kapiller yumaklarıyla birlikte nefronları veya boşaltım birimlerini oluşturur. Her nefronun proksimal ucu, glomerül tarafından derin şekilde yaylandırılmış Bowman kapsülünü oluşturur. Tübülün distal ucu ise, Bowman kapsülünden toplayıcı kanallara geçişi sağlayacak şekilde, toplayıcı kanallardan biriyle ilişki kurar. Boşaltıcı tübüllerin uzamaya devam etmesi sonucu proksimal kıvrıntılı tübüller, Henle halkası ve distal kıvrıntılı tübüller meydana gelir. (Langman's, 1996)

Başlangıçta pelvis içinde yer alan böbrek, daha sonra karın içinde daha yukarı bir lokalizasyona çıkar. Böbreğin bu yükselişi, vücudun dikleşmesi yanında lumbar ve sakral bölgelerdeki büyümesinde bir sonucudur. Metanefroz pelviste, arteriyel kan dolaşımını aortanın pelvik bir dalından alır. Böbreğin arteriel dolaşımı, karın boşluğundaki yükselişi sırasında da, her seferinde aortanın daha yukarı kesimlerinden ayrılan arterler yoluyla sağlanmaya devam eder. Bu süreç boyunca bir altta kalan önceki arterler genellikle dejenere olurlar. (Langman's, 1996)

Metanefroz veya kalıcı böbrek, birinci trimesterin sonunda fonksiyonel hale gelir. İdrar amnion boşluğuna geçer ve amnion sıvısıyla karışır. Bu karışım, fetus

tarafından yutulur ve bebeğin sindirim sistemine girer. Burada emilerek kan dolaşımına geçer ve tekrar böbrekler tarafından amnion sıvısına atılır. Fetal yaşam süresince, yıkım ürünlerinin atılımından, bu görev placentanın tarafından üstlenilmiştir olduğundan, böbrekler sorumlu değildir. Doğumda böbrekler lobüle görünümündedir. Nefronların büyümeye devam etmeleri nedeniyle 1. yaşın sonunda lobüle görünüm kaybolur. Ancak nefron sayısında değişiklik olmaz.

2.3. BÖBREK HİSTOLOJİSİ

Her böbrekte sinirlerin girdiği, kan ve lenf damarlarının girip çıktığı ve üreterin çıktığı hilumu vardır. Üreterin genişlemiş üst bölümü olan böbrek pelvisi iki yada üç, majör kalise bölünmüştür. Her majör kalisten birkaç küçük, minör kalis dallanır. (Junqueira LC ve ark, 2006)

Böbrek dışta korteks ve içte medulla olmak üzere iki bölüme ayrılabilir. Böbrek yüzeyi ince bir sıkı bağ dokusu kapsülü ile örtülüdür. Kapsülün dış tabakası fibroblastlar ve kollajen lifler, iç tabaka miyofibroblastlardan zengindir. (Ross MH ve ark, 1995)

Nefron, böbreğin yapısal fonksiyonel birimidir. Her böbrek 2 milyon nefron içerir. İki tip nefron bulunur: kısa kortikal nefronlar ve uzun jukstamedullar nefronlar. Her nefron genişlemiş bir bölüm olan renal cisimcik, proksimal kıvrımlı tübül, henle kangalının ince ve kalın uzantıları, distal kıvrımlı tübül, toplayıcı tübül ve kanallardan oluşmaktadır. (Ross MH ve ark, 1995; Junqueira LC ve ark, 2006; Gardner LP ve ark, 1997)

Renal cisimciğin çapı yaklaşık 200 µm dir ve kapiller bir yumak olan glomerülden oluşmuştur. Bu yumak, **Bowman kapsülü** olarak adlandırılan iki tabakalı epitelyal bir kapsülle sarılmıştır. Kapsülün iç tabakası (**viseral tabaka**) glomerülün kapillerlerini içine alır. Dış tabaka (**pariyetal tabaka**) renal cisimciğin en dıştaki sınırını oluşturur. Bu iki tabaka arasında, idrar boşluğu bulunur. Her böbrek cisimciğinde, aferent arteriyollerin girdiği ve eferent arteriyollerin çıktığı damar kutbu ve proksimal kıvrımlı tübüllerin başladığı idrar kutbu bulunur. (Junqueira LC ve ark, 2006)

Pariyetal tabaka ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. İdrar kutbunda epitel, tek katlı prizmatik yada tek katlı kübik epitele değişir. Embriyonik gelişim sırasında pariyetal tabakanın epiteli

nispeten değişmeksizin kalırken içteki viseral tabaka büyük ölçüde değişir. İç tabakadaki hücrelerin gövdelerinden birkaç birincil uzantı şekillenir ve **podosit** adını alır. Her bir primer uzantı **pedisel** denen ikincil uzantıları oluşturur. Pediseller, bazal lamina ile doğrudan temas halindedirler. Ancak podositlerin hücre gövdeleri bazal laminaya değmez. Podositlerin sekonder uzantıları kenetlenerek süzülme yada filtrasyon yarıklarını oluşturur. Podositlerin sitoplazmasında aktin mikroflaman demetleri vardır. (Junqueira LC ve ark, 2006)

Glomerül kapillerlerindeki endotel hücreleriyle, podositler arasında kalın bir bazal membran bulunur. Yaklaşık 300 nm kalınlığındadır. Bu bazal membran lamina densa ve lamina rara olarak oluşur. Lamina densa fibronektin içerir. Lamina densa heparan sülfat içeren bir matriks içinde tip IV kollojen ve lamininin oluşturduğu ağ şeklinde bir yapıdır. (Gardner LP ve ark, 1997; Junqueira LC ve ark, 2006)

Glomerül kapillerlerinin endotel hücreleri pencerelidir ancak diğer pencereci kapillerlerin açıklıklarını kaplayan ince perdeye sahip değildirler. (Junqueira LC ve ark, 2006)

Endotel hücreleri ve podosit ayaklarının yanı sıra glomerül kapillerlerinin duvarlarına tutunan **mezengiyal hücreleri** vardır. Mezengiyal hücreler extraselüler matriksi oluşturur. Bu hücreler kasılabilir, anjiyotensin II reseptörleri vardır. Bu reseptörler etkinleştğinde, glomerül kan akımı azalır. Mezangiyal hücreler glomerüle yapısal destek verirler, hücre dışı matriksi sentezler, endositoz gerçekleştirir, normal ve patolojik molekülleri uzaklaştırırlar. (Ross MH ve ark, 1995; Junqueira LC ve ark, 2006)

Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epiteli idrar kutbunda **proksimal kıvrımlı tübüllerin** kübik ya da alçak prizmatik epiteli ile devam eder. Proksimal tübül yaklaşık 60 µm çapında 14 mm uzunluğundadır. Hücreleri çok sayıdaki uzamış mitokondrisi nedeniyle asidofilik sitoplazmaya sahiptir. Hücrenin apikal yüzünde fırçamsı kenarı oluşturan yaklaşık 1 µm uzunluğunda, çok sayıda mikrovillus bulunur. Hücrelerin büyük olması nedeniyle her enine kesitte, üç ile beş adet küre biçiminde çekirdek bulunur. Histolojik örneklerde fırçamsı kenar genellikle düzensizleşmiş, tübüllerin lümeni büyük oranda küçülmüş ve daralmıştır. Hücrelerin apikal stoplazmalarında mikrovilluslarının tabanları arasında çok sayıda kanalcık bulunur; bu kanalcıklar proksimal tübül hücrelerinin

makromolekülleri emme yeteneğinde etkin rol oynarlar. Bu hücrelerin taban bölümlerinde yoğun iç girintiler ve komşu hücreler arasında yan kenetlenmeler bulunur. Sodyum iyonlarının aktif olarak hücre dışına atılmasından sorumlu olan sodyum pompası bazolateral zarlarda bulunur. (Gardner LP ve ark, 1997; Junqueira LC ve ark, 2006)

Böbrek cisimciğinde oluşan glomerül süzüntüsü proksimal kıvrımlı tübüllere geçer. Proksimal kıvrımlı tübüller süzüntüdeki glikoz ve aminoasitlerin tümünü suyun ve sodyum klorürün %85'ini ve ayrıca fosfat ve kalsiyumu emer. Glikoz, aminoasitler ve sodyum, proksimal tübül hücreleri tarafından emilirler. Ayrıca proksimal kıvrımlı tübüller kreatinin, paraaminohippurik asit ve penisilin gibi vücuda yabancı olan maddeleri idrara geçirirler. Bu olay tübüler salgılama olarak tanımlanan aktif bir işlemdir. (Junqueira LC ve ark, 2006)

Henle kangalı, bir kalın inen kol, bir ince inen kol, bir ince çıkan kol ve bir kalın çıkan koldan oluşan U şeklinde bir yapıdır. Kalın çıkan kol yapıcı distal kıvrımlı tübüllere çok benzer. Medüllanın dış kısmında, dış çapı 60 µm olan kalın inen kol birdenbire 12 µm'ye daralarak inen kolun ince bölümü olarak devam eder. Nefronun bu bölümünün lümeni geniştir çünkü duvar epitelinin çekirdekleri yalnızca çok hafif şekilde lümene doğru çıkıntı yapan yassı epitel hücrelerinden oluşur.

Bütün nefronların yaklaşık yedide biri kortikomedüller sınırın yakınında bulunur, bu yüzden jukstamedüller nefronlar adını alırlar. Diğer nefronlara ise kortikal nefronlar denir. Bütün nefronlar süzme, emilim ve salgılama işlemlerinde rol alırlar. Jukstamedüller nefronların Henle kangalı çok uzundur ve medüllanın derinliklerine inerler. Henle kangalı su tutma işleminde rol oynar, kangalın inen ince kısmının suya geçirgen olmasına karşın çıkan bölümün tümü su geçirmez. Medulla interstisyumunda idrarın yoğunlaşmış hale gelmesi için gereken medüller hipertonsite gradyanının sağlanması için çıkan kalın kolda sodyum klorür aktif olarak tübülden dışarı atılır. (Junqueira LC ve ark, 2006)

Henle kangalının çıkan kalın kolu kortekse girer, belli bir yolu katettikten sonra, bükülür ve **distal kıvrımlı tübülleri** oluşturur. Bu tübül çıkan kol gibi tek katlı kübik epitelle döşelidir. Distal tübül hücreleri proksimal tübül hücrelerine göre daha düz ve daha küçük olduğu için distal tübülden proksimal tübülden olduğundan daha fazla sayıda çekirdek görülür. Distal kıvrımlı tübül hücreleri jukstaglomeruler

bölgede genellikle prizmatik hale dönüşür ve çekirdekleride bir araya toplanır. Çoğu hücrenin bazal bölümünde Golgi kompleksi bulunur. Mikroskopik örneklerde çekirdeklerin yakın yerleşimi yüzünden daha koyu renkli görünen bu distal tübül segmenti **maküla densa** olarak adlandırılır. Maküla densa hücreleri, dolaşıma renin salgısını başlatan moleküler sinyaller üretirler.

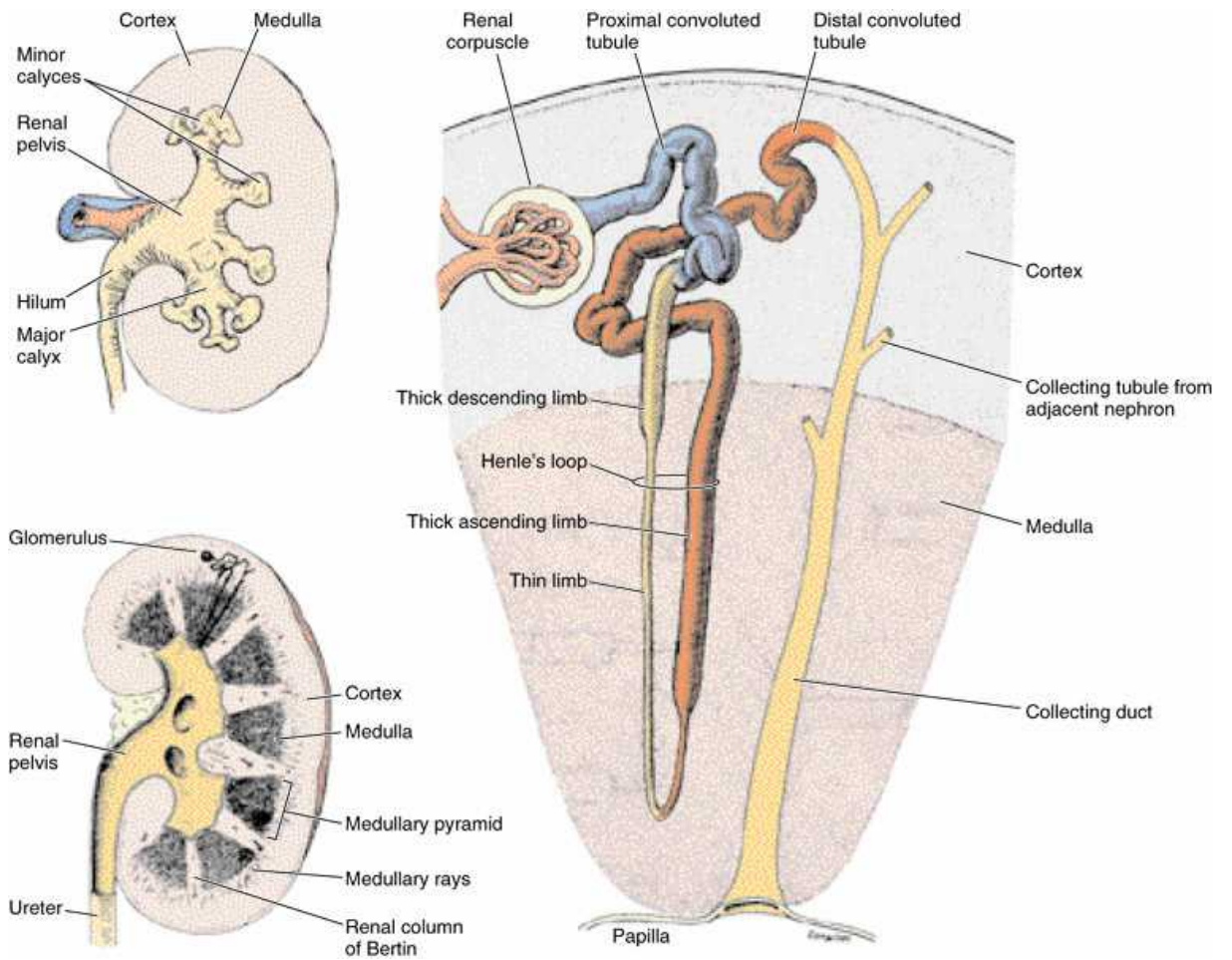
Distal kıvrımlı tübüllerde aldosteron yoğunluğu yeterince yüksek olduğunda iyon değişimi gerçekleşir, sodyum emilir, potasyum iyonları dışarı verilir. Bu düzenek vücudun toplam su ve tuz içeriğini etkiler. Distal tübül aynı zamanda tübüldeki idrara hidrojen ve amonyum iyonlarını salar. Bu etkinlik kandaki asit baz dengesinin korunmasında çok önemlidir. (Junqueira LC ve ark, 2006)

Distal kıvrımlı tübüllerden geçen idrar, birbirlerine bağlanarak daha büyük, düz toplayıcı kanalları oluşturan toplayıcı tübüllere boşalır. Bu kanallar medüller piramidlerin ucuna yaklaştıkça genişler.

Küçük toplayıcı tübüller kübik epitelle döşelidir ve çapları ortalama 40µm dir. Bu tübüller medüllerin derinliklerine doğru indikçe hücrelerin boyu prizmatik olana kadar uzar. Sitoplazmaları az sayıda organel içerir ve elektron geçirgendir. Işık mikroskobu ile bakıldığında toplayıcı tübül ve kanal hücrelerinin hücrelerarası sınırları net olarak seçilebilir. Medüllada idrar yoğunlaştırma işleminde en önemli rolü toplayıcı kanallar oynar. Antidiüretik hormon varlığında, lümen zarında yer alan zar içi tanecikler su Emilimi için kanallar oluşturabilecek şekilde toplanırlar.

Böbrek cisimciğinin bitişiğinde afferent arteriyolün tunika mediasında değişmiş düz kas hücreleri bulunmaktadır. Bu hücrelere **jukstaglomerüler (JG)** hücreler adı verilir. Bunların sitoplazmaları salgı granülleri ile doludur. Jukstaglomerüler hücrelerin salgısı kan basıncının korunmasında rol oynamaktadır. Distal kıvrımlı tübüllerde bulunan maküla densa, jukstaglomerüler hücrelerin yer aldığı afferent arteriyol kısmına çok yakındır. Getirici arteriyolün bu kısmı ile maküla densa birlikte **jukstaglomerüler aygıtı oluşturur**. Jukstaglomerüler aygıtın bir bölümünü de işlevleri iyi anlaşılamamış açık renk boyanan hücreler oluşturur. Bu hücrelere **ekstraglomerüler mezangiyal hücreler** veya **lacis hücreler** adı verilir. Afferent arteriyolün membrana elastika internası JG hücrelerin bulunduğu bölgede kaybolur.

Elektron mikroskopla incelendiğinde JG hücreleri bol miktarda kaba endoplazma retikulumu, iyi gelişmiş golgi kompleksi ve çapları yaklaşık 10-40nm olan salgı granülleri dahil protein salgılayan hücelere özgü özellikler sergilerler. JG hücreler, anjiotensinojen denen plazma proteinini inaktif bir dekaeptid olan anjiotensin I 'e dönüştürecek olan renin hormonunu üretirler. Anjiotensin I , akciğer endotel hücrelerinde yüksek yoğunlukta bulunan dönüştürücü bir enzimin etkisiyle iki aminoasitini kaybederek etkin vazopresif bir oktapeptid olan anjiotensin II 'ye dönüştür. (Junqueira LC ve ark, 2006)



Şekil 1. Böbreğin genel düzenlenmesi, nefronun ve buna bağlı toplayıcı kanal ve tübüllerin bölümleri. (Junqueira LC ve ark, 2006)

Böbrek, kanı renal arterden alır. Renal arter organa girmeden önce iki dala ayrılır. Dallardan birisi böbreğin ön bölümüne, diğeri arka kısma uzanır. Bu iki dal hilumda tekrar dallanarak interlobar arterleri oluşturan dalları yapar. Kortikomedüller

bileşke düzeyinde interlobar arterler arkuat arterleri oluşturur. Arkuat arterlerden dik açılarla dallanan interlobüler arterler böbrek kapsülüne dik şekilde korteks içinde ilerler. Aferent arteriyoller, interlobüler arterlerden ayrılır. Kan buradaki kapillerlerden eferent arteriyollere aktarılır. Arteriyoller, proksimal ve distal tübüleri besleyecek ve düşük molekül ağırlıklı maddelerle iyonları dolaşım sistemine taşıyacak olan tübüller çevresinde, peritübüler kapiler ağı oluşturmak üzere dallanır. Jukstamedüller nefronlarla ilişkili olan eferent arteriyoller ince, uzun kapiler damarları oluşturur. Medüllada düz bir yol izleyen ve sonra yeniden korteks medüllası sınırına doğru geriye kıvrılan bu kapiler damarlara vaza rekta (düz damarlar) adı verilir. İnen damar aralıksız tip kapiller özelliği gösterirken, çıkan damarın endoteli pencerelidir. Glomerülden süzülen kanı taşıyan bu damarlar medüllayı besler ve oksijen gereksinimini karşılar. Dış kortekste ve böbrek kapsülündeki kapillerler, interlobüler venlere boşalan yıldızsı (stellat) venleri oluşturmak üzere birleşirler. Kan lobüller arası venlerden arkuat venlere ve oradan da loblar arası venlere akar. Loblar arası venler böbrek venini oluşturmak üzere birleşir, buradan kan böbreği terk eder.

İdrar tübüleri ile kan ve lenf damarları arasındaki boşluk böbrek interstisyumu adını alır. Böbrek interstisyumu fibroblastlar, kollajen lifleri ve esasen medullada proteoglikandan zengin yüksek düzeyde su tutan ara madde içeren az miktarda bağ dokusu içerir. Medullada ara hücreler denen salgı yapıcı hücreler bulunur. Bunlar sitoplazmalarında lipit damlacıkları içerirler ve prostaglandin ve prostasiklin sentezinde görev alırlar. (Junqueira LC ve ark, 2006)

Esas olarak aldosteron olmak üzere böbrek üstü bezi korteksinin steroid hormonları, sodyumun distal tübüllerden emilimini artırır ve idrarla sodyum kaybını azaltır. Aldosteron potasyum ve hidrojen iyonlarının atılmasında kolaylaştırır. Vücuttaki elektrolit dengesinin korunmasında bu hormonun önemli bir rolü vardır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada, Wistar Albino cinsi, 40 adet yetişkin erkek rat kullanıldı. Denekler her biri 10'ar Rat'tan oluşan 4 gruba ayrıldı.

1.grup; kontrol grubu

2.grup; diabet grubu

3.grup; Ginkgo Biloba verilen diabetik grup; Bu gruba diabet oluşumu sonrası 100 mg/kg/gün Ginkgo biloba verildi.

4.grup; Çözücü verilen grup

Kontrol ve çözücü verilen grup, deney süresince normal rat yemi ve su ile beslendi. Başlangıçta ve deney sonunda ağırlıkları ve kan glikoz seviyeleri bakılarak kaydedildi.

2. ve 3. gruptaki ratların enjeksiyon öncesi kan glikoz seviyeleri ve ağırlıkları bakılarak kaydedildi. 60 mg/kg streptozotosin enjeksiyondan 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kanda el glikometresi ile glikoz seviyelerine bakıldı. Kan Glikoz seviyesi 250 mg/dl üzerinde olan ratlar diabet kabul edilerek çalışmaya alındı.

Kan glikoz seviyeleri ve ağırlıkları her 10 günde bir bakılarak kaydedildi. 2. gruptaki ratlar antidiabetik hiçbir ajan verilmeden deney süresince normal rat yemi ve su ile beslendi. 3. gruptaki ratlara diabet oluşmasıyla birlikte deney süresince 100 mg/kg/gün Ginkgo Biloba (Egb 761) verildi. Ginkgo Biloba Ekstresinin damla formu hergün ratların suluklarına koyuldu ve oral olarak almaları sağlandı. Bu gruba ginkgo dışında hiçbir ajan verilmeden deney süresince normal rat yemi ve su verildi. Deney başlangıçta 3 aylık bir dönem için planlandı. Diabetik ratların genel durumu değerlendirilerek deney 40. gün sonunda sonlandırıldı. Ratlar dekapite edilmeden vücut ağırlıkları ve kan glikoz seviyeleri kaydedildi. Tüm gruplardaki ratlar eter anestezisi altında dekapite edildi. Böbrekler hızlı bir şekilde alınarak % 10'luk formolle tespit edildi.

Fiksasyon işlemini takiben böbrekler, longitudinal olarak tam ortasından ayrıldı ve kasetlendi. Kasetleme işleminden 24 saat sonra dokular rutin doku takibine alındı. Dehidratasyon, şeffaflaştırma ve gömme işlemleri için, dokular;

% 70'lik alkolde 15 dk,

% 80 alkolde 15 dk,

% 90 1 alkolde 30 dk,

%90 2. alkolde 30 dk,

%96 1. alkolde 30 dk,

%96 2. alkolde 30 dk,

%96 3. alkolde 45 dk,

Asetonda 45 dk,

1.Xylende 10 dk,

2.Xylende 20 dk bekletildi. Daha sonra etüvde 75 C' de, 1. parafinde 10 dk, 2. parafinde 20 dk, 3. parafinde 30 dk bekletildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Bloklardan LEICA 2245 mikrotom cihazıyla 3 µ'luk kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin (HE), Gomori trikrom ve periyodik asit schiff (PAS) ile boyanarak Olympus BX50 ışık mikroskobu ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.

3.1. Histolojik Değerlendirme:

Kesitler ışık mikroskobu ile incelendi. Tüm gruplarda bazal membran kalınlaşması, mezengial matriks genişlemesi, glomerüloskleroz, tübüler nekroz, hidropik dejenerasyon, hücre şişmesi, vakuolleşme gibi glomerüler ve tübüler değişiklikler, histopatolojik durumlarına göre hasar yok 0, hafif 1, orta 2 ve çok 3 olarak değerlendirildi.

3.2. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS for Windows 11.0 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak verildi. Grup içi karşılaştırmalar Wilcoxon testi ile gruplar arası karşılaştırmalar Mann- Whitney U testi kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Ratların deneyin başlangıç ve sonundaki vucut ağırlıkları ile kan-glikoz değerleri Tablo 1’de verildi. Tüm ratların başlangıçtaki ağırlıkları benzerdi. Deneyin sonunda Diabetik gruptaki ve ginkgo grubundaki ratlar ağırlık kaybederken, kontrol grubundaki ve çözücü verilen gruptaki ratlar benzer şekilde ağırlık kazandı. Ağırlık kazanımı açısından çözücü ile kontrol arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ağırlık kaybı açısından Diabet ile ginkgo arasındaki farkda istatistiksel olarak anlamlı değildi. Deney süresi boyunca hem diabetik grupta hem de ginkgo verilen grupta hiperglisemi izlendi. Ginkgo verilen gruptaki ratların kan-glikoz seviyelerinde belirgin bir düşme izlenmedi. Yani ginkgo bilobanın STZ’nin neden olduğu hiperglisemi üzerinde önemli derecede etkisi olmadı. Kan-glikoz düzeyleri bakımından ginkgo verilen grup ile kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. ($p<0.05$)

4.1. Glomerüllerdeki değişiklikler

Kontrol grubunda ve çözücü verilen grupta glomerüller normal histolojik görünümdeydi (Resim 1,4,7). Diabetik grubun glomerüllerinde PAS boyama yöntemi ile bazal membranda kalınlaşma yer yer belirgindi (Resim 5). Diabetik grupta gomori trikrom boyası ile glomerüllerde ekstra selüler matriks artışı (kollojen lif artışı) görüldü. (Resim 8). Glomerüllerin bazıları sklerotik olarak izlendi (Resim 2,5). Ginkgo grubunda ise glomerül görünümü kontrollere benzerdi. (Resim 6).

Diabetik grupta proksimal tübülü başlangıç olarak yaptığımız ölçümlerde glomerül boyutlarının kontrol grubuna oranla belirgin olarak genişlediğini tespit ettik. ($P< 0,01$). Ginkgo grubunda da glomerül ölçümlerinde kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi. ($P< 0,05$). Ginkgo grubu ile diabetik grup karşılaştırıldığında glomerül ölçümleri açısından anlamlı farklılık bulundu. ($p<0,05$) Kontrol grubu ile çözücü grup arasında glomerül ölçümleri açısından istatistiksel olarak fark bulunmadı. Tüm gruptaki glomerül ölçümleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Değerlendirme tüm grupta patolojik bulgulara göre derecelendirildi. Patoloji ya da hasar yok (0), az (1), orta (2), çok (3) olarak tablo 3’ de gösterilmiştir.

4.2. Tübüler değişiklikler

Kontrol grubunda, böbrek tübüleri normal histolojik görünümde izlendi. (Resim 1,10,14). Çözücü verilen grubun tübülleride normal histolojik görünümde izlendi. Diabetik grupta, tübüllerde, proksimal tübülde yer yer hidropik dejenerasyon tübüler nekroz, bazılarında vakuolizasyon tübül hücre stoplazmalarında belirgin soluklaşma ve apoptozise giden hücrelerde heterokromatik çekirdekler izlendi (Resim 2,11,15). Ginkgo grubundaki kesitlerde ise bu patolojilerin tümünde kontrole yakın görünümde azalma gözlemlendi (Resim 12,16). Diabetik gruptan bir rat da kortekste damar çevresinde lenfosit infiltrasyonu görüldü. (Resim 13)

Ginkgo verdiğimiz grupta diabetik grupta gördüğümüz glomeruloskleroz, ekstraselüler matriks genişlemesi, bazal membran kalınlaşması, tübüler nekroz, hidropik dejenerasyon gibi patolojilerin tümünde azalma gözlemledik. (Resim 3,6,9,12,16)

Tablo I. Deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları ve kan-glikoz değerleri

	Kontrol	Diabet	Ginkgo	Çözücü
Başlangıç vücut ağırlığı (gr)	324,70 ±14	320.50 ± 24	318,80 ± 18	326,10 ± 10
Final vücut ağırlığı (gr)	372,90 ± 19	290 ± 12	298,50 ± 11	372, 20 ± 12
Başlangıç kan glikoz değerleri (mg/dl)	102,30 ± 5	292,90 ± 19	288,50 ± 26	99,60 ± 4
Final kan glikoz değerleri (mg/dl)	102,00 ± 3	357,00 ± 45	349,60 ± 35	100,10 ± 3

Tablo 2. Deney Hayvanlarının Glomerül Ölçümleri

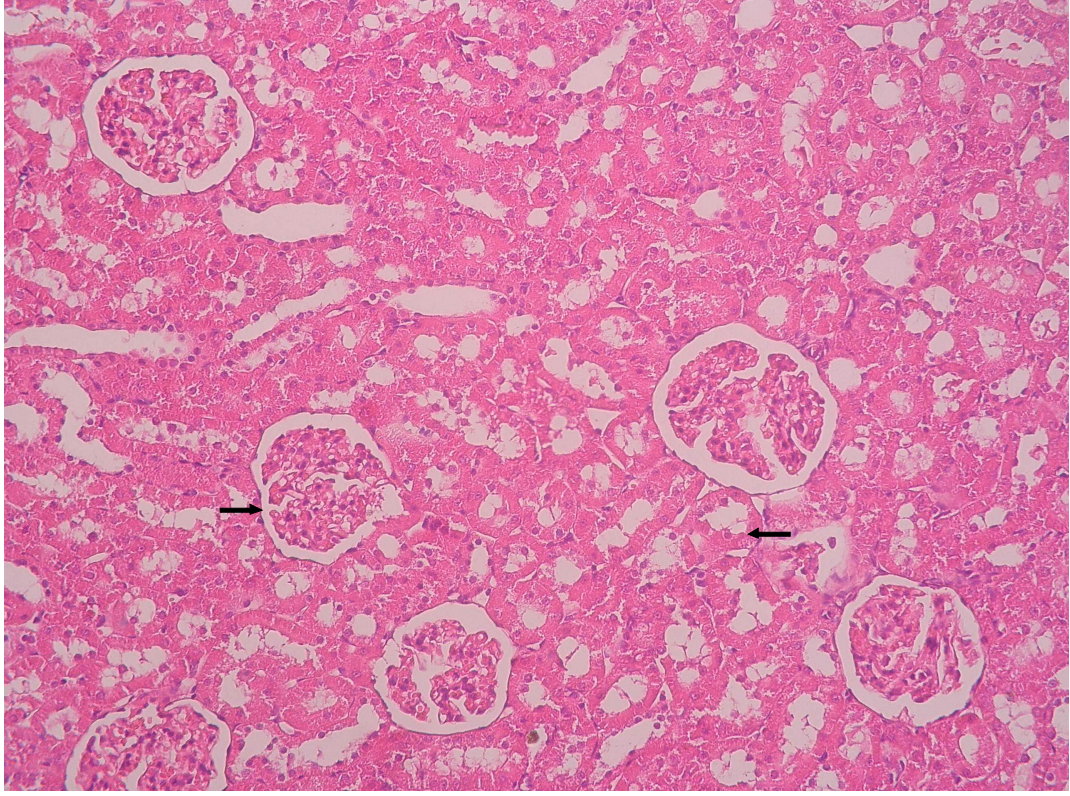
	Kontrol	Diabet	Ginkgo	Çözücü
Glomerül Ölçümleri (µm)	110,05 ± 3	123,325 ± 3	114,925 ± 3	109,75 ± 3

Sonuçlar, ortalama ± standart sapma (SD) olarak verilmiştir. Diabetik grubun glomerülleri, kontrol ve ginkgo grubuna göre anlamlı olarak fazlaydı.(P<0,01) Ginkgo grubunun glomerülleride kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazlaydı.(P<0,05)

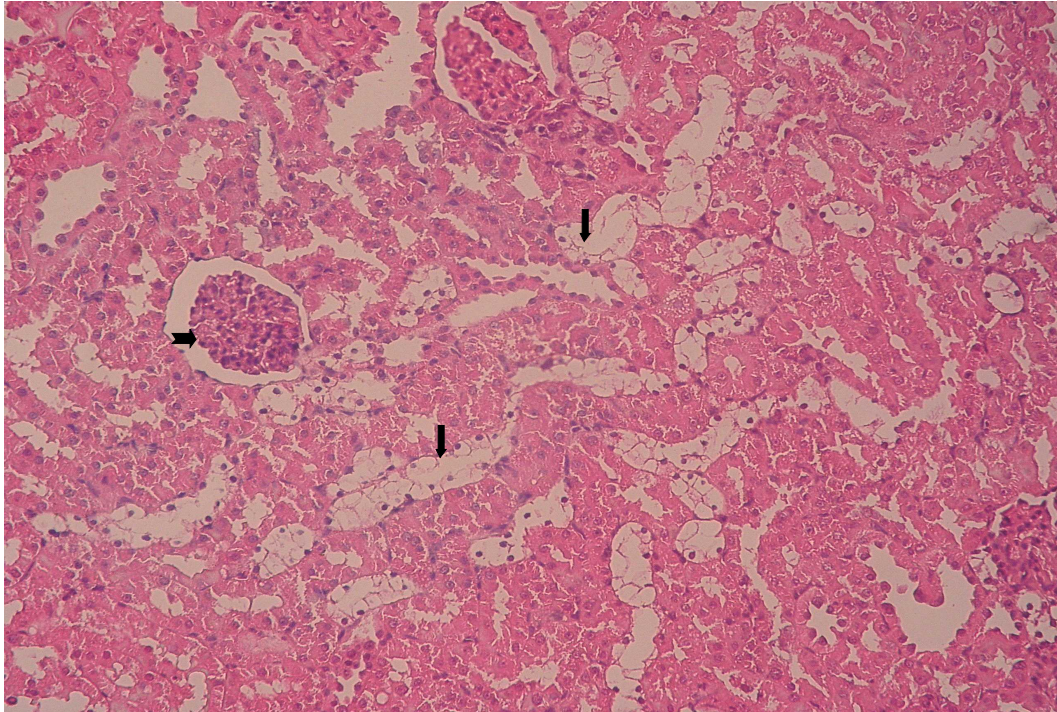
Tablo 3. Tübüller ve glomerüldeki histolojik değişiklikler.

	KONTROL (n=10)	DİABET (n=10)	GİNKGO (n=10)	ÇÖZÜCÜ (n=10)
Tübüler Nekroz	0	2	1	0
Hidropik Dejenerasyon	0	3	1	0
Glomerülo Skleroz	0	2	1	0
GBM kalınlaşması	0	2	1	0
Mezengial Matriks Genişlemesi	0	2	1	0

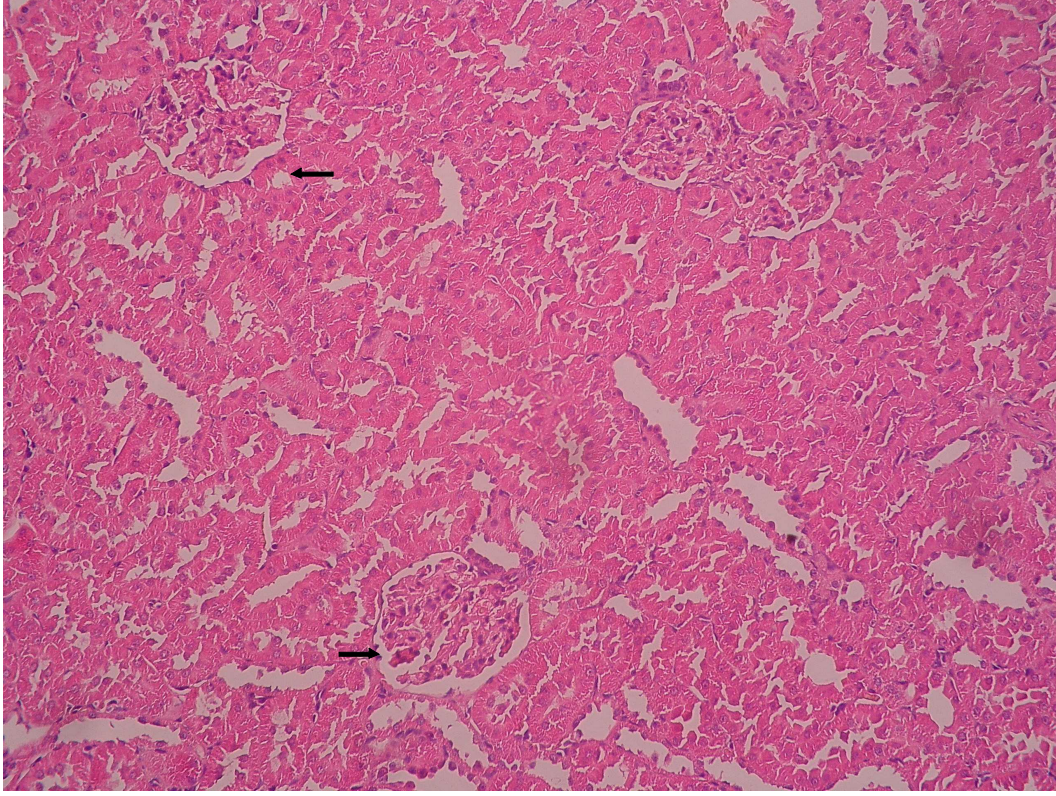
Tübül ve glomerüldeki patolojiler her bir rat incelenerek skorlandı. Ginkgo grubundaki patolojiler büyük oranda azaldı. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. (p<0,05)



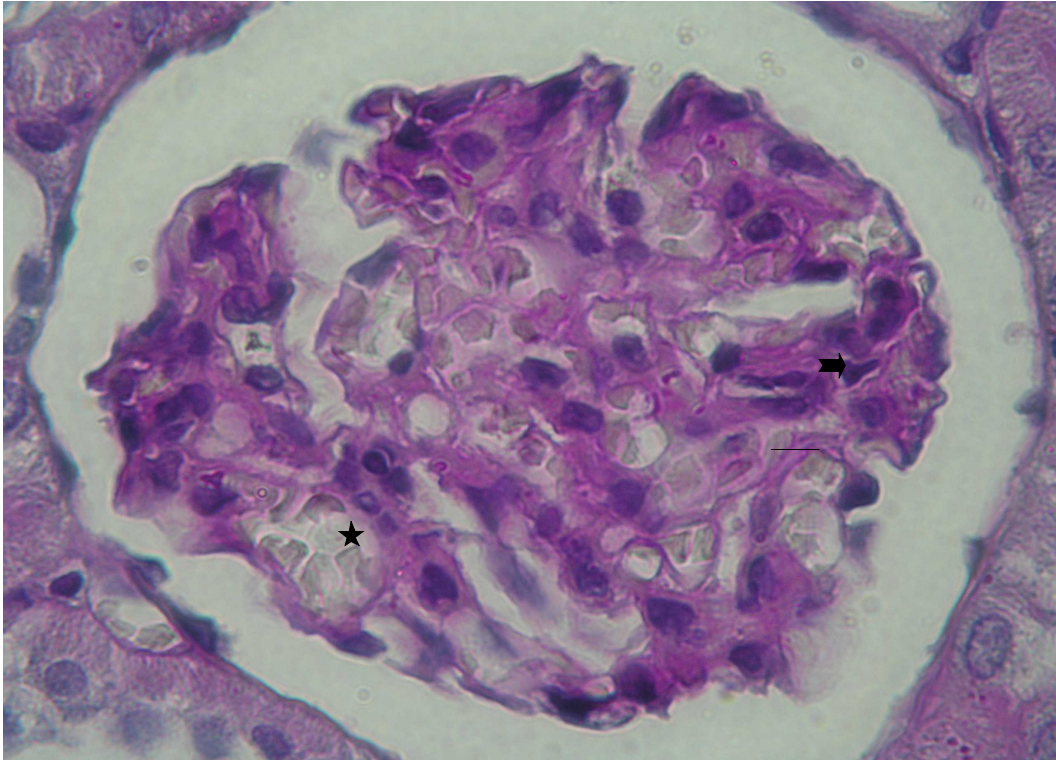
Resim1. Kontrol grubu; Glomerül (→) , tübül (←) HEX200



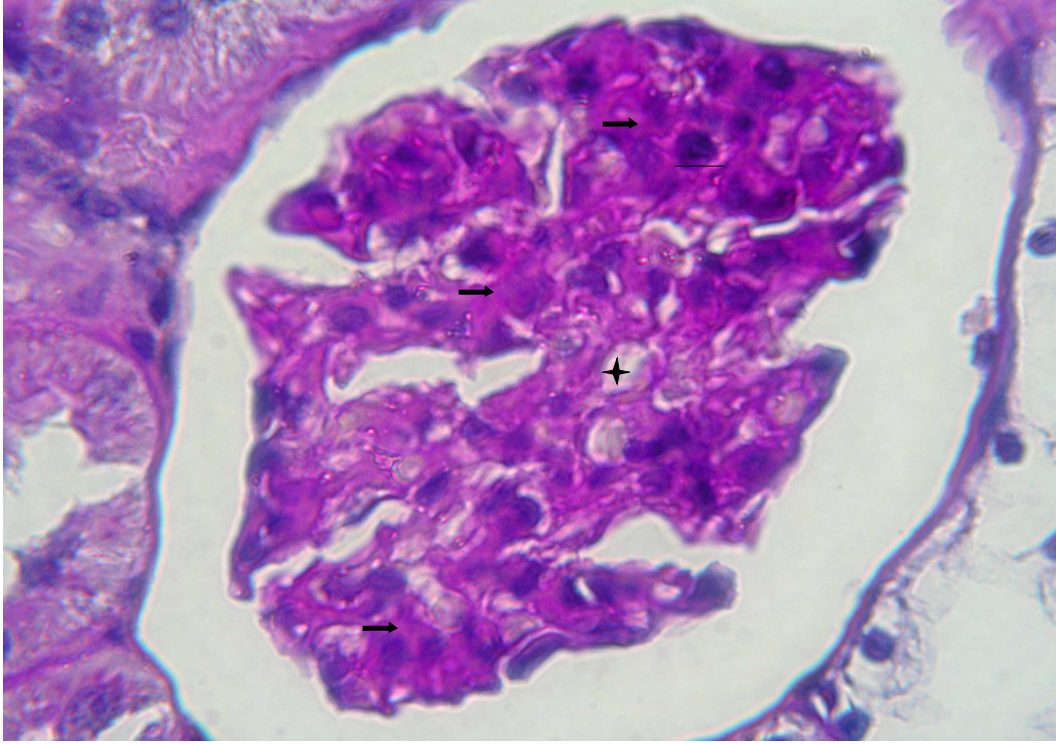
Resim 2. Diabetik grup; Glomerülo skleroz (→) ve tübülerde hidropik dejenerasyon (↓)görüüyor. HE X 200



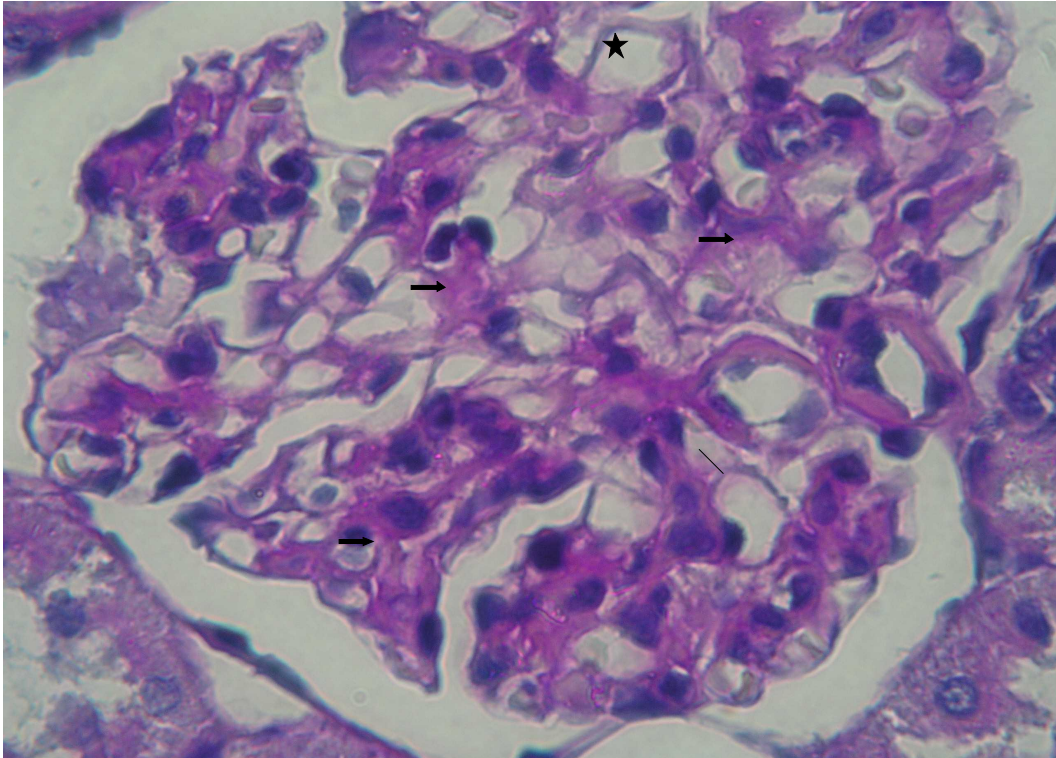
Resim 3. Ginkgo grubu; Kontrole yakın görünüm glomerül (→), tübül (←)
HE X 200



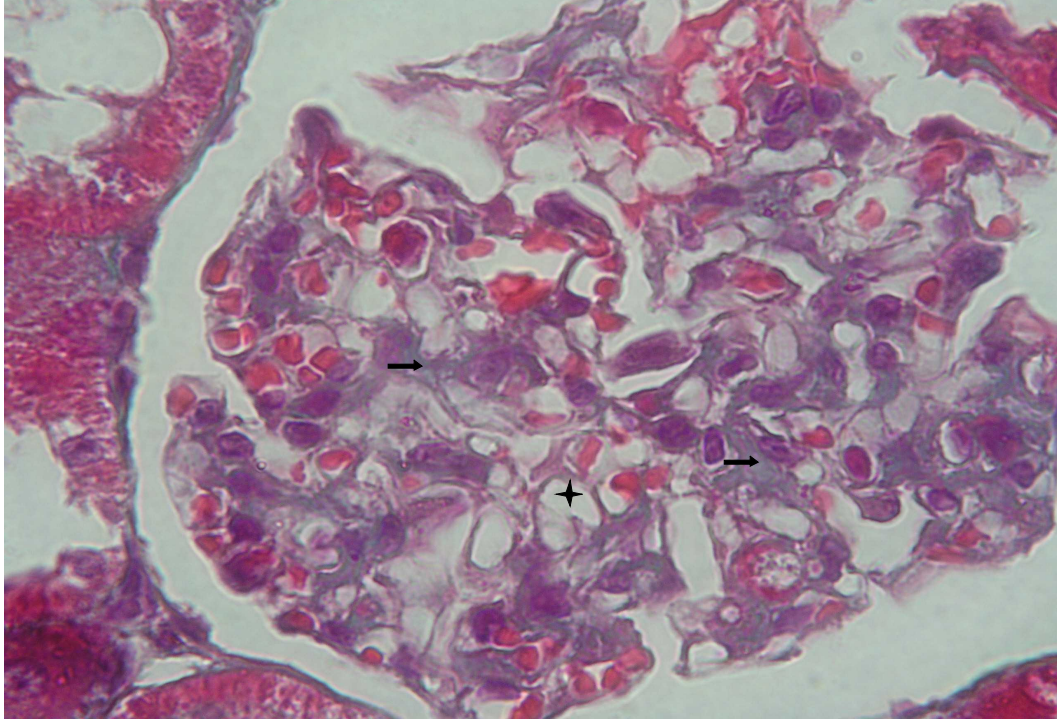
Resim 4. Kontrol grubu; Glomerül, kapiller (★) bazal membran, (—)
mezengial hücre (→) görülüyor. PASX1000



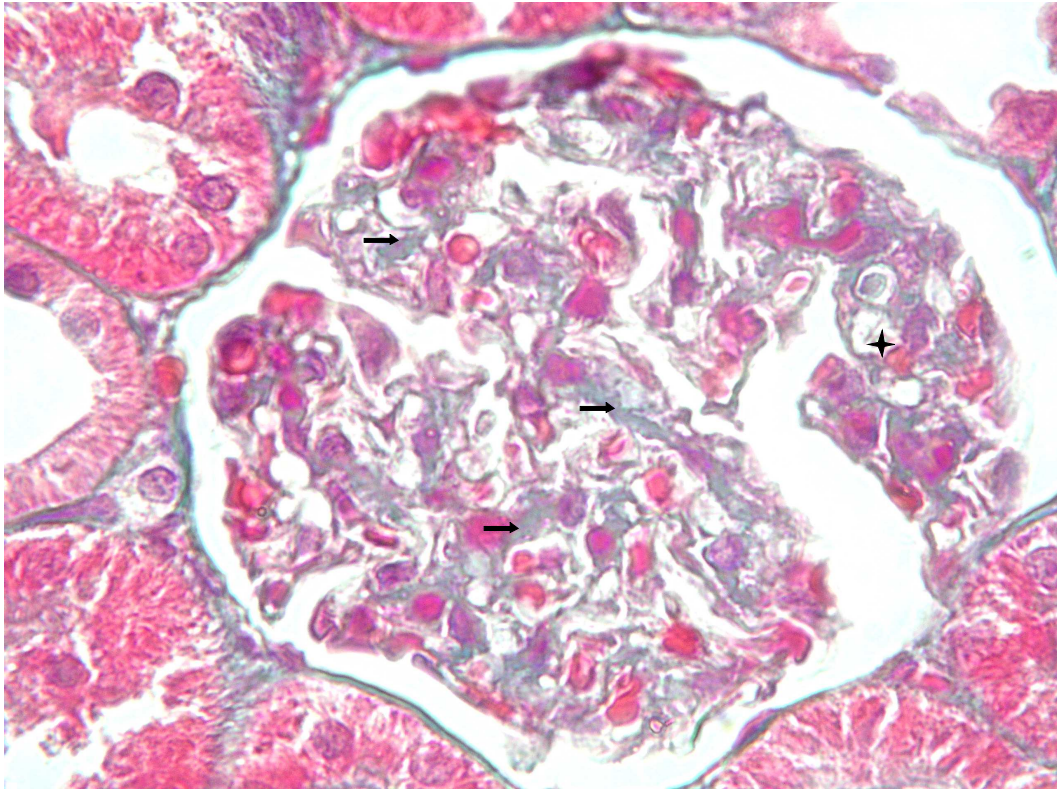
Resim 5. Diabetik grup; Glomerülde intertisyel mezengial matriks artışı (→) ve bazal membran kalınlaşması görülüyor. (—), kapiller (★) PASX1000



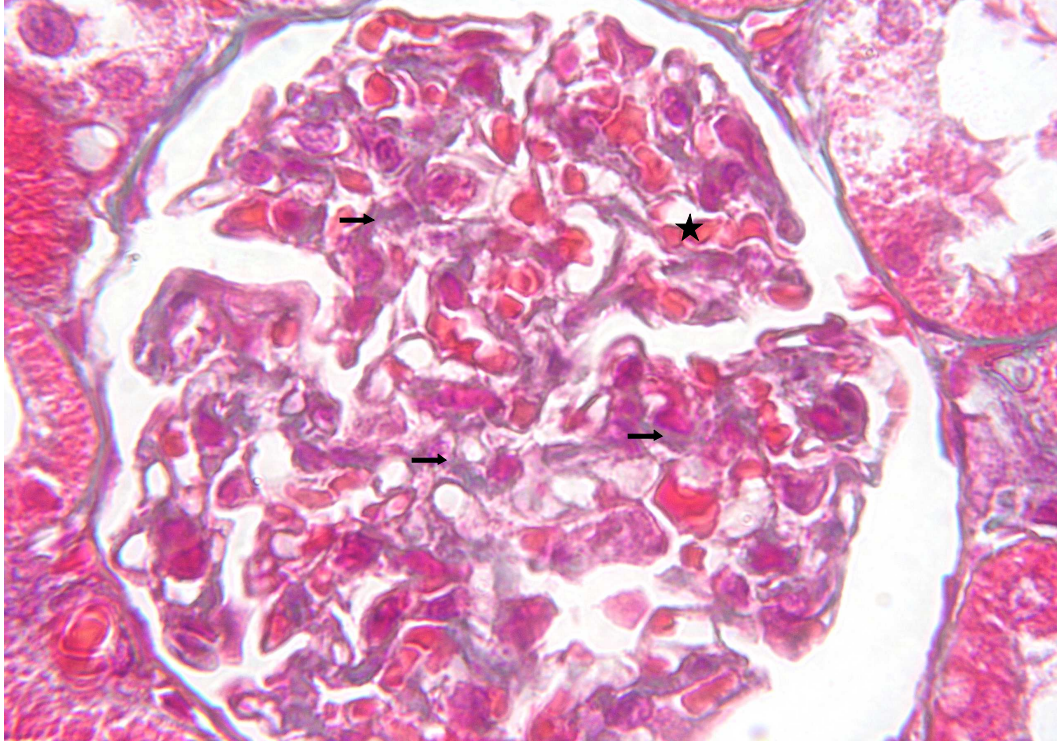
Resim 6. Ginkgo grubu; Kontrole yakın görünümde Glomerül intertisyel matriks alanları (→), bazal membran (—), kapiller (★) PASX1000



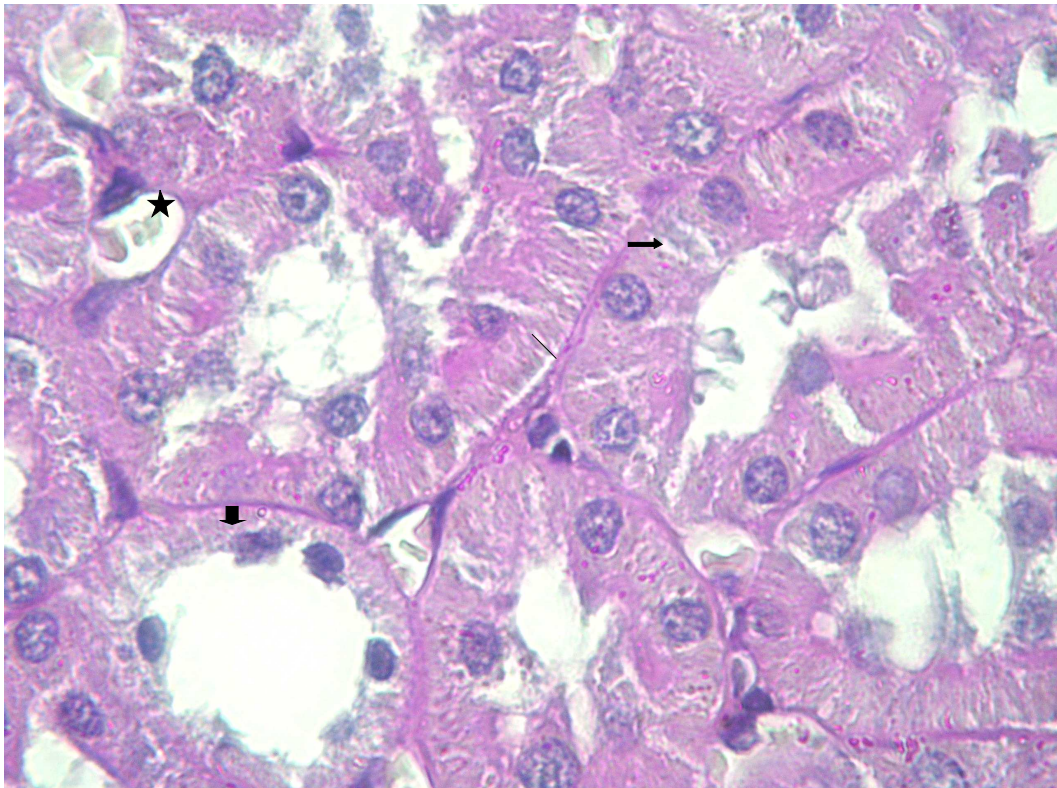
Resim 7. Kontrol grubu; Glomerülde, intertisyel mezengial alan (→) kapiller (✱)
Gomori TrikromX1000



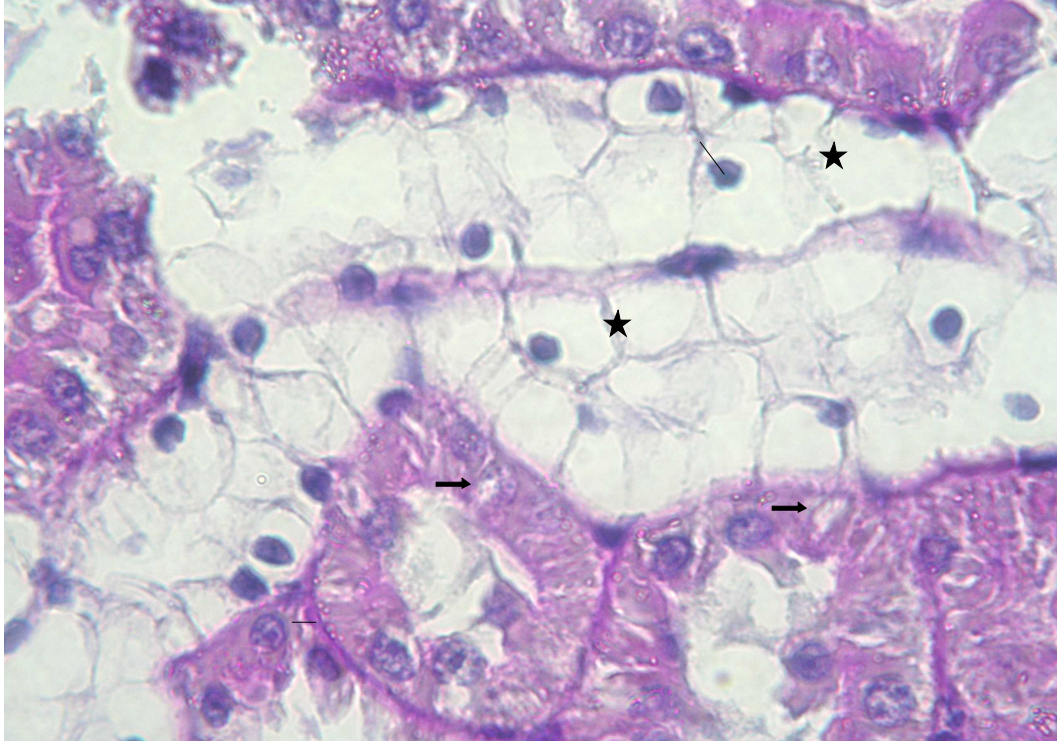
Resim 8. Diabetik grup; Glomerülde, mezengial matriks artışı (→), kapiller (✱),
Gomori TrikromX1000



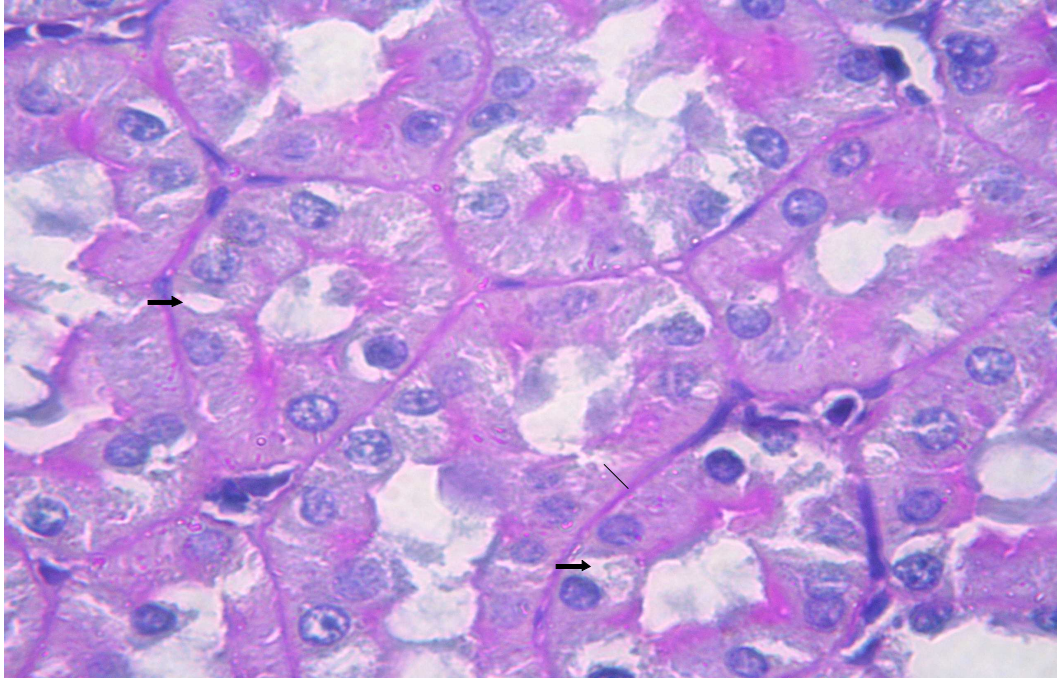
Resim 9. Ginkgo grubu; Glomerülde, kontrole yakın görünümde, mezengial matriks alanları (→)görüüyor. Kapiller (★) Gomori TrikromX1000



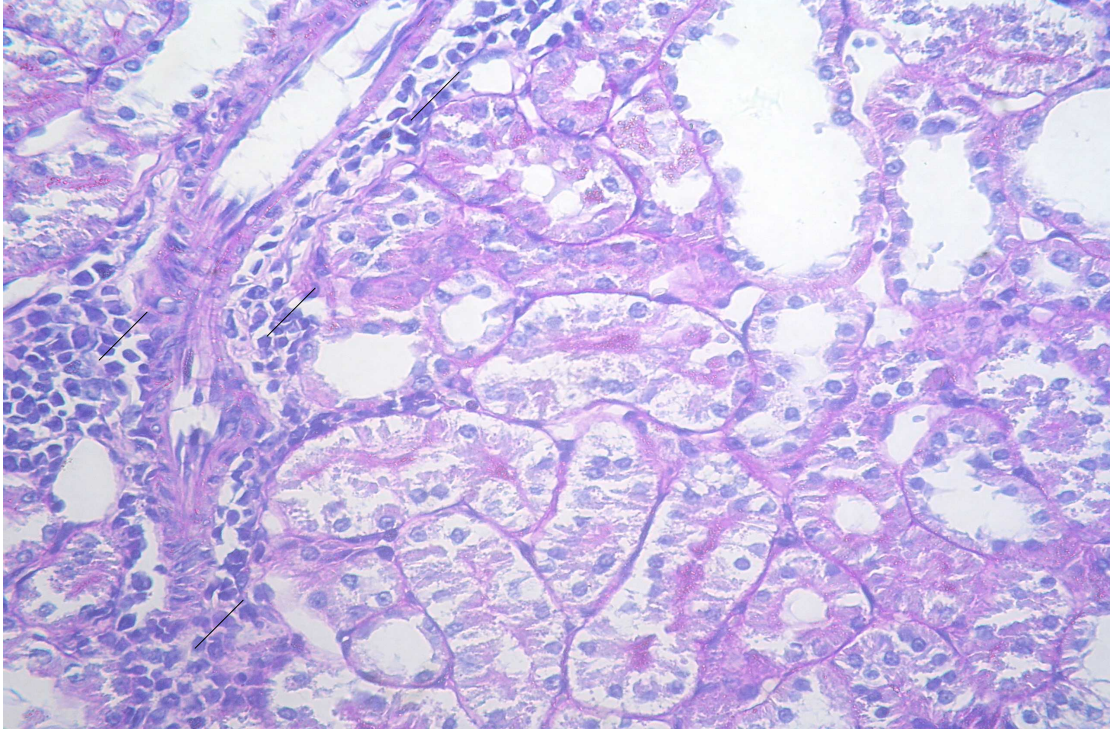
Resim10. Kontrol grubu; Proksimal tübül (→), distal tübül (■), kapiller (★), bazal lamina (\) PASX1000



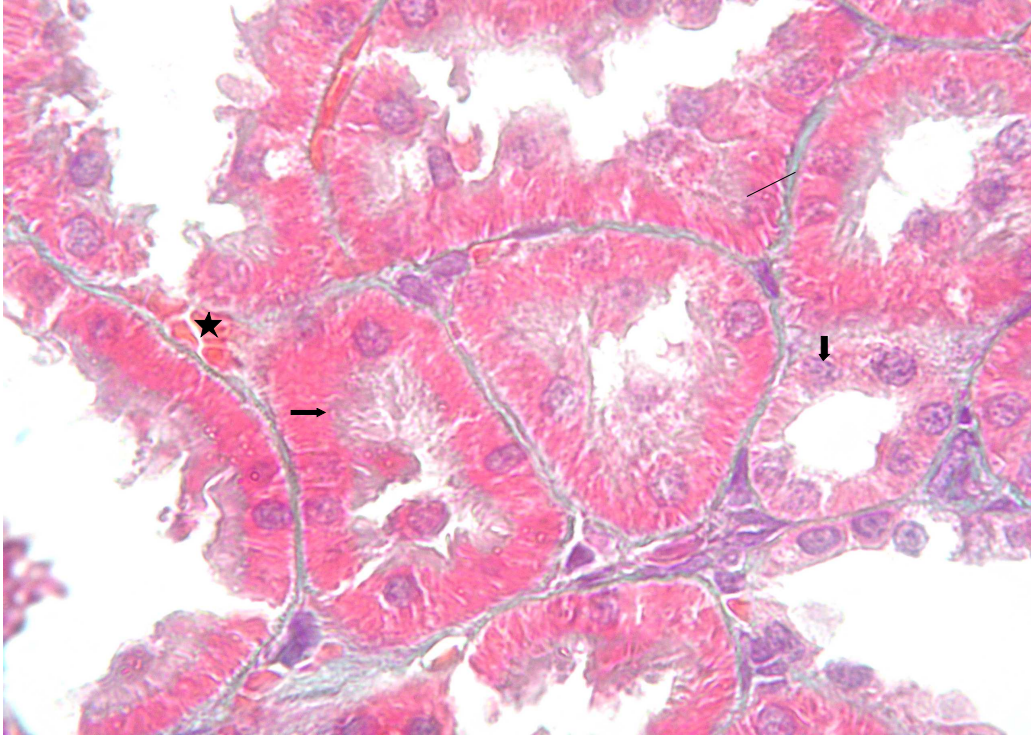
Resim11. Diabetik Grup; Proksimal tübüllerde vakuolizasyon (→) ve hidropik dejenerasyon (★)görüüyor. Heterokromatik çekirdek (\), bazal lamina (—) PASX1000



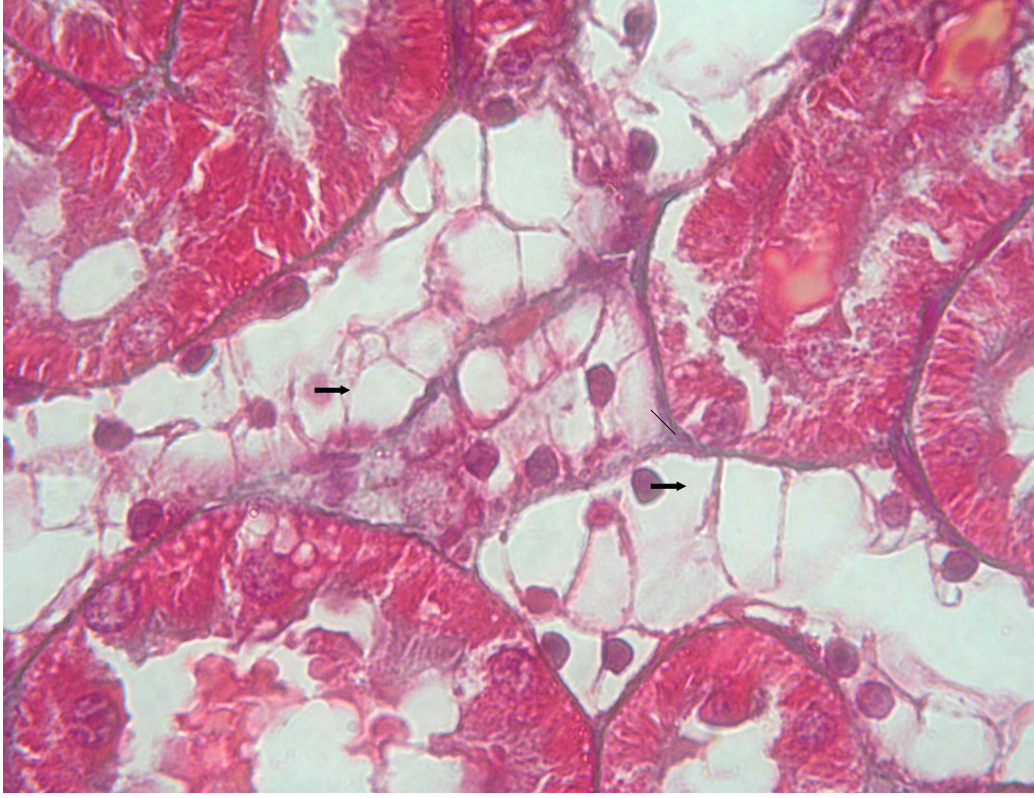
Resim12 Ginkgo grubu; Kontrole yakın görünümle birlikte yer yer tübüler vakuolizasyon görüüyor. (→), Bazal lamina (\), PASX1000



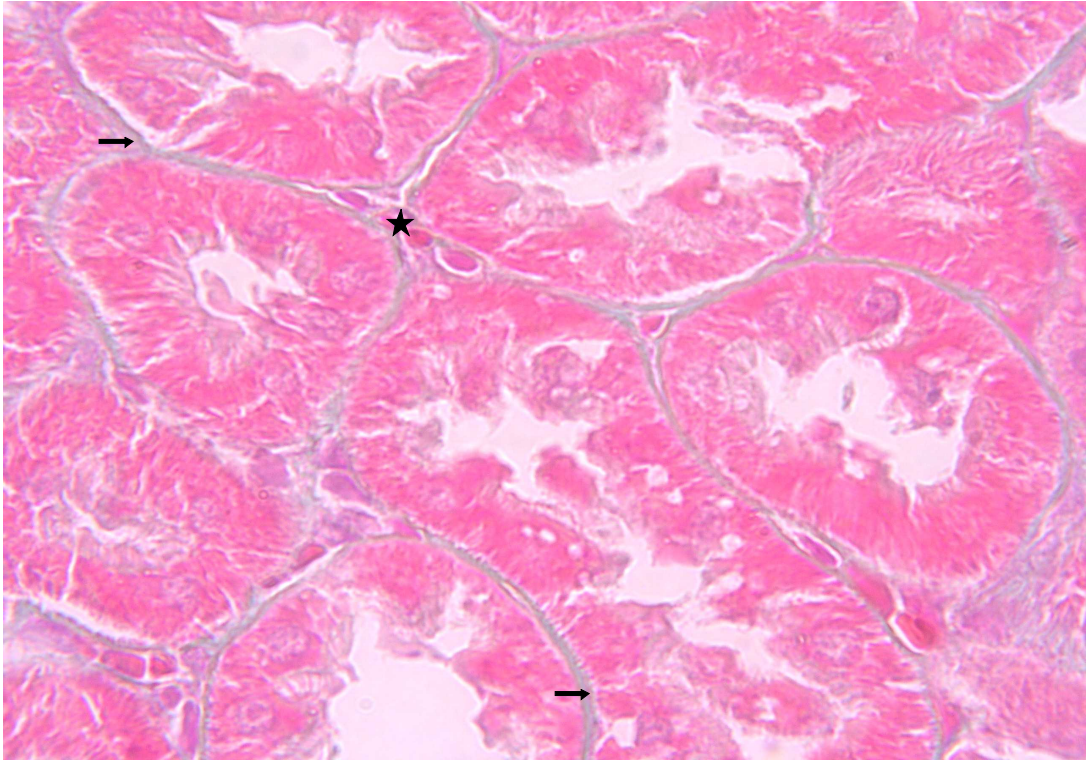
Resim13. Diabetik grup; Kortekste damar çevresinde lenfosit infiltrasyonu (/)
görülüyor. PASX400



Resim14. Kontrol grubu; Tübüller arası intertisyel alan (↖) kapiller (★),
distal tübül (↓), proksimal tübül (↗) Gomori TrikromX1000



Resim 15. Diabetik Grup; Proksimal tübüllerde hidropik dejenerasyon görülüyor (→), Tübüller arası intertisyel alan (\), Gomori TrichromX1000



Resim16. Ginkgo grubu; Kontrole yakın görünümde, tübüller arası intertisyel alan (→) kapiller (★), Gomori TrichromX1000

TARTIŞMA

Diabet, yaygın görülen ciddi bir metabolik hastalıktır. Fonksiyonel ve yapısal birçok patolojiye neden olur. Bunların en önemlilerinden birisi de diabetik nefropatidir.

Metabolik stres sonucunda diabetin komplikasyonları oluşmakta ve bu metabolik stres oksidatif olayların artmasına neden olmaktadır. Bu durum diabet komplikasyonlarının gelişimini kolaylaştıran yapısal ve fonksiyonel hasarı oluşturmaktadır.

Diabette, çeşitli dokularda oksidatif stresin arttığı ve artmış oksidatif stresin içinde böbrek hasarının da bulunduğu diabetik komplikasyonların patogenezisinde temel rolü oynadığı düşünülmektedir. Bazı araştırmacılar oksidatif stres inhibisyonunun diabetik nefropati bulgularının hafiflemesine neden olduğunu rapor etmiştir. (Kowluru RA ve ark, 2004; Çam M ve ark, 2003)

Oksijen kullanımının doğal sonucu olarak oluşan serbest oksijen radikalleri, mitokondriyal elektron transportu, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez ve degradasyon gibi reaksiyonlarda meydana gelir. Oksidatif stres, prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişir. (Cooke MS ve ark, 2003; Evans MD ve ark, 2004).

Oksidatif DNA hasarının, yaşlanma, Alzheimer hastalığı, diabet, ateroskleroz, otoimmün inflamatuvar hastalıklar ve kanserde arttığını gösteren araştırmalar bulunmaktadır. (Mecocci P ve ark, 1993; Farinati F ve ark, 1998)

Diabette, proteinlere enzimatik olmayan yollarla glikoz bağlanmasının (glikozilizasyon) artmış olması nedeniyle, glikozillenen proteinlerin oksidasyonu sonucu serbest oksijen radikalleri meydana gelmektedir. (Akgül E ve ark, 1999; Cengiz M ve ark, 2000)

Serbest radikal düzeyindeki artışa bağlı olarak, antioksidanların kan ve doku düzeyinde düşme meydana gelir. Serbest radikaller parçalanmaya dayanıklı protein oluşumunu artırırken, aynı zamanda da vasküler duvarlarda bulunan proteoglikanların yapısında değişime neden olurlar. Diabetes Mellitusta kapiller bazal membranının majör elemanları olan heparin sülfat, laminin ve fibronektin gibi yapılar bozulur. Parçalanmaya dayanıklı proteinler, kapiller bazal membranı

kalinlaştırarak önce endotel hücre fonksiyonlarında bozulmaya, sonra endotel hücre tahribatına neden olur. (Barnet AH ve ark, 1993; Aiello LM ve ark, 1995)

Diabetiklerin morbidite ve mortalitesinde önemli bir yeri olan nefropatide, çoğunlukla glomerül ve tübül bazal membranlarında kalınlaşma, glomerüloskleroz, mezangial hücrelerde ve mezangial matrikste belirgin bir artış gözlenir. Diabetik glomerüloskleroz glomerül içinde ekstrasellüler matriks komponentlerinin birikimi ile karakterizedir. (Reeves BR ve ark, 2000; Çam M ve ark, 2003; Lehman R ve ark, 2000)

Deneyssel çalışmaların çoğunda diabet oluşturmak için, pankreas beta (β) hücrelerine olan spesifik toksitesi nedeniyle diabetojenik ajan olarak kabul edilen STZ (Streptozotosin) kullanılmaktadır. (Vural S ve ark, 2001; Baydas G ve ark, 2002; Çam M ve ark, 2003; Mamdouh Anwar M ve ark, 2003; Andersson AK ve ark, 2001; Rao VSN ve ark, 2002)

STZ, pankreasta serbest radikal temizleyicisi (scavenger) olan superoksit dismutazı inhibe eder ve böylece serbest radikallerin birikmesi sonucu β hücreleri yıkıma uğrar. (Takeshita ve ark, 1998)

Bizde çalışmamızda 60 mg/kg Streptozotosin uygulayarak diabet oluşturduk. STZ enjeksiyonundan 40 gün sonra böbrek dokularını alarak inceledik. Diabetik ratlarda hiperglisemi, poliüri, polidipsi ve kilo kaybı saptandı. (Çam M ve ark, 2003).

Daha önce yapılan çalışmalarda, STZ ile indüklenen diabetik hayvanlarda diabetin erken döneminde ekstrasellüler matrikste Tip IV kollagen, fibronektin, laminin artışında, hipergliseminin esas rol oynadığı gösterilmiştir. (Parving HH ve ark, 1987)

Yapılan doku kültürü çalışmalarında yüksek glikoz içeren medyumlardaki mezengial hücrelerin normal glikoz içeren medyumlardakilere göre şiddetli oksidatif strese maruz kaldığı ve tip IV kollagen, laminin ve fibronektin sentezinin kontrollere göre %50–60 arttığı, artan oksidatif stresle birlikte ekstrasellüler matriks proteinlerinin mRNA seviyelerinde yükseldiği gösterilmiştir. (Ayo SH ve ark, 1990; Catherwood MA ve ark, 2002)

Diabette artmış oksidatif stresin, içinde transforming büyüme faktörünün de (TGF- β) bulunduğu sitokinleri indüklediği bildirilmiştir. TGF- β 'nın hem matriks

sentezinin stimölasyonu, hem de matriks degradasyonunun inhibisyonu ile güçlü bir fibrojenik aktivasyona sahip olduğu, insanlarda ve diabetik hayvan modellerinde, glomeröl ve tübülointerstisyel alanda TGF- β , mRNA ve protein seviyelerinde önemli derecede arttığı bildirilmektedir. (Lehman R ve ark, 2000; Reeves BR ve ark, 2000)

Bu çalışmada Diabetik grubta, glomeröl bazal membranında belirgin kalınlaşma ile birlikte, ekstraselüler matriks birikimine bağılı olarak glomeröl boyutlarında belirgin bir artış saptandı. Mingxi Li ve arkadaşları (2002) bizim çalışmamıza paralel bulgular elde etmişlerdir.

Bazı araştırmacılar, insanlarda tip 1 diyabete bağılı olarak mezengial matriks hacminde belirgin bir artış gözlemişlerdir. Laboratuvar hayvanlarında deneysel olarak oluşturulan tip 1 diyabette de glomeröl mezengiumunda ve interstisyel alanlarda artış, tübüler vakuolizasyon gibi benzer bulgulara rastlanmıştır. (Sanai ve ark, 2000; Osterby R ve ark, 2001)

Çalışmamızda bu çalışmalardaki bulgulara paralel olarak, diabetik grupta glomeruloskleroz, mezengial matriks artışı tübüler vakualizasyon ve hidropik dejenerasyon tespit edildi.

Böbrek, glikoz girişı insüline bağımlı olmayan bir organdır. Kan glikoz konsantrasyonu yükseldiğinde normalde aktif olmayan aldoz redüktaz yolu işlerlik kazanarak, sorbitol oluşumuna neden olur. Sorbitol plazma membranından diffüze olamadığından, hücre içinde birikir ve hücre membran bütünlüğünü bozar. Ayrıca osmotik etki yaparak hücrenin su alıp şişmesine neden olur. Hücrenin şişmesi morfolojik ve fonksiyonel yapı değışikliklerinin de beraberinde getirir. (Gugliucci A ve ark, 2000)

Bizde diabetik rat böbreklerinde tübüllerde vakualizasyon ve hidropik dejenerasyon tespit ettik.

Serbest oksijen türevlerinin meydana getirdiğı hasarları önlemek üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine antioksidan savunma sistemleri adı verilir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya serbest oksijen radikallerini yakalayıp lipid peroksidasyonunu inhibe ederler.

Diabette serbest radikal oluşumunun arttığı ve radikal bağlayıcı sistemlerde azalma olduğu ileri sürülerek, diabetiklerin antioksidanlara daha çok ihtiyaç duyacağı savunulmuştur. (Langenstroer P ve ark, 1992; Cheesman KH ve ark, 1993) Serbest radikallerin diabette etkin olduğunun belirtilmesi indirekt olarak bu hastalığın oluşumunu önleme ve tedavisinde radikal oluşumunu önleyici antioksidan vitaminlerin kullanılabileceği düşüncesinin oluşmasına sebep olmuştur. (Ceriello A ve ark, 1988; Cengiz M ve ark, 2000)

Yüksek glikoz içeren medyumlarda kültüre edilen hücrelerin fibronektin, tip IV kollojen ve laminin sentezinin arttığı, ancak medyuma antioksidanların ilavesi ile ekstrasellüler matriks proteinlerinin gen ekspresyonunun önemli derecede azaldığı gösterilmiştir. (Catherwood MA ve ark, 2002)

Stereptozotosin ile oluşturulan diabetik rat modelinde antioksidan olan melatonin kullanımının böbrekte görülen patolojik değişiklikleri azalttığı rapor edilmiştir. (Çam M ve ark 2003)

Antioksidan ajan olan sarımsak yağı ve melatoninin stereptozotosinle indüklenmiş diabetik ratlarda kullanımı sonucu nefropatide, retinopatide ve nöropatide antioksidan sistemle serbest radikaller arasında oluşan dengesizliği engelleyebileceği bildirilmiştir. (Mamdouh M ve ark 2003)

Ginkgo biloba ekstraktı (Egb 761) % 24 ginkgo flavone glikozit ve % 6 terpenoid içerir. GBE güçlü serbest radikal yakalayıcıdır (Süperoksit anyon hidroksil, peroksil ve nitrik oksit). Ginkgo biloba'nın antioksidan etkisi içeriğindeki tek bir maddeye ya da birçok maddenin kombine etkilerine bağlı olarak ortaya çıkabilir. (Monograph, 1998; O'Hara MA ve ark, 1998)

Ginkgo biloba ekstraktı (Egb 761), C ve E vitaminleri gibi antioksidanların yaşlanma ile mtDNA'da meydana gelen oksidatif hasarı ve mitokondriyal glutatyon oksidasyonunu engellediği saptanmıştır. Ayrıca beyin ve karaciğer mitokondrilerinde yaşlanma ile meydana gelen morfolojik ve fonksiyonel değişiklikleri azalttığı gösterilmiştir. (Sastre J ve ark, 2000)

Tip 2 diabetiklerde Ginkgo biloba ekstresinin 3 ay süreyle oral alımı eritrosit membranlarında MDA seviyelerini önemli oranda azalttığı, fibrinojen seviyelerini düşürdüğü, retinopatili hastalarda retinal kapiller kan akımını arttırdığı saptanmıştır. (Huang SY ve ark, 2004)

Apaydin C ve ark. (1993) Ginkgo biloba ekstraktının erken diyabetin neden olduğu optik sinirlerin patolojileri ve görme fonksiyonlarındaki bozukluklar üzerindeki terapötik rolünü göstermişlerdir.

Bernardczyk-Meller J ve ark. (2004) Diyabetik retinopati hastalarında 3 ay Ginkgo biloba kullanımından sonra görme testi sonuçlarının daha iyi olduğunu bildirmişlerdir.

Oksidatif stresin oluşturduğu endotelial hücre hasarının önlenmesinde ginkgo bilobanın terapötik etkileri vardır. Son çalışmalarda Egb 761'in nöron, miyosit ve vasküler endotelial hücreler üzerine koruyucu etkileri, kardiyak serebral ve pulmoner hastalıklardaki tedavi edici rolleri bildirilmektedir. (Du G ve ark, 1999 Liebrott T ve ark, 2000; Chen JX ve ark, 2001; De Cheng Ren, 2002)

Ginkgo biloba'nın metabolik ve nöro hormonal düzenleyici mekanizmalar yoluyla vasküler yapı, kan elemanları ve diğer vücut sıvılarında etkilediği düşünülmektedir. Bu mekanizmaların iskemik serebrovasküler olaylarda kombine olarak çalıştığı ve multifaktöriyel rol oynadığı düşünülmektedir. (Monograph, 1998; McKenna DJ ve ark, 2001)

Welt K ve ark. (1999) Ginkgo biloba Ekstresinin (EGb761) diyabetik kardiyomiyopati de interstisyel fibrozisi kısmen azaltabileceğini, miyokardiyumun endotelial ve kaslı bazal membranlarının kalınlaşmasını azalttığını ve diyabetin geç komplikasyonlarının önlenmesine yardım edebileceğini bildirmişlerdir.

Diyabetik rat miyokardiyumunda non diyabetik ve diyabetik gruplarda reperfüzyon esnasında ginkgo bilobanın kullanımı ile serbest radikallerin büyük kısmının azaldığı ve diyabetik ratlarda ön koşulsuz iskemiden sonra kardiyak fonksiyonun iyileştiği gösterilmiştir. Ginkgo bilobanın önkoşullu olayda diyabetin etkilerini azalttığı bildirilmektedir. (Tosaki A ve ark, 1996)

Özellikle ginkgolide B'nin platelet aktive edici faktör'ü (PAF) antagonize ederek antiagregan etki yaptığı bildirilmiştir. Bu şekilde ginkgo biloba PAF'ın trombosit agregasyonunu uyarıcı, nötrofillerde degranülasyon ve oksijen radikal üretimini artırıcı etkilerini azaltmaktadır. (Chung KF ve ark, 1987; Braquet P ve ark, 1991)

Ginkgo biloba'nın superoksit anyonlarını temizleyici etkisi ile "endotelium derived relaxing factor"ün (EDRF) yarı ömrünü uzattığı bu yolla güçlü

vazorelaksan ve antiagregan etki ortaya çıkabileceği bildirilmiştir. (Kleijnen J ve ark,1992)

EGB 761 tedavisinde etkilerinin ortaya çıkması için gerekli sürenin 4–6 hafta olduğu bildirilmektedir (Kleijnen J ve ark,1992). Bizde çalışmamızda 40 gün süreyle Ginkgo biloba ekstresi verdik.

Ratlarda termal travma ile oluşturulmuş oksidatif hasarda ginkgo biloba ekstresinin karaciğer ve böbrekte koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. (Sakarcan A ve ark,2005)

Endotoxin ile ratlarda oluşturulan renal hasarda, Ginkgo Biloba Ekstresi (EGB 761) ve E vitamini kullanımı lipid peroksidasyon seviyelerini azaltarak antioksidan enzim aktivitesini arttırmıştır. Endotoksemik ratlarda EGB 761 tedavisi böbrekte mononükleer hücre infiltrasyonunu azaltmıştır. Ayrıca dejeneratif değişiklikler, tübüler ve glomerüler büzülmenin önemli derecede azaldığı gösterilmiştir. (Coşkun Ö ve ark, 2005)

İskemi reperfüzyon (I/R) yapılmış renal hasarlı ratlarda böbrekte iskeminin patogeneğinde reaktif oksijen metabolitlerinin artışının rol oynadığı belirtilmiş ve bulgular serbest oksijen radikallerinin I/R’ de rol oynadığını ve ginkgo biloba kullanımının muhtemelen antioksidan etkisiyle böbreği koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. (Şener G ve ark, 2005)

1 mg/kg Sisplatin (CDDP) ve 100mg/kg Ginkgo Biloba Ekstresi’nin (CDDP’den 90 dk. önce) ile yapılan bir çalışmada Ginkgo Biloba Ekstresi’nin nefrotoksisite bulgularını düzelttiği görülmüştür. (Fukaya H ve ark, 1999)

Ginkgo Biloba Ekstresi’nin başka ilaçların oksidatif yolla oluşturduğu toksik yan etkilere karşı koruyuculuğunu gösteren çalışmalar da vardır. Bunlardan biri de gentamisin nefrotoksisitesidir. (Niadu MU ve ark, 2000)

Bazı çalışmacılar Siklosporinin uyardığı Serbest Oksijen Radikalleri oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu GBE’nin engellediğini rapor etmişlerdir. (Barth SA ve ark, 1991)

Antioksidan etkinliği birçok çalışmada vurgulanmış olan aynı zamanda periferik dolaşımla beyin kan akımını arttırabilen GBE (Egb 761)günümüzde daha çok serebrovasküler disfonksiyon ve periferik vasküler hastalıklarda kullanılmaktadır.

Çalışmamızda ginkgo biloba verilen diabetik ratlarda hiperglisemi ve kilo kaybı, tedavi edilmeyen diabetik grupla anlamlı farklılık göstermezken, glomerül boyutlarının anlamlı olarak küçük olduğu tespit edildi. Ayrıca Ginkgo biloba verdiğimiz diabetik ratlarda, glomerüloskleroz, mezengial matriks artışı, bazal membran kalınlaşması ve tübülerde vakuolizasyon, hidropik dejenerasyon, tübüler nekroz gibi patolojilerde önemli oranda azalma saptandı. Bu grupta histolojik olarak kontrol grubuna yakın görünüm izlendi.

Bu çalışmada elde edilen verilere göre stereptozotosin ile oluşturulmuş diabetik nefropatide GBE'nin kısmen koruyucu olduğunu söyleyebiliriz. Bu çalışma, bu alanda yapılmış ilk çalışmalardan biridir. GBE'nin diabetik nefropatideki koruyucu etkinliğini ortaya çıkarabilmek amacıyla daha farklı dozlarda, farklı deney sürelerinde ve daha fazla kriter bakılarak çalışmaların yapılması gerekir.

6. KAYNAKLAR

American Diabetes Association: Diabetic nephropathy. Diabetes Care 23:S69 –S72, 2000)

Aiello LM, Northrup J, Keyt B, et al. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. Arch Ophthalmol 1995;113:1538–1544)

Akgül E, İlhan N, İlhan N, Halifeoğlu İ. Tip II Diabetes mellitusta lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri. Türk Biyokimya Dergisi 1999; 3: 28–33)

Apaydin C, Oguz Y, Agar A, Yargicoglu P, Demir N, Aksu G Acta Ophthalmol Visual evoked potentials and optic nerve histopathology in normal and diabetic rats and effect of ginkgo biloba extract. (Copenh). 1993 Oct;71(5):623–8)

Andersson AK, Sandler S. Melatonin protects against streptozotocin, but not interleukin-1 β -induced damage of rodent pancreatic B-cell. J Pineal res 2001; 30: 157–165)

Ayo SH, Radnik RA, Gloss WF et al. High glucose causes an increase in extracellular matrix proteins in cultured mesangial cells. Am J Pathol 1990; 136: 1339–1348)

Baydas G, Canatan H, Turkoglu A. Comparative analysis of the protective effects of melatonin and vitamin C on streptozocin-induced diabetes mellitus. J Pineal Res 2002; 32: 225–230)

Braquet P. The ginkgolides: Potent platelet-activatingfactor antagonists isolated from Ginkgo biloba L:Chemistry, Pharmacology and clinical applications. Drugsof the future 1987;12(7):643–99)

Barnet AH. Origin of the microangiopathic changes in diabetes. Eye 1993;223–227)

Bernardczyk-Meller J, Siwiec-Proscinska J, Stankiewicz W, Fichna P, Pecold K, Korman E Influence of Eqb 761 on the function of the retina in children and adolescent with long lasting diabetes mellitus-preliminary report Klin Oczna. 2004;106(4–5):569–71)

Barth SA, Inselmann G, Engemann R, Heidemann H. Influences of ginkgo biloba extract on cyclosporin A-induced lipid peroxidation in human liver microsomes in comparison to vitamin E, glutathione and acetylcysteine. *Biochem Pharmacol* 1991;41:1521–6)

Cortes P, Dumler F, Goldman J, Levin NW. Relationship between renal function and metabolic alterations in early streptozotocin-induced diabetes in rats. *Diabetes* 1987; 36: 80–87)

Carl-David A, Stenram U, Torffvit O et al. Effects of inhibition of glycation and oxidative stress on the development of diabetic nephropathy in rats. *Journal of Diabetes Its Complications* 2002; 16: 395–400)

Cha T, Thara Y, Yamato E, Yoneda H, Ikegami H, Noma Y, Shima K, Ogihara. Renal handling of glycated albumin in non-insulin-dependent diabetes mellitus with nephropathy. *Diabetes Res* 1991;12:149–156)

Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J* 2003; 17: 1195–1214)

Cheesman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481–493)

Cengiz M, Cengiz S. Tip 2 diyabetli hastalarda C vitamini uygulamasının eritrosit glutatyon ve HbA1C düzeyleri üzerine etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2000; 31: 211–215)

Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Dello Russo P, Torello R. A preliminary note on inhibiting effect of Alpha-tocopherol on protein glycation. *Diabet Metab* 1988; 14: 40–52)

Catherwood MA, Powell LA, Anderson P et al. Glucose-induced oxidative stress in mesangial cells. *Kidney Int* 2002; 61: 599–608)

Chen JX, Zeng H, Chen X, et al. Induction of heme oxygenase-1 by Ginkgo biloba extract but not its terpenoids partially mediated its protective effect against lysophosphatidylcholine (LPC)-induced damage. *Pharmacol Res* 2001;43:63–9)

Chung KF, Dent G, McCusker M, Guinot PH, Page CP, Barnes PJ. Effect of aginkgolide mixture in antagonising skin and platelet responses to platelet activating factor in man. *Lancet* 1987; 248–51)

Coşkun Ö, Armutcu F, Kanter M, Kuzey GM. Protection of endotoxin-induced oxidative renal tissue damage of rats by vitamin E or/and EGb 761 treatment. *J Appl Toxicol*. 2005 Jan-Feb;25(1):8–12)

Çimen A. Anatomi. 3. Baskı, Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1992: 351–355)

Çam M, Yavuz O, Güven A et al. Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pineal Res* 2003; 35: 212–220)

Du G, Willet K, Mouithys-Mickalad A, Sluse-Goffart CM, Droy-Lefaix MT, Sluse FE. EGb 761 protects liver mitochondria against injury induced by in vitro anoxia/reoxygenation. *Free Radic Biol Med*. 1999 Sep;27(5–6):596–604)

Dae Ryong Cha, Young Sun Kang, Sang Youb Han, Yi Hwa Jee, Kum Hyun Han Jee Young Han, Young S Kim And Nan Hee Kim Vascular endothelial growth factor is increased during early stage of diabetic nephropathy in type II diabetic rats. *Journal of Endocrinology* (2004) :183–194)

Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *BioEssays* 2004; 26: 533–542)

Farinati F, Cardin R, Degan P, Rugge M, Di Mario F, Bonvicini P, Naccarato R. Oxidative DNA damage accumulation in gastric carcinogenesis. *Gut* 1998; 42: 351–356)

Fukaya H, Kanno H. Experimental studies of the protective effect of ginkgo biloba extract (GBE) on cisplatin-induced toxicity in rats. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho* 1999;102(7):907–17)

Gambaro G, Cavazzana AO, Luzi P, Precoli A, Borsatti A, Crepaldi G, Marchi E, Venturini AP, Baggio B. Glycosaminoglycans prevent morphological renal alterations and albuminuria in diabetic rats. *Kidney Int* 1992; 42: 285–291)

Göksel Şener, Emre Şener, Özer Şehirli, Ayliz Velioğlu Öğünç, Şule Çetinel, Nursal Gedik and Abdullah Sakarcan Ginkgo biloba extract ameliorates ischemia reperfusion-induced renal injury in rats. 2005 Sep;52(3):216–22)

Gugliucci A. Glycation as the glucose link to diabetic complication. *JAOA* 2000;100(10): 621–634)

Gardner LP. Color Text of Histology. USA, WB. Saunders Company, 1997; 358–381

Hirose K, Qsterby R, Nozawa M, Jorgen H, GundersenG. Development of glomerular lesions in experimental long-term diabetes in the rat. *Kidney Int* 1982;21: 689–695)

Hasselbaink DM, Glatz JFC, Luiken JJFP, Roemen THM, Vusse GJV. Ketone bodies disturb fatty acid handling in isolated cardiomyocytes derived from control and diabetic rats. *Biochem J* 2003; 371: 753–760)

John W. Baynes and Suzanne R. Thorpe. Role of Oxidative Stress in Diabetic Complications A New Perspective on an Old Paradigm. *Diabetes*, vol. 48, january (1999)

Joshua J. Wang, Sarah X. Zhang, Kangmo Lu, Ying Chen, Robert Mott, Sanai Sato, and Jian-xing Ma. Decreased Expression of Pigment Epithelium-Derived Factor Is Involved in the Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. *Diabetes*, vol. 54, january (2005)

Junqueira LC, Jose Carneiro. Temel Histoloji. 10. Baskı (Çeviri) İstanbul: Nobel Matbaacılık, 2006; 383–401

Kleijnen J, Knipschild P. Ginkgo Biloba. *The Lancet* 1992;340;7: 1136–9)

Kowluru RA, Abbas SN, Odenbach S. Reversal of hyperglycemia and diabetic nephropathy. Effect of reinstitution of good metabolic control on oxidative stress in the kidney of diabetic rats. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2004; 18: 282–288)

Liebgoett T, Miollan M, Berchadsky Y, et al. Complementary cardioprotective effects of flavonoid metabolites and terpenoid constituents of Ginkgo biloba extract (Egb761) during ischemia and reperfusion. *Basic Res Cardiol* 2000;95:368–77)

Lehmann R, D.Schleicher E. Molecular mechanism of diabetic nephropathy. *Clin. Chim. Acta.* 2000; 297: 135–144)

Leubuisson DA, Lorey L, Rigal G. Treatment of senile macular degeneration with ginkgo biloba extract. A preliminary double-blind drug vs placebo study. *Presse Med* 1986;15(31):1556–8)

Langenstroer P, Pieper GM. Regulation of spontaneous EDRF release in diabetic rat aorta by oxygen free radical. *Am J Physiol* 1992; 263: 257–265)

Mogensen CE, Christensen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin dependent patients. *N Eng J Med* 1984;311: 89–93)

Maitra I, Marcocci L, Droy-Lefaix MT, Packer L. Peroxyl radical scavenging activity of Ginkgo biloba extract Egb761. *Biochem Pharmacol* 1995;49: 1649–55.)

Mc Kenna DJ, Jones K, Hughes K. Efficacy, safety, and use of Ginkgo biloba in clinical and preclinical applications. *Alternative Therapies in Health and Medicine* 2001;7:5: 70–90)

Mecocci P, McGarvey U, Kaufman AE, Koontz D, Shoffner JM, Wallace DC, Beal MF. Oxidative damage to mitochondrial DNA shows marked age-dependent increases in human brain. *Ann Neurol* 1993; 34: 609–616)

Mingxi Li, Kathy M. Nicholls, Gavin J. Becker J Glomerular size and global glomerulosclerosis in normal Caucasian donor kidneys: Effects of aging and gender *NEPHROL* 2002; 15: 614–619)

Mamdouh Anwar M, Meki Abdel-Rahim MA. Oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 2003; 135: 539–547)

Monograph *Alternative Medicine Review* Volume 3, Number 1 (1998)

Niadu MU, Shifow AA, Kumar KV, Ratnakar KS. Ginkgo biloba extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Phytomedicine* 2000;7(3):191–7)

Ozan H. *Anatomi. 2. Baskı*, Ankara: Klinisyen Tıp Kitabevleri, 2005: 293–297)

O'Hara MA, Kiefer D, Farrell K, Kemper K. A review of 12 commonly used medicinal herbs. *Archives of Family Medicine* 1998;7;6:523–6)

Osterby R, Bangstad HJ, Nyberg G, Rudberg S. On glomerular structural alterations in type-1 diabetes. Companions of early diabetic glomerulopathy. *Virchows Archiv* 2001;438(2):129–135)

Parving HH, Andersen AR, Smidt UM, Hommel E, Mathiesen ER, Svendsen PA. Effect of antihypertensive treatment on kidney function in diabetic nephropathy BMJ 1987;294:1443–1447)

Punkt K, Zaitsev S, Park JK, Wellner M, Buchwalow IB. Nitric oxide synthase isoforms I, III and protein kinase-C θ in skeletal muscle fibres of normal and streptozotocin-induced diabetic rats with and without Ginkgo biloba extract treatment. 2001 Apr;33(4):213–9)

Rao VSN, Santos FA, Silva RM et al. Effects of nitric oxide synthase inhibitors and melatonin on the hyperglycemic response to streptozotocin in rats. Vascular Pharmacology 2002; 38: 127–130)

Ren de C, Du GH, Zhang JT. Protective effect of ginkgo biloba extract on endothelial cell against damage induced by oxidative stress. J Cardiovasc Pharmacol. 2002;Dec;40(6):809–14)

Reeves BR, Andreoli TE. Transforming growth factor β contributes to progressive diabetic nephropathy. PNAS 2000; 97(14): 7667–7669)

Ross MH. Histology A Text And Atlas. 3.th Ed, USA, 1995; 558–583

Sakharova OV, Taal MW, Brenner BM: Pathogenesis of diabetic nephropathy: focus on transforming growth factor-beta and connective tissue growth factor. Curr Opin Nephrol Hypertens 10: 727–738, 2001)

Smith PF, MacLenman K. The neuroprotective properties of the Ginkgo biloba leaf: A review of the possible relationship to platelet-activating factor (PAF). Ethnopharmacol 1996;50(3):131–9)

Sanai T, Sobka T, Johnson T, El-Essawy M, Muchaneta-Kubara EC, Ben Gharbia O, Oldroyd S, El Nahus AM. Expression of cytoskeletal proteins during the course of experimental diabetic nephropathy. Diabetologia 2000;43: 91–100.

Sastre J, Pallardo FV, Vina J. Mitochondrial oxidative stress plays a key role in aging and apoptosis. IUBMB Life 2000; 49: 427–435.

Shih-Yi Huang, Chii Jengb, Shou-Chuan Kaoc, Joseth Jy-Hau Yud, Der-Zen Liuc, Improved haemorrheological properties by Ginkgo biloba extract (Egb 761) in type 2 diabetes mellitus complicated with retinopathy. Clinical Nutrition (2004) 23, 615–621

Sakarcan A, Sehirli O, Velioglu-Ovunc A, Ercan F, Erkan G, Gedik N, Sener G. Ginkgo biloba extract improves oxidative organ damage in a rat model of thermal trauma. J Burn Care Rehabil. 2005 Nov-Dec;26(6):515–24)

Tucker BJ, Collins RC, Ziegler MG, Blandz RC. Disassociation between glomerular hyperfiltration and extracellular volume in diabetic rats. Kidney Int 1991; 39: 1176–1183)

Tosaki A, Pali T, Droy-Lefaix MT. Effects of Ginkgo biloba extract and preconditioning on the diabetic rat myocardium. Diabetologia. 1996 Nov;39(11):1255–62)

Vural S, Sabuncu T, Arslan SO et al. Melatonin inhibits lipid peroxidation and stimulates the antioxidant status of diabetic rats. J Pineal Res 2001; 31: 193–198)

Welt K, Weiss J, Koch S, Fitzl G. Protective effects of Ginkgo biloba extract EGb 761 on the myocardium of experimentally diabetic rats. II. Ultrastructural and immunohistochemical investigation on microvessels and interstitium. Exp Toxicol Pathol. 1999 May;51(3):213–22)