



**DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON  
HASARINDA AGOMELATİN'İN ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Damla AYKORA  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Suat TEKİN**

**Yüksek Lisans Tezi-2020**

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDA  
AGOMELATİN'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Damla AYKORA**

**Fizyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Suat TEKİN**

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL /  
2019-1762 proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA  
2020**

	<b>KABUL ONAY FORMU</b>	Doküman No	
		Yayın Tarihi	
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ		Revizyon No	
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ		Revizyon Tarihi	
		Sayfa No	

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

**DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDA AGOMELATİNİN**  
**KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**DOÇ. DR. SUAT TEKİN**

**HAZIRLAYAN**  
**DAMLA AYKORA**

Jürimiz tarafından 21/01/2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda bu tez **oybirliği /oyçokluğu** ile başarılı bulunarak Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul etmiştir.

**Jüri Üyelerinin Unvanı Adı Soyadı**

**İmza**

1. Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK
2. Prof. Dr. Süleyman SANDAL
3. Doç. Dr. Suat TEKİN



**O N A Y**

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../20... tarih ve 20.../..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

**Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ**  
**Enstitüsü Müdürü**

# İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	x
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Böbreğin Makroskopik Anatomisi	3
2.2. Böbreğin Mikroskopik Anatomisi	4
2.2.1. Nefron	4
2.3. Sıçan Böbreğinin Anatomisi	7
2.4. Böbrek Fizyolojisi	7
2.4.1. Renal Dolaşım	7
2.4.2. Böbrek Kan Akımı	8
2.4.3. Glomerül ve Fonksiyonu	8
2.5. İskemi/Reperfüzyon Hasarı	9
2.5.1. İskemi	9
2.5.2. Reperfüzyon	10
2.6. Oksitadif Stres	12
2.7. Serbest Oksijen Radikalleri	12
2.8. Antioksidanlar	16
2.8.1. Endojen Antioksidanlar	16
2.8.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	16
2.8.1.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar	19
2.9. Agomelatin	23
2.9.1. Tarihçesi	23
2.9.2. Biyokimyasal Yapısı	23
2.9.3. Farmakokinetiği ve Metabolizması	24
2.9.4. Reseptörleri	25
2.9.5. Melatonerjik Sistem ve Agomelatin	25
2.9.6. Agomelatin ve Depresyon	27
2.9.7. Agomelatin'in Antioksidan Sisteme Entegrasyonu	28
3.MATERYAL VE METOD	30

3.1. Araştırmanın Yapıldığı Merkez	30
3.2. Gruplardaki Hayvan Sayılarının Belirlenmesi	30
3.3. Deneysel Hayvanlar ve Grupların Oluşturulması	30
3.4. Hayvanların Gruplara Atanması	32
3.5. Agomelatinin Hazırlanması ve Konsantrasyon Seçimi	33
3.6. Cerrahi Uygulamalar	33
3.7. Kan Örnekleri ve Dokuların Toplanması	35
3.8. Dokuların Analizlere Hazırlanması	35
3.9. Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler	36
3.9.1. TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Seviyeleri Tayini	36
3.9.2. Sod Enzim Aktivitesi Ölçümü	36
3.9.3. Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü	37
3.9.4. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesi Ölçümü	37
3.9.5. Malondialdehit Ölçümü	38
3.9.6. Total Glutasyon Ölçümü	38
3.9.7. Biyokimyasal Analiz	39
3.9.8. Histolojik Analiz	39
4.BULGULAR	40
4.1. Agomelatin'in Serum Üre Seviyeleri Üzerine Etkileri	40
4.2. Agomelatin'in Serum Kreatin Seviyesi Üzerine Etkisi	41
4.3. Agomelatin'in Serum TNF- $\alpha$ Seviyesi Üzerine Etkisi	41
4.4. Agomelatin'in Serum IL-1 $\beta$ Seviyesi Üzerine Etkisi	42
4.5. Agomelatin'in Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	43
4.6. Agomelatin'in Katalaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	44
4.7. Agomelatin'in Glutasyon Seviyesi Üzerine Etkisi	45
4.8. Agomelatin'in Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	46
4.9. Agomelatin'in Malonaldehit Seviyesi Üzerine Etkileri	47
4.10. Histopatolojik Analizler	48
5.TARTIŞMA	54
5.1. Agomelatin'in Serum Üre ve Kreatin Değerleri Üzerine Etkileri	54
5.2. Agomelatin'in TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Seviyeleri Üzerine Etkileri	55
5.3. Agomelatinin SOD Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri	56
5.4. Agomelatinin CAT Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	57
5.5. Agomelatinin GSH Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	57

5.6. Agomelatinin GPx Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri	58
5.7. Agomelatinin MDA Seviyesi Üzerine Etkileri	58
5.8. Agomelatinin Histolojik Hasar Üzerine Etkileri	59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	60
KAYNAKLAR	61
EKLER	73



## TEŐEKKÜR

TYL / 2019-1762 proje no'lu proje ile yüksek lisans tez araŐtırmama maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine,

Tez araŐtırmam ve Yüksek Lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle yardımını ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Suat TEKİN'e iğten saygı ve teŐekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalındaki bütün hocalarıma, tez ęalıŐmamın her aŐamasında desteği bulunan İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı asistanları değerli arkadaŐlarım Mehmet Refik Bahar ve Dilara Altay Öztürk'e, biyokimyasal analizlerde bilgisinden ve tecrübelerinden faydalandığım İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Kevser Tanbek'e, histolojik analizlerde yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Elif TaŐlıdere'ye teŐekkürlerimi sunarım.

Son olarak, eğitim hayatımın bu ęok önemli ve değerli yolculuğunda benden desteğini esirgemeyen eŐim Emrah Aykora'ya ve oğluma teŐekkür ederim, minnettarım.

## ÖZET

### Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Agomelatin'in Etkilerinin Araştırılması

**Amaç:** Akut böbrek yetmezliği kazalar, iyatrojenik travma, renal vasküler cerrahiler, aort klempajı sonucunda ortaya çıkan ve klinikte sık karşılaşılan bir durumdur. Bu çalışma antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri kısmen açıklanmış, melatonin analogu olarak tanımlanan agomelatinin deneysel böbrek iskemisi/reperfüzyon hasarında koruyucu rol üstlenip üstlenmediğini belirlemek amacıyla yapıldı.

**Materyal ve Metot:** Çalışmada 60 adet Spraque Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı (n=60). Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı, I/R grubuna ise 45 dk iskemi, 24 saat reperfüzyon uygulandı. I/R grubuna yapılan cerrahi girişimler Ago20 (K), Ago40 (K), Ago20 (U), Ago40 (U) gruplarındaki sıçanlara da uygulandı. I/R grubuna hidroksietil selüloz, diğer gruplara ise agomelatinin 20 ve 40 mg/kg'lık konsantrasyonları iskemi öncesi oral olarak uygulandı. Çalışma sonunda böbrek dokusunda SOD, CAT, GSH, GPx ve MDA analizleri, serum dokusunda ise üre, kreatin, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  analizleri gerçekleştirildi.

**Bulgular:** I/R hasarına bağlı olarak serum dokusunda artış gösteren, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , üre ve kreatin seviyelerinin agomelatin uygulamasına bağlı olarak azaldığı (p<0.05) ve I/R hasarına bağlı olarak böbrek dokusunda azalma saptanan SOD, CAT, GSH ve GPx seviyelerinin agomelatin uygulamasına bağlı olarak arttığı görüldü (p<0.05). Öte yandan I/R hasarına bağlı olarak böbrek dokusunda artış gösteren MDA seviyesinde agomelatin uygulamasına bağlı olarak azalma saptandı (p<0.05). Tüm bunların dışında böbrek dokusunda yapılan histopatolojik değerlendirmede hücresel iyileşmelerin agomelatin tedavisine bağlı olarak oluştuğu görüldü (p<0.05).

**Sonuç:** Bu çalışmanın sonuçları agomelatinin iskemi/reperfüzyonun indüklediği böbrek hasarına karşı antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkisiyle koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** İskemi, Reperfüzyon, Oksidatif Stres, Serbest Oksijen Radikalleri, Agomelatin



## ABSTRACT

### Investigation of Effects of Agomelatine in Experimental Renal Ischemia/Reperfusion Injury

**Aim:** Acute Renal Failure is clinically common situation caused by accidents, iatrogenic traumas, aortic clamp. This study aimed to investigate if agomelatine, one of melatonine analogues, which partially explained about its antioxidant and antiinflammatory effects has any scavenging role in experimental renal ischemia/reperfusion injury.

**Material and Method:** In this study 60 Sprague Dawley type male rats used (n=60). Control group didn't have any application. 45 minutes ischemia and 24 hours reperfusion applied on I/R group. Same surgical procedure applied on Ago20 (K), Ago40 (K), Ago20 (U), Ago40 (U) groups. I/R group orally gavaged with hydroxiethylcellulose, other groups orally gavaged with 20 and 40 mg/kg concentrated agomelatine before ischemia. At the end of the study SOD, CAT, GSH, GPx and MDA parameters analysed on renal tissue and urea, creatin, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  parameters analysed with serum tissue.

**Results:** Depending on I/R injury increase of urea, creatine, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in serum tissue decreased by agomelatine treatment (p<0.05). On the other hand a decrease of SOD, CAT, GPx and GSH levels of renal tissue depending on I/R injury, increased by agomelatine treatment (p<0.05). In addition decreased MDA levels of renal tissue showed an increase with agomelatine treatment too (p<0.05).

**Conclusion:** These results demonstrate that agomelatine is protective as an antioxidant and has scavenging free radicals effects against renal damage induced by ischemia/reperfusion.

**Key Words:** Ischemia, Reperfusion, Oxidative Stress, Reactive Oxygen Species, Agomelatine.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- I/R** : İskemi/Reperfüzyon  
**SOR** : Serbest Oksijen Radikalleri  
**MT1** : Melatonin 1 Reseptörü  
**MT2** : Melatonin 2 Reseptörü  
**5HT<sub>2C</sub>**: Serotonin Reseptörü  
**kDa** : Kilodalton  
**µL** : Mikrolitre  
**SOD** : Süperoksit Dismutaz  
**CAT** : Katalaz  
**GPx** : Glutasyon Peroksidaz  
**GR** : Glutasyon Redüktaz  
**GSH** : Glutasyon  
**MDA** : Malondialdehit  
**AGO** : Agomelatin  
**NAT** : N-Asetil Transferaz  
**HIOMT**: Hidroksiindol-o-metiltransferaz  
**CuZnSOD**: Bakır Çinko Süperoksit Dismutaz  
**MnSOD**: Manganez Süperoksit Dismutaz  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Hidrojen Peroksit  
**GSH** : Glutasyon  
**GSSH** : Okside Glutasyon  
**CAT** : Katalaz  
**SOD** : Süperoksit Dismutaz  
**GPx** : Glutasyon Peroksidoz  
**GR** : Glutasyon Redüktaz  
**MDA** : Malondialdehid

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Böbreklerin ve Üriner Sistemin Genel Organizasyonu .....	4
Şekil 2.2. Böbrek Kesiti ve Nefronun Mikrodolaşımı .....	5
Şekil 2.3. Makula Densa Özelleşmiş Hücrelerinin Yerleşimi .....	6
Şekil 2.4. Glomerüler Kapiller Yapısı .....	9
Şekil 2.5. Mitokondriyal SOR Üretimi .....	14
Şekil 2.6. SOD Enzim Aktivasyonu. ....	16
Şekil 2.7. CAT Enzim Aktivasyonu. ....	17
Şekil 2.8. GPx Enzim Aktivasyonu .....	18
Şekil 2.9. Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivitesi .....	19
Şekil 2.10. Glutasyon Sentezi .....	20
Şekil 2.11. Agomelatin ve Melatoninin Kimyasal Formülasyonu.....	24
Şekil 2.12. Pineal Bezde Işık Etkisiyle Triptofandan Melatonin Sentezi .....	26
Şekil 3.1. Araştırma Planı. ....	32
Şekil 3.2. Sıçan Böbreğine Ulaşılması (A), Renal Artere Ulaşılması (B) .....	34
Şekil 3.3. Böbrek Arterinin Klempenmesi (A), Klempaj Takibi (B) .....	34
Şekil 4.1. Deney ve Uygulama Gruplarının Serum Üre Seviyeleri .....	40
Şekil 4.2. Deney ve Uygulama Gruplarının Serum Kreatin Seviyeleri. ....	41
Şekil 4.3. Deney ve Uygulama Gruplarının TNF- $\alpha$ Seviyeleri. ....	42
Şekil 4.4. Deney ve Uygulama Gruplarının Serum IL-1 $\beta$ Seviyeleri .....	43
Şekil 4.5. Deney ve Uygulama Gruplarının SOD Enzim Aktivitesi. ....	44
Şekil 4.6. Deney ve Uygulama Gruplarının CAT Enzim Aktivitesi .....	45
Şekil 4.7. Deney ve Uygulama Gruplarının GSH Enzim Aktivitesi. ....	46
Şekil 4.8. Deney ve Uygulama Gruplarının GPx Enzim Aktivitesi. ....	47
Şekil 4.9. Deney ve Uygulama Gruplarının MDA Seviyeleri. ....	48
Şekil 4.10. Kontrol Grubuna Ait Böbrek Dokusunda Glomerul (Yıldız) ve Tübül Yapıları (Oklar) Normal Olarak İzlenmekte (A) H-E; X20, (B) H-E; X40.....	49
Şekil 4.11. I/R Grubuna Ait Böbrek Dokusunda İnfiltrasyon Alanları (A;Oklar), İntertübüler Hemoraji (Oklar) ve İntratübüler Cast Oluşumu (B; Yıldız) H-E; X20. ....	49
Şekil 4.12. Ago20 (K) Grubuna Ait Böbrek Dokusunda İnfiltrasyon Alanları (A;Oklar), İntertübüler Hemoraji (Oklar) ve İntratübüler Cast Oluşumu (B;Yıldız) İzlenmekte H-E; X20. ....	50
Şekil 4.13. Ago40 (K) Grubuna Ait Böbrek Dokusunda İnfiltrasyon Alanları (A;Oklar), İntertübüler Hemoraji (Oklar) ve İntratübüler Cast Oluşumu (B;Yıldız) İzlenmekte H-E; X20 .....	50
Şekil 4.14. Ago20 (U) Grubuna Ait Böbrek Dokusunda İnfiltrasyon Alanları (A;Oklar), İntertübüler Hemoraji (Oklar) ve İntratübüler Cast Oluşumu (B;Yıldız) İzlenmekte H-E; X20. ....	51
Şekil 4.15. Ago40 (U) Grubuna Ait Böbrek Dokusunda İnfiltrasyon Alanları (A;Oklar), İntertübüler Hemoraji (Oklar) ve İntratübüler Cast Oluşumu (B;Yıldız) İzlenmekte H-E; X20. ....	52
Şekil 4.16. Gruplardan Histopatolojik Değerlendirme Sonucu Elde Edilen Hasar Skorlaması.....	53

## TABLÖLAR LİSTESİ

**tablo 3.1.** Grupların Bilgisayara Dayalı Algoritma Kullanılarak Oluşturulması. .... 33



# 1. GİRİŞ

İskemi, kan akışında bölgesel bir azalma veya kesilmeyi takiben vücudun bir kısmının hipoksida kalması ile oluşur. İskemi, hücrede ATP sentezini azaltır ve asidoza sebep olarak, toksik metabolitlerin hücrede birikmesiyle sonuçlanmaktadır. Akut böbrek yetmezliği etiolojisinde; kazalar, iyatrojenik travma, renal vasküler cerrahiler, aort klempajı ve sistemik hipotansiyon gibi patolojiler yer almaktadır (1). Hücrede oluşan toksik metabolitlerin süpürülmesi ve hücre yenilenmesi için gerekli olan yeniden kan akımı çelişkili bir şekilde iskemi kaynaklı meydana gelen hasardan daha fazlasına sebep olur (2). Renal iskemi/reperfüzyon hasarı yüksek mortalite ve morbidite riski ile ilişkili birçok patolojik durum ile karşımıza çıkabilmektedir. İnflamatuvar yanıt ve oksidatif stres iskemi/reperfüzyon hasarını takiben organda kalıcı hasar bırakmaktadır (3) aynı zamanda akut renal hasarın önemli bir nedenidir (4).

İskemiye takiben reperfüzyon hücrede bir takım değişikliklere sebep olmaktadır. Bu süreç; hücrede ATP üretiminin baskılanması, membran fosfolipitlerinin peroksidasyonuna öncülük eden membran proteazlarının ve fosfatazlarının aktive olması, hücre içi kalsiyum artışı ile birlikte (SOR) oluşması ve oksidatif stres tablosunun oturması şeklinde özetlenebilir (5). Aerobik canlıların yaşamlarını sürdürmek için kullanmak zorunda oldukları oksijenin mitokondride suya dönüştürülmesi sırasında çeşitli sebeplerle oksijen kaynaklı radikallere dönüşmesi ile oluşan serbest radikaller son yörüngelerinde eşlenmemiş elektron bulunduran kararsız yapılardır ve diğer maddelerle tepkimeye girerek kararlı yapıya dönmeye çalışırlar. Bu bir denge halinde sorunsuz devam ederken bazı koşullarda eşlenme reaksiyonları gerçekleşemez ve çok sayıda radikal oluşur. Antioksidan koruyucu mekanizmalar bu dengeyi çoğu zaman korurlar fakat denge bazen bozulur ve fazla oksijenin elimine edilememesi ile oksidatif stres oluşur. SOR'un hücreden süpürülmesinde majör etkili hücresel mekanizma  $O_2^-$ 'yi (Süperoksid)  $H_2O_2$ 'ye (Hidrojen Peroksid) dönüştüren süperoksit dismutaz (CuZnSOD ve MnSOD) ve  $H_2O_2$ 'yi  $H_2O$ 'ya indirgeyen katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerini içeren antioksidan enzim sistemidir (6). Vücutta her hasar durumunda olduğu gibi akut renal hasara karşı da doku tamiri için endojen antioksidan savunma sistemleri devreye girer. Yapılan çalışmalarda eksojen antiinflamatuvar antioksidan moleküllerinin de bu hasara karşı etkili olduğu bildirilmiş olup, buna karşın hasarın yoğun olduğu durumlarda bu koruyucu sistemlerin yetersiz olduğu görülmüştür (7).

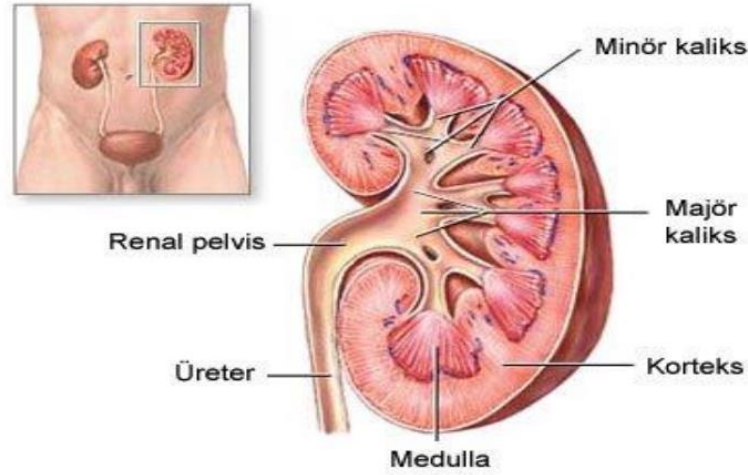
Çalışmamızda bir melatonin analogu olan agomelatinin böbrek iskemisi/reperfüzyon hasarında olası antioksidan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Agomelatin bir melatonin reseptör (MT<sub>1</sub>/MT<sub>2</sub>) agonisti ve serotonin reseptör (5-HT<sub>2C</sub>) antagonistidir (8). Agomelatin sirkadin bir antidepresan olup uyku verimini ve kalitesini düzenleyen biyolojik ritim ile ilişkili monoamin sistem dışında etkili ilk ajandır. Yetişkinlerde özellikle depresyon tedavisi için geliştirilmiş ve duygu durum bozukluğu ile anksiyete bozukluğu tedavisinde de potansiyel etkisi olan bir antidepresan olduğu bildirilmiştir. Agomelatinin melatonin reseptörlerine en az melatonin kadar yüksek affiniteli olmasından dolayı melatonin benzeri etkileri olan hatta daha etkili özellikleri barındıran bir analog olduğu çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Melatoninin antitümoral ve antioksidan etkilerinin bulunması, agomelatinin melatonin benzeri bu potent etkilerinin araştırılmasına zemin oluşturmuştur. Kontrollü kısa süreli çalışmalarda agomelatinin bir antidepresan olarak hızlı etkili ve iyi tolere edilebilir özellikleri dikkat çekici olmuştur. SSRI (Selektif Serotonin Geri Alım İnhibitörleri) antidepresanlara göre cinsel yaşam üzerinde daha az yan etkileri olduğu, yoksunluk ya da bırakma sendromu yaşanmadığı, yüksek dozların kullanımında bile bildirilen tek yan etkinin kısa süreli somnolans olduğu saptanmıştır. İlk geçiş biyotransformasyonuna karaciğerde uğrayan agomelatinin yapılan çalışmalarda kısa süreli karaciğer enzim yüksekliğine sebep olmasından dolayı agomelatinin reçete edilirken karaciğer fonksiyon testi (KCFT) ile enzim profili incelenmesi gerektiği bildirilmiştir (9).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Böbreğin Makroskopik Anatomisi

Böbrekler peritonun gerisinde yerleşimli koyu renkli görünümdeki fasulyeye benzer organlardır (10). Böbreklerin vücuttaki yerleşimleri şu şekildedir; sol böbrek on ikinci torakal vertebra ile üçüncü lumbal vertebralar hizasında, sağ böbrek sol böbreğe oranla karaciğer yerleşiminden dolayı daha aşağıda bulunmaktadır. Yüzen kostalar olarak da adlandırılan on birinci ve on ikinci kostalar ile böbrek üst kısımları korunmaktadır. Böbreklerin ağırlıkları cinsiyete göre farklılıklar göstermekte olup; erkeklerde yaklaşık 125-175 g kadınlarda ise yaklaşık 115-155 g'dır. Vertikal uzunlukları 11-14 cm, ve horizontal uzunluğu 6 cm olup, yaklaşık 4 cm kalınlığındadır. Ayrıca her iki böbrek şekillerini ve kendilerini korumaya yardımcı olan yoğun ve düzensiz bağ dokusundan oluşan lifli bir kapsül ile çevrelenmiştir. Travmaya dayanıklı bu kapsül renal fasyayla kaplanmış adipoz dokudan oluşmuştur ve bu fasya böbreklerin retroperitoneal bölgede sıkıca tutunmasını sağlamaktadır (11).

Böbreklerin dikey kesiti incelendiğinde Şekil 1'de gösterildiği üzere böbrek dokusunda dıştan içe kapsula, korteks ve medulla göze çarpmaktadır. Korteksten medullaya inen düz tübüllerin farklı uzunlukta olması ve düzenlenmesiyle oluşan 8-18 adet konik şekilli meduller yapılara piramit adı verilir ve bu yapılar medullayı oluşturur. Böbrek piramidinin apikal bölümüne papilla adı verilir. Majör kaliks adı verilen kanallar pelvisin dış sınırını oluşturur ve her papillada tübüllerden idrar toplayan daha küçük kanallar olan minör kalikslere ayrılır. Pelvis, üreter duvarları ve kalikslerin herbirinin duvarları idrarın miksiyon ile atılımına kadar saklandığı vesica urinaria'ya doğru ilerlemesini sağlayan kasılabilir yapıdadır (12).



**Şekil 2.1.** Böbreklerin ve üriner sistemin genel organizasyonu (13).

## 2.2. Böbreğin Mikroskopik Anatomisi

Her bir böbrek nefron adı verilen böbreğin fonksiyonel en küçük işlevsel birimi olan yapılar içermektedir. Nefronlar; süperfisiyal, midkortikal ve jukstaglomerüler nefronlar olmak üzere üç tip olarak adlandırılmıştır. Yapısal olarak glomerülleri korteksin orta ve dış katmalarında yerleşimli olan süperfisiyal ve midkortikal nefronların oranı %80-85 olup henle kulpları daha kısadır. %15'lik diğer kısım nefronların glomerülleri korteks-medulla birleşim yerine yakın yerleşimli olup jukstaglomerüler nefronlar olarak adlandırılır ve henle kulpları daha uzundur (10). Her bir nefron sıvının filtre edildiği glomerüler kapiller ağ ve filtratın idrara dönüştürüldüğü bir tübül içerir (12).

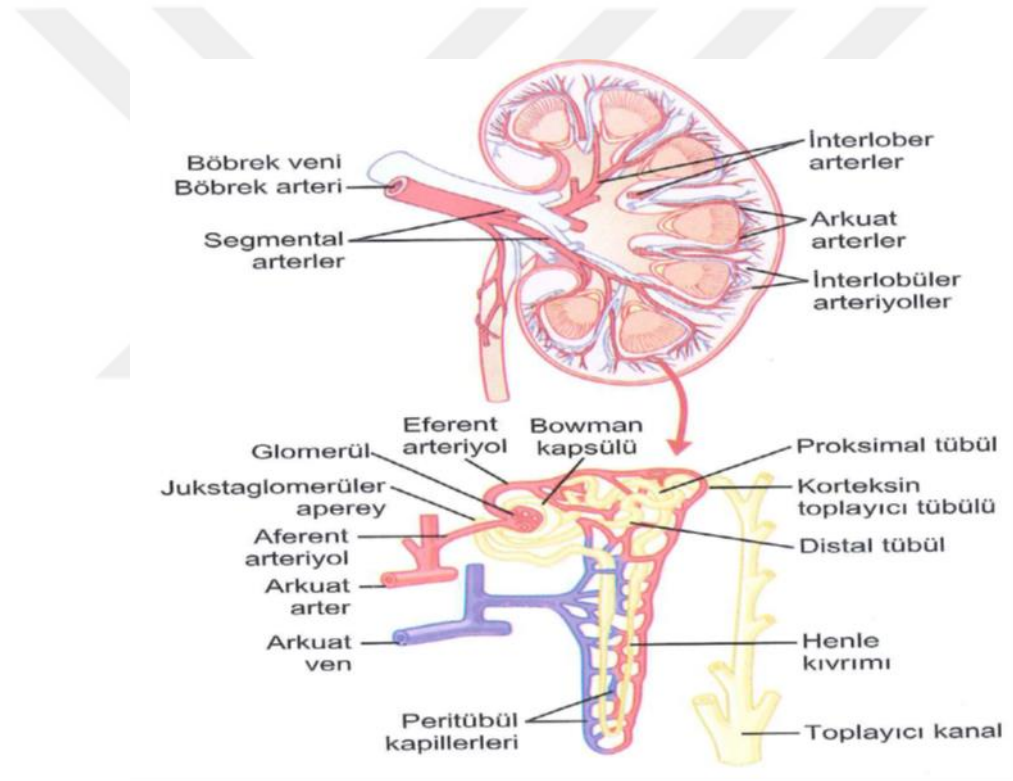
### 2.2.1. Nefron

Böbrekler filtre edilen sıvının idrara dönüştürüldüğü yaklaşık 800.000 – 1.000.000 kadar nefrondan oluşur (12). Nefronlar glomerüler ve tübüler sistem olmak üzere başlıca iki kısımdan oluşur. Afferent arteriyol ile efferent arteriyol arasında bulunan özelleşmiş bir kapiller yumak olan glomerüller, tübüler sistemin başlangıcı olup Bowman kapsülü denilen yapının içerisinde gömülü haldedir. Şekil 2.2.'de nefronun mikroskopik yapısı gösterilmektedir. Buna göre afferent arteriyol Bowman kapsülüne girdikten hemen sonra dallara ayrılır ve segmenter glomerül yapısını oluşturur. Glomerüler kapiller ağ afferent arteriyolün bu dallarından meydana gelmektedir. Afferent arteriyoller Bowman kapsülü içinde Efferent arteriyoller'i de oluşturduktan sonra kapsülü terk eder. Hem afferent hem



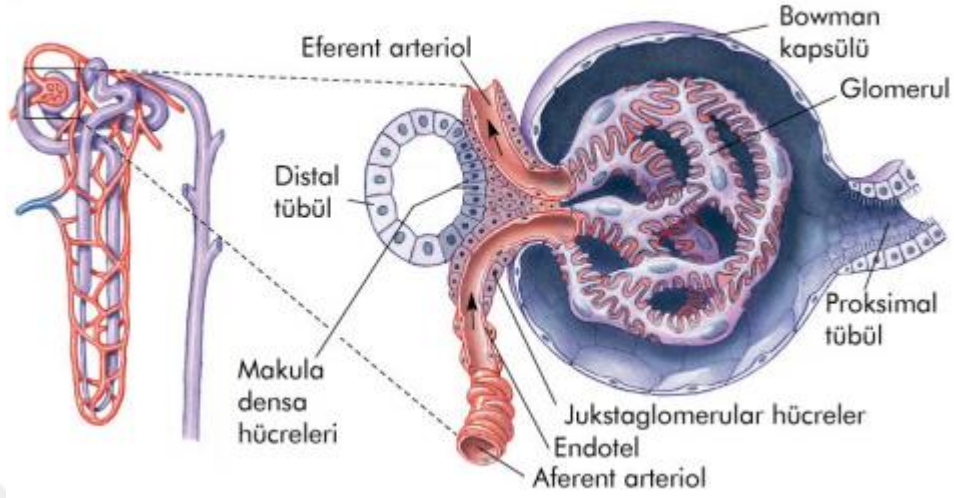
de efferent arteriyol, endotellerinde bulunan düz kas hücreleri sayesinde birçok vazoaaktif uyarana cevap verebilen kasılma özelliği sergilerler. Özellikle afferent arteriyol lokal myojenik mekanizmalara sahip olduğundan otonomik olarak kasılabilme yeteneğine sahiptir (10).

Epitel hücreleri ile örtülü olan Glomerül kapillerleri Bowman kapsülü ile çevrelenmiştir. Filtrat, Glomerül kapillerden Bowman kapsülü içine akar ve proksimal tübül ile böbrek medullasının derinliklerinde bulunan Henle kıvrımına geçer. Şekil 2.2’de peritübül kapiller ile sıkıca çevrelenmiş olan Henle kıvrımının inen ve çıkan kolunun distal ucu, duvarlarının ince olmasından dolayı Henle kıvrımının ince kısmı olarak adlandırılır. Henle kıvrımı kortekse doğru dönüş yaptıktan sonra duvarları kalınlaşır ve Henle kıvrımının çıkan kolunun kalın kısmı olarak adlandırılır (11).



**Şekil 2.2.** Böbrek kesiti ve nefronun mikrodolaşımı (12).

Henle kıvrımının çıkan kalın kolunun son kısmında Makula Densa adı verilen Şekil 2.3.’te gösterildiği gibi yerleşimli özelleşmiş epitel hücreleri bulunmaktadır. Makula Densa jukstaglomerüler hücrelerden renin salgılanmasını uyarayan sodyum ve kloru duyarlı hücrelerden oluşmaktadır ve glomerüler filtrasyonu düzenleyen önemli mekanizmalardan biridir (11).



**Şekil 2.3.** Makula densa özelleşmiş hücrelerinin yerleşimi (12).

Makula densaya ulaşan filtrat daha sonra böbrek korteksindeki distal tübüle ulaşır ve buradan korteksin toplayıcı tübüllerine geçer. Korteksin toplayıcı kanallarının proksimal uçları birleşerek medullanın toplayıcı kanallarını oluşturur ve sonunda böbrek papillasının tepesi aracılığı ile böbrek pelvisine boşaltılır. Her böbrekte idrar toplayan 4000 nefrondan oluşan yaklaşık 250 adet toplayıcı kanal bulunmaktadır.

Nefron böbrek kütesinin içinde bulunduğu derinliğe bağlı olarak bazı farklılıklar gösterdiği daha önceki bölümde açıklanmıştı. Bu nefronlardan glomerülleri korteksin dış kısmında yerleşimli olanlara korteks nefronları denir ve medulla içinde çok kısa mesafeye inen Henle kıvrımları vardır. Nefronların yaklaşık üçte birinin glomerülleri korteksin derin kısımlarında medullaya yakın yerleşimlidir. Bunlar jukstamedulla nefronlarıdır. Jukstamedller nefronların Henle kulbu medullanın derinliklerine iner ve bazen de böbrek papillasının tepesine kadar uzanıp vasküler düzeni korteks nefronlarından farklıdır. Korteks nefronlarının bütün tübül sistemi yoğun peritbl kapiller ağ ile çevrelenmiştir. Jukstamedl nefronlarının glomerllerinden ayrılan uzun eferent arteriyoller dış medullaya kadar uzanır ve medullanın derinliklerine doğru Henle kıvrımı ile vaza rekta adı verilen özel bir peritbl kapiller ağ oluşturur. Henle kıvrımı gibi vaza rekta da kortekse doğru döner ve korteks venlerine dökülür (11, 12, 13).

### **2.3. Sıçan Böbreğinin Anatomisi**

Ünıpapıller yapıda olan sıçan böbreği 1 adet papıllaya sahiptir ve insan böbreğine kıyasla çok daha küçük olup renal tübül içeriği de daha azdır. Meduller kütesinin korteksine oranı insaninkine yakındır ve bu oran sıçan böbreğinde 1:2' dir. Sıçan böbreğinin pelvisi çok daha küçük bir üriner boşluğa sahip ve pelvisi daha basit yapıdadır.

Sıçan böbreğinin mikroskopik farklılıkları özellikle nefron sayısında göze çarpmaktadır. Sıçan böbreğinde yaklaşık 30000 nefron bulunurken bu sayı insanda 800.000 adettir. Boyutsal olarak karşılaştırmasında sıçan böbreği insan böbreğinden çok daha küçük yapıda olup ortalama 1.6 x 1 x 0.9 cm'dir (13).

### **2.4. Böbrek Fizyolojisi**

#### **2.4.1. Renal Dolaşım**

Her böbrek abdominal arterden direk dal alan bir renal arter ile kanlanır. İnsanların yaklaşık dörtte birinde her iki tarafta iki renal arter bulunur, çoğunluk tek bir renal arter her iki böbreği beslemektedir. Venöz drenaj inferior vena cavaya genelde tek bir renal venden gerçekleşir. Bu damarlar üreterlerle birlikte böbreğin orta düzeyinde bulunan ve hilum denilen bir girinti ile böbreğe girerler. Böbreklerin yerleşimine bağlı olarak aorta ve vena cavaya göre konumları nedeniyle sağ böbrek daha uzun renal artere sahip iken; sol böbrek daha uzun bir renal vene sahiptir. Renal arter böbreğe girdikten sonra çok sayıda kortexe doğru yayılan interlober artere ayrılır. Kortikomedüller bağlantı sınırını takiben interlobar arterler arkuat arterlere ayrılırlar. Arkuat arterler korteksin dış tabakasına doğru dallanan birçok interlobular artere ayrılır. Afferent arteriyoller interlobular arteriyollerden köken alırlar ve glomerüler kapillere kan akışını sağlarlar. Glomerüler kapilleri efferent arteriyoller daha sonra da peritübüler kapillerler takip eder. Böbrekler kardiyak out-put'un beşte birini alan oldukça vaskülerize organlardır. Afferent ve efferent arteriyollerin kılcallarının oluşturduğu glomerüler kapiller ağda kanlanma ile bir hidrostatik basınç oluşur (14). Peritübüler kapillerler arteriyollere paralel seyreden venöz sistem damarlarına boşalırlar. Sırası ile interlober ven, arkuat ven, interlobüler ven ve sonunda renal arterin ve üreterin yanından böbreği terk eden böbrek venine boşaltılarak renal dolaşım sistemini oluştururlar (15).

### 2.4.2. Böbrek Kan Akımı

Böbreklerin toplam kan akışı dakikada yaklaşık 1100ml yani kardiyak outputun %20'si kadardır. Dakikada 100 g doku başına yaklaşık 300-400 ml kan akışı gerçekleşmektedir ve bu oran gram doku başına beynin 5 katı, kalbin ise 4 katı kadar bir akımdır. Kan akımı böbrek yüzeyi boyunca metabolik aktivite ile orantılı olarak eşit şekilde dağılmaz. Örneğin kortekse, metabolik aktivitesi en düşük segment olmasına rağmen kan akımının %90'ı, daha aktif yer olan medullaya ise sadece %10'u ulaşmaktadır. Sonuç olarak kortekse ulaşan kan akımı oksijen üretimi için üst düzey perfüzyona sahip iken iç medulla bu ihtiyacı düşük kan akımı dolayısıyla zor karşılayabilmektedir.

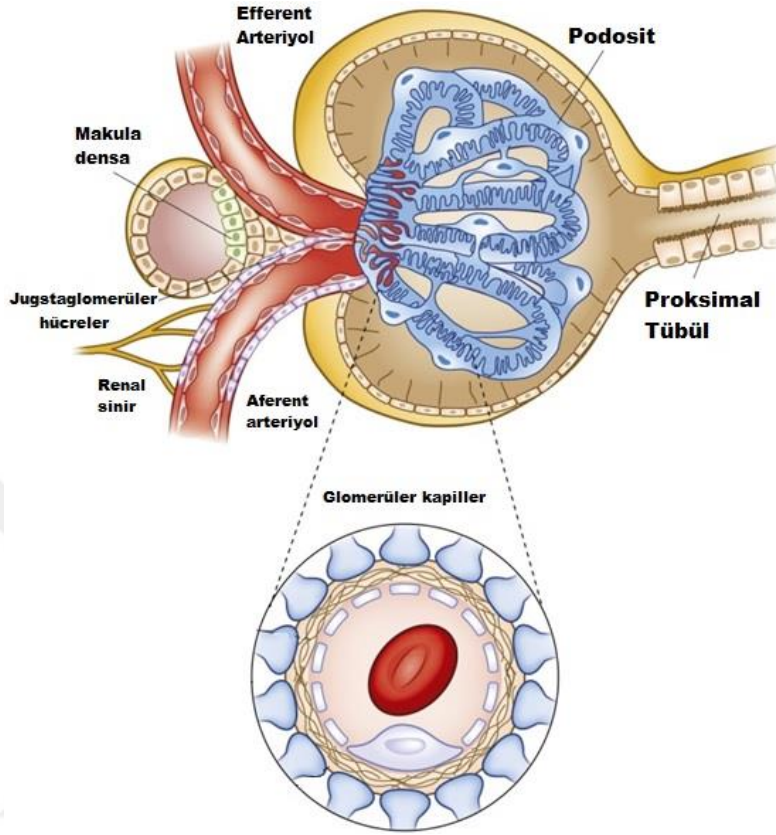
- Korteks Kan Akımı - 500ml/ dk /100g
- Dış Medulla Kan Akımı - 100ml/ dk /100g
- İç Medulla Kan Akımı – 20ml/dk/100g

Kortekse doğru bu çarpıcı kan akımı farkı glomerül filtrasyon hızının optimal olmasını ve glomerüler filtrasyon oranının en iyi şekilde olmasını sağlamaktadır (14).

### 2.4.3. Glomerül ve Fonksiyonu

Böbreğin filtreleme elemanı olan glomerül iki dayanıklı damar arasına yerleşik özelleşmiş kapiller yumağıdır. Şekil 2.4'te görüldüğü üzere bu kapillerler Bowman kapsülü içinde bulunurlar ve interstisyel doku ile çevrili olmayan vücuttaki tek kapiller yatak olma özelliğine sahiptirler. Söz konusu kapiller ünitelerde akımın devam ettirilebilmesi için özellikli destek yapılar gerekmektedir. Aslında filtrasyonun majör komponentlerinin hepsi diğer kapiller yataklar ile karşılaştırıldığında benzersizdir. Glomerüler filtrenin proksimal komponenti 70-100 nm çapında fenestralı endotel yapıdadır. Bu hücreler kapiller akımının lümen yönünde akmasını sağlar ve filtrasyona izin verir. Filtrenin ikinci bileşeni glomerüler bazal membrandır ve tip-4 kollajen, laminin, fibronektinler ve proteoglikanlar gibi ekstrasellüler proteinlerle kompleks bir ağ oluşturur. Glomerül filtrenin distal kısmı visseral epitel hücrelerden veya podositlerden oluşur. Bu olağanüstü hücreler filtrasyon diyaframının oluşmasına yardımcı olur ve serbest kılcal halkanın yapısını korumasında destek görevi görür. Üçüncü hücre tipi mezengial hücreler olup glomerüler kümenin bütünlüğüne ve filtrasyonun dinamik

yapısına katkıda bulunur. Bu eşsiz yapı modifikasyondan önce visseral ve pariyetal hücreler tarafından tübüle ilerleyen primer glomerüler oluşumuna izin verir (16).



Şekil 2.4. Glomerüler kapiller yapısı (15).

## 2.5. İskemi/Reperfüzyon Hasarı

### 2.5.1. İskemi

İskemi, dokunun çeşitli nedenlerle (çeşitli vasküler cerrahiler, transplantasyon, süreli kan akımının blokajı gibi) hipoksida kalması ve hipoksik doku hasarı ile meydana gelen patolojik bir süreç (17) olup hücrede ATP üretiminin azalmasına veya durmasına, hücrenin fonksiyon bozukluğuna hatta apoptozise kadar ilerleyebilen toksitlerin birikmesi ile karakterize birtakım biyokimyasal reaksiyonların başlamasına neden olan bir durumdur (18). İskemik süreçte dokuya gelen kan akımının azalması başta oksidatif fosforilasyonu durdurarak ATP üretimini yavaşlatır. ATP üretiminin azalmasıyla sodyum-potasyum ATPaz pompası inhibe olur ve hücre içinde sodyum ve kalsiyum

konsantrasyonu artar ki hücre içi kalsiyum artışı hücre için son derece sitotoksiktir. Hücrede ATP azalması ile asidoz gelişir ve iskemi süresine bağlı olarak reperfüzyon döneminde azalmış olan ATP depoları hücreyi korumakta yetersiz kalır. Reperfüzyon sırasında oksijen depoları yenilense de reaktif oksijen radikalleri oluşur ve proinflamatuvar nötrofiller iskemik dokulara infiltre olarak iskemik hasarı şiddetlendirir (19).

Major patolojik olaylar iskemi/reperfüzyon kaynaklıdır. Kan desteği belirgin şekilde azaldığında veya tamamen kesildiğinde, iskemik hücreler anaerobik metabolizmayı ATP üretmesi için uyarır. Ancak bu beklenti hücrel asidoz ve metabolik ihtiyacın karşılanamadığı yetersiz ATP üretimi ile sonuçlandığından neticede iskemiye takiben hücre disfonksiyonu, sonrasında ölümü ile birlikte doku veya organ kaybı gelişebilmektedir (20).

### **2.5.2. Reperfüzyon**

İskemik dokuya yeniden kan akımı olması veya sağlanması dokuda iskeminin oluşturduğu hasardan daha fazlasına sebep olur. Bu süreç reperfüzyon olarak adlandırılır ve oluşan hasara iskemi/reperfüzyon hasarı denir (21). İskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı dakikalardan saatlere varan gelişim sürecinin moleküler sinyal yolları perspektifinden tam olarak açıklanamamış önemli bir patolojik fenomendir. Bir çalışmada pratik bakış açısından İ/R süreci 3 faza ayrılmıştır; Faz-1 hasarın oluşmasıyla saniyelerden dakikalara kadar gerçekleşen ve fosfolipaz aktivasyonunun, intrasellüler kalsiyum, eikozanoidler, diğer lipid molekülleri, protein kinazlar, indüklenebilir nitrik oksit sentaz ve P-selectin gibi adhezyon moleküllerinin ön formlarının sebep olduğu değişikliklerin gerçekleştiği süreç. Faz-2: İ/R sonrası dakikalardan saatlere kadar geçen süreç olup inflamatuvar sitokinlerin (TNF $\alpha$ , IL-1) protein sentezinin aktif transkripsiyonun gerçekleştiği ve membrandan kinazların aktive olacağı sitoplazmaya doğru sinyallerin gönderildiği ve transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu için çekirdeğe sinyallerin gönderilip inflamatuvar evrenin başladığı bölümdür ve faz-3: birkaç saatten günlere kadar olan İ/R sürecidir ve moleküler kronik savunma mekanizmalarından IL-10 tipi antiinflamatuvar sitokinlerin, geç adhezyon moleküllerinin ve TGF- $\beta$  gibi diğer büyüme faktörlerinin ortaya çıkmasıyla ilişkili olan fazdır. Bu fazla birlikte İ/R nin moleküler süreci tamamlanmış olur (22). Farklı çalışmalar iskemik periyod sonrası reperfüzyonun hipoksik organ dahil birçok dokuda hasara sebep olduğunu göstermiştir (23). İskemiye

takiben reperfüzyon sonrasında, ATP üretiminin azalması ve oksidatif fosforilasyonun disfonksiyonu, membran lipitlerinin peroksidasyonuna öncülük eden proteazların ve fosfatazların aşırı aktivasyonu, serbest oksijen radikallerinin hücrede artması ile sonuçlanır ve oksidatif stres oluşmasına neden olur. İskemi sırasında küçük oranda serbest radikal oluşmaktaysa da, reperfüzyon döneminde dokunun yeniden oksijenlenmesi daha büyük miktarda serbest radikal oluşturarak hasarı arttırmaktadır (24). SOR iskemi-reperfüzyon hasarında kritik bir rol oynar (25). İ/R hasarının patogeneziye yönelik birçok açıklama bulunmaktadır fakat tedavisi ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır. Renal iskemi hücresel disfonksiyon ve nekroz gibi bir dizi olay başlangıcına sebep olur, bunu takiben reperfüzyon apoptoz ve nekroz ile sonuçlanan doku hasarını beraberinde getirir. Renal hücrelere yönelik iskemi/reperfüzyon hasarı multifaktöriyel sonuçlar doğurabilmekte ve zeminde hipoksi, inflamasyon ve serbest radikal hasarı yer almaktadır. Yüksek seviyelerde serbest oksijen radikalleri bu hasarın gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır (26). Reperfüzyon döneminde oluşan hasarda, hücre içine oksijen girişi ile hızla miktarları artan SOR türevleri zar lipitleri, proteinler ve nükleik asitlere ciddi zararlar vermektedir (27). Bu hasarın şiddeti iskemi süresince artmakta ve reperfüzyon ile birlikte dokular iskemiden daha fazla hasarlı hale gelmektedir (28). İskemik dokuların reperfüzyonu mikrovasküler disfonksiyon ile karakterize olup endotel bağımlı arteriyol dilatasyonu, artmış sıvı filtrasyonu, kapillerlerde lökosit birikmesi ve postkapiller venüllerde lökosit ve plazma proteinlerinin değişimi sonucu extravazasyon gelişmesi ile ilişkilidir. Reperfüzyonun başlangıç safhasında mikrosirkülasyonun aktif endotel hücrelerinin her segmenti çok miktarda oksijen radikali üretir. Endotel hücrelerde gelişen süperoksid ve nitrik oksid seviyelerindeki dengesizlik inflamatuvar ajanların (TNF, PAF) salınımına sebep olur (29) ve dokulardan metabolik maddelerin alınması ve dokulara verilmesi engellenir. Böbrekte de birçok dokuda olduğu gibi iskemiye oksijen yokluğu eşlik eder ve kollateral akımın kompanse edemeyeceği kritik bir sonuç ortaya çıkar (30). İnflamatuvar komponentler IL-1 $\beta$  ve TNF $\alpha$ , dış medullada vaza rektada nötrofillerin birikmesine sebep olmaktadır ve meydana gelen vasküler tıkanıklık renal iskemiye şiddetlendirmektedir ve çoğu zaman geri dönüşümsüz fonksiyon kayıplarına sebep olabilmektedir (31).

## 2.6. Oksitadif Stres

Oksitadif stres SOR ve antioksidan koruma arasındaki dengedeki bozulma olarak tanımlanır (32). Oksijenin biyolojik sistemler üzerinde hem pozitif faydaları hem de potansiyel zararlı yan etkileri olmasından olayı Janus gaz olarak anılır. Reaktivite oksijenin yüksek enerjili elektron transferine katılmasına izin verir böylece oksitadif fosforilasyon ile çok miktarda ATP üretilmesine katkıda bulunur. Kompleks multisellüler organizmaların gelişimi açısından bu aktivasyon çok önemlidir fakat beraberinde protein, lipid veya DNA gibi herhangi bir biyolojik moleküle saldırma eğiliminde olmaktadır. Vücudumuz aslında SOR tarafından sürekli oksitadif saldırı altındadır. Kompleks bir sistem olan antioksidan savunma bu saldırı riskini sürekli dengede tutmaya çalışır. Bazı durumlarda bu denge oksijen toksisitesi nedeniyle (33) ayrıca normal antioksidan kapasitenin zorlanmasıyla hücrelerde aşırı miktarda SOR birikmesiyle bozulmaktadır. İnternal (katalaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz) ve external (tokoferoller, askorbik asit ve glutatyon) antioksidan mekanizmalar reaktif maddelerin konsantrasyonunu kontrol edemezler ise, oksitadif stres proteinlere, lipitlere ve DNA'ya zarar verir sonuçta sitotoksisite, genotoksisite ve hücre proliferasyonu ile karsinogeneze öncülük edebilecek hasara neden olur. Böylece oksitadif stres 1; ksenobiyotiklerin oluşması, 2; immün sistem aktivasyonuna bağlı olarak inflamatuvar ajanların üretilmesi ile sonuçlanır (34). İlaçlar, kemoterapik ajanlar, besin katkı maddeleri ve çevresel kirlenici maddeler gibi ksenobiyotikler vücudumuz için yabancı kimyasal bileşenlerdir ve hücrelerdeki oksitadif stressin artmasına sebep olan serbest oksijen radikalleri üretirler (35). İntlamatuvar mediyatörlerden özellikle TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  hücresel disfonksiyona sebep olan serbest oksijen radikallerinin salınımına yüksek oranda katkıda bulunmaları dolayısıyla oksitadif stresin öncülüdürler (36).

## 2.7. Serbest Oksijen Radikalleri

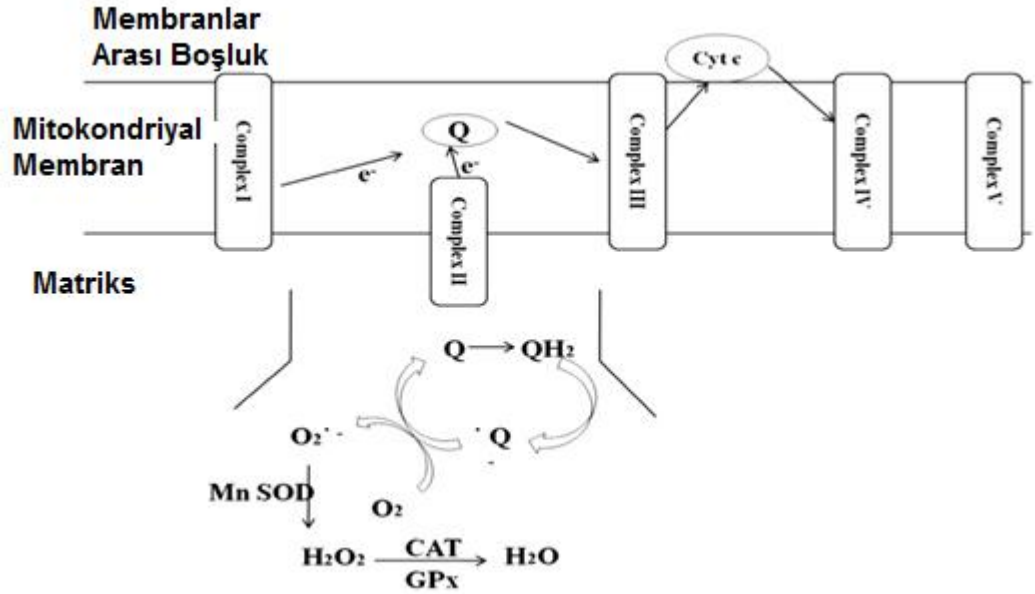
SOR elli yılı aşkındır proteinlere, lipitlere ve nükleik asitlere saldıran zararlı yapıdaki bileşikler olarak bilinen (37) ve oksijenden tek elektron indirgenmesi sonucu oluşan zararlı radikallerdir (38). Oksitadif stres sonucu oluşan serbest radikallerin diyabetes mellitus, Multiple Skleroz, Parkinson ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler ve solunum hastalıkları, katarakt, romatoid artrit ve meme, akciğer ve mesane gibi çeşitli kanser tiplerinin oluşumundan sorumlu olduğu



bilinmektedir (39). SOR mitokondriyal oksidatif metabolizma sonrası ksenobiyotiklere, sitokinlere ve bakterilere yönelik hücrel bir yanıt olarak üretilir. Oksidatif stres hücrenin verebileceği antioksidan yanıtın çok üstünde SOR ve oksidanların aktivitesi dolayısıyla oluşur ve makromoleküler hasarlar vererek diyabet, ateroskleroz, kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve yaşlanma gibi sonuçlara sebep olur (40). En yaygın olarak bilinen SOR bileşikleri süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $OH^-$ ) ve nonradikal oksidanlardan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve singlet oksijendir ( $^1O_2$ ) (41). Reaktif oksijen metabolitleri yani süperoksit radikalleri ( $O_2^-$ ) oksijen molekülüne bir elektron eklenmesi ile oluşur ve süperoksit dismutaz enziminin katalize ettiği dismutasyon reaksiyonu ile bir süperoksit radikali, oksijene yükseltgenirken bir başka süperoksit radikali ise hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) indirgenir (42). Süperoksit Elektron Transport Siklusunun (ETS) I ve III'üncü kompleksinden kaynaklanır ve öncelikle anyon formunda çok güçlü bir şekilde mitokondriyal membranı geçme eğiliminde olup (43) çok güçlü bir oksidan değildir fakat birçok diğer reaktif oksijen radikalının öncülüdür aynı zamanda oksidatif reaksiyonların yayılımına katkıda bulunur. Moleküler oksijen iki yönlü ve dış orbitalinde iki elektron ( $e^-$ ) bulunduran bir radikaldir. Bu iki  $e^-$ 'nin aynı yörüngede olduğu için, oksijen bir kerede sadece bir  $e^-$  ile reaksiyona girebilir. Bundan dolayı iki elektronlayken kimyasal bağda fazla reaktif değildir. Diğer taraftan bu eşleşmiş iki elektron yörüngesini değiştirirse (singlet oksijen) ortaya çıkan radikaller özellikle çift bağlı elektronlarla olmak üzere diğer elektronlarla hızlıca eşleşerek güçlü birer oksidan bileşiği oluştururlar. Bir seferde bir elektron tarafından oksijenin indirgenmesi ile nispeten kararlı ara ürünler oluşturulur.  $O_2^-$ , oksijenden bir  $e^-$  indirgenmesi ile oluşur ve SOR'un öncülüdür aynı zamanda oksidatif reaksiyonların ara ürünüdür.  $O_2^-$  spontan olarak veya süperoksit dismutaz tarafından katalizlendiği bir reaksiyon ile dismutasyonu sonucunda hidrojen peroksidi ( $H_2O_2$ ) oluşturur ve  $H_2O_2$  de tamamen suya ( $H_2O$ ) ya da kısmi olarak kuvvetli oksidanlardan olan hidroksil radikaline ( $OH^-$ ) dönüştürülür (44).

İntrasellüler SOR üretiminin büyük çoğunluğu mitokondriden kaynaklanmaktadır. Şekil 2.5'te mitokondriyal SOR üretimi görülmektedir. Buna göre süperoksit radikalleri elektron transport zincirinin kompleks I (NADH dehidrojenaz) ve kompleks III (ubikinon sitokrom c redüktaz) olarak adlandırılan iki majör bölgesinden kaynaklanır. Elektronların kompleks I veya II'den koenzim Q veya ubikinona transferi koenzim Q'nun yükseltgenmiş ( $QH_2$ ) formuna dönüşmesiyle sonuçlanır. Yükseltgenmiş  $QH_2$ , Q çemberinde koenzim Q'yu yarı kararsız bir anyona dönüştürür ( $Q^-$ ). Oluşan  $Q^-$  elektronları

süperoksit radikal oluşumuna yol açan moleküler oksijene transfer eder. Süperoksit üretimi enzimatik olmadığından metabolizma arttıkça SOR üretimi artar (45).



Şekil 2.5. Mitokondriyal SOR üretimi (39).

Serbest radikallerin vücudumuzda DNA ve RNA'ya, proteinler, karbonhidratlar ve membran lipitleri üzerine etkileri şu şekilde açıklanabilir:

**Deoksiribonükleik asit (DNA):** SOR bileşikleri, oksidatif hasara neden olarak nükleik asitlere zarar verir (39). Bu bileşikler DNA içeren biyomoleküller ile reaksiyona girer. Oksidatif DNA hasarı yaşlanma, karsinogenezis ve mutagenizisden sorumludur. Hasar mekanizması karbon-merkezli şeker radikallerinin ve OH<sup>-</sup> veya H<sup>-</sup>'nin ve ek bazı heterosiklik baz radikallerinin oluşumunu içermektedir. Bu radikallerin başka reaksiyonları daha fazla bileşiğin oluşmasına sebep olur (46). Mitokondriyal DNA SOR'un kaynaklandığı merkeze yakınlığından dolayı çekirdek DNA'sına oranla zarardan daha çok etkilenir. OH<sup>-</sup> radikali pürin ve pirimidin gibi DNA komponentlerinin tamamıyla direk reaksiyona girer ve DNA'daki tek ve çift sarmallı kopmalara sebep olur (39).

**Ribonükleik asit (RNA):** SOR vücuttaki çeşitli RNA moleküllerine saldırabilir. RNA DNA'ya oranla tek sarmallı yapıda olması, SOR üretim kaynağına DNA'dan daha yakın yerleşimli olması ve DNA'da olduğu gibi oksidatif hasara yönelik iyileştirici mekanizmaların azlığından dolayı oksidatif hasara daha eğilimlidir. 7-8-dihydro-8-oxo-guanosine (8-oxoG) RNA hasarında en çok çalışılan hasar ürünüdür ve patolojik olarak

bu değer Alzheimer ve Parkinson hastalığında, aterosklerozda, hemokromatoziste ve miyopatilerde yüksek seviyelerde bulunmuştur (39).

**Proteinler:** Normal metabolizma sırasında ve oksidatif stres sonucunda üretilen yüksek reaktif oksijen radikalleri proteinleri okside eder. Proteinlerin oksidasyonu aromatik grupların ve alifatik amino asit yan zincirlerinin hidroksilasyonu, ve bazı amino asit köklerinin karbonil türevlerine dönüşümüne neden olur ayrıca çapraz bağlı proteinlerin oluşumu ve polipeptit zincirinin kırılmasına da neden olarak alkoksil radikallerinin oluşumu ile sonuçlanır. Okside proteinlerin seviyesinde yaşlılık ile birlikte bir artış olması protein oksidasyonunu engelleyen etmenlerin de yaşam süresini uzattığı belirlenmiştir Protein oksidasyon ürünlerinin aşırı üretiminin diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, kalp ve damar hastalıkları ve yaşlılık başta olmak üzere birçok sayıda hastalıkla ilintili olduğu bildirilmiştir (47).

**Membran Lipidleri:** Lipitler önemli bir enerji kaynağıdır ve hücre membranlarının, sinir dokularının yapısında bulunurlar. Ayrıca termal ve elektriksel yalıtkan olarak görev almaları ve lokal hormonlar gibi davranmalarından dolayı vücutta çok önemli görevleri olan heterojen grup bileşenlerdir. Sadece yüksek enerji kaynağı oldukları için değil aynı zamanda doğal besinlerin içerdiği yağda çözünen vitaminler ve esansiyel yağ asitleri içerdikleri için de değerlidirler.

Lipitlerin beta oksidasyonu ile enerji üretilir ve solunum zincirinde farklı dokuların mitokondrilerinde oksijen suya indirgenir. Lipitler enerji serbestlenmeden okside edilirse oksijen molekülüyle direk reaksiyona girdiğinde ansature lipitlerin yapısı bozulur. Bu sürece lipit peroksidasyonu denir ve serbest radikaller tarafından katalizlenen reaksiyon dizisine oksijen molekülünün eklenmesi ile gerçekleşir (48). Son yıllarda lipitlerin oksidasyonu ya da lipit peroksidasyonu yetişkin veya çocuklarda görülen birçok patogenezinde etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Hidroksil ve hidrojen peroksid radikalleri poliansature yağ asitlerin membranlarına saldırır. Membran lipidlerinin hasarlanması ve bu tür lipit peroksidasyon reaksiyonlarının son ürünleri, hücrelerin, hatta dokuların canlılığı için özellikle tehlikelidir. Katalaz, süperoksid dismutaz ve vitamin A ve E gibi antioksidanlar savunma mekanizması olarak lipit peroksidasyonunu engelleyebilirler, fakat bazı durumlarda yetersiz kalırlar. Lipit peroksidasyonu kendiliğinden ilerleyen bir zincir reaksiyonu olduğundan dolayı sadece ilk birkaç lipit molekülünün oksidasyonu bile önemli bir hasara sebep olabilir. Lipit peroksidasyonu ateroskleroz, astım, parkinson, böbrek hasarı, preeklampsi gibi birçok hastalığın etkeni olarak görülmektedir (49).

**Karbonhidrat:** Karbonhidratların oksidasyonunu gelişmiş glikasyon son ürünlerinin (AGEs) birikimi başlatır. Bu moleküller basit şekerlerden daha reaktiftirler ve artmış vasküler permeabilityyi de içeren bir dizi patolojik etkileri bulunmaktadır (50).

## 2.8. Antioksidanlar

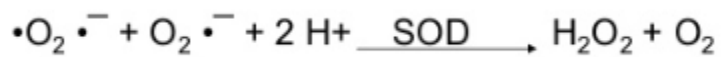
Antioksidanlar oksidasyonu durdurabilen veya geciktirebilen maddelerdir (51). SOR üretimi aerobik organizmaların yaşamında normal bir süreçtir. Fizyolojik şartlar altında bu zararlı maddeler antioksidan vitaminler, proteinler, non-protein tiyoller ve antioksidan enzimler gibi hücrel antioksidan sistemler tarafından yok edilirler (52). Genellikle vücuttaki bir antioksidan üç farklı seviyede çalışır, bunlar; (a) önleme; SOR üretimini minimumda tutma örneğin desferrioksamin reaksiyonu, (b) Durdurma; askorbik asit ve alfatokoferol gibi katalitik ve non-katalitik moleküller ile SOR'u temizlemek, (c) onarma; glutatyon gibi zarar görmüş hedef molekülleri onarmaktır (53). İnsan vücudu oksidanların etkilerini dengelemek için çeşitli antioksidanlarla donatılmıştır ve bu antioksidanlar endojen ve eksojen olarak iki ana gruba ayrılır (54). Endojen ve eksojen kaynaklı olabilen antioksidanlardan endojen kaynaklı olanlar enzimatik ve nonenzimatik olarak iki alt grupta sınıflandırılabilir.

### 2.8.1. Endojen Antioksidanlar

#### 2.8.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutatyon peroksidaz (GPx) ve Glutatyon redüktaz (GR) enzimatik antioksidanlardır.

**Süperoksit Dismutaz (SOD):** Süperoksit dismutaz süperoksit dismutasyonunu katalizleyen bir enzimdir.

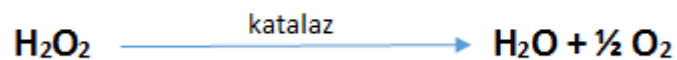


**Şekil 2.6.** SOD enzim aktivasyonu.

Şekil 2.6'da gösterilen reaksiyon SOD'un, süperoksit anyonunu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksida ( $H_2O_2$ ) ve oksijene dönüşümünü katalize ettiğini göstermektedir. SOD bu aktivitesiyle serbest radikallerin etkisini azaltmaktadır (55).

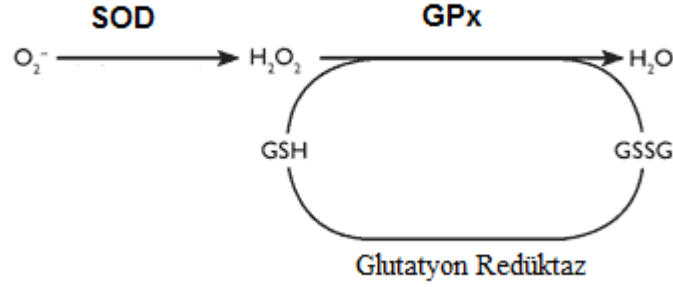
SOD kanda üç şekilde bulunur; bakır ve çinko içeren enzimleri stoplazmada, manganez (Mn) içerenler ise mitokondride bulunur. Üçüncü tip extrasellüler yerleşimlidir (56). CuZnSOD tüm memeli hücrelerinde sitoplazmada bulunur ve her biri aktif iki protein bileşeni olan katalitik bakır ve çinko atom içeren moleküler ağırlığı 32 000 kDa olan bir tipidir. MnSOD hemen hemen tüm hücrelerin mitokondrilerinde bulunur ve 40 000 kDa'lık bir moleküler kütleyle sahiptir. Her biri tek bir manganez atomu içeren dört protein alt biriminden oluşur. MnSOD'un aminoasit dizilimi CuZnSOD'unkine benzemez ve siyanid tarafından inhibe edilemez. Ekstrasellüler SOD (EC-SOD) CuZnSOD'dan farklı olarak Cu ve Zn atomları içerir ve sadece fibroblastlar ve endotelial hücreler gibi bazı hücreler tarafından sentezlenir ayrıca hücre yüzeyinde heparan sülfata bağlanır. EC-SOD ekstrasellüler sıvılarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve heparin enjeksiyonunu takiben vasküler endotel içine yayılır. EC-SOD endotel kaynaklı gevşeme faktörünün (nitrik oksid) plazmada süperoksit tarafından nötralize edilmesinden dolayı vasküler tonüsün düzenlenmesinde görev alabilir (57).

**Katalaz (CAT):** Katalaz (EC 1.11.1.6) esasen memeli hücrelerinin peroksizomlarında bulunan bir enzimdir. Her biri aktif merkezinde bir hem grubu ve NADPH içeren, tetrahedral alt birimden oluşan bir tetramerik enzimdir. Katalaz  $H_2O_2$  konsantrasyonuna bağlı olarak iki enzimatik aktiviteye sahiptir. Eğer  $H_2O_2$  konsantrasyonu yüksek ise katalitik olarak görev yapar örneğin  $H_2O_2$ 'yi  $H_2$  ve  $O_2$ 'ye katalitik reaksiyonla parçalar.  $H_2O_2$  konsantrasyonu düşük ise etanol, metanol, fenol gibi hidrojen vericisi olabilecek bir molekül varsa eğer katalaz peroksidik davranarak  $H_2O_2$ 'nin substratını okside ederek ortadan kaldırır (peroksidik reaksiyon) (58). Şekil 2.7 hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ ), CAT enzim etkisiyle  $H_2O$  ve  $O_2$ 'ye indirgenildiğini göstermektedir (59).



Şekil 2.7. CAT enzim aktivasyonu.

**Glutasyon Peroksidaz (GPx):** Glutasyon peroksidaz serbest radikalleri temizleme kapasitesine sahip bir antioksidan enzimdir. Bu da lipid peroksidasyonunun önlenmesine ve hücre içi homeostazının yanı sıra redoks dengesinin korunmasına yardımcı olur (60).

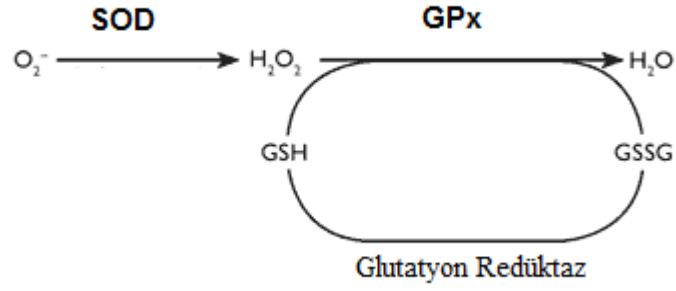


**Şekil 2.8.** GPx enzim aktivasyonu .

Şekil 2.8 GPx enzim aktivasyonunu göstermektedir. GPx GSH molekülünden hidrojeni alarak bir GSSG ve  $H_2O$  oluşturmak üzere  $H_2O_2$ 'nin indirgenmesini sağladığı görülmektedir. Buna göre SOD enziminin katalizlediği süperoksit radikalinin  $H_2O_2$ 'ye dismutasyonu sonucu fenton reaksiyonu ile daha reaktif olan  $OH^-$  radikaline hızla dönüşmesini engelleyen GPx,  $H_2O_2$ 'yi hızla suya dönüştürerek ortamdaki süpürülmesini sağlamaktadır (61).

GPx selenyum bağımlı hidroperoksidaz düzenleyici enzimler olup  $H_2O_2$  ve yağ asitleri hidroperoksidazının düzenlenmesine katkıda bulunur (62) ve  $H_2O_2$ 'yi suya, yağ asitlerini lipid alkollerine dönüştürür ayrıca glutasyonu glutasyon disülfide okside eder. İndirgenmiş glutasyon vasküler redoksun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. GPx aktivitesinin veya glutasyon seviyesinin yetersizliğinde hidrojen peroksit ve lipid peroksitleri detoksifiye edilemezler ve sırasıyla  $OH^-$  radikallerine ve lipid peroksil radikallerine dönüştürülürler. GPx/glutasyon düşük seviye oksidatif stresin azaltılmasında en önemli koruma sistemi olarak düşünülebilir (63).

**Glutasyon Redüktaz (GR):** Glutasyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2) aşağıdaki denklemde de gösterildiği üzere okside glutasyonun (GSSG) glutatona (GSH) indirgenmesini katalizleyen bir enzimdir.



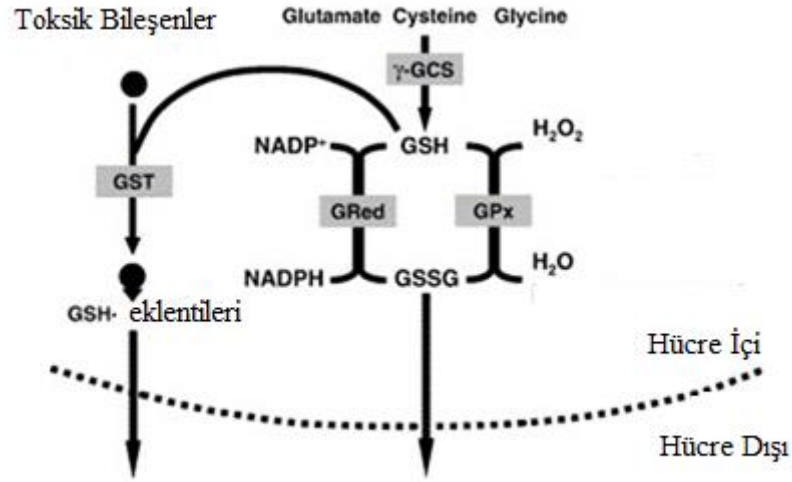
**Şekil 2.9.** Glutatyon redüktaz enzim aktivitesi.

GR, glutatyon redoks döngüsünde yeterli indirgenmiş hücrese GSH seviyelerinin devamını sağlayabilmek için zorunludur. GSH, serbest radikaller ve organik peroksitlerle reaksiyona giren bir antioksidan olarak, aminoasit taşınımında ve sırasıyla organik peroksitlerin detoksifikasyonunda ve ksenobiyotiklerin metabolizmasındaki glutatyon transferazların bir substratı olarak görev yapar. Bu homodimerik enzim, flavoprotein disülfid oksidoredüktaz ailesinin bir üyesidir. GR'nin aktif kısmı dimerik arayüzeyde bulunur. GSSG bağlanma bölgesi her iki alt birimin kalıntılarından oluştuğundan, sadece dimerik form aktiftir (64).

### 2.8.1.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar

Non-enzimatik antioksidanlar radikalleri ve oksidanları hızlıca inaktive eden moleküllerle karakterizedir (65). Bu grup antioksidanlar arasında glutatyon, seruloplazmin, selenyum, melatonin, bilirubin, ürik asit, albümin, koenzim Q10 ve transferrin sayılabilir (66).

**Glutatyon (GSH):** Tripeptit  $\gamma$ -glutamilsisteinilglisin veya GSH intrasellüler redoks homeostazın majör non-enzimatik düzenleyicileridir ve milimolar konsantrasyonlarda tüm hücrelerde bulunur. İnsanlarda fazlasıyla bulunan bu antioksidan enzim Şekil 2.10'da verilen reaksiyonda görüldüğü üzere glisin, glutamat ve sisteinden sentezlenir.



**Şekil 2.10** Glutasyon sentezi (39).

Tripeptit içeren bu sistein indirgenmiş GSH veya okside GSSG formunda bulunur, glutasyon disülfid olarak adlandırılır ve aktif tiyolün geri dönüşümlü oksidasyonu ile redoks reaksiyonlarına katılır. Normal hücrel redoks şartları altında bu düzenleyicinin önemli bir bölümü indirgenmiş olarak bulunur ve çekirdek, endoplazmik retikulum ve mitokondriye dağılmış durumda bulunur. Buna ek olarak GSH glutasyonilasyon adı verilen bir süreçte proteinlere kovalent bağlanabilir ve birçok enzimin koenzimi olarak hücrelerde savunma görevi üstlenir. Glutasyon serbest radikalleri direk olarak temizleyebilir veya hidrojen peroksitin, lipid peroksidasyonunun ve elektrofilik bileşenlerin detoksifikasyonu sırasında GPx ve GST 'nin substratı olarak davranarak işlev yapar (67).

**Melatonin:** Melatonin (N-acetil-5-methoxytyptamin) ilk olarak 1958 yılında Aaron Lerner tarafından 200.000 sığır pineal bezi incelenerek, bir pineal bez salgısı olarak tanımlandı (68). Yüksek lipofilik özellikli olan melatonin kan beyin bariyerini geçebilen ve nöronlara ve glial hücrelere bağlanabilen ayrıca intrasellüler kompartmanlara diffüze olabilme yeteneği olan bir antioksidandır. Elektron spin spektrometri ve likit kromatografi testleriyle melatonin kapasitesi ölçümleri  $OH^{\cdot}$  radikalini yok ettiği yönünde sonuçlar vermiştir. Bu çalışmalar melatoninin,  $OH^{\cdot}$ 'yi nötürleştirmede, endojen antioksidan GSH'den beş kat daha fazla verime sahip olduğu ve ekzojen temizleyici mannitolden onbeş kat daha yüksek etkili bir temizleyici oranına sahip olduğunu gösteren dikkate değer kanıtlar vermiştir (69).



**Ürik asit:** Ürik asit insanda pürin katabolizmasının son ürünü olup gut hastalığında kristal birikintilerinin yüksek konsantrasyonlara (>7 mg/dl) çıktığı bilinmektedir. İnsan gelişiminde ürik asit yüksekliğinin bir avantaj olduğu ve askorbik asit kaybını kompanse ettiği düşünülmektedir. Ekstrasellüler alanda ürik asit hidroksil radikali, singlet oksijen ve peroksinitrit radikalini nötralize eden kuvvetli bir antioksidandır. Öte yandan kimyasal ortama bağlı olarak ürik asitin prooksidan gibi davranarak hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, iskemi/reperfüzyon hasarı, diyabetes mellitus ve non-alkolik yağlı karaciğer hastalıklarında koruyucu etkiye sahip olduğu görülmüştür (70).

**Bilirubin:** Bilirubin glukuronik asit ile konjuge yani direk bilirubin, ankonjuge indirek bilirubin ve ankonjuge bağlanmamış serbest bilirubin olarak çeşitli kimyasal yapılarda bulunur. Normal bir yetişkinde 250-300mg bilirubin üretilir ve çoğunluğu dalakta kırmızı kan hücrelerinin salgıladığı hemoglobinin katabolizmasından kaynaklanır. Bilirubin hem antioksidan ve antiinflamatuvar etkili olup hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı gibi kardiyovasküler sistem hastalıkları, tip II diyabet, metabolik sendrom ve obezite gibi birçok hastalığın oluşumunda ters etkili olarak çalışır (71).

**Albumin:** Human albümin uzun bir süre kritik hastalarda resüsitasyon mayisi olarak kullanılmıştır. Öyle ki albüminin kullanıldığı birçok fizyolojik ve farmakolojik etki alanının olduğu söylenebilir. Bunların arasında antioksidan özellikleri ile yoğun bakım ve hepatolojik tedavilerde kullanımı dikkat çekicidir. Spesifik antioksidan özelliği proteinin multipıl ligand bağlanma kapasitesine ve serbest radikal temizleyebilen bileşenlerine dayanır (72). Birçok çalışma albüminin bakıra bağlanma özelliği ile antioksidan etkisini gösterdiğini, bakır uyaranlı düşük dansite lipoprotein oksidasyon ölçümüyle kanıtlamıştır (73).

**Koenzim Q10:** Koenzim Q10, lipofilik bir enzim olup elektron taşıma zincirinin önemli bir kofaktörüdür. Ayrıca vücuttaki kimyasal reaksiyonlara enerji sağlanmasında önemli bir yere sahiptir. Mitokondriyi ve lipid membranı çevreleyen bir bileşen olup oksidatif hasarı azaltarak serbest radikallerin hücreden uzaklaştırılmasına katkıda bulunur. Birçok çalışmada Koenzim Q10'un antioksidan kapasiteyi desteklediği ve progresif hastalıklarda mitokondriyel dengesizlikleri tolere edebildiği gösterilmiştir (74).

**Selenyum:** Selenyum kan ve doku proteinlerinin, glutatyon peroksidaz ve diğer peroksidazların selenoprotein ve enzim bileşenlerinden olup yüksek kimyasal aktiviteli sülfür analogudur. Biyolojik faaliyetlerine bakıldığında selenyum ve bileşenlerinin antioksidan özellikte olduğu söylenebilir. Selenyum aktif bir immünomodülatördür,

vitamin A, E, C VE  $\beta$ -karotenden daha potent antioksidandır aynı zamanda daha fazla toksiktir. Tiroid hormon sentezinde tiroksinin triiodotriyonine dönüşmesinde rol oynar. Sperm antioksidanı olarak fertilitasını ve hareketliliğini destekler bunların yanında vasküler endotelin, LDL' nin, kromozomların ve DNA'nın savunmasında da etkilidir (75).

**Seruloplazmin:** Seruloplazmin üç farklı spektroskopik olarak farklı bakır kompleksi ile karakterize multibakır oksidaz ailesinin bir üyesidir. Bu protein  $\alpha_2$  globulin kısmından bir glikoprotein olup plazmada bakırın %95'ini oluşturmaktadır (76). Karaciğerden sentezlenir ve bakır transportunun akut faz reaktanı olarak bilinir. Seruloplazmin hem prooksidan hem antioksidan etkili bir protein olduğundan "ayışığı proteini" olarak da adlandırılır. Antioksidan fonksiyonu hem ferooksidaz I (FeOxI) aktivitesi ile hem de glutasyon peroksidaz aktivitesi ile ilişkilidir. FeOxI,  $Fe^{2+}$ 'nin  $Fe^{3+}$ 'e dönüştürülmesinde etkilidir ve  $Fe_2^{++}$ 'nin hidroksil radikallerinin yapısına katılmasını önler (77).

**Transferrin:** Antioksidan savunmanın en önemli mekanizmalarından biri, demirin redoks-inaktif formunun transferrin tarafından tutulmasıdır (78). Transferrin yaygın olarak serumda bulunur, fakat düşük konsantrasyonlarda diğer vücut sıvılarında da bulunur. Esas görevi demirin proliferatif hücrelerden transportu olmakla birlikte aynı zamanda önemli bir büyüme faktörüdür. Transferrin hidrojen peroksidin yüksek toksisitesi olan hidroksil radikallerine dönüşmesini katalizleyen demir iyon konsantrasyonunu indirgeyen önemli bir antioksidandır (79).

### 2.8.2. Eksojen Antioksidanlar

Endojen antioksidan sistemimiz vitamin C, E, karotenoidler ve polifenoller gibi eksojen kaynaklı ve birçok antioksidan mekanizmasında önemli görevleri olan indirgeyici bileşenler olmadan tam sayılmaz. Eksojen antioksidanlara yönelik oksidatif stresi onarma ve oksidasyonun redoksu için sürekli bir ihtiyaç vardır yine de yüksek dozlarının toksik olabileceği bildirilmiştir (80). Bu tip antioksidanlar vücuda diyet ile veya formüle edilmiş antioksidan ekler veya ko-faktörler (bakır, çinko, manganez, demir gibi) ile alınır. Eksojen antioksidanların tüketimi hastalıklardan korunmaya veya endojen antioksidanların savunma sistemine katkıda bulunur. Birçok gıda ve ek katkıları antioksidanlar açısından zengindir. Vitamin C sitriklerde ve sebzelerde bol miktarda bulunan en çok bilinen antioksidandır. Yağda çözünen Vitamin E fındık, pamuk yağı,

mısır yağı gibi rafine edilmemiş bitkisel yağlarda ve buğday tohumunda bulunur. A vitamini dönüştürülen  $\beta$ -karoten, koyu yapraklı sebzelerde, havuçta ve tatlı patatesten bulunur (81).

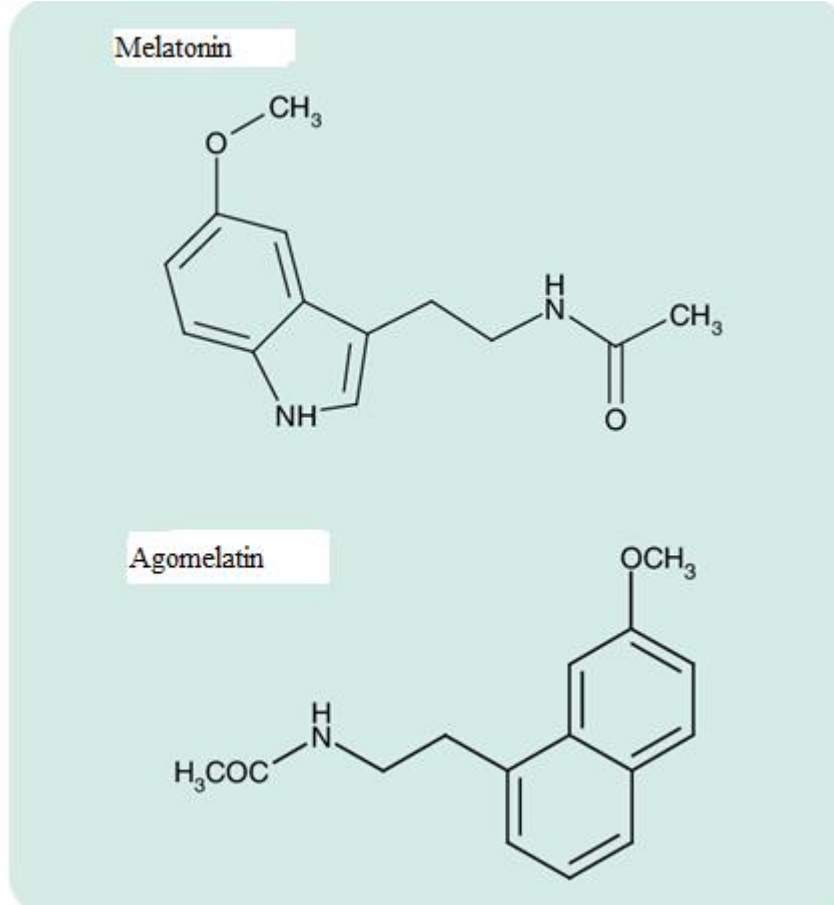
## **2.9. Agomelatin**

### **2.9.1. Tarihçesi**

Agomelatin 2005 yılında Fransa'da Servier araştırma enstitüsünde antidepresan farmakoterapisinde mevcut tedavilerden daha etkili ve yan etkiler açısından daha güvenli tedaviler geliştirmeye yönelik çalışmalar dahilinde melatonin analogu olarak melatoninden sentezlenmiştir. Kapsamlı farmakolojik değerlendirmeler ve klinik çalışmalar sonrasında agomelatin (Valdoxan/Tymanax; Servier) majör depresyon tedavisi için 2009'da Avrupada pazarlanma yetkisi verilmiş böylece monoaminerjik etki mekanizması içermeyen ilk onaylı antidepresan olmuştur (82). Ülkemizde 2011 yılında Sağlık Bakanlığı onayı alınarak depresyon tedavisi için reçete edilmeye başlanmıştır.

### **2.9.2. Biyokimyasal Yapısı**

Pineal bezden sentezlenen ve yine pineal bezden direk kana salınan melatoninin sentetik analogu olan agomelatinin moleküler formülü  $C_{15}H_{17}NO_2$  'dır. Yapısında NH gurubu yerine HC gurubu içermesi ile melatoninden ayrılır (78). Moleküler ağırlığı 243.30 g/mol olan agomelatinin kimyasal okunuşu N-[2-(7-metoksinaftalen-1-yl)etil]acetamid şeklindedir ve beyaz renkli solid formdadır (83).



Şekil 2.11. Agomelatin ve melatoninin kimyasal formülasyonu (83).

### 2.9.3. Farmakokinetiği ve Metabolizması

Agomelatinin farmakokinetik modellemesi gastrointestinal kanaldan emilimini takiben hızlıca karaciğere transport edildiği şeklindedir. Karaciğerde, agomelatin üç CYP izoenzim tarafından metabolitlerine dönüştürülür. Bu reaksiyon %90 oranında CYP1A1 ve %10 oranında ise CYP2C9/CYP2C19 enzimleri ile gerçekleşir. Agomelatinin esas metabolitleri ise şu şekilde isimlendirilir: 3-hidroksi S20098, 3-hidroksi-7-metil-S20098, 7-desmetil-S20098 and dihidrodiol-S20098 (84). İnsandaki majör metaboliti 7-desmetil-S20098 olup diğer agomelatin metabolitleri gibi glukuronidasyon ile suda çözünerek büyük çoğunluğu idrar ile atılır. Cinsiyete bağlı olarak karaciğer ilk geçiş biyotransformasyonu değişkenlik gösterir. Sigara ve oral kontraseptif kullanımından da etkilenen agomelatinin etkisi özellikle sigara kullanımından dolayı CYP1A2 enzim

sistemi ile etkileşiminden kaynaklı azalır. Dolaşımında en çok alfa1-asid glikoproteine ve albümine bağlanan ve plazma klirensi t1/2 saat olan agomelatinin plazma proteinlerine bağlanma oranı yüksektir (85).

#### **2.9.4. Reseptörleri**

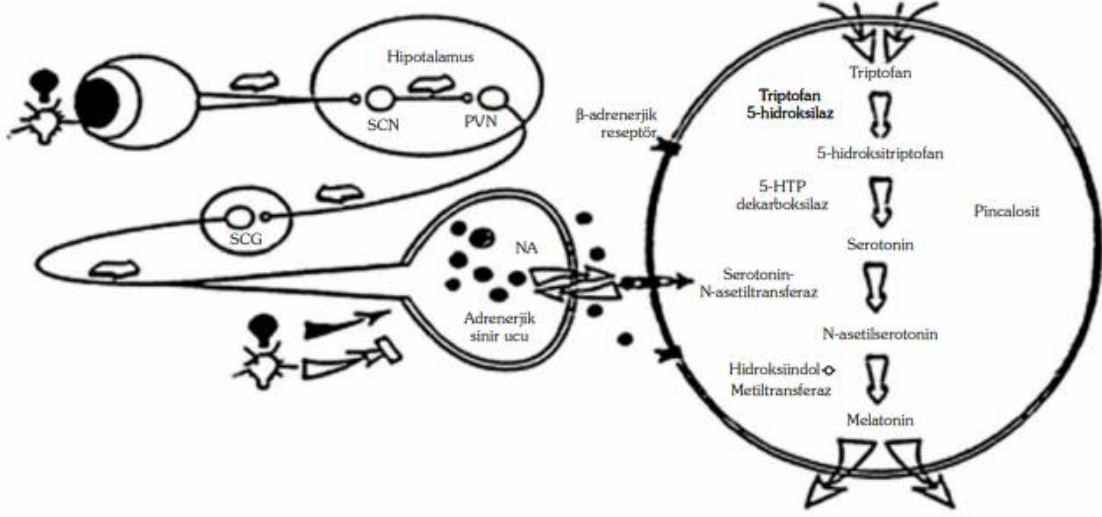
Agomelatin MT1 ve MT2 reseptörlerine yüksek agonistik affinite göstermekte olup (86) ayrıca serotonin 5HT<sub>2C</sub> ve 5HT<sub>2B</sub> reseptörleri antagonisti olarak davranmaktadır. Diğer reseptörlerle kıyaslandığında MT1 ve MT2 reseptörlerine yüksek oranda seçici olan agomelatinin bu seçiciliği neredeyse melatonine eş değerdir. Bunların yanında diğer muskarinik, histaminerjik, adrenerjik veya dopaminerjik reseptörlere neredeyse belirgin bir affinitesi bulunmamaktadır (87).

#### **2.9.5. Melatonerjik Sistem ve Agomelatin**

Melatonin analogları geliştirme çabaları Melatonin'in klinik çalışmalarda depresyon hastalarında uyku-uyanıklık düzenlemesi ve uyku süresini artırma dışında önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmesi üzerine başlamıştır (88). Agomelatin'in etki mekanizmasını açıklayabilmek için Melatonin'den bahsetmek gerekir.

Memeli pineal organındaki Melatonin Ritimleri, hipotalamik suprakiazmatik çekirdekte (SCN) bulunan endojen saatten türetilen afferent bilgilere dayanır. Pineal bezin en iyi karakteristik fonksiyonu, vücuda gece periyodunun sinyalini veren, melatonin hormonunun gece boyunca yükselmiş sentezidir. Melatonin sentezi için hız sınırlayıcı enzim, arilalkilamin N-asetiltransferazdır (AANAT). Kemirgenlerde AANAT geninin transkripsiyonel düzenlemesinin aksine, insan pineal bezinde melatonin modelinin translayon sonrası şekillendiği belirtilmiştir (89). Melatonin sentezi'nin öncül maddesi triptofandır. Triptofan esansiyel bir aminoasit olup besinlerle dışarıdan alınması gerekmektedir. Şekil 2.12'de görüldüğü gibi pineal bez tarafından pinealositlere alınan triptofan, triptofan hidroksilaz ile hidroksillenerek 5-hidroksitriptofanı oluşturur. 5-hidroksitriptofan serotonin-melatonin sentezindeki ilk ara metabolittir ve kan-beyin bariyerini kolayca geçebilmektedir. BH<sub>4</sub> (Tetrahidrobiopterin) ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> (Süperoksit)'yi kofaktör, B6 vitaminini de koenzim olarak kullanır. 5-hidroksitriptofan dekarboksilaz enzimi aracılığıyla karboksil grubunu kaybederek 5-hidroksitriptamine (Serotonin)

dönüştürülür. Serotonin daha sonra NAT (N-asetil transferaz) enzimi aracılığı ile asetillenerek N-asetilserotonine dönüşür. N-asetilserotonin ise sadece pineal bezde salgılanan HIOMT (Hidroksiindol-o-Metiltransferaz) ile N-asetil 5-metoksi triptamine yani Melatonin'e dönüşür (90).



Şekil 2.12. Pineal bezde ışık etkisiyle triptofandan melatonin sentezi (90).

Melatonin etkilerini dört mekanizmada açıklamak mümkündür. Bunlar; 1) Plazma membranında melatonin reseptörlerine bağlanarak, 2) Calmodulin gibi intrasellüler proteinlere bağlanarak, 3) Yetim nükleer reseptörlere bağlanarak, 4) Antioksidan etkiler göstererek. Melatonin reseptörleri şunlardır: 1) Hücre membranında bulunan Melatonin Tip-1a, MT1 ve Melatonin Tip-1b, MT2 reseptörler. 2) Balık amfibilerinde ve kuşlarda bulunan Melatonin Tip-1c reseptörü. 3) Bir detoksifikasyon enzimi olan Quinon redüktaz2 enzimi olan MT3 reseptörü. 4) Melatonin'in çekirdekdeki transkripsiyon faktörlerine bağlanmasını sağlayan RZR/ROR $\alpha$ : Retinoid-ilişkilinükleer yetim hormon reseptörü. 5) Melatonin'in MT1 reseptörüne bağlanmasını sağlayan GPR50: X-bağlı Melatonin-ilişkili yetim reseptör. Etkilerini bu reseptörler aracılığı ile gösteren Melatonin'in Agomelatin ve ramelteon, sirkadin, TIK-301 ve taşimelteon gibi agonistleri bulunmaktadır. Melatonin ve agonistlerinin tedavi için yeni ve gelecek vadeden özellikleri olması dikkat çekicidir (91).

Melatonin'in depresyon tedavisindeki yeri kısıtlı olsa da, tıp ve veteriner hekimlikte kullanımının yaygınlaşması söz konusu hormonun önemini göreceli olarak

artırmıştır. Lipofilik olması sayesinde hücresel kompartmanlara kolayca geçebilmesi, daha hücre içine girmeden serbest oksijen radikallerini elimine edebilmesi melatoninin antioksidan gücünü sergilemekte, sirkadyen ritmi düzenleyerek vücutta homeostazisi sağlamakta ve bağışıklık sistemi üzerine olumlu etkiler oluşturmaktadır. Dikkat çekici diğer bir özelliği ise bazı türlerde üreme siklusunu başlatıcı veya durdurucu etki göstermesidir. Yapılan bazı çalışmalar melatoninin antikanserojenik etkinliği olduğunu da ortaya koymuştur (92).

Depresyon toplumda yüksek oranda yaygın olmakla beraber birçok klinik çalışmada tedavi alternatiflerinin araştırma bulguları hastaların en az üçte birinin tamamen iyileşmediğini göstermiştir. Bu sonuçlar farklı seçeneklerin düşünülmesi gerektiği sonucunu doğurmuştur. Depresyon tedavisinde Dr. Jozeph Schildkraut'un monoamin hipotezi çerçevesinde depresyona beynin locus cereleus bölgesinde nöradrenalin aktivitesinde azalma ve maniye nöradrenalin aktivitesinin aşırı artmasının sebep olduğu kuramı ile çok uzun yıllar boyunca farmakoterapide monoaminler kullanılmıştır. Fakat yan etkiler göz önüne alındığında, dirençli vakalarda monoaminlerin yetersiz olduğunun tespiti ve tedaviye uyum, kardiyovasküler ve üreme sistemi üzerine olumsuz etkilerinin keşfedilmesi üzerine farklı alternatif arayışları Melatonerjik sisteme yönelime sebep olmuştur (93).

### **2.9.6. Agomelatin ve Depresyon**

Agomelatin bir melatonerjik agonist ve serotonin reseptörü 5HT<sub>2C</sub> antagonistidir. Etkilerini MT1 ve MT2 reseptörleri üzerinden göstermektedir. Melatonerjik fonksiyonu uyku kalitesini etkilerken, serotonerjik antagonizmi frontal kortekste norepinefrin ve dopamin sentezini uyarmaktadır (94). Agomelatin suprakiazmatik nükleusta bulunan melatonin reseptörleri üzerinden etki ederek sirkadiyen ritmi düzenleyerek, uyku kalitesini artırarak ve bozulmuş sirkadiyen ritmi yeniden düzenleyerek etkisini göstermektedir. Bazal prefrontokortikal dopaminerjik ve nöadrenerjik salınımını uyaran agomelatin aynı zamanda 5-HT<sub>2C</sub> reseptör antagonizmi ile dorsal hipokampusta bazal nöradrenalin salınımını da artırır Ayrıca prefrontal kortekste (PFK) stresin indüklediği glutamat salınımını azaltır ve hipokampus ve PFK'da beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) salınımını arttırmada etkilidir. Agomelatin bu özellikleriyle sadece Majör Depresif Bozuklukta (MDB) değil şiddetli MDD olmak üzere, mevsimsel davranış

bozukluğu, bipolar I bozukluk ve yaygın anksiyete bozukluğu olan hastalarda hızlı ve etkili bir antidepresan olma özelliğindedir (95).

Çift kör desen araştırmalarda yan etkilerinin hasta uyumunu zorlaştırmadığının belirlenmesi agomelatinin diğer birçok grup antidepresana üstünlük kazanmasını sağlamıştır. Plasebo kontrollü akut dönem çalışmalarında SSRI grubu ve diğer grup antidepresanlarla karşılaştırmalarında (venlafaksin, paroksetin, sertralin, fluoksetin, essitalopram) agomelatinin on aya kadar relaps önleme etkinliği saptanarak plasebodan daha etkin olduğu ve diğer antidepresanlara göre tolerasyonunun yüksek olduğu görülmüştür. Sirkadiyen etkili olması ve diğer birçok grup antidepresanın özellikli yan etkisi olan cinsel işlev bozukluğu oluşturmadığı hatta depresyona bağlı cinsel işlev bozukluğunu da tedavi ettiği belirtilmiştir (96). Depresyondaki bu denli iyileştirici etkileri düşünüldüğünde ve farklı alanda etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda kanıtlandığı üzere çok yönlü etkilerinin olabileceği mümkündür. Genel olarak bakıldığında etkinlik açısından farklı sonuçlar olmakla birlikte agomelatinin sık kullanılan antidepresanlar arasında en az bir yönde fazladan olumlu etkisinin olduğu ve etkisinin erken başlaması tedavide üstün olmasını sağlamaktadır. Bildirilen yan etkileri arasında uykuya eğilim bulunmaktadır, fakat doz ayarlamaları ile bu yan etkinin azaldığı da gözlenmiştir. Bunun dışında, kilo alımının ve cinsel yan etkilerin azlığı tedaviye uyumu olumlu yönde etkilemiştir. Yapılan bazı çalışmalarda agomelatin tedavisi alan hastalarda karaciğer enzimlerinde yükselme saptanmasına rağmen ilaç dozunun azaltılması ile yine bu etkinin de görece düştüğü bildirilmiştir. Birçok antidepresan türevinde kesilme belirtilerinin hastaları ve hastalığın gidişatını olumsuz etkilediği saptanmış olsa da agoomelatin tedavisinin ani bırakılmasının belirgin kesilme belirtilerine yol açmadığı gözlenmiştir (97).

### **2.9.7. Agomelatin'in Antioksidan Sisteme Entegrasyonu**

Agomelatinin diğer melatonin agonistleri arasında her yönüyle melatonine daha fazla yakın özellik göstermesi ve birçok açıdan daha üstün olması, çok güçlü bir antiokasidan olan melatonin gibi agomelatinin de bu yönünün araştırılması, sonuçların antidepresan özellikte olduğu kadar antioksidan sistemlerdeki yerinin de belki de melatoninden daha üstün olabileceği düşüncesi bilimsel çalışmalarda önemle yerini almıştır.



Melatoninin antioksidan etkileri Ianas ve arkadaşları tarafından 1991 yılında ortaya konmuş ve sonradan yapılan çalışmalar ile de desteklenmiştir (98). Yüksek oranda lipofilik ve az da olsa hidrofilik yapısı sayesinde doku kompartmanlarına kolayca girebilen melatoninin ayrıca kan beyin bariyerini ve plasentayı da kolayca geçebiliyor olması organizmada yaygın dağılım göstererek antioksidan etkisini ve serbest radikal hasarından hücre zararını, organelleri ve çekirdeği koruyabilmesini sağlamaktadır (99). Melatonin serbest radikal hasarına karşı dokuyu koruma etkisine hücre membranındaki fosfoliplere tutunarak başlar ve daha radikaller hücreye yaklaşmadan detoksifiye eder. Melatoninin hücre çekirdeğine kolaylıkla ulaşabilmesi DNA'nın da hasardan korunabilmesinde melatonine üstünlük kazandırmaktadır (100). Melatonin güçlü bir OH<sup>-</sup> radikali süpürme özelliğinde olup hatta glutatyon ve E vitaminine bu açıdan ciddi üstünlük sağladığı çalışmalarla kanıtlanmıştır. Ayrıca metabolitlerinin bile antioksidan özellik göstermesi OH<sup>-</sup> radikali ile reaksiyona girdikten sonra indolil katyon radikaline dönüşerek O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikalini tutması ile de kanıtlanmıştır (101).

Agomelatinin melatonin benzeri özellikleri düşünüldüğünde antioksidan sisteme entegrasyonunun olumlu ve güçlü etkilerle yerini alacağı yapılacak olan çalışmalarla ortaya konulmalıdır.

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Araştırmanın Yapıldığı Merkez

Çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan alınan onay ile (23.09.2019 tarih ve 2019/A-11 protokol numaralı), İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi ve Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

#### 3.2. Gruplardaki Hayvan Sayılarının Belirlenmesi

Deneylede kullanılacak hayvanların sayısı (örneklem büyüklüğü), gruplar arası en büyük tahmini vücut ağırlık ortalaması farkı 10 g, standart sapması 10 g, tip 1 hata ( $\alpha$ ) 0.05 ve tip 2 hata ( $\beta$ ) (Güç=0.80) ve grup sayısı 6 olduğunda; her bir grupta en az 10 hayvanın olması gerektiği güç analizi ile belirlendi (Minitab for Windows, 16.2.0).

#### 3.3. Deney Hayvanları ve Grupların Oluşturulması

Çalışmada yaklaşık 370 g ağırlığında 60 adet *Sprague Dawley* cinsi erkek sıçan kullanıldı, sıçanlar rasgele atama ile eşit olarak 6 gruba ayrıldı (n=10). Araştırma kapsamında hayvanlara aşağıda detayları yer alan işlemler uygulandı (Şekil 3.1.).

**Grup 1:** Bu grup kontrol grubu olup deney süresince grupta yer alan sıçanlara herhangi bir uygulama ve cerrahi girişim yapılmadı. Sıçanlar 7 gün süreyle bireysel olarak tekli kafeslerde barındırıldı ve 8. günün sonunda dekapite edilerek kan ve böbrek dokuları toplandı. Alınan kan dokusu serumlarına ayrılarak serum üre, kreatin, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri ölçüldü. Alınan sağ böbrek dokusu hemotoksilen eozin ile boyanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. Sol böbrek dokusu ile SOD, CAT, GSH, GPx enzim aktiviteleri ve MDA seviyeleri belirlendi.

**Grup 2:** Bu grup iskemi/reperfüzyon (I/R) grubu olup deney süresince grupta yer alan sıçanlar tekli kafeslerde barındırıldı. Bu gruptaki sıçanlara her gün tek sefer oral gavaj yoluyla 0.5 ml hidroksietil selüloz (agomelatin çözücüsü) 7 gün süresince uygulandı. 7. gün anestezi altına alınan sıçanların böbrek arterleri klemplenerek 45 dakika süresince her iki böbreğe iskemi uygulandı. Sonrasında klempler açılarak 24 saat süreyle

reperfüzyon uygulanan sıçanlar 8. gün dekapite edilerek kan ve böbrek dokuları toplandı. Alınan kan dokusu serumlarına ayrılarak serum üre, kreatin, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri ölçüldü. Alınan sağ böbrek dokusu hemotoksilen eozin ile boyanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. Sol böbrek dokusu ile SOD, CAT, GSH, GPx enzim aktiviteleri ve MDA seviyeleri belirlendi.

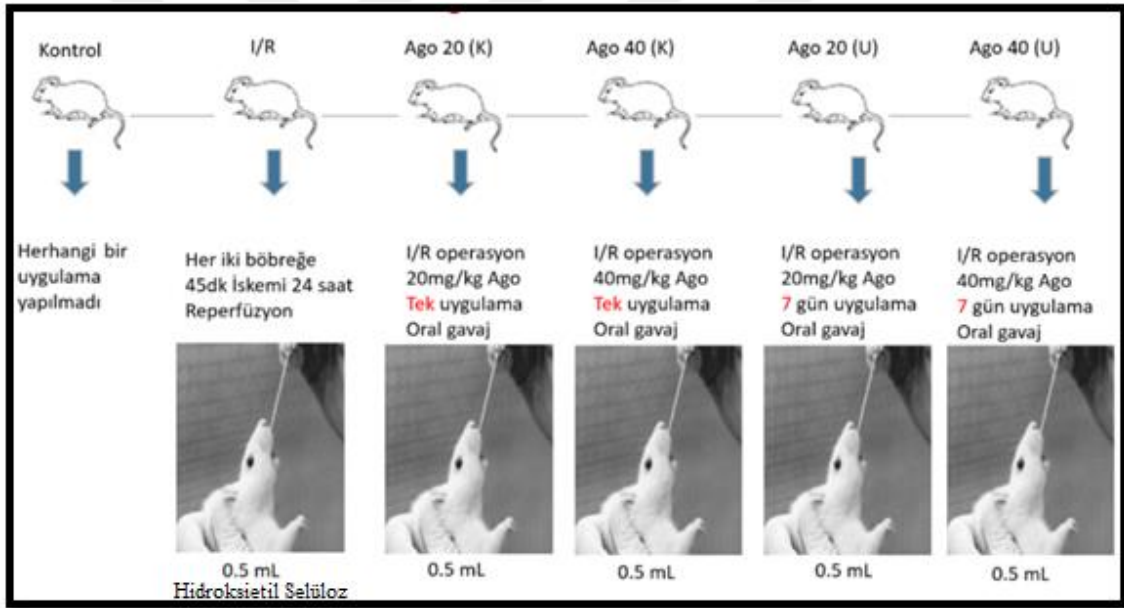
**Grup 3:** Bu grup agomelatinin 20 mg/kg olarak kısa süreli [Ago 20 (K)] grup olup 7 gün süresince grupta yer alan sıçanlar tekli kafeslerde barındırıldı. 7. Gün iskemi işleminden 1 saat önce 20 mg/kg agomelatin oral gavaj yoluyla uygulandı ve sıçanlar anestezi altına alındı. Sonrasında sıçanların böbrek arterleri klemplenerek 45 dakika süresince her iki böbreğe iskemi uygulandı. İskemi sonrası klempler açılarak 24 saat süreyle reperfüzyon uygulanan sıçanlar 8. gün dekapite edilerek kan ve böbrek dokuları toplandı. Alınan kan dokusu serumlarına ayrılarak serum üre, kreatin, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri ölçüldü. Alınan sağ böbrek dokusu hemotoksilen eozin ile boyanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. Sol böbrek dokusu ile SOD, CAT, GSH, GPx enzim aktiviteleri ve MDA seviyeleri belirlendi.

**Grup 4:** Bu grup agomelatinin 40 mg/kg olarak kısa süreli [Ago 40 (K)] grup olup 7 gün süresince grupta yer alan sıçanlar tekli kafeslerde barındırıldı. 7. Gün iskemi işleminden 1 saat önce 40 mg/kg agomelatin oral gavaj yoluyla uygulandı ve sıçanlar anestezi altına alındı. Sonrasında sıçanların böbrek arterleri klemplenerek 45 dakika süresince her iki böbreğe iskemi uygulandı. İskemi sonrası klempler açılarak 24 saat süreyle reperfüzyon uygulanan sıçanlar 8. gün dekapite edilerek kan ve böbrek dokuları toplandı. Alınan kan dokusu serumlarına ayrılarak serum üre, kreatin, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri ölçüldü. Alınan sağ böbrek dokusu hemotoksilen eozin ile boyanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. Sol böbrek dokusu ile SOD, CAT, GSH, GPx enzim aktiviteleri ve MDA seviyeleri belirlendi.

**Grup 5:** Bu grup agomelatinin 20 mg/kg olarak uzun süreli [Ago 20 (U)] grup olup 7 gün süresince grupta yer alan sıçanlar tekli kafeslerde barındırıldı. Bu gruptaki sıçanlara her gün tek sefer oral gavaj yoluyla 0.5 ml hacminde 20 mg/kg konsantrasyonda agomelatin 7 gün süresince uygulandı. 7. gün anestezi altına alınan sıçanların böbrek arterleri klemplenerek 45 dakika süresince her iki böbreğe iskemi uygulandı. Sonrasında klempler açılarak 24 saat süreyle reperfüzyon uygulanan sıçanlar 8. gün dekapite edilerek kan ve böbrek dokuları toplandı Alınan kan dokusu serumlarına ayrılarak serum üre, kreatin, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri ölçüldü. Alınan sağ böbrek dokusu hemotoksilen

ezin ile boyanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. Sol böbrek dokusu ile SOD, CAT, GSH, GPx enzim aktiviteleri ve MDA seviyeleri belirlendi.

**Grup 6:** Bu grup agomelatinin 40 mg/kg olarak uzun süreli [Ago 40 (U)] grup olup 7 gün süresince grupta yer alan sıçanlar tekli kafeslerde barındırıldı. Bu gruptaki sıçanlara her gün tek sefer oral gavaj yoluyla 0.5 ml hacminde 40 mg/kg konsantrasyonda agomelatin 7 gün süresince uygulandı. 7. gün anestezi altına alınan sıçanların böbrek arterleri klemplenerek 45 dakika süresince her iki böbreğe iskemi uygulandı. Sonrasında klempler açılarak 24 saat süreyle reperfüzyon uygulanan sıçanlar 8. gün dekapite edilerek kan ve böbrek dokuları toplandı. Alınan kan dokusu serumlarına ayrılarak serum üre, kreatin, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri ölçüldü. Alınan sağ böbrek dokusu hemotoksilen ezin ile boyanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. Sol böbrek dokusu ile SOD, CAT, GSH, GPx enzim aktiviteleri ve MDA seviyeleri belirlendi



Şekil 3.1. Araştırma planı.

### 3.4. Hayvanların Gruplara Atanması

Deney öncesi sıçanlar tartılarak vücut ağırlıkları kayıt edildi. Sıçanların gruplara atanması vücut ağırlıklarına göre basit rastgele atama yöntemi (MedCalc 12.7.0 for Windows) kullanılarak, bilgisayar algoritmasına dayalı olarak gerçekleştirildi. Tek yönlü varyans analizi bulgularına göre gruplar arasında hayvanların ağırlıkları açısından fark olmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ).

**Tablo 3.1.** Grupların bilgisayara dayalı algoritma kullanılarak oluşturulması.

	<b>Kontrol</b>	<b>I/R</b>	<b>Ago20 (K)</b>	<b>Ago40 (K)</b>	<b>Ago20 (U)</b>	<b>Ago40 (U)</b>	<b>P</b>
Hayvan sayısı (n)	10	10	10	10	10	10	.998
Ortalama Ağırlık (g)	371,50	369,60	369,10	372,10	365,10	366,60	
SD	41,46	36,89	35,07	32,90	30,57	36,08	
En küçük ağırlık (g)	308,00	311,00	319,00	319,00	312,00	309,00	
En büyük ağırlık (g)	447,00	439,00	430,00	422,00	409,00	420,00	

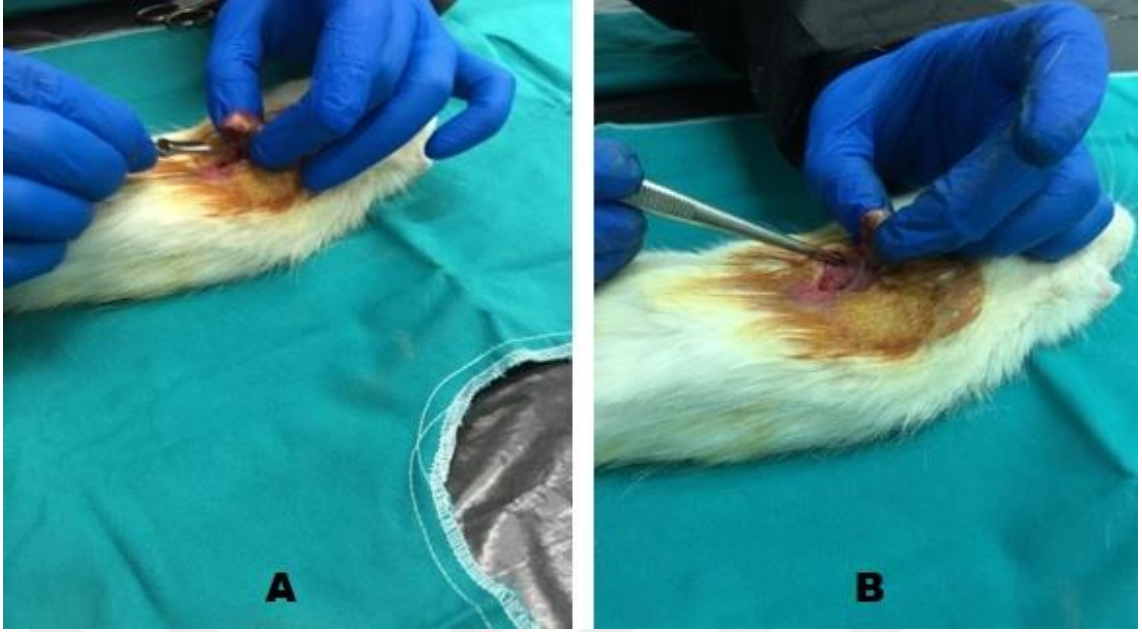
### 3.5. Agomelatinin Hazırlanması ve Konsantrasyon Seçimi

Çalışmada agomelatinin literatürde sıkça kullanılmış olan 20 ve 40 mg/kg'lık konsantrasyonları kullanıldı. Agomelatin laminar Flow (Biyolojik emniyet kabini) içerisinde hidroksietil selüloz ile çözünerek hazırlandı. Hazırlanan solüsyonun konsantrasyon hesaplamaları 0.5 ml'lik hacime göre standart hale getirildi.

### 3.6. Cerrahi Uygulamalar

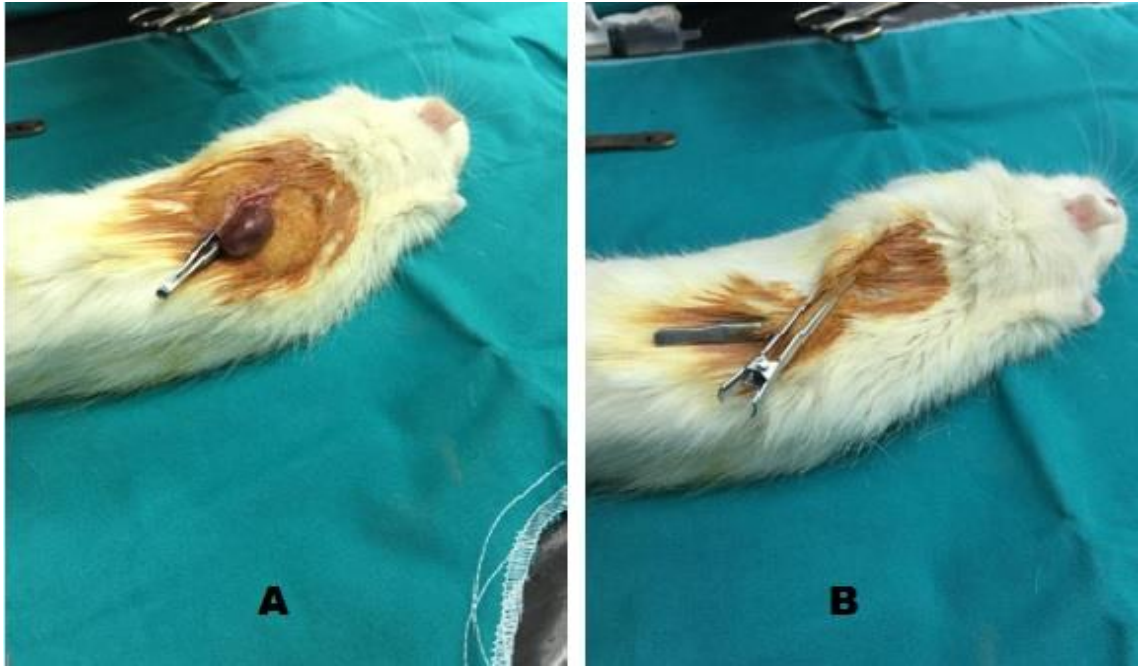
Hayvanlara 8mg/kg ksilazin (Bioveta, Çek Cumhuriyeti) ve 75mg/kg ketamin (Richter Pharma Ag. Austria) intramüsküler olarak uygulandı. Sıçanların parmak kıstırma yanıtları ve fizyolojik yanıtını takiben anesteziye girdikleri belirlendi.

Anesteziye alınan sıçanların sırt bölgeleri traş edildi. %10 povidon iyodin sürüldü ve bistüri yardımıyla 3-4 cm boyutunda bilateral insizyon sağlandı ve böbrek dokusu (Şekil 3.2A) ve renal artere ulaşıldı (Şekil 3.2B). Sonrasında tüm gruplardaki sıçanlar için önce sağ renal arter, daha sonra sol renal arter kleplendi (Şekil 3.2B).



**Şekil 3.2.** Sıçan böbreğine ulaşılmaması (A), Renal artere ulaşılmaması (B)

Sonrasında tüm gruptaki sıçanlar için önce sağ renal arter, daha sonra sol renal arter klemplenecek (Şekil 3.3A) böbreğe olan kan akımını 45 dk süreyle durdurularak takip edildi (Şekil 3.3B).



**Şekil 3.3.** Böbrek arterinin klempleneşmesi (A), klempaj takibi (B).

45 dk iskemi süresi boyunca operasyona bağlı dehidratasyona yönelik sıvı replasmanı sağlamak üzere ve organların kurummasını engellemek amaçlı toplam 500 µL serum fizyolojik intraperitoneal yoldan uygulandı. 45 dk iskemi sonrasında bilateral klempler açıldı. 4.0 İpek iplik ile insizyon bölgeleri dikildi ve %10 povidon iyodin sürülerek hayvanlar kafeslerine alındı. Sonrasında 24 saat reperfüzyon uygulanarak reperfüzyon süresi sona erdiğinde sıçanlar dekapite edildi ve kan ve böbrek dokuları alındı.

### **3.7. Kan Örnekleri ve Dokuların Toplanması**

Deney sonrası tüm gruplardan her iki böbrek ve kan örnekleri alındı. Sıçanların sağ böbrek dokuları histopatolojik inceleme için formladehite koyularak histolojik analizler yapılıncaya kadar, sol böbreklerinden süpernatantlar elde edilerek ependorflara alınmak suretiyle ve kan örnekleri ise; 3200 rpm' de 15 dakika santrifüj edildikten sonra serumlarına ayrılarak biyokimyasal analizler yapılıncaya kadar -80°C' de muhafaza edildi.

### **3.8. Dokuların Analizlere Hazırlanması**

Deney günü böbrek dokularından homojenizasyon için bistüri yardımıyla yaklaşık 0.3-0.5 gram ağırlığında parçalar alınarak buzlu kaplarda bekletilen cam tüplere aktarıldı. Dokuların üzerine 2 ml Tris-HCl tamponu (Ph:7.4, 0.2 Mm) eklenerek homojenizatörde 16000 devir/dakika hızda 2 dakika süre ile homojenize edildi. Homojenat üzerine 1 ml daha tampon eklendi ve toplam 3 dakika sonunda vortekslenerek ependorflara aktarıldı. Bu homojenatlardan her bir denek için 250µL alınarak MDA tayini için santrifüj tüpüne aktarıldı ve +4°C' de muhafaza edildi. Geriye kalan homojenatlar 30 dakika süreyle 3200 rpm' de +4°C santrifüjlendikten sonra süpernatantları elde edildi. Elde edilen süpernatantlar ile MDA, SOD, CAT, GSH ve GPx analizleri yapıldı.

### 3.9. Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler

#### 3.9.1. TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Seviyeleri Tayini

Deney gruplarının serum TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  değerleri rat spesifik ELISA kitleri (Shanghai Sunred Biological Technology Co. Ltd) kullanılarak belirlendi. Bu ölçümlerde kit ile birlikte gelen çalışma protokolü uygulandı. Şöyle ki;

Çalışma öncesi tüm reaktifler oda sıcaklığına (25°C) getirildi. Yıkama tamponu 10 mL konsantre halde olduğundan 300 mL distile su ile seyreltme işlemi yapıldı. Standart ise kullanılmadan hemen önce hazırlandı. ELISA yıkayıcıyla her bir kuyuya 300  $\mu$ L yıkama tamponu eklenerek belirtilen süre (enjeksiyon ve emme arasındaki aralık 60-120 saniye) boyunca yıkama işlemi gerçekleştirildi. Numune süpernatant, standart ve kör için her bir kuyuya 40  $\mu$ L yükleme yapıldı. Kör kuyusuna sadece referans standart ve numune seyreltici karışımı eklendi. Kuyulara hazırlanan biyotinlenmiş antikordan 10 $\mu$ L ve HRP 50  $\mu$ L eklenerek plakalar adeziv film ile kaplanarak 37°C'de 60 dk inkübe edildi. Yıkama işlemi bu aşamada 5 kez uygulandı. Her bir kuyuya 50  $\mu$ L kromojen A ve kromojen B solüsyonlarından eklendi plakalar adeziv film ile kaplanarak 37°C'de 10 dk inkübe edildi. Bu işlem sırasında plakalar ışıktan korundu. Son olarak her bir kuyuya 50  $\mu$ L durdurma solüsyonu (stop solution) eklendi ve renklerin sarıya döndüğü görüldü. Son olarak elde edilen preparat 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucu kullanılarak okundu. Sonuçlar pg/mL olarak ifade edildi.

#### 3.9.2. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü

Süperoksid dismutaz enzim aktivitesi tayini Sun ve ark. (102) tarafından tanımlanan NBT indirgeme yöntemiyle (kaynak no: sun ve arkadaşları) çalışıldı. Reaktifler 150 $\mu$ mol Nitro Blue Tetrazolium, 0.3 mmol/L ksantin, 0.6 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA, 400 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve 1 gr/L sığır serum albümini (BSA) kullanılarak hazırlanan substrat solüsyonu ve ksantin oksidaz (XO: 167 U/L), 2M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile hazırlandı.

Substrat solüsyonu ve numunelerden bir kör ve numune kuyucuklarına 2.5 $\mu$ l olarak eklendi. Bidistile su kör kuyucuğuna 2 $\mu$ l eklendi. Köre ve numunelere 0.5 $\mu$ l XO (167 U/l) olacak şekilde pipetlendi. 25° C'de 20 dakika inkübe edildi. Distile suya karşı körden başlanarak 560nm'de okundu.



SOD aktivitesi:

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_K - A_N) / A_K \times 100$$

$A_N$ : Numune Absorbansı

$A_K$ : Kör Absorbansı

%50'lik inhibisyon 1U olarak alındığında;

$$\text{Aktivite (U/ml)} = [ (\% \text{ inhibisyon} / 50) \times (1/0.1) ] \text{ ml}$$

Spesifik aktivite (U/mg protein) = [U/ml/mg/l protein] hesaplaması ile U/mg birimi ile sonuçlandırıldı.

### 3.9.3. Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

Fosfat tamponu (Ph 7.0, 50mM) ile 0.500' e ayarlanmış  $H_2O_2$  çözeltisi reaktif olarak hazırlandı. Katalaz aktivitesi Aebi metoduna göre (103), 240nm'de maksimum absorbans veren  $H_2O_2$ 'ye eklenen katalaz aktivitesiyle uv spektrumuna göre CAT enzim aktivitesiyle doğru orantılı olan absorbans azalması su ve oksijene parçalanır. Birim zamanda  $H_2O_2$ 'yi suya çeviren enzim miktarı CAT enzim aktivitesini verecektir.

Kör olarak fosfat tamponu kullanıldı.  $H_2O_2$  çözeltisi 25 ml fosfat tamponu ile dilüe edildi ve substrat olarak kullanıldı. 2  $\mu$ l süpernatant eklenmiş kuyucuklara 10  $\mu$ l  $H_2O_2$  eklendi. Her 15 saniyede bir defa olmak üzere 5 dakika süre ile absorbans azalması kaydedildi.

CAT aktivitesi:

$$k \text{ (reaksiyon hızı sabiti)} = [2.3 \times \log (OD_1/OD_2)] / \Delta t \text{ (sn)}$$

k/g protein = k / [(g/ml protein) x 1000] denkelmleri ile birimi k/g protein olarak sonuçlandırıldı.

### 3.9.4. Glutatyon Peroksidaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

Paglia ve ark. (104) prensibine göre çalışılan GSH-Px enzim aktivitesi için fosfat tamponu (50 Mm, Ph:7.5), 2 mM  $H_2O_2$ , 8 mM NADPH, 1 M  $NaN_3$ , 150 Mm redükte GSH, enzim olarak [50  $\mu$ l GSH redüktaz + 1.5 ml 3.2 M  $(NH_4)_2SO_4$ ] reaktifleri kullanıldı. GSH-Px enzim aktivitesi birim zamanda okside olan mikromol NADPH miktarıdır.

340 nm'de 5 dakika boyunca spektrofotometrede absorbans değerleri kaydedilen numuler için substrat hazırlığında 25mg 5 mM EDTA' yı 15 ml fosfat tamponu ile bir behere alındı. 150 mM redükte GSH 0.312 mg ve 8 mM NADPH 0.25 mg, 1 M  $NaN_3$

0.05 mg ve süpernatant 2µl well plate'e pipetlenerek 30 dakika oda ısısında inkübe edildi. Daha sonra her bir kuyucuğa 2µl 2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi eklenerek okutuldu.

GSH-Px aktivitesi:

$$\text{IU/L} = [(\Delta A/t) / 6.22 \times 10^{-6}] \times (1/0.02)$$

W gram protein miktarı olmak üzere;

Spesifik aktivite IU/L mg protein = (IU/L) / (100 x W) ile hesaplanır.

### 3.9.5. Malondialdehit Ölçümü

Malondialdehit (MDA) oksidatif stres sonucu lipid peroksidasyonu ürünlerindedir. MDA analizi, kullanılan tiyobarbitürik asit (TBA) ile MDA'nın reaksiyona girmesi ile renkli bir bileşik vererek 532nm dalga boyunda köre karşı spektrofotometrik olarak okutulması ile yapılır. Literatürde TBARS olarak adlandırılan ve TBA ile reaksiyona giren maddeler ölçümlenir. Sonuçlar nmol/ml olarak tanımlanır (105).

% 0.675'lik 1.250 gr TBA 100 ml distile su ile karıştırılarak parafilm ile cam beherin ağzı kapatıldı ve 95°C'de erimesi beklendi. %10'luk 10 gr TCA çözeltisi 100 ml distile su ile karıştırılarak daha önceden cam tüplere alınmış olan homojenatların üzerine 1.25 ml eklendi, Köre distile su ve 1.250 ml TCA eklendi. Cam tüpler 10'ar saniye vortekslendikten sonra 95°C'ye kadar 25 dakika ısıtıldı. Daha sonra cam tüpler buzlu suya alınarak soğuması beklendi ve 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.

Santrifüjden sonra numunelerin süpernatantları ayrılır. 1 ml süpernatant ve 500 µl TBA'yı cam tüplere ekledikten sonra tüpler 95°C'de 15 dakika kaynatıldı ve renk değişimi izlendi. Süre bitiminde cam tüpler buzlu suda soğutuldu. Well plate'e 1.25 µl eklenen numuneler köre karşı 532 nm 'de spektrofotometrede okutuldu.

### 3.9.6. Total Glutasyon Ölçümü

Yöntem sülfidril gruplarının Nitrobenzoik asit (DTNB) ile şiddetli sarı renk vererek spektrofotometrik olarak 412 nm'de okutulması esasına dayanmaktadır (106-107). Reaktifler hazırlanırken 25 ml fosfat tamponu içine 5 mg NADPH 1.25 ml, 2 ml 0.75 mg DTNB ve 2 ml 3 µl Glutasyon redüktaz enzimini cam beherde çözdükten sonra 3 µl numune pipetlenmiş olan plate'e eklendi ve 512 nm'de spektrofotometrede okutuldu.

### **3.9.7. Biyokimyasal Analiz**

Serum üre ve kreatinin değerleri İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkez Biyokimya Laboratuvarında Abbot Aeroset Otoanalizör Cihazı ve kitleriyle yapıldı.

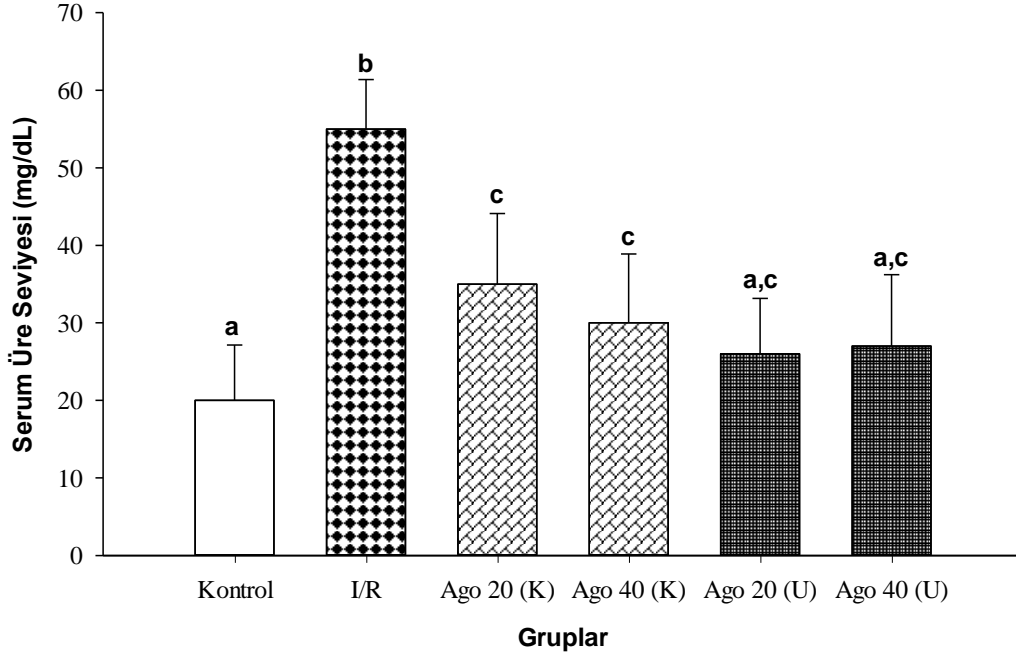
### **3.9.8. Histolojik Analiz**

Histopatolojik değerlendirme için sıçanların böbrek dokuları çıkarıldı. Daha sonra plastik doku takip kasetlerine konularak %10'luk formaldehit içerisinde 24 saat süre ile fikse edildi. Fiksasyon işleminin ardından dokular 24 saat boyunca akan çeşme suyunda yıkandılar. Dereceli alkollerde dehidrate edilerek, ksilende şeffaflaştırılıp parafine gömüldüler. Parafin bloklardan Leica RM2145 marka mikrotom yardımıyla 5'er mikron'luk kesitler alındı. Kesitlere genel histolojik yapıyı gözlemek amacıyla Hematoksilen ve eozin boyama yöntemi uygulandı. Renal hasar; intertubuler hemoraji, peritubuler infiltrasyon ve intratubuler cast oluşumu yönünden değerlendirildi. Her kesitten X20' lik büyütmede 10 alan incelendi ve histopatolojik skorlama renal hasarın derecesi ve yaygınlığına göre belirlendi. Hasarın şiddetine göre; 0 (değişiklik yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (ağır) olarak değerlendirildi. Preparatlar Leica DFC280 ışık mikroskobu ve Leica Q (Leica Micros Imaging solution Ltd, Cambridge, UK) görüntü analiz sistemi ile incelenerek skorlandı, fotoğrafları çekildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Agomelatin'in Serum Üre Seviyeleri Üzerine Etkileri

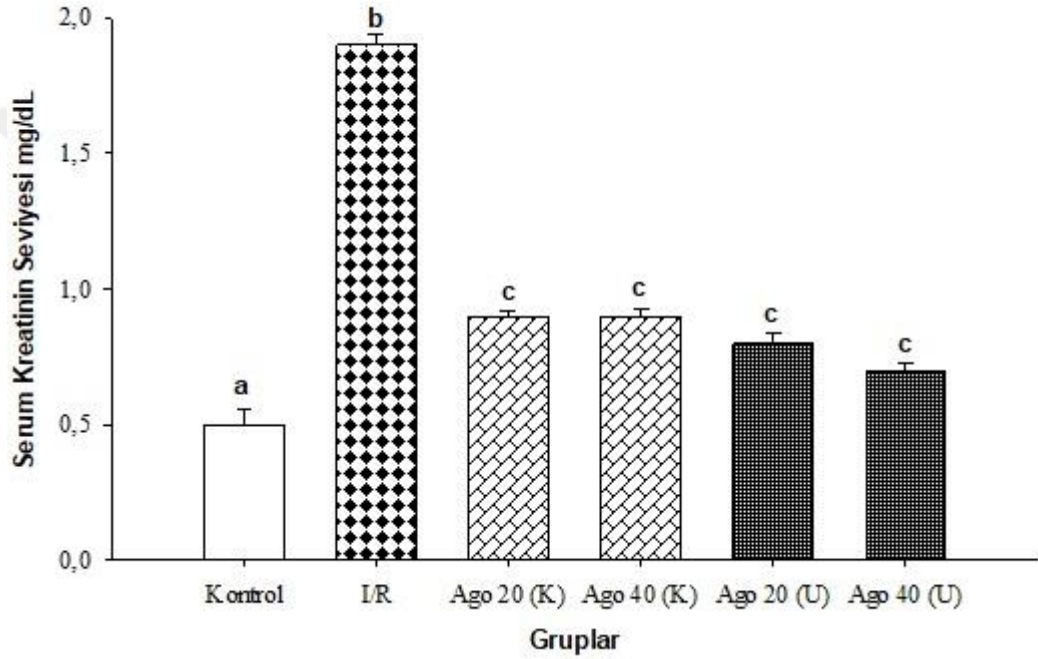
Grupların serum üre seviyeleri Şekil 4.1 'de gösterilmiştir. I/R grubunun serum üre seviyeleri kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artış göstermiştir ( $p<0.05$ ). Agomelatin uygulama grupları olan Ago20 (K)-Ago40 (K) ve Ago20 (U)-Ago40 (U)'da serum üre seviyelerinde I/R grubuna oranla belirgin bir azalma sağladığı belirlendi. Doz bağımlı grupların kendi aralarında serum üre seviyelerindeki azalmaya yönelik sağladığı katkı açısından önemli bir fark görülmedi.



**Şekil 4.1.** Deney ve uygulama gruplarının serum üre seviyeleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir <sup>a,b,c</sup> $p<0.05$ )

## 4.2. Agomelatin'in Serum Kreatinin Seviyesi Üzerine Etkisi

Grupların serum kreatinin seviyesi üzerine etkileri Şekil 4.2.'de gösterilmiştir. Kontrol grubuna göre I/R grubunun serum kreatinin seviyelerinde önemli ölçüde artış belirlendi ( $p<0.05$ ). Agomelatin uygulama gruplarının serum kreatinin seviyelerinde I/R grubuna kıyasla önemli miktarda azalma sağladığı tespit edildi. Doz bağımlı karşılaştırmalarda serum kreatin seviyelerindeki azalmaya yönelik anlamlı bir fark görülmedi.

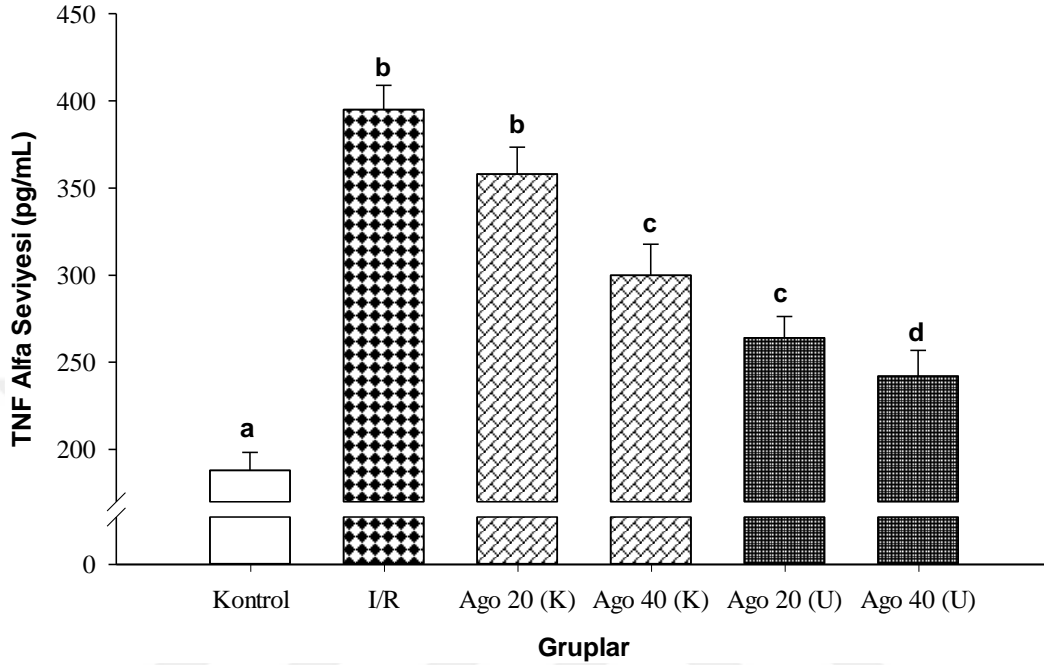


**Şekil 4.2.** Deney ve uygulama gruplarının serum kreatinin seviyeleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir <sup>a,b,c</sup> $p<0.05$ )

## 4.3. Agomelatin'in Serum TNF- $\alpha$ Seviyesi Üzerine Etkisi

Grupların serum TNF- $\alpha$  seviyeleri Şekil 4.3.'de gösterilmiştir. Deney grupları serum TNF- $\alpha$  seviyesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre I/R uygulanan grupta TNF- $\alpha$  seviyesinde önemli ölçüde artış gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Ago20 (U)-Ago40 (U) gruplarında I/R grubuna ve Ago20 (K)-Ago40 (K) gruplarına oranla serum TNF- $\alpha$  seviyelerinde önemli ölçüde azalma sağladığı görüldü ( $p<0.05$ ). Ago40 (U)

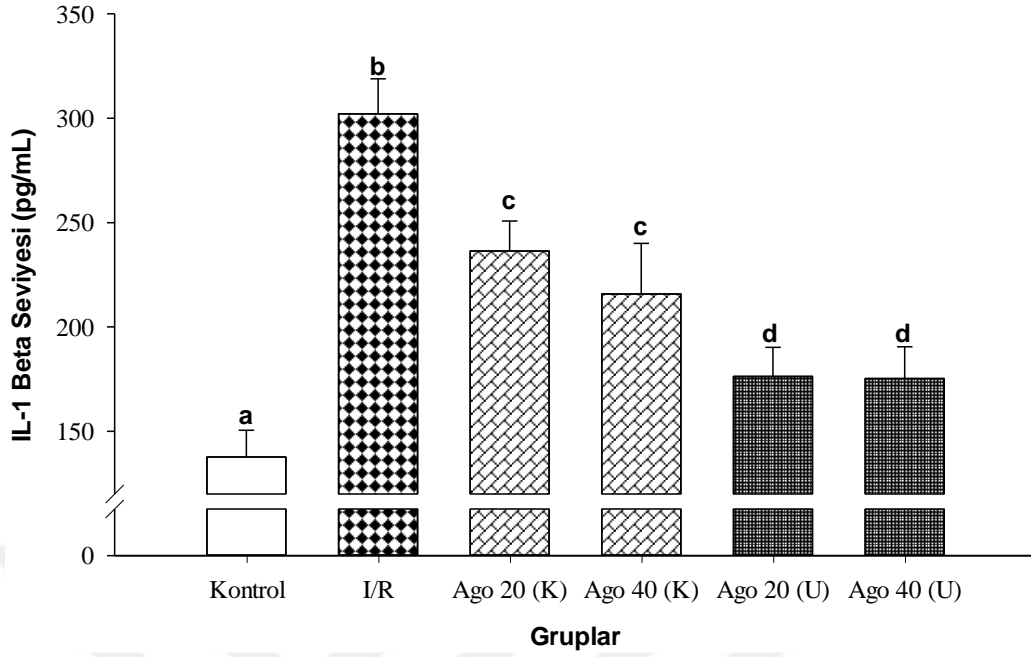
grubunun diğer Agomelatin uygulama gruplarına kıyasla serum TNF- $\alpha$  seviyelerinde daha fazla bir azalma sağladığı belirlendi.



**Şekil 4.3.** Deney ve uygulama gruplarının TNF- $\alpha$  seviyeleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir <sup>a,b,c,d</sup>, $p<0.05$ )

#### 4.4. Agomelatin'in Serum IL-1 $\beta$ Seviyesi Üzerine Etkisi

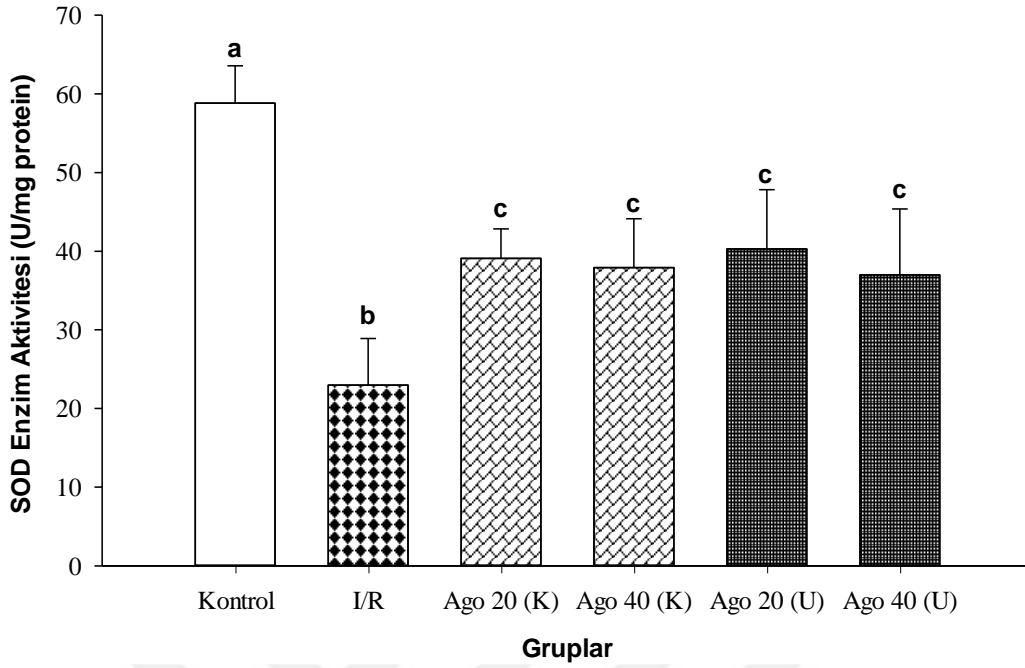
Grupların serum IL-1 $\beta$  seviyeleri Şekil 4.4.'de gösterilmiştir. Deney grupları serum IL-1 $\beta$  seviyesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre I/R yapılan grupta IL-1 $\beta$  seviyesinin önemli düzeyde artış gösterdiği belirlendi ( $p<0.05$ ). Doz bağımlı gruplar arasında serum IL-1 $\beta$  seviyelerindeki azalma ile ilgili anlamlı bir fark saptandı. Buna göre Ago20 (K)-Ago40 (K) gruplarında serum IL-1 $\beta$  seviyelerindeki azalma, Ago20 (U)-Ago40 (U)'da gruplarının serum IL-1 $\beta$  seviyesindeki azalmaya katkısından daha az olduğu görüldü.



**Şekil 4.4.** Deney ve uygulama gruplarının serum İL-1 $\beta$  seviyeleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir <sup>a,b,c,d</sup>p<0.05)

#### 4.5. Agomelatin'in Süperoksid Dismutaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Grupların Süperoksid Dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri Şekil 4.5.'de gösterilmiştir. I/R grubunda SOD aktivitesinde azalma olduğu görülmektedir (p<0.05). Agomelatin uygulanan grupların hepsinde I/R grubunda azalmış olarak saptanan SOD enzim aktivitesinde önemli miktarda artış olduğu belirlendi. Ago20 (K)-Ago40 (K) ve Ago20 (U)-Ago40 (U) grupları arasında SOD enzim aktivitesi artışı ile ilgili olarak kısa süreli uygulama ile uzun süreli uygulama veya doz bağımlı karşılaştırmalarda önemli bir fark tespit edilmedi.

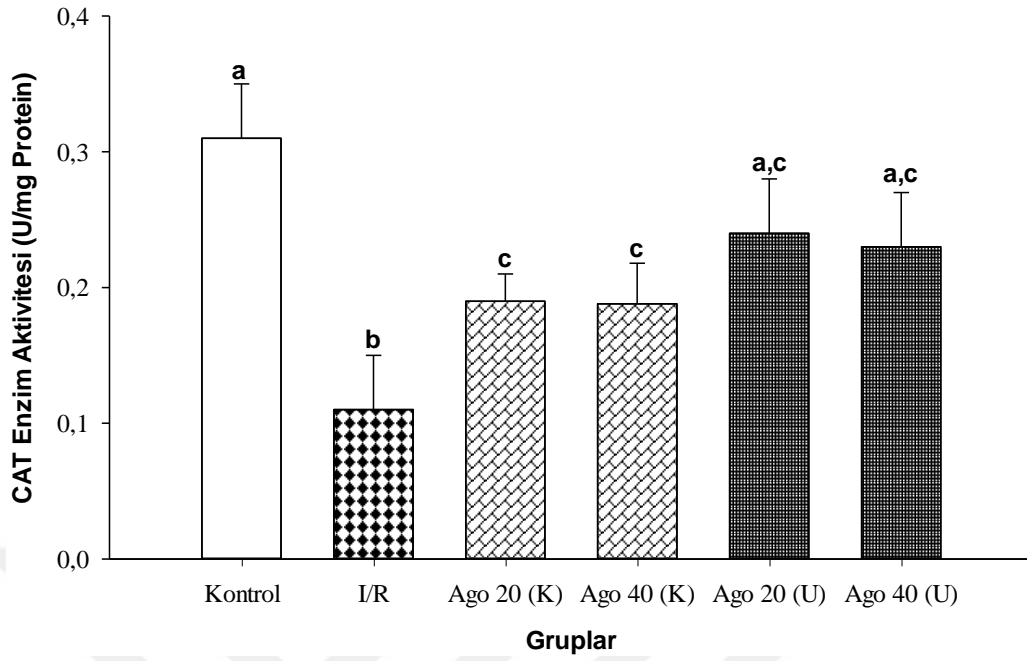


**Şekil 4.5.** Deney ve uygulama gruplarının SOD enzim aktivitesi. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir <sup>a,b,c</sup> $p < 0.05$ )

#### 4.6. Agomelatin'in Katalaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Grupların Katalaz (CAT) enzim aktivitesi Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Kontrol grubuna göre I/R grubunda CAT enzim aktivitesinde önemli bir azalma görülmüştür ( $p < 0.05$ ). Ago20 (U)-Ago40 (U) gruplarının CAT enzim aktivitesi artışında Ago20 (K)-Ago40 (K) gruplarına oranla daha fazla bir artış görülmekle beraber her iki uygulama grubunda da I/R grubuna oranla CAT enzim aktivitesinde önemli artışlar gözlemlendi. Doz bağımlı grupların kendi aralarında CAT enzim aktivitesi artışı ile ilgili önemli bir fark saptanmadı.

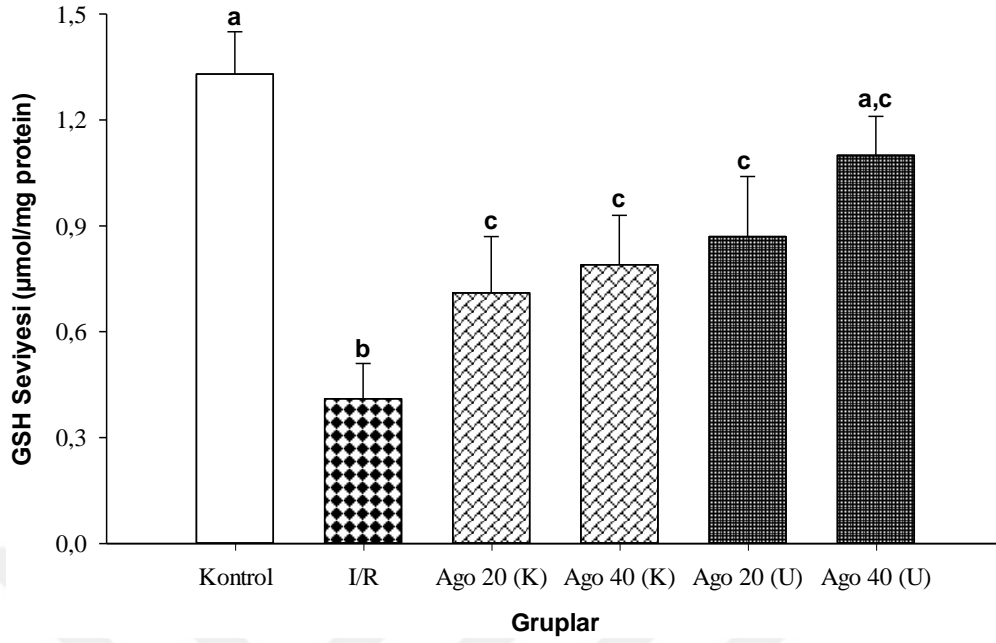




**Şekil 4.6.** Deney ve uygulama gruplarının CAT enzim aktivitesi. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir <sup>a,b,c</sup> $p<0.05$ )

#### 4.7. Agomelatin'in Glutatyon Seviyesi Üzerine Etkisi

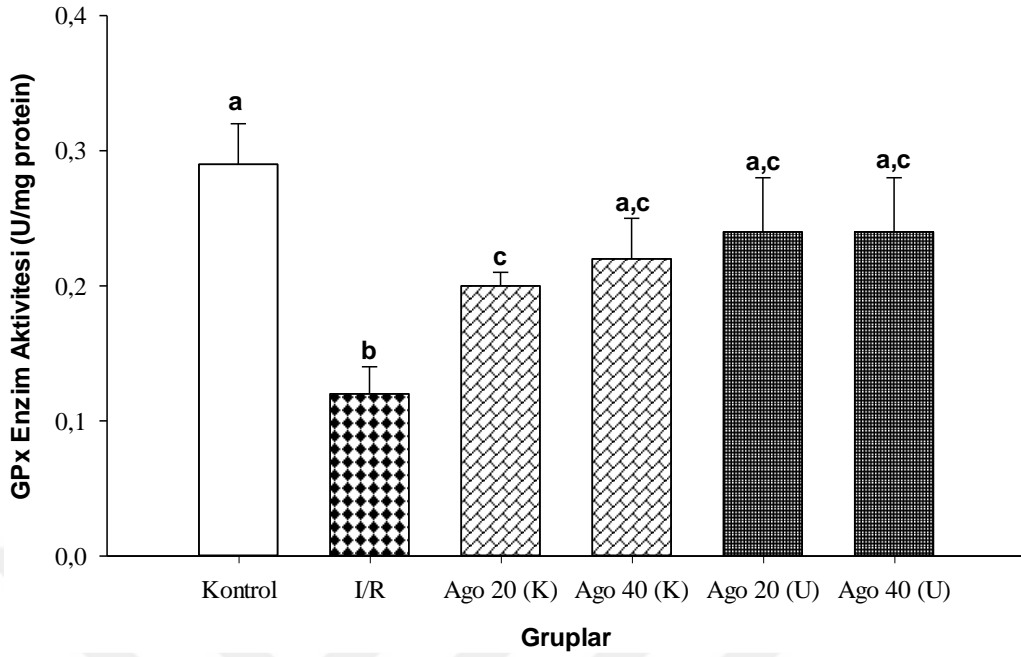
Grupların Glutatyon (GSH) seviyeleri Şekil 4.7'de verilmiştir. GSH seviyesinde Kontrol grubuna göre I/R grubunda belirgin azalma görüldü ( $p<0.05$ ). Ago20 (K)-Ago40 (K) ve Ago20 (U)-Ago40 (U) gruplarının GSH seviyesi üzerinde I/R grubuna oranla önemli ölçüde artış olduğu fakat doz bağımlı gruplar arasında GSH seviyesi artışı ile ilgili anlamlı bir fark görülmedi.



**Şekil 4.7.** Deney ve uygulama gruplarının GSH seviyesi. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Nicel veriler ort. ± SS olarak ifade edildi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir <sup>a,b,c</sup>p<0.05)

#### 4.8. Agomelatin'in Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

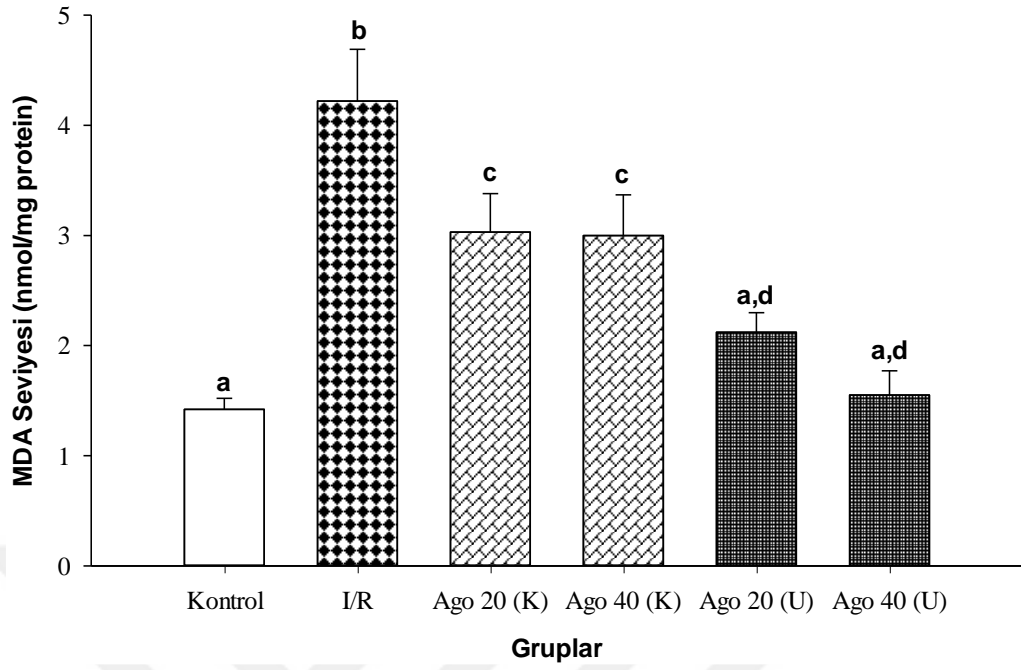
Grupların Glutasyon Peroksidaz (GPx) enzim aktivitesi Şekil 4.8'de gösterilmiştir. GPx enzim aktivitesinde Kontrol grubuna göre I/R grubunda önemli ölçüde azalma izlendi ( $p < 0.05$ ). Ago20 (K)-Ago40 (K) ve Ago20 (U)-Ago40 (U) gruplarının I/R grubuna oranla GPx enzim aktivitesi üzerinde önemli bir artış sağladığı belirlendi. Doz bağımlı gruplar arasında önemli bir fark tespit edilmedi.



**Şekil 4.8.** Deney ve uygulama gruplarının GPx enzim aktivitesi. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir <sup>a,b,c</sup>,  $p < 0.05$ )

#### 4.9. Agomelatin'in Malonaldehit Seviyesi Üzerine Etkileri

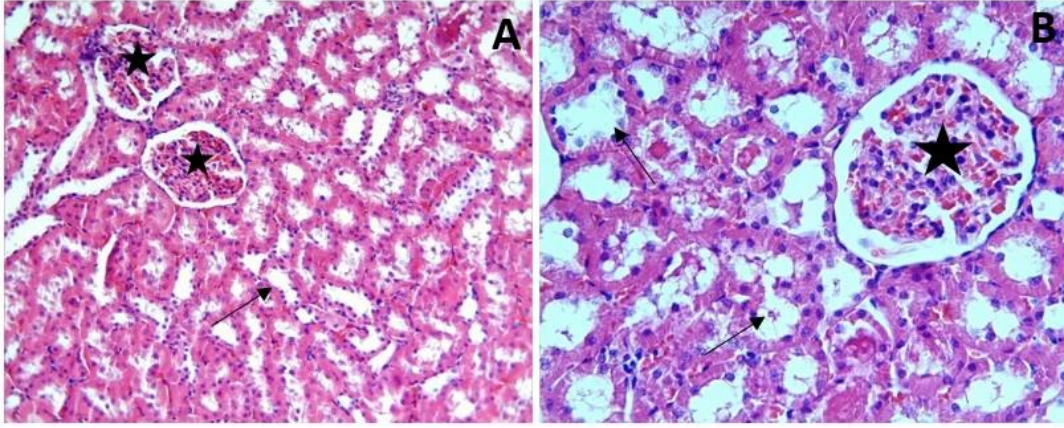
Agomelatin'in Malonaldehit (MDA) seviyesi üzerine etkileri Şekil 4.9.'de gösterilmiştir. I/R grubunda kontrol grubuna kıyasla MDA seviyelerinde artış görüldü ( $p < 0.05$ ). Agomelatin uygulama gruplarının MDA seviyesini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmekle beraber doz bağımlı farklılık Ago20 (U) ve Ago40 (U) grupları ve Ago20 (K) ve Ago40 (K) grupları arasında belirlendi. Buna göre Ago20 (U) ve Ago40 (U) gruplarının serum MDA seviyeleri Ago20 (K) ve Ago40 (K) gruplarının MDA seviyelerine oranla daha fazla bir azalma meydana getirdiği izlendi.



**Şekil 4.9.** Deney ve uygulama gruplarının MDA seviyeleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Nicel veriler ort.  $\pm$  SS olarak ifade edildi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir <sup>a,b,c,d</sup> $p < 0.05$ )

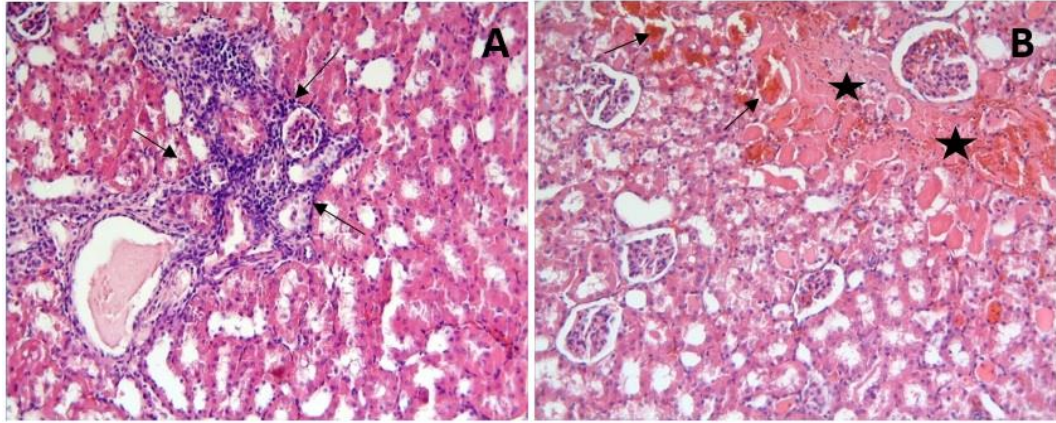
#### 4.10. Histopatolojik Analizler

Kontrol grubunun Hematoksilen-eozin boyama metodu uygulanan böbrek kesitlerinde kortekste yer alan glomerül ve tübül yapıları normal histolojik yapıda olduğu görüldü (Şekil 4.10).



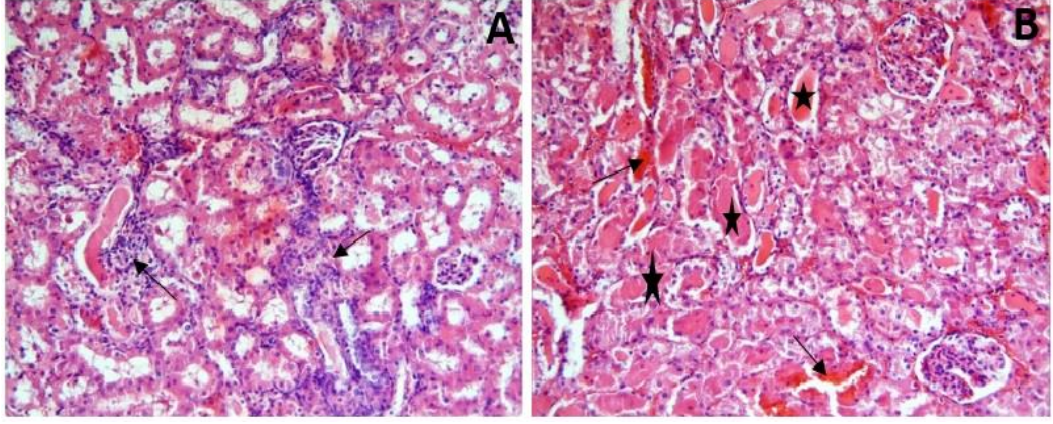
**Şekil 4.10.** Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda glomerul (yıldız) ve tübül yapıları (oklar) normal olarak izlenmekte (A) H-E; X20, (B) H-E; X40.

I/R grubundaki sıçanların böbrek doku kesitlerinde hematoksilin-eozin boyama metoduyla incelenen preparatlarda, kortekste intertübüler alanda belirgin infiltrasyon, hemoraji ve intratübüler cast oluşumu izlendi (Şekil 4.11). Histopatolojik hasar skoru kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta hasarın istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı belirlendi ( $p < 0.05$ ).



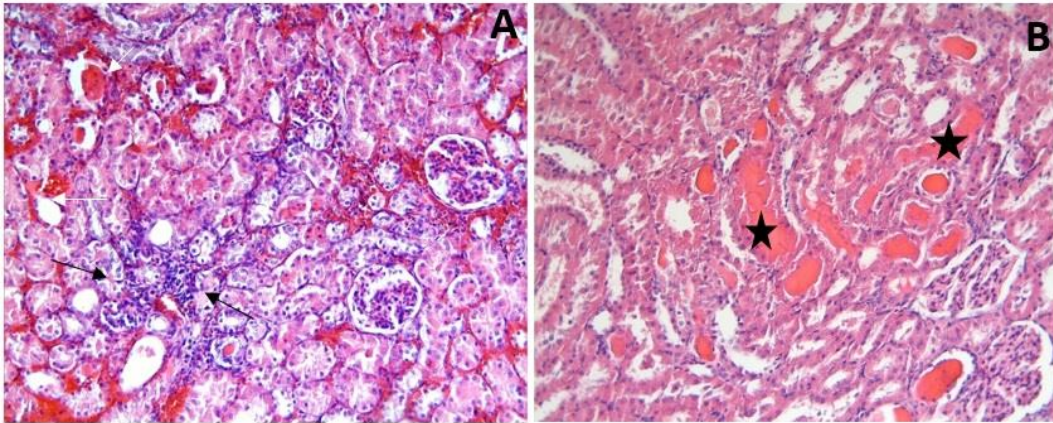
**Şekil 4.11.** I/R grubuna ait böbrek dokusunda infiltrasyon alanları (A;oklar), intertübüler hemoraji (oklar) ve intratübüler cast oluşumu (B; yıldız) H-E; X20.

Ago20 (K) grubunda yapılan histopatolojik incelemelerde, kortekste intertübüler alanda belirgin hemoraji, infiltrasyon ve intratübüler cast oluşumu izlendi (Şekil 4.12). Yapılan istatistiksel analiz sonucu Ago20 (K) grubundaki hasarın I/R grubu ile benzer olduğu, kontrol grubuna göre ise anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ ).



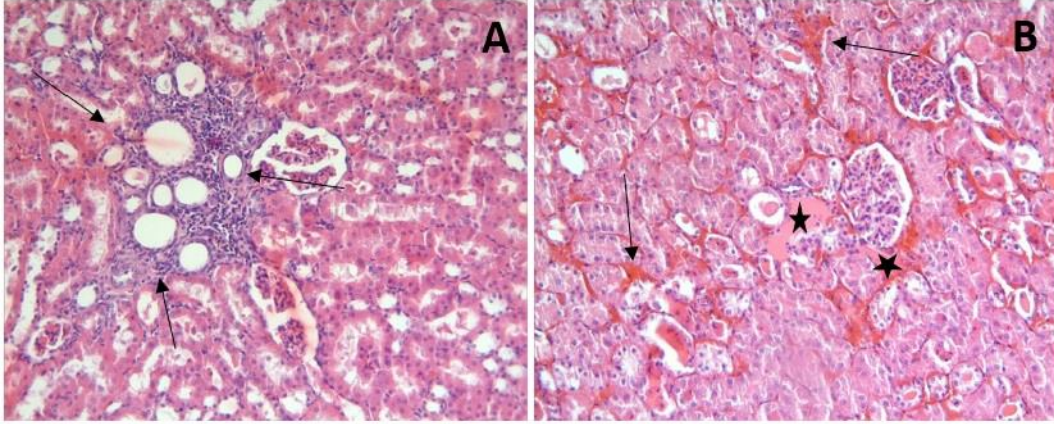
**Şekil 4.12.** Ago20 (K) grubuna ait böbrek dokusunda infiltrasyon alanları (A;oklar), intertübüler hemoraji (oklar) ve intratübüler cast oluşumu (B;yıldız) izlenmekte H-E; X20.

Ago40 (K) grubuna ait preparatlarda yapılan incelemelerde de (Şekil 4.13), Ago20 (K) grubunda olduğu gibi kortekste intertübüler alanda hemoraji, infiltrasyon ve intratübüler cast oluşumu belirlendi (Şekil 4).Bu grupta histopatolojik hasar skoru  $2.62 \pm 0.37$  olarak tespit edildi. Kontrol grubuna kıyasla hasarın bu grupta yüksek olduğu ( $p < 0.05$ ), meydana gelen bu hasarın I/R ve Ago20 (K) grubu benzer seviyede olduğu belirlendi.



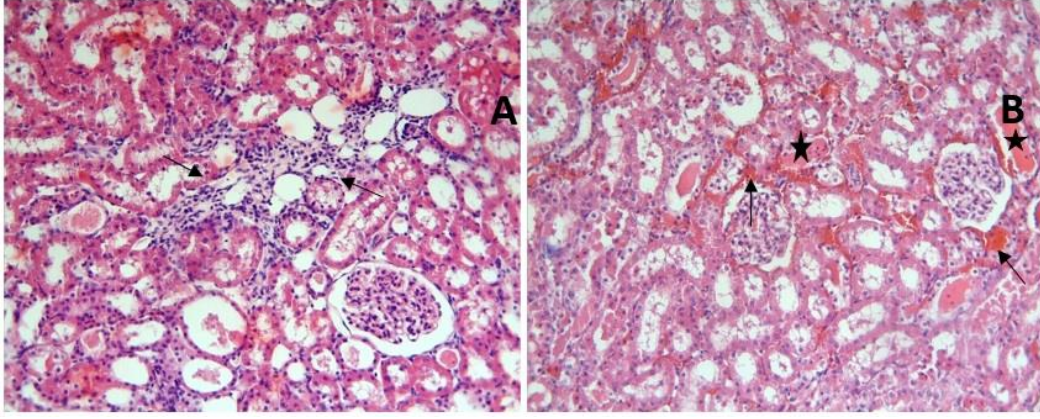
**Şekil 4.13.** Ago40 (K) grubuna ait böbrek dokusunda infiltrasyon alanları (A;oklar), intertübüler hemoraji (oklar) ve intratübüler cast oluşumu (B;yıldız) izlenmekte H-E; X20.

Ago20 (U) grubuna ait hematoxilen-eozin boyama metodu uygulanmış kesitlerde, böbrek korteksi içerisinde infiltrasyon alanları, intertübüler hemoraji ve intratübüler cast oluşumuydu (Şekil 4.14). Bu grupta meydana gelen hasar, istatistiksel olarak her ne kadar kontrol grubuna kıyasla yüksek olduğu belirlenmiş olsa da ( $p<0.05$ ), I/R grubunda meydana gelen hasardan daha düşük düzeydeydi ( $p<0.05$ ).



**Şekil 4.14.** Ago20 (U) grubuna ait böbrek dokusunda infiltrasyon alanları (A;oklar), intertübüler hemoraji (oklar) ve intratübüler cast oluşumu (B;yıldız) izlenmekte H-E; X20.

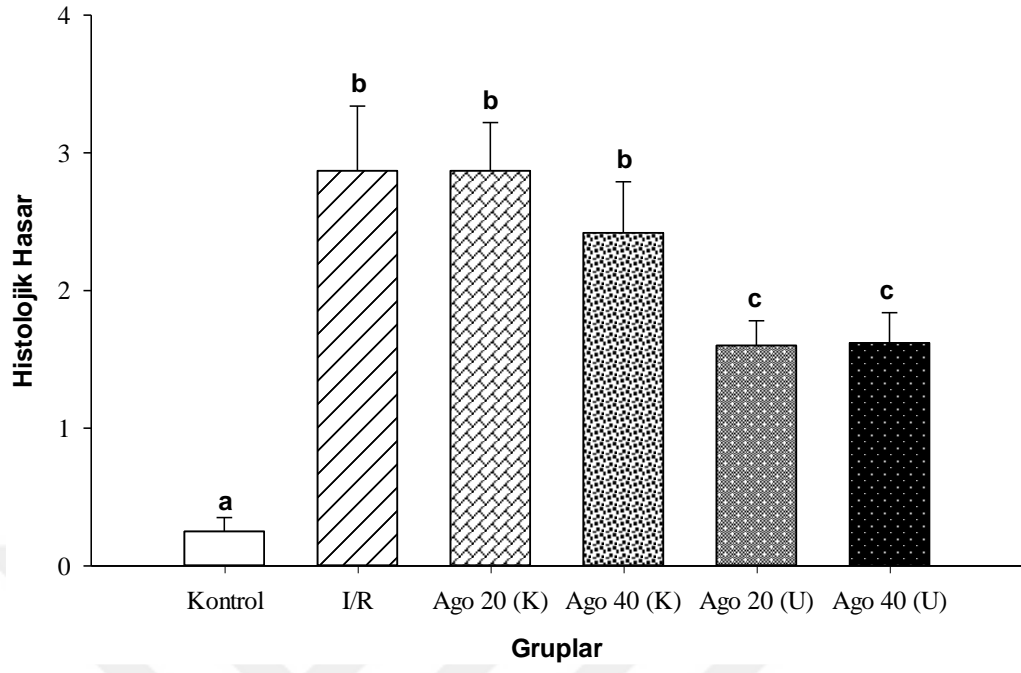
Ago40 (U) grubuna ait böbrek doku kesitlerinde de Ago20 (U) grubuna benzer şekilde böbrek korteksi içerisinde infiltrasyon alanları, intertübüler hemoraji ve intratübüler cast oluşumuydu (Şekil 4.15). Bu grupta meydana gelen hasar, istatistiksel olarak kontrol grubundan yüksek düzeydeydi ( $p<0.05$ ). Öte yandan Ago40 (U) grubundaki hasarın I/R grubunda meydana gelen hasardan daha düşük ( $p<0.05$ ), Ago20 (U) grubu ile de benzer olduğu belirlendi.



**Şekil 4.15.** Ago40 (U) grubuna ait böbrek dokusunda infiltrasyon alanları (A;oklar), intertübüler hemoraji (oklar) ve intratübüler cast oluşumu (B;yıldız) izlenmekte H-E; X20.

Tüm gruplara ait histopatolojik değerlendirme sonucu elde edilen hasar skoru Şekil 4.16'da sunulmuştur. Tüm bu bulgular hep birlikte değerlendirildiğinde sıçanlara uygulanan deneysel renal I/R modeline bağlı olarak böbrek dokusunda önemli düzeyde hasar meydana geldiği ( $p<0.05$ ) ve bu hasarın azaltılmasında kısa süreli uygulanan her iki konsantrasyondaki agomelatinin de (20 ve 40 mg/kg) etkili olmadığı öte yandan 7 gün süresince uygulanan agomelatininin her iki konsantrasyonunun da doz bağımsız olarak histopatolojik hasarı azalttığı tespit edildi ( $p<0.05$ ).





**Şekil 4.16.** Gruplardan histopatolojik değerlendirme sonucu elde edilen hasar skorlaması (a, b, c birbirinden farklı olup gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir,  $a, b, c p < 0.05$ ).

## 5.TARTIŞMA

### 5.1. Agomelatin'in Serum Üre ve Kreatinin Değerleri Üzerine Etkileri

Renal iskemi kardiyak arrest, karaciğer transplantasyonu, heminefrektomi (110), akut böbrek hasarı, myokard infarktüsü, travma, dolaşım arresti gibi bir dizi patoloji sonucu meydana gelir. İskemik böbrekte reperfüzyon ile birlikte metabolik bir dengesizlik oluşur ve şiddetli doku hipoksisine ek olarak mikrovasküler disfonksiyon gelişir (111). Akut böbrek hasarı tanısındaki öncelikli belirtiler serum kreatinin, daha sonra da serum üre değerlerindeki artıştır. Serum kreatinin seviyesinin serum üre seviyesine oranı 15:1 şeklindedir. Glomerüler filtrasyonun fonksiyonel olmadığı durumlarda serum üre değeri 10-15 mg/dl oranında artış gösterirken serum kreatinin seviyesi 1.0-1.5 mg/dl oranında artış gösterir (112). Üre ve kreatin azot metabolizmasının son ürünleridir. Üre, diyet ile alınan ve dokulardan gelen proteinlerin metabolik reaksiyonlarının ilk ürünüdür (113). Renal I/R uygulanan çalışmalarda da olduğu gibi (114-116) çalışmamızda da I/R uygulanan tüm gruplarda üre ve kreatin değerlerinde artış görülmüştür. Melatoninin antioksidan, anti-apoptik, anti-inflamatuvar etkilere sahip olması buna ek olarak bir immunomodulator gibi çalışarak renal fonksiyonlar üstünde koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir. Bu etkiler agomelatinin benzer potent etkilerinin olabileceğini işaret etmektedir (117). Sepsis kaynaklı akut böbrek hasarlı sıçanlarda agomelatinin iyileştirici etkisinin incelendiği bir çalışmada agomelatin 20 mg/kg i.p. uygulanan grubun serum üre ve kreatinin değerlerinde azalma olduğu bildirilmiştir (118). Başka bir çalışmada 40 mg/kg i.p. agomelatin uygulanan adriamisin ile nefrotoksisite oluşturulmuş sıçanlarda serum üre ve kreatinin seviyelerinin azaldığı görülmüştür (119). Sıçanlarda oluşturulan nefrotoksisitede agomelatin 40mg/kg p.o. kullanılan bir çalışmada agomelatinin serum üre ve kreatin değerlerini önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (120). Bizim çalışmamızda agomelatin uygulanan dört grupta da serum kreatinin ve üre seviyeleri I/R grubuna oranla literatürde yapılan çalışmalarla örtüşen bir azalma meydana getirmiştir. Ago20 (U) ve Ago40 (U) gruplarının serum üre ve kreatinin seviyelerinde, Ago20 (K) ve Ago40 (K) gruplarının serum üre ve kreatinin seviyelerine oranla önemli ölçüde azalma olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalara benzer bir şekilde çalışmamızda uygulanan agomelatinin 20 mg/kg ve 40mg/kg konsantrasyonlarının serum üre kreatinin seviyelerinde belirgin bir azalma sağladığı görülmüştür.

## 5.2. Agomelatin'in TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Seviyeleri Üzerine Etkileri

İskemiye yönelik inflamatuvar cevap endotelial hasar olara başlar ve iskemik dokulardan birçok güçlü madde salınımı ile devam eder (121). İskemiye takiben DNA hasarı ve lokal inflamatuvar yanıtların oluşması oksidatif strese yol açarak bu sitokinlerin salınımı ile hücre bütünlüğünün bozulmasına sonuçta da hücre ölümüne neden olur (122). Bu maddeler TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, gibi proinflamatuvar sitokinler olup inflamatuvar yanıtın hızlıca başlatılmasında ve devam ettirilmesinde önemlidirler (123).

TNF- $\alpha$  tanımlanması yirmi yıl öncesine dayanmaktadır ve keşfi, tümör nekroz faktör (TNFs) ailesinin tanımlanmasını da sağlamıştır. TNF- $\alpha$  hücre membranına TNFR1 ve TNFR2 reseptörleri ile sinyal yollar ve hücre çoğalması ve canlılığı, diferansiyasyonu ve apoptozu gibi birçok önemli olayı düzenler. Makrofajlar önemli birer TNF- $\alpha$  kaynaklarıdır ve TNF- $\alpha$ 'ya fazlasıyla duyarlıdır. TNF- $\alpha$ 'nın anormal üretimi romatoid artrit, ateroskleroz, sepsis, diyabet, obezite ve psöriyazis gibi birçok patogeneze ile ilişkilidir. Ayrıca çoğu inflamatuvar hastalıkta sitokin kaskadı düzenlemesinde önemli bir rolü olması ana regülatör özelliğini göstermekte ve birçok hastalıkta terapötik bir hedef olduğu bilinmektedir (124). Aynı zamanda TNF- $\alpha$  renal iskemi/reperfüzyon hasarında böbrekten salgılanan potansiyel bir proinflamatuvar sitokindir (125).

IL-1 bir dizi akut inflamatuvar sürecin merkez bir komponentidir (126). IL-1 $\beta$  ise otoinflamatuvar hastalıklara aracılık etme özelliğinden dolayı IL-1 ailesinin en çok çalışılan üyesidir. Kuşkusuz ki IL-1 $\beta$  enfeksiyon karşı önemli bir savunma mekanizması olarak gelişmiştir (127). Bu mekanizmada IL-1 $\beta$ , karaciğerdeki akut faz proteinleri olan C-reaktif proteinlerin salınımında ve endotel hücrelerinin aktivasyonunda, kemik iliğinden nötrofil stabilizasyonunu sağlamada, tüm lökositleri ve renal hücreleri de aktive ederek etki göstermektedir (128).

Renal I/R yapılan çalışmalar I/R gruplarının serum TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  değerlerinde inflamasyona anlamlı bir artış gözlemlendiğini belirtmiştir (129, 130, 131). Çalışmamızda da I/R grubunun serum TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  düzeylerinde önemli düzeyde bir artış gözlemlenmiştir.

Antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerine bakarak 30mg/kg agomelatinin oral uygulamasının antiinflamatuvar sitokinler üzerine etkisinin incelendiği diğer bir çalışmada ise agomelatinin serum TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  değerlerinde önemli ölçüde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (132). Agomelatinin karaciğer koruyucu etkilerinin incelendiği bir çalışmada proinflamatuvar sitokinlerden serum TNF- $\alpha$  seviyesinde belirgin bir azalma olduğu kaydedilmiştir (133). Kronik agomelatin tedavisinin

lipopolisakkaritlerle indüklenen sıçan beyin dokusunda oluşturduğu inflamatuvar yanıtın etkisinin incelendiği bir çalışmada agomelatinin IL-1 $\beta$  değerlerinde azalma sağladığı rapor edilmiştir (134). Bizim çalışmamızda I/R sonucu oluşan serum TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyelerindeki artış üzerine, kısa süreli ve uzun süreli Agomelatin uygulamasının gruplarda belirgin azalma sağladığı tespit edilmiş, özellikle her iki parametre için de uzun süreli 40mg/kg agomelatin uygulamasının literatürle örtüşerek daha etkili olduğu görülmüştür.

### **5.3. Agomelatinin SOD Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri**

Serbest radikallerin yol açtığı hasarı engellemek için biyolojik sistemlerde antioksidanlar olarak adlandırılan savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Bu sistem serbest radikallere bağlı oluşan hasarı onarıcı, süperoksit iyonlarını ortamdaki uzaklaştıran veya konsantrasyonunu azaltan, katalitik metal iyonlarını hücreden uzaklaştıran etkilere sahiptir (135). Aerobik organizmalarda üretilen birincil SOR süperoksittir ve bir enzim ailesinden olan süperoksit dismutaz (SOD) tarafından dismutasyona uğratarak hidrojen peroksit indirgenir (136). Ekstraselüler süperoksit radikalini indirgeyen tek antioksidan olması nedeniyle de SOD önemli etkileri olan bir savunma elemanıdır (102). Yapılan çalışmalar I/R uygulanan deney gruplarında SOD enzim aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir (115, 137, 138). Çalışmamızın I/R gruplarındaki SOD enzim aktivitesi bulguları literatürdeki bu sonuçlara benzer ölçümlenmiştir.

Agomelatinin antioksidan özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, agomelatinin çeşitli dozlarının (20-40mg/kg) SOD enzim aktivitesinde belirgin ölçüde bir artış sağladığı saptanmıştır (120). Parasetamol ile karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlarda agomelatinin SOD enzim aktivitesi üzerine artış yönünde bir etki gösterdiği saptanmıştır (133). Rat overlerinde oluşturulan I/R hasarında agomelatinin etkilerinin incelendiği bir diğer çalışmada agomelatin uygulanan grupta SOD enzim aktivitesinde artış görüldüğü belirtilmiştir (139). Çalışmamızda agomelatinin SOD enzim aktivitesi üzerinde bir artış sağladığı belirlenmiş olup literatür çalışmaları ile örtüşen sonuçlar bulunmuştur. Yine literatürdeki çalışmalarla benzer şekilde agomelatin doz bağımlı gruplarının SOD enzim aktivitesi üzerine doz ilişkili anlamlı bir değişime sebep olmadığı görülmüştür.

#### **5.4. Agomelatinin CAT Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi**

Antioksidan mekanizmanın birincil savunma hattını SOD, CAT oluşturur. CAT enzimi özellikle de ciddi oranlarda reaktif olan süperoksid radikalının indirgenmesinde vazgeçilmez iki antioksidan enzimden biridir (140). CAT yaygın bir antioksidan enzim olup tüm canlı dokularda oksijeni kullanır. SOD'un başlattığı detoksifikasyonu devam ettirerek demir veya manganezi kofaktör olarak kullanır ve hidrojen peroksidin su veya moleküler oksijene indirgenmesini sağlar (141). CAT, postiskemik renal hasara karşı dokuları koruyan önemli bir koruyucu enzimdir (142). Yapılan çalışmalar I/R'nin CAT enzim aktivitesini azalttığı yönündedir (143-145). Çalışmamızda I/R uygulanan grubun CAT enzim aktivitesinde literatüre benzer şekilde azalma olduğu görülmüştür.

Beyin dokusundaki oksidatif strese karşı agomelatin 25-50mg/kg dozlarının antioksidan etkisinin incelendiği bir çalışmada I/R grubuna kıyasla uygulama gruplarında CAT enzim aktivitesinde artış olduğu bildirilmiştir (146). Kraniotomi ile beyin hasarı oluşturulan sıçanlarda agomelatinin CAT enzim aktivitesini artırdığı bildirilmiştir (147). Parastamol ile toksisite oluşturulan sıçanlarda 40mg/kg agomelatinin koruyucu etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada agomelatinin CAT ve diğer antioksidan enzimlerin aktivitesini artırdığı görülmüştür (148). Çalışmamızda Ago40 (U) ve Ago20 (U) gruplarında CAT enzim aktivitesinde literatüre uygun olarak önemli miktarda artış sağlamakla beraber tüm uygulama gruplar CAT enzim aktivitesinde belirli bir artış sağlamıştır.

#### **5.5. Agomelatinin GSH Seviyesi Üzerine Etkisi**

GSH, hücreleri oksidatif stres hasarından ve elektrofilik ksenobiyotik toksisitesinden koruyan, redoks homeostazını destekleyen önemli bir enzimdir (149). Çeşitli patolojilerde oksidatif stres hasarının başlaması ile serumdaki seviyeleri artmaya başlar ve aktifleşir (150). GSH seviyesini değerlendirmek üzere yapılan çalışmalar GSH seviyelerinin I/R gruplarında azaldığını işaret etmektedir (151-153). Bizim çalışmamızda da I/R grubunun GSH seviyesini azaldığı literatüre benzer şekilde azalmıştır. Agomelatinin kronik serebral hipoperfüzyonda antioksidan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada agomelatin uygulamasının GSH seviyesini artırdığı belirlenmiştir (154). Oksidatif stres üzerine agomelatinin etkilerinin incelediği bir diğer çalışma GSH seviyesinin agomelatin uygulaması ile arttığı yönünde sonuçlanmıştır (155). Sıçan

böbreğinde oluşturulan oksidatif strese yönelik 12 hafta boyunca 25mg/kg agomelatin tedavisinin antioksidan enzimler üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada agomelatinin GSH seviyesinde bir artış sağladığı bildirilmiştir (156). Çalışmamızda agomelatin uygulanan tüm gruplarda GSH seviyesini literatüre benzer şekilde artırdığı saptanmıştır.

### **5.6. Agomelatinin GPx Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri**

Glutasyon peroksidaz (GPx), selenyum içeren, lipit ve hidrojen peroksidi indirgemede önemli rol oynayan bir enzimdir (157). GPx salınımı tüm hayvan ve kültürlü hücrelerde oksidatif strese karşı koruyucu olarak görev yapmaktadır (158). I/R yapılan çalışmalarda GPx enzim aktivitesinde belirgin oranlarda düşüş olduğu belirtilmiştir (159-161). Bizim çalışmamızda literatürle örtüşen sonuçlar elde edilmiş ve I/R yapılan grubun GPx enzim aktivitesinde önemli ölçüde bir azalma görülmüştür.

Agomelatinin antioksidan enzim aktivitesi üzerine etkilerininin araştırıldığı sıçan overinde oluşturulan iskemi/reperfüzyon sonucu oluşan oksidatif streste agomelatinin GPx enzim aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir (139). GPx enzim aktivitesi üzerine Agomelatin etkilerinin incelendiği çalışmalar literatürde kısıtlı olmakla birlikte çalışmamızda GPx enzim aktivitesinde agomelatin uygulama gruplarında önemli miktarda artış görülmüştür.

### **5.7. Agomelatinin MDA Seviyesi Üzerine Etkileri**

Serbest radikaller organizmada lipit peroksidasyonuna sebep olurlar ve malondialdehit (MDA) da bu süreçte oluşagelen poliansatüre yağ asitlerinin hücredeki peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan son ürünüdür. Serbest radikallerdeki bir artış aşırı MDA üretimine neden olur. MDA değeri genelde antioksidan kapasite ve oksidatif stres parametresi olarak bilinmektedir (162). Yapılan çalışmalar I/R uygulanan grupların MDA seviyelerinin belirgin oranda arttığına işaret etmektedir (163-166 ). Alzheimer hastalığı tedavisi üzerine yapılan bir hücre çalışmasında uygulanan agomelatinin oluşturulan oksidatif stres sonucu yükselen MDA seviyesini belirgin ölçüde azalttığı bildirilmiştir (167). Sıçan beyninde oluşturulan oksidatif hasarda 14 gün boyunca uygulanan 40mg/kg agomelatinin etkilerininin araştırıldığı bir çalışmada agomelatinin MDA seviyesini azalttığı belirlenmiştir (168). Bir başka çalışmada nefrotoksisite oluşturulan sıçanlarda 20-

40mg/kg agomelatin uygulanan grupların MDA seviyelerinin azaldığı rapor edilmiştir (120). Çalışmamızda literatüre uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. MDA seviyelerinde en belirgin azalma Ago40 (U) ve Ago20 (U) gruplarında görülmekle birlikte diğer agomelatin uygulama gruplarında da belirgin azalmalar saptanmıştır.

### **5.8. Agomelatinin Histolojik Hasar Üzerine Etkileri**

Dokuların histolojik değerlendirmesinde kontrol grubuna göre I/R grubunun korteksinde intertübüler alanda belirgin infiltrasyon, hemoraji ve intratübüler cast oluşumu izlendi. Agomelatin verilen gruplarda histopatolojik hasarın azaldığı görülmüş ve koruyuculuk gösterdiği saptanmıştır. Ago40 (U) ve Ago20 (U) grubundaki iyileşme diğer gruplardan belirgin ölçüde fazla olduğu belirlenmiştir. Tüm agomelatin uygulama gruplarında belirgin iyileşmeler görülmüş olup bu sonuç biyokimyasal sonuçlarımızı desteklemekte ve agomelatinin koruyucu etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Agomelatin bir sentetik melatonin analogu ve uzun yarılanma ömrü ile melatonerjik MT1-MT2 reseptörlerine melatoninden daha yüksek affiniteli agonistidir. Majör depresif bozukluk tedavisinde yaygın olarak kullanılan agomelatinin en önemli farmakolojik özelliği prokronobiyolojik etkisidir. Lokomotor aktivitenin sirkadiyen ritmini hızlıca resenkronize edebilen ve depresyonda bozulmuş olan uygun biyolojik aktivitelerin devamlılığını sağlayan bir antidepresandır. Melatonerjik sisteme ait bir antidepresan ilaç olarak mevcut farmakoterapide geniş ve önemli bir yer edinmiş olan agomelatinin, güncel antidepresan tedavilerinde bildirilen olumsuz yan etkilerin neredeyse hiçbirine sebep olmaması güvenli kullanım yönüyle yaygın ilgi görmektedir. Agomelatinin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin araştırılmaya başlanmasının nedeni olarak ana maddesi melatoninin bu yönden güçlü bir hormon olması düşünülebilir.

Çalışma bir melatonin reseptör agonisti ve serotonin reseptör antagonisti olan, antiinflamatuvar etkili potent bir antioksidan olan agomelatinin deneysel böbrek iskemisi/reperfüzyon hasarına karşı renoprotektif etkilerini ortaya koymuştur. Elde edilen veriler agomelatinin I/R hasarı ile artan inflamasyon markerlarının serumdaki seviyelerini azaltarak, antioksidan mekanizmayı enzim aktivasyonunu destekleyerek etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte deney gruplarında farklı doz ve kısa-uzun süreli agomelatin uygulamalarının yapılan ölçümlerde belirtilen markerlar üzerinde önemli bir fark oluşturacak etkinliğe sebep olduğu görülmüştür. Literatürdeki çalışmalar ile bizim çalışmamızın sonuçları agomelatinin koruyucu etkisini destekleme yönünden örtüşmektedir.

Agomelatinin bir sentetik olarak ana maddesinden birçok yönden daha önde olması, farmakodinamik ve farmakokinetik özellikleri açısından üstünlüğü doz ve zaman bağımlı farklı çalışmalar yapılarak antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri ile klinikte mevcut tedavilere katkı sağlayabileceği hatta ileriye taşıyabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında agomelatinin proliferatif ve palyatif etkilerinin araştırılacağı çalışmalar yapılarak literatürde daha fazla yer alması sağlanabilir.



## KAYNAKLAR

1. Brezis M, Rosen S, Silva P, Epstein HF. Renal ischemia: A new perspective. *Kidney Int* 1984; 26(4): 375-83.
2. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137: 1-53.
3. Kohansal P, Rajai N, Reza A, Dehpour AR, Rashidian A, Shafaroodi H. The protective effect of acute pantoprazole pretreatment on renal ischemia/reperfusion. *Fundam&Clin Pharmacl* 2019.
4. Lin F, Cordes K, Li L, Hood L, Couser WG, Shankland SJ, Igarashi P. Hematopoietic Stem Cells Contribute to the Regeneration of Renal Tubules after Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Mice. *JASN* 2013; 14(5): 1188-99.
5. Qiao X, Li RS, Li H, Zhu GZ, Huang XG, Shao S, Bai B. Intermedin protects against renal ischemia-reperfusion injury by inhibition of oxidative stress. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013; 304: F112–F119
6. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK. Kidney ischemia-reperfusion: Modulation of antioxidant defenses. *Mol Cell Biochem* 2000; 205:1–2, 1–11.
7. Güzel D, Tanyeli A. Renal İskemi-Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Klorojenik Asit (Cga) Kullanımının İncelenmesi: Deneysel Çalışma, *Sakarya Tıp Dergisi* 2018; 8(2): 410-5.
8. Jia P, Liu C, Wu N, Jia D, Sun Y. Agomelatine protects against myocardial ischemia reperfusion injury by inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening. *Am J Transl Res* 2018; 10(5): 1310-23.
9. Green B. Focus on agomelatine. *Curr Med Res and Opin* 2011; 27(4): 745-9.
10. Altunören O, Aydın G, Güngör Ö. *Böbrek Fizyopatolojisi* Editörleri: Arınsoy, T., Güngör, Ö., Koçyiğit, İ., Reaktif Yayınevi 2017.
11. Biga LM, Dawson S, Harwell A, Hopkins R, Kaufmann J, LeMaster M, Matern P, Marrison-Graham K, Quick D, Runyeon J. Chapter 25. The Urinary System, *Anatomy & Physiology, Open Oregon State, Oregon State University, 2019.*
12. Guyton AC, Hall JE. *Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji Çeviri* Editörleri: Yeğen BÇ, Alican İ, Solakoğlu Z, 12. Baskı, 2013.
13. Çakır ÖO, Yürük E, Binbay M. Üriner Sistem Taş Hastalığında Deneysel Modeller. *Endoüroloji Bülteni* 2014; 7, 13-17.

14. Lopez ML, Gomez RA. Development of Renal Arterioles. *JASN* 2011; 22(12): 2156–2165.
15. Pollak MR, Quaggin SE, Hoening MP, Dworkin LD. The Glomerulus: The Sphere of Influence. *CJASN* 2014; 9(8): 1461-9.
16. Enver O, Koyutürk L, Sapmaz T. Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Prostaglandin E1 (PGE1) Kullanımının İncelenmesi: Deneysel Çalışma. *Fırat Tıp Dergisi* 2004; 9:3 67-71.
17. Önal A, Astarıoğlu H, Örmen M, Atila K, Sarıoğlu S. Sıçandaki Renal İskemi-reperfüzyon Hasarında L-karnitinin Koruyucu Etkisi. *Ulus Travma Derg* 2004; 10(3):160-7
18. Kalogeris T, Baines PC, Krenz M, Korthuis RJ. Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury. *Int Rev Cell Mol Biol* 2012; 298: 229-317.
19. Malek M, Nematbakhsh M. Renal Ischemia/Reperfusion Injury; From Pathophysiology to Treatment. *J Renal Inj Prev* 2015; 4(2): 20-7.
20. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Ischemia/Reperfusion. *Compr Physiol* 2016; 6(7:1): 113–70.
21. Toledo-Pereyra LH, Toledo AH, Walsh J, Lopez-Neblina F. Molecular signaling pathways in ischemia/reperfusion. *Exp Clin Transplant* 2004; 2, 174-177.
22. Küçük A, Yücel M, Erkasap N, Tosun M, Köken T, Özkurt M, Erkasap S. The effects of PDE5 inhibitory drugs on renal ischemia/reperfusion injury in rats, *Mol Biol Rep* 2012; 39(10): 9775–82.
23. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest* 1984; 74(4): 1156-64.
24. Qiao X, Li RS, Li H, Zhu GZ, Huang XG, Shao S, Bai B. Intermedin protects against renal ischemia-reperfusion injury by inhibition of oxidative stress. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013; 304: F112–F119
25. Elahi MM, Kong YX, Matata BM. Oxidative stress as a mediator of cardiovascular disease. *Oxid Med Cell Longev* 2009; 2(5): 259-69.
26. Bozkurt Y, Fırat U, Atar M, Sancaktutar AA, Pembegül N, Söylemez H, Yüksel H, Alp H, Bodakçı MN, Hatipoğlu NK, Büyükbaş NK. The Protective Effect of Ellagic Acid Against Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Male Rats. *Kafkas Univ Vet Fak Dergi* 2012; 18(5): 823-8.
27. Rabadi MM, Ghaly T, Goligorksy MS, Ratliff BB. HMGB1 in renalischemic injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012; 303(6): 873-85.

28. Döşlüoğlu HH, Aktan ÖA, Yeğen C, Okboy N, Yalçın SA, Yalın R, Ercan S. The cytoprotective effects of verapamil and iloprost (ZK 36374) on ischemia/reperfusion injury of kidneys. *Transpl Int* 1993; 6, 138-42.
29. Carden DL, Grange DN. Pathophysiology of ischaemia–reperfusion injury. *J Pathol* 2000; 190(3): 255-66.
30. Weinberg JM. The cell biology of ischemic renal injury. *Kidney Int* 1991; 39(3): 476-500.
31. Chiao H, Kohda Y, McLeroy P, Craig L, Housini I, Star RA. Alpha-melanocyte-stimulating hormone protects against renal injury after ischemia in mice and rats. *J Clin Invest* 1997; 99(6): 1165–72.
32. Betteridge DJ. What is oxidative stress?, *Metabolism* 2000; 49(2): 3-8.
33. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative Stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011; 25(3): 287–99.
34. Gagne F. Oxidative Stress. *Biochemical Ecotoxicology Principles and Methods* 2014; 103-115.
35. El-Demerdash FM, Tousson EM, Kurzepa J, Habib SL. Xenobiotics, Oxidative Stress, and Antioxidants. *Oxid Med Cell Longev* 2018.
36. Saini HK, Xu YJ, Zhang M, Liu PP, Kirshenbaum LA, Dhalla SD. Role of tumour necrosis factor-alpha and other cytokines in ischemia-reperfusion-induced injury in the heart. *Exp Clin Cardiol* 2005; 10(4): 213–22.
37. Holzerova E, Prokisch H. Mitochondria: Much ado about nothing? How dangerous is reactive oxygen species production?. *Int J Biochem Cell Biol* 2015; 63, 16-20.
38. Şimşek F. Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Lipit Peroksidasyonu. *Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi* 1999; 8(1): 42.
39. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem* 2015; 30(1): 11–26.
40. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal* 2012; 24(5): 981-90.
41. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. *Physiol Rev* 2014; 94(3): 909–50.
42. Özelçi Kavas G. Reaktif Oksijen Metabolitlerine Fizyopatolojik Yaklaşım. *Ankara Tıp Mecmuası* 1994; 47: 579-92.
43. Muller FL, Liu Y, Van Remmen H. Complex III Releases Superoxide to Both Sides of the Inner Mitochondrial Membrane. *J Biol Chem* 2004; 279: 49064-49073.

44. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 2003; 552(2): 335–44.
45. Finkel T, Holbrook N. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239–47.
46. Dizdaroğlu M, Jaruga P, Birincioğlu M, Rodriguez H. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic Biol Med* 2002; 32(11): 1102-15.
47. Stadtman ER, Berlett BS. Reactive Oxygen-Mediated Protein Oxidation in Aging and Disease. *Drug Metab Rev* 1998; 30(2): 225-43.
48. El Beltagi H, Mohamed H. Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation and Antioxidative Defense Mechanism. *Not Bot Horti Agrobo* 2013; 41(1): 44-57.
49. Mylonas C, Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage. *In Vivo* 1999; 13(3): 295-309.
50. Rizzo AM, Berselli S, Zava S, Montorfano G, Negroni M, Corsetto P, Berra B. Endogenous Antioxidants and Radical Scavengers. *Adv Exp Med Biol* 2010; 698, 52-67.
51. Ozougwu JC. The Role of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Oxidative Stress. *Int J Res Pharm Biosci* 2016; 3(6): 1-8.
52. Banerjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti S. Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Mol Cell Biochem* 2003; 253(1–2), 307–12.
53. Kunwar A, Priyadarsini KI. Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *J. Med Allied Sci* 2011; 1(2): 53-60.
54. Birben E, Şahiner ÜM, Saçkesen C, Erzurum S, Kalaycı Ö. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J* 2012; 5(1): 9-19.
55. Jeeva JS, Sunitha J, Ananthalakshmi R, Rajkumari S, Ramesh M, Krishnan R. Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. *J Pharm Bioallied Sci* 2015; 7(2): 331-33.
56. Kawaguchi T, Noji S, Uda T, Nakashima Y, Takeyasu A, Kawai Y, Takagi H, Tohyama M, Taniguchi N. A monoclonal antibody against COOH-terminal peptide of human liver manganese superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1989; 264: 5762-67.
57. Ramsarma T. Many faces of superoxide dismutase, originally known as erythrocuprein. *Current Science* 2007; 92(2): 184-191.
58. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001; 54: 176-86.
59. Ścibior D, Czczot H. Katalaza–budowa, właściwości, funkcje. *Postepy Hig Med Dosw* 2006; 60: 170-80.

60. Duthie GG, Wahle KW, James WPT. Oxidants, Antioxidants and Cardiovascular Disease. *Nutr Res Rev* 1989; 2(1): 51-62.
61. Mulgund A, Doshi S, Agarwal A. The Role of Oxidative Stress in Endometriosis, Handbook of Fertility Nutrition, Diet, Lifestyle and Reproductive Health. Editör: Watson RR. *Chapter 25* 2015; 273-81.
62. Pandey KB, Rizv SI. Markers of Oxidative Stress in Erythrocytes and Plasma During Aging in Humans. *Oxid Med Cell Longev* 2010; 3(1): 2-12.
63. Mizoguchi A. Animal Models of Inflammatory Bowel Disease. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2012; 105: 263-320.
64. Couto N, Wood J, Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homoeostasis network. *Free Radic Biol Med* 2016; 95:27-42.
65. Spectrophotometric Assay for Glutathione Reductase, Product No. FR 19, *Oxford Biomed Res*, P.O. Box 522 Oxford, MI 48371 U.S.A.
66. Mironzcuk Chodakowska M, Witkowska AM, Zujko ME. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Adv Med Sci* 2018; 63(1): 68-78.
67. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovanni C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem* 2015; 16(10): 577-86.
68. Kennaway DC. Melatonin research in mice: a review. *Chronobiol Int* 2019; 14: 1-17.
69. Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant Properties of Melatonin-An Emerging Mystery. *Biochem Pharm* 1998; 56: 1265-72.
70. Kumar AN, Aruna P, Naidu JN, Kumar R, Kumar Srivastava A. Review of Concepts and Controversies of Uric Acid as Antioxidant and Pro-Oxidant. *Arch Med Rev J* 2015; 24(1): 19-40.
71. Ziberna L, Martelanc M, Franko M, Passamonti S. Bilirubin is an Endogenous Antioxidant in Human Vascular Endothelial Cells. *Sci Rep* 2016; 6: 29240.
72. Taverna M, Marie AL, Mira JP, Guidet B. Specific antioxidant properties of human serum albumin. *Ann Intensive Care* 2013; 3: 4.
73. Roche M, Rondeau P, Singh RN, Tarnus E, Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Letters* 2008; 582, 1783-7.
74. Gürkan AS, Bozdağ Dünder O. Koenzim Q10. *Ankara Ecz. Fak. Derg* 2005; 34(2): 129-54.
75. Baraboş VA, Shestakova EN. Selenium: the biological role and antioxidant activity. *Ukr Biokhim Zh* 2004;76 (1): 23-32.

76. Kono S. Chapter Six - Aceruloplasminemia: An Update. *Int Rev Neurobiol* 2013; 110: 125-51.
77. Radojevic SA, Ercegovac MP, Matic M, Simic D, Radovanovic S, Simic T. Chapter Four - Novel Biomarkers of Heart Failure. *Adv Clin Chem* 2017; 79: 93-152.
78. Van Campenhout A, Van Campenhout CM, Lagrou AR, Y-Keenoy BM. Transferrin Modifications and Lipid Peroxidation: Implications in Diabetes Mellitus. *Free Rad Res* 2009; 37(10): 1069-77.
79. Chauhan A, Chauhan V, Chauhan W, Brown TW, Cohen, I. Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin - the antioxidant proteins. *Life Sci* 2004; 75(21): 2539-49.
80. Bouayed J, Bohn T. Exogenous antioxidants-Double-edged swords in cellular redox state Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid Med Cell Longev* 2010; 3(4): 228-37.
81. Romero AC, Hernandez EGO, Ceron TF, Chavez AA. The Exogenous Antioxidants. Editör: Morales-González, J. A. *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants* 2012; 33-57.
82. De Bodinat C, Guardiola-Lemaitre B, Mocaer E, Renard P, Muniz C, Millan MJ. Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 628-42.
83. Perumal P, Srinivasan V, Cardinali DP, Monti JM. Could agomelatine be the ideal antidepressant?. *Expert Rev. Neurother* 2006; 6(11): 1595–1608.
84. Bogaards JJP, Hissink EM, Briggs M, Weaver R, Jochemsen R, Jackson P, Bertrand M, Van Bladeren J. Prediction of interindividual variation in drug plasma levels in vivo from individual enzyme kinetic data and physiologically based pharmacokinetic modeling. *Eur J Pharm Sci* 2000; 12(2): 117-24.
85. European Medicines Agency, Evaluation of Medicines for Human Use. London, 20 November 2008, Doc.Ref.: EMEA/655251/2008. Chmp Assessment Report For Valdoxan International Nonproprietary Name: agomelatine Procedure No. EMEA/H/C/000915.
86. Yous S, Andrieux J, Howell HE, Morgan JP, Renard B, Pfeiffer D, Leiseur B, Lemaitre G. Novel naphthalenic ligands with high affinity for the melatonin receptor. *J Med. Chem* 1992; 35(8): 1484-86.
87. Rouillon F. Efficacy and tolerance profile of agomelatine and practical use in depressed patients. *Int. Clin. Psychopharmacol* 2006; 21(1): 31-5.

88. Carman JS, Robert M, Buswell R, Goodwin F. Negative Effects of Melatonin on Depression. *Am J Psychiatry* 1976; 133: 10.
89. Ackermann K, Stehle JH. Melatonin Synthesis in the Human Pineal Gland: Advantages, Implications, and Difficulties. *Chronobiol Int* 2009; 23(1-2): 369-79.
90. Yazıcı C, Köse K. Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü Melatonin: The Antioxidant Power of Darkness. *E. Ü. J of Health Sci* 2004; 13(2): 56-65.
91. Emet M, Özcan H, Özel L, Yayla M, Halıcı Z, Hacımüftüoğlu A. A Review of Melatonin, Its Receptors and Drugs. *Eurasian J Med* 2016; 48(2): 135-41.
92. Salt A, Çenesiz M, Çenesiz S. Melatonin, Etkileri ve Kullanım Alanları. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg* 2017; 28(1): 7-12.
93. Catena-Dell'Osso M, Marazziti D, Rotella F, Bellantuono C. Emerging Targets for the Pharmacological Treatment of Depression: Focus on Melatonergic System. *Curr Med Chem* 2012; 19(3): 428-37.
94. Sansone RA, Sansone LA. Agomelatine: A Novel Antidepressant. *Innov Clin Neurosci* 2011; 8(11): 10-4.
95. Nadar JS, Kale PP, Kadu KP, Prabhavalkar K, Dhangar R. Potentiation of Antidepressant Effects of Agomelatine and Bupropion by Hesperidin in Mice. *Neurol Res Int* 2018; V: 2018.
96. Akdeniz F. Agomelatin: Yeni Antidepresan İlaç ve Yeni Bulgular. *J Mood Disord* 2012; 2(1): 14-8.
97. Cerit C, Yaluğ İ, Akpınar E, Talas A, Tufan AE, Özten E. Agomelatin Depresyon Tedavisine Ne Getiriyor? Güncel Bir Gözden Geçirme. *N Symp J* 2013; 51(3): 123-131.
98. Iană O, Olinescu R, Bădescu I. Melatonin involvement in oxidative processes. *Endocrinologie* 1991; 29(3-4): 147-53.
99. Reiter J, Tan D, Osuna C, Gitto E. Actions of Melatonin in the Reduction of Oxidative Stress. *J Biomed Sci* 2000; 7: 444-58.
100. Arendt J. Melatonin. *Clin Endocrinol* 1988; 29(2): 205-29.
101. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B. Melatonin: A potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J* 1993; 1: 57-60.
102. Sun Y, Oberley LW, Li YA. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide, Dismutase. *Clin. Chem* 1988; 34(3): 497-500.
103. Aebi H. Methods of Enzymatic Analysis (Second Edition). Editör: Bergmeyer, H. U. *Catalase* 1974; 2: 673-84.

104. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Clin Lab Med* 1967; 70(1): 158-69.
105. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978; 86(1): 271-78.
106. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 1968; 25(1): 192-205.
107. Ellman G, Lysko H. A precise method for the determination of whole blood and plasma sulfhydryl groups. *Anal Biochem* 1979; 93: 98-102.
108. Dalle Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzania A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2003; 329(1-2): 23-38.
109. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farri AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-75.
110. Conesa EL, Valero F, Nadal JC, Fenoy FJ, Lopez B, Arregui B, Salom MG. N-acetyl-l-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol* 2001; 281: 730-7.
111. Eltzsching HE, Eckle T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nat. Med* 2011; 17:11.
112. Ögütmen MB. Akut Böbrek Yetmezliği. *GKDA Derg* 2011; 17(2): 25-33.
113. Hosten AO. BUN and Creatinine. Editörler: Walker, H.K., Hall, W. D., Hurst, J. W. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition* 1990; 874-8.
114. Moeini M, Nematbakhsh M, Fazilati M, Talebi A, Pilehvarian AA, Azarkish F, Eshraghi-Jazi F, Pezeshki Z. Protective Role of Recombinant Human Erythropoietin in Kidney and Lung Injury Following Renal Bilateral Ischemia-Reperfusion in Rat Model. *Int J Prev Med* 2013; 4(6): 648-55.
115. Yang S, Wei-Ping C, Ling P. Effects of propofol on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Exp Ther Med* 2013; (6:5): 1177-83.
116. Zhu Y, Blum M, Hoff U, Wesser T, Fechner M, Westphal C, Guergen D, Catar RA, Philippe A, Wu K, Bubalo G, Rothe M, Weldon SM, Dragun D, Schunck WH. Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Soluble Epoxide Hydrolase-Deficient Mice. *PLoS ONE* 2016; 11(1): e0145645.
117. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Spence DW, Kato H, Cardinali DP. Melatonin in septic shock: Some recent concepts. *J Crit Care* 2010; 25(1): 656e1-656e6.



118. Başol N, Erbaş O, Çavuşoğlu T, Meral A, Ateş U. Beneficial effects of agomelatine in experimental model of sepsis-related acute kidney injury. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2016; 22:2.
119. Aygün H, Gül SS. Protective effect of melatonin and agomelatine on adriamycin-induced nephrotoxicity in rat model: a renal scintigraphy and biochemical study. *Bratisl Lek Listy* 2019; 120(2): 113-8.
120. Karaman A, Diyarbakir B, Durur-Subasi I, Köse D, Özbek-Bilgin A, Topcu A, Gündoğdu C, Durur-Karakaya A, Bayraktutan Z, Alper F. A novel approach to contrast-induced nephrotoxicity: the melatonergic agent agomelatine. *Br J Radiol* 2016; 89:1061, 20150716.
121. Coşkun Yavuz Y, Sevinç C, Tokgöz B. Akut Böbrek Yetmezliği. Editörler: Prof. Dr. Arınsoy T, Doç. Dr. Güngör Ö, Doç. Dr. Koçyiğit İ. Böbrek Fizyopatolojisi 2017.
122. Wu MY, Yiang GT, Liao WT, Tsai APY, Cheng YL, Cheng PW, Li CY, Li CJ. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cell Physiol. Biochem* 2018; 46: 1650-67.
123. Siriussawakul A, Zayk A, Lang JD. Role of nitric oxide in hepatic ischemia-reperfusion injury. *World J Gastroenterol* 2010; 16(48): 6079-86.
124. Parameswaran N, Patial S. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Signaling in Macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2010; 20(2): 87–103.
125. Donnahoo KK, Shames BD, Harken AH, Meldrum DR. Review article: the role of tumor necrosis factor in renal ischemia-reperfusion injury. *J Urol* 1999; 162(1): 196-203.
126. Haq M, Norman J, Saba SR, Ramirez G, Rabb H. Role of IL-1 in renal ischemia injury. *JASN* 1998; 9(4): 614-9.
127. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev* 2018; 281(1): 8-27.
128. Anders HJ. Of Inflammasomes and Alarmins: IL-1 $\beta$  and IL-1 $\alpha$  in Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27(9): 2564-75.
129. Campanholle G, Landgraf RG, Gonçalves GM, Paiva VN, Martins JO, Wang PH, Monteiro RM, Silva RC, Cenedeze MA, Teixeira VP, Reis MA, Pacheco-Silva A, Jancar S, Camara NO. Lung inflammation is induced by renal ischemia and reperfusion injury as part of the systemic inflammatory syndrome. *Inflamm Res* 2010; 59(10): 861-9.
130. Chuan-Bao C, Longshan L, Jian Z, Xiao-Ping W, Ming H, Xing-Yuan J, Xiao-Shun H, Xiao-Peng Y. Up-Regulation of HMGB1 Exacerbates Renal Ischemia-Reperfusion

Injury by Stimulating Inflammatory and Immune Responses through the TLR4 Signaling Pathway in Mice. *Cell Physiol Biochem* 2017; 41(6): 2447-60.

131. Zhigang Z, Zhongzhi T, Wenkai Z, Jie L, Bo L. Magnesium isoglycyrrhizinate protects against renal-ischemia-reperfusion injury in a rat model via anti-inflammation, anti-oxidation and anti-apoptosis. *Mol Med Rep* 2017; 16(3): 3627-33.

132. Carvalho A, Tondato V, Iamnhuk L, Gomiero F, Petri G, Delgado P, Alves B, Fonseca F, Feder D. Agomelatine Increases Muscle Strength And Reduces The Expression Of Inflammatory Cytokines In mdx Dystrophic Mice (P7.097). *Am Ac of Neurol* 2014; 82:10.

133. Karakuş E, Halıcı Z, Albayrak A, Polat B, Bayır Y, Kiki I, Çadırcı E, Topçu A, Aksak S. Agomelatine: an antidepressant with new potent hepatoprotective effects on paracetamol-induced liver damage in rats. *Hum Exp Toxicol* 2013; 32(8): 846-57.

134. Molteni R, Macchi F, Zecchillo C, Dell'agli M, Colombo E, Calabrese F, Guidotti G, Racagni G, Riva MA. Modulation of the inflammatory response in rats chronically treated with the antidepressant agomelatine. *Eur Neuropsychopharmacol* 2013; 23(11):1645-55.

135. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *J Clin Exp Invest* 2015; 6(3): 331-6

136. Zhan CD, Sindhu RK, Pang J, Ehdaie A, Vaziri ND. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in the spontaneously hypertensive rat kidney: effect of antioxidant-rich diet. *J Hypertens* 2004; 22: 2025-33.

137. Yanarateş O, Güven A, Sızlan A, Uysal B, Akgül O, Atım A, Özcan A, Korkmaz A, Kurt E. Ameliorative Effects of Proanthocyanidin on Renal Ischemia/Reperfusion Injury. *Ren Fail* 2008; 30(9): 931-8.

138. Ye S, Zhu Y, Ming Y, She X, Liu H, Ye Q. Glycyrrhizin protects mice against renal ischemia-reperfusion injury through inhibition of apoptosis and inflammation by downregulating p38 mitogen-activated protein kinase signaling. *Exp Ther Med* 2004; 7(5): 1247-52.

139. Yapca ÖE, Börekçi B, Turan MI, Gulapoğlu M. The Effect of Agomelatine on Oxidative Stress Induced with Ischemia/Reperfusion in Rat Ovaries. *Adv Clin Exp Med* 2014; 23(5): 715-21.

140. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *J Med* 2018; 54(4): 287-93.
141. Marklund SL. Extracellular superoxide dismutase and other superoxide dismutase isoenzymes in tissues from nine mammalian species. *Biochem J* 222:1984; 649-55.
142. Buys-Gonçalves GF, Abreu LAS, Gregorio BM, Sampaio FJB, Pereiro-Sampaio MA, De Souza DB. Antioxidants as Renoprotective Agents for Ischemia during Partial Nephrectomy. *Biomed Res Int* 2019, 8575398.
143. Mard SA, Akbari G, Mansouri E, Parsanahad M. Renoprotective effect of crocin following liver ischemia/reperfusion injury in Wistar rats. *Iran J Basic Med Sci* 2017; 20(10): 1172-77.
144. Wang H, Li YY, Qiu LY, Yan YF, Liao ZP, Chen HP. Involvement of DJ-1 in ischemic preconditioning-induced delayed cardioprotection in vivo. *Mol Med Rep* 2017; 15: 995-1001.
145. Farahini H, Ajami M, Razazd JM, Azad N, Soleimani M, Ayatollahi SS, Abotaleb N, Peyrovief H, PazokiToroudi H. Nitric Oxide is Necessary for Diazoxide Protection Against Ischemic Injury in Skeletal Muscle. *Iran J Pharm Res* 2012; 11(1): 375-81.
146. Aguiar CCT, Almeida AB, Araújo PVP, Vasconcelos GS, Chaves EMC, Do Vale OC, Macêdo DS, Leal LKAM, De Barros GS, Vasconcelos SMM. Effects of Agomelatine on Oxidative Stress in the Brain of Mice After Chemically Induced Seizures. *Cell Mol Neurobiol* 2013; 33(6): 825-35.
147. Lad KA, Maheshwari A, Saxena B. Repositioning of an anti-depressant drug, agomelatine as therapy for brain injury induced by craniotomy. *Drug Discov Ther* 2019; 13(4): 89-197.
148. Hassan WA, Rahman ZA. Possible Effects of Agomelatine against Paracetamol Induced Toxicity in Rats. *Int J Sci Res Public* 2016; 6(3).
149. Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol Aspects Med* 2009; 30(1-2): 1-12.
150. Njälsson R, Norgren S. Physiological and pathological aspects of GSH metabolism. Norgren. *Acta Pædiatr* 2005; 94(2): 132-7.
151. Curello S, Ceconi C, Bigoli C, Ferrari R, Albertini A, Guarnieri C. Changes in the cardiac glutathione status after ischemia and reperfusion. *Experientia* 1985; 41(1): 42-3.

152. Sewerynek E, Reiter RJ, Melchiorri D, Ortiz GG, Lewinski A. Oxidative damage in the liver induced by ischemia-reperfusion: protection by melatonin. *Hepato-gastroenterology* 1996; 43(10): 898-905.
153. Grisham MB, Hernandez LA, Granger DN. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. *Am. J. Physiol* 1986; 251(4): 567-74.
154. Gupta S, Singh P, Mohan Sharma B, Sharma B. Neuroprotective Effects of Agomelatine and Vinpocetine Against Chronic Cerebral Hypoperfusion Induced Vascular Dementia. *Curr Neurovasc Res* 2015; 12(3): 240-52.
155. Akpınar A, Uğuz CA, Nazıroğlu M. Agomelatine and Duloxetine Synergistically Modulates Apoptotic Pathway by Inhibiting Oxidative Stress Triggered Intracellular Calcium Entry in Neuronal PC12 Cells: Role of TRPM2 and Voltage-Gated Calcium Channels. *J Membr Biol* 2014; 247(5): 451-59.
156. Yılmaz İ, Demiryılmaz İ, Turan Mİ, Süleyman B, Turan İS, Altuner D, Alp HH, Süleyman H. The Protective Effect of Melatonin and Agomelatin against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity and Oxidative Stress in the Rat Kidney. *Lat Am J Pharm* 2013; 32(8): 1231-5.
157. Espinoza SE, Guo H, Fedarko N, DeZern A, Fried LP, Xue QL, Leng S, Beamer B, Walston JD. Glutathione Peroxidase Enzyme Activity in Aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2018; 63(5): 505-9.
158. Day BJ. Catalase and glutathione peroxidase mimics. *Biochem Pharmacol* 2009; 77(3): 285-96.
159. Öztürk H, Terzi EH, Özgen U, Duran A, Öztürk H. Lithospermic Acid and Ischemia/Reperfusion Injury of the Rat Small Intestine Prevention. *Adv Clin Exp Med*. 2012; 21(4): 433-39.
160. Baş H, Kara Ö, Kara K, Pandır D. Protective effect of vardenafil on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *Turkish J Med Sci* 2013;43: 684-9.
161. Uma B, Nazam AM. Protective effect of aqueous extract of Embelia ribes Burm fruits in middle cerebral artery occlusion-induced focal cerebral ischemia in rats. *Indian J Pharmacol* 2008; 40(5): 215-20.
162. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek* 2004; 57(9-10): 453-5.
163. Yüksel M, Yıldar M, Başbuğ M, Çavdar F, Çıkman Ö, Akşit H, Aslan F, Akşit D. Does protocatechuic acid, a natural antioxidant, reduce renal ischemia reperfusion injury in rats?. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2017; 23(1): 1-6.

164. Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia–reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2000; 47:3, 446-56.
165. Tselepidis S, Papazoglou L, Dessiris A, Vlemas I, Papageorgiou G, Stournara A, Minas A. Liver Injury after Ischemia and Reperfusion: The Role of Oxygen Free Radicals. *Mil Med* 2004; 169, 7-531.
166. İngeç M, İsaoglu U, Yılmaz M, Çalık M, Polat B, Alp HH, Kurt A, Gündoğdu C, Süleyman H. Prevention Of Ischemia-Reperfusion Injury In Rat Ovarian Tissue With The On-Off Method. *J Physiol Pharmacol* 2011; 62(5): 575-82.
167. Yao K, Zhao YF, Zu H. Melatonin receptor stimulation by agomelatine prevents A $\beta$ -induced tau phosphorylation and oxidative damage in PC12 cells. *Drug Des Devel Ther* 2019; 13, 387-396.
168. Ali AA, Rahman ZA, Alwakeel AI, Masoud MA, Elansary AK. Comparative Study on the Activity of Agomelatine and/or Curcumin against Development of Depression in Rats. *Acta Psychopathol* 2016; 2:33.

## EKLER

### EK.1. Etik Kurul Onayı



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 22.03.2019  
Toplantı Yeri : Tıp. Fak. Toplantı Salonu-Malatya  
Araştırma Protokol no.su : 2019/A-11  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Sprague Dawley  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D  Farketmez  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 60 adet  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 6-8 aylık 300-400g

Doç. Dr. Suat TEKİN'in yürütücüsü olduğu; "**Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Agomelatin'in Etkilerinin Araştırılması**" isimli 2019/A-11 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmesi şartıyla çalışmanın yapılmasının uygun olduğuna; **oy birliği ile karar verildi.**

Prof. Dr. Davut ÖZBAĞ  
Başkan

Prof. Dr. Tayfun GÜLDÜR  
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Metin ATAMBAY  
Üye

Prof. Dr. M. Çağatay TAŞKAPAN  
Üye

Prof. Dr. Başak KAYHAN  
Üye  
KATILMADI

Doç. Dr. Şengül YÜKSEL  
Üye

Vet.Hek. Engin KORKMAZ  
Üye

Akın ÖZ  
Sivil Üye  
KATILMADI

Av. M. Umut YALÇIN  
Sivil Üye  
KATILMADI