



**RATLARDAKİ RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARINDA NARİNGENİNİN KORUYUCU ETKİSİ**

Leyla ŞAHİN BÜYÜKKORKMAZ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Seda TAŞDEMİR**

Yüksek Lisans Tezi – 2019

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDAKİ RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA
NARİNGENİNİN KORUYUCU ETKİSİ

Leyla ŞAHİN BÜYÜKKORKMAZ

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Seda TAŞDEMİR

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2017-702 proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA

2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Leyla ŞAHİN BÜYÜKKORKMAZ'ın " Ratlardaki Renal İskemi-Reperfüzyon Hasarında Naringenin Koruyucu Etkisi "** konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18/07/2019



Prof. Dr. Hacı Ahmet ACET
İnönü Üniversitesi
Jüri Başkanı



Doç. Dr. Seda TAŞDEMİR
İnönü Üniversitesi
Danışman
Üye



Prof. Dr. Engin ŞAHNA
Fırat Üniversitesi
Üye

ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../2019 tarih ve 2019/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLOLAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Böbreğin Anatomisi	3
2.2. Böbreğin Kanlanması.....	5
2.3. Böbrek Fizyolojisi	6
2.4. Böbreğin Görevleri.....	7
2.4.1. Yabancı Kimyasal Maddelerin ve Metabolik yıkım Ürünlerinin, İlaçların ve Hormon Metabolitlerinin Atılması.....	7
2.4.2. Su ve Elektrolit Dengesinin Düzenlenmesi.....	7
2.4.3. Arteryal Basıncın Düzenlenmesi.....	7
2.4.4. Asit Baz Dengesinin Düzenlenmesi	8
2.4.5. Eritrosit Yapımının Düzenlenmesi	8
2.4.6. 1,25-Dihidroksi Vitamin D ₃ Yapımının Düzenlenmesi.....	8
2.4.7. Glikoz Sentezi	8
2.5. İskemi-Reperfüzyon Hasarı.....	8
2.5.1. Serbest Radikaller	9
2.5.2. Polimorf Nüveli Lökositler	9
2.5.3. Komplemanın Rolü	10
2.5.4. Endotel Hücreleri	10
2.6. Serbest Radikaller ve Biyomakromoleküller	10
2.6.1. Karbonhidratlar	10

2.6.2. Nükleik Asitler	10
2.6.3. Proteinler	10
2.6.4. Yağ Asitleri	10
2.7. Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı	11
2.8. Antioksidanlar	11
2.8.1. Enzimatik Antioksidanlar	13
2.8.1.1. Süperoksit Dismutaz	13
2.8.1.2. Katalaz.....	13
2.8.1.3. Glutasyon Peroksidaz	13
2.8.1.4. Glutasyon Redüktaz.....	13
2.8.2. Enzimatik Yapıda Olmayan Doğal Antioksidanlar	13
2.8.2.1. Fenolik Bileşikler	13
2.8.2.1.1. Flavonoidler	14
2.8.2.1.1.1. Naringenin	14
3. MATERYAL METOT	17
3.1. Biyokimyasal inceleme	18
3.1.1. Dokuların Homojenizasyonu.....	18
3.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite tayini	18
3.1.3. GSH Analizi	19
3.1.4. MDA miktarının tayini	19
3.1.5. GSH-Px Enzim Aktivitesinin Tayini.....	19
3.1.6. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Tayini	19
3.2. Histolojik inceleme	19
3.2.1. Histokimyasal Analizler	19
3.2.2. İmmünohistokimyasal Analizler	19
4. BULGULAR	21
4.1. Biyokimyasal Veriler	21

4.1.1. MDA Bulguları	21
4.1.2. SOD Bulguları.....	22
4.1.3. CAT Bulguları.....	23
4.1.4. GSH Bulguları.....	23
4.1.5. GSH-Px Bulguları	24
4.1.6. BUN Bulguları	24
4.1.7. Kreatin Bulguları.....	25
4.1.8. Albumin Bulguları.....	25
4.2. Histopatolojik Bulgular	26
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular	29
4.3.1. Kisspeptin.....	29
4.4.2. Bcl	30
4.4.3. Bax	32
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR.....	42
EKLER	49
EK 1. Özgeçmiş.....	49
EK 2. Etik kurul belgesi	50

TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, tez danışmanım Doç. Dr. Seda TAŞDEMİR'e, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet ACET ve Prof. Dr. Hakan PARLAKPINAR'a teşekkür ederim. Histolojik değerlendirmeler için Prof. Dr. Nigar VARDI ve Işıl ERANIL'a; istatistiksel hesaplama ve değerlendirilme aşamasında katkılarından dolayı Dr. Öğretim Üyesi Harika Gözde GÖZÜKARA BAĞ'a; Prof. Dr. Alaaddin POLAT, Kevser TANBEK'e, Tıp Fakültemiz mezunu Dr. Diğdem KURUKAFA'ya, çalışmalarımın tüm aşamasında emeği ve desteği olan Onural ÖZHAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamda deney hayvanlarının temini ve bakımını sağlayan **İnönü Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi**'ne ve çalışanlarına, TYL-2017-702 proje numarası ile projemize maddi destek sağlayan **İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi**'ne teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında varlıkları ve dualarıyla her zaman yanımda olan, güç veren, destek olan, yol gösteren Anneme, Babama, Kardeşime ve kıymetli Eşime teşekkür ederim.

Leyla ŞAHİN BÜYÜKKORKMAZ

ÖZET

Ratlardaki Renal İskemi-Reperfüzyon Hasarında Naringenin Koruyucu Etkisi

Giriş/Amaç: İskemi-reperfüzyon hasarına bağlı böbrek dokusunda oluşan yapısal ve fonksiyonel bozulmaları önlemek için doğal flavonoit olan naringenin, sıçan böbrek dokusunda koruyucu ve tedavi edici etkilerini biyokimyasal, histolojik açıdan incelemeyi amaçladık.

Materyal/Metot: 32 adet *Wistar albino* dişi sıçan sham, IR, NRG/IR, IR/NRG olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Sham grubuna sağ nefrektomi uygulandı. Diğer gruplarda sağ nefrektomi sonrasında sol böbrek pedikülü klempe edilip 60 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uygulanarak renal hasar oluşturuldu. NRG/IR, IR/NRG gruplarında 100 mg/kg i.p. NRG uygulandı. Uygulama sonunda anestezi altında; intrakardiyak yol ile kan örnekleri ve sol böbrek dokusu alındı. Serumda BUN, kreatin, albumin; doku örneklerinde MDA, SOD, GSH, CAT, GSH-Px, bakıldı. Dokularda ışık mikroskopisi ve apoptotik değerlendirme için Bcl-2, Bax ve kisspeptin bakıldı.

Bulgular: Çalışmamızda IR grubunda, sham grubuna göre azalan ($p<0.05$) SOD, CAT gibi enzimler NRG/IR ve IR/NRG grubunda arttı ($p<0.05$). IR grubunda, sham grubuna göre yükselen ($p<0.05$) MDA, NRG/IR ve IR/NRG gruplarında ($p<0.05$) azaldı. BUN ve kreatin, sham grubuna göre diğer gruplarda yükseldi ($p<0.05$), diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı. Bcl değerlerinde IR/NRG, NRG/IR gruplarında diğer gruplara göre anlamlı artış mevcuttur. Kisspeptin boyanmasının; IR grubunda sham grubuna göre azaldığı ($p<0.05$) ve IR/NRG grubunda IR grubuna göre arttığı ($p<0.05$) saptandı.

Sonuç: İskemi reperfüzyon hasarı oksidan-antioksidan dengelyi bozarak böbrek dokusu üzerinde yapısal ve fonksiyonel hasarlara ve hatta böbrek kaybına neden olur. NRG antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı böbrek dokusu hasarı üzerinde koruyucu ve tedavi edici olarak etkili olmuştur.

Anahtar Kelime: renal iskemi-reperfüzyon, rat, naringenin, kisspeptin, Bcl-2, BAX.

ABSTRACT

Protective Effect of Naringenin in Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats

Background/Aim: To prevent structural, functional deterioration in renal tissue due to ischemia-reperfusion injury, we aimed to investigate protective, therapeutic effects of naringenin, a natural flavonoid, in rat kidney tissue from biochemical and histological point of view.

Materials/Methods: 32 Wistar albino female rats were divided into 4 groups as sham, IR, NRG/IR, IR/NRG. Sham group underwent right nephrectomy. Other groups, after the right nephrectomy, the left renal pedicle was clamped, renal damage was induced by 60 min ischemia and 24 hr reperfusion. In the NRG/IR, IR/NRG groups, 100 mg/kg i.p. NRG was applied. End of the application under anesthesia; Blood samples, left kidney tissue were taken by intracardiac route. Serum BUN, creatine, albumin; MDA, SOD, GSH, CAT, GSH-Px, were measured in tissue samples. Bcl-2, Bax, kisspeptin were examined for light microscopy, apoptotic evaluation.

Results: Decreasing enzymes such as SOD, CAT increased in NRG/IR, IR/NRG groups. In the IR group, MDA, NRG/IR, IR/NRG groups decreased. BUN, creatine increased in the other groups compared to the sham group. There was a significant increase in Bcl, in IR/NRG, NRG/IR groups compared to other groups. Kisspeptin staining; IR group decreased compared to sham group, IR/NRG group increased compared to IR group.

Conclusions: Ischemia reperfusion injury disrupts oxidant-antioxidant balance, causing structural, functional damage to kidney tissue and even kidney loss. NRG has a protective and therapeutic effect on kidney tissue damage due to its antioxidant, anti-inflammatory properties.

Key words: renal ischemia-reperfusion, rat, naringenin, kisspeptin, Bcl-2, BAX.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABY	: Akut Böbrek Yetmezliği
ATP	: Adenozintrifosfat
Ca⁺²	: Kalsiyum
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
IR	: İskemi-Reperfüzyon
NRG	: Naringenin
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
GSH	: Glutasyon
GIS	: Gastrointestinal Sistem
Na⁺-K⁺-ATPaz	: Sodyum Potasyum ATPaz
PMNL	: Polimorf Nüveli Lökosit
NO	: Nitrik Oksit
MDA	: Malonildialdehit
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
OH⁻	: Hidroksil Radikali
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
O₂⁻	: Oksijen Radikali
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
Bax	: Bcl-2 İlişkili X Proteini
PBS	: Fosfat Buffer Solüsyonu
H&E	: Hematoksilen Eozin
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mmol	: Milimol
n	: Denek Sayısı (Adet)
nm	: Nanometre

nmol	: Nanomol
rpm	: Devir/Dakika (Revolution per minute)
U	: Ünite
µg	: Mikrogram
µmol	: Mikromol
°C	: Santigrad Derece
dk	: Dakika
dl	: Desilitre
g	: Gram
L	: Litre
kg	: Kilogram
ml	: Mililitre
%	: Yüzde
CRP	: C- Reaktif Protein
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör -α

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Böbreğin vücutta konumlanması	3
Şekil 2.2. Böbreğin komşu organları	4
Şekil 2.3. Böbreğin anatomik yapısı	5
Şekil 2.4. Böbreğin kanlanması	6
Şekil 2.5. Böbrek nefron anatomik yapısı	6
Şekil 2.6. Naringenin molekül yapısı.....	15
Şekil 3.1. Sağ nefrektomi ve sol böbrek klemp işlemi.....	18
Şekil 4.1. MDA ölçüm sonuçları	22
Şekil 4.2. SOD ölçüm sonuçları.....	22
Şekil 4.3. CAT ölçüm sonuçları.....	23
Şekil 4.4. GSH ölçüm sonuçları.....	23
Şekil 4.5. GSH-Px ölçüm sonuçları	24
Şekil 4.6. BUN ölçüm sonuçları	24
Şekil 4.7. Kreatin ölçüm sonuçları.....	25
Şekil 4.8. Albumin ölçüm sonuçları.....	25
Şekil 4.9. Sham Grubu böbrek dokusu H&E boyama görüntüleri.....	26
Şekil 4.10. IR grubu böbrek dokusu H&E boyama görüntüleri.....	26
Şekil 4.11. NRG/IR grubu böbrek dokusu H&E boyama görüntüleri	27
Şekil 4.12. IR/NRG grubu böbrek dokusu H&E boyama görüntüleri	27
Şekil 4.13. Sham grubu böbrek dokusu kisspeptin immün boyama görüntüleri	29
Şekil 4.14. IR grubu böbrek dokusu kisspeptin immün boyama görüntüleri	29
Şekil 4.15. NRG/IR grubu böbrek dokusu kisspeptin immün boyama görüntüleri	30
Şekil 4.16. IR/NRG grubu böbrek dokusu kisspeptin immün boyama görüntüleri	30
Şekil 4.17. Sham grubu böbrek dokusu Bcl immün boyama görüntüleri	31
Şekil 4.18. IR grubu böbrek dokusu Bcl immün boyama görüntüleri	31
Şekil 4.19. NRG/IR grubu böbrek dokusu Bcl immün boyama görüntüleri.....	31
Şekil 4.20. IR/NRG grubu böbrek dokusu Bcl immün boyama görüntüleri.....	32
Şekil 4.21. Sham grubu böbrek dokusu Bax immün boyama görüntüleri	32
Şekil 4.22. IR grubu böbrek dokusu Bax immün boyama görüntüleri	33
Şekil 4.23. NRG/IR grubu böbrek dokusu Bax immün boyama görüntüleri.....	33
Şekil 4.24. IR/NRG grubu böbrek dokusu Bax immün boyama görüntüleri.....	33

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.2. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması	14
Tablo 3.1. İmmünohistokimya için kullanılan primer antikorlar	20
Tablo 4.1. Antioksidan parametreler	21
Tablo 4.2. Histopatolojik skor sonuçları (AO±SD ve Med (Min-Max))	28
Tablo 4.3. Histopatolojik P değerleri.....	28
Tablo 4.4. Böbrek dokuda her bir antikor için immünreaktivite skor sonuçları	34
Tablo 4.5. Böbrek dokuda her bir antikor için P değerleri	34

1. GİRİŞ

Akut böbrek yetmezliği (ABY); hasteneye başvuran hastaların %5'ini, yoğun bakım ünitelerindeki hastaların % 30'unu, kardiyopulmoner operasyon geçiren hastaların %4-15'ini oluşturan; böbreklerde pre-renal, renal ve post-renal sebeplerle meydana gelen genellikle hipoperfüzyon kaynaklı oluşan ani böbrek rahatsızlığıdır. ABY, kardiyovasküler cerrahi, böbrek nakli ve sepsis ile gelişen ve yüksek mortalite, morbiditeyle sonuçlanan önemli bir klinik problemdir (1).

ABY geliştiğinde dokunun kanlanması azalması (iskemi) ile böbrek dokusu beslenememekte ve metabolizma sonucu oluşan azotlu atıklar vücuttan atılamamaktadır. Bu sebeple vücutta sıvı-elektrolit dengesizlikleri oluşmaktadır. Mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun değişmesi, adenozintrifosfatın (ATP) azalması, hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) artışı ve hücre iskeleti ile membran fosfolipitlerinin bozulmasına sebep olan proteaz ve fosfatazların aktive olması ile serbest oksijen radikalleri (SOR) salınmakta ve dokuya zarar vermektedir (2).

Dokuya yeniden kanlanma gerçekleştiğinde (reperfüzyon) ise doku şaşkırtıcı bir şekilde daha fazla SOR'a maruz kalır ve en hassas kısımları olan zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleri daha fazla zarar görür (3).

İskemi-reperfüzyon (IR) hasarını önlemek ve böbrek dokusunu korumak için geliştirilmiş mevcut tedaviler, destekleyici önlemler ve önleyici stratejilerle sınırlıdır ve hiçbiri kesin olarak ölüm oranını değiştirmemektedir (4). Tedaviler sonuç vermediğinde kronik böbrek yetmezliğine kadar ilerler. Bu nedenle büyük ameliyatlara ve renal transplantasyon öncesinde akut renal IR hasarından korunmak amacıyla uygun bir profilaktik tedavinin bulunması akılcı bir yaklaşımdır.

Profilaktik özellik gösteren antioksidan yapılar vücudumuzda doğal olarak bulunan veya dışarıdan hazır olarak aldığımız SOR'ları vücudumuzdan uzaklaştıran yapılardır. Antioksidanlar, SOR'ları üzerlerinde tutup yok ederek, SOR'lar ile etkileşim kurup onlara elektron sunarak, SOR'ların zincir yapılarını kırıp onları etkisiz hale getirerek ve SOR'ların oluşturduğu hasarları onararak etki göstermektedirler. Bu görevleri düşünüldüğünde hücrel yapıların korunması, düzenli olarak faaliyetlerini sürdürebilmesi ve canlılığının devamlılığı için antioksidanlar önemli yapılardır (3).

Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olabilmektedir. Endojen kaynaklı antioksidanlar enzimatik ve non-enzimatik olarak sınıflandırılırken; eksojen kaynaklı olanlar, vitamin yapıda, ilaç yapıda ve doğal yapıda olanlar olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır (5).

Doğal yapıda olan eksojen antioksidanlar genel olarak renkli bitkilerden ve meyvelerden vücudumuza aldığımız yapılardır. Bu yapıların kolay elde edilmesi, uygun fiyatlara alınabilmesi, ülkemizdeki iklim sayesinde büyük çeşitlilikte yetişebilmesi ile önemi gittikçe artmıştır.

Doğal yapılardan en çok ülkemizde bulunanlar, narenciye grubudur ve tüketimi oldukça yaygındır. Zengin fenolik içeriğiyle narenciyeler birçok antioksidan yapıyı içinde barındırmaktadır. Bu fenolik yapılardan birisi olan naringenin (NRG), limon, portakal ve greylort gibi narenciyelerde bulunan doğal fenolik bir bileşiktir. Fenolik yapıların çoğunda olduğu gibi NRG'nin de serbest radikal süpürücü etkiye sahiptir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon (GSH) gibi antioksidan enzimlerin hücresel miktarlarını artırmakta ve bu sayede antioksidan etki göstermektedir. Hücrelerin, hücresel fonksiyonlarının bozulması ve geri dönüşümsüz olarak kendini imha etmesine neden olan apoptozis faktörlerini inhibe edip, T lenfositlerini baskılayıp, lipooksijenaz enzimlerini inhibe ederek antiinflatuvar özellik göstermektedir ve hücrelerin korunmasını sağlamaktadır (6).

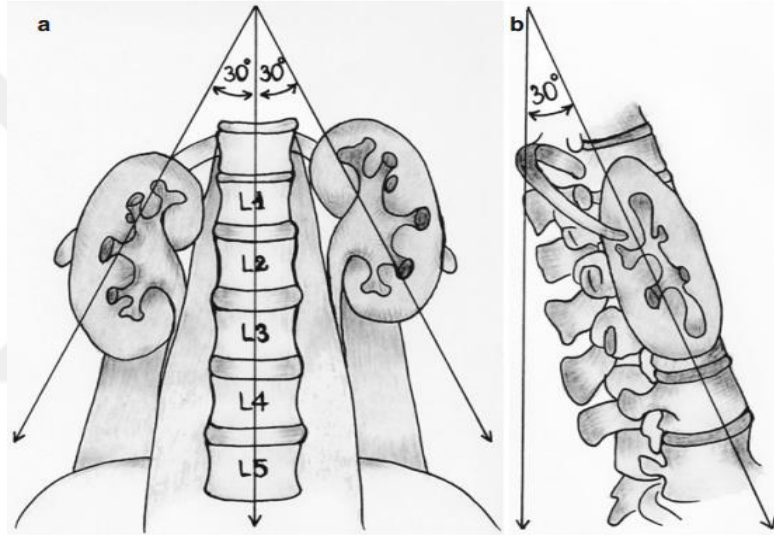
Bu özellikleriyle NRG'in, IR hasarına bağlı gelişen ABY'de koruyucu ve tedavi edici olabileceği düşünülmüştür. Çalışmalar incelendiğinde birçok organ üzerinde olumlu etkileri görülmüş ve bilhassa iskemik organ hasarlarındaki pozitif sonuçları dikkate değer bulunmuştur. İskemik ABY'de de bu bulguları destekleyecek sonuçlar alınabileceği düşünülmüştür.

Bu deneysel çalışmamızda sıçanlarda oluşturulan böbrek IR hasarından NRG'in koruyucu ve tedavi edici özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

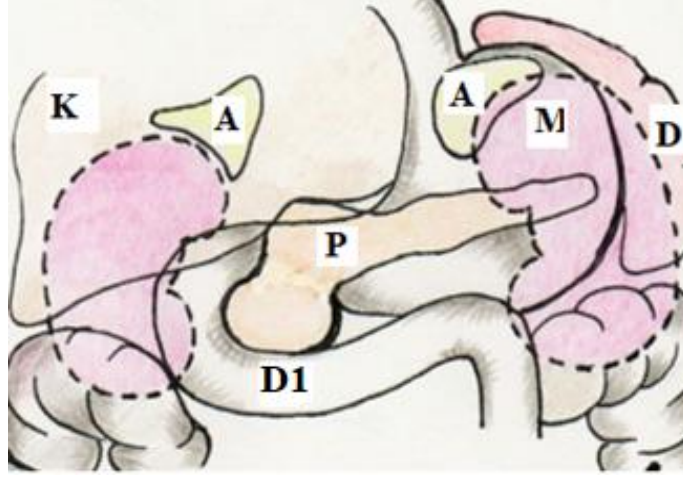
2.1. Böbreğin Anatomisi

Böbrekler insan vücudunda karın arka duvarında sağ ve solda retroperitoneal alanda paravertebral yerleşimli olup, 12. torakal ve 3. lomber vertebralar arasında bulunmaktadır. Sağ böbrek, karaciğerin basısı nedeni ile sol böbreğe göre 1-2 cm aşağıda yer almaktadır. Her bir böbrek yaklaşık 150-200 g ağırlığında, 11-12 cm uzunluğunda, 6 cm genişliğinde ve 3 cm kalınlığındadır (7).



Şekil 2.1. Böbreğin vücutta konumlanması (8)

Böbrek yapısı canlılarda bireysel farklılıklar göstermekle beraber komşu organları değişmemektedir. Sağ böbrek, üst ve önde karaciğer, üstte adrenal bez, hilus seviyesinde duodenum, altta ve lateral kenarda kolona; sol böbrek üstte adrenal bez, önde mide, dalak, pankreas, jejunum ile desendan kolona komşudur. Her iki böbrek arkada diafragma, kuadratus lumborum ve psoas kaslarına komşuluk gösterir (7, 8).



Şekil 1.2. Böbreğin komşu organları (8)

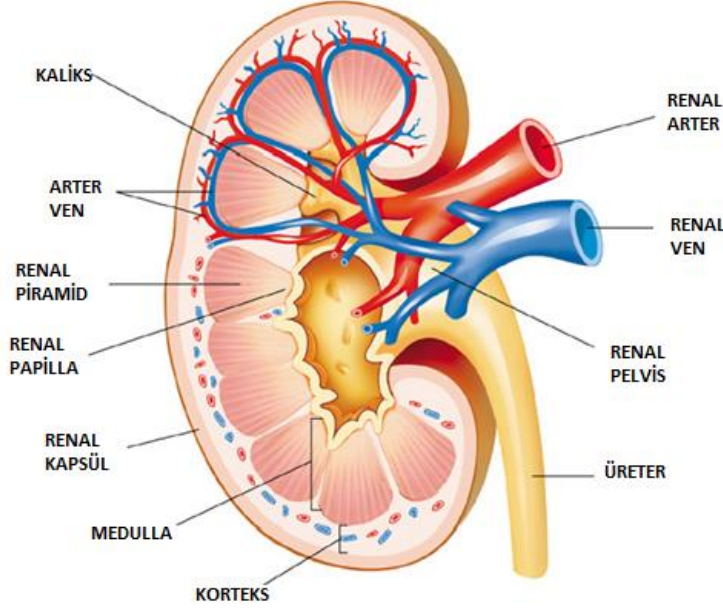
*K: Karaciğer, A: Adrenal bez, D: Dalak, D1: Duodenum M: Mide, P: Pankreas

Böbrek sırasıyla; capsula fibrosa, capsula adiposa ve fascia renalis adlı 3 kılıf ile çevrilidir. Böbreği saran fibröz kılıfa; capsula fibrosa denilir, böbreğe parlak bir görünüm kazandırır. Capsula fibrosayı çevreleyen zengin yağ dokusuna ise; capsula adiposa (perirenal yağ tabakası) denir. Bu yağ tabakasının kalınlığı kişinin vücut ağırlığına bağlı olarak değişmektedir (8).

Karın duvarındaki fasya subserosanın capsula adiposayı glandula suprarenalisle birlikte dıştan çevreleyen kısmına; fascia renalis (gerota fasyası) denilir. Gerota fasyası tarafından böbrekler, adrenaller ve ertafındaki pararenal yağ dokusu gevşekçe sarılmıştır (8).

Böbrek parankiminin dışı korteks, korteksle toplayıcı boşluklar arasında kalan kesimi de medulla olarak adlandırılır. Korteks bölgesinde glomerüller, proksimal-distal kıvrımlı tübüller ve toplayıcı kanallar bulunmaktadır. Böbrek parankiminin en derin kısmı medulladır. Medullanın kortekse yakın bölgelerinde de henle kulpu, vaza rekta ve toplayıcı kanalların terminal uçları bulunmaktadır (8).

Medial kesimde renal hilus diye adlandırılan ve içinden renal arter, renal ven, renal pelvis, üreter, lenfatik ve sinirlerin geçtiği bir bölge bulunmaktadır. Renal hilus böbrek içinde, 2,5 cm derinliğindedir ve hiler yapılar; en önde ven, arada arter ve en arkada pelvis olacak şekilde sıralanmışlardır (8).



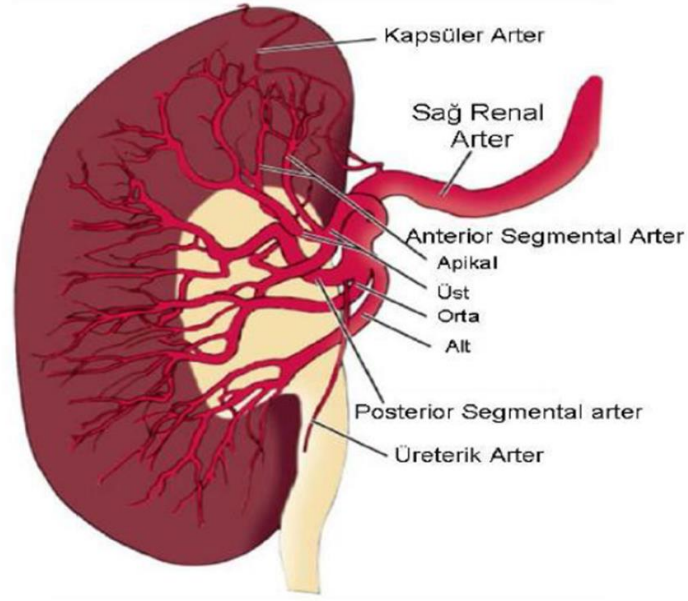
Şekil 2.3. Böbreğin anatomik yapısı (8)

2.2. Böbreğin Kanlanması

Kan, böbreklere aortanın iki tarafından superior mezenterik arterin çıktığı yerin altından ayrılan renal arterler aracılığı ile gelir. Bu arterler böbrek hilusuna tek bir dal halinde ulaşır ve hilusta ön ve arka segmenter dallarına ayrılır. Arkaya giden segmenter dal böbreğin kutupları dışında kalan bölgelerine kan iletimini sağlarken, ön dal genellikle kanı üst ve alt kutuplara ve gövdeye taşıyacak 4 dala bölünür (8).

Lenf damarları renal pelvisin etrafında bulunmaktadır. Böbrekte zengin lenfatik drenaj bulunmaktadır. Sinüsten çıkan kan damarları boyunca devam eder, bu sayede renal sinüde birkaç büyük lenfatik trunkus oluşturur. Renal kapsül ile perinefritik lenfatiklerle de bağlantı sağlanır, pelvis ve üst üreterin lenfatiklerini de alıp birleşirler. Renal hilumda 2-3 adet lenf nodu bulunmaktadır. Sol böbreğin lenfatik drenajı, sol paraaortik lenf nodlarına drene olurken, sağ böbrek lenfatikleri sağ parakaval ve interaortokaval lenf nodlarına drene olur.(8, 9)

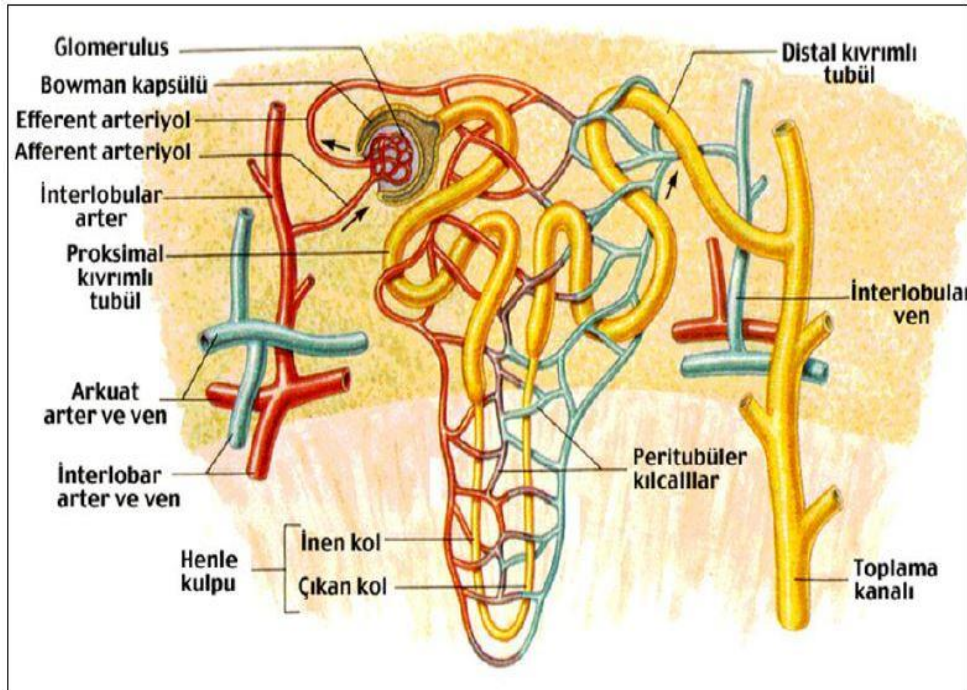
Dinlenme halinde yetişkin böbrekler dakikada 1,2 ile 1,3 L kan veya kalp debisinin %21'ini alır (8). Gram başına doku ağırlığı kıyaslandığında kan akımı beyne göre 7 kat fazla iken, beynin 2 katı oksijen kullanırlar. Böbreklere gelen oksijen metabolik ihtiyaçtan fazladır, arteriyel venöz oksijen farkı pek çok dokudan azdır (8, 9).



Şekil 2.4. Böbreğin kanlanması (9)

2.3. Böbrek Fizyolojisi

Böbreğin idrar oluşturma fonksiyonu nefron olarak adlandırılan en küçük anatomik ve fonksiyonel böbrek üniteleri tarafından sağlanır (9).



Şekil 2.2. Böbrek nefron anatomik yapısı (10)

Böbrekler yaklaşık bir milyon nefron içerir. Gelişimini tamamlayan böbrekte yeni nefron oluşumu gözlenmez. Bu yüzden yaşlanma, böbrek hastalıkları ve travma sebebiyle kaybedilen nefronların yerine yenileri oluşturulamaz. Yaşlanma ile %10-40 arasında nefron kaybedildiği görülür ancak kalan nefronlar kendini bu duruma adapte edebilirler (11, 12).

2.4. Böbreğin Görevleri

1. Yabancı maddelerin ve metabolik artıkların atılması
2. Su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi
3. Vücut sıvılarının ozmolalitesinin ve elektrolit konsantrasyonunun düzenlenmesi
4. Arteriyel kan basıncının düzenlenmesi
5. Asit-baz dengesinin düzenlenmesi
6. Hormonların salgılanması, metabolize edilmesi ve atılması
7. Glikoneojenez (9)

2.4.1. Yabancı Kimyasal Maddelerin ve Metabolik Yıkım Ürünlerinin, İlaçların ve Hormon Metabolitlerinin Atılması

Böbreğin ana amacı vücutta artık kullanılmayacak olan atık maddelerin ve metabolizma ürünlerinin vücuttan uzaklaştırılmasıdır. Üre (amino asit yıkım ürünü), kreatin (kas kreatinden), ürik asit (nükleik asitlerden) , hemogloblin yıkım ürünleri (bilirubin) gibi yıkım ürünleri böbreklerden atılır (9).

Bunun dışında toksin, pestisit, ilaç, besin katkı maddeleri gibi dışarıdan alınan yabancı maddeler de böbrekler aracılığıyla atılır (9).

2.4.2. Su ve Elektrolit Dengesinin Düzenlenmesi

Vücutta homeostazisin devamı için elektrolitlerin ve suyun atılması ile alımı denge içinde olmalıdır. Bu denge bozulursa maddeler ya vücutta birikir ya da vücuttaki miktarı azalır.

Su ve elektrolit dengesi yeme alışkanlığı ile ilgilidir ve böbrek atım hızının bu maddelere göre ayarlar (9).

2.4.3. Arteriyel Basıncın Düzenlenmesi

Değişik oranlarda su ve sodyum atılımı ile uzun süreli arter basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Böbrekler, vazoaaktif faktörler ve hormonlar salgılayarak kısa süreli arter basıncını da düzenlerler (9).

2.4.4. Asit Baz Dengesinin Düzenlenmesi

Böbrekler akciğerle birlikte asidik maddelerin atılımını düzenleyerek vücuttaki tampon sistemlerine katkıda bulunurlar. Protein metabolizma ürünleri olan sülfirik asit ve fosforik asit gibi moleküllerin atılımını sağlayan tek organ böbreklerdir (9).

2.4.5. Eritrosit Yapımının Düzenlenmesi

Böbrekler hemopoetik hücrelerden eritrosit yapımını uyaran eritropoietin salgırlar. Normal bireylerde dolaşımdaki eritropoietinin hemen hemen tümü böbreklerden salgılanır. Ağır böbrek hasarı bulunan veya böbrekleri çıkarılmış hastalarda ağır aneminin gelişmesinin sebebi yine böbreklerden eritropoietinin salgılanmamasından kaynaklanır (9).

2.4.6. 1,25-Dihidroksi Vitamin D₃ Yapımının Düzenlenmesi

Böbrekler 1'inci pozisyona bir hidroksil ilavesiyle vitamin D'nin aktif şeklini 1,25-Dihidroksi vitamin D₃'ü (kalsitriyol) oluştururlar. Kalsitriyol kalsiyum fosfat düzenlenmesinde, Kemiklerde kalsiyum birikiminin düzenlenmesinde ve gastrointestinal sistemden (GIS) kalsiyum emiliminde önemli rol oynar (9).

2.4.7. Glikoz Sentezi

Uzun süreli açlık dönemlerinde böbrekler aminoasitlerden 'glikoneojenez' ile glikoz sentezler. Bu dönemde böbreklerden, karaciğerle yarışacak ölçüde glikoz salgılanır (9).

2.5. İskemi-Reperfüzyon Hasarı

İskemi; organ veya dokuya gelen kanlanmanın durması ve bu sebeple dokunun, yaşaması için gerekli olan oksijen ve diğer metabolitlerden yoksun kalmasıdır. İskemi sırasında aynı zamanda dokuda kan yoluyla atılacak metabolizma ürünlerinin de atılımı durur (13).

İskemiye bağlı olarak hücrelerde geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz hasarlar meydana gelmektedir (14). Bu hasarlar toksik madde birikiminden, hücresel apoptoza kadar gidebilecek derecede olabilir. Oksijen yoksunluğu hücrenin metabolik olaylarının bozulmasına da neden olur. Oksijen azaldığında hücresel oksidatif fosforilasyon durur, hücresel enerji gerektiren sodyum-potasyum-adenozintrifosfataz (Na⁺-K⁺ ATPaz) pompası inhibe olur. Hücre içi Ca⁺² miktarı artar ki bu durum hücre için sitotoksiktir (15-17).

İskemi durumunun düzelmesi için dokunun yeniden kanlanması gerekecektir ki kanlanma tekrar başladığında paradoksal olarak dokuya daha fazla zarar verir. Dokunun iskemiden sonra tekrar kanlanmasına reperfüzyon denir ve reperfüzyon sırasında iskemik dokuya oksijenin gelmesi ile dokuda hızla SOR oluşur (18).

İskemi reperfüzyon fizyopatolojisi aşağıdaki 4 mekanizmanın rolü ile açıklanmaya çalışılır:

1. Serbest radikaller
2. Polimorf nüveli lökositler (PMNL)
3. Kompleman sistemi
4. Endotel hücreleri (3).

2.5.1. Serbest Radikaller

Eşleşmemiş elektron içeren atom veya moleküller serbest radikal olarak adlandırılır. Atom veya molekülde bir elektron kaybı veya ilavesi stabil yapının serbest radikale dönüşmesine neden olur. Organizma serbest radikal ataklarıyla her an karşı karşıyadır. Hava kirliliği, sigara tüketimi, düzensiz ve aşırı egzersiz, ilaç kullanımı, çeşitli kimyasal ve pestisitlere maruziyet gibi çevresel faktörler ile oluşabildiği gibi organizmanın normal fizyolojik süreçlerinde (enerji üretimi gibi) de oluşur. Endojen serbest oksijen kaynaklarına oksijen, nitrik oksit (NO), mitokondriyal elektron transport sistemi, uyarılmış nörofil örnek olarak verilebilir (19, 20).

2.5.2. Polimorf Nüveli Lökositler

Reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik yapılan çalışmalarda, reperfüzyonda mikrovasküler permeabilite artışına nötrofillerin neden olduğu ortaya koyulmuştur (21). İskemi reperfüzyon esnasında lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu oluşur. Polimorf nüveli lökositler;

- Mikrovasküler oklüzyon
- SOR salınımı
- Sitotoksik enzim salınımı
- Vasküler permeabilite artışı
- Sitokin salınımı

İle hasar oluşumuna neden olur (22, 23).

Aktive hale gelmiş nötrofiller hem çeşitli kimyasal maddeler salarak hasara sebebiyet verirken hem de damar içinde oluşturdukları hücresel agregatlar ve aktif trombositlerin damar endoteline adhezyonu ile mikrovasküler tıkanmaya neden olurlar. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, nörofil aktivasyonu ve infiltrasyonu derecesi ile reperfüzyon esnasındaki nekroz ve apoptozis derecesi birbiri ile uyumlu bulunmuştur (24).

2.5.3. Komplemanın Rolü

Komplemanın iskemi reperfüzyon hasarındaki rolü tam olarak bilinmemekle beraber, aktivasyonu ile proinflamatuvar maddeler salınır. Bu proinflamatuvar maddelerin lökositleri aktivasyonu ile inflamatuvar yanıt oluşturulur (24).

2.5.4. Endotel Hücreleri

İskemi reperfüzyon hasarı sırasında oksidatif strese bağlı olarak endotel hücre aktivasyonu ve işlev bozulması görülür. Endotel hücreler hem SOR kaynağı, hem de hedefidir. Endotel hem endotelin hem de nitrik oksit üretimine neden olur. Bozulan endotelin/nitrik oksit dengesi yüzünden arterlerde vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon gelişir. Ayrıca kompleman sistemini de aktive ederek lökosit üretiminin artmasına ve inflamasyon mekanizmasının başlatılmasına neden olur (25, 26).

2.6. Serbest Radikaller ve Biyomakromoleküller

Serbest radikaller eşleşmemiş elektronlarından dolayı karbonhidrat, nükleik asit, protein gibi makromoleküllerle reaksiyona girerek bu moleküller üzerinde oksidatif hasara neden olurlar (27).

2.6.1. Karbonhidratlar

Serbest radikallerin etkisiyle, polisakkarit polimerizasyonu artar. Monosakkaritlerde oto-oksidasyon sonucu, hidrojen peroksit, diğer peroksitler ve oksialdehitler oluşur. Glukoz gibi moleküllerin yapıları bozulur ve işlev göremez hale gelirler (28)

2.6.2. Nükleik Asitler

Serbest radikallerin etkisiyle, deoksiribonükleik asit (DNA) zincirinde kırılma meydana gelir ve hasar sonrası DNA polimeraz ile reaksiyona girip DNA'nın onarılmasını önlerler (27).

2.6.3. Proteinler

Aminoasitlerle reaksiyona giren serbest radikaller, protein yapısındaki enzimlerin aktivitelerini ortadan kaldırır. Enzim aktivitesi ve proteinleri değişen hücrede fonksiyonel bozukluklar meydana gelir (29).

2.6.4. Yağ Asitleri

Serbest radikaller, hücre zar yapısında bulunan kolesterol ve doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girip, hücre için yıkıcı olduğu düşünülen lipid peroksidasyonunu başlatır. Lipid peroksidasyonu hücre zarının akışkanlığının ve geçirgenliğinin değişmesine neden olur. Lipid peroksidasyonunun son ürünü MDA (Malondialdehit)'dir ve lipid peroksidasyonunun belirteci olarak kullanılır (30, 31).

2.7. Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı

Böbrek perfüzyonu yüksek olduğundan, iskemiye oldukça duyarlı bir organdır. İskemi ve sonrasında oluşan inflamatuvar yanıt, böbrek hasarının önemli nedenlerinden birisidir (32). Renal kan akımının azalması ile birlikte glomerüler filtrasyon hızı (GFR)'nda geçici düşüşler meydana gelir. Renal iskemiden sonra oluşan, intrarenal vazokonstrüksiyon ve tübül disfonksiyonu azalmış GFR'nin iki ana mekanizması olarak ifade edilir.

İskemik hasara en hassas bölge böbrek dış medullasıdır. Bu bölgede tübüllerin aktif transport için ATP ihtiyaçları yüksektir ve kanlanmanın sınırlı olması sebebiyle bu ihtiyaç karşılanamaz. Reperfüzyon sırasında da korteks ve papillada oksijen dengesi düzenlenmişken, dış medulla yine hipoksik durumdadır (33, 34). Medullar hipoksi durumunda hücresel enerji depoları boşalır ve hipoksik durumdan dolayı endotel ve düz kas aktin iskelet yapısı bozulur. Bu durumun sonucu olarak hücresel deformasyonlar ve çevre dokuların hipoksisi artar (35).

Böbreklerde iskemi sonrası, ksantin oksidaz kaynaklı serbest radikaller kapiller membran yapısını bozarak plazma proteinlerinin damar dışına kaçmasına neden olur. Bunun sonucunda korteks kapillerlerinde eritrosit konjesyonu, medulla uzun kapillerlerinde plazma sızıntısı ve sızıntılara bağlı tıkaçlar oluşturup kan akımını engellenir (36).

Yapısal proteinlerin hasarlanması sonucunda enzimatik aktivite bozulur endotel duvarında vazodilatör/vazokonstrüktör denge bozulur ve iskemi daha da artar. Hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil (OH^-) iyonuna dönüşür ve böbrek yapısında daha da fazla zarar verir (32, 37).

Anlatılan yapısal hasarlar, akut böbrek yetmezliğine neden olur. ABY, kronik böbrek yetmezliğine kadar ilerleyen önemli bir klinik problemdir. ABY çoğunlukla major kardiyovasküler cerrahilerde, transplantasyonda, travma, sepsis ve volüm kaybı ile giden durumlarda görülür.

2.8. Antioksidanlar

Antioksidan yapılar canlının kendi vücudunda sentezlediği (endojen) ve dışarıdan hazır olarak aldığı (ekzojen) olmak üzere 2 gruba ayrılır. Enzimatik yapıda veya non-enzimatik yapıda olabilirler. Vücutta serbest radikallerin oluşturduğu hasarların tamir edilmesini sağlarlar (38, 39).

Tablo 2.1. Endojen ekzojen antioksidanlar sınıflandırması (5)

Endojen Antioksidanlar		
Enzimatik Antioksidanlar	Nonenzimatik Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Selenyum	Melatonin
Glutasyon peroksidaz	Koenzim Q 10	Glutasyon
Katalaz (CAT)	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Transferrin	Bilirubin
	Albumin	Seruloplazmin
Eksojen Antioksidanlar		
Vitamin Eksojen Antioksidanlar	İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar	Doğal Antioksidan Bileşikler
α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol)	Fenolik bileşikler (flavonlar, antosiyanidinler, flavononlar)
β -karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, NSAİİ)	Karetonoidler
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	Likopen
Folik asit (Vitamin B9)	Trolox-C (vitamin E analogu)	
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)	
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albumin)	
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)	
	Nötrofil adezyon inhibitörleri	
	Sitokinler (TNF ve IL-1)	
	Barbitüratlar	
	Demir şelatörleri	

2.8.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.8.1.1. Süperoksit Dismutaz

Reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunmadır hattıdır. Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizler (40, 41). Oluşan Hidrojen peroksit, CAT ya da GSH-Px ile ortamdaki uzaklaştırılır (42).



2.8.1.2. Katalaz

Katalaz, peroksisomlar gibi hücre içi organellerde, mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunur. Hidrojen peroksitin, H_2O ve O_2 'ye dönüşümünü katalizler (43).



2.8.1.3. Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon peroksidaz, hücre sitoplazmasında bulunur ve H_2O_2 'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri korunmasını sağlar. Bu sayede H_2O_2 'den OH^- 'nin oluşmasını engeller (41).



2.8.1.4. Glutasyon Redüktaz

Glutasyon redüktaz, nikotinamid adenin dinükleotit fosfatın (NADPH) bir elektronunu okside glutasyonun disülfid bağlarına aktararak yeniden GSH'ye dönüştürülür. NADPH serbest radikal hasarını engellemek için gereklidir (40).



2.8.2. Enzimatik Yapıda Olmayan Doğal Antioksidanlar

2.8.2.1. Fenolik Bileşikler

Bitkilerin tüm kısımlarında bulunan, bir aromatik halka üzerinde bir veya çok sayıda hidroksil grubu taşıyan sekonder metabolitlerdir. Çoğu suda çözünür ve basit yapılardan karmaşık yapılara kadar birçok çeşidi vardır. Doğada bilinen aktif doğal antioksidanlar arasında olup serbest radikalleri bağlayarak, metallerle şelatları oluşturarak ve lipoksijenaz enzimini

inhibe ederek etki gösterirler. Antioksidan aktiviteleri yapılarında bulunan hidroksil gruplarının sayı ve moleküler pozisyonlarından kaynaklanmaktadır (44-48)

Fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki temel gruba ayrılırlar. Flavonoidler; flavonoller, flavanoller, antosiyaninler, izoflavonoidler, flavonlar, flavononlar olarak sınıflandırılırken fenolik asitler, hidroksibenzoik asit ve hidroksisünamik asit olmak üzere iki alt gruba ayrılır ve flavonoidlerin prekürsörüdür.

Tablo 1.2. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması (49)

Fenolik Grup	Örnek
Fenolik Asitler	
Hidroksibenzoik asitler	Gallik asit
Stilbenler	Resveratrol
Hidroksisünamik asit	Kafeik asit, p-kumarik asit
Flavonoidler	
Antosiyaninler	Depihidin-3-glikozid, Malvidin-3-glikozid
Flavonoller	Kuersetin, kaemferol
Flavanoller	Kateşin, epikateşin
İzoflavonoidler	Genistein, diadzein
Flavonlar	Rutin, apigenin, luteolein
Flavononlar	Naringin, naringenin , mirisetin

2.8.2.1.1. Flavonoidler

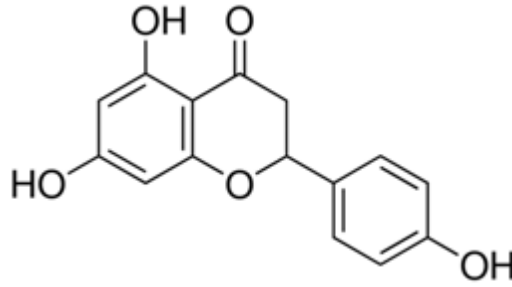
Flavonoidlerin çoğu bitkisel yapılara renk vermektedir ve bu sayede bitkisel pigmentler olarak da adlandırılmaktadırlar. Örneğin, antosiyaninler, bitkilerin yaprakları, çiçekleri ve meyvelerine mavi, kırmızı, mor, menekşe rengini veren pigment maddeleridir. Renksiz olan flavonoidler de mevcuttur.

Yapılan çalışmalarda flavonoidlerin serbest radikal süpürücü, enzim aktivitelerini düzenleyici, antibiyotik, antihistaminik, antidiyaretik, antiülser ve antiinflamatuvar özellikleri keşfedilmiş ve çalışmalar daha da yoğunlaşmıştır (50).

2.8.2.1.1.1. Naringenin

Naringenin; greyfurt, portakal gibi turuncgillerde, domates, çilek ve kakaoda yaygın olarak bulunan doğal bir flavonoittir (51). Naringenin oral alım sonrasında bağırsaklardaki

enterobakterler tarafından aktif metaboliti olan naringenine (4',5,7 Thrihydroxyflavanone) dönüştürülür.



Şekil 2.6. Naringenin moleküler yapısı

Formülü: C₁₅H₁₂O₅

Molekül Ağırlığı: 272,25 g

Görünümü: Sarımtırak toz

Çözünürlüğü: Alkol, eter ve benzende çözünür. Suda çözünürlüğü yok denecek kadar azdır.

Adsorpsiyon-Dağılım-Metabolizma-Eliminasyon-Süreci: Naringenin oral yolla alındığında düşük biyoyararlanıma sahiptir. Vücut sıvılarında çözünürlüğünün az olması bunun önemli bir nedenidir. Yarılanma ömrü 2.3 saattir. İntravenöz yolla alındığında ise hızla dağılır ve elimine edilir. Karaciğerde glukoronidasyona uğrayarak metabolize edilir. Karaciğer üzerinden safra yoluyla atılımı sağlanır.

Etkileşimleri: Naringenin, greylfurt suyunda CYP3A4 inhibitörü olduğu gösterilen ana bileşenlerden biridir. İbrutinib ile yapılmış bir çalışmada naringenin ibrutinibin yarılanma ömrünü önemli ölçüde uzatmıştır. Bu nedenle CYP3A4 üzerinden metabolizması olan gıda ve ilaçların metabolizma süresi uzar ve beraber alındığında plazma eliminasyonlarını yavaşlatır.

Etki Mekanizması: Naringenin, araşidonik asit metabolizmasındaki siklooksijenaz ve 5- lipoksijenaz yollarını inhibe eder. Serbest radikal süpürücü, lipid peroksidasyonunu azaltıcı ve antiinflamatuvar etkiler gösterir (52, 53). Ayrıca naringenin, demir bağımlı fenton reaksiyonunu demir ile bağlanıp şelat oluşturarak inhibe edip hidroksil radikali birikimini önler ve bu sayede hücre zarını ve hücreyi serbest radikal ve ksenobiyotiklerin zararlı etkilerine karşı korur.

Bu özellikleri düşünülðünde potansiyel bir antioksidan olduğu kabul edilmektedir. Antiaterojenik, antikanserojen, antimutajenik, hepatoprotektif, nefroprotektif özellikleri mevcut çalışmalarla kanıtlanmıştır. Örneğin; Kadmiyum ile oluşturulmuş deneysel böbrek hasarında SOD, CAT, GSH-Px ve GST (Glutasyon S-transferaz) aktivitelerini arttırdığı ve ortamdaki serbest radikallere karşı hücreyi koruduğu belirtilmiştir (54).



3. MATERYAL METOT

Deneyleerde İnönü Üniversitesi Deneş Hayvanları Araştırma Merkezi'nce üretilen Wistar-Albino cinsi, 250-300 g ağırlığında dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlara standart şartlarda (12 saat güneş ışığı, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, sabit ısılı odalarda) özel kafeslerde bakılıp, beslenmelerinde 8mm.'lik standart rat pellet yem kullanılarak ad-libidum beslendi. İnönü Üniversitesi Deneş Hayvanları Etik Kurulu'nda 23.02.2017 tarihinde alınan 2017/A-10 numaralı etik kurul kararına uygun olarak çalışıldı.

İstatistiksel olarak anlamlı sonuçlar ifade edilebilmesi için power analizi yapılarak tüm gruplarda 8 sıçan olmak üzere 4 grup toplam 32 adet sıçan kullanıldı. Sıçanlar gruplara rastgele seçilerek ayrıldı. Deneş prosedürüne kadar standart şartlar uygulandı.

Sham Grubu: Sadece sağ nefrektomi uygulanan grup (DMSO) (55).

IR Grubu: Sağ nefrektomi sonrası sol böbrek arter ve venine beraber klemp yardımıyla 60 dakikalık iskemi ve cerrahi kapatmayla beraber 24 saat reperfüzyon oluşturulan grup (DMSO) (55).

NRG/IR Grubu: Sağ nefrektomi ve sol renal IR'den 2 saat önce 100 mg/kg (DMSO) ip. yol ile naringenin uygulanan ve cerrahi kapatmayla beraber 24 saat reperfüzyona bırakılan grup (56, 57).

IR/NRG Grubu: Sağ nefrektomi sonrası 60 dk'lık sol böbrek iskemisi sonlandırılmadan hemen önce 100 mg/kg (DMSO) ip. yol ile naringenin uygulanan grup ve cerrahi kapatmayla beraber 24 saat reperfüzyona bırakılan grup (56, 57)

Bu çalışmada cerrahi prosedür için ratlara intraperitoneal (i.p.) ketamine hydrochloride 75 mg/kg (Ketalar, Parke-Davis) + Xylazine 8 mg /kg (Rompun, Bayer) kombinasyonu ile anestezi uygulandı. Operasyondan yaklaşık 2 dakika (dk) kadar önce karın traşı yapılan hayvanlarda operasyon sahası %10 Povidon İodine ile temizlendi. Yalnızca insizyon uygulanacak saha açık kalacak şekilde steril olarak örtüldü. Steril aletler kullanılarak sağ dorsolateral insizyonla sağ pedikül (arter ve ven) bağlanıp sağ nefrektomi uygulandı. Sağ nefrektomiden sonra sol böbrek pedikülü klempe edilerek 60 dakika iskemi 24 saat reperfüzyon uygulamak suretiyle renal IR hasarı oluşturuldu.

NRG'nin iskemi ve reperfüzyondaki etkilerini ayrı ayrı değerlendirmek için tedavi gruplarından birine iskemi öncesi diğerine de reperfüzyon öncesi NRG 100 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı (56, 57). İnsizyon alanları sütürle kapatıldı. 24 saatlik

reperfüzyon periyodu sonunda tüm sıçanlar anestezi altında öldürülüp böbrek dokusu ve kan numunesi alındı.

Serumda kan üre azotu (BUN), kreatin ve albumin; doku örneklerinde de MDA, SOD, CAT, GSH-Px bakılmıştır. Dokuda histolojik değerlendirme için alınan sol böbrek dokusunun simetrik yarısı formaldehit içine alınıp saklanıp, sonrasında doku takibi yapıp, parafin bloklarda sabitlenip uygun yüzey kesitleri alındıktan sonra antikor boyama işlemleri yapıp, ışık mikroskopisi ve apoptotik değerlendirmelerle Bcl-2, Bcl-2 ilişkili X proteini (Bax), kaspazin bakıldı.

Deney prosedürünün uygulanması:



Şekil 3.1. Sağ nefrektomi ve sol böbrek klemp işlemi

3.1. Biyokimyasal inceleme

3.1.1. Dokuların Homojenizasyonu

Böbrek dokusu fosfat buffer solusyon (PBS) tamponu (pH 7,4) eklenerek buz izolasyonu altında tüm doku parçalanıncaya kadar homojenize edildi. Kalan homojenatlar, 30 saniyelik aralıklarla 4 defa 15 saniye sonifiye edildi. Elde edilen homojenattan 1 mL MDA ölçümü için ayrıldı. Sonifiye işlemlerinin ardından mikrosantrifüj aletiyle santrifüj işlemi yapıldı. Böylece enzim aktiviteleri ve protein tayinin yapılacağı süpernatant elde edildi. Süpernatant örnekleri ölçüm işlemleri yapıncaya kadar -70 °C de derin dondurucuda saklandı.

3.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite tayini

Deneyin prensibi: SOD aktivitesi Sun (58) ve arkadaşları tarafından tanımlanan, Durak ve arkadaşları tarafından modifiye edilen NBT indirgeme yöntemiyle çalışıldı (59). Sonuçlar, U/mg protein olarak ifade edildi.

3.1.3. GSH Analizi

Deneyin prensibi: GSH konsantrasyonu Beutler ve ark. metoduna göre ölçüldü (60). GSH seviyesi $\mu\text{mol/ g}$ protein olarak ifade edildi.

3.1.4. MDA miktarının tayini

Deneyin prensibi: Esterbauer ve Cheeseman'nin metodu ile çalışıldı (61). MDA miktarı yaş gram doku başına nanomol olarak hesaplandı.

3.1.5. GSH-Px Enzim Aktivitesinin Tayini

Deneyin prensibi: GSH-Px aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı (62). Enzim ünitesi; birim zamanda okside olan mikromol NADPH miktarıdır.

3.1.6. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Tayini

Deneyin prensibi: Katalaz aktivitesi Aebi'nin metoduna göre çalışıldı (63).

3.2. Histolojik inceleme

3.2.1. Histokimyasal Analizler

Deney sonunda alınan böbrek dokusu, %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi. Doku takibi işlemlerinden sonra hazırlanan parafin bloklardan, 4-5 μm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere, genel morfolojik yapının belirlenmesi için hematoksilin-eozin (H-E) boyama metodu uygulandı.

Böbrek kesitleri; konjesyon, infiltrasyon, tübüler dejenerasyon (tübülepitel hücrelerinde hidropik değişiklikler ve lümen dökülme) ve tübüler dilatasyon yönünden incelendi. Hasar, şiddetine göre; 0 (değişiklik yok), 1 (hafif hasar), 2 (orta hasar) ve 3 (ağır hasar) olarak skorlanarak rastgele seçilen 10 alan değerlendirildi. Analizler, Leica DFC-280 araştırma mikroskopu ile Leica Q Win Image Analiz Sistemi (Leica Micros Imaging Solutions Ltd., Cambridge, UK) kullanılarak yapıldı.

3.2.2. İmmünohistokimyasal Analizler

İmmünohistokimyasal analizler için deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirilen kesitler düdüklü tencereye alınarak 0.01 M sitrat (pH 6.0) içinde 15-20 dk kaynatıldı. Endojen peroksidaz enzim aktivitesini bloke etmek için kesitlere 12 dk boyunca %3'lük hidrojen peroksit uygulandı. PBS ile yıkanan kesitlere 5 dk süresince protein blok (ultra V blok) uygulaması yapıldı. Daha sonra kesitler 37 °C'de 60 dk primer antikor (Tablo 3.1) ile inkübe edildi. PBS ile yıkanan dokulara 37 °C'de 10 dk boyunca biotinli sekonder antikor uygulandı.

Bu işlem sonrasında kesitler 37 °C’de 10 dk streptavadin peroksidaz ile inkübe edildi. Ardından kromojen uygulaması yapılan kesitler hematoksilin ile boyanarak su bazlı kapatıcı ile kapatıldı.

Boyama immün reaktivitenin yaygınlığı (0: 0-%25, 1:%26-50, 2:%51-75, 3:%76-100) ve şiddeti (0: yok, +1: hafif, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak semi kantitatif olarak skorlandı. Toplam boyanma skoru; yaygınlık x şiddet hesaplanarak elde edildi.

Tablo 3.1. İmmünohistokimya için kullanılan primer antikorlar

Primer antikor	Üreticisi
Kisspeptin	Santa Cruz (sc-10146)
Bax	Santa Cruz (sc-7480)
Bcl 2	Santa Cruz (sc-7382)

3.2.3. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler, SPSS istatistiksel yazılım programı (SPSS for Windows version 18) ile yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Bütün veriler med (min-max) olarak ifade edildi. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Veriler medyan ve çeyreklikler arası genişlik ile özetlenmiştir. Grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi ve sonrasında Conover ikili karşılaştırma yöntemi kullanılmıştır. Tüm testlerde anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Veriler

Tablo 2.1. Antioksidan parametreler

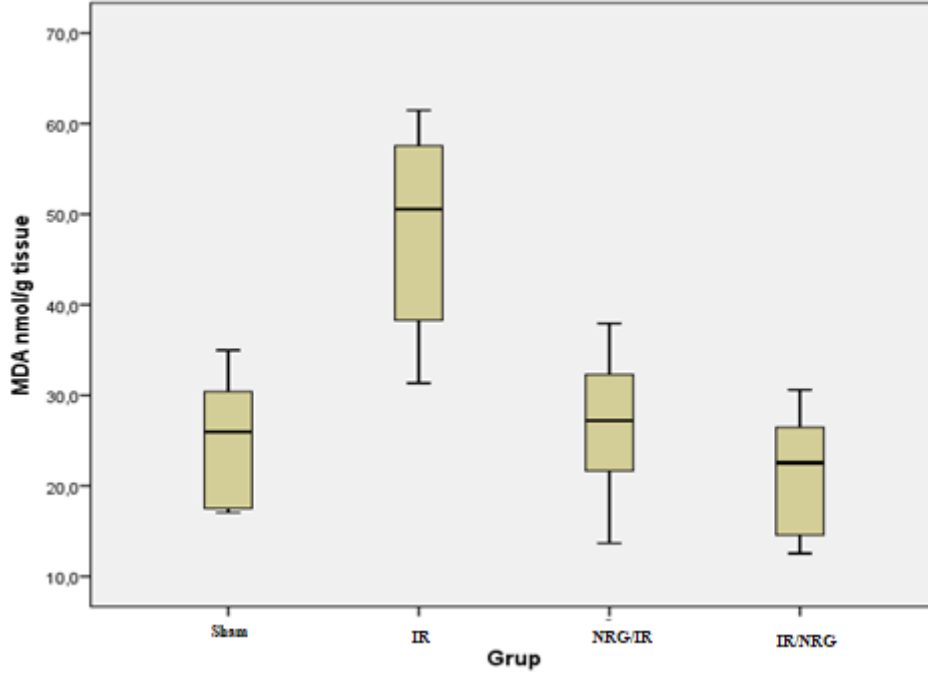
	Grup				pdeğeri
	Sham	IR	NRG/IR	IR/NRG	
MDA nmol/g tissue	25,96 ^a (11,47)	46 ^b (16,82)	27,21 ^a (10,17)	23,82 ^a (10,76)	<0,001
SOD U/mg prot	0,57 ^a (0,17)	0,42 ^b (0,05)	0,52 ^a (0,02)	0,6 ^a (0,2)	<0,001
CAT K/g prot	21,52 ^a (5,03)	10,68 ^b (5,98)	22,15 ^a (7,25)	20,62 ^a (4,27)	0,001
GSH micromol/g tissue	10,84 (1,59)	9,7 (1,59)	12,26 (2,59)	11,93 (2,13)	0,251
GSH-Px U/mg protein	58,13 ^a (22,18)	39,83 ^b (8,32)	38,09 ^b (4,32)	41,98 ^b (9,02)	0,002
BUN mg/dL	23,7 ^a (9,35)	98,67 ^b (26,53)	78,69 ^b (18,25)	88,65 ^b (31,62)	<0,001
KREATİN mg/dL	0,63 ^a (0,06)	1,27 ^b (0,58)	1,14 ^b (0,5)	1,5 ^b (0,56)	0,002
ALBUMİN g/dL	1,05 (0,22)	0,95 (0,1)	1,15 (0,18)	1,1 (0,2)	0,178

*Veriler medyan (çeyreklikler arası genişlik) ile gösterilmiştir.

**Satırlarda farklı üst simgeler ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

4.1.1. MDA Bulguları

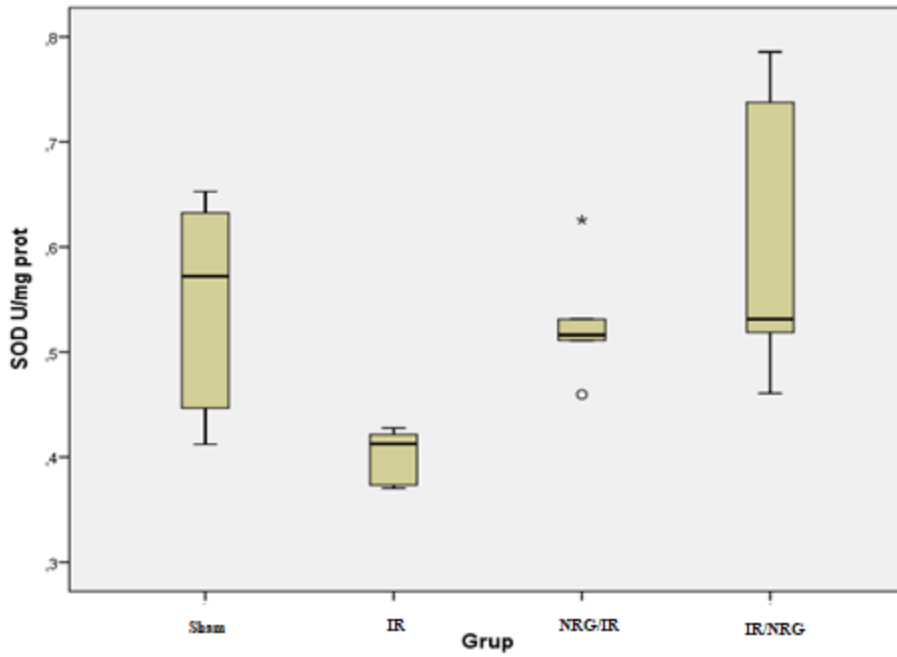
Böbrek dokusunda MDA değerleri şekil 4.1'de verildi. IR grubundaki artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).



Şekil 4.1. MDA ölçüm sonuçları

4.1.2. SOD Bulguları

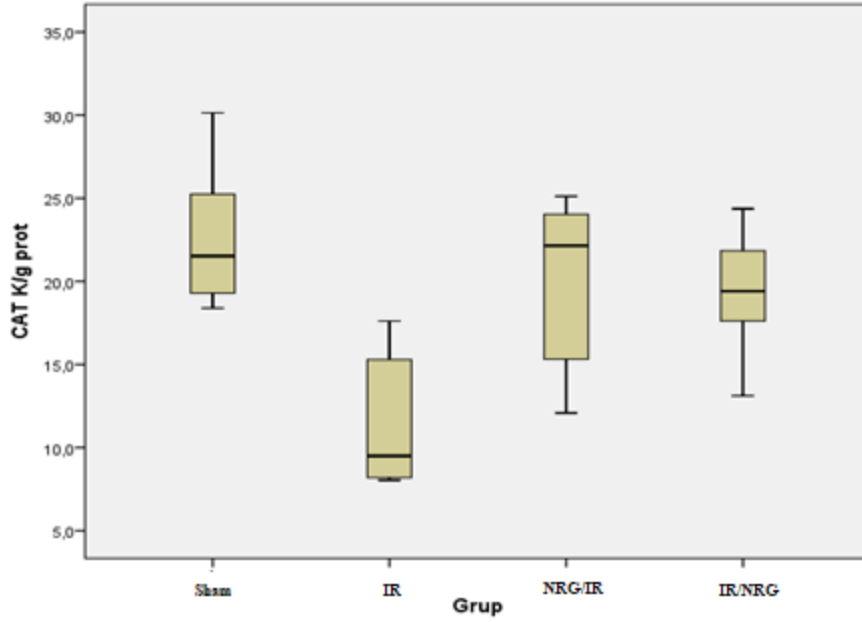
Böbrek dokusundaki SOD değerleri şekil 4.2’de verildi. IR grubundaki düşüş kontrol grubuna göre anlamlıdır. NRG/IR ve IR/NRG gruplarındaki artış da IR grubuna göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlıdır.



Şekil 4.2. SOD ölçüm sonuçları

4.1.3. CAT Bulguları

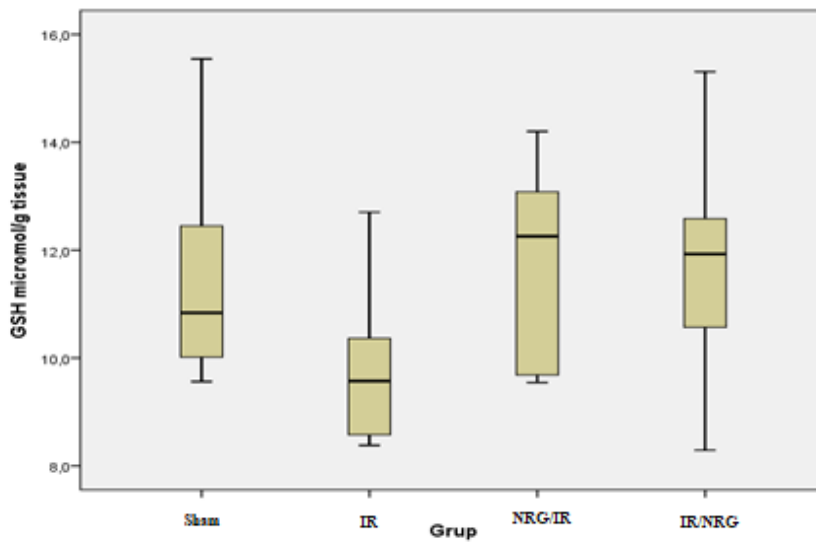
Böbrek dokusundaki CAT değerleri şekil 4.3’de verildi. IR grubundaki düşüş kontrol grubuna göre anlamlıdır. NRG/IR ve IR/NRG gruplarındaki artış da IR grubuna göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlıdır.



Şekil 4.3. CAT ölçüm sonuçları

4.1.4. GSH Bulguları

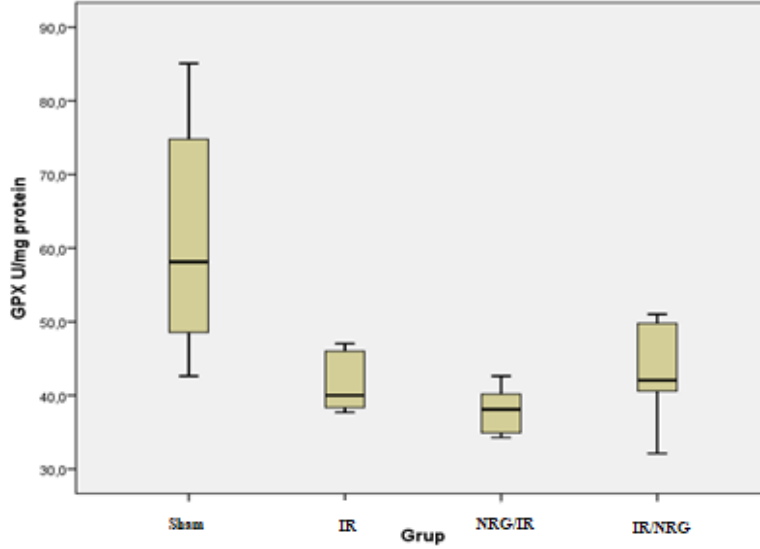
Böbrek dokusundaki GSH değerleri şekil 4.4’de verildi. Veriler değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark saptanamadı.



Şekil 4.4. GSH ölçüm sonuçları

4.1.5. GSH-Px Bulguları

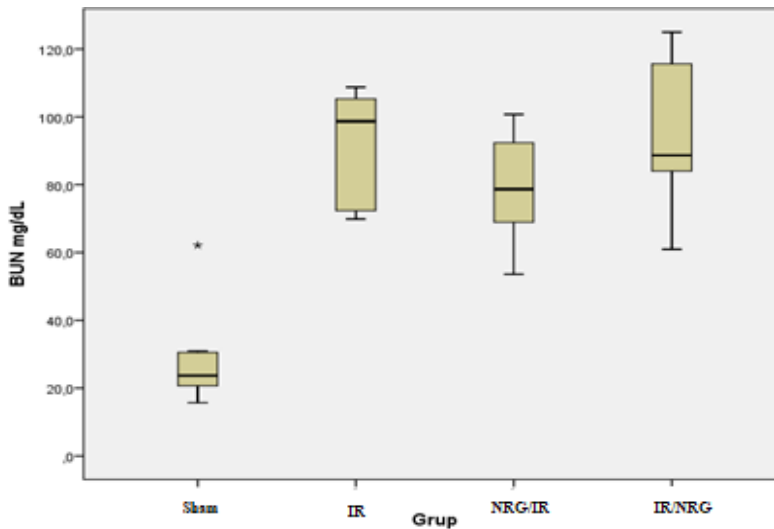
Böbrek dokusundaki GSH-Px değerleri şekil 4.5.'de verildi. Veriler değerlendirildiğinde sham grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulunurken, diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı.



Şekil 4.5. GSH-Px ölçüm sonuçları

4.1.6. BUN Bulguları

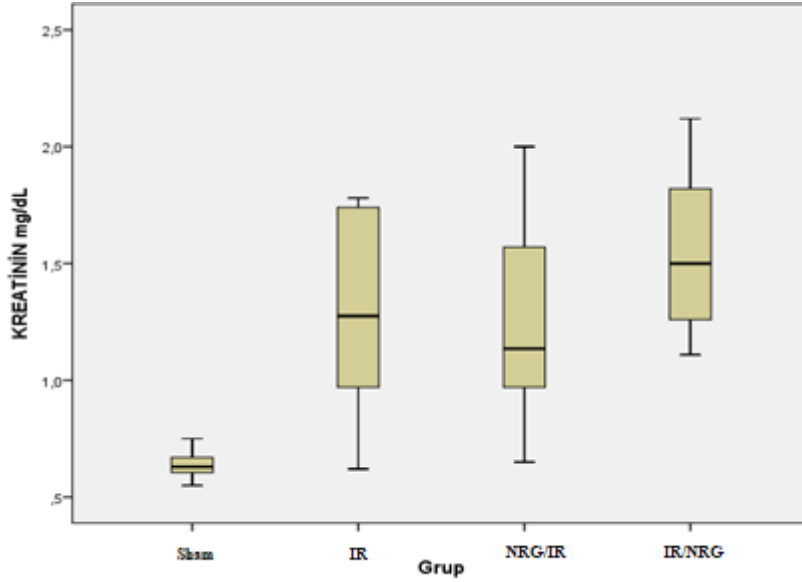
Böbrek dokusundaki BUN değerleri şekil 4.6.'da verildi. Veriler değerlendirildiğinde sham grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük bulunurken, diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı.



Şekil 4.6. BUN ölçüm sonuçları

4.1.7. Kreatin Bulguları

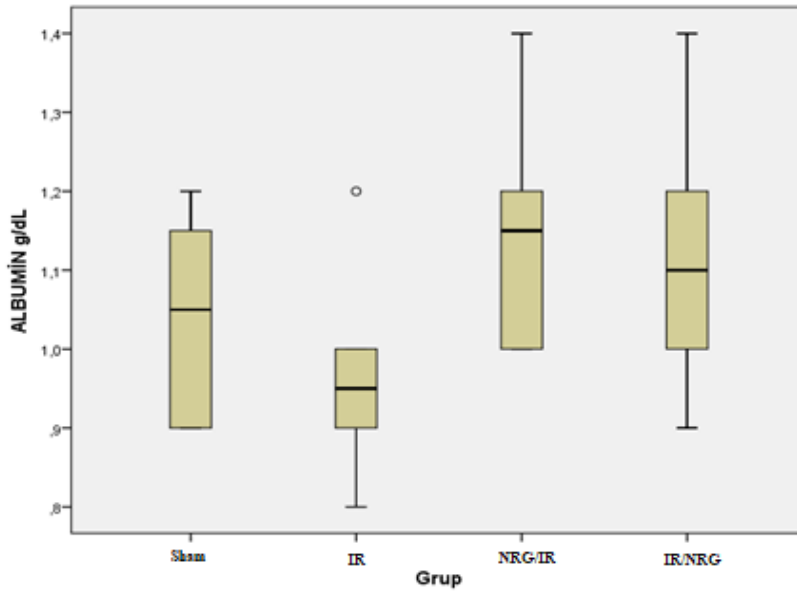
Böbrek dokusundaki kreatin değerleri şekil 4.7.'de verildi. Veriler değerlendirildiğinde sham grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük bulunurken, diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı.



Şekil 4.7. Kreatin ölçüm sonuçları

4.1.8. Albumin Bulguları

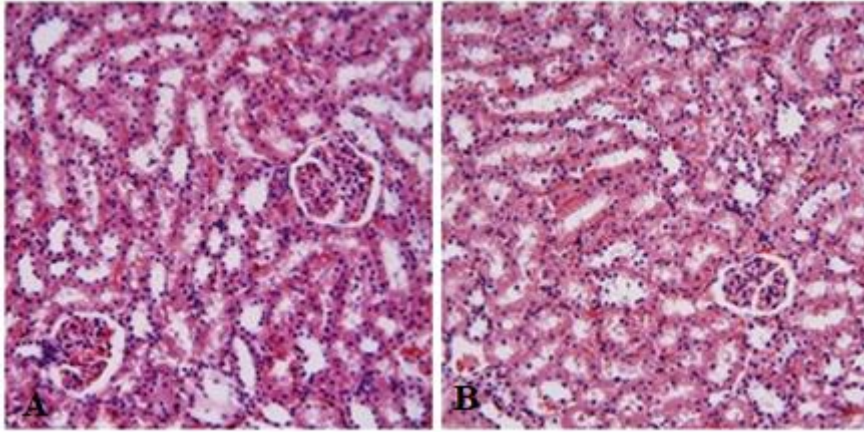
Böbrek dokusundaki albumin değerleri şekil 4.8'de verildi. Veriler değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark saptanamadı.



Şekil 4.8. Albumin ölçüm sonuçları

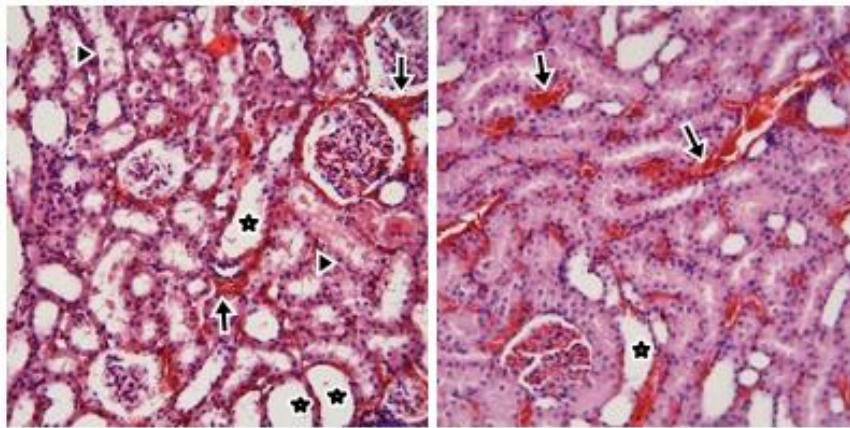
4.2. Histopatolojik Bulgular

Sham grubunda böbrek dokusu normal histolojik görünümündeydi. IR uygulanan grupta sham grubuna göre tübüler dilatasyonda belirgin bir artış gözlemlendi. Bu grupta aynı zamanda tübüler dejenerasyon ve konjesyon parametreleri yönünden de istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p<0.05$). NRG/IR grubunda, IR grubuna göre tübüler dilatasyon parametresinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı izlendi. İskemi reperfüzyon grubunda artmış olan konjesyon, tübüler dejenerasyon ve tübüler dilatasyon, IR/NRG grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı ($p<0.05$).



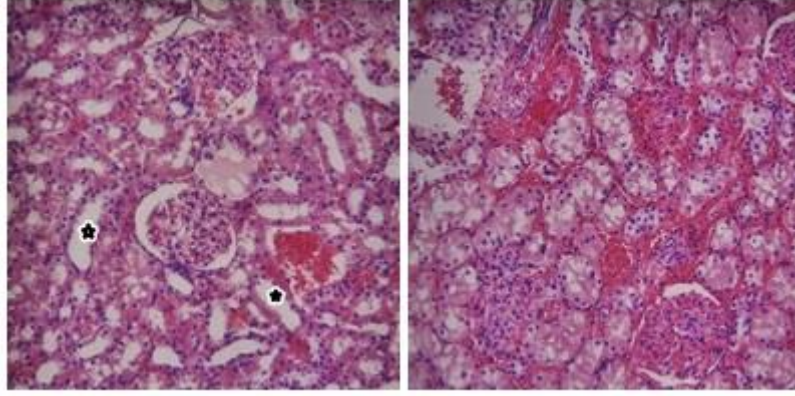
Şekil 4.9. Sham Grubu böbrek dokusu H&E boyama görüntüleri

Sham grubu H&E boyama metodu uygulaması ile böbrek dokusunun normal histolojik görünümü (A, B). Ax20



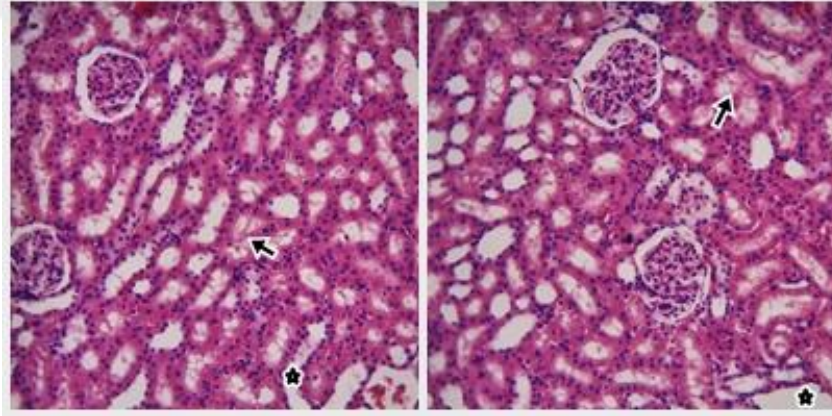
Şekil 4.10. IR grubu böbrek dokusu H&E boyama görüntüleri

IR grubu H&E boyama metodu uygulaması ile böbrek dokusunda tübüler dilatasyonun (yıldız) arttığı dikkati çekmekte. Ayrıca konjesyon (oklar) ve tübüler dejenerasyon (ok başları) artışı izlenmekte. Ax20



Şekil 4.11. NRG/IR grubu böbrek dokusu H&E boyama görüntüleri

NRG/IR H&E boyama metodu uygulaması ile böbrek dokusunda tübüler dilatasyon parametresinde (yıldız) azalma dikkati çekmekte. Ax20



Şekil 4.12. IR/NRG grubu böbrek dokusu H&E boyama görüntüleri

IR/NRG H&E boyama metodu uygulaması ile sham grubuna benzer tübüler dilatasyon (yıldız) izlenmekte. IR ve NRG/IR grubunda artan konjesyonun bu grupta anlamlı şekilde azaldığı dikkati çekmekte. Ax20.

Tablo 4.2. Histopatolojik skor sonuçları (AO±SD ve Med (Min-Max))

	Tübüler Dilatasyon	İnfiltrasyon	Konjesyon	Tübüler Dejenrasyon
Sham	0.53±0.65 0.0 (0.0-2.0)	0.45±0.69 0.0 (0.0-3.0)	0.42±0.61 0.0(0.0-2.0)	1.01±0.93 1.0(0.0-3.0)
IR	1.57±1.02 2.0 (0.0-3.0)	0.40±0.66 0.0 (0.0-3.0)	1.23±1.07 1.0(0.0-3.0)	1.52±1.03 2.0(0.0-3.0)
NRG/IR	0.96±0.90 1.0 (0.0-3.0)	0.30±0.53 0.0 (0.0-2.0)	1.11±0.90 1.0(0.0-3.0)	1.33±0.98 1.0(0.0-3.0)
IR/NRG	0.83±0.92 1.0 (0.0-3.0)	0.21±0.44 0.0 (0.0-2.0)	0.82±0.93 1.0 (0.0-3.0)	0.74±0.83 1.0 (0.0-3.0)

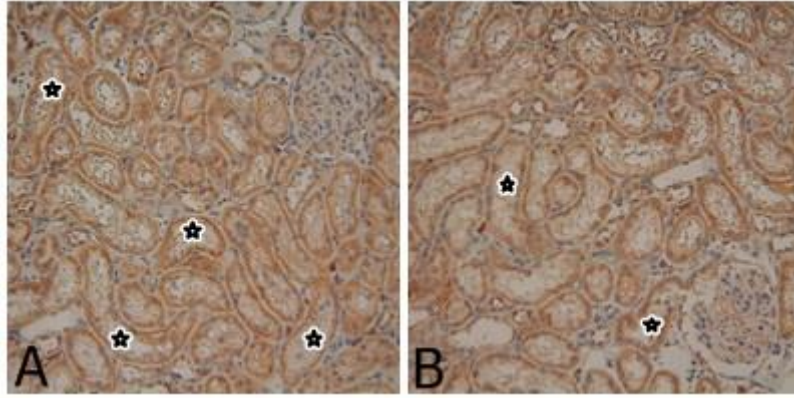
Tablo 4.3. Histopatolojik P değerleri

	Tübüler Dilatasyon	İnfiltrasyon	Konjesyon	Tübüler Dejenrasyon
Sham - IR	0.000	0.612	0.000	0.002
Sham – NRG/IR	0.005	0.236	0.000	0.057
Sham – IR/NRG	0.064	0.022	0.008	0.088
IR-NRG/IR	0.001	0.478	0.566	0.282
NRG/IR-IR/NRG	0.367	0.332	0.045	0.001
IR- IR/NRG	0.000	0.076	0.013	0.000

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

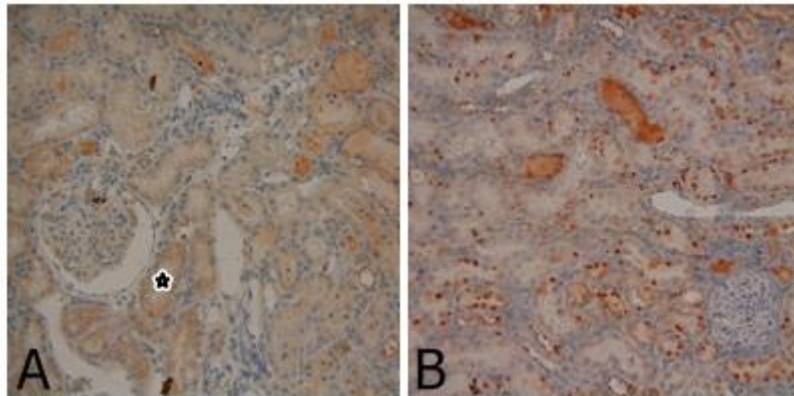
4.3.1. Kisspeptin

Böbrek tübüleri çevresinde ifadelenen kisspeptin immün reaktivitesinin, IR grubunda sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı saptandı. NRG/IR grubunda kisspeptin boyanmasında, IR grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi. IR/NRG grubunda kisspeptin boyanmasının IR göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı saptandı.



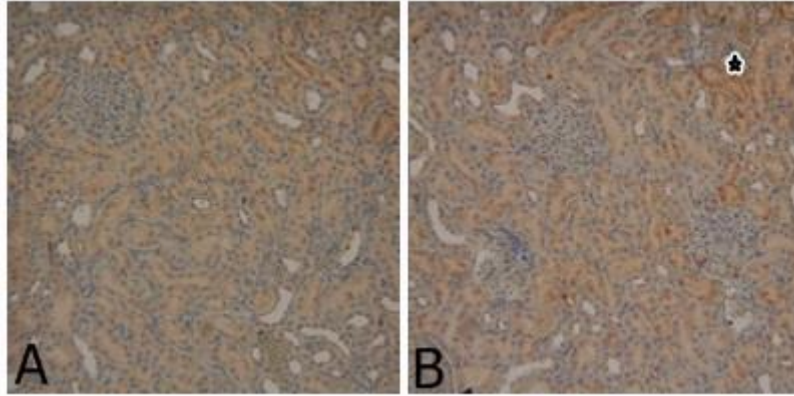
Şekil 4.13. Sham grubu böbrek dokusu kisspeptin immün boyama görüntüleri

Sham grubu kisspeptin immün boyaması ile böbrek tübüllerinde kisspeptin reaktivitesi (yıldız) izleniyor. A,B. Ax20.



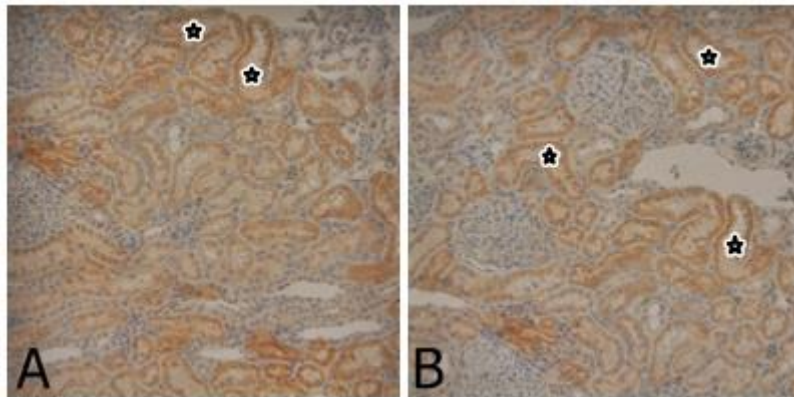
Şekil 4.14. IR grubu böbrek dokusu kisspeptin immün boyama görüntüleri

Kisspeptin immün boyaması ile tübüllerde kisspeptin immün reaktivitesinde azalma (yıldız) dikkati çekmekte. A,B.Ax20.



Şekil 4.15. NRG/IR grubu böbrek dokusu kisspeptin immün boyama görüntüleri

NRG/IR grubu kisspeptin immün boyaması ile tübüllerdeki immün reaktivitenin azaldığı (yıldız) izleniyor. A,B.Ax20.

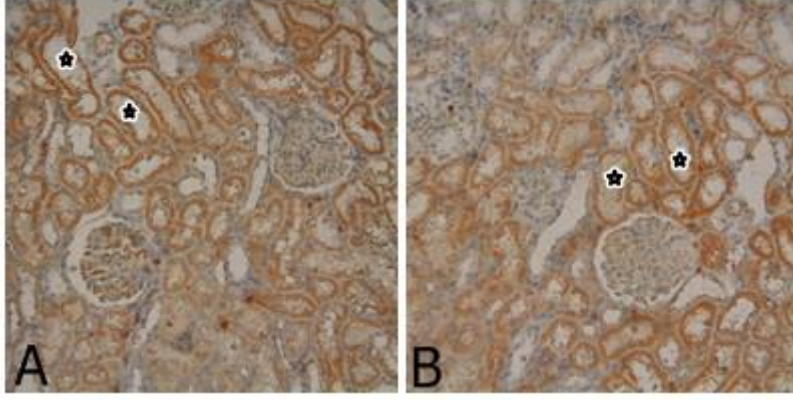


Şekil 4.16. IR/NRG grubu böbrek dokusu kisspeptin immün boyama görüntüleri

IR/NRG grubu kisspeptin immün boyaması ile tübüllerde immün reaktivitenin arttığı (yıldız) izleniyor. A,B.Ax20.

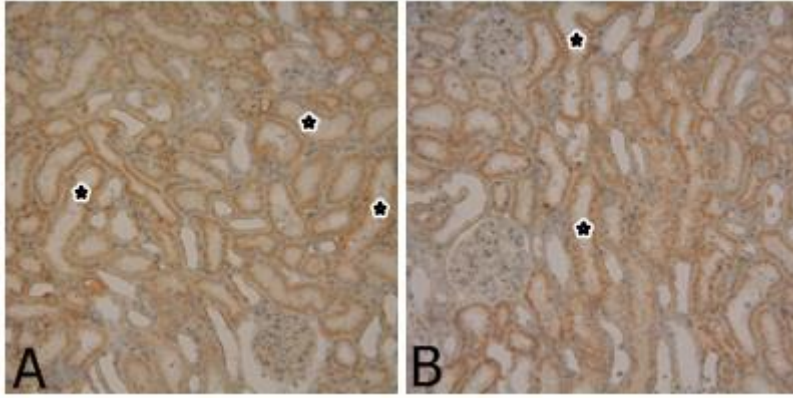
4.4.2. Bcl

Bcl immün reaktivitesinde, IR grubunda sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmedi. NRG/IR grubunda Bcl boyanmasının sham ve IR grubuna göre önemli ölçüde arttığı gözlemlendi. IR/NRG grubunda ise Bcl immün reaktivitesinde IR grubuna göre anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bununla birlikte, IR/NRG grubunda, NRG/IR grubuna göre Bcl boyanmasının önemli ölçüde azaldığı gözlemlendi.



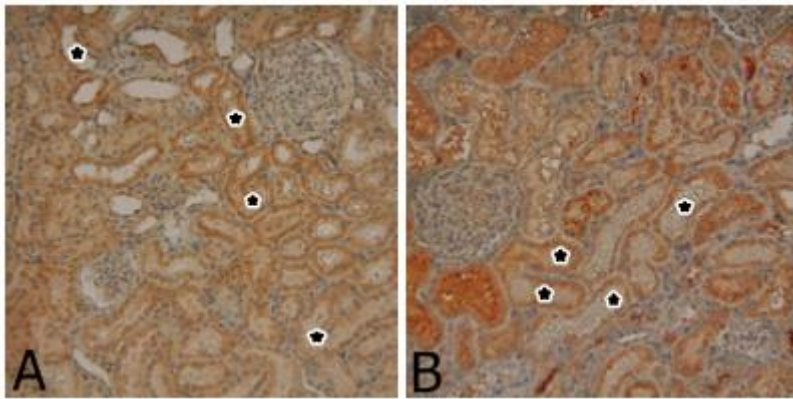
Şekil 4.17. Sham grubu böbrek dokusu Bcl immün boyama görüntüleri

Sham grubu Bcl immün boyaması ile tübüllerdeki immün reaktivitesi (yıldız) izleniyor.
A,B.Ax20.



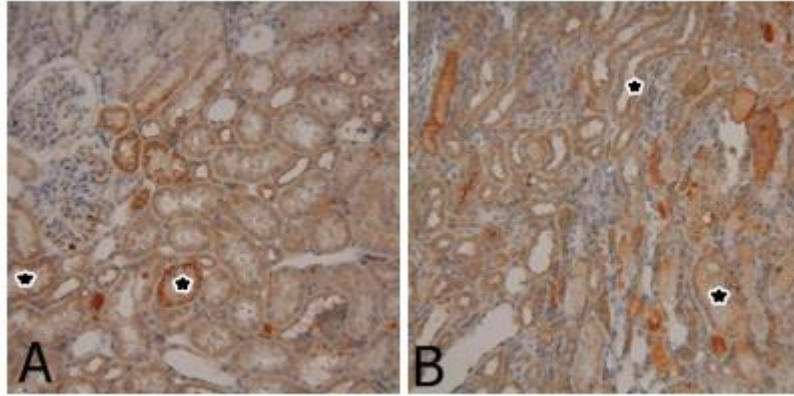
Şekil 4.18. IR grubu böbrek dokusu Bcl immün boyama görüntüleri

IR grubu Bcl immün boyaması ile tübüllerdeki immün reaktivitenin sham grubu ile benzer (yıldız) olduğu izlenmekte. A,B.Ax20.



Şekil 4.19. NRG/IR grubu böbrek dokusu Bcl immün boyama görüntüleri

NRG/ IR grubu Bcl immün boyaması ile tübüllerdeki immün reaktivitenin arttığı dikkati çekmekte (yıldız). A,B.Ax20.

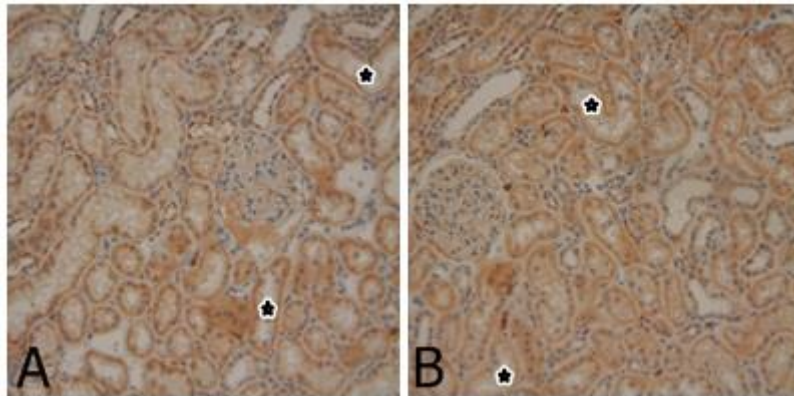


Şekil 4.20. IR/NRG grubu böbrek dokusu Bcl immün boyama görüntüleri

IR/NRG grubu Bcl immün boyaması ile tübüllerdeki immün reaktivitenin IR grubuna benzer olduğu izlenmekte (yıldız). A,B.Ax20.

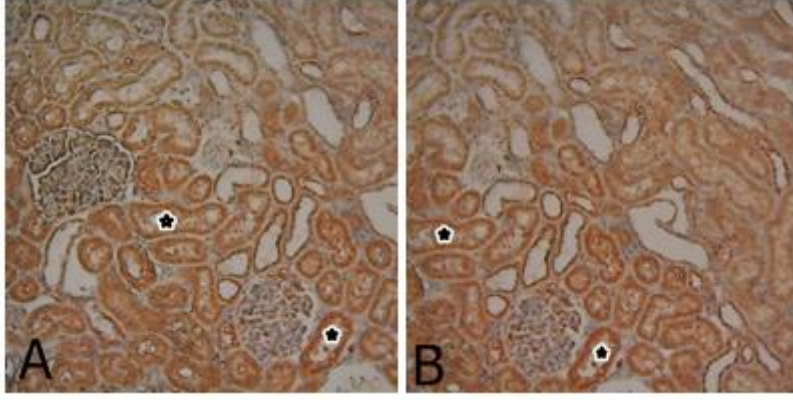
4.4.3. Bax

Bax immün reaktivitesinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Bununla birlikte, böbrek tübüllerindeki bax boyanmasının sham grubu ile karşılaştırıldığında IR grubunda arttığı izlendi.



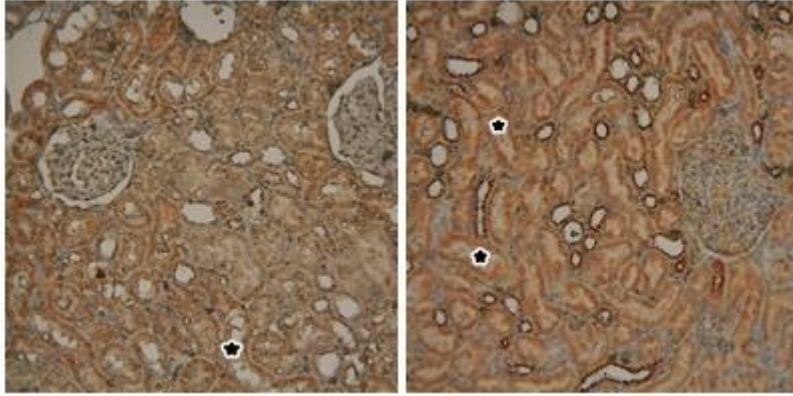
Şekil 4.21. Sham grubu böbrek dokusu Bax immün boyama görüntüleri

Sham grubu Bax immün boyaması ile tübüllerdeki immün reaktivitesi izleniyor (yıldız). A,B.Ax20.



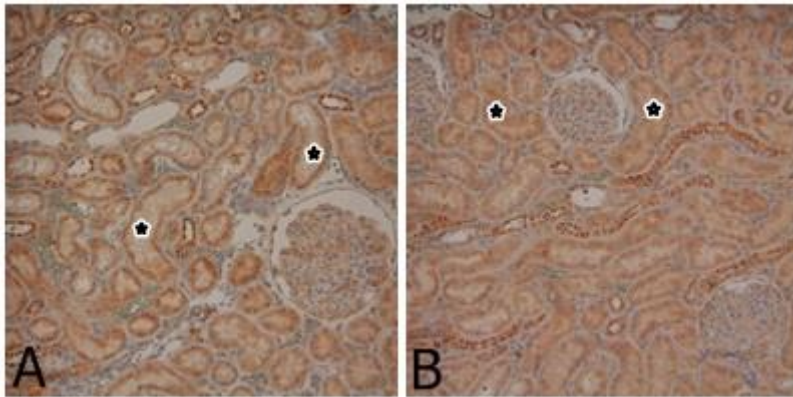
Şekil 4.22. IR grubu böbrek dokusu Bax immün boyama görüntüleri

IR grubu Bax immün boyaması ile tübüllerdeki immün reaktivitenin sham grubu ile benzer (yıldız) olduğu izlenmekte. A,B.Ax20.



Şekil 4.23. NRG/IR grubu böbrek dokusu Bax immün boyama görüntüleri

NRG/IR grubu Bax immün boyaması ile tübüllerdeki immün reaktivitenin IR ve sham grubu ile benzer olarak izlenmekte (yıldız). A,B.Ax20.



Şekil 4.24. IR/NRG grubu böbrek dokusu Bax immün boyama görüntüleri

IR/NRG grubu Bax immün boyaması ile tübüllerdeki immün reaktivitenin IR ve sham grubu ile benzer olarak izlenmekte (yıldız). A,B.Ax20.

Tablo 4.4. Böbrek dokuda her bir antikor için immünreaktivite skor sonuçları

	Kisspeptin	Bax	Bcl
Sham	7.31±3.44 8.0 (1.0-16.0)	3.43±2.53 3.0 (0.0-9.0)	4.08±2.72 4.0(0.0-12.0)
IR	3.95±2.44 3.5 (0.0-12.0)	3.98±3.17 4.0 (0.0-12.0)	4.36±3.27 4.0(0.0-12.0)
NRG/IR	4.26±2.64 4.0 (0.0-9.0)	3.06±2.79 3.0 (0.0-12.0)	5.91±3.47 6.0(0.0-12.0)
IR/NRG	5.03±3.12 6.0 (0.0-12.0)	3.00±2.49 3.0 (0.0-12.0)	4.41±3.26 4.0 (0.0-12.0)

Tablo 4.5. Böbrek dokuda her bir antikor için P değerleri

	Kisspeptin	Bax	Bcl
Sham-IR	0.000	0.484	0.797
Sham- NRG/IR	0.000	0.313	0.004
Sham – IR/NRG	0.001	0.282	0.906
IR - NRG/IR	0.372	0.123	0.015
NRG/IR-IR/NRG	0.161	0.953	0.014
IR- IR/NRG	0.025	0.106	0.991

5. TARTIŞMA

Akut Böbrek Yemezliği (ABY), azotlu atıkların vücuttan atılmasının engellenmesi ve vücutta sıvı elektrolit dengesinin bozulması ile sonuçlanan böbrek fonksiyon bozukluğudur. Fonksiyon kaybı ile idrar çıkışı azaldığından veya olmadığından serumda BUN ve serum kreatin düzeyleri artmaktadır. Böbreğin tamamen kaybı ile de sonuçlanabilen bu durumun evrensel bir tanımlaması bulunmamakla beraber böbreğin GFR'deki ani düşme, aynı zamanda serum kreatin ve BUN artması olarak tanımlanır (64).

ABY pre-renal, renal veya post-renal nedenlerle ortaya çıkabilir. Pre-renal nedenler hipoperfüzyon ile ilişkilendirilir ve ABY'nin yaklaşık %60-70'ini oluşturmaktadır. İskemik ABY, ani olarak renal kan akımının azalmasına bağlı ortaya çıkan genellikle pre-renal nedenli bir durumdur ve kısmi nefrektomi, böbrek nakli, sepsis, kardiyopulmoner bypass gibi cerrahi girişimler ve hidronefrosiz gibi durumlar sonucunda ortaya çıkar. İskemik hasar öncelikle böbreğin hipoksiye duyarlı olan renal medulla kısmından başlar çünkü böbreğe gelen kan akımının büyük kısmı renal korteksten geçer ve renal medullaya çok az kan gider; bu durum renal medullanın hipoksiye daha duyarlı hale gelmesine neden olur. Hasar böbreğin hipoksik durumda kalma süresi ile ilişkilidir. Böbrek dokusunun canlılığını devam ettirmesi ve toksik maddelerden arınması için mutlaka yeniden kanlanması gereklidir ancak şaşırtıcı bir şekilde doku yeniden kanlandığında oluşan harabiyet daha fazladır (2, 65, 66)

İskemi reperfüzyon hasarı, böbrek tübül hücrelerinin hasarlanmış epitel hücrelerinin yerine geçme ve yenilenme yeteneğine bağlı olarak geri dönüşümlü olabilir. Geri dönüşümlü hasarlarda tüm fonksiyonlar geri kazanılabillirken geri dönüşümsüz hasarlar mitokondri bozukluğu ve membran fonksiyon kaybı gibi kalıcı olabilmektedir (67).

Dokuların iskemi reperfüzyonu sırasında; hücrel oksidatif fosforilasyon durur, hücrel enerji gerektiren sodyum-potasyum-adenozintrifosfataz ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz) pompası inhibe olur. Hücre içi Ca^{+2} miktarı artar ki bu durum hücre için sitotoksiktir (15-17). Hücre iskeleti ile membran fosfolipitlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfatazların aktive olması sonucu IR hasarının fizyopatolojisinde önemli bir rol oynadıkları bildirilen SOR'lar oluşur ve oksidatif strese neden olur (3, 4). SOR'lar eşleşmemiş elektronlarından dolayı canlı organizmaların yapısındaki hemen hemen tüm biyomoleküllerle (karbonhidrat, nükleik asit, protein, lipid ve bağ dokusu makromolekülleri) reaksiyona girerek bu moleküller üzerinde geri dönüşlü veya dönüşsüz etkiler meydana getirirler (27). İskemi durumunun düzelmesi için

dokunun yeniden kanlanması gerekecektir ki reperfüzyon başladığında paradoksal olarak dokuya daha fazla zarar verir. Reperfüzyonda iskemik dokuya oksijenin gelmesi ile dokuda hızla SOR oluşur ve bunlar da lipid peroksidasyonuna yol açarak hasarı artırır (18). Ayrıca iskemi ve sonrasında oluşan inflamatuvar yanıt, doku hasarının önemli nedenlerinden birisidir (32). İskemi reperfüzyon esnasında lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu oluşur. Polimorf nüveli lökositler; mikrovasküler oklüzyon, SOR salınımı, vasküler permeabilite artışı, sitokin salınımı ile hasar oluşumuna neden olur (21, 22). Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, nötrofil aktivasyonu ve infiltrasyonu derecesi ile reperfüzyon esnasındaki nekroz uyumlu bulunmuştur (24).

İskemiye bağlı ABY'yi önlemek ve dokuları korumak için çeşitli antioksidan ve antiinflamatuvar maddeler denenmiştir ve hala da denenmektedir. Denenen moleküllerden en çok tercih edilenler, kolay elde edilmesi ve günlük yaşamda besinlerin içerisinde bulunan doğal yapılardan olması sebebiyle flavonoidler olmuştur. Flavonoidler ile yapılan birçok çalışmada antioksidan, antiinflamatuvar, antitümoral etkinlikler gözlenmiştir ve hala çalışmalar devam etmektedir. Fenolik bileşiklerden flavonon grubundan olan Naringenin bu moleküllerden birisidir ve limon, portakal, greyfurt gibi narenciyelerden elde edilen biyoflavonoittir (68).

Biz bu çalışmada; antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi gösterilen naringenin böbrek IR hasarında böbrek fonksiyonları (BUN, kreatin, albumin), antioksidan enzimler (GSH-Px, CAT, SOD), glutayon (GSH), lipid peroksidasyon (MDA) düzeyleri ile böbrekte histopatolojik değişiklikler üzerinde etkilerinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda temel antioksidan enzimlerden olup SOR'ların vücuttan uzaklaştırılmasını ve hasar oluşumunun azaltan SOD, CAT ve GSH-Px gibi enzimlerin düzeyleri incelendiğinde IR grubunda bu enzimlerin miktarının azaldığı, tedavi gruplarında ise anlamlı düzeyde arttığı gözlemlendi. İskemi reperfüzyon hasarı patofizyolojisini değerlendirmede kullanılan ve lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA parametresi IR grubunda artarken, tedavi gruplarında sham grubuna benzer şekilde anlamlı olarak azaldı. Hücrelerde büyüme faktörlerinin salınımını indükleyen aminoasit yapılı bir madde olan kisseptin boyama ile dokularda iskemik hasarın ve apoptozisin durumu gözlemlendi. Çalışmamızda kisseptin boyamasının IR/NRG grubunda, IR grubuna göre arttığı ($p < 0.05$) saptandı. Bu durum iskemi sonrası naringenin uygulamasının hücresel büyüme faktörlerini aktive ettiğini göstermektedir. Apoptozisin değerlendirilmesinde kullanılan bir diğer parametre olan Bcl-2 proteinleri hücrelerin apoptotik uyarılara karşı duyarsız hale gelmesini sağlayıp ölümünü engelleyen mitokondriyal membran proteinidir. Bcl immün reaktivitesi apoptozisin azalması ile

uyumludur. Çalışmamızda NRG/IR grubunda sham ve IR grubuna göre önemli ölçüde arttığı gözlemlendi. Bu durum tedavi grubumuzun iskemik hasarı azalttığını göstermektedir. Bax, Bcl-2 ilişkili proteindir ve hücrel apoptozisin bir diğer belirteçidir. Çalışmamızda Bax immün reaktivitesinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Bununla birlikte, böbrek tübüllerindeki Bax boyanmasının sham grubu ile karşılaştırıldığında IR grubunda arttığı ($p<0.05$) izlendi.

Akut veya kronik böbrek hasarının değerlendirilmesinde kullanılan BUN, kreatin ve albumin değerlendirildiğinde IR grubu, sham grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir artış vardır bu durum böbrek hasarının oluştuğunu göstermektedir. Ancak tedavi grupları arasında fark ($p<0.05$) tespit edilemedi. Albumin incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. Dokuların makro ve mikro değerlendirilmesinde kullanılan histolojik incelemelerle, dokularda hasar veya iyileşme gözlenmektedir. Yapılan böbrek dokusu H&E boyamada; IR grubunda sham grubuna göre böbrek hasarını gösteren tübüler dilatasyon, tübüler dejenerasyon ve konjesyonda istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi. NRG/IR grubunda, IR grubuna göre tübüler dilatasyon parametresinin azaldığı, hasar grubunda artmış olan konjesyon, tübüler dejenerasyon ve tübüler dilatasyon, iskemi sonrası naringenin grubunda anlamlı olarak azaldığı tespit edildi.

NRG'in antiinflamatuvar özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, etanol ile oluşturulmuş karaciğer hasarı modelinde NRG kullanılmıştır. Hasarlı gruplarda glial hücrelerde inflamasyondan sorumlu olan i-NOS ve Nitrik Oksit (NO) miktarları artmışken, NRG uygulanan gruplarda bu parametlerin azaldığı rapor edilmiştir (69). Yapılan başka bir çalışmada ise T-lenfositleri üzerine NRG'nin etkileri incelenmiş ve antiinflamatuvar mekanizmalardan sorumlu olan T-lenfositleri üzerinde baskılayıcı etkileri gösterilmiştir (53). Yılma ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, canlı *C. trachomatis* ile enfekte J774 makrofajları tarafından üretilen enflamatuvar mediatörleri düzenlemek için NRG kullanılmıştır. Enfekte olmuş makrofajların geniş spektrumlu inflamatuvar sitokinler ve kemokinler ürettiği ve bunların NRG tarafından doza bağlı bir şekilde inhibe edildiği rapor edilmiştir (70).

Temel antioksidan enzimler olan SOD, CAT, GSH-Px, GSH miktarlarındaki artışlar hücrenin apoptozuna sebebiyet verebilecek serbest radikal hasarını önleyebilen enzimlerdir. Yapılan in-vitro bir çalışmada NRG'in antioksidan aktivitesi ve oksidatif hasara karşı koruyucu özelliği değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre in vitro ortamda NRG, hidroksil ve süperoksit radikallerini süpürücü etki göstermiştir. Ayrıca NRG, doza bağlı bir şekilde lipidleri oksidatif hasara karşı korumada ve DNA hasarını azaltmada etkili bulunmuştur (71).Sisplatin ile

oluşturulmuş renal hasar modelinde, hasar grubunda SOD, CAT, GSH-Px, miktarlarında anlamlı azalma gözlenirken, NRG'li tedavi grubunda anlamlı artış gözlenmiştir (72). Yine naringenin ile çalışılmış ülseratif kolit modelinde CAT ve SOD değerleri incelenmiş, bakılan bu parametrelerde, hasar grubunda CAT ve SOD enzim seviyeleri azalırken doz bağımlı tedavi gruplarında bu enzim miktarlarındaki azalma inhibe edilmiştir (73). Renal iskemi-reperfüzyon hasarında aynı flavonoid grubunda yer alan naringenin etkinliği çalışılmış başka bir modelde ise yukardaki verilerle paralel olarak hasar grubunda GSH, CAT, SOD değerleri azalırken tedavi gruplarında kontrol grubuna yaklaşan anlamlı yükselişler gözlenmiştir (74). Dalia I.Al Dosari ve arkadaşlarının diyabetik sıçanlarda yaptığı çalışmada NRG, diyabette azalmış GSH seviyelerini artırmıştır (75). Jicang Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, karaciğer ve böbrek dokusundaki kurşun kaynaklı oksidatif strese, GSH, SOD, CAT ve GSH-Px seviyelerini anlamlı olarak azalmıştır. NRG ise bu değerleri düzelterek antioksidan aktivite gösterip, karaciğerde ve sıçanların böbreklerinde kurşun kaynaklı oksidatif hasara karşı koruyucu bir rol oynamıştır (76). M. Rajadurai ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada isoproterenol ile deneysel miyokardiyal enfarktüs modeli oluşturulmuştur. İsooproterenol uygulandıktan sonra anlamlı bir şekilde azalan antioksidan enzimler SOD, CAT, GSH-Px, GSH gibi parametreler, naringin uygulanmasının ardından anlamlı bir şekilde lipid peroksidlerin seviyelerini azaltıp, mitokondriyal antioksidan aktivite ve seviyelerini artırmıştır (77). Bizim çalışmamızda bakılan SOD, CAT değerleri yukarıdaki çalışmalarla paralel sonuç gösterdi. GSH incelendiğinde tüm gruplar arasında anlamlı fark yoktur ancak IR/NRG ve NRG/IR grubunda nisbi artışlar mevcuttur. GSH-Px enzimi incelendiğinde sham grubu diğer gruplardan anlamlı olarak farklı olsa da hasar, tedavi ve koruyucu gruplar anlamlı olarak ayrılamadı.

MDA lipid peroksidasyon ürünüdür ve hücrel yapılar da serbest radikal etkinliğinin artışını ifade eder. Ayrıca inflamasyon sürecinde lipid peroksidasyonunu artırarak inflamasyon sürecine katkı sağlar. Arabzadegan ve arkadaşlarının yapmış fazla kilolu ve obez kadınlarda inflamasyon belirteçlerinin incelendiği bir çalışmada TNF- α , CRP ve MDA seviyeleri inflamasyon durumunda pozitif yönde uyumlu bulunmuştur (85). Yapılmış başka bir oksidatif stres ve psoriyazis çalışmasında IL-6 ve MDA seviyeleri uyumlu bulunmuştur (86). Bu sebeplerle inflamasyon belirteçleri arasında gösterilmiştir. Renal iskemi-reperfüzyon hasarında naringenin etkinliği çalışılmış bir deney modelinde MDA seviyeleri hasar gruplarında oldukça yüksekken tedavi ve kontrol gruplarında anlamlı olarak düşük bulunmuştur (74). Yapılan başka bir çalışmada NRG, mikrozomal lipid peroksidasyonunu, nonenzimatik lipid peroksidasyonunu ve askorbik aside bağlı MDA oluşumunu inhibe ettiği de gösterilmiştir (78). Çalışmamızda,

MDA değerleri karşılaştırıldığında IR grubunda anlamlı olarak arttığı diğer gruplarda sham grubuna yakın olduğu gözlenmektedir. Bu durum IR grubumuzda beklenen oksidan hasarın olduğunu ispatlarken IR/NRG ve NRG/IR gruplarındaki anlamlı düşüş naringenin antioksidan ve antiinflamatuvar kapasitesinin olabileceğini göstermektedir.

Bcl-2 proteinleri çeşitli zararlı uyanlarla indüklenen hücrelerin apoptotik ölümünü engelleyen mitokondriyal membran proteinidir (79). Bu proteinler hücreleri apoptotik uyanlara karşı duyarsız duruma getirir. Bu sayede hücrelerin hayatta kalımını kolaylaştırır. Yapılan bir çalışmada fokal iskemi hasarında beyinlerinde Bcl-2 salınımı fazla olan ratlarda iskeminin neden olduğu enfarktüs boyutları %50 oranında azalmıştır (80). Çalışmamızın histopatolojik değerlendirmesinde Bcl-2 proteinleri; sham grubu ve IR grubu arasında anlamlı fark gözlenirse de NRG/IR grubunda bu iki gruba göre anlamlı artış vardır. IR/NRG grubunda ise NRG/IR grubuna göre anlamlı artış mevcuttur. NRG, Bcl-2 salınımını indüklemiş ve hücrel apoptozisi yavaşlatmıştır.

Bax proteinleri bulunduğu hücrede apoptoza gidişi hızlandıran Bcl-2 ilişkili X proteinidir. Bax ile ilgili yapılmış bir çalışmada renal IR hasar grubunda sham grubuna göre mitokondriyal Bax seviyeleri artmıştır. Yapılan önkoşullama tedavisi sonrasında tedavi gruplarında, IR grubuna kıyasla mitokondriyal Bax seviyelerinde anlamlı azalma görölmüştür (81). Yapılan başka bir çalışmada NRG tedavisinin diyabetik retinada apoptosiz düzenleyici proteinlerden apoptozis inhibitörü olan Bcl-2 seviyesini artırıp; Bax ve kaspaz-3 düzeylerini azaltarak, apoptozisi engellediği rapor edilmiştir (75). Bizim çalışma sonuçlarımıza göre; Bax, IR grubunun renal tübüllerinde anlamlı olarak artmıştır ancak diğer gruplarda anlamlı bir değişim gözlenmedi.

Kisspeptin, G proteinine bağlı membran reseptörleri ile üreme fonksiyonlarını ve ergenliği kontrol etmede rol oynayan bir 145 amino asit proteinidir. Çalışmalar kisspeptinin hipotalamik hipofiz gonadal eksenini indüklediğini ve oksidatif hasara karşı bir antioksidan enzim ekspresyonu düzenlediğini ortaya koymaktadır (82). Uterus ve overler üzerinde yapılmış bir çalışmada kisspeptin-10, oksitosin tedavisinin over ve uterusu IR hasarından koruduğu gözlemlenmiştir. Oksitosin ve Kisspeptin-10 tedavisi, MDA seviyesinde azalma, SOD ve GSH düzeylerinde artış ile histopatolojik hasarı azaltmıştır (83). Bizim çalışmamızda; IR grubunda kisspeptin immun reaktivitesinde sham grubuna göre anlamlı azalma gözlendi. Bununla birlikte IR/NRG grubunda kisspeptin immun reaktivitesi IR grubuna göre anlamlı olarak artmıştır.

BUN, kreatin ve albumin böbrek fonksiyonlarını gösteren ve akut ve kronik böbrek hasarında hasta takibinde kullanılan parametrelerdir. Sıçanlarda renal iskemi reperfüzyon modelinde naringinin etkisinin incelendiği bir modelde serum BUN ve kreatin parametreleri bakılmış. Yapılan bu çalışmada serum BUN ve kreatin IR grubunda sham grubuna göre anlamlı artışlar gösterirken tedavi gruplarında IR grubuna göre anlamlı düşüşler gözlenmiştir (74). Dekspantenol kullanılan başka bir renal iskemi reperfüzyon çalışmasında BUN, kreatin ve albumin parametreleri değerlendirildiğinde; BUN, kreatin IR grubunda anlamlı olarak artmıştır. Ancak diğer gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Albumin değerlendirildiğinde ise tüm gruplarda anlamlı fark görülememiştir (84). Bizim çalışmamızda da bu çalışma ile paralel sonuçlandı. BUN ve kreatin IR grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak arttı ve hasar gerçekleşti. Ancak IR, NRG/IR ve IR/NRG grubunda anlamlı fark yoktur. Albumin tüm gruplarda benzerdir ve anlamlı fark bulunamadı.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Normal metabolizma sonucu oluşan veya dışarıdan ksenobiyotik olarak aldığımız serbest radikaller vücudumuzda hücrel yapıların bozulmasına, doku ve organlarda işlev kaybına sebebiyet vermektedir. Bu hasarların oluşmasını önlemek ve oksidan maddeleri uzaklaştırabilmek için kullanılabilir doğal maddeler günümüzde popüler hale gelmiştir.

Doğal maddeler tercih edilirken ucuz olması ve kolay ulaşılabilmesi, dünyanın her yerinde yetiştirilebilmesi önemli parametrelerdir. Bu özellikleri üzerinde barındırılan turunçgiller araştırmacılar için her zaman değerli olmuştur. Zengin vitamin ve mineral yapısı, güçlü fenolik bileşik içeriğiyle her zaman değerini koruyacaklardır.

Çoğu turunçgilin içeriğinde bulunan fenolik bileşiklerden naringenin yüksek antioksidan kapasitesiyle son zamanlarda dikkat çeken maddeler arasındadır. Antioksidan, antiinflamatuvar, antitümöral etkileri naringenin çalışılmaya değer bir molekül olduğunu desteklemektedir.

Bizim çalışma sonuçlarımız değerlendirildiğinde, naringenin SOD, CAT gibi antioksidan parametreleri artırıp, apoptozisi indükleyen bax miktarlarını azaltıp Bcl-2 gibi apoptozis inhibitörü yapıların hücrel miktarlarını artırıp hücre ve dokuları serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruduğunu, böbrek iskemi reperfüzyon hasarında tedavi edici ve koruyucu olabileceğini gözlemledik.

Literatürdeki mevcut çalışma sonuçlarına göre; antiinflamatuvar, antiapoptotik, antikanserojen, antiülseratif, antihistaminik etkileri gösterilen naringenin günlük diyetle mutlaka alınması gerektiğini düşünmekteyiz. Ayrıca NRG'nin koruyucu veya tedavi edici etkilerinin değerlendirilmesi için daha fazla deneysel ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Ögütmen MB. Akut böbrek yetmezliği. *GKDAYB Journal* 2011,(2):25-33.
2. Aydoğdu N, Kaymak K, Yalçın Ö. Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında nasetilsisteinin etkileri. *Fırat Tıp Dergisi*. 2005, 10(4):151-5.
3. Şener G, BÇ Y. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Derg*. 2009, 22(3):5-14.
4. Bonventre JV, Weinberg JM. Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. *JASN*. 2003, 14(8):2199-210.
5. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2016, 4(1):23-25.
6. Alam MA, Subhan N, Rahman MM, Uddin SJ, Reza HM, Sarker SD. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *Advances in Nutrition*. 2014, 5(4):404-17.
7. Klatt T, Ficarra V, Gratzke C, Kaouk J, Kutikov A, Macchi V, et al. A literature review of renal surgical anatomy and surgical strategies for partial nephrectomy. *European urology*. 2015, 68(6):980-92.
8. Cracco CM, Vercelli AE. Anatomy for PNL. *Supine Percutaneous Nephrolithotomy and ECIRS*. 2014, 41-55.
9. Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier. 2011, 107.
10. Aydın S. *İnsan anatomisi ve fizyolojisi*, Eskişehir, Anadolu Üniversitesi Yayınları, 2000, 45-49.
11. Anderson J K, Kabalin J N, Cadeddu J. Surgical anatomy of the retroperitoneum, adrenals, kidneys, and ureters. In: Wein AJ (eds). *Campbell-Walsh Urology*. 9th ed., Philadelphia: Elsevier, 2007.
12. Kelalis PP, King LR, Belman AB. *Clinical Pediatric Urology*. 5th ed. Florida, Crc Press, 1985, 218-221.
13. Özel Y. Ratlarda karaciger iskemi/reperfüzyon hasarında grape seed proanthocyanidinin koruyucu etkilerinin incelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genel Cerrahi Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, İstanbul. 2006.
14. Kandilci HB, Gümüsel B. Akciğerlerde iskemi reperfüzyon hasarı ve iskemik önkoşullanma. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 2005, 25:35.

15. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annual review of medicine*. 1991, 42(1):225-46.
16. Green C, Gower J, Healing G, Cotterill L, Fuller B, Simpkin SJFrrc. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radical Research Communications*. 1989, 7(3-6):255-64.
17. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Annals of Neurology*. 1992, 32(S1):S33-S42.
18. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *The surgical clinics of North America*. 1992, 72(1):65-83.
19. Acworth I, Bailey B. Reactive oxygen species. *The Handbook of Oxidative Metabolism*. Massachusetts: ESA Inc. 1997,1-30.
20. Reiter R. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *The FASEB journal*. 1995, 9(7):526-33.
21. López-Neblina F, Páez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of protection of verapamil by preventing neutrophil infiltration in the ischemic rat kidney. *Journal of Surgical Research*. 1996, 61(2):469-72.
22. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thrombosis and haemostasis*. 2007, 97(05):738-47.
23. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British medical bulletin*. 2004,70(1):71-86.
24. Thrane A, Skehan J, Thrane P. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Medical hypotheses*. 2007, 68(6):1363-70.
25. Weight S, Bell P, Nicholson M. Renal ischaemia- reperfusion injury. *British Journal of Surgery*. 1996, 83(2):162-70.
26. García-Villalón AL, Amezcua YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascular pharmacology*. 2008, 48(2-3):109-14.
27. Aybey B, Tufan H, Ergenekon G. Serbest radikaller. *Türkderm*. 1996, 30:116-22.
28. Akkuş İ. *Serbest radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Mimoza Yayınları, Konya. 1995;32.
29. Erenel G, Erbaş D, Arıcioğlu A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi medical journal*. 1992, 3(4).
30. Halliwell B, Gutteridge JC. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *The Lancet*. 1984, 323(8391):1396-7.

31. Younes M, Siegers C-P. Interrelation between lipid peroxidation and other hepatotoxic events. *Biochemical pharmacology*. 1984, 33(13):2001-3.
32. Özden A, Aybek Z, Saydam N, Calli N, Saydam O, Düzcan E, et al. Cytoprotective effect of trimetazidine on 75 min warm renal ischemia-reperfusion injury in rats. *European surgical research*. 1998, 30(4):227-34.
33. Rabb H, O'Meara YM, Maderna P, Coleman P, Brady HR. Leukocytes, cell adhesion molecules and ischemic acute renal failure. *Kidney international*. 1997, 51(5):1463-8.
34. Vetterlein F, Petho A, Schmidt G. Distribution of capillary blood flow in rat kidney during posts ischemic renal failure. *American Journal of Physiology*. 1986, 251(3):H510-H9.
35. Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney international*. 2004, 66(2):486-91.
36. Hellberg P, Kallskog OT, Ojteg G, Wolgast M. Peritubular capillary permeability and intravascular RBC aggregation after ischemia: effects of neutrophils. *American Journal of Physiology*. 1990, 258(4):F1018-F25.
37. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1986, 246(2):501-14.
38. Percival M. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*. 1998, 1:96.
39. Alam MN, Bristi NJ, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2013, 21(2):143-52.
40. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy Y, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2010, 3(1):91-100.
41. Sen S, Chakraborty R. The role of antioxidants in human health. *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy*. 2011, 1083:1-37.
42. Is Y, Woodside J. Antioxidant in health and disease. *J Clin Pathol*. 2001, 54(3):176-86.
43. Limón-Pacheco J, Gonsebatt ME. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research*. 2009, 674(1-2):137-47.
44. Nichenametla SN, Taruscio TG, Barney DL, Exon JH. A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2006, 46(2):161-83.
45. Dimitrios B. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*. 2006, 17(9):505-12.

46. Serteser A, Gök V. Doğal antioksidanların biyoyararlılığı. Gıda Mühendisliği Kongresi. 2003, 2-4.
47. Acar J, Gökmen V. Fenolik bileşikler ve doğal renk maddeleri. *Gıda Kimyası*. 1998, 435-52.
48. Kim D-O, Lee CY. Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2004, 44(4):253-73.
49. Meral R, Doğan İS, Kanberoğlu GS. Fonksiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2012, 2(2):45-50.
50. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*. 1996, 20(7):933-56.
51. Kannappan S, Palanisamy N, Anuradha CV. Suppression of hepatic oxidative events and regulation of eNOS expression in the liver by naringenin in fructose-administered rats. *European journal of pharmacology*. 2010, 645(1-3):177-84.
52. Hsiu S-L, Huang T-Y, Hou Y-C, Chin D-H, Chao P-DL. Comparison of metabolic pharmacokinetics of naringin and naringenin in rabbits. *Life sciences*. 2002, 70(13):1481-9.
53. Ribeiro IA, Rocha J, Sepodes B, Mota-Filipe H, Ribeiro MH. Effect of naringin enzymatic hydrolysis towards naringenin on the anti-inflammatory activity of both compounds. *Journal of Molecular Catalysis*. 2008, 52:13-8.
54. Renugadevi J, Prabu SM. Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology*. 2009, 256(1-2):128-34.
55. Nuransoy A, Beytur A, Polat A, Samdanci E, Sagir M, Parlakpınar H. Protective effect of sitagliptin against renal ischemia reperfusion injury in rats. *Renal failure*. 2015, 37(4):687-93.
56. Testai L, Martelli A, Marino A, D'antongiovanni V, Ciregia F, Giusti L, et al. The activation of mitochondrial BK potassium channels contributes to the protective effects of naringenin against myocardial ischemia/reperfusion injury. *Biochemical Pharmacology*. 2013, 85(11):1634-43.
57. Cayci C, Wahlquist TC, Seckin SI, Ozcan V, Tekinay AB, Martens TP, et al. Naringenin inhibits neointimal hyperplasia following arterial reconstruction with interpositional vein graft. *Annals of plastic surgery*. 2010, 64(1):105-13.
58. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical chemistry*. 1988, 34(3):497-500.
59. Durak İ, Akyol Ö, Es MU, Canbolat O, Akpoyraz M. Element structure in stenotic mitral valves. *The American journal of cardiology*. 1993, 71(4):355.

60. Beutler E. Improved method for the determination of blood glutathione. *J lab clin Med.* 1963;61:882-8.
61. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in enzymology.* 1990;186:407-21.
62. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J lab clin Med.* 1967;70(1):158-69.
63. Aebi H, Wyss SR, Scherz B, Skvaril F. Heterogeneity of erythrocyte catalase II: isolation and characterization of normal and variant erythrocyte catalase and their subunits. *European journal of biochemistry.* 1974;48(1):137-45.
64. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure—definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Critical care.* 2004;8(4):R204.
65. Sheridan AM, Bonventre JV. Pathophysiology of ischemic acute renal failure. *Blood Purification in Intensive Care.* 2001;132:7-21.
66. Murray R, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Illustrated Biochemistry.* (LANGE basic science): McGraw-Hill Medical; 2003.
67. Okusa MD. The inflammatory cascade in acute ischemic renal failure. *Nephron.* 2002;90(2):133-8.
68. Waratchada S, Jintawee K, Roswitha S, Thanyada R, Wolschann P, Nawee K, et al. Physical properties and biological activities of hesperetin and naringenin in complex with methylated β -cyclodextrin. *Beilstein Journal of Organic Chemistry.* 2015;11:2763-73.
69. Jayaraman J, Jesudoss VAS, Menon VP, Namasivayam N. Anti-inflammatory role of naringenin in rats with ethanol induced liver injury. *Toxicology Mechanisms and Methods.* 2012;22(7):568-76.
70. Yilma AN, Singh SR, Morici L, Dennis VA. Flavonoid naringenin: a potential immunomodulator for Chlamydia trachomatis inflammation. *Mediators of inflammation.* 2013; 2:35-44.
71. Cavia- Saiz M, Busto MD, Pilar- Izquierdo MC, Ortega N, Perez- Mateos M, Muñiz P. Antioxidant properties, radical scavenging activity and biomolecule protection capacity of flavonoid naringenin and its glycoside naringin: a comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2010;90(7):1238-44.
72. Badary OA, Abdel-Maksoud S, Ahmed WA, Owieda GH. Naringenin attenuates cisplatin nephrotoxicity in rats. *Life sciences.* 2005;76(18):2125-35.

73. Naumovski L, Cleary M. Bcl2 inhibits apoptosis associated with terminal differentiation of HL-60 myeloid leukemia cells. *Blood*. 1994, 83(8):2261-7.
74. Singh D, Chopra K. The effect of naringin, a bioflavonoid on ischemia-reperfusion induced renal injury in rats. *Pharmacological research*. 2004, 50(2):187-93.
75. Al-Dosari D, Ahmed M, Al-Rejaie S, Alhomida A, Ola M. Flavonoid naringenin attenuates oxidative stress, apoptosis and improves neurotrophic effects in the diabetic rat retina. *Nutrients*. 2017, 9(10):1161.
76. Wang J, Yang Z, Lin L, Zhao Z, Liu Z, Liu X. Protective effect of naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biological trace element research*. 2012, 146(3):354-9.
77. Rajadurai M, Prince PSM. Naringin ameliorates mitochondrial lipid peroxides, antioxidants and lipids in isoproterenol- induced myocardial infarction in Wistar rats. *Phytotherapy Research*. 2009, 23(3):358-62.
78. Wilcox LJ, Borradaile NM, Huff MW. Antiatherogenic properties of naringenin, a citrus flavonoid. *Cardiovascular Drug Reviews*. 1999, 17(2):160-78.
79. Isenmann S, Stoll G, Schroeter M, Krajewski S, Reed JC, Bähr M. Differential regulation of Bax, Bcl- 2, and Bcl- X proteins in focal cortical ischemia in the rat. *Brain Pathology*. 1998, 8(1):49-62.
80. Chen H, Xing B, Liu X, Zhan B, Zhou J, Zhu H, et al. Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after renal ischemia/reperfusion injury in rat. *Transplant International*. 2008, 21(4):364-71.
81. Akkaya H, Kilic E, Eyuboglu Dinc S, Yilmaz B. Postacute Effects of Kisspeptin- 10 on Neuronal Injury Induced by l- Methionine in Rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*. 2014, 28(8):373-7.
82. Aslan M, Senturk GE, Akkaya H, Sahin S, Yılmaz B. The effect of oxytocin and Kisspeptin- 10 in ovary and uterus of ischemia-reperfusion injured rats. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2017, 56(4):456-62.
83. Al-Rejaie SS, Abuhashish HM, Al-Enazi MM, Al-Assaf AH, Parmar MY, Ahmed MM. Protective effect of naringenin on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2013, 19(34):5633.
84. Altintas R, Parlakpınar H, Beytur A, Vardi N, Polat A, Sagir M, et al. Protective effect of dexpanthenol on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats. *Kidney and Blood Pressure Research*. 2012, 36(1):220-30.

85. Arabzadegan N, Daneshzad E, Fatahi S, Moosavian SP, Surkan PJ, Azadbakht L. Effects of dietary whole grain, fruit, and vegetables on weight and inflammatory biomarkers in overweight and obese women. *Eating and Weight Disorders-Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity*. 2019, 1-9.
86. Ikonomidis I, Makavos G, Papadavid E, et al. Similarities in coronary function and myocardial deformation between psoriasis and coronary artery disease: the role of oxidative stress and inflammation. *Can J Cardiol*. 2015, 31(3):287–295



EKLER

EK 1. Özgeçmiş

1992 yılında Malatya'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Malatya'da tamamladım. Beydağı Anadolu Lisesi'nden 2010 yılında birincilik derecesi ile mezun olup aynı yıl İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesini kazandım. 2015 yılında dönem ikincisi olarak mezun oldum. 1 yıl hastane eczacılığı yaptıktan sonra 2016 yılında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım. Halen serbest eczane sahip ve mesul müdürüyüm.



EK 2. Etik kurul belgesi



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 23-02-2017
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
Araştırma Protokol no.su : 2017/A-10
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyu : Wistar Albino
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 32 Adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 3-4 Aylık 250-300 g

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Doç.Dr.Seda TAŞDEMİR'in yürütücüsü olduğu "Ratlardaki renal iskemi-reperfüzyon hasarında naringenin koruyucu etkisi." isimli 2017/A-10 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 getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına 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	 Doç. Dr. Şengül YÜKSEL Üye
 Vet.Hek. Özge ÖZYALIN Üye	 Akın ÖZ Sivil Üye	 Dr. Mehmet DENİZ Sivil Üye