



**RATLARDA AKUT PANKREATİTE BAĞLI GELİŞEN
BÖBREK HASARINDA *LYCIUM BARBARUM*(GOJİ)
BİTKİ EKSTRESİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

Tuğba DOĞAN

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Kadir BATÇIOĞLU**

Yüksek Lisans Tezi - 2016

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDA AKUT PANKREATİTE BAĞLI GELİŞEN BÖBREK HASARINDA
LYCIUM BARBARUM (GOJİ) BİTKİ EKSTRESİNİN KORUYUCU
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Tuğba DOĞAN

Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Kadir BATÇIOĞLU

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından 2011/57 proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA
2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Tuğba DOĞAN**'ın **“Ratlarda Akut Pankreatite Bağlı Gelişen Böbrek Hasarında Lycium Barbarum(Guji) Bitki Ekstresinin Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi.”** konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20/09/2016



Prof. Dr. Necmi ÖZDEMİR
Fırat Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Kadir BATÇIOĞLU
İnönü Üniversitesi
Tez Danışmanı
Üye



Yrd. Doç. Dr. Ayşe Burçin UYUMLU
İnönü 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/...../2016 tarih ve 2016/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÖZET	viii
ABSTRACT.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Pankreas	4
2.1.1. Pankreas Anatomisi	4
2.1.2. Pankreas Histolojisi	6
2.1.3. Pankreas Fizyolojisi	6
2.2. Akut Pankreatit	8
2.2.1. Akut Pankreatitin Sınıflandırılmaları.....	8
2.2.2. Etyoloji.....	9
2.2.3. Patogenez	11
2.2.4. Akut Pankreatitte Pankreas Dışı Organ Hasarı	15
2.2.5. Akut Pankreatitte Renal Dejenerasyon	17
2.3. Serbest Oksijen Radikalleri ve Türleri.....	23
2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Oksidatif Stres.....	26
2.3.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Hedeflere Etkileri	27
2.4. Akut Pankreatit ve Oksidatif Stres.....	32
2.5. Antioksidanlar.....	34
2.6. Antioksidan Etki Mekanizmaları	36
2.6.1. Enzimatik Antioksidan Sistemler	37
2.6.2. Enzimatik Olmayan Antioksidan Sistemler.....	38
2.7. Lycium Barbarum (Goji) Meyvesi	40
2.7.1. Botanik Özellikleri.....	41
2.7.2. Kimyasal Bileşenleri.....	42
2.7.3. Geleneksel Kullanım.....	44
2.7.4. Etkileri	45
2.7.5. İmmünomodülatör Etkileri	46

2.7.6. Anti Bakteriyal Etkileri.....	48
2.7.7. Antikanser ve Sitoprotektif Etkiler	48
2.7.8. Toksisite.....	50
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	52
3.1. Gereçler.....	52
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler	52
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	53
3.1.3. <i>Lycium Barbarum</i> Numunelerin Ekstraksiyon İşlemleri	53
3.1.4. Deney Hayvanlarının Temini ve Deneylere Hazırlanması	56
3.2. Yöntem.....	56
3.2.1. Deney Grupları	56
3.2.2. Numune Alınması ve Hazırlık İşlemleri	56
3.3. Böbrek Dokularının Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması	57
3.4. Biyokimyasal Analizlerin Yapılması.....	57
3.4.1. Protein Miktar Tayini.....	57
3.4.2. Malondialdehit Miktar Tayini	58
3.4.3. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi	60
3.4.4. Katalaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi.....	61
3.4.5. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi	62
3.4.6. 8-hidroksi Deoksiguanozin Miktar Tayini	64
3.4.7. Serumda Pankreatik Lipaz Düzeyinin Ölçülmesi	67
3.4.8. Serumda Sitokin Tayini	68
3.5. Böbrek Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi	71
3.6. İstatiksel Analiz	71
4. BULGULAR.....	74
4.1. Biyokimyasal Bulgular	74
4.1.1. Grupların Böbrek Dokusu SOD Aktiviteleri	74
4.1.2. Grupların Böbrek Dokusu GPx Aktivitesi	75
4.1.3. Grupların Böbrek Dokusu CAT Aktivitesi	76
4.1.4. Grupların Böbrek Dokusu MDA Düzeyleri.....	77
4.1.5. Grupların Böbrek Dokusunda 8-Hidroksi Deoksiguanozin Miktarı.....	78
4.1.6. Grupların Serum Lipaz Düzeyleri.....	80
4.1.7. Grupların İnterlökin-1 Düzeyleri	81
4.1.8. Grupların İnterlökin-6 Düzeyleri	82

4.2. Histolojik Bulgular	83
5. TARTIŞMA	92
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	98
KAYNAKLAR	99
EKLER.....	119
EK.1. ÖZGEÇMİŞ.....	119
EK.2. DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI.....	120



TEŞEKKÜR

İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde Biyokimya Anabilim Dalında yapmış olduğum tez çalışmam süresince bana her türlü maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Kadir Batçioğlu'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans tez çalışmamda benden bilgilerini, deneyimlerini, yardımlarını esirgemeyen saygın hocalarım Yrd. Doç. Dr. Selami Günal, Yrd. Doç. Dr. A.Burçin Uyumlu ve Arş. Gör. Dr. Basri Satılmış'a teşekkürü bir borç bilirim. Yaşamım boyunca benden desteklerini ve sabırlarını esirgemeyen, her zaman yanımda olduklarını bildiğim ve daima bana güvenen AİLEM'e ve fedakârlıklarından dolayı eşime sevgi dolu teşekkürlerimi sunarım.

İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birim'ine 2011/57 nolu projemize desteklerinden dolayı teşekkür ediyorum.

ÖZET

Ratlarda Akut Pankreatite Bağlı Gelişen Böbrek Hasarında *Lycium barbarum*(goji) Bitki Ekstresinin Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi

Amaç: Çalışmamızın amacı şiddetli inflamasyonun ve oksidatif stresin akut pankreatit patofizyolojisindeki rolü göz önünde bulundurularak cerulein ile deneysel olarak akut pankreatit oluşturulan ratlarda antiinflamatuvar ve antioksidan etkili bileşenlere sahip olduğu bilinen *Lycium barbarum* bitki ekstraktının akut pankreatite bağlı gelişen böbrek hasarında tedavi edici etkilerinin araştırılmasıdır.

Materyal ve Metod: Bu çalışmada ortalama 250-300 g ağırlığında 3-4 aylık, 36 adet dişi *Wistar albino* ratlar her grupta 12 rat olacak şekilde üç gruba ayrıldı: 1. grup (kontrol grubu, 10 gün süreyle ad libitum standart yem ve su ile beslenip sadece serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı). 2. grup (cerulein grubu, 10 gün süreyle ad libitum standart yem ve su ile beslendikten sonra akut pankreatit indüksiyonu iki saat ara ile total doz 100 µg/kg v.a. olacak şekilde iki kez intraperitoneal olarak uygulanan 50 µg/kg v.a. cerulein ile sağlandı). 3. Grup (*Lycium barbarum* (LB) grubu, cerulein enjeksiyonundan 10 gün önce *Lycium Barbarum* bitki ekstraktı intragastrik gavaj yöntemiyle 6 mg/ml/gün dozda 10 gün süreyle verildi. Bu sürede standart yem ve suyla beslenmeye devam edildi). 10 günlük sürenin sonunda cerulein enjeksiyonundan 24 saat sonra ratlar servikal dislokasyona tabi tutularak kurban edildi. Ratlarda, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktivite tayinleri, 8-hidroksi deoksiguanozin (8-OHdG) miktarı, malondialdehit (MDA) düzeyi ve protein miktar tayini için böbrek doku örnekleri alındı. Akut pankreatit şiddetini belirlemek için böbrek dokularının histopatolojik değerlendirilmelerinin yanında serum lipaz, IL-1 ve IL-6 düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Sonuçlarımızda cerulein grubunda artan IL-1, IL-6, 8-OHdG, MDA ve CAT seviyelerinin LB bitki ekstraktı ile anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi. Buna ek olarak serum lipaz düzeylerinde önemli bir fark bulunmadı.

Sonuç: Sonuç olarak LB bitki ekstraktının verilmesi akut pankreatite bağlı gelişen böbrek dokusunda oksidatif hasarı azaltmak suretiyle dokudaki inflamatuvar reaksiyonları kısmen önleyici bir etkiye sahip olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Akut Pankreatit, *Lycium barbarum*, oksidatif stres, antioksidan enzimler

ABSTRACT

Investigation of the Protective Effects of *Lycium barbarum* (goji) plant extracts in Rats with Acute Pancreatitis Induced Kidney Injury

Purpose: This study is to investigate therapeutic effects of *Lycium barbarum* plant extracts known to possess anti-inflammatory and antioxidant components on renal injury due to acute pancreatitis in rats experimentally induced acute pancreatitis with the cerulein by considering the roles of severe inflammation and oxidative stress in the pathophysiology acute pancreatitis.

Method and materials: In this study, 36 female Wistar albino rats, the average weight of 250-300 gr 3-4 months, were used and divided into three groups of 12 rats in each group: Group 1 (the control group, fed with standard chow and water ad libitum for 10 days and only a saline injection was done). Group 2 (cerulein group, after feeding with ad libitum access to standard chow and water in 10 days and acute pancreatitis induction was applied twice in every two hours by a total dose of 100 mg / kg v.a. administered intraperitoneally 50 mg / kg v.a. cerulein). Group 3 (*Lycium barbarum* (LB) group, 10 days before the cerulein injection, *Lycium barbarum* plant extract was provided with intragastric gavage method in 6 mg / mL / day dose for 10 days. During this period it continues to be fed with standard chow and water. After 10 days, 24 hours after injection of cerulein, the rats were sacrificed after subjected to cervical dislocation. Kidney tissue samples were taken from the rats to determine the amount of protein, the level of malondialdehyde (MDA), the quantity of 8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG), and activity assays of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) enzyme. To determine the severity of acute pancreatitis, as well as the histopathological evaluation of kidney serum lipase, IL-1 and IL-6 levels were measured.

Research Findings: In the cerulein group, increased IL-1, IL-6, 8-OHdG, MDA and CAT levels were observed significantly reduced with LB plant extract. In addition, there was no significant difference in serum lipase levels.

Conclusion: Consequently, we concluded that giving the LB plant extract reduces oxidative damage to renal tissue due to acute pancreatitis and have a partial preventive effect on inflammatory reaction in the tissue.

Keywords: Acute Pancreatitis, *Lycium barbarum*, oxidative stress, antioxidant enzymes

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrad Derece
µL	: Mikrolitre
µmol	: Mikromol
¹ O ₂	: Singlet oksijen
4-HNE	: 4- hidroksinonenal
ALT	: Alanin aminotransferaz
AP	: Akut Pankreatit
ARDS	: Akut Respiratuvar Distres Sendromu
ARE	: Antioksidant Response Element
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATN	: Akut Tübüler Nekroz
ATP	: Adenozin tri fosfat
BSA	: Sığır Serum Albumini
CAT	: Katalaz
CCK	: Kolesistokinin
CCR1	: Kemokin reseptör 1
Cl ⁻	: Klor
COX	: Siklooksijenaz
Cu ⁺	: Bakır
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
ERCP	: Endoskopik Retrograd Kolanjiyo Pankreatografi
FAD	: Flavin adenin dinükleotit
Fe ⁺²	: Demir
g	: Gravity
g	: Gram
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Redükte Glutasyon
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSSG	: Okside glutasyon
GST	: Glutasyon S-transferaz

H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksid
HCO ₃ ⁻	: Bikarbonat
ICAM-1	: İnterselüler Adhezyon Molekülü-1
Ig	: İmmüoglobülin
IL	: İnterlökin
i.g	: İntragastrik Gavaj
K ⁺	: Potasyum
kg	: Kilogram
L	: Litre
LB	: <i>Lycium barbarum</i>
LBP	: <i>Lycium barbarum</i> Polisakkaritleri
L-NAME	: Nitro-L-arginin metilesteri
M	: Metre
M	: Molar
M.Ö	: Milattan Önce
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
Mg ⁺⁺	: Magnezyum
MIP-1 α	: Makrofaj inflamatuvar protein 1 alfa
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
MOSY	: Multiple Organ Sistem Yetmezliği
MPER	: Miyeloperoksidaz
Na ⁺	: Sodyum
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NAD ⁺	: Yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Redükte Nikotinamid adenin dinükledotid
NF- κ B	: Nükleer Faktör Kappa B
NK-1	: Nörokinin-1
nm	: Nanometre
nmol	: Nanomol
NO	: Nitrik Oksit
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
OH [*]	: Hidroksil radikali

PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PGI ₂	: Prostaglandin 2
PLA ₂	: Fosfolipaz A2
PMN	: Polimorfonükleer Granüosit
pmol	: Pikomol
rpm	: Dakikadaki Dönüş Sayısı
SAP	: Şiddetli Akut Pankreatit
SGOT	: Serum glutamik oksaloasetik transaminaz
SGPT	: Serum glutamik pirüvik transaminaz
SIRS	: Sistemik İnflamatuvar Response Sendromu
Sn	: Saniye
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
TNF α	: Tümör nekroz faktör α
U	: Ünite
v.a	: Vücut Ağırlığı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Pankreasın Komşulukları	5
Şekil 2.2. Pankreas Anatomisi	5
Şekil 2.3. Akut pankreatitin varsayılan patogenezi	12
Şekil 2.4. Akut pankreatit patogenezinde mediatörlerin rolü	14
Şekil 2.5. Moleküler oksijenden reaktif ara ürünlerin oluşumu.....	24
Şekil 2.6. Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarı sonuçları	27
Şekil 2.7. Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarı	32
Şekil 2.8. <i>Lycium barbarum</i> 'un filogenetik sınıflandırılması	41
Şekil 2.9. <i>Lycium barbarum</i> meyveleri	42
Şekil 3.1. <i>L. barbarum</i> (Goji berry) numuneleri için ekstraksiyon işlem basamakları.	55
Şekil 3.2. Protein standart grafiği	58
Şekil 3.3. SOD standart çalışması logaritmik grafiği	61
Şekil 3.4. 8-OHdG standart grafiği.....	66
Şekil 3.5. Standart ekleme tekniği ile elde edilen 8-OHdG çakışma kromotogramı.....	66
Şekil 3.6. Lipaz standart grafiği.....	67
Şekil 3.7. IL-6 Standart grafiği	68
Şekil 3.8. IL-1 β Standart grafiği	69
Şekil 4.1. Kontrol grubu, akut pankreatit ve <i>Lycium barbarum</i> + Akut pankreatit deney gruplarının SOD aktivitesi yönünden karşılaştırılması	74
Şekil 4.2. Kontrol grubu, akut pankreatit ve <i>Lycium barbarum</i> + Akut pankreatit deney gruplarının GPx aktivitesi yönünden karşılaştırılması.	75
Şekil 4.5. Kontrol grubu, Akut pankreatit ve <i>Lycium barbarum</i> + Akut pankreatit deney gruplarının 8-hidroksi deoksiguanozin miktarı yönünden karşılaştırılması.	79
Şekil 4.6. Kontrol grubu, akut pankreatit ve <i>Lycium barbarum</i> + Akut pankreatit deney gruplarının serum lipaz düzeyi yönünden karşılaştırılması.	80
Şekil 4.7. Kontrol grubu, akut pankreatit ve <i>Lycium barbarum</i> + Akut pankreatit deney gruplarının IL-1 düzeyi yönünden karşılaştırılması.	81
Şekil 4.8. Kontrol grubu, akut pankreatit ve <i>Lycium barbarum</i> + Akut pankreatit deney gruplarının IL-6 düzeyi yönünden karşılaştırılması.	82

Şekil 4.9. Kontrol grubunun histoloji analizi (Kortikal normal yapıda görülmekte, HEX20)	84
Şekil 4.10. Kontrol grubunun histoloji analizi (Kortikal normal yapıda görülmekte, HEX40)	85
Şekil 4.11. Kontrol grubunun histoloji analizi (Medullar normal yapıda görülmekte HEX20)	86
Şekil 4.12. AP grubunun histoloji analizi (Glomerülüs ve Bowman Kapsülü, HEX20)	86
Şekil 4.13. AP grubunun histoloji analizi (Distal ve Proksimal tübüller, HEX20)	87
Şekil 4.14. AP grubunun histoloji analizi (Böbrek Korteksi, HEX20).....	88
Şekil 4.15. AP grubunun histoloji analizi (Böbrek medullası, HEX20).....	88
Şekil 4.16. LB+AP grubunun histoloji analizi (Glomeruller normal görünümde, HEX20)	89
Şekil 4.17. LB+AP grubunun histoloji analizi (Glomerullerde hemoraji tespit edilmedi. HEX20)	90
Şekil 4. 18. LB+AP grubunun histoloji analizi (Tübül epitelyum hücrelerinde hasar bulguları tespit edildi. HEX40)	91

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Akut pankreatitte terminoloji	9
Tablo 2.2. Akut pankreatit nedenleri	9
Tablo 2.3. Akut pankreatitte sitokinler, kemokinler ve nöropeptidler	15
Tablo 2.4. Serbest oksijen radikalleri ve formülleri	25
Tablo 2.5. Serbest oksijen radikallerini oluşturan kaynaklar	26
Tablo 2.6. Çözünürlüklerine göre antioksidanların sınıflandırılması	35
Tablo 2.7. Yapılarına göre antioksidanların sınıflandırılması	35
Tablo 2.8. Kaynaklarına göre antioksidanların sınıflandırılması	36
Tablo 4.1. Böbrek dokusu SOD aktivite değerleri ve istatistiksel karşılaştırmaları (p<0.05).....	75
Tablo 4.2. Böbrek dokusu GPx aktivite değerleri ve istatistiksel karşılaştırmaları (p<0.05).....	76
Tablo 4.3. Böbrek dokusu CAT aktivite değerleri ve istatistiksel karşılaştırmaları (p<0.05).....	77
Tablo 4.4. Böbrek dokusu MDA düzeyleri ve istatistiksel karşılaştırmaları (p<0.05).	78
Tablo 4.5. Böbrek dokusu 8-OHdG miktar düzeyi ve istatistiksel karşılaştırmaları (p<0.05).....	79
Tablo 4.6. Serum Lipaz düzeyi ve istatistiksel karşılaştırmaları (p<0.05).....	80
Tablo 4.7. Serum IL-1 düzeyi ve istatistiksel karşılaştırmaları (p<0.05).....	81
Tablo 4.8. Serum IL-6 düzeyi ve istatistiksel karşılaştırmaları (p<0.05).....	82
Tablo 4.9. Deney gruplarında böbrek dokusu SOD, CAT, GPx aktiviteleri ile MDA, LİPAZ, IL-6, IL-1 ve 8-OHdG miktar düzeyleri.....	83

1. GİRİŞ

Akut pankreatit, pankreasta normalde inaktif halde bulunan sindirim enzimlerinin henüz nedeni tam olarak bilinmeyen bir etiyolojik faktörle erken aktivite olarak pankreas dokularını sindirmesi sonucu yaygın bir inflamasyonun gelişmesi ile ayırt edilir (1). Pankreastaki yangıyla beraber komşu ve uzak organlarda da değişik boyutlarda hasar meydana gelir. İlk sistematik akut pankreatitin tanımlanması ve sınıflandırılması 1889' da Fitz tarafından yapılmıştır. Fitz, hastalığı; hemorajik, süpüratif ve gangrenöz olarak sınıflandırmıştır (2).

Akut pankreatiti oluşturan etyolojik faktörler çok çeşitlilik göstermesine karşın etyolojik etken ne olursa olsun ortaya çıkan klinik tablo pankreastaki enzimlerin aktivasyonu ile dokunun kendi kendini sindirmesi (otodijesyon) ve buna bağlı olarak gelişen inflamasyon, ödem, hemoraji ve nekrozla karakterizedir (3).

Akut pankreatitte sekretuar blok sonucu zimojen granüller asiner hücrelerden dışarı çıkamadığından hücre içinde kalan ve büyüyen zimojen granüllerle lizozomlar birleşerek geniş vakuoller meydana gelmektedir. Lizozomal enzim olan Katepsin-B tripsinojeni tripsine döndürerek aktive etmesiyle tripsin hücre içinde otodijesyonu başlatır (4,5). Otodijesyon başladıktan sonra endotelial hücrelerden salgılanan Stimulating Adezyon Moleküller tarafından nötrofil aktivasyonu meydana gelir (6). Bunun sonucunda pankreas dokusunda lökosit göçü olması sonucu, nötrofiller ve makrofajlar pankreas dokusunda birikir (7).

Aktive olmuş bu hücrelerden salınan sitokinler, IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , PAF vb. bilinen başlıca sitokinlerdir. Bu ajanların akut pankreatitin lokal bir enflamatuvar süreçten sistemik bir hastalığa dönüşümünde temel mediatörler olduğu düşünülmektedir (8). Erken dönemde kardiyovasküler, pulmoner ve renal yetmezlik, geç dönemde ise septik sorunlara neden olabilen bu hastalık tablosunda mortalite, pankreatik nekroz, enfeksiyon ve buna bağlı olarak gelişebilen multiple organ yetmezliği ve lokal komplikasyonlar sık görülmektedir (9-11).

Son yıllarda pek çok araştırma sonucunda, akut pankreatitin pankreas dışındaki yakın dokularda da hasar oluşturduğu, hatta bu hasarın akut pankreatite bağlı erken ve geç dönem doku hasarı şeklinde sınıflandırılarak bazı vakalarda ciddi organ yetmezlikleri ile sonuçlandığı bildirilmiştir. Etkilenen dokular arasında özellikle karaciğer, böbrek, akciğer, ileum, kalp, lenf düğümleri ve diğer dokularda meydana gelen patolojik komplikasyonlarla ödem gibi hemoraji ve nekrozla karakterizedir (12-14).

Akut pankreatitin de aralarında bulunduğu birçok hastalığın başlaması ve ilerlemesinde serbest oksijen radikallerinin (SOR) rol oynadığı çeşitli modellerle ortaya konulmuştur (15). Akut pankreatitin erken evrede SOR ve sitokinlerin neden olduğu progresif hemorajik nekroz gelişimi, lokal ve sistemik komplikasyonlarının ortaya çıkması engellenebilir (16, 17).

Organizmada devamlı SOR üretilmesine rağmen antioksidan savunma sistemleri ile oksidasyon arasındaki dinamik dengeden dolayı zararlı etkiler oluşmaz. Antioksidanlar, SOD, CAT, GPx gibi endojen kaynaklı ya da eksojen kaynaklı olabilirler (18, 19). Bu dengenin oksidanlar yönünde değişmesi durumunda oksidatif stres oluşmaktadır (20, 21). Oksidatif stresin akut pankreatit patogenezinde primer bir role sahip olduğu bildirilmektedir (22, 23).

Goji (*Lycium barbarum*) Solanaceae familyasına bağlı Çin geleneksel tıbbında iyi bilinen ve aynı zamanda bir besin maddesi olarak da değerlendirilen çeşitli hastalıkları önlemedeki rolü deneysel, klinik ve epidemiyolojik çalışmalarla ortaya konulmuş bir bitki türüdür. (24, 25). *Lycium barbarum* önemli bioaktif içerikleri polisakkarit protein kompleksleri olan glikokonjugatlardır. 6 monosakkarit (galaktoz, glikoz, rimnoz, arabinoz, mannoz ve ksiloz) ve 18 aminoasit oluşan bir polipeptid içerir ve içerisindeki ana molekül olan polisakkaritler sayesinde hücre-hücre etkileşiminde ve yapışmasında, hücre migrasyonunda, kan pıhtılaşmasında, immün cevapta ve yara iyileşmesinde etkinlik gösterirler ki bu bilinen çok sayıdaki fonksiyonlarından bazılarıdır (26-28).

Lycium barbarum güçlü antioksidan bileşenlerden beta-carotenin yanı sıra, polisakkaritler, vitaminler (vitamin A, B1, B2, vitamin C), karotenoidler (zeaksantin, lutein, likopen, cryptoksantin), serebrozid, β -sitostreol, prolin, scoleptin ve betain gibi farklı türdeki antioksidan bileşikler içermektedir. *Lycium barbarum*'un bu zengin içeriklerinin, antiinflamatuvar, kanser, antitümör, antipiretik, anti diabetik, fertilitate,

antisenil, immünomodulatör ve yaşla ilgili hastalıklara karşı da koruma gösterdiği rapor edilmiştir (29-33).

Bu çalışmanın amacı oksidatif stresin ve şiddetli inflamasyonun akut pankreatit patogenezindeki rolü göz önünde bulundurularak cerulein ile deneysel olarak akut pankreatit oluşturulan ratlarda antiinflamatuvar ve antioksidan etkili bileşenlere sahip olduğu bilinen *Lycium barbarum* bitki ekstraktının akut pankreatite bağlı gelişebilecek böbrek hasarını önlemede etkisinin olup olmadığını tespit etmektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreas

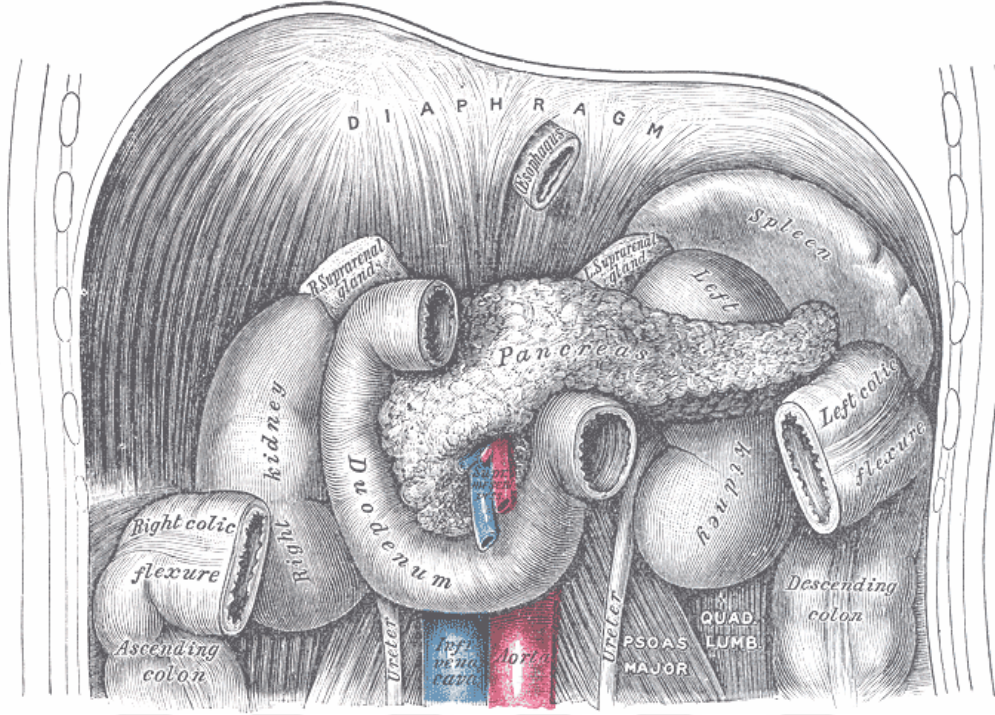
Tarihte ilk kez Herophilus M.Ö.300'lerde pankreası tanımlamış ve bundan yaklaşık 400 yıl kadar sonra, organ, Rufus tarafından “pankreas” olarak isimlendirilmiştir. Wirsung 1642'de pankreas duktusunu keşfetmiştir. Graaf 1671'de pankreası bir salgı bezi olarak incelemiştir. R. Fitz 1889'da pankreatit denen bir hastalık olduğunu tespit etmiştir. Whipple 1935 yılında ilk pankreatikoduodenektomi yapmış ve 1940 yılında geliştirilmiştir (34).

Pankreas hem ekzokrin hem de endokrin işlevleri olan bir bezdir. Ekzokrin pankreas duodenuma pankreatik kanallar aracılığıyla pankreatik sekresyonu salgılayan asinuslar içerir, pankreatik sıvı bazı enzimler içerir, bu enzimlerin bir kısmı başlangıçta inaktif formda yapılıp ve aktive olduklarında besinlerin sindirimine yardımcı olurlar ve onu bağırsaklarda absorpsiyon için hazırlarlar. Normal pankreatik enzim aktivitesine etki eden bozukluklar (pankreas yetmezliği) yağların kötü sindirilmesine ve steatoreye (yağlı dışkı) yol açar. Ekzokrin pankreasın disfonksiyonu enflamasyondan (akut pankreatit, kronik pankreatit), neoplazmadan (pankreas karsinomu) ya da normal dışı bir visköz mukusun (kistik fibrozis) neden olduğu kanal obstrüksiyonundan kaynaklanır. Endokrin pankreas Langerhans adacıklarından oluşur. Bu adacıklar tüm pankreasa dağılmış durumdadır ve bazı farklı hormon üreten hücreleri içerirler. Adacık hücreleri insülin gibi besin absorpsiyonu, depolaması ve metabolizmasında önemli olan hormonlar üretir. Endokrin pankreasın fonksiyonunun bozulması diabetes mellitusa neden olur. Bazı hastalarda hem ekzokrin hem de endokrin pankreas disfonksiyonu birlikte görülür (8).

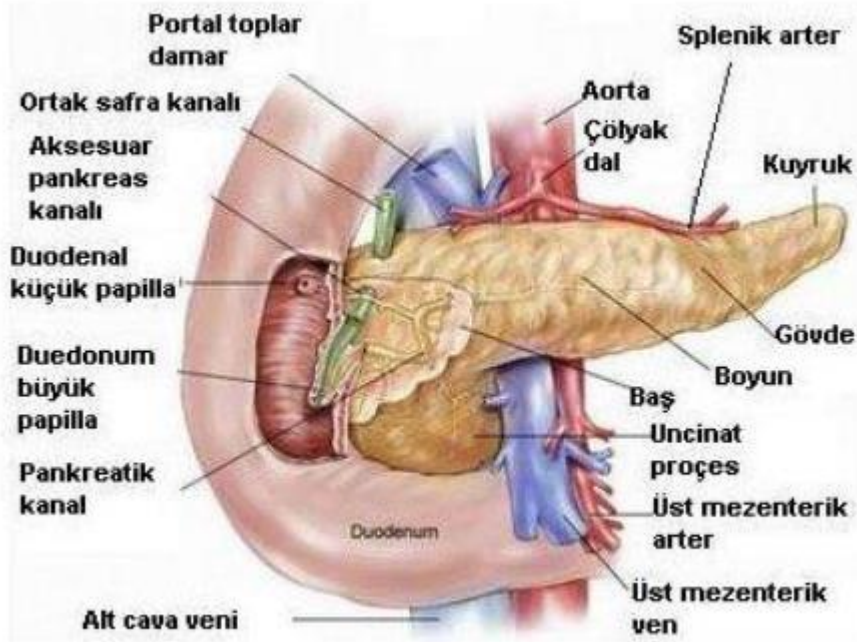
2.1.1. Pankreas Anatomisi

Pankreas epigastriumun derininde, posterior abdominal duvarın üstünde transversal olarak uzanan, ağırlığı 60–100 g ortalama uzunluğu 12,5- 15 cm olan bir organdır (35). Pankreas 1. ve 2. lomber vertebra hizasında retroperitoneal yerleşimli bir organdır. Pankreas sağda duodenum, solda dalak, üstte bursa omentalis, önde transvers mezokolon ve aşağıda omentum majus ile ilişkilidir (36). (Şekil 2.1) Pankreas anatomik

olarak baş, boyun, uncinat proces, gövde ve kuyruk olmak üzere 5 bölüme ayrılır. (Şekil 2.2)



Şekil 2.1. Pankreasın Komşulukları (35)



Şekil 2.2. Pankreas Anatomisi (35)

2.1.2. Pankreas Histolojisi

Pankreas sindirim enzimleri ve hormonlar üreten bir iç (endokrin) ve dış (ekzokrin) salgı üreten bir bezdir. Endokrin ve ekzokrin salgılama işlemleri farklı hücreler tarafından gerçekleştirilir. Enzimler asinüs kümeleri halinde düzenlenmiş dış salgı kısmının asiner hücreleri tarafından salgılanır. Hormonlar Langerhans adacıklarından sentezlenir. Pankreas dıştan gevşek ve ince bir kapsül ile sarılı olan pankreasın dış salgı ünitesi (ekzokrin ünitesi) birleşik tübüloalveoler biçimli olup saf seröz salgı yapar. Ribozomdan zengin bazal sitoplazma bazofilik boyanır. Salgı ürünü olan zimojenik granüller apikal sitoplazmada toplanır. Bu bölüm asidofilik boyanır. Asinüsü takip eden interkalar duktus tek katlı kübik epitelle kaplıdır. Hücrelerin apikalinde komşu hücrelerin membranları arasında zonula okludens, zonula adherens ve desmozom tipi bağlantı kompleksleri bulunur.

İnsan ekzokrin pankreası su ve iyonlara ek olarak sindirim enzimleri ve proenzimler salgılar. Bunlar, tripsinojen, kimotripsinojen, karboksipeptidaz, deoksiribonükleaz, ribonükleaz, triaçilgliserol lipaz, fosfolipaz A2, elastaz ve amilaz'dır. Salgı başta sentroasiner hücreler ve küçük interkalar kanalları oluşturan hücreler tarafından üretilir. Asinüslerde az miktarda, proteinden zengin sıvı üretilirken interkalar kanal hücrelerinde sodyum ve bikarbonattan zengin, daha fazla miktarda sıvı salgılanır. Pankreas salgısı duodenum mukozasındaki enteroendokrin hücreler tarafından üretilen sekretin ve kolesistokinin hormonları tarafından kontrol edilir. Hormonal etkinin yanı sıra pankreasın otonomik innervasyonu da salgılamada önemlidir. Sempatik sinir lifleri pankreasın kan akımını regüle ederken, parasempatik lifler de sentroasiner hücrelerin ve asinüsün aktivitesini stimüle eder (37, 38).

2.1.3. Pankreas Fizyolojisi

Pankreas hem ekzokrin, hemde endokrin salgı yapan bir bezdir. Organın endokrin sekresyonu (insülin, glukagon ve somatostatin) yaşamın devam etmesi için gerekli olup Langerhans adacıklarından salgılanır. Adacıklar morfoloji ve boyanma özellikleriyle birbirinden ayrılan üç tip hücreden oluşur.

- BETA hücreleri: Adacıkların % 60-80' ini oluşturur ve insülin salgırlarlar.
- ALFA hücreleri: Adacıkların %10-20' sini oluşturur ve glukagon salgırlarlar.

- DELTA hücreleri: Adacıkların yaklaşık %10' unu oluşturur ve somatostatin salgırlarlar (44).

Pankreasın temel ekzokrin salgı ünitesi asinüstür ve günde ortalama 1500–2000 ml berrak, izotonik ve alkali (pH: 8.0- 8.3) ekzokrin salgı yapar. Bu salgı 20'den çok sindirim enzimini içinde bulundurur. Ekzokrin salgıdaki başlıca katyonlar Na^+ ve K^+ olup plazma konsantrasyonlarıyla aynıdır. Başlıca anyonlar ise Cl^- ve HCO_3^- 'tır. Ekzokrin salgının akım hızı artıkça HCO_3^- konsantrasyonu artarken, Cl^- azalır. Pankreastan salgılanan bu ekzokrin salgıdaki bikarbonat iyonları, mideden duodenuma boşalan asitli kimusun nötralize edilmesinde de önemli rol oynar.

Ekzokrin pankreas salgısı bazal koşullarda 0.3mg/ml protein içerir. Bu proteinlerin %90'ını senzimler ve proenzimler oluşturur. Pankreas ekzokrin salgısı temel üç besin maddesinin sindirimini sağlayan enzimleri içerir: protein, karbonhidrat ve yağların sindirimi. Proteolitik enzimler; tripsin, kimotripsin, karboksipolipeptidaz, ribonükleaz ve deoksiribonükleaz'dan ibarettir. Bunların içinde en fazla miktarda olan tripsindir. Tripsin ve kimotripsin proteinleri peptidlere parçalar. Karboksipolipeptidaz peptidleri karboksi ucundan ayırarak aminoasitleri parçalar. Nükleazlar ise nükleoprotein yapıları parçalar. Karbonhidratları parçalayan enzim amilazdır. Bu enzim karbonhidratları parçalayarak disakkaritleri ve az miktarda trisakkaritleri oluşturur. Pankreasın yağ sindiriminden sorumlu enzim ise lipaz, kolesterol esteraz ve fosfolipazdır.

Proteolitik enzimler pankreas hücrelerinde sentez edildiklerinde inaktif formdadır. Bunlar intestinal kanala salgılandıktan sonra aktif duruma geçerler. Pankreas salgılarındaki proteolitik enzimlerin bağırsağa dökülünceye kadar aktif duruma geçmemeleri önemlidir. Çünkü tripsin ve öteki enzimler pankreasın yapısal bileşenlerini sindirebilir. Pankreas asinuslarına proteolitik enzimleri sekrete eden hücreler aynı zamanda tripsin inhibitörü adı verilen maddeyi de salgırlarlar. Öteki proteolitik enzimlerinde aktivasyonu tripsine bağılı olduğu için, tripsin inhibitörü tümünün aktivasyonunu engeller. Bununla beraber pankreas ağır şekilde hasara uğrar veya kanalı tıkanırsa, pankreasın haraplanan kısmında çok miktarda enzim birikir. Bu durumda tripsin inhibitörü yetersiz kalır ve pankreas salgısı aktive olup, birkaç saat içinde tüm pankreası sindirebilir, sonuçta akut pankreatit gelişir (39).

2.2. Akut Pankreatit

Akut pankreatit (AP) karın ağrısı ve serumda amilaz ve lipaz gibi pankreas enzimlerinde yükselmeye seyreden pankreasın inflamatuvar sürecidir (40).

Akut pankreatit pankreas hastalıklarının geniş bir bölümünü oluşturmaktadır. Hastalık klinik olarak hafif abdominal ağrıdan, sıvı sekestrasyonu, hipotansiyon, metabolik bozukluklar sepsis, multiple organ yetmezliği ve ölüme sonuçlanan ağır formlara kadar değişen bir ağ içerir (41).

Yıllık insidans 100.000'de 5 ile 35 arasında değişmektedir. Avrupa ve özellikle İskandinav ülkelerinde alkol nedeniyle insidans artmakta her yıl 300.000'den fazla hasta akut pankreatit tanısıyla hastaneye yatmakta ve yaklaşık 20,000 vaka ölüme sonuçlanmaktadır (42). Bazen çok hafif ve çok şiddetli hastalıklar tanınamamakta, bu durum önlenbilir sebeplerin bulunamamasına ve buna sekonder gelişen ikinci ataklar nedeniyle ölüme neden olabilmektedir. Vakaların % 80'i hafif olup ciddi morbidite olmaksızın iyileşirken % 20 vakada şiddetli seyretmektedir. Zaman içinde şiddetli pankreatitin sıklığında bir azalma olmamıştır (43). Mortalitenin en önemli sebebi ilk iki haftada SIRS (sistemik inflamatuvar yanıt sendromu) ve multiple organ yetmezliği, iki haftadan sonra ise sepsis ve diğer komplikasyonlardır (44).

2.2.1. Akut Pankreatitin Sınıflandırılmaları

Akut pankreatit klinik çeşitliliğe sahip olan çok yönlü bir hastalık olduğundan dolayı, tanımı ve komplikasyonları hakkında net bir açıklama yapabilmek adına araştırmacılar birçok sınıflandırma yapmışlardır. Akut pankreatitin doğru olarak ilk defa tanımlanması ve sınıflandırılması Fitz tarafından 1889 yılında yapılmıştır (45, 46). 1991 yılında Ulm ve 1992 yılında Atlanta Sempozyumu'nda akut pankreatit ve komplikasyonları için yeni ortak bir sınıflandırma elde edilmiştir. Her iki sınıflama arasında belirgin bir fark olmamasına rağmen Atlanta sınıflamasında hafif ve ağır terimler literatüre katılmıştır. Atlanta sınıflandırmasına göre akut pankreatit 5 maddede değerlendirilir (47).

Tablo 2.1. Akut pankreatitte terminoloji (47)

Ulm (Beger ve Buchler; 1991)	Atlanta Sınıflaması
Ödematöz Pankreatit	Hafif Pankreatit
Nekrotizan Pankreatit <ul style="list-style-type: none">• Steril• İnfekte	Ağır Pankreatit <ul style="list-style-type: none">• Steril• İnfekte
Pankreas Absesi	<u>Pankreas Absesi</u>
Pseudokist	<u>Pseudokist</u>
	<u>Peripankreatik Sıvı</u>

2.2.2. Etyoloji

Akut pankreatite neden olan pek çok sebep gösterilmiştir (Tablo 2.2). Fakat tüm durumlarda aktive olmuş proteolitik enzimler kanallardan kaçarlar ve doku hasarına, inflamasyona, nekroza ve bazen enfeksiyona yol açarlar (48, 49).

Tablo 2.2. Akut pankreatit nedenleri (48,49)

Yapısal	Toksinler	Enfeksiyon	Metabolik	Diğer nadir sebepler
Safra taşları Oddi spazm ya da stenozu Pankreas divisium	Alkol İlaçlar	Viral Bakteriyel Parazitlik	Hiperkalsemi Hiperlipidemi	Hereditör ERCP Travma İşkemi Akrep sokması

Akut pankreatit ile ilgili en sık rastlanan iki durum alkol aşırı kullanımı ve safra yolu hastalığıdır. Akut pankreatit genellikle ağır bir alkol tüketimi sonrasında oluşur. Alkolün pankreası nasıl hasara uğrattığının mekanizması kesin olarak bilinmemektedir. Alkol ya da onun metaboliti olan asetaldehitin pankreasın asiner hücreleri üzerinde direkt toksik etkileri olabilir ve böylece lizozomal enzimler tarafından intrasellüler tripsin aktivasyonu başlayabilir veya Oddi sfinkterinin inflamasyonuna yol açarak pankreas kanalında ve asinüslerde hidrolitik enzimlerin retansiyonuna sebep olabilir. Alkoliklerde malnütrisyon pankreas hasarı için predispozisyon faktörüdür. Örneğin çinko, selenyum gibi eser element defisitleri alkolik hastalarda görülür ve asiner hücre hasarı ile ilişkilidir (50).

Alkol içmeyen hastalarda akut pankreatitin yaklaşık % 50'si safra yolu hastalığı ile bağlantılıdır. Bu olgularda varsayılan mekanizma, bir safra taşı ampulla vateri'yi tıkadığı zaman ortak safra kanalı ve ana pankreatik duktusun obstrüksiyonuna uğramasıdır. Safra ya da duodenum içeriğinin pankreas kanalına reflü olması parankimal hasara yol açar. Bazı araştırmacılar bakteriyel toksinlerin veya serbest safra asitlerinin lenfatikler yoluyla safra kesesinden pankreasa geçtikleri ve inflamasyona yol açtıklarını öne sürmüşlerdir. Her iki durumda da safra yoluyla bağlantılı akut pankreatit kadınlarda daha sıktır, çünkü safra taşları kadınlarda daha çok görülür.

Çeşitli enfeksiyöz ajanlar akut pankreatite yol açabilir, bunlar arasında virüsler (kabakulak, koksaki virüsü, hepatit A virüsü, insan immün yetmezliği virüsü veya sitomegalovirüs) ve bakteriler (Salmonella tipi veya hemolitik streptokoklar) vardır.

Künt veya delici travma ve diğer yaralanmalarda akut pankreatite yol açabilir. Hiperparatiroidizm, sarkoidoz, D hipervitaminozu ya da multipl myelomda görüldüğü gibi belirgin hiperkalsemi, olguların %10'unda akut pankreatite neden olur. İki mekanizma varsayılmıştır. Yüksek plazma kalsiyum konsantrasyonu kalsiyum pankreas duktusunda presipite olmasına yol açabilir, böylece duktal obstrüksiyon yapar. Alternatif olarak ise hiperkalsemi pankreas duktusunda tripsinojen aktivasyonunu uyurabilir.

Pankreatit hiperlipidemi ile de bağlantılıdır. Pankreatitli bir hastada serum trigliserid seviyesinin 1000 mg/dl olması durumunda pankreatit sebebi olarak düşünülür. Trigliserid seviyesi yükseldiğinde pankreatik kapiller yataktaki lipaz aktive olur ve toksik özelliği olan serbest yağ asitleri ortaya çıkar. Bunlar pankreasın küçük damarlarının endotelial tabakasında bir hasar meydana getirerek yangısal hücreleri ve trombozu aktive eder.

Çeşitli ilaçlar pankreatit ile bağlantılı bulunmuştur, bunlardan bazıları; kortikosteroidler, tiazid diüretikleri, immunosüpresanlar ve kanser kemoterapötik ajanlarıdır.

Nadiren akut pankreatit familial olabilir, otozomal dominant kalıtım şeklinde görülür. Herediter rekürrent akut pankreatitin katyonik tripsinojen geninin mutasyonu ile bağlantısı görülmüştür. Nokta mutasyonu –rezidü 117'de arjininin histidinin yerini alması tripsini bu bölgede bölünmeye dirençli kılar, bu da normalde tripsinin

inaktivasyonuna yol açar. Bu bölünme sahasının kaybı bu nedenle aktif tripsinin pankreası sindirmesine olanak tanır (51).

Akut pankreatitin nedeni ne olursa olsun bir kez patojenik mekanizmalar devreye girdi mi hastalığın seyri ve sonucu altta yatan etiyolojik faktörlerden etkilenmez.

2.2.3. Patogenez

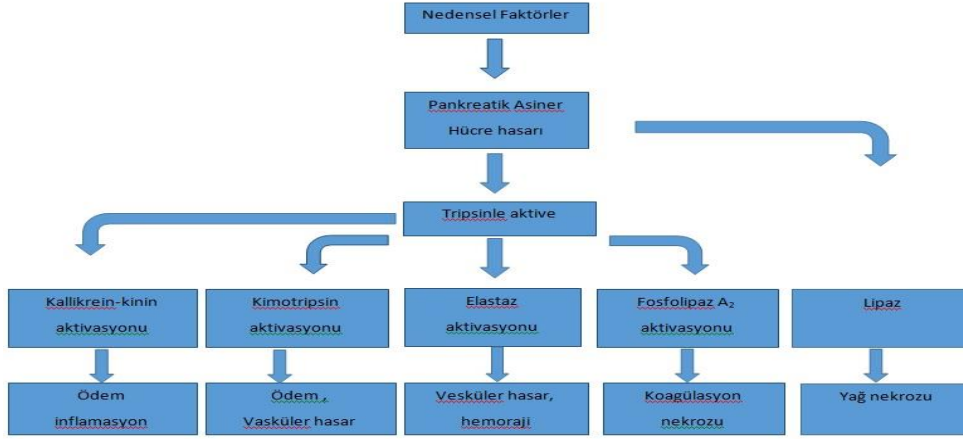
Akut pankreatitte yanıtlanmamış temel bir soru enzimlerin ve biyoaktif maddelerin pankreas içinde aktif olma mekanizmasıdır.

Alkole bağlı pankreatit patogenezini ile ilgili öne sürülen bir teoride pankreatit asiner hücrelerin membranı üzerinde düzensiz agonist reseptör etkileşimi vurgulanır. Bu teoriye göre alkol, ekzokrin pankreatik sekresyonun kontrolünde oynamalara yol açar. Bu durumda pankreatik asiner hücrelerin aşırı stimülasyonuna ve bunların muskarinik reseptörlerinin aşırı uyarılmasına neden olur. Bu aşırı uyarılma akrep sokması antiasetilkinesteraz içeren insektisit zehirlenmesi veya asetilkolin ve CCK gibi salgılatıcıların maksimal dozlarının üstünde kullanılmasıyla oluşan akut pankreatit mekanizmasını taklit eder.

Diğer önemli bir teori ise sindirici zimojenlerin intraasiner hücre aktivasyonunun akut pankreatit gelişimindeki en erken olay olduğu ve bu enzimlerin bir kez aktive oldu mu asiner hücre hasarına neden olduğunu ileri sürer. Hayvanlarda pankreatik duktusun ligasyonundan sonraki ilk 24 saatte yapılan morfolojik çalışmalara göre en erken lezyonlar asiner hücrelerde meydana gelmektedir. Sindirici enzim zimojenleri ve katepsin-B gibi lizozomal hidrolazlar birlikte lokalize olurlar; bu durum zimojenlerin lizozomal hidrolazlar tarafından başlıtalabileceğini düşündürmektedir. Bir spekülasyona göre obstrüksiyon safra reflüsü ve duodonal reflü pankreatik asiner hücre fonksiyonunu bozar ve lizozomal enzimlerce hücre içi tripsin aktivasyonuna neden olur (52).

Patolojik değişimlerin tümü tripsin gibi aktive olmuş pankreas enzimlerinin pankreas ve çevre dokular üzerindeki etkisinden kaynaklanır. Aktive olmuş tripsin bundan sonra kimotripsin, elastaz ve fosfolipaz A2 proenzimlerini aktive eder ve bu enzimler birkaç yoldan hasara yol açar (Şekil.2.3). Benzer biçimde proelastazdan bir kez aktive olan elastaz kan damarı duvarlarındaki elastini sindirir ve hemorajiye neden olup hemorajik pankreatite yol açabilir. Fosfolipaz A2 lesitinden bir yağ asidi ayırarak lizolesitini oluşturur, bu da eritrositlere sitotoksik olup hücre membranlarına hasar verir.

Safrada lesitinden lizolesitin oluşması pankreas hasarına ve çevre yağ dokusu nekrozuna katkıda bulunabilir (53).



Şekil 2.3. Akut pankreatitin varsayılan patogenezi (53)

Fosfolipaz A2 araşidonik asidide serbestleştirir; bu da prostoglandinlere, lökotrienlere ve inflamasyonun diğer mediatörlerine çevrilerek koagülasyon nekrozuna katkıda bulunur.

Doğrudan pankreatik asiner hücre hasarının bir sonucu olarak salınan pankreatik lipaz çevre yağ dokuda enzimatik etkide bulunur ve yağ nekrozuna neden olur.

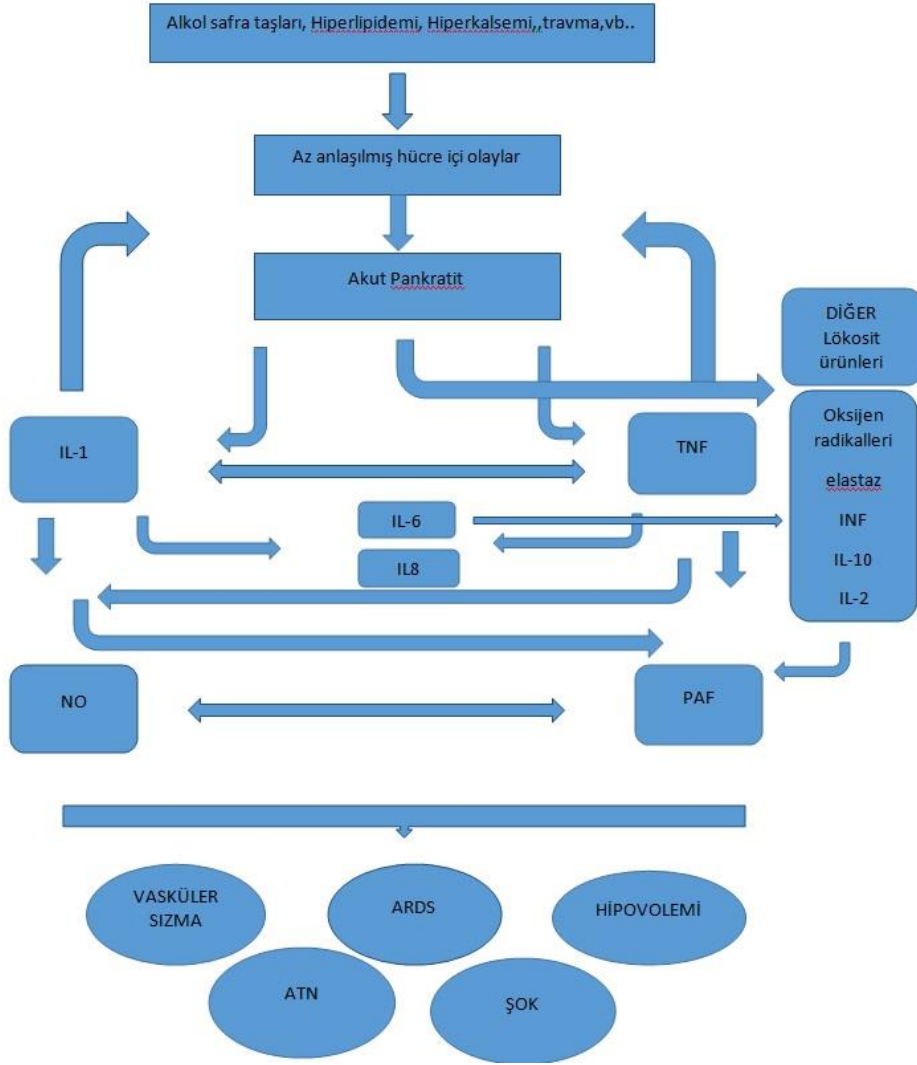
Bunlardan başka tripsin ve kimotripsin kininleri, komplemanları, koagülasyon faktörlerini ve plazmini aktive eder ve bez içinde ödemli inflamasyon, tromboz ve hemorajiye yol açar. Örneğin kallikrein-kinin sisteminin tripsin aktivasyonu bradikinin ve kallidin salınımına yol açar ve vasküler permeabilite artışına, ödem ve inflamasyona neden olur (54).

Aktive olmuş pankreatik enzimler kan dolaşımına da girerler ve vücudun başka bir yerinde etkiler oluşturabilirler. Dolaşımdaki fosfolipazlar pulmoner sürfaktanın normal işlevine müdahale eder ve akut pankreatitli bazı hastalarda yetişkin respiratuar distress sendromunun gelişimine katkıda bulunur. Serum lipaz düzeylerinin yükselmesi bazen abdomen dışındaki yağ nekrozu ile bağlantılıdır.

Son olarak akut pankreatit sırasında tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökinler (özellikle IL-1, IL-6 ve IL-8), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve endotoksin gibi diğer inflamatuvar mediatörlerin ve sitokinlerin inflamatuvar hücrelerden hızla salınması

beklenir. Bu salınım alttaki etiyojiden bağımsız gözükmeğdir. Klinik pankreatit süresince sitokin üretimi ağrı başlangıcından kısa bir süre sonra başlar ve 36-48 saat sonra pik yapar. Bu ajanların akut pankreatitin lokal bir inflamatuvar süreçten sistematik hastalığa dönüşümünde temel mediatörler olduğu düşünölmektedir (Şekil.2.4). TNF- α 'nın başlattığı inflamasyon derecesi pankreatitin şiddeti ile orantılıdır. Solunum yetmezliğı, şok, hatta multisistem organ yetmezliğı gibi akut pankreatitin sistematik komplikasyonlarına TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-8'in bu belirtilerin patolojisinde merkezi bir rol oynadığı düşünörmektedir.





Şekil 2.4. Akut pankreatit patogenezinde mediatörlerin rolü (55)

Son yapılan çalışmalar, nörokinin-1 (NK-1) reseptörleri aracılığı ile etki yapan substans-P, platelet aktive edici faktör ve CCRI reseptörleri ile etkileşen kemokinlerin akut pankreatit ve bununla bağlantılı akciğer hasarının şiddetini saptayan önemli inflamasyon yandaşı roller oynadığını düşündürmektedir. Sensorial afferent sinir uçlarından salınan bir nöropeptid olan substans P, efektör hücrelerin yüzeyindeki NK-1 reseptörüne bağlanır ve vasküler endotelin permeabilitesini artırır. Akut pankreatit epizodlarında pankreastaki substans P miktarı artar ve NK-1 reseptörlerinin asiner hücrelerdeki ortaya çıkışları belirgin biçimde up-regüle olur. Substans P, hem pankreatit hem de bununla bağlantılı akciğer hasarının güçlü bir pro-inflamatuar mediatörü olarak gözükmektedir. PAF' da pankreatit ve bununla bağlantılı akciğer hasarının gelişiminde önemli rol oynar gözükmektedir (55, 56).

Tablo 2,3'te akut pankreatite proinflamatuvar ve antiinflamatuvar ajan olarak aktif rol oynayan çeşitli faktörleri göstermektedir. Bu proinflamatuvar ajanlarla ters etkiyecek ya da anti-inflamatuvar olanları stimüle edecek ilaçlar ve ya diğer girişimler, klinik pankreatitli hastaların tedavisinde pankreasın ağır hasarını önlemede ve akciğer hasarı gibi bağlantılı sistematik belirtileri önlemede nihai olarak yararlı olabilir (52-57).

Tablo 2.3. Akut pankreatitte sitokinler, kemokinler ve nöropeptidler (52)

Proinflamatuvar	Anti-inflamatuvar
IL-1, IL-6, TNF- α , PAF, MIP1-a,	C5a
Substan P	IL-10, IL-11

2.2.4. Akut Pankreatitte Pankreas Dışı Organ Hasarı

Akut pankreatit (AP) pankreas hastalıklarının geniş bir bölümünü oluşturmaktadır. Kliniğinde hafif abdominal ağrıdan, sıvı sekestrasyonu, hipotansiyon, metabolik bozukluklar sepsis, multiple organ yetmezliği ve ölümlü sonuçlanan ağır formlara kadar değişen bir yelpaze içerir. Akut respiratuvar distres sendromu (ARDS), böbrek yetmezliği ve ilerde multiple organ sistem yetmezliğine (MOSY) kadar giden organ komplikasyonları yanında metabolik komplikasyonlar, yaygın damar içi pıhtılaşmasına kadar varan koagülasyon bozuklukları, göz komplikasyonları, deri ve eklem komplikasyonları akut pankreatitte görülen sistemik komplikasyonlardır (58).

Yapılan çalışmalarda da akut pankreatitin erken dönemlerinde TNF ve IL-6 gibi sitokinlerin sentezinin arttığı saptanmıştır. Sitokinlerin sentezi ile vücutta artan bir immun cevap oluşmakta ve abartılmış immun yanıtta sepsiste olduğu gibi sistemik bulgular oluşmaktadır.

2.2.4.1. Akciğer Komplikasyonları

Akut pankreatitte % 20 gibi oldukça yüksek mortalite hızı olabilir (59). Bu mortalite hızı MOSY ile alakalıdır. Multiple organ sistem yetmezliği yoğun bakımda yatan hastalarda tedaviye rağmen % 80 oranında görülür. Progresif organ disfonksiyonu olan hastalarda mortalite % 55'e kadar çıkar. Akut respiratuvar distres sendromu (ARDS) AP li olguların % 30-50 sinde görülebilir (60). AP' li olguların pulmoner disfonksiyon

kaynaklı mortalitesi oldukça yüksektir. Pulmoner disfonksiyon kalp, karaciğer ve böbrek yetmezliğini tetikleyerek AP' den erken ölümlerde sorumludur (61). Yapılan bir otopsi çalışmasında akut pankreatitten ölen vakaların % 60'ında solunum yetmezliği ilk sebep olarak bulunmuştur. AP' den oksijen saturasyonunun % 92'nin altında olması AP'nin şiddeti için bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilmiştir. Akciğerdeki radyolojik anormallikler AP' den ölümü 15 kat arttırabilir (62).

Yapılan bir çalışmada hipokseminin varlığı özellikle oksijen saturasyonunun 60 mmHg' dan düşük olması, pulmoner konsolidasyon ve ARDS varlığı AP' de kötü bir sonuç belirleyici olarak değerlendirilmiştir (63). Yetersiz alveolar gaz değişimi de AP nin şiddetini belirleyen bir belirteç olarak sunulmuştur (64). Buradaki temel mekanizma özellikle AP' de artmış mikrovasküler geçirgenliktir (65). Akut akciğer hasarı ARDS li olguların en önemli ölüm nedenidir. AP geçiren ARDS'li olguların yarısından fazlasında akut pankreatik pleural effüzyon, pulmoner infiltrasyon ve pulmoner ödem ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Pleural effüzyon AP' li olguların % 20-50'sinde saptanmıştır. Özellikle pleural effüzyon ağır pankreatik ve kötü klinik sonlanım ile ilişkili bulunmuştur (66) .

Atelettezi ve pulmoner konsolidasyon %15 oranında AP'li olgularda gözlenmektedir. AP' li olguların 1/3' de en önemli ölüm sebebi olarak erken dönemde ciddi akciğer hasarı görülmektedir. Oluşan bu komplikasyon arasında ikinci neden olarak yağ nekrozu, pseudo kist oluşumu, pankreatik apse ve pulmoner komplikasyonların oluşturduğu sistemik nedenler sayılmaktadır. Pulmoner komplikasyonların oluşumunda pleural effüzyon için 2-4 gün, atelaktazi için 5 gün ve ARDS için 12 gün ön görülmektedir (63).Yapılan bir çalışmada hipokseminin özellikle kardiyak ve renal yetmezlikli bir hastada AP için kötü bir prognoz faktörü olduğu belirtilmiştir. Özellikle AP' li olgularda pleural effüzyon varlığı mortalitenin artması yönünde risk faktörü olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak AP'li olgularda konsolidasyon ve ARDS' nin varlığı solunum yetmezliği için kötü hayatta kalımın bir belirteci olarak değerlendirilmiştir (58).

AP' li olgularda nadiren ani ölümler saptanmıştır. Bu vakalar çoklukla erkek genç aktif olarak çalışan ve uyurken ölüm şeklinde bir anamnez vermektedir (67).

AP, akut ve hızlı ilerleyen inflamasyonu takiben pankreas çevresi doku ve çeşitli organlarda hasar meydana getiren bir süreçtir. Safra taşı, yoğun alkol alımı en sık

pankreas hasarlanmasına neden olurken hiperlipidemi, hipokalsemi, çoklu ilaç kullanımı ve künt travma da diğer nadir AP nedenleri arasında sayılabilir (58).

Genellikle AP'de erken ölüm çoklu organ yetmezliğinden kaynaklanır. İnflamatuvar mediatör ve sitokinler vital organlarda vasküler hasar, staz veya artmış intravasküler koagülasyon yolu ile hasardan sorumludurlar (59). Bu ölümler genellikle geri dönüşümsüz pulmoner ödem ve akut renal yetmezlik kaynaklıdır (62).

AP' de en çok gözlenen ekstra pankreatik patoloji akciğerlerde saptanmıştır. Pulmoner ödem % 20 ile % 100 oranında en sık bulunan komplikasyondur (60).

2.2.4.2. Kardiovasküler Komplikasyonlar

Şiddetli AP'de belirgin olarak kardiyak indeks artması, total periferal direnç azalması, ve pulmoner sağ sol santların oluşması erken septik şoktaki bulgular gibidir. Bu değişiklikler sol ventrikül dolmuş indeksinde ve pulmoner vasküler rezistans azalmayla ilişkili olarak meydana gelir (67). AP'de meydana gelen miyokardiyal depresan faktör fosfolipaz A2 splanjik kan akımını azaltır. AP'de şok bradikinin gibi vazodilatör ajanların ileri derecede vazodilatasyon yapması ve üçüncü boşluğa önemli ölçüde sıvı sekestrasyonu sonucu oluşmaktadır. Agresif sıvı tedavisine rağmen bazen şok geri dönmekte dolaşım kollapsı olmaktadır. AP sıklıkla hipotansiyonla seyretmekle beraber bazen paradoksal olarak arteriyel hipertansiyon görülebilir. Bunun sebebinin aşırı renin anjiyotensin sistem aktivasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir (68).

2.2.4.3. Eklem, Kemik ve Deri lezyonları

Klinik görünüm eritema nodozuma benzer. Şiddetli AP'li hastaların bazılarında kırmızı, hassas, endüre lezyonlar pretibial ve malleolar bölgelerde bilateral olarak görülür. Ancak eritema nodozumun aksine bu lezyonlar kalçalarda, uylukta, kollarda ve trokasta da olabilmektedir. Ayrıca metatarsal, interfalangeal, bilek, diz, kol eklemlerinde poliartrit de AP'de görülmektedir. Subkutan ve periartritik yağ dokusu nekrozu muhtemelen dolaşımdaki pankreatik lipaza bağlıdır (69).

2.2.5. Akut Pankreatitte Renal Dejenerasyon

Renal fonksiyon bozukluğu AP'nin ciddi komplikasyonları arasındadır. Hastaların % 80'inde görülen ve Otto'nun 'Nefropathia Pancretica' diye olarak isimlendirdiği tabloda proteinüri ve hematuri ile karakterizedir. AP'de akut renal

yetmezlik gelişmesi hastaların % 23'ünde oluşmaktadır ve bu hastalarda mortalite % 80 dolaylarındadır. Akut tubüler nekroz, pankreatik inflamasyonun şiddeti ile ilişkili bulunmuştur. AP'de meydana gelen hemodinamik değişiklikler uygun şekilde düzeltilmezse renal disfonksiyonlar meydana gelebilir. Septik komplikasyonların gelişmesi de renal fonksiyon bozukluğuna neden olur (70).

Mevcut çalışmalar, renal hasar oluşumunda, inflamasyon sürecinde pankreastan salınan ve sistemik dolaşıma geçen proteazlar ve fosfolipaz A2 gibi pankreatik enzimler ile tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), interlökin-1, interlökin-6 gibi sitokinlerin ve serbest oksijen radikalleri kaynaklı oksidatif hasarın rol oynadığını göstermektedir (71-73). Akut pankreatite bağlı renal hasarın etyopatogenezinde rol oynadığı düşünülen faktörler şunlardır:

TNF- α : Lipsett ve Hirato bağımsız olarak AP esnasında hastalığın derecesi ile ilişkili olarak inflamatuvar sitokinlerin arttığını rapor etmişlerdir (74,75). Başka birçok çalışmada da AP' nin sistemik komplikasyonlarının oluşumunda nötrofil lökositlerin oluşturduğu doku hasarlanmalarına dikkat çekilmiştir (76). AP oluşumunu izleyen inflamatuvar stimilasyonda nötrofilik granülositler yaygın ve dağılan inflamasyonun belirteci olabilir (77). Şiddetli akut pankreatit (SAP) patomekanizmasında TNF- α inflamatuvar sitokinler içerisinde önemli bir birimdir. TNF- α 'nın SAP oluşturulmuş ratlarda hayatta kalımı ve devamı sağlamada önemli bir rol aldığı Kristof tarafından gösterilmiştir (78). TNF- α 'nın pankreatik ve renal hasar oluşumunda rol aldığı etki mekanizmalar şöyle sıralanabilir;

- 1- TNF- α direkt olarak pankreatik hasarı; salgı bezlerinde mikrotrombüs, pankreatik ansinüslerde iskemi, hemoroji, nekroz, inflamasyon ve ödem oluşturarak yapar (79,80).
- 2- Doku TNF reseptörlerine bağlanan çok sayıdaki TNF- α 'lar yoğun serbest TNF- α 'nın kan sirkülasyonuna girmesine neden olur. Bu durum nötrofilik granülosit aktivasyonuna ve agregasyonuna sebep olur. SIRS'ın oluşumunda sitokin kaskat reaksiyonu sitokinlerin (IL-1 β , IL-8 ve IL-6) oluşumu ve pankreatik/renal hasarın agrevasyonunda rol alır (81).
- 3- TNF- α 'nın devamlı yayılımı endotel adezyon molekülünün artması, bu yolla inflamatuvar hücrelerin agregasyonu için bir gerekliliktir. Çok sayıda granülosit pankreatik/renal hücrelere yönelir, granülosit fagositoz ve degranülasyon artar, yaygın serbest oksijen

radikalleri hasar alanında belirir. Lisosom, elastin ve diğer enzimler renal hasar ve metabolik düzensizliğe sebep olur (82).

İnterlökinler (IL): IL-1 pankreasda preinflamatuvar bir sitokin olup erken dönem SAP oluşumunda çok önemli bir rol oynar. Hayvansal SAP modelinde IL-1 reseptör antagonistlerinin fetaliteyi % 30 azalttığı bulunmuştur (83). Ayrıca IL-1 reseptör antagonistleri, IL-6 ve TNF- α konsantrasyonlarını belirgin bir şekilde azaltabilir (84). Fing ve arkadaşları pankreatit model oluşturmadan önce IL-1 reseptör antagonistleri vermişler ve IL-1 reseptörlerinin doza bağımlı olarak pankreatik nekroz ve amylopolisinin boşalmasında azalmaya sebep olmuşlardır (85).

IL-1 β 'nin oluşumunda IL-1'in konvertaz enziminin etkili olduğu düşünülmektedir. IL-1 β ve TNF- α ikilisi birlikte birçok biyolojik aktivitelerde; bunlar içerisinde pirojen fonksiyonlar, hücre katabolizmasının oluşumu, akut reaksiyon zamanında protein oluşumu, PGI₂'nin epitel ve platelet aktive edici faktör olarak salınması gibi durumlardan sorumludurlar. Ayrıca inflamatuvar yayılımı artmasına sebep olarak inflamatuvar mediatör seviyelerinde, yıkıcı enzimlerin düzeylerinde ve serbest oksijen radikallerinin artmasında da rol oynarlar. Ayrıca kemotaksis ve granülosit hücreleri üzerine otokrin ve parakrin mekanizmaları kullanarak aktive edici etkisi ile diğer inflamatuvar mediatörlerin (IL-8 ve IL-6 gibi diğer inflamatuvar sitokinler) oluşumunu sağlarlar. IL-6 mononükleer makrofajın temel yayılan elemanıdır. IL-6 yoğun inflamatuvar etkisini B-hücrelerini prolifere ve aktive ederek sağlar. İmmünglobulin sentezini artırır. T-hücrelerinin proliferasyon ve farklılaşmasını sağlar, böylelikle doku hasarının akut reaksiyon zamanını tetikler. IL-6 seviyesi SAP oluşumunda dönüştürücü olabilir. Komplikasyonu olmayan akut pankreatit ve SAP tanılı hastalar arasında IL-6 seviyeleri ayırt edici olabilir (86). IL-1 ve IL-6 için endotel hücreleri de gösterir. Endotel hücreleri kendi trombomodülün aktivitelerini azaltarak renal iskemiye arttırarak ve aktive inflamatuvar hücrelerden NO ve serbest oksijen radikallerini direkt salarak renal hasara neden olur (87).

IL-8 nötrofilik granülosit kemotaktik potent bir faktördür ve nötrofilik granülositlerden yayılır. Mononükleer/makrofaj ve endotel hücrelerinden yayılan IL-8 T-hücrelerini aktive eder, B hücre farklılaşmasında, NK hücrelerinin genişlemesinde rol alır. Bu durum hedef hücrelerin ölümünde ve fagositozun oluşumunda önemli bir basamak olup doku hasarında nötrofilik granülositlerin aracılığını ortaya koyar. En

önemli inflamatuvar reaksiyonlar TNF- 2 α , IL-1 ve IL-6'nın yayılımına bağlı olarak kemotaktik faktörlerin yayılımı ile oluşur. SAP oluşumunda IL-6 ve IL-8'in her zaman artması ve SAP'ın durumu ile korale olması çalışmalarda gösterilmiştir (88).

Fosfolipaz A2: SAP oluşumunda inflamatuvar mediatörlerin çok miktarda yayılması sonucunda, PLA₂ miktarı ciddi seviyelere ulaşır (89). Çalışmalarda SAP tablosunda PLA₂'nin seviyesi ile ve prognozu ile ilişkili bulunmuştur (90). PLA₂, vücudun en önemli lipaz maddesi olup çeşitli hücrelerin membran organellerinde ve plazmada yaygın olarak bulunur. PLA₂ temel olarak plazmadan pankreas yolu ile salınır, çok az miktarda da tükürük bezleri, prostat ve bazı organlardan salınımı vardır. Serum PLA₂ orjinini nötrofilik granüosit, makrofaj ve plateletlerden alır. Pankreas dışındaki hücreler ve pankreatik asinüs hücreleri PLA₂ için kaynaktır (91). SAP oluştuğu zaman polimorfonükleer lökositler ve mononükleer makrofajlar endotoksin ile uyarılarak çok sayıda PLA₂ 'nin kana yayılmasına ve membranın dekompose fosfolipidik parçalanmasına sebep olurlar. PLA₂ hücre membranının stabilizasyonunu parçalamakla kalmaz aynı zamanda lizozom enzimlerinin yoğun bir şekilde hücre dışına çıkmasına da sebep olur. Pankreatit sonrası PLA₂ mediatör yayılımını yaparak pankreas hasarının oluşumunda önemli rol oynar (92, 93). Renal hasara bağlı SAP oluşumunda PLA₂ seviyesi artar. PLA₂ renal tübül epitel hücre membranındaki lesitini hidrolize eder, bu durum serbest yağ asitlerinin açığa çıkmasına ve hemolize neden olur. Hemolitik lesitin renal tübül epitel hücre membranında yapısal bozulmaya yol açar.

NF- κ B ve ICAM-1: Nükleer faktör κ B (NF- κ B) inflamatuvar molekülün yayılımının düzenlenmesinde en önemli faktörlerden birisidir (94-95). Çok az hücrede sitoplazma içinde NF- κ B in aktif hali bulunur. Hedef genlerde iniatör κ B'ye bağlanabilir veya genetik ifadenin başlamasında genişletici olabilir (96). Ayrıca renal doku hasarında bir katılımcıdır (97). Aktive olmuş renal NF- κ B ayrıca renal hasarın oluşturduğu AP tablosunda önemli bir rol alır. Sato ve arkadaşları SAP oluşumunu takibiben NF- κ B'nin büyük oranda arttığını bulmuşlardır (98). NF- κ B'nin artışı zamana bağımlı bir artıştır. NF- κ B'nin anormal aktivasyonu, preinflamatuvar faktörlerin (TNF- α IL-1 ve IL-6) transkripsiyonunu arttırabilir. TNF- α ve IL-1 ayrıca ekstraselüler sitimülasyon uyarıları ile inflamatuvar reaksiyonun artışı yönünde çoğaltabilir. NF- κ B inflamatuvar reaksiyonlarında, sitokinlerin ekspresyonunda ve inflamatuvar/imünizasyon ilişkili dönüşümde, streste tanımlanmıştır (94). NF- κ B İnterselüler adezyon molekülüne (ICAM-1) bağlanarak başlatıcı rol oynar (99). ICAM-1 hücre adezyon immünglobülün

molekül ailesinin bir bireyidir. Özellikle polimorfonükleer granüositler (PMN) ve vasküler endotel hücreler arasında; PMN'nin dokuya agregasyonunda önemli rol oynar. Doku içerisinde agregate olmuş PMN organ ve hücre hasarına sebep olur. SAP kliniğinde ICAM-1'e bağlı renal NF- κ B aktivasyonu ve renal NF- κ B aktivasyonu ICAM-1'in ekspresyonunu aktive eder. Bu süreçte nötrofilik granüosit adezyon ve agregasyon inflamasyonun temelini oluşturur. Agregate olmuş inflamatuvar hücreler glomerülde direkt olarak toksik etki ile hücrede morfolojik değişikliklere, proliferasyona, kapiler hasara ve krezent oluşumuna neden olur. TNF- α ayrıca sitokin kaskat reaksiyonunu aktive ederek yoğun inflamatuvar mediatörlerin salınımına sebep olur ve bu yolla glomerüldeki hasarını artırır.

Endotoksinler: Endotoksin temel olarak gram negatif bakterilerden üretilir ve hücre duvarının hipopolisakkarit komponentini oluşturur. Klinik çalışmalarda AP de ve özellikle SAP da endotoksienia olur ve bu endotoksini SAP daki multiorgan yetmezliğinin progresyonu ve başlangıcı ile açıkça ilişkilidir. Windsdor AP kliniği ile endotoksin arasında direkt ilişki saptamıştır (100). En güçlü endotoksin olan endoterin, kan yolu ile orta büyüklükteki arteriorler ve özellikle renal arter venlerden yayılarak daralmaya sebep olurlar. Bu özellik renal arter ve venlerde reseptörler üzerinde yüksek afinite gösterir, bu klinik tablo renal kan akımını azaltır, renal kan akımının azalması renal iskemiye, nekroza, disfonksiyona ve sonuçta yetmezliğe neden olur. Artmış endoterin seviyesi ayrıca diğer dokularda da iskemiye arttırır, bu klinik tabloyu bakteri translokasyonunu arttırarak, kan endotoksin ve renin anjiyotensin seviyesini iskemik doku değişiklikleri yaparak sonuçta endotelin iskemik dokuda yoğunlaşmasını sağlayarak oluşturur (101).

Serbest Oksijen Radikalleri (SOR): SOR, eşleşmemiş elektron içeren son derece reaktif oksijen bulunduran kimyasal gruplardır. Yüksek konsantrasyonları oksidatif strese neden olur. Lipid oksidasyon yolu ile mukoza geçirgenliğini arttırır ve böylelikle fagositik aktivite daha da belirginleşerek histiyosit hasarı oluşur. Scot ve arkadaşları doku ve hücre hasarının yoğun SOR ile oluştuğunu göstermişlerdir (102).

Vücudun antioksidan kapasitesinin üzerinde yoğun bir şekilde yaygın SOR oluşumunda, SOR'nin temizlenme yetersizliği oluşur. Bu durum ciddi oksidatif strese sebep olur. Sonuçta plazma membranı lipid peroksidasyonu sonucunda hücre korunaksız hale gelir ve hücre hasarı adım adım tüm makromoleküllerde şekillenir.

Luo Jun ve arkadaşları böbrekteki lipid peroksidasyonu ile oluşan MDA ve antioksidan enzim seviyelerinin AP progresyonu ile uyumlu patolojik değişiklikler gösterdiğini saptamışlardır (103).

NO: NO, lökosit adezyonunu inhibe eden mikrosirkülasyonun temel düzenleyicisidir. Böbrek SAP kliniğinde en erken etkilenen organdır. Patolojik durumda NO tamamen farklı biyolojik fonksiyonlar gösterir (104). Molero ve arkadaşları NO ve pankreatit bazal salınımı pankreatit tablosunda arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve NO sentetaz inhibitörü (L-NAME) uygulanmasının pankreas miyeloperoksidaz (MPER), lipoidaz ve amilaz aktivitesini artırdığını rapor etmişlerdir. (105). NO AP' i tetikler ve bu süreçte mikrosirkülasyon perfüzyonunun düzenlenmesi pankrin salınımının azalması gibi patolojik değişiklikler rol oynar. SAP kliniğindeki renal hasarda muhtemel NO'nun rolleri şöyle sıralanabilir.

1- NO'in sitokinlerle göstermiş olduğu sinerji (106).

2- Sistemik NO'nun artışı ile kan damarlarındaki durgunluğa karşı reaksiyonun azalması ve renal iskemi nedeniyle hasarın oluşması.

3- Lokal olarak biriken NO ve SOR etkileşimi sonucu oluşan toksik bileşikler renal hücrelere direk toksisite gösterir (107).

Pankreatik Nefrotoksin: Uzun zamandan beri AP den kaynaklanan hipovalemi ve hipotansiyonun renal hasar oluşumuyla ilişkili bir faktör olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda AP' de renal toksik reaksiyonların erken aktive olan tripsinin aktive ettiği kallikrein-kinin sisteminden kaynaklandığı gösterilmiştir. AP oluşumunda artmış pankrin kana yayılarak PLA₂ de dahil olmak üzere hücre membranında lesitin ve fosfolipidlerin serbest hale geçmelerini sağlar. Lizofosfotid, açil koenzim, açil karnitin, serbest yağ asitleri gibi aktif anormal lipid metabolitleri hücre membranında hasar oluştururlar. Serbest yağ asitleri aynı zamanda mitokondri oksidatif fosforilasyonuna sebep olur ve hücre Na⁺K⁺-ATPaz enzim aktivitesini baskılar. Aktive edilmiş kompleman sistemi membran atak kompleksi denilen C5b ve C5b C6, C7, C8 ve C9 u üretir. Bunlar irreversible hücre hasarını ve hücre membran yıkımını sağlarlar (108).

Kandaki artmış tripsin seviyesi, kalikrein-kinin sisteminini aktive ederek vazoaaktif polipeptidlerin salınımını sağlar ve yoğun renal toksik reaksiyonu oluşturur. Bu süreçte pankreatik resolvase polipeptidlerin salınımını sağlar. Plazma proteinleri

degranüle olur. Sonuçta glamerüler geçirgenlik artar ve intersisyal dokuda ve renal tübüllerde hasar meydana gelir. Yüksek tripsin konsantrasyonu sistemik hiperkoagülasyona neden olur. Sonuçta renal fonksiyonlar koagülasyonun etkisi ile parçalanır ve kan damarlarında biriken fibrinden oluşmuş trombus, platelet ve hücre yıkım ürünleri bu bozulmanın patogenezinde önemli rol oynar.

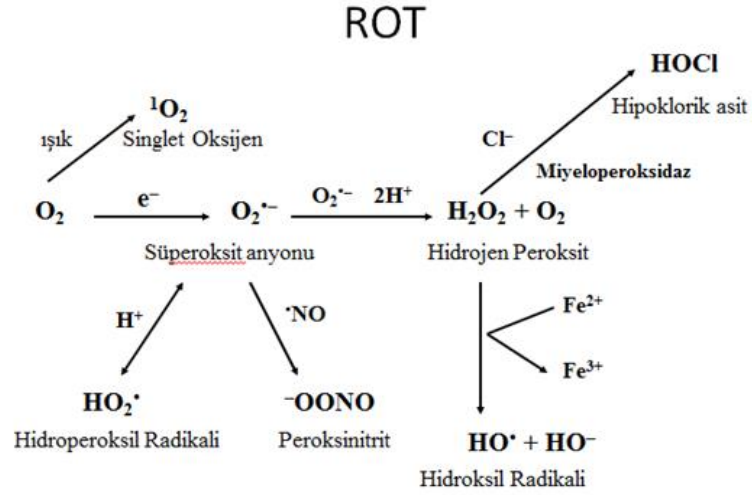
2.3. Serbest Oksijen Radikalleri ve Türleri

Atomlar, nötron ve protondan oluşan bir çekirdekle, bu çekirdeğin çevresinde dönen elektronlardan oluşurlar. Atom çekirdeğinin çevresindeki, elektronların bulunduğu boşluğa da orbital denir. Her bir orbitalde spinleri birbirine zıt ($\uparrow\downarrow$) olan iki elektron bulunur. Bu elektronlara eşleşmiş veya ortaklanmış elektronlar denir (109).

Atom veya moleküller, yörüngelerindeki elektronlar eşleşmiş ve ters spinli yer aldıklarında kararlı bir yapı gösterirler. Bu kararlı yapı eşleşmemiş elektron bulduklarında bozulur (110). Serbest radikaller; bu şekilde atomik veya moleküler yörüngesinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş “elektron” bulduran basit bir molekül, atom veya iyondur. Başka bir ifadeyle serbest radikaller, negatif yüklü elektron sayısının, pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir.

Serbest radikaller bu ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif olup, çevrelerindeki atom ve moleküllere adeta saldırırlar. Çok kısa ömürlü olmalarına karşın, radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girip onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp, birçok radikal oluşturmalarından dolayı bu moleküllere oksidan moleküller ya da reaktif oksijen türleri de denilmektedir (111).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijen kaynaklı radikallerdir. Moleküler oksijen, molekül yapısı gereği yüksek derecede serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşturma eğilimindedir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Moleküler oksijenden reaktif ara ürünlerin oluşumu

Oksijen atomu toplam sekiz elektron içerir. Bu elektronlar öyle dağılmışlardır ki bunlardan dış yörüngede bulunan iki tanesi eşleşmemiştir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar.

Çok reaktif olan bu yapılar, kararlı duruma geçme eğiliminde oldukları için tek elektronlarını çiftlemek üzere başka moleküllerle reaksiyona girdiklerinde onların yapılarını değiştirebilirler. Bir serbest radikal çiftlenmemiş elektronunu radikal olmayan bir moleküle verebilir veya tek elektronunu çiftlemek üzere, diğer molekülden bir elektron alabilir. Böylece bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürür. Bu olay bir zincir reaksiyonu olarak, serbest radikalın başka bir radikalle birleşmesi veya antioksidanlar tarafından kırılana kadar devam eder (112).

Organizmada pek çok çeşitte SOR oluşabilir (Tablo 2.4). Ancak en sık olarak lipid yapılarla oluşur. Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa lipid radikali meydana gelir ve lipid peroksidik radikalini oluşturur. Lipid peroksi radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonunu başlatır ve lipid hidroperoksitler oluşur. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları lipid peroksidasyonu hızlandırır (113). Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlerde dönüşebilir. En çok bilinen ürün aldehid grubundan malondialdehid (MDA).

Tablo 2.4. Serbest oksijen radikalleri ve formülleri (114)

Serbest Oksijen Radikalleri	
Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot -}$
Hidroksi radikali	$\cdot OH$
Peroksil radikali	$ROO\cdot$
Hidrojen peroksit	H_2O_2
Singlet oksijen	1O_2
Nitrik oksit	$NO\cdot$
Peroksinitrit	$ONOO^-$
Hipoklorik asit	$HOCL$

Serbest oksijen radikallerine ek olarak, çiftleşmemiş elektronu bulunmadığı halde reaksiyonlarda son derece reaktif davranabilen ya da serbest radikal kaynağı olan maddeler de bulunmaktadır (hidrojen peroksit ya da hipoklorik asit gibi). Oksijen merkezli serbest radikaller veya serbest radikallerin indirgenme ürünleri olan SOR hücrelerde dopamin ve adrenalin oksidasyonu, pürin katabolizması, aerobik metabolizma gibi normal kimyasal reaksiyonlar sırasında üretilen oldukça toksik bileşiklerdir. Ayrıca radyasyon, sigara gibi çevresel faktörler ve hiperglisemi gibi normal metabolizmada gözlenen bazı değişiklikler de SOR bileşik sentezinde artışa neden olmaktadır (115).

Oksijenli ortamda yaşam, oksidatif fosforilasyon ile ATP üretimi açısından önemli ölçüde yarar sağlarken bazı tehlikeleri de beraberinde getirir. Süperoksit radikali oksijenin kendisine bir elektron eklenmesi ile oluşur (116). En önemli kaynağı mitokondri ve endoplazmik retikulumdaki elektron transport zincir reaksiyonudur (117). Süperoksit radikali doğada genellikle redüktiftir ve belirgin özelliği H_2O_2 kaynağı olmasıdır. Süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalitik olarak H_2O_2 'e indirgenir. H_2O_2 düşük toksisiteye sahip, oksidan ancak reaktif olmayan bir üründür, fakat kolayca hücrel membranlara penetre olabilir. Özellikle geçiş metal iyonlarının (demir, bakır) varlığında $O_2^{\cdot -}$ ve H_2O_2 ferik demiri ferröz hale getirerek, serbest oksijen radikallerinden en reaktif ve hasar verici özelliğe sahip olan OH radikalini oluşturmak için kolayca parçalanabilir. Bu reaksiyon "Fenton Reaksiyonu" olarak bilinir (118).

Redükte glutatyon (GSH), organik sistemlerde antioksidan fonksiyonları etkileyen en önemli biyolojik moleküllerden birisidir. Glutatyonla birlikte glutatyon

bağımlı sistem “glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon-S-transferaz (GST)”, katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD); toksik serbest radikalleri etkin bir şekilde toplarlar (119).

Organizmada serbest radikaller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile endojen ve eksojen kaynaklardan oluşabilmektedir. Tablo 2.5’de serbest oksijen radikallerinin endojen ve eksojen kaynaklarından bazıları sıralanmıştır (120).

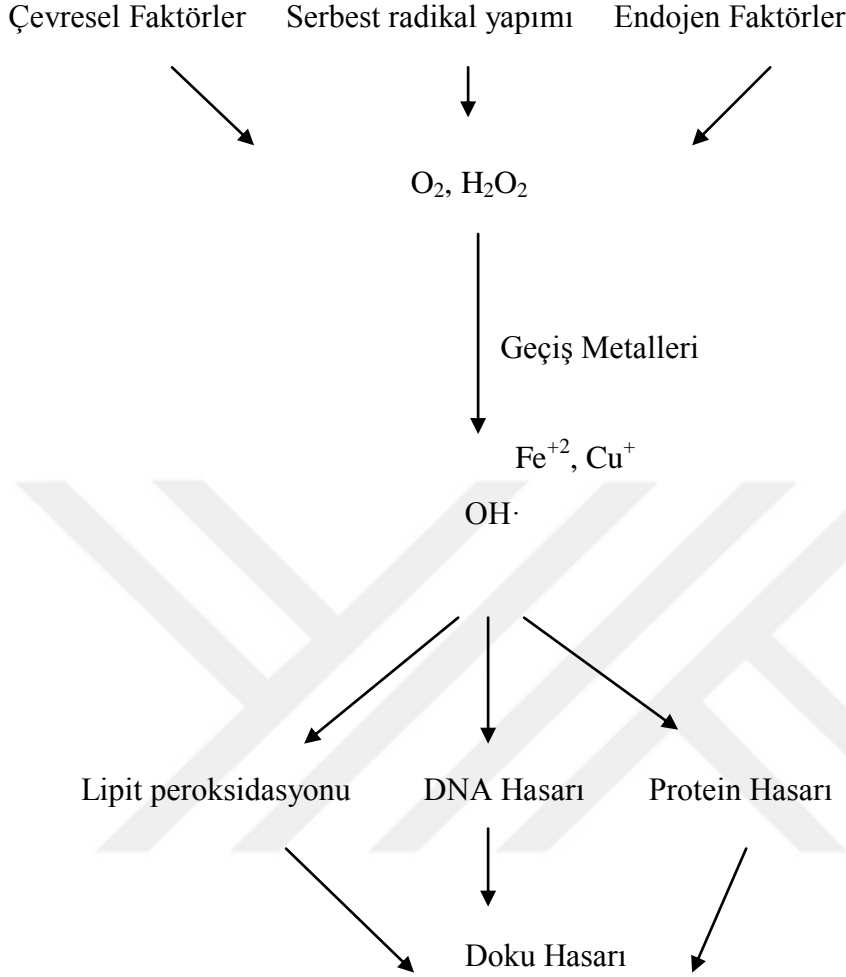
Tablo 2.5. Serbest oksijen radikallerini oluşturan kaynaklar (120)

Endojen kaynaklar	Eksojen kaynaklar
Mitokondriiler (solunum zinciri)	Radyasyon
Hücre zarı (prostoglandin sentezi)	İlaçlar
Sitokrom P-450	Sigara, Alkol, Uyuşturucu
Aktive lökositler (fagositöz)	Metal iyonları
Mikrozomal elektron taşıma zinciri	
Oksidan enzimler	

2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Oksidatif Stres

Serbest oksijen radikalleri yapısal özellikleri nedeni ile lipid, protein ve nükleik asit gibi hücre bileşenlerini okside etme kapasitesine sahiptir. Özellikle hücre membran yapısında bulunan doymamış yağ asitleri oksidasyona duyarlıdır ve bunların oksidasyonu lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olur. Bir reaksiyon zincirinin başlaması, diğer reaksiyon zincirlerinin başlamasına ve şiddetlenmesine neden olur ve bunun sonucunda yaygın peroksidasyon, membran lipid tabakasının yapısal bütünlüğünde bozulma, membran geçirgenliğinde artma, iyon transportunda bozulma ve son olarak lizis ortaya çıkar. Hücre ölümüne kadar giden bir süreç bu şekilde tamamlanır. Fizyolojik koşullarda serbest oksijen radikalleri dolaşımda bulunmakta ve hücrel redoks sistemleri ve antioksidanlar aracılığı ile yüksek oranda kontrol altında tutulabilmektedirler. Buna rağmen dolaşımda oksiradikallerin artması ve hücrel redoks homeostazın zayıflamasında oksidatif stres oluşmakta bu da önce hücre daha sonra doku ve organ sistemlerinde yapısal ve işlevsel bozukluklara neden olmaktadır. SOR bileşiklerinin neden olduğu oksidan stresin diyabet, kanser, ateroskleroz, ilaçlara bağlı nefrotoksisite gibi birçok olayın patogeneğinde ve komplikasyonların gelişmesinde rol oynadığı kabul edilmektedir (121). Organizmada

oksidatif strese neden olan radikal yapımı endojen ve çevresel faktörleri içeren çeşitli mekanizmalarla gerçekleşir (Şekil 2.6) (122).



Şekil 2.6. Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarı sonuçları
(122)

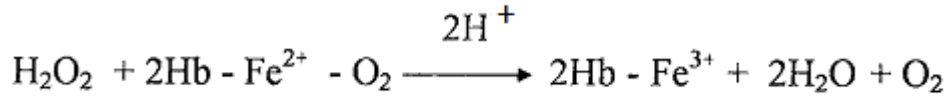
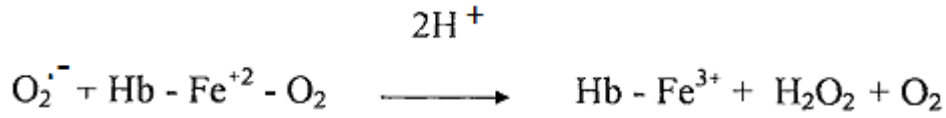
2.3.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Hedeflere Etkileri

Vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanımla oksidan-antioksidan denge olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Bu dengenin bozulması oksidatif strese yol açar (123). Oksidatif stres sürecinde hücredeki protein, karbonhidrat, nükleik asit ve lipitler hedef moleküller haline gelirler.

2.3.2.1. Proteinlere Etkileri

Serbest radikaller protein yapısındaki aminoasitlerle reaksiyona girerek sülfidril gruplarının kaybına ve karbonil gruplarının oluşmasına neden olurlar. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. Örneğin immungulobin G ve albumin gibi disülfid bağı fazla olan proteinlerin serbest radikal saldırıları sonucu üç boyutlu yapıları bozulduğu tespit edilmiştir (124). Ayrıca protein yapısında olan enzimlerinde serbest radikallerle etkileştikleri sonucu aktivitelerinde değişiklikler meydana gelebilir (125).

Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli derecede etkilenirler. Özellikle oksihemoglobinin, $O_2^- \cdot$ radikali ve H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumu ile sonuçlanır (126).



2.3.2.2. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

Reaktif oksijen metabolitleri DNA üzerinde sitotoksik etkiye sahiptir. Sitotoksik etki, büyük oranda nükleik asitlerdeki baz modifikasyonlarından kaynaklanan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer değişikliklere bağlıdır. İyonize edici radyasyona maruz kalınması sonucu oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek genetik materyalde mutasyonlara neden oldukları tespit edilmiştir. Örneğin hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girerek bu grupları etkileyebilir. Ayrıca hidrojen peroksit radikali ise zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilir (126).

2.3.2.3. Karbonhidratlara Etkileri

Günlük hayatta en çok kullandığımız gıdalardan olan monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterir ve böylece kanser ve yaşlanmaya neden olabilirler (127).

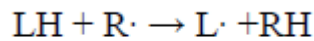
İnflamatuar eklem hastalığında bir mukopolisakkarid olan hiyalürinik asidin sinoviyal sıvıda artmış olan H_2O_2 ve O_2^- tarafından parçalandığı gösterilmiştir (128).

Yine gözün vitreous humourunda da bol miktarda bulunan hyalünorik asitin oksidasyonu sonucu katarakt oluştuğu tespit edilmiştir (129).

2.3.2.4. Lipidlere Etkileri

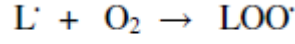
Membran lipidleri oksidanların en önemli hedeflerindedir. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Serbest radikallerin biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine etkileri lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde devam eder. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (129).

Lipid peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin (poly unsaturated fatty acid) (PUFA) reaktif oksijen türleri tarafından peroksitler, alkoller, malondialdehit, etan ve pentan gibi ürünlere yıkılmasıdır. Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonrasında açığa çıkan ürünler zar geçirgenliğini ve akışkanlığını ciddi şekilde etkileyip hücre ve organel içeriklerinin ayrılmasına neden olan kopma ve kırılmalara yol açar (129, 130). Reaktif oksijen metabolitleri membranlara yakın bölgelerde ortaya çıktığında membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla lipid peroksidasyonu başlar. OH^- radikali çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki alfa metilen gruplarından bir H uzaklaştırır. Hidrojen atomu uzaklaşması ile karbon atomu üzerinde eşleşmemiş elektron kalır ve bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikali ($L\cdot$) niteliği kazanır.

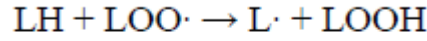


Oluşan lipit radikalinin molekül içi çift bağlarının pozisyonunun değişmesiyle konjuge dienler oluşur. Bir alkenin iki çift bağı arasında bir tane tekli bağ varsa bu yapı konjuge dien olarak isimlendirilir. Bu şekilde moleküler düzenleme sağlanmış olur. Lipit

radikalinin moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali (**LOO[·]**) oluşur.

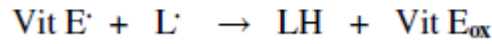
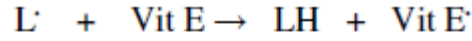


Peroksil radikali diğer komşu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşmasına neden olurken kendisi de açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipit hidroperoksitlerine (**LOOH**) dönüşür. Böylece peroksidasyon başladıktan sonra kendi kendine yayılabilmekte ve çok sayıda yağ asidi zinciri lipit hidroperoksitlerine dönüşebilmektedir. Bu tepkime ilerleme reaksiyonu olarak isimlendirilir (131).



Lipitlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine “enzimatik lipit peroksidasyonu”, diğer radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna ise “non-enzimatik lipit peroksidasyonu” denir.

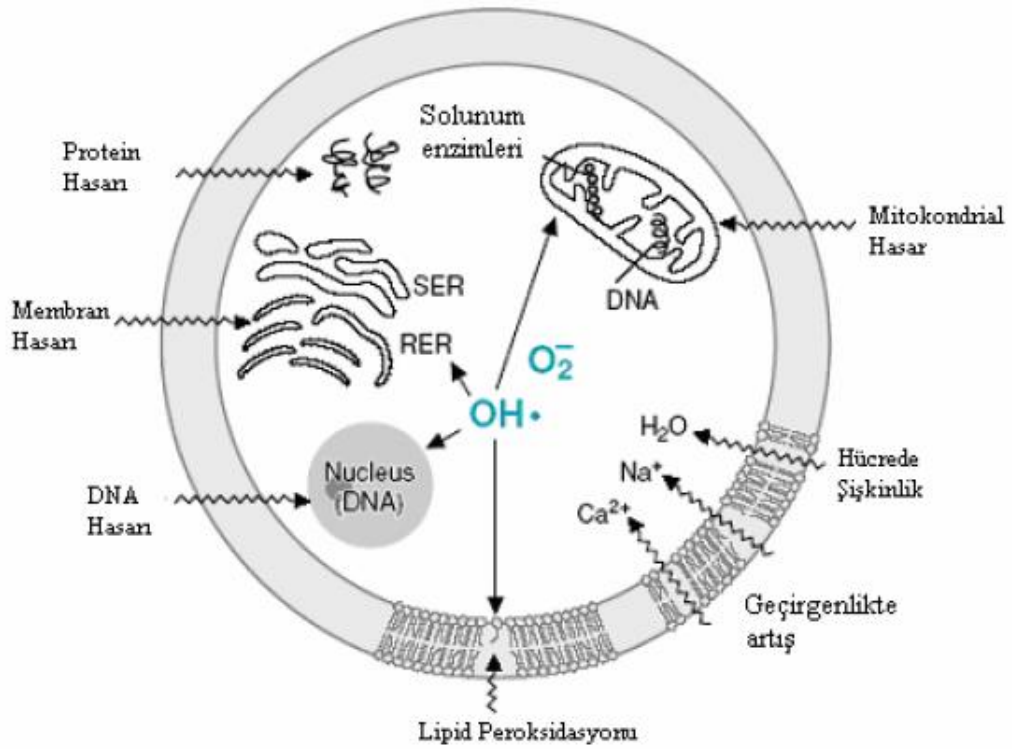
Oldukça kararlı olan lipid hidroperoksitleri lipid peroksidasyonun ilk ürünüdür. Lipid peroksidasyonunun sürekli olarak devam ettiği durumlarda E vitamin gibi zincirleme tepkimeyi sonlandırıcı bir antioksidan ile lipid peroksidasyonu sonlanabilir (132).



Lipit peroksidasyonunun son bileşeni olan malondialdehit (MDA) peroksidasyona uğramış çoklu doymamış yağ asitlerinin bölünmesiyle oluşan üç karbonlu bir dialdehidtir ve hücrede oksidatif hasarın göstergesi olarak yaygın bir şekilde kullanılır. Bu dialdehid biyolojik ortamda makromoleküllerin NH₂ ve/veya SH gruplarına bağlı veya serbest olarak bulunur (128). Oluşan MDA; deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi zar özelliklerinin değişmesine yol açar. Bu etkiler MDA'nın mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu gösterir (133). Lipid peroksidasyonu direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehydler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verirler.

Serbest radikallerin ve lipit peroksitlerinin neden olduğu hastalıklar aşağıda sıralanmıştır.

- Yaşlanma
- Ateroskleroz
- Kanser
- Radyasyon hasarı
- İskemi-reperfüzyon hasarı
- İnflamasyon
- Diabet
- Akciğer hastalıkları (sigara, oksijen toksisitesi)
- Beyin bozuklukları (hiperbarik oksijen, alüminyum toksisitesi, nörotoksinler, alzheimer hastalığı, parkinson hastalığı)
- Böbrek bozuklukları (Otoimmün nefroz, aminoglikozid nefrotoksitesisi, ağır metal nefrotoksitesisi)
- Kardiyak miyopati (Keshan Hastalığı)
- Kas hastalıkları (kas distrofisi, multipl skleroz, egzersiz)
- Göz bozuklukları (maküler dejenerasyon, katarakt)
- Cilt bozuklukları (solar radyasyon, yanıklar, kontakt dermatit)
- Karaciğer bozuklukları (endotoksin, alkol, halojenli hidrokarbonlar, asetaminofen, demir)
- Kan hastalıkları (Fenilhidrazin, primaquin, sülfonamid gibi kimyasal bileşikler, protoporfirin fotooksidasyonu, malarya, orak hücre anemisi, favism)
- Gastrointestinal bozukluklar (ülseratif kolit)



Şekil 2.7. Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarı (134)

2.4. Akut Pankreatit ve Oksidatif Stres

Oksidatif stress akut pankreatit patogeneğinde önemli bir faktördür. Akut pankreatitin seyrinde ortaya çıkan oksidatif hasar ile ilgili olarak çeşitli patolojik mekanizmalar ileri sürülmektedir (135). Akut pankreatitte başlangıçtaki inflamatuvar olaylar, asiner hücrelerde apoptozise ve serbest oksijen radikallerinin üretimine neden olabilir.

Nitrik oksidin oksidasyon ürünü olan peroksinitrit ve süperoksit, asiner hücre hasarına ve ölümüne neden olabilir. Bu hasar, serbest radikal temizleyicisi olan süperoksit dismutaz ile önlenebilir.

Biyoaktif prostaglandin benzeri bileşikler olan izoprostonatlar, araşidonik asidin, serbest radikaller ile katalizlenmesi ile oluşan güçlü vazokonstrüktör etki gösteren bileşiklerdir. Siklooksijenaz (COX) inhibitörleri, izoprostonatların miktarını artırır ve iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak pankreatik fonksiyonların kaybına yol açar.

Serbest radikaller, pankreatik dokuda antioksidanların kaybına yol açarak iskemi-reperfüzyona bağlı asiner hücre hasarına katkıda bulunabilirler ve serbest oksijen radikalleri asiner hücreler üzerine direkt toksik etki gösterebilirler.

Serbest oksijen radikalleri özellikle de en reaktif ve kısa ömürlü olan hidroksil radikali, proteinler, polisakkaritler, lipidler ve nükleik asitler gibi biyolojik maddelerle reaksiyona girerler, Malondialdehid (MDA), oksidatif stres sonucu gelişen lipidlerin peroksidasyon hasarının son ürünü olup, luminal oksidatif stresin hücre sitoplazma düzeyi göstergesi olarak kullanılmaktadır. Membran bileşenlerinin çok büyük kısmını poliansatüre yağ asitleri oluşturur ve bunun serbest radikallerle tepkimeye girmesi lipid peroksidasyonuna ve hücre ölümüne yol açar. Bu hasarın pankreastaki kapillerin endotel tabakasına etkisi sonucu permeabilite artışı, doku ödemi ve hücrelerin ekstrasvazasyonuna sebep olur (136). Pankreastaki bu etki, akut pankreatitte inflamasyonun en erken bulgusu olan mikrosirkülasyon bozukluğuna sonrasındada dolaşımdaki monosit ve nötrofillerin göçüne neden olur. Lökositler kapiller duvarına yapışır ve bazen bütün damarı tıkayabilir, böylece mikrosirkülator dolaşımı daha da bozarlar. Ayrıca gelen lökositler çeşitli enzimleri (myeloperoksidaz, elastaz, nötral ve asit proteazlar vb.), prostaglandinleri ve lökotrien metabolitlerini salgılayarak inflamasyonun büyümesine katkıda bulunurlar, Serbest oksijen radikallerinin pankreastaki etkileri en sık cerulein ile indüklenen deneysel pankreatit modellerinde çalışılmıştır. Cerulein ile indüklenen pankreatitin histolojik görünümü insanlardaki akut pankreatitin erken dönemini taklit etmektedir (137).

Oksidatif stres radikal üretimi ve ortadan kaldırılması arasındaki denge bozulduğunda görülür. Bu olay oksidatif ürün oluşumunda artış ve antioksidan endojen koruma mekanizmalarında deplesyon ve azalma sonucu oluşur. Oksidatif stres antioksidatif defans kapasitesini aşan SOR'un ($O_2^{\bullet-}$, $OH^{\bullet-}$) aşırı üretimi ile kendini gösterir ve bir fibroproliferatif hastalığın patogeneğinde suçlanmaktadır. Bunlar içinde pulmoner fibrozis, aterosklerozis ve glomerulosklerozis sayılabilir (138).

Oksidatif stres kronik viral hepatit, alkolik karaciğer hastalığı ayrıca akut pankreatit patofizyolojisinde rol oynadığı bildirilmektedir (139).

Akut pankreatit gelişiminde SOR oluşumu yalnızca pankreasta olmayıp karaciğer ve böbrekte de bildirilmiştir. Oksidatif stres pankreatik inflamasyon gelişiminde ve ekstrapankreatik komplikasyon oluşumunda santral bir role sahiptir.

Deneysel akut pankreatit modelleri oksidatif stresin hastalığın başlangıç döneminde meydana geldiğini göstermektedir (140). Bu reaktif oksijen radikallerinin doğrudan ve dolaylı etkileri neticesinde onları akut pankreatitte inflamatuvar sürecin moleküler düzeyde hem tetikçisi hem de şiddetinin artmasında aracı medyatör yapmıştır.

2.5. Antioksidanlar

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Organizmanın yaşamını sağlıklı bir şekilde sürdürebilmesi için oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge bulunmalıdır. Bu denge bozulduğunda serbest radikaller oksidatif stres sürecini başlatma ve hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır (141).

Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak hücreleri oksidanlardan koruyan maddelerdir (142).

Antioksidanlar aşağıdaki verilen tablolarda belirtilmiş kriterlere göre farklı sınıflandırmalar içermektedir (Tablo 6-8).

Tablo 2.6. Çözünürlüklerine göre antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidan	Faz	Etki
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Hidrofilik	O ₂ 'nin H ₂ O ₂ ve O ₂ 'e dismutasyonu
Katalaz (CAT)	Hidrofilik	H ₂ O ₂ 'nin H ₂ O ve O ₂ 'e dismutasyonu
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Hidrofilik Lipofilik	R-OOH'nin R-OH indirgenmesi
Glutasyon redüktaz (GSH-Rd)	Hidrofilik	Okside glutasyonun indirgenmesi
Glutasyon S Transferaz (GST)	Hidrofilik	R-OOH'nin GSH ile konjugasyonu
Metallotieninler	Hidrofilik	Geçiş metalleriyle nötralizasyon
Glutasyon	Hidrofilik	GSH-Px ve GST'nin kofaktörü
Askorbik asit	Hidrofilik	Serbest radikal temizleyicisi Tokoferol kazanımı
Karotenler	Lipofilik	Serbest radikal temizleyicisi
Tokoferol	Lipofilik	Selenyum absorpsiyonunu artırır
Selenyum	Amfifilik	GSH-Px yapıtaşı

Tablo 2.7. Yapılarına göre antioksidanların sınıflandırılması

Enzim kaynaklı olanlar	Enzim kaynaklı olmayanlar	
Süperoksit dismutaz	Sistein	Albumin
Katalaz	Alfa- tokoferol	Bilirubin
Glutasyon peroksidaz	Melatonin	Transferin
Glutasyon-S-transferaz	Ferritin	Flavonoidler
Glutasyon redüktaz	Askorbat	Serüloplazmin

Tablo 2.8. Kaynaklarına göre antioksidanların sınıflandırılması

Endojen kaynaklı	Eksojen kaynaklı
Ürat	folik asit
Askorbik asit	Adenozin
Miyoglobin	Lokal anestetikler
Glutasyon	Mannitol, albümin
Katalaz	Desferrioksamin, seruloplazmin

2.6. Antioksidan Etki Mekanizmaları

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler:

1.Scavenging (Temizleme) Etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki enzimler tarafından yapılır.

2. Quencher (Baskılama) Etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.

3. Onarma Etkisi (Repair Etki): Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Oksidatif hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu gruba örnek olarak verilebilir (143).

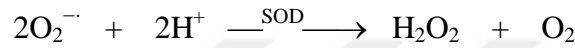
4. Zincir Koparma Etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruplazmin ve E vitamin tarafından yapılır (144).

2.6.1. Enzimatik Antioksidan Sistemler

2.6.1.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)

Süperoksid radikalinin ortadan kaldırılmasında bu enzim sisteminin en önemlisi SOD'dur. İlk olarak 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanan SOD, yapısında bakır, çinko ve manganez içerdiğinden metalloenzim olarak isimlendirilir. Süperoksidin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler ve süperoksid düzeylerini kontrol etmede önemli bir rol oynar (145).

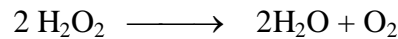
Katalizlediği reaksiyon normalde meydana gelebilir ama SOD ile 4000 kat daha hızlı gerçekleşir.



İnsanda SOD un iki tipi bulunmaktadır. Bunlar sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn bulunduran (Cu-Zn SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik Mn (Mn SOD) bulunduran izomerlerdir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokuda fazladır. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksid üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intraselüler süperoksid seviyeleri düşük tutulur (146).

2.6.1.2. Katalaz (CAT)

Leew ve arkadaşları tarafından ilk kez 1901 yılında dağada keşfedildikten sonra, 1937 yılında Sumner ve Dounce tarafından karaciğerde bulunduğu gösterilmiştir (147). Glikoprotein yapısında bir hemoproteindir. En yüksek aktivite karaciğer ve böbrekte saptanırken, en düşük aktivite destek dokusunda saptanmıştır. Hidrojen peroksitin aşırı arttığı ortamlarda aktivite göstererek, moleküler oksijen ve suya parçalanmasını sağlar (148).

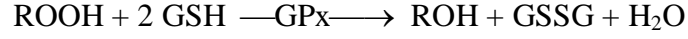
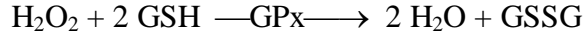


Katalaz, kanda, kemik iliğinde, mukoz membranlarında, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır.

2.6.1.3. Glutasyon peroksidaz (GPx)

Glutasyon Peroksidaz organik hidroperoksitlerin (lipit hidroperoksitler, DNA hidroperoksitler) veya hidrojen peroksitin GSH tarafından indirgenmesi tepkimesini

katalizler. 1957'de Mills tarafından keşfedilmiştir (149). GPx aşağıdaki tepkimeleri gerçekleştirmesini sağlar (150).



Glutasyon Peroksidaz enzimi selenyuma bağlı ve selenyuma bağlı olmayan şekilde ikiye ayrılır (151). Normal koşullarda hücrede bulunan H_2O_2 in detoksifikasyonundan esas olarak Glutasyon peroksidaz sorumludur. GPx lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini önleyici özellikte bir enzimdir (148).

Ayrıca GSH-Px'in, fagositik hücrelerde diğer antioksidanlarla birlikte solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engellediği gösterilmiştir (151). Eritrositlerde de GPx oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır (144).

2.6.1.4. Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz sitoplazmaya lokalize olmuştur. Şimdiye kadar birçok prokaryotik ve ökaryotik kaynaktan izole edilmiştir. Tüm koşullarda aktif merkezinde molekül başına bir adet flavinoid adenozin dinükleotid (FAD) içeren dimerik bir flavoenzimdir (152). Okside glutasyon (GSSG) NADPH bağlı flavo enzim olan Glutasyon Redüktaz tarafından redükte formuna (GSH) indirgenir. Bu tepkime aşağıdaki gibi gerçekleşir (153).



Normal hücrelerde GSH/GSSG oranı son derece yüksektir ve GSSG'nin yeniden GSH'a indirgenmesi gerekir. Enzimin katalizlediği reaksiyon sırasında FAD, NADPH tarafından indirgenirken açığa çıkan elektronlar, aktif merkezdeki disülfid bağına taşınır ve bu şekilde GSSG, iki GSH molekülüne indirgenmiş olur.

2.6.2. Enzimatik Olmayan Antioksidan Sistemler

2.6.2.1. Glutasyon (GSH)

Glutasyon karaciğerde sentezlenebilen bir tripeptittir. Okside olmuş hali glutasyon disülfittir (GSSG). Hücrede; sitozol, çekirdek ve mitokondride bulunur. Organizmada hücre içinde depolanır ve GSH/GSSG oranı hücredeki oksidatif stress miktarını yansıtır (154). Glutasyon ve indirgenmiş formunda, oksidatif hasar ve toksik

maddelere karşı hücreyi koruyan bol miktarda tiyol grubu vardır. Dokularda açığa çıkan lipid peroksitler, hidrojen peroksit, askorbik asit, serbest radikalleri indirger (155). Oksidatif strese karşı detoksifikasyon görevindeki glutatyon peroksidaz, glutatyon transferaz gibi enzimlere kofaktör olarak reaksiyonlara katılır (156).

Eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Transplantasyon amacıyla organların korunmasında ve siklofosfamid gibi sitotoksik ilaçların organ hasarı oluşturmasını engeller. Ayrıca kistik fibrosis gibi hastalıklarda aktive fagositlerden kaynaklanan SOR'ların yaptıkları akciğer hasarını da azaltır (127).

2.6.2.2. E Vitamini (Tokoferoller)

Antioksidan savunmanın diğer önemli kısmını lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını durduran antioksidanlar oluşturur. Vitamin E bunların en önemlilerinden biri olup yağda eriyen vitaminlerdendir. Tokoferol yapısında olup doğal olarak alfa, beta, gama, delta, eta ve zeta gibi şekillerde bulunur. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan tokoferol α -tokoferoldür. Hücre membranları ve plazma lipoproteinleri, lipidde eriyebilen bir molekül olan alfa tokoferole sahiptir (157).

İnsanlarda E vitamini plazma ve eritrositlerde bulunan yağda eriyen ve zincir kıran tek antioksidandır (158).

2.6.2.3. C Vitamini (Askorbik asit)

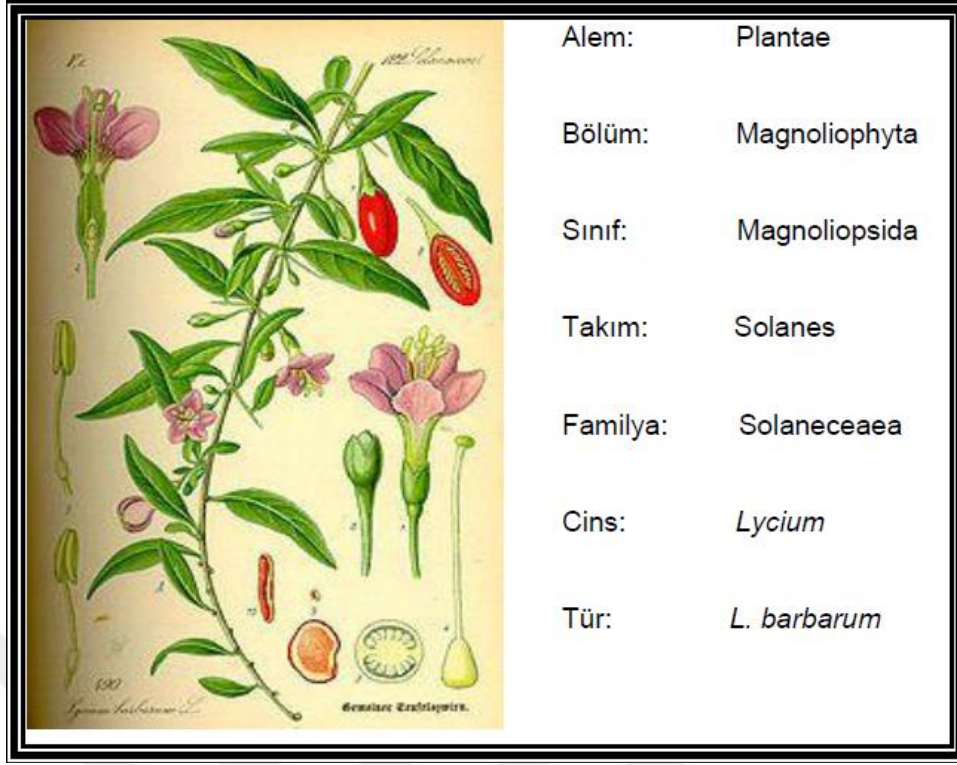
Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı iyi bir antioksidandır. Süperoksit, hidroksil, singlet oksijen, hidroperoksil, lipid peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek onları ortamdaki temizler. Lipid moleküllerinin oksidasyonu ile oluşan lipid peroksitler; vitamin C'nin antioksidan etkisiyle sulu ortamda çözülerek oksidan etkilerini kaybederler (159).

2.6.2.4. A Vitamini (Karotenoidler)

A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü saptanmıştır (160).

2.7. Lycium Barbarum (Goji) Meyvesi

Lycium barbarum (LB), Çin, Tibet ve Uzak Doğu Asya'nın diğer kısımlarında yetişen Solanaceae cinsi yapraksız olup çalılık meyvesidir. Meyveler 1-2 cm uzunluğunda parlak turuncu-kırmızı renkte elipsoid şeklinde üzümlerdir. Olgun meyveler geleneksel bitkisel tedavilerde ilaç olarak ve besin destek ürünü (fonksiyonel gıda) olarak tüketilir (161-163). Geleneksel kullanımlara destek olarak, son çalışmalarla desteklenen bilgilere göre LB ekstresi ve aktif komponentlerinden birisi olan *Lycium barbarum* polisakkaritleri (LBP) yaşlanma karşıtı, nöroprotektif, halsizliğe karşı dayanıklılığı artırıcı, metabolizmayı hızlandırıcı, diabetiklerde kan şekeri regülasyonunu sağlamada, glokomda, antioksidan amaçlar ile immun modulasyonda, antitümör etki ve sitoproteksiyon gibi bir grup biyolojik amaçlarla kullanılabilir (164).



Şekil 2.8. *Lycium barbarum*'un filogenetik sınıflandırılması (165)

Lycium barbarum ile artan sayıda çalışmalar yapıldıkça, *Lycium barbarum* polipeptidinin standardize edilmiş şekli olan goji içeceğinin genel olarak kendini iyi hissetme, halsizlik, stres, nörolojik ve psikolojik şikayetler, gastrointestinal ve kas-iskelet sistemi şikayetleri, kardiovasküler (kan basıncı ve nabız sayısı üzerine), görme keskinliği üzerine etkileri (166, 167) plazma antioksidan faktörleri, immun faktörler ve yan etkileri tespit edildi (168).

2.7.1. Botanik Özellikleri

Lycium barbarum 3 metreye kadar uzayabilen, yaprakları gri-yeşil mızrak şeklinde, yaprak sapı çok kısa olup uç dalda 1–3 adet çiçek bulunur (168). Meyve 6–20 mm. boyunda, 3-8 mm. çapında, koyu kırmızı renkli, keskin sonlanan fusiform şekilli bir meyvedir (169).

Doğal olarak Asya'da özellikle kuzeybatı Çin'de (özellikle de Qinghai, Gansu, Ningxia ve iç Mongolia; doğuda Hebei ve batıda Tibet ve Xinjianga kadar) yetişir (170).

Meyveler yazın ve ilkbaharda toplanıp büzüşene kadar gölgede kurutulduktan sonra dış kabuk kuruyup sertleşecek, ancak iç kısmı halen yumuşak olacak şekilde güneşte tutulur (168).



Şekil 2.9. *Lycium barbarum* meyveleri (171)

Dünyada *Lycium barbarum* ürünlerinin başlıca üreticisi olan Çin 2004’de 82 000 hektar alandan elde edilen 95 000 ton kurtüzümü ihracatından yaklaşık 120 milyon US\$ gelir elde etmiştir (172). Meyveler marketlerde pazarlanmak için kurutulur veya taze meyveler daha sonra konsantre edilmek üzere suyu sıkılarak değişik içecekler için hazırlanır (173).

2.7.2. Kimyasal Bileşenleri

2.7.2.1. Polisakkaridler

Lycium barbarumun kimyasal bileşenleri arasında en iyi araştırılmış olan kuru meyvenin yaklaşık %5-8 ini oluşturan, *Lycium barbarum* polisakkaritleri (LBP) olarak bilinen bir grup suda eriyen glukokonjugatlarıdır (174). LBP başlıca ksiloz ve glukoz, az miktarda arabinoz, ramnoz, mannoz and galaktoz olmak üzere 6 çeşit monosakkarid

içerir. LBP ayrıca Glikan-O-Ser glikopeptid yapısında galakturonic asit ve 18 aminoasit içerir (175).

Çin anlayışına göre *Lycium* ekstresi ve ürünlerinde LBP en önemli bileşendir. Geleneksel Çin tıbbında çeşitli bitkisel ve fungal kökenli bioaktif polisakkaridler immun modülatuar aktivite göstermekte ve bu doğal ürünlerin tıbbi ilaç gibi kullanımları mümkün olmaktadır (176).

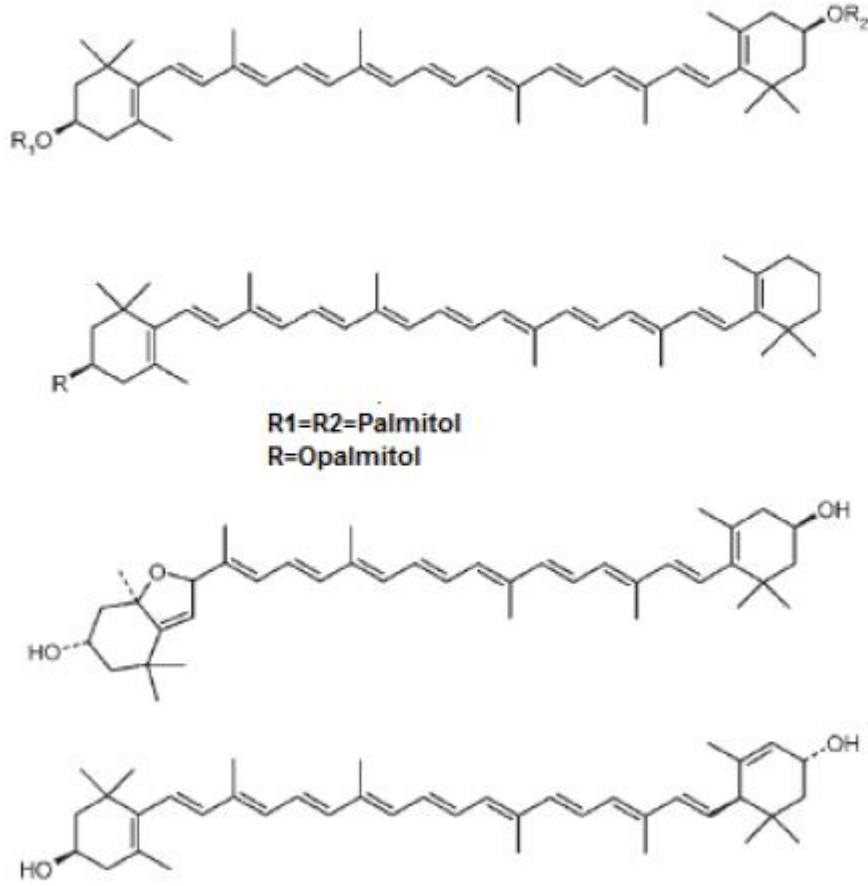
Sülfatlanmış LBP kültüre edilmiş tavuk periferik lenfositlerinde proliferasyona yol açmıştır. İn vivo olarak sülfatlı LBP yeni tip bir immun stimulatör ilaç gibi periferik lenfositlerde proliferasyon ve serum antikor titresinde artışa yol açmıştır (177). *Lycium barbarum* içindeki LBP içeriği abamektin ile artırılabilir.

Klinik olarak test edilmiş ticari ürün olan GoChi® bütün *Lycium barbarum* meyvesinden elde edilmiş, sıvı formda olup diet destek ürünüdür. 120 ml sunumlarda, geleneksel Çin tıbbında kullanılan miktarda (en az 150 gr taze meyveden elde edilecek miktarda) standardize edilmiştir (178).

2.7.2.2. Karatenoid ve Diğer Bileşenler

Kırmızıya çalan turuncu rengi kuru meyvenin sadece % 0.03-0.5 ini oluşturan bir grup karatenoid tarafından oluşur (179). *Lycium barbarum* ekstresinde toplamda 11 serbest karatenoid ve 7 karatenoid esteri belirlenmiştir. Başlıca karatenoid olarak; total karatenoid içeriğinin yarısı veya 1/3 ünü oluşturan zeaxantin özellikle de 'physalin' olarak bilinen dipalmitat şekli bulunur. Zeaxantin dipalmitatı sırasıyla; beta kriptoksantin monopalmıtat (ve 2 izomeri) ve zeaxantin monopalmıtat (ve 2 izomeri), all-trans beta karoten ve all trans zeaxantin izler.

LB meyvesi zeaxanthin için güzel bir besin kaynağıdır. Zeaxanthin, lutein izomeri ve beta karoten türevi olan sarı renkli bir pigmenttir. Zeaxanthin enjekte edildiğinde, yağ dokusunda ve özellikle retinanın makula bölgesinde birikir. Bu birikim makulayı kuvvetli güneş tahribatı (uv ışığı) ve diğer oksidatif işlemler sonucu indüklenen makula dejenerasyonundan korur (180).



Şekil 2.10. *Lycium barbarum* meyve ve yapraklarındaki karetonoidler (181)

2.7.2.3. Diğer İçerikler

Çeşitli küçük moleküller betaine, cerebroside, beta-sitosterol, p-coumaric acid, ve çeşitli vitaminler saptanmıştır. Diğer minör içerikler glutamine, asparagine, stigmasterol, cholest-7-enol, campesterol, cholestanol, 24-methylenecholesterol (vb. steroidler) taurine ve gamma-aminobutanoic asitdir. Ayrıca inorganik formda K, Ca, Zn, Fe, Co, Mn, Se, Mg ve diğer mineraller bulunur (182). LB meyvesi içindeki betain miktarı yaklaşık % 1'dir, bu sebeple belirgin miktarda betain almak için çok fazla meyve tüketmek gereklidir (183).

2.7.3. Geleneksel Kullanım

Lycium meyvesinin M.Ö. 2800'lerden beri kullanımı olan bir meyve olduğu bir bitki uzmanı ve tarımın babası olarak bilinen Shen Nung, tarafından bildirilmiştir. Onlar da taze meyve, kurutulmuş veya sıkılmış olarak kullanmışlardır. Pişirilmiş pilav içine taze yaprakları ekleneren bir sebze gibi kullanılmış. Kuru meyveler Asya ülkelerinde özellikle Çin, Kore, Japonya, Vietnam, Thailand ve Tibet de hepsinin kendi dillerinde

goji adı ile bilinerek ayrıca 4500 yıldan beri medikal amaçlarla ve fonksiyonel besin olarak kullanılmaktadır (162, 163).

Eski bir bitki uzmanı olan Li Shi-zen “Compendium of Medica” isimli *eserinde Lycium barbarumun* karaciğer ve böbreği besleyen, enerji sağlayan ve görmeyi güçlendiren üst düzeyde (top-grade) medikal ilaç olduğunu yazar. “Shennong's Classic of Materia Medica (Shennong Bencaojing)” uzun süre goji alımına devam etmenin yaşlanmayı geciktirdiği ve uzun yaşamayı sağladığını bildirmiştir. Ni Zhu-Mo, Çinli herbalist “Ben Cao Hui Yan (Convergent Speech on the Materia Medica)” isimli eserinde gojinin enerji ve kan desteği sağladığı, internal ısıyı düşürdüğü, rüzgâra ve neme karşı direnci artırdığı ve 10 tane temel fonksiyonu iyileştirdiğini belirtmiştir. (184). Etnobotanikçiler *lyciumun* halen İsrail de iyileştiriciler tarafından kullanıldığını bildirirler (185).

2.7.4. Etkileri

2.7.4.1. Protaktif Etkileri

Genel olarak iyilik hali sağlanmasında, yaşlanma karşıtı olarak, nöroproteksiyon, antimyelosupresyon, uyku kalitesinin artırılması, menstural dönem boyunca şikâyetlerin azaltılmasında, böbrek bozukluklarında, diyabette, kulak çınlamasının giderilmesinde, görme bozukluklarında ve anemi tedavisinde kullanılır (179).

2.7.4.2. Metabolizma Üzerine Etkileri

LBP besin dönüşümünü hızlandıran altı çeşit monosakkarid içerir. 21 gün boyunca 5, 10, 20 mg miktarlarda oral beslenme sonrasında çinko ve demir oranını yükselterek vücut ağırlığını azaltmıştır (186). Farelere yedi gün boyunca mide perfüzyonu yolu ile verilen LBP, endoplazmik retikulum hasarını önlemiş, protein sentezi ve detoksifikasyonu uyarılmış, hepatik hücrelerin normal fonksiyonlarını düzenlemiş, hepatik hücrelerin rejenerasyonunu uyarmıştır. (187). LBP ayrıca ratlarda alkolik karaciğer yağlanmasını önlemede etkili olup ayrıca serum ALT, AST, GGT karaciğer malondialdehide (MDA), hydrogen peroxide (H₂O₂) düzeylerini azaltarak ve karaciğer superoxide dismutase (SOD), glutatyon peroxidase (GSH-Px) ve GSH içeriğini artırmıştır (188).

Lycium barbarum standart suyu çeşitli randomize klinik çalışmalarda plasebo ile kıyaslandığında postprandiel enerji harcanmasını artırır. *Lycium barbarum* insanlarda

bel çevresini ve metabolik sendrom riskini azaltmakta plasebo grubunda değişiklik farkedilmemiştir. *Lycium barbarum*, metabolik hızını adrenokortikal hormon kontrolü yolu ile etki edebilir ve bu etkiler bel çevresi değişikliği ile ilişkili olabilir (189, 190).

2.7.4.3. Göz Sağlığına Faydaları

Yaşla ilişkili makuler dejenerasyon AMD (Age related Makuler Degeneration) sık görülen bir problemdir. Bu durum yaşlı hastalarda geri dönüşümü olmayan santral görme kaybına yol açabilen önemli bir nörolojik bozukluktur. Zeaxantin içeren gıdaların alımının artırılması AMD' nin önlenmesinde etkilidir, çünkü makula zeaxantin ve lüteini depolar.

Glokomada görülen intraoküler basınç artışı, retinadaki ganglion hücrelerinin progresif kaybına yol açan başlıca risk faktörüdür. *Lycium barbarum* ratlarda episkleral ve limbal venlere laser fotokoagülasyon ile oluşturulan oküler hipertansiyon modelinde test edilmiştir. *Lycium barbarumun* oral uygulanması yükselmiş intraoküler basınçta değişiklik gözlenmediği halde retinal ganglion hücrelerindeki azalmayı belirgin olarak önlemiştir. *Lycium barbarumun*, glokomda retina ganglion hücrelerindeki azalmaya karşı nöroprotektif ajan olarak potansiyel faydalı olduğu önerisi yapılmıştır (191).

2.7.4.4. Antioksidan Etkileri

Çeşitli çalışmalar, çok sayıda prelinik invivo hayvan ve invitro hücre kültürü çalışmaları, *Lycium barbarum* ve LBP, çeşitli peroksidayon bağımlı durumlara karşı korunmada antioksidan gibi etki sağladığını göstermiştir (192).

2.7.5. İmmünomodülatör Etkileri

Çeşitli çalışmalarda goji ve LBP immun hücreleri aktive ederek immun modulatör etki göstermiştir (283). *L. barbarum* hem hücre aracılı, hem humoral immun cevabı etkiler. Laboratuar hayvanlarında 5–10 mg/kg/ günlük kullanım T hücre aktivitesini artırır, sitotoksik T hücre, NK hücre aktivitesini artırır; bu etkilerin IL-2 yolu ile olduğu gösterilmiştir. Bir başka laboratuar çalışmasında CD8 ve ilişkili sitokinler aracılığı ile *Lycium barbarumun* Ig E aracılı immun cevabı azalttığı gösterilmiştir (193).

LBP aşağıdaki immun parametreleri etkiler;

- 1- Beyaz kan hücre sayısı: *L.barbarum* siklofosamid aracılı azalmış beyaz kan hücre sayısını düzeltebilir, ölümü belirgin olarak geciktirir (194)

İnterlökin 12 ile T hücre, B hücre ve NK hücre aktivasyonu potansiyel antigen sunan dentritik hücreler aracılığı ile uyarılır. LBP invitro olarak murin kemik iliğı dentritik hücrelerinde fenotipik ve fonksiyonel maturasyon sağılamıştır. LBP sadece invitro murin dentritik hücre maturasyonu sağılamaz, immun cevabın başlamasını da uyarır (195, 196).

- 2- İnterlökin 2 (IL 2) ve Tumor nekroz faktör-alfa (TNF- α)

LBP insan periferik kan mononükleer hücrelerinde PCR yöntemiyle IL2, TNF α nın hem messenger RNA hem protein düzeylerini doz bağımlı olarak artırmıştır. Anti tümör immunitede bu iki sitokinin çok önemli rolü olması sebebiyle LBP, immun cevabı uyarır ve kanserde potansiyel tedavi edici etkinlik gösterebilir (197). *L.barbarum* ratlarda vücut ağırlığında azalma ve TNF aktivitesinde artışa yol açmıştır (198).

- 3- Fagositik Aktivasyon: LBP fagosit aktivasyonu, fagositik indeks, lenfosit translayonu artırır ve serum hemolizin üretimini uyarır. Farelere 7 gün boyunca mide perfüzyonu aracılığıyla LBP verilmesi immun organların ağırlıklarını artırmış ve RES fagositik kapasitesini belirgin olarak artırmıştır (113). LBP aktive makrofajlar aracılığıyla immuniteyi uyarır. Sonuç olarak LBP makrofaj endositik ve fagositik kapasitesini invivo olarak uyarır (199).
- 4- Splenosit proliferasyonu: LBP invitro olarak splenosit proliferasyonu uyarır. Polisakkaritler daha güçlü immun modilatördür (200).
- 5- Lenfosit Proliferasyonu: Flowsitometri LBP'nin murin splenik lenfosit proliferasyonunu uyardığını göstermiştir. LBP, T hücreleri ve fare splenosit profiresyonunu uyarır. LBP düşük dozlarda da 5–20 mg/ kg/gün dozunda immunolojik olumlu etkiler gösterir (201). LBP' nin sülfatlı modifikasyonu lenfosit proliferasyonunu uyarır ve serum antikor titresini invivo ve invitro olarak LBP' ye göre daha fazla olarak artırır (176).

2.7.6. Anti Bakteriyal Etkileri

Sınırlı sayıda invitro çalışma sonuçlarına göre *Lycium barbarum* ekstresi 17 çeşit bakteriye karşı *Staf. aureus*, *staf. epidermidis*, *salmonella typhi*, *salmonella paratifi A, B, C*, *salmonella tifimiryum*, *basillus subtilis*, *basillus antrasis*, *psödomonas auriginosa*, *shigella dizanterie*, *E.coli*, *candida albicans* ve *tifoid* basile karşı antibakteriel etkisi olduğu bildirilmiştir (202). LBP gibi büyük moleküller invivo etkiden sorumludur. Bu çalışmada gösterilen antibiotik etkiler gastrointestinal veya haricen kullanımda uygulanabilir. Tipik bir antibiotik ilaç aynı deney sistemi içerisinde pozitif kontrole karşılaştırılabilir. Bu basit bir çalışma olduğu için ve sonrasında izleyen çalışmalar olmadığı için seneler önce yayınlanmış bu makaleden sonra antibiotik etkinin netleştirilebilmesi için başkaca çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.7.7. Antikanser ve Sitoprotektif Etkiler

2.7.7.1. Hayvan Çalışmaları

LBP'nin immun uyarıcı ve kanser önleyici etkisi beklentisiyle çok sayıda hayvan çalışması yapılmıştır. LBP, NIDDM sıçanlarda komplikasyon gelişmesini ve karsinogenez yatkınlığını önleyebilir (203).

LBP kontrol grupla karşılaştırıldığında belirgin olarak CD4+, CD8+ T hücre sayısında artışa yol açmıştır. Kontrol grubunda tümör mikro çevresinde dendritik hücre sayısı belirgin olarak düşüktür. LBP nin anti tümör etkisi tümörü infiltre eden CD4+, CD8+, T lenfositlerinin sayısında artışa yol açarak olabilir (203).

LBP belirgin olarak transplante edilebilen sarkom büyümesini önlemiş ve makrofaj fagositozunu, dalak hücrelerinden salgılanan antikör oranını, dalak lenfosit proliferasyonunu, sitotoksik T lenfosit aktivesini, IL-2 mRNA sunum düzeyini artırır ve sarkom oluşturulmuş farelerde lipid peroksidasyonunu azaltır. Etki doza bağımlı değildir. LBP'nin radyasyon duyarlaştırıcı etkisi, Lewis'in akciğer kanseri transplante edilmiş modelinde gözlemlendi. LBP ve radyasyon kombinasyon modelinde belirgin radyasyon duyarlaştırıcı etki gösterildi.

LBP belirgin olarak nude farelerde insan prostat kanseri hücresi gelişmesini önlemiştir. Hem tümör hacmi hemde ağırlığı LBP tedavi grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak azalmıştır (204).

2.7.7.2. Hücre Kültürü ve Mekanizma Çalışmaları

Lycium barbarum ve LBP nin etki mekanizmalarını inceleyen çok sayıda invitro çalışmalar yapılmıştır.

Östrojen reseptörü pozitif meme kanser hücrelerinde östrojen tedavisi ile belirgin düzeyde artan bir büyüme sağlanırken; maksimum sitostatik konsantrasyon olan %1' lik *Lycium barbarum* tedavisi ile doz bağımlı büyüme inhibisyonu gösterilmiştir. *Lycium barbarum* mitojenik 16 alfa hidroksiestronun anti mitojenik östriole dönüşümünü artırarak kontrolsüz kanser hücresi gelişimini engeller (205).

LBP insan prostat kanser hücrelerinin gelişimini doz ve zaman bağımlı olarak engeller. LBP kontrol hücrelerine göre belirgin derecede uzun kuyruklu olan prostat kanser hücrelerindeki DNA zincirlerinde kırılmaya yol açar. LBP ayrıca prostat kanser hücrelerinde %40' a ulaşan apoptoz sağlar (204).

LBP nin insan lösemi hücrelerinde de apoptozu arttırdığı gözlemlenmiştir (206).

Lycium barbarumun sıcak su ekstresi insan hepatoselüler karsinom hücrelerinde p53 aracılı apoptozu uyarır ve kanser hücre proliferasyonunu engeller (207). LBP tedavisi insan hepatoma hücre gelişmesinde hücre siklusunu S fazında durdurur ve apoptoz uyarısına bağlı inhibisyona yol açar. Hücre siklüsünde durmanın uyarılması ve apoptotik sistemde intraselüler Ca artışı LBP' nin hepatoma hücrelerindeki anti proliferatif etkisinden sorumlu olabilir (208).

LBP G0-G1 ve S fazında hücre siklusunu durdurarak insan mide kanseri hücresi gelişimini önler. LBP'nin mide kanseri hücrelerinde anti kanser aktivitesi hücre siklusunda durmanın uyarılması ile açıklanmıştır (209). P53 aracılı apoptoz ve hücre siklusu durması tümör önleyici etkinin muhtemel mekanizmalarıdır.

2.7.7.3. Sitoproteksiyon

L. barbarum köklerin yüzeylerinde insan gingival fibroblastların büyümesinde ve bağlanması gelişmeye yol açar. *L. barbarum* ile muamele görmüş hücreler hastalık oluşturulmuş kök yüzeylerinde belirgin artmış sayıda, daha iyi dağılım ve daha belirgin gelişme göstermiştir (210).

LBP invitro kültüre edilmiş koriyonik membran hücrelerinde besleyici ve koruyucu etki gösterir (211).

Çeşitli hematolojik ve biyokimyasal belirleyiciler gösterdi ki *Lycium barbarum* meyve suyu (GoChi) deney sıçanlarında oral gavaj yolu ile 14 gün günlük olarak uygulandıktan sonra hemoglobin konsantrasyonunu ve total kırmızı hücre sayısını hem dişi hem erkek deney sıçanlarında artırmış, böylece kırmızı hücrelerin oksijen taşıma kapasitesi artmıştır. GoChi ayrıca plazma kalsiyum ve potasyum düzeyini artırır ve dişi sıçanlarda sodyum düzeyini azaltarak Na/K oranını düşürür bu durum böbrek fonksiyonlarını geliştirir ve elektrolit dengesini sağlar. GoChi alımı dişi farelerde SGOT ve SGPT düzeyini düşürür bu durum karaciğer fonksiyonlarında düzelme sağlar. GoChi ile plazma albumin, globulin ve total protein düzeyi erkek ratlarda artmıştır (167).

2.7.8. Toksikite

Diğer çok tüketilen meyvelerden farksız olarak *Lycium barbarum* toksik değildir. *L.barbarum* geleneksel olarak 4500 yıldan fazla süredir spesifik toksisite görülmeden besin ve ilaç olarak tüketilmiştir.

1994 yılında ‘‘Sağlıklı diyet destek ürünleri ve eğitimi hareketi’’ne göre *Lycium barbarum* herhangi bir kısıtlama olmaksızın Amerikada satılmaktadır. Alman otoriteleri 2004 te ve İngiliz besin standartizasyon komitesi 2007’de *Lycium barbarumu* bir besin ve uzun tecrübeyle kullanılmış toksisitesi olmayan bir destek ürünü olarak kabul etmiştir.

Çince yayından tercüme edilmiş bir makalede *Lycium barbarumun* toksik olmadığı temel toksikolojik çalışmalarla kanıtlanmıştır (178). Son 5 randomize, kör, plasebo kontrollü klinik çalışmalarda en az 150gram *Lycium barbarum* taze meyvesine eşdeğer meyva suyu 201 sağlıklı erişkin kişiye 14–30 gün arasında uygulanmış hiçbir yan etki, anormal tepki, vücut ağırlığında değişiklik, kan basıncı, nabız, görme keskinliği, idrar, gayta veya kan kimyası değişikliği görülmemiştir (167).

Ratlarda yapılan son bir toksikolojik çalışma *Lycium barbarum* meyva suyu (GoChi) nin oral olarak verilmekle hiçbir toksiste oluşturmadığını veya %50 letal dozu (LD50) olmadığını gösterdi Bu temel kısa süreli çalışmada ratlarda 3 değişik dozaj tedavi ve bir kontrol grubu olmak üzere 4 grup oluşturuldu, Gochi oral gavaj şeklinde 14 gün uygulandı. Gruplar arasında istatistik olarak hiçbir anlamlı vücut ağırlığı veya besin alımı değişikliği görülmedi. Max dozaj alan grupta bile -10ml/kg/gün-hayvanlarda hiçbir ölüm veya organ hasarına rastlanmadı, böylece LD50 bulunmamaktadır sonucuna ulaşıldı. Gruplar arasında doku ağırlıklarında da fark yoktu

ve doku örnekleri incelendiğinde toksisite bulgusu olabilecek bir şey gözlenmedi. Bu kısa vadeli çalışma ile gojinin toksisitesi olmadığı kanıtlandı ve önceki tecrübelerle göre beklendiği şekilde gochi oral alımda güvenlidir bilgisi desteklendi (212).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- 1.Sodyum Karbonat (Na_2CO_3)-Merck
- 2.Sodyum Potasyum Tartarat (Na-K tartarat)- Sigma
- 3.Sodyum Hidroksit (NaOH)- Sigma
- 4.Bakır Sülfat 5 sulu ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)- Sigma
- 5.Folin-Ciocalteu- Fenol belirteci- Sigma
6. Ksantin (Sigma)
- 7.Etilendiamin tetraasetik asit(Na_2EDTA)- Sigma
8. Nitro Blue tetrazolium Klorür (NBT)- Merck
9. Sodyum Karbonat (Na_2CO_3)-Merck
10. Sığır serum albumini (BSA)-Sigma
11. Hidrojen peroksit (H_2O_2)
- 12.2-[2-Tiyobarbitürik asit] (TBA)-Merck
13. Asetik Asit (CH_3COOH)
14. n-Butanol Merck
15. Lauril sülfat (SDS)
16. Sodyum hidroksit (NaOH)
- 17.Glutatyon (GSH)
- 18.NADPH- Sigma
- 19.Sodyum azid (NaN_3) - Merck
20. Proteinaz K
21. Tris hidroklorit (Tris-HCl)- Sigma
22. Etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$)
23. Proteinaz K
24. RNaz T1
25. RNaz A
26. Nükleaz P1
27. Alkalen fosfataz
28. Asetonitril

29. Sodyum Asetat (CH₃COONa)

30. Cerulein- Sigma

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

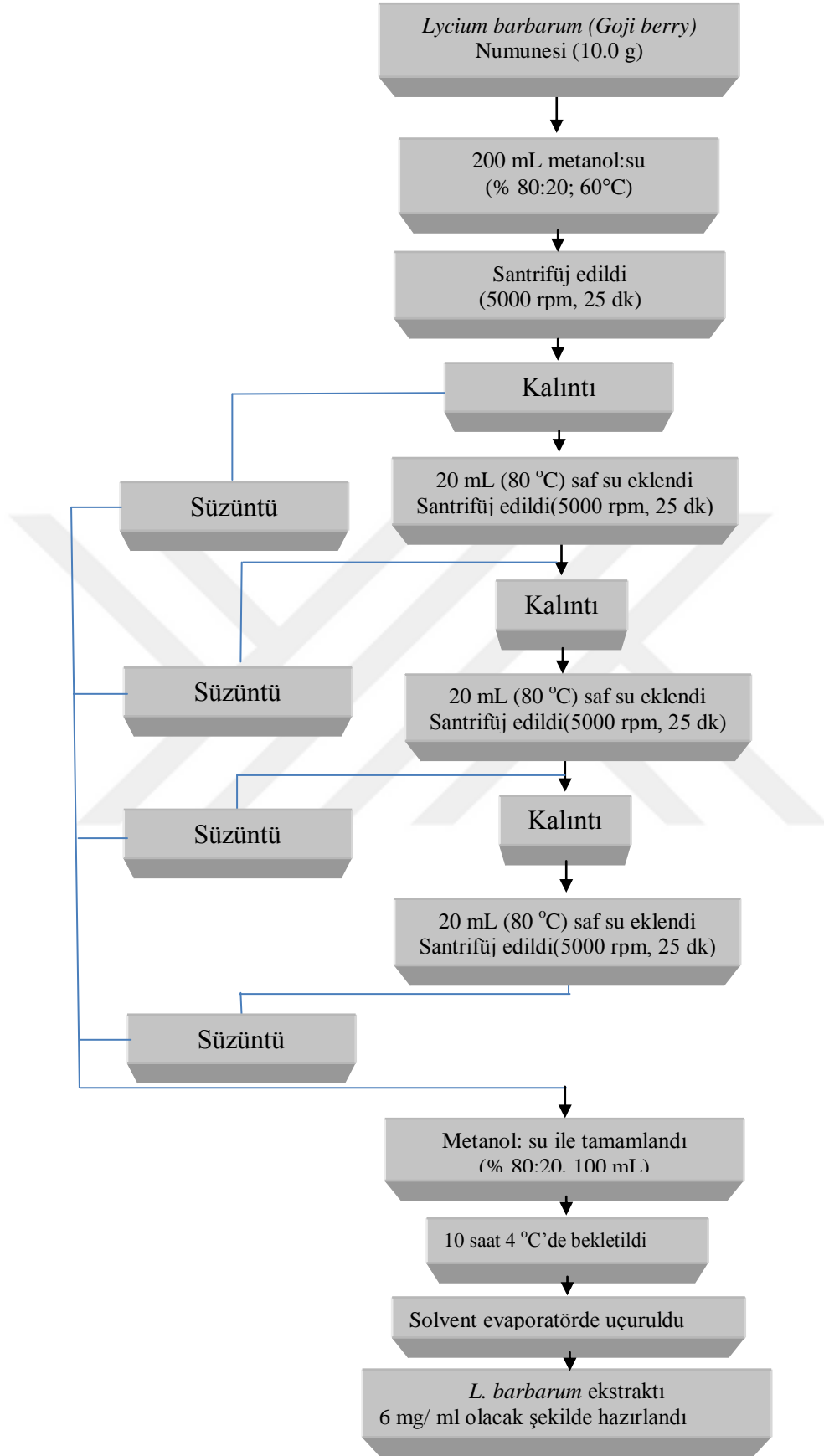
1. Homojenizatör
2. pH metre
3. Vorteks
4. Manyetik karıştırıcı
5. Derin Dondurucu
6. Hassas terazi
7. Shimadzu UV Spektrofotometre
8. Su Banyosu
9. Otomatik Pipet
10. Kronometre
11. Lam
12. Lamel
13. Mezür (25ml, 50ml, 100ml, 250ml)
14. Mikroskop
15. Pastör pipeti
16. Soğutmalı Santrifüj
17. Agilent HPLC Sistemi
18. Sonikatör

3.1.3. *Lycium Barbarum* Numunelerin Ekstraksiyon İşlemleri

Kurutulmuş *Lycium barbarum* (Goji berry) meyveleri havanda dövülerek toz haline getirildi. Toz haline getirilmiş materyalden 10 g alınarak üzerine 60°C'deki 200 mL metanol: su (% 80:20) eklendikten sonra, 1 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. İşlem sonunda karışım 25 dk, 5000 rpm de santrifüj edildi. Üstteki sıvı kısım başka bir tüpe alındıktan sonra, kalıntının olduğu tüpe 20 mL (80 °C) saf su eklendi ve yeniden 25 dk, 5000 rpm de santrifüj edildi. Bu işlem 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Her santrifüj işlemi sonunda toplanan ekstraktlar birleştirildi. Bu ekstraktlar evaporatörde yaklaşık 25 mL olana kadar buharlaştırıldı. Bu ekstraktın üzerine 100 mL'ye tamamlanmaya kadar metanol: su (% 80:20) eklendi. Elde edilen ekstrakt 10 saat 4 °C'de bekletildikten sonra

ekstraktaki tüm solvent evaporatörde uçuruldu. Elde edilen *L. Barbarum* ekstrakt tozu 6 mg/ mL olacak şekilde distile su içerisinde tamamen çözülerek kullanıldı. Bütün bu ekstraksiyon işlemleri için işlem basamakları Şekil 3.1.'de gösterilmiştir (199).





Şekil 3.1. *L. barbarum* (Goji berry) numuneleri için ekstraksiyon işlem basamakları.

3.1.4. Deney Hayvanlarının Temini ve Deneylere Hazırlanması

Bu çalışma, İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi, Deneysel Araştırmalar Birimi'nde, İnönü Üniversitesi hayvan etiği komitesi tarafından öngörülen kurallara uygun olarak yapıldı. Çalışmada ortalama 250–300 g ağırlığında, 3–4 aylık 36 adet dişi *Wistar albino* rat kullanıldı. Çalışma süresince tüm hayvanlar polipropilen kafeslerde tutuldu ve ad libitum standart yem ve musluk suyu ile beslendi, 22–24 °C sıcaklık ve 12 saat ışık- 12 saat karanlık periyodu uygulanan odalarda bakıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney Grupları

Toplam 36 adet dişi sıçan, her grupta 12 hayvan olacak şekilde rastgele seçilerek 3 gruba ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol Grubu): 10 gün süre ile ad libitum standart yem ve su ile beslenip çalışma süresince sadece çözücü olarak kullanılan serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı.

Grup 2 (Cerulein Grubu): 10 gün süre ile ad libitum standart yem ve su verildikten sonra akut pankreatit indüksiyonu iki saat ara ile total doz 100 µg/kg v.a. olacak şekilde iki kez intraperitoneal olarak uygulanan 50 µg/kg v.a. cerulein ile sağlandı. Çözücü olarak serum fizyolojik kullanıldı.

Grup 3 (*Lycium Barbarum*): Cerulein enjeksiyonundan 10 gün önce *Lycium Barbarum* bitki ekstraktı i.g gavaj yöntemiyle 6 mg/ml/gün dozda 10 gün süreyle verildi. Bu sürede standart yem ve suyla beslenmeye devam edildi.

3.2.2. Numune Alınması ve Hazırlık İşlemleri

Cerulein enjeksiyonundan 24 saat sonra ratlar servikal dislokasyona tabi tutularak sakrifiye edildi.

Göğüs kafesi açılan ratların, enjektör ile kalp içine girmek suretiyle kanları alınıp ağız kapalı tüplerde oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi ve serum eldesi için 3500 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Ayrılan serumlar lipaz, IL-1 ve IL-6 ölçümleri için kullanılmak üzere -40°C' de saklandı.

Sakrifikasyon sonrası her iki böbrek de alındı. Sağ böbrek histopatolojik çalışma için %10'luk formaldehit solüsyonunda muhafaza edilirken, sol böbrek ise alüminyum folyolara sarılıp etiketlenerek içinde kuru buz bulunan bir kapta korunmak suretiyle laboratuvara getirilip biyokimyasal analizlere hazırlandı.

3.3. Böbrek Dokularının Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması

Soğuk zincirle laboratuara ulaştırılan böbrek dokuları cam tüplere aktarılıp üzerine soğuk 50 mM fosfat tamponu (pH 7.4) 1:10 w/v oranı oluşturularak eklendi. Daha sonra dokuların soğukluğu muhafaza edilerek Ultra-Turrax T25 (IKA Werke GmbH, Staufen, Almanya) homojenizatöründe 6000 dev/dak hızla 5 dakika süreyle homojenize edildi. Elde edilen homojenatlara VWR Bronson scientific sonikatör (VWR Int. Ltd. Merck House Pool, İngiltere) kullanılarak 20 saniye aralıklarla 10 saniye 3 defa sonifikasyon yapıldı. Homojenatlar vortekslendikten sonra eppendorf tüplerine aktarıldı. Homojenatların 15 dakika süreyle 13500 g'de 4°C 'de soğutmalı santrifüjde (Centrifuge 5415R, Eppendorf AG, Hamburg, Almanya) santrifüj edilmesi ile süpernatant elde edildi. Ayrılan süpernatantlar, protein miktar tayini, SOD, CAT, GSHPx aktivite tayinleri için -40 °C'de derin dondurucuda (SANYO Biomedical Co., Ltd., MDF-U537, Osaka, Japonya) saklandı. Homojenattan 500µl MDA düzeyinin ölçümü için kullanıldı.

3.4. Biyokimyasal Analizlerin Yapılması

3.4.1. Protein Miktar Tayini

Protein miktarı tayini Lowry metoduna göre yapıldı. Bu metod, proteinin yapısında bulunan tirozin ve triptofan aminoasitlerinin fosfotungstat kompleksini molibden mavisine indirgemesi prensibine dayanır. Reaksiyon bakır (Cu^{2+}) ile belirginleştirilir (213).

Çözeltiler

A Çözeltisi: %2'lik Na_2CO_3 'ın 0.1 N NaOH'teki çözeltisi

B Çözeltisi: %1'lik $CuSO_4$ çözeltisi

C Çözeltisi: %2'lik Sodyum Potasyum tartarat çözeltisi,

D Çözeltisi: 98 hacim A çözeltisi + 1 hacim B çözeltisi + 1 hacim C çözeltisi karışımı,

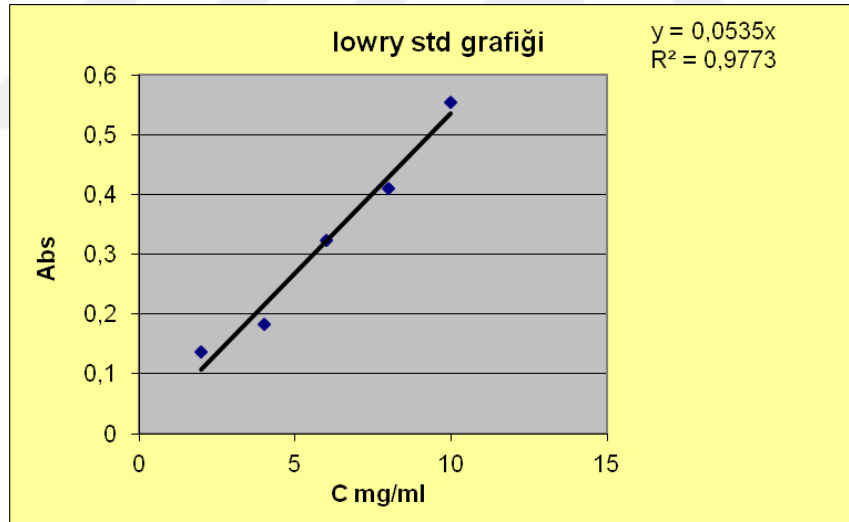
E Çözeltisi: 1 hacim Folin Fenol belirteci + 1 hacim distile su karışımı,

Bovin Serum Albumin (BSA) Çözeltisi: Standart protein çözeltisi olarak kullanılan BSA 10 mg/ml konsantrasyondaki stok çözülden 2,4,6,8,10 mg/ml'lik çözeltileri hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Test ve standart tüplerine 490 µl, kör tüpüne 500 µl distile su kondu. 2,5 ml D çözeltisi tüm tüplere ilave edildikten sonra, test tüplerine 10 kat dilüe edilmiş numuneden 10 µl; standart tüplerine de 10 µl her bir standarttan ilave edildi ve tüpler vorteks ile iyice karıştırıldı. Oda ısısında karanlıkta 10 dk bekledikten sonra, tüm tüplere 250 µl E çözeltisi eklendi. 25 °C'de 30 dk bekledikten sonra, spektrofotometrede 650 nm'de köre karşı sıfırlanarak okuma yapıldı.

Standart BSA çözeltileri ile hazırlanan çalışma grafiğinden yararlanarak her örnek tüpündeki süpernatanın 1 ml'sindeki protein miktarı hesaplandı (Şekil 3.1)



Şekil 3.2. Protein standart grafiği

3.4.2. Malondialdehit Miktar Tayini

Lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asidik ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçülür (214).

Çözeltiler

1. %8.1'lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)
2. %20'lik Asetik asit (NaOH ile pH 3.5'e ayarlandı)
3. %0.8'lik tiyobarbitürik asit (TBA)
4. n-Butanol/Piridin (15:1)

Deneyin Yapılışı

0.2 ml 10 kat dilüe edilmiş doku homojenatı, 0.2 ml %8.1'lik SDS, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik TBA ve 0.6 ml distile su karıştırıldı. Karışım 95 °C'deki sıcak su banyosunda 1 saat tutuldu. Musluk suyu ile soğutulduktan sonra üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) eklenerek; vorteksle 1 dakika karıştırıldı. Organik faz 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek ayrıldı. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Sonuçların Hesaplanması

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

A = Absorbans

E = Tüketim katsayısı ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

V_t = Total reaksiyon hacmi

V_s = Total reaksiyon içindeki numune hacmi

L = Küvet çapı

10^9 = Molün nanomole çevrilmesi

10^3 = Litrenin mililitreye çevrilmesi

Sonuçlar nmol MDA/mg protein olarak ifade edildi.

3.4.3. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

Hücrel oksidatif savunma mekanizmasının en önemli enzimi olan SOD, süperoksit radikallerinin dismutasyonunda görev almaktadır. Ksantin-ksantin oksidaz sisteminde üretilen süperoksit radikallerinin sitokrom C'yi indirgemesinin SOD tarafından inhibisyonu temeline dayanan enzim aktivite deneyidir (215).

Çözeltiler

A Çözeltisi: 5 µmol ksantin'in 25 ml 0.001 N NaOH'daki çözeltisi ve 2 µmol sitokrom C'nin 250 ml 50 mM pH 7.8 ve 0.1 mM EDTA içeren fosfat tamponundaki çözeltisi karıştırılır. Bu çözelti + 4 °C'de 3 gün kararlıdır.

B Çözeltisi: Taze hazırlanan ksantin oksidazın 0.1 mM EDTA'daki çözeltisi 0.2 U/ml. Bu çözelti ortamda SOD enzimi olmaksızın dakikada 0,025 absorbans değişikliğini yapabilmelidir.

Deneyin Yapılışı

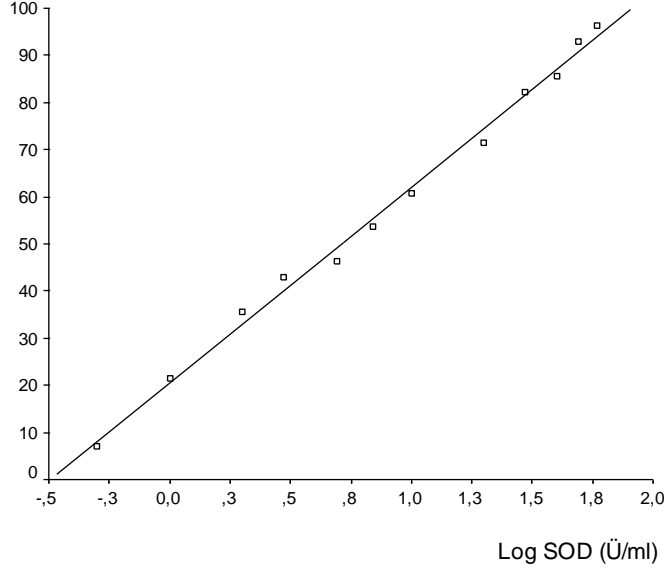
3 ml'lik küvete 2.9 ml A çözeltisinden, 50 µl 50 kat dilüe edilmiş numune ve 50 µl B çözeltisinin eklenmesiyle reaksiyon başlatılır. Hızlı bir şekilde 550 nm'de 1 dakika süresince absorbans değişimi okunur. Kör okunurken örnek yerine 50 µl bidistile su eklenir. Standart grafiği çizmek için aynı şekilde saf SOD enzimiyle çalışıldı.

Sonuçların Hesaplanması

Önce aşağıdaki formülden % inhibisyonlar hesaplandı.

$$\Delta A (\text{kör}) - \Delta A (\text{numune/standart})$$
$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{\Delta A (\text{kör})}{\Delta A (\text{kör})} \times \% 100$$

Standart çalışmalardan elde edilen SOD aktivitesine karşı % inhibisyon değerleri grafiğe geçirildi. Çizilen hiperbolik SOD çalışma grafiği lineer olmadığından logaritmik transformasyon uygulanarak grafik yeniden çizildi (Şekil 3.2). Bu grafikte x eksenine standart SOD değerlerinin (U/ml) logaritmik dönüşüm değerleri, y eksenine standartlara ait % inhibisyon değerleri konuldu. Grafikten yararlanarak % inhibisyona denk gelen numunelere ait SOD değerleri bulundu. Sonuçlar U/ml protein şeklinde ifade edildi.

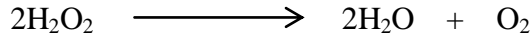


Şekil 3.3. SOD standart çalışması logaritmik grafiği

3.4.4. Katalaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

Katalaz katalitik aktivitesiyle hidrojen peroksiti, dekompoze ederek su ve oksijene dönüştürmektedir.

KATALAZ



Hidrojen peroksit (H_2O_2) ultraviyole spektrumunda absorpsiyon veren bir maddedir. Maksimal absorbans 240 nm’de meydana gelmektedir. Deney ortamına ilave edilen H_2O_2 ’nin katalaz tarafından su ve oksijene parçalanması 240 nm’de absorbans azalması ile kendini gösterir. Absorbansta gözlenen bu azalma ortamdaki katalaz enzim aktivitesi ile doğru orantılı bir eğilim göstermektedir (216).

Çözeltiler

1. 50 mM pH 7.0 olan fosfat tamponu hazırlanır.

2. Hidrojen peroksitli ve absorbansı 0.500 olan fosfat tamponu: Spektrofotometre 240 nm’ye ayarlandı ve fosfat tamponu ile aletin sıfır absorbans okuması sağlandı. Hidrojen peroksitli fosfat tamponu, absorbans 0.500 oluncaya kadar damla damla hidrojen peroksit eklenerek ayarlandı.

Deneyin Yapılışı

Spektrofotometre 240 nm'ye ayarlandı ve fosfat tamponu ile sıfır absorbansa ayarlandı. 3 ml'lik küvete 2.9 ml hidrojen peroksitli fosfat tamponu ve 0.1 ml 10 kat dilüe edilmiş numune ilave edilerek hızla karıştırıp absorbansı okundu, bu başlangıç absorbans değeridir. Daha sonra 60 saniye süreyle absorbans azalması takip edildi. Sürenin sonunda okunan absorbans değeri kaydedildi. Sonuçlar U/mg protein cinsinden ifade edildi.

1 Unite CAT: 1 dakikada parçalanmış H_2O_2 'in μmol cinsinden miktarıdır.

$$U = \frac{\Delta \text{ Abs } \times t \times V_t}{E \times L \times V_n}$$

$\Delta \text{ Abs}$: Okunan absorbans değişimi

t : Ölçüm süresi (1 dak)

V_t : Total hacim (3 ml)

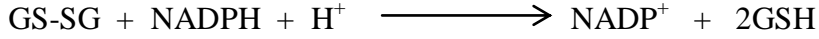
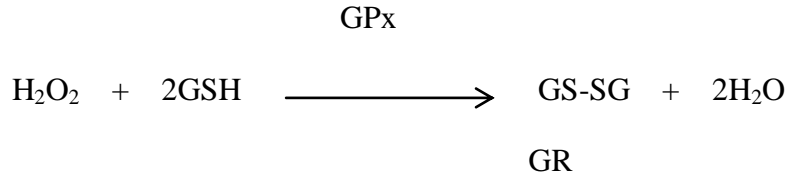
V_n : Kullanılan numune hacmi (0.1 ml)

E : Molar absorpsiyon katsayısı ($0,036 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

L : Işık yolu (1 cm)

3.4.5. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

GPx redükte glutasyonu kullanarak hidrojen peroksitin suya dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Reaksiyon sonunda redükte glutasyon (GSH) okside forma dönüşürken, hidrojen peroksit ise suya katalizlenir. Oluşan okside glutasyonun (GS-SG) tekrar kullanılabilmesi (başka bir hidrojen peroksit molekülünün suya katalizi) için okside glutasyonun redükte glutatyona dönüşmesi gerekir. Bu dönüşüm, ortamda redükte NADP (NADPH) ve glutasyon redüktaz (GR) enzimi varlığında gerçekleştirilir. Bu durumda redükte NADP okside NADP'ye çevrilirken okside glutasyon redükte forma dönüşür.



Redükte NADP 340 nm'de maksimal absorbans gösteren bir maddedir. Glutatyon redüktaz katalizi devam ettikçe, ortamdaki NADPH miktarı giderek azalacak ve buna paralel olarak 340 nm'de absorbans azalması meydana gelecektir. Absorbanstaki bu azalma hızı ortamdaki glutatyon peroksidaz aktivitesi ile doğru orantılı olacaktır (217).

Çözeltiler

1. 5 mM EDTA içeren 50 mM pH 7'lik fosfat tamponu
2. 150 mM GSH EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
3. 1 M NaN_3 EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
4. 3 mM NADPH EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
5. 50 mM H_2O_2 EDTA'lı fosfat tamponunda çözüldü (kullanımdan hemen önce hazırlandı).
6. 1 Ü/10 µl GSH-Redüktaz olacak şekilde fosfat tamponunda dilüe edildi.

Deneyin Yapılışı

Kör tüpüne 2.680 ml, test tüplerine 2.670 ml EDTA'lı fosfat tamponu, 0.1 ml redükte glutatyon, 0.1 ml NADPH, 0.01 ml glutatyon redüktaz, 0.01 ml NaN_3 ve 0.01 ml 10 kat dilüe edilmiş numune ilave edildikten sonra 30 dk oda ısısında inkübe edildi. Spektrofotometre 340 nm'de fosfat tamponu ile sıfırlandı. Sürenin sonunda her tüpe 100 µl H_2O_2 ilave edilip reaksiyon başlatıldı ve hemen küvetler spektrofotometreye konarak 3 dk süreyle absorbans azalması takip edildi. Absorbans azalmasının bu süre içerisinde tam olarak lineer olduğu görüldü.

Sonuçların Hesaplanması

1 Ünite GPx: 1 dakikada okside olan NADPH'ın μmol cinsinden miktarıdır.

$$\text{Ü/L } (\mu\text{mol/dk/L}) = \frac{\Delta A/t \times V_t \times 10^6}{E \times V_s \times L}$$

E = NADPH'nin tüketim katsayısı ($6.22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

V_t = Total reaksiyon hacmi

V_s = Total reaksiyon içindeki numune hacmi

L = Küvet çapı

$\Delta A/t$ = dakikadaki absorbands değişimi

10^6 = Molün mikromole çevrilmesi

Spesifik aktivite için bulunan sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

3.4.6. 8-hidroksi Deoksiguanozin Miktar Tayini

8-hidroksi deoksiguanozin miktar tayini yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile fotodiyod array dedektör (DAD) kullanılarak belirlenmektedir. Bu amaçla dokulardan DNA izolasyonu gerçekleştirildikten sonra izole DNA örneklerinde 8-hidroksi deoksiguanozin miktar tayini yapıldı.

Kullanılan Reaktifler

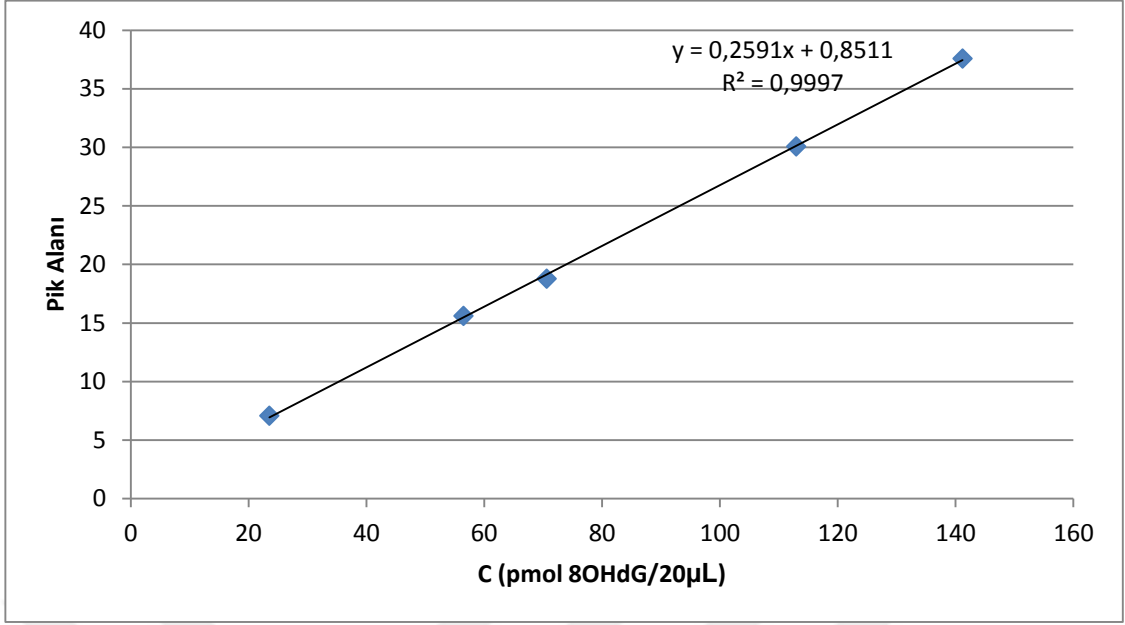
1. % 1 SDS ve 1 mM EDTA içeren homojenizasyon çözeltisi
2. Proteinaz K (500 $\mu\text{g/mL}$)
3. 1 M Tris-HCl, pH 7.4
4. Kloroform: İzooamil alkol (24:1, v:v) içeren ekstraksiyon çözeltisi
5. Absolü etanol
6. % 70'lik etanol
7. 1.5 mM NaCl, 150 μM Na-Sitrat ve 1 mM EDTA içeren çözelti
8. RNaz T₁ (50 U/mL)
9. RNaz A (100 $\mu\text{g/mL}$)
10. 5 M NaCl
11. 20 mM CH₃COONa, pH 4.8

12. Nükleaz P₁
13. Alkalen fosfataz
14. Asetonitril (HPLC saflıkta)
15. Asetik asit (HPLC saflıkta)

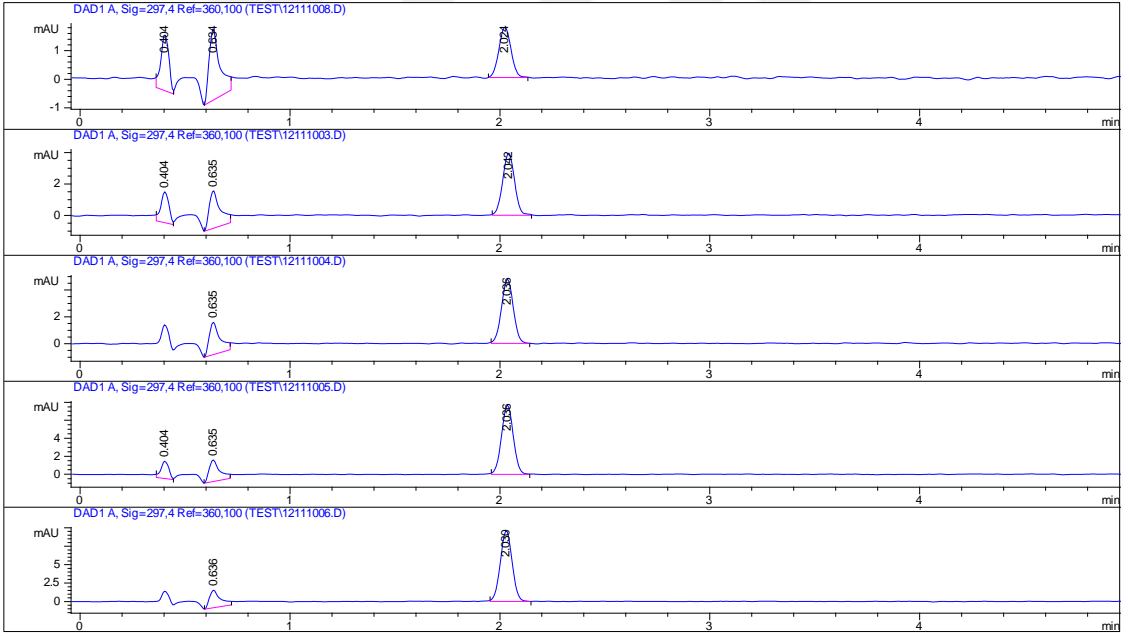
DNA İzolasyonu: Deney tüpüne alınan 1 g böbrek dokusu 10 mL % 1 SDS ve 1 mM EDTA içeren çözelti ile Ultra-Turrax T25 (IKA Werke GmbH, Staufen, Almanya) homojenizatöründe 6000 dev/dak hızla 5 dakika süreyle homojenize edildi. Homojenatlar 37 °C' de 30 dak. Proteinaz K ile inkübe edildi. 0.5 mL pH 7.4 1 M Tris-HCl eklendikten sonra 1 hacim Kloroform: İzooamil alkol (24:1, v:v) ile ekstraksiyon yapıldı. Fazlar santrifüj ile ayrıldıktan sonra aküöz fazlar toplandı. DNA 0.1 hacim -20 °C' de bekletilen absölu etanol ile presipite edildi. Santrifüj sonrası % 70' lik etanol ile yıkanan DNA 2 ml 1.5 mM NaCl, 150 µM Na-Sitrat ve 1 mM EDTA içeren çözelti ile çözünür hale getirildi. Çözelti 37 °C' de 30 dak. RNaz T₁ ve RNaz A ile inkübe edildi. DNA çözeltisi tekrar Kloroform: İzooamil alkol çözeltisi ile ekstrakte edilip 5M NaCl ile presipite edildi (218).

Presipite edilen DNA pelletleri 0.5 mL 20 mM CH₃COONa ile çözündükten sonra 37 °C' de 30 dak. 63 mg Nükleaz P₁ ile inkübe edilip 50 µL 1M Tris-HCl eklenerek 37 °C' de 60 dak. 6.3 U Alkalen fosfataz ile inkübe edildi (219).

HPLC Analizi: HPLC analizleri manuel enjeksiyonlu Agilent 1100 (Agilent Technologies, Inc. Headquarters, Santa Clara, United States) cihazı ile yapıldı. İzole edilen DNA örneklerinin 20 µL' lik kısımları 3 µm partikül büyüklüğüne sahip 4.6 mm iç çaplı, 75 mm uzunluğundaki C18 HPLC kolonuna (ACE, Aberdeen, Scotland) yüklendi. Analiz, %3 (v:v) Asetonitril içeren % 0.1 (v:v) Asetik asit mobil fazı ile 2 mL/dak akış hızı ile izokratik olarak yapıldı, UV 297 nm'de gerçekleştirildi (220). 8-hidroksi deoksiguanozin standardı ile hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerin aynı kromatografik koşullar altında yapılan analizleri sonucu elde edilen pik alanlarına karşılık gelen konsantrasyonla grafiğe geçirildi. Oluşturulan grafiğin doğru denkleminde yararlanılarak numunelere ait 8-hidroksi deoksiguanozin içerikleri belirlenip, nmol/mg DNA olarak ifade edildi.



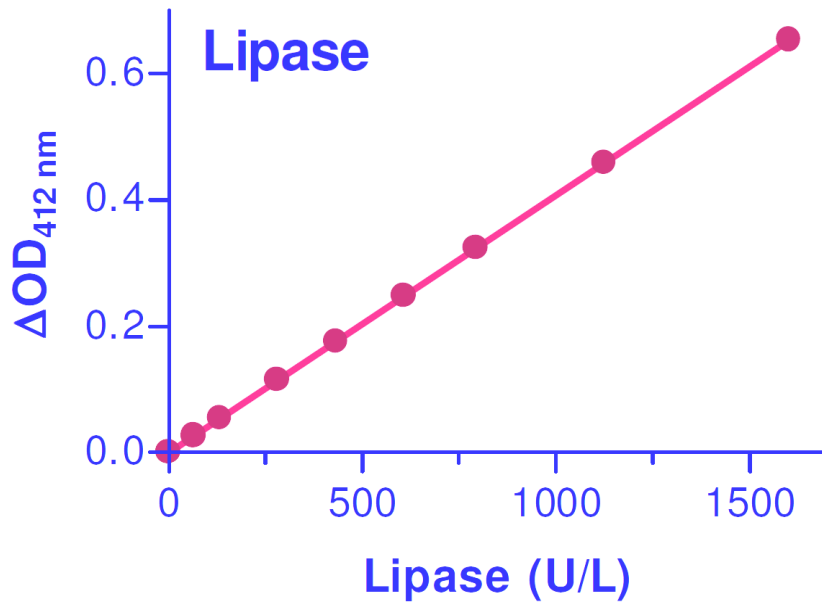
Şekil 3.4. 8-OHdG standart grafiği



Şekil 3.5. Standart ekleme tekniği ile elde edilen 8-OHdG çakışma kromotogramı.

3.4.7. Serumda Pankreatik Lipaz Düzeyinin Ölçülmesi

Pankreatik Lipaz ölçümü, temin edilen pankreatik lipaz Bio Assay Systems 'Quanti Chrom™ lipaz kitinde belirtilen prosedüre uygun olarak gerçekleştirildi. Pankreatik lipaz 5,5'-ditiyo-bi [2-nitrobenzoik asit] (DTNB), sülfidril bileşikleri tarafından redükte edilmiş bir disülfid bileşiğidir. Reaksiyon ürünü olarak sarı renkli kompleks oluşur. Örnek ile DTNB'nin oluşturduğu bu kompleksin renk şiddeti ortamdaki Lipaz konsantrasyonu ile doğru orantılıdır; 412 nm' de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Şekil 3.6).

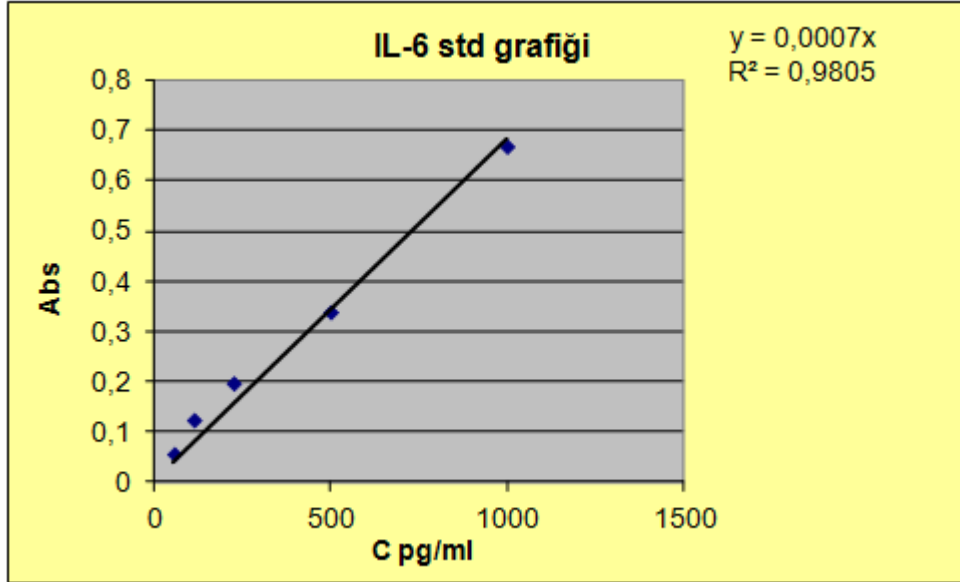


Şekil 3.6. Lipaz standart grafiği

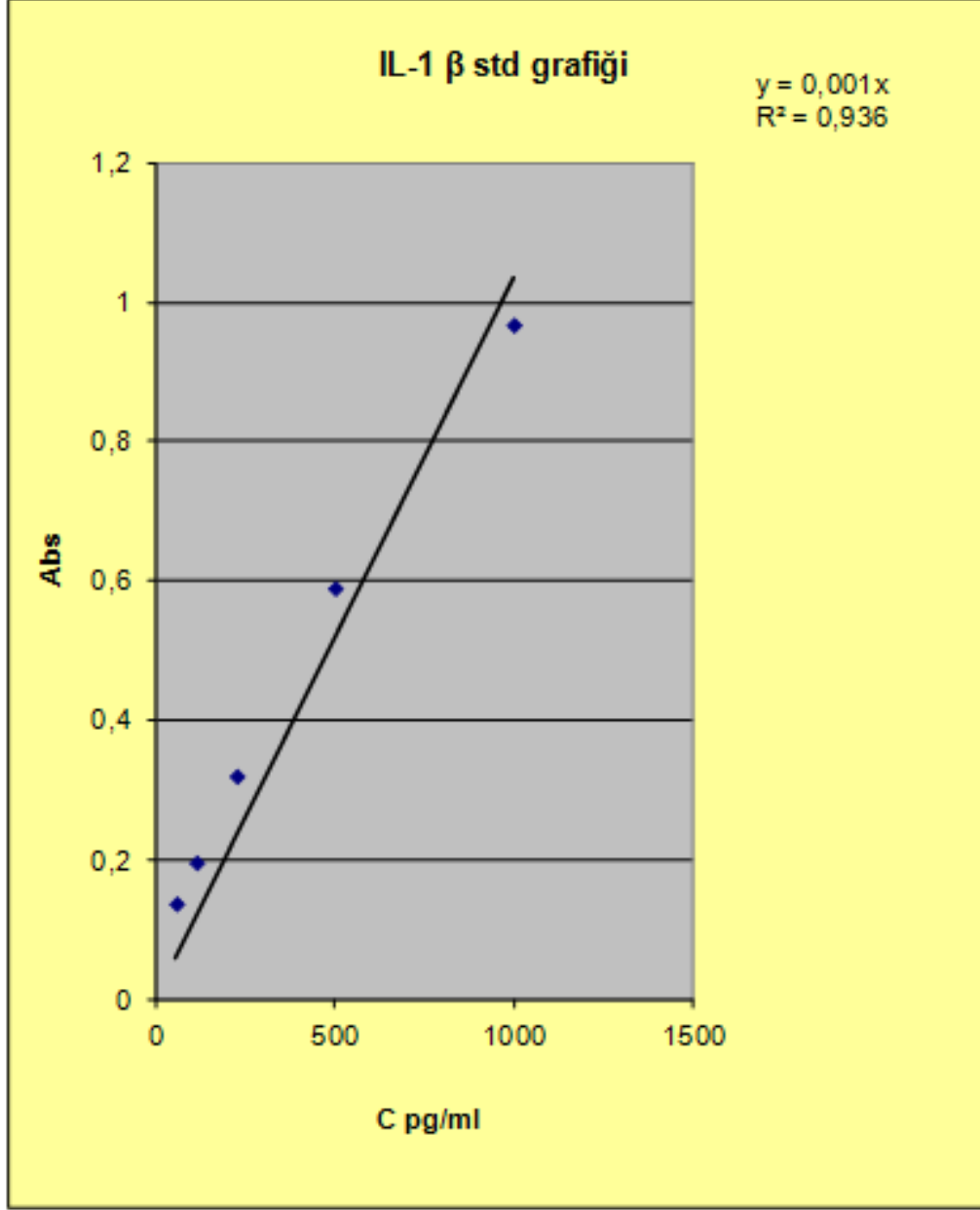
3.4.8. Serumda Sitokin Tayini

3.4.8.1. IL-6 ve IL-1 β Tayini

Çalışma gününde tüm gruplardan alınan örnekler IL-1 β ve IL- 6 düzeyleri ELISA yöntemi (eBioscience Rat-IL-1 β Platinum ELISA Kiti) kullanılarak ölçüldü ve sonuçlar standart grafiği yardımıyla pg/ml cinsinden hesap edildi (Şekil 3.7 ve Şekil 3.8).



Şekil 3.7. IL-6 Standart grafiği



Şekil 3.8. IL-1 β Standart grafiği

Deneyin Yapılışı

1. Deneyde kullanılacak strip sayısı belirlendi; K r, standartlar ve örnekler için gerekli olan kuyucuk sayısı olmak üzere. Kullanılmayacak olan stripler plak çerçevesinden çıkarıldı ve alüminyum folyo paketine koruyucu ile birlikte konuldu ve sıklı sıklıya kapatılarak 2–8  C' de saklandı.
2. Striplerdeki kuyucukların her biri 2'şer kez 400  l Wash Buffer ile ve her yıkama arasında kuyucuk içeriği tamamen boşaltılarak yıkandı. Boşaltmadan önce yıkama tamponunun 10-15 sn kuyucuklar içerisinde kalmasına izin

verildi. Son yıkamadan sonra plak bir kağıt havlu üzerinde ters çevrilip vurularak kuyucukların yıkama tamponundan arınmış olduğuna dikkat edildi.

3. Plak üzerinde Standart seyreltme (Standart seyreltme tüplerde yapılabilir): Çift Standart kuyucuklarına 100 µl Sample Diluent eklendi. 100 µl hazırlanmış standart A1 ve A2 kuyucuklarına konuldu. Pipetleme yaparak A1 ve A2 kuyucukları karıştırıldı. Standart 1(S1) in konsantrasyonu = 2000.0 pg/ml) ve 100 µl si sırasıyla B1 ve B2 kuyucuklarına aktarılır. İki satır sıçan IL-6 2000.0 ile 31.3 pg /ml arasında değişen standart dilüsyonları oluşturarak bu prosedüre 5 kez devam edilir. Kullanılan son kuyucuklar (G1, G2) in içeriğinden 100 µl çekilir ve dışarı atılır.
4. Çift blank kuyucuklarına 100 µl Sample Diluent koyuldu.
5. Çift örnek kuyucuklarına 50 µl Sample Diluent eklendi.
6. Çift örnek kuyucuklarına 50 µl örnek pipetlendi.
7. Biotin konjugat hazırlandı.
8. Tüm kuyucuklara 50 µl Biotin-Konjugat eklendi.
9. Plaka yapışkan film ile kaplandı ve oda sıcaklığı (18–25 °C) nda ve 200 rpm'e ayarlanmış sallayıcı üzerinde 2 saat kuluçkaya (inkübasyona) bırakıldı.
10. Yapışkan film kaldırıldı ve kuyucuklar boşaltıldı.
11. Tüm kuyucuklara (blank dahil) 100 µl seyreltilmiş Streptavidin-HRP koyuldu.
12. Yapışkan film ile kaplı plak oda sıcaklığı (18–25°C) nda ve 200 rpm e ayarlanmış sallayıcı üzerinde 1 saat kuluçkaya bırakıldı.
13. Yapışkan film kaldırıldı ve kuyucuklar boşaltıldı.
14. Tüm kuyucuklara 100 µl TMB Substrate Solution dağıtıldı.
15. Oda sıcaklığı (18–25°C) nda yaklaşık 10 dk kuluçkaya bırakıldı.
16. Plak üzerindeki renk gelişimi gözlemlendi ve pozitif kuyucuklar fazla bekletilmeden substrat reaksiyonu durduruldu.
17. Her bir kuyucuğa hızlıca 100 µl Stop Solution eklenerek enzim reaksiyonu durduruldu.
18. Spektrofotometre kullanarak absorbans değerleri 450 nm' de okundu.

3.5. Böbrek Dokusunun Histopatolojik İncelenmesi

Histolojik inceleme için alınan böbrek dokusu örnekleri % 10'luk formaldehit ile 48 saat tespit edildi. Tespit işlemini sonrasında böbrek dokusu örnekleri rutin histolojik doku takip prosedüründen geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 6 µm kalınlığında kesitler hazırlandı. Lamlar üzerine alınan kesitler hematoksilin – eozin (H-E) ile boyandıktan sonra Nikon Optiaphot-2 ışık mikroskobu ve Nikon DS-L3 Kamera kontrol-Görüntü analiz sistemi (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) ile incelenerek fotoğraflar çekildi.

3.6. İstatiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uyup uymadığını test etmek amacıyla ilk önce One-Sample Kolmogorov-Smirnov testi uygulandı ve verilerin normal dağılıma uyduğu görüldü. Test sonuçları aşağıdaki tablolarda görülmektedir.

Test Değeri = 0					
t	df	Sig. (2-tailed)	Ortalama Fark	Farkların %95 Güvenirlilik Aralığı	
				Düşük	Yüksek
23,623	35	,000	408,36028	373,2664	443,4541
33,744	35	,000	2,60611	2,4493	2,7629
19,895	35	,000	4,94128	4,4371	5,4455
25,569	35	,000	13,10794	12,0672	14,1487
15,938	35	,000	960,38806	838,0602	1082,7159
28,405	35	,000	65,84278	61,1371	70,5485
22,606	35	,000	70,27778	63,9666	76,5889
19,846	35	,000	880,27944	790,2332	970,3257

Normal dağılıma uygunluk gösteren verilerin gruplar arası karşılaştırılmalarının yapılmasında ANOVA testi kullanıldı ve görülen farkların hangi grupların hangi parametrelerine ait olduğunu analiz etmek için ise LSD Post Hoc Testi uygulandı. Tüm bu testlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ değeri olarak kabul edildi. Analiz sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir:

	N	Ortalama Değer	Standart Dağıtım	Standart Hata	Ortalamanın %95 Güvenirlik Aralığı		Minimum	Maksimum	
					Alt Değer	Düşük Değer			
CAT	1,00	12	387,3133	93,64025	27,03161	327,8172	446,8095	240,77	533,28
	2,00	12	446,9625	111,25744	32,11726	376,2729	517,6521	269,37	613,99
	3,00	12	390,8050	103,13975	29,77388	325,2731	456,3369	228,32	621,70
	Total	36	408,3603	103,72013	17,28669	373,2664	443,4541	228,32	621,70
GPx	1,00	12	2,7230	,42872	,12376	2,4506	2,9954	2,08	3,34
	2,00	12	2,2766	,42419	,12245	2,0071	2,5461	1,55	2,91
	3,00	12	2,8187	,36986	,10677	2,5838	3,0537	2,24	3,38
	Total	36	2,6061	,46339	,07723	2,4493	2,7629	1,55	3,38
SOD	1,00	12	6,1820	1,05271	,30389	5,5131	6,8509	4,99	8,71
	2,00	12	3,3039	,77575	,22394	2,8110	3,7968	2,24	4,41
	3,00	12	5,3379	,76156	,21984	4,8540	5,8218	4,46	7,02
	Total	36	4,9413	1,49017	,24836	4,4371	5,4455	2,24	8,71
MDA	1,00	12	13,8835	2,82542	,81563	12,0883	15,6787	9,45	18,89
	2,00	12	14,9041	2,66453	,76918	13,2111	16,5970	8,89	19,48
	3,00	12	10,5363	1,90565	,55011	9,3255	11,7470	7,32	13,37
	Total	36	13,1079	3,07595	,51266	12,0672	14,1487	7,32	19,48
LIPAZ	1,00	12	647,9558	139,95630	40,40190	559,0318	736,8798	431,32	924,55
	2,00	12	848,9525	101,05653	29,17251	784,7442	913,1608	655,69	955,50
	3,00	12	1384,2558	264,70683	76,41428	1216,0691	1552,4425	827,84	1791,07
	Total	36	960,3881	361,54102	60,25684	838,0602	1082,7159	431,32	1791,07
IL-6	1,00	12	68,4508	15,82049	4,56698	58,3990	78,5027	47,14	91,43
	2,00	12	73,0925	10,56462	3,04974	66,3801	79,8049	55,71	87,14
	3,00	12	55,9850	9,09854	2,62652	50,2041	61,7659	38,57	70,00
	Total	36	65,8428	13,90780	2,31797	61,1371	70,5485	38,57	91,43
IL-1	1,00	12	67,3333	13,59367	3,92415	58,6963	75,9703	41,00	87,00
	2,00	12	83,8333	16,35867	4,72234	73,4395	94,2271	69,00	122,00
	3,00	12	59,6667	17,94098	5,17912	48,2675	71,0658	33,00	88,00
	Total	36	70,2778	18,65263	3,10877	63,9666	76,5889	33,00	122,00
8OHdG	1,00	12	954,1033	324,71434	93,73696	747,7897	1160,4170	492,63	1250,77
	2,00	12	947,8408	230,46918	66,53072	801,4077	1094,2740	490,53	1206,55
	3,00	12	738,8942	184,57902	53,28337	621,6183	856,1701	467,11	1009,27
	Total	36	880,2794	266,13236	44,35539	790,2332	970,3257	467,11	1250,77

Çoklu Karşılaştırmalar

LSD

Bağımlı Değişken	(I) var 00001	(J)var 00001	Ortalama değer (I-J)	Std.Hata	Sig.	Ortalamanın %95 Güvenirlik Aralığı	
						Alt değer	Üst değer
CAT	1,00	2,00	-59,64917	42,02150	,165	-145,1426	25,8442
		3,00	-3,49167	42,02150	,934	-88,9851	82,0017
	2,00	1,00	59,64917	42,02150	,165	-25,8442	145,1426
		3,00	56,15750	42,02150	,191	-29,3359	141,6509
	3,00	1,00	3,49167	42,02150	,934	-82,0017	88,9851
		2,00	-56,15750	42,02150	,191	-141,6509	29,3359
GPx	1,00	2,00	,44642*	,16676	,011	,1072	,7857
		3,00	-,09575	,16676	,570	-,4350	,2435
	2,00	1,00	-,44642*	,16676	,011	-,7857	-,1072
		3,00	-,54217*	,16676	,003	-,8814	-,2029
	3,00	1,00	,09575	,16676	,570	-,2435	,4350
		2,00	,54217*	,16676	,003	,2029	,8814
SOD	1,00	2,00	2,87808*	,35668	,000	2,1524	3,6038
		3,00	,84408*	,35668	,024	,1184	1,5698
	2,00	1,00	-2,87808*	,35668	,000	-3,6038	-2,1524
		3,00	-2,03400*	,35668	,000	-2,7597	-1,3083
	3,00	1,00	-,84408*	,35668	,024	-1,5698	-,1184
		2,00	2,03400*	,35668	,000	1,3083	2,7597
MDA	1,00	2,00	-1,02058	1,01965	,324	-3,0951	1,0539
		3,00	3,34725*	1,01965	,002	1,2728	5,4217
	2,00	1,00	1,02058	1,01965	,324	-1,0539	3,0951
		3,00	4,36783*	1,01965	,000	2,2933	6,4423
	3,00	1,00	-3,34725*	1,01965	,002	-5,4217	-1,2728
		2,00	-4,36783*	1,01965	,000	-6,4423	-2,2933
LİPAZ	1,00	2,00	-200,99667*	74,48710	,011	-352,5418	-49,4515
		3,00	-736,30000*	74,48710	,000	-887,8451	-584,7549
	2,00	1,00	200,99667*	74,48710	,011	49,4515	352,5418
		3,00	-535,30333*	74,48710	,000	-686,8485	-383,7582
	3,00	1,00	736,30000*	74,48710	,000	584,7549	887,8451
		2,00	535,30333*	74,48710	,000	383,7582	686,8485
İL-6	1,00	2,00	-4,64167	4,97037	,357	-14,7540	5,4706
		3,00	12,46583*	4,97037	,017	2,3535	22,5781
	2,00	1,00	4,64167	4,97037	,357	-5,4706	14,7540
		3,00	17,10750*	4,97037	,002	6,9952	27,2198
	3,00	1,00	-12,46583*	4,97037	,017	-22,5781	-2,3535
		2,00	-17,10750*	4,97037	,002	-27,2198	-6,9952
İL-1	1,00	2,00	-16,50000*	6,55859	,017	-29,8436	-3,1564
		3,00	7,66667	6,55859	,251	-5,6769	21,0102
	2,00	1,00	16,50000*	6,55859	,017	3,1564	29,8436
		3,00	24,16667*	6,55859	,001	10,8231	37,5102
	3,00	1,00	-7,66667	6,55859	,251	-21,0102	5,6769
		2,00	-24,16667*	6,55859	,001	-37,5102	-10,8231
8OHdG	1,00	2,00	6,26250	103,44748	,952	-204,2030	216,7280
		3,00	215,20917*	103,44748	,045	4,7437	425,6746
	2,00	1,00	-6,26250	103,44748	,952	-216,7280	204,2030
		3,00	208,94667	103,44748	,052	-1,5188	419,4121
	3,00	1,00	-215,20917*	103,44748	,045	-425,6746	-4,7437
		2,00	-208,94667	103,44748	,052	-419,4121	1,5188

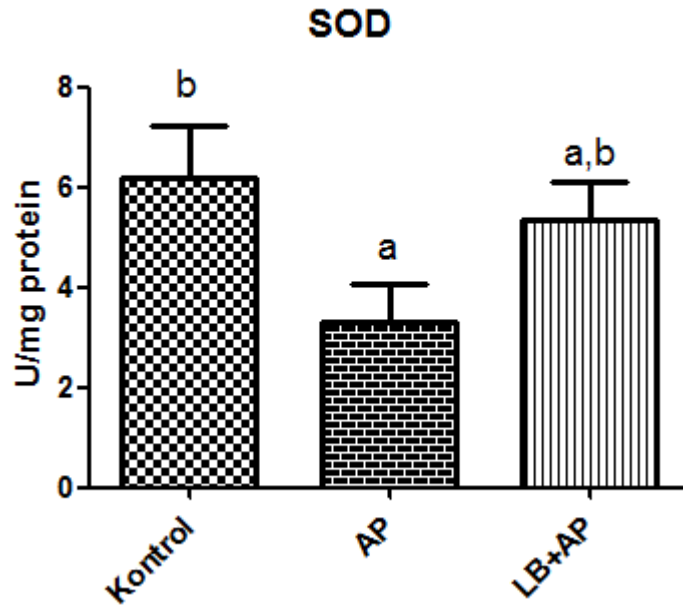
4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Bu çalışmada ratlarda akut pankreatite bağlı gelişen böbrek hasarında *Lycium barbarum* (goji) bitki ekstresinin koruyucu etkilerinin lipid peroksidasyon düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri araştırıldı. Bu amaçla 3-4 aylık 36 adet *Wistar albino* türü dişi ratların böbrek doku homojenatlarında SOD, CAT, GPx enzim aktiviteleri ve 8-OHdg miktarı ve MDA düzeyleri ölçüldü. Öte yandan kandan elde edilen serumda ise rat serum kiti kullanılarak lipaz, IL-1 ve IL-6 aktivite düzeyleri ölçüldü. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar tablolar (Tablo 4.1-8) ve grafikler (Şekil 4.1-8) halinde aşağıda sunulmuştur.

4.1.1. Grupların Böbrek Dokusu SOD Aktiviteleri

Çalışma sonuçlarımıza göre SOD enzim aktivitesinin AP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir. ($p<0.05$) Buna karşın LB uygulaması AP grubuna göre anlamlı bir yükseliş göstermiştir. ($p<0.05$)



Şekil 4.1. Kontrol grubu, akut pankreatit ve *Lycium barbarum*+Akut pankreatit deney gruplarının SOD aktivitesi yönünden karşılaştırılması

(a) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

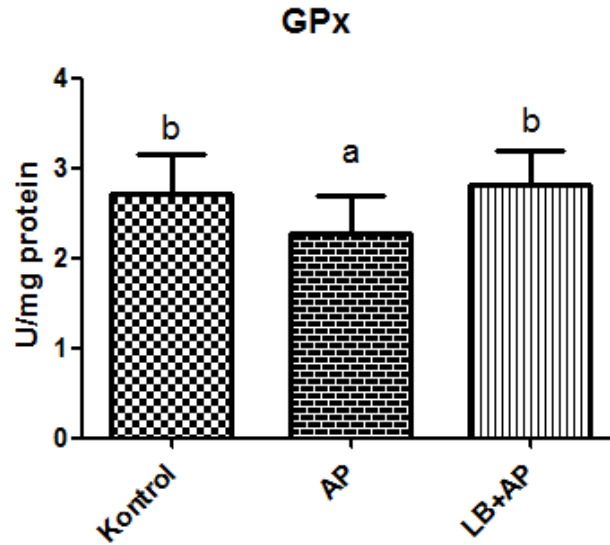
(b) AP grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

Tablo 4.1. Böbrek dokusu SOD aktivite değerleri ve istatistiksel karşılaştırmaları ($p < 0.05$).

	ÖRNEK SAYISI (n)	SOD (U/mg protein) ORT±SS
GRUP 1	12	6.1820± 1.05271
GRUP 2	12	3.3039 ± 0.77575
GRUP 3	12	5.3379 ± 0.76156

4.1.2. Grupların Böbrek Dokusu GPx Aktivitesi

Çalışma bulgularına göre AP grubunda GPx aktivitesi kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış. ($p < 0.05$) ve LB uygulanan grupta bu azalma yine anlamlı bir düzeyde ($p < 0.05$) geri çevrilmiştir. LB grubunun ortalama değeri kontrol grubuna yakın bulunmuş ayrıca 1. ve 3. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. ($p > 0.05$)



Şekil 4.2. Kontrol grubu, akut pankreatit ve *Lycium barbarum*+Akut pankreatit deney gruplarının GPx aktivitesi yönünden karşılaştırılması.

(a) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

(b) AP grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

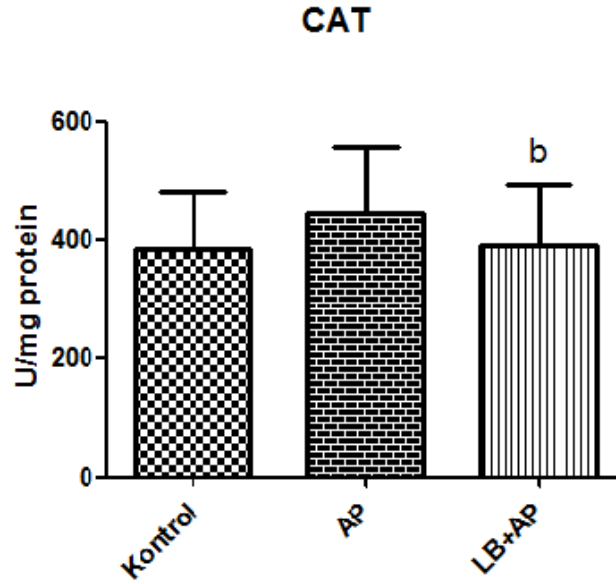
Tablo 4.2. Böbrek dokusu GPx aktivite değerleri ve istatistiksel karşılaştırmaları ($p < 0.05$).

	ÖRNEK SAYISI (n)	GPx (U/mg protein) ORT±SS
GRUP 1	12	2.7230± 0.42872
GRUP 2	12	2.2766 ± 0.42419
GRUP 3	12	2.8187 ± 0.36986

7

4.1.3. Grupların Böbrek Dokusu CAT Aktivitesi

Çalışma bulgularımıza göre AP grubunda kontrol grubunda kıyasla CAT aktivitesinde belli oranda artış gözlenmesine rağmen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte belli oranda artış göstermiş. ($p > 0.05$). Benzer şekilde LB grubunda AP grubuna oranla daha düşük CAT düzeyleri belirlenmiş olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 4.3. Kontrol grubu, akut pankreatit ve *Lycium barbarum*+Akut pankreatit deney gruplarının CAT aktivitesi yönünden karşılaştırılması.

(a) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

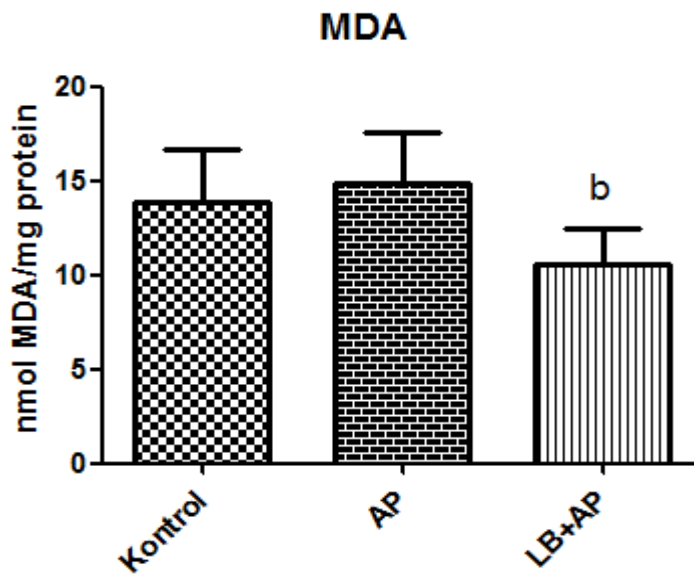
(b) AP grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

Tablo 4.3. Böbrek dokusu CAT aktivite değerleri ve istatistiksel karşılaştırmaları ($p < 0.05$).

	ÖRNEK SAYISI (n)	CAT (U/mg protein) ORT±SS
GRUP 1	12	387.31 ± 93.64
GRUP 2	12	446.96 ± 111.25
GRUP 3	12	390.81 ± 103.13

4.1.4. Grupların Böbrek Dokusu MDA Düzeyleri

MDA düzeyi hücredeki lipid peroksidasyonun önemli bir göstergesi olup hücredeki artışına paralel olarak oksidatif stres derecesinin arttığı ve hücre bütünlüğünün bozulduğu kabul edilmektedir. Çalışma bulgularımıza göre AP grubunda kontrole kıyasla MDA düzeyinde belli oranda artış gözlenmesine rağmen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p > 0.05$). LB grubunda AP grubuna bağlı MDA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir şekilde düşürmüştür.



Şekil 4.4. Kontrol grubu, akut pankreatit ve *Lycium barbarum*+Akut pankreatit deney gruplarının MDA düzeyi yönünden karşılaştırılması.

(a) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

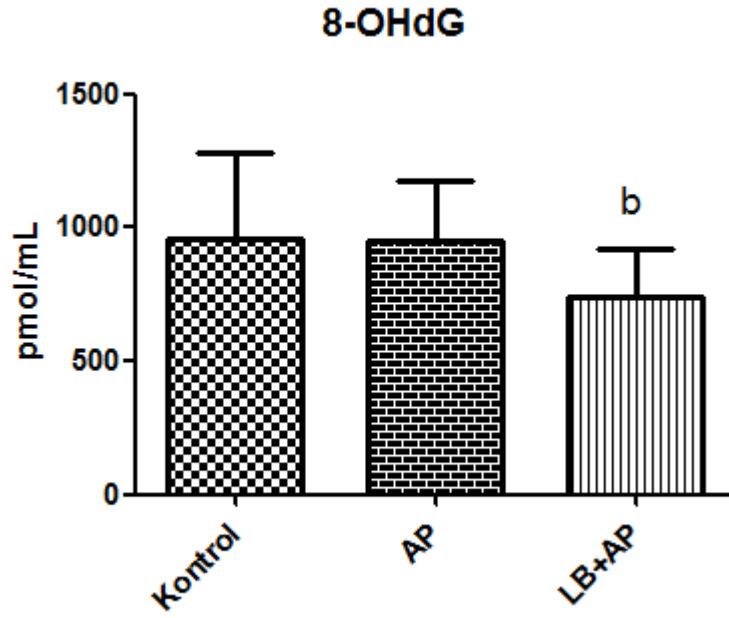
(b) AP grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

Tablo 4.4. Böbrek dokusu MDA düzeyleri ve istatistiksel karşılaştırmaları (p<0.05)

	ÖRNEK SAYISI (n)	MDA (nmol MDA/mg protein) ORT±SS
GRUP 1	12	13.8835 ± 2.82542
GRUP 2	12	14.9041 ± 2.66453
GRUP 3	12	10.5363 ± 1.90565

4.1.5. Grupların Böbrek Dokusunda 8-Hidroksi Deoksiguanozin Miktarı

Çalışma bulgularımıza göre 8-hidroksi deoksiguanozin miktarı AP grubunda kontrole kıyasla belli oranda artış gözlenmesine rağmen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. ($p > 0.05$). LB grubunda AP grubuna bağlı 8-hidroksi deoksiguanozin miktarı istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir şekilde düşürmüştür.



Şekil 4.5. Kontrol grubu, Akut pankreatit ve *Lycium barbarum*+Akut pankreatit deney gruplarının 8-hidroksi deoksiguanozin miktarı yönünden karşılaştırılması.

(a) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

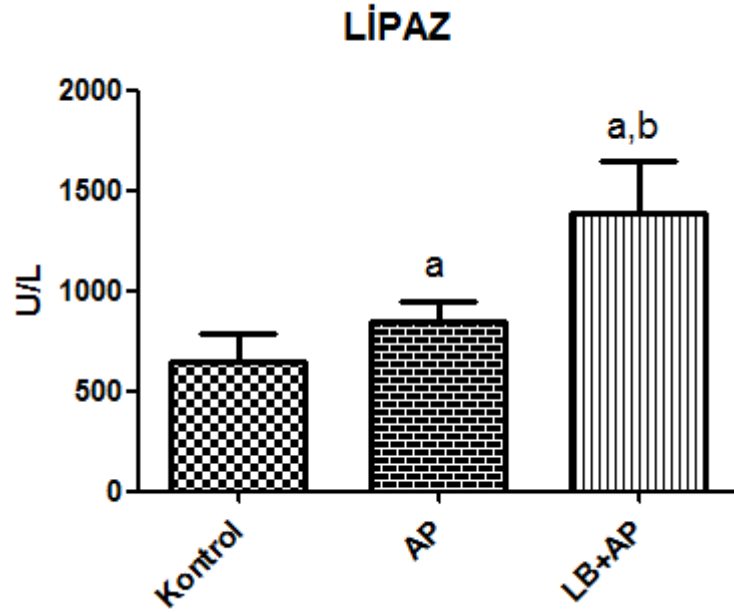
(b) AP grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

Tablo 4.5. Böbrek dokusu 8-OHdG miktar düzeyi ve istatistiksel karşılaştırmaları ($p < 0.05$).

	ÖRNEK SAYISI (n)	8-OHdG (p mol/mL) ORT±SS
GRUP 1	12	954.1033 ± 324.71434
GRUP 2	12	947.8408 ± 230.46918
GRUP 3	12	738.8942 ± 184.57902

4.1.6. Grupların Serum Lipaz Düzeyleri

Çalışma bulgularımıza göre lipaz düzeyi kontrol ile karşılaştırıldığında AP grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. ($p<0.05$). Buna karşın LB grubu hem kontrol hem de AP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.6. Kontrol grubu, akut pankreatit ve *Lycium barbarum*+Akut pankreatit deney gruplarının serum lipaz düzeyi yönünden karşılaştırılması.

(a) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

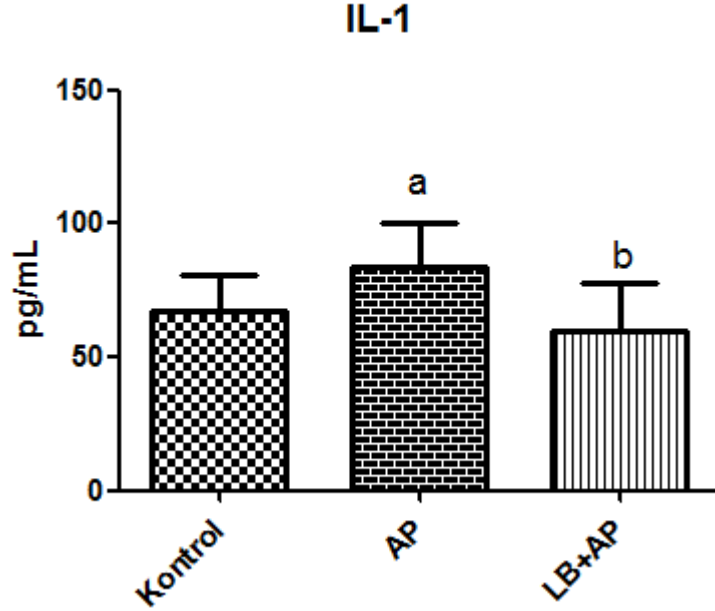
(b) AP grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

Tablo 4.6. Serum Lipaz düzeyi ve istatistiksel karşılaştırmaları ($p<0.05$)

	ÖRNEK SAYISI (n)	LİPAZ (U/L) ORT±SS
GRUP 1	12	647.9558 ± 139.95630
GRUP 2	12	848.9525 ± 101.05653
GRUP 3	12	1384.2558 ± 264.70683

4.1.7. Grupların İnterlökin-1 Düzeyleri

Çalışma bulgularımıza göre AP grubunda IL-1 düzeyi kontrole göre anlamlı ($p<0.05$) bir yükseliş göstermiştir. Bununla beraber LB uygulanan grupta AP oluşturduğu hasar IL-1 düzeyini anlamlı bir şekilde geri düşürmüştür ($p<0.05$). 1. ve 3. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).



Şekil 4.7. Kontrol grubu, akut pankreatit ve *Lycium barbarum*+Akut pankreatit deney gruplarının IL-1 düzeyi yönünden karşılaştırılması.

(a) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

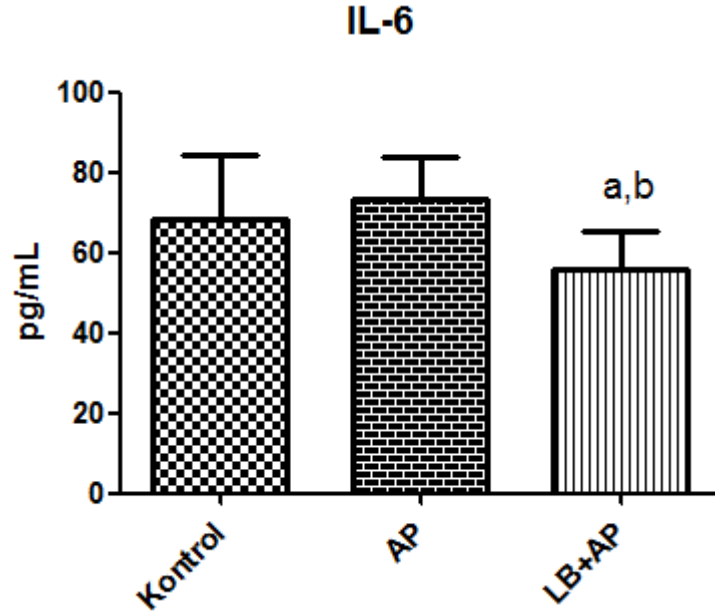
(b) AP grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

Tablo 4.7. Serum IL-1 düzeyi ve istatistiksel karşılaştırmaları ($p<0.05$)

	ÖRNEK SAYISI (n)	IL-1 (pg/mL) ORT±SS
GRUP 1	12	67.3333 ± 13.59367
GRUP 2	12	83.8333 ± 16.35867
GRUP 3	12	59.6667 ± 17.94098

4.1.8. Grupların İnterlökin-6 Düzeyleri

Çalışma bulgularımıza göre AP grubunda kontrole kıyasla IL-6 düzeyinde belli oranda artış gözlenmesine rağmen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). LB uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0.05$).



Şekil 4.8. Kontrol grubu, akut pankreatit ve *Lycium barbarum*+Akut pankreatit deney gruplarının IL-6 düzeyi yönünden karşılaştırılması.

- (a) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$
(b) AP grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

Tablo 4.8. Serum IL-6 düzeyi ve istatistiksel karşılaştırmaları ($p<0.05$)

	ÖRNEK SAYISI (n)	IL-6 (pg/mL) ORT±SS
GRUP 1	12	68.4508 ± 15.82049
GRUP 2	12	73.0925 ± 10.56462
GRUP 3	12	55.9850 ± 9.09854

Tüm biyokimyasal parametreleri tek tablo halinde toplu olarak sunacak olursak;

Tablo 4.9. Deney gruplarında böbrek dokusu SOD, CAT, GPx aktiviteleri ile MDA, LİPAZ, IL-6, IL-1 ve 8-OHdG miktar düzeyleri.

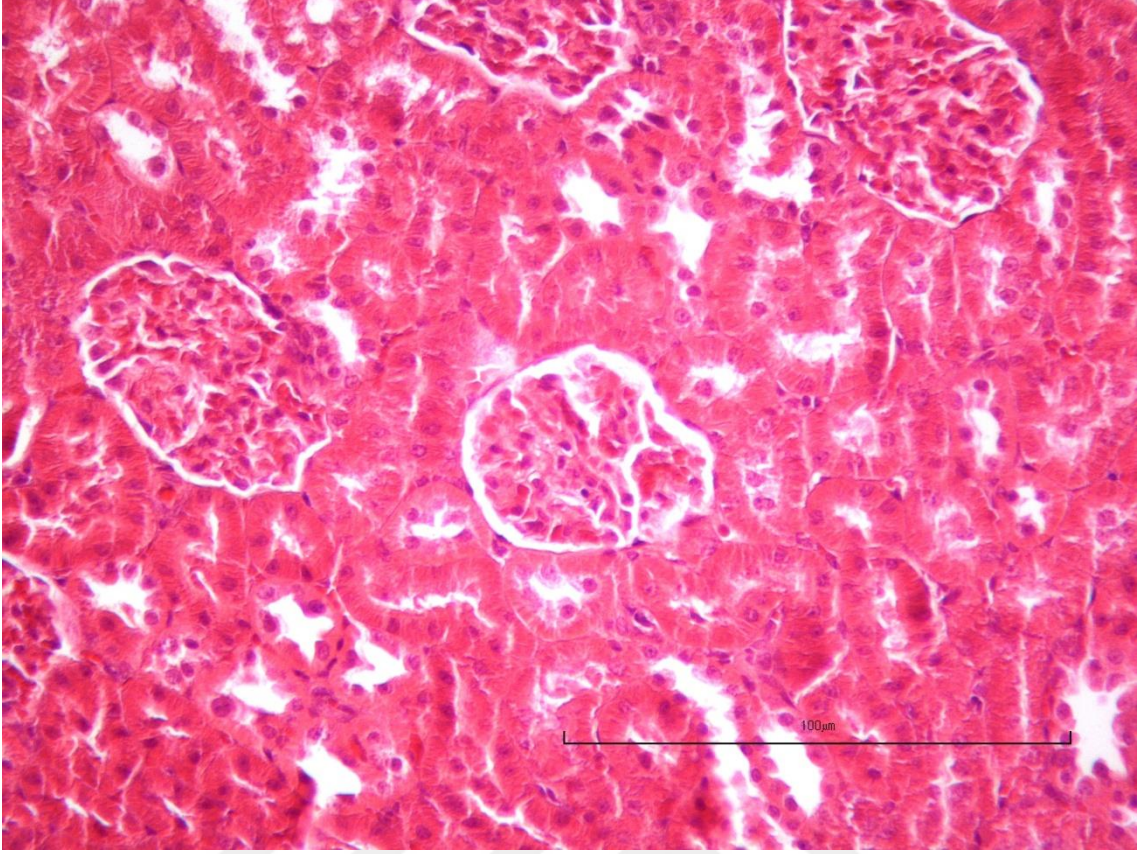
PARAMETRE	Grup 1 Kontrol n=12	Grup 2 AP n=12	Grup 3 LB+AP n=12
SOD(U/mg protein)	6.1820± 1.05271	3.3039 ± 0.77575 ^a	5.3379 ± 0.76156 ^{a,b}
GPx (U/mg protein)	2.7230± 0.42872	2.2766 ± 0.42419 ^a	2.8187 ± 0.36986 ^b
CAT (U/mg protein)	387.31 ± 93.64	446.96 ± 111.25	390.81 ± 103.13 ^b
MDA (nmol MDA/mg protein)	13.8835 ± 2.82542	14.9041 ± 2.66453	10.5363 ± 1.90565 ^b
8-OHdG (pmol /mL)	954.1033 ± 324.71434	947.8408 ± 230.46918	738.8942 ± 184.57902 ^b
LİPAZ(U/L)	647.9558 ± 139.95630	848.9525 ± 101.05653 ^a	1384.2558 ± 264.7068 ^{a,b}
IL-1(pg/mL)	67.3333 ± 13.59367	83.8333 ± 16.35867 ^a	59.6667 ± 17.94098 ^b
IL-6 (pg/mL)	68.4508 ± 15.82049	73.0925 ± 10.56462	55.9850 ± 9.09854 ^{a,b}

Değerler ortalama ± standart sapma (SS) olarak verilmiştir.

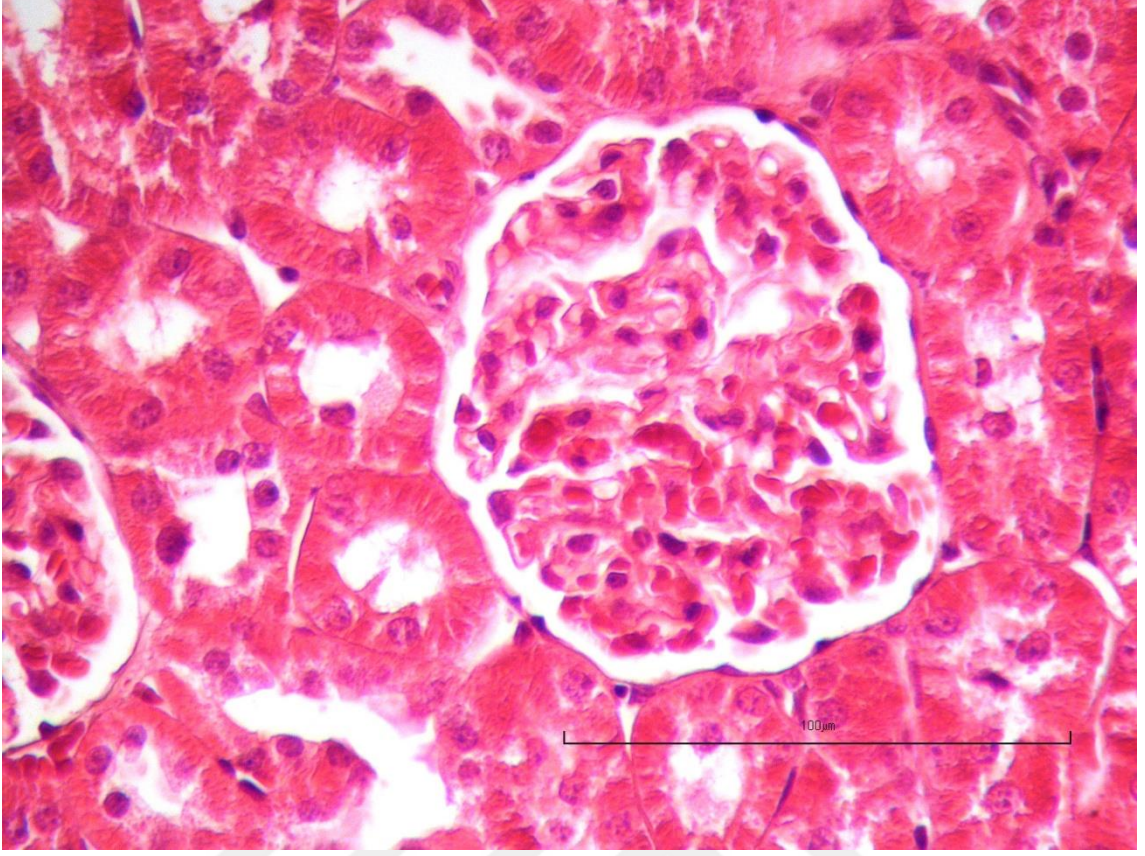
a: Kontrolü ile karşılaştırıldığında (p<0.05), **b:** AP ile karşılaştırıldığında (p<0.05)

4.2. Histolojik Bulgular

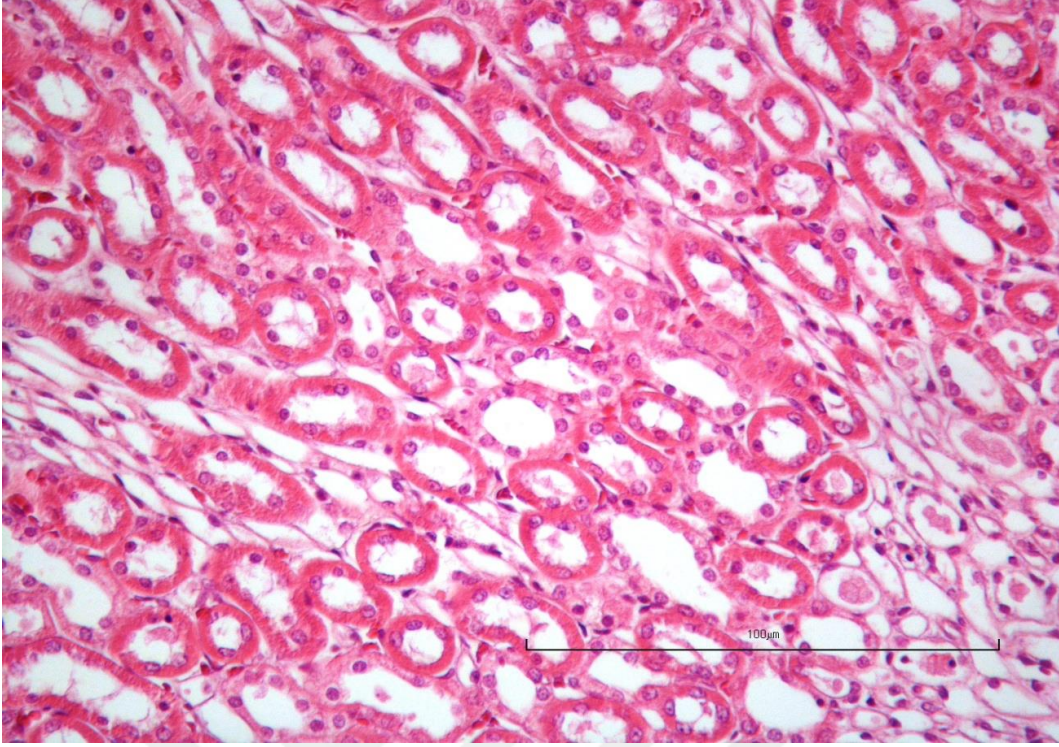
İncelenen kontrol grubu böbrek dokusu kesitlerinde kortikal (Şekil 4.9-10) ve medullar (Şekil 4.11) yapılar normal histolojik yapıda değerlendirildi.



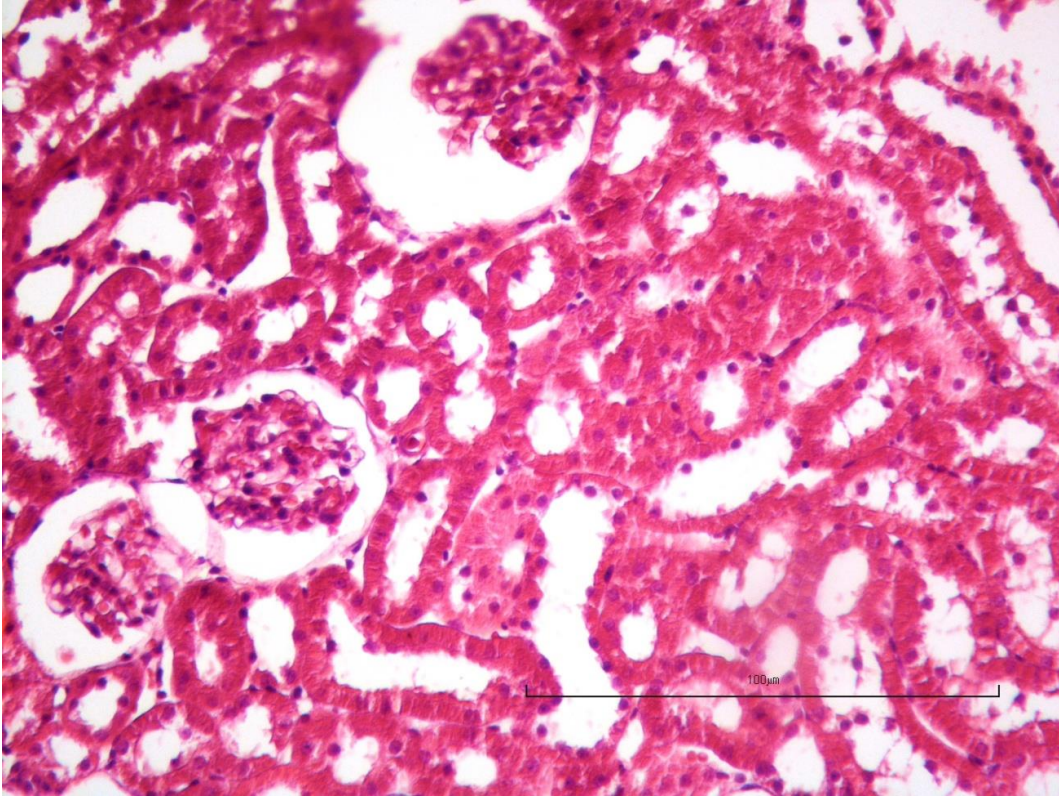
Şekil 4.9. Kontrol grubunun histoloji analizi (Kortikal normal yapıda görülmekte, HEX20)



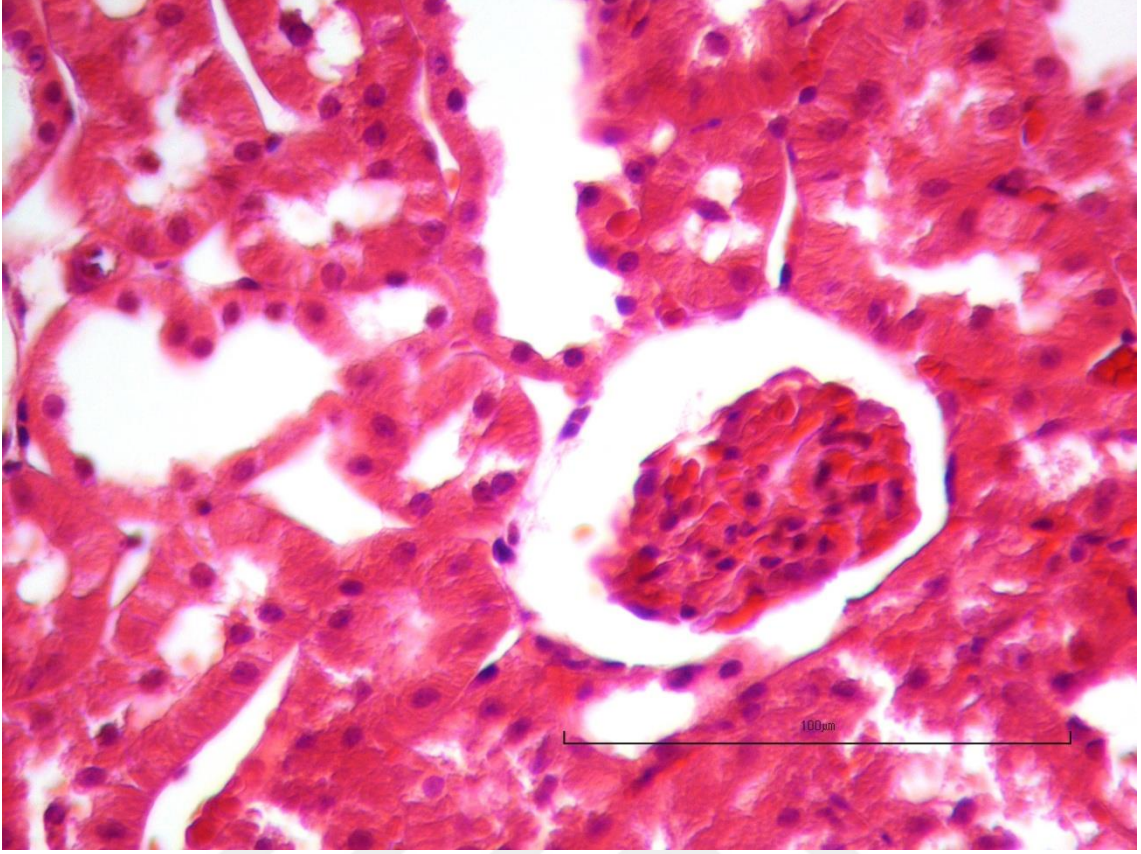
Şekil 4.10. Kontrol grubunun histoloji analizi (Kortikal normal yapıda görülmekte, HEX40)



Şekil 4.11. Kontrol grubunun histoloji analizi (Medullar normal yapıda görülmekte HEX20)

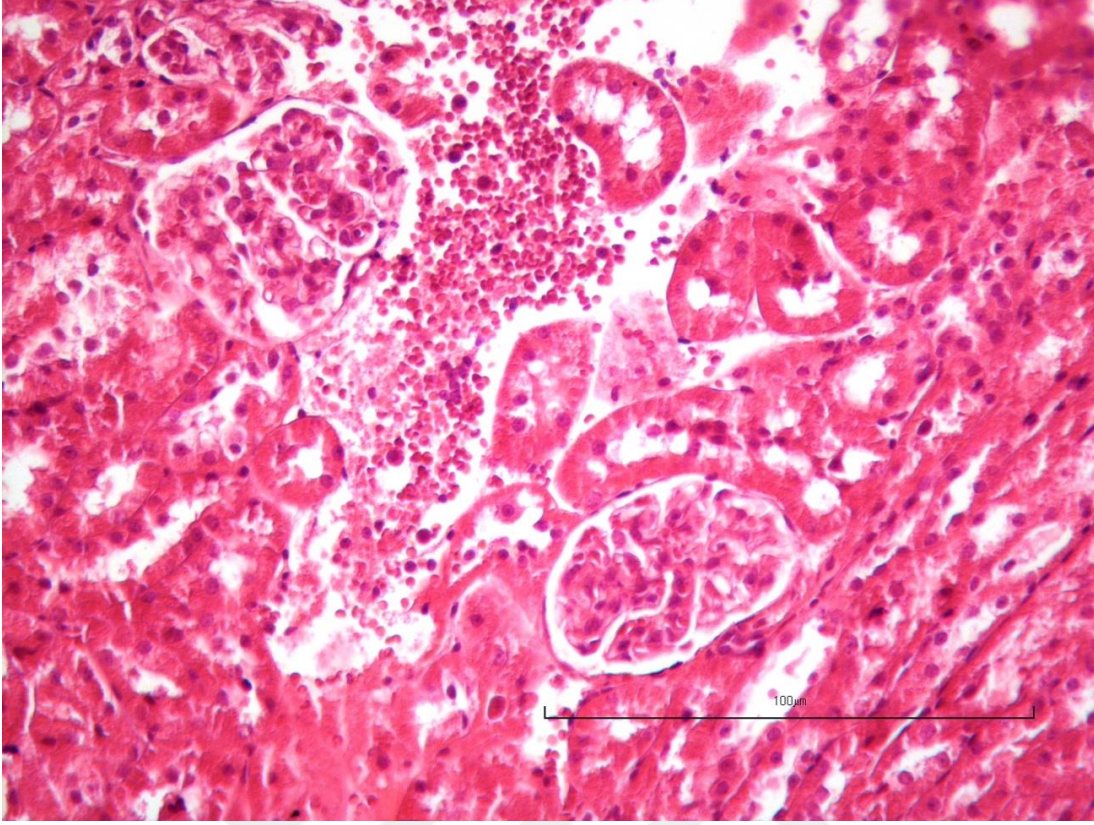


Şekil 4.12. AP grubunun histoloji analizi (Glomerülüs ve Bowman Kapsülü, HEX20)

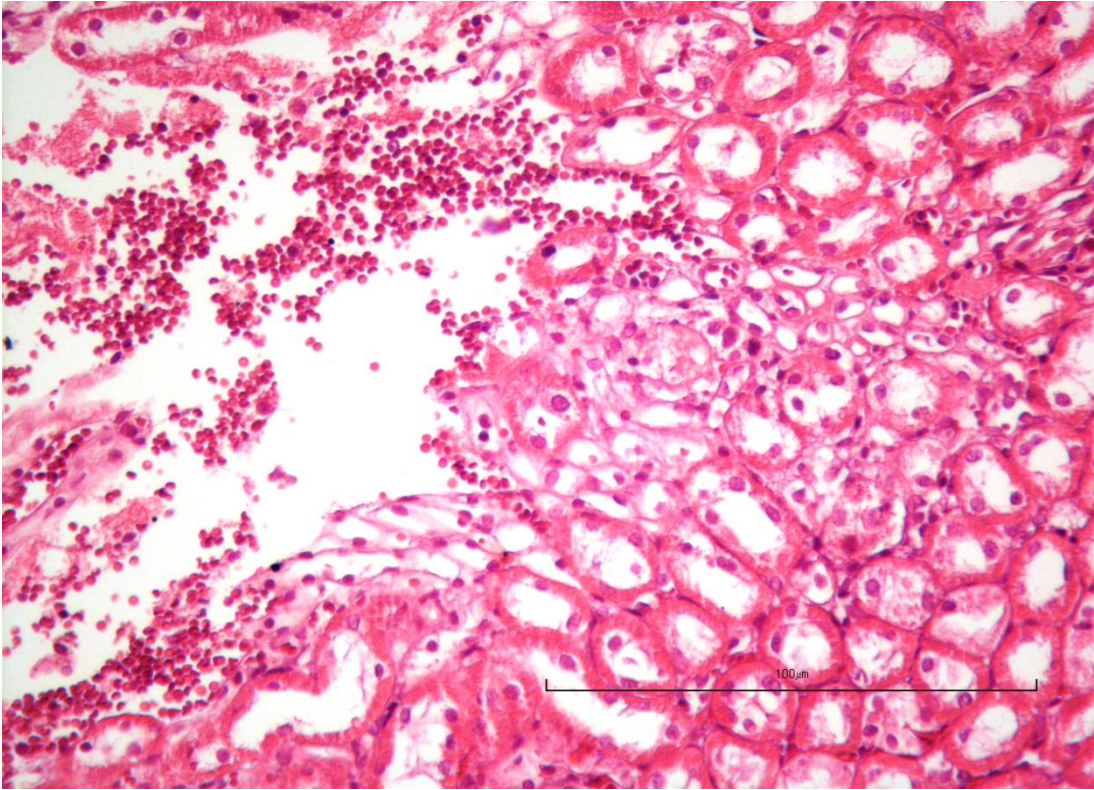


Şekil 4.13. AP grubunun histoloji analizi (Distal ve Proksimal tübüller, HEX20)

Pankreatit grubundaki böbrek kesitlerinde yaygın olarak glomerüllerde kollaps, Bowman aralıklarında dilatasyon, distal ve proksimal tübül epitel hücrelerinde eozinofilik sitoplazma yoğunluğunda artış, heterokromatik ve piknotik nukleus yapısı dikkati çekti (Şekil 4.12, 13).

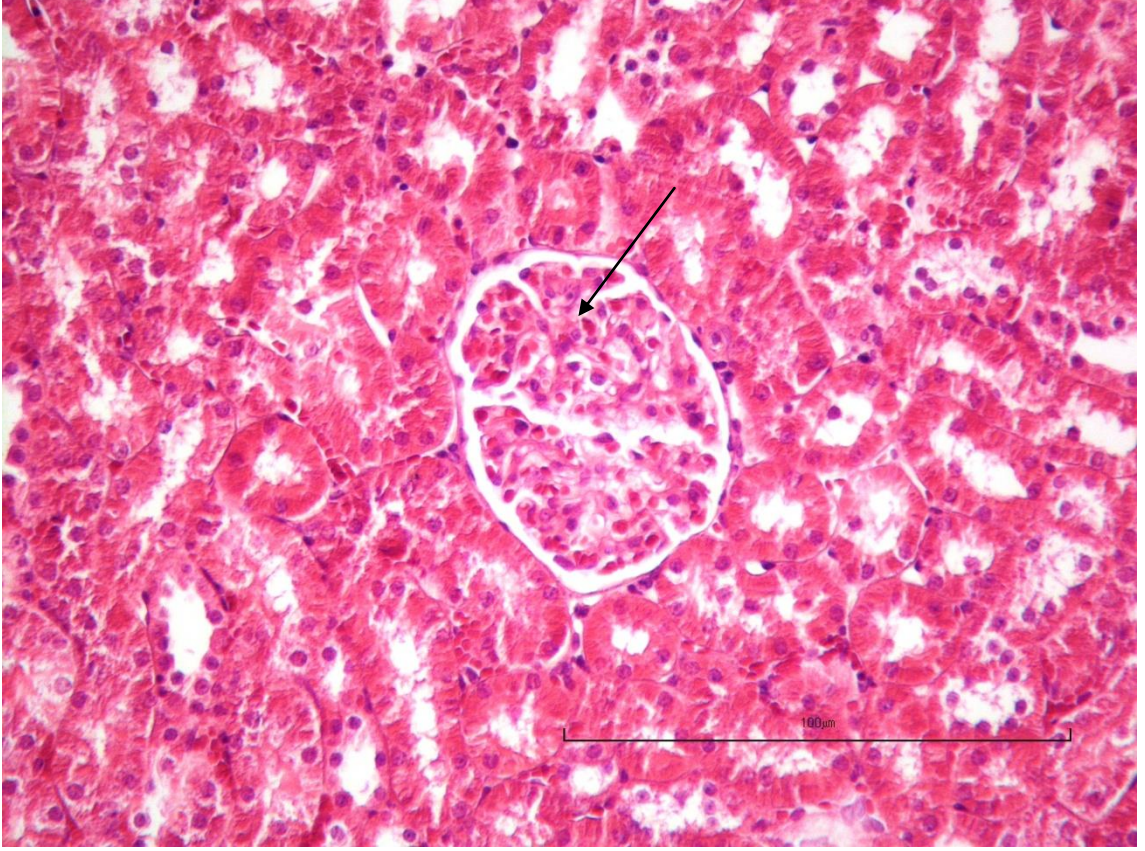


Şekil 4.14. AP grubunun histoloji analizi (Böbrek Korteksi, HEX20)

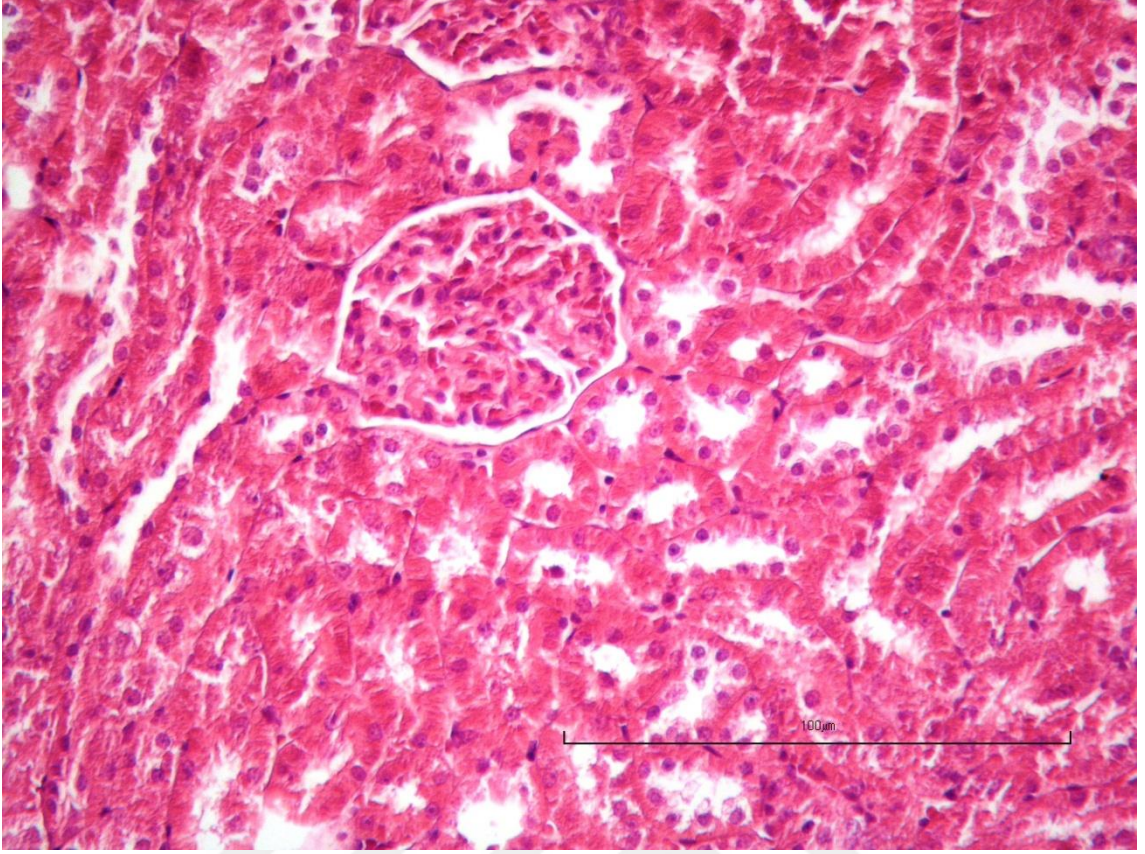


Şekil 4.15. AP grubunun histoloji analizi (Böbrek medullası, HEX20)

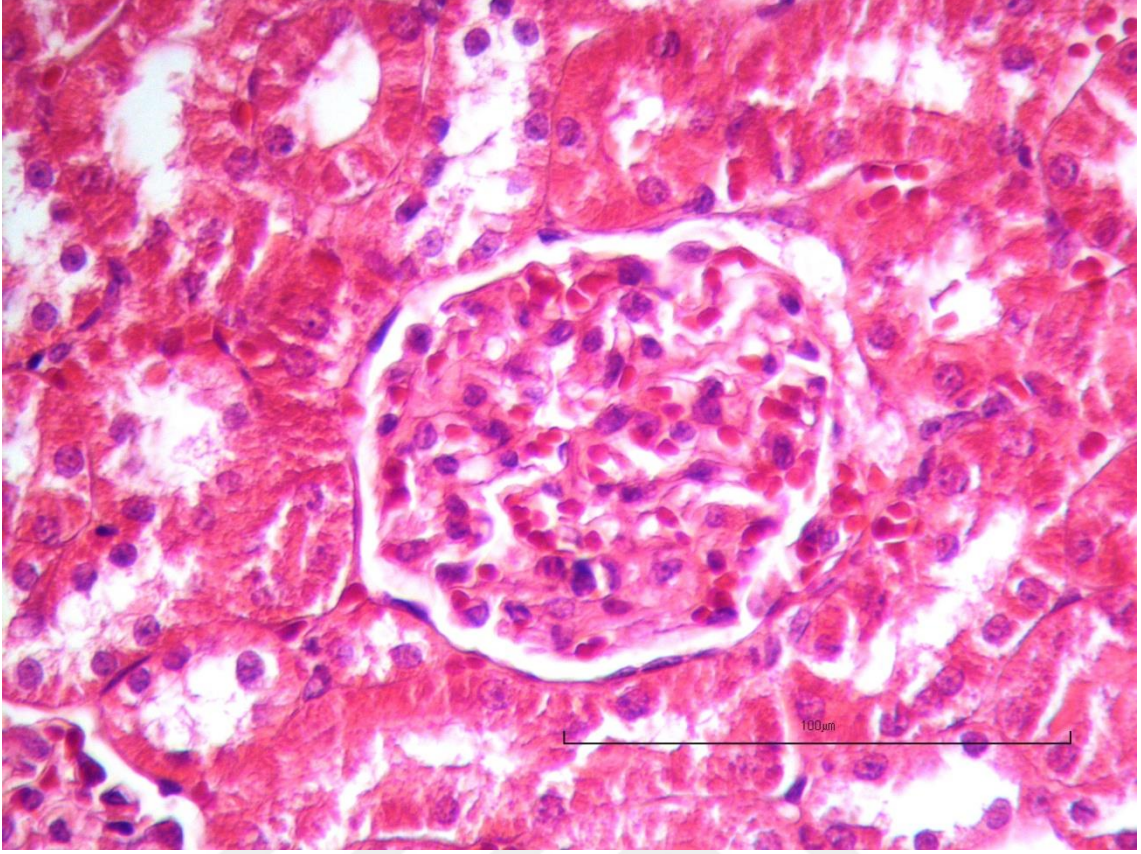
Yer yer böbrek korteksinde (Şekil 4.14) ve medullasında (Şekil 4.15) hemoraji tespit edildi. Korteksteki hemorajik alanlar çevresinde distal ve proksimal tubul dejenerasyonu (Şekil 4.14) ile medulladaki hemorajik alanlar çevresine yakın bölgelerdeki medullar tubuler yapılarda dejenerasyon (Şekil 4.15) saptandı.



Şekil 4.16. LB+AP grubunun histoloji analizi (Glomeruller normal görünümde, HEX20)



Şekil 4.17. LB+AP grubunun histoloji analizi (Glomerullerde hemoraji tespit edilmedi. HEX20)



Şekil 4. 18. LB+AP grubunun histoloji analizi (Tübül epitelyum hücrelerinde hasar bulguları tespit edildi. HEX40)

Tedavi grubundaki kesitler incelendiğinde, pankreatit grubunda gözlenen böbrek hasarının histolojik bulgularında belirgin derecede azalma olduğu görüldü. Glomerüller normal görünümde değerlendirildi. Bu gruptaki böbrek kesitlerinde hemoraji tespit edilmedi. Ancak proksimal ve distal tubul epitel hücrelerinde minimal düzeyde eozinofilik sitoplazma yoğunlaşması (Şekil 4.16, 17) ve yer yer tübül epitel hücrelerinde hasar mevcuttu (Şekil 4.18).

5. TARTIŞMA

Akut pankreatit, pankreas hastalıklarının önemli bir bölümünden sorumludur. Hastalığın şiddeti ve prognozu baz alındığında, karşımıza hafif abdominal ağrıdan, sıvı sekretasyonu, hipertansiyon, metabolik düzensizlikler, sepsis, çoklu organ yetmezliği ve ölümlü sonuçlanabilen ağır formlara kadar geniş bir tablo çıkmaktadır. Hastaların % 90'ı hastalığı çok ciddi olmayan semptomlarla atlatabilirken %10 civarı hastalarda prognoz son derece kötü seyretmektedir. İşte bu % 10' luk dilimi oluşturan hastalarda, akut respiratuvar distres sendromu (ARAS), böbrek yetmezliği ve sonrasında multiple organ sistem yetmezliğine (MOSY) kadar giden organ komplikasyonlarının yanısıra metabolik komplikasyonlar, yaygın damar içi pıhtılaşmaları şeklinde kendini gösteren koagülasyon bozuklukları, göz komplikasyonları, mide, deri ve eklem komplikasyonları görülebilmektedir (221).

Hastalığın patogenezi yakından bakıldığında, anahtar rolü tripsinin erken aktivasyonunun oynadığı anlaşılmaktadır. Genellikle sekretuar yolun tıkanması sonucu pankreasın fizyolojik salgı sıvısını içeren ekzokrin granüllerin lizozomlarla kombine olarak ışık mikroskopunda bariz bir şekilde görülebilen büyük vakuollere dönüşmesi pankreatik salgı enzimlerinin lizozomal enzimlerle etkileşimine açık hale gelmesini sağlamaktadır. Tripsinojen şeklinde inaktif halde bulunan proenzim, lizozomal bir proteaz olan Katepsin B' nin proteolitik etkisi ile aktif formu olan tripsine dönüşmekte ve bu sayede domino taşlarını andıran prosesler dizisinin ilk taşı düşmüş olmaktadır. Tripsin etkisi ile aktive olan pankreatik enzimlerin başlattığı otodijesyon süreci, dokuya yoğun lökosit göçüne neden olmakta ve şiddetli bir yangısal süreç başlamaktadır. Yoğun inflamasyon ve aktive olan inflamatuvar hücrelerden açığa çıkan sitokinler akut pankreatitin sistemik etkilerinden sorumludur. Ayrıca şiddetli inflamasyon nedeniyle zimojen granüller, henüz moleküler mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olan alternatif bir yolla apikal ve bazolateral membran üzerinden sistemik dolaşıma geçmekte ve pankreas dışı organ hasarında aktif rol oynamaktadır (222).

Pankreas dışı sistemik etkilere yol açan kritik organ hasarı, sıklıkla akciğerlerde, böbreklerde ve kardiovasküler sistemde görülmekle beraber endokrin sistemle ilişkili ciddi metabolik bozukluklar şeklindeki yaygın etkiler de AP kliniğine eşlik edebilmektedir. Oluşan organ ve doku hasarından primer olarak cereyan etmekte olan şiddetli yapısal yıkım ve yangı hücrelerinin fagositik aktivasyonları sonucu

salgıladıkları mediyatör moleküller sorumludur. Yangı henüz başladığında, sürece ilk dahil olan hücreler nötrofiller olup, süreç ilerledikçe nötrofillerin yerini monositler ve makrofajlar almaktadır. Nötrofiller, nötral pH'da aktivite gösterebilen hücreler olup pH değişikliklerine karşı aşırı duyarlıdırlar. İnflamasyon ile birlikte artan asidite nedeniyle nötrofiller kısa sürede aktivitelerini yitirip ölürken yerlerini monositlere ve makrofajlara bırakırlar. Bu bağlamda akut pankreatitte yangısal doku hasarından sürecin başlangıcında, nötrofiller, ilerleyen saatler ve günlerde monosit ve makrofajlar sorumludur.

Akut pankreatitin önemli komplikasyonlarından bir tanesi de böbrek hasarı ve buna bağlı gelişen renal fonksiyon bozukluğudur. AP' de böbrek hasarı 2 şekilde görülebilmekte olup, ilki hastaların yaklaşık % 75–80 'inde gözlenen ve 'Nephropathia Pancreatica'' diye adlandırılan, idrarda eritrosit ve lökosit görülmesiyle karakterize hafif bir tablodur. Diğeri ise akut renal yetmezlik olup hastaları % 20–25' inde görülür ve bu hastalarda mortalite %80 civarındadır (70).

Pankreastan salınan ve sistemik dolaşıma karışan enzimlerin neden olduğu hiperkoagülasyon sonucu glomeruler kapillerin tıkanması nedeniyle renal iskemi ve iskemiye bağlı oksidatif hasar meydana gelmektedir. Nitekim deneysel olarak i.v. tripsin enjeksiyonu sonrasında renal kapiller damarlarda fibrin birikimi rapor edilmiştir (222).

Biz bu çalışmada, cerulein ile ratlarda oluşturduğumuz deneysel akut pankreatit modelinde böbrek doku hasarını ve bu hasarın LB bitki ekstraktı uygulanması ile ne ölçüde önlenebileceğini araştırdık. Bu amaçla cerulein uyguladığımız ratlar ile kontrol ve tedavi gruplarında histolojik bulguların yanı sıra lipaz, IL-1 ve IL-6 ölçümleri ile öncelikle AP oluştuğunu ve inflamasyon geliştiğini teyid ettik. Diğeri yandan MDA ve 8-OHdG ölçümleri ile lipid peroksidasyonu ve nükleik asit oksidasyon düzeylerini belirleyerek doku hasarını ışık mikroskopik bulgularla birlikte desteklemeyi hedefledik. SOD, GPx ve CAT gibi antioksidan enzim düzeylerini ölçmek suretiyle ise, oluşan oksidatif strese karşı organizmanın antioksidan yanıt potansiyelini değerlendirmeyi amaçladık. Histolojik bulgularımız, böbrek dokusunda Bowman aralıklarında dilatasyon ve bunun sonucu oluşan basınç artışı, distal ve proksimal tubül epitel hücrelerinde intrasellüler sıvı artışı ile heterokromatik ve piknotik nükleus yapısına işaret etmektedir. Böbrek doku kesitlerinde gözlediğimiz bu bulgular, AP grubunda böbrek doku hasarının şekillendiğini kanıtlamaktadır. Pankreas dışı doku hasarı çoğunlukla akut nekrotizan

pankreatitte kendini gösteren bir komplikasyondur ve histolojik veriler doğrultusunda deney hayvanlarımızda gelişen modelin nekrozitan pankreatite uyduğunu söyleyebiliriz. Böbrek dokusunda gelişen patolojik bulguların temelinde renal dolaşım bozukluğu sonucu oluşan konjesyon ve kollaps ile buna bağlı olarak şekillenen iskeminin tetiklediği oksidatif stres yatmaktadır.

Böbrek dokusu antioksidan enzimlerinden SOD, süperoksit radikalinin dismutasyonundan sorumlu olup oksidatif stres altında yoğun bir şekilde antioksidan aktivite göstermektedir. Bu enzimin temel fonksiyonu süperoksit radikalini moleküler oksijen (O_2) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürmektir. H_2O_2 reaktif oksijen türleri arasında sayılmakla beraber kendisi bir radikal olmayıp reaktivitesi de radikal moleküler kadar yüksek değildir. Bu bağlamda SOD enziminin son derece reaktif bir radikal olan süperoksit radikal molekülünü, daha stabil bir molekül olan H_2O_2 'e dönüştürmesi organizmanın lehinedir. Öte yandan oluşan H_2O_2 molekülleri de CAT ve GPx enzimleri tarafından hızlı bir şekilde detoksifiye edilerek moleküler oksijen ve suya indirgenmelidir. Aksi halde reaktivite bakımından diğer radikallerden daha az aktif olan ancak difüzyon yeteneği çok daha fazla olan H_2O_2 , tüm hücrel bileşenlere difüze olarak oluşabilecek hasarın geniş bir alana yayılmasına neden olabilmektedir.

Antioksidan enzimler oksidatif stres altında indüklenebilen enzimlerdir. Hücrel oksidan-antioksidan denge oksidanlar lehine bozulmaya başladığında Antioxidant Response Element (ARE) aracılığı ile antioksidan enzimlerin sentezi gen düzeyinde upregülasyon ile düzenlenmekte ve hem enzim konsantrasyonu hemde enzim aktivitesi artmaktadır. Ancak başlangıçtaki bu yükselişin ne kadar süre kalıcı olacağı oksidatif stres şiddeti ve SOR konsantrasyonu ile sınırlandırılmaktadır. Yüksek konsantrasyonlardaki radikal varlığında, bu radikallerin protein yapısındaki enzimlerin fonksiyonel gruplarına atakları, özellikle enzim aktif merkezinde neden olduğu oksidasyonlar, ortamdaki enzim varlığının korunmasına rağmen aktivitenin önemli ölçüde azalmasına neden olmaktadır. Çalışmamızda elde ettiğimiz SOD ve GPx aktivite sonuçları da benzer bir durumu yansıtmaktadır. AP grubunda SOD ve GPx aktivite düzeyleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmış ($p<0,05$) LB uygulanan grupta ise bu azalma yine anlamlı düzeyde inhibe edilmiştir. LB'nin bu etkisi olasılıkla içermiş olduğu antioksidan ve antiinflamatuvar etkili bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Yapılan bir çok çalışmada LB'nin yüksek oranda bioaktif polifenol ve glikozidler içerdiği rapor edilmiştir (174-175, 212). Jaworek ve ark. yapmış oldukları

çalışmada akut pankreatit oluşturulan ratlarda pankreas dokusu SOD ve GPx enzim aktivitelerinde anlamlı azalma, MDA ve 4-HNE düzeylerinde ise anlamlı artış olduğunu göstermişlerdir (223).

Birçok in vivo ve in vitro çalışmada, *Lycium barbarum* ve identifiye *Lycium barbarum* polisakkartleri (LBP)'nin major aktif antioksidan olarak lipid peroksidasyonu gibi oksidasyona bağlı durumlara karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (180). Pankreatik ve renal hasar sonrasında granülositik fagositoz, degranülasyon artar ve serbest oksijen radikalleri (SOR), lizozom, elastin enzimleri, hücrel hasara neden olarak renal hasarı artırır. LBP, geleneksel Çin tıbbında iyi bilinen ve sıklıkla kullanılan güçlü bir antioksidandır (179). LBP' nin anti oksidan etkisi C vitamini ile benzerdir. Wu H ve ark. yapmış oldukları çalışmada LBP verilen ratlardaki lipid peroksidasyonunun ve glomeruler hasarın önlenmesini, bitkinin antioksidan etkisi ile açıklamışlardır (224).

Çalışmamızdaki CAT aktivitesi ve MDA sonuçları da benzer bir durum yansıtmaktadır. AP grubunda CAT aktivitesi ve MDA düzeyleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte belli oranda artış göstermiştir. LB uygulanan grupta ise bu artış yine anlamlı düzeyde inhibe edilmiştir.

Glukoz otooksidasyonu, ileri derecede glikozilasyon son ürün oluşumu ve hiperglisemiden kaynaklı metabolik stres, diyabetik bireylerdeki oksidatif stresi açıklar (225). Oksidatif stres, mutagenesis ve karsinogenesis ile seyredebilen DNA hasarını indükler (226). Guanin, DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın bazdır. Modifiye bir baz olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, serbest oksijen radikallerinin DNA'da yaptığı 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününden biri olup guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşan oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesidir. DNA replikasyonu sırasında G-C'den A-T'ye dönüşüme neden olarak mutasyona eğilimi artırır (227). 8-OHdG miktarının artışı; muhtemelen nükleer ve mitokondrial DNA'nın serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif atakların bir sonucu olarak oluşmaktadır (228). Ayrıca Piconi ve ark (229) pankreas kaynaklı hiperglisemide 8-OHdG miktarının arttığını göstermişlerdir. M. Xu ve arkadaşları (230) alloksanla diyabet indüklenen ratlarda pankreasta oluşan DNA hasarı üzerine LBP koruyucu etkilerini rapor etmişlerdir. Bulgularımıza göre doku 8-OHdG düzeylerinde akut pankreatit gelişimine bağlı anlamlı bir fark gözlenmedi. Ancak LB uygulanan ratlarda 8-OHdG düzeyi hem kontrol hemde AP grubundan düşük bulundu. Shi M ve ark. kronik inflamasyona bağlı

DNA oksidasyonunu incelemişler ve çalışma sonucunda 8OHdG düzeylerinin karaciğerde önemli artış gösterirken pankreasta değişmediğini ortaya koymuşlardır (231). Oksidatif strese bağlı serbest radikal hasarı, hücresel makromoleküller içerisinde en erken membran lipidlerine etki etmekte ve hücre membran yapısının temel bileşenlerinden olan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu aldehitler ve konjuge dienler oluşmaktadır. Proteinler de önemli ölçüde oksidasyona uğramakta ve özellikle enzimler gibi fonksiyonel proteinlerde oksidatif hasara bağlı fonksiyon kayıpları gözlenmektedir. Nükleik asitler diğer biyomoleküllere oranla hücrede daha korunaklı bir bölgede bulunuyor olmaları nedeniyle oksidasyona da daha az uğramaktadır. Diğer yandan normal fizyolojik prosesler esnasında çok sayıda biyomolekül gün içerisinde okside olmakta ancak organizmanın antioksidan sistemi ve biyokimyasal tamir mekanizmaları bu oksidasyonlara bağlı oluşan hasarı büyük oranda geri döndürmektedirler.

Ekzojen antioksidanlarca zengin gıda destekleri bahsi geçen bu sistemleri destekleyerek, oksidatif hasarın ortadan kalkmasına katkı sağlamaktadır. İşte 8-OHdG ve MDA gibi oksidasyon ürünü parametreler için LB grubunda elde edilen, kontrol grubunun da altındaki değerler bu bitkilerin içerdiği ekzojen antioksidanların etkisinden kaynaklanmaktadır.

Şiddetli akut pankreatit gelişiminde; IL-1, proinflamatuvar sitokin olarak erken dönemde önemli rol oynar. Hatta IL-1 reseptör antagonistlerinin verildiği bir ağır AP deneysel hayvan modelinde AP' ye bağlı fatalitenin %30 azaldığı gözlenmiştir (232). *Lycium barbarum* meyve ekstresi alımında, bazal ve stimüle sitokin üretiminde hem immun stimulan hem de antiinflamatuvar etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. LBP' nin antikanserojenik etkisinin de immun stimulatuar etki ile ortaya çıktığı düşünülmektedir (91). Çalışmamızda LB' nin IL-1 ve IL-6 düzeylerini azaltıcı etkisi LB uyguladığımız gruptaki glomeruler hasarın azlığının bir başka açıklayıcı nedeni olabilir.

IL-1 ve IL-6 inflamasyon sürecinin mediyatörlerinden olup, AP ile birlikte gelişen inflamasyona bağlı artış göstermeleri, beklenen bir bulgudur. LB uygulanması her iki sitokin düzeyinde de anlamlı bir azalma sağlamıştır. LB'nin antioksidan etkinliğinin yanısıra antiinflamatuvar aktivitesi birçok çalışmada rapor edilmiştir (233, 234). Bu sitokinlere ilişkin elde ettiğimiz bulgular literatür bulguları ile uygunluk göstermektedir.

Akut pankreatit başlaması ile birlikte, asiner hücrelerden salınan amilaz ve lipaz enzimlerinin serumdaki artışları biyokimyasal ölçümlerde kullanılan belirteçlerdir. Akut pankreatitli hastalarda serum lipaz düzeyi %87 civarındadır. Akut pankreatit tanısında amilazdan daha spesifiktir. Lipazı amilazdan ayıran en önemli avantajı uzun süre yükselmiş enzim aktivitesini korumasıdır. Çalışmamızda cerulein ile oluşturulan deneysel akut pankreatit grubunda, lipaz düzeyi anlamlı şekilde yükselmiş ($p<0.05$) ve kullanılan LB ekstresi lipaz artışı üzerine herhangi bir uyarıcı veya inhibe edici etki göstermemiştir ($p<0.05$).

Deneysel olarak oluşturulmuş akut pankreatite bağlı renal hasarda, LB' nin koruyucu etkisini açıklamak için muhtemel iki farklı mekanizma öne sürülebilir; bunlardan ilki içermiş olduğu kuvvetli antioksidan etkili bileşenler nedeniyle oluşan oksidatif stresi baskılaması ve oksidatif hasarı önlemesi, bir diğeri ise yine içeriğindeki antiinflamatuvar etkili moleküller aracılığı ile prognozu belirleyen en önemli faktör olan inflamasyonun şiddetini sınırlandırarak gelişen lokal ve sistemik yıkıcı etkileri minimize etmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; Akut pankreatitte pankreas dışı doku-organ hasarı hastalığın şiddetli ile korele bir şekilde yaygınlık göstermekte olup prognozu kötüleştirmekte ve mortalite oranını arttırmaktadır. Pankreas dışı organlarda görülen komplikasyonlara daha çok akciğer, mide, kalp, böbrek ve karaciğerde rastlanmakta olup biz bu çalışmada böbrek doku hasarını ve bu hasara karşı geleneksel çin tıbbında yaygın bir şekilde kullanılan *Lycium barbarum* bitkisinin meyve ekstresinin koruyucu etkinliğini değerlendirdik. Elde ettiğimiz histolojik ve biyokimyasal bulgular gösterdi ki; Akut pankreatit ile birlikte gelişen yaygın inflamasyon, böbrek dokusunu ve fonksiyonlarını etkilemekte olup, bu etki renal dolaşımında meydana gelen konjesyon ve kollaps nedeniyle oluşan iskeminin tetiklediği oksidatif stresten kaynaklanmaktadır.

Koruyucu olarak kullandığımız *Lycium barbarum* meyve ekstresi hem antioksidan sistemi destekleyici hem de gelişen inflamasyonu baskılayıcı yönde etki göstermiştir.

Çalışmamızın bundan sonraki aşamasında *Lycium barbarum* bitkisinin yaprak ve çiçeklerinden elde edeceğimiz bitki ekstresinin biyolojik aktivitesini ve biyoaktif bileşenlerini tespit etmeyi amaçlamaktayız.

KAYNAKLAR

1. Yokoi H, Naganuma T, Higashiguchi T. Prospektive study of protocol for selection treatment of acute pancreatitis based on scaring severity. *Digestion* 1999, 60: 14–8.
2. Fitz RH; Acute pancreatitis. *Boston Med Surg J* 1889, 120: 184–92.
3. Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis *Ann J Surg* 1998, 175: 76-83.
4. Yeo CJ, Camerun JL. The pancreas in: Sabiston DC. Ed. *Textbook of surgery*. Philadelphia: WB Saunders Co 1991, 1076-107.
5. Steer ML, Saluja AK. Etiology and pathogenesis of acute pancreatitis in: Beger HG, Büchler M, and Malfertheiner P. Eds. *Standards in pancreatic surgery*. Berlin: Springer Verlag 1993, 13-24.
6. Liras G, Carballo F. An impaired phagocytic function is associated with leukocyte activation in the early stages of severe acute pancreatitis *Gut* 1996, 39: 39-42.
7. Schölmeric J. Interleukins in acute pancreatitis *Scand J Gastroenterol* 1996, 31. Suppl. 219: 48-50.
8. McPhee, S.J., Lingappa, V.R., Ganong, W.F. Hastalıkların Patofizyolojisi (E. Çoban, G. Süleymanlar, Çev.Ed.). Ankara: Palme Yayınevi. 2006.
9. H. A. LEE, E. A. HILLS. Acute pancreatitis and Renal Failure. *POSTGRAD. MED. J.* 1965 41-471.
10. George W Browne, CS Pitchumoni. *World J Gastroenterol* 2006, 12(44): 7087-96.
11. Raghu M.G., Wig J.D., Kochhar R., Gupta D., Gupta R., Yadav T.D., Agarwal R., Kudari A.K., Doley R.P., Javet A. *JOP. J Pancreas (Online)* 2007, 8(2): 177-85.
12. Zhang Xi- Ping, Zhang Jie, Ma Mei-Li, Cai Yang, Xu Ru-Jun, Xie Qi, Jiang X.G., Ye Q. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010, 9: 83-7.
13. Zhang Xi- Ping, Zhang L, Yang P. Zhang P.R., Cheng H.Q. *Dig Dis Sci* 2008, 53: 581-91.
14. Sha H., Ma Q., Jha K.R., *Medical Hypotheses* 2009, 72: 180-2.

15. Schoenberg MH, Büchler M, Gaspar M, Stinner A. Oxygen free radicals in acute pancreatitis of the rat. *Gut* 1990, 31: 1138-43.
16. Wenbo QI, Dun-Xian Tan, Reiter JR, Seok KJ, Lucien CM, Cabrera J, Rosa MS, Mayo JC. Melatonin Reduces Lipid Peroxidation And Tissue Edema in Caerulein Induced Acute Pancreatitis in Rats. *Dig Dis Sci* 1999, 44: 11: 2257- 62.
17. Liu Q, Djuricin G, Nathan C, Gattuso P, Weinstein RA, Prinz RA The Effect Of Epidennal Growth Factor On Septic Complication Of Acute Pancreatitis. *J surg res* 1997, 69: 171-7.
18. Czako L, Takacs T, Varga IS, Tizslavicz L, Hai DQ, Hegyi P. Oxidative stress in distant organs and the effects of allopurinol during experimental acute pancreatitis. *Int J Pancreatol* 2000, 27: 209-16.
19. Dziurkowska-Marek A, Marek TA, Nowak A, Kacperek-Hartleb T, Sierka E, Nowakowska-Dulawa E.. The dynamics of the oxidant-antioxidant balance in the early phase of human acute biliary pancreatitis. *Pancreatology* 2004, 4: 215-22.
20. Ljubuncic P, Z, Bomzon A. Evidence of a systemic phenomenon for oxidative stress in cholestatic liver disease. *Gut* 2000, 47(5): 710-6.
21. Baron V, Muriel P. Role of glutathione, lipid peroxidation and antioxidants on acute bile-duct obstruction in the rat. *Biochim Biophys Acta* 1999, 18: 173–80.
22. Andican G, Gelisgen R, Unal E, Tortum OB, Dervisoglu S, Karahasanoglu T, Burcak G Oxidative stress and nitric oxide in rats with alcohol-induced acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2005, 11: 2340-5.
23. Schulz HU, Niederau C, Klonowski-Stumpe H, Halangk W, Luthen R, Lippert H. Oxidative stress in acute pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 1999 46: 2736-50.
24. Potterat O. Goji (*Lycium Barbarum* and *L.Chinense*). Phytochemistry, Pharmacology and Safety in the Perspective of Traditional Uses and Recent Popularity. *Planta Med* 2010, 76: 7-19.
25. Luo Q., Li Z., Huang X., Yan J., Zhang S., Cai Y.Z. *Lycium barbarum* polysaccharides: Protective effects against heat-induced damage of rat testes and H₂O₂ induced DNA damage in mouse testicular cells and beneficial effect on sexual behavior and reproductive function of hemicastrated rats. *Life Sciences* 2006, 79: 613-21.

26. Chen Z., Soo M.Y., Sirinivasan N., Tan B.K.H., Chan S.H.. Activation of Macrophages by Polysaccharide– protein Complex from *Lycium barbarum* L. *Phytother. Res* 2009, 23: 1116-22.
27. Reeve V.E., Allanson M., Arun S.J., Domanski D., Painter N. . Mice drinking goji berry juice (*Lycium barbarum*) are protected from UV radiation-induced skin damage *via* antioxidant pathways. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2010, 9: 601-07.
28. Luo Q., Cai Y., Yan J., Sun M., Corke H. Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life Sciences* 2004, 76: 137-49.
29. Tang W.M., Chan E., Kwok C.Y., Lee Y.K., Wu J.H., Wan C.W., Chan R.Y.K., Yu P.H.F., Chan S.W. A review of the anticancer and immunomodulatory effects of *Lycium barbarum* fruit. *Inflammopharmacol* 2011, 10.1007/s 10787–011–0107–3.
30. Yan-Fei Xin, Li-Li Wan, Jin-Liang Peng, Cheng Guo. Alleviation of the acute doxorubicin- induced cardiotoxicity by *Lycium barbarum* polysaccharides through the suppression of oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology* 2011, 49: 259-64
31. Wu H.T., He X.J., Hong Y.K., Ma T., Xu Y.P., Li H.H. Chemical characterization of *lycium barbarum* polysaccharides and its inhibition against liver oxidative injury of high-fat mice. *International Journal of Biological Macromolecules* 2010, 46: 540-5
32. Li X.M., Ma Y.L., Liu X.J.. Effect of the *Lycium barbarum* polysaccharides on age-related oxidative stress in aged mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2007, 111: 504-5
33. Jing L., Cui G., Feng Q., Xiao Y. Evaluation Hypoglycemic Activity of The Polysaccharides Extracted from *Lycium Barbarum*. *Jing et al. Afr. J. Trad* 2009, 6 (4): 579-84.
34. Busnardo A.C., DIDio L.J.A., Tidrcik R.T., Thomford N.R. History of the Pancreas. *The American Journal of Surgery* 1983, 539-50.
35. Gray H. Anatomy of the Human Body. <http://www.bartleby.com/107/251.html> 07 Ocak 2013.

36. William E. Fisher, Dana K. Andersen, Richard H. Bell, Ashok K. Saluja Pancreas. In: F. Charles Brunicaardi, ed. *Schwartz's Principles of Surgery* 8th ed. 2005 p.1221–96.
37. Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O. *Basic Histology*. 9th Ed. Appleton & Lange 1998.
38. Koçar İ.H., Mas R., Ünal M.T., Özütemiz Ö. Pankreatit'te Yeni Ufuklar. Ankara, Güneş Kitapevi 2004: 1-5
39. McHenry CR, Strain JW. Anatomy and Embryology of the pancreas. In: Clark O. H, editor. *Textbook of endocrine Surgery*. Philadelphia: Saunders 1997: 549-55.
40. Frossard, J.L., Sterr, M.L., Pastor, C.M. Acute Pancreatitis. *The Lancet* 2000, 371, 143-52.
41. Yeo CJ, Camerun JL. The pancreas in: Sabiston DC. Ed. *Textbook of surgery*. Philadelphia. WB Saunders Co 1991: 1076-107.
42. Vege SS, Yadav D, Chari ST, et al. Pancreatitis. In: *GI epidemiology*, 1st ed, Talley NJ, Locke GR, Saito YA (Eds), Blackwell Publishing, Malden, MA 2007,
43. Cappell MS. Acute pancreatitis: etiology, clinical presentation, diagnosis, and therapy. *Med Clin North Am* 2008, 92: 889-923, ix-x.
44. Deitch E, Goodman ER, Davies M. Multiple organ failure. *Ann Surg* 1992:216: 117-34.
45. Fitz, R.H.: Acute pancreatitis: a consideration of pancreatic hemorrhage, hemorrhagic, suppurative and gangrenous pancreatitis. Boston. *Med Surg J* 1889: 70: 181
46. Beger H.G. Natural course of acute pancreatitis *World J. Surg* 1997: 21: 130-35.
47. Bradley, E.L. A Clinically Based Classification System for Acute Pancreatitis. Summary of the International Symposium on Acute Pancreatitis, Atlanta, Ga, September 11 Through 13, 1992. *Arch Surg* 1993, 128: 586-90.
48. Wyosocki, A.P., Carter, C.R. Acute Pancreatitis. *Surgery* 2007: 25,(2): 49-56.
49. Steer, M.L. Classification and Pathogenesis of Pancreatitis. *Surgical Clinics of North America* 1989: 69(3): 467-80.
50. Steinberg W, Tenner S. Acute Pancreatitis. (Medical Progress.) *N Engl J Med* 1994: 330: 1198.
51. Sakorafas GH et al: Etiology and Pathogenesis of acute pancreatitis: current concepts. *J Clin Gastroenterol* 2000: 30: 343.

52. Saluja AK, Steer ML. Pathophysiology of pancreatitis. Role of cytokines and other mediators of inflammation. *Digestion* 1999, 60(1): 27.
53. Marshall JB. Acute Pancreatitis: a review with an emphasis on new developments. *Arch Intern Med* 1993; 153(10):1185-98
54. Lerch MM et al: Early trypsinogen activation in acute pancreatitis. *Med Clin North Am* 2000; 84: 549.
55. Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am J Surg* 1998; 175: 76.
56. Ratary MG et al: Intracellular free ionized calcium in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Ballieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 1999, 13: 241.
57. McPhee SJ, Lingappa VR. Ganong WF. Hastalıkların Patofizyolojisi. Çoban E, Süleymanlar G. (Çeviri editörleri) 4.Baskı, Ankara: Palme 2006, 423-27.
58. Raghu MG, Wig JD, Kochhar R, Gupta D, Gupta R, Yadav TD, Agarwal R, Kudari AK, Doley RP, Javed A. Lung Complications in Acute Pancreatitis. *JOP. J Pancreas (Online)* 2007, 8(2): 177-85.
59. Leppaniemi A, Kemppainen E. Recent advances in the surgical management of necrotizing pancreatitis. *Curr Opin Care* 2005, 11: 349-52.
60. Johnson CD, Abu-Hilal M. Persistent organ failure during the first week as a marker of fatal outcome in acute pancreatitis. *Gut* 2004, 53: 1340-4
61. Basran GS, Ramasubramanian R, Verma R. Intrathoracic complications of acute pancreatitis. *Br J Dis Chest* 1987, 81: 326-31.
62. Renner IG, Savage WT 3rd, Pantoja JL, Renner VJ. Death due to acute pancreatitis. A retrospective analysis of 405 autopsy cases. *Dig Dis Sci* 1985, 30: 1005-18.
63. Bracey EECL, Cook PR, Gartell P, Laws SAM. Pulse oximetry in acute pancreatitis; independent predictor of severity. *Br J Surg* 2003, 90(1): 126. Poster 52.
64. Polyzogopoulou E, Bikas C, Danikas D, Koutras A, Kalfarentzos F, Gogos CA. Baseline hypoxemia as a prognostic marker for pulmonary complications and outcome in patients with acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2004, 49: 150-4.
65. Salomone T, Tosi P, Di Battista N, Binetti N, Raiti C, Tomassetti P, Migliori M, Gullo L. Impaired alveolar gas exchange in acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2002, 47: 2025-8.

66. Shields CJ, Winter DC, Redmond HP. Lung injury in acute pancreatitis: mechanisms, prevention, and therapy. *Curr Opin Crit Care* 2002, 8: 158-63.
67. Egi M, Bellomo R, Stachowski E, French CJ, Hart GK, Hegarty C, Bailey M. Blood glucose concentration and outcome of critical illness: the impact of diabetes. *Crit Care Med* 2008, 36: 2249-55.
68. Shinowara GY, Stutman LH, VValters JL, et al. Hypercoagulability in acute pancreatitis. *Am J Surg* 1963, 105: 714-9.
69. Ranson JHC, Lackner H, Berman ÎR, et al. The relationship of coagulation factors to clinical complications of acute pancreatitis. *Surgey* 1977, 81: 502-11.
70. A. Koyuncu, Ş. Gökgöz. Systemic Complications in Acute Pancreatitis. C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi. 2001, 23(1): 65-72.
71. Norton J A. Pancreas. Mulvihill S J. *Surgey Basic Science and Clinic*. Springer-Verlag 1st ed. 1990: 517-84.
72. Sanfley H, Bulkley GB, Gregory B, John L, Cameron JL. The role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Ann Surg* 1984, 200: 405-13.
73. Telek G, Ducroc R, Scoazec J, Pasquier C, Feldman G, Rose C. Differential upregulation of cellular adhesion molecules at the sites of oxidative stres in acute pancreatitis. *J Surg Res* 2001, 96(1): 56-7.
74. Lipsett PA. Serum cytokines, proteins, and receptors in acute pancreatitis: mediators, marker, or more of the same? *Crit Care Med* 2001, 29: 1642-44.
75. Hirota M, Nozawa F, Okabe A, Shibata M, Beppu T, Shimada S, Egami H, Yamaguchi Y, Ikei S, Okajima T, Okamoto K, Ogawa M. Relations ship between plasma cytokine concentration and multiple organ failure in patients with acute pancreatitis. *Pancreas* 2000, 21: 141-6.
76. Zhao H, Chen JW, Zhou YK, Zhou XF, Li PY. Influence of platelet activating factor on expression of adhesion molecules in experimental pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2003, 9: 338-41.
77. Cassatella MA. The production of cytokines by poly- morphonuclear neutrophils. *Immunol Today* 1995, 16: 21–26.
78. Hughes CB, Gaber LW, Mohey el Din AB, Grewal HP, Kotb M, Mann L, Gaber AO. Inhibition of TNF alpha improves survival in an experimental model of acute pancreatitis. *Ann Surg* 1999, 62: 8–13.

79. Klar E, Messmer K, Warshaw AL, Herfarth C. Pancreatic ischemia in experimental acute pancreatitis: mechanism, significance and therapy. *Br J Surg* 1990, 77: 1205–10
80. Persidskii IV, Kudriavets II, Barshtein IA. The action of tumor necrosis factor on the microvascular endothelium and its role in the morphological changes in the internal organs. *Biull Eksp Biol Med* 1991, 3: 294-7.
81. Zhang QH, Cai R, Wu SJ, Jiang YF, Zhang YL. Changes of inflammatory mediators in rats with acute necrotizing pancreatitis and effects of somatostatin. *Chin Med J*. 1997, 5: 355
82. Pohlman TH, Stanness KA, Beatty PG, Dachs HD, Harlan JM . An endothelial cell surface factor induced in vitro by lipopolysaccharide interleukin-1 and tumor necrosis factor increases neutrophil adherence by a CD 18-dependent mechanism. *J Immunol* 1986, 136: 4548–53.
83. Norman JG, Franz MG, Fink GS, Messina J, Fabri PJ, Gower. Decreased mortality of severe acute pancreatitis after cytokine blockade. *Ann Surg* 1995, 221: 625–31
84. Norman JG, Fink G, Franz M, Guffey J, Carter G, Davison B, Sexton C, Glaccum M. Active interleukin-1 receptor required for maximal progression of acute pancreatitis. *Ann Surg* 1996, 223: 163–9
85. Fink G, Yang J, Carter G, Norman J. Acute pancreatitis-induced enzyme release and necrosis are attenuated by IL-1 antagonism through an indirect mechanism. *J Surg Res* 1997, 67: 94-7
86. Kusske AM, Rongione AJ, Reber HA. Cytokines and acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1996, 110: 639–42.
87. Lentz SR, Tsiang M, Sadler JE. Regulation of thrombomodulin by tumor necrosis factor- α : comparison of transcriptional and posttranscriptional mechanisms. *Blood* 1991, 77: 542–50
88. Gross V, Andreessen R, Leser HG, Ceska M, Lehl E, Lausen M, Farthmann EH, Scholmerich J. Interleukin-10 and neutrophil activation in acute pancreatitis. *Eur J Clin Invest* 1992, 22: 200-3.
89. Pfeilschifter, Muhl H, Pignat W, Marki F, Vanden, Bosch H. Cytokine regulation of group II phospholipase A2 expression in glomerular mesangial cells. *Eur J Clin Pharmacol* 1993, 44[Suppl 1]: S7–S9

90. Fink MP. PLA2: potential mediators of the systemic inflammatory response syndrome and the multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med* 1993, 21: 957–59
91. Makela A, Sternby B, Kuusi T. Phospholipase A2 activity and concentration in several body fluids in patients with acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1990, 25: 944–50
92. Mirkovic D. The role of phospholipase A2 in the pathogenesis of respiratory damage in hemorrhagic necrotizing pancreatitis assessment of a new experimental model. *Vojnosanit Pregl* 2000, 57: 625–33
93. Nevalainen TJ, Haapamaki MM, Gronroos JM. Roles of secretory phospholipases A2 in inflammatory diseases and trauma. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1488: 83–90
94. Li YY, Gao ZF. Acute pancreatitis and nuclear factor kappa B (in Chinese). *World Chin J Digestol* 2001, 9: 420–1
95. Suk K, Yeou Kim S, Kim H. Regulation of IL-8 production by IFN gamma and PGE2 in mouse microglial cells: involvement of NF- κ B pathway in the regulatory processes. *Immunol Lett* 2001, 77: 79–85
96. Lakshminarayanan V, Lewallen M, Frangogiannis NG, Evans AJ, Wedin KE, Michael LH, Entman ML. Reactive oxygen intermediates induce monocyte chemoattractant protein-1 in vascular endothelium after brief ischemia. *Am J Pathol* 2000, 159: 1301-11.
97. Shames BD, Barton HH, Raznikov LL, Cairns CB, Banerjee A, Harken AH, Meng X. Ischemia alone is sufficient to induce TNF- α mRNA and peptide in the myocardium. *Shock* 2002, 17: 114-9
98. Satoh A, Shimosegawa T, Fujita M. Inhibition of nuclear factor- κ B activation improves the survival of rats with tau-rocholate pancreatitis. *Gut* 1999, 44: 253–8
99. Roebuck KA, Finnegan A. Regulation of intercellular adhesion molecule-1(CD54) gene expression. *J Leukoc Biol* 1999, 66: 876–88
100. Windsor JA, Fearon KCH, Ross JA, Barclay GR, Smyth E, Poxton I. Role of serum endotoxin and antiendotoxin core antibody levels in predicting the development of multiple organ failure in acute pancreatitis. *Br J Surg* 1993, 80: 1042-6

- 101.** Dun WH, Yan HM, Li CF, Wu YJ, Zhang X. Discussion on renal dysfunction mechanism during acute necrotizing pan creatitis (in Chinese). *Shanxi Med J* 1998, 27: 22,23
- 102.** Scott P, Bruce C, Schofield D, Shiel N, Braganza JM, McCloy RF. Vitamin C status in patient with acute pancreatitis. *Br J Surg* 1993, 80: 750–4
- 103.** Luo J, Ye DC. Changes in hepatic and renal ultrastruc- tures of acute pancreatitis rat and their relations with oxygen free radical. *Chin J Exp Surg* 1995, 3: 133-4.
- 104.** Werner J, Revera J, Castille CF, Lewandrowski K, Adrie C, Rattner DW, Warshaw AL. Differing roles of nitric oxide in the pathogenesis of acute edematous versus necrotizing pancreatitis. *Surgery* 1997, 121: 23–30
- 105.** Molero X, Guarner F, Salas A, Mourelle M, Puig V, Malagelada JR. Nitric oxide modulates pancreatic basal secretion and response to cerulein in the rat: effects in acute pancreatic. *Gastroenterology* 1995, 108: 1855–62
- 106.** Tome LA, de Castro I, Campos SB, Seguro AC. Bene- ficial and harmful effects of L-arginine on renal ischaemia. *Nephrol Dial Transplant* 1999, 14: 1139–45
- 107.** Lieberthal W. Biology of ischemic and toxic renal tubular cell injury: role of nitric oxide and the inflammatory response. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998, 7: 289–95
- 108.** Hietaranta A, Kempainen E, Puolakkainen P, Sainio V, Haa- piainen R, Peuravuori H, Kivilaakso E, Neevalainen T. Extracellular phospholipase A2 in relation to systemic inflam matory response syndrom(SIRS) and systemic complications in severe acute pancreatitis. *Pancreas* 1999: 18: 385–91
- 109.** Dikici İ. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi, 1999, s73 (yayınlanmamış).
- 110.** Halliwell B. Free radicals and metal ions in health and disease. *Proc Nutr Soc* 1987: 46(1): 13-26.
- 111.** Akkuş İ. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Baskı. Konya, Mimoza Yayınları, 38, Kuzucular Ofset, 1995.
- 112.** Del Maestro R. Trace elements, micronutrients and free radicals. *Dreosti IE(ed). Humano Press Inc. Cliton* 1991: 25-51.

- 113.** Kour H, Perkins MJ. The free radical chemistry of food additives, In Ed: Arvoma O.I, Halliwell B. *Free radicals and food additives* 1991; Newyork.
- 114.** Yeum K-J, Russell M.R, Krinsky I.N, Adlini G. Biomarkers of antioxidant capacity in hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2004, 430: 97-103.
- 115.** Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. *Mayo Clin Proc* 1988: 63(4): 381-83.
- 116.** Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M. Serbest Radikaller. *Arşiv* 2004, 13: 120-13.
- 117.** Halliwell, B.: Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. *Acta Neurol Scand* 1989: 126: 23-33.
- 118.** Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. *Mayo Clin Proc* 1988 Apr; 63(4): 381-9.
- 119.** Datta C, Gupta J, Sarkar A, Sengupta D. Effects of organophosphorus insecticide phosphomidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma. *Indian Journal of Experimental Biology* 1992: 30: 65-67
- 120.** Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi *Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 2004: 15(1-2): 91-6.
- 121.** Young SG, Parthasarathy S. Why are low density lipoproteins atherogenic?. *West J Med* 1994: 160(2): 153-64.
- 122.** Byung PY. Cellular Defenses Against Damage from Reactive Species. *Physiological Review* 1994: 74(1): 139-72.
- 123.** I.S. Young, Woodside J.V. Antioxidants in health and disease, *J Clin Pathol* 2001: 54: 176-186.
- 124.** Akkuş İ. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım, Konya 1995: 1-15.
- 125.** E. R. Stadtman. Oxidation of free aminoacids and aminoacids residues in protein by radiolysis and metal catalyzed reactions. *Annu Rev Biochem* 1993: 62: 797-821.
- 126.** P.M. Abuja R. Albertini. Methods for monitoring oxidative stres, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta* 2001, 306: 1-17.
- 127.** İ Akkuş. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları. Konya 1995.

128. E. Kurutaş Belge, F. İnanç Güler, M. Kılın. Serbest Radikaller, Arşiv 2004, 13: 120.
129. Y. Niwa, T.Kanaoh, T. Sakane et al. The ratio of lipid peroxides to superoxide dismutase by tumor necrosis factor: Possible protective mechanism. *Science* 1988, 242: 941-3.
130. Gutteridge J M C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry* 1995, 41: 1819-28.
131. Sorg O. Oxidative stress: a theoretical model or biological reality?. *C.R.Biologies* 2004, 327: 649-62.
132. Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, Cappellini M.D. Oxidative Status and Malondialdehyde in β -thalassaemia Patients. *European Journal of Clinical Investigation* 2002, 32: 55-601.
133. M. Percival. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights* 1998: 98(10): 1-4.
134. Word RJ, Peters TJ. Free radicals. Kaplan LA, Pesce AJ editors. *Clinical chemistry*. 3th Ed. Mosby Year Book, Inc. 1996, 765-77.
135. Baykal Y. Pankreatik inflamasyonda oksidatif stres. Pankreatit Ed. Mas R, Ünal T, Kocabalkan F; GATA basımevi 2001: 34-47.
136. Mark Brady et al. Cytokines and acute pancreatitis. *Bailliere's Clinical Gastroenterology* 1999, 13(2): 265-289.
137. Yuk Cheung Chan, BSc and Po Sing Leung, PhD. Acute pancreatitis animal models and recent advances in basic research. *Pancreas* 2007, 34: 1-14.
138. Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis* 1993; 23(Suppl 1): 118-26.
139. Tsai K, Wang SS, Chen TS, Kong CW, Chang FY, Lee SD, Lu FJ. Oxidative stress: an important phenomenon with pathogenetic significance in the progression of acute pancreatitis. *Gut* 1998, 42: 850-5.
140. Frei, B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. *Am. J. Med* 1994, 97: 5-23.
141. C-M. Andersson, T. Högberg, Advances in the Development of Pharmaceutical Antioxidants. *Adv. Drug Res* 1996, 28: 65-180.
142. K.H. Cheeseman, T.F. Slater. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull* 1993, 49(3): 479-80.

143. Cross, P.K., Hook, E.B. An analysis of paternal age and 47, +21 in 35.000 new prenatal cytogenetic diagnosis data from the New York State Chromosome Registry: no significant effect. *Human Genet* 1987, 77; 307-16.
144. Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997, 6(3-4): 92.
145. Y. Kobayashi, Y. Gshigame, et al. Superoxide dismutase activity of human granulocytes and lymphocytes. *The Lancet* 1977, 16: 865.
146. Y. Niwa, K. Gshimato, T. Kanoh, İnduction of superoxide dismutase in leukocytes by paraquat: Correlation with age and possible predictor of longevity. *Blood* 1990, 76: 835-841.
147. H. Aebi. Catalase In: U. Bergmeyer, ed. Methods of enzymatic analysis. *New York and London: Academic Pres* 1974 673-7.
148. A. Seven, G. Candan, Antioxidant defense systems. *Cerrahpaşa J Med* 1996, 27: 41-50.
149. M.F.C.M Knapen, P.L.M Zusterzeel, W.H.M Peters, E.A.P Steegers. Glutathione and Glutathione-Related Enzymes in Reproduction. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 1999, 82: 171-84.
150. P. Corbisier, A. Houbion, D. Lambert, Glutathione peroksidase, superoxide dismutase and catalase inactivation by peroxidase and oxygen derived free radikals. *Mechanism of Agening and Development* 1990, 51, 283-97.
151. N.H.P Cnubben, I.M.C.M Rietjens, H Wortelboer, J Zanden, P.J Bladeren, The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Envorimental Toxicology and Pharmacology* 2001, 10: 141-52.
152. M.P Patel, J.Marcinkeviciene, J.S Blanchard, Enterococcus faecalis glutathione reductase: purification, characterization and expression under normal and hyperbaric O₂ conditions, *FEMS Microbiology Letters* 1998, 166: 155-63.
153. B. Halliwell, J.M. Gutteridge,. Free radicals in biology and medicine. Oxford Universty Press, London 1999: 36-245.
154. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2007, 39: 44-84.
155. Aydilek N, Aksakal M. Testosteronun tavşanlarda karaciğer antioksidan sistemi üzerine etkisi. *YYÜ Vet Fak Derg* 2003, 142: 22-25.

- 156.** Masella R, Di Benedetto R, Vari R. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem* 2005, 16(10): 577-86.
- 157.** Schwedhelm E., Maas R., Troost R., Böger R.H. Clinical Pharmacokinetics Of Antioxidants and Their Impact On Systemic Oxidative Stress. *Clin Pharmacokinet* 2003, 42, 437-59.
- 158.** Dinçer, Y., Saygılı, E.İ., Akçay, T. Sigaranın DNA Hasarı ve Kan Glutasyon Düzeyi Üzerine Etkisi. *T Klin Tıp Bilimleri* 2003, 23, 108-11.
- 159.** Kra-Kud M, Dusin M, Valach M. Products of DNA protein and lipid oxidative damage in relation to vitamin C plasma concentration. *Physiol Res* 2006; 55(2): 227-31.
- 160.** Cadenas E, Packer L. *Handbook of antioxidants*. Marcel dekker New York 1996.
- 161.** Reeve V.E., Allanson M., Arun S.J., Domanski D., Painter N. Mice drinking goji berry juice (*Lycium barbarum*) are protected from UV radiation-induced skin damage via antioxidant pathways. *Photochem Photobiol Sci* 2010, 9: 601-07.
- 162.** Luo Q., Cai Y., Yan J., Sun M., Corke H. Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life Sciences* 2004, 76: 137-49.
- 163.** Tang W.M., Chan E., Kwok C.Y., Lee Y.K., Wu J.H., Wan C.W., Chan R.Y.K., Yu P.H.F., Chan S.W. A review of the anticancer and immunomodulatory effects of *Lycium barbarum* fruit. *Inflammopharmacol* 2011: 10.1007/s 10787-011-0107-3.
- 164.** Wu H.T., He X.J., Hong Y.K., Ma T., Xu Y.P., Li H.H. Chemical characterization of *Lycium barbarum* polysaccharides and its inhibition against liver oxidative injury of high-fat mice. *International Journal of Biological Macromolecules* 2010, 46: 540-43.
- 165.** https://en.wikipedia.org/wiki/Lycium_barbarum, erişim; 05.11.2014
- 166.** Li X.M., Ma Y.L., Liu X.J.. Effect of the *Lycium barbarum* polysaccharides on age-related oxidative stress in aged mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2007, 111: 504-11.

167. Jing L., Cui G., Feng Q., Xiao Y. Evaluation Hypoglycemic Activity of The Polysaccharides Extracted from *Lycium barbarum*. Jing *et al.*, *Afr. J. Trad* 2009, 6 (4): 579 -84.
168. Gray H. Anatomy of the Human Body. <http://www.bartleby.com/107/251.html> 07.01.2013.
169. William E. Fisher, Dana K. Andersen, Richard H. Bell, Ashok K. Saluja. Pancreas. In: F. Charles Brunicaardi, ed. *Schwartz's Principles of Surgery* 8th ed. 2005: 1221-196.
170. Snell R. The Gastrointestinal Tract. In:Snell R, editör. *Clinical Anatomy*. 4th ed.Little: Brown 1992: 254-55.
171. John E. Skandalakis, Panajiotis N. Skandalakis, Lee John Skandalakis. *Cerrahi Anatomi ve Teknik*. Nobel Tıp Kitapevleri 2000.
172. Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O. *Basic Histology*. 9th Ed. Appleton & Lange 1998.
173. Koçar İ.H., Mas R., Ünal M.T., Özütemiz Ö. *Pankreatit'te Yeni Ufuklar*. Ankara 2004, p. 1-5.
174. McHenry CR, Strain JW. Anatomy and Embryology of the pancreas. In: Clark O. H, editor. *Textbook of endocrine Surgery*. Philedelphia: Saunders 1997, p. 549-55.
175. Guyton AC. Pancreas. Textbook of medical physiology. 6th ed. London: W.B. Saunders company; 1981.
176. Chang, H. M., & But, P. P. H. Gouqizi. Pharmacology and Applications of Chinese Materia Medica, Singapore: World Scientific 2001: vol. 2. (pp. 852–54).
177. Zhu, Y. P. Gou Qi Zi. Chinese Materia Medica Chemistry, Pharmacology and Applications. Amsterdam, Netherlands: *Harwood Academic Publishers* 1998: (pp. 642-46).
178. Bensky, D., & Gamble, A. Gou Qi Zi. *Chinese Herbal Medicine, Materia Medical (revised ed)*. Seattle, Washington: Eastland Press, Inc 1993: (pp. 333–34).
179. Potterat, O. Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity. *Planta Medica* 2010: 76 (1), 7–19 Epub 2009 Oct 20.

180. Amagase, H. Sun, B., & Borek, C. *Lycium barbarum* (goji) juice shows significant in vivo antioxidant effects in human serum in a randomized, double-blind, placebocontrolled clinical study. *Nutrition Research* 2009, 29, 19–25.
181. Potterat, O. “Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, Pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity” *Planta Med* 2009, 76: 7-19.
182. PDR. Lycium berries (Go-Qi-Zi) *Lycium barbarum*. *PDR for Herbal Medicines* (Fourth ed). Montvale, NJ: Thompson Healthcare Inc. 2007: 541–42.
183. Yan-Fei Xin, Li-Li Wan, Jin-Liang Peng, Cheng Guo. Alleviation of the acute doxorubicin- induced cardiotoxicity by *Lycium barbarum* polysaccharides through the suppression of oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology* 2011, 49: 259-64
184. Wu, J. N. *Fructus Lycii/Barbary wolfberry fruit in An Illustrated Chinese material medica* 2005, (pp. 402–03). New York, New York: Oxford University Press
185. China Daily Staff reporter Wolfberry festival to be held in Ningxia, China Daily, 2004, July 19. http://www.chinadaily.com.cn/chinagate/doc/2004_07/19/content_349679.htm.
186. Rosenthal, J.M., Kim, J., de Monasterio, F., Thompson, D. J., Bone, R. A., Landrum, J. T., et al. Dose-ranging study of lutein supplementation in persons aged 60 years or older. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 2006, 47(12), 5227-33.
187. Trieschmann, M., Beatty, S., Nolan, J. M., Hense, H. W., Heimes, B., Austermann, U., et al. Changes in macular pigment optical density and serum concentrations of its constituent carotenoids following supplemental lutein and zeaxanthin. *Experimental Eye Research* 2007, 84(4), 718–28.
188. Inbaraj, B. S., Lu, H., Hung, C. F., Wu, W. B., Lin, C. L., & Chen, B. H. Determination of carotenoids and their esters in fruits of *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC-DAD-APCI-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2008, Aug 5, 47(4–5), 812–18 Epub 2008 Apr 8.
189. NHI (2007). Gou Qi Zi, Lycium Fruit, Lycii Fructus. <http://content.nhiondemand.com/moh/media/TCMH1.asp?objID=100832&ctype=tcmh#fn111585> accessed on 11/20/2007.

- 190.** Duan, H., Chen, Y., & Chen, G. Far infrared-assisted extraction followed by capillary electrophoresis for the determination of bioactive constituents in the leaves of *Lycium barbarum* Linn. *Journal of Chromatography A* 2010, Jul 2, 1217(27), 4511-16.
- 191.** Wang, Z. *The Magic Lycium Barbarum from Ningxia Province. China* 2010, Jul 2, (pp. 58–128).
- 192.** Japanese Ministry of Health Labour and Welfare, Pharmaceutical and Medical Safety Bureau 2010. Jiinshihoto(滋陰至宝湯). <http://www.mhlw.go.jp/bunya/iyaku hin/ippanyou/pdf/dainirui.pdf>93.
- 193.** Li, W., Wang, L., Deng, X., Jiang, L., Zhang, C., & Zhang, C. Study of the fragility and abnormality rate of red blood cells in patients with type-2 diabetes and the effects of *Lycium barbarum* polysaccharides. *Hebei Journal of Traditional Chinese Medicine* 2000, August, 22(8), 585-86.
- 194.** Li, X. M., Ma, Y. L., & Liu, X. J. Effect of the *Lycium barbarum* polysaccharides on age-related oxidative stress in aged mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 111(3), 504–11.
- 195.** Li, G., Yang, J., Ren, B., & Wang, Z. Effect of *Lycium barbarum* L on defending free radicals of mice caused by hypoxia. *Wei Sheng Yan Jiu Journal of Hygiene Research* 2002, 31(1), 30–31.
- 196.** Lin, C. L., Wang, C. C., Chang, S. C., Inbaraj, B. S., & Chen, B. H.). Antioxidative activity of polysaccharide fractions isolated from *Lycium barbarum* Linnaeus. *International Journal of Biological Macromolecules* 2009, Aug 1, 45(2), 146–51 Epub 2009 May 3.
- 197.** Niu, A. J., Wu, J. M., Yu, D. H., & Wang, R. Protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on oxidative damage in skeletal muscle of exhaustive exercise rats. *International Journal of Biological Macromolecules* 2008, Jun. 1, 42(5), 447–49 Epub 2008 Feb 29.
- 198.** Sui, D. Y., Yu, X., Lv, Z., Gao, P., Piao, Y., & Song, G. The effects of the crude polysaccharides of Gou Qi Zi, Wu Wei Zi, and Huang Jin on immunity and lipid peroxidation. *Journal of Bethune Medical University* 1996, 22(6), 606-7.
- 199.** Wang NT, Lin HI, Yeh DY, Chou TY, Chen CF, Leu FC, Wang D, Hu RT Effects of the Antioxidants *Lycium barbarum* and Ascorbic Acid on reperfusion liver in rats. *Transplantation Proceedings* 2009, 41: 4110-13.

200. Xin, Y. F., Zhou, G. L., Deng, Z. Y., Chen, Y. X., Wu, Y. G., Xu, P. S., et al. Protective effect of *Lycium barbarum* on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Phytotherapy Research* 2007, Nov. 21(11), 1020–4.
201. Reeve, V., & Reeve, V. Mice drinking goji berry juice are protected against photoimmune suppression via haem oxygenase induction. The American Society for Photobiology 34th Meeting in Burlingame, California 2008 On June, 20–25.
202. Feng, Z., Jia, H., Li, X., Bai, Z., Liu, Z., Sun, L., et al. A milk-based wolfberry preparation prevents prenatal stress-induced cognitive impairment of offspring rats, and inhibits oxidative damage and mitochondrial dysfunction in vitro. *Neurochemical Research* 2010, May. 35(5), 702–711 Epub 2010 Feb 5.
203. Huang, X., Yang, M., Wu, X., & Yan, J. Study on protective action of *Lycium barbarum* polysaccharides on DNA impairments of testicle cells in mice. *Wei Sheng Yan Jiu Journal of Hygiene Research* 2003, 32(6), 599–601.
204. Xu, Y., He, L., Xu, L., & Liu, Y. Advances in immunopharmacological study of *Lycium barbarum* L. *Zhong Yao Cai. Journal of Chinese Medicinal Materials* 2000, 23(5), 295–98.
205. Yin, J., Jin, S., Bai, X., & Hao, Z. Regulatory action of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch and *Lycium barbarum* on IgE antibodies response. *Journal of Beijing Medical University* 1992, 24(2), 115–7.
206. Pu, S. J. The pharmacodynamics of *Lycium barbarum* of Hebei origin. *Journal of Chinese Materia Medica* 1998, 29(7), 472–4.
207. Zhu, J., Zhao, L. H., & Chen, Z. Stimulation by *Lycium barbarum* polysaccharides of the maturation of dendritic cells in murine bone marrow. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. Journal of Zhejiang University Medical Sciences* 2006, Nov. 35(6), 648–52.
208. Zhu, J., Zhao, L. H., Zhao, X. P., & Chen, Z. *Lycium barbarum* polysaccharides regulate phenotypic and functional maturation of murine dendritic cells. *Cell Biology International* 2007, 31(6), 615–19.
209. Gan, L., Zhang, S. H., Liu, Q., & Xu, H. B. A polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* upregulates cytokine expression in human peripheral blood mononuclear cells. *European Journal of Pharmacology* 2003, 471(3), 217–22.

- 210.** Li, H. Liu, X., Yang, H., & Zhu, L. Effects of *Lycium barbarum* on the behavior, body weight and TNF-alpha level of rat treated with binding. *Wei Sheng Yan Jiu (Journal of Hygiene Research)* 2007, Nov. 36(6), 743-5.
- 211.** Chen, Z., Soo, M. Y., Srinivasan, N., Tan, B. K., & Chan, S. H. Activation of macrophages by polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* *Phytotherapy Research* 2009, Aug. 23(8), 1116–22.
- 212.** Farnsworth NR. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji). *Food Research International* 2011; 44: 1702-17.
- 213.** Omar, S.H., Al-Wabel, N.A. Organosulfur Compounds and Possible mechanism of Garlic in Cancer. *Saudi Pharmaceutical Journal* 2010: 18, 51-8.
- 214.** Luck, H. Catalase. Edited by: Bergmeyer HU: *Methods of enzymatic analysis* 1963, 885-88. New York: Academic Press.
- 215.** Lawrence, R.A., Burk, R.F. GSHPx activity in rat liver *Biochem. Biophys Res Comm* 1976, 71, 952-8.
- 216.** Gupta, R. C. Nonrandom binding of the carcinogen N-hydroxy-2-acetylaminofluorene to repetitive sequence of rat liver DNA in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984,81, 6943-47.
- 217.** Das, D.K., Engelman, R.M. Mechanism of free radical generation during reperfusion of ischemic myocardium. In: Das, D.K., Essman, W.B: *Oxygen Radicals: Systemic Events and Disease Process* 1990: (97-121). Basel: Karger
- 218.** Noblitt, S.D., Huehls, A. M., Morris Jr, D. L. The role of metal ion binding in generating 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine from the nucleoside 2'-2'-deoxyguanosine-5'-monophosphate. *J Inorg Biochem* 2007, 101, 536-42.
- 219.** Thanusu, J., Kanagarajan, V., Nagini, S., Gopalakrishnan, M. Chemopreventive potential of 3-[2,6-bis(4-fluorophenyl)-3-methylpiperidin 4-ylidenamino]-2-thioxoimidazolidin-4-one on 7,12-DMBA induced hamstre buccal pouch carcinogenesis. *J Enyme Inhib Med Chem* 2010, 25(6), 836-43.
- 220.** Koul, A., Arora, N., Tanwar, L. Lycopene mediated modulation of 7,12 Dimethylbenz (a) anthracene induced hepatic clastogenicity in male Balb/c mice. *Nutr Hosp* 2010, 25(2), 304-10.
- 221.** Hölmerich J. Interleukins in acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1996, 31: 219: 37-42.

222. Ranson JHC, Lackner H, Berman IR, et al. The relationship of coagulation factors to clinical complications of acute pancreatitis. *Surgery* 1977, 81: 502-11.
223. Jaworek J, Szklarczyk J, Jaworek AK, Nawrot-Porabka K, Leja-Szpak A, Bonior J, Kot M. Protective effect of melatonin on acute pancreatitis. *International Journal of Inflammation* 2012 .doi.10.1155: 2012: 173675.
224. Wu H, Guo H, Zhao R. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on the improvement of antioxidant ability and DNA damage in NIDDM rats. *Yakugaku Zasshi* 2006, 126: 365–71.
225. Ha H, Kim KH. Pathogenesis of diabetic nephropathy: the role of oxidative stress and protein kinase C. *Diabetes Res Clin Pract* 1999, 45(2-3),147-51.
226. Matos HR, Capelozzi VL, Gomes OF, Di Mascio P, Medeiros MHG. Lycopene Inhibits DNA damage and liver necrosis in rats treated with ferric nitrilotriacetate. *Arch Biochem Biophys* 2001, 396(2), 171-7.
227. Mc Dorman KS, Pachkowski BF, Nakamura J, Wolf DC, Swenberg JA. Oxidative DNA damage from potassium bromate exposure in long-evans rats is not enhanced by a mixture of drinking water disinfection by-products. *Chem Biol Interact* 2005, 152(2-3),107-17.
228. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: Mechanism, mutation and disease. *FASEB J* 2000, 17(10), 1195-214.
229. Piconi L, Quagliario L, Ceriello A. Oxidative stress in diabetes. *Clin Chem Lab Med* 2003, 41, 1144-9.
230. M Xu, H Zhang, Y Wang. The protective effects of *Lycium barbarum* polysaccharide on alloxan-induced isolated islet cells damage in rats. *Zhong Yao Cai* 2002, 25(9): 649-51.
231. Shi M, Xu B, Wang X, Aoyama K, Michie SA, Takeuchi T. Oxidative damages in chronic inflammation of a mouse autoimmune disease model. *Immunol Lett* 2004, 95(2): 233-6.
232. Norman JG, Franz MG, Fink GS, Messina J, Fabri PJ, Gower. Decreased mortality of severe acute pancreatitis after cytokine blockade. *Ann Surg* 1995, 221: 625–31 [PMID:7794067].
233. Nardi G.M, Januario A.G.F., Freire C.G., Megiolaro F. Anti-inflammatory Activity of Berry Fruits in Mice Model of Inflammation is Based on Oxidative Stress Modulation. *Pharmacognasy Research* 2016, 8(1): 42-6.

- 234.** Xiao J., Liang E.C., Ching Y.P. *Lycium barbarum* polysaccharides protect mice liver from carbon tetrachloride-induced oxidative stress and necroinflammation. *Journal of Ethnopharmacology* 2012, 139(2): 462-70.



EKLER

EK.1. ÖZGEÇMİŞ

2006 yılında, İnönü Üniversitesi Biyoloji Bölümünden mezun oldum. 2009 yılında aynı üniversitenin Eczacılık Fakültesi Biyokimya A.D.'da Yüksek lisansa başladım. 2016 yılı içerisinde aynı üniversitenin Moleküler Biyoloji ve Genetik A.D.'da Yüksek lisansa başladım. Özel bir orta öğretim kurumunda Biyoloji öğretmeni olarak çalışmaktayım. Evli ve bir kız çocuk annesiyim.



EK.2. DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 03-02-2011
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
Araştırma Protokol no.su : 2011/A-16
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Sıçan (rat)
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar albino
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 36 adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 3-4 aylık, 280-350 g

Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Kadir BATÇIOĞLU'nun yürüttüğü olduğu "Ratlarda Akut Pankreatite bağlı gelişen böbrek hasarında Lycium barbarum(goju) bitki ekstresinin koruyucu etkilerinin incelenmesi" isimli 2011/A-16 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. Yusuf TÜRKÖZ Başkan	 Doç.Dr. Abdurrahman KARAMAN Başkan Yard. katılmadı	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Raportör
 Prof.Dr. Ahmet KIZILAY Üye	 Prof.Dr. Selim DOĞANAY Üye	 Yrd.Doç.Dr. M.Arif ALADAĞ Üye
 Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	 Salih AVCI Sivil Üye	