

T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA BÖBREK İSKEMİ  
REPERFÜZYONUNDA SİKLOSİPORİN A'NIN  
NEFROTOKSİK ETKİSİNİN LİKOPENLE  
ENGELLENEBİLİRLİĞİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Güler ORHAN**

**FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**DANIŞMAN  
Doç.Dr. Halil DÜZOVA**

**MALATYA-2014**

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

**SIÇANLARDA BÖBREK İSKEMİ  
REPERFÜZYONUNDA SİKLOSİPORİN A'NIN  
NEFROTOKSİK ETKİSİNİN LİKOPENLE  
ENGELLENEBİLİRLİĞİ**

**Güler ORHAN**

**DANIŞMAN**

**Doç.Dr. Halil DÜZOVA**

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2011/50  
proje numarası ile desteklenmiştir.**

**MALATYA-2014**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalı Fizyoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı, Danışman

Doç. Dr. Halil DÜZOVA



Üye

Prof. Dr. Sedat YILDIZ



Üye

Prof. Dr. M.Hanifi EMRE



ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu...../...../2014 tarih ve 2014/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yaşar BAYINDIR

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

2011-50 nolu yüksek lisans tez projeme maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Tez araştırmamı destekleyen, katkı ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Doç. Dr. Halil DÜZOVA ve ailesine, tez çalışmam süresince katkı ve yardımlarını esirgemeyen İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof.Dr. M. Hanifi EMRE başta olmak üzere tüm hocalarıma, tez araştırmamın yapımı ve yazımı sırasında katkı ve yardımlarını esirgemeyen İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Harika GÖZÜKARA'ya, Sayın Doç.Dr. Turgut PİŞKİN ve Sayın Prof. Dr. İdris ŞAHİN'e, Sayın Uzm. Dr. Rezzan ÖNAL'a, Sayın Prof.Dr. Nusret AKPOLAT'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Aslı ÇETİN'e, Ankara Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof.Dr. Ahmet ERGÜNE'e, Ankara Üniversitesi Tıp Fak. İstatistik Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr. Kenan KÖSE'ye, Arş. Grv. Azibe YILDIZ'a, Arş. Grv. Suat TEKİN'e, Arş. Grv. Burcu KÖKSAL'a, Arş. Grv. Tuba ÖZGÖÇER'e, Zeynep Rumeysa DURAN'a, Mehmet DEMİR'e ve Arş. Grv. Önder OTLU'ya;

Hayatım boyunca benden desteğini ve sabrını esirgemeyen aileme,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

**Güler ORHAN**

## ÖZET

**Amaç:** Siklosporin A'nın, yüksek dozda kullanımı, böbrek hemodinamiğini bozar ve kronik nefrotoksisiteye neden olur. Bu durumda da allograft reddine neden olur ve allograftın ömrünü kısaltır. Bu çalışmanın amacı doğal bir karatenoid olan likopenin, siklosporin A'nın nefrotoksik etkilerini bloke edip etmediğini göstermektir.

**Gereç ve Yöntem:**Çalışmada rastgele seçilen Sprauge Dawley cinsi erkek sıçanlara (n=40), sağ pedikül nefrektomi sonrası,30 gün boyunca aşağıdaki uygulamaları yapıldı:

**Kontrol grubu (n=10):**Zeytinyağı (taşıyıcı olarak) intraperitoneal (i.p.) yolla günde 0,8 mL/kg,

**Siklosporin A grubu (n=10):**Siklosporin A, i.p. olarak günde 20 mg/kg dozunda enjekte edildi

**Siklosporin A + Likopen grubu (n=10):**Siklosporin A ve Likopeni.p. olarak günde sırasıyla 25 mg/kg ve 20 mg/kg dozunda enjekte edildiler.

**Likopen grubu (n=10):**Likopen i.p. olarak günde 25 mg/kg dozunda enjekte edildi. Yukarıdaki enjeksiyon protokolü tamamlandıktan sonra, tüm deney hayvanlarında, sol renal arter üzerine klempe yerleştirildi ve 30 dakika boyunca renal arter iskemisi oluşturuldu. Daha sonra reperfüzyondan uygulandı ve cerrahi işlem tamamlandı. Renal iskemi-reperfüzyon işleminden bir hafta sonra hayvanlar dekapite edildi. Böbreklerin üst yarısı enzim çalışmaları için -80 C'de, alt yarısı ise histopatolojik incelemeler için %10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu.

**Bulgular:**Siklosporin A verilen sıçanların böbrek dokusunda tübül içi eozinofilik madde birikimi, Bowman mesafesinde daralma, tübül dilatasyonu ve atrofisi, nekroz ve intertisiyel dokuda fibrozis görüldü. Gruplar arasında Cl<sup>-</sup> değerleri birbirinden anlamlı olarak farklı bulundu(p=0,0008). Serum kolesterolü likopen ve siklosporin A+likopen uygulanan gruplarda, diğer gruplardan yüksek görüldü.

(P=0,004). Siklosporin A+likopen enjekte edilen hayvanların Na<sup>+</sup> değerleri diğerlerinden daha yüksek bulundu (p=0,0102). Likopen enjekte edilen hayvanlarda, K<sup>+</sup> değerleri diğer gruplardan yüksek bulundu (p= 0,0142). Siklosporin A ve siklosporin A+likopen enjekte edilen hayvanların kreatinin değerleri, diğer gruplara

göre yüksek olduğu saptandı (p=0,0047). Siklosporin A verilen sıçanların böbrek dokusu TBARS düzeyi arttı ( p=0,0003).

**Sonuç:**Siklosporin A'nın, lipit peroksidasyonunu artırarak ve tübüller fonksiyon bozukluğuna yol açarak, nefrotoksik etki gösterdiği ve bu etkilerin likopen kullanımıyla engellendiği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Sıçan, böbrek, iskemi-reperfüzyon, oksidatif stres,siklosporin A, likopen.

## ABSTRACT

### LYCOPENE IN THE PREVENTABILITY OF NEPHROTOXIC EFFECTS OF CYCLOSPORINE A IN ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY IN RATS

#### Objective :

Use of high dose cyclosporine disrupts renal hemodynamics and causes renal nephrotoxicity. Thus it causes rejection of allograft and decreases allograft survival. In the current study, it was aimed to investigate whether lycopene, a natural carotenoid, can inhibit nephrotoxic effect of cyclosporin A on kidneys.

#### Materials and Methods:

In this study, following right nephrectomy, male Sprague Dawley rats (n=40) were randomly allocated to experimental groups for 30 days as outlined below:

**Control group (n=10):** Olive oil (as carrier) was given intraperitoneally (i.p.) at 0,8 mL/kg per day,

**Cyclosporine A group (n=10):** Cyclosporine was injected i.p. at 20 mg/kg per day as a single dosis

**Cyclosporine A + Lycopene group (n=10):** Cyclosporine and Lycopene were injected i.p. at 25 mg/kg and 20 mg/kg per day, respectively.

**Lycopene group (n=10):** Lycopene was injected i.p. at 25 mg/kg per day.

Following completion of above injection protocol, bulldog clamps were placed on the left renal arteries in all experimental animals and renal arterial ischemia was continued for 30 minutes. Afterwards reperfusion was ensued and surgical procedure was completed. The animals were decapitated one week after renal ischemia-reperfusion. The upper halves of the kidneys were stored at -80 C for enzyme analyses, whereas lower halves were kept in 10 % formaldehyde solution for histopathological examination.

**Results:** Accumulation of eosinophilic substances in tubuls, narrowing in Bowman capsule, atrophy, necrosis and dilatation of tubules and fibrosis in the interstitiel were observed. These lesions were partially improved following lycopene administration. Statistically significant differences were detected among serum Cl<sup>-</sup> levels of the experimental groups (p<0.008). Serum cholesterol levels in groups given lycopene and cyclosporin A+lycopene were found to be higher compared to other groups (P<0,004). Serum Na<sup>+</sup> levels of cyclosporin A + lycopene group was

also higher compared to other groups whereas  $K^+$  levels in lycopene group was determined to be increased in comparison to other groups. Cyclosporin A as well as cyclosporin A + lycopene administrations were associated with increased serum creatinine concentration ( $P=0.0047$ ). Cyclosporin injection elevated lipid peroxidation level (as TBARS) in kidney tissues ( $P<0,0003$ ).

**Conclusion:** Cyclosporine A causes nephrotoxicity by increasing lipid peroxidation and by disrupting tubular function, and these negative effects were ameliorated by the use of lycopene.

**Keywords:** Rat, kidney, ischemia-reperfusion, oxidative stress, cyclosporine A, lycopene.



## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xii
1. GİRİŞ:.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Böbreğin Fizyolojisi ve anatomisi.....	2
2.2. Böbreğin Kanlanması ve Kan Akımı .....	4
2.2.1. Böbrek kan akımını belirleyen faktörler .....	5
2.3.Nefronlar .....	5
2.4.Böbrek Histolojisi.....	8
2.4.1.Böbrek cisimcikler .....	8
2.4.2.Proksimal tübüller .....	10
2.4.3.Henle kulpu.....	12
2.4.4.Distal tübüller .....	12
2.4.5.Toplayıcı tübül-kanallar.....	13
2.4.6. Jukstaglomerüler kompleks .....	14
2.4.7. Böbrek ara dokusu.....	15
2.5. Böbrek Fonksiyonunu Değerlendirmede Kullanılan Bazı Kavramlar .....	15
2.5.1. Klirens Kavramı .....	15
2.5.2. Kreatinin .....	15
2.5.3. Kan üre azotu.....	16
2.6. Böbrek İskemi/Reperfüzyonu.....	16
2.6.1. İskemi.....	16
2.6.2. Dönüşümsüz zedelenme .....	18
2.6.3. Dönüşümsüz zedelenme mekanizmaları.....	19
2.6.4. Reperfüzyon.....	21
2.7. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	24
2.7.1. Serbest Radikallerin oluşumu:.....	24

2.7.2. Serbest Radikallerin Hücre Yapılarına Etkileri.....	25
2.7.3. Proteinler üzerine etkileri .....	25
2.7.4. Lipitler üzerine etkileri .....	25
2.8. Siklosporin A.....	26
2.8.1. Siklosporin A'nın toksik etkileri.....	27
2.8.2. Siklosporin A'nın Nefrotoksik Etkileri .....	28
2.8.3. Nefrotoksik mekanizmalar.....	28
2.9. Likopen .....	29
3. Gereç ve Yöntem.....	32
3.1. Deney Hayvanları.....	32
3.1.1.Örneklem Büyüklüğü ve Yöntemler .....	32
3.1.2. Deney Grupları.....	32
3.1.3.Siklosporin A'nın Hazırlanması.....	33
3.1.4.Likopenin Hazırlanması.....	33
4.Cerrahi Uygulamalar.....	33
4.1. Nefrektomi.....	33
4.2. İlaç Uygulanması.....	34
4.3. İskemi/Reperfüzyon: .....	35
4.4. Serumda Biyokimya Parametreleri .....	37
4.4.1.Böbrek Dokularının Enzim Çalışması İçin Hazırlanması.....	37
4.4.2.Nitrik Oksit .....	37
4.4.2.1. Nitrik Oksit(NO) Düzeylerinin Ölçümü.....	37
4.4.3. TBARS Seviyesinin Ölçümü.....	38
4.4.4. TAS Seviyesi Ölçümü.....	38
4.5. İstatistiksel Değerlendirme .....	38
5.BULGULAR .....	40
5.1.Biyokimya Sonuçları.....	40
5.1.1. Serum BUN konsantrasyonları.....	40
5.1.2. Serum kreatinin konsantrasyonları.....	41
5.1.3. Serum ürikasit konsantrasyonları.....	42
5.1.4. Serum glikozkonsantrasyonları .....	42
5.1.5. Serum kolesterolkonsantrasyonları.....	43

5.1.6. Serum Ca, Na, Cl, Kkonsantrasyonları .....	44
5.1.7. Böbrek dokusu lipit peroksidasyonu, toplam antioksidant durum (TAS) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri .....	47
5.2.Histopatolojik Değerlendirme .....	50
6.TARTIŞMA .....	54
7.SONUÇ VE ÖNERİLER .....	60
KAYNAKLAR.....	61
EKLER.....	74
EK 1: Etik Kurul Kararı.....	74
ÖZGEÇMİŞ .....	75

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

O <sub>2</sub>	:Oksijen
İL-2 $\alpha$	:İnterlökin-2 $\alpha$
CsA	:Siklosiporin A
LC	:Likopen
Hg	:Civa
JGA	:Jukstaglomerüler aparat
NaCl	:Sodyum klorür
GFR	:Glomerüler filtrasyon hızı
KDa	:Kilodalton
PAH	:Para amino hippurik asit
H	:Hidrojen
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	:Amonyum
JG	:Jukstaglomerüler
Cre	:Kreatinin
BUN	:Kan üre azotu
ADH	:Antidiüretik hormon
Na <sup>+</sup> ,K <sup>+</sup> - ATPaz	:Sodyum potasyum atpaz pompası
Na <sup>+</sup>	:Sodyum
Ca <sup>+2</sup>	:Kalsiyum
K <sup>+</sup>	:Potasyum
ATP	:Adenozin trifosfat

AMP	:Adenozin monofosfat
GER	:Granüllü endoplazmik retikulum
TNF- $\alpha$	:Tümörnekroz faktör
İ/R	:İskemi/Reperfüzyon
KO	:Ksantin oksidaz
ADP	:Adenozin difosfat
SOR	:Serbest oksijen radikali
PMNL	:Polimorfonükleer lökositler
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	:Hidrojen peroksit
NADPH	:Nikotinamid adenin dinükleotid
PMN	:Polimorfonükleer
NO	:Nitrik oksit
PAF	:Platelet aktive adici faktör
DNA	:Deoksiribo nükleik asit
PUFA	:Doymamış yağ asitleri
HO <sup>-</sup>	:Hidroksil radikali
LOO <sup>-</sup>	:Lipid peroksit radikali
İp	:İntra peritonal
LOOH	:Lipidhidroperoksit
MDA	:Malondialdehit
TBARS	:Tiyobarbitüret reaktif maddeler
HCl	:Hidroklorik asit

NADPH	:Nikotin amid adenin dinükleotid
NNDA	:N-naftalin etilen diamid
CuSO <sub>4</sub>	:Bakır sülfat
ZnSO <sub>4</sub>	:Çinko sülfat
TBA	:Tiyobarbitürik asit
SD	:Standart derivasyon
Min	:Minimum
Max.	: Maksimum
TAS	:Total antioksidan statü
HgCl <sub>2</sub>	:Gümüş klorür
NO	:Nitrik oksit

## **ŞEKİLLER DİZİNİ**

**Şekil 1.** Böbreğin genel görünümü

**Şekil 2.** Böbreğin damarlanması ve kanlanması

**Şekil 3.** Nefronun yapısı

**Şekil 4.** Glomerül yapısı

**Şekil 5.** İskemik hasar modeli

**Şekil 6.** Normal ve iskemik hasar modelleri

**Şekil 7.** CsA'nın kimyasal yapısı

**Şekil 8.** CsA'nın etki mekanizması

**Şekil 9.** İndüklenen CsA nefrotoksisitesinin renal hücre apoptotik mekanizması

**Şekil 10.** Likopenin kimyasal yapısı

**Şekil 11.** Likopenin metabolik dönüşümü

**Şekil 12.** Karetenoidlerin besinlerdeki bulunma yüzdeleri

**Şekil 13.** Deney grupları

**Resim 1.** Nefrektomi

**Resim 2.** İlaç enjeksiyonu uygulanması

**Resim 3.** İskemi uygulanması

**Resim 4.** Kontrol grubu histopatoloji

**Resim 5.** Siklosporin A grubu histopatoloji

**Resim 6.** Siklosporin A + likopen grubu histopatoloji

**Resim 7.** Likopen grubu histopatoloji

**TABLULAR DİZİNİ****Tablo 1.**BUN değerleri**Tablo 2.** Ca<sup>+2</sup> değerleri**Tablo 3.** Cl<sup>-</sup> değerleri**Tablo 4.** Glikoz değerleri**Tablo 5.** Kolesterol değerleri**Tablo 6.** Na<sup>+</sup> değerleri**Tablo 7.** Ürik asit değerleri**Tablo 8.** K<sup>+</sup> değerleri**Tablo 9.**Kreatinin değerleri**Tablo 10.** TBARS değerleri**Tablo 11.** NO değerleri**Tablo 12.** TAS değerleri**Grafik 1.** K<sup>+</sup> seviyeleri**Grafik 2.** Kreatinin seviyesi**Grafik 3.**TBARS seviyesi**Grafik 4.** NO seviyesi**Grafik5.** TAS seviyesi



## 1. GİRİŞ:

Akut böbrek yetmezliğinin en önemli sebeplerinden biri olan böbrek iskemi reperfüzyon hasarıdır. Böbrek transplantasyonu, organ nakli, koroner anjioplasti, koroner bypass gibi çeşitli cerrahi işlemler, trombolitik tedavi ve hipovolemik şok gibi durumlarda, dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi hücre ölümüne yol açmaktadır (22, 23, 24). Reperfüzyon, kan akımının ve bununla birlikte oksijenin ( $O^{+2}$ ) dokuya tekrar sağlanmasıdır, yani dolaşımın restorasyonudur, ancak reperfüzyon iskeminin tek başına oluşturduğu hasardan çok daha fazla ve geri dönüşümsüz hasar oluşturabilir (45, 46).

Siklosporin A, organ transplantasyonu sonrası ve otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılan bir immünsüpresif ajandır. T helper hücre yüzey reseptörü siklofilin ile birleşerek, hücre içine girer ve kalsinörünü inhibe eder (75, 76, 78). Kalsinörün inhibisyonuyla interlökin  $2\alpha$  (İL- $2\alpha$ ) sentezi bloke eder ve sitotoksik T hücre oluşumunu engeller. Ancak ilacın karaciğer, böbrek ve kalpteki yan etkileri kullanımını kısıtlamaktadır (78).

Likopen, başta domates olmak üzere greyfurt ve karpuz gibi kırmızı sebze ve meyvelerde bulunan bir karotenoiddir. Likopen, A vitamini prekürsörü olma özelliği yanında biyolojik önemi lipit antioksidanı olması ve özellikle singlet oksijen olmak üzere serbest radikalleri nötralize etmesidir (95, 102).

Siklosporin A (CsA) ve likopenle (LC) yapılan çalışmalarda sıçanlarda böbrek ve karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında Siklosporin A toksisitesinin karotenoidlerle engellenebilirliği belirtilmiştir. Bu tez çalışmasında, Siklosporin A 20mg/kg doz hasarının, Likopen 25mg/kg dozuyla engellenbilirliği araştırılmıştır.

Siklosporin A'nın aşırı dozda kullanımı, böbrek hemodinamiğini bozması kronik nefrotoksitesi nedeni allograft reddine neden olur ve allograftın ömrünü kısaltır. Bu çalışmayla doğal bir karotenoid olan likopen böbrek üzerindeki siklosporin A'nın nefrotoksik etkilerini bloke edip etmediğini göstermektedir.

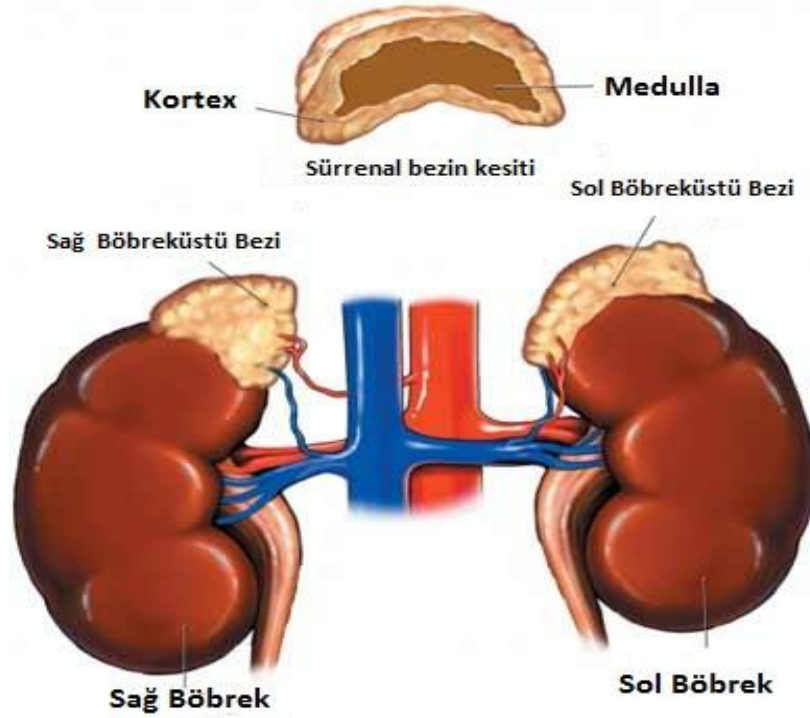
## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Böbreğin Fizyolojisi ve anatomisi

Her iki böbrek, periton boşluğunun dışında,karın arka duvarında yer alırlar.Yetişkin erkeklerde125-170g, kadınlarda 115-155g ağırlığındadır.Yetişkin bir sıçanda ise her bir böbrek ortalama 1,5 gramdır.Böbreklerin etrafını gevşek bağ dokusu ve yağ dokusu sarar,ön yüzeyini periton zarı örter (1).Üst uçları 12.torakal vertebranın üstkenarı, alt uçları3. lumbal vertebra seviyesinde bulunur.Karın boşluğunun sağ üst yanında karaciğer bulunması sebebiyle sağ böbrek sol böbreğe nazaran daha aşağıdadır(2).Her bir böbrek insanlarda yaklaşık11,5 cm uzunluğunda, 5-7 cm genişliğinde ve 2,5 cm kalınlıktadır. Her bir böbrekte arter, ven, lenfatiklerin ve üreterlerin girip çıktığı 'hilum' adı verilen çukur bir bölge bulunur.Böbrekler, içyapılarını koruyan sıkı bağ dokusundan oluşmuş, ince fibröz bir kapsül ile çevrelenmiştir(3, 4).

Böbrek uzun eksenine kesitlerde, dış kısmında korteks, iç kısmında medulla adı verilen iki tabakadan oluşur (Şekil-1). Orta bölümdeki boşluğa sinüs renalis adı verilir.Korteks de; renal korpüsküller, kıvrımlı ve düz tübüller, toplama tübülleri ve kanalları, fibroblastlar ve kollajen lifler yer alırken, medulla renal korpüskülleri bulundurmazken düz tübüller, toplayıcı kanallar ve miyofibroblastlar bulunur (3,4, 5).

Böbreğin mediyal kenarında hilum adı verilen derin ve vertikal bir çukur bulunur. Kan damarları, sinir ve üreterler böbreğe bu bölgeden giriş çıkış yaparlar. Hilumda üreterler genişleyerek renal pelvis adı verilen yapıyı meydana getirirler. Renal pelvis dallara ayrılarak renal kaliksleri meydana getirir(2, 5). Majör kalikslerden minör kaliksler meydana gelir. Genelde her bir böbrekte 2 majör kaliks ve 10-12 kadar minör kaliks bulunmaktadır. Minör kalikslerin uç bölümlerine papilla adı verilir. Her bir papillanın uç bölümüne area cribrosa adı verilir (5).



**Şekil-1:** Böbreğin genel görünümü.

[www.medicorium.com](http://www.medicorium.com)

Dışmedulla bölümü içve dış olarak 2 bölüme ayrılır. Böbrek medullasında böbrek Piramitleri adı verilen çok sayıda doku kütlesi bulunur. Böbrek piramitlerinin tabanı korteks ile medulla arasındaki sınırdan başlar ve böbrek pelvisine doğru uzanan papillada son bulur(3). Herbir böbrekte 1-1,2 milyon nefron bulunur (3,6,7,8,9,10). Nefron böbreğin fonksiyonel en küçük birimidir (3,6,7,12). Her nefron genişlemiş bir bölüm olan böbrek cisimciği, proksimal kıvrımlı tübül, henle kulpu, distal kıvrımlı tübül ile toplayıcı tübülden oluşmaktadır (6, 7, 9). 8-10 tane toplayıcı tübül bir araya gelerek toplayıcı kanalı oluşturur.

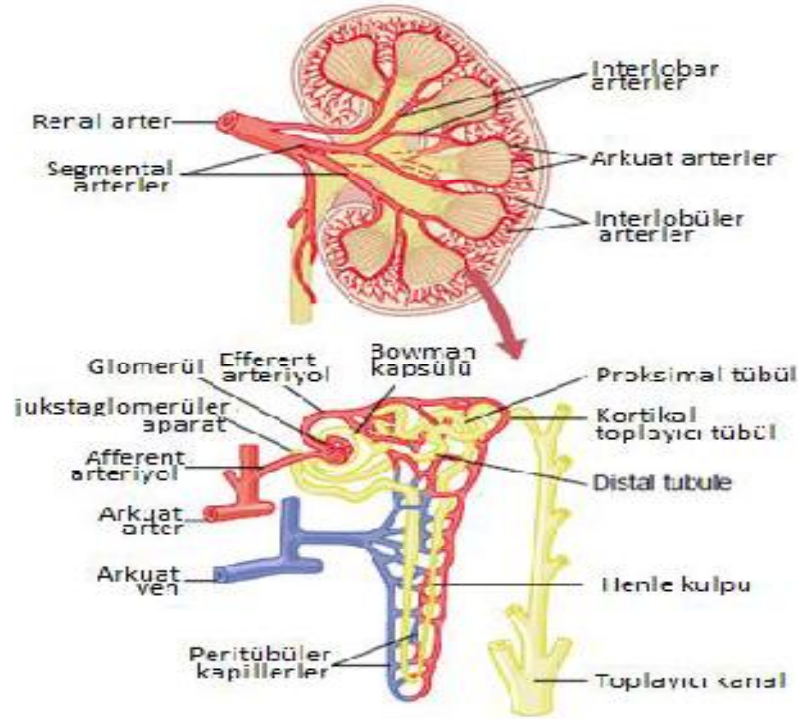
Vücut homeostazının sağlanmasında, böbreklerin birçok önemli görevi vardır. Bunlardan bazıları;

- 1- Yabancı maddelerin, metabolik yıkım ürünlerinin, ilaçların ve hormon metabolitlerinin atılması
- 2- Su ve elektrolit dengesinin sağlanması
- 3- Arteriyel basıncın düzenlenmesi
- 4- Asit-baz dengesinin düzenlenmesi

5- Eritrosit yapımının düzenlenmesi

6- 1,25-dihidroksi vitamin D3'ün aktifleştirilmesi ve renin salgılanması

7- Glikoneojenez (3).



Şekil-2: Böbreğin damarlanması ve kanlanması (3).

## 2.2. Böbreğin Kanlanması ve Kan Akımı:

Böbreğin kan akımı normalde kalp debisinin %22'si kadar veya yaklaşık olarak dakikada 1100ml'dir(12). Böbrek arteri hilum bölgesinden böbreğe girer ve interlobar, arkuat, interlobüler(radyal) arterler ve afferent arteriyollere ayrılır. Afferent arteriyoller, plazma proteinleri dışında, bol miktarda su ve maddenin filtre edilerek idrar yapımının başladığı yer olan glomerüler kapilleri meydana getirir. Her glomerüler kapillerinin distal ucu biraraya gelerek, böbrek tübüllerini çevreleyen ve peritübüler kapiller adı verilen ikinci bir kapiller ağı oluşturan efferent arteriyolü meydana getirirler. Arterioller, proksimal ve distal tübülleri beslemek ve düşük molekül ağırlıklı maddelerle iyonları dolaşım sistemine taşımakla sorumlu olan tübüller çevresinde, peritübüler kapiller ağı oluşturmak üzere dallanırlar. Glomerüler kapillerde ki yaklaşık 60 mm Hg'lık hidrostatik basınç sıvının hızlı filtrasyonunu

sağlarken peritübüler kapillerde ki yaklaşık 15mm Hg'lık hidrostatik basınç sıvının hızlı geriemişimini sağlar. Peritübüler kapiller arteriyol damarlara paralel venöz sistemin damarlarına boşalır ve bunlar da sırası ile interlobüler ven, arkuat ven, interlobar ven ve böbreği renal arter ve üreterle beraber terkeden renal veni oluştururlar(3, 11).

### 2.2.1.Böbrek kan akımını belirleyen faktörler

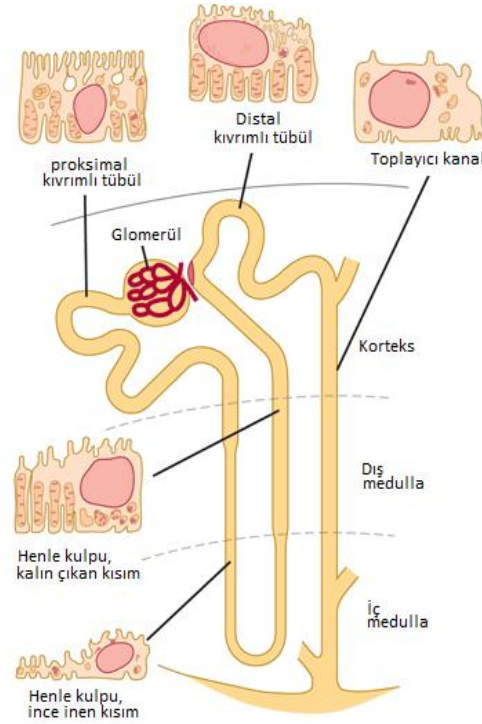
(Böbrek arter basıncı — Böbrek ven basıncı) /Toplam böbrek damar direnci  
Jukstamedüller nefronlarla ilişkili olan efferent arterioller ince, uzun kapiller damarları oluştururlar (6). Medullada düz bir yol izleyen ve sonra yeniden korteks-medulla sınırına doğru geriye kıvrılan bu kapiller damarlara vaza rekta (düz damarlar) adı verilir (6, 12). Böbreğe gelen kanın %92,5'i kortikal bölgeye, %6,5'i dış medullaya, %1'i iç medullaya dağılır(13, 14). İnen damar aralıksız tip kapiller özelliği gösterirken, çıkan damarın endoteli pencerelidir. Glomerülden süzülen kanı taşıyan bu damarlar medullayı besler ve oksijen gereksinimini karşılar. Kangal biçimindeki yapıları yüzünden bu damarlar henle kulpunun interstisyumunda oluşturduğu yüksek osmotik gradyanı ortamdan uzaklaştırmazlar (6).

Dış kortekste ve böbrek kapsülündeki kapillerler interlobüler venlere boşalan yıldızlı (stellat) venleri oluşturmak üzere birleşirler (6, 12). Venler arterlerle aynı yolu izler. Kan lobüller arası venlerden arkuat venlere ve oradan da loblar arası venlere akar. Loblar arası venler böbrek venini oluşturmak üzere birleşir, buradan kan böbreği terk eder (6).

### 2.3.Nefronlar

Her nefron, çok miktarda sıvının filtre olduğu glomerül adı verilen glomerüler kapiller yumak ve böbrek pelvisi içinde filtre edilen sıvının idrara dönüştüğü uzun bir tübülden oluşur (7).

Nefron, böbrek dokusunun içinde bulunduğu derinliğe göre bazı farklılıklar gösterir. Glomerülleri korteksin dış kısmında yerleşmiş olanlara **kortikal nefron**(%80) adı verilir, bunlar dış medullaya kadar uzar, medulla içinde sadece çok kısa bir mesafeye inen kısa Henle kıvrımları vardır. Glomerülleri korteksin derin kısımlarında medullaya yakın bölgeye yerleşmiş olanlara ise **jukstamedullar nefronları**(%20) adı verilir, bunlarınuzun henle kıvrımları medullanın derinliklerine kadar iner, bazıları böbrek papillasının tepesine kadar uzanır (3,7).

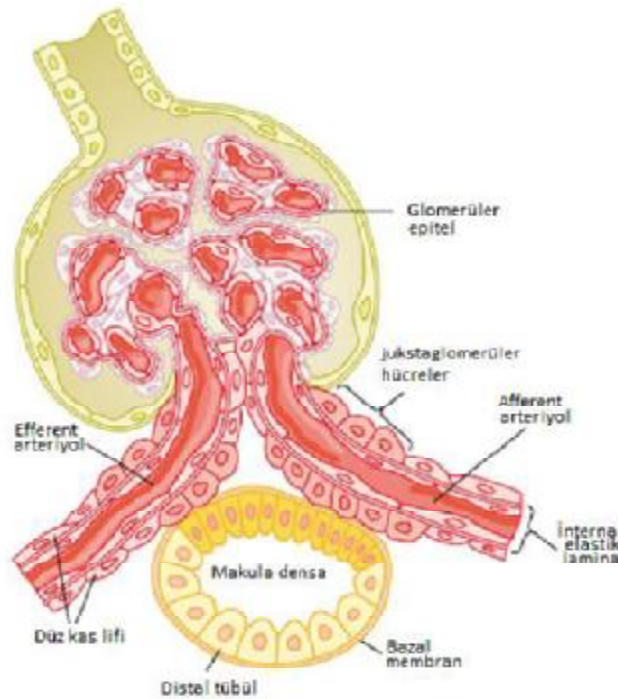


**Şekil - 3:** Nefronun yapısı(14).

Glomerüller kılcak damarlar Bowman kapsülünün içinde yer alır. Bowman kapsülü pedikül şeklinde özelleşmiş epitelle kaplıdır. Diğer kapiller ağlar ile kıyaslandığında daha yüksek(60 mgHg)bir hidrostatik basınca sahiptirler. Glomerüller kapiller 3 katmandır, sırasıyla; endotel, bazal membran ve podosit epitelinden oluşur,tüm glomerüller kapiller ağ Bowman kapsülü ile çevrelenmiştir. Glomerüller kılcak damarların çevresinde kasılma ve sekresyon yeteneği olan mezenşyal hücreler bulunur, glomerüller kapillerden filtre olan sıvı önce Bowman kapsülü içine, sonra böbrek korteksindeki proksimal tübül içerisine geçer. Sıvı, proksimal tübülden sonra Henle kıvrımına geçer. Henle kıvrımının inen ince kolu, çıkan ince kolu ve çıkan kalın kolu olarak üç bölümü vardır.Henle kıvrımının inen ve çıkan kolun alt ucunun duvarları incedir. Henle kıvrımının çıkan ince kolu kortekse doğru duvarı kalınlaşır(3,14). Jukstaglomerüler aparat distal tübül, afferent ve efferent arteriyol anatomik ve fonksiyonel olarak ilişkili bir yapıdır. Jukstaglomerüler aparat da (JGA), ekstraglomerüler mezenşyal hücreler, makula densa ve glomerüller hücreler yer alır(şekil-4) (14).

Çıkan kalın kolun sonunda, duvarında özelleşmiş epitel hücrelerinden oluşan bir plak içeren kısa bölüme makula densa adı verilir. Granüler hücreler afferent arteriyol duvarına yerleşmiş ve özelleşmiş düz kas hücreleridir ve renin salgırlar.Makula

densa tübüldeki sodyum klorür (NaCl) değişikliklerini algılar; böylece jukstaglomerüler (granüller) hücrelerden renin salgılanmasını ve afferent arteriyol direncinin düzenlenmesini sağlayarak, glomerüler filtrasyon hızını (GFR)düzenler(3,14). Makula densadan sonra sıvı distal tübüle geçer. Distal tübülün ilk yarısıyapısal olarak Henlenin çıkan kalın koluna benzer. Henle tübülünün ikinci yarısı ise kortikal toplayıcı tübüle benzer. Henle tübülünün ince ve kalın çıkan kısmı ile distal tübülün ilk kısmı suya geçirgen olmadığı için bu bölgeye sulandırıcı segment denir (13). Distal tübülden sonra, kortikal toplayıcı tübül, dış medülar toplayıcı kanal ve içmedüller toplayıcı kanal devam eder. Toplayıcı tübül ve kanallarda P ve I hücreleri bulunur (14).Distal tübülü, korteksin toplayıcı tübülü izler, buda korteksin toplayıcı kanalı ile devam eder. Korteks toplayıcı kanallarının başlangıç kısımları birleşerek medullanın toplayıcı kanalı denilen daha geniş bir yapıyı meydana getirirler.Toplayıcı kanallar birleşerek daha da geniş kanalları oluşturur ve böbrek papillasının tepesi aracılığı ile böbrek pelvisine boşalırlar. Her bir böbrekte her biri 4000 nefrondan idarar toplayan 250 kadar geniş toplayıcı kanal vardır(3).



**Şekil -4:** Glomerül ve makula densa yapısı(3).

## **2.4.Böbrek Histolojisi**

Böbrekler sıkı bağ dokusundan ince bir kapsül ile sarılan (6, 7, 10), yağ tabakası içine gömülmüş birleşik tübüler bezlerdir (12). Böbrek kapsülü iç ve dış tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşur. Dış tabakada fibroblastlar ve kollajen lifler yer alırken, iç tabakada miyofibroblastlar bulunur (10,12). Kapsül gerilmeye dirençlidir, gevşekçe tutunur ve kolayca soyulabilir (12). Her bir böbreğin iç bükey olan medial yüzeyinde sinirler, kan damarları, lenf damarları ve üreterin yer aldığı hilum denilen bir bölümü vardır (6). Böbrek dışta koyu-kırmızı korteks, içte daha açık çizgili medulla ve renal sinüs içinde yer alan huni şekilli pelvis olmak üzere 3 bölüme ayrılır (6, 7, 12). İnsanda böbrek medullası 10-15 adet koni ya da piramidal şekilli yapılar olan medüller piramitlerden oluşur (6, 10, 12). Her bir medüller piramidin tabanından kortekse uzanan birbirine paralel tübül demetleri olan medüller ışınlar çıkar (6). Nefron böbreğin fonksiyonel birimidir (6, 9, 10).Her nefron genişlemiş bir bölüm olan böbrek cisimciği, proksimal kıvrımlı tübül, henle kulpunun ince ve kalın uzantıları, distal kıvrımlı tübül ile toplayıcı tübül ve kanallardan oluşmaktadır (6, 7, 9).

### **2.4.1.Böbrek cisimcikleri**

Çapları yaklaşık 200-250 µm olan oval şekilli böbrek cisimcikleri (7,8, 9, 10,12), böbreğin yalnızca korteksinde bulunurlar ve nefronun başlangıç parçasını oluştururlar (12). Böbrek cisimcikleri kapiller bir yumak olan glomerülden oluşmuştur (6, 8). Glomerüller, Bowman kapsülü olarak adlandırılan epitelden oluşan bir kapsülle sarılmıştır. Kapsülün içte visseral ve dışta parietal tabaka olmak üzere iki tabakası vardır (6, 7,8, 10,12). Bowman kapsülü glomerül kapillerdekikandan süzülen filtratı alır (10,12). Glomerülün kapillerlerini dış taraftan saran, Bowman kapsülünün iç visseral tabakası podosit adı verilen son derece özelleşmiş hücrelerden oluşur. Podositlerden çıkan her bir primer uzantı, pedisel olarak adlandırılan çok sayıdaki sekonder uzantılar ile glomerülün kapillerlerini sararlar (6,7, 12). Pediseller, podocalyxin (6,7) ve podoendin adı verilen sialoproteinlerden oluşan iyi gelişmiş glikokaliks sahiptirler (7). Sekonder uzantılar, 25 nm'lik sabit bir mesafede bazal lamina ile doğrudan temas halindedirler. Ancak podositlerin hücre gövdeleri ve primer uzantıları bazal laminaya değmez (6, 12).



Podositlerin sekonder uzantıları birbirleriyle aralarında 20-40 nm'lik aralık olacak şekilde kenetlenirler (6,7, 8,12). Bu aralıklar süzülme ya da filtrasyon yarıklarını oluştururlar (6,12). Filtrasyon yarıklarının derinliği 300-500 nm'dir (9). Pediseller arasındaki filtrasyon yarıkları şerit benzeri bir filtrasyon slit membranı ile örtülüdür. Bu membran, 7-10 nm kalınlığa ve eşsiz filamentöz ağ yapısına sahiptir. Podositlerin sitoplazmasında bunların kasılabilmelerini sağlayan aktin mikrofilamanlarından oluşan demetler bulunur (6, 12). Bowman kapsülünün pariyetal tabakası ise ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. Bowman kapsülünün bu iki tabakası arasında, Bowman aralığı adı verilen kapiller duvarından ve visseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunmaktadır (6, 7,12). Bu boşluk üriner kutupta proksimal tübülün lümeni ile devam ederken, Bowman kapsülünün iki tabakası damar kutbunda birbirleriyle devam ederler (12). Her böbrek cisimciğinde, afferent arteriolün girdiği ve efferent arteriolün çıktığı bir damar kutbu ve proksimal kıvrımlı tübüllerin başladığı bir idrar kutbu bulunur (6,7,12). Afferent arteriol renal cisimciğe girdikten sonra genellikle her biri kapillerlere bölünerek böbrek glomerülünü oluşturan iki ile beş primer dala ayrılır. İdrar kutbunda epitel, proksimal tübül için tipik olan tek katlı prizmatik ya da kübik epitele dönüşür (6). Glomerül kapillerleri herbiri ortalama 70-90 nm çapında çok sayıda penceresi olan incelmış endotel döşer. Pencereleler diyafram içermez, yüksek oranda geçirgendir, vücuttaki diğer pencereleli kapillerlerden tipik olarak daha geniş ve düzensiz şekillidir (7, 10,12). Glomerül kapillerlerindeki endotel hücreleriyle, bunların dış yüzeyini örten podositler arasında kalın (~0,1 µm) bir bazal membran bulunur (6, 12). İnsanlarda glomerüller bazal membran ortalama 250-350 nm kalınlığındadır (7,8, 9,10,12). Glomerüller bazal membranın kapillerlerindeki kanla idrar boşluğunu birbirinden ayıran bir süzülme engeli oluşturur. Bu bazal membran kapillerin ve podositin oluşturduğu bazal laminaların kaynaşmasından meydana gelmiştir (6, 9). Glomerüllerde bulunan arteriyel kapiller içindeki hidrostatik basınç (yaklaşık 45-60 mm Hg) başka kapillerlerdeki hidrostatik basınçtan daha yüksektir. Kanın hidrostatik basıncına yanıt olarak glomerül süzüntüsü oluşur(6). Bu basınç, kolloidlerin oluşturduğu onkotik basınç (20-32 mmHg) ve Bowman kapsülü içindeki sıvıların hidrostatik basıncı (10-18 mm Hg) ile dengelenmektedir(3,6). Glomerül kapillerlerinin getirici ucundaki net süzülme

basıncı 15 mm Hg'dir. Glomerül süzütüsünün kimyasal bileşimi kan plazmasına benzer ancak makromoleküller glomerül duvarını geçemediği için hemen hiç protein içermez. Glomerül süzütüsüne geçebilen en büyük proteinin molekül ağırlığı 69.000kilodalton (kDa) civarındadır ve süzütüde az miktarda albümin görülür. Glomerül kapillerlerinin endotel hücreleri pencereci türdür ama diğer pencereci kapillerlerin açıklıklarını kaplayan ince perdeye sahip değildirler (6). Endotel hücreleri ve podosit ayaklarının yanı sıra glomerül kapillerlerinin duvarlarına tutunan mezenşial hücreler de vardır (6, 12).

Mezenşial hücreler kasılabilen ve anjiyotensin II reseptörleri içeren hücrelerdir. Bu reseptörler etkinleştğinde, glomerüle gelen kan akımı azalır. Mezenşial hücrelerin, kalbin atriyum hücreleri tarafından üretilen natriüretik faktöre ait reseptörleri de vardır. Bu etken damar genişleticidir ve mezenşial hücreleri gevşeterek muhtemelen kan akımını ve süzülme için bulunan etkin yüzey alanını artırır. Mezenşial hücreler ayrıca glomerüle yapısal destek verirler, hücre dışı matriksi sentezlerler, endositoz gerçekleştirirler ve glomerül bazal membranı tarafından yakalanmış olan normal ve patolojik (immunkompleks) molekülleri fagositozla uzaklaştırırlar (6, 7). Damar kutbunda yer alan ancak glomerülün dışında, jukstaglomerüler aygıtın bir kısmını oluşturan glomerül dışı mezenşial hücreler de vardır (6).

#### **2.4.2.Proksimal tübüller:**

Kortekste kıvrıntılı seyreden proksimal tübüller,medullaya doğru ilerledikçe düzleşirler. Nefronun en uzun parçasıdır (12). Kortikal parankimin büyük bir bölümünü oluştururlar (7,12). Proksimal tübüllerin çapı ortalama 60 µm, boyu ise 14 mm'dir (6,7). Böbrek cisimciğinin idrar kutbunda, Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epiteli proksimal kıvrımlı tübüllerin kübik ya da alçak prizmatik epiteli ile devam eder. Bu kısım distal kıvrımlı tübüllerden daha uzun olduğu için korteks içindeki böbrek cisimciklerinin yanında daha sık görülür (6). Proksimal tübüller enine kesitlerde yuvarlak ve ovaldir (12). Genellikle 4-8 adet yuvarlak çekirdek, her hücrenin merkezinde ya da tabanında yerleşim gösterir (6, 12). Proksimal kıvrımlı tübüllerin hücreleri çok sayıda uzanmış mitokondriyonları nedeniyle asidofilik sitoplazmaya sahiptir (6, 12). Hücrelerin tepesinde fırçası kenarı oluşturan mikrovillusların uzunluğu yaklaşık 1 µm'dir. Fırçası kenarın bulunması nedeniyle proksimal tübüllerini oluşturan hücrelerin iç sınırları pürüzlüdür

(6, 10,12). Canlı hayvanlarda proksimal kıvrımlı tübüllerin lümeni geniştir ve bunlar tübüller dışındaki kapillerler tarafından sarılmış durumdadırlar (6). Bu hücrelerin apikal sitoplazmasında, mikrovillusların tabanları arasında çok sayıda kanaliküller bulunur. Bu kanaliküller proksimal tübül hücrelerinin makromolekülleri emme yeteneğinde etkin rol oynarlar. Uç zarların içe doğru yaptığı girintiler pinositotik vezikülleri oluşturur (6, 12). Bu veziküller içinde glomerüllerden geçebilen proteinler bulunur. Bu proteinlerin parçalandığı yer olan lizozomlarla pinositoz vezikülleri kaynaşır ve oluşan monomerler dolaşıma geri döner. Bu hücrelerin taban bölümlerinde yoğun iç girintiler ve komşu hücreler arasında yan kenetlenmeler bulunmaktadır (6). Sodyum iyonlarının aktif olarak hücre dışına atılmasından sorumlu olan  $Na^+/K^+$  ATPaz pompası bazolateral zarlarda bulunur (6, 7). Mitokondriyonlar hücrenin tabanında yoğunlaşmıştır ve hücrenin uzun eksenine paralel dizilim gösterirler. Mitokondriyonların bu şekilde yerleşimi ve hücrenin tabanında zarın yüzey alanını arttıran bu düzenleme, aktif iyon taşınmasında rol üstlenen hücrelere özgüdür. Lateral membran kenetlenmelerinin yaygınlığı nedeniyle, ışık mikroskopik olarak incelenen proksimal tübül hücreleri arasında hücre sınırları belirgin olarak seçilemez (6, 12). Böbrek cisimciğinde oluşan glomerül süzüntüsü, emilimin başladığı yer olan proksimal kıvrımlı tübüllere geçer. Proksimal kıvrımlı tübüller süzüntüdeki glikoz ve aminoasitlerin tümünü, suyun ve sodyum klorürün %65'i ve ayrıca fosfat ve kalsiyumun %85'i geri emilir. Glikoz, aminoasitler ve sodyum proksimal tübül hücreleri tarafından bazolateral zarları üzerinde bulunan  $Na^+/K^+$  ATPaz etkinliğini içeren aktif bir süreç ile emilirler. Su ise ozmotik gradyanı izleyerek edilgen olarak emilir. Süzüntüdeki glikoz miktarı proksimal tübülün emme yeteneğini aştığında, idrar miktarı artar ve idrar glikoz içerir. Bütün bu etkinliklere ek olarak proksimal kıvrımlı tübüller, kreatininin yaklaşık %15'ini (14), paraaminohippurik (PAH) asitinise tümüne yakını ve penisilin gibi vücuda yabancı olan maddeleri tübül içine salgılar. Bu olay tübüller salgılama olarak tanımlanan aktif bir işlemdir. Bu maddelerin salgılanma hızlarının incelenmesi böbrek işlevinin klinik değerlendirilmesinde yararlıdır (6).

### **2.4.3.Henle kulpu:**

Henle kulpu, proksimal kıvrımlı tübüllere yapıca çok benzeyen kalın inen kol, ince inen kol, ince çıkan kol ve kalın çıkan koldan oluşan U şeklindeki bir yapıdır (6). Kalın çıkan kol distal kıvrımlı tübüllere yapıca çok benzemektedir. Medullanın dış kısmında 60  $\mu\text{m}$  olan kalın inen kol birdenbire 12  $\mu\text{m}$ 'ye kadar daralarak, inen kolun ince bölümü olarak devam eder (6). Nefronun bu bölümünün lümeni geniştir çünkü duvar epitelinin çekirdekleri yalnızca çok hafif şekilde lümene doğru çıkıntı yapan yassı epitel hücrelerinden oluşur (6, 12). Yassılaştırmış hücreler 1-2  $\mu\text{m}$  kalınlığındadır ve lümene doğru çıkıntı yapan, mercek biçiminde, yakın aralıklı yerleşmiş çekirdekler içerirler (6,7,12). Sıkı bağlantıları ve desmozomları içeren hücrelerarası bağlantılar, hücre çıkıntılarını lateral olarak bağlar. Apikal yüzeylerde, eğer varsa, az sayıda, kısa, kalın mikrovilluslar vardır (12). Bütün nefronlar süzme, emilim ve salgılama işlemlerinde rol alırlar. Ancak jukstaglomerüler nefronların medulla interstisyumunda hipertonic gradyanı sağlama konusunda özel bir önemi vardır, medulla interstisyumundaki hipertonic ortam böbreğin hipertonic idrar üretme yeteneğinin temelini oluşturur. Jukstaglomerüler nefronların henle kulpu çok uzundur ve medullanın derinliklerine kadar inerler. Bu kanallar kısa bir kalın inen kol, uzun ince ve çıkan kollar ile kalın çıkan koldan oluşmuştur. Öte yandan kortikal nefronlarda inen ince kollar çok kısadır ve çıkan ince kol bulunmaz (6). Henle kulpu su tutma işleminde rol oynar; sadece böbreklerinde bu tür yapılar bulunan hayvanlar hipertonic idrar üretebilir ve vücut suyunu koruyabilir. Henle kulpu, toplayıcı kanallardan geçen idrarın yoğunluğunu etkileyen medulla interstisyumundaki hipertonic gradyanı oluşturur. Henle kulpunun inen ince kısmı suya geçirgen olmasına karşın çıkan bölümün tümü su geçirmez. Medulla interstisyumunda idrarın yoğunlaşmış hale gelmesi için gereken medullar hipertonsite gradyanının sağlanması için çıkan kalın kolda NaCl aktif olarak tübülden dışarı atılır. Medüller piramitlerin uçlarındaki interstisyumun osmolaritesi kandan dört kat yüksektir (6).

### **2.4.4.Distal tübüller:**

Henle kulpunun çıkan kalın kolu kortekse girdikten sonra, kıvrılarak distal kıvrımlı tübülleri oluşturur (6). Bu tübül çıkan kol gibi tek katlı kübik epitelle döşelidir (6, 12). Distal tübüller, proksimal tübüllerden daha kısadırlar; kıvrımları daha az komplekstir; distal tübülleri daha küçük ve daha az eozinofilik kübik hücreler döşer;

çapları daha küçüktür ve lümenleri tipik olarak proksimal tübüllerinkinden daha geniştir. Distal tübüllerde fırçamsı kenar ve apikal kanallar bulunmaz. Ancak hücrelerde nadiren kısa ve kalın mikrovilluslar bulunabilir (12). Distal tübül hücreleri proksimal tübül hücrelerine göre daha düz ve daha küçük olduğu için distal tübülde proksimal tübülde olduğundan daha fazla sayıda çekirdek görülür (6). Distal kıvrımlı tübüldeki hücreler iyon geçişinde işlev gösteren daha incelikli bazal membran girintilerine ve bunlara eşlik eden mitokondriyonlara sahiptir (6, 12). Distal kıvrımlı tübüller kortekste izledikleri yol boyunca kendi nefronlarına ait böbrek cisimciğinin damar kutbu ile temas halindedirler. Bu temas yerinde distal tübül afferent arteriol gibi farklılaşır. Distal kıvrımlı tübül hücreleri bu jukstaglomerüler bölgede genellikle prizmatik hale dönüşür ve çekirdekleri de biraraya toplanır. Çoğu hücrenin bazal bölümünde golgi kompleksi bulunur (6, 12). Mikroskopik örneklerde çekirdeklerin yakın yerleşimi yüzünden daha koyu renkli görünen bu distal tübül segmenti makula densa olarak adlandırılır (6, 7,12). Distal kıvrımlı tübüllerde aldosteron yoğunluğu yüksek olduğunda iyon değişimi gerçekleşir; sodyum emilir, potasyum iyonları dışarı verilir. Bu düzenek vücudun toplam su ve tuz içeriğini etkiler. Distal tübül aynı zamanda tübüldeki idrara hidrojen (H) ve amonyum (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) iyonlarını salar. Bu etkinlik kandaki asit-baz dengesinin korunmasında çok önemlidir (6, 7).

#### **2.4.5.Toplayıcı tübül-kanallar:**

Toplayıcı kanalları yaklaşık 20 mm uzunluğundadırlar (7). Kortikal, medüller ve papiller olmak üzere üç bölüme ayrılırlar (7). Toplayıcı kanallar medüller piramidlerin ucuna yaklaştıkça genişler. Küçük toplayıcı kanallar kübik epitelle döşelidir ve çapları ortalama 40 µm'dir. Bu tübüller medullanın derinliklerine doğru indikçe hücrelerin boyu prizmatik olana kadar uzar (6, 12). Piramidlerin ucuna yakın bölümlerde toplayıcı kanalın çapı yaklaşık 200-300 µm'ye ulaşır (6, 7,12). Enine kesitte, toplayıcı kanalların çoğunda geniş bir lümen görülür. Proksimal ve distal tübüller nispeten daha dar bir lümeneye sahiptirler (12). Toplayıcı kanallar, farklı işlevsel özelliklere sahip ve yapısal farklılıkları olan esas (açık) ve interkalat (koyu) hücreler olmak üzere iki tip hücre içerirler (6, 7,10, 12). İdrarın asitleştirilmesinde daha aktif rol oynayan interkalat hücreler, esas hücrelerden daha çok organel, apikal vezikül ve bazal katlantılar içerirler (12). Bu hücrelerde yer alan apikal veziküller yaklaşık 50-200 çapındadır (7). İnterkalat hücrelerin apikal yüzeylerinde daha çok

sayıda, kısa ve kalın mikrovilluslar bulunurken, esas hücreler tek bir silyum taşıyabilirler. Her iki hücre tipinde de sıkı bağlantılar bulunur. Bazal plazma zarları ince bir bazalmembran üzerine yerleşmiştir (12). Işık mikroskopu ile bakıldığında toplayıcı tübül ve kanal hücrelerinin hücrelerarası sınırları net olarak seçilebilir. Kortekste bulunan toplayıcı kanallar, her medüller ışını boşaltan birkaç küçük toplayıcı tübül aracılığı ile dik açılarla birbirine bağlanır. Medullada idrar yoğunlaştırma işleminde en önemli rolü toplayıcı kanallar oynar (6). Toplayıcı kanalların epiteli arka hipofiz tarafından salgılanan arginin vazopressin ya da antidiüretik hormona tepki verir. Eğer su alımı sınırlı ise; antidiüretik hormon salgılanır ve toplayıcı kanalların epiteli glomerül süzütüsünden emilip kan kapillerlerine aktarılan ve böylece vücutta tutulmuş olan suya geçirgen hale gelir. Antidiüretik hormon varlığında, lümen zarında yer alan zar içi tanecikler su emilimi için kanallar oluşturacak şekilde toplanırlar (6, 12).

#### **2.4.6. Jukstaglomerüler kompleks:**

Böbrek cisimciğinin hemen bitişiğinde afferent arteriolün tunica media'sında, kan basıncına duyarlı değişime uğramış düz kas hücreleri bulunmaktadır. Bu hücelere jukstaglomerüler (JG) hücreler adı verilir. Bu hücrelerin sitoplazmaları salgı granülleri içerir ve renin hormonunu dolaşıma salgırlar (1, 2, 3, 4, 6, 8). Renin kan basıncının korunmasında rol oynamaktadır. Distal kıvrımlı tübüllerde bulunan makula densa, JG hücrelerin yer aldığı afferent arteriol kısmına çok yakındır; yalnızca ince bir bazal membran ile birbirlerinden ayrılırlar. Afferent arteriolün bu kısmı ile makula densa birlikte jukstaglomerüler kompleksi oluşturur (6,7, 12). Jukstaglomerüler kompleksin bir bölümünü de işlevleri iyi anlaşılamamış açık renk boyanan hücreler oluşturur. Bu hücelere ekstraglomerüler mesengial hücreler veya lacis hücreleri (polkissen hücreleri) adı verilir (6, 7,9, 12). Afferent arteriolün iç elastik membranı JG hücrelerin bulunduğu bölgede kaybolur (6). Elektron mikroskopla incelendiğinde JG hücreleri eksantrik çekirdeğe, birçok mitokondriya, bol miktarda granüler endoplazma retikulumuna, iyi gelişmiş bir Golgi kompleksine ve çapları yaklaşık 10-40 nm olan salgı granüllerine sahiptir (6, 12). Bu membranla çevrili salgı granüllerinin çoğu kez kristal gibi bir içyapısı olan orta derecede elektron yoğun bir merkezi vardır. Renin hormonu ya da reninin prekürsörünü içerirler ve afferent arteriolün endoteline bitişik olan hücre membranına doğru

yerleşmişlerdir. Bu değişmiş düz kas hücreleri kasılmaktan ziyade, hormonu üretirler ve affarent arteriolün lümenine salgırlar (12). Makula densa hücreleri tübül içi sıvıdaki sodyum klorür iyon içeriğine ve su hacmine duyarlıdır, dolaşıma renin salgısını başlatan moleküler sinyaller üretirler (3, 6, 12).

#### 2.4.7. **Böbrek ara dokusu:**

İdrar tübülleri ile kan ve lenf damarları arasındaki boşluğa böbrek interstisyumu adını verilir (6, 10). Böbrek interstisyumu kortekste (%7) çok küçük bir alanı kaplarken, medullada (%20) bu alan artar (6, 10). Böbrek interstisyumunda fibroblastlar, makrofajlar ve interstisyel hücreler olmak üzere 3 tip hücre bulunur (7). Böbrek korteksinde bulunan interstisyel hücrelerin fibroblast-benzeri hücreler (tip 1 kortikal interstisyel hücreler) ve lenfosit-benzeri hücreler (tip 2 kortikal interstisyel hücreler) olmak üzere iki tipi vardır. Medullada yer alan interstisyel hücrelerin ise; tip 1, tip 2 ve tip 3 interstisyel hücreler olmak üzere üç tipi vardır (6, 19). Bu hücreler dışında kollajen lifleri ve esasen medullada proteoglikandan zengin, yüksek düzeyde su tutan ara madde içeren az miktarda bağ dokusu bulunur (6). Medullada yer alan interstisyel hücreler sitoplazmalarında çok sayıda lipid damlacıkları içerirler (6, 7). Bu hücreler, karaciğerde medullipin 2'ye dönüşen medullipin 1'i sentezlerler. Bu madde kan basıncını düşüren potent bir vazodilatördür (7, 8).

### 2.5. **Böbrek Fonksiyonunu Değerlendirmede Kullanılan Bazı Kavramlar:**

#### 2.5.1. **Klirens Kavramı:**

Böbreklerde plazma belli maddelerden arındırılmaktadır. Böbreklerin bir dakika içerisinde herhangi bir nekadar plazmadan arındırdığını belirlemek için klirens değeri kullanılır. Yağın olarak kreatin kliransı aşağıdaki formüle göre hesap edilmektedir:

Plazma klirensi (pk) = Maddenin idrardaki konsantrasyonu(mg/ml) x idrar hacmi (ml/dk)/  
Maddenin plazmadaki konsantrasyonu (mg/ml) (16).

#### 2.5.2. **Kreatinin:**

Kaslar kreatin fosfat içerirler. Kasların öncelikle kullandığı metabolik yakıttır. Her gün kas kreatinin % 20 kadarı spontan olarak dehidrate olur. Dolaşıma girer ve kreatinin (Cre) atık ürünü oluşur. Bundan dolayı kreatinin düzeyleri kas kütesine göre değişebilir ve kas kütesinde değişiklik oluncaya kadar yaklaşık olarak daima aynı düzeyde kalır. Cre düzeyi normal koşullarda çok az değişir ve moleküler ağırlığı 113 dalton'dur. Bundan dolayı glomerüllerden filtre edilir ve tübüllerden

reabsorbeolmaz. Yüksek serum konsantrasyonlarında böbrek tübüleri tarafından küçük miktarlarda sekrete edilir. Normal kreatinin değerleri erkeklerde 0,8-1,3 mg/dl kadınlarda ise 0,6-1 mg/dl' dir (11,16).

### **2.5.3. Kan üre azotu**

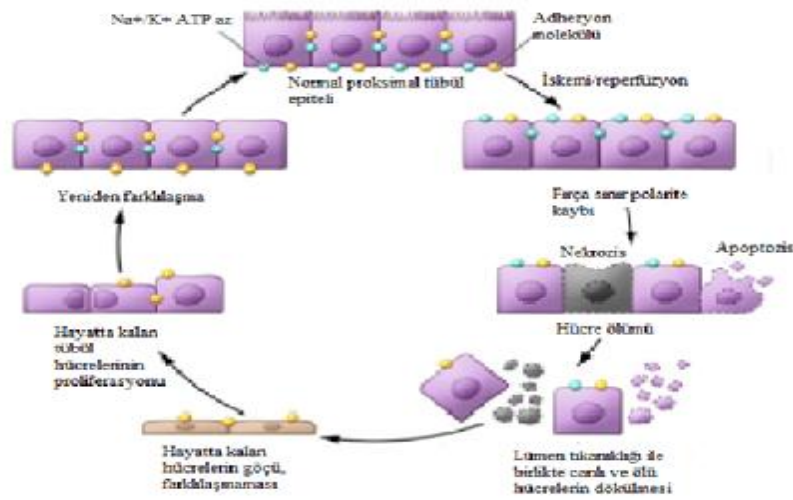
Kan üre azotu (BUN) proteinlerin oksidatif katabolizması sonucunda günlük olarak atılan nonprotein nitrojen atıklarının büyük bir bölümünü (%75' den fazlasını) oluşturur. Proteinler nitrojen atomlarının uzaklaşmasıyla detoksifiye olarak aminoasitlere yıkılırlar. Amonyak oluşur; üreye dönüşür ve böylece toksisitesi kaybolur. Böbrek ürenin atılımı için tek önemli yoldur. Ürenin moleküler ağırlığı 60 daltondur. Glomerüller tarafından filtre edilir. Filtre edilen ürenin %40 ile %60' ı medülar toplayıcı tübüllerdenantidiüretik hormon (ADH)'ın etkisiyle reabsorbe edilir. Reabsorbe edilen üre, böbrek medullasındaki yüksek osmolariteyi meydana getirir. Bu reabsorbsiyon miktarı GFR'ye, böbrek kan akımına ve idrar akım hızına bağlıdır. Normal BUN aralığı 7-21 mg/dl' dir (11,16).

## **2.6. Böbrek İskemi/Reperfüzyonu:**

### **2.6.1. İskemi:**

Arteriyel ya da venöz kan akımının, çeşitli nedenlerle (organ nakli, koroner anjioplasti, koroner bypass gibi çeşitli cerrahi işlemler, trombolitik tedavi ve hipovolemik şok sonrası) azalmasına veya durmasına bağlı, organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanır. İskemi, hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarı; görülen ciddi bir sorundur(17, 18, 19, 20).





**Şekil -5:** İskemik hasar modeli(21).

İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hipoksi meydana gelir. İskemik hasarın derecesi hipoksinin derinliğine ve şiddetine bağlıdır. Adenozin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır(17). Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan sodyum potasyum ATPaz ( $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATP az) pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde sodyum ( $\text{Na}^+$ ) ve kalsiyum ( $\text{Ca}^{+2}$ ), hücre dışında potasyum ( $\text{K}^+$ ) iyon konsantrasyonları artar (22,23) . Hücre içinde  $\text{Ca}^{+2}$  iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir(24). Normalde 3-4 dakikalık iskemi, yüksek enerjili fosfat olan fosfokreatinin ile adenozin trifosfat (ATP) depolarının boşalması ve enerji bağımlı membran iyon pompalarının normal iyon gradiyentini gerçekleştirememesine sebep olur (25).

Hücrel ATP'de azalma ile birlikte adenozin monofosfatta (AMP) artma da fosfofrüktokinaz enzimini uyararak, glikojenden ATP üretimi ile hücrenin enerjisini temin amacıyla gelişen anaerobik glikoliz hızını artırır.  $\text{O}_2$  basıncının azalması sonucu hücre içi adenozin trifosfat, adenozin monofosfata dönüşür, AMP miktarının artmasıyla fosfofrüktokinaz enzimi uyarılır ve anaerobik glikoliz hızı artar(27). Aerobik glikolizin durması ve anaerobik glikolizin devam etmesi sonucunda, aerobik glikolizle elde edilen ATP 'nin ancak % 7'si elde edilmektedir (27). Artan glikoliz

de, fosfat esterlerinin hidrolizi ile laktik asit ve inorganik fosfatların birikimine neden olarak hücre içi pH'nın düşmesine yol açar.

Sonraki olay ribozomların granüllü endoplazmik retikulumdan (GER) ayrılması ve polizomlardan monozomların oluşumu ile protein sentezinde azalmadır. Mitokondriler, endoplazmik retikulum ve gerçekte tüm hücrelere ozmotik regülasyonun kaybından dolayı çoğunlukla şişmiş görünür. Eğer O<sub>2</sub> eski seviyesine dönerse tüm bu değişimler reversibledir, bununla beraber eğer iskemi daha uzun süre devam ederse irreversible zedelenme gelişir (28).

Hücre iskeletinin bozulması ve böbrekte özellikle proksimal tübüllerdeki mikrovillusların kaybıyla devam eden süreç, tübüllerde yüzey alanının ve emilim etkinliğinin azalmasıyla sonuçlanır (29). Tübüllerdeki bu fonksiyon bozukluğu, distal bölümlere ulaşan solüt miktarını artırır, bu da tübüloglomerüler feedback mekanizmasıyla böbrek medullasında kortekse göre az olan kan akımını vazokonstriksiyonla daha da azaltır. Hem hayvan hem de insan böbrek iskemi-reperfüzyon durumlarında reperfüzyondan sonra toplam böbrek kan akımındaki ve GFR miktarındaki düşmenin sebebinin bu glomerular feedback mekanizması olduğu düşünülmektedir (29,30,31).

Post-iskemik dokular lökositleri aktive edip ve kendine çeken inflamatuvar araçlar üretir. Tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) gibi inflamatuvar araçlar, lökositleri ve endoteli aktif eder ve adhezyon moleküllerinin yapımını artırır (32). Lökositlerin kendisi de inflamatuvar araçlar üretir ve inflamasyonun artmasına sebep olur (33). İskemi reperfüzyon (I/R) sonrası dokulara zarar veren durumlardan birisi de aktif nötrofillerin damar içinde kümeleşerek, aktif trombositlerle birlikte damar endoteline yapışması, mikrovasküler tıkanmaya ve böylece o bölgedeki kan dolaşımının durmasına sebep olmasıdır (34).

### **2.6.2. Dönüşümsüz zedelenme:**

Morfolojik olarak irreversible zedelenmeye mitokondrilerin daha şiddetli vakuolizasyonu ve mitokondri matriksinde şekilsiz, kalsiyumdan (Ca<sup>+2</sup>) zengin yoğunlukların birikimi eşlik eder. Burada aynı zamanda plazma membranlarının geniş hasarı ve lizozomların şişmeside vardır. Özellikle iskemik alan yeniden kanlandırılırsa hücre içine pasif Ca<sup>+2</sup> akışı olur. Bu da, Ca<sup>+2</sup> 'a bağlı değişiklikleri ortaya çıkarır. Aşırı geçirgen membranlardan proteinlerin, esas koenzimlerin ve ribonükleik

asitlerin kaybı devam eder. Hücrelerden ATP'nin oluşumu için önemli metabolitler de sızabileceğinden, hücre içi yüksek enerjili fosfatlar daha fazla azalır. Lizozomal membranların zedelenmesi enzimlerin sitoplazma içine sızmasına yol açar. Asit hidrolazlar, iskemik hücrenin azalmış hücre içi pH'sında aktifleşerek sitoplazmik ve nükleer elemanları parçalar. Hücre ölümünden sonra hücresel elemanlar lizozomal hidrolazlarla sindirilmeye devam eder. Hücresel enzimlerin hücre dışına yaygın olarak sızması yanı sıra interstisyumdaki hücre dışı makro moleküllerin de hücre içine geçişi söz konusudur. Ölü hücreler sonunda "miyelin şekiller" olarak tanımlanan büyük helezon şeklinde fosfolipid kitleleri haline gelebilir. Bu fosfolipid çökeltiler daha sonra ya diğer hücreler tarafından fagosite edilir veya yağ asitlerine parçalanır(34,35,36).

### **2.6.3. Dönüşümsüz zedelenme mekanizmaları:**

Hipoksi için yukarıda tanımlanan olaylar dizisi en başından itibaren, ölümcül olarak zedelenen hücrenin lizozomal enzimlerle sindirimine kadar bir bütün gibidir. İrreversibilitayı iki olay tanımlar; birincisi mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun (oksidatif fosforilasyon ve ATP üretiminin kaybı) kan akımı veya oksijenlenmenin düzelmesinden sonra bile geri döndürülmesindeki yetersizlik, ikincisi membran fonksiyonlarında ileri derecede bozukluğun gelişimidir (37).

Dönüşümsüz hücre zedelenmesinin patogeneğinde hücre membran hasarını ana faktör olarak destekleyen hatırı sayılır derecede çok kanıt vardır. Hacim regülasyonunun kaybı, hücre dışı moleküllere karşı permeabilite artışı ve ultrastrüktürel olarak gösterilebilen plazma membran defektleri irreversible zedelenmenin en erken evrelerinde bile meydana gelir (38).

1) Membran fosfolipidlerinin ilerleyici kaybı. İskemik karaciğerde, irreversible zedelenmede membran fosfolipidlerinde belirgin olarak azalma vardır. İskemiye bağlı sitoplazmik  $Ca^{+2}$  artışı ile endojen fosfolipazların aktivasyonunun artan parçalanmaya nasıl yol açtığına bir açıklama olabilir. İlerleyici fosfolipid kaybı, ATP bağımlı reaçilasyonun veya fosfolipid sentezinin azalmasına sekonder gelişebilir.

2) Hücre iskelet anormallikleri. Hücre içi kalsiyum artmasıyla aktive olan proteazlar hücre çatısına zarar verebilir. Hücre şişmesinde, bazı zedeleyiciler hücre

membranının hücre iskeletinden ayrılmasına neden olarak membranı gerilmeye ve yırtılmaya hassas kılabilir.

3) Toksik oksijen radikalleri.

4) Lipid yıkım ürünleri. Fosfolipid parçalanması sonucu iskemik hücrelerde biriken bu katabolik ürünler membranlar üzerinde deterjan etkisi yapar(34,35,36).

Membran hasarının mekanizmaları ne olursa olsun sonuç  $Ca^{+2}$  'un bol miktarda hücre içine girmesidir. Hücre içi  $Ca^{+2}$  'un artması hücreye potansiyel zararlı etkilere sahip çok sayıda enzimi aktif hale getirir.  $Ca^{+2}$  'un aktive ettiği enzimler fosfolipazlar (membran hasarına yol açar), proteazlar (membran ve sitoskeletal proteinleri parçalar), ATP'azlar (ATP tüketilmesini hızlandırır) ve endonükleazlardır (kromatin parçalanması yapar) (39). Hücrenin zedelenme mekanizmalarında 4 ana sistem etkilenir;

Hücre membran bütünlüğü, hücre ve organellerinin iyonik ve osmotik dengesi, aerobik solunum, mitokondrial oksidatif fosforilasyon ve ATP oluşumu, protein sentezi, hücrenin genetik aparatı(40).

Hücre fonksiyonları hücre ölümünden önce kaybolur. Hücre hasarının morfolojik değişiklikleri hücrede bazı kritik biyokimyasal sistemlerin bozulmasından sonra görünür hale gelir. Öldürücü hasarın morfolojik bulguları, geri dönüşümlü hasarın gelişmesinden daha çok zaman alır. Hücre şişmesi geri dönüşümlü bir hasardır ve dakikalar içinde görülebilir. Hücre ölümünün ışık mikroskobu bulguları iskemiden 10-12 saat sonrasına kadar görülmez, geri dönüşümsüz hasar ise 20- 60 dakika içinde oluşabilmektedir(39,40,41).

İrreversible zedelenme morfolojik olarak hücrelerde şiddetli şişme, plazma membranında aşırı hasar ve lizozomda şişme ile karakterizedir. Mitokondrial matriksde büyük, kümelenmiş amorf dansiteler gelişir. Membranlardan protein, enzim, koenzim ve ribonükleik asitlerin kaybı vardır. ATP'nin oluşumu için gerekli metabolitler de sızdırılır. Bu dönemde lizozomal membranlarda hasar gözlenir ve lizozomal enzimler sitoplazmaya geçer. Hücresel komponentler enzimatik sindirime uğrar. Ölümden sonra hücre komponentleri ilerleyici olarak parçalanır, diğer hücreler tarafından fagosite edilir veya yağ asitlerine parçalanır. Yağ asitlerinin kalsifikasyonu ile  $Ca^{+2}$  sabunlarının oluşumu görülebilir (40).

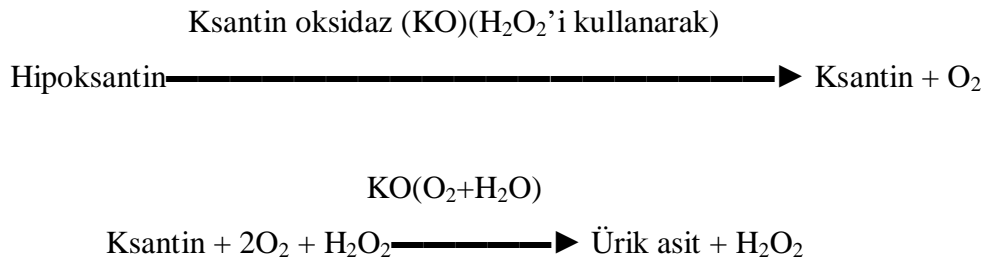
İki olay dönüşümsüz zedelenmenin temelinde yatar; birincisi belirgin ATP azalmasının neden olduğu olayları geri döndürmede yetersizlik, ikincisi membran fonksiyonunda belirgin bozukluk gelişimidir (41).

#### 2.6.4. Reperfüzyon:

Reperfüzyon, kan akımının ve bununla birlikte  $O^{+2}$ 'nin hipoksik dokuya tekrar sağlanmasıdır, yani dolaşımın restorasyonudur. Eğer hücre irreversible şekilde hasara uğramadıysa, bu sayede enerji depoları ve hücrel hemostazis geri kazanılmış olur. İskemik organa tekrar kan sunumu yapılırken hücrelerin geri dönüşümsüz hasara uğramaları söz konusudur (42). Reperfüzyon iskeminin tek başına oluşturduğu hasardan çok daha fazla hasar oluşturabilir (43).

Ksantin oksidoredüktaz, hipoksantin gibi pürinlerin iki aşamalı oksidasyonu ile ksantin üzerinden ürata dönüşmesini sağlayan bir enzimdir. Dehidrogenaz serbest oksijen radikali oluşumuna neden olmazken, oksidaz elektron kabul edici olarak moleküler oksijeni kullanır ve süperoksit ( $O^{-2}$ ) radikalinin ortaya çıkmasına neden olur. Ksantin oksidoredüktaz'ın normal dokularda dehidrogenaz şekli bulunurken iskemi, irreversible proteoliz ve yan grupların reversible oksidasyonu sonucunda oksidaz şekline dönürebilir (44,45).

#### Reperfüzyonda:



İskemi ile hücre içindeki ATP ve adenzin di fosfat (ADP) gibi yüksek enerjili adenin bileşikleri AMP'ye indirgenir. Sonuçta hücre içi AMP konsantrasyonu artar. Artmış bulunan AMP'den adenzin ayrılır. Adenzin sırayla inozin ve hipoksantine dönüşür. ATP azalması ve membranların iyon gradiyentini koruyamaması nedeniyle hücre içine  $Ca^{+2}$  girişi olur (46). Hücre içine giren  $Ca^{+2}$ , proteazları aktive ederek ksantin dehidrogenazdan ksantin oksidaz oluşmasını sağlar. Ksantin oksidaz aracılığı ile de hipoksantinden ksantin, bundan da geri dönüşümsüz olarak ürik asit oluşur. Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile

hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılar, zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir(12,30). Reperfüzyon sırasında dokuya gelen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri (SOR) süperoksit ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşur. SOR dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar, bu olaya reperfüzyona bağlı doku hasarı denir. Bununla birlikte hipoksantin yıkılmaya başlamadan önce, yeterli oksijen akımı sağlanırsa, hipoksantin ve diğer bileşiklerden tekrar ATP oluşur. Bu bileşiklere “fonksiyonel pürin bazı” denmektedir (47,48,49). İskemi sonrası dokuda diğer önemli bir serbest oksijen radikalleri kaynağında nötrofillerdir. Nötrofillerin membranlarında bulunan nikotinamid adenin dinükleotid fosfata (NADPH) bağlı oksidaz sistemleri serbest oksijen radikali oluşumunun en önemli kaynaklarından birini oluşturur. Bu enzim normalde inaktiftir. Bakteriler, mitojenler ya da sitokinlerce aktive edildiklerinde  $O_2$ 'nin hidrojen perokside ( $H_2O_2$ ) ve süperoksit anyonuna ( $O_2^-$ ) dönüşmesine yol açar. Süperoksit oluşumunda nötrofil kemotaksisinin de önemli rolü vardır.  $Ca^{+2}$ , fosfolipaz A2 aktivitesini sağlanması sonucunda ortaya çıkan lökotrienlerin aktive ettiği polimorfonükleer (PMN) hücreler üzerinden de süperoksit oluşumu gerçekleşmektedir. PMN kaynaklı reperfüzyon hasarı mikrovasküler alana kemotaktik birikimi ve mikrovasküler endotelyuma adezyonuyla karakterizedir(50).

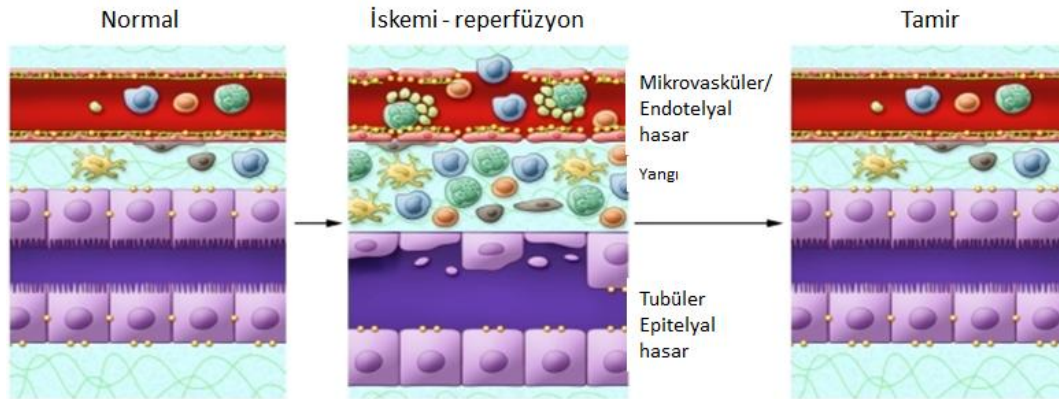
Nötrofillerin mikrovasküler endotele adezyonunda en önemli rolü nötrofil membran molekülü olan glikoprotein CD18 oynamaktadır. Monoklonal antikolar CD18 reseptörlerini inhibe ederek nötrofillerin kapiller endotele kemotaksi, agregasyon ve adezyon etkilerini inhibe ederler. Nötrofil bağımlı reperfüzyon hasarında nötrofil adezyonu en önemli basamaktır (51).

Ancak önemli olan bir başka nokta ise ksantin oksidaza bağımlı serbest oksijen radikallerinin etkinliği saniyeler içinde kaybolmakta ve hipoksantin substratının tükenmesiyle tamamen durmaktadır. Buna rağmen, nötrofil bağımlı serbest oksijen radikali oluşumu sınırsızdır. Nötrofilin aktivasyonu devam ettiği ve ortamda oksijen bulunduğu sürece NADPH bağımlı serbest oksijen radikali üretimi devam edecektir (17, 22).

İskemi reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi tam olarak açığa kavuşmamış, birbiriyle ilişkileri net olarak ortaya konulmasa da hücrel ve humoral olaylar dizisidir.

Reperfüzyon, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına; post-kapiller venüllerde ise plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur (35). Endotel hücreleri KO enzimi bakımından zengindir ve reperfüze olan dokudaki endotel hücrelerinden daha fazla süperoksit radikali oluşur, böylece nitrik oksit (NO) oluşumu azalır (35,52). NO salınımında azalma, arteriollerde endotel bağımlı dilatasyonda bozulma, lökosit-endotel adhezyonunu sağlayan adhezyon moleküllerinin yapımında artış, komplemanların aktivasyonu, platelet aktive edici faktör (PAF) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) gibi inflamatuvar araçların yapımında artış meydana gelir (35, 53).

İskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücrel ve humoral olaylar serisidir (54,55). Özellikle; serbest oksijen radikalleri, polimorf nükleuslu lökositler (PMNL)(nötrofil), kompleman sistemi, endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında yer almaktadır(55).



**Resim -6:**Normal tubüler yapı ve mikrovasküler iskemik hasar (21)

## 2.7. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres:

Serbest radikal, yörüngesinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran molekül veya atomdur. Normalde elektronlar yörüngelerinde çiftler halinde bulunur ve ters spinde dönerler. Serbest radikaller ortaklanmamış elektronlara sahiptir ve bu nedenle oldukça reaktiftirler, bu yüzden çevrelerindeki atom ve moleküllere saldırırlar. Kısa ömürlüdürler, radikal olmayan maddelerle etkileşime girerek onları da radikal yaparlar ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatırlar(56). Yüksek konsantrasyonlarda serbest oksijen radikalleri (SOR) temel yapı taşı olan makromoleküllere zarar verirler (57).

### 2.7.1. Serbest Radikallerin oluşumu:

SOR aerobik hücrelerde, normal metabolizma oluşum esnası dışında; inflamasyon, İ/R, radyasyon, bazı ilaçların(siklosporin A) alınması ve hiperoksi gibi durumlarda da meydana gelir.Serbest oksijen radikallerinin endojen ve ekzojen kaynakları vardır. Bunlar;

#### Endojen Kaynaklar;

- Mitokondriyal elektron transport sistemi
- Mikrozomal elektron transport sistemi
- Endoplazmik retikulum ve nükleer Membran elektron transport sistemi
- Siklooksijenaz, ksantin oksidaz, lipooksijenaz
- Eozinofiller, nötrofiller, monosit ve makrofajlar
- Endotelial hücreler
- Otoksidasyon reaksiyonları
- Okside glutatyon

#### Eksojen Kaynaklar

- İlaç oksidasyonları
- Sigara Radyasyon
- Güneş ışığı ve ısı şoku(57,58,59).

### 2.7.2. Serbest Radikallerin Hücre Yapılarına Etkileri:



Serbest radikaller vücuttaki oksidan antioksidan dengesinin oksidan lehine bozulduğu durumlarda enzimler, proteinler, lipitler ve deoksiribonükleik asit (DNA) gibi hücrel yapılar zarar verirler (60).

### **2.7.3. Proteinler üzerine etkileri**

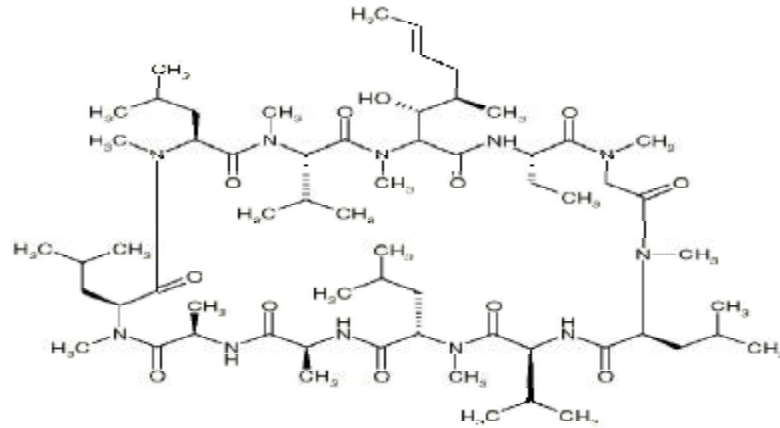
Proteinler serbest radikallere karşı doymamış yağ asitlerinden(PUFA) daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikalden etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur (27).

### **2.7.4. Lipitler üzerine etkileri**

Lipidler hücre zarlarının yapısında (PUFA) şeklinde bulunurlar. Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı diğer biyomoleküllere göre daha hassastırlar. PUFA' ların serbest radikallere maruz kalması lipit peroksidasyonu ile sonuçlanır (63). Reaksiyonda ilk aşama PUFA' ların metilen grubunun  $^1O_2$  veya  $HO^{\cdot}$  radikaliyle tepkimeye girmesi sonucu başlar. Molekül içindeki çift bağın yer değiştirmesiyle dien konjugatları ve sonrasında lipit radikalinin oksijen molekülüyle tepkimeye girmesiyle lipit peroksil radikali ( $LOO^{\cdot}$ ) oluşur (64).  $LOO^{\cdot}$  radikali hücre membranındaki diğer PUFA' ları etkileyerek yeni lipit radikallerinin meydana gelmesine sebep olur. Reaksiyonun ilk aşamasında PUFA' lardan koparılan hidrojen atomları  $LOO^{\cdot}$  radikaliyle birleşerek lipit hidroperoksitlere ( $LOOH$ ) dönüşür. Bu şekilde kendini tekrarlayan otokatalitik reaksiyonlara dönüşerek devam eder.

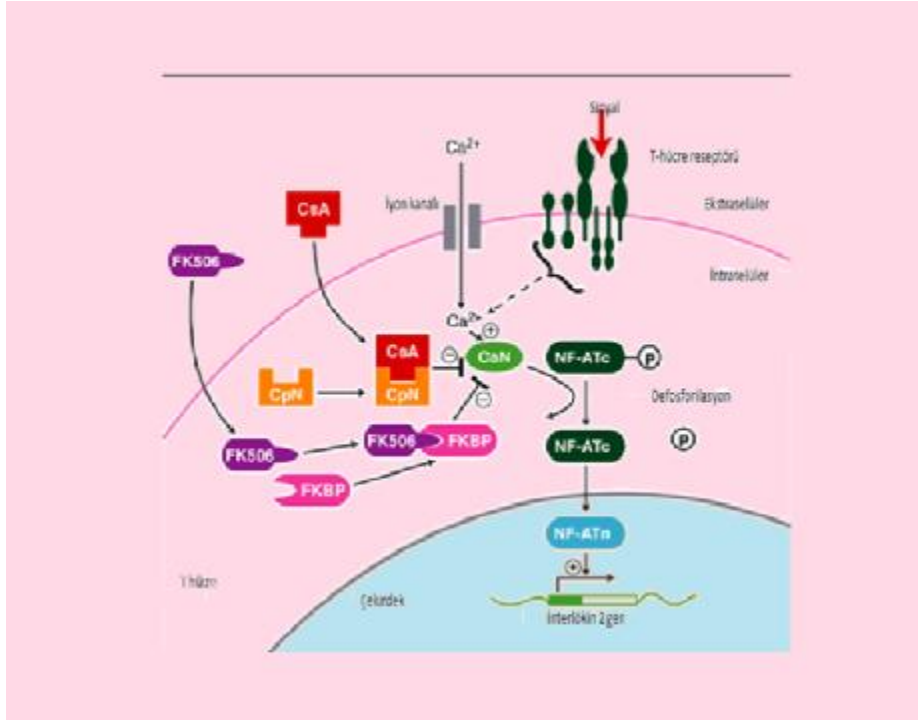
Lipid peroksidasyonu hücreler için çok zararlı olabilen etkiler oluşturur (60). Hücre membranındaki deformasyonlar membran geçirgenliğinin bozulmasına ve hücre içi iyon dengesinin bozulmasına sebep olabilir. Hücre membranındaki reseptörlerin ve enzimlerin etkilemesiyle hücrel fonksiyonların bozulmasına neden olabilir (62).  $LOOH$  hücrelerde yıkıma uğradığında çoğu aldehitlere dönüşür. Üç ya da daha çok çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu yine bir aldehit olan malondialdehit (MDA) meydana gelir. MDA membran komponentlerinde polimerizasyon ve çapraz bağlanmalar yaparak; deformasyona, enzim aktivitesinde ve iyon transportunda bozulmaya, hücre yüzeyindeki bileşenlerde agregasyona sebep olarak membran yapısını bozar (63).

## 2.8. Siklosporin A



Şekil -7: Siklosporin A'nın kimyasal yapısı(73).

Siklosporin A, *Tolypocladium İnflatum* Gams isimli fungusdan elde edilen, 11 aminoasitten oluşan, nötral, lipofilik bir polipeptiddir (63,64,685). Cs A 25 yıldır organ naklinde doku reddini önlemek için(66) yoğun olarak kullanılan ve kullanıma girdikten sonra gerek greft, gerekse hasta sağ kalımına olumlu katkıları olan ve otoimmün hastalıkların tedavisinde uzun süre kullanılan kuvvetli bir immünsüpresif ajandır (67,68). Halen kullanılan immunosüpresif ilaçlar arasında etkinliği en yüksek olanlardan biridir (63,64,65).İnterlökin 2 (IL2) transkripsiyon ve sentezini inhibe eden siklik bir polipeptittir (69). İmmünsüpresif etkisini başlıca aktive T helper hücre yüzey reseptörü siklofilin ile birleşerek, hücre içine girer ve kalsinörini inhibe eder. Kalsinörin inhibisyonuyla İL-2  $\alpha$  sentezi bloke olur ve sitotoksik T hücre oluşumunu engeller.Cs A, T lenfosit proliferasyonunu ve sitotoksik T lenfosit aktivasyonunu baskılar. Efektif hiçbir hücreyi öldürmediği ya da lizise uğratmadığı için proflakside yararlı olduğu halde, rejeksiyonun tedavisinde yararlı değildir (70). Cs A'nın etki mekanizması şekil 8'de şematize edilmiştir.



Şekil -8: Siklosporin A'nın etki mekanizması(70).

Ancak ilacın karaciğer, böbrek ve kalpteki yan etkileri kullanımını kısıtlamaktadır (70). Bilinen yan etkileri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

### 2.8.1. Siklosporin A'nın toksik etkileri

<b>Renal</b>	Nefrotoksisite, hemolitik üremik sendrom
<b>Hepatik</b>	Hepatoksisite
<b>Neoplastik</b>	Lenfomalar, memede fibroadenom, squamoz hücreli karsinom
<b>Dermatolojik</b>	Kalınlaşma, raş, hipertrikoz
<b>Gastrointestinal</b>	Anoreksi, bulantı, kilo alamama
<b>Metabolik</b>	Hiperkalemi, hiperürisemi, hipomagnesemi, hiperglisemi
<b>Nörolojik</b>	Tremor, konvülsiyon, uzuvlarda yanma hissi, huzursuzluk, depresyon
<b>Kardiyovasküler</b>	Sıvı yüklenmesi, hipertansiyon, hiperkolesterolomi, Raynaud fenomeni, intravasküler koagülasyon

<b>Dental</b>	Dişeti büyümesi
<b>Hematolojik</b>	Hemolitik anemi

**Şekil -9:** Siklosporin A'nın toksik etkileri

### 2.8.2. Siklosporin A'nın Nefrotoksik Etkileri:

CsA'nın nefrotoksik yan etkisi böbrek nakili yapılan hastalarda ilk kez 1970'lerin sonunda bildirilmiştir. CsA'nın yaptığı akut nefrotoksisite, ilaç azaltıldığında veya kesildiğinde ortadan kalkabilir (71,72). Ancak uzun süreli ve yüksek doz tedavisinde akut, subakut ve böbrek yetmezliği meydana geldiği ileri sürülmüştür.

### 2.8.3. Nefrotoksik mekanizmalar:

Akut nefrotoksisitede, arter ve arteriyollerde endotelial hasar, vasokonstriksiyon, iskemik akut böbrek yetmezliği, GFR ve renal kan akımında azalma.

Kronik CsA nefrotoksisitesi; kronik renal fonksiyon bozukluğunun önemli bir sebebidir. CsA'nın renal tübüler epitel hücrelerinde, vasküler endotel hücrelerde ve mezenşial hücrelerde meydana getirdiği apoptozis doza ve zamana bağlı olarak tubulointerstitial fibrozis meydana gelir(73).CsA'nın toksik etkilerini açıklamak üzere deneysel ve klinik çalışmalarla desteklenen birkaç mekanizma öne sürülmektedir (74,75). Xab. ve ark. rapor ettiği mekanizmalar şekil(9), bu immunsupresifin dokularda oluşturduğu hasarın mekanizması tam anlamıyla anlaşılacakla birlikte, elde edilen veriler serbest oksijen radikallerinin ve oksidatif stresin CsA'ya bağlı patogeneze rolü olduğunu düşünülmüştür(69,76,77). CsA'nın nefrotoksik hasarının klinik müdahalesi olmadığını rapor etmişler.

Xiao ve ark.'nın rapor ettiğine göre, Cs A nefrotoksisitesi ile ilgili 4 temel hipotez olduğunu ileri sürmüşler. Bunlar; şekil ( 9)'da da şematize edildiği gibi;

1. Mitokondrial yol
2. Endoplazmik Retikulum yolu
3. Anjiotensin 2 yolu
4. Hipertonisite yolu

CsA nefrotoksisitesi için en çok kabul edilen bir hipoteze göre, Cs A'nın ilk etki yeri glomerüler arteriölün başlangıç kısmıdır, burada vasküler tonusu artırır (78). Cs A'nın afferent arteriollerde vazokonstriksiyon yaparak nefrotoksisiteye neden olabileceği ileri sürülmüşse de bu yan tesirin mekanizması henüz tam olarak

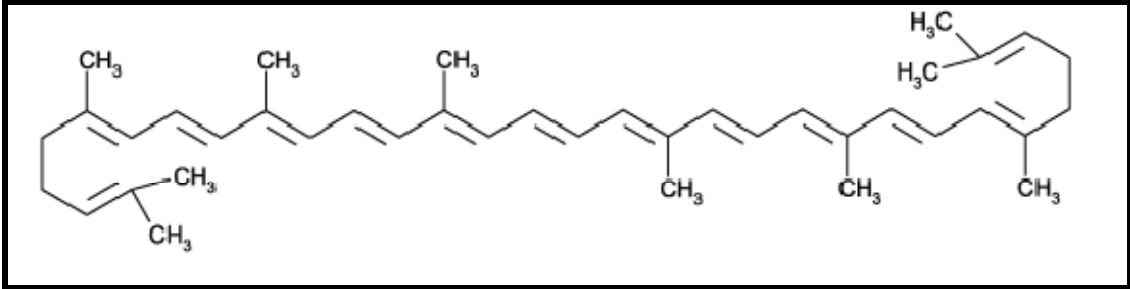
açıklanamamıştır (76,83). CsA nefrotoksisitesinde ileri sürülen diğer bir mekanizma da, CsA'nın hücre membranında yaptığı lipit peroksidasyonu sonucunda serbest oksijen radikallerini arttırarak oksidatif hasar oluşturmasıdır (79,80). Akut CsA nefrotoksisitesi kendini geri dönüşümlü olarak böbrek kan akımında azalma ve glomerüler filtrasyon hızında düşüş ile gösterir; kronik nefrotoksisite ise geri dönüşümsüz tubulointerstisyel fibrozis ile karakterizedir (81, 82). Vazokonstrüksiyona bağlı olarak gelişen iskemi ve nekroz sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin de CsA'nın nefrotoksik etkisinde rol oynayabileceği düşünülmüştür.

### 2.9. Likopen:

Likopen, başta domates olmak üzere greyfurt ve karpuz gibi kırmızı sebze ve meyvelerde bulunan bir karotenoiddir (tablo-2). Likopen tüm karotenoidlerde olduğu gibi asiklik  $C_{40}H_{56}$  yapısından türemiştir. 11 konjuge ve 2 konjuge olmayan çift bağlı açık zincirli bir hidrokarbondur (Şekil-7) (94,95). İnsanlar tarafından bitkisel besinlerle alınan karotenoidler, A-Vitamiyi prekürsörü olarak görev yaparlar ancak pro-vitamin A aktivitesine sahip değildir (96). Karotenoidlerin başlıcaları,  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten ve  $\beta$ -kriptoksantindir. En fazla bulunan ve en etkili olanı  $\beta$ -karotendir.  $\beta$ -karoten A vitamini prekürsörü olma özelliği yanında biyolojik önemi lipid antioksidanı olması ve özellikle singlet oksijen olmak üzere serbest radikalleri nötralize etmesidir (87). İnsan karaciğeri, serum, akciğerleri, meme, göz ve serviks gibi organları ve derisinde miktarları belirlenmiş, buralarda depolandığı gösterilmiştir (100). Likopen insan serumunda da bulunur. Karotenoidlerin özellikleri ve fonksiyonları onların kimyasal yapısına bağlıdır. Likopen  $\beta$ -karotene göre in-vitro sistemlerde antioksidan olarak daha büyük radikal toplama aktivitesine sahiptir (96). Fotosentezde olduğu gibi enerji transfer reaksiyonlarında en önemli faktörün özellikle tekli ve konjuge çift bağlı bir sistemle 40 C ünitesinin ( $C=C$ ) kuyruk kuyruğa bağlanması ile şekillenen tetraterpen yapısında uzamalarının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Molekülün bu özelliği singlet oksijen ( $^1O_2$ ) toplamalarına izin verir. Karotenoidlerin bu radikal toplama özellikleri sayesinde, çoğu epidemiyolojik çalışmalardan sağlanan delillere göre, yüksek oranda karotenoidce zengin sebze ve meyve alınımı kolon, mide ve prostat kanseri, kalp rahatsızlıkları,

dejeneratif göz hastalıkları gibi ciddi rahatsızlıklara karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (88, 89, 90, 91, 92, 93,97,99,99).

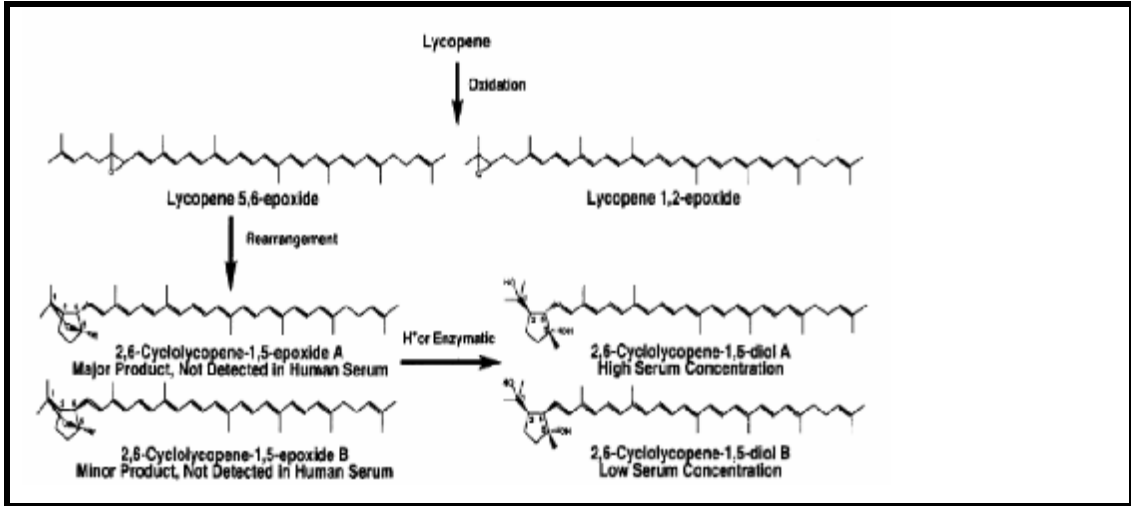
Likopenin kimyasal yapısı şekil:10'da gösterilmiştir.



**Şekil-10:**Likopenin kimyasal yapısı (94).

Likopenle m- kloroperbenzoik asid oksidatif reaksiyonları ile ilk ürünün 1,2 ve 5,6 pozisyonlarında okside olduğu saptanmıştır. Likopen 1,2-epoksit oldukça stabil özellikte iken 5,6 epoksit türevi anstabilidir ve kolayca siklize olarak 2,6 siklolikopen-1,5-epoksit A ve B karışımları haline gelir. Her ne kadar insan serumunda bu ilk türevler saptanamamışsa da uygun olan siklik dioller 2,6-siklolikopen1,5-diolleri tesbit edilmiştir. Bu likopen metabolitleri domates kökenli ürünlere bağlı olabilir. Ancak serumdaki bu metabolitlerin miktarı sadece çiğ domates ve domates kökenli ürünlerdeki düşük miktarlarla açıklanamaz. Bu nedenle şu anda insan serumundaki likopen metabolitlerinin kaynağı çok iyi anlaşılamamaktadır (101, 102, 103, 104).

Likopenin metabolik etki mekanizması şekil:11'de gösterilmiştir.



**Şekil-11:**Likopenin metabolik dönüşümü

Son yıllarda deneysel verilerden sağlanan delillere göre insanlar 50 den fazla diyeteye bağlı karotenoidi absorbe ve metabolize edebilme yeteneğindedir, insan serumu ve sütünde 25 karotenoid ve dokuz metaboliti saptanmış ve tanımlanmıştır.  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ - karoten,  $\beta$ -kriptoksantin, lutein ve likopen insan kanında en bol bulunan karotenoidler arasındadır.

Karotenoidlerin antioksidan aktiviteleri multilamellar lipozomlarda lipit peroksidasyonun ölçülmesi ile belirlenmiştir. Etki oranları likopen >  $\alpha$ - tokoferol >  $\alpha$ - karoten >  $\beta$ -kriptoksantin > zeaksantin =  $\beta$ -karoten > lutein şeklinde sıralanabilir (87, 88).

Karotenoidler, besinlerde en fazla salça, domates sosu, ketçap, domates püresi, domates suyu, domates, greyfurt ve kayısıda bulunmaktadır.

Domates salçası, domates suyu gibi sıklıkla tüketilen yiyeceklerde yüksek oranda likopen bulunur (105).

Likopenin, kimyasal yapısı ısıya bağlı olarak değişmekte, bu da vücut tarafından daha kolay absorbe edilmesini sağlamaktadır. Buna göre işlenmiş yada pişirilmiş domates ürünlerindeki likopenin biyoyararlılığı, ham domates ürünlerinden daha fazladır (96, 105).

Likopenin de dahil olduğu diyeteye bağlı antioksidanların reaktif oksijen türlerini inaktive ettiği ve oksidatif hasara karşı koruma sağlayarak, prostat kanserinin önlenmesinde potansiyel moleküller olabilecekleri düşünülmektedir (106). Yine

domates ve domates ürünlerinin, bazı kanser tiplerinin ve plazma lipit peroksidasyonun gelişimi ile ters bir ilişki göstermesi de likopenin antioksidan özelliklerine bağlanmıştır (88, 107).

### 3. Gereç ve Yöntem:

Bu çalışma, etik kurul onayı alındıktan sonra (2010/74), İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen 2011/50 no'lu yüksek lisans tez projesi ile gerçekleştirildi.

#### 3.1. Deney Hayvanları

İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkez'inden (İNÜDHÜM) erişkin (3 aylık) erkek Sprauge Dawley cinsi sıçan temin edildi. Sıçanlar 45 günlük deney süresince sabit oda(20±2) sıcaklığında, 12s:12s aydınlık ve karanlık, havalandırılmalı ortamda tutuldu. Deney gruplarının hazır standart besin içerikleri ve suları haftada bir kez aynı saatte yenilendi. Kafeslerin temizliği haftada iki defa olmak üzere yapıldı.

#### 3.1.1.Örneklem Büyüklüğü ve Yöntemler:

Toplam 40 adet erkek, Sprauge Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Deney süresinde ölen hayvanlar çalışmadan çıkarıldı.

#### 3.1.2.Deney Grupları:

	Zeytin yağı	Cs A(20mg/kg)	LC(25mg/kg)
Kontrol (n=10)	++	-	-
Siklosiporin A(n=10)	+	+	-
Likopen+Siklosiporin A (n=10)	+	-	+
Likopen (n=10)	-	+	+

Şekil -12: Deney grupları



### **3.1.3.Siklosporin A'nın Hazırlanması:**

Siklosporinin oral kullanımı için zeytinyağı esaslı solüsyonlarda çözülür, intravenöz kullanımı için ise kastor yağı ve alkol esaslı solüsyonlarda çözülmektedir (118) Novartis(İsviçre, Basel) firmasından temin edilen saf Cs A,20 mg/kg olacak şekilde rafineri zeytinyağı içinde çözüldü. Hazırlanan solüsyon enjeksiyondan 20 dakika önce 40 °C sıcak su banyosunda bekletilerek Cs A'nın tamamen çözünmesi sağlandı. Hazırlanan solüsyondan Cs A 20 mg/kg olacak şekilde sıçana i.p. olarak enjekte edildi.

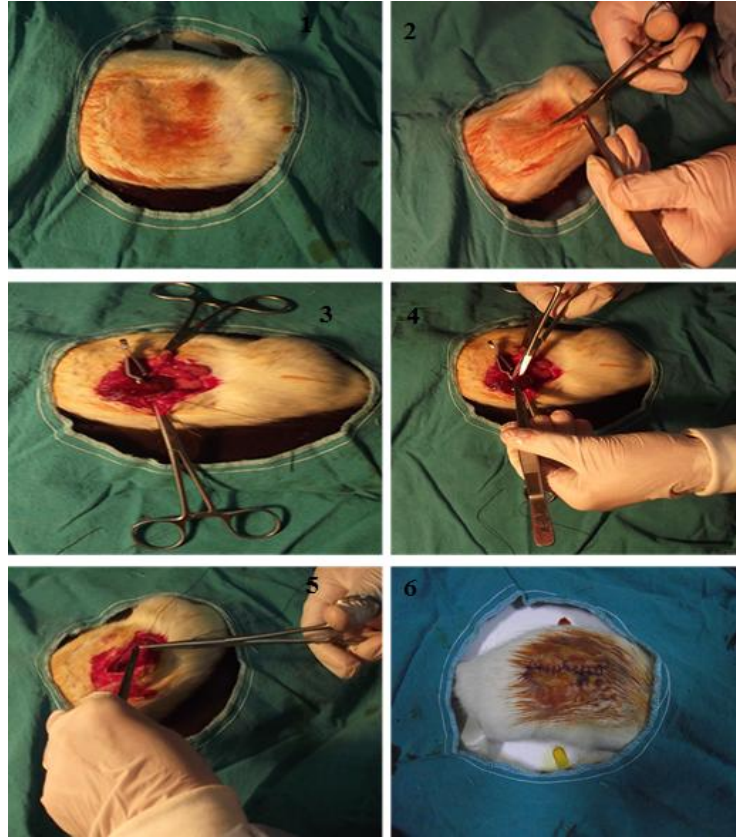
### **3.1.4.Likopenin Hazırlanması:**

DSM Mikrojen(Pharmaceutical,İstanbul,Türkiye) firmasından temin edilen %10'luk likopen (LC) (%10 LC, %90 zeytinyağı) oranında ki, LC 25 mg/kg rafineri zeytin yağında çözüldü. Hazırlanan solüsyon enjeksiyondan 20 dakika önce 40 °C sıcak su banyosunda bekletilerek tamamen çözünmesi sağlandı. Hazırlanan solüsyondan LC A 25 mg/kg olacak şekilde sıçana i.p. olarak enjekte edildi(114,72)

## **4.Cerrahi Uygulamalar:**

### **4.1.Nefrektomi:**

Tüm gruplardaki hayvanlara ketamin/xylazin (90mg/kg i.p./10mg/kg i.p.) anestezisi altında subkostal bölgeden açılarak sağ pedikül nefrektomi yapıldı ve işlem sonrasında kapatılarak, hayvanlara hiçbir müdahalede bulunmadan bir hafta(7gün) iyileşmeleri beklendi. Rastgele seçilen sıçanar, her grupta 10 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.



**Resim 1:Nefrektomi**

**Resim 1-1:** Hayvanın tüylerinin temizlenmesi ve deri dezenfeksiyonu.

**Resim 1-2:** Deri ve peritonun açılması.

**Resim 1-3:** Sağ böbreğin arter, ven ve üreterinin, buldok klempsi ile klemlenmesi.

**Resim 1-4:** Sağ böbreğin eksizyonu.

**Resim 1-5:**Periton ve derinin kapatılması.

**Resim 1-6:** Derinin batikonlanması.

#### **4.2. İlaç Uygulanması**

Nefrektomiden sonraki 8. Günden itibaren 30 gün boyunca aşağıda belirtildiği gibi tüm gruplardaki sıçanlara enjeksiyon işlemi uygulandı.

1) Kontrol grubuna; Günde 2 doz (sabah 8-9 arası/ akşam 16-17 arası), 1 ml/kg zeytinyağı i.p. olarak enjekte edildi.

2) Cs A grubuna; zeytinyağında çözünen Cs A 20mg/kg günde tek doz(sabah 8-9 arası), akşam 1ml/kg zeytinyağı i.p. olarak enjekte edildi.

3) LC grubuna; zeytinyağında çözünen LC 25mg/kg günde iki doz(sabah 8-9, akşam 16-17 arası) i.p. olarak enjekte edildi.

4) LC+Cs A grubuna; zeytinyağında çözdürülen LC ve Cs A, sabah Cs A 20mg/kg (Sabah 8:0-9:0) ve akşam likopen 25mg/kg i.p. olarak enjekte edildi (Akşam 16-17) .



**Resim 2:** İlaç enjeksiyonu uygulanması.

#### **4.3.İskemi/Reperfüzyon:**

Son enjeksiyondan 24 saat sonra tüm gruplardaki sıçanlar ketamin/xylazin (90mg/kg i.p./10mg/kg i.p.)anestezisi altında, subkostal kesi ile böbrek dokusuna ulaşılarak nontravmatik mikrovasküler klemple sol renal artere otuz (30) dakika iskemi uygulandı.



**Resim 3:** İskemi uygulanması.

Daha sonra klemp çıkarılarak reperfüzyon sağlandı. İskemi/reperfüzyon sonrası hayvanlar her biri ayrı kafeslere konularak gözlem altında tutuldu. Sütür yerleri temizlendi ve batikonla pansuman yapıldı. 7 gün süresince iyileşmeleri beklendi. İskemi/reperfüzyondan sonraki 8. günde hayvanlar yukarıda belirtildiği gibi anestezi altında kalpten kan alınarak yaşamlarına son verildi. Her bir böbrek dokusunun üst yarısı  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de enzim çalışmaları için, diğer alt yarısı da histopatolojik inceleme için %10luk Formaldehit solüsyonu içinde saklandı. Kan örnekleri serumda biyokimya parametreleri çalışmaları için hazırlanan tüplere alındı. Santrifüj sonrası elde edilen serumlar Glukoz, BUN, Kreatinin, Ürik Asit, Kolestrol,  $\text{Na}^{++}$ ,  $\text{Cl}^{-}$ ,  $\text{K}^{+}$  ve  $\text{Ca}^{++}$  çalışmaları için ependorflara alınarak  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

#### 4.4. Serumda Biyokimya Parametreleri

Alınan serum örneklerindeki biyokimyasal parametreleri Turgut Özal Tıp Merkezi'ndeki Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Architect 1600 otoanalizörü ile tayin edildi.

##### 4.4.1.Böbrek Dokularının Enzim Çalışması İçin Hazırlanması

Derin dondurucudan çalışma günü çıkarılan böbrek dokuları, hassas terazide tartılarak 0,5'er gr alındı. Doku total antioksidan kapasite tayini, NO ve tiyobarbiturat reaktif maddeler (TBARS) çalışmaları için dokuların hazırlanmasında Tris-HCl(pH=7,4) tamponu kullanıldı. Cam tüplere konulan doku üzerine 2 ml Tris-HCl tamponu eklendi. Buzla doldurulmuş plastik kap içerisine yerleştirilmiş cam tüplerdeki dokular, 16.000 devir/dakika hızla 2 dakika homojenize edildi. Hazırlanan homojenat hacmi; Tris-HCl tamponu ile 3 ml'ye tamamlandı ve tekrar homojenizasyonu yapıldı. Hazırlanan preparat vorteksle 2 dakika karıştırıldıktan sonra, 1'er ml TBARS ve NO çalışmaları için ependorflara alındı ve derin dondurucuda saklandı. Total antioksidan kapasite analizi için hazırlanan homojenat 4000 rpm'de ve +4 °C sıcaklıkta 20 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edildi.

##### 4.4.2.Nitrik Oksit

NO, endotel tarafından sentezlenen suda eriyebilir bir gazdır, çiftleşmemiş elektron özelliği ile serbest radikaldir vesüperoksid gibi diğer radikallerle reaktiftir(108). Toksik bir gaz olan NO'nin yarılanma ömrü 2-30 saniye arasında değişir(109).

##### 4.4.2.1.Nitrik Oksit(NO) Düzeylerinin Ölçümü:

Kullanılan kimyasallar:

-Glisin( $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ )Nikotinamid Adenin Dinükleotid(NADH)

-NaOH(Sodyum Hidroksit)

- $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ (Sülfanilamid)

-NNDA(N-Naftalin Etilen Diamid)

-CuSO<sub>4</sub>(Bakır Sülfat)

-ZnSO<sub>4</sub>(Çinko Sülfat)

Her bir süpernatantdan 0,5 ml alıp üzerine 2 ml ZnSO<sub>4</sub> çözeltisi ve 2,5 ml NaOH çözeltisi eklendi. Böylece süpernatant 10 kez sulandırılmış oldu. Karışım vortekslenip iyice karışması sağlandı. 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi, 3500rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Proteinler çöktürülerek,süpernatant kısmı ayrıldı. Süpernatantlar deneyin bir sonraki aşamında numune olarak kullanıldı. Numuneler standart çözeltilerle tüplere pipetlendi. Pipetlemeden sonra tüpler vortekslendi ve 45 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Optik dansiteleri 545 köre karşı, Cortas ve arkadaşlarının modifiye metoduna göre spektrofotometrik yöntemle okundu (110,111) .

#### **4.4.3. TBARS Seviyesinin Ölçümü**

Serum TBARS düzeyi, Mihara ve Uchiyama yöntemi ile ölçüldü. TBA test reaksiyonunda, malondialdehit(MDA) veya MDA benzeri maddeler TBA ile reaksiyona girerek pembe bir renk meydana getirir ve532nm maksimum absorbans verir. Reaksiyon, 15 dk pH=2-3 ve 90<sup>0</sup>C'de gerçekleştirildi. Örneklerin proteinlerini çökertmek için 2 kat %10 soğuk trikloroasetik asit (w/v) karıştırıldı. Santrifüjle parçacıklar çökertildi ve süpernatantın sıvı kısmı eşit hacimli % 0,67'lik (w/v) tiyobarbiturik asit (TBA) ile kaynayan su banyosunda 10 dk reaksiyon gerçekleştirildi. Soğutulduktan sonra, 532 nm'de absorbansı okundu. Sonuçlar nmol/ml olarak hesaplandı(114).

#### **3.4.4. TAS Seviyesi Ölçümü**

Hazırlanan süpernatantlar, Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti. tarafından temin edilen TAS Assay kit çalışma protokolüne uygun olarak analiz edilerek 660 nm dalgaboyunda ölçüm yapıldı ve sonuçlar mmol Trolox Eq/L olarak verildi.

#### **4.5.İstatistiksel Değerlendirme:**

Veriler normal dağılıma uymadığı için grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi sonrası ikili karşılaştırma için Conover metodu

kullanıldı. Veriler median, minimum ve maximum değerlerle tanımlandı. Tüm testlerde anlamlılık düzeyi ( $p < 0,05$ ) olarak kabul edildi.

## 5.BULGULAR

### 5.1.Biyokimya Sonuçları

#### 5.1.1. Serum BUN konsantrasyonları

İskemi reperfüzyon sonrası, gruplararasındaki BUN seviyeleri tablo 1’de gösterilmiştir.

**Tablo:1**BUN(mg/dL)gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamadı.

Gruplar	Aritmetik ortalama± SD	Median(Min.- Max.)	P
<b>Kontrol(n=10)</b>	24,20±2,89	24,50(19-28)	0,2675
<b>Siklosporin A(n=10)</b>	30,40±9,67	27,00(22-53)	
<b>Likopen+SiklosporinA(n=10)</b>	27,60±6,89	25,00(18-36)	
<b>Likopen(n=10)</b>	24,90±2,23	24,00(22-29)	

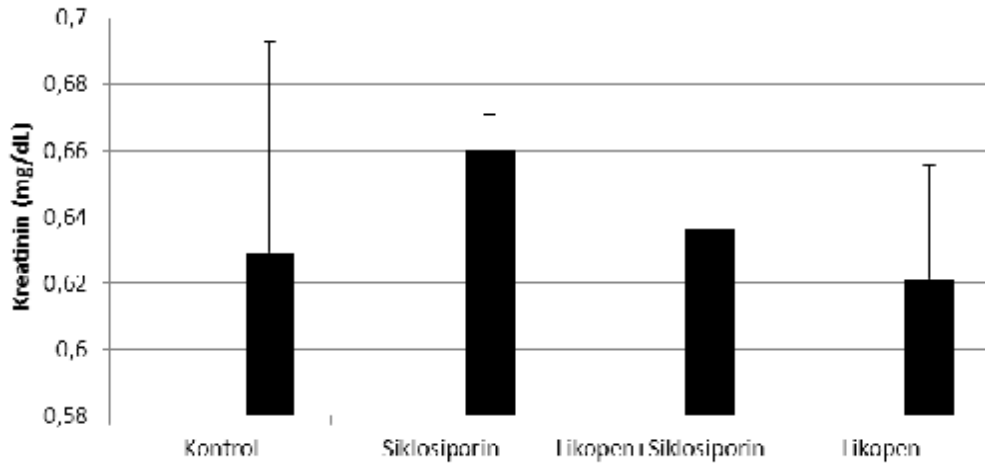


### 5.1.2. Serum kreatinin konsantrasyonları

İskemi reperfüzyon sonrası, gruplararasındaki kreatinin seviyeleri tablo 2 ve grafik 1’de gösterilmiştir.

**Tablo:2** Gruplar arası serum kreatinin(mg/dL) düzeylerinin karşılaştırılması ve p değerleri. \*: Kontrol grubuna göre anlamlı, \*\*: Siklosporin grubuna göre anlamlı, \*\*\*: Likopen+SiklosporinA grubuna göre anlamlı.

Gruplar	Aritmetik ortalama± SD	Median(Min.- Max.)	P
<b>Kontrol(n=10)</b>	0,50±0,98	0,48(0,41-0,75)	0,0047
<b>Siklosporin A(n=10)</b>	0,54±0,44	0,55(0,44-0,60)*	
<b>Likopen+SiklosporinA(n=10)</b>	0,52±0,43	0,53(0,47-0,60)	
<b>Likopen(n=10)</b>	0,45±0,37	0,46(0,41-0,52) **,***	



**Grafik 1:** \*: Kontrol grubuna göre anlamlı, \*\*: Siklosporin grubuna göre anlamlı, \*\*\*: Likopen+SiklosporinA grubuna göre anlamlı.

### 5.1.3. Serum ürikasit konsantrasyonları

**Tablo: 3** Serum ürik asit(mg/dL) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Gruplar	Aritmetik ortalama± SD	Median(Min.-Max.)	P
<b>Kontrol(n=10)</b>	4,04±4,71	1,95(1,3-16,9)	0,1927
<b>Siklosporin A(n=10)</b>	3,05±1,90	2,05(1,9-6,7)	
<b>Likopen+SiklosporinA(n=10)</b>	3,62±1,87	3,90(1,4-8,0)	
<b>Likope(n=10)</b>	2,03±0,65	1,85(1,2-16,9)	

### 5.1.4. Serum glikozkonsantrasyonları

**Tablo 4:** Glikoz(mg/dL) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Gruplar	± SD	Median(Min.-Max.)	P
<b>Kontrol(n=10)</b>	220,00±41,54	210,00(167-293)	0,8672
<b>Siklosporin A(n=10)</b>	206,00±57,26	187,00(136-308)	
<b>Likopen+SiklosporinA(n=10)</b>	212,60±56,91	207,00(161-355)	
<b>Likopen(n=10)</b>	203,30±61,70	212,50;(69-296)	

### 5.1.5. Serum kolesterol konsantrasyonları

**Tablo: 5** Kolesterol (mg/dL) gruplar arasındaki serum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

<b>Gruplar</b>	<b>Aritmetik ortalama± SD</b>	<b>Median(Min.-Max.)</b>	<b>P</b>
<b>Kontrol(n=10)</b>	49,30±7,73	50,50(34-59)	0,0640
<b>Siklosporin A(n=10)</b>	57,30±19,32	48,50(41-101)	
<b>Likopen+SiklosporinA(n=10)</b>	60,40±12,91	58,00(41-75)	
<b>Likopen(n=10)</b>	59,70±4,71	60,00(52-65)	

### 5.1.6. Serum Ca, Na, Cl, K konsantrasyonları

İskemi reperfüzyon sonrası, deney gruplarının serum  $Ca^{+2}$  (**Tablo:6**),  $Na^{+}$  (**Tablo:7**),  $Cl^{-}$  (**Tablo: 8**),  $K^{+}$  (**Tablo: 9, Grafik:2**) konsantrasyonları aşağıda gösterilmiştir.

**Tablo : 6**  $Ca^{+2}$ (mg/dL) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Gruplar	Aritmetik ortalama± SD	Median (Min-Max.)	P
<b>Kontrol(n=10)</b>	9,940±1,21	9,85(8,2-12,6)	0,0540
<b>Siklosporin A(n=10)</b>	10,11±0,45	10,20(9,3-10,8)	
<b>Likopen+SiklosporinA(n=10)</b>	10,14±0,35	10,20(9,4-10,5)	
<b>Likopen(n=10)</b>	9,53±0,45	9,55(8,5-10,4)	

**Tablo: 7** Gruplar arası  $Na^{+}$  (nmol/L) değerlerinin karşılaştırılması. \*: Kontrol grubuna göre anlamlı, \*\*: Siklosporin grubuna göre anlamlı, \*\*\*: Likopen+SiklosporinA grubuna göre anlamlı.

Gruplar	Aritmetik ortalama± SD	Median(Min-Max.)	P
<b>Kontrol(n=10)</b>	131,00±9,14	130,50(117-141)	0,0102
<b>Siklosporin A(n=10)</b>	138,80±7,19	138,50(128-155)	
<b>Likopen+SiklosporinA(n=10)</b>	141,40±2,41	141,00(138-145) *,**	
<b>Likopen(n=10)</b>	136,40±5,29	137,50(122-141) ***	

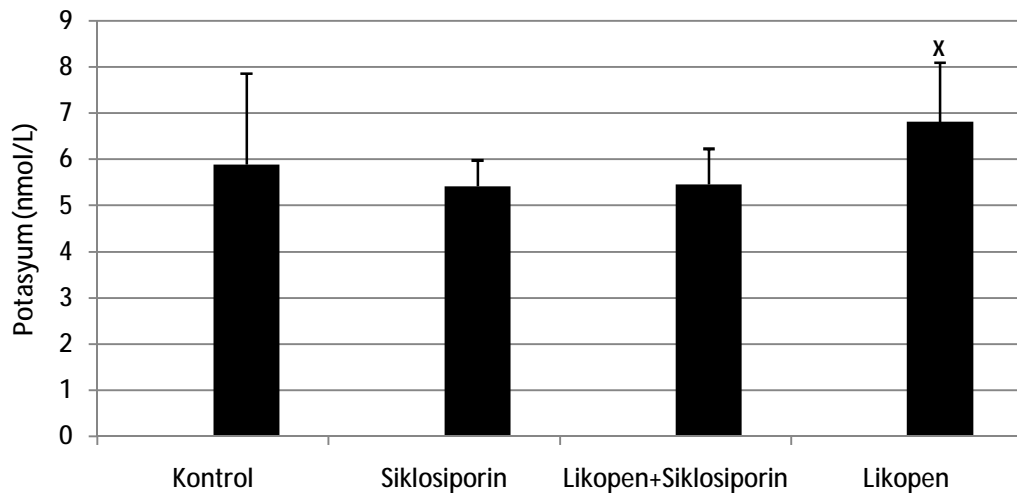
**Tablo: 8** Gruplar arasında serum Cl<sup>-</sup>(mmol/L) değerlerinin karşılaştırılması ve p değerleri. \*: Kontrol grubuna göre anlamlı, \*\*: Siklosporin grubuna göre anlamlı, \*\*\*: Likopen+SiklosporinA grubuna göre anlamlı.

Gruplar	Aritmetik ortalama± SD	Median (Min-Max.)	P
<b>Kontrol(n=10)</b>	95,60±5,10	95,50(88-103)	0,0008
<b>Siklosporin A(n=10)</b>	100,00±6,81	98,00(94-118)*	
<b>Likopen+SiklosporinA(n=10)</b>	103,20±1,87	102,50(101-106)*,**	
<b>Likopen(n=10)</b>	99,60±2,75	101,00(93-102)*,***	

**Tablo: 9** Serum K<sup>+</sup>(nmol/L) değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması ve p değerleri. \*: Kontrol grubuna göre anlamlı, \*\*: Siklosporin grubuna göre anlamlı, \*\*\*: Likopen+SiklosporinA grubuna göre anlamlı.

Gruplar	Aritmetik	Median(Min-Max.)	P
---------	-----------	------------------	---

	ortalama± SD		
<b>Kontrol(n=10)</b>	5,89±1,97	5,33(4,4-11,0)	0,0142
<b>Siklosporin A(n=10)</b>	5,42±0,56	5,55(4,6-6,1)	
<b>Likopen+SiklosporinA(n=10)</b>	5,46±0,77	5,30(4,6-7,0)	
<b>Likopen(n=10)</b>	6,81±1,29	6,20(5,7-9,2)*,**,***	



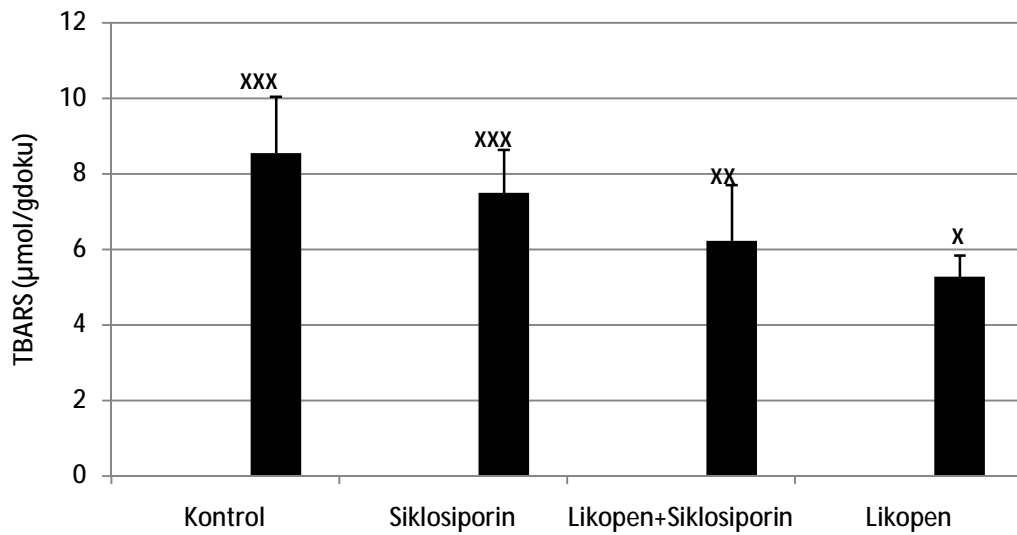
**Grafik2:**\*: Kontrol grubuna göre anlamlı, \*\*: Siklosporin grubuna göre anlamlı, \*\*\*: Likopen+SiklosporinA grubuna göre anlamlı.

### 5.1.7. Böbrek dokusu lipid peroksidasyonu, toplam antioksidant durum (TAS) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri:

İskemi reperfüzyon sonrası, deney gruplarının serum böbrek dokusu lipid peroksidasyonu (**Tablo:10**, **Grafik:3**), toplam antioksidant durum TAS(**Tablo:11**), ve nitrik oksit NO (**Tablo:12**, **Grafik: 4**) düzeyleri aşağıda gösterilmiştir.

**Tablo: 10** Gruplar arası TBARS( $\mu\text{mol/gdoku}$ ) düzeylerinin karşılaştırılması ve p değerleri. \*: Kontrol grubuna göre anlamlı, \*\*: Siklosporin grubuna göre anlamlı, \*\*\*: Likopen+SiklosporinA grubuna göre anlamlı.

Gruplar	Aritmetik ortalama $\pm$ SD	Median(Min.-Max.)	P
Kontrol(n=10)	8,54 $\pm$ 1,49	8,11(6,32 -11,05)	0,0003
SiklosporinA(n=10)	7,48 $\pm$ 1,15	6,48(6,48-8,30)	
Likopen+SiklosporinA(n=10)	6,21 $\pm$ 1,484	5,33(4,41-5,94)*,**	
Likopen(n=10)	5,26 $\pm$ 0,56	7,50(5,43-9,58) *,**,***	



**Grafik 3:** \*: Kontrol grubuna göre anlamlı, \*\*: Siklosporin grubuna göre anlamlı, \*\*\*: Likopen+SiklosporinA grubuna göre anlamlı.

**Tablo: 11** TAS (mmol Trolox Eq/L) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Gruplar	Aritmetik ortalama $\pm$ SD	Median(min-max)	P
Kontrol(n=10)	0,62 $\pm$ 0,65	0,65(0,50-0,69)	

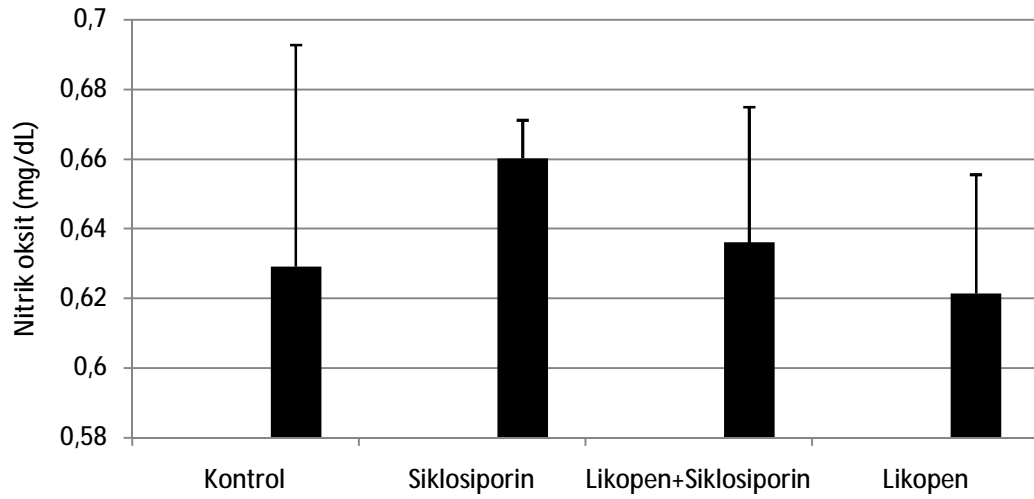
			0,259
<b>SiklosporinA(n=10)</b>	0,65 ± 0,01	0,64(0,54-0,68)	
<b>Likopen+SiklosporinA(n=10)</b>	0,63 ± 0,03	0,62(0,58-0,67)	
<b>Likopen(n=10)</b>	0,62 ± 0,03	0,66(0,64-0,67)	

**Tablo: 12NO<sup>-</sup>** (mg/dl) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

<b>Gruplar</b>	<b>Aritmetik ortalama± SD</b>	<b>Median(Min.- Max.)</b>	<b>P</b>
<b>Kontrol(n=10)</b>	0,62±0,63	0,65(0,50 -0,68)	



<b>SiklosporinA(n=10)</b>	0,66±0,10	0,64(0,53 -0,67)	0,1639
<b>Likopen+Siklosporin(n=10)</b>	0,63±0,38	0,62(0,57 -0,66)	
<b>Likopen(n=10)</b>	0,62±0,34	0,66 (0,64 - 0,67)	



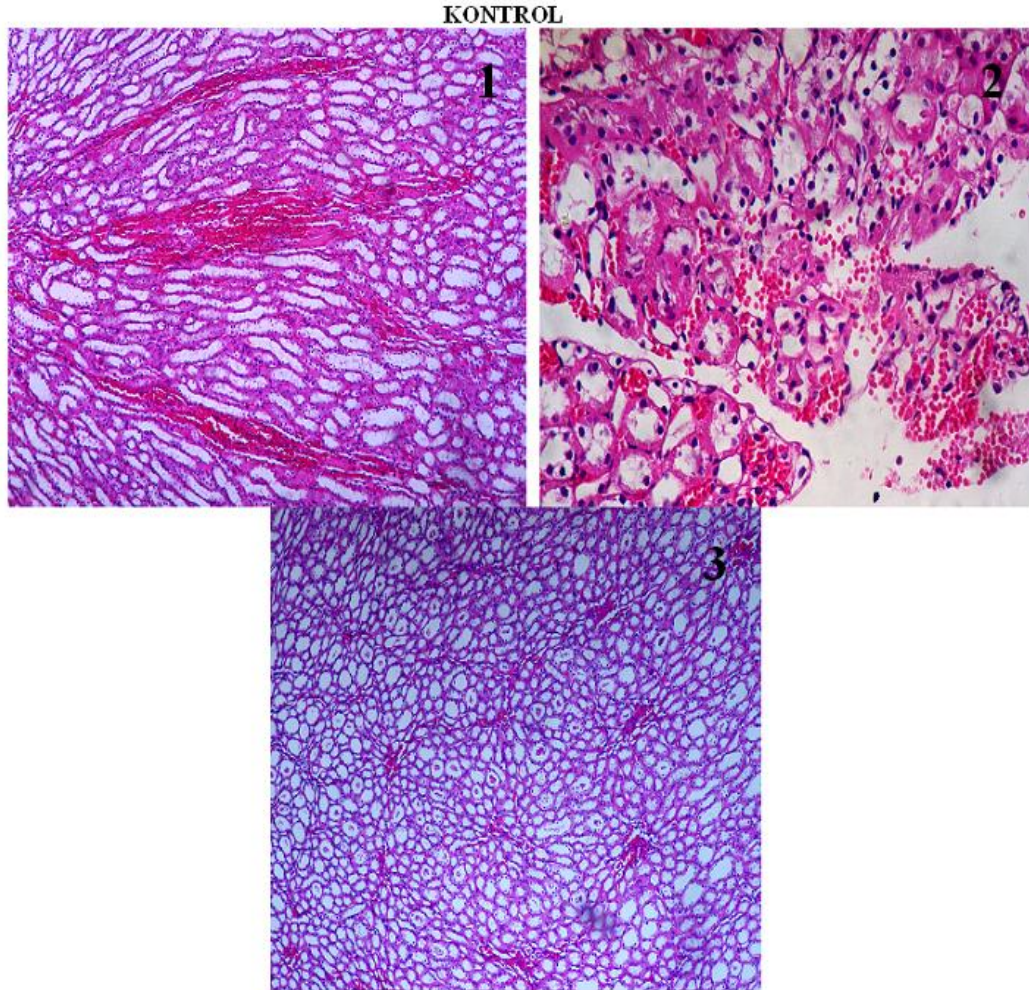
**Grafik 4:** Gruplar arasında NO değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

## 5.2.Histopatolojik Değerlendirme

### Kontrol grubu:

Konjesyon (Resim 1-1), fokal alanlarda eritrosit ekstravazasyonu (Resim 1-2), özellikle meduller bölgede, nadiren kortekste fokal alanlarda tübül lümenlerinde

eozinofilik madde akümülayonu (Resim 1-3), kortekste fokal alanlarda interstisyel ödem (proksimal tübüller arasında), fokal inflamasyon odakları (mikst tipte inflamasyon) fokal alanlarda proksimal tübül hücrelerinde parçalanma ve lümeneye dökülme (nekroz) izlendi. Proksimal tübül epitelinin sitoplazmasında yer yer vakuolizasyon saptandı.



**Resim 4:** Kontrol grubu. Konjesyon alanları (4.1), fokal alanlarda eritrosit ekstravazasyonu (4.2) H-Ex40. Meduller bölgede fokal alanlarda tübül lümenlerinde eozinofilik madde akümülayonu (4.3) H.Ex10.

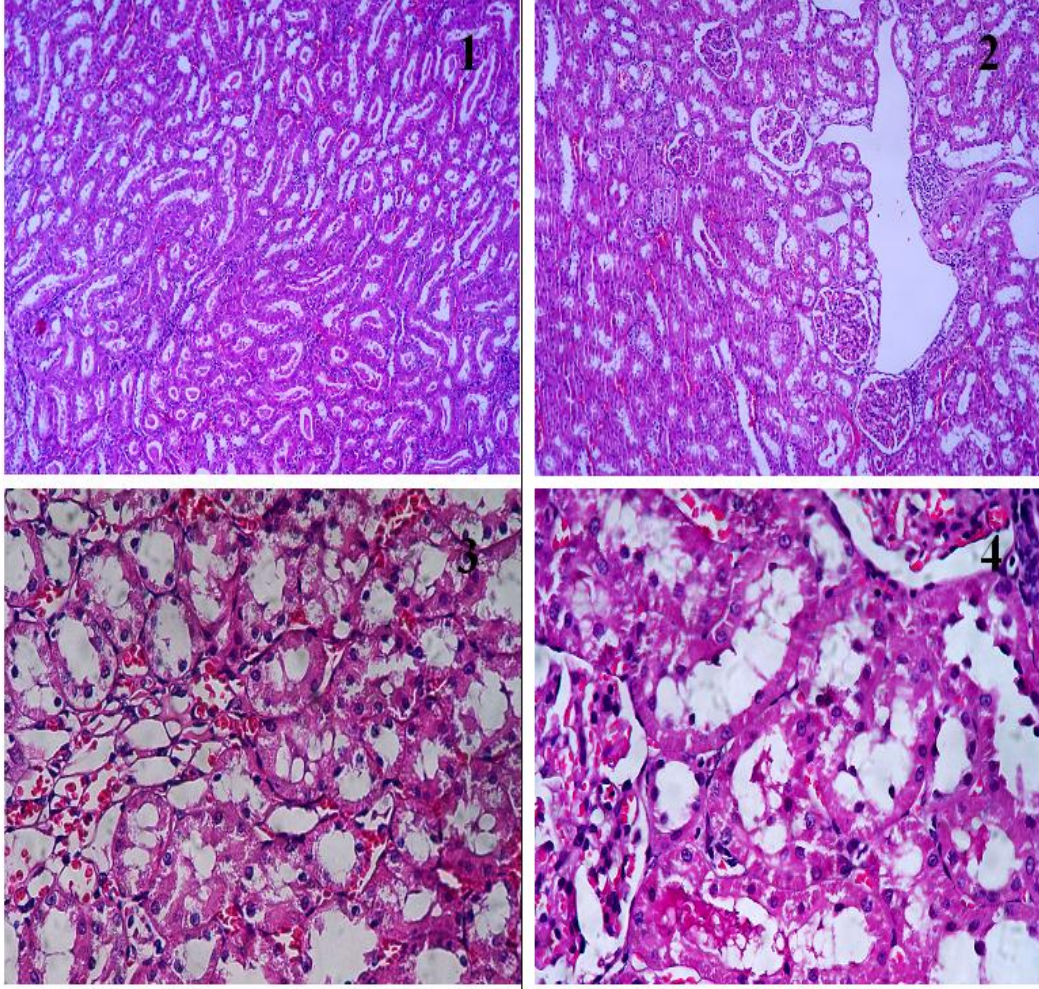
#### **Siklosporin A grubu:**

Tübül içi eozinofilik maddenin daha yaygın olduğu (Resim 5-1), Bowman mesafesinde daralmanın daha belirgin olduğu, ancak inflamasyonun daha az bulunduğu (Resim 5-2), tübül dilatasyonu ve atrofisinin, tübül epitelindeki



vakuollerin makrovakuol haline geldiği (Resim 5-3) nekrozun (Resim 5-4) daha çok dikkat çektiği görüldü. Ayrıca fibroziste artış ve GBM'da kalınlaşma saptandı.

#### SİKLOSPORİN A

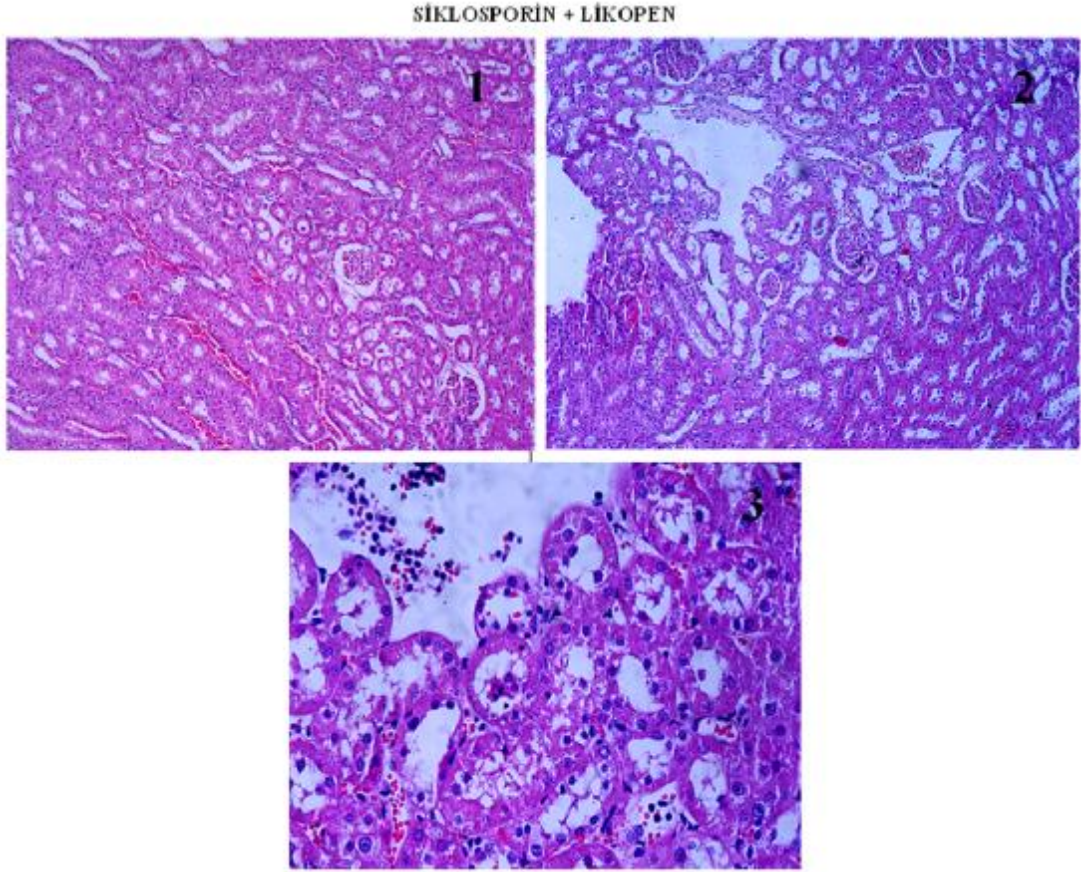


**Resim 5:** Siklosporin A grubu. Tübül içi eozinofilik madde (5.1) H-Ex10. Bowman mesafesinde daralma ve nadir inflamasyon alanlarından biri (5.2) H-Ex10. Nekroz alanı (tübül lümeninde sitoplazma ve nukleus parçaları) (5.3) HEx40. Tübül epitelinin sitoplazmasında makrovakuoller (5.4) HEx40.

#### Siklosporin A + likopen grubu:

Doku genelde düzenli yapıda olup, az sayıdaki túbülde lümeninde eozinofilik madde görüldü (Resim 6-1). İnflamasyon minimal düzeyde izlendi (Resim 6-2). Nekroz

alanlarının siklosporin grubuna göre daha az olduğu görüldü (Resim 6-3). Bağ dokuda hafif artış ve GBM' kalınlığındaki artışın yine siklosporin grubuna göre daha az olduğu görüldü.



**Resim 6:** Siklosporin A+Likopen grubu. Tübül lümeninde eozinofilik madde (6.1) H-Ex10. İnflamasyon alanı (6.2) H-Ex10. Nadir nekroz alanları (6.3) H-Ex40.

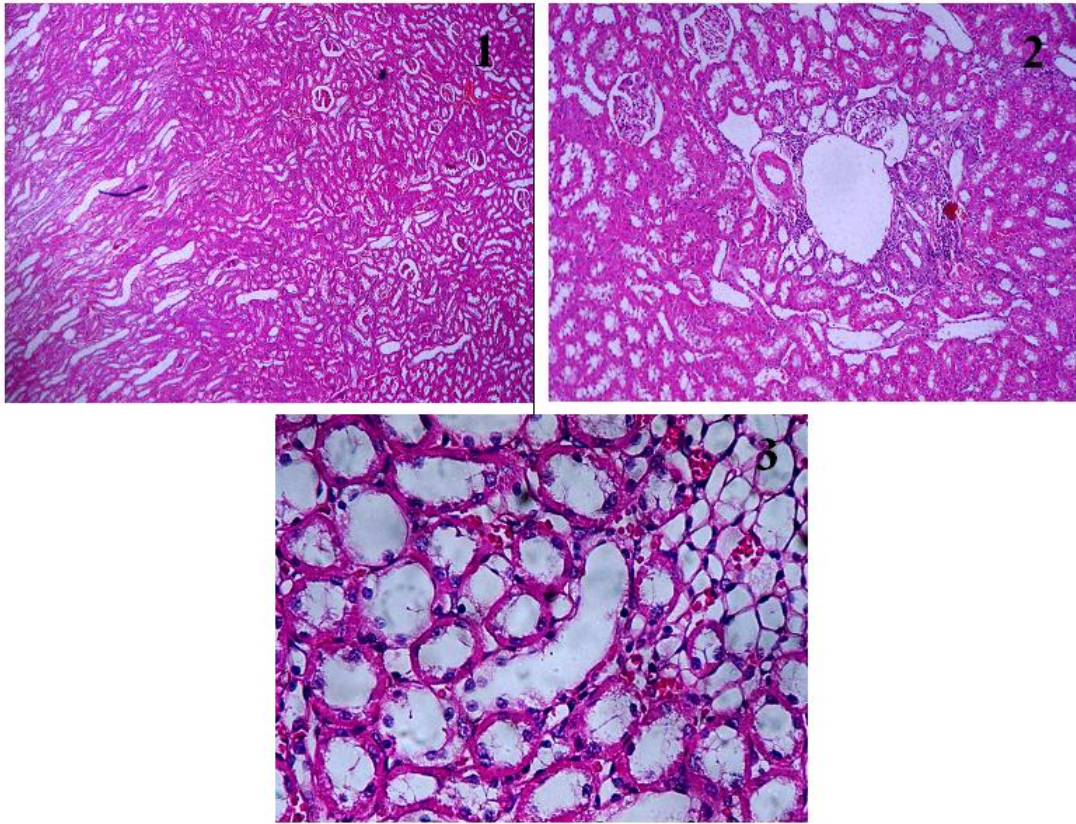
### **Likopen grubu:**

Konjesyon ve eritrosit ekstravazasyonu mevcut olup doku genelde düzenli yapıda izlendi (Resim 7-1). Ayrıca fokal bir alanda Bowman mesafesinde ödem, yine fokal



bir bölgedeki glomerüllerde Bowman mesafesinde daralma saptandı, ancak genel olarak Bowman mesafelerinin normal olduğu görüldü. Fokal alanlarda interstisyel bölgede mikst tipte inflamasyon izlendi. Tübül dilatasyonu nadir alanlarda saptandı (Resim 7-2, 7-3). Medullada tübül içi eozinofilik madde birikimi az sayıdaki kesitte izlenmiş olup, genelde yoktu. Kortekste fokal ve nadir alanlarda proksimal tübül sitoplazmasında vakuoller izlendi. Masson trichrom boyası ile bağ dokunun normal miktarda olduğu, PAS boyası ile de GBM'in normal kalınlıkta olduğu görüldü.

#### LİKOPEN



**Resim 7:** Likopen grubu. Düzenli yapı ,hafif konjesyon alanları (7.1) H-E x10. Dilate tübül ve etrafında inflamasyon (7.2) H-Ex10. Dilate bir tübül ve tübül epitelinde yassılaşma (7.3). H-Ex40.

## 6.TARTIŞMA

Organ nakilleri sırasında iskele/reperfüzyon (İ/R) hasarı meydana gelir. Organ nakillerinden sonra doku reddini engellemek için immünsüpresif olan CsA kullanılmıştır. Ancak CsA'nın nefrotoksik etkileri nakil sonrası dönemde İ/R hasarını

arttırır, organ iyileşmesini ve tübüler rejenerasyonu geciktirir (115). Bu çalışmada CsA ile oluşturulan nefrotoksik hasarın likopenle azaltıldığı gösterildi.

Genelde sağlıklı sıçanlara CsA uygulandığında böbrekte fonksiyonel ve morfolojik değişikliklere neden olmazken İ/R'den sonra CsA verildiğinde nefrotoksik etkileri ortaya çıkar. CsA'nın iskemik böbreklerdeki nefrotoksik etkisi hem iskemi süresine(30-60 dak.) hem de doza(5-25mg/kg) bağlıdır. Yang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tek doz günlük 20mg/kg CsA'nın İ/R sıçan modelinde böbrek fonksiyonları ve yapısında bile ciddi değişimler gösterilmiştir(116).

Bir ümminsüpresant olan CsA'nın uzun süre organ nakillerinde ve otoimmün hastalıklarda kullanımı böbrek tübüler atrofi, interstisyel distrofi ve böbrek yetmezliğiyle birlikte olan kronik nefrotoksisiteye neden olur (72, 117). Araştırmacılar CsA'nın nefrotoksisitesinde ROS'un rol aldığı ileri sürülmüştür(117). Chia ve arkadaşları çalışmalarında CsA uygulanan sıçanlarda TBARS ve lipit peroksidasyonunu arttırdığını göstermişler (72). CsA vasokonstriksiyon etkisiyle böbrek kan akımını azaltır (72), bunun sonucu olarak GFR'de azalır, bundan dolayı kreatinin, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>un atılımını azaltır (117). Chia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 21 gün CsA uygulanan sıçanlarda böbrek fonksiyon yetmezliği yaptığı, ayrıca kreatinin, üre ve Na<sup>+</sup> atılımını azalttığını göstermişlerdir (72). Ateşşahin ve ark. yaptığı çalışmada CsA uygulanan sıçanlarda likopen uygulandığında plazma kreatinin ve üre düzeyini normale düzeye döndüğünü göstermişlerdir (118). Siedlecki ve ark. CsA'nın renal dokuda NO inhibisyonu ve endotelin artışı yaptığını göstermişler. Bu araştırmacılar CsA nefrotoksisitesinden sonra kan ürede 2 kat fazla artış olduğunu rapor etmelerine rağmen serum kreatinin artışı ile histopatolojik hasar arasında bir ilişki bulamamışlar. CsA'nın renal kan akımında özellikle medullar kan akımını kortekse ve diğer dokulara oranla daha çok azalttığını göstermişlerdir (119). Çalışmamızda CsA uygulanan sıçanlarda kreatin daha yüksek düzeyde olduğu ve bunun likopenle azaltıldığı gösterildi. Üre ile ilgili" çalışmamızda bir farklılık görülmedi. Cologna ve ark. yaptığı çalışmada iskemi süresine bağlı olarak CsA uygulananlarda üre ve kreatinin değerlerinde farklılık gösterdiğini rapor etmişler (120). Ateşşahin ve ark.'nın cisplatin ile yaptıkları nefrotoksite modelinde ise yükselmiş kreatin ve üre düzeyinin likopenle azaltıldığı

gösterilmiştir(122).Çalışmamızda diğer araştırmacılar farklı olarak kreatinin daha düşük çıkmasının nedeni iskemi reperfüzyon süresinin 30 dakika olması ve iskemiden sonra bir hafta yaşamalarından olabilir. Cologna ve arkadaşları iskemi süresini 40-60 dakika tutarken iskemiden 24 saat sonra ötenazi yapılmış. Literatürde 30 dakikalık iskeminin böbrekte minimal lezyonlara neden olduğu gösterilmiştir.(120). Daha uzun süre yapılan iskemi modellerinde kreatinin ve üre düzeyleri kontrol grubunda daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (120). Cologna ve arkadaşları kanı örneklerini I/R den 24 saat sonra almışlarken çalışmamızda ise bir hafta sonra alındı. Çalışmamız oda sıcaklığında yapıldığı halde Cologna ve ark. ise 36,5°C sıcaklıkta gerçekleştirmişlerdir (120).

CsA uygulanan sıçan böbrek kapsüllerinde renal tübüler iskemi, inflamatuvar exuda ile karakterize böbrekte yapısal değişiklikler gösterilmiştir. Glomerüler aparatın Bowman kapsülünde kalınlaşma görülmüştür. Chia ve ark. CsA'nın renal disfonksiyonları altındaki mekanizmayı tam açıklayamadıklarını fakat altında oksidatif stresle ilgili mekanizmaların nefrotoksiteyi sağladığını öne sürmüşlerdir. Hesselink ve ark.'nın rapor ettiğine göre ise CsA 'nın yaptığı nefrotoksitenin nedeni olarak iskemi sonucu bozulmuş olan hemodinamik değişimler profibrotik transforming growth faktör  $\beta$ 'dan kaynaklandığı varsaymışlardır(117). Çalışmamızda CsA uygulanan hayvanların böbrek dokusu histopatolojik incelenmesinde tübül içi eozinofilik maddenin daha yaygın olduğu, Bowman mesafesinde daralmanın daha belirgin olduğu, ancak inflamasyonun daha az bulunduğu, tübül dilatasyonu ve atrofisinin, nekrozun, daha çok dikkat çektiği, tübül epitelindeki vakuollerin makrovakuol haline geldiği görüldü. Ayrıca fibroziste artış ve GBM'da kalınlaşma saptandı. Kontrol, likopen ve Cs A+LC uygulanan sıçanlarda bu lezyonların daha az olduğu saptandı. Hesselink. ve ark.'nın rapor ettiğine göre kronik CsA kullanımı sonucu histolojik olarak böbrek yapısında değişimlere neden olur(122). Bu değişimler şunlardır; arterioller hyalinosis, glomerular sclerozis, Bowman kapsülünde kalınlaşma, tübüler atrofi, intertisiyal fibrozis(117). Tao ve ark yaptıkları CsA sıçan nefrotoksik modelinde ayrıca inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve tübülointertisiyal fibrozis siklosporinin nefrotoksik etkileridir(121). Bu çalışmada histopatolojik bulgulara CsA'nın nefrotoksik etkisi olduğunda gösterildi. Ayrıca bu histopatolojik bulgulara göre CsA'nın yaptığı nefrotoksitenin likopen

tarafından azaltıldığı gösterildi. Ateşşahin ve ark. yaptıkları çalışmada histolojik sonuçlarda CsA uygulananlarda sıçan böbreklerinde tübüler nekrozis, tübüler dejenerasyon, diskromasyon, tübüller içinde tıkaç, tübüler dilatasyon, bazal membranda kalınlaşma görülmüştür. Sadece CsA verilen gruplarda intertübüler fibrozis görülmüştür. Ek olarak CsA grubunda hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonu görülmüştür. Likopen tedavisi uygulananlarda bazal membran kalınlaşması, tübüler nekrozis, tübüler dejenerasyon, tübül içinde tıkaç, .dejenerasyon ve fibrotik dejenerasyonu likopenin azalttığı görülmüştür (2, 7). Ateşşahin ve ark. cisplatin ile yaptıkları sıçan nefrotoksite modelinde benzer olarak likopen histopatolojik bulgularda olumlu etki göstermişlerdir (122).

Bazı araştırmacılar CsA'nın böbrek dokusu üzerinde lipid peroksidasyonu üretimini artırarak, ve antioksidan madde ve enzim düzeyini değiştirerek nefrotoksik etki yaptığı göstermişlerdir (118, 124). Daha önceki çalışmalarda antioksidan ajanların CsA'nın yaptığı nefrotoksiteye karşı koruduğu gösterilmiş. CsA'nın nefrotoksisitesinin likopenle engellenebilirliği dair çalışma sayısı yetersiz (118). Bu çalışmada CsA uygulanan sıçanlarda, likopen uygulanan sıçanlara göre böbrek dokusunda TBARS düzeyi daha yüksek olarak ölçüldü. Fakat CsA'nın TAS ve NO düzeylerini etkilemediği bu sonuçlara göre CsA'nın böbrek dokusunda oksidan stresi arttırırken, likopenin antioksidan etkisi ile lipid peroksidasyonu azatlığı görüldü. Ateşşahin ve ark. CsA ile yaptıkları nefrotoksik sıçanlarda yaptıkları çalışmada (CsA 21 gün boyunca 15mg/kg, LC 21 gün boyunca 10mg/kg) TBARS düzeyi yüksek bulunmuşlar, aynı çalışmada likopen uygulandığında böbrek TBARS düzeyi normale döndüğünü göstermişlerdir (118) Akram ve arkadaşlarının çalışmalarına göre ise CsA'nın artmış lipid peroksidasyon değerlerinin LC ile da normal değere indirildiği gösterilmiştir (125). Aynı çalışmada CsA verilenlerde antioksidan düzeyi yüksek, likopen verilenlerde düşük düzeyde ölçmüşlerdir (118). İskemiden sonraki sürenin uzun olması nedeniyle Paller ve ark. bu çalışmadakine benzer şekilde oksidan ve antioksidan düzeyleri normale yakın olarak ölçüldüğünü rapor etmişlerdir (126). Doğukan ve ark. çalışmada cisplatin ile oluşturulan nefrotoksisitenin likopenle engellendiğini üre, TBARS ve kreatindeki yükselmeye kısmen düzelme olduğunu göstermişlerdir (127). Karahan ve ark. gentamisin ile oluşturdukları nefrotoksik modelinde likopen uyguladıklarında TBARS düzeyini gentamisin uygulananlara göre



daha düşük düzeyde bulunurken antioksidan enzimlerinde yükselme olduğunu göstermişler. Gentamisin'in oluşturduğu histopatolojinin likopenle iyileştirdiği gösterilmişlerdir(130).

CsA akut olarak glomerüler afferent arteriyollerde vasokonstriksiyona neden olarak renal plazma akımını ve GFR'yi azaltır. Böbrek damar tonusunun vasodilatör madde ile (NO, prostaglandin ve ROS) vasokonstriksiyon maddelerinin(tromboksan A<sub>2</sub>, endotelin, sempatik aktivite artışı.) dengesinin bozulması sonucu ortaya çıkar(8). Bunun sonucu olarak tübüler fonksiyon kaybı sonucu Na<sup>+</sup> birikmesi ve ödeme neden olur. CsA'ya uygulanmasına bağlı olarak akut tübüler fonksiyon bozukluğundan dolayı K<sup>+</sup>, ürik asit, Cl<sup>-</sup> atımı azalır (117). Bu çalışmada CsA ve Cs A+LC uygulanan sıçanlarda alınan kanlarda Na<sup>+</sup> düzeyi kontrol ve LC gruplarındakine göre daha yüksek iken sadece likopen uygulanan sıçanlarda plazma K<sup>+</sup> düzeyini arttırdığı CsA'nın bu etkiyi ortadan kaldırdığı görüldü. Melnikov ve arkadaşları rapor ettiklerine göre CsA hücre kültüründe Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATP-az aktivitesini azaltarak hiperkalemiye neden olduğunu göstermişler. CsA'nın yan etkilerinden birisi de hiperkalemi ve hiperkalsinöridir (128). Çalışmamızda CsA ve Cs A+LC gruplarında diğer gruplarına göre daha yüksek düzeyde Cl<sup>-</sup> değerleri ölçüldü. Bu artış tübüler fonksiyon bozukluğuna bağlı olabilir (117). Ca<sup>+2</sup>, glikoz ve ürik asit düzeylerinde istatistik olarak anlamlı değişimler görülmedi. Uzun süre CsA tedavisi uygulanan sıçanlarda nefrotoksisite gelişir. CsA kullanımı ile meydana gelen nefrotoksisitede sıvı birikmesiyle serum kreatinin ve üre düzeyi artışı azalmış GFR düzeyi ile birlikte plazma Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> artışı görülür(129). Karahanve ark. gentamisin ile oluşturdukları nefrotoksik sıçan modelinde likopen plazma ve kreatinin ve üre düzeylerini anlamlı olarak azaltmıştır, fakat Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> düzeylerini etkilememiştir. Bunu araştırmacılar plazma üre ve kreatin düzeyinin yükselmesini lipid peroksidasyon ürünlerinin böbrek fonksiyonlarını bozmasına bağlamışlardır (130).

Çalışmamızda LC ve Cs A+LC gruplarında diğer gruplarına göre daha yüksek düzeyde kolesterol ölçüldü. Gökçe ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada uzun süre CsA tedavisi hiperlipidemiye neden olduğunu göstermişlerdir(131).

Sitotoksik maddeler membran lipid peroksidasyonuna neden olur (132). Daha önceki çalışmalarda likopenin lipid peroksidasyon süreçlerini inhibe ettiği gösterilmiştir(referans bul sikloya göre). Likopen serbest radikalleri hem fiziksel

hem de kimyasal yöntemle uzaklaştırır (124). Bir karotenoid olan likopen singlet  $O_2$  ve diğer kararsız serbest  $O_2$  radikallerinin temizlediği bilinmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda diğer SOR'dan  $OH^-$ ,  $NO_2^-$  veya peroksinitrit yapımını azalttığı göstermiş olmasına rağmen çalışmamızda buna ait sonuç gösterilemedi. Ayrıca daha önce yapılan çalışmalarda lipit, protein ve DNA oksidasyonuna karşı likopen koruyucu olduğu gösterilmişken, çalışmamızda sadece lipit peroksidasyonunu engelleyici etkisi gösterilmiştir (124). Kazutaka ve ark. likopen verilmiş sıçanların renal antioksidan enzim aktivitesinde anlamlı bir sonuç göstermişlerdir. Bu araştırmacılar likopenin kendisi bir antioksidan madde olduğundan oksidan maddelerin üzerinde etkili olarak antioksidan enzimlerin artışını engellemiş olabileceğini öne sürmüşlerdir. Normalde şartlar altında böbrekte dokusunda likopen bulunmaz ancak dışardan alınabilir(133). Paula ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada  $HgCl_2$  ile oluşturulan ile oluşturulan nefrotoksisiteye likopenin koruyucu olduğunu göstermişler. Paula ve arkadaşları likopenin büyük ihtimalle singlet moleküler oksijen ve peroksil radikallerini etkisiz hale getirerek lipit peroksidasyonunu engellediğini ileri sürmüşler. Ek olarak Paula ve arkadaşlarına göre likopen  $OH$ ,  $NO_2$  ve peroksinitriti bağlayarak etkisiz hale getiriyor. Likopen oksidan ve antioksidan dengesini etkilediğini iddia etmişlerdir(134). Yang ve ark. yaptığı  $HgCl_2$  nefrotoksite çalışmasında likopen antioksidan enzim düzeyini arttırdığı ve lipit peroksidasyonunu azalttığını göstermişler. Aynı zamanda üre seviyesinde azaltmış olduğu da gösterilmiştir(132).

Proksimal tübüllerin özellikle medullanın dış bölgesinde yoğunlaşmış olan son kısmı, CsA metabolizmasında görevli sitokrom P-450 oksidazları içeren peroksizomlardan çok zengin olup (84, 85), bu bölgede CsA'nın metabolitlerine ayrılması esnasında oksidazların inhibe olması nedeniyle hücre içerisinde daha çok madde birikimi meydana gelmektedir (86). CsA mitokondrial elektrot transport sistemini ve sitokrom P450-3A yetersizlik yaparak serbest  $O_2$  radikal üretimini arttırarak oksidatif stresi artırır (2). İnsanlarda yapılan klinik çalışmalarda CsA'nın nefrotoksisitesini düşük NO yapımına bağlanmıştır. Xiao ve arkadaşlarının rapor ettiğine göre ise sıçanlarda 4 hafta CsA uygulandığında insanlara benzer şekilde renal fonksiyonlar bozuklukları ve yapısal değişiklikler görülür. Bu araştırmacılar nefrotoksisiteyi apoptozis ile açıklamışlardır. Xiao ve arkadaşları NO böbrek

üzerinde hem faydalı hemde zararlı süreçlerde rol aldığını öne sürmüşler. Xiao ve arkadaşlarının rapor ettiklerine göre CsA'nın yaptığı renal hücre apoptozisinin NO ile engellenebilirliğini rapor etmişlerdir (135).

Çalışmamızdaki histolojik bulgulara ve biyokimyasal analizlerdeki sonuçlarımıza göre CsA'nın tam açıklanamayan mekanizma ile nefrotoksik olduğu, bu nefrotoksitenin bir kısmının lipid peroksidasyonuna bağlı olabileceğini düşünüyoruz. Ayrıca bu çalışmanın sonucu olarak likopenin CsA'nın nefrotoksik, oksidan sters ve kan biyokimyası üzerindeki etkilerinin azalttığını gösterildi.

## **7.SONUÇ VE ÖNERİLER**

CsA'nın nefrotoksik olduğu, túbüler foksyonları bozduğu gösterildi. LC'nin bu histopatolojik bozuklukları ve túbüler fonksyon patolojisini kısmen onardığı görüldü. Histopatolojik ve biyokimyasal değişimlerin kısmen likopenle onarıldığı için nefrotoksik ilaç veya madde kullanan hasta reçetelerine LC eklenmesi ve LC'ce zengin besin maddelerinin bolca tüketilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

**KAYNAKLAR:**

1. Moore, K.L, Agur, A.M.R.(2006).Temel Klinik Anatomi.(A. Elhan, Çev.).Ankara: Güneş Kitabevleri .
2. Arıncı, K., Elhan, A. (2006). Anatomi (4. bs.). Ankara: Güneş Kitabevleri.
3. Guyton, A. C., Hall, J.E. (2006). Tıbbi Fizyoloji. (11. bs.) (H. ÇavuÇođlu., B. Çađlayan Yeđen, Çev.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.
4. Fadillioglu E., Kurcer Z., Parlakpınar H., Iraz M., Gursul C. (2008). Melatonin Treatment Against Remote Organ Injury Induced by Renal Ischemia Reperfusion Injury in Diabetes Mellitus. Arch Pharm Res., 31, (6), 705-712.
5. Standring, S. (2008). Gray's Anatomy (40. bs.). London, UK: Churchill Livingstone Elsevier.
6. Junqueira LC, Carneiro J, (ed) Solakođlu S, Aytekin Y. Temel Histoloji. Nobel Tıp Kitabevleri. 2009;373-88.
7. Gartner LP, Hiatt TL. Color Textbook of Histology, 3. Edition. Saunders Elsevier. 2007;437-459.
8. Massry SG, Glassock RJ. Massry and Glassock's Textbook of Nephrology, Volume 1, 3. Edition. Williams and Wilkins. 1995;10-34.
9. Brenner B. M. Brenner and Rector's The Kidney, 8. Edition. Saunder and Elsevier. 2008;25-80.
10. Ross MH, Pawlina W. Histology A Text and Atlas, 5. Edition. Lippincott Williams and Wilkins. 648-667.
11. Berne RM, Levy MN. (2008). Fizyoloji. (5. Bs.). (Türk Fizyolojik Bilimler Derneği çev.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
12. Ovalle WK, Nahirney PC, (ed) Müftüođlu S, Kaymaz F, Atilla P. Netter's Essential Histology. Güneş Tıp Kitabevleri. 2009;354-370.

13. Ganong WF. (2002). Tıbbi Fizyoloji. (20. bs.). (Türk Fizyolojik Bilimler Derneği Çev.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. şti.
14. John J. Bray., Patricia A. Cragg., Anthony D.C. Macknight., Roland G. Mills., Human Physiology (1999), 4. Edition. Blackwell Science.
15. Walter F. Boron., Emile L. Boulpaep., Medical Physiology (2009), 2. Edition. Saunders Elsevier.
16. İliçin G., Biberoğlu K., Sülaymanlar G., Ünal S. (2005). İç Hastalıkları (2. Bs.). Ankara: Güneş Kitabevi LTD. şti. 1. Cilt.
17. Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, Musial WJ. Oxidative stress and neutrophil activation-- the two keystones of ischemia/reperfusion injury. *Int J Cardiol.* 2002;86(1):41-59.
18. Ozan, E., Koyutürk, L, Sapmaz, T. (2004). Böbrek İskemi-reperfüzyon hasarında antioksidan olarak prostoglandin E1 (PGE1) Kullanımının İncelenmesi: Deneysel Çalışma. *Fırat Tıp Dergisi*, 9 (3), 67-71.
19. Legrand M., G Mik E., Johannes T., Payen D., Ince, C. (2008). Renal Hypoxia and Dysoxia After Reperfusion of the Ischemic Kidney. *Molmed*, 14 (7-8), 502-516.
20. Salvemini D, Cuzzocrea S. Superoxide, superoxide dismutase and ischemic injury. *Curr Opin Investig Drugs.*;3(6):886-95.
21. Joseph V. Bonventre 1,2 and YangL., Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *J Clin Invest.* 2011;121(11):4210-4221.doi:10.1172/JCI45161.
22. Grisham MB, Hernandez LA, Granger DN. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. *Am J Physiol.* 1986;251(4 Pt 1):G567-74.
23. Thiagarajan RR, Winn RK, Harlan JM. The role of leukocyte and endothelial adhesion molecules in ischemia-reperfusion injury. *Thromb Haemost.* 1997;78(1):310-4.

24. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radic Res Commun* 1989;7: 255-64.
25. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı Konya: Mimoza yayımları. 1995:3-95
26. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991; 42: 225-246.
27. Robbins, S. L., Kumar, V., Cotran, R. S. (1995). *Temel Patoloji*. (2. bs.). (U. Çevikbaş çev.) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.
28. Siesjö BK. Mechanisms of ischemic brain damage. *Crit. Care Med* 1988;16:954-63.
29. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann Neurol* 1992; 32 Suppl: S33- 42.
30. Sharfuddin, A. A. Molitoris, B. A. (2011). Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol*. 7 (4), 189-200.
31. Lameire, N. H., Vanholder, R. (2004). Pathophysiology of ischaemic acute renal failure *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.*, 18, 21–36.
32. Bonventre, J. V. (2008). Pathophysiology of acute kidney Injury. *Nephrol round.*, 6 (7).
33. Akcay, A., Nguyen, Edelstein Q, C. L. (2009). Mediators of inflammation in Acute Kidney Injury. *Mediators Inflamm.*, 2009, 2009: 137072.
34. Donnahoo, K. K., Meng, X., Ayala, A., Cain, M. P., Harken, A. H., Meldrum, D. R. (1999). Early kidney TNF- $\alpha$  expression mediates neutrophil infiltration and injury after renal ischemia-reperfusion. *AmJ Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 277, 922-929.
35. Teke.Z., Kabay, B., Özden, A. (2008). İskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojisi. *Pam Tıp Derg.*, 1, 65-72.

36. Krause GS.,white BC,Aust SD,et al.Brain cell deathfollowing ischemia and reperfusion: aproposed biochemical sequence.Crit. Care Med 1988;16:714-26.
37. Lehninger AL.Generation of ATP in anaerobik cell.In: Bioenergetics.ed 2 Menlo park,Calif:WA Benjamin 1971:53-71.
38. Newmeyer DD, Ferguson-Miller S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. Cell. 2003;21;112(4):481-90.
39. Kumar V, Abbas AK,Fausto N. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease.7th.edition.Philadelphia, Saunders, 2004 .
40. Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. Free Radic Biol Med. 2000; 15;28(10):1456-62.
41. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function Physiol Rev.a.2002;82(1):47-95. 72
42. Paschen W. Role of calcium in neuronal cell injury: which subcellular compartment is involved? Brain Res Bull. 2000;1;53(4):409-13.
43. Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. Nat Rev Mol Cell Biol. 2003;4(7):552-65.
44. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. The molecular events underlying ischemia/reperfusion injury. Transplant Proc. 2002;34(7):2518-9.
45. Charles D.Collard,Simon Gelman. Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Prevention of ischemia-Reperusion injury. Anesthesiology 2001; 94:1133-8.
46. Parks DA, Granner DN: Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation.Am J Physiol 1986;250:G749-53
47. Li.C., Jackson RM.Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. Am J Physiol Cell Physiol. 2002;282(2):C227-41.



48. Mc Cord J, Franklin H: Oxigen derived free radikals in postischemic tissue injury. *New Eng J Med* 1985;312:3(159-163).
49. Yun Y., Duan WG., Chen P., Wu HX., Shen ZQ., Qian ZY., Wang DH. (2009). Ischemic Postconditioning Modified Renal Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Caused By Ischemic Reperfusion Injury in Rats. *Transplant. Proc.*, 41, 3597–3602.
50. Ichimiya M, Chang SH, Liu H, Berezesky IK, Trump BF, Amstad PA Effect of Bcl-2 on oxidant-induced cell death and intracellular  $Ca^{+2}$  mobilization. *Am J Physiol.* 1998;275(3 Pt 1):C832-9.
51. Orrenius S, Ankarcrona M, Nicotera P. Mechanisms of calcium-related cell death: *Adv Neurol.* 1996;71:137-49.
52. Weight, S. C., Bell P. R. Nicholson, F. M. L. (1996). Renal ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg.*, 83,162-170.
53. Goligorsky, M. S., Brodsky, S. V., Noiri, E. (2002). Nitric oxide in acute renal failure: NOS versus NOS. *Kidney Int.*, 61, 855–861. Nivorozhkin, A., Szabo, C., Pacher, P. (2006).
54. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997;14: 195-203.
55. Monsinjon T, Richard V, Fontaine M. Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement. *Fundam Clin Pharmacol* 2001; 15: 293-306.
56. Kehrer, J. P. ( 1993). Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease. *Crit Rev Toxicol.*, 23 ( I ) 21-48.
57. Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.T.D., Mazura, M., Telser, J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.*, 39, 44–84.
58. Auten, R. L., Davis J. M. (2009). Oxygen toxicity and reactive species: The devil is in the details. *Pediatr res.*, 66 (2), 121-7.

59. Zadak, Z., Hyspler, R., Ticha, A., Hronek, M., Fikrova, P., Rathouska, J., Hrciarikova, D., Stetina R. (2009). Antioxidants and Vitamins in Clinical Conditions. *Physiol. Res.* 58 (1):13-17.
60. Avery, S. V. (2011). Molecular targets of oxidative stress. *Biochem. J.* 434, 201–210.
61. Berth-Jones J. The use of cyclosporin in psoriasis. *J Dermatolog Treat.* 2005; 16(5-6): 258-77.
62. Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K: V. (2003). Antioxidants oxidative damage and oxygen deprivation stress: a Review. *Ann bot.*, 91: 179-194.
63. Gardner, H. W. (1979). Lipid Hydroperoxide Reactivity with Proteins and Amino Acids: A Review. *J. Agric. Food Chem.*, 27 (2), 220-22
64. Borel JF. Pharmacology of cyclosporine (sandimmune). IV. Pharmacological properties in vivo. *Pharmacol Rev.* 1990 Sep; 41(3): 259-371.
65. Kahan BD. Cyclosporine. *N Engl J Med.* 1989 Dec 21; 321(25): 1725-38.
66. Dieperink H. Cyclosporin A nephrotoxicity. *Dan. Med. Bull.* 36:235-248, 1989
67. Grub S, Persohn E, Trommer WE and Wolf A. Mechanisms of cyclosporine-A induced apoptosis in rat hepatocyte primary cultures. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 163: 209-220.
68. Rezzani R, Rodella L, Bianchi R. Melatonin antagonizes the cyclosporine A immunosuppressive effects in rat thymuses. *Int Immunopharmacol* 2001; 8: 1615-1619.
69. Houston SH, Rubin RH, Sinnott JT. Infections in transplantation. In Reese RE, Betts RF, eds. *A Practical approach to infectious diseases*. 4th. Ed. Bostn: Little Brown, 1996, 785-811.
70. Kwak CS, Mun KC. The beneficial effect of melatonin for cyclosporine hepatotoxicity in rats. *Transplant Proc* 2000;32: 2009- 2010.

71. Bennet WM. The nephrotoxicity of immunosuppressant drugs. *Clin Nephrol*, 43:s3-7, 1995.
72. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitor-related nephrotoxicity. Hesselink DA, Bouamar R, van Gelder T. *Ther Drug Monit*. 2010 Aug;32(4):387-93. doi: 10.1097/FTD.0b013e3181e44244.
73. Mechanisms of siklosporin induced renal cell apoptozisis : a sistematik review.
74. Olyaei AJ, Mattos AM, Bennett WM. Immunosuppressant-induced nephropathy: pathophysiology, incidence and management. *Drug Saf* 1999; 21: 471-488.
75. Thomas S, Andoh TF, Pichler RH et al. Accelerated apoptosis characterizes cyclosporine-associated interstitial fibrosis. *Kidney Int* 1998;53: 897-908.
76. Rezzani R, Giugno L, Buffoli B, Bonomini F, Bianchi R. The protective effect caffeic acid phenethyl ester against CyA induced cardiotoxicity in rats. *Toxic* 2005; 212: 155-164.
77. Rezzani R, Buffoli B, Rodella L, Stacchiotti A, Bianchi R. Protective role of melatonin in cyclosporine A-induced oxidative stress in rat liver. *Int Immunopharmacol* 2005; 5: 1397-1405.
78. Thiel G. Experimental cyclosporin nephrotoxicity. *Clin Nephrol*, 25(suppl 1):205-10,1986.
79. Zhong Z, Arteel GE, Connor HD, et al. *Am J Physiol*, 275:F595,1998.
80. Yang JJ, Finn WF., Effect of oxypurinol on cyclosporine toxicity in cultured EA, LLC-PK1 and MDCK cells. *Ren Fail* 20:85,1998.
81. Thiel G, Landmann J, Mihatsch MJ: Ciclosporin:acute or chronic toxicity, or rejection? AM Hassaballah (ed), *Excerpta medica*, Amsterdam,122-133, 1987.
82. Orugun EO, Smart LM, Whiting PH: The effect of calcium blockade with verapamil on experimental cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant Proc* 1991, 23:1:354-5.

83. Rezzani R. Cyclosporine A and adverse effects on organs: histochemical studies. *Prog Histochem Cytochem* 2004;39: 85-128.
84. Hebert SC, Kriz W. Diseases of kidney. Schrier RW, Gottschalk CW (ed), vol1:3-37, 1997.
85. Tisher CC, Madsen KM. Anatomy of the kidney. Brenner BM (ed), *The Kidney*, 3:62, 1996.
86. Venkatachalam MA, Bernard DB, Donohoe JF. Ischemic damage and repair in the rat a. proximal tubule. *Kidney int*, 14:31-49, 1978.
87. Handelman GJ.: The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition*. 17(10):818-22, 2001.
88. Stahl W., Sies H. : Lycopene: a biologically important carotenoid for humans. *Arch Biochem Biophys*. 1;336(1):1-9, Review 1996.
89. Stahl W., Sies H.: Bioactivity and protective effects of natural carotenoids *BBAMolecular basis of disease* vol. 1740:2:101-107, 2005.
90. Kucuk O., Sarkar FH., Djuric Z., Sakr W., Pollak MN., Khachik F., Banerjee M., Bertram JS., Wood DP. Jr.: Effects of lycopene supplementation in patients with localized prostate cancer. *Exp Biol Med (Maywood)*. 227(10):881-5, 2002.
91. Kozuki Y., Miura Y., Yagasaki K.: Inhibitory effects of carotenoids on the invasion of rat ascites hepatoma cells in culture. *Cancer Lett*. 3;151(1):111-5, 2000.
92. Young AJ., Lowe GM.: Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys*. 1;385(1):20-7, Review 2001.
93. Mannisto S., Smith-Warner SA., Spiegelman D., Albanes D., Anderson K., van den Brandt PA., Cerhan JR., Colditz G., Feskanich D., Freudenheim JL., Giovannucci E., Goldbohm RA., Graham S., Miller AB., Rohan TE., Virtamo J., Willett WC., Hunter DJ.: Dietary carotenoids and risk of lung cancer in a pooled analysis of seven cohort studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 13(1):40-8, Review 2004.

94. Bramley PM.: Is lycopene beneficial to human health. *Phytochemistry*. 54(3):233-6, Review 2000.
95. Khachik F., Carvalho L., Bernstein PS., Muir GJ., Zhao DY., Katz NB.: Chemistry, distribution and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med (Maywood)*. 227(10):845-51, Review 2002.
96. Stahl W., Sies H.: Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heatprocessed than from unprocessed tomato juice in humans. *J Nutr*. 122(11):2161-6, 1992.
97. Giovannucci E.: Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer: review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst*. 17;91(4):317-31, 1999.
98. Dorgan JF., Sowell A., Swanson CA., Potischman N., Miller R., Schussler N., Stephenson HE. Jr. Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett*. 30;154(2):201-10, 2000.
99. Erhardt JG., Meisner C., Bode JC.: Lycopene, beta-carotene and colorectal adenomas. *Am J Clin Nutr*. 78(6):1219-24, 2003.
100. Khachik F., Spangler CJ., Smith JC. Jr., Canfield LM., Steck A., Pfander H.: Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. *Anal Chem*. 15;69(10):1873-81, 1997.
101. Tanumihardjo SA., Furr HC., Amedee-Manesme O., Olson JA.: Retinyl ester (vitamin A ester) and carotenoid composition in human liver. *Int J Vitam Nutr Res*. 60(4):307-13, 1990.
102. Kaplan LA., Lau JM., Stein EA.: Carotenoid composition, concentrations, and relationships in various human organs. *Clin Physiol Biochem*. 8(1):1-10.1990.
103. Clinton SK., Emenhiser C., Schwartz SJ., Bostwick DG., Williams AW., Moore BJ., Erdman JW. Jr.: cis-trans lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 5(10):823-33, 1996.

104. Khachik F., Askin FB., Lai K.: Distribution, bioavailability, and metabolism of carotenoids in humans. In: Bidlack WR, Omaye ST, Meskin MS, Jahner D. Eds. *Phytochemicals, a New Paradigm*. Lancaster, PA: Technomic Publishing, Chapter 5: pp77– 96, 1998.
105. Canene-Adams K., Campbell JK., Zaripheh S., Jeffery EH., Erdman JW. Jr.: The tomato as a functional food. *J Nutr.* 135(5):1226-30, 2005.
106. Rao AV., Fleshner N., Agarwal S.: Serum and tissue lycopene and biomarkers of oxidation in prostate cancer patients: a case-control study. *Nutr Cancer.* 33(2):159-64.1999
107. Pellegrini N., Riso P., Porrini M.: Tomato consumption does not affect the total antioxidant capacity of plasma. *Nutrition.* 16(4):268-71, 2000.
108. Brede DS, Hwang PM, Glatt CE, Lowenstein C, Reed RR, Sayder SH, Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase nature 1991;351:714-718).
109. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Reviews* 1991;43(29):109-37
110. Cortas NK, wakid nw. Determination of inorganic nitrate in serum ana urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin chem* 1990;36(8):1440-1443).
111. West PW, Ramachandran TP. Spectrophotometric determination of nitrate using chromotropic acid. *Anal Chim Acta* 1966;35:317-324.
112. Zaripheh S, Erdman JW Jr. *J Nutr.* The biodistribution of a single oral dose of [14C]-lycopene in rats prefed either a control or lycopene-enriched diet. 2005 Sep;135(9):2212-8.
113. Cevik O, Oba R, Macit C, Cetinel S, Kaya OT, Sener E, Sener G. Burns.Lycopene inhibits caspase-3 activity and reduces oxidative organ damage in a rat model of thermal injury. 2012 Sep;38(6):861-71. doi: 10.1016/j.burns.2012.01.006. Epub 2012 Feb 20.

114. Halil Düzova, Burak Işık, Dinçer Özgör, Yaşar Bayındır, M.Sait Tekerekoğlu, Sezai Yılmaz. Mekanik Barsak Obstrüksiyonu Nedeniyle Laparotomi Yapılan Hastalarda Flukonazol Proflaksisinin Lipid Peroksidasyonu ve Nitrik Oksit Üzerine Etkisi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 13(2) 71-76 (2006).
115. Chen YT, Yang CC, Zhen YY, Wallace CG, Yang JL, Sun CK, Tsai TH, Sheu JJ, Chua S, Chang CL, Cho CL, Leu S, Yip HK. Stem Cell Res Ther. 2013 May 31;4(3):62. [Epub ahead of print] Cyclosporine-assisted adipose-derived mesenchymal stem cell therapy to mitigate acute kidney ischemia-reperfusion injury.
116. Yang CW, Lee SH, Lim SW, Jung JY, Kim WY, Kim HW, Choi BS, Li C, Cha JH, Kim YS, Kim J, Bang BK. Cyclosporine or FK506 decrease mature epidermal growth factor protein expression and renal tubular regeneration in rat kidneys with ischemia/reperfusion injury. Nephron. 2002 Dec;92(4):914-21.
117. Tan Y. Chia<sup>1</sup>, Munavvar A. Sattar<sup>1</sup>, Mohammed H. Abdulla<sup>2</sup>, Hassaan A. Rathore<sup>1</sup>, Fiaz ud Din Ahmad<sup>1</sup>, Gurjeet Kaur<sup>3</sup>, Nor A. Abdullah<sup>4</sup>, and Edward J. The effects of tempol on renal function and hemodynamics in cyclosporine-induced renal insufficiency rats. *Johns Ren Fail*, 2013; 35(7): 978–988 ! 2013 Informa Healthcare USA, Inc. DOI: 10.3109/0886022X.2013.809563
118. Ateşşahin A, Ceribaşı AO, Yılmaz S. Lycopene, a carotenoid, attenuates cyclosporine-induced renal dysfunction and oxidative stress in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2007 Jun;100(6):372-6.
119. Siedlecki A, Anderson JR, Jin X, Garbow JR, Lupu TS, Muslin AJ. RGS4 controls renal blood flow and inhibits cyclosporine-mediated nephrotoxicity. *Am J Transplant*. 2010 Feb;10(2):231-41. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02930.x. Epub 2009 Dec 2.
120. Cologna AJ, Lima LV, Tucci S Jr, Suaid HJ, Reis RB, Tirapelli LF, Rodrigues AA Jr, Martins AC. *Acta Cir Bras*. Cyclosporine action on kidneys of rats submitted to normothermic ischaemia and reperfusion. 2008;23 Suppl 1:36-41; discussion 41.

121. Tao Y, Hu L, Li S, Bai Y, Liu Q, Jin Y, Wei D, Luo Z. Tranilast Attenuates Chronic Cyclosporine Nephrotoxicity in Rats. *Transplant Proc.* 2009 Dec;41(10):4373-5. doi: 10.1016/j.transproceed.2009.09.073.
122. Atessahin A, Yilmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A. *Toxicology.* 2005 Sep 1;212(2-3):116-23. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats.
123. Gaston RS. *Clin J. Chronic calcineurin inhibitor nephrotoxicity: reflections on an evolving paradigm. Am Soc Nephrol.* 2009 Dec;4(12):2029-34. doi: 10.2215/CJN.03820609. Epub 2009 Oct 22.
124. Ateşşahin A, Karahan I, Türk G, Gür S, Yilmaz S, Ceribaşı AO. Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Reprod Toxicol.* 2006 Jan;21(1):42-7. Epub 2005 Jun 24.
125. Jamshidzadeh A, Baghban M, Azarpira N, Mohammadi Bardbori A, Niknahad H. Effects of tomato extract on oxidative stress induced toxicity in different organs of rats. *Food Chem Toxicol.* 2008 Dec;46(12):3612-5. doi: 10.1016/j.fct.2008.09.006. Epub 2008 Sep 11.
126. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. *J Clin. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. Invest.* 1984 Oct;74(4):1156-64.
127. A, Tuzcu M, Agca CA, Gencoglu H, Sahin N, Onderci M, Ozercan IH, Ilhan N, Kucuk O, Sahin K. A tomato lycopene complex protects the kidney from cisplatin-induced injury via affecting oxidative stress as well as Bax, Bcl-2, and HSPs expression. *Dogukan Nutr Cancer.* 2011;63(3):427-34. doi: 10.1080/01635581.2011.535958.
128. Melnikov S, Mayan H, Uchida S, Holtzman EJ, Farfel Z. *Eur J Clin Invest. Cyclosporine metabolic side effects: association with the WNK4 system.* 2011 Oct;41(10):1113-20. doi: 10.1111/j.1365-2362.2011.02517.x. Epub 2011 Mar 24.
129. Sahin K, Tuzcu M, Sahin N, Ali S, Kucuk O. Nrf2/HO-1 signaling pathway may be the prime target for chemoprevention of cisplatin-induced nephrotoxicity by



lycopene. *Food Chem Toxicol.* 2010 Oct;48(10):2670-4. doi: 10.1016/j.fct.2010.06.038. Epub 2010 Jul 13.

130. Karahan I, Ateşşahin A, Yılmaz S, Ceribaşı AO, Sakin F. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology.* 2005 Nov 15;215(3):198-204. Epub 2005 Aug 26.

131. Gokce M, Yuzbasioglu MF, Bulbuloglu E, Oksuz H, Yormaz S, Altınoren O, Kutlucan M, Coskuner I, Silay E, Kale IT. Cilostazol and diltiazem attenuate cyclosporine-induced nephrotoxicity in rats. *Transplant Proc.* 2012 Jul-Aug;44(6):1738-42. doi: 10.1016/j.transproceed.2012.04.025.

132. Yang H, Xu Z, Liu W, Deng Y, Xu B. The protective role of procyanidins and lycopene against mercuric chloride renal damage in rats. *Biomed Environ Sci.* 2011 Oct;24(5):550-9. doi: 10.3967/0895-3988.2011.05.015.

133. Yoshida K, Yokoyama H, Oteki T, Matsumoto G, Aizawa K, Inakuma T. J .Evaluation of the effect of dietary lycopene, the main carotenoid in tomato (*Lycopersicon esculentum*), on the in vivo renal reducing ability by a radiofrequency electron paramagnetic resonance method. *Agric Food Chem.* 2011 Apr 13;59(7):2966-71. doi: 10.1021/jf1041883. Epub 2011 Mar 7.

134. Augusti PR, Conterato GM, Somacal S, Einsfeld L, Ramos AT, Hosomi FY, Graça DL, Emanuelli T. Effect of lycopene on nephrotoxicity induced by mercuric chloride in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2007 Jun;100(6):398-402.

135. Xiao Z, Shan J, Li C, Luo L, Lu J, Li S, Long D, Li Y. Mechanisms of cyclosporine-induced renal cell apoptosis: a systematic review. *Am J Nephrol.* 2013;37(1):30-40. doi: 10.1159/000345988. Epub 2012 Dec 28.

## EKLER

## EK 1. Etik Kurul Kararı

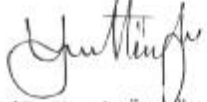

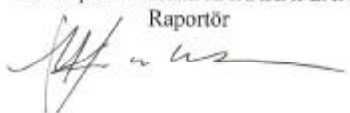







**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI**

Toplantı Tarihi : 30-12-2010  
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya  
 Araştırma Protokol no.su : 2010/74  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Sıçan  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Sprauge Davley  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti :  E  D  Farketmez  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 40  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 15 haftalık/200-250gr

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Doç.Dr. Halil DÜZOVA'nın yürüttüğü olduğu "Sıçanlarda ,böbrek iskemi reperfizyonda siklosiporin A'nın nefrotoksik etkisinin likopenle engellenebilirliği" isimli 2010/74 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.	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Raportör
 Prof.Dr. Ahmet KIZILAY Üye	 Prof.Dr. Selim DOĞANAY Üye katılmadı	 Yrd.Doç.Dr. M. Arif ALADAĞ Üye
 Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	 Salih AVCI Sivil Üye	

**ÖZGEÇMİŞ**

27.02.1981 Sivas doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Malatya'da tamamladıktan sonra, 2001 yılında başladığım İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fak. Biyoloji bölümünden 2005 yılında mezun oldum. 2010 Güz yarıyılında İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. Halen İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans yapmaktayım.