



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
RHEUM RİBES L. (IŞKIN)'İN OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİSİ**

SÜHEYLA ÖZYURT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2019

**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI**

**KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
RHEUM RİBES L. (IŞKIN)'İN OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ**

**SÜHEYLA ÖZYURT
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ**

**Jüri Üyesi
Dr. Öğr. Üyesi Muhammed SEYİTHANOĞLU**

**Jüri Üyesi
Prof. Dr. Ali Erdinç YALIN**

KAHRAMANMARAŞ-2019

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Süheyla ÖZYURT tarafından hazırlanan “Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarında Rheum Ribes L. (Işkın)’in Oksidatif Stres Üzerine Etkisi” adlı bu tez, jürimiz tarafından .../.../... tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr Ergül BELGE KURUTAŞ

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, KSÜ

Dr. Öğr.Üyesi Muhammed SEYİTHANOĞLU

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, KSÜ

Prof. Dr. Ali Erdinç YALIN

Biyokimya Ana Bilim Dalı, MEÜ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. MEHMET BOŞNAK

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

(imza)

Süheyla ÖZYURT



Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2019 / 2-7 YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Eğitimim süresi boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında ilgi ve desteğini aldığım ve fikirlerinden faydalandığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ergül Belge Kurutaş'a

Eğitimim sırasında yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı hocam Prof. Dr. Metin Kılınç ve Öğretim üyeleri Prof. Dr. Fatma İnanç Tolun, Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Seyithanoğlu ve Dr. Öğr. Üyesi Filiz Alkan Baylan hocalarıma,

Tez çalışmamda çok değerli katkıları olan, Prof. Dr. Sevgi Bakariş ve Prof. Dr.M. Fatih Yüzbaşıoğlu hocalarımıza

Her zaman maddi manevi yanımda olan saygıdeğer babama, sevgili anneme, aileme ve her türlü desteğini üzerimden hiçbir zaman eksik etmeyen çok değerli eşim Mehmet Özyurt'a en içten teşekkürü bir borç bilirim.

Bu araştırma, 2019 / 2-7 YLS kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Aralık-2019

Süheyla ÖZYURT

KARACİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA RHEUM RİBES L. (IŞKIN)'İN OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ

Yüksek Lisans Tezi
SÜHEYLA ÖZYURT

ÖZET

Organların kanlanmaması yani besin ve oksijen gibi maddelerin dokulara yeterince ulaşamaması durumu iskemik olarak tanımlanır. Karaciğer dokusunun yaşamının devam edebilmesi için iskemik alanın erken reperfüzyonu önemlidir. Karaciğer iskemisi sonrası reperfüzyonun yol açtığı ağır oksidatif stres ciddi işlevsel ve yapısal hasara yol açmaktadır. Bu hasardan başlıca serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır. Işkın (Rheum ribes L.) Polygonaceae familyasından çok yıllık otsu bir bitkidir. Son zamanlarda biyokimyasal ara ürünler ve stres sonucu oluşan serbest radikallerin birçok hastalıkla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada ışkının karaciğer iskemisi-reperfüzyon hasarında oksidatif stres üzerine etkisi araştırılmıştır. Böylece sıklıkla tüketilen bu bitkinin bilinmeyen bir yönü ele alınarak konu aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Çalışmamızda 24 Wistar Albino ratlar her gruba n=8 rat olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Bunlar I / R, Sham (SF) ve Tedavi (Işkın) gruplarıydı. I / R grubuna 30 dk iskemisi, 30 dk reperfüzyon uygulandı. Sham (SF) grubundaki sıçanlara bir gün önceden serum fizyolojik (%0,9 NaCl) verildi, laparotomi sonrası 30 dk iskemisi ve 30 dk reperfüzyon oluşturulup takibinde serum fizyolojik 1 mL verildi. Tedavi (Işkın) grubuna ise deneyden 1 gün önce gavaj yolla ışkın ekstratından 1 mL (50 mg / kg / gün dozunda) verildi laparotomi sonrası 30 dk iskemisi, 30 dk reperfüzyondan sonra tekrar ışkın verildi. Yapılan işlemlerin sonrasında karaciğer dokuları alındı. Alınan örneklerden oksidatif stres biyomarkırları olarak katalaz (CAT) ve superoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri ve malondialdehit (MDA) düzeyleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Dokuların histopatolojik analizi ışık mikroskobu altında gerçekleştirildi.

I / R grubunda MDA düzeyinin önemli derecede arttığı ve antioksidan enzim düzeylerinin azalttığı gözlemlendi (p<0.05). Tedavi grubu, I / R grubu ile karşılaştırıldığında, MDA düzeyinin belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi (p<0.05). Histopatolojik incelemede I / R grubunda hasar gözlenirken tedavi (ışkın) grubunda rejenerasyon bulguları saptandı. Sonuç olarak, karaciğer IR hasarında oksidatif stresin önemli rol oynadığı ve bu hasara karşı ışkın verilmesinin koruyucu rol oynadığı düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Işkın, karaciğer iskemi-reperfüzyon, oksidatif stres, rheum ribes,

Sayfa Adedi: 62

Danışman: Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ



LIVER ISCHEMIA IN REPERFUSION INJURY
THE EFFECT OF RHEUM RIBES L. (ISKIN) ON OXIDATIVE STRESS

Master's Thesis

SÜHEYLA ÖZYURT

ABSTRACT

Ischemia is defined as the fact that organs such as nutrients and oxygen cannot reach the tissues adequately. Early reperfusion of the ischemic area is important for the survival of the liver tissue. Severe oxidative stress caused by reperfusion after liver ischemia leads to serious functional and structural damage. Free oxygen radicals are responsible for this damage. Root (*Rheum ribes L.*) is a perennial herbaceous plant from the Polygonaceae family. Recently, biochemical intermediates and stress free radicals have been associated with many diseases. In this study, the effect of irradiation on oxidative stress in liver ischemia-reperfusion injury was investigated. Thus, an unknown aspect of this frequently consumed plant was tried to be elucidated.

In our study, 24 Wistar Albino rats were divided into 3 groups with $n = 8$ rats per group. These were I / R, Sham (SF) and Treatment (Iskin) groups. I / R group received 30 min ischemia and 30 min reperfusion. The rats in the sham (SF) group were given saline (0.9% NaCl) one day in advance, 30 min ischemia and 30 min reperfusion after laparotomy. The treatment group (Iskin) was given 1 mL (50 mg / kg / day dose) of irradiation extract by gavage 1 day before the experiment. Liver tissues were removed after the procedures. Catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities and malondialdehyde (MDA) levels were measured spectrophotometrically as oxidative stress biomarkers. Histopathological analysis of the tissues was performed under light microscope.

MDA levels were significantly increased and antioxidant enzyme levels were decreased in the I / R group ($p < 0.05$). When the treatment group was compared with the I / R group, it was observed that MDA level decreased significantly ($p < 0.05$). Histopathological examination showed damage in the I / R group and regeneration findings in the treatment (irradiation) group. As a result, oxidative stress plays an important role in liver IR injury and irradiation against this injury plays a protective role.

Key Words: Irradiation, liver ischemia-reperfusion, oxidative stress, rheum ribes

Page number: 62

Supervisor: Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	I
ÖZET	II
ABSTRACT	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.Karaciğerin Anatomik ve Fizyolojik Yapısı.....	2
2.2. Karaciğerin Temel Fonksiyonları.....	4
2.3. Rat Karaciğer Anatomisi	6
2.4. İskemi / Reperfüzyon Hasarı	7
2.5. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı	8
2.5.1. Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarı Oluşum Mekanizmaları	10
2.6. İskemi Reperfüzyonun Organ Sistemlerine Etkisi	11
2.7. Serbest Radikaller.....	12
2.7.1. Serbest Radikallerin Oluşması.....	13
2.7.2. Serbest Radikal Oluşturan Başlıca Mekanizmalar	14
2.7.3. Enzimatik ve Peptid Savunma Sistemleri.....	15
2.8. Antioksidanlar	16
2.8.1. Antioksidanların Etki Mekanizmaları	16
2.9. Işkın (Rheum ribes L.).....	17
2.9.1. Işkın'ın Kimyasal İçeriği.....	18
3.MATERYAL VE METOD	19
3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	19
3.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	20
3.3. Deney Hayvanları.....	20
3.4. Deney Grupları	21
3.5. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı Modeli	21
3.6. Homojenat Hazırlama.....	23
3.7. Karaciğer Dokusunda Protein Düzeyinin Tayini.....	23
3.8. Karaciğer Dokusunda Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Tayini.....	25

3.9. Karaciğer Dokusunda SOD Aktivite Tayini.....	27
3.10. Karaciğer Dokusunda CAT Aktivite Tayini.....	31
3.11. İstatistiksel Analiz	32
4.BULGULAR	33
4.1. Karaciğer Dokusundaki MDA Düzeyleri	33
4.2. Karaciğer Dokusundaki SOD Aktiviteleri.....	34
4.3. Karaciğer Dokusundaki CAT Aktiviteleri.....	35
4.4. Histopatolojik Bulgular	36
4.4.1. Histopatolojik Değerlendirme	36
4.4.2. Histopatolojik Analiz Sonuçları	36
5.TARTIŞMA.....	38
6.SONUÇ	41
7.KAYNAKLAR.....	42
8.ŞEKİLLER DİZİNİ	47
9.RESİMLER DİZİNİ	48
10.TABLOLAR DİZİNİ	49
11.EKLER DİZİNİ	50
12.ÖZGEÇMİŞ.....	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	: Adenozin Trifosfat
ADP	: Adenozin Difosfat
NADPH	: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
IR	: İskemi Reperfüzyon
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotit
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
H₂O₂	: Hidrojenperoksit
HOCl	: Hipoklorik Asit
MDA	: Malondialdehit
ML	: Mililitre
NO	: Nitrik oksit
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
O₂⁻	: Süperoksit Anyon Radikali
HOCl	: Hipoklorik Asit
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
TBA	: Tiyobarbütirik asit
XO	: Ksantin Oksidaz
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
HO₂[·]	: Perhidroksi Radikali
OH[·]	: Hidroksil Radikali
O₂[·]	: Singlet Oksijen
NO[·]	: Nitrik Oksit Radikali
H[·]	: Hidrojen Radikali
SOD	: Süperoksit Dismutaz
ROO[·]	: Peroksil Radikali
ETS	: Elektron Transport Sistemi

1.GİRİŞ AMAÇ

Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokuların yetersiz perfüzyonu neticesinde doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımının sağlanması gerekmektedir. İskemiye maruz kalan dokunun reperfüzyonu, dokuda iskeminin yarattığı hasardan daha ciddi yıkımlara yol açmaktadır (1).

Reperfüzyon döneminde meydana gelen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizmanın rolü vardır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan sellüler yapılar, proteinler, nükleik asitler, zar lipitleri ve DNA molekülleridir (2).

Reaktif oksijen radikallerinin muhtemel zararlarına karşılık çok sayıda hücre koruyucu enzimler ile karşı koyulur ve antioksidan maddeler yardımıyla radikal hasar sınırlandırılmaya çalışılır. Vücutta bulunan hücrel antioksidan maddeler, antioksidan enzimler ve serbest radikallerin birbirleri arasındaki ilişki bir denge mekanizması oluşturmaktadır. Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde, antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve enzimatik olarak çalışırlar. Enzimatik antioksidanlar, antioksidan savunmada öncelikle etkilidirler. Bunlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimlerdir (3,4).

Karaciğer, birçok hastalıktan sonra kendini yenileyebilme özelliğine ve kapasitesine sahip önemli bir organdır. Fakat bazı durumlarda, karaciğer geri dönülemez bir biçimde hasara uğramaktadır. Karaciğerde meydana gelen herhangi bir fonksiyonel bozukluğun vücuttaki tüm sistemleri etkilediği bilinmektedir. İskemik karaciğer dokusunun yaşamının devam edebilmesi için iskemik alanın erken reperfüzyonu oldukça önemlidir. Karaciğer iskemi sonrası reperfüzyonun yol açtığı ağır oksidatif stres ciddi işlevsel ve yapısal hasara yol açmaktadır. Bu hasardan başlıca serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır. İnsan vücudunun serbest radikaller tarafından oluşturulabilecek oksidatif stresi ortadan kaldırmak için en önemli silahı antioksidanlardır. Antioksidanlar serbest radikalleri temizleyebilen ve hücre hasarını engelleyebilen maddelerdir. İnsanda bulunan antioksidanlar ya vücut tarafından doğal olarak üretilirler ya da dışarıdan ilave olarak alınırlar.

Çeşitli insan hastalıklarını tedavi etmek için bitkilerin kullanımı uzun bir tarihe sahiptir. Yaprak, gövde, ağaç kabuğu, kök gibi bitkilerin çeşitli kısımları semptomları önlemek, anormallikleri normale döndürmek için kullanılır. Bazı bitkilerin antioksidan aktiviteleri ile ilgili bilimsel çalışmalar olmasına rağmen, sınırlıdır. İskemi reperfüzyon hasarı sonucunda meydana gelen doku hasarının boyutu, iskemi olayının süresi ile birlikte, ilgili dokunun veya organın biyokimyasal metabolizması ve yapısal durumu gibi farklılıkları ile de ilişkilidir. Bu çalışmada karaciğer organında görülen biyokimyasal süreçler ele alınacaktır. Çalışmamızda kullandığımız rheum ribes L. (ışkın)'in içeriğiyle önemli antioksidan etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bu sebeple, bu bitkinin karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarında, oksidatif stres üzerine etkisinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Böylece özellikle yöre halkı tarafından çiğ veya değişik yemekleri yapılarak tüketilen bu bitkinin bilinmeyen bir yönü ele alınarak konu aydınlatılmaya çalışılacaktır.

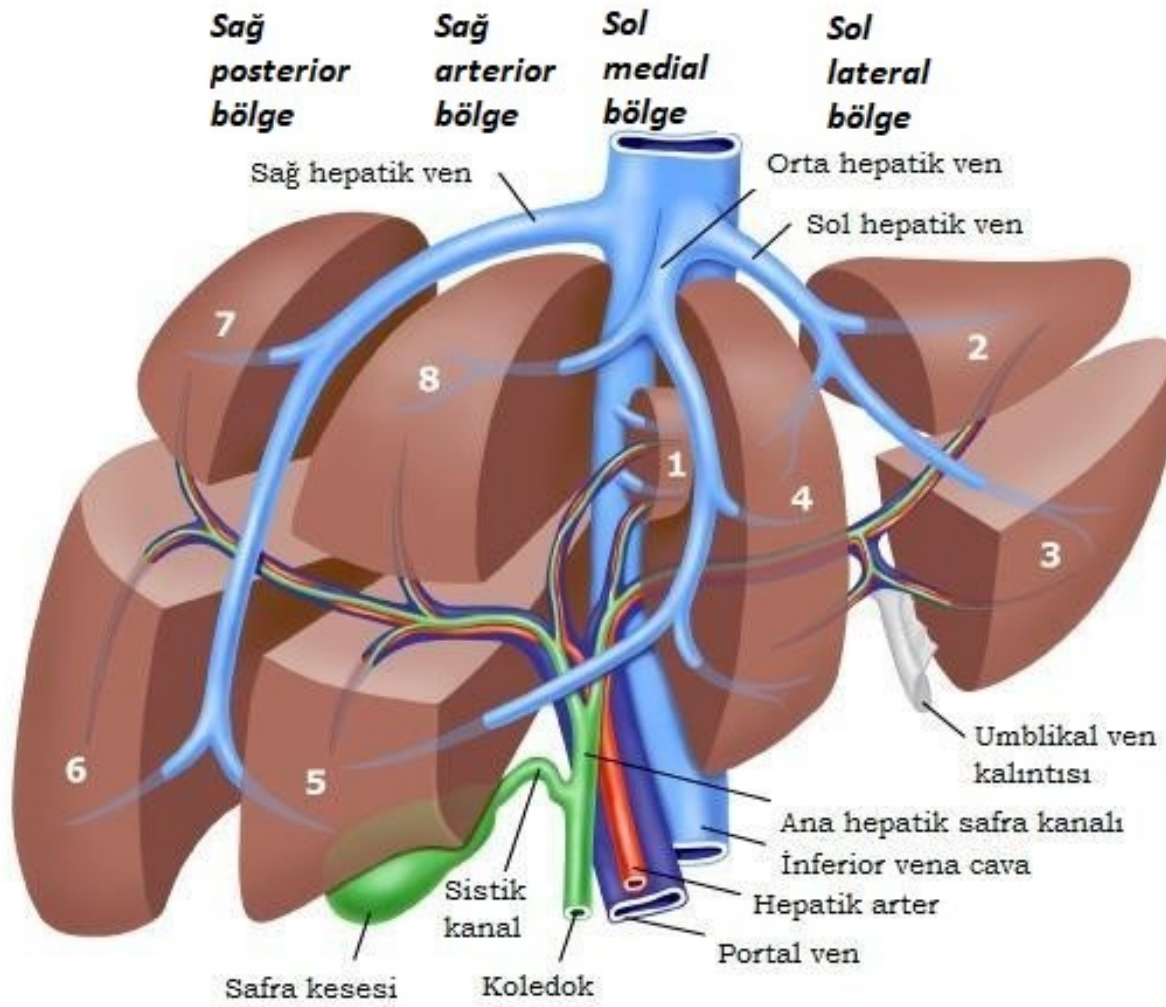
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğerin Anatomik ve Fizyolojik Yapısı

Karaciğer, birçok farklı işlevin gerçekleştirildiği aynı zamanda bu işlevlerin birbiriyle bağlantısının da sağlandığı vücudun en büyük organdır. Yetişkinlerde ki ağırlığı yaklaşık olarak 1,5 kg kadardır. Karaciğerin işlevsel birimi karaciğer lobülü adını alır, insan karaciğerinde bu yapılardan 50.000-100.000 adet bulunmaktadır. Karaciğer lobülü silindirik yapıdadır, uzunluğu birkaç milimetre olmakla birlikte 0,8-2 mm çapındadır. Karaciğer lobülleri, santral bir ven etrafındaki yapılardan oluşmaktadır. Bu santral venler hepatik venlere onlarda vena kavaya boşalmaktadır. Hepatik hücresel plaklardan yapılan karaciğer lobülleri içte olan santral venden dışa doğru uzanan çubuklar şeklindedir. Her bir hücresel plak genellikle iki hücreden oluşur bu komşu hücreler arasında küçük safra kanalcıkları bulunur, bu kanalcıklar safra kanallarına dökülür (5,6).

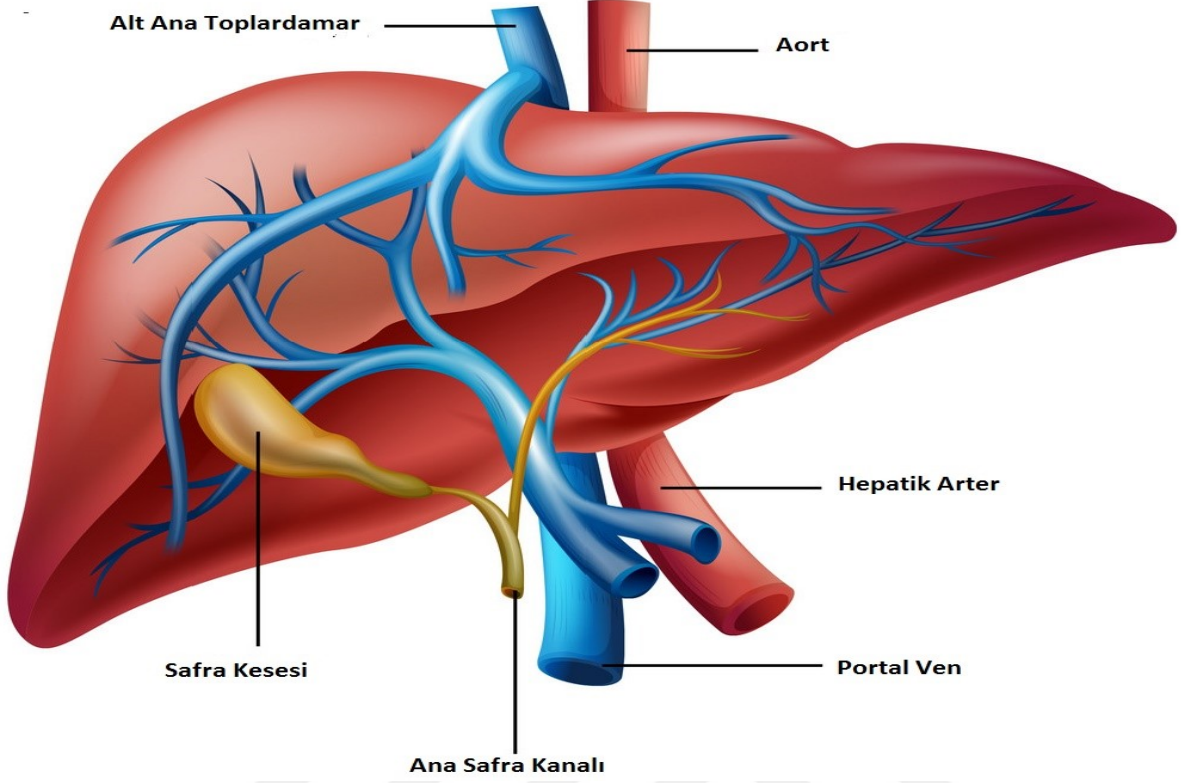
Karaciğere dakikada toplamda 1350 ml / dk kan gelmektedir. Karaciğere gelen bu kan hacminin 1050 ml'si portal ven, 300 ml'si hepatik arter yoluyla gelmektedir. Gastrointestinal kanaldan portal venler'e gelen kan, bölmeler arasındaki küçük portal venüller'e, daha sonra hepatik plaklar arasında uzanan hepatik sinüsoidlere, son olarak santral vene dökülür. Hepatik arter ile gelen kan ise bölümler arasındaki hepatik arteriyollere, oradan da doğrudan hepatik sinüsoidlere son olarak santral vene dökülür. Karaciğerden çıkan kan hepatik ven ise vena kavaya dökülmektedir. Venöz sinüsoidler hepatik hücreler haricinde endotel hücreleri ve büyük Kupffer hücreleri ile döşelidir. Kupffer hücreleri makrofaj tipi hücreler olup

retiküloendotelyal hücreler olarakta adlandırılmaktadır, hepatik sinüs kanındaki bakteri ve öteki yabancı maddeleri fagosite ederler. Endotel hücreleriyle karaciğer hücreleri arasındaki çok dar doku aralığına Disse aralığı (perisinüsoidal aralık) adını almaktadır. Disse aralığı lenfatik damarlara bağlanmaktadır. Hepatik sinüsoidlerdeki porların çok geçirgen olması hem sıvı hem de proteinlerin Disse aralıklarına kolayca geçebilmesine imkân vermektedir bu sayede de karaciğerdeki sıvının fazlası lenfatik kanallar sayesinde uzaklaştırılabilmektedir (5,6).



Şekil 1. Hepatik ven ve portal ven akımına göre tasarlanmış karaciğerin sekiz segmentli yapısı (7).

KARACİĞER ANATOMİSİ



Şekil 2 Karaciğerin iç anatomisi (8).

2.2. Karaciğerin Temel Fonksiyonları

Karaciğer genişleyebilen bir organ olduğundan sağ atriyumda basınç yükseldiğinde hepatik venler ve sinüslerde büyük miktarlarda kanın depolanabilmesine olanak sağlamaktadır. Bununla birlikte karaciğerin normal kan volümü 450 ml'dir. Karaciğer, kan hacmi azaldığında ek kan sağlama yeteneği olan, kan hacmi aşırı şekilde arttığında ise önemli bir kan deposu olabilen büyük venöz bir organdır (5,6).

Karaciğerin Kan Temizleme İşlevi: Barsak kapillerlerinden Portal venler'e akan kan barsaklardan birçok bakteriyi de beraberinde karaciğere getirir. Karaciğere gelen bu kan venöz sinüsler içinden geçerken sinüsoidleri döşeyen Kupffer hücreleri tarafından son derece etkili bir şekilde temizlenmektedir. Bu yüzden barsaklardan portal kana girerek karaciğer içinden geçip sistemik dolaşıma ulaşmayı başaran bakterilerin sayısı birden fazla değildir (5,6).

Karaciğerin Metabolik İşlevleri: Vücudun diğer bölgelerinde kullanılacak olan birçok madde karaciğerde sentez edilip, işlenirken aynı zamanda birçok metabolik işlev de yürütülür.

Bu metabolik işlevler karbonhidrat metabolizması, yağ metabolizması, protein metabolizması ve diğerleri şeklinde sıralanmaktadır (5,6).

a) Karbonhidrat Metabolizması: Karaciğerin karbonhidrat metabolizmasında başlıca şu işlevleri vardır:

- i. Kanda bulunan glikozunun fazlasını kandan alıp glikojen olarak depolamak ve kan glikoz yoğunluğu düşmeye başladığında da tekrar glikoz olarak kana vermek (glikojenoliz).
- ii. Fruktozu ve galaktozu glikoza çevirmek.
- iii. Kanda glikoz yoğunluğu normalin altına düşmeye başladığında glikoneojenez yoluyla amino asitlerin glikoza çevrilmesi.
- iv. Karbonhidrat metabolizması ara ürünlerinden birçok önemli kimyasal maddeleri oluşturur (5,6).

b) Yağ Metabolizması: Karaciğerin yağ metabolizmasındaki başlıca işlevleri şöyle sıralanabilir:

- i. Yağ asitlerinin oksidasyonu ile enerji sağlamak; Karaciğerde nötral yağlar gliserol ve yağ asitlerine ayrıldıktan sonra beta oksidasyonla yağ asitlerinden asetil-koenzim A (asetil CoA) oluşur. Oluşan asetil CoA sitrik asit döngüsüne girerek okside edilip büyük miktarda enerji sağlanır. Ayrıca iki molekül asetil CoA'nın birleşmesiyle oluşan ve çok kolay eriyen asetoasetik asit bütün vücuda taşınarak dokular tarafından tekrar asetil-CoA'ya çevrilerek okside edilip enerji sağlanır.
- ii. Kolesterol, fosfolipit ve lipoprotein sentezi; Karaciğerde sentezlenen kolesterolün yaklaşık yüzde 80'i safra tuzlarına çevrilip safraya salgılanırken geri kalanı lipoproteinler içinde kanla tüm vücuda taşınırlar. Fosfolipitler de karaciğerde sentezlendikten sonra başlıca lipoproteinler içinde taşınırlar.
- iii. Karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi; Karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi büyük ölçüde karaciğerde gerçekleşir, sentezlenen yağ lipoproteinler içinde yağ dokusuna taşınırlar (5,6).

c) Protein Metabolizması: Karaciğerin protein metabolizmasındaki başlıca işlevleri şöyle sıralanabilir:

- i. Amino asitlerin deaminasyonu; Amino asitlerin, enerji için kullanılması, kar-bonhidrat veya yağlara çevrilmesi için önce karaciğerde deaminasyonu olmaktadır.
- ii. Üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması; Karaciğerde üre oluşumuyla sağlanmaktadır.

- iii. Plazma proteinlerinin oluşumu; Gama globülinlerin bir bölümü dışında plazma proteinlerinin yaklaşık yüzde 90'ı karaciğerde yapılmaktadır.
- iv. Vücuttaki metabolik olaylar için önemli bazı amino asitlerin sentezi ve amino asitlerinden önemli kimyasal bileşiklerin oluşturması. (5,6).

Karaciğerin Diğer İşlevleri:

a) Vitaminlerin depo edilmesi; Karaciğerde büyük miktarlarda D vitamini ve B12 vitamini de depo edilirken en fazla A vitamini depo edilir.

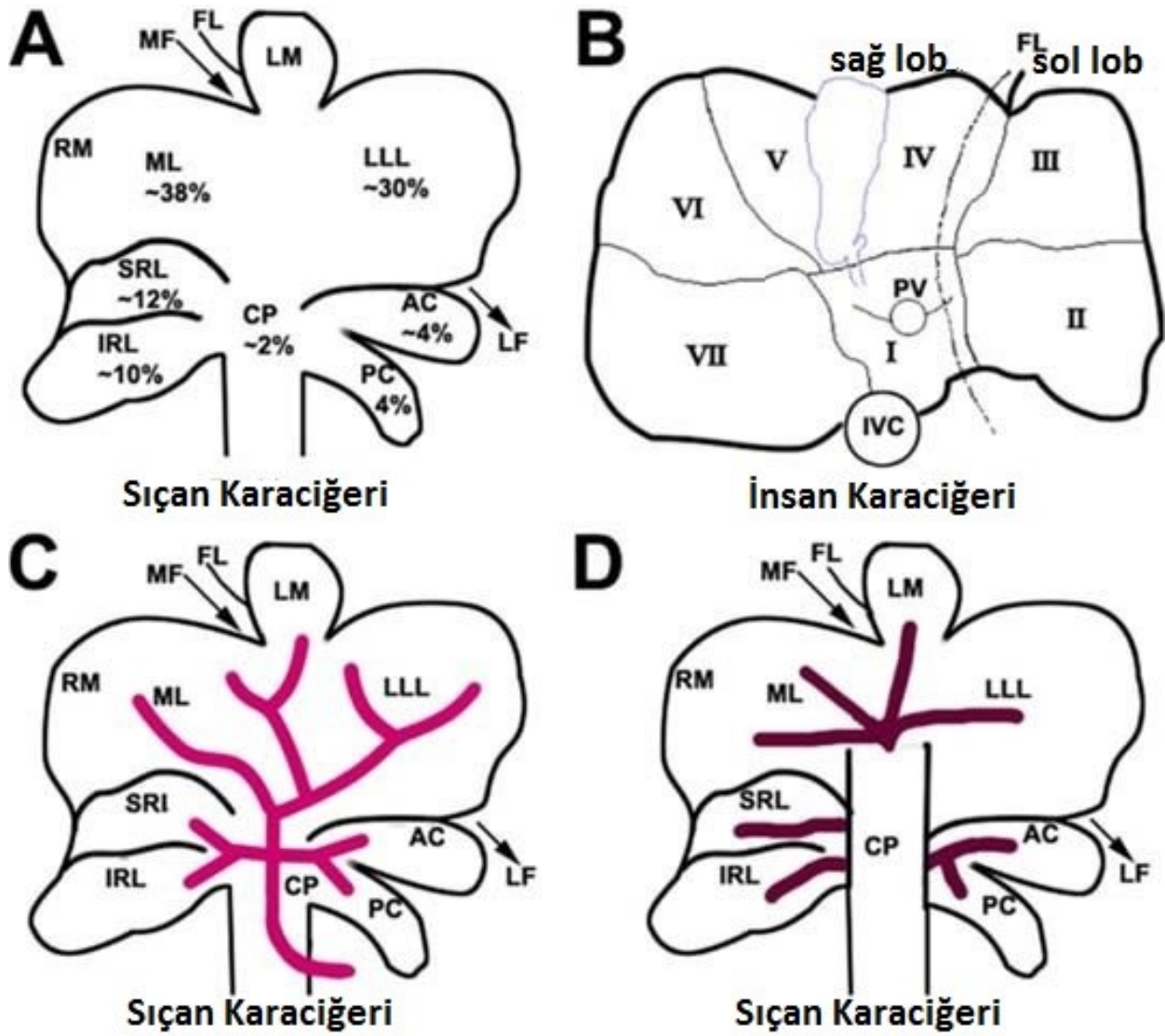
b) Karaciğerde demirin ferritin şeklinde depolanması; Vücutta demir hemoglobin dışında, normalde en büyük oranda karaciğerde ferritin şeklinde depo edilir. Vücut sıvılarında demir miktarı arttığı zaman karaciğerde apoferritin ile birleşerek ferritin şeklinde bir daha kullanılmak üzere depo edilir.

c) Kan pıhtılaşmasına etkisi; Birçok koagülasyon faktörü karaciğerde yapılır. Bu faktörlerden protrombin, faktör VII, IX ve X'un oluşumundaki metabolik olaylarda K vitamini gerekmektedir. K vitamini eksikliğinde bu faktörlerin yoğunluğu çok düşer ve pıhtılaşma bozulur.

d) Bilirubin atılımına etkisi; Hemoglobinin yıkımındaki son ürünlerden biri olan bilirubin plazmada albumine bağlı olarak karaciğere taşınır. Bilirubin karaciğerde plazma albumininden ayrılıp yaklaşık yüzde 80'i glukuronik asitle, yüzde 10'u sülfatla birleşerek bilirubin glukuronat ve bilirubin sülfat oluşurken geri kalan yüzde 10'u çeşitli maddelerle birleşir (5,6).

2.3. Rat Karaciğer Anatomisi

Ratların karaciğerleri; sol lateral-sol medial, sağ lateral-sağ medial ve kaudal loblardan oluşmaktadır. Karaciğer kapsülü, her lobu ayrı ayrı sarmakta olup loblar sadece porta hepatis düzeyinde birleşmektedirler. Kaudal lob, sol lateral lobun inferior yüzeyine bir periton yaprağı ile yapışmaktadır. Portal ven, hepatic arter ve safra kanalları, her lob için porta hepatis düzeyinde ve karaciğer parankiminin hemen dışında dallanmaktadır. Ratlarda, safra kesesi yoktur ve uzun bir safra kanalı, pankreas üzerinden duodenuma dökülür. Sol lob ve orta lob, tek lob şeklindedir ve orta lob round ligamanının yapıştığı derin bir çentiğe sahiptir. Sağ lob, iki küçük alt loba ayrılır. Kaudal lob ise, parakaval ve spiegel loblarına ayrılır. Sağ sol ve kaudal lob, bir portal dala sahiptir; orta lob iki portal dala sahiptir. Sol lob ile sağ lobun bir kısmı, kaudal lob, bir büyük hepatic vene drene olurken, orta lob üç hepatic vene drene olmaktadır. Rat karaciğeri ve insan karaciğerinin temel yapıları, benzerlik gösterir. Rat karaciğerinin lobları, insan karaciğerindeki (Şekil 3) segmentlere benzetilebilir (9)



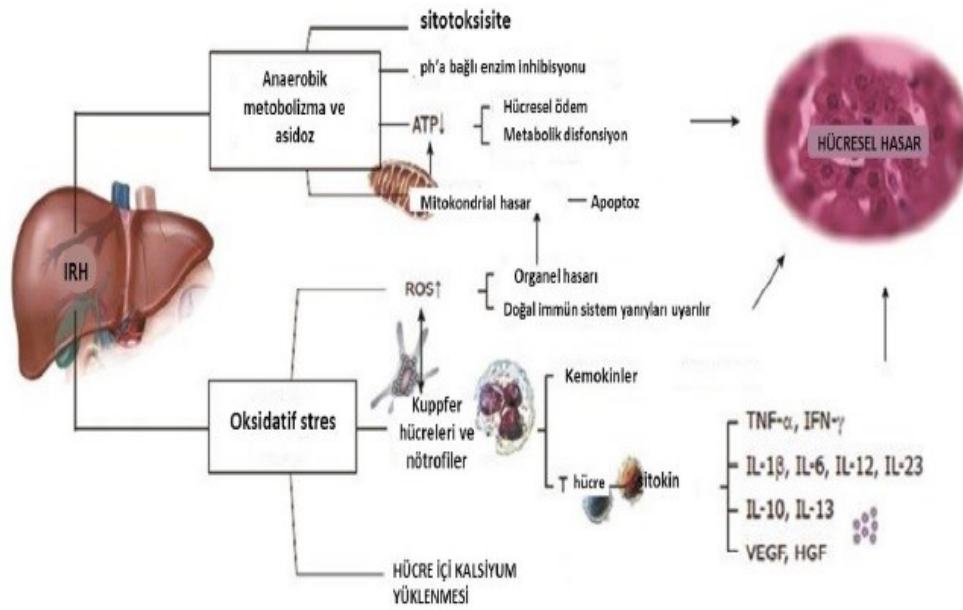
Şekil 3. Rat ve İnsan Karaciğer Anatomisi (10).

(A) Rat karaciğer lobları ve ortalama ağırlık yüzdesi (B) Human karaciğer segmentleri (C) Rat karaciği portal venleri (D) Rat karaciğeri hepatik venler.

2.4. İskemi / Reperfüzyon Hasarı

Vücuttaki herhangi bir doku veya organa kan akışının azaldığı ya da kesildiği (özellikle vasküler cerrahi işlemler ve organ transplantasyonu esnasında) duruma iskemi denir. İskeminin uzun sürmesi neticesinde hücrelerin bütünlüğünün kaybolmasıyla birlikte hücrel ölüm meydana gelebilir. İskemiye maruz kalan dokunun kanlanmasının tekrar başlamasına ise reperfüzyon denmektedir. Reperfüzyon durumunda, özellikle dokuya yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salgılanan serbest oksijen radikalleri (SOR)

dokudaki yıkımı artırmaktadır. Bu olay reperfüzyona bağlı doku hasarı adını almaktadır. İskemi sonucu hipoksi oluşmakta, oluşan hipoksi ise aerobik oksidatif solunumu etkileyerek, son derece önemli ve genel bir hücre zedelenmesi ve ölüm nedeni haline gelmektedir (11). İskeminin uzun süre devam etmesi halinde enerji eksikliğine bağlı olarak bazı olaylar oluşur: İskemi sonucu oksijen azalması, krebs döngüsüyle aerobik oksidasyonda azalmaya ve hücrede bulunan adenosin trifosfat (ATP) miktarında düşüşe neden olur. Bu durum adenosin difosfat (ADP) ile fosfat birikimi ve Embden-Meyerhoff yolundaki anaerobik likolizde artışla neticelenir. Laktik asit ve pürivik asit birikir. Laktat artışı ve H⁺ birikimi doku pH'sında düşmeye sebebiyet verir. Laktik asit ve düşük pH, protein parçalanması enzim fonksiyonlarında kayıp redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) rejenerasyonunun engellenmesi ve SOR gibi iskemik hasar oluşturan etkenlerin gelişimini arttırmaktadır (12).



Şekil 4. İskemi Reperfüzyon hasarı metabolizması (15).

2.5. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı

Karaciğer cerrahisi ve naklinde önemli bir klinik vaka olan karaciğer iskemisi reperfüzyon hasarı ilk kez 1975'de deneysel olarak gerçekleştirilen karaciğer naklinde gösterilmiştir. Karaciğer kan akışının %70-80'i portal venden, geri kalan kısmı ise hepatik arterden sağlanır. İkili kan desteği ve glikojen depolarının yüksek anaerobik metabolizma hacmine sahip olmasına rağmen karaciğerde hipoksik hasarlanma meydana gelebilmektedir (13).

Karaciğerde İskemi Reperfüzyon hasarı iki evrede gerçekleşmektedir:

1. Erken faz (0-2 saat): Reperfüzyon olayından sonra iki saat içerisinde gözlenir. Kupffer hücrelerinde SOR oluşumu ile ayırt edilir. SOR üretimi ve salınımı hepatositlerde hasarlanmaya neden olur.

2. Geç Faz (6-48 saat): Nötrofillerin, lenfositlerin, makrofajların ve trombositlerin karaciğere hareketi ile inflamasyon yanıtı uyarılmakta ve sinüzoidal kan akışında farklılıklar meydana gelmektedir. Hepatositlerdeki hasar SOR ve ekstrasellüler sitokinler ile oluşur (14).

İskemi-reperfüzyon (İR) hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür.

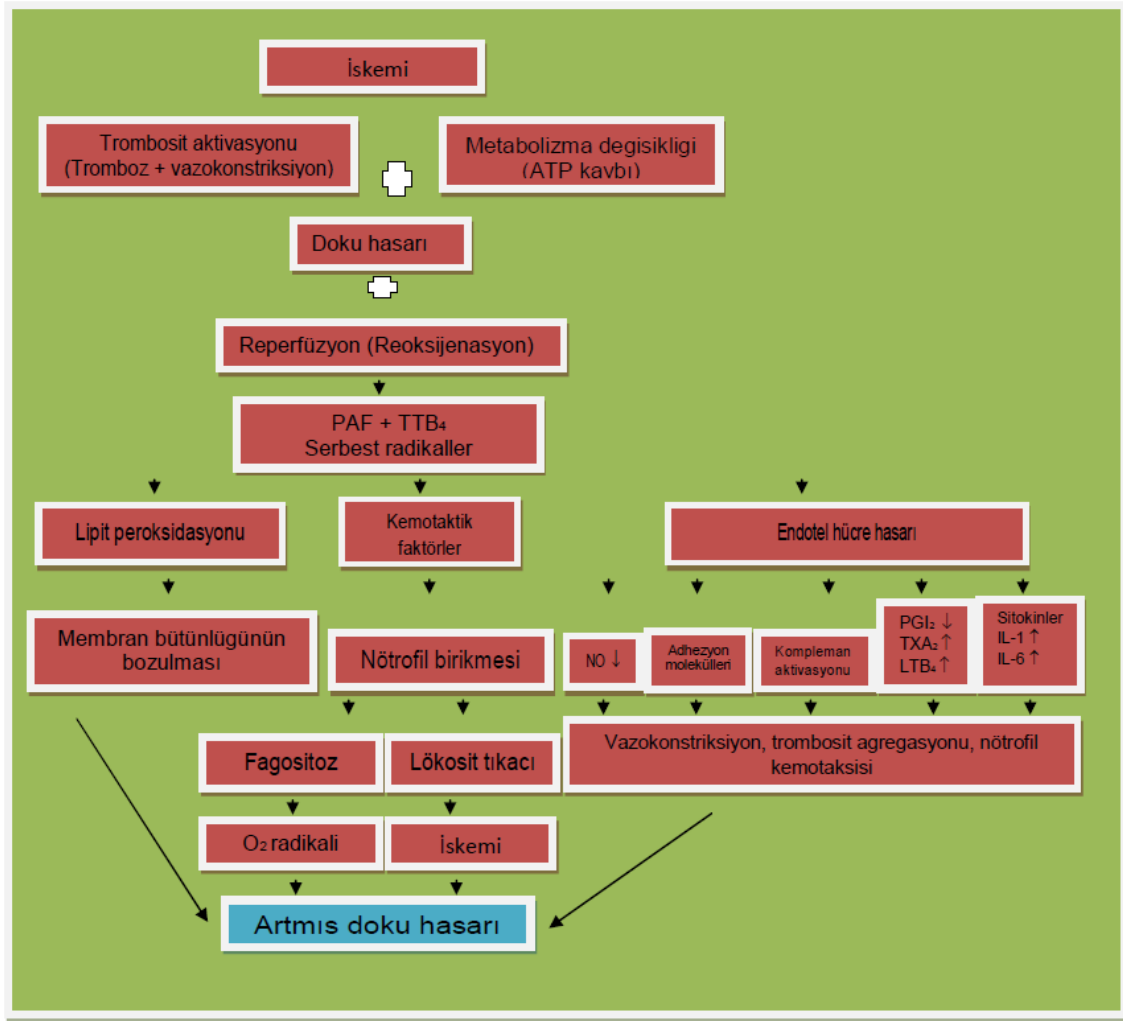
Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücrese ve humoral olaylar dizisidir.

Özellikle;

- 1) Serbest oksijen radikalleri (SOR),
- 2) Polimorf nüveli lökositler (PMNL),
- 3) Kompleman sistemi,
- 4) Endotel hücreleri olmak üzere bu dört faktör hasarın başlıca sebepleri arasında yer almaktadır.

Serbest oksijen radikallerinin muhtemel zararlarına çok sayıda hücre koruyucu enzimleri ile karşı koyulur ve antioksidan maddeler ile radikal hasarı sınırlandırılmaya çalışılmaktadır. Vücudumuzdaki antioksidan maddeler ve serbest radikallerin birbirleriyle olan ilişkileri bir denge oluşturmaktadır. Hücrede oksijenin olduğu yerlerde, antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini düşürmek için enzimatik olarak çalışırlar. Antioksidan savunmada ilk olarak etkin olan enzimatik antioksidanlardır. Bunlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi enzimlerdir (16).

İskemi ve reperfüzyon sırasında; mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun değişmesi, ATP'nin azalması, hücre içi Ca^{+2} artışı ve hücre iskeleti ile membran fosfolipitlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfatazların aktive olması neticesinde aşırı miktarda SOR oluşarak, oksidatif strese sebebiyet verir. İskemi-reperfüzyon hasarının fizyopatolojisinde, serbest oksijen radikallerinin önemli bir role sahip oldukları bilinmektedir. Serbest radikaller; lipoproteinler, serbest amino asitler, karbonhidratlar, proteinler, nükleik asitler, lipitler ve bağ dokusu makromolekülleri de dahil olmak üzere, canlı organizmaların yapısında bulunan hemen hemen tüm biyomoleküllerle reaksiyona girerek bunlar üzerinde geriye dönüşü olan veya dönüşü olmayan etkiler meydana getirebilmektedirler (17).



Şekil 5. İskemi Reperfüzyon Hasarında Meydana Gelen Olaylar Dizisi (18).

2.5.1. Karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarı oluşum mekanizmaları

İskemi-Reperfüzyon olayı sırasında; mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun değişmesi, ATP'nin azalması, hücre içi Ca^{+2} artışı ve hücre iskeleti ile membran fosfolipitlerinin yapısının değişmesine öncülük eden proteaz ve fosfatazların aktif hale geçmesi sonucu fazla miktarda serbest oksijen radikali oluşarak, oksidatif strese neden olmaktadır (19,20).

Serbest radikaller; canlı organizmaların yapısında bulunan birçok biyomoleküllerle tepkimeye girerek bu biyomoleküller üzerinde geriye dönüşü olan veya kalıcı hasarlara sebebiyet verdiği bilinmektedir (20).

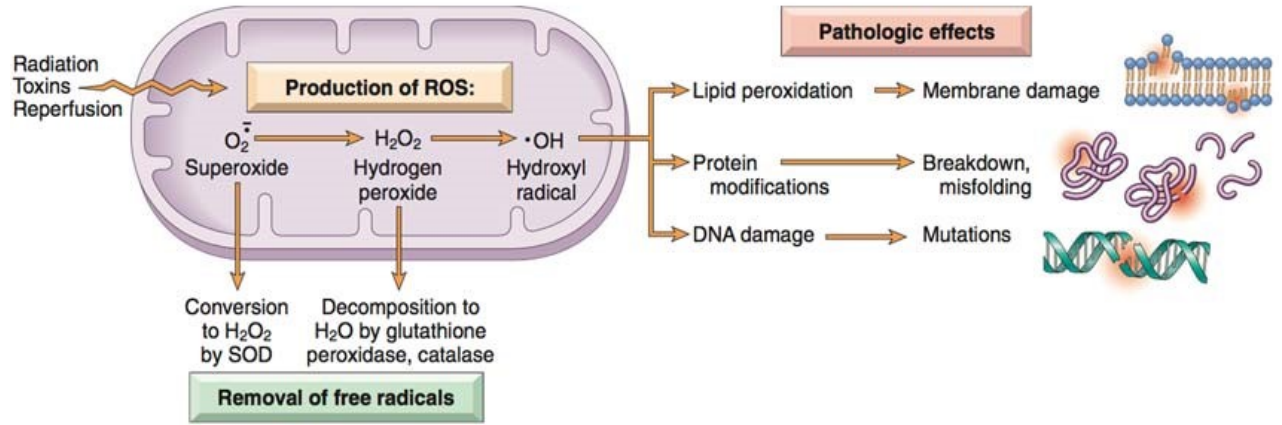
İskemi olayının gerçekleşmesi sırasında az miktarda serbest radikal oluşmaktaysa da reperfüzyon olayının gerçekleştiği dönemde dokunun yeniden oksijenle buluşmasının ardından

çok daha büyük oranda serbest radikal oluşmakta ve bu serbest radikaller lipid peroksidasyonuna yol açarak oluşan hasarın artmasına neden olmaktadır (21).

Hipoksi mitokondrideki oksidatif fosforilasyonun engellenmesine neden olur, hayati öneme sahip olan ATP üretimini durdurur. Kritik noktadan gelindikten sonra öldürücü membran zedelenmesine neden olmaktadır. Bununla birlikte meydana gelen reperfüzyonda hücrede şu hasarlara neden olduğu bilinmektedir.

- 1-Ksantin oksidaz kaynaklı serbest radikallerin oluşması
- 2-Hasarlı endotele nötrofil yapışmasında fazlalaşma
- 3-Enerji kaybına uğrayan organa reperfüzyon anında Ca^{+2} taşınması
- 4-Post iskemik evrede adenin nükleotit sağlanmasındaki eksiklik, hücrede enerji açığı.

İskemide ATP, ADP, AMP, inozine ve hipoksantin'e yıkıma uğrar. Normal şartlarda hipoksantin ksantinoksidaz ile ksantin ve ürik aside okside olur. Bu durum hipoksantin oksijenizasyonu için substrat fazlalığına neden olmaktadır. Reperfüzyon döneminde ani ve yüksek oranda oksijen sağlandığından, hipoksantin'in ksantine oksidasyonu, süperoksid radikallerinin meydana çıkmasına neden olur (22).



Şekil 6. İskemi sonrası hücre hasarındaki ROS etkileri (23).

2.6. İskemi Reperfüzyonun Organ Sistemlerine Etkisi

İskemiden sonra dokuda reperfüzyon olayına yanıt olarak ortaya çıkan hasar, diğer organlara da ciddi seviyede etki etmektedir. İskemi Reperfüzyon hasarının uzak organ etkileri genellikle akciğer ve kardiyovasküler sistemde görülür, ayrıca sistemik inflamatuvar yanıt sendromu veya yüksek mortalite oranına sahip çoklu organ yetmezliğiyle sonuçlanabilir. (24,25).

2.7. Serbest Radikaller

İnsan yaşamı için oksijen çok önemli olmasına karşın, normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda yoğun bir zarar verme kapasite ve potansiyeline sahiptir (26). Çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüyle kıyaslandığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır (27). Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, istikrarlı bir yapıya sahip olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyalin zarar görmesine neden olmaktadır. Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğu bilinmektedir (26).

Serbest radikalleri kontrol altında tutan ve reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşılık veren vücutta farklı doğal savunma sistemleri vardır. Bu sistemler farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde rol oynarlar ve bu yüzden birbirlerini tamamlayıcı niteliktedir (26). Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı denge halindedir. Bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı müddetçe organizma, serbest radikallerden etkilenmeden faaliyetlerini sürdürmektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına sebep olur. Oksidatif stres olarak adlandırılan bu durum serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekle birlikte sonuç olarak doku hasarına sebebiyet vermektedir (28).

Organizmada SOR'un oluşturduğu reaksiyonlar, radikalın bir diğer radikal ile veya radikal olmayan ajanlar ile karşılaşmasıyla gerçekleşir. Serbest radikaller birbiri ile karşılaştığında kovalan bir molekül oluşturacak şekilde tepkimeye girerler. Serbest radikaller organizmada radikal olmayan birçok hücre bileşeni ile de tepkimeye girebilir ve bu bileşenlerin yapı ve işlevlerinde değişiklik meydana getirebilirler. Böylelikle serbest radikaller organizmada moleküler düzeyde birçok biyolojik etkiye sebep olurlar (29,30).

Tablo 1. Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri (26).

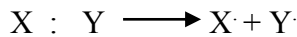
Serbest Radikallerin Kaynakları	
Biyolojik kaynaklar	İntraselüler kaynaklar
✓ Sigara dumanı	✓ Süperoksit dismutaz
✓ Egzersiz	✓ Katalaz
✓ Çevre kirleticiler	✓ Glutatyon peroksidaz
✓ Ateşli hastalıklar	✓ Glutatyon
✓ Radyasyon	✓ Ubikinon
✓ Çoklu doymamış yağ asitleri ile zengin bir diyet	✓ Selenyum
✓ İskemi	✓ Ürik asit
✓ Karsinojenler	✓ E vitamini
	✓ C vitamini
	✓ β- karoten ve diğer karotenoidler

Hücreler serbest oksijen radikallerinin hasarına bağışık değildir. Ancak genellikle glutatyon ve katalaz ile oksijen hasarına karşı korundukları bilinmektedir. İskemik dokularda, SOR üreten intraselüler mekanizmalar tam aktive edilmiş halde bulunurlar. Buna karşılık oksijen sağlanmasındaki eksiklikten dolayı işlev görmezler. Kan akımı ve oksijen sağlanmasının restorasyonu ile büyük miktarlardaki SOR üretilerek reperfüzyon hasarı indüklenir (31).

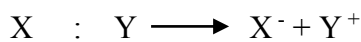
2.7.1. Serbest radikallerin oluşması

Bir serbest radikal üç farklı yolla ortaya çıkabilir (32):

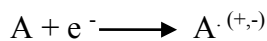
1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşabilirler (Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır).



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybıyla ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşabilirler. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.



2.7.2 Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar

2.7.2.1. Otooksidasyon

Otooksidasyon, atmosferik oksijenin katalizlediği tipik bir serbest radikal zincir reaksiyonudur (27). Serbest radikallerin oksijenle reaksiyona girmesi oldukça hızlıdır ve bu reaksiyonların başlangıcı için birçok mekanizmanın olduğu bilinmektedir. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve fosfolipidler otooksidasyona eğilimlidir. Otooksidasyonda ilk oluşan ana ürünlerin hidroperoksit (ROOH) ürünleri olduğu bilinmektedir (33).

2.7.2.2. Geçiş metal iyonlarının etkisi

Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları da canlı organizmada serbest radikal oluşturan güçlü birer oksidatif katalist olarak illev görmektedir. Fe; oksidatif reaksiyonları teşvik etmede daha etkili bir metal iken, Cu katalizli reaksiyonlar henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (34).

2.7.2.3. Fotooksidasyon

Fotokimyasal iz yolları, oksidasyonlarda başlatıcı olarak işlev gören peroksitlerin oluşumu için büyük bir öneme sahiptir. Işığın bir molekül tarafından direkt olarak absorpsiyonu, süperoksit anyonu üretebilen elektron transfer proseslerine sebebiyet verebilmektedir. Fotosensitize prosesler ise, direkt fotokimyasal reaksiyonlardan muhtemelen daha önemli olup bu tip indirekt oksidasyonlarda sensitizer (Sens) denilen bir molekül ışığı absorbe ederek diğer bazı türlerin oksidasyona uğramasına sebep olurlar. Genellikle bu reaksiyonlarda sensitizerin kendisi tüketilmezler, ışığı absorbe eden bu molekül aktif forma dönüşmektedir (35).

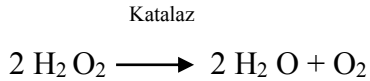
2.7.2.4. Enzimatik oksidasyonlar

Reaktif oksijen türleri, vücutta lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantin oksidaz, miyeloperoksidaz ve sitokrom P-450 gibi birçok enzim reaksiyonunun bir sonucu olarak da meydana gelmektedir (36).

2.7.3. Enzimatik ve Peptid Savunma Sistemleri

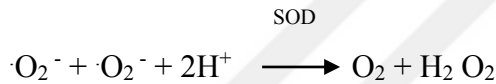
2.7.3.1. Katalaz (CAT)

Bir metalloenzim olarak bilinen katalaz enzimi redoks reaksiyonunu teşvik eden en etkili protein katalistlerinden birisidir (37). Süperoksit dismutaz enzimi faaliyeti neticesinde ortaya çıkan toksik hidrojen peroksit (H_2O_2), “katalaz” enzimi etkisiyle su ve oksijene dönüştürülür (38).



2.7.3.2. Süperoksit dismutaz enzimi (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), ROS ve süperoksit anyon radikallerine karşı en önemli antioksidan savunma sistemidir. SOD bir süperoksit radikalini O_2 molekülüne yükseltgeyip, diğer bir süperoksit radikalini ise daha az reaktif bir molekül olan hidrojen peroksit (H_2O_2) indirgenmesini katalize eder.



SOD’un üç farklı izoformu bulunmaktadır. Bunlar; Cu-Zn-SOD (SOD 1), Mn-SOD (SOD 2) ve Cu-SOD (SOD 3) (24). SOD 1, 32,000 dalton ağırlığında ve sitoplazmada, nükleer bölmelerde ve lizozomlarda bulunur. SOD 1 gen mutasyonları Down sendromu, Amniyotrofik Lateral Skleroz (ALS) hastalıklarının patofizyolojisinde görev almaktadır (39).

2.7.3.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon peroksidaz mitokondri ve bazen de sitozolde hidrojen peroksidi suya parçalayan önemli bir antioksidandır (40). Genellikle aktivitesi selenyuma bağlıdır. Bu sebeple selenyuma bağlı olan -GPx ve selenyuma bağlı olmayan -GPx olarak ayrılabilir. GPx en önemli işlevi hücreyi oksidatif strese karşı korumaktır (41).

2.8. Antioksidanlar

Serbest radikallerin oluşumunu engellemek, bu maddelerden kaynaklı hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” adı verilir (42). Hücrelerde serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidan yıkıma karşı antioksidanlar olarak isimlendirilen birçok koruyucu mekanizma bulunmaktadır.

Antioksidanlar, endojen ve eksojen kaynaklı olabilirler.

Endojen kaynaklı antioksidanlar: Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Eksojen kaynaklı antioksidanlar: Eksojen antioksidanlar; vitaminler ve ilaç antioksidanları olarak sınıflandırılır (43).

Endojen ve eksojen antioksidanlar, oksidan / antioksidan dengesini sağlamak için serbest radikallerden vücudu korur ve serbest radikalleri etkisizleştirmek için kullanılırlar (44).

2.8.1. Antioksidanların etki mekanizmaları

1. Toplayıcı etki; Serbest oksijen radikallerini tutarak veya daha zayıf moleküllere dönüştürerek etki gösterirler. Antioksidan enzimlerin bu şekilde işlev gördüğü bilinmektedir.
2. Bastırıcı etki; Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen ekleyerek aktivitelerini azaltarak veya inaktif hale dönüştürerek etkili olurlar. Vitaminler ve flavanoidler bu özellikteki antioksidanlar sınıfına girmektedir.
3. Zincir kırıcı etki; Serbest oksijen radikallerinin zincirlerini kırıcı etki gösterirler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki göstermektedir.
4. Onarıcı etki; Serbest radikaller nedeniyle ortaya çıkan hasarı onarmada etkilidirler.
5. Hücresel kinaz kayıplarını önleme; Oksidasyon reaksiyonlarını durdururlar.
6. Enzimatik etki; SOD gibi antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezini arttırmak suretiyle etki göstermektedirler (43)

Tablo 2. Antioksidanların sınıflandırılması (45).

ENDOJEN ANTIÖKSİDANLAR	
ENZİMATİK ANTIÖKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTIÖKSİDANLAR
<ul style="list-style-type: none">✓ Süperoksit dismutaz (SOD)✓ Katalaz (CAT)✓ Glutasyon peroksidaz (GPx)✓ Glutasyon redüktaz (GR)	<ul style="list-style-type: none">✓ Glutasyon✓ Melatonin✓ Ürik asit✓ Bilirubin✓ Albümin✓ Koenzim Q 10✓ Selenyum✓ α-lipoik asit✓ Transferrin✓ Seruloplazmin
EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR	
İLAÇ OLARAK KULLANILAN EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR	VİTAMİN EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR
<ul style="list-style-type: none">✓ Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)✓ NADPH oksidaz inhibitörleri✓ Rekombinant süperoksit dismutaz✓ Trolox-C (vitamin E analogu)✓ Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)✓ Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)✓ Nötrofil adezyon inhibitörleri✓ Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)✓ Barbitüratlar✓ Demir şelatörleri✓ Sitokinler (TNF ve IL-1)	<ul style="list-style-type: none">✓ α-Tokoferol (Vitamin E)✓ β-karoten (Vitamin A)✓ Askorbik asit (Vitamin C)✓ Folik asit (Vitamin B9)

2.9. Işkın (*Rheum ribes L.*)

Işkın (*Rheum ribes L.*) Polygonaceae familyasından çok yıllık otsu bir bitkidir. İran-Turan fitocoğrafik bölge elementidir. Filistin, Lübnan, Ermenistan, Kuzey Irak ve İran gibi ülkelerde ve özellikle yurdumuzun Doğu Anadolu (Ağrı, Bingöl, Elâzığ, Hakkâri, Kars, Van ve Sivas) bölgesinde yayılış gösterdiği kaydedilmiştir (46). Kayalık ve çakıl yamaçlarda yetişir. Sürgünleri 40 cm yüksekliğe kadar büyüyebilir ve tabanda yapraklı, üstte yapraksızdır.

Bu sürgünler ve yaprak sapının taze olarak tüketimi bilinmektedir. Ayrıca yöre halkı tarafından pişirilmek suretiyle de değişik yemeklerinin yapıldığı bilinmektedir. Işkın yaprak ve gövdesinin ekşi lezzetli olduğu, mideyi kuvvetlendirdiği, kusmayı önlediği ve kabızlık yapıcı etkiye sahip olduğu bilinmektedir (47).

Bitkinin yöre halkı tarafından farklı kullanım şekilleri de bulunmaktadır. Genç haldeki bitkinin gövde kısmı ve yaprak sapı soyulduktan sonra çiğ olarak tüketilebildiği gibi, turşusu ve yumurtalı kavurması yapılarak tüketildiği de bilinmektedir. Tıbbi açıdan değerlendirildiğinde ışkın bitkisinin mideyi kuvvetlendirdiği, kusma, şeker hastalığı ve hemoroidi önleyici etkisinin olduğu belirtilmektedir. Kurutulduktan sonra kaynatılarak içilen ışkın kökleri şeker hastalığının tedavisi için tüketilmektedir. Taze sürgünlerinin A, C ve E vitamini bakımından zengin olduğu, selenyum düzeyinin beslenme açısından yeterli oranda olduğu kayıtlara geçmiştir (48).



Resim 1. Işkın Otu (*Rheum ribes* L.)

2.9.1. Işkın'ın kimyasal içeriği

Işkın bitkisinin 100 g yenilebilir kısımda 20,4 mg askorbik asit, 2,25 g protein, 0,24 g yağ, 1,15 g kül, 25,1 mg fosfor, 114,4 mg potasyum, 60,3 mg kalsiyum, 24,6 mg sodyum muhteva ettiği bilinmektedir (49).

Bitkinin köklerinde aloe-emodin, emodin, krizofanol ve fiskiyon gibi dört antrakinon türevinin tanımlanması ve ayrımı için HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) yönteminden yararlanılmıştır. Sonuç olarak bitki köklerinde dört antrakinonda tanımlanmış olup, aloe emodin, emodin, krizofanol ve fiskiyon yüzdeleri sırasıyla %0.39, %0.014, %0.089 ve %0.072 olarak kayıtlara geçmiştir (50).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 1.1.3.3 tetrametoksiopropan		Sigma
- Bakır sülfat	CuSO ₄ . 5H ₂ O	Sigma
- 2- [2-Tiyobarbitürik asit]	TBA	Merck
- Etilendiamin tetraasetik asit	Na ₂ EDTA	Sigma
- Disodyum hidrojen fosfat	Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	Merck
- Sodyum dihidrojen monofosfat	NaH ₂ PO ₄	Merck
- Dipotasyum hidrojen fosfat	K ₂ HPO ₄	Merck
- Potasyum dihidrojen fosfat	KH ₂ PO ₄	Merck
- Folin-Ciocalteu	Fenol ayırıcı	Sigma
- Glutasyon	GSH	Sigma
- Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	Merck
- Lauril sülfat	SDS	Sigma
- n-Butanol	1-Butanol	Merck
- Piridin		Merck
- Sodyum hidroksit	NaOH	Merck
- Sodyum karbonat	Na ₂ CO ₃	Merck
- Sodyum klorür	NaCl	Merck
- Sodyum potasyum tartarat	Na-K tartarat	Sigma
- Tris baz		Sigma
- Tris hidroklorit	Tris-HCl	Sigma
- β-Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat	β-NADPH	Sigma
- Hidroklorik asit	HCl	Merck
- Formaldehit	HCHO	Sigma
- Etanol	C ₂ H ₆ O	Sigma
- Asetik Asit	CH ₃ COOH	Sigma
- Ksantin		Sigma
- CAPS		Sigma
- Ksantin oksidaz		Sigma
- Iodonitrotetrazolium klorür	INT	Sigma

3.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- Derin Dondurucu	Samsung
- pH metre	Hanna Instruments
- Hassas Terazî	Radwag
- UV Spektrofotometre	Shimadzu
- Buz Makinesi	Scotsman
- Distile su cihazı	Merck
- Manyetik Karıştırıcı	Mtops
- Cam Kalemî	
- Fotoğraf makinesi	
- Hayvan Kafesi	
- Homojenizatör düzeneği	
- Lam	
- Lamel	
- Mezür (25ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml)	
- Mikroskop	
- Operasyon Takımı	
- Otomatik pipet, pastör pipeti	
- Soğutmalı santrifüj	Hettich
-Su Banyosu	
-Vorteks	

3.3. Deney Hayvanları

“Karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında rheum ribes l. (ışkın)’in oksidatif stres üzerine etkisi” adlı çalışmamız için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulu onayı alındı (Tarih: 26.12.2018, Sayı: 03). KSÜ Deney hayvanları Biriminden alınan 24 adet, 194-250 g arasında değişen, standart koşullarda yetiştirilen erişkin erkek Wistar sıçanlar üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma KSÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından, KSÜ Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Tüm çalışmalar Helsinki Deklarasyonu’nda belirtilen önerilere uygun olarak yapıldı. Bu çalışma KSÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu ile desteklendi (2019 / 2-7 YLS). Çalışmamızda kullanılan Wistar albino erkek ratlar istatistiksel olarak daha anlamlı veriler elde edebilmek için,

her grupta 8 adet denek olmak üzere, randomize olarak 3 gruba ayrılarak çalışma grupları oluşturuldu. Sıçanlar 21 ± 1 °C oda sıcaklığında 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyodunda tutularak standart rat yemi ve su verilerek beslendi.

3.4. Deney Grupları

Bu çalışmada kullanılan Wistar albino erkek ratlar, istatistiksel olarak daha anlamlı veriler elde edebilmek için, her grupta 8 adet denek olmak üzere, randomize olarak 3 gruba ayrılarak çalışma grupları oluşturuldu. Tüm deneklere anestezik olarak Ketamin (50mg / kg) intramüsküler injeksiyon ile uygulanarak deneklerin batın ön duvarında bulunan tüyler kesildi, batikon ile temizlenip steril şartlarda laparotomi işlemi uygulandı.

I / R grubu (n=8): Deneklere uygulanan girişim ve cerrahi işlemden sonra karaciğere iskemi-reperfüzyon uygulanan grup.

Sham (SF) grubu (n=8): Deneklere uygulanan girişim ve cerrahi işlemden bir gün önce tek doz serum fizyolojik verilen ve cerrahi işlemden sonra karaciğerde 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon oluşturulup, reperfüzyon takibinde tekrar serum fizyolojik (% 0.9'luk NaCl) 1mL gavaj yoluyla verilen grup.

Tedavi (Işkın) grubu (n=8): Deneklere uygulanan girişim ve cerrahi işlemden bir gün önce tek doz Işkın ekstratı 1mL (50 mg / kg / gün dozunda) gavaj yoluyla verildi. Cerrahi işlemden sonra karaciğerde 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon oluşturuldu. Reperfüzyon sonrası deneklere Işkın ekstratı 1mL (50 mg / kg / gün) verildi. Ratlar sakrifiye edildi ve otopsi yapılarak karaciğerden doku örnekleri alındı. Örnekler histopatolojik olarak ışık mikroskopunda incelendi ve biyokimyasal inceleme olarak da oksidatif stres biomarkırlarının düzeyleri (katalaz, süperoksit dismutaz ve MDA) ölçüldü.

3.5. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı Modeli

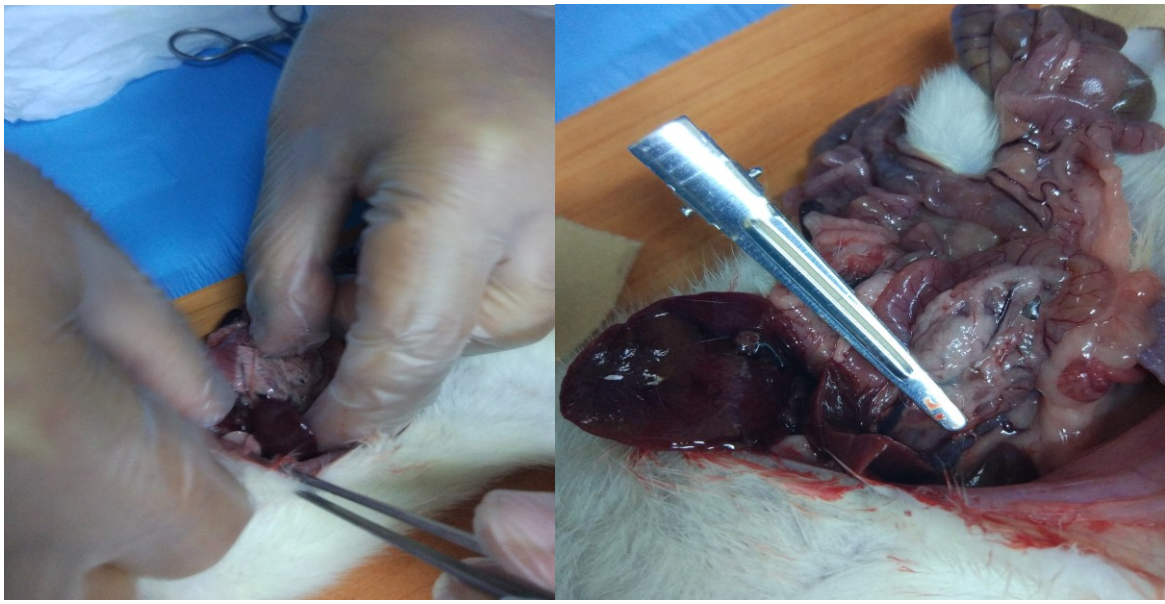
Deneyisel çalışmalarımız, KSÜ Tıp Fakültesi Deneyisel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Laboratuara getirilen ratlar, tek tek tartıldı ve tüm deneklere anestezik olarak 50 mg / kg Ketamin (Ketalar flakon, Eczacıbaşı Türkiye) intramüsküler injeksiyon ile uygulanarak deneklerin batın ön duvarında bulunan tüyler kesildi, batikon ile temizlenip steril şartlarda laparotomi (abdominal explorasyon) işlemi yapılarak, daha az kanama olması nedeniyle üst orta hat bölgesi tercih edildi ve dikkatli bir şekilde karaciğere ulaşıldı.

Çalışmamızda ilk olarak I / R grubumuzda bulunan ratların gerekli cerrahi ön hazırlık işlemleri yapıldıktan sonra batın açıldı, hepatik arter, portal ven görünür hale getirilip vasküler klemp uygulandı. 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon işlemi oluşturuldu. Böylece 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon süreci tamamlanmış oldu ve klempler alınarak karaciğer organından doku örneği alındı.

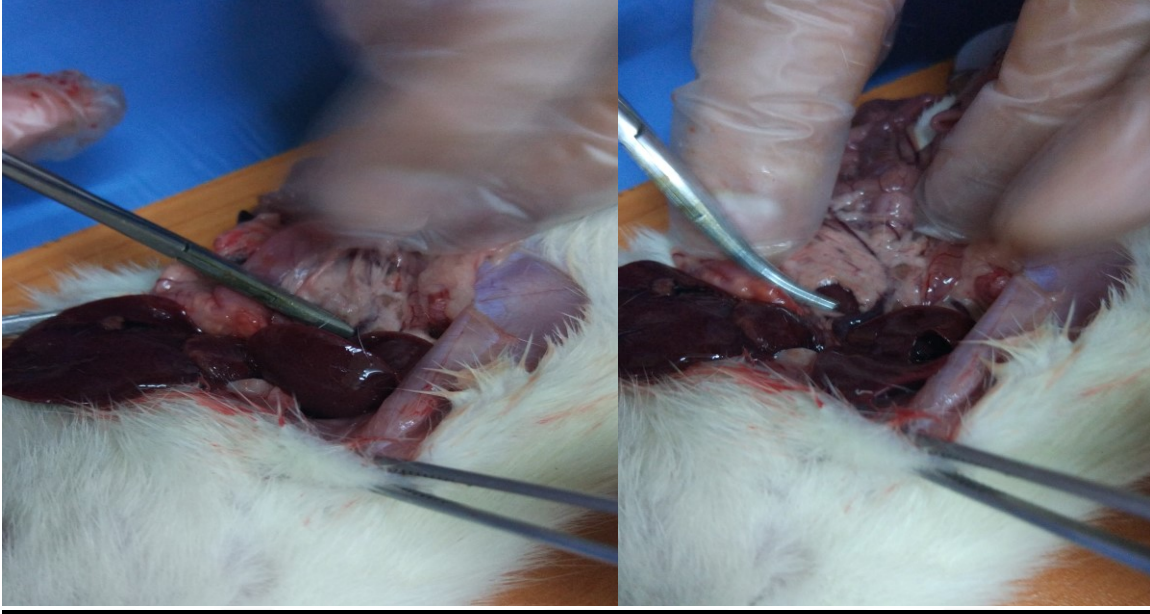
İkincil olarak Sham (SF) grubumuzda bulunan ratlara bir gün önceden serum fizyolojik verildi ve takip eden gün batın açıldı, hepatik arter, portal ven görünür hale getirilip vasküler klemp uygulandı. 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon oluşturulup, reperfüzyon takibinde serum fizyolojik (%0.9' luk NaCl) verildi. Böylece 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon süreci tamamlanmış oldu ve klempler alınarak karaciğer organından doku örneği alındı.

Son olarak Tedavi (Işkın) grubumuzda bulunan ratlara bir gün önceden tek doz Işkın (50 mg / kg / gün) verildi ve takip eden gün batın açıldı, hepatik arter, portal ven görünür hale getirilip vasküler klemp uygulandı. 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon oluşturulup, reperfüzyon takibinde deneklere tekrar Işkın (50 mg / kg / gün) verildi. Böylece 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon süreci tamamlanmış oldu. Ratlar sakrifiye edildi ve otopsi yapılarak karaciğerden doku örnekleri alındı.

Yapılan cerrahi işlemlerin sonunda her üç gruptaki ratların karaciğer dokuları alındı. Dokular ikiye bölünerek bir kısmı biyokimyasal analizler için ayrıldı. Diğer doku parçaları ise önceden hazırladığımız formaldehitli kaplar içerisine konularak muhafaza edildi. Dokuların histopatolojik açıdan değerlendirilmesi KSÜ Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, biyokimyasal analizler ise KSÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında yapıldı.



Resim 2. Deneysel Karaciğer İskemi Reperfüzyon Çalışması-1



Resim 3. Deneysel Karaciğer İskemi Reperfüzyon Çalışması-2

3.6. Homojenat Hazırlama

Dokuların homojenize işleminden önce dokulara 1 g 9 hacim (hacim / ağırlık) %1,15 KCl çözünmeyi sağlayabilmek amacıyla eklendi. Dokuların homojenizasyonu 16.000 devir / dakika hızda 3 dk boyunca yapıldı. Enzimlerin aktive kaybını önlemek amacıyla örnekler buz dolu küvete yerleştirildi. Daha sonra homojenatlar +4 °C'de 14000xrpm'de 30 dakika santrifüj edildi ve üstteki süpernatantlar alındı ve ependorf tüplere konularak ayrıldı bu ayrılan süpernatantlardan protein ve MDA düzeyleri ile SOD ve CAT enzim aktive ölçümleri yapıldı.

3.7. Karaciğer Dokusunda Protein Düzeyinin Tayini

Kullanılan bu metot proteinlerin içerdiği trozin ve triptofan rezidülerinin fosfotungstik-fosfomolibdik asit ile verdiği renk reaksiyonunun spektrofotometrik yöntemle 750 nm'deki absorbans ölçümüne dayanmaktadır (51).

Avıraçlar

1. A çözeltisi:

%2 Na₂CO₃ 2 g hazırlanır

0,1 N NaOH ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. B Çözeltisi: B₁ ve B₂ çözeltilerinden oluşur.

a) B₁ Çözeltisi: %1 CuSO₄.5H₂O 1g hazırlanır

Saf suyla 100 ml'ye tamamlanır.

b) B2 Çözeltisi: %2 Na-K tartarat 2g hazırlanır

Saf suyla 100 ml'ye tamamlanır.

3. C Çözeltisi (Günlük hazırlanır)

50 ml A + 1 ml B (0,5 ml B₁+0,5 ml B₂) karıştırılır.

4. D Çözeltisi (Günlük hazırlanır)

Folin Cioacaltea 1: 1,5 (v / v) oranında saf su ile sulandırılır (51).

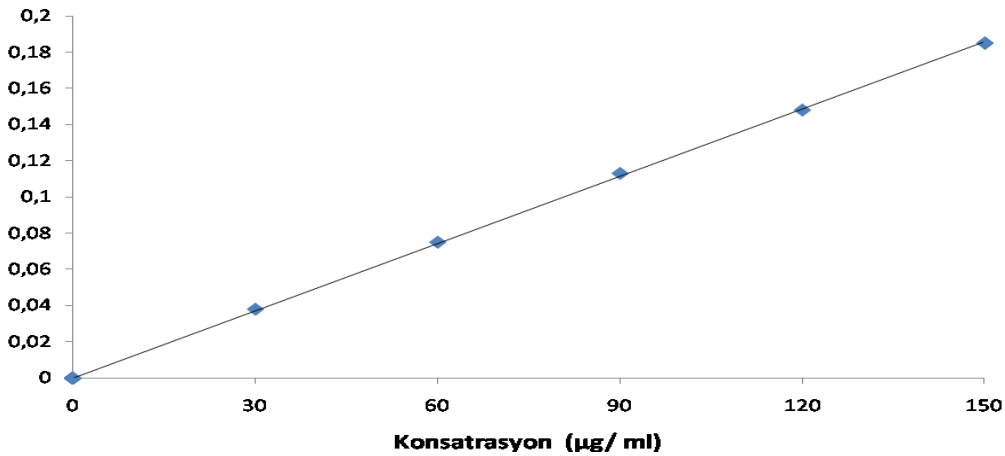
Standart Eğrinin çizimi

Stok standart için 0,3 g / dl bovin albumin hazırlanır. Hazırlanan stok standarttan 5 ml alınıp 100 ml'ye serum fizyolojik ile tamamlandığında 150 µg / ml konsantrasyon elde edilir. Bundan seri sulandırma ile 150, 120, 90, 60, 30 µg / ml'lik konsantrasyonlar elde edilerek 750 nm'de verdikleri absorbanlar kaydedilir. Bu verilere göre konsantrasyon-absorbans eğrisi çizilir ve her numune ölçümünde standart eğri tekrarlanır (Tablo 3.) (51).

Tablo 3. Protein standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı (51).

Tüp no	Kör	1	2	3	4	5
Konsantrasyon (µg / ml)	0	30	60	90	120	150
Standart bovin albumin (ml)	-	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Serum fizyolojik (ml)	0.3	-	-	-	-	-
C Çözeltisi (ml)	3	3	3	3	3	3
15 dakika oda ısısında bekletilir						
D Çözeltisi (ml)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

Oda ısısında 30 dakika bekletilir ve 750 nm'de köre karşı okunur.



Şekil 7. Protein standart eğrisi

Doku Örnek Çalışması

Karaciğer dokularından hazırlanan süpernatant'da protein tayinini yapmak için, süpernatant 1: 50 oranında serum fizyolojik ile sulandırılır ve protein tayini yapılır. Bunun için üç tüp alınır ve çözeltiler aşağıdaki şekilde tüplere konulur (51).

Tablo 4. Doku örneğinde protein tayini için tüplerin hazırlanışı (51).

	Kör (ml)	Standart (ml)	Örnek (ml)
Serum fizyolojik	0.3	-	-
Standart	-	0.3	-
Süpernatant	-	-	0.3
C Çözeltisi	3	3	3
15 dakika oda ısısında bekletilir			
D Çözeltisi	0.3	0.3	0.3

Oda ısısında 30 dakika bekletilir ve 750 nm'de köre karşı okunur.

Hesaplanması

Doku örneğinin absorbansı standartın absorbansı ile karşılaştırılarak veya doğrudan standart eğrisinden değerlendirilir ve dilüsyon katsayısı ile çarpılarak sonuç verilir.

3.8. Karaciğer Dokusunda Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Tayini

Aerobik şartlarda pH 3.40'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile örneğin 90-95 C°de inkübasyonu sonucu oluşan lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA'nın TBA ile pembe renkli kompleks oluşturma esasına dayanır. Oluşan bu renk şiddeti ortamdaki MDA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. 532 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (52).

Ayırıcılar

1. SDS % 8,1'lik

Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)

2. Asetik Asit %20'lik (pH 3,5)

3. Tiyobarbitürik Asit (TBA) % 0,8'lik

4. N-Butanol / Piridin Çözeltisi (14 / 1) (v / v)

5. Stok Standart 1.1.3.3 tetramethoksiopropan (yoğunluk =0.99)

Standart Eğri Çizimi

Standart eğri çizimi yapılırken stok standarttan 6,6 µl alınıp 100 ml'ye saf su ile tamamlanarak günlük standart hazırlanır. Daha sonra 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 nmol / ml konsantrasyonunda çalışma standartları hazırlanır. Ayraçlar tüplere aşağıda belirtildiği şekilde ilave edilirler (52).

Tablo 5. MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı (52).

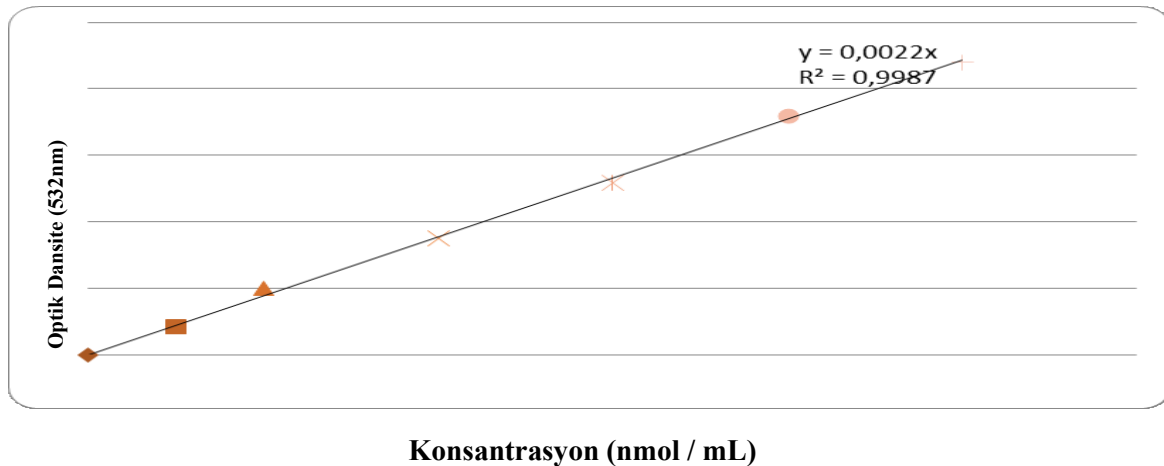
Tüp No.	0	1	2	3	4	5	6
Konsantrasyon (nmol / ml)	0	100	80	60	40	20	10
Standart (ml)	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
SDS (ml)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Asetik Asit (ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
TBA (ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Saf su (ml)	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7

Vorteksle karıştırılır.60 dk 90 C°'de inkübe edildikten sonra musluk suyu altında soğutulur.

Saf su (ml)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
N-Butanol / Piridin	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

Vorteksle karıştırılır.4000 rpm 'de 10 dakika santrifüj edilir.

Tüpler n-Butanol / Piridin ilavesinden sonra iyice karıştırılır. Daha sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir, üstteki organik kısım (üst faz) alınarak 532 nm'de absorbans fotometrik olarak okunur ve standart eğri grafiği çizilir (Şekil 8.)



Şekil 8. MDA (Malondialdehit) standart eğrisi grafiği

Dokuda MDA düzeyinin tayini için örnek çalışması yapılırken de yukarıdaki tabloda verildiği gibi tüpler belirli hacimde hazırlanır, doku örneği alınır ve MDA tayini yapılır. Ayrıntılı bilgi Tablo 6.'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Doku örneğinde MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı (52).

	Örnek	Standart	Kör
Homojenat (Örnek)	0.1 ml	-	-
Standart	-	0.1 ml	-
%8,1 SDS	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
%20 Asetik Asit	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
%0.8 TBA (sulu)	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Saf su (ml)	0.7 ml	0.7 ml	0.8 ml
Vorteksle karıştırılır.60 dk 90 C° de inkübe edildikten sonra musluk suyu altında soğutulur.			
Saf su (ml)	1 ml	1 ml	1 ml
N-Butanol / Piridin	5 ml	5 ml	5 ml

Tüpler n-Butanol / Piridin ilavesinden sonra iyice karıştırılır. Daha sonra 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilir, üstteki organik kısım (üst faz) alınarak 532 nm’de absorbans fotometrik olarak okunur. Sonuç standart eğrisinden değerlendirilir (52).

Hesaplama

nmol / ml biriminden ölçülen MDA düzeyi hem nmo l/ mg protein birimlerinden verilmiştir.

$$\text{MDA Düzeyi (nmol / mg protein)} = \frac{\text{MDA değeri (nmol / ml)}}{\text{protein (mg / ml)}}$$

$$\text{MDA Düzeyi (nmol / g doku)} = \frac{\text{MDA değeri (nmol / ml)} \times \text{Süpernatant (hacim / ağırlık)}}{\text{Doku ağırlığı (g)}}$$

3.9. Karaciğer Dokusunda SOD Aktivite Tayini

Süperoksit dismutaz, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Bu yöntem, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin, 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolium klorid (piyodonitrotetra zolium viyolet: INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazan boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin (OD) okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdaki uzaklaştırarak 2 numaralı formazan reaksiyonunu inhibe eder. Sonuçta oluşan

kırmızı rengin OD'si SOD yokluğunda oluşan renge göre azalır, bu aradaki farkın belirlenmesiyle de SOD aktivitesi ölçülür (53).

Ayırdaçlar

1. CAPS Tamponu (3-sikloheksilamino)-1-propan sülfonik asit) (pH: 10.2)

50.00 mM CAPS 1.1065 g

0.94 mM EDTA 0,035 g

Doymuş NaOH 11.1 µl

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. Substrat Karışımı

0.05 mM Ksantin 0,00076 g

INT 0,00060 g

Bu karışım CAPS tamponuyla 100 ml'ye tamamlanır.

3. 80 Ü / L Ksantin oksidaz

50 Ü Ksantin oksidaz 3.04 µl

Saf su ile 1 ml'ye tamamlanır.

4. 0.01 M Fosfat tamponu (pH:7 ayarlanır)

Na₂PO₄ 54,91 mg

NaH₂PO₄ 3,58 mg

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

5. Standart (S6): 5,6 Ü / ml SOD içeren Ransod kitinin standardıdır

Standart Eğri Çizimi

Liyofilize (hızlı dondurulmuş, mikroorganizma içermeyen, steril) olarak hazırlanmış SOD standardı 10 ml bidistile su ile sulandırılır. Standart eğri çiziminde kullanılacak olan diğer SOD derişimleri fosfat tamponuyla Tablo 7'deki gibi hazırlanır. 2-8 °C'de saklandığında 2 hafta süreyle dayanıklıdır (53).

Tablo 7. SOD standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı (53).

Kullanılacak Standartlar	Standart Solüsyonun Hacmi	M Fosfat Tamponunun Hacmi	SOD derişimi (Ü / ml)
S5	6 ml S6	5 ml	2.8
S4	5 ml S5	5 ml	1.4
S3	5 ml S4	5 ml	0.7
S2	3 ml S3	5 ml	0.23

S1: Kör (fosfat tamponu)

Yöntem de süperoksit dismutaz aktive tayini yapılırken, karaciğer doku hücrelerinden hazırlanan süpernatantlar %30 ile %60 arasında % inhibisyon aralığı olacak şekilde 0.01 M

Tablo 8. Doku örneğinde SOD standart eğri çizimi için kuvars küvetlerin hazırlanışı (53).

	Kör (µl)	Standart (µl)
Standart	-	25
0.01 M Fosfat Tamponu	25	-
Substrat Karışımı	850	850
Küvetler iyice karıştırılır.		
Ksantin oksidaz	125	125

Ksantin oksidaz eklendikten sonra tekrar karıştırılır 30 saniye sonra çalışma körünün ve standardın 37 °C'de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorbanları (A₁) okunur. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbanları (A₂) tekrar okunur (53).

Hesaplama

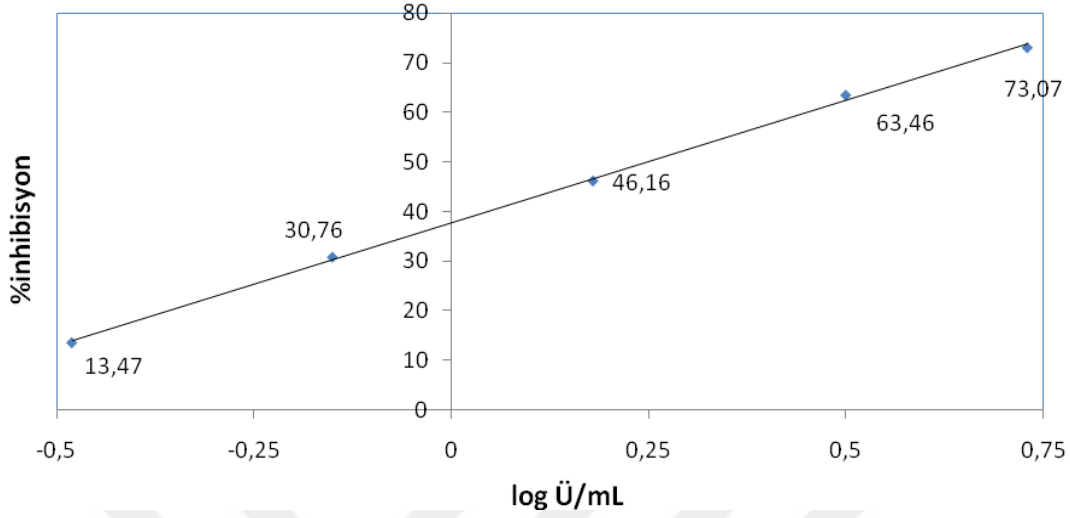
Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edilir ve değeri %100 olarak alınır. Tüm standartlar için % inhibisyon değeri bunlara ait çalışma körüyle oranlanarak hesaplama yapılır (53).

$$\Delta A / \text{dak. Standart} = A_2 - A_1 / 3 \text{ dakika}$$

$$\% \text{ inhibisyon standart} = 100 - \frac{\Delta A / \text{dak. Standart} \times 100}{A \text{ çalışma körü}}$$

A çalışma körü

Hesaplama yapıldıktan sonra x yatay eksenine SOD derişimlerinin (Ü / ml) logaritmik dönüşüm değerleri, Y (dikey) eksenine standartlara ait % inhibisyon değeri yazılarak standart eğri elde edilir.



Şekil 9. SOD standart eğrisi

Örnek Çalışması

Tablo 9. Doku örneğinde SOD aktivite tayini için kuvars tüplerin hazırlanışı (52).

	Kör (µl)	Standart (µl)
Standart	-	25
0.01 M Fosfat Tamponu	25	-
Substrat Karışımı	850	850
Küvetler iyice karıştırılır.		
Ksantin oksidaz	125	125

Tüpler tekrar karıştırıldıktan 30 saniye sonra 37°C’de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorpsans(A₁) okunur. 3 dakika sonra absorpsans (A₂) tekrar okunur.

Hesaplama:

$$\Delta A / \text{dak. Standart} = A_2 - A_1 / 3 \text{ dakika}$$

$$\% \text{ inhibisyon standart} = 100 - \frac{\Delta A / \text{dak. Standart} \times 100}{\Delta A \text{ çalışma körü}}$$

$$\Delta A \text{ çalışma körü}$$

Örneğe ait hesaplanan yüzde inhibisyon değerine karşılık gelen SOD değeri standart eğri kullanılarak bulunur. Ü / ml biriminden ölçülen SOD aktivitesi Ü / mg protein birimi olarak verilmiştir.

$$\text{SOD spesifik aktivitesi (Ü / mg protein)} = \frac{\text{SOD aktivitesi (Ü / ml)}}{\text{Protein (mg / ml)}}$$

3.10. Karaciğer Dokusunda CAT Aktivite Tayini

Katalaz, H₂O₂' nin yıkımını katalize eder. H₂O₂' nin CAT tarafından yıkım hızı, H₂O₂'nin 230 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülebilir (54).

Ayırıklar

1). 1M Tris-HCl, 5mM Na₂ EDTA tamponu, pH 8.0

Tris-Baz	5.358 g
Tris-HCl	8.787 g
Na ₂ EDTA	0.1461 g

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

2). 1 M Fosfat tamponu, pH 7.0

K ₂ HPO ₄	6.723 g
KH ₂ PO ₄	8.344 g

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

3). 10 mM H₂O₂ %30' luk peroksitten 10 µl alınır ve 9.990 ml saf suyla tamamlanır.

4). Etanol (%95'lik)

Standart eğri çizimi

Katalaz aktivite tayini için, doku süpernatanı 1: 50 oranında saf su ile sulandırılır ve 1 ml'sine 20 µl saf etanol ilave edilir, karıştırılır ve aktivite tayini yapana kadar tüplerin ağzı kapalı bekletilir. Deneye başlamadan önce, günlük olarak hazırlanan 10 mM H₂O₂ konsantrasyonunun doğru ayarlanıp ayarlanmadığı fosfat tamponu ile kontrol edilir. Bunun için fosfat tamponu 1: 10 oranında saf su ile sulandırılabilir. Ayarlanma yapılırken 1ml'lik küvete 900 µl saf su 100 µl fosfat tamponu koyulur karıştırılır ve bu karışımın 900 µl' 230 nm'de fotometrik olarak okunur OD₁ olarak kaydedilir. Daha sonra aynı küvete hazırladığımız 10 mM 'lık peroksitten (H₂O₂) 100 µl koyulur ve tekrar okuma yapılır absorbans değeri OD₂ olarak kaydedilir. OD₂-OD₁= 0.071 olmalıdır. Bu değer bulunduktan sonra hazırlanan peroksidin konsantrasyonu tam 10 mM'dır denilir ve deneye aşağıda gösterildiği gibi başlanır (54).

Tablo 10. Doku örneğinde CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı (54).

	Kör (µl)	Numune (µl)
1M Tris-HCl, 5mM Na ₂ EDTA tamponu, pH 8,0	50	50
10 mM H ₂ O ₂	-	900
Saf su	930	30
37 °C'de 10 dakika inkübe edilir.		
Örnek (sulandırılmış)	20	20

Tüpler 37 °C'de 10 dakika inkübe edildikten sonra daha önce 1:5 0 oranında dilüe ettiğimiz örnekten 20 µl alınarak tüplere ilave edilir ve 230 nm'de 2,5 dakika kinetik okuma yapılır. Her numune teker teker çalışılarak kaydedilir (54).

Hesaplama

$$\text{CAT Aktivitesi (Ü / ml)} = \frac{\Delta\text{OD} \times V_T (1.0 \text{ ml})}{0.071 \times V_H (0.02 \text{ ml})}$$

ΔOD: Dakikadaki optik dansite değişimi

VH: Örnek hacmi VT: Toplam hacim

0.071: 10mM H₂O₂ yıkım hızının verdiği OD değeridir.

Ü / ml biriminden ölçülen CAT aktivitesi örnekte saptanan protein değerine bölünerek dokudaki enzim spesifik aktivite sonucu Ü / mg protein biriminden verilir.

$$\text{CAT Spesifik Aktivitesi (Ü / mg protein)} = \frac{\text{CAT Değeri (Ü / ml)}}{\text{Protein (mg / ml)}}$$

3.11. İstatistiksel Analiz

İstatiksel analizin yapılmasında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15,0 kullanıldı. Sonuçlarımız ortalama ± standart sapma şeklinde verildi. Biyokimyasal verilerimizin değerlendirilmesinde ise gruplar arasındaki farkların incelenmesi için Non Parametrik Kruskal-Wallis testi, iki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde de Mann-Whitney U testi kullanıldı. Her iki test içinde p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Karaciğer Dokusundaki MDA Düzeyleri

Tablo 11: Gruplar arası karaciğer dokusunda MDA bulguları

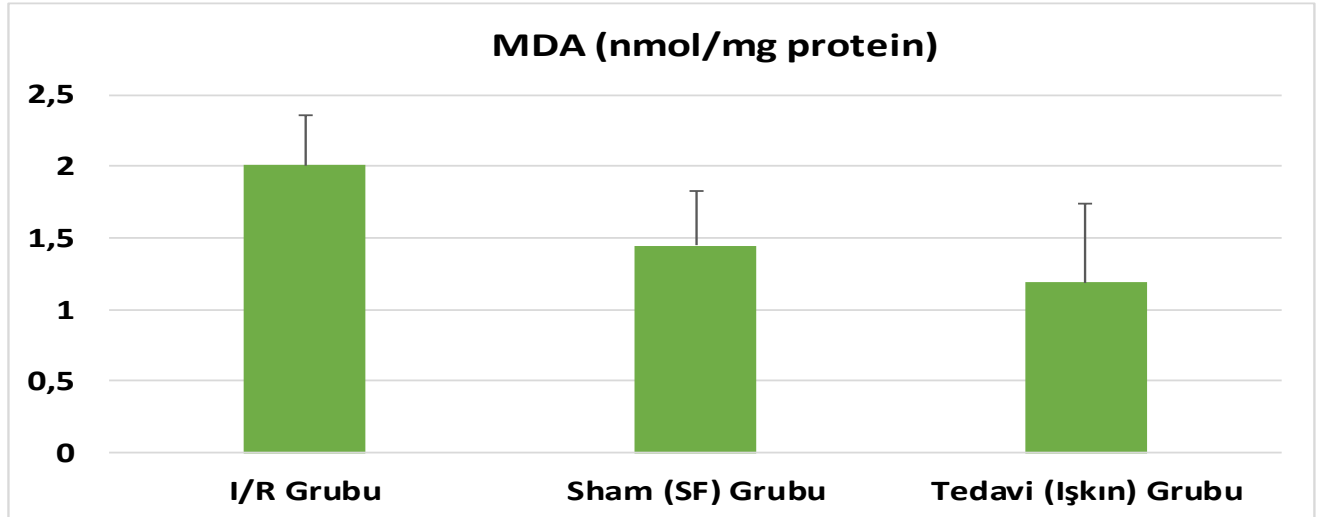
	MDA (nmol / mg protein)		
	n	Ort ± SD	Min-Max
I / R Grubu	8	2,01±0,30	1,54-2,37
Sham (SF) Grubu	8	1,45±0,38	1,00-1,95
Tedavi (Işkın) Grubu	8	1,19±0,55	0,59-2,11

Gruplar arasındaki MDA düzeyleri kıyaslandığında;

Tedavi grubunda MDA düzeyi Sham (SF) grubuna göre daha düşük bulundu, fakat her iki grup arasında MDA düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. (p=0,338)(p>0,05)

Tedavi grubu ile I / R grubu arasında MDA düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlendi (p=0,015) (p <0,05)

I / R grubu ile Sham (SF) grubu arasında MDA düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (p=0,022)(p<0,05)



Şekil 10: Gruplar arası MDA düzeyleri

4.2. Karaciğer Dokusundaki SOD Aktiviteleri

Tablo 12: Gruplar arası karaciğer dokusunda SOD bulguları

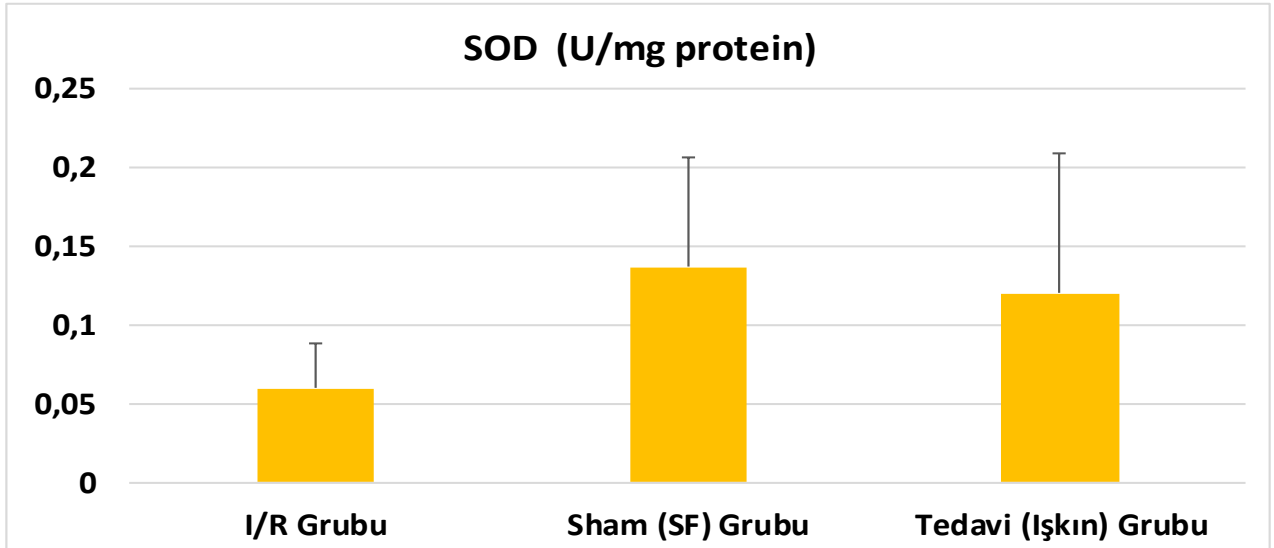
	n	SOD (U / mg protein)	
		Ort ± SD	Min-Max
I / R Grubu	8	0,06 ±0,02	0,03-0,11
Sham (SF) Grubu	8	0,13±0,07	0,03-0,23
Tedavi (Işkın) Grubu	8	0,12±0,08	0,05-0,18

Gruplar arasındaki SOD düzeyleri kıyaslandığında;

Tedavi grubu ile Sham (SF) grubu arasında SOD düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. (p=0,84)(p>0,05)

Tedavi grubu ile I / R grubu arasında SOD düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (p=0,01)(p<0,05)

I / R grubu ile Sham (SF) grubu arasında SOD düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p=0,06)(p>0,05)



Şekil 11: Gruplar arası SOD Aktiviteleri

4.3. Karaciğer Dokusundaki CAT Aktiviteleri

Tablo 13: Gruplar arası karaciğer dokusunda CAT bulguları

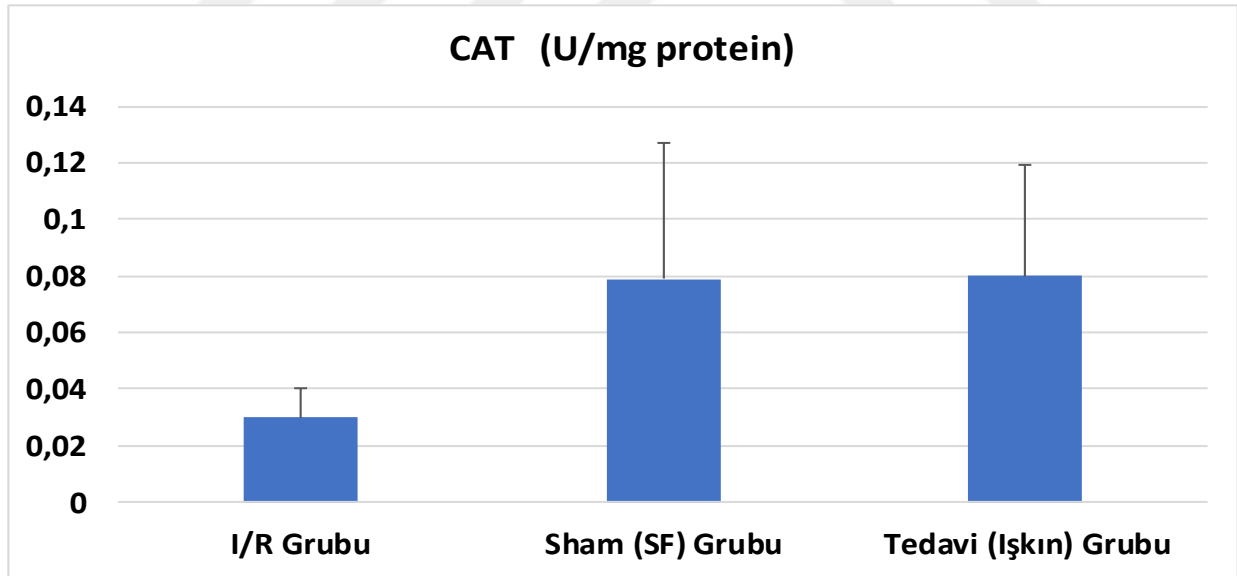
	n	CAT (U / mg protein)	
		Ort ± SD	Min-Max
I / R Grubu	8	0,03±0,01	0,02-0,05
Sham (SF) Grubu	8	0,07±0,04	0,03-0,13
Tedavi (Işkın) Grubu	8	0,08±0,03	0,04-0,14

Gruplar arasındaki CAT düzeyleri kıyaslandığında;

Tedavi grubu ile Sham (SF) grubu arasında CAT düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. ($p=0,84$)($p>0,05$)

Tedavi grubu ile I / R grubu arasında CAT düzeyi bakımından istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı fark bulundu. ($p=0,007$)($p<0,05$)

I / R grubu ile Sham (SF) grubu arasında CAT düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. ($p=0,25$)($p>0,05$)



Şekil 12: Gruplar arası CAT Aktiviteleri

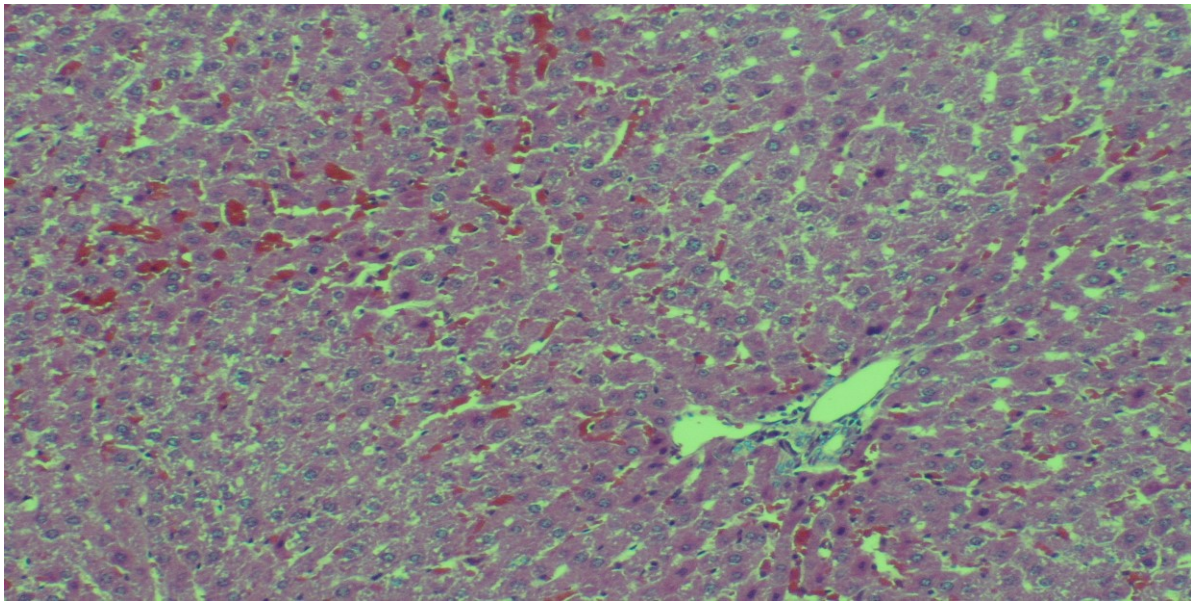
4.4. Histopatolojik Bulgular

4.4.1. Histopatolojik değerlendirme

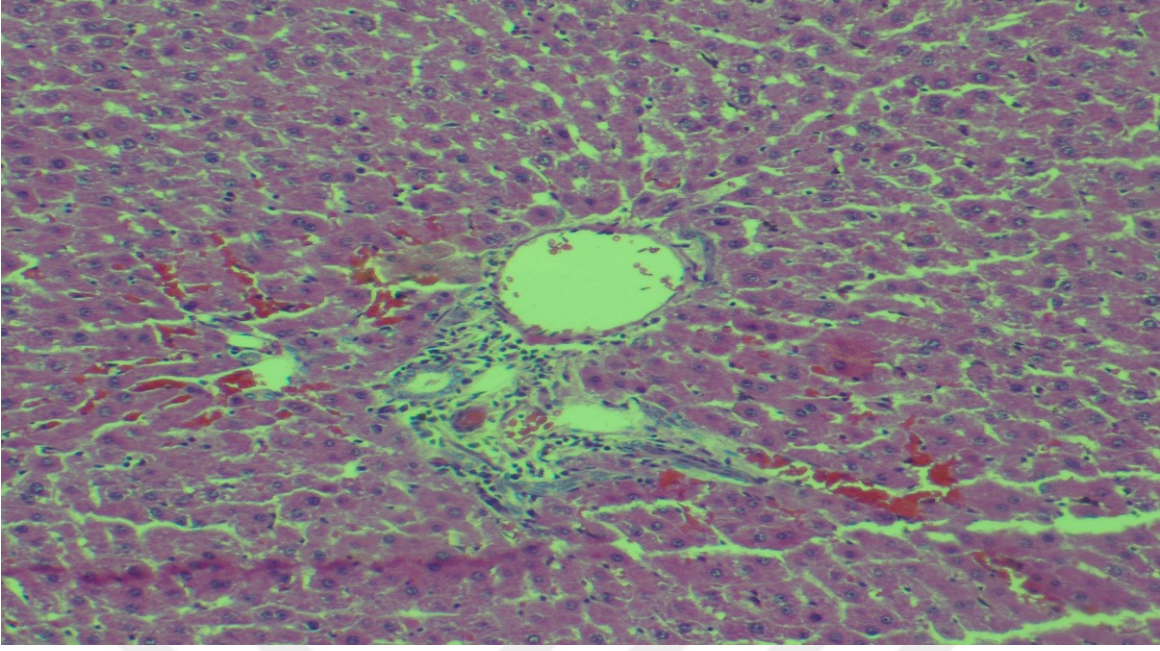
%10' luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonuna konulan dokular histopatolojik incelemenin yapılması için 24 saat fikse edildi. Doku takip cihazında, rutin takibe alınan örneklerle parafin bloklar hazırlandı. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom yardımı ile her doku örneği için 5 µm'lik seri kesitler hazırlandı ve akabinde Hematoksilen-Eozin (H&E) boyası ile boyandı. Tüm çalışma aynı patolog tarafından yapıldı. Patolog hangi grupta hangi doku örneğinin olduğunu bilmeden ve doku örnekleri içinden rastgele seçim yaptırılarak gerçekleştirildi. Daha sonra, hazırlanan preparatlar histopatolojik değerlendirme için ışık mikroskobu ile incelemeye tabi tutuldu.

4.4.2. Histopatolojik analiz sonuçları

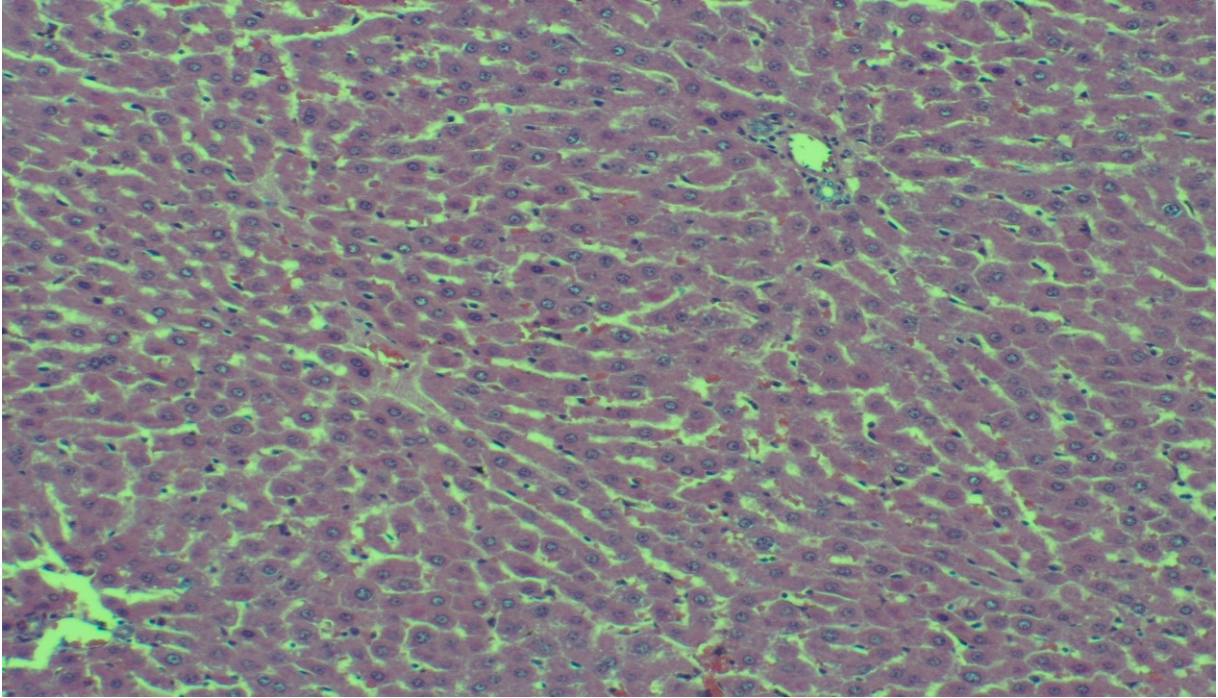
Yapılan histopatolojik değerlendirme de gruplar; konjesyon, kanama alanları, nekroz ve fırçamsı kenar kayıplarına göre değerlendirildi. Üçüncü grup olan Tedavi (Işkın) grubunda normal görünümde yani konjesyon olan karaciğer dokusunda, sadece I / R grubunda ağır nekroz, fırçamsı kenar kayıpları ve çok fazla kanama alanları vardı, ışkın tedavisi uygulanan üçüncü grupta normale yakın görüntü yani konjesyon hali mevcuttu. En çok hasar gerilemesi bu grupta saptandı, kenar kayıplarında gerileme ise çok azdı.



Resim 4. Sham (SF) grubunda portal alanda hafif bir enflamasyon, I / R grubuna göre daha hafif lezyon, hepatositlerde dejenerasyon, şişme ve sinüzoidlerde konjesyon içeren karaciğer parankimi



Resim 5. I / R grubunda portal alanda belirgin enflamatuar hücreler ile çevrili hepatositlerde şişme ve belirgin konjesyon içeren karaciğer parankimi



Resim 6. Tedavi (Işkın) grubunda tedaviye yanıt olarak portal alanda azalmış enflamasyon ve sinüzoidlerde konjesyonda azalma, enflamatuar enflamasyonda azalma ve fibrozis durumu

5. TARTIŞMA

Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokuların yetersiz perfüzyonu neticesinde doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımının sağlanması gerekmektedir. İskemiye maruz kalan dokunun reperfüzyonu, dokuda iskeminin yarattığı hasardan daha ciddi yıkımlara yol açmaktadır (1). Reperfüzyon döneminde meydana gelen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizmanın rolü vardır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan sellüler yapılar, proteinler, nükleik asitler, zar lipitleri ve DNA molekülleridir (2). Serbest radikaller, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküllerdir. Atom veya molekülde elektronlar genelde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Fakat molekülde bir elektron kaybı olursa ya da bir elektron ilavesi onu reaktif hale getirir (55). Organizma devamlı olarak serbest radikal tehlikesiyle karşı karşıyadır. Oksijen atmosferin %21'ini teşkil eder ve aynı zamanda aerobik organizmanın yaşamı için kaçınılmaz bir öneme sahiptir. Serbest radikaller fizyolojik şartlarda ve dış etkenlere karşı organizmanın savunmasında da belirli miktarlarda oluşur ve içsel mekanizmalarla organizmaya verebileceği zararlı etkileri ortadan kaldırılır. Serbest radikallerin endojen kaynakları oksijen, nitrik oksit (NO), uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, peroksizom, endoplazmik retikulum ve plazma membranı biyolojik sistemler için gösterilebilir. Solunan oksijenin %95'inden fazlası mitokondrielerde ATP şeklinde enerji oluşumunda kullanılır. Yaklaşık olarak %5 'i ise son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içeren ve bu özellikleri nedeniyle de toksik serbest radikallere dönüşmektedir. İnsanda her yıl 2 kg O₂ oluştuğu bilinmektedir (56). İskemi olayı sonrası dokudaki inflamatuvar yanıtın şiddeti, uzak organlarda da aynı şiddette görülebilir. İskemi-reperfüzyonun uzak etkileri sıklıkla kardiyovasküler sistemde ve akciğer dokusunda gözlenmektedir ve sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) ve multipl organ disfonksiyon sendromunun (MODS) gelişmesine sebep olabilir. Bu vakaların yoğun bakım ünitelerinde %30-40 ölümcül seyrettiği bilinmektedir (57). Serbest radikallerin sebep olduğu zararlı etkiler, antioksidan maddeler tarafından azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılabilir. Bitkilerde yaygın olarak görülen flavanoidler antioksidan özellik taşıyan polifenolik bileşiklerdir. Flavonoidler antioksidan etkilerini, kimyasal yapılarında bulunan fenolik hidrojenler sayesinde göstermektedir (58).

Işkın bitkisinin gövde kısmı bitki taze iken dış kabuğu soyularak yenilmektedir. Bitkinin gövde kısmı, yerel halk tarafından sindirimi kolaylaştırıcı olarak anılmakla birlikte, toprak altındaki kısımlarının ise hemoroid ve diyabet tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Işkın genç kökleri ve gövdeleri, kızamık, çiçek hastalığını önleyici ve safra söktürücü olarak kullanılmaktadır. Kökleri ise diabeti tedavi edici, ülser, mide rahatsızlığını düzeltici etkisinin olduğu bilinmektedir (59). Işkın genç sürgünlerinde, krizofanol, fiskiyon ve emodol antrakinonlarıyla, kuersetin, 5-dezoksikuersetin, kuersetin 3-O-ramnozid, kuersetin 3-O-galaktozid ve kuersetin 3-O-rutinozid flavonoidleri ihtiva etmektedir (60). Yapılan bir çalışma neticesinde ışkın ekstraktlarının antibakteriyel özelliklere sahip olduğu kaydedilmiştir. Bu çalışmada, ışkın üç farklı çözücü (etanol, kloroform, hegzan) ile elde edilen ekstraktlarının G(+) ve G(-) bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi disk difizyon metodu yoluyla araştırılmıştır. Çalışmanın neticesinde etanol ekstraktının hegzan ve kloroform ekstraktlarına göre daha geniş spektrumlu etkiye sahip olduğu izlenmiştir (61). Yapılan başka çalışmalara göre ışkın, %5,59 kuru madde, %0,63 toplam kül, %1,3 protein, 3,75 µg / g demir, 1,13 µg / g çinko, 0,5 µg / g bakır, 0,423 µg / g mangan, 0,255 µg / g A vitamini, 0,614 µg / g E vitamini ve 98,6 µg / g selenyum ihtiva etmektedir (62,63). Işkın C vitamini yönünden oldukça zengin bir bitkidir. Aynı zamanda yapılan çalışmalara göre, ışkın bitkisinin yüksek fenolik madde içeriğine sahip olduğu ve serbest radikalleri yüksek oranda bağladığı belirlenmiş ve antioksidan özellikleri nedeniyle fonksiyonel bir gıda bileşeni olarak rahatlıkla kullanılabilceği kayıtlara geçmiştir (64). Son zamanlarda yoğun strese maruz kalınması neticesiyle ve biyokimyasal ara ürünler oluşumu sonucu meydana gelen serbest radikallerin birçok hastalıkla ilişkili olduğunun tesbit edilmesi antioksidan maddelere karşı olan ilgiyi arttırmıştır. Bizde hem bu sebeplerden ötürü hemde ışkın bitkisinin bilinen diğer özellikleri neticesinde çalışmamızda bu bitkiyi kullandık.

IR ile ortaya çıkan doku hasarının büyüklüğü, iskemi olayının süresi dışında doku ve organların yapısı ve biyokimyasal metabolizması açısından çok özel farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Netice itibarıyla, IR hasarı birçok faktörün rol aldığı karmaşık bir yapıya sahiptir. Tüm bu mekanizmalar iskeminin süresi ve şiddetine göre dokular arasında da farklılıklar göstermektedir. Bu sebepten ötürü IR hasarında oksidatif stresin biyokimyasal mekanizmalarının anlaşılması doku ve organlara yönelik yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilebilmesi açısından klinikte önemli bir yere sahiptir. Günümüzde yapılan birçok çalışma, kalp, karaciğer, beyin, barsak ve böbreklerde IR hasarının bazı antioksidanlar ile belli ölçülerde önlenebildiğini göstermektedir (51).

Işkın bitkisinin IR hasarını önlemedeki etkilerinin ne olduğuna dair çalışmalar bulunmamaktadır. Çalışmamızda deneysel karaciğer IR modelinde oluşan hasarı ve bu hasarı önlemede ışkın bitkisinin etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırdık. Çalışmamızda ağırlıkları ortalama 225 ± 20 arasında değişen, standart koşullarda yetiştirilen erişkin erkek Wistar sıçanlar kullanıldı. Denek olarak sıçan kullanılmasının sebebi; dayanıklı olmaları, temininin kolay olması ve IR modellerinde sık olarak sıçanların kullanılmalardı. Çalışmamızda IR hasarını göstermek ve kullandığımız antioksidan muhtevaya sahip bitkinin hasarı azaltmadaki etkilerini karşılaştırmak için karaciğer dokusu MDA düzeyleri üzerinde çalıştık. Bulduğumuz MDA düzeylerini incelediğimizde ortalama en yüksek MDA değerinin I / R grubunda olduğunu gözlemledik. Sham (SF) ve Tedavi gruplarının MDA düzeylerinin ise I / R grubuna göre düşük olduğunu saptadık ($p < 0,05$). Bu bulgular neticesinde ışkın bitkisi ekstratının serbest radikal kaynaklı lipid peroksidasyonunu azalttığını söyleyebiliriz. Serbest radikaller oksidatif metabolizma sırasında oluşmaktadır, ancak genellikle iyi kontrol edilmektedir. Bu kontrol olayında CAT ve SOD gibi önemli intraselüler antioksidan savunma enzimleri rol oynamaktadır. SOD superoksiti hızlıca hidrojen peroksite katalizler. H_2O_2 ise katalaz tarafından su ve oksijene indirgenir. Bu enzimlerin seviyelerinin ölçümü serbest radikal aracılı hasar konusunda indirek bilgi alabilmemizi sağlamaktadır. Biz de çalışmamızda deneysel karaciğer IR hasarında SOD ve CAT seviyelerini inceledik.

Tüm grupların SOD ve CAT düzeylerinin I / R grubuna kıyasla yükseldiği gözlemlenmiştir. IR hasarıyla ortaya çıkan SOR ortadan kaldırılamadığı için oluşan doku hasarı sonucu enzim miktarları azalmaya başlar ve netice itibariyle aktivite azalabilir. Bizim çalışmamızda da paralel sonuçlar elde edilmiş olup, I / R grubu, Sham (SF) grubuyla karşılaştırıldığında MDA düzeylerinin arttığını, SOD ve CAT düzeylerinin ise azaldığını görmekteyiz. Bu gelişmeler bize I / R grubunda ROS düzeyinin arttığını ve endojen antioksidan enzimlerin tüketildiğini göstermektedir. Çalışmamızda Işkın uygulamasının MDA düzeyinde de azalmaya yol açtığı saptanmıştır. Çalışmamızda histopatolojik olarak I / R grubunda artan nekrozun Işkın tedavisi uygulaması ile azaldığı görülmüştür. Uyguladığımız deney prosedüründe Işkın bitkisinin lipid peroksidasyonunun bir indikatörü olan MDA düzeyini ve karaciğer doku hasarını azaltması, antioksidan enzim düzeylerini arttırması bu modelde Işkın yararlı etkilerinin olabileceğini akla getirmektedir. Sonuç olarak çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular; karaciğer IR hasarında oksidatif stresin önemli rol oynadığını ve buna karşı ışkın uygulamasının bu hasara karşı yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ

1- I / R grubunda, Tedavi grubuna kıyasla MDA değeri anlamlı şekilde yüksek, histopatolojik açıdan belirgin şekilde hasarlı bulunmuştur ($p<0.05$). Bu durum, uyguladığımız modelle karaciğer IR hasarı oluştuğunu göstermektedir.

2- Işkın, I / R grubuna kıyasla biyokimyasal ve histopatolojik açıdan ratlarda oluşan karaciğer IR hasarını azalttığı saptanmıştır ($p<0.05$).

3- Sham (SF) ve I / R grubu arasında MDA düzeyi bakımından anlamlı fark saptanırken ($p<0.05$), diğer parametreler yönünden anlamlı farklılıklar yoktu. ($p>0.05$)

4- Tedavi grubunda MDA düzeyi, Sham (SF) grubuna kıyasla daha düşük bulundu, fakat her iki grup arasında istatistiksel olarak MDA düzeyi bakımından anlamlı bir fark gözlenmedi. ($p>0.05$) Bu durum ışkın tedavi gün sayısının ve dozunun artırılması durumunda daha etkili olabileceğini düşündürmektedir.

5- Tedavi grubu ile I / R grubu arasında MDA ve SOD düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlendi. ($p <0.05$) CAT düzeyi bakımından ise istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı fark bulundu. ($p<0.05$)

6- Uyguladığımız deney prosedüründe Işkın lipit peroksidasyonunun bir indikatörü olan MDA düzeyini ve karaciğer doku hasarını azaltması, antioksidan enzim düzeylerini arttırması bu modelde Işkın yararlı etkilerinin olabileceğini akla getirmektedir.

7- Çalışmamızda histopatolojik olarak I / R grubunda artan nekrozun Işkın uygulaması ile azaldığı görülmekte ve biyokimyasal sonuçları histopatolojik açıdan desteklemektedir.

8- Sonuç olarak çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular; karaciğer IR hasarında oksidatif stresin önemli rol oynadığını ve buna karşın Işkın uygulamasının bu hasara karşı yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1) Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg Clin North Am 72: 65-83, 1992.
- 2) Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. Acta Univ Carol Med Monogr 137:1-53, 1990.
- 3) Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. J Biochem 222:1-15, 1984.
- 4) Ren, WY. Qiao, ZH. Wang, H.W. Zhu, L. and Zhang, L. "Flavonoids: promising anticancer agents", Medicinal Research Reviews, 23.519–534, 2003.
- 5) Güzel C, Bir organ olarak karaciğer. Tibbi fizyoloji, Guyton AC, Hall JE (eds), 11th ed. Ankara, Nobel Tıp, s 859-864, 2007.
- 6) Çapan Z, Yalçın ÖF, Karaciğer hastalıkları ve anestezi. Organ Sistemleri ve Anestezi. Teltik Başar H, Baltacı B, Kaymak Ç (eds). Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri Ltd Şti, s 125-142, 2010.
- 7) Kingham TP, Correagallego C, D'Angelica MI, Gönen M, Dematteo RP, Fong Y, Allen PJ, Blumgart LH, Jarnagin WR. Karaciğer parankim koruyucu cerrahi: malignite için 4,152 rezeksiyonda azalan morbidite ve mortalite oranları. J Am Coll Surg. 220 (4): 471-9, 2015.
- 8) Netrf.org/for-patients/nets-info/net-treatment/interventional-radiology/; 2019.
- 9) Goyri-O'Neill J, Pais D, Freire de Andrade F, Ribeiro P, Belo A, O'Neill A, Ramos S, Neves Marques C. Improvement of the embalming perfusion method: the innovation and the results by light and scanning electron microscopy. Acta Medica Portuguesa, 26: 188-194, 2013.
- 10) Shi H, Yang G, Zheng T, Wang J, Li L, Liang Y, et al. A preliminary study of ALPPS procedure in a rat model. Scientific Reports. 12/03/online; 5:17567, 2015.
- 11) Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Temel Patoloji. Çevikbaş U (Çeviren) 5. Baskı. İstanbul: Nobel ve Yüce Kitabevi, 3-24, 1995.
- 12) İşlekel H, İşlekel S, Güner G. Biochemical mechanism tissue injury of cerebral ischemia and reperfusion. Part 1 Biochemical mechanism Norol Bil D. 17,2, 2000.
- 13) Baykara B, Tekmen I. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı. DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi 19: 185-194, 2005.
- 14) Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepatic ischemiareperfusion injury and preconditioning. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 284: G15-G26, 2003.

- 15) Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russel GI. Differentialeffect of ischemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Exp Nephrol* 3: 348-354, 1995.
- 16) Ozan E, Koyutürk L, Sapmaz T. Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Prostoglandin E1(PGE) Kullanımının İncelenmesi: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilimdalı. *Fırat Tıp Dergisi* 9(3):67-71, 2004.
- 17) Schiller HJ, Andreoni KA, Bulkley GB: Free radical ablation for the prevention of post-ischemic renal failure following renal transplantation. *Klin Wochenschr* 69: 1083-1094, 1991.
- 18) Göksel Şener, Berrak Ç. Yeğen. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim* 5-13
- 19) Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. *J Clin Invest* 74: 1156-1164, 1984.
- 20) Laurent B, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 251: F765-F776, 1986.
- 21) Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Invest Med* 42: 632-639, 1994.
- 22) Cotran R: Hücre Zedelenmesi Adaptasyon, Basic Pathology. Cotran R, Kumar V, Robbins S. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul ;3-11, 1994.
- 23) Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins Basic Pathology E-Book: Elsevier Health Sciences, 2017.
- 24) Holger K. Eltzhig, Charles D. Collard. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British Medical B.*; 70.71-86, 2004.
- 25) Carden D. L. Granger D. N. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J. Pathology*; 190:255-66, 2000.
- 26) Diplock, A. Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59 p. Belgium, 1998.
- 27) Nawar, W.W. Lipids. In “Food Chemistry”, O.R. Fennema (Ed), pp: 225-319. Marcel Dekker, New York, 1996.
- 28) N. Toshima, T. Yonezawa, Bimetallic nanoparticles—novel materials for chemical and physical applications, *New J Chem*, 22: 1179–1201, 1998.
- 29) K. H. Cheeseman, T. F. Slater, An introduction to free radical biochemistry, *British Medical Bulletin*, Volume 49, Issue 3, Pages 481–493, 1993.
- 30) Lie Bono DP. free radicals and antioxidants in vascular biology: The roles of reaction kinetics. environment and substrate turnover. *On Me d* 87.445-53, 1994.

- 31) Lin E, Lowry SF, Calvano SE. The systemic response to injury. Schwartz SI (ed), Principles of Surgery. Mc Graw-Hill 7th Edition; Vol 13-32, 1999.
- 32) Halliwell B, Gutteridge JMC Free Radicals in Biology and Medicine, Third Edition, Oxford Science Publications, 22- 24, 2001.
- 33) Porter, N.A. Mechanism of fatty acid and phospholipid autoxidation. In “Chemical Changes in Food During Processing”, T. Richardson and J.W. Finley (Eds), pp:73-105. Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1985.
- 34) Halliwell, B. Gutteridge, J.M.C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. Methods Enzymol. 186; 1-85, 1990.
- 35) Foote, C.S. Chemistry of reactive oxygen species. In “Chemical Changes in Food During Processing”, T. Richardson and J.W. Finley (Eds), pp:17-32. Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1985.
- 36) Meydani, M. Antioxidants and cognitive function. ILSI. Nutrition Reviews., 59(8); S75-S82, 2001.
- 37) Larson, R.A. The antioxidants of higher plants. Phytochemistry. 27(4); 969-978, 1988.
- 38) Duthie, G.G. Wahle, K.W.J. and James, W.P.T. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. Nutr. Res. Rev. 2; 51-62, 1989.
- 39) Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. Free Radical Biology & Medicine. 33(3): 337–349, 2002.
- 40) Fattman CL, Schaefer LM, Oury TD. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. Free Radical Biology & Medicine 35(3): 236–256, 2003.
- 41) Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, Van Zanden J, Van Bladeren PJ. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. Environmental Toxicology and Pharmacology 10.141-152, 2001.
- 42) Şener G, Yeğen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı. Klinik Gelişim- İstanbul Tabip Odası Süreli Bilimsel Yayın. 5-13, 2009.
- 43) Akkuş İ (1995) Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya.
- 44) Sen S, Chakraborty R. The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy. Chapter 1: 1-37, 2011.
- 45) Aydemir B, Karadağ Sarı E. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. Kocatepe Veterinary Journal. 2(2): 56-60, 2009..
- 46) Davis, P.H., Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Vol. 2. Edinburg, Edinburgh University Press, 268, 1966.

- 47) Baytop, T. Türkiyede Bitkiler ile Tedavi İstanbul, İstanbul Üniversitesi Yayınları No 3255- Eczacılık Fakültesi No 40, 358, 1984.
- 48) Munzuroğlu, Ö., Karataş, F., Gür, N. A study of the levels of vitamins A, E and C and selenium in rhubarb (*Rheum ribes* L.). *Turkish Journal of Biology*, 24(3): 397-404, 2000.
- 49) Alan, R., Padem, H., Erzurum yöresinde sebze olarak kullanılan yabancı otlardan ışkın, uzun yemlik, madımak, tel pancarı ile ebegümece üzerine araştırmalar. *Gıda*, 14(5): 281-287, 1989.
- 50) Naqishbandi AM, Josefsen K, Pedersen ME, Jäger AK. Hypoglycemic activity of Iraqi *Rheum ribes* root extract. *Pharmaceutical Biology*. 47(5): 380-383, 2009.
- 51) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*; 193: 265-75, 1951.
- 52) Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*;95: 351–358, 1979.
- 53) Fridovich I. Superoxide dismutase. *Adv Enzymol*; 41: 35–97, 1974.
- 54) Beutler E. *Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods*, 3rd edn. New York: Harcourt Brace Jovanovich, 1984.
- 55) Acworth IN, Bailey B. Reactive Oxygen Species. In: *The handbook of oxidative metabolism*. Massachusetts: ESA Inc. p. 1-1 to 4-4, 1997.
- 56) Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J*, 9: 526-533, 1995.
- 57) Neary P, Redmond HP: Ischaemia-reperfusion injury and the systemic inflammatory response syndrome. In: Grace PA, Mathie RT, eds. *IschemiaReperfusion Injury*. London, Blackwell Science, pp: 123-36, 1999.
- 58) T. Ding, S. Tian, Z. Zhang, D. Gu, Y. Chen, Y. Shi, and Z. Sun, Determination of active component in silymarin by RP-LC and LC/MS, *J. Pharmacol. Biomed. Anal.* 26. 155–161, 2001.
- 59) Özbek H, Ceylan E, Kara M, Özgökçe F, Koyuncu M, *Rheum ribes* (Uşkun) kökü ekstresinin sağlıklı ve diyabetli farelerdeki hipoglisemik etkisi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir, 2002.
- 60) Tosun F, Akyüz Kızılay Ç, Anthraquinones and flavanoids from *Rheum ribes*. *Ankara Ecz. Fak. Derg*, 32(1): 31-35, 2003.
- 61) Tanış H, Karcıoğlu L, Dıraz E, Aygan A, Kahramanmaraş bölgesinde yetişen Işgın (*Rheum ribes* L.)' ın antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi. *KSÜ Doğa Bil Derg.* 13(2): 12-16, 2010.

- 62) Munzuroğlu, Ö. Karataş, F. Gür, N. A study of the levels of vitamins A, E and C and selenium in rhubarb (*Rheum ribes L.*). *Turkish Journal of Biology*, 24(3): 397-404, 2000.
- 63) Andiç S, Tunçtürk Y, Ocak E, Köse Ş, Some chemical characteristic of edible wild rhubarb species (*Rheum ribes L.*). *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 5(6): 973-977, 2009.
- 64) Meral Raciye, Fonksiyonel Öneme Sahip Doğal Bileşenlerin Hamur ve Ekmek Özellikleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. (Doktora tezi, yayınlanmamış). YYÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.



8. ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: Karaciğerin sekiz segmentli yapısı	3
Şekil 2: Karaciğerin i anatomisi	4
Şekil 3: Rat ve İnsan Karaciğer Anatomisi	7
Şekil 4: İskemi Reperfüzyon hasarı metabolizması	8
Şekil 5: İskemi Reperfüzyon Hasarında Meydana Gelen Olaylar Dizisi	10
Şekil 6: İskemi sonrası hücre hasarındaki SOR etkileri	11
Şekil 7: Protein standart eğrisi	24
Şekil 8: MDA (Malondialdehit) standart eğrisi grafiği	26
Şekil 9: SOD standart eğrisi	30
Şekil 10: Gruplar arası MDA düzeyleri	33
Şekil 11: Gruplar arası SOD düzeyleri.....	34
Şekil 12: Gruplar arası CAT düzeyleri	35

9. RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1: Işkın otu (Rheum ribes L.)	18
Resim 2: Deneysel karaciğer iskemi reperfüzyon çalışması-1	22
Resim 3: Deneysel karaciğer iskemi reperfüzyon çalışması-2	23
Resim 4: Sham (SF) grubunda histopatolojik görünüm	36
Resim 5: İR grubunda histopatolojik görünüm	37
Resim 6: Tedavi grubunda histopatolojik görünüm	37



10. TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri	13
Tablo 2: Antioksidanların sınıflandırılması	17
Tablo 3: Protein standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı	24
Tablo 4: Doku örneğinde protein tayini için tüplerin hazırlanışı	25
Tablo 5: MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı	26
Tablo 6: Doku örneğinde MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı	27
Tablo 7: SOD standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı	29
Tablo 8: Doku örneğinde SOD standart eğri çizimi için kuvars küvetlerin hazırlanışı	29
Tablo 9: Doku örneğinde SOD aktivite tayini için kuvars tüplerin hazırlanışı	30
Tablo 10: Doku örneğinde CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı.....	32
Tablo 11: Gruplar arası karaciğer dokusunda MDA bulguları	33
Tablo 12: Gruplar arası karaciğer dokusunda SOD bulguları.....	34
Tablo 13: Gruplar arası karaciğer dokusunda CAT bulguları.....	35

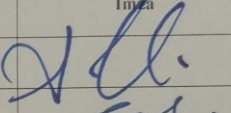
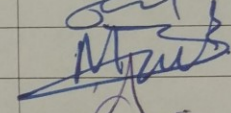
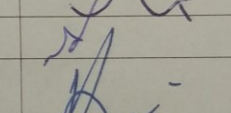
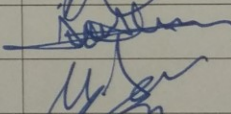
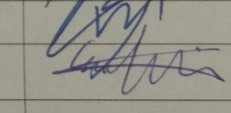
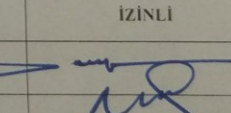
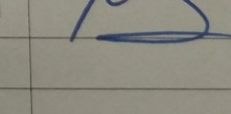
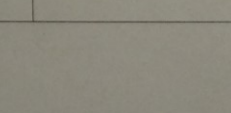




11. EKLER DİZİNİ

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı	Karaciğer İskemi- Reperfüzyon hasarında " <i>Rherum Ribes L.</i> (ışık) in oksidatif stres üzerine etkisi	
	Başvuru Tarihi	20.12.2018	
	Protokol No	39	
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Dili	
	Başvuru Formu	Türkçe	
KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2018/12	Karar No: 03	Tarih: 26.12.2018
	Prof. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleşmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.		

K.S.Ü. TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI	Doç.Dr.Akif Hakan KURT
--------------------------------	------------------------

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Araştırma ile ilişki (*)		Katılım (**)		İmza
Doç. Dr. Akif Hakan KURT Başkan	Tıbbi Farmakoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN Üye	Tıbbi Biyokimya	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mehmet BOŞNAK Üye	Fizyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. İsmail ORHAN Üye	KBB	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mehmet ACIPAYAM Üye	Kalp Damar Cerrahi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Atilla YOLDAŞ Üye	Anatomi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. İdris ALTUN Üye	Beyin ve Sinir Cerrahisi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR Üye	Anatomi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Gökçe GİŞİ Üye	Anestezi ve Rean.	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul ERKEN Üye	İç Hastalıkları (Nefroloji)	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Vet.Hek. Faruk YILDIZ Üye	Veteriner	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İZİNLİ
Nedim Okan GÜMÜŞTAKIM Üye	Avukat	Serbest	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Mustafa CANSARAN Üye	Mühendis	Tarım İl Müdürlüğü	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
ŞERH (VARSA)							

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

12. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Süheyla Özyurt
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 1988 Kahramanmaraş
Medeni hali : Evli
Faks :
e-posta : suheylaozyurtt@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	KSÜ/Sağlık Bilimleri Tıbbi Biyokimya	2019
Lisans	KSÜ/Fen Edebiyat Fakültesi-Biyoloji Bölümü	2012
Lise	Kadriye Çalık Anadolu Lisesi K. Maraş	2007

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Mezuniyet Tarihi
-----	-----	------------------

Yabancı Diller

İngilizce

Hobiler

Doğa bilimleri, basketbol, yüzme, tenis

YAYINLAR

1. Ozyurt S, Kopar H, Ozyurt M, Kurutas EB. Investigation of Antioxidant activity in Plants Commonly Grown in Kahramanmaraş Region. XXVII. Balkan Clinical Laboratory Federation Meeting BCLF 2019, Antalya (P-207).
2. Kopar H, Seçinti KD, Ozyurt S, Kurutas EB. Oxidative Status İn Degenerated Painful Intervertebral Disc Samples: Variability With Respect To Duration Of Symptoms And Type Of Disease. XXVII. Balkan Clinical Laboratory Federation Meeting BCLF 2019, Antalya (O-055).