



T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İSKEMİ-REPERFÜZYONUNA BAĞLI MESANE  
HASARINDA ASPHODELUS L. (ÇİRİŞ OTU)' NUN  
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI:  
BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMA**

**HATİCE KOPAR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**KAHRAMANMARAŞ 2019**

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

**İSKEMİ-REPERFÜZYONUNA BAĞLI MESANE HASARINDA**  
**ASPHODELUS L. (ÇİRİŞ OTU)' NUN KORUYUCU ETKİSİNİN**  
**ARAŞTIRILMASI: BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMA**

**HATİCE KOPAR**  
**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 Hatice KOPAR tarafından hazırlanan “İSKEMİ-REPERFÜZYONUNA BAĞLI MESANE HASARINDA ASPHODELUS L.(ÇİRİŞ OTU)’ NUN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI: BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMA ” adlı bu tez, jürimiz tarafından 27.12.2019 tarihinde oy birliği ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi 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 Erdiñç 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, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

(imza)

Hatice KOPAR



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

Proje No: 2019 / 2-6 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 engin tecrübelerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında ilgi ve desteğini aldığım ve fikirlerinden faydalandığım saygı değer hocam Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ'a,

Eğitimim sırasında yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı hocam Prof. Dr. Metin KILINÇ ve Öğretim üyeleri Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN, Dr. Öğr. Üyesi Muhammed SEYİTHANOĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Filiz ALKAN BAYLAN hocalarıma,

Tez çalışmamda çok değerli katkıları olan, Prof. Dr. Sevgi BAKARIŞ ve Prof. Dr. Fatih YÜZBAŞIOĞLU hocalarımıza,

Son olarak, ilk günden bugünlere gelinceye kadar bana her konuda yardımcı olan her türlü maddi ve manevi desteklerini gördüğüm ailem ve özellikle eşim Fatih KOPAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma, 2019 / 2 - 6 YLS kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Aralık - 2019

Hatice KOPAR

**İSKEMİ-REPERFÜZYONUNA BAĞLI MESANE HASARINDA ASPHODELUS L.  
(ÇİRİŞ OTU)'NUN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI: BİYOKİMYASAL  
VE HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMA**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**HATİCE KOPAR**

**ÖZET**

Doku hasarı ile sonuçlanan, dokuya yetersiz oksijen ve besin desteğine yol açan kan akımı durması veya azalmasına iskemi denir. Mesane dokusunun yaşamının devam edebilmesi için iskemik alanın erken reperfüzyonu önemlidir. Ancak reperfüzyonun kendisi de, reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan mesane hücrelerinin ölümü ile sonuçlanır. Mesanede iskemi sonrası reperfüzyonun yol açtığı ağır oksidatif stres ciddi işlevsel ve yapısal hasara yol açmaktadır. Bu hasardan başlıca serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır. Obstrüktif mesane disfonksiyonu, hiperaktivite, hiperkolesterolemi ve diyabet de dahil olmak üzere çeşitli mesane hastalıkları iskemi/reperfüzyon (İ / R) neden olabilir.

Çiriş otu, ülkemizde Akdeniz, Ege, Marmara ve Güneydoğu bölgelerinde yüksek dağlarda yetişir. Mart-Haziran aylarında çiçeklenen çok yıllık otsu bitkidir. Liliaceae (zambakgiller) familyasına ait olup beyaz çiçeklere sahiptir. Yeşil yaprakları ve kök kısmı yemek için kullanılır. Yemek için kullanılan kısmı daha çok pırasanın küçültülmüş haline benzer. Bu yapısından dolayı halk arasında yabani pırasa, kırkiş otu gibi isimler de alabiliyor. Geçmişten günümüze alternatif tıbbında başvurduğu çiriş otu bir çok hastalığa iyi geldiği bilinmektedir. Bunlardan bazıları: C Vitamini açısından zengin olduğu için bağışıklık sistemini güçlendiriyor, adet düzensizliklerinde kullanılıyor, vajinal akıntının zamanla azalıp bitmesine yardımcı oluyor, sivilce ve egzema gibi cilt hastalıklarının tedavisine yardımcı oluyor, saçkıran tedavisinde kullanılıyor, basur rahatsızlığının tedavisinde de önemli derece de etkileri görülmüştür. Literatür taraması yaptığımızda Deneysel İ / R' a bağlı mesane hasarında *Asphodelus aestivus L.* (çiriş otu)' nun koruyucu etkisi ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. İlk defa yapılacak olan bu çalışmada, sıçanlara tedavi olarak verilen çiriş otunun İR hasarına karşı koruyucu etkinliğinin saptanması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 24 adet 250 - 300 gram ağırlığında erkek Wistar - Albino sıçan kullanıldı. Fizyolojik şartlar altında bakımı yapılmış olan sıçanlar, deneyde 3 gruptan oluştu; İ / R grubu (n= 8), sham grubu (n= 8) ve tedavi grubu (çiriş otu) (n= 8). Tedavi grubuna bir gün önceden çiriş otu ekstratı (50 mg / kg / gün dozunda) 1 mL gavaj yolu ile verildi. O

esnada da sham grubuna serum fizyolojik (% 0,9 NaCl) 1 mL gavaj yolu ile verildi. Ertesi gün her gruptaki sıçanların mesanesine 30 dakika iskemi, 30 dakika reperfüzyon uygulandı, İ / R sonrası; sham grubuna serum fizyolojik, tedavi grubuna çiriş otu ekstratı verildi, kontrol grubuna da birşey uygulanmadı. Deney bittikten sonra her üç grubun hayvanları sakrifiye edilerek mesane dokuları çıkarıldı. Elde edilen mesane dokulara iki eşit parçaya bölünerek bir parçası histopatolojik analiz için formaldehit içerisinde saklandı ve diğer parçası biyokimyasal analiz için – 80 °C’ de saklandı. Biyokimyasal analizler olarak mesane dokusunda oksidatif stresin biyobelirteçleri olarak katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Biyokimyasal incelemelerin sonucunda; İ / R grubunda tedavi ve sham gruplarına kıyasla CAT aktivitesinin belirgin şekilde düştüğü, buna karşın MDA düzeylerinin oldukça arttığı saptandı ( $p < 0,05$ ). Buna karşın, İ / R grubunda SOD aktivitesi azalmasına rağmen tedavi ve sham gruplardaki SOD aktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Tedavi grubunda diğer gruplara kıyasla SOD hariç CAT aktivitesinin anlamlı derecede arttığı ve MDA düzeylerinin düştüğü saptandı ( $p < 0,05$ ). Tedavi grubunda sham grubuna kıyasla antioksidan enzim aktivitelerinde artış ve MDA düzeylerinde düşüş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Histopatolojik olarak; İ / R grubunda epitel deskuamasyonu, konjesyon, müköler hipertrofi ve inflamatuvar bulgular gözlemlendi. Tedavi grubunda İ / R hasarının oluşturduğu bulgularda belirgin gerileme ve/ veya azalma olduğu saptandı. Sham grubunda, konjesyon bulgularında azalma gözlemlendi.

Sonuç olarak İ / R grubunda antioksidan enzim kapasitesinde yetersizlik ve MDA düzeyinin artışı, mesane dokusunda oksidatif hasarın oluştuğunu göstermektedir. Tedavi uygulanan grupta antioksidan enzimlerinin artışı oksidatif strese karşı hücrel bir yanıt oluşturduğu ve bu şekilde MDA düzeyini düşürdüğünü düşünülmektedir. Ancak, tedavi uygulanan grupta İ / R nedenli histopatolojik ve biyokimyasal bulguların tam olarak giderilebilmesi için tedavinin aynı dozlarda fakat uzun sürelerde uygulandığında çiriş otu’ nun antioksidan etkisinin tam olarak gösterebileceği kanısına varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Mesane İskemi / reperfüzyonu, serbest radikaller, *Asphodelus aestivus* L. (çiriş otu)

Danışman: Prof. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ

Sayfa sayısı: 103

**INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF ASPHODELUS L. (ÇİRİŞ OTU) IN BLADDER INJURY DUE TO ISCHEMIA-REPERFUSION: BIOCHEMICAL AND HISTOPATHOLOGICAL STUDY**

**Hatice Kopar**

**ABSTRACT**

Ischemia is the stop or decrease in blood flow that results in tissue damage, leading to insufficient oxygen and nutritional support to the tissue. Early reperfusion of the ischemic area is important for the survival of the bladder tissue. However, reperfusion itself also results in death of bladder cells called reperfusion injury. Severe oxidative stress caused by reperfusion after ischemia in the bladder leads to serious functional and structural damage. Free oxygen radicals are responsible for this damage. Various bladder diseases including obstructive bladder dysfunction, hyperactivity, hypercholesterolemia and diabetes can cause ischemia/reperfusion (I / R).

*Asphodelus L.* is grown in high mountains in the Mediterranean, Aegean, Marmara and Southeastern regions of our country. It is a perennial herbaceous plant that blooms in March-June. It belongs to the Liliaceae family and has white flowers. Green leaves and root part are used for eating. The portion used for cooking is more similar to the reduced version of leek. Because of this structure, wild leek, people like the grass can take names. It is known that it is good for many diseases from past to present. Some of them are: Vitamin C is rich in strengthens the immune system, is used in menstrual irregularities, vaginal discharge helps to reduce and end over time, acne and eczema, such as skin diseases, treatment is used, is used in the treatment of hemorrhagic, also has significant effects in the treatment of hemorrhage. In the literature review, there is no study on the protective effect of *Asphodelus aestivus L.* (çiriş otu) in experimental I / R related bladder injury. In this first study, we aimed to determine the protective efficacy of weed given to rats against I / R damage.

In this study, 24 male Wistar - Albino rats weighing 250 - 300 grams were used. The rats that were cared for under physiological conditions consisted of 3 groups; I / R group (n = 8), sham group (n = 8) and treatment group (weed) (n= 8). The treatment group was given 1 mL gavage extract (50 mg / kg / day) of the day before. At that time, saline (0.9 % NaCl) was given to sham group by 1 mL gavage. On the following day, the bladder of the rats in each group received ischemia for 30 minutes and reperfusion for 30 minutes. sham group was



given saline, treatment group was extracted with syrup extract, control group was not applied anything. After the experiment, animals of all three groups were sacrificed and bladder tissues were removed. The resulting bladder was divided into two equal parts, one part was stored in formaldehyde for histopathological analysis and the other part was stored at - 80 ° C for biochemical analysis. As biochemical analyzes, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) levels were measured spectrophotometrically as biomarkers of oxidative stress in bladder tissue.

As a result of biochemical investigations; In the I / R group, CAT activity decreased significantly compared to treatment and sham groups, whereas MDA levels were significantly increased ( $p < 0.05$ ). However, although SOD activity decreased in the I/R group, there was no statistically significant difference between SOD activities in the treatment and sham groups ( $p > 0.05$ ). In the treatment group, CAT activity was significantly increased and MDA levels were decreased except SOD ( $p < 0.05$ ). Although there was an increase in antioxidant enzyme activities and a decrease in MDA levels in the treatment group compared to the sham group, no statistically significant differences were found ( $p > 0.05$ ). Histopathologically; In the I / R group, epithelial desquamation, congestion, muscular hypertrophy and inflammatory findings were observed. Significant regression and / or decrease in the findings of I / R damage was found in the treatment group. In the sham group, congestion findings were decreased.

In conclusion, insufficiency of antioxidant enzyme capacity and increase in MDA levels in I / R group indicate oxidative damage in bladder tissue. The increase in antioxidant enzymes in the treatment group is thought to result in a cellular response to oxidative stress and thereby lower MDA levels. However, it was concluded that the antioxidant effect of the seedling can be fully demonstrated when the treatment is administered at the same doses but for long periods in order to completely eliminate histopathological and biochemical findings due to I / R in the treated group.

**Key words:** Bladder ischemia / reperfusion, free radicals, *Asphodelus aestivus* L.

Supervisor: Prof. Dr. Ergül Belge KURUTAS

Page Numbers: 103

## İÇİNDEKİLER

	Sayda No
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	I
ÖZET .....	II
ABSTRACT .....	IV
İÇİNDEKİLER.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ1. GİRİŞVE AMAÇ .....	VX
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	2
2.1.İSKEMİ.....	2
2.2.REPERFÜZYON.....	4
2.3.İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA NEDEN OLAN MEKNİZMALAR .....	5
2.3.1.Ksantin Oksidaz Yolu.....	5
2.3.2. Polimorf Nüveli Lökositlerin (PMNL) Aktivasyonu.....	6
2.3.3.Endotelial Faktörler .....	7
2.3.3.1. Araşidonik Asit Metabolitleri .....	7
2.3.3.2. Nitrik Oksit (NO).....	8
2.3.3.3.Endotelin .....	8
2.3.4.Trombosit Aktive Edici Faktör (PAF).....	8
2.3.5.Komplemanlar.....	9
2.3.6.Sitokinler.....	9
2.3.7.Prostoglandinler .....	9
2.4.MESANE.....	9
2.4.1.Mesänenin Anatomisi .....	11
2.4.2.Mesänenin Histolojisi .....	13
2.4.3.Mesänenin Fizyolojisi.....	14
2.4.4.Mesänenin Reseptörleri .....	16
2.4.5.Mesänenin Fonksiyon Bozuklukları .....	17
2.4.5.1.Üriner İnkontinans .....	17
2.4.5.2. Aşırı Aktif Mesane ( over active bladder - OAB).....	18
2.4.5.3.Obstruktif Mesane.....	18
2.4.5.4.Mesane Anatonisi.....	19
2.3.6.Mesanedeki İskemi-Reperfüzyon Hasarı .....	19
2.5.Oksidatif Stres.....	20

2.6.Serbest Radikaller .....	21
2.6.1.Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri .....	22
2.6.1.1.Reaktif oksijen türleri .....	22
2.6.2.Serbest radikallerin üretimi .....	28
2.6.3.Endojen/Eksojen serbest radikallerin oluşum mekanizmaları .....	29
2.6.4.Serbest radikallerin etkileri .....	32
2.6.4.1. Hücre içi etkileri .....	32
2.6.4.1.1. Lipit peroksidasyonu .....	32
2.6.4.1.2. Karbonhidratlara etkileri .....	34
2.6.4.1.3. Proteinlere etkileri.....	34
2.6.4.1.4.Nükleik asitler üzerine etkileri.....	34
2.6.4.2. Hücre dışı etkileri.....	34
2.6.4.2.1. Kemotaksi .....	34
2.6.4.2.2. Rolling.....	35
2.6.4.2.3. Antiadhezyon molekülleri inhibisyonu.....	34
2.7. Antioksidanlar.....	36
2.7.1. Antioksidan savunma sistemleri .....	36
2.7.1.1. Doğal antioksidanlar (endojen).....	36
2.7.1.2. Eksojen antioksidanlar .....	38
2.7.1.3. Gıda antioksidanları .....	38
2.7.1.4. Enzimatik antioksidanlar .....	39
2.7.1.4.1. Katalaz (CAT).....	39
2.7.1.4.2. Süperoksit dismutaz (SOD) .....	39
2.7.1.4.3. Glutatyon redüktaz (GR).....	40
2.7.1.5. Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	41
2.7.1.5.1. Karotenoidler (B karoten) .....	41
2.7.1.5.2. Glutatyon (GSH).....	41
2.7.1.5.3. E vitamini ( $\alpha$ - tokoferol) .....	41
2.7.1.5.4. C vitamini (askorbik asit).....	42
2.7.1.5.5. Melatonin .....	42
2.7.1.5.6. Seruloplazmin .....	43
2.7.1.5.7. Flavonoidler .....	42
2.7.1.5.8. Ürik asit (ürat) .....	44

2.8. Çiriş otu ( <i>Asphodelus aestivus L.</i> ) .....	44
3. MATERYAL VE METOT .....	46
3.1. Deney Grupları.....	46
3.2. Cerrahi Yöntem.....	47
3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	49
3.4 Çalışmada Kullanılan Cihazlar .....	50
3.5. Homojenat Hazırlama .....	51
3.6 Protein Düzeyinin Tayini.....	51
3.7. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Tayini .....	53
3.8. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini.....	56
3.9. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini .....	59
3.10. Histopatolojik Değerlendirme.....	60
3.11. İstatiksel Analiz .....	60
4.BULGULAR.....	61
4.1. Mesane Dokusundaki SOD Aktiviteleri .....	62
4.2. Mesane Dokusundaki MDA Aktiviteleri .....	62
4.3. Mesane Dokusundaki CAT Aktiviteleri .....	63
4.4.Histopatolojik Değerlendirme.....	64
5. TARTIŞMA .....	67
6. KAYNAK .....	71
7. ŞEKİLLER DİZİNİ .....	85
8. TABLOLAR DİZİNİ.....	86
9. RESİMLER DİZİNİ.....	87
10. EKLER.....	88
11. ÖZGEÇMİŞ .....	89

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Absorbans
AR	: $\alpha$ - 1A Adrenoreseptör
ATP	: Adenozin Trifosfat
ADP	: Adenozin Difosfat
AMP	: Adenozin Monofosfat
bFGF	: Temel: Fibroblast Büyüme Faktörü
BHT	: Butylated Hydroxytoluene
BHA	: Butylated Hydroxyanisole
CAT	: Katalaz
cAMP	: Siklik AMP
CoA	: Koenzim A
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
e-NOS	: Endotelyal
FAD	: Flavın Adenin Dinükleotid
Fe <sup>+2</sup>	: Ferro Demir
Fe <sup>+3</sup>	: Ferri Demir
GST	: Glutasyon - S - Transferaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutatyona
GSSG	: Okside Glutasyon
HB - EGF	: Heparin Bağlayıcı EGF - Benzeri Büyüme Faktörü
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen Peroksit
HOCl	: Hipoklorik Asit
HOBr	: Hipobronik Asit
HOI	: Hipoiyodik Asit
H&E	: Hemotoksin & Eozin
ICAM 1	: İntraselüler Adhezyon Molekülü 1
IGF - 1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü - 1
IL - 1	: İnterlökin - 1
IL - 6	: İnterlökin - 6

IgG	: İmmüoglobülin G
İ / R	: İskemi / Reperfüzyon
LDL	: Düşük Yoğunlukta Lipoprotein
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Myeloperoksidaz
mL	: Mililitre
NADPH	: Nikotinamid Adenine Dinükleotid Fosfat
NE	: Norepinefrin
NO	: Nitrik Oksit
NT	: Nitrotirozin
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	: Nitrojen Trioksit
LB4	: Lökotrien B4
PAF	: Trombosit Aktive Edici Faktör
PEGAM 1	: Trombosit-Endotel Hücresi Adhezyon Molekülü 1
PGI <sub>2</sub>	: Prostatiklin
PMNL	: Polimorf Nüveli Lökositler
OAB	: Aşırı Aktif Mesane
O <sup>2·-</sup>	: Süperoksit Radikali
OD	: Optik Dansite
OH·	: Hidroksil Radikali
ONOO <sup>-</sup>	: Peroksinitrit
SF	: Serum Fizyolojik
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikali
TxA <sub>2</sub>	: Tromboksan A <sub>2</sub>
TNF - α	: Tümör Nekrosis Faktör Alfa
TRP	: Vanilloid Reseptörler
RNA	: Ribonükleik Asit
ROT	: Reaktif Oksijen Radikali
ROOH	: Hidro Peroksit
ROOH	: Lipit Peroksit Radikali
XO	: Hidroperoksit
WBC	: Beyaz Kan Hücreleri

1O<sup>2</sup> : Singlent Oksijen  
5 - HT : 5 - Hidroksi - 2deosiguanozin



## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Mesane, idrara çıkmadan önce idrarı depolayan organdır (1). İç yüzeyinde dıştan içe doğru sırasıyla mukoza (ürotelyum) adlı zar yapısı, bunun altında “Lamina Propria” tabakası ve bunun altında da yüzeysel ve derin bir kas tabakası yer almaktadır (1). Küresel yapıya sahip mesane dokusu, kas liflerinin birbirine geçmesi sayesinde idrar depolama kapasitesini artırırken, kasıldığında yüksek basınç sağlayarak idrar atılımını gerçekleştirir (1). Mesane, hem erkek hem de kadında buluna pelvis (leğen) kemiği bölgesinde yer alır (1). Erkek ve kadında aynı bölgede yer alsa bile; idrar kesesi çıkışından sonra idrar (üretra) kanalının farklılığı nedeniyle farklı anatomik özelliklere sahiptir (1). Mesane ile ilgili rahatsızlıklar dış etkenlerden biri olan hijyen, günlük su tüketimi, bilinçsiz ilaç kullanımı, stres gibi farklı nedenlerle yaşanabilir.

İskemi, kanın doku veya organlara giderken herhangi bir nedenle azalması ve tamamen kesilmesinde perfüzyonun bozulmasına denir. İskemiye uğrayan dokuya belirli bir süre oksijen gitmemesi durumunda doku hasarı veya doku ölümü meydana gelir. İskemi sonrası kan akımının tekrar sağlanmasına reperfüzyon denir. Reperfüzyon, iskeminin neden olduğu hasarın daha da ilerlemesine neden olur (2 - 4). İskemi-reperfüzyonu hasarının biyokimyasal mekanizmalarının anlaşılması klinikte doku hasarını azaltacak yeni tedavi yol ve yöntemlerinin geliştirilmesi için çok önemlidir ve “Oksijen paradoksu” olarak da tanımlanır (5).

İskemi- reperfüzyonunun temel nedeni, reperfüzyon sırasında dokunun yetersiz ve gerekli oksijeni alamaması sonucu gelişen serbest oksijen radikallerinin (SOR) bulunmasıdır (6). Serbest oksijen radikali, vücudumuzdaki kimyasal olaylar ve bazı dış etkenlerden kaynaklı farklı yapıda oksijenin ortaya çıkması sonucu oluşur. Son yörüngesinde yedi elektron bulunan serbest oksijen radikalleri, kendi dengesini sağlamak için sekizinci oksijeni ararlar. Bu arayış sonucu oksidatif stres başta olmak üzere birçok hastalık meydana gelir. Serbest oksijen radikalleri hücre içi metabolizma faaliyetleri, radyasyon, hava kirliliği, güneşin ultraviyole ışınları, inflamasyon, alkol, sigara, stress ve kömür ateşine maruz kalmış yiyecekler sonucunda meydana gelir. Serbest oksijen radikalleri, reaktif oksijen türlerinin artışına bağlı olarak iskeminin oluşturduğu hücre hasarını da artırır (7).

Normal mesane fonksiyonu, kendi anatomik innervasyonunun, hücresel yapısının ve metabolizmasının bütünlüğüne bağlıdır (8). Daha önce yapılan çalışmalarda iskemi reperfüzyon hasarına bağlı üretilen serbest oksijen radikallerinin ve peroksinititin, düz kas,



mukoza, ve periferik sinirleri dahil bütün mesane bileşenlerini etkileyerek idrar kesesi fonksiyon bozukluğuna neden olduğu gösterilmiştir (9). Mesane iskemisi/reperfüzyon sırasında oksidatif stres üreterek mesanedeki sinirlerin kaybolmasına ve mesane duvarında dokuya zarar veren moleküllerin ortaya çıkmasına neden olur.

Geçmişten günümüze alternatif tıpta hastalıkların tedavisinde bitkiler kullanılmaktadır. Bu bitkilerden biri de çiriş otudur. Literatürde yapılan araştırma bulguları çiriş otunun idrar söktürücü özellikte olup aynı zamanda, karaciğer hastalıkları, çıban, sivilce gibi hastalıkların tedavisinde kullanıldığını bildirmektedir (10).

Daha önce çiriş otunun mesane iskemisi reperfüzyonunun biyokimyasal ve histopatolojik açıdan koruyucu etkisi ile ilgili bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu tez çalışması ile literatürdeki bu boşluğa bir çalışma eklemiştir bulunmaktayız. Çalışmada antioksidan savunma sisteminde etkileri olan enzimatik antioksidanlardan; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) enzimleri ve malondialdehit (MDA), protein biyomarkırları incelenmiştir.. Çalışma sonunda enzimatik antioksidanlarla ilgili verilerin istatistiksel analizleri spss 20 programında yapılmıştır. Yapılan bu çalışma sonraki çalışmalara ışık tutacaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1.İskemi**

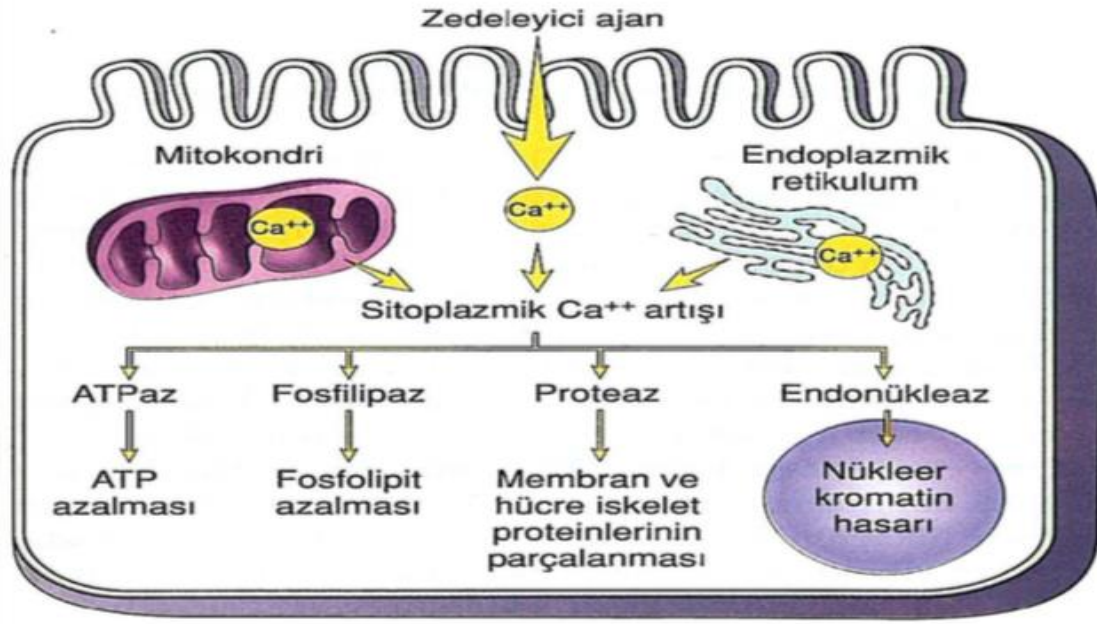
Vücuttaki herhangi bir doku ya da organa kan akışının kesilmesi veya azalmasına iskemisi denir. iskemisi esnasında beyne giden kan ve oksijen sağlayan kan damarlarından bir tanesi bloke olur. Tıkanıklığın nedeni, yağ birikmesi, hava kabarcığı parçacıkları ve kan pıhtısından olabilir. Kan akışında kesinti veya azalma olması durumunda organların işlevi engellenir (11, 12).

İskemide dokuya gelen kan akımının kesilmesi ve azalması durumunda hücresel oksidatif fosforilasyon ve buna bağlı olarak ATP, fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır (13). ATP azalması sonucunda hücre içinde birçok sistem etkilenir. Hücrede enerji depolarının azalması sonucunda hücre membranında bulunan Na K ATPaz pompasının aktivitesi azalır. Buna bağlı hücre içinde  $K^+$  azalırken,  $Na^+$  ve  $Ca^+$  birikmesi meydana gelir.

Suyun izoosmatik artışı ve solid materyalin artışıyla birlikte akut hücrel şişmeye neden olur (14, 15).

Hücrel membrandaki ATP miktarındaki azalma, anaerobik glikolizde artmayla ve glikojen depolarının boşalmasıyla sonuçlanır. Glikolizin hızlanması, fosfat türevlerinin hidrolizi ile laktik asit ve inorganik fosfatların birikmesine ve buna bağlı hücre içi pH düşmesi ve asidoz gerçekleşir. ATP ve pH seviyelerinin azalması, granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomların ayrılmasına ve polizomların monozomlara parçalanmasına ve protein sentezinde azalmaya neden olur (16). Bu aşamaya kadar hücrede gerçekleşen bozuklukların tümü tekrar oksijen verilmesi sonucu geri döner. Eğer buna rağmen iskemi devam ederse geri dönüşsüz zedelenme oluşur (16).

Geri dönüşsüz zedelenme yapı olarak lizozomlarda lizozomlarda şişme ve hücre zarında zedelenme görülür. Zedelenen hücre içine  $Ca^{+}$  girişi ile iskemik bölge yeniden kanlanır. Hücrenin ihtiyacı olan koenzimler, koruyucu metabolitler ve proteinler zarlardan sürekli kayba uğrar. Bunun sonucunda lizozomal enzimler sitoplama geçer ve lizozom zarları zedelenir. Bu enzimler sitoplazma ve çekirdek içi yapıların sindirilmesine neden olarak hücre ölümünü gerçekleştirir. Diğer hücreler tarafından fagosite edilen bu hücreler, biçimsiz görünümde ve fasfolipit ağırlıklıdır. Sonuçta aerobic mekanizma, iskemi ile oluşan hipoksiden etkilenerek ATP yapımını azaltır. ATP yapımının azalması hücre zarında zedelenmelere neden olarak  $Ca^{+}$  birikmesine yol açar. Hücre morfolosinden sorumlu  $Ca^{+}$  majör bileşen olarak bulunur (16) (şekil 1).



**Şekil 1:** Hücre zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları (16).

## 2.2.Reperfüzyon

İskemik dokunun yeniden kanlamasına reperfüzyon denir. İskemi sonrası kan dolaşımının yeniden sağlanması ilaçlarla veya mekanik müdahalelerle gerçekleşir. Translantasyon, iskemik serebrovasküler olay, miyokard enfarktüsü, şok / resüsitasyon ve turnpike uygulamaları sonucu klinik iskemik reperfüzyon hasarı görülür (17). İskemi sonrası kan akışımının tekrar başlamasıyla iskeminin oluşturduğu hasar artar ve dokularda daha fazla hasar meydana gelir (18). İskemi reperfüzyon hasarı, iskemik ve reperfüzyon periyotlarında oluşan zararlı etkilerin tümüdür (19).

İskemik- reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi ile ilgili dört faktör başta olmak üzere çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bu faktörler birbirleriyle ilişkileri karmaşık, humoral ve hücresele olaylar dizisidir. Bunlar:

- 1) Serbest oksijen radikalleri (SOR),
- 2) Polimorf nüveli lökositler (PMNL),
- 3) Kompleman sistemi,
- 4) Endotel hücreleri' dir (14).

İki mekanizma reperfüzyon hasarı oluşumunda etkilidir. Bu mekanizmalardan biri serbest oksijen radikallerinin açığa çıkması diğeri ise hidrolitik enzim olan fosfolipaz A2' nin iskemik dönemde kalsiyum etkisiyle aktifleşerek membranlardaki yağ asitlerini parçalamasıdır (20). Serbest oksijen radikalleri ve O<sup>2-</sup> radikalleri iskemik period süresince dokuda üretilerek reperfüzyon sırasında artmış mikrovasküler permeabilite, endotelial hasar ve doku ödemeine neden olmaktadır (21, 22). Aynı zamanda sitokinler ve adezyon moleküllerinin aktifleşmesi, enflamatuvar yanıtı başlatabilir.

Süperoksit , dolaşımın tekrar başlamasıyla fazla miktardaki nikotin amid nükleotid (NADH) oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu oluşur (23). Serbest oksijen radikallerinin önemli kaynağı olan oksidaz enzim sistemleri, nötrofillerin membranlarında bulunan nikotinamid adenine dinükleotid fosfat (NADPH)'ya bağlı oluşur (23).

Araşidonik asitten meydana gelen lökotrienler trombosit ve lökositlerin, süperoksit ise lökositlerin damar duvarına adezyonunu artırır (24, 25). İskemi reperfüzyon hasarında önemli yere sahip mikrovasküler disfonksiyona, enflamatuvar olaylarda salınan tümör nekrosis faktör alfa (TNF -  $\alpha$ ) neden olur. Permeabilitedeki artış proteinlerin interstisyuma ekstravaze olmasına neden olur ve bu durumun sonucunda ödem oluşur (26). Adezyon ve migrasyona sonucu şekil bozukluğu olan lökosit sayısında, iskemi reperfüzyon sonrasında çok büyük artışlar olduğu gözlemlenmiştir (17, 21, 22). Aynı zamanda fonksiyonel damar sayısında azalmada olduğu gösterilmiştir (27).

Hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve doku nekrozuna artan serbest oksijen radikalleri'nin başlattığı lipid peroksidasyonu ve protein hasarı neden olur (28). Serbest oksijen radikalleri hem PMNL' nin dokusa birikmesine neden olur hem de dokuya doğrudan zarar verir. Doku da katyonik proteinler, laktoferrin, kollajenaz, proteaz, elastaz, myeloperoksidaz (MPO) gibi enzimlerin birikmesi, dokuya gelip aktifleşen PMNL' lerden kaynaklanır. Bu enzimler daha fazla serbest oksijen radikali oluşmasını sağlarken aynı zamanda dokuda hasarı artırır (29).

### **2.3. İskemi Reperfüzyon Hasarına Neden Olan Mekanizmalar**

#### **2.3.1. Ksantin oksidaz yolu**

Postiskemik dönemde, iskemik dokudaki serbest radikallerin en önemli enzimi ksantin oksidaz enzimidir. Ksantin oksidaz enzimi “oksidaz” ve “dehidrojenaz” aktivitesine

sahip iki şekilde bulunur. Yapılan çalışmalarda iskemi sırasında ksantin dehidrojenaz enziminin kalsiyum aracılı proteaz katalizörlüğünde ksantin oksidaz enzimine dönüştüğü görülür. Karaciğer, dalak, böbrek ve karaciğerde bu süre 30 dakika, kardiyak hastalarda 8 dakika, intestinal dokuda 10 saniye sürer. Sürelerin farklı oluşu değişik dokuların iskemi-reperfüzyon hasarına neden farklı oranlarda cevap verdiğini de açıklar. Ksantin ve hipoksantin oksidasyonu serbest radikallerin oluşumuna neden olur (30 - 32).

### **2.3.2 Polimorf nüveli lökositlerin (PMNL) aktivasyonu**

İskemi ve özellikle reperfüzyon sırasında venül endoteline, artan bir nötrofil adhezyonu oluşur (30).

Polimorf nüveli lökositlerin fazlaca serbest oksijen radikalleri (SOR) üretme potansiyeli de bulunur. PMNL' in iskemi reperfüzyon hasarındaki aktivasyonuna ilişkin çeşitli mekanizmalar ortaya konulmuştur (33).

Bu mekanizmalar (33);

- Mikrovasküler oklüzyon
- Vasküler oklüzyon
- Sitotoksik enzim salınması
- Sitokin salınmasında artış
- SOR salınımı

PMNL' in aktivasyonu ve göçleri, lökositlerde ve endotel hücrelerinde bulunan adhezyon moleküllerince gerçekleşir. Selektin olarak da ifade edilen adhezyon molekülünün, L, P, E selektin olmak üzere üç bileşeni bulunur. Endotel hücrelerinde P - selektin salınımındaki artış, iskemi reperfüzyon hasarı sonucu oluşur. Adhezyon molekülü, PMNL' deki, P - selektin glikoprotein - 1 reseptörü ile etkileşime girerek lökosit endotel bağlantısı yapar. Lökosit adhezyonu ve agregasyonu, lökosit  $\beta$ 2 integrinler ile endoteldeki intraselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM 1) arasındaki etkileşim sonucunda meydana gelir. Sonrasında, trombosit - endotel hücresi adhezyon molekülü 1 (PEGAM 1) ile endotel bağlantıları arasındaki etkileşim sonucu lökosit transmigrasyonu oluşur. Aktifleşen lökositler damar dışına çıktığı zaman hasarlı bölgeye doğru migrasyon etmeye başlarlar ve bu olaya kemotaksis denir (34).

Aktivasyon gerçekleştiren lökositler salıverdikleri maddelerle etkiledikleri hasarla birlikte, damarda oluşturdukları agregatlar ve aktif trombositlerle damar endoteline bağlanarak mikrovasküler tıkanmalarına sebep olurlar (35).

Dokuda aktif olan lökositlerin başlattıkları mekanizlara Serbest radikal üretimi, degranülasyonu takiben lizozomal enzimlerinin salınması ve araşidonik asit metabolitlerinin oluşumu sonucu fosfolipaz A2'nin aktifleşmesi şeklinde bir cevap verilmektedir (36).

### **2.3.3. Endotelial faktörler**

Endotel hücrelerinin iskemi reperfüzyon hasarında önemli görevleri vardır. Oksidatif stres endotel hücrelerinde aktivasyon ve hücreyel işlevlerin aktflığını kabybetmesine neden olmaktadır. Endotel hücreleri, hem SOR üretim kaynağı hem de SOR hedefi olmaktadır (35).

#### **2.3.3.1. Araşidonik asit metabolitleri**

##### **a) Prostatiklin (PGI<sub>2</sub>)**

Endotel hücrelerinden serbest bırakılan ilk vazoaktif madde olan PGI<sub>2</sub> endotelial, trombosit agregasyonunu önleyen oldukça güçlü bir vazodilatördür (35).

##### **b) Tromboksan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>)**

Tromboksan, siklooksijenaz aracılığıyla araşidonik asitten oluşur. Tromboksan, trombositleri agrege eder ve vazokonstrüktör etkilidir. İskemi reperfüzyon hasarında damar endotelinde nötrofil adhezyonunu önemli miktarda artıran güçlü bir kemotaktik maddedir (35).

##### **c) Lökotrien B<sub>4</sub> (LB<sub>4</sub>)**

Lipooksijenaz yoluyla oluşan lökotrienler, endothelial disfonksiyonda önemli görevi olan araşidonik asit metabolitleridir. Nötrofil yüzeyindeki spesifik reseptörlerle bağlanan lökotrien, adhezyon moleküllerinin aktivasyonuna, endotelial hücreesine yapışmaya, serbest oksijen radikallerinin ve proteazların üretimine sebep olmaktadır (35). 3 saatlik iskemik periyodu, mukozal lökotrien seviyelerini değiştirmezken, reperfüzyonun takibinde izlediği aynı süreli iskemi, mukozal lökotrien seviyelerinde % 200 - 600 oranında artışa neden olur (35).

### 2.3.3.2. Nitrik Oksit (NO)

Endotel türevli ve serbest radikal olarak da bilinen NO (Nitrik oksit), asetil kolin uyarısı, endotoksin, hipoksi, hücrel zedelenme veya mekanik kesilme stresine karşı tepki olarak dolaşıma salınır. Yarı ömrü bir kaç saniye olan nitrik oksit difüze olabilen bir maddedir. Nitrik oksit kendiliğinden nitrat ve nitrite ayrışma özelliğine de sahiptir. Septik şok ve travmada, nitrit ve nitrat metabolitleri ile ölçülebilen NO düzeylerinin fazla olmasının, düşük sistemik vasküler direnç ve yükselmiş endotoksin düzeyleri ile ilgili olduğu ispatlanmıştır (38). Hücrel hasarla birlikte fazla miktarda NO parakrin ve otokrin fonksiyonlarının bozulmasına, bölgesel kan akımında dağılım bozukluğuna, barsak motilitesinde azalmaya ve permeabilitesinde artışa neden olur (39).

### 2.3.3.3. Endotelin

Mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan Endotelin ve NO endotelde üretilir. NO, arterlerde endotelin vazokonstrüktör etkisini dengeleyici olarak gösterirken, vasodilatör görevde venlerde ise tam tersi vazokonstrüktör etkindir. İskemi reperfüzyon hasarında endotelin ve nitrik oksit dengesi endotelin lehine bozulur ve sonuçta arterlerde vazokonstrüksiyon, venlerde ise vazodilatasyon oluşur (40).

### 2.3.4. Trombosit aktive edici faktör (PAF)

Endotel hücreleri tarafından fosfolipaz A2' nin etkisiyle membran fosfolipitlerinden üretilir. Pek çok inflamatuvar reaksiyonda (Akut pankreatit, Glomeruler hasar, İnflamatuvar barsak hastalığı, ARDS vs.) etkili bir substrattır (33, 35, 41). PAF, trombositlerin agregasyonuna, şekil değişikliğine ve granül içeriğinin salınmasına neden olan güçlü bir ajandır. Ayrıca PAF aktivatör bir maddedir, güçlü bir nötrofil kemoatraktan ve TNF -  $\alpha$  (tümör faktörü -  $\alpha$ ) üretiminde önemli görevi vardır. Dokuların refüzyonu sonrasında lökositlerin etkin olmasına, adhezyon moleküllerinde ve vasküler permeabilitede artışa neden olur. PAF' ın *in vitro* ve *in vivo* ortamda lökositlerin mikrovasküler endotele adhezyonunu artırdığını bir çok çalışma göstermiştir (33, 38, 42). Yapılan çalışmalar PAF' ın reperfüzyon sonrasında oluşan kemotaksis düzenleyicilerden biri olduğu düşündürmektedir (33, 38, 42).

### **2.3.5. Komplemanlar**

İskemi reperfüzyon hasarıyla kompleman sistemi arasındaki bağlantının ispatlanmasına rağmen iskemi reperfüzyon hasarı mevcut iken kompleman sisteminin etkin olduğu bilinmemektedir. Kompleman sistemin aktifleşmesi sonrasında C3a, C5a gibi proinflatuar madde olan anaflatoksinler oluşur. C3a ve C5a molekülleri lökositleri aktive eder ve kemotaksisi uyarır. C5a' nın yanında interlökin - 1 (IL - 1), interlökin - 6 (IL - 6), TNF -  $\alpha$  üretimini artırarak inflamatuar yanıtını daha güçlü hale getirir (43).

### **2.3.6. Sitokinler**

Reperfüzyon hasarından sonra dolaşımında IL - 1, IL - 6 ve Tümör Nekrozis Faktör -  $\alpha$  (TNF -  $\alpha$ ) gibi sitokinler görülür. Bu ajanlara karşı antagonistlerden yararlanılarak, hem TNF -  $\alpha$  hem de IL - 1' in vasküler yaralanmaya neden oldukları ve endotel adhezyon moleküllerinde fazlalığa neden oldukları görülmüştür (35, 38). Sitokin salınımı, iskemi reperfüzyonda bilinmesine rağmen sitokinlerin permeabilite üzerine etkilerinin, hücre adhezyon molekülleri ekspresyonu ve nötrofil adhezyon aktivasyonu yoluyla mı yoksa direk mi olduğu halen bilinmemektedir (44).

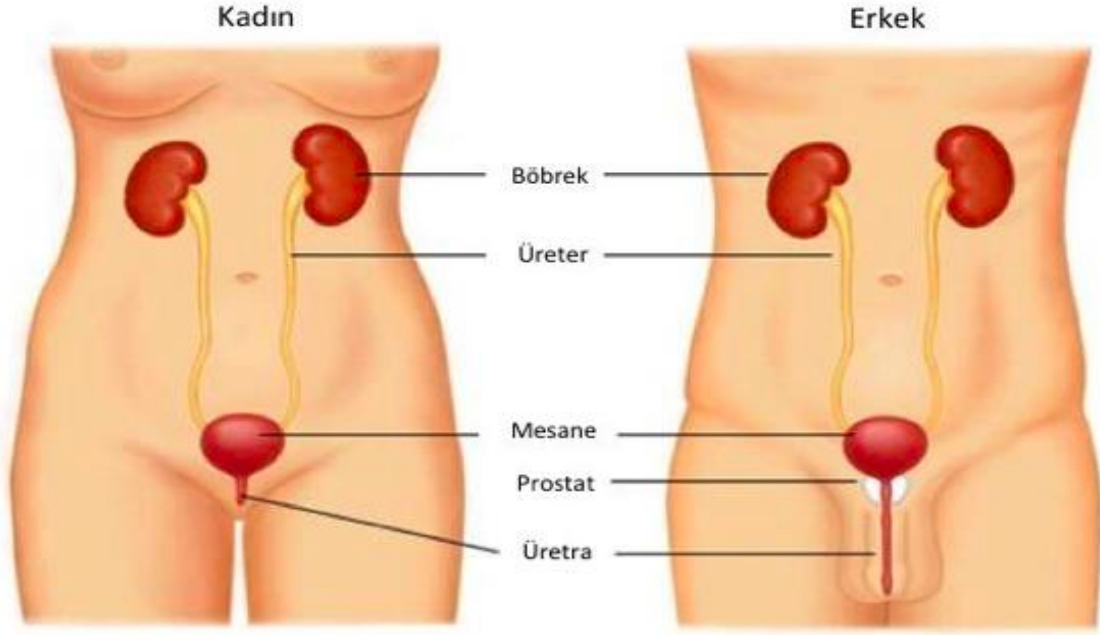
### **2.3.7. Prostoglandinler**

İskemi reperfüzyon hasarını önemli derecede azaltan prostoglandinler, iskemik hasarın geri dönüşsüz faza ilerlemesinin önüne geçer.

## **2.4. Mesane**

Mesane, böbreğin süzdüğü idrarı toplamaya yarayan kas ve zarlardan (muskulo-membranöz) oluşan bir depodur. Erişkin bir erkekte ortalama 300 cc hacimli bir mesanede yaklaşık 150 - 200 cc idrar toplandığı durumlarda mesane duvarının gerilmesine bağlı olarak miksiyon (idrar yapma) hissi başlar. Mesane, gerektiğinde yaklaşık 500 cc hacime kadar ulaşabilen genişleme kapasitesine sahiptir . Dolduğunda, düz kaslar kasılıp gevşeyerek idrarı dışarı atar. Mesane küçük pelviste *symphysis pubica'* nın arkasında yer alır. Ancak çok dolduğunda üst bölümü karın boşluğuna girer. Erkeklerde mesane, rektumun önünde ve prostatın üzerinde yer alırken kadınlarda uterus ve vagina' nın önünde yer alır. Mesane morfolojik olarak tepesi (apex vesicae) önde ve biraz yukarıda, tabanı (fundus vesicae) arkada ve aşağıda yerleşmiş bir üçgen piramit şeklini andırmaktadır (45).

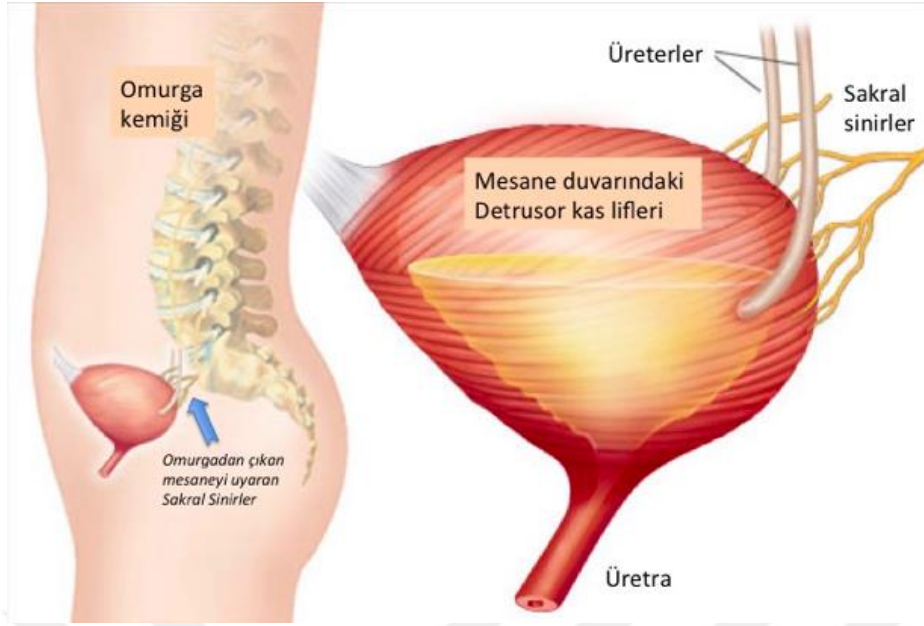




**Şekil 2:** Kadında ve erkekte mesane (1).

Mesanenin iç yüzeyi Ürotelyum isimli mukoza tabakası ile tamamen kaplıdır (1). Ürotelyumunaltında “Lamina Propria” tabakası ve bunun altında da yüzeysel, derin bir kas tabakası bulunur (1).

Ağ gibi olan kas liflerinin birbirine geçmesinden dolayı küresel yapıda olan mesane gevşeyerek idrar depolama kapasitesini artırırken, kasıldığında da yüksek basınç oluşturarak idrar atımını sağlayan organımızdır (1). Mesanenin kapasitesini arttıran kas gevşemesi ve idrar atımına neden olan kas kasılmaları, omurga kemiğinin kuyruk sokumu bölgesinden çıkan Sakral sinirler aracılığıyla sağlanır (1).



**Şekil 3.** Mesane kas yapısı omurganın kuyruk sokumu bölgesinden çıkan sakral sinirlerin uyarması sonucu kasılır veya gevşer (1).

Mesane üriner enfeksiyonlar, intersitisiyel sistit (i. s), aşırı aktif (hiperaktif) mesane, mesane kanseri gibi durumlarla karşılaşılabilir. Üriner enfeksiyonlar; deride, bağırsaklarda, anüs ve vajen bölgesinde bulanabilen bakterilerin üriner sisteme geçerek, üretradan yukarı doğru ilerleyip mesaneye ulaşması sonucu oluşur. İntersitisiyel sistit, herhangi bir bakteri enfeksiyonu olmayıp, sebebi bilinmemektedir. İntersitisiyel sistitli bir çok kişiye fiziksel bir problemlerinin olmadığı, problemlerinin psikolojik olduğu söylenir. Overaktif (hiperaktif) mesane durumunda, istem dışı kasılmaları olan kişilerin idrar kaçırma ve acilen tuvalete gitme gereksinimlerinin olduğu görülür. Mesane kanserinde ise mesane duvarını örten mukoza başlangıçta küçük bir tümöral büyüme gösterir. Bu evrede tümör yüzeysel olup tedavisi kolaydır. Ancak kanser, mukoza dokusunu aşmış mesane adelesi içine girip mesane duvarı dışına taşmışsa (bu durum mesane duvar tutulumu olarak tabir edilir) tedavi çok daha zor olur ve tam iyileşme mümkün olmayabilir (46).

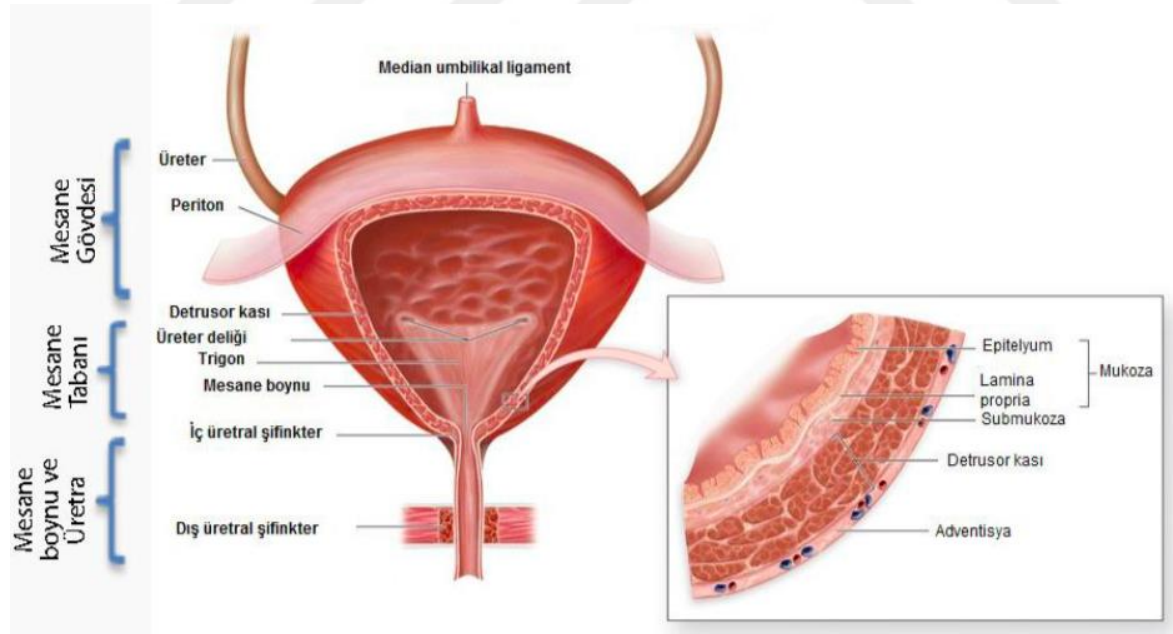
#### **2.4.1. Mesane anatomisi**

Mesane, pelvis boşluğunun tabanında, *symphysis pubica'* nın arkasına yerleşmiş boşlukta yer alır (47, 58). Erişkinlerde mesane boş durumda tamamı pelviste bulunurken, dolu durumda üst duvarı proksimal yönde yükselir (54). Mesane, dişilerde ve erkeklerde önde

*symphysis pubica* ile arkada ise dişilerde uterus, erkeklerde rektum ile komşudur (48, 50) Erkeklerde plika genitalisinin alt kısmına konuşlanan mesane dişilerde uterus alt kısmında yer alır (48). Mesane, depoladığı idrar miktarına göre şekli, pozisyonu ve komşuları değişiklik gösteren muskulomemranöz bir organdır (50). Mesane; apek vezika, korpus vezika, serviks vezika isimli üç bölümden oluşmaktadır.

Mesanein apeks vezika diğer adıyla vertex vezika isimli kısmı, abdominal boşluğa bakan bölümdür (52). Mesanein korpus vezika bölümü, gövde kısmıdır ve bu bölümün üst kısmına böbrekten idrarı getiren üreterler açılmaktadır. Korpus vezika, mesanein asıl bölümüdür ve idrar burada depolanmaktadır (48). Üç kas katmanından oluşur; dışta detrusor kası, içte longitudinal kas, ortada ise sirküler kas bulunmaktadır (55). Sirküler kas katmanı, mesanein internal sfinkterini oluşturmaktadır. İnternal sfinkter, ostium üretra intemum' un açılıp kapanmasına neden olur (52).

Mesanein boyun bölümü ise serviks vezikadır. Serviks vezikanın gerisinde üretra intemum ile üretra başlangıcı bulunur. Ligamentlerle tespit edilmesi sonucu, mesanein hareket etmeyen bölümü burasıdır. Erkeklerde serviks vezika ile prostat bezi komşudur (52).



**Şekil 4:** Mesanein anatomik ve histopatolojik yapısı (54).

Mesanein iki yüzü vardır; fasies dorsalis ve fasies ventralisdir. Dişilerde uterusu

bakan fasies dorsalis erkeklerde ise plika genitalise bakmaktadır. Mesanenin os pubise bakan yüzü de Fasies ventralisdir (48).

Pelviste etrafı fibröz yağ dokusu ile çevrili mesane, kısmen serbest pozisyonda bulunmaktadır. Mesane kısmi serbestliğinden dolayı, idrar ile dolduğunda genişleyebilme özelliğindedir. Mesanenin hacmi cinsler arasında farklılık göstermektedir. İnsanda mesanenin hacmi ortalama 500 ml, fareler 0,15 ml hacime sahipken ratlarda bu değer 1 ml' ye kadar yükselmektedir (53).

Mesaneyi besleyen atardamarlar (arterler) vezikalis kranialis ve a. vezikalis kaudalis' dir. A. vezikalis kranialis, a. umbilikalıs kökenlidir. A. vezikalıs kaudalis de a. pudenda interna'dan orjinlenmiştir. A. vezikalıs, dişilerde a. vaginalısın, erkeklerde ise a. prostatika'nın dalıdır. V. vezikalıs kranialis ve v. vezikalıs kaudalis ise mesanenin venleridir. Venler (toplardamarlar) dişilerde v. vaginalıs' e, erkeklerde ise v. prostatika' ya açılır (58).

#### **2.4.2. Mesanenin histolojisi**

Mesanenin, üreter ve renal pelvis dokularının epitel, kas ve serozal katmanları birbirlerine benzeyen yapıdadır (54). Mesane dokusu içten dışa doğru; tunika mukoza, tunika submukoza, tunika muskularıs (detrusor) ve tunika seroza tabakaları olmak üzere 4 katmandan oluşur (47 - 51, 53, 55, 56). Mesane boşken kıvrımlı bir yapıdayken, dolu olduğunda kıvrım yapısı kaybolarak mukoza tabakası düz bir hal alır (49).

Mesanenin serozal katmanı yağ, sinir ve damar dallarını içeren elastin lif ve kollajen demetler bulunduran bağ dokudan oluşur. Mesanenin alt ve arka kısmı hariç diğer tüm bölümlerini pelvik peritonun bir bölümü olan tunika seroza kaplar (54).

İyi gelişmiş yapıda olan tunika muskularıs tabakası, içte ve dışta longitudinal, ortada sirküler düz kaslardan oluşan birbirinden ayırt edilmesi zor bir yapıdadır. Longitudinal seyirli kas lifleri, üreterlerin mesaneye giriş yaptığı bölümde bulunur. İnsan detrusör kasında birçok farklı büyüklükteki kas demetleri kollojenden zengin bağ dokusu ile çevrenmiştir (53). Tipik düz kas hücreleri olan detrusör düz kası hücreleri, diğer organların düz kaslarına benzer şekildedir. Detrusör kasının merkezinde bir çekirdek ve iğ şeklinde uzun hücreler bulunmaktadır. Kas gevşediğinde, uzunluğu birkaç yüz mikron ve genişliği ise 5- 6 mikron boyutlarındadır. Muskular katmanın kalınlığı mesanenin dolu veya boş olmasına, yaşa ve bireye göre değişiklikler göstermektedir (56). Mesanenin düz kas hücrelerinde mitokondri ve

az miktarda sarkoplazmik retikulum bulunur (57).

Mukoza katmanı çok katlı, yenilenen epitel hücrelerden oluşmuş mesane, gevşek bir submukozal katman ile çevrilidir. Tunika mukoza, lamina propria ve lamina epitelialis (ürothelium) katmanlarından oluşmaktadır. Epitel tabakası çok katlı yenilenebilen yapıdadır. Epitelde üç tip hücre bulunur; yüzeysel, bazal ve intermediyer hücredir. Epiteli 6 - 8 hücre katından oluşan mesane şekli, epitelin kalınlığı, organın dolu ya da boş olmasına, yani duvarın gerginlik durumuna göre değişiklik göstermektedir. Mesane boş olduğu durumda epitel tabakası kalındır. Epitelin alt kısmında yer alan lamina propria ise kalın kollagen ve elastik liflerden oluşan bağ doku tabakasıdır. Lamina propria tabakasının iç kısmında küçük lenf follikülleri bulunabilir (58, 59).

Ekstrasellüler bileşik olarak başlıca kollajen fibriller ve elastik fiberler mesane dokusunda bulunmaktadır (60). Kollojen fibriller kollojen tip 1 ve tip 3' ten oluşurken, elastin fiberler tropoelastinden oluşmatadır (61).

### **2.4.3. Mesanenin fizyolojisi**

Mesane, muskulomembranöz bir yapıya sahiptir. Asıl görevi, gün içinde sürekli olarak böbrekler tarafından oluşturulan idrarın, depolanması ve belirli aralıklarla dışarı atılmasını sağlamaktır (63). Bu olay, sinirsel kontrol sistemleri ve üriner kanalın anatomik bölümleri arasında karmaşık mekanizmalar sonucunda gerçekleşmektedir (53). Mesane dokusunun büyümesi için ilk faktör mesane duvarı bileşenlerinin gerilmesidir. Büyüme cevabının yönetimi hücresel sinyallerce yapılmasına rağmen, tam olarak ayırt edici değildir. Mesane dokusunun büyümesine yardımcı çeşitli reseptörler, sinyal yolları ve büyüme faktörleri; insülin benzeri büyüme faktörü I (IGF - I), epidermal büyüme faktörü (EGF), heparin bağlayıcı EGF - benzeri büyüme faktörü (HB - EGF) , angiotensin II reseptörleri, temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve  $Ca^{+2}$  işlenmesinin değişimi gibidir (62, 64 - 66, 77).

Mesane duvarında, dolma ve boşalma fazları sırasında bazı değişiklikler görülmektedir. Mesane kasının uzunluğunun, kasın aktif gücünde önemli görevi bulunmaktadır. Bu nedenden dolayı mesane düz kasının gücü büyük ölçüde mesane duvarının gerimiyle ilgilidir (68).

İdrar hacmindeki artış ya da mesane gerimindeki artışın bir sonucu olarak mesane

büyümesinin gerçekleşmesi; herediter diabetes insipidus (68), farmakolojik olarak diabet indüklenmesi (69 - 72) osmotik diüresis (73), mesaneye parafin bolus uygulaması (50) ve preganglionik denervasyon veya pelvik ganglionun ayrılması (74) gibi hayvan modeli çalışmalarıyla belirlenmiştir.

Mesane düz kas kasılmalarındaki aktin ve myosin proteinleri arasındaki bağlantı, diğer düz kaslardaki aktin myosin bağlantıları gibi olmaktadır (61). Düz kastaki aktin konsantrasyonu, iskelet kasındaki aktin konsantrasyonunun hemen hemen aynısıdır. Fare ve rat mesane düz kas hücrelerinde aktin konsantrasyonunun, neredeyse 40 mg / g olduğu saptanmıştır (75).

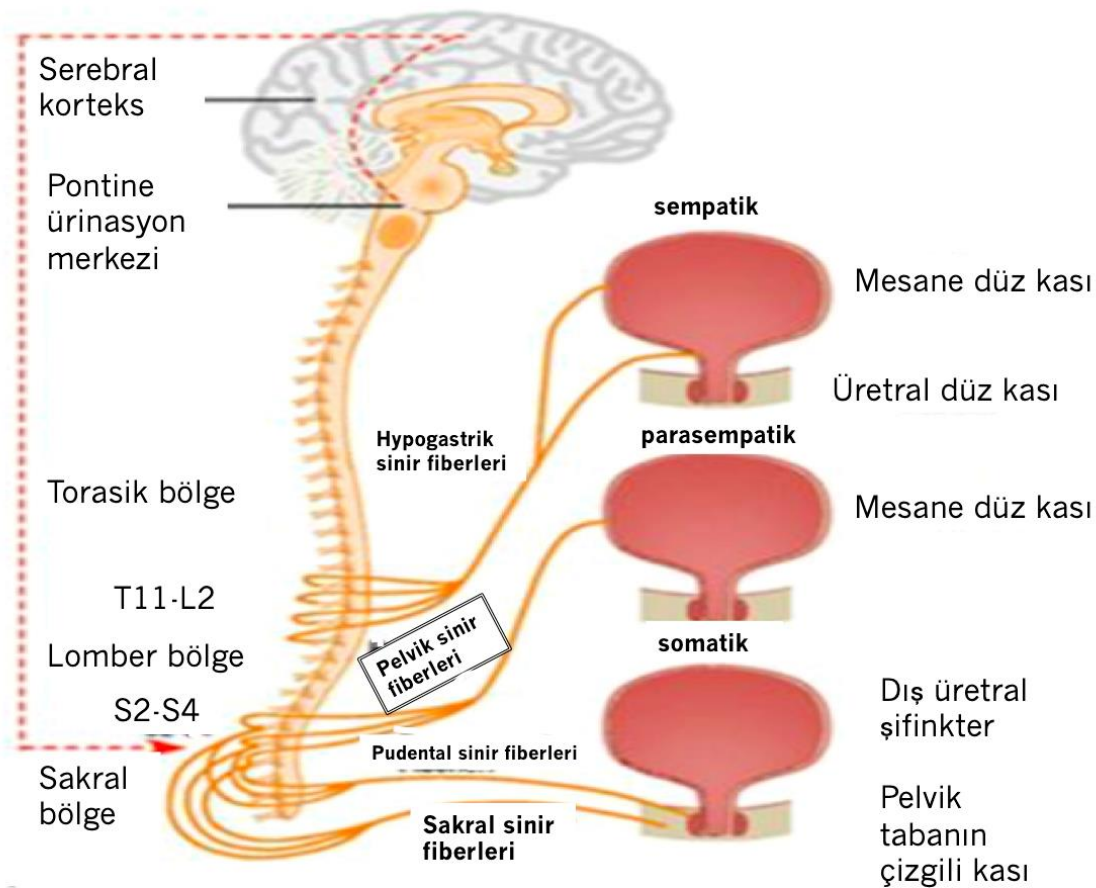
Mesane idrar miktarındaki artış kese içindeki basıncın artmasına neden olur. Artan basınç afferent sinirlerince algılanarak merkezi sinir sistemine ulaştırılır. Son araştırmalara göre ürotelyumun bu süreçte çok önemli bir görevinin olduğu belirtilir (76).

Sarkoplasmik retikulumdan  $Ca^{+2}$  un serbest bırakılması sonucu detrusör kasının aktivasyonu için önemli bir adımdır. Bu durum sarkoplasmik retikulum fonksiyon blokörleri kullanılması sonucu belirlenmiştir (77).  $Ca^{+2}$  un serbest bırakılması,  $Ca^{+2}$  aracılı ryanodin reseptörleri ve IP3 reseptörlerince başlatılır (78).

Yapılan çalışmalarla, mesanede kasılmaların yaş ile ilgisi ortaya konmuştur. NE ve isoproterenol gibi  $\beta$  - adrenerjik reseptör agonistlerince uyarılan relaksasyonun erişkinlere göre juvenillerde daha fazla olduğu belirtilmiştir (79). Bir tavşan çalışmasında isoproterenol tarafından uyarılan gevşemenin, mesanenin trigon bölgesinde erkeklere göre dişilerde daha fazla olduğu, fakat detrusör kasında farklılık olmadığı gösterilmiştir. Dişilerde daha zayıf bir gevşemeye adenil siklaz stimulatorü forskolinin neden olduğu ifade edilmiştir (80).

Mesane ve üretral sfinkter sempatik, parasempatik ve somatik sinirlerin birleşmesiyle innerve edilir. Ürinyasyonun denetlemesi spinal kord, beyin sistemi ve yüksek merkezlerin uyumu ile meydana gelir. Mesaneden uzanan afferent sinyaller, beynin pontin bölgesinde depolama ve ürinyasyon merkezinde işlenir (81). Bu periferel sinirler oluşan bilgiyi spinal kord ve organlar arasında çift yönlü ulaştırırlar (82). Alt üriner kanaldan ulaştırılan sinirler afferent sinir lifleri hypogastrik, pelvik ve pudental sinirlerdir (Şekil 5). Mesanenin sempatik sinirleri T10 - L2 kökenli N. Hypogastrikus aracılığıyla sağlanır. N. Hypogastrikus, mesanenin dolun aşamasında mesane kasının gevşemesine internal sfinkterin de kasılmasına neden olur. Mesanenin parasempatik sinirleri de S2 - S4 kökenli N. Pelvikus aracılığıyla

olmaktadır. N. Pelvikus, mesane kasının kasılmasına internal sfinkterin gevşemesini sağlayarak mesanenin boşaltılmasına neden olur. Mesanenin somatik siniri de N. Pudendalis'tir. N. Pudendalis S<sub>2</sub> - S<sub>4</sub>' ten kökenlidir. Mesanenin dış sfinkterinin denetlemesini yapmaktadır. İnsan ve hayvanlarda afferent sinirler detrüör kasında ve subütölyumda saptanmıştır (82).



Şekil 5: Mesanenin sinirsel kontrolü (84).

#### 2.4.4. Mesanenin reseptörleri

Mesane duvarında farklı tipte reseptör görevinde yapılar bulunur. Mesane kontraktilesinde, norepinefrin (NE) ve ACh' nin dışında, ATP (85), proteaz (86), taşıkinin (87), endothelin (88), serotonin (89) ve bradikinin (90) gibi agonistler görev alır. Mesane fonksiyonlarının gerçekleşebilmesinde etkili olan reseptör görevindeki yapılar:

1. Adrenerjik reseptörler
  - a. Alfa ( $\alpha$ ) adrenerjik reseptörler
  - b. Beta ( $\beta$ ) adrenerjik reseptörler

2. Kolinerjik reseptörler
3. Kalsiyum kanalları
4. Vanilloid reseptörler
5. Dopamine reseptörleri
6. Serotonin reseptörleri
7. Histamin reseptörleri
8. Purinerjik reseptörler' dir.

#### **2.4.5. Mesanenin fonksiyon bozuklukları**

Mesane ile ilgili rahatsızlıklara günümüzde çok sık rastlanmaktadır. Depolama fonksiyon bozuklukları, idrarını tutamama, aşırı aktif mesane (OAB), obstruktif mesane ve mesane anotonisi gibi alt üriner kanal semptomlarıyla sonuçlanırlar (91).

##### **2.4.5.1. Üriner inkontinans**

Üriner inkontinans istem dışı idarar kaçırma durumudur. Bu rahatsızlık sonucu, hastanın yaşam kalitesini bozulur, sosyal yaşamını kısıtlanır ve psikolojik sorunlarla karşı karşıya kalabilir. Üriner inkontinans rahatsızlıkları kadınlarda daha fazla görülürken erkeklerde sık rastlanmaz. Dünya' nın gelişmiş ülkelerinde 50 milyondan fazla insanın üriner inkontinans sendromu yaşadığı ifade edilmektedir (92). Bu hastaların % 30 - 60' ının 65 yaş üstü yaşlı olduğu bilinmektedir. Üretral çıkışın zayıflığı veya anatomik bir defektin sonucu olarak idrar depolama problemleri oluşması mümkündür. Üriner inkontinans hem miyojenik hem de nörolojik bozuklukların sonucunda meydana gelen bir patolojidir (93).  $\alpha$ - AR antagonistleri kullanan kişiler sfinkter kaynaklı inkontinansa karşı dirençleri düşer. Aynı zamanda hipertansiyon ve koroner damar rahatsızlıkları için kullanılan  $Ca^{2+}$  kanal blokörleri üriner inkontinans oluşumuna neden olabilir (94). Üriner inkontinansın tedavisinde mesane eğitimi ve pelvik taban egzersizi gibi konserve tedavileriyle birlikte antimuskarinikler ve  $Ca^{2+}$  kanal blokörleri gibi farmakolojik ajanlarla medikal tedavi de uygulanabilir.



#### 2.4.5.2. Aşırı aktif mesane (over active bladder - OAB)

Aşırı aktif mesane; mesane gövdesi veya çıkışında afferent sinir terminallerinin duyarlılığında artış olması ve multiple sklerozis, serebro vasküler hastalıklar, parkinson, beyin tümörleri ve spinal kord yaralanmaları gibi nörolojik bozukluklarda merkezi sinir sisteminin inhibe edici yollarında oluşan patolojiler sonucunda meydana gelen vakadır (95). Nörolojik rahatsızlıklarla alakası olmasa da aşırı aktif mesanelerde muskarinik reseptör sayısının azaldığı farkedilir. Ancak bu iki durum arasındaki ilişki henüz bulunamamıştır (96). Yaşlanma sonucu detrusör kontraktilitesi ve mesane kapasitesinde bir azalma meydana gelmektedir. Ürinyasyon sonrası rezidüel, detrusör kasında ürinyasyon harici kontraksiyon sayısının arttığı görülmektedir. Bu durum, yaşlı insanlarda OAB ve idrar tutamama yoğunluğunun artması ile bağdaşmaktadır (97, 98).  $\beta_2$  agonisti terbutalinin detrusörün aşırı aktivitesini inhibe ettiği ifade edilmektedir (99). Sağlıklı ve overaktif mesaneli insanların mesanelerinde  $\beta$  - AR yoğunluğunda farklılık göstermediği reseptör bağ çalışmaları ile kanıtlanmıştır (96). OAB' li hayvanlarda  $\beta_3$  agonistlerinin mesane düz kası üzerine gevşetici etkisi farklı çalışmalarla ortaya konulmuştur (100). OAB olgularında muskarinik reseptörlerin fonksiyonlarında değişiklikler olduğu gösterilmektedir (53). Muskarinik reseptör antagonistleri, OAB tedavisinde kullanılan başlıca farmakolojik ajanlardan birisidir (52).

#### 2.4.5.3. Obstrüktif mesane

Obstrüktif mesane olgularında  $\beta$  - AR' lerin azaldığı farkedilmektedir (100- 102). Çıkış obstrüksiyonlu 7 - 12 köpek mesane kasılmalarında artış görüldüğü, bunun  $\beta$  - AR' lerin fonksiyonlarının azalması,  $\alpha$  - AR' lerin fonksiyonlarının ise artması sonucu gerçekleştiği ifade edilmektedir (100). Perlberg ve Caine mesane çıkışı daralması olan hastalarda norepinefrinin, mesane şeritlerinde gevşemenin aksine kasılma olduğu fark edilmiştir (103). Smith ve Chapple obstrüktif mesanenin overaktivitesinde,  $\alpha$ - AR' lerin fonksiyonunda herhangi bir artış gözlemlenmediğini ifade etmişlerdir (104). Kontrol grubu hayvanlarında  $\alpha_1$  - AR alt tiplerinin mRNA' larının yoğunluğu;  $\alpha_1A$  % 70,  $\alpha_1D$  % 25 ve  $\alpha_1B$  % 5 iken, obstrüktif hayvanlarda  $\alpha_1A$  % 23,  $\alpha_1D$  % 75 ve  $\alpha_1B$  % 2 şeklinde gözlemlenmektedir. Mesane gövdesi, boynu ve tabanında,  $\alpha_1$ - AR' lerin mRNA' larındaki bu değişimler paralel şekilde gerçekleşmektedir (105).

#### 2.4.5.4. Mesane atonisi

Genel olarak yaşı insanlarda görülen mesane anotonisi bir mesane patolojisidir. Mesane atonisi vakalarında, mesane düz kas hücreleri azalmakta, akson dejenerasyonu ve kollojen birikiminden dolayı interstisyel boşluklarda genişleme oluşur (106). Kabızlık, anestezi, pelvik bölgenin cerrahisi ve kemik kırıkları, sakral nöropatiler ve diyabetis mellitus da mesane atonisi oluşumunda etkin diğer sebeplerdendir (107).

Yapılan çalışmalarda, dişi köpekler kısırlaştırılarak mesane düz kas kontraktilitesinin azaldığı ve düz kas fiberlerinin azalması ile kollojen miktarının arttığı gözlemlenmiştir. Bu yapısal değişikliklerin, muskarinik reseptörlerin efektöryolağını ve nörotransmisyonunu değiştirebildiği ifade edilmiştir (108).

#### 2.4.6. Mesanede iskemi - reperfüzyon hasarı

Mesane, düşük basınçlarda idrar toplamak, depolamak ve sonra idrarı düzenli olarak koordine edilen sürekli kasılmalarla atan düz kas organıdır (53, 109). Mesane fonksiyonu, inervasyon durumu, bir bütün olarak organın yapısı, düz kas elemanlarının otonomik stimülasyona kontraktıl cevabı ve metabolik enerji kaynaklarının varlığı (sitosolik ATP ve mitokondriyal oksidatif metabolitler) gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (110). Bu faktörler, mesane fonksiyonundaki değişikliklerle yakından ilişkilidir ve diğer organlarda da önemli adaptif değişiklikler meydana getirebilirler (110).

İdrar kesesinde kısmi çıkış tıkanması en sık görülen problemdir (110). 50 yaşından büyük erkeklerin % 80' inden fazlası iyi huylu prostat hiperplazisine bağlı ikincil derecede mesane çıkışı tıkanması durumuyla karşılaşılır (111, 112). Yapılan son çalışmalar iskemi iyi huylu prostat hiperplazisine bağlı mesane disfonksiyonunda ve mesane çıkış tıkanlığında önemli bir etiyolojik faktör olduğunu göstermiştir (110). Deneysel olarak mesane iskeminin mesane fonksiyonunda, yapısında uyumsuzluğa ve hiperrefleksi' ye neden olan önemli değişiklikler olduğu gösterilmiştir (113 - 115).

İskeminin neden olduğu hücresele ve moleküler değişikliklerin mesane de aşırı gerilme ve kısmi çıkış tıkanıklığı ile uyarılanlara benzer olduğu gösterilmiştir (116, 117). İskemi kaynaklı mesane fibrozisi ve düz kas hacmindeki azalma, mesane fonksiyon bozukluğunun gelişmesine neden olur (110).

Çıkış tıkanıklığının mesane morfolojisi, fizyolojisi, biyokimyası ve farmolojisi üzerindeki etkilerini anlamak için farklı türler kullanılarak birçok obstrüksiyon hayvan modeli geliştirilmiştir (118). Kendi çalışmamızda da gruplara ayırdığımız ratlar üzerinde mesane iskemi reperfüzyon oluşturarak mesanenin oksidatif strese karşı korunmasında çiriş otunun etkili bir antioksidan olabileceğini gösterdik.

## **2.5. Oksidatif Stres**

Organizmada serbest radikallerin oluşma hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızının dengede olması durumuna "oksidatif denge" denir. Oksidatif denge olduğu sürece organizma, serbest radikallerle herhangi bir etkileşime girmez. Radikallerin oluşma hızında bir artma veya bu hızın tamamen yokolması, düşüş, bu dengenin bozulmasına neden olur. Serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki bu önemli dengesizlik ise "oksidatif stres" olarak adlandırılır. Serbest radikaller çeşitli makro moleküllerle tepkime oluşturarak pek çok farklı ürün oluşturup hasara neden olurlar (119).

Aerobik (oksijenli solunum yapan) organizmalarda serbest radikal oluşumlarını kontrol altında tutarak bu moleküllerin zararlarını engellemek için antioksidan savunma sistemleri çok iyidir. Ancak, bazen bulunan antioksidan savunma sistemi serbest radikallerin etkilerinin tamamen önüne geçemez ve oksidatif stress gerçekleşir. Böyle durumlara vücudun paslanması da deniliyor. Oksidatif stresle birlikte oluşan ve ROT / metabolitleri olarak da isimlendirilen moleküller lipit, protein ve DNA gibi hücre bileşenlerine zarar verir. Oksidatif stres proteinlerde oksidasyona neden olur ve sonucunda peroksitler ile protein karbonilleri oluşur (120).

Oksidatif stresin ölçülmesi, düzeltme ve onarımı yapan kompleks endojen savunma sistemlerinin bulunmasından dolayı oldukça zordur. Oksidatif stresi şu şekilde ölçebiliriz; antioksidan seviyelerinde azalma ya da onların metabolitlerdeki artışının değerlendirilmesiyle belirlenir. Oksidatif stres, genel itibariyle lipit peroksidasyonun son ürünü olan MDA; oksidatif DNA hasar göstergesi olan 8 - hidroksi - 2' deoksiguanozin (8 - OHdG) ; protein

oksidasyonu; SOD, GPx, CAT, glutatyon- S - transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimler; alfa- tokoferol, askorbik asit, glutatyon, ubikinon, sistein gibi antioksidanların ölçülmesiyle sonuç elde edilir (120).

## 2.6. Serbest Radikaller

Daha önce iskemiye uğramış fakat ölmemiş hücredeki kan akımı tekrar başladığında zedelenme düzelmek yerine daha fazla artar ve bunun sonucunda dokular irreversibl olarak yok olmaya devam eder. Doku için önemi oldukça büyük olan bu duruma İ / R zedelenmesi denir (121, 122).

Serbest radikallerin oluşumunun hemen ardından yeni hasar oluşumu meydana gelmeye başlar. Oluşan bu hasar ise oksijenin tekrar kullanılmasıyla veya o bölgeye gelen inflamatuvar hücrelerden dolayı gerçekleşir. Reaktif oksijen ürünleri, mitokondrial permeabilite değişiminin ilerlemesine neden olur. Bu hücreler de antioksidan mekanizmalarından etkilenmiş durumdadırlar (121, 123).

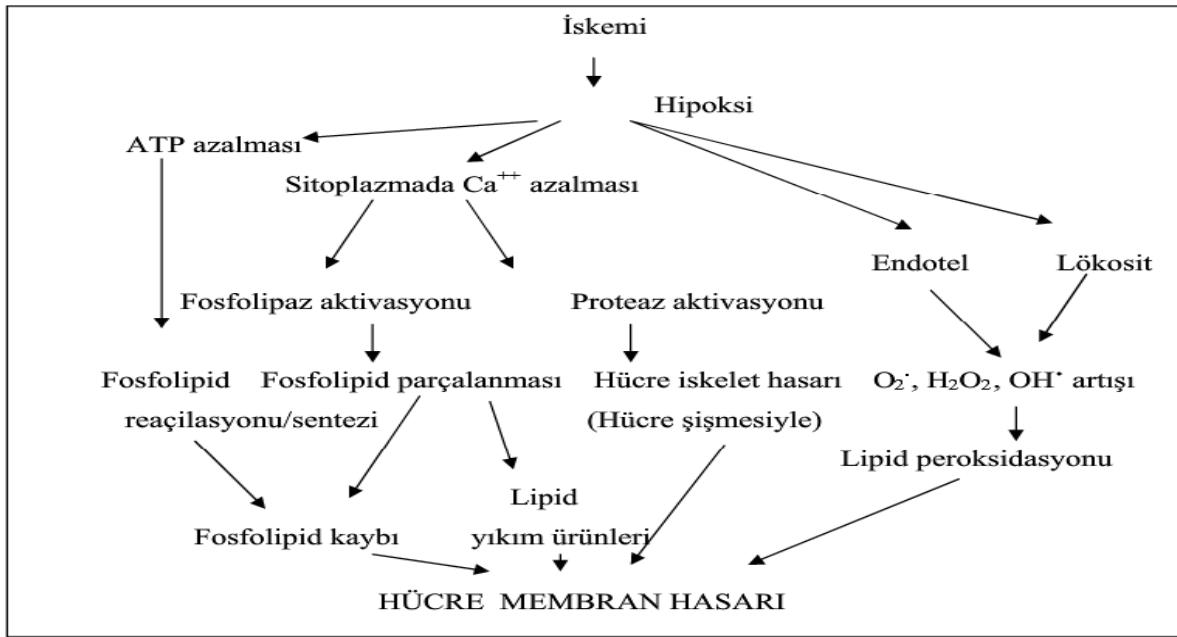
Üç şekilde üretilen serbest radikaller; kovalent bağlı molekülün bir bağının tamamında ortaklanmamış bir elektron bulunacak şekilde homolitik parçalanması, molekülün birinin bir elektronunu kaybetmesi ve bir moleküle bir elektron eklenmesiyle oluşurlar (122) Pozitif yüklü ya da nötral yüklü serbest radikaller olabilir (124).

Elektron transferi sonucu radikal üretimi:  $A + e^- \rightarrow A^-$

Homolitik füzyon sonucu radikal üretimi:  $X: Y \rightarrow X^\cdot + Y^\cdot$

Heterolitik füzyon sonucu radikal üretimi:  $X: Y \rightarrow X^- + Y^+$

Biyolojik sistemlerde elektron transferiyle radikal oluşumu homolitik füzyondan daha fazla görülür. Homolitik füzyon; ultraviyole ışığı, yüksek sıcaklık ya da iyonize radyasyondan meydana gelen enerjiye gereksinimindedir. Heterolitik füzyonda ise serbest radikaller oluşmadığı gibi ürün olarak da yalnızca yüklü gruplar oluşur (125).



**Şekil 6:** İskemi süresi boyunca hücre membrane hasarı (126).

### **2.6.1. Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri**

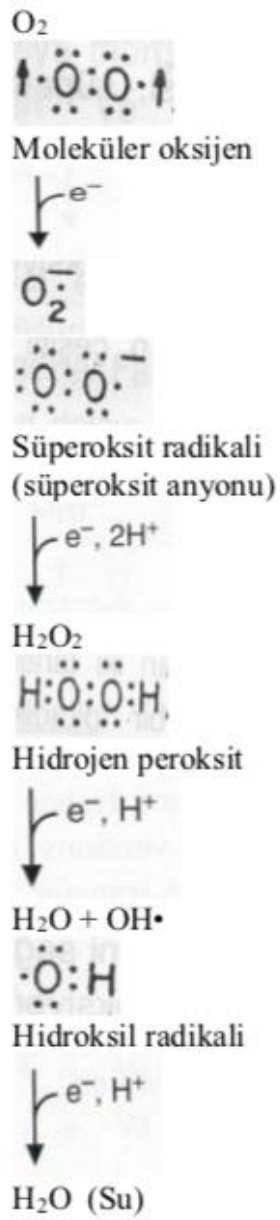
Bir ya da daha çok ortaklanmamış elektronu olan atom ya da moleküllere serbest radikaller denir. Orbitali doldurup stabil duruma geçmesi için başka bir elektrona ihtiyaç duyduğundan ortaklanmamış elektronlar serbest radikalleri olabildiğince reaktif hale getirir. Bu bileşikler organizmada metabolik yolların işlev süreci sırasında oluştuğu gibi, farklı dış etkenlerin etkisinden dolayı da üretilir. Ömürleri oldukça kısa olsa da, yapılarındaki dengesizlikten ötürü çok aktif yapıdaki serbest radikaller hücre bileşenlerinin hepsiyle etkileşme özelliğine sahiptir. Memelilerde, aerobik metabolizmaya sahip olanlarda serbest radikaller başlıca oksijenden meydana gelmektedir (127).

Oksijen, dış orbitalinde iki tane eşleşmemiş elektronuyla biyolojik sistemlerde önemi oldukça büyük bir serbest radikaldir.  $O_2$  ile birlikte tepkimeye giren moleküllerin oluşturduğu serbest radikaller de biyolojik sistemde çok önemlidir (130).

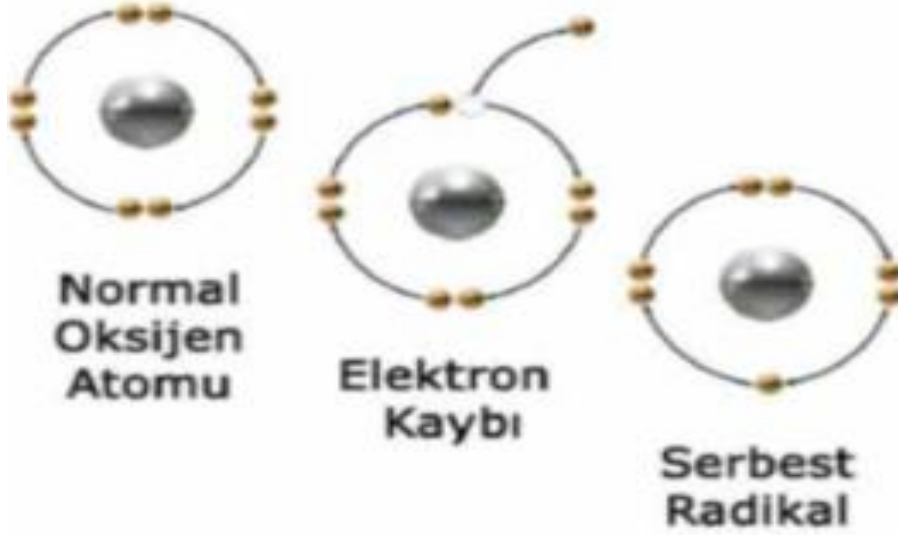
#### **2.6.1.1. Reaktif oksijen türleri**

Oksijen metabolizması sırasında az miktarda üretilen süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikal ( $OH\cdot$ )'lerine reaktif oksijen radikali (ROT) denilir. Reaktif oksijen radikalleri, pek çok çeşitte serbest radikallerin meydana geldiği serbest radikal zincir reaksiyonlarını indükleyebilirler. Serbest radikal üretimi aşağıdaki

şekilde gösterilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7: Serbest radikal oluşumu aşamaları (126).



**Şekil 8:** Moleküler oksijen ile serbest radikal oluşumu (126).

Moleküler oksijen ( $O_2$ )' in, paralel spinli iki eşleşmemiş elektronu vardır (127). Eşleşmemiş elektronu bulunan atom, atom grubu ya da moleküller serbest radikal olarak adlandırılır. Ancak  $Fe^{+3}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$  ve  $Mo^{+5}$  gibi geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronları bulunsada serbest radikal kabul edilmez ama serbest radikal üretiminde çok büyük öneme sahiplerdir. Serbest radikaller üç şekilde; pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) ya da nötral olabilirler (128).

Serbest radikal tanımlanmasına baktığımızda moleküler oksijen, biradikal (diradikal) olarak kabul edilir. Biradikal oksijen, radikal olmayan moleküllerle yavaş tepkimeye girmesede diğer serbest radikallerle daha kolay tepkimeye girer (129).

**Tablo 1:** Reaktif oksijen partikülleri (126).

<b>Radikaller</b>	<b>Radikal Olmayanlar</b>
Süperoksit anyon radikali ( $O_2^-$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
Hidroksil ( $HO^\cdot$ )	Singlet oksijen ( $*O_2$ )
Peroksi( $ROO^\cdot$ )	Ozon ( $O_3$ )
Alkoksil ( $RO^\cdot$ )	Hipokloroz asit ( $HOCl$ )
Nitrik oksit( $NO^\cdot$ )	Lipit hidroperoksit ( $LOOH$ )

Moleküler oksijen her aşamada indirgenerek yukarıda tanımlanan reaktif  $O_2^-$  metabolitlerinin meydana gelmesine neden olur.  $O_2^-$  sadece kendisi hücre yıkımına sebep olan tepkimeleri indükleyebildiği gibi, aslında daha reaktif oksijen radikallerinin oluşmasında sağlayarak hücre toksisitesinde görev alır (130). Reaktif oksijen metabolitlerinden en sık karşımıza çıkanlar ise şunlar:

- a. Süperoksit radikali ( $O_2^-$ )
- b. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )
- c. Hidroksil Radikali ( $OH^\cdot$ )
- d. Singlet Oksijen ( $*O_2$ )
- e. Hidroperoksil Radikali ( $HO_2^\cdot$ )
- f. Hipokloröz Asit (HOCl)
- g. Myeloperoksidaz' dır.

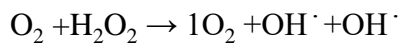
#### **a. Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ )**

Süperoksit radikali bütün aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Süperoksit radikali direct olarak hasar vermez. Hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metallerini indirgeyici olması bu radikalin önemli bir özelliğidir ve düşük pH değerlerinde daha da reaktiftir (127).

Süperoksit radikali, SOD aracılığıyla  $H_2O_2$ ' ye indirgenir.  $H_2O_2$  ortaklanmamış elektronu olmadığı için sadece kendisi bir radikal değildir (131).

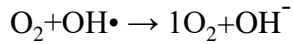
Ortamda biriken süperoksit radikallerinin girebileceği reaksiyonlar şu şekildedir (124):

- 1.Ortamdaki bir protonu alıp perhidroksi radikali ( $HO^-$ ) oluşturabilir.
2. Hidrojen peroksitle birlikte reaksiyona girip hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ )ve singlet oksijen ( $1O_2$ ) oluşturabilir.





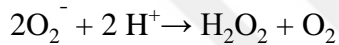
3. Hidroksil radikali ile reaksiyona girip singlet oksijen üretimine neden olur.



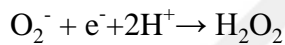
Süperoksit radikalının  $H_2O_2$ ' ye dönüşümünü katalizleyen enzimden biri SOD' dur (128).

### **b. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )**

$H_2O_2$  süperoksidin etrafındaki moleküllerden bir elektron alması ya da moleküler oksijenin etrafındaki moleküllerden iki elektron almasıyla oluşan peroksidin iki proton ( $H^+$ ) ile birleşmesi sonucu üretilir. Biyolojik sistemlerde  $H_2O_2$ ' nin gerçek üretimi, süperoksidin dismutasyonu ile meydana gelir. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu tepkimesinde iki proton alıp  $H_2O_2$  ve moleküler oksijeni meydana getirirler:



Oksijen iki elektronla indirgenmesiyle  $H_2O_2$  meydana gelir.



Bu tepkime; radikal olmayan ürünler açığa çıktığından, dismutasyon reaksiyonu ismini alır ve kendiliğinden oluşur ya da SOD enziminin katalizlenir.  $H_2O_2$  bir serbest radikal olmasada reaktif oksijen radikali (ROR) kapsamındadır ve serbest radikal biyokimyasında önemli görevi vardır.  $H_2O_2$  geçiş metalleri olduğu zaman en önemli SOR olan  $OH\cdot$  radikalının oluşmasını sağlar.  $H_2O_2$ 'nin başka bir görevi de hücre içi sinyal molekülü olmasıdır.  $H_2O_2$  üretildikten sonra CAT, GPx ve peroksiredoksinler olarak isimlendirilen üç enzim sistemi tarafından uzaklaştırılır (130).

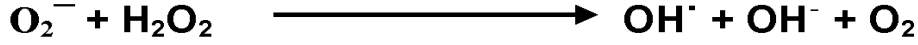
### **c. Hidroksil Radikali ( $OH\cdot$ )**

Hidroksil radikali biyolojik sistemlere diğer serbest oksijen radikallerinden daha fazla hasar meydana getirir. Hidroksil radikali biyomoleküllerle reaksiyona girebilen oldukça etkili bir radikaldir. Bu radikalın meydana gelmesi için ortamda geçiş metalleri olması gerekir (132).

Demir (Fe) sentezli- Haber Weiss reaksiyonu (Fenton Reaksiyonu)



Katalize olmayan Haber Weiss reaksiyonunda ise, süperoksidin doğrudan hidrojen peroksitle reaksiyona oluşturmasıdır.



OH<sup>·</sup> radikali canlı hücrelerdeki moleküllerin tamamıyla reaksiyona girebilmektedir. Lipit peroksidasyonunu başlatabilir, DNA iplikçiklerinde kırılmalara sebebiyet verebilir ve neredeyse bütün organik molekülü, ayırmaksızın okside edebilir (133, 134).

#### **d. Singlet Oksijen (\*O<sub>2</sub>)**

Enerji absorpsiyonu ile oksijenin eşleşmemiş dış elektronlarını değiştirerek aynı ya da farklı orbitale yerleşebilirler. Uyarılmış şekilde bulunan bu oksijene singlet oksijen denir. Reaktif olmayıp reaktif oksijen radikallerinden biri olan singlet oksijenin sigma ve delta diye iki şekli bulunur (130). Sigma formu oldukça enerjik olduğu için yarı ömrü kısadır, hızlı bir şekilde bozularak delta formuna dönüşür (130).

Singlet oksijeni oluşumuna radyasyon neden olabileceği gibi invivo olarak sitokrom P - 450, prostaglandin endoperoksit sentetaz ve miyelopereksidaz tepkimeleriyle de oluşabilmektedir. Singlet oksijeni, Karotenler, bilirubin, histidin, methionin, 2 - 5 - difenilfuran, 1, 4 - diazbisikloalefan tamamen yok eder (130).

Singlet oksijen, DNA, RNA, proteinler, lipitler ve sterollerini içine alan fazlaca biyolojik hedeflerle tepkimeye girerek hücrede zararlı etkilere sebep olur (130).

#### **e. Hidroperoksil Radikali**

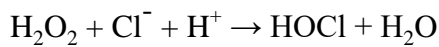
Süperoksit, asidik olan ortamlarda daha da reaktif bir radikal olan hidroperoksile dönüşür. Hidroperoksil radikalının dismutasyon hızı yüksek olduğu için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi de oldukça yüksektir. Hidroksil radikalının nin lipitte çözünebilir olması süperoksite göre fazla olmasıyla beraber daha güçlü bir oksidandır. Ayrıca hidroperoksil radikali asidik pH' da

süperoksite oranla 108 kat daha fazla hızlı bir şekilde  $H_2O_2$ ' ye dönüşür (130).

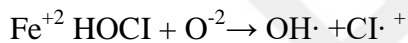
#### **f. Hipokloröz Asit (HOCl)**

Hipokloröz asit radikal olmasa da ROT arasında bulunur. Radikal oluşumu fagositik hücrelerin bakterileri ortadan kaldırmasında oldukça önemlidir. Özellikle nötrofillerde olan myeloperoksidaz enzimi bağlantısıyla  $O_2$ ' nin dismutasyonu ile oluşan  $H_2O_2$ ' yi klorür iyonuyla birleştirip etkili antibakteriyel ajan olan HOCl' e dönüştürür (130).

#### **g. Myeloperoksidaz**



Hipokloröz asit  $Fe^{+2}$  bağımlı ve  $Fe^{+2}$  bağımsız bir reaksiyon sonucu  $OH\cdot$  oluşumunda fazlalık görülebilir (135).



#### **2.6.2. Serbest radikallerin üretimi**

Dokularda üretilmekte olan ROR ile serbest radikaller DNA, protein, karbonhidrat ve lipidler gibi biyolojik olarak önemli olan materyallere zarar verebilmektedir. Serbest radikaller metabolizmaya dışardan direkt olarak gelebileceği gibi metabolizma sonucu da oluşmaktadır. Serbest radikallerin endojen şekilde yapımı değişik yollarla meydana gelmektedir. Bu şekilde olsa da, canlı organizmalar da serbest radikallerin potansiyel yıkım etkilerine rağmen kendini korumaya almak için farklı mekanizmaları bulunmaktadır (136).

Serbest radikallerin endojen ve eksojen kaynakları bulunur ve hücrel metabolizma sırasında aralıksız bir şekilde meydana gelir. Endojen kaynaklarını şu şekilde sıralayabiliriz; Mitokondrial elektron transport zinciri, oksidan enzimler (ksantin oksidaz, siklooksijenaz), fagositler, nötrofiller,  $FeP^{+2}$  ve epinefrinin hücrel otooksidasyonu' dur. Eksojen kaynaklarını da sıralayacak olursak; Okside ilaçlar (CCIB4B, asitaminofen), sigara, radyasyon, glutatyonu oksidize eden maddelerdir (122).

### **2.6.3. Endojen/Eksojen serbest radikal oluşum mekanizmaları**

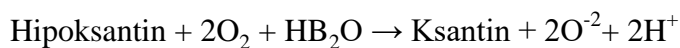
#### **Endojen Serbest Radikal Oluşum Mekanizması**

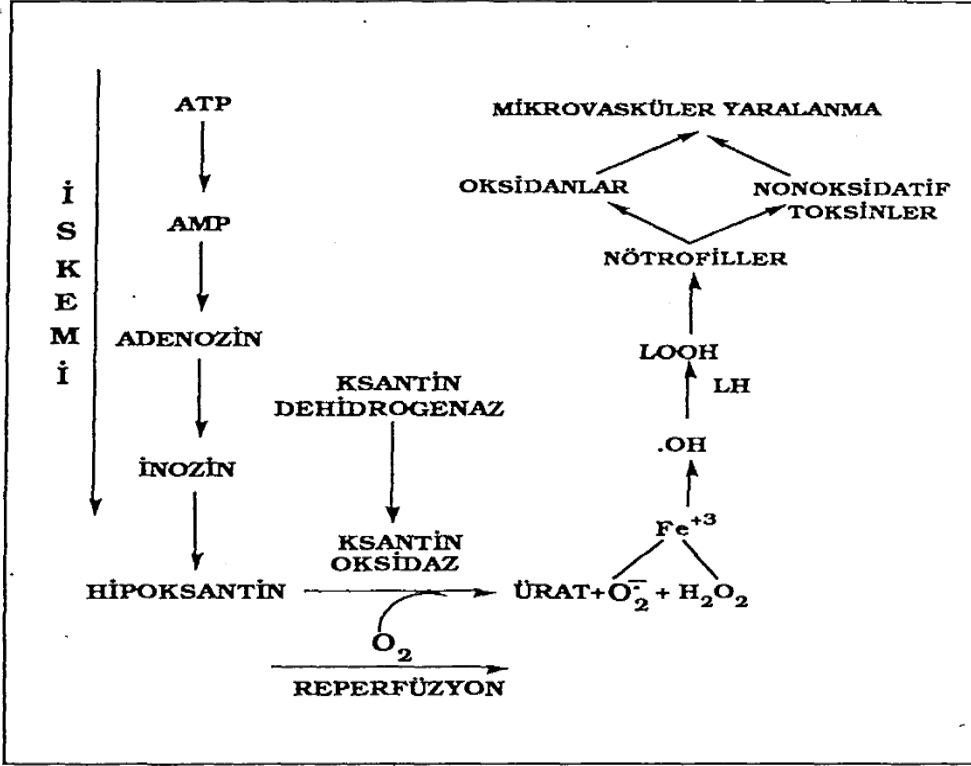
Otooksidasyonun tanımı şu şekildedir; atmosferik oksijenin sentezlediği serbest bir radikal reaksiyondur. Serbest radikallerin oksijenle tepkimesi oldukça büyük hıza sahiptir. Böyle reaksiyonların başlaması için değişik sistemler gelişmiştir. Özellikle otooksidasyon için fosfolipidler ve çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) için oldukça isteklilerdir. Hidroperoksit (ROOH) ürünlerinin, otooksidasyonda ilk meydana gelen ana ürünler olduğu bilinmektedir (136).

Mitokondrial elektron transport zinciri; normal şartlarda hücrel metabolizmada serbest radikaller oluşmaktadır. Oksidatif fosforilasyonda ATP oluşması için moleküler  $O_2$  suya dönüşmektedir. Ancak  $O_2$ 'nin % 1 - 5' i bu tepkimeden kaçınıp serbest oksijen radikallerinin meydana getirildiği değişik biyokimyasal tepkimelere girmektedir. Ayrıca mitokondrial elektron transport zinciri ve otooksidasyon da serbest radikalın meydana gelmesine neden olmaktadır. İç mitokondrial zarında elektron barındıran transport enzim kompleksi  $H_2O_2$  meydana gelmektedir. Mitokondrial solunum fazlalaşmaya başladığı durumlarda serbest radikal üretimi de artmaya başlamaktadır. Dahası hipoksida olduğu şekilde terminal sitokrom azaldığında da mitokondrial elektron transport zincirinde  $O_2$  oluşumu artar (36).

Ksantin Oksidaz (XO); canlı tiplerde ROT meydana getiren temel enzimatik kaynaklardan bir tanesidir. Ksantin oksidaz faaliyetinin sonucunda süperoksit anyonu ve hidroperoksit radikalleri oluşmaktadır. XO' nun beyinde ödem, iskemi, damar geçirgenliğinde değişiklikler gibi oksidatif zedelenmelerin nedeni olduğu aynı zamanda hepatit ve beyin tümörü vakalarında da XO' nun serum düzeylerinin artış gösterdiği belirlenmiştir (136).

Sitoplazmik bir enzim olan XO purin metabolizması gerçekleşmesi aşamasında  $O_2$ 'nin indirgenmesi sonucunda  $O_2^{\cdot-}$  meydana getirir.





Şekil 9: Ksantin oksidaz sisteminin radikal oluşturma mekanizması (126).

Zar fosfolipidlerinin parçalanması sonucu serbest yağ asitleri oluşur. Serbest yağ asitlerinin en önemlisi olan araşidonik asit, serbest radikallere, prostoglandinlere ve lokotrienlere metabolize olabilirler. Bu maddeler, nötrofillerin endotelyuma adhezyonunu artırarak, İ / R hasarının gelişmesinde oldukça etkilidir. Araşidonik asit metabolizmasının sonucunda serbest radikal üretilir ve buna "enzimatik lipid peroksidasyonu" denilir (130).

Serbest radikal üretilmesinde, endoplazmik retikulum, endoplazmik ve nükleer membranlar rol üstlenen diğer hücresel yapılardır. Bu membranlarda, yağ asitlerini oksitlemesi sonucu serbest radikal meydana getiren sitokrom P - 450 sistemi bulunur (36). Mikrozomal sitokrom P - 450 sistemiyle, kimyasal ajanların serbest radikal üretiminde en önemli mekanizmaları aktifleşir (137).

Hücre içi  $H_2O_2$  kaynağı olan peroksizomlar oldukça önemlidir. Peroksizomlar D - amino asit oksidaz, ürat oksidaz, L - hidroksil asit oksidaz ve yağ asidi açıl - CoA oksidaz gibi oksidazlar, süperoksit meydana getirmeden fazlaca  $H_2O_2$  oluşmasına neden olurlar (138).

Plazma membranı; hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolaylıkla reaksiyona oluşturup peroksidasyon ürünleri meydana

getirirler. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımına lipid peroksidasyonu adı verilir. Lipid peroksidasyonu spontone devam eden zincir reaksiyonu halinde devam eder ve oldukça zararlıdır (33, 139).

Redoks döngüsü, hücrenin içindeki birçok çözünür sitozolik moleküller oksidasyon-redüksiyon tepkimesine oluşturarak,  $O_2^{-2}$  nin kendiliğinden gelişen dismutasyonu da  $H_2O_2$  meydana gelir (122).

Fagositlerin uyarılması, heksoz monofosfat şantı yoluyla glukozun oksidasyonunda artmalara neden olur. Solunumsal patlama olduğu sırada elektron verici olan NADPH' tır ve moleküler oksijenin süperoksit radikale indirgenmesiyle  $NADP^+$  oluşumunda artış gözlenir, heksoz monofosfat yolu aktifleşir. Nötrofiller ve monositlerin primer lizozomal granüllerinde Fe - hem barındıran miyeloperoksidaz enzimi içeriğine sahiptir. Miyeloperoksidaz,  $H_2O_2$  mevcutken iyodür, klorür ve bromürün oksidasyonunu katalizleyip hipoklorik asit (HOCl), hipobromik asit (HOBr) ve hipoiyodik asit (HOI) meydana getirir ve bu bileşikler, bu bileşiklerin tuzları güçlü oksidandırılar. Ayrıca bunlar biyolojik açıdan oldukça önemli bazı moleküllerle reaksiyona girip mikroorganizmayı etkileyen toksik ajanlar meydana getirirler (33, 122, 139).

**Tablo 2:** Fagositlerin oluşturduğu bazı reaktif oksidan ürünler (126).

Trombositler	$H_2O_2$ , $O_2^{\cdot -}$ , $OH^{\cdot}$
Eozinofiller	$H_2O_2$ , $O_2^{\cdot -}$ , $OH^{\cdot}$ , HOCl
Makrofajlar	$H_2O_2$ , $O_2^{\cdot -}$ , $OH^{\cdot}$ , HOCl , $NO^{\cdot}$
Nötrofiller	$H_2O_2$ , $O_2^{\cdot -}$ , $OH^{\cdot}$ , HOCl

Kendisi de reaktif oksidanların tahribatlarına karşı hassas olan fagosit, oksidanlarına karşı kendilerini savunabilirler. Fagositlerin antioksidan tepkimeleri olan,  $H_2O_2$ ' yi suya indirgeyen CAT, süperoksidi  $H_2O_2$ ' ye dönüştüren SOD,  $H_2O_2$ 'yi detoksifiye eden GPx - GR

tepkimesi, antioksidan vitaminlerden olan  $\alpha$  - tokoferol (vitamin E) ve askorbik asit (vitamin C) gibi antioksidanlardır (139).

### **Eksojen Serbest Radikal Oluşum Mekanizması**

Eksojen serbest radikaller, çok fazla doymamış yağ asitleri içeren beslenme, yüksek kalorili beslenme (obesite), hayvansal proteinlerce zengin beslenme, alkol, hava kirliliği ( $O_3$ ,  $NO_2$ ,  $SO_2$ , hidrokarbonlar), sigara dumanı, radyasyon, diğer kirlleticiler (asbest, pestisitler, vs.) ve antikanser ilaçlar gibi nedenlerden kaynaklı eksojen etkenlerle de oluşabilmektedir (127, 137).

#### **2.6.4. Serbest radikallerin etkileri**

Hücre içi ve hücre dışı etkiler olarak iki başlık altında, serbest radikal etkileri incelenebilir.

##### **2.6.4.1. Hücre içi etkileri**

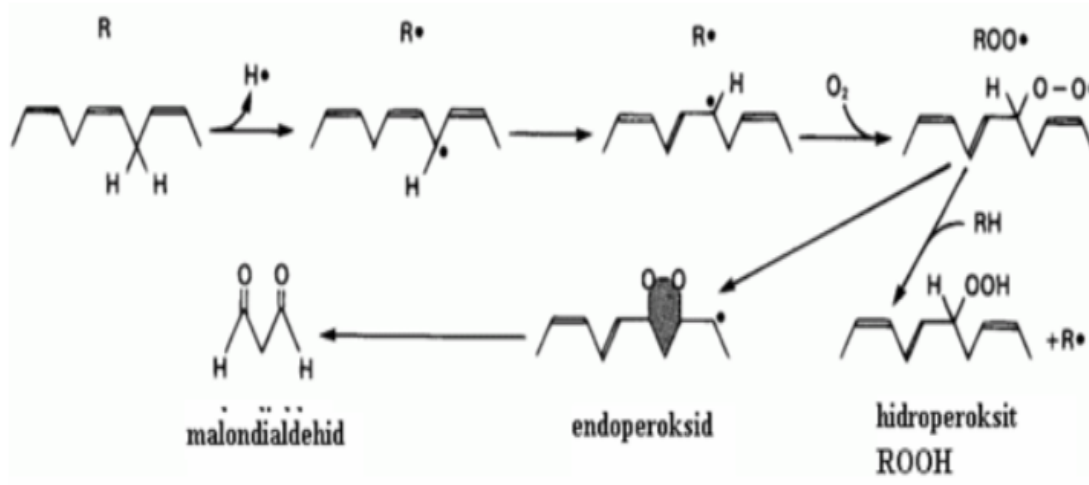
###### **2.6.4.1.1. Lipit peroksidasyonu**

Biyolojik moleküllerin tamamı serbest radikallerden etkilenir, fakat lipitler serbest radikalin hasarından en fazla etkiyi gören biyomoleküldür. Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle çok daha kolay şekilde reaksiyona girip peroksidasyon ürünleri meydana getirirler. Çoklu doymamış yağ asitlerinin ve kolesterolün oksidatif şekilde hasar oluşturması lipit peroksidasyonu olarak isimlendirilir. Lipit peroksidasyonuyla meydana gelen membran hasarı geri dönüşümü mümkün değildir (122).

Hücre membranlarında lipit serbest radikallerinin ve lipit peroksit radikallerinin üretimi, ROT'ların neden olduğu hücre hasarının diğer bir önemli özelliğidir. Serbest radikallerin neden olduğu lipit peroksidasyonuna "nonenzimatik lipit peroksidasyonu" denir. Hücre membranında lipit peroksidasyonuna maruz kalan temel yağ asitleri poliansatüre (çoklu doymamış) yağ asitleridir. Lipit radikallerinin ( $R\cdot$ ) moleküler oksijenle etkileşime girmesi sonucu lipit peroksit radikalleri ( $ROO\cdot$ ) açığa çıkar (128).

Lipit peroksit radikalleri membranın yapısında yer alan diğer bir poliansatüre yağ asitleriyle etkileşim oluşturup yeni lipit radikallerini açığa çıkarırken kendileri de oluşan

hidrojen atomlarını alıp lipid peroksitlerine (ROOH) dönüştürler ve bunun sonucunda reaksiyonlar kendi kendini katalizleyip devam ederler (137).



**Şekil 10:** Lipid peroksidasyonu sonucuna MDA' nın meydana gelmesi (126).

Lipid peroksitleri yıkıldığında biyolojik olarak aktif durumdaki bir çok aldehit oluşmaktadır. Üç ya da daha da fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda MDA meydana gelir. Bu bileşik idrarda, kanda üretilir. Yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif indikatörü bulunmayarak lipid peroksidasyonunun derecesiyle etkili korelasyon oluşturur. Bundan kaynaklı biyolojik materyalde MDA ölçümü lipid peroksit seviyelerinin indikatörü şeklinde kullanılır. Lipid peroksidasyonu oldukça zararlı bir tepkimedir (33, 139).

Organizma Üzerinde Lipit Peroksidasyonunun Bazı Etkileri:

1. Lipit peroksidasyonu meydana gelmesi durumunda membran akışkanlığı oldukça azalır ve normalde hücre içine geçemeyen maddelerin hücre içine geçişlerinde fazlalık gözlemlenir.
2. Hücre membranına kısa mesafede bir alanda yer alan DNA molekülleri de lipit peroksidasyonunun verdiği hasardan etkilenirler ve bazı durumlarda da DNA' nın replikasyonu meydana gelmez.
3. Lipit peroksitler ve alkoksil radikaller, sistein ve triptofan gibi protein bölümlerine hareket gerçekleştirip protein yapısını bozarlar ve hasar meydana getirirler (122).

Biyolojik sıvılarda buluna bazı aldehitler ise kemotaktik etki oluştururlar (122).



LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein)' yi modifiye eden MDA gibi aldehitler metabolik yolda değişiklik oluşurular (122).

#### 2.6.4.1.2. Karbonhidratlara etkileri

Karbonhidratlar üzerinde de etkileri olan serbest radikaller, monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda peroksitler, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve okzoaldehitleri meydana getirirler. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlerle bağ oluşturabilme ve aralarında çapraz bağlar yapabilme özelliğinden antimitotik etki oluşturur. Bunlardan kaynaklı kanser ve yaşlanma üzerinde önemli görevi vardır (139).

#### 2.6.4.1.3. Proteinlere etkileri

Serbest radikallerin proteinlere karşı etkinlik derecesi amino asit bileşimiyle alakalıdır. Yapısında kükürt olan tirozin, histidin, sistein, fenilalanin, metiyonin, triptofan gibi amino asitleri bulunduran proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. Buna bağlı özellikle karbon merkezli olan organik radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelmektedir. Serbest radikal tahribatında, yapısında fazlaca disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları tahribata uğrar ve normal görevlerini gerçekleştiremez hale gelirle (137).

#### 2.6.4.1.4. Nükleik asitler üzerine etkileri

Radyasyon sonucu oluşan serbest radikaller DNA' nın yapısını bozarak hücre ölümüne, mutasyona neden olurlar. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozla rahatça reaksiyon oluşturup farklılıklar meydana getirirler. Aktif durumdaki nötrofillerden kaynaklı hidrojen peroksit membranlardan rahatlıkla geçip, hücre çekirdeğine kadar gidip hücre disfonksiyonuna, DNA hasarına ve hücre ölümüne sebebiyet verebilir (33, 140).

#### 2.6.4.2. Hücre dışı etkiler

##### 2.6.4.2.1. Kemotaksi

Serbest radikaller, kemotaktik faktör veya proinflamatuvar maddeler olduğu bilinen endotel hücrelerden olan platelet aktive edici faktör (PAF), histamin, LTB<sub>4</sub> salınımını meydana getirirler. Kemotaktik faktörlerin etkisi, dolaşımdaki lökositlerin patoloji bölgesinde yoğun şekilde bulunmalarına ve endotelle olan bağlarında artış oluşturur (133).

#### 2.6.4.2.2. Rolling

Lökositler normal seyrindeyken, damar endoteliyle çok nadir de olsa herhangi bir etkileşim gerçekleşir. ET, iskemi reperfüzyon ile oluşan radikallerce uyarıldığı zaman lökositler ve nötrofiller kendi çevrelerinde yuvarlanma eyleminde bulunurlar. Bu yuvarlanmayı, lökositlerde aynı grupta olan üç molekül yönlendirir. Bunlar; L - selektin, endotel hücrelerinde bulunan P ve E selektindir. L - selektin, lökositlerin pek çoğunda bulunmasıyla birlikte en fazla olduğu grup nötrofillerdir. L - selektin, aktifleşmemiş nötrofillerin uyarılmış endotel hücrelerindeki P ve E selektinlerle birleşerek ilk rolling halinin olmasıyla görevlidir. Yuvarlanma L, P ve E selektinlerin etkileşmesiyle lökositlerde gerçekleşir (141).

#### 2.6.4.2.3. Antiadhezyon molekülleri inhibisyonu

Kan damarlarının iç yüzey kısmını kaplayan endotel hücreleri iskemi reperfüzyonun tahribatına karşı oldukça duyarlı bir yapıdadır. Uzun süren hipoksinin iyon dağılımının zarar verdiği, membran potansiyelini değişiklik oluşturduğu, hücre içi hacimde fazlalaşma olması membran akışkanlığını eksilttiği ve endotel hücrelerinin yapısal düzenine zarar verir. Bu değişikliklere enerji depolarının tamamen bitmesi, prostasiklin, NO gibi bazı biyoaktif ajanların meydana gelmesinde seyrelme ve ET, tromboksan A<sub>2</sub> üretiminde fazlalaşma da refakat eder. Aynı şekilde hipoksik endotel hücrelerinde bazı genler uyarılır (örn. adhezyon molekülleri ve sitokinler), diğer genler ise (örn. nitrik oksit sentaz ve trombomodulin) baskılanır. Endotel hücrelerinin hipoksiye karşı verdiği tepkilerde reperfüzyon sonucunda artış gerçekleşir (14).

SOR, NO'yu engeller ve kararsız nitrat bileşimi olan NO, damarlarda gevşemeye neden olması, ilk bilinen görevi olup organizmada pek çok biyolojik rolü vardır. Kalp, bağırsak, kas ve deri gibi birden fazla organ sisteminde yer alır. Lökositler gibi endotel hücreleri de çok fazla hücreden salınabilir. NO, lökosit endotel adhezyonunun önüne geçen en mühim endojen maddedir. Yalnız NO salınımı, reperfüzyon hasarı evresinde meydana gelen süperoksitin, endotel hücrelerine tesiriyle yok olur (127).

Adhezyondan sonrasında bilhassa nötrofiller endotel hücrelerinin arasından diapedez ile dokuya ulaşır orada toplanır. Daha sonrasında proteolitik enzim, aktif oksijen (respiratuvar patlama) ve inflamatuvar sitokinlerle doku hasarını meydana getirirler (135).

## 2.7. Antioksidanlar

### 2.7.1. Antioksidan savunma sistemleri

Serbest radikaller, organizmada normal metabolik yolların çalışması aşamasında sürekli meydana gelir. Ayrıca endojen antioksidanlar isimli moleküllerce etkisi yok edilir. Oksidan moleküller belirli düzeyde olduğu sürece, organizmanın infeksiyon ajanlarına ve yabancı maddelere karşı etkili savunma molekülleridir. Serbest radikal molekülleri belirli düzeyi geçecek şekilde üretildiklerinde ya da antioksidan sistemin eksikliğinde, organizmanın yapıları olan karbonhidrat, lipit, protein, nükleik asitler ve enzimleri bozup tahribat oluşturular (36).

Hücrede gerçekleşen serbest radikallerin detoksifikasyonu en başta ve en çok enzimatik mekanizmalarla meydana gelir. Antioksidan savunmanın etkili bir bölümü olan  $O_2^-$  radikalini ve  $H_2O_2$ ' yi ortamdaki yokeden önemli enzimler oluşturur. Bunlar CAT, SOD ve GPx enzimleridir ve radikal süpürücü olarak bilinirler (138).

Antioksidanların etkileri dört değişik haldedir:

1) Toplayıcı etki: Reaktif oksijen radikallerine tesir edip onları tutma ya da daha zayıf olan yeni molekül oluşturma halidir. Antioksidan enzimler böyle etki meydana getirirler.

2) Bastırıcı etki: ROR' lar ile tesir edip onlara bir hidrojen iletip aktivitelerinde eksilme ya da aktif olmayan hale getirmedir. Flavonoidler, vitaminler bastırıcı etki grubunda yer alan antioksidanlardandır.

3) Zincir kırıcı etki: ROR' ları bağlayıp zincirlerini kıran ve fonksiyonlarının önüne geçen bir etkidir. Bu etkiye sahip olanlar şunlardır: Mineraller, hemoglobin, seruloplazmin'dir.

4) Onarıcı etki: Serbest radikallerin meydana getirdikleri hasarın tamir edilmesi tarzında bir etkidir (33).

#### 2.7.1.1. Doğal antioksidanlar (endojen)

Antioksidanlar, endojen kaynaklı ya da eksojen kaynaklı olarak iki şekildedir. Eksojen antioksidanlar; ilaçlar, vitaminler ve gıda antioksidanları şeklinde sıralayabiliriz. Endojen antioksidanlar ise enzim ve enzim olmayanlar olarak iki grup şeklinde bulunur

(128).

Endojen antioksidanlardan enzim olanlar şunlardır (33, 139)

- 1) Süperoksit dismutaz (SOD),
- 2) Katalaz (CAT),
- 3) Glutatyon peroksidaz (GPx),
- 4) Glutatyon S - Transferazlar (GST),
- 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi,
- 6) Hidroperoksidaz

Endojen antioksidanlardan enzim olmayanlar şunlardır (33, 122, 139)

- 1) Hemoglobin
- 2) Miyoglobin
- 3) Ferritin
- 4) Bilirubin
- 5) Melatonin
- 6) Seruloplazmin
- 7) Transferin
- 8) Albümin
- 9) Metiyonin
- 10) Glutatyon
- 11) Sistein
- 12) Ürat

### 13) Laktoferrin

#### 2.7.1.2. Eksojen antioksidanlar

Eksojen antioksidanlardan ilaç olarak kullanılanlar şunlardır (33, 139)

- 1) Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
- 2) Trolox- C (vitamin E analogu)
- 3) Rekombinant süperoksit dismutaz
- 4) NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar, diphenylene iodonium)
- 5) Endojen antioksidan aktivitede artış oluşturan (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)
- 6) Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
- 7) Demir şelatörleri
- 8) Sitokinler (TNF ve IL - 1)
- 9) Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
- 10) Nötrofil adhezyon inhibitörleri
- 11) Barbitüratlar

#### 2.7.1.3. Gıda antioksidanları

Eksojen antioksidanlardan gıdalardaki şunlardır (33, 139)

- 1) Demir (Fe) - superoxyde dismutase
- 2) Sodium benzoate
- 3) Propylgalate
- 4) Butylated hydroxytoluene (BHT)

5) Butylated hydroxyanisole (BHA)

6) Ethoxyquin

Vitamin eksojen antioksidanlar şunlardır (33, 139)

1) Folik asit (folat)

2) Askorbik asit (vitamin C)

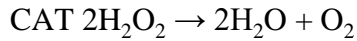
3)  $\alpha$  - tokoferol (vitamin E)

4)  $\beta$  - karoten (vitamin A)

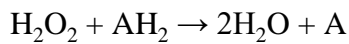
#### 2.7.1.4. Enzimatik antioksidanlar

##### 2.7.1.4.1. Katalaz (CAT)

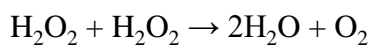
Katalaz 60 kDa ağırlığına sahip dört tane aynı yapıda (tetramerik yapıda) hem grubu olan bir hemoprotein olup,  $H_2O_2$ ' yi suya ve oksijene parçalar. Peroksidaz aktivitesine içeriğindedir ve bununla birlikte CAT enzimi bir molekül  $H_2O_2$ ' yi elektron verici bir substrat olarak, bir diğerini ise oksidan ya da elektron alıcısı şeklinde kullanabilir (139, 142).



CAT enzimi peroksizomlarda bulunur ve kemik iliği, kan, mukoz membranlar, böbrekte, karaciğerde çok fazla bulunur. CAT aktivasyonu düşük hızlarda  $H_2O_2$ ' nin olduğu durumlarda veya ortamda fazla miktarda elektron alıcısı olduğu zaman peroksidatif reaksiyonla  $H_2O_2$ ' yi suya dönüştürür (128).



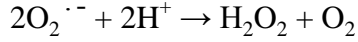
$H_2O_2$  oluşumunun hızı fazlayken olduğu aşağıdaki katalitik reaksiyonla  $H_2O_2$ ' yi suya dönüştürüp ortamdan uzaklaştırmış olur (143).



##### 2.7.1.4.2. Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD, oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur ve süperoksitin  $H_2O_2$

dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir. SOD süperoksit serbest radikalinin  $H_2O_2$  ve moleküler oksijene dönüşümünü aşağıdaki reaksiyon ile katalizleyen antioksidan bir enzimdir (133, 144).



Organizmada, serbest radikallere karşı oluşturulan ilk savunma SOD enzimi tarafından gerçekleştirilir. Ayrıca  $O_2^{\cdot -}$  radikalini metabolize eden enzimdir, fazlaca zarar veren hidroksil radikalinin açığa çıkmasına engel olur,  $O_2^{\cdot -}$  radikalini  $H_2O_2$ ' ye ve moleküler  $O_2$ ' ye dönüştürür, tepkime ürünü olan  $H_2O_2$  tarafından inhibe edilir.

Metalloprotein yapıda olan SOD enzimi hücrelerde çeşitli şekillerde bulunur. Bunlar:

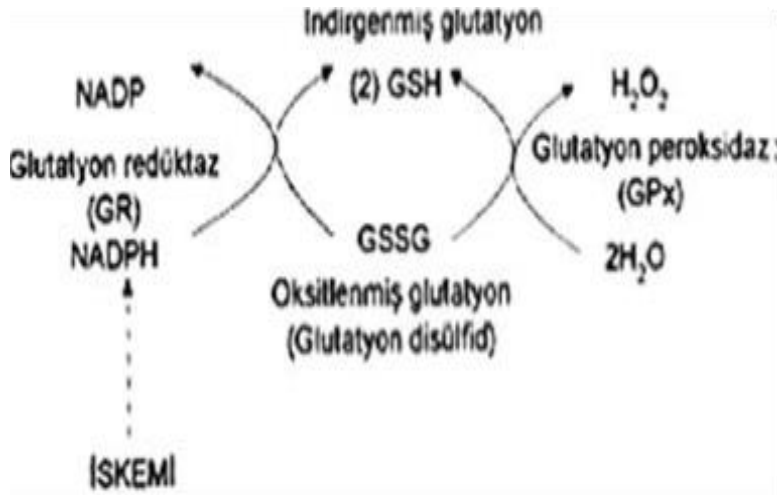
- Sitoplazmada SOD - 1: Cu - Zn SOD bulunur.
- Mitokondride SOD - 2: Mn - SOD bulunur.
- Bazı bakterilerde SOD - 3: Fe - SOD'ün karşılaştığı.
- Bazı bakteri türlerinde SOD - 4: Ni - SOD bulunur.
- İnsanlarda SOD enzimi: Sitosolik Cu / Zn - SOD; mitokondrial Mn - SOD; plazma, lenf ve sinovyal sıvılarda olan ekstrasellüler SOD olarak 3 tipte bulunur (133).

SOD' un dismutasyonu,  $O_2^{\cdot -}$  molekülleri ile spontone olabilir. Sulu ortamda kendiliğinden ve hızlıca dismutasyonu gerçekleşip  $O_2$  ve  $H_2O_2$  oluşturur. SOD olması dismutasyonun hızında  $10^4$  kat kadar artış olmasına neden olur. Bu şekilde  $O_2^{\cdot -}$  radikalinin potansiyel substrat ile reaksiyon oluşturması ve  $OH^{\cdot}$  gibi daha toksik ürünlerin meydana gelmesi SOD' ca önlenir. Organizmada oksidatif stresin ve dokuda  $PO_2$  arttığında SOD enzim aktivitesi de artar (133).

$H_2O_2$ , Fenton tepkimesi ya da Haber-Weiss tepkimesi ile oldukça reaktif olan  $OH^{\cdot}$  radikali meydana gelebilir. Oluşan  $H_2O_2$ ' ye karşı ikinci savunma CAT ve GPx enzimleri aracılığıyla oluşur (133).

#### 2.7.1.4.3. Glutatyon redüktaz (GR)

Sitozolde ve mitokondride bulunan GR, bir flavin enzim olup koenzimi NADPH ve prostetik grubu FAD' dır. GPx aracılığı ile hidroperoksitlerin indirgenmesiyle oluşan okside glutatyonun (GSSG) yeniden indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüşümünü katalize eder (139).



Şekil 11: İskemide glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktazın görevi (139).

#### 2.7.1.5. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri

##### 2.7.1.5.1. Karotenoidler (B karoten)

$\beta$  - karotenin öncü maddesi Vitamin A' dır. B - karotenin singlet oksijeni bastırabilir, süperoksit radikalini yok eder ve peroksit radikalleri ile doğrudan tepkime oluşturup antioksidan fonksiyonundadır (139).

Karotenoidler ( $\beta$  - karoten, Lutein, Violaksantin, Likopen, Zeaksantin), genel olarak sarı ve turuncu renkli bileşiklerdir. Bazı bakteri ve alglerde, çoğunlukta ise bitkilerde bulunan bu pigmentlerin biyosentezini, insan ve hayvanlar yapamadıkları için diyet ile alırlar. Karotenoidler, lipid membranlara lokalize olup membranların oksidatif strese karşı etkisini eksiltirler (145).

##### 2.7.1.5.2. Glutatyon (GSH)

Glutatyon karaciğerde genetik bilgi olmaksızın sentezlenebilen, sistein, glutamik asit ve glisinden oluşan güçlü bir antioksidan ve bir tripeptittir. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyon oluşturup hücreleri oksidatif hasardan korurlar (17, 146).

##### 2.7.1.5.3. E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol)

Oldukça güçlü bir antioksidan olan Vitamin E, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikalın zararından koruyan ilk savunma şeridini teşkil eder (147). Yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka bu moleküle



antioksidan olma özelliğini verir (148). Vitamin E; singlet oksijeni, süperoksit ve hidroksil radikallerini, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri azaltmada oldukça etkilidir ve zincir kırıcı antioksidan ismiyle anılır. Glutasyon peroksidaz oluşturan peroksitleri ortadan kaldırırken, vitamin E peroksitlerin üretimine engel olur (143).

#### **2.7.1.5.4. C vitamini (askorbik asit)**

Vitamin C, organizmada hidroksilasyon reaksiyonların bir çoğunda indirgeyici ajan görevinde ve kollajen üretiminde lizin, prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Safra asitlerinin üretimindeki 7 -  $\alpha$  - hidroksilaz ilk aşamasında görevli olmakla beraber lizinden karnitin üretiminde de rolü vardır. Demirin emilmesinde enzimatik olmayan bir yolla indirgeyici görevdedir. Aynı zamanda mide bulunan ferri demiri ferro demire indirger, immünite ve yara iyileşmesinde de etkindir (139).

Vitamin C, oldukça etkili indirgeyici özelliğinden dolayı güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ve hidroksil radikaliyle reaksiyon oluşturup onları buldukları alandan yok eder. Askorbik asitin hem antioksidan hem de oksidan etkisi bulunur. Ayrıca proteine bağlı olan ferri demiri uzaklaştırıp veya direkt ferri demiri indirgeyip Fenton tepkimesinde  $H_2O_2$  ile etkileşmesine ve son basamakta hidroksil radikali meydana getirmeye uygun ferro demir haline getirir. Ancak bu etkinin oluşması için sadece düşük konsantrasyonda gerçekleşmesi gerekir, çünkü yüksek konsantrasyonlarda C vitamini güçlü antioksidan özelliğindedir. C vitamini fagositoz olduğu zamanda oldukça önemlidir (36).

#### **2.7.1.5.5. Melatonin**

Melatonin (N - asetil- 5 - metoksitriptamin), en zararlı radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran çok etkili bir antioksidan olduğu için günümüzde antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilir. Lipofilik özellikte olan melatonin antioksidanı hücrenin diğer organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan / beyin bariyerlerini de rahatlıkla geçebilir. Bu şekilde geniş bir dağılımla antioksidan etki gösterir. Melatoninin hücre çekirdeğine girebilme özelliği, onun DNA' yı oksidatif hasardan koruması yönünden diğer oksidanlara göre daha etkili bir antioksidandır. Melatonin, DNA hasarını oldukça etkili bir şekilde inhibe ettiği belirtilmiştir. Yaşlanmanın etkisiyle birlikte melatonin sentezinde de azalma meydana gelir. Bu durum da yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı şekilde hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olabileceği saptanmıştır (139).

#### 2.7.1.5.6. Seruloplazmin

İhtimal şudur ki; Seruloplazmin SOD' a benzeyen mekanizmayla etki gösterir. Ferro demiri ( $Fe^{+2}$ ) ferri demire ( $Fe^{+3}$ ) yükseltgeyip Fenton tepkimesini ve bu şekilde hidroksil radikali üretimini inhibe etmektedir (139).

#### 2.7.1.5.7. Flavonoidler

Biyolojik sistemlerde yer alan aerobik metabolizma bazal şartlarda bile prooksidanlar ismiyle anılan reaktif oksijen ürünlerini oluştururlar (141). Zira prooksidanlar çok fazla bulunursa oksitatif stres ya da oksitatif hasar meydana gelir. Günümüzde, eksojen kaynaklı antioksidanların pek çoğu yaygın bir şekilde kullandığımız gıdalarda bulunur (128).

Bunlar; bazı vitaminler, polifenoller, flavonoidler ve diğer bileşikleri içeriğinde bulundurur. Flavonoidler antioksidan özellikleriyle birlikte antialerjik, antiviral, antiinflamatuar, antitrombotik ve diğer özelliklere de sahiptir (149,150).

Flavonoidler antioksidan özelliklerini oluşturmak için serbest radikaller ile tepkimeye girip onları etkisiz hale getirirler. Flavonoidlerin etki mekanizmaları:

- a) Süperoksit radikali, singlet oksijeni ve hidroksil radikalini yok eder.
- b) Peroksil radikalini ( $ROO\bullet$ ) ve alkoksil radikalini ( $RO\bullet$ ) tutar, lipid peroksil ( $LOO\bullet$ ) zincirini ise koparır.
- c) Lipooksijenaz ve siklooksijenaz enzimlerini etkisiz hale getirir.
- d) Geçiş metalleri olan bakır ve demir gibi metalleri şelatlar.
- e) Enzim fonksiyonlarına bağımlı olan kalsiyum modinasyonu ile hücrel regülasyonda etkili görevi bulunan az bir asidik protein olan kalmodülünü etkisizleştirir.
- f) Protein kinaz enzimini etkisiz hale getirir.
- g) Laktat transportunu mani olur (126).

#### 2.7.1.5.8. Ürik asit (ürat)

Normal plazma konsantrasyonunda ürat; hidroksil, peroksit, süperoksit radikalleri ve singlet oksijeni ortamdanda yok eder. XO' nun oksid ürünleri (ksantin, hipoksantin gibi) oksitlemesi sonucunda oluşan Ürik asit, insanlarda ve gelişmiş primatlarda pürin metabolizmasının son ürünüdür. Vitamin C oksidasyonuna engel olan bir özelliğe sahipken, lipid radikalleri üzerine herhangi bir etkisi yoktur. Bilirubin, süperoksit ve hidroksil radikalleri toplayıcısı etkisine sahiptir. Ayrıca albümin lipit hidroksiperoksitleri ve HOCl' unda toplayıcısı özelliğindedir. Bu fonksiyonlar da ürik asitin antioksidan özelliğe sahip olduğunun belirtecidir (139).

#### **2.8. Çiriş Otu (*Asphodelus aestivus* L.)**

Halk arasında Çiriş otu ya da yabancı pırasa (*Asphodelus aestivus* L.) gibi isimlerle de anılan bu bitki; hemoroid, romatizma, adet söktürücü, idrar söktürücü, saçkıran, süt artırıcı, egzama, sivilce ve çibanların tedavisinde ilaç olarak kullanıldığı belirtilmektedir (151). Aynı zamanda çiriş otunun maya endüstrisinde, ciltçilik ve ayakkabıcılıkta yapıştırıcı, Erzurum bölgesinde ehram kumaşına sertlik ve parlaklık vermek için kullanıldığı tespit edilmiştir (151). Çiriş otunun kök, çiçeklenen gövde ve tohumları besin şeklinde, yaprakların ise yemek ve konserve şeklinde kullanılmaktadır (153). Ayrıca İtalya' da "Rignano Garganico" peynirinin üretiminde yapraklarından faydalandığı tespit edilmiştir. Çiriş otundan halen, otlu peynir yapımında yararlanılmaktadır. Ancak bu bitki ile ilgili modern tıpta kullanıldığına dair herhangi bir veri bulunamamıştır (152). Çiriş otunun beyaz kan hücrelerini (WBC) artırdığı ve bundan dolayı savunma sistemimiz açısından oldukça önemli bir özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (152). Dahası çiriş otunun antimikrobiyal etkisi olduğu da saptanmıştır (154, 155). Bir başka çalışmada çiriş otunun antioksidan etki gösterdiği görülmüştür (156). Fikret Karataş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise çiriş otunun C vitamini yönünden oldukça zengin GSH ve B3 vitamini miktarlarınca oldukça zengin olduğu saptanmıştır (157).



**Resim 1:** Çiriş otu (158, 159).

Çiriş (*Asphodelus aestivus* L.) otu yapraklarının kimyasal bileşimi araştırmalarına bakıldığında; % 1.14 - 1.27 protein, % 86 - 92 su ve % 0.8 - 1.1 kül içerdiği, K, P, Ca, Zn ve Mg bakımından zengin olduğu görülmüştür. K, P, Ca, Zn ve Mg bir yetişkinin günlük ihtiyacını karşılayabileceği ve antioksidan seviyesinin yüksek olduğu bilinmektedir (160). Glikoz, mannoz, fruktoz ve sukroz da çiriş otunun ana bileşeni olan yumrularında tespit edilmiştir (161). Başka bir çalışma da ise çiriş otu ekstraktlarının kuvvetli antioksidan aktivite gösterdikleri ve doğal antioksidanların potansiyel bir kaynağını oluşturabileceği bulunmuştur (161).

### 3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada üç aylık 250 - 300 gram ağırlığında 24 adet üç aylık Wistar- Albino cinsi dişi sıçan (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı) kullanıldı. Ratlar, % 45 - 50 nem oranı,  $22 \pm 2$  °C oda ısısında tutularak ışık düzeni 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı. Ratlar oda sıcaklığında, bir kafeste sekizer tane olmak üzere temiz bir ortamda, standart laboratuvar koşullarında, pellet yem kullanılarak bakıldı. Deney işleminde yem ve su serbest bırakıldı. Deneyin sonunda sakrifiye edildiğinden postoperative bakım gerekmedi. Sıçanların genel fizyolojik bilgileri Tablo 3' te verildi.

10.10.2018 tarihli 04 sayılı Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul İzni ile başlayan çalışmamız süresince hayvan hakları ile ilgili NIH tarafından belirlenen 'Hayvan Haklarının Korunması' hususundaki esaslara dikkatle uyuldu.

**Tablo 3:** Sıçanların Fizyolojik Değerleri.

Ortalama Yaşam	3 - 4 yıl
Ağırlık	250 - 300 g
Beden ısısı	37.5 °C
Solunum sayısı	100 - 150 / dk.
Kan basıncı	80 - 130 mmHg
Kan hacmi / vücut ağırlığı	1 / 20
Kalp ritmi	200 - 360 (240) / dk
Hemoglobin	16 - 19
Hematokrit	0.1g / 100 ml
Sodyum	320 mg / 100 mg
Potasyum	17.5 - 22.0 mg / 100ml

#### 3.1. Deney Grupları

Denekler rastgele seçimle 3 gruba ayrılarak çalışma grupları oluşturuldu. Deneklere anestezik olarak ketamine (50 mg / kg) intrmüsküler injeksiyon ile uygulandı.

**Grup - 1 (n= 8): İ / R grubu.** Sadece iskemi reperfüzyon uygulanan grup. Deneklerde uygulanan anestezi ve cerrahi işlemden sonra mesane de 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon oluşturuldu.

**Grup - 2 (n= 8): Sham grubu.** Deneklere uygulanan anestezi ve cerrahi işlemden 24 saat öncesinde bir kez 1 mL serum fizyolojik (% 0,9 NaCl) gavaj yöntemiyle verilmeye başlandı. Cerrahi işlemden sonra mesane de 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon oluşturuldu. Reperfüzyon takibinde tekrar (tek doz) serum fizyolojik verildi.

**Grup - 3 (n= 8): Tedavi grubu.** Deneklere uygulanan anestezi ve cerrahi işlemden 24 saat öncesinde bir kez 50 mg / kg / gün çiriş otu ekstratı gavaj yoluyla verilmeye başlandı. Cerrahi işlem akabinde uygulanan 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon sonrası 50 mg / kg / gün (tek doz) çiriş otu ekstratı verildi.

### **3.2. Cerrahi Yöntem**

Çalışma KSÜ Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Sıçanlar tek tek tartılarak her birine intramüsküler olarak 50 mg / kg dozunda ketamin hidroklorid (Ketalar flakon, Eczacıbaşı Türkiye) verilerek anestezi uygulandı. Kesim işlemini kolaylaştırmak için, sıçanlar işlem yapılacak tezgaha sırtüstü yatırılıp dört ayağından flaster ile yapıştırıldı. Anestezi sonrası median abdominal laparotomi yapıldı. Daha sonra mesaneye ulaşılarak abdominal aort bir klemp yardımıyla kapatılarak, laparotomi insizyonu kapatıldı ve yarım saatlik bir iskemi oluşturuldu. İskemi süresinden sonra, laparotomi insizyonu tekrar açıldı, klemp çıkarıldı ve 30 dakika süreyle reperfüzyon sağlandı. Daha sonra laparotomi insizyonu tekrar kapatıldı. Cerrahi işlem sonrası tüm gruplardaki sıçanların mesanesine 30 dakika iskemi 30 dakika reperfüzyon uygulandı.

Deney sonunda, çıkarılan mesane dokusu iki eşit parçaya bölünerek bir parçası formaldehit içerisinde histopatolojik analiz için, diğer parçası ise biyokimyasal parametrelerin analizi için uygun koşullarda saklandı. Histopatolojik değerlendirmeler KSÜ Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Patoloji Ana Bilim Dalında, biyokimyasal değerlendirmeler ise KSÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalında yapıldı.



**Resim 2:** Mesane iskemi - reperfüzyon çalışması 1.



**Resim 3:** Mesane iskemi - reperfüzyon çalışması 2,3.





**Resim 4:** Mesane iskemi - reperfüzyon çalışması 4,5.

### 3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tez çalışmamızda kullanılan kimyasal malzemeler Tablo 4' de sunuldu.

**Tablo 4:** Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler.

Malzeme Adı	Kimyasal adı	Markası
1, 2, 3, 3 tetrametoksiopropan		Sigma
Bakır sülfat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Sigma
2 - [2 - Tiyobarbitürik asit]	TBA	Merck
Etilendiamin tetraasetik asit	$\text{Na}_2\text{EDTA}$	Sigma
Disodyum hidrojen fosfat	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	Merck
Sodyum dihidrojen monofosfat	$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	Merck
Dipotasyum hidrojen fosfat	$\text{K}_2\text{HPO}_4$	Merck
Potasyum dihidrojen fosfat	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Merck
Folin - Ciocalteu	Fenol ayıracı	Sigma



Hidrojen peroksit	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Merck
Lauril sülfat	SDS	Sigma
N - Butanol	1 - Butanol	Merck
Piridin		Merck
Sodyum hidroksit	NaOH	Merck
Sodyum karbonat	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Merck
Sodyum klorür	NaCl	Merck
Sodyum potasyum tartarat	Na- K tartarat	Sigma
Tris baz		Sigma
Tris hidroklorit	Tris - HCl	Sigma
B - Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat	B - NADPH	Sigma
Hidroklorik asit	HCl	Merck
Formaldehit	HCHO	Sigma
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	Sigma
Asetik Asit	CH <sub>3</sub> COOH	Sigma
Ksantin		Sigma
CAPS		Sigma
Ksantin oksidaz		Sigma
Iodonitrotetrazolium klorür	INT	Sigma

### 3.4. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- \* Derin Dondurucu ( Samsung )
- \* pH metre ( Hanna Instruments )
- \* Hassas Terazı ( Radwag )
- \* UV Spektrofotometre ( Shimadzu )
- \* Buz Makinesi ( Scotsman )
- \* Distile su cihazı ( Merck )
- \* Manyetik Karıştırıcı ( Mtops )
- \* Cam Kalemı
- \* Fotoğraf makinesi
- \* Hayvan Kafesi
- \* Homojenizatör düzeneği

- \* Kronometre
- \* Lam
- \* Lamel
- \* Mezür (25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml)
- \* Mikroskop
- \* Operasyon Takımı
- \* Otomatik pipet, pastör pipeti
- \* Soğutmalı santrifüj ( Hettich )
- \* Su Banyosu
- \* Vorteks

### 3.5. Homojenat Hazırlama

Dokuların homojenize işlemine geçmeden önce 1 g mesane dokusu üzerine 9 mL (ağırlık / hacim) % 1,15 KCl çözünme sağlamak için eklendi. Dokular 16.000 devir / dakika hızda 3 dk süresince homojenize edildi. Enzim aktive kaybını önlemek için örnekler buz dolu küvete yerleştirildi. Sonrasında homojenatlar + 4 °C' de 14000 rpm' de 30 dakika santrifüj edildi ve üstteki süpernatantlar alındı ve ependorf tüplere ayrıldı. Ayrılan süpernatantlardan protein, SOD ve CAT enzim aktivesi ile MDA düzeyleri ölçümleri yapıldı.

### 3.6. Protein Düzeyinin Tayini

Bu metot proteinlerin içerdiği trozin ve triptofan rezidülerinin fosfotungustik – fosfomolibdik asit ile verdiği renk reaksiyonunun spektrofotometrik yöntemle 750 nm' deki absorban ölçümüne dayanmaktadır.

#### Ayırıcılar

1. A çözeltisi:

% 2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>                      2 g hazırlanır

0,1 N NaOH ile 100 ml' ye tamamlanır.

2. B Çözeltisi: B<sub>1</sub> ve B<sub>2</sub> çözeltilerinden oluşur.

a) B1 Çözeltisi:

% 1 CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O              1g hazırlanır

Saf suyla 100 ml' ye tamamlanır.

b) B2 Çözeltisi:

% 2 Na - K tartarat              2 g hazırlanır. Saf suyla 100 ml' ye tamamlanır.

3. C Çözeltisi (Günlük hazırlanır)

50 ml A + 1 ml B (0,5 ml B<sub>1</sub>+ 0,5 ml B<sub>2</sub>) karıştırılır.

4. D Çözeltisi (Günlük hazırlanır)

Folin Cioacaltea 1: 1,5 (v / v) oranında saf su ile sulandırılır (162).

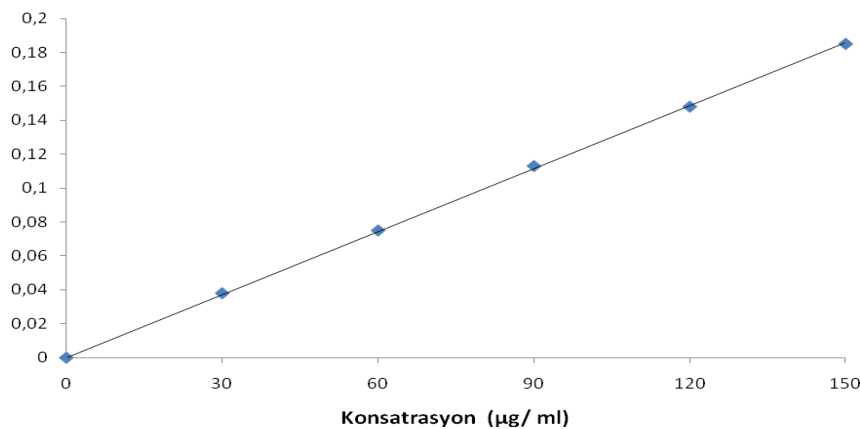
**Standart Eğrinin çizimi**

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 absorbanslar kaydedilir. Bu verilere göre konsantrasyon-absorbans eğrisi çizilir ve her numune ölçümünde standart eğri tekrarlanır (şekil 12).

**Tablo 5 :** Protein standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı.

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 12:** Protein standart eğrisi.

### Doku Örnek Çalışması

Mesane dokularından hazırlanan süpernatantta 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.

**Tablo 6 :** Doku örneğinde protein tayini için tüplerin hazırlanışı.

	<b>Kör (ml)</b>	<b>Standart (ml)</b>	<b>Örnek (ml)</b>
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.

### 3.7. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Tayini

Aerobik şartlarda pH 3.40' de tiyobarbitürik asit (TBA) ile örneğin 90 - 95 °C' de inkübasyonu sonucu oluşan lipit 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 (163).

#### Ayırıcılar

1. SDS % 8,1' lik

Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)

2. Asetik Asit % 2 0' 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 g / ml)

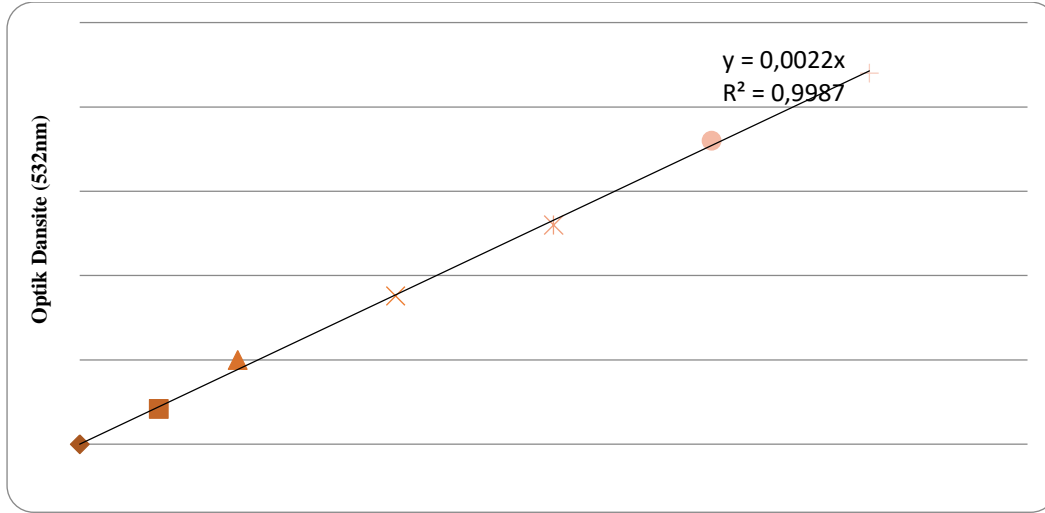
### Standart Eğri Çizimi

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 (163).

**Tablo 7:** MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı.

Tüp No.	0 0	1	2	3	4	5	6
Konsantrasyon (nmol / ml)		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 13) (163).



**Konsantrasyon(nmol / mL)**

**Şekil 13 :** 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 8’ de gösterilmiştir (Tablo 8).

**Tablo 8:** Dokuda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı.

	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 (v : v 15 / 1 oranında)	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 (163).

### Hesaplanması

nmol / ml olarak ölçülen MDA düzeyi nmol / mg protein olarak verilmiştir.

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

### 3.8. Süperoksit Dismutaz (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 ortamdan uzaklaştırarak 2 numaralı formazan reaksiyonunu inhibe eder. Sonuçta oluşan kırmızı rengin OD' si SOD yokluğunda oluşan renge göre azalır, buaradaki farkın belirlenmesiyle de SOD aktivitesi ölçülür (140).

#### Ayrıçlar

#### 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 0.00152 g

INT 0.00253 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 MFosfat tamponu (pH: 7 ayarlanır)

Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 54.91 mg

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.58 mg

Saf su ile 100 ml' ye tamamlanır.

1. 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 9' deki gibi hazırlanır. 2 - 8 °C' de saklandığında 2 hafta süreyle dayanıklıdır (140).

**Tablo 9:** SOD standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı.

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, kalp doku hücrelerinden hazırlanan süpernatantlar % 30 ile % 60 arasında % inhibisyon aralığı olacak şekilde 0.01 M fosfat tamponu ile 1 : 65 (640 mikrolitre tampon, 10 mikrolitre örnek) oranında sulandırılır ve aktivite tayini yapılır (140).

**Tablo 10:** SOD standart eğri çizimi için kuvars küvetlerin hazırlanışı.

	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 absorbansları (A<sub>1</sub>) okunur. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbansları (A<sub>2</sub>) tekrar okunur (140).



## Hesaplama

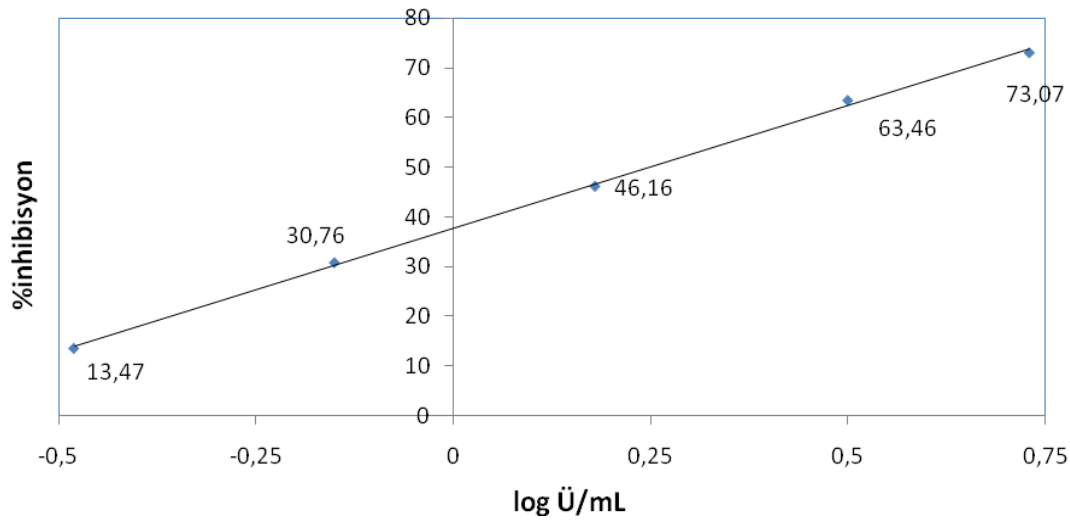
Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edilir ve değeri % 100 olarak alınır. Tüm standartlar için % inhibisyon değeri bunlara ait çalışma körüyle oranlanarak hesaplama yapılır (140).

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

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

$\Delta A$  çalışma körü

Hesaplama yapıldıktan sonra x yatay eksenine SOD derişimlerinin ( $\ddot{U}$  / ml) logaritmik dönüşüm değeri, Y (dikey) eksenine standartlara ait % inhibisyon değeri yazılarak standart eğri elde edilir (şekil 14).



Şekil 14: SOD standart eğrisi.

## Örnek Çalışması

Tablo 11: Dokuda SOD aktivite tayini için kuvars tüplerin hazırlanışı.

	Kör ( $\mu\text{L}$ )	Standart( $\mu\text{L}$ )
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 absorbans ( $A_1$ ) okunur. 3 dakika sonra absorbans ( $A_2$ ) tekrar okunur.

### Hesaplama:

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

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

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 .

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

### 3.9. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini

Katalaz,  $H_2O_2$ ' nin yıkımını katalize eder.  $H_2O_2$ ' nin CAT tarafından yıkım hızı,  $H_2O_2$ ' nin 230 nm' de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülebilir (164).

#### Ayırıklar

1. 1M Tris - HCl, 5mM  $Na_2$  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

$K_2HPO_4$  6.723 g

$KH_2PO_4$  8.344 g

Saf su ile 100 ml' ye tamamlanır.

3. 10 mM  $H_2O_2$

% 30' luk peroksitten 10 µl alınır ve 9.990 µl saf suyla tamamlanır.

4. Etanol (% 95' lik)

## Yöntem

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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 OD<sub>1</sub> olarak kaydedilir. Daha sonra aynı küvete hazırladığımız 10 mM' lık peroksitten (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 100 µl koyulur ve tekrar okuma yapılır absorbans değeri OD<sub>2</sub> olarak kaydedilir. OD<sub>2</sub> - OD<sub>1</sub> = 0.071 olmalıdır. Bu değer bulunduktan sonra hazırlanan peroksidin konsantrasyonu tam 10 mM' dır denilir ve deneye aşağıda gösterildiği gibi başlanır (164).

**Tablo 12:** Dokuda CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı.

	Kör (µl)	Numune (µl)
1M Tris - HCl, 5mM Na <sub>2</sub> EDTA tamponu, pH 8.0	50	50
10 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-	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 : 50 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 (164).

### 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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.

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

### **3.10. Histopatolojik Değerlendirme**

Histopatolojik inceleme için, dokular % 10' luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Örneklerin tümü doku takip cihazında rutin takibe alınarak parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom ile her doku örneği için 5 µm' lik seri kesitler hazırlanarak Hematoksilen-Eozin (H & E) boyası ile boyandı. Çalışma, aynı patolog tarafından hangi doku örneğinin hangi gruba dahil olduğunu bilmeden ve doku örnekleri içinden rastgele seçim yapılarak gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu ile histopatolojik incelemeye tabi tutuldu. Gruplar; epitel deskuamasyon, inflamatuvar etki, konjesyon ve müköler hipertrofi olarak değerlendirildi.

### **3.11. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analizin yapılmasında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 20 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

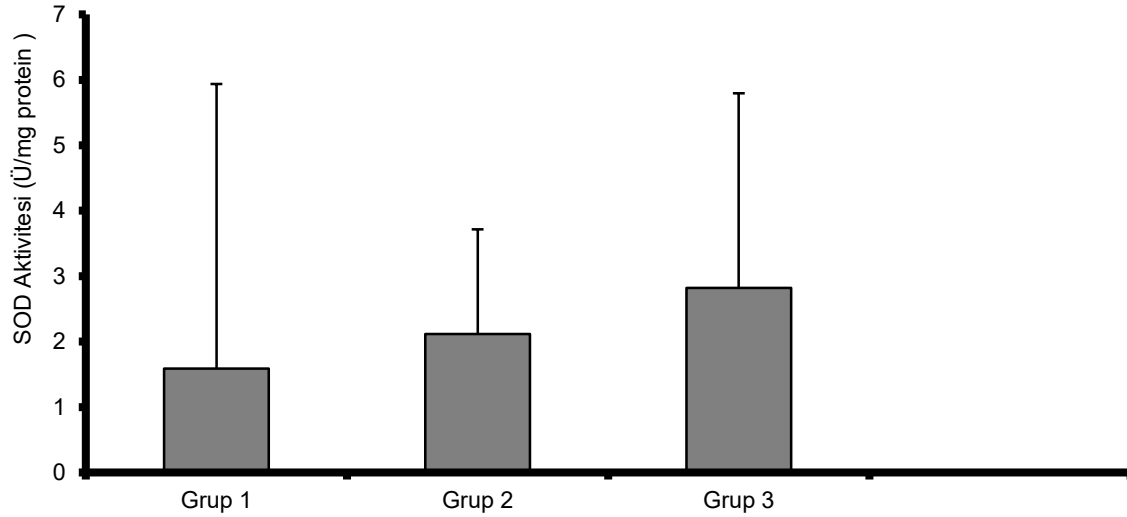
### 4.1. Mesane Dokusundaki SOD Aktiviteleri

Gruplar arasındaki mesane dokusundaki SOD aktiviteleri Tablo 13 ve Şekil 15’ de verilmiştir.

**Tablo 13:** Gruplar arası SOD bulguları.

	n	Ort $\pm$ SD	Min - Max
Grup 1 (İ / R grubu)	8	2,34 $\pm$ 0,83*	1,13 – 3,58
Grup 2 (Sham grubu)	8	3,13 $\pm$ 0,91*	1,81 – 4,32
Grup 3 (Tedavi grubu)	8	3,76 $\pm$ 1,87*	1,21 – 6,11

\* SOD aktivitesi İ / R grubunda düşmüştür. Ancak, SOD aktivitesi gruplar arasında [grup 1-2 arasında ( $p = 0,273$ ), grup 1 - 3 ( $p = 0,153$ ) ve grup 2 - 3 arasında ( $p = 0,570$ )] istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermemektedir ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 15:** Gruplar arası SOD düzeyleri.

### 4.2. Mesane Dokusunda MDA Düzeyleri

Tüm gruplardaki sıçanların mesane dokusundaki MDA düzeyleri Tablo 14 ve Şekil 16’ de

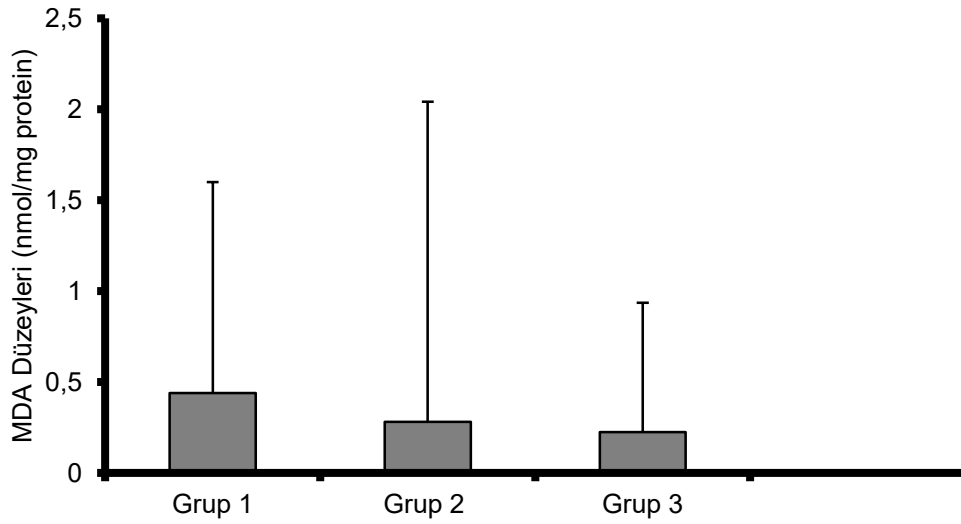
verilmiştir.

**Tablo 14:** Gruplar arası MDA bulguları.

	N	Ort $\pm$ SD	Min - Max
Grup 1 (İ / R grubu)	8	0,71 $\pm$ 0,16*	0,50 – 0,98
Grup 2 (Sham grubu)	8	0,45 $\pm$ 0,11**	0,29 – 0,54
Grup 3 (Tedavi grubu)	8	0,44 $\pm$ 0,08**	0,35 – 0,55

\* Grup 1’ de MDA düzeyleri Grup 2 ve 3’ e kıyasla anlamlı derecede ( $p = 0,028$  ve  $p = 0,010$ ) artmıştır ( $p < 0,05$ ).

\*\*MDA düzeyleri Grup 2 ve 3 arasında ( $p = 0,626$ ) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermemektedir ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 16:** Gruplar arası MDA düzeyleri.

### 4.3. Mesane Dokusunda CAT Aktivitesi

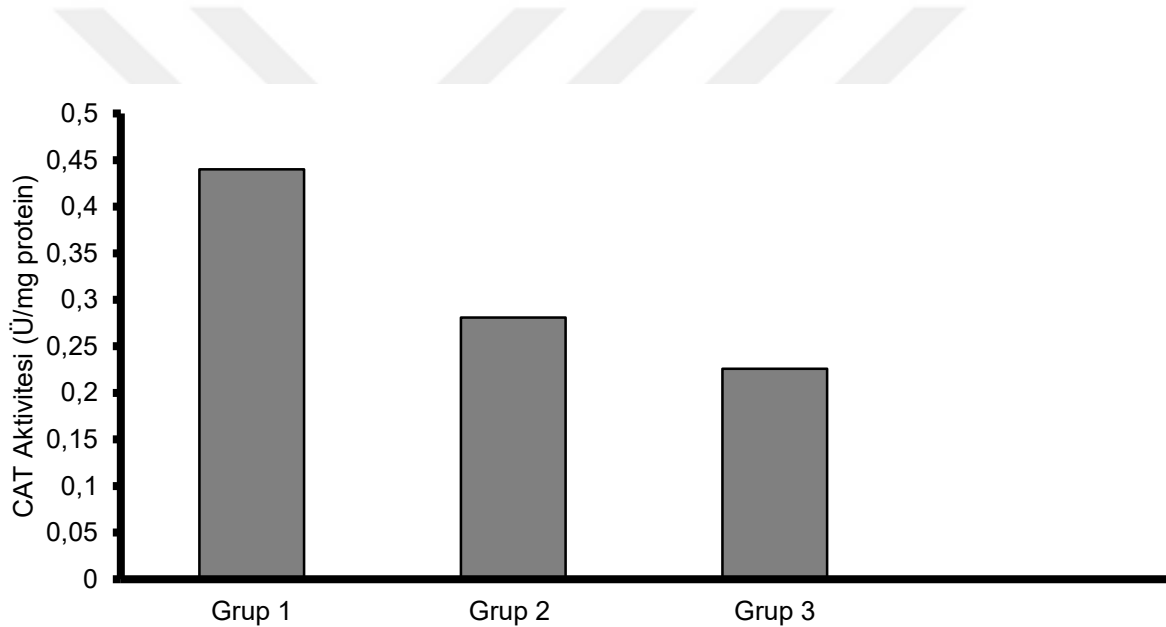
Tüm gruplardaki sıçanların mesane dokusundaki MDA düzeyleri Tablo 15 ve Şekil 17’ de verilmiştir.

**Tablo 15:** Gruplar arası CAT bulguları.

	n	Ort $\pm$ SD	Min-Max
Grup 1 (İ/ R grubu)	8	0,012 $\pm$ 0,001*	0,01 – 0,01
Grup 2 (Sham grubu)	8	0,054 $\pm$ 0,009**	0,04 – 0,07
Grup 3 (Tedavi grubu)	8	0,056 $\pm$ 0,018**	0,03 – 0,08

\* Grup 1' de CAT aktivitesi Grup 2 ve 3' e kıyasla anlamlı derecede ( $p = 0,006$  ve  $p = 0,003$ ) düşmüştür ( $p < 0,05$ ).

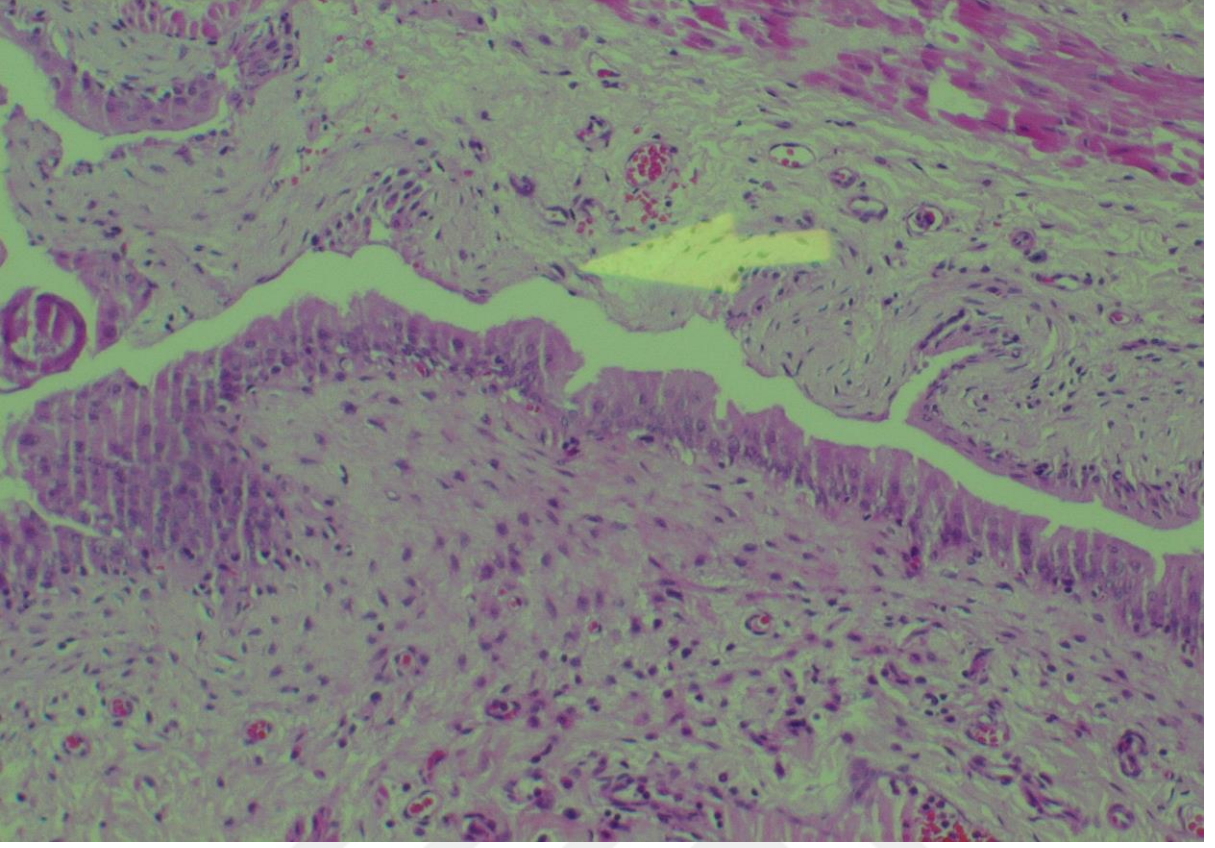
\*\*CAT aktivitesi Grup 2 ve 3 arasında ( $p = 0,685$ ) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermemektedir ( $p > 0,05$ ).



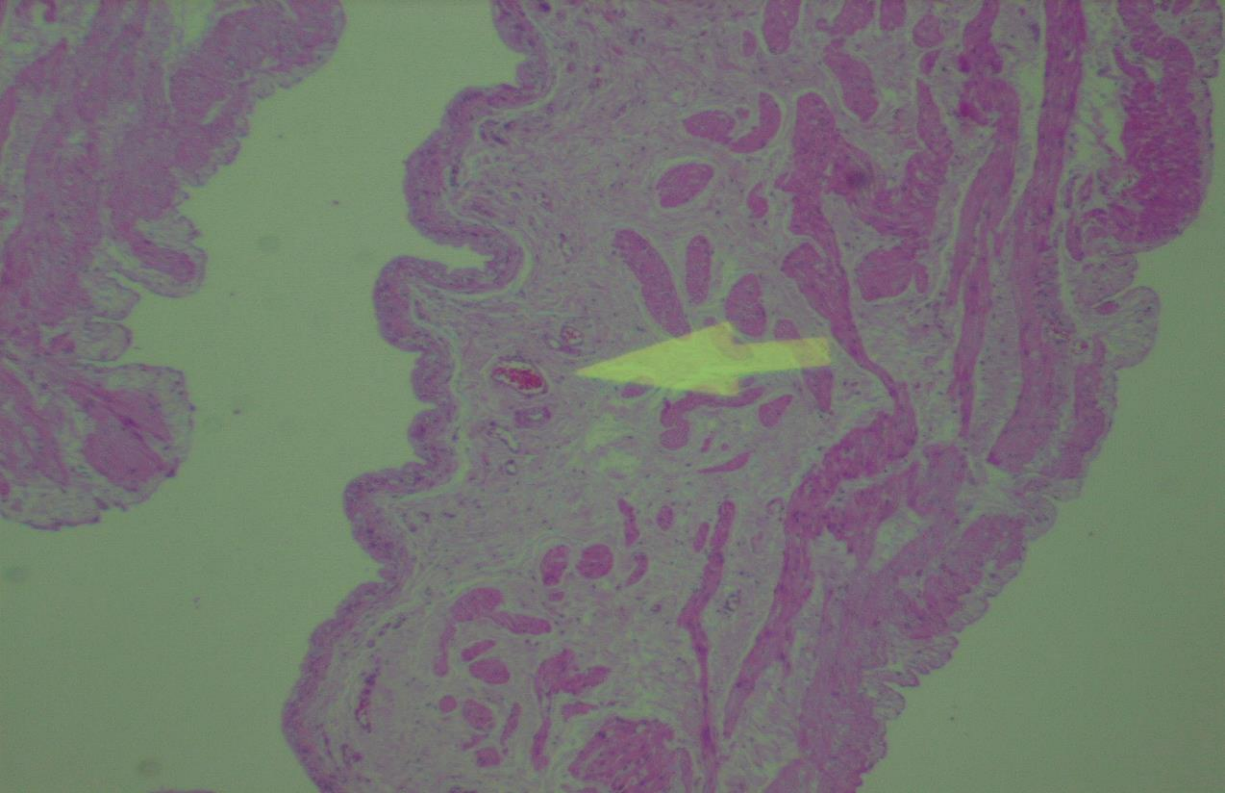
**Şekil 17:** Gruplar arası CAT düzeyleri.

#### 4.4. Histopatolojik Bulgular

İ / R grubunda; konjesyon, epitelin deskuamasyonu, mürküler hipertrofi ve enflamasyon (ödem) gözlemlendi (Resim 5). İ / R + SF grubunda; konjesyonda azalma meydana geldiği tespit edildi (Resim 6). İ / R + çiriş otu grubunda ise konjesyon, mürküler hipertrofi, enflamasyon ve epitelin deskuamasyonunda anlamlı şekilde azalma meydana geldiği görüldü (Resim 7).

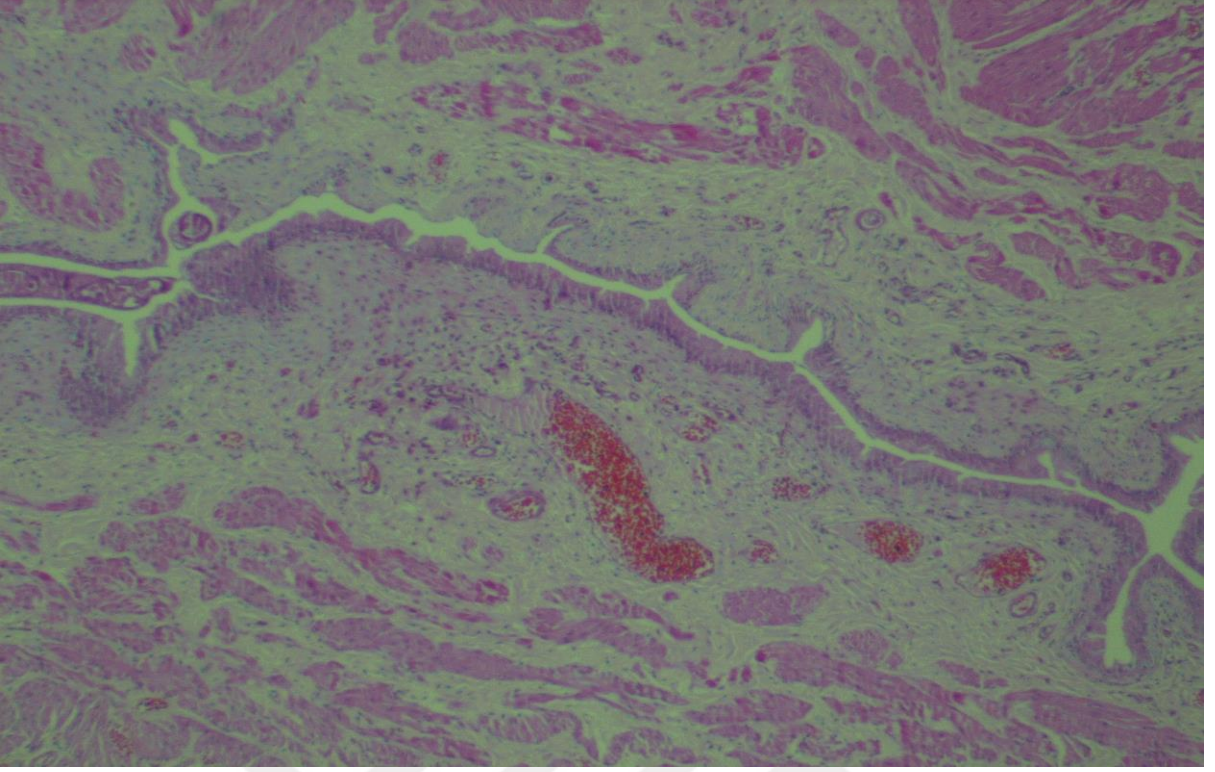


**Resim 5:** Lümen açıklığında epitel deskuamasyon görüntüsü.



**Resim 6:** Yüzey epitelinin altında bulunan bölgede müsküler hipertrofi oluşumu.





**Resim 7:** Konjesyon (küçük damar yapılarının oluşumu), enflamasyon görüntüsü.

## 5.TARTIŞMA

İskemi, bir organa gelen kan akımının farklı nedenlerden kaynaklı yetersiz duruma gelmesi ya da durmasıdır. Reperfüzyon ise iskemiye neden olan etkenin ortadan kaldırılıp dokuya kan akımının tekrardan başlamasıdır (126). Mesane reperfüzyon hasarı, uzun süren iskemiye takiben reperfüzyon esnasında oluşan hasardır. İskemik dokuda kan akımının tekrardan başlamasıyla, özellikle dokuya gelen ve yerleşen polimorfnükleer lökositlerce ortama salınan serbest oksijen radikali dokudaki yıkımı artırıcı etki gösterir. İ / R hasarı birçok patofizyolojik süreç içeren oldukça karmaşık bir süreçtir. Birçok çalışmada SOR' nin İ / R hasarında lipit peroksidasyonunu başlatıp hasar oluşmasında önemli görevi olduğunu tespit etti (165). SOR canlıdaki biyomoleküllerle reaksiyon oluşturup dokudaki hasarın artışa neden olur (143). Geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda; enzimatik ve nonenzimatik mekanizmalar ile SOR' un etkilerini ortadan kaldıran maddelerin işlevleri deneysel ve klinik olarak gösterilmiştir.

SOR' un oluşumu ve oluşturdukları hasarı engellemek için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar “Antioksidan savunma sistemleri” ismiyle bilinmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyip ve / veya serbest oksijen radikallerini toplayarak lipit peroksidasyonunu ortadan kaldırır (166). Bütün organizmaların savunma mekanizmasında etkili olan antioksidan enzimlere; CAT, SOD, GPx ve kimyasal bileşiklere de; askorbik asit,  $\alpha$  - tokoferol, karatenoid şeklinde örnekler verilebilir. Antioksidan savunmada ilk olarak etkisi bulunan enzimatik antioksidanlardır (167). CAT, SOD, GPx çok önemli olan antioksidan savunma mekanizmalarıdır. Bu enzimler düzenli hücre metabolizmasının kontrolü açısından oldukça önemlidir (150). Enzimatik antioksidanlar kadar olmasa dahi bitkisel kaynaklı olan antioksidanların da oksidatif hasara karşı koruyucu etkide olduğu bilinmektedir (167). Antioksidan savunmada öncelikli etkisiye sahip enzimatik antioksidanlar olup bunlar; CAT, SOD, GPx ve GR gibi enzimlerdir (139). SOD, süperoksit radikalini  $H_2O_2$ 'ye katalizlerken,  $H_2O_2$  de GPx ve CAT tarafından moleküler oksijene ve suya indirgenir. Bu nedenlerden dolayı CAT, SOD ve MDA düzeylerinin ölçümü bize iskemi sonucunda meydana gelen SOR ile ilgili bilgi sağlar (138). Bu araştırmada meydana gelen oksidan hasarın derecesini belirlemek için ve verilen maddelerin hasarı engellemedeki başarısını görebilmek için CAT ve SOD enzim aktiviteleri çalışıldı. Hücrede oluşan serbest radikal hasarına karşı enzimatik ve non-enzimatik savunma mekanizmaları yer almaktadır. Ürik asit, A, C ve E vitaminleri, glutatyon nonenzimatik

savunma mekanizmaları arasında oldukça önemliken; CAT, SOD ve GPx enzimleri de hücre içinde işlev gören enzimatik savunma sistemleri yani radikal süpürücü olan enzimlerdir. Bunlar SOR' un meydana getirdiği oksidatif hasara engel olurlar.

Oksidatif stres, SOR miktarındaki artışla seyreden bir durumdur. Bu artış membranlarda lipid peroksidasyonuna neden olur. SOR ve lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan son ürün MDA' dır. Dolayısıyla bir dokuda MDA düzeyinin artması SOR' un arttığını gösterir (22). İ / R' ye bağlı SOR'un fazla üretilmesi, membran lipidlerinin peroksidasyonu, protein denatürasyonu ve DNA hasarını içeren çeşitli mekanizmalar yoluyla oluşan önemli oksidatif stres, hücre hasar ve nekroza yol açar (171). Birçok çalışma da İ / R maruziyetinin hücre içi SOR üretimini arttırdığını ve biyokimyasal ve fizyolojik bozuklukların oksidatif stres kaynaklı olabileceğini göstermektedir (171). İ / R' da oksidatif strese neden olarak antioksidan enzimlerin işlevlerini azalttığı ve hayati organlarda lipid peroksidasyonunu artırdığı gösterilmiştir (171). İntestinal, böbrek ve karaciğer İ / R ile aortik İ / R' nin indüklediği böbrek hasarında SOD aktivitesinin düştüğünü birçok araştırmacı tespit etmiştir (168). Mesane ile ilgili yaptığımız çalışmamızda sadece İ / R uygulanan grupta CAT ve SOD aktivitesinde belirgin bir azalmanın olması; İ / R hasarının hücre içinde superoksit anyon radikallerini arttırdığı ve antioksidan enzim yetersizliğine neden olduğunu düşündürmektedir. MDA düzeyleri hücre içerisinde oksidatif stresin göstergesidir. İ / R grubunda MDA düzeyinin artışı; İ / R' ye bağlı olarak mesane dokusunda artan SOR' un lipid peroksidasyona neden olduğu ve oksidatif hasara yol açtığını düşündürmektedir.

Antioksidanlar, günümüzde içinde buldukları besinler, yaygın kullanım özellikleri ve mesane ile ilgili bazı hastalıkları önlemede ve tedavisinde yer aldığı için ilgi çekmeye devam etmektedir. Antioksidanlar, içinde bulunduğu bir ortamda, okside edilebilen bir maddeye göre daha az bulunmasına rağmen, o maddenin oksidasyonunu önleyen veya geciktiren madde şeklinde tanımlanabilir. Antioksidanlar fizyolojik rolü, kimyasal reaksiyonlar sonucu meydana gelen serbest radikallerin dokuya zararını önlemektir (169). Çiriş otu antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (155- 157). Bu tez çalışmasında çiriş otunun antioksidan ve antimikrobiyal özelliğinden dolayı mesane dokusunda İ / R hasarına karşı koruyucu rolünü araştırıldı. Çalışmamızda İ / R hasarına karşı çiriş otu tedavisi verilen grupta SOD ve CAT enzim aktivitesinin arttığı ve MDA düzeyinin düşürdüğü gözlemlendi. Çiriş otunun hücre içinde superoksit anyon radikalının düzeyini azaltarak antioksidan enzim aktivitesini artırdığı ve MDA düzeyini düşürdüğü

kanısına varıldı. Esmâ G. ve arkadaşlarının çiriş otunda antioksidan aktivitesinin belirlenmesi ile ilgili çalışma yapmışlardır. Çiriş otu kaynatılmış su ekstresi orta derecede serbest radikal gideren doğal bir antioksidan kaynağı olduğunu ispatlamışlardır (170).

Çiriş otu ülkemizin bir çok bölgesinde yetişmektedir. Yemeği yapılarak besin şeklinde tüketilmekle birlikte farklı sektörlerde de kullanıldığını görüyoruz. Özellikle ayakkabı sektöründe yapıştırıcı olarak, Erzurum’ da ehram kumaşına sertlik vermek amacıyla kullanımı gibi farklı şekillerde karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca alternative tıpta da tercih edilen çiriş otu birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu hastalıklar; egzama, adet söktürücü, hemoroid, çıban ve romatizma gibi (10). Literatür taramalarında benzer bir çalışmayla karşılaşmadığımız için, çiriş otunun mesane İ / R hasarında elde edilen sonuçlarımızı karşılaştırmasını yapamadık. Çalışmamızda histopatolojik olarak; İ / R grubunda epitel deskuamasyonu, konjesyon, müsküler hipertrofi ve inflamatuvar bulgular gözlemlendi. Tedavi grubunda İ / R hasarının oluşturduğu bulgulara belirgin gerileme ve/veya azalma olduğu saptandı. Sham grubunda, konjesyon bulgularında azalma gözlemlendi. Sonuç olarak İ / R grubunda antioksidan enzim kapasitesinde yetersizlik ve MDA düzeyinin artışı, mesane dokusunda oksidatif hasarın oluştuğunu göstermektedir. Tedavi uygulanan grupta antioksidan enzimlerinin artışı oksidatif strese karşı hücrel bir yanıt oluştuğu ve bu şekilde MDA düzeyini düşürdüğünü düşünülmektedir. Ancak, tedavi uygulanan grupta İ / R nedeni histopatolojik ve biyokimyasal bulguların tam olarak giderilebilmesi için tedavinin aynı dozlarda fakat uzun sürelerde uygulandığında çiriş otu’nun antioksidan etkisinin tam olarak gösterebileceği kanısına varılmıştır.

Bu çalışmamızda mesane İ / R oluşturulan ratlarda meydana gelen mesane doku hasarında çiriş otunun oksidatif stres üzerine etkisini araştırıldı. Çalışmamızda 250 - 300 g arasında değişiklik gösteren Wistar Albino tipi erkek sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanı olarak sıçanların seçilmesinin nedeni ise genetik olarak insane en yakın hayvan modeli olması ve İ / R modellerinde kullanılıyor olmasından kaynaklanmaktadır. Bu amaçla, biyokimyasal parametre olarak CAT, SOD ve MDA düzeylerini ölçüp, mesane doku kesitlerinden histopatolojik değerlendirmeler yapıldı.

Sonuç olarak;

1) İ / R grubu ile sham grubu arasında SOD hariç ( $p = 0,273$ ) CAT ve MDA düzeylerinde ( $p = 0,006$  ve  $p = 0,028$ ) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı ( $p < 0,05$ ).

2) İ / R grubu ile tedavi grubu arasında SOD hariç ( $p = 0,153$ ) CAT ve MDA düzeylerinde ( $p = 0,003$  ve  $p = 0,010$ ) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı ( $p < 0,05$ ).

3) Sham grubu ile tedavi grubu arasında SOD ( $p = 0,570$ ), CAT ( $p = 0,685$ ) ve MDA ( $p = 0,626$ ) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmadı ( $p > 0,05$ ).

4) Histopatolojik olarak; İ / R grubunda epitel deskuamasyonu, konjesyon, müsküler hipertrofi ve inflamatuvar bulgular gözlendi. Tedavi grubunda İ / R hasarının oluşturduğu bulgularda belirgin gerileme ve/veya azalma olduğu saptandı. Sham grubunda, konjesyon bulgularında azalma gözlendi.

Sonuç olarak İ / R grubunda antioksidan enzim kapasitesinde yetersizlik ve MDA düzeyinin artışı, mesane dokusunda oksidatif hasarın oluştuğunu göstermektedir. Tedavi uygulanan grupta antioksidan enzimlerinin artışı oksidatif strese karşı hüresel bir yanıt oluştuğu ve bu Şekilde MDA düzeyini düşürdüğünü düşünülmektedir. Ancak, tedavi uygulanan grupta İ / R nedenli histopatolojik ve biyokimyasal bulguların tam olarak giderilebilmesi için tedavinin aynı dozlarda fakat uzun sürelerde uygulandığında iriş otu' nun antioksidan etkisinin tam olarak gösterebileceği kanısına varılmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Erdoğan T. Prof. Dr. Tibet Erdoğan Üroloji&Robotik Cerrahi, dr.@tibeterdogru.com, 2018 (ET: 17.09.2019).
2. Douzinas EE, Livaditi O, Tasoulis MK, Prigouris P, Bakos D, Goutas N, et al. Nitrosative and oxidative stresses contribute to post-ischemic liver injury following severe hemorrhagic shock:the role of hypoxemic resuscitation. PLOS ONE 2012;7:3.
3. Arkadopoulou N, Defterevos G, Nastos C, Papalois A, Kalimeris K, Papoutsidakis N, et al.Development of a porcine model of post-hepatectomy liver failure. J Surg Res 2011;170:233-42.
4. Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepaticischemia reperfusion injury and preconditioning. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2003;284:15-26.
5. Homer-Vanniasinkam S, Crinnionand JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. Eur J Vasc Endovasc Surg 1997;14:195-203.
6. Karakaya A, Babaroğlu S, Yılmaz F, Seren M, Ünal O, Özışık K, ve ark. Akut Alt Ekstremitte İskemi Reperfüzyon Sonrasında Gelişen Böbrek Hasarına İloprost ve Levosimendanın Etkilerinin Araştırılması, Damar Cer Derg 2014;23(1):34-9.
7. Savaş S, Serbest Oksijen Radikali, Gentest, www.gentest.gen.tr, 2019 (ET:17.09.2019).
8. Altınışık M. <https://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01b.pdf>, (ET:17.09.2019).
9. Steers WD(1992) Physiology of the urinary bladder. In: Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED(eds) Campbell's urology. WB Saunders, Philedelphia, pp 142-176.
10. Pourfarzad,A., Najafi, M. B. H., Khodaparast, M. H. H., Khayyat, M.H., Malekpour, A. Fractionation of Eremurus spectabilis fructans byethanol: Box– Behnken design and principal component analysis. Carbohydrate Polymers, 2014 106: 374-383.
11. Majino G, Jorris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of the cell death. Am. J. Pathol 1995; 146: 3-9.
12. Kandilci HB, Gümüşel B. Akciğerlerde iskemi-reperfüzyon hasarı ve iskemik önkoşullama, Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi 2005; 25, 35-49.
13. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. Annu Rev Med 1991; 42: 225-246.
14. Şener G, Yeğen BÇ. İskemi reperfüzyon hasarı. Klinik Gelişim ;22 (3): 5- 13, 2009.
15. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Basic Pathology. 7th edition 2003: P:6- 11,531-533.

16. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Çeviri Editörü: Uğur Çevikbaş. Temel Patoloji. Beşinci Baskı, İstanbul Nobel Tıp Kitabevi ;5:4–16,1994.
17. Howell JG, Zibari GB, Brown MF, Burney DL et al. Both ischemic and pharmacological preconditioning decrease hepatic leukocyte/endothelial cell interactions. *Transplantation* 2000;69:300–6.
18. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol* 1986 ;250: 749-53.
19. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and preventations of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-38.
20. Udassin R, Vromen A, Haskel Y. The time sequence of injury and recovery following transient reversible intestinal ischemia. *J Surg Res* 1994; 56: 221-25.
21. Olguner C, Koca U, Kar A, Karci A. Ischemic preconditioning attenuates the lipidperoxidation and remote lung injury in the rat model of unilateral lower limb ischemia reperfusion. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50: 150-5.
22. Huang SS, Wei FC, Hung LM. Ischemic preconditioning attenuates postischemic leukocyte – endothelial cell interactions role of nitric oxide and protein kinase C. *Circ J* 2006;70: 1070-5.
23. Ergül Korkmaz Y, Rat Renal İskemi Reperfüzyon Hasarı Modelinde Magnezyum Sülfatın Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması, TC. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İzmir 2003
24. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF.ox ygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. *J Clin Invest* 1984; 74: 1156-64.
25. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000; 190: 255-66.
26. Peralta C, Prats N, Xaus C, Gelpi E, Rosello-Catafau J, Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology* 1999;30:1481-89.
27. Best B. Ischemia and reperfusion injury in, cryonics. [www.benbest.com](http://www.benbest.com).
28. Özçelik N, Dursun V, Pekmezci S. Mezenter iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde Allopurinol, Süperoksit Dismutaz ve Dimetil sülfoksitin etkisi. *Kolon Rektum Dergisi* 1993;3:10-2.37.
29. Otamiri T. Oxygen radicals, lipid peroxidasyon, and neutrophil infiltration after smallintestinal ischemia and reperfusion. *Surgery* 1989;105:593-7.
30. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *British J of Surgery* 1994; 81: 637-647.

31. Terzi C, Kuzu A, Tanık A, Kale T, Aşlar K, Elhan A. Sıçanlarda intestinal iskemide profilaktik kısa ve uzun süreli yüksek doz Allopurinol kullanımının mortaliteye etkisi. *Klinik ve Deneysel Cerrahi* 2000, 8;1: 10-16.
32. Ertan T, Soran A, Kılıç M, Aşlar AK, Koç M, Cengiz Ö. Kan Malondialdehid ve total antioksidan seviyesinin(TAS) önemi. *Cerrahi Tıp Bülteni* 2001,2;4: 154-167.
33. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull* 2004;70:71-86.
34. Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2514-2523.
35. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surgical Clinics of North America* 1992;72:65-83.
36. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993;21:1376-1386.
37. Garcia-Villalon AL, Amezquita YM, Monge L, et al. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol* 2008;48:109-114.
38. Lin E, Lowry SF, Calvano SE. The systemic response to injury. Schwartz SI (ed), *Principles of Surgery*. Mc Graw-Hill 7th Edition 1999; Vol I: 13-32.
39. Mishima S, Xu D, Lu Q, Deitch EA. The relationships among nitric oxide production, bacterial translocation, and intestinal injury after endotoxin challenge in vivo. *The J Trauma: Injury, Infection, and Critical Care* 1998, 44;1: 175-1.
40. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull* 1993,49:479-480.
41. Stammberger U, Carboni GL, Hillinger S, Schneiter D, Weder W, Schmid RA. Combined treatment with endothelin- and PAF antagonists reduces posttransplant lung ischemia/reperfusion injury. *The Journal of Heart and Lung Transp* 1999, 18;9: 862-868.
42. Souza DG, Cara DC, Casalli GD, Coutinho SF, Silveira MR, Andrade SP, Poole SP, Teixeira MM. Effects of the PAF receptor antagonists UK74505 on local and remotereperfusion injuries following ischaemia of the superior mesenteric artery in the rat. *British Journal of Pharmacology* 2000; 131: 1800-1808.



43. Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Med Hypotheses* 2007;68:1363-1370.
44. Sun Z, Wang X, Lasson A, Bojesson A, Annborn M, Andersson R. Effects of inhibition of PAF, ICAM-1 and PECAM-1 on gut barrier failure caused by intestinal ischemia and reperfusion. *Scand J Gastroenterol* 2001, 36;1: 55-65 (Abstract).
45. [https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/17946/mod\\_resource/content/0/ÜRİNER%20SİSTEM.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/17946/mod_resource/content/0/ÜRİNER%20SİSTEM.pdf).
46. Mesane Hakkında Merak Ettikleriniz, Medicana hastanesi, <https://medicana.com.tr/iletisim> (son güncelleme tarihi: 25.07.2017, ET: 05.11.2019).
47. Semelka RC. Abdominal-Pelvic MRI. John Wiley & Sons, 2011.
48. Dursun N. Veteriner Anatomi II. 8. Baskı. Medisan Yayınevi, 2002.
49. Snell RS, Travill AA. Clinical Anatomy for Medical Students. *Annals of Plastic Surgery*, 1979, 2: 542.
50. Peterson CM, Goss RJ, Atryzek V. Hypertrophy of the rat urinary bladder following reduction of its functional volume. *Journal of Experimental Zoology*, 1974, 187: 121-126.
51. Evans HE, De Lahunta A. Miller's Anatomy of the Dog. Elsevier Health Sciences, 2013.
52. Şengül E, Achillea Millefolium (civanperçemi) Ekstratların ve Bazı Biyolojik Aktif Bileşiklerinin İn Vitro Ortamda Rat Mesanesi DüzKasları Üzerine Etkilerinin Araştırılması, T.C. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Doktora tezi, 2014, Erzurum.
53. Andersson KE, Arner A. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.* 2004;84:935–86. doi: 10. 1152/physrev.00038.2003.
54. Reuter VE. Urinary bladder and renal pelvis. İçinde: Stenberg SS (editör). *Histology for Pathologists*, 2. Baskı. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1997: 835- 847.
55. Uvelius B. Length-tension relations of in vitro urinary bladder smooth muscle strips. *Journal Pharmacology Toxicology Methods*, 2001, 45: 87–90.
56. Ordanez NG, Rosai J. Urinary tract. In: Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Ninth ed. Toronto. 2004.
57. Dixon JS, Gosling JA. Ultrastructure of smooth muscle cells in the urinary system. *Ultrastructure of Smooth Muscle*, Springer, 1990: 153-169.
58. Ross MH, Pawlina W. *Histology*. Lippincott Williams and Wilkins, 2006.

59. Dash RC. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology. Archives of Pathology and Laboratory Medicine, 2003, 127: 896-897.
60. Gabella G, Uvelius B. Urinary bladder of rat: fine structure of normal and hypertrophic musculature. Cell and Tissue Research, 1990, 262: 67-79.
61. Kim K, Keller TC. Smitin, a novel smooth muscle titin-like protein, interacts with myosin filaments in vivo and in vitro. The Journal of Cell Biology, 2002, 156: 101-112.
62. Michel MC, Barendrecht MM. Physiological and pathological regulation of the autonomic control of urinary bladder contractility. Pharmacology and Therapeutics, 2008, 117: 297-312.
63. Vinter-Jensen L, Uvelius B, Nexø E, Arner A. Contractile and cytoskeletal proteins in urinary bladder smooth muscle from rats treated with epidermal growth factor. Urological Research, 1996, 24: 229-234.
64. Nguyen HT, Adam RM, Bride SH, Park JM, Peters CA, Freeman MR. Cyclic stretch activates p38 SAPK2-, ErbB2-, and AT1-dependent signaling in bladder smooth muscle cells. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 2000, 279: 1155-1167.
65. Park JM, Borer JG, Freeman MR, Peters CA. Stretch activates heparin-binding EGF-like growth factor expression in bladder smooth muscle cells. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 1998, 275: 1247-1254.
66. Chen MW, Levin R, Buttyan R. Peptide growth factors in normal and hypertrophied bladder. World Journal of Urology, 1995, 13: 344-348.
67. Kushida N, Kabuyama Y, Yamaguchi O, Homma Y. Essential role for extracellular  $Ca^{2+}$  in JNK activation by mechanical stretch in bladder smooth muscle cells. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 2001, 281: 1165-1172.
68. Uvelius B. Influence of Muscle Length on the Force-Velocity Relation of  $K^{+}$ -contractures in Smooth Muscle from Rabbit Urinary Bladder. Acta Physiologica Scandinavica, 1977, 101: 270-277.
69. Arner A, Malmqvist U, Österman Å, Uvelius B. Energy turnover and lactate dehydrogenase activity in detrusor smooth muscle from rats with streptozotocin-induced diabetes. Acta Physiologica Scandinavica, 1993, 147: 375-383.
70. Chen Y, Gustafsson B, Arnqvist H. IGF-binding protein-2 is induced during development of urinary bladder hypertrophy in the diabetic rat. American Journal of

- Physiology-Endocrinology and Metabolism, 1997, 35: 297.
71. Lincoln J, Haven A, Sawyer M, Burnstock G. The Smooth Muscle of Rat Bladder in the Early Stages of Streptozotocin-induced Diabetes. *British Journal of Urology*, 1984, 56: 24-30.
  72. Uvelius B. Detrusor smooth muscle in rats with alloxan-induced diabetes. *The Journal of Urology*, 1986, 136: 949-952.
  73. Longhurst PA, Kang J, Wein AJ, Levin RM. Comparative length-tension relationship of urinary bladder strips from hamsters, rats, guinea-pigs, rabbits and cats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1990, 96: 221-225.
  74. Ekström J, Malmberg L, Wallin Å. Biochemical and functional evidence for nerve sprouting in the decentralized, hypertrophied rat urinary bladder. *Pharmacology and Toxicology*, 1987, 60: 86-89.
  75. Sjuve R, Arner A, Li Z, Mies B, Paulin D, Schmittner M, Small J. Mechanical alterations in smooth muscle from mice lacking desmin. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 1998, 19: 415-429.
  76. Birder LA, de Groat WC. Mechanisms of disease: involvement of the urothelium in bladder dysfunction. *Nature Clinical Practice Urology*, 2007, 4: 46-54.
  77. Damaser MS, Kim KB, Longhurst PA, Wein AJ, Levin RM. Calcium regulation of urinary bladder function. *The Journal of Urology*, 1997, 157: 732-738.
  78. Brading A. The sarcoplasmic reticulum in disease and smooth muscle dysfunction: therapeutic potential. *Role of the Sarcoplasmic Reticulum in Smooth Muscle*, 2002: 244.
  79. Nishimoto T, Latifpour J, Wheeler MA, Yoshida M, Weiss RM. Age-dependent alterations in beta-adrenergic responsiveness of rat detrusor smooth muscle. *The Journal of Urology*, 1995, 153: 1701-1705.
  80. Morita T, Masuda H, Tosaka A, Ishizaka K, Tshii T and Kondo S. Sex differences in function and distribution of  $\beta$ -adrenoceptors in rabbit urinary bladder. *Journal Urology*, 1998, 159: 555-558.
  81. Michel MC, Oelke M, Peters SL. The neuro-urological connection. *European Urology Supplements*, 2005, 4: 18-28.
  82. Yoshimura N, Groat WCd. Neural control of the lower urinary tract. *International Journal of Urology*, 1997, 4: 111-125.
  83. Gabella G, Davis C. Distribution of afferent axons in the bladder of rats. *Journal of Neurocytology*, 1998, 27: 141-155. 108.

84. Kanai AJ. Afferent mechanism in the urinary tract. *Handb Exp Pharmacol*, 2011, 202: 171-205.
85. Rapp DE, Lyon MB, Bales GT, Cook SP. A role for the P2X receptor in urinary tract physiology and in the pathophysiology of urinary dysfunction. *European Urology*, 2005, 48: 303-308
86. Moffatt JD. Proteinase-activated receptors in the lower urinary tract. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2007, 375: 1-9.
87. Andersson K-E. Tachykinins: role in detrusor overactivity *European Urology*, 2006, 49: 423-425.
88. Ukai M, Yuyama H, Noguchi Y, Someya A, Okutsu H, Watanabe M, Yoshino T, Ohtake A, Suzuki M, Sato S. Participation of endogenous endothelin and ETA receptor in premicturition contractions in rats with bladder outlet obstruction. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2006, 373: 197-203.
89. Chetty N, Coupar I, Chess-Williams R, Kerr K. Demonstration of 5-HT<sub>3</sub> receptor function and expression in the mouse bladder. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2007, 375: 359-368.
90. Chopra B, Barrick SR, Meyers S, Beckel JM, Zeidel ML, Ford APW, De Groat WC, Birder LA. Expression and function of bradykinin B1 and B2 receptors in normal and inflamed rat urinary bladder urothelium. *The Journal of Physiology*, 2005, 562: 859-871.
91. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, Van Kerrebroeck P, Victor A, Wein A. Standardisation Subcommittee of the International Continence Society. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. *Neurourol Urodyn*, 2002, 21: 167-178.
92. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, Van Kerrebroeck P, Victor A, Wein A. The standardisation of terminology in lower urinary tract function: report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society. *Urology*, 2003, 61: 37-49.
93. Morrison J, Steers W, Brading A, Blok B, Fry C, De Groat W, Kakizaki H, Levin R, Thor K. Neurophysiology and neuropharmacology. *Incontinence*, 2002, 2: 85-161.
94. Wein AJ, P I (Editor) WSC, Principles of pharmacological therapy: Practical drug treatment of voiding dysfunction in the female. Raz S, WB Saunders . In *Female Urology*, 1996: 283.

95. Wood AJ, Ouslander JG. Management of overactive bladder. *New England Journal of Medicine*, 2004, 350: 786-799.
96. Restorick JM, Mundy A. The Density of Cholinergic and Alpha and B Adrenergic Receptors in the Normal and Hyper-reflexic Human Detrusor. *British journal of Urology*, 1989, 63: 32-35.
97. Hampel C, Artibani W, Espuna Pons M, Haab F, Jackson S, Romero J, Gavart S, Papanicolaou S. Understanding the burden of stress urinary incontinence in Europe: a qualitative review of the literature. *European Urology*, 2004, 46: 15-27.
98. Irwin DE, Milsom I, Hunskaar S, Reilly K, Kopp Z, Herschorn S, Coyne K, Kelleher C, Hampel C, Artibani W. Population-based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms in five countries: results of the EPIC study. *European Urology*, 2006, 50: 1306-1315.
99. Lindholm P, Lose G. Terbutaline (Bricanyl®) in the treatment of female urge incontinence. *Urologia Internationalis*, 1986, 41: 158-160.
100. Yamanishi T, Chapple CR, Yasuda K, Yoshida K-I, Chess-Williams R. Identification of  $\beta$ -adrenoceptor subtypes in lower urinary tract of the female pig. *The Journal of Urology*, 2002, 168: 2706-2710.
101. Rohner Jr TJ, Hannigan JD, Sanford EJ. Altered in vitro adrenergic responses of dog detrusor muscle after chronic bladder outlet obstruction. *Urology*, 1978, 11: 357-361.
102. Tsujii T, Azuma H, Yamaguchi T, Oshima H. A possible role of decreased relaxation mediated by  $\beta$ -adrenoceptors in bladder outlet obstruction by benign prostatic hyperplasia. *British Journal of Pharmacology*, 1992, 107: 803-807. 164.
103. Perlberg S, Caine M. Adrenergic response of bladder muscle in prostatic obstruction: its relation to detrusor instability. *Urology*, 1982, 20: 524-527.
104. Smith D, Chapple C. In vitro response of human bladder smooth muscle in unstable obstructed male bladders: a study of pathophysiological causes. *Neurourol Urodynamics*, 1994, 13: 5.
105. Hampel C, Dolber PC, Smith MP, Savic SL, THÜROFF JW, Thor KB, Schwinn DA. Modulation of bladder  $\alpha$ 1-adrenergic receptor subtype expression by bladder outlet obstruction. *The Journal of Urology*, 2002, 167: 1513-1521.
106. Elbadawi A, Yalla S, Resnick N. Structural basis of geriatric voiding dysfunction. IV. Bladder outlet obstruction. *The Journal of Urology*, 1993, 150: 1681-1695.
107. Noël S, Claeys S, Hamaide A. Acquired urinary incontinence in the bitch: update and perspectives from human medicine. Part 2: the urethral component,

- pathophysiology and medical treatment. *The Veterinary Journal*, 2010, 186: 18-24.
108. Coit VA, Gibson IF, Evans NP, Dowell FJ. Neutering affects urinary bladder function by different mechanisms in male and female dogs. *European Journal of Pharmacology*, 2008, 584: 153-158.
  109. Damaser MS, Whitbeck C, Barreto M, Horan P, Benno H, O'Connor LJ, et al. Comparative physiology and biochemistry of rat and rabbit urinary bladder. *BJU Int*. 2000;85:519–25. doi: 10.1046/j.1464-410x.2000.00444.x.
  110. Levin M. Robert, Schuler Catherine, Leggett E. Robert and Hass A. Martha, The effect of  $\alpha$ - and  $\delta$ -tocopherol-lipoic acid ester co-drugs on the response of the rabbit bladder to in vitro ischemia/reperfusion, *Turkish Journal of Urology*, A peer-reviewed bi-monthly journal, Turkish Association of Urology, İstanbul-1993, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6619846/>, (ET: 06.11.2019)
  111. Lee CL, Kuo HC. Pathophysiology of benign prostate enlargement and lower urinary tract symptoms: Current concepts. *Ci Ji Yi Xue Za Zhi*. 2017;29:79–83.
  112. Egan KB. The Epidemiology of Benign Prostatic Hyperplasia Associated with Lower Urinary Tract Symptoms: Prevalence and Incident Rates. *Urol Clin North Am*. 2016;43:289–97. doi: 10.1016/j.ucl.2016.04.001.
  113. Mannikarottu AS, Kogan B, Levin RM. Ischemic etiology of obstructive bladder dysfunction: A review. *Recent Res Devel Mol Cell Biochem*. 2005;2:15–34.
  114. Lin AT, Juan YS. Ischemia, Hypoxia and Oxidative Stress in Bladder Outlet Obstruction and Bladder Overdistention Injury. *Low Urin Tract Symptoms*. 2012;4(Suppl 1):27–31.
  115. Fusco F, Creta M, De Nunzio C, Iacovelli V, Mangiapia F, Li Marzi V, et al. Progressive bladder remodeling due to bladder outlet obstruction: a systematic review of morphological and molecular evidences in humans. *BMC Urol*. 2018;18:15. doi: 10.1186/s12894-018-0329-4.
  116. Levin RM, Levin SS, Zhao Y, Buttyan R. Cellular and molecular aspects of bladder hypertrophy. *Eur Urol*. 1997;32(Suppl 1):15–21.
  117. Levin RM, Monson FC, Haugaard N, Buttyan R, Hudson A, Roelofs M, et al. Genetic and cellular characteristics of bladder outlet obstruction. *Urol Clin North Am*. 1995;22:263–83
  118. Buttyan R, Chen MW, Levin RM. Animal models of bladder outlet obstruction and molecular insights into the basis for the development of bladder dysfunction. *Eur Urol*. 1997;32(Suppl 1):32–9.

119. Rainis T, MaorI, Lanir A, Shnizer S, Lavy A. Enhanced oxidative stress and leucocyte activation in neoplastic tissues of the colon. *Dig Dis Sci* 2007; 52(2): 526-30.
120. Eken A, Rat Kan ve Doku Örneklerinde Oksidatif Stres Parametreleri, Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji A.D, 2016, P:69-70
121. İşlekel H, İşlekel S, Güner G. Biochemical mechanism tissue injury of cerebral ischemia and reperfusion. Part 1 Biochemical mechanism *Norol Bil D* 2000, 17:2.
122. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardiol* 1993, 16 (4 Suppl 1): I19-26.
123. Bensky D, & Gamble, A. (1993). Gou Qi Zi. *Chinese Herbal Medicine, Materia Medica* (pp. 333–334). (revised ed). Seattle, Washington: Eastland Press, Inc.
124. Cheeseman KH. Slater TF. An Introduction to radical biochemistry. *Br. Med. Bull* 1993; 49: 481–493.
125. Tian M, & Wang, M. Studies on extraction, isolation and composition of *Lycium barbarum* polysaccharides. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* (China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy), 2006, 31(19), 1603–1607.
126. Taner SŞ. Renal İskemi Reperfüzyon Hasarında Alıç (*Crataegus*) ve Goji Berry (*Lycium barbarum*) 'nin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması, T.C. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya A.D, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, 2016.
127. Atlı Y. İntestinal İskemi Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Alfa Lipoik Asit Ve Quersetin'in Koruyucu Etkilerinin Araştırılması Uzmanlık Tezi, K.Maraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı, 2009, 52: 251-259.
128. İkikardeş Seda, Kalp İskemi Reperfüzyon Hasarında Zerdeçal (*Curcuma Longa*)'in GPER-1 ve Oksidatif/Nitrozatif Stres Biyomarkırları Üzerine Etkisinin Araştırılması, T.C. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya A.D, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, 2017.
129. Basım S. Alt Ekstremitede İskemi-Reperfüzyon oluşturulan Ratlarda Ginkgo Biloba EGB 761 İnce bağırsak Anastomoz İyileşmesi Üzerine Etkisi, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği 2005, S.50.
130. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *J Biochem* 1984; 222:1-15.
131. Granger DN, Rutili G, McCord JM. Role of superoxide radicals in intestinal

- ischemia. *Gastroenterology* 1981;81:22-29.
132. Okada Y, Copeland BR, Fitridge R et al. Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* 1994; 25(9): 1847- 1854.
133. Zhang Y, Micheal G, Irwin M, Tak MW. Remifentanyl preconditioning protects against ischemic injury in the intact rat heart. *Anaesthesiology* 2000;101:918-23.
134. Benedek A, Moricz K, Juranyi Z, Gigler G, Levay G, Harsing LG.jr, Matyus P, Szenasi G, Albert M. Use of TTC staining for the evaluation of tissue injury in the early phases of reperfusion after focal cerebral ischemia in rats. *Brain Research* 2006;1116:159-165.
135. Lefter DJ, Scalia R, Campbell B ve ark. Peroxynitrite inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against ischaemia-reperfusion injury in rats. *J Clin Invest.*1997, 4: 684-691.
136. Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, ToledoPereyra LH. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *J Invest Surg* 2009; 22: 46-55.
137. Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules. *Microvasc Res* 1991, 42: 125- 138.
138. Horgan MJ, Ge M, Gu J ve ark. Role of ICAM-1 in neutrophil mediated vascular injury after occlusion and reperfusion. *Am J Physiol.* 1991, 259: L315-L319.
139. Avatgil R., Deneysel rat iskemi-reperfüzyon böbrek hasarında nitrik oksid' in rolü, Uzmanlık tezi, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, Eskişehir, 1997.
140. Fridovich I. Superoxide dismutase. *Adv Enzymol* 1974;41:35–97.
141. Karabiga M, Kiriş, İ, Yılmaz, N, Altuntaş, İ, Karahan N, Okutan, H, Aprotinin Deneysel Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Böbrek Hasarına Etkisi, *Turkish J Vasc Surg* 2007; S. 16, 9-18.
142. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000, 109: 655-678.
143. Lopez-Neblina F, Paez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of Protection of Verapamil by Preventing Neutrophil Infiltration in the Ischemic Rat Kidney. *J SurgRes* 1996; 61: 469-472.
144. Gao X.M., Z.M. Xu, Z.W. Li, *Traditional Chinese Medicines, People's Health*



- Publishing House, Beijing, 2000, 1832–1850.
145. Ekizler M, Erkasap, N. Dernek, S. Kural, T. Kaygısız, Z. Dietary polyphenol quercetin protects rat hearts during reperfusion: enhanced antioxidant capacity with chronic treatment, *Anadolu Kardiyol. Derg.* 2007, 7: 404- 10.
  146. Granger DN: Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988, 255:H1269-H1275.
  147. Özer M K, Çiçek E. Gökalp O. Koyu A. Parlakpınar H. Acet A. Myokardiyal iskemi reperfüzyon sonrası böbrek hasarında nitrik oksitin rolü ve caffeic acid phenethyl ester (cape)’in etkisi, *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg* 2005, 12, 23-27.
  148. Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2004, 61: 481-497.
  149. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *T4 Thromb Haemost.* 2007, 97: 738-747.
  150. Uysal M. “Serbest radikaller, lipit peroksitleri organizmada prooksidan antioksidan dengeyi etkileyen koşullar”. *Klinik Gelişim* 1998, 11: 336–341.
  151. Baytop T, Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 1999.
  152. Ugulu I, Baslar S., Yorek N., Dogan Y., 2009. The investigation and quantitative ethnobotanical evaluation of medicinal plants used around Izmir province, Turkey, *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(5): 345-367
  153. Baydar S.N, 2006. Şifalı bitkiler Ansiklopedisi : modern tıp alternatif tıp ile elele, Palme Yayıncılık, Ankara
  154. Oskay M, Aktas K, Sari D, Azeri C., 2007. A comparative study of antimicrobial activity using well and disk diffusion method on *Asphodelus aestivus* (Liliaceae), *Ekoloji*, 16(62): 62-65.
  155. Tosun F, Akyüz Kızılay Ç, Sener B., Vural M, Palittapongarnpim P, 2004. Antimycobacterial Activity of Some Turkish Plants, *Pharmaceutical Biology*, 42: 39-43.
  156. Peksel A, Imamoglu S., 2009. Antioxidative properties of extracts from *asphodelus aestivus* brot (liliaceae), *Annals of Nutrition and Metabolism*, 55: 596-596 Suppl.1
  157. Karataş F, Bektaş İ, Birişik A, Aydın Z, Kurtul A, Çiriş Otu’nda (*Asphodelus aestivus* L.) Suda Çözünen Bazı Bileşiklerin Araştırılması, *SDU Journal of Science (E-Journal)*, 2011, 6(1):35-39, (ET: 20.11.2019).
  158. “Çiriş otunun faydaları nelerdir? Çiriş otu neye iyi gelir?”, *Sözcü Gazetesi*, 19 Kasım 2019, (ET:20.11.2019), <https://www.sozcu.com.tr/hayatim/yasam->

- haberleri/ciris-otunun-faydalari-nelerdir-ciris-otu-neye-iyi-gelir-szcu8/ .
159. “Doğu Anadolu’nun Şifalı: Çiriş Otu Saymakla Bitmeyen Faydaları! ”, A Haber, (GT: 08.08.2017) ET: 20.11.2019),  
<https://www.ahaber.com.tr/saglik/2017/05/08/dogu-anadolunun-sifalisi-ciris-otunun-saymakla-bitmeyen-faydalari>.
160. Karaoğul E, Ok T, Keskin, H., Salan, T, Göçeri A, M. Alma, M, Deniz I. (2014). Asetik asit hidrolizi yapılan çiriş otu (*Asphodelus Aestivus* Brot.) yumrularının HPLC-RID ile kimyasal karakterizasyonu. Uluslararası Odun Dışı Orman Ürünleri Sempozyumu, Kahramanmaraş.
161. Ince O, Ünal I. (2008). Tunceli yöresinde doğal olarak yetişen çiriş otunun mineral madde içeriği ve antioksidan aktivite tayini. VI. Ulusal Analitik Kimya Kongresi.
162. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-75.
163. Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95: 351–358.
164. Beutler E . Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods . 2nd ed. New York : Grune and Stratton Inc ; 1984 : 68 – 70.
165. Özel Y. Ratlarda Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Hasarında Grape Seed Proanthocyanidin Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, T.C.Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5.Genel Cerrahi Kliniği 2006, S. 23.
166. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı Konya: Mimoza Yayınları 1995:3-95.
167. Prussin C. Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111(2 Suppl):S486-94.
168. Nomiya M, Andersson K.E, Yamaguchi O, Chronic bladder ischemia and oxidative stress: New pharmacotherapeutic targets for lower urinary tract symptoms, <https://doi.org/10.1111/iju.12652> , 22 october 2014, citations:38, (ET:20.11.219).
169. Demirhan İ, Deneysel Kalp İskemi-Reperfüzyon Modelinde B17 Vitaminin Sfingozin-1 ve Oksidatif/Nitrozatif Stres Üzerine Etkisi, T.C. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Biyomühendislik A.D, Doktora Tezi, Kahramanmaraş, 2017.
170. Güzel E, Boğa R, Bursal E, Çiriş Otu (*Asphodelus aestivus* L.)’ nun antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, Cilt:1, Sayı:1, Haziran 2013, ISSN:2147-7930.

171. Belge Kurutaş E, The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state, Nutrition Journal, 2016;15(71), P:6-8.



## 7. ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1: H¼ce zedelenmesinde sitoplazmik kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları .....	4
Şekil 2: Kadın ve erkekte mesane .....	10
Şekil 3: Mesane kas yapısı kuyruk sokumu bölgesinden çıkan akral sinirlerin uyarılması sonucu kasılır ve gevşer .....	11
Şekil 4: Mesanenin anatomic ve histopatolojik yapısı .....	12
Şekil 5: Mesanenin sinirsel kontrol¼ .....	16
Şekil 6: İskemi s¼resi boyunca membran hasarı .....	22
Şekil 7: Serbest radikal oluşum aşamaları .....	23
Şekil 8: Molek¼ler oksijen ile serbest radikal oluşumu .....	24
Şekil 9: Ksantin oksidaz sisteminin radikal oluŐurma mekanizması .....	29
Şekil 10: Lipid peroksidasyonu sonucunda MDA meydana gelmesi .....	33
Şekil 11: İskemide glutatyon peroksidaz ve glutatyon red¼ktazın g¼revi .....	41
Şekil 12: Protein standart eŐrisi .....	52
Şekil 13: MDA (Malondialdehit) standart eŐrisi grafiği .....	55
Şekil 14: SOD standart eŐrisi .....	58
Şekil 15: Gruplar arası SOD d¼zeyleri .....	62
Şekil 16: Gruplar arası MDA d¼zeyleri .....	63
Şekil 17: Gruplar arası CAT d¼zeyleri .....	64

## 8.TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Reaktif oksijen partikülleri .....	24
Tablo 2: Fagositlerin oluşturduğu bazı reaktif oksidan ürünler .....	31
Tablo 3: Sıçanların fizyolojik değerleri .....	46
Tablo 4: Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler .....	49
Tablo 5: Protein standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı.....	52
Tablo 6: Doku örneğinde protein tayini için tüplerin hazırlanışı.....	53
Tablo 7: MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı.....	54
Tablo 8: Dokuda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı .....	55
Tablo 9: SOD standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı .....	55
Tablo 10: SOD standart eğri çizimi için kuvars küvetlerin hazırlanışı.....	57
Tablo 11: Dokuda SOD aktivite tayini için kuvars tüplerin hazırlanışı.....	58
Tablo 12: Dokuda CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı.....	60
Tablo 13: Gruplar arası SOD bulguları.....	62
Tablo 14: Gruplar arası MDA bulguları .....	63
Tablo 15: Gruplar arası CAT bulguları.....	64

## 9. RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1: Çiriş otu .....	44
Resim 2: Mesane iskemi reperfüzyon çalışması 1 .....	48
Resim 3: Mesane iskemi reperfüzyon çalışması 2,3 .....	48
Resim 4: Mesane iskemi reperfüzyon çalışması 4,5 .....	49
Resim 5: Lümen açıklığında epitel deskuamasyona uğramış .....	65
Resim 6: Yüzey epitelinin altında bulunan bölgede müsküler hipertrofi gerçekleşmiş .....	65
Resim 7: Konjesyon (küçük damar yapılarının oluşumu), enflamasyon görülüyor .....	66



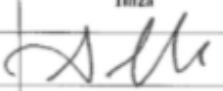
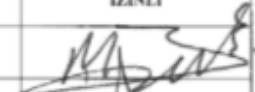

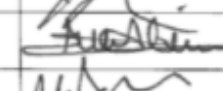
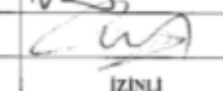
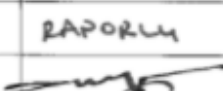




## 10.EKLER

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

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	<b>Araştırmanın Başlığı</b>	İskemi – Reperfüzyona Bağlı Mesane Hasarında Asphadelus 1 (çiriş otu)'nun Koruyucu Etkisinin Araştırılması: Biyokimyasal Ve Histopatolojik Çalışma	
	<b>Başvuru Tarihi</b>	14.09.2018	
	<b>Protokol No</b>	32	
<b>DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER</b>	<b>Belge Adı</b>	<b>Dili</b>	
	Başvuru Formu	Türkçe	
<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	<b>Oturum No: 2018/10</b>	<b>Karar No: 04</b>	<b>Tarih: 10.10.2018</b>
	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

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

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Araştırma ile İlişki (*)		Katılım (**)		İmza
Doç. Dr. Akif Hakan KURT Başkan	Tıbbi Farmakoloji	KSU 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	KSU Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İZİNLİ
Prof. Dr. Mehmet BOSNAK Üye	Fizyoloji	KSU 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	KSU 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	KSU Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Atila YOLDAŞ Üye	Anatomi	KSU 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	KSU 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	KSU Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Gülce GİSİ Üye	Anestesi ve Rean.	KSU Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Ertağul ERKUN Üye	İç Hastalıkları (Nefroloji)	KSU Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İZİNLİ
Vet.Hek. Faruk YILDIZ Üye	Veteriner	KSU Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	RAPORLU
Nedim Okan GÜMÜSTAKIM Üye	Ayukat	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 İlişki

\*\*Toplantıda Bulunma

## 11. ÖZ GEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Hatice Kopar  
Doğum tarihi ve yeri : 1991 Kahramanmaraş  
Medeni hali : Evli  
Faks :  
e-posta :haticekopar46@gmail.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	KSÜ/Sağlık Bilimleri Tıbbi Biyokimya	2019
Lisans	KAÜ/Fen Edebiyat Fakültesi-Biyoloji Bölümü	2013
Lise	Özel Ali Kenger Lisesi K.Maraş-	2009

### İş Denevimi

	Yer	Mezuniyet Tarihi
Biyolog	Özel Megapark Hastanesi	2016

### Yabancı Diller

İngilizce

### Hobiler

Doğa bilimleri, doğa yürüyüşü yapmak vs.

### **YAYINLAR**

1. Hatice Kopar, Kutsal Devrim Secinti, Suheyla Ozyurt , Ergul Belge Kurutas. Oxidative Status İn Degenerated Painful Intervertebral Disc Samples: Variability With Respect To Duration Of Symptoms And Type Of Disease ( O-055), XXVII. Balkan Clinical Laboratory Federation Congress BCLF 2019, Antalya,Türkiye
2. Suheyla Ozyurt, Kopar Hatice, Ozyurt Mehmet, Kurutas Ergul Belge, Investigation of Antioxidant activity in Plants Commonly Grown in Kahramanmaraş Region, (P-207), XXVII. Balkan Clinical Laboratory Federation Congress BCLF 2019, Antalya,Türkiye