



T.C

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI
ÜZERİNE KINA EKSTRESİNİN (*LAWSONIA INERMIS L.*)
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ŞEYMA NERGİZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2018

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

RATLARDA RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE
KINA EKSTRESİNİN (*LAWSONIA INERMIS L.*) KORUYUCU
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ŞEYMA NERGİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ

Jüri Üyesi

Prof.Dr.Metin KILINÇ

Jüri Üyesi

Doç.Dr. Ali Erdinç YALIN

KAHRAMANMARAŞ 2018

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Şeyma Nergiz tarafından hazırlanan “Ratlarda Renal İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine *Kına (lawsonia inermis l.)* ekstresinin koruyucu etkilerinin araştırılması” adlı bu tez, jürimiz tarafından 03/01/2018 tarihinde oy birliği ile Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ

Tıbbi Biyokimya, Tıp Fakültesi, KSÜ

.....

Prof. Dr. Metin KILINÇ

Tıbbi Biyokimya, Tıp Fakültesi, KSÜ

.....

Doç. Dr. Ali Erdinç YALIN

Biyokimya, Eczacılık Fakültesi, MEÜ

.....

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet BOŞNAK

.....

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

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

Şeyma NERGİZ



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

Proje No:2017/1-63 YLS

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

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

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

Bilgi ve birikimlerinden yararlandığım tüm bölüm hocalarıma, çalışmalarım süresince değerli görüş ve fikirleriyle yanımda olan Biyolog Safiye Şeyma TANER'e

Görev yaptığım Kahramanmaraş İl Sağlık Müdürlüğündeki idarecilerim ve mesai arkadaşlarıma, ilk günden bugünlere gelinceye kadar bana her konuda yardımcı olan her türlü maddi ve manevi desteklerini gördüğüm aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma, 2017/1-63 YLSkodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Ocak-2018

Şeyma NERGİZ

RATLARDA RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE KINA EKSTRESİNİN (*LAWSONIA INERMIS L.*) KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Şeyma NERGİZ

ÖZET

Giriş ve Amaç: Farklı antioksidan özelliklere sahip bitkiler insanda serbest radikal hasarına karşı önleyici ve tedavi edici yaklaşımlar açısından yüksek potansiyele sahiptirler. *LawsoniainermisL.* (Lythraceae), yaygın olarak kına olarak bilinen, dünyanın birçok yerinde kullanılan popüler bir cilt ve saç boyama maddesidir. Buna ek olarak, geleneksel olarak bir tıbbi bitki olarak çeşitli etnik gruplar tarafından kullanılır. Serbest radikaller, böbrek iskemi/reperfüzyon hasarı gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynarlar. Böbrek iskemi/reperfüzyonunda oluşan oksidatif stres direkt olarak glomerular ve tubülepitelyumu etkiler.

Gereç ve Yöntem: İlk defa yapılan bu çalışmada, Kına'nın renal iskemi/reperfüzyon hasarına olan biyokimyasal ve histopatolojik etkileri 24 ergin 250-350 gr olan erkek rat üzerinde gerçekleştirildi. Ratlar randomize olarak üç gruba ayrıldı; kontrol (n=8), sham (n=8) ve tedavi (kına) grubu (n=8). Enjeksiyonu hazırlamak için 50 mg/kg liyofilize kına yaprak ekstratı fındık yağı ve % 0,9'luk steril serum fizyolojik ile 4:1 oranında çözöldü. Sham ve tedavi gruplarındaki ratlara deneyden 1 gün önce başlanarak günde bir kez 0,5 ml serum fizyolojik (% 0,9 NaCl/kg/gün) ve 0,5 ml kına (50 mg/kg/gün) intraperitoneal yolla verilirken kontrol grubundakilere hiç bir şey uygulanmadı. Daha sonra tüm gruptaki ratlara girişim ve cerrahi işlemden sonra sol böbrek damarları klemp aracılığı ile kapatılarak, 30 dakikaiskemi ve 30 dakika reperfüzyon oluşturuldu. Reperfüzyonu takiben sham ve tedavi gruplarındakiratlarla 0,5 ml serum fizyolojik ve kına intraperitoneal yolla 5 gün boyunca verildi. Deneyin sonunda tüm ratlarsakrifiye edildi ve böbrek dokuları alındı. Böbrek dokusunda oksidatif/nitrozatif stres biyobelirteçlerinin(katalaz, superoksitdismutaz, malondialdehit, nitrik oksit ve nitrotirozin) düzeyleri ile dokudaki histopatolojikdeğişiklikler belirlendi.

Bulgular: İskemi/reperfüzyon grubunda süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerinin azaldığı ($p<0,05$), malondialdehit, nitrik oksit ve nitrotirozin düzeylerinin arttığı ($p<0,05$), histopatolojik incelemede ise tübüler epitelinde incelleme, nekroz ve fırçamsı kenar kaybıbulgularında artma izlenmiştir. Kına uygulanan grupta, böbrek dokusunda

malondialdehit, nitrik oksit ve nitrotirozin düzeylerinde azalma ($p<0,05$), süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerinde artış ($p<0,05$) elde edilmiştir. Böbreklerin histopatolojik incelenmesinde iskemi/reperfüzyon hasarıyla oluşan bulgularda azalma ve normal görünüm tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları sıçanlarda böbrek dokusunda iskemi-reperfüzyona bağlı olarak oksidatif/nitrozatif hasarın arttığını, kına takviyesinin oksidatif/nitrozatif hasarı belirgin şekilde önlediğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Böbrek iskemi/reperfüzyonu, kına, oksidatif/nitrozatif stres, rat

Sayfa Adedi: 101

Danışman: Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ



**INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECT OF HENNA
(*LAWSONIA INERMIS L.*) IN RENAL ISCHEMIA REPERFUSION INJURY**

(Master Thesis)

Şeyma NERGİZ

ABSTRACT

Objective and Aim: Plants with different antioxidant properties have high potential in terms of approaches preventive and treatment against free radical damage in human. *Lawsonia inermis L.* (Lythraceae) commonly known as henna is a popular skin and hair dye used in many parts of the world. In addition, as traditionally use by various ethnic groups as a medicinal plant. Free radicals play an important role in the pathophysiology of many diseases such as renal ischemia/reperfusion damage. The oxidative stress that occurs in renal ischemia/reperfusion directly affects the glomerular and tubular epithelium.

Materials and methods: First in this study, effects the biochemical and histopathological of henna on renal ischemia/reperfusion damage were performed on 24 adult male rats weighing 250-350 g. The rats were randomly divided into three groups; control (n = 8), sham (n = 8) and treatment (henna) group (n = 8). To prepare the injection, 50 mg / kg lyophilized henna leaf extract was solved 4:1 with hazelnut oil and 0,9% sterile saline. While rats in the sham and treatment groups were administered intraperitoneally 0,5 ml saline (0,9% NaCl/kg/day) and 0,5 ml henna (50 mg/kg/day) starting once a day rats the experiment, 1 day ago nothing has been done in the control group. After this procedures, all rats in the three groups the left renal vessels were closed with clamps, 30 minutes of ischemia and 30 minutes of reperfusion were performed. Following reperfusion, rats in the sham and treatment groups were administered with 0,5 ml saline and henna intraperitoneally for 5 days.

At the end of the experiment, all rats were sacrificed and kidney tissues were removed. Kidney tissue were determined levels of oxidative/nitrosative stress biomarkers (catalase, superoxyddismutase, malondialdehyde, nitric oxide and nitrotyrosine) and histopathologic changes.

Results: In the ischemia/reperfusion group, superoxide dismutase and catalase activities were decreased ($p < 0,05$), malondialdehyde, nitric oxide and nitrotyrosine levels were increased ($p < 0,05$). Histopathological examination showed that thinning of the tubular epithelium and necrosis and scarring. Decreased malondialdehyde, nitric oxide and nitrotyrosine levels ($p < 0,05$) and increased superoxide dismutase and catalase activities (p

<0,05) were found in kidney tissue of henna treated group. Histopathologic examination of the kidneys showed normal findings and decreased signs of ischemia/reperfusion injury.

Conclusion: The results of this study demonstrate that oxidative/nitrosative damage increased due to ischemia-reperfusion in the kidney tissue of rats, and that henna supplementation significantly inhibits oxidative/nitrosative damage.

Key words: Renal ischemia-reperfusion, henna, oxidative/nitrosative stress, rat

Page Number: 101

Supervisor: Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	I
ÖZET.....	II
ABSTRACT	IV
İÇİNDEKİLER.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İskemi	3
2.2. Reperfüzyon.....	6
2.3. İskemi Reperfüzyon Hasarı	7
2.3.1. Serbest oksijen radikalleri	10
2.3.2. Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL).....	11
2.3.3. Kompleman sistemi	12
2.3.4. Endotel hücreleri	12
2.4. Böbrekler	16
2.4.1. Böbreğin Yapısı.....	16
2.4.2. Böbreğin fonksiyonları	18
2.4.3. Böbreğin kanlanması	19
2.5. Renal İskemi Reperfüzyon Hasarı	20
2.6. Serbest Radikaller.....	22
2.6.1. Reaktif oksijen türleri	22
2.6.2. Serbest radikal kaynakları	25
2.6.3. Serbest radikal oluşum mekanizması	26
2.6.4. Serbest radikal aracılı hasar mekanizması.....	26
2.7. Antioksidanlar	28
2.7.1. Antioksidan savunma sistemleri.....	28
2.7.2. Antioksidanların sınıflandırılması	30
2.8.1. Oksidatif stres biyobelirteçleri	40
2.9. NİTROZATİF STRES.....	42
2.9.1. Nitrozatif stres biyobelirteçleri.....	43
2.10. Kına (Lawsania inermis L.) Bitkisi	44

2.10.1. Kına (<i>Lawsania inermis L.</i>) bitkisinin farklı kültürlerde kullanımı	45
2.10.2. Kına(<i>Lawsania inermis L.</i>) bitkisinde bulunan kimyasal bileşenler	47
2.10.3.Kına bitkisinin farmakolojik ve biyolojik etkileri	48
2.10.4. Kınanın geleneksel kullanımda kullanılan kısımları	48
3. MATERYAL VE METOT.....	50
3.1.Deney Grupları	50
3.2. Cerrahi Yöntem	51
3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	52
3.4.Çalışmada Kullanılan Cihazlar	53
3.5.Homojenat Hazırlama.....	54
3.6. Protein Düzeyinin Tayini.....	54
3.7. Biyokimyasal Ölçümler	56
3.7.1. Malondialdehit Düzeyinin Tayini.....	56
3.7.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini	59
3.7.3. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini.....	63
3.7.4. NO (nitrit+nitrat) ölçüm yöntemi	65
3.7.5.Nitrotirozin (3-NT) Düzeyi	66
3.9. İstatistiksel Analiz	67
4. BULGULAR	68
4.1. BÖBREK DOKUSUNDAKİ MDA DÜZEYLERİ.....	68
4.2. BÖBREK DOKUSUNDAKİ SOD DÜZEYLERİ	69
4.4. BÖBREK DOKUSUNDAKİ CAT DÜZEYLERİ	70
4.4. BÖBREK DOKUSUNDAKİ NİTROTROZİN DÜZEYİ.....	71
4.5. BÖBREK DOKUSUNDAKİ NİTRİK OKSİT DÜZEYİ	72
4.6. BÖBREK DOKUSUNDAKİ HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	73
5.TARTIŞMA	76
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	81
7. KAYNAKLAR.....	82
8.ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	97
9.TABLolar DİZİNİ	99
10.EKLER	100
12.ÖZGEÇMİŞ	101

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	: Adenozin Trifosfat
Ca	: Kalsiyum
CAT	:Katalaz
EC	: Ekstrasellüler
GSH	:Glutasyon
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksid
HOCL	: Hipoklorit Asit
İ/R	:İskemi Reperfüzyon
MDA	:Malondialdehit
Na	:Sodyum
NADPH	:Nikotinamid adenin dinükleotit
NO	: Nitrik Oksit
OD	: Optik Dansite
OH[·]	: Hidroksil Radikali
ONOO⁻	:Peroksinitrit
O₂	:Oksijen
O⁻²	: Süperoksit Anyon Radikali
PMNL	:Polimorf Nüveli Lökositler
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	:Serbest Oksijen Radikali
TNF-α	:Tümör Nekrozis Faktör Alfa
TBA	: Tiyobarbitürik asit
3-NT	: Nitrotirozin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kına (*Lawsania inermis L.*) bitkisi bazı bölgelerde ağaç kadar büyük olabilmektedir. Lythaceae familyasına ait olan bu bitkinin tıbbi ve kozmetik alanında kullanımı 4000 yıl öncesine kadar dayanmaktadır. Bitkinin kaynağı Afrika ve Asya'nın sıcak bölgeleridir (1). Kına bitkisinin en çok kullanılan kısmı yapraklarıdır. Yapraklar bir yıl içerisinde bahar ve sonbaharda hasat yapılır. Sonbahar ürünü daha kalitelidir. Kına'nın yapraklarında bulunan en önemli maddeler: yağ, luteolin, quinoids, xanthone ve coumarin, çeşitli glikozitler, alkaloidler vs. sayılabilir. Bitkiye rengini veren hidroksi neftokinon adlı boyar maddedir. Kınabitkisinin antibakteriyel ve antifungal özelliği kanıtlanmıştır (1).

Çalışmamızda şifalı bitkiler arasında önemli bir yeri olan kınanın Renal İskemi/Reperfüzyon (İ/R)' unun neden olduğu oksidatif stres hasarına karşı koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

Doku veya organıperfüze eden kan akımındaki yetersizliğe bağlı olarak iskemi gelişir. Geriye dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre/doku zedelenmesine neden olabilmektedir (2). İskemi durumunda kanakımının kesildiği bölgede lokal doku hasarı, bu alan dışındaki bölgelerde de uzak organ hasarı meydana gelebilmektedir (3,4). İskemiye neden olan etkenin ortadan kalkarak dokuya kan akımının yeniden sağlanması olayına reperfüzyon denir (5). İ/R sürecinde; mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun değişir, adenosin trifosfat (ATP)'ın azalır, hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) artar ve hücre iskeleti ile membran fosfolipitlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfatazların aktive olur. Bu olaylar sonucu serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşarak, oksidatif strese neden olur (6,7).

Renal iskemisi; böbrek transplantasyonu, renal arter ameliyatı, kısmi nefrektomi gibi çeşitli ürolojik girişimler, kardiyopulmoner bypass, şok, travma, sepsis gibi klinik durumlarda görülür (8).

Renal İ/R hasarı, çeşitli aracı maddelerin, hücre içi haberleşme sisteminin ve hücrelerde meydana gelen zincirleme reaksiyonlar sonucu meydana gelen, hipoksi kaynaklı akut böbrek yetmezliğinin temel sebebinin oluşturduğu karmaşık bir durumdur (9).

Böbreklerde (İ/R) hasarı sonucu enflamatuar hücre infiltrasyonu, parankimal hücre disfonksiyonunun geliştiği, mikrovasküler permeabilitede artış, interstisyel ödem, vazoregülasyonda bozulmanın görüldüğü ve iskemi sırasında ya da sonrasında akut tübül nekrozun geliştiği gösterilmiştir (10,11). İskemi sürecinde düşük miktarda SOR meydana gelmektedir. Reperfüzyon döneminde ise dokunun yeniden oksijenlenmesinin ardından çok daha büyük miktarda SOR oluşmaktadır (12). Hücre ve doku kültürü ile yapılan

çalışmalar hayvan deneyleri ve biyokimyasal alanda yapılmış bir çok çalışma, yeniden oksijenlenmenin zararlı etkileri sonucunda meydana gelen SOR miktarının aşırı derecede artış gösterdiğini, bu durum karşısında da vücutta yer alan SOR tutucu antioksidan savunma mekanizmasının yetersiz kaldığını göstermektedir (13,15). SOR organizmada dokunun yapı elemanlarını bozarak zararlı etkilere yol açabilmekte. Bu durum; Oksidatif stres pulmoner ödem, miyokardiyal hasar, böbrek ve karaciğer yetmezliği gibi komplikasyonlar ve artmış mortalite ile yakından ilişkilidir (16).

SOR gibi oksidatif stres artışına neden olabilen bir diğer biyolojik molekül nitrik oksit (NO)'dir. NO düşük konsantrasyonlarda önemli fizyolojik işlevlerde rol alırken yüksek konsantrasyonlarda hızla süperoksit radikali ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşumuna neden olur. Peroksinitrit sitotoksik bir moleküldür. Proteinlerin yapısındaki bazı amino asitlerin (özellikle tirozin) nitrolanması protein veya enzimin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin değişimine neden olabilmektedir (17).

SOR potansiyel zararlarına karşılık çok sayıda hücre koruyucu enzimler ile karşı koyar ve bu moleküllerin dokulara verdikleri hasar antioksidanlar sayesinde önlenmektedir. Bu antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi endojen kaynaklı; Vitamin C, vitamin E, folik asit gibi eksojen kaynaklı olabilmektedir (18).

2. GENEL BİLGİLER

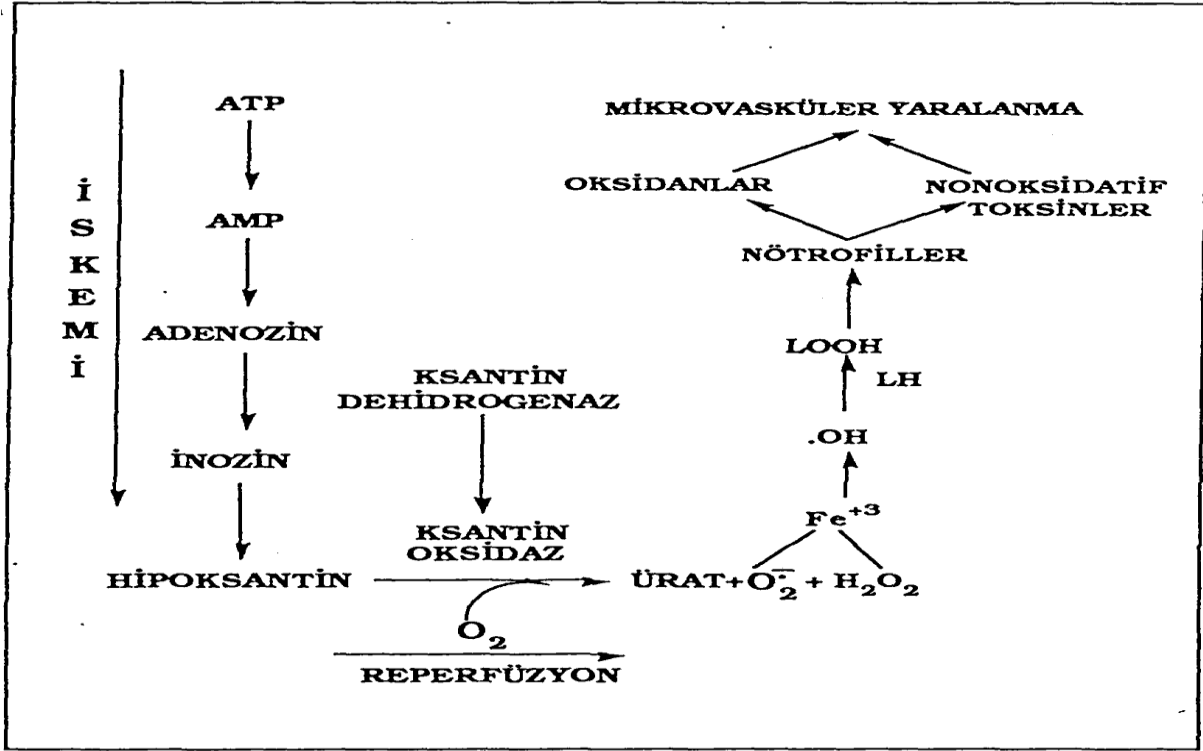
2.1. İskemi

Dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının dolaşım tarafından sağlanamaması ve oluşan atık ürünlerin yine dolaşım tarafından uzaklaştırılamaması iske mi olarak tanımlanmaktadır(19).

Doku veya organlara giden kanın herhangi bir nedene(organ transplantasyonu, vasküler cerrahi işlemler) bağı olarak belirgin şekilde azalması veya tamamen kesilmesi sonucunda perfüzyonunun bozulmasıyla iske miye uğrayan dokunun belirli bir süre oksijenden yoksun kalması, hücrelerde enerji kaybının artmasına, toksik metabolitlerin birikmesine, hücre fonksiyon bozukluğuna ve hücre ölümüne neden olmaktadır(20,21). Bu durum doku hasarı veya nekrozu ile sonuçlanmaktadır.İske miye eşlik eden hücre sel ve yapısal değişiklikler ilk olarak mitokondride başlar, daha sonra hücre çekirdeği, endoplazmik retikulum, lizozom ve hücre membranı etkilenir(22). Dokuların iske miye dayanıklılığı birbirinden farklıdır. İskelet kasları iske miye uzun süre dayanabildiği halde nöronlarda dakikalar içinde geri dönüşümsüz yıkımortaya çıkabilir. Ayrıca iske miye maruz kalmayan bölgelerde de hasar oluşabilmektedir. Kanakımının kesildiği bölgede lokal doku hasarı, bu alan dışındaki bölgelerde de uzak organ hasarı meydana gelebilmektedir(3,4).

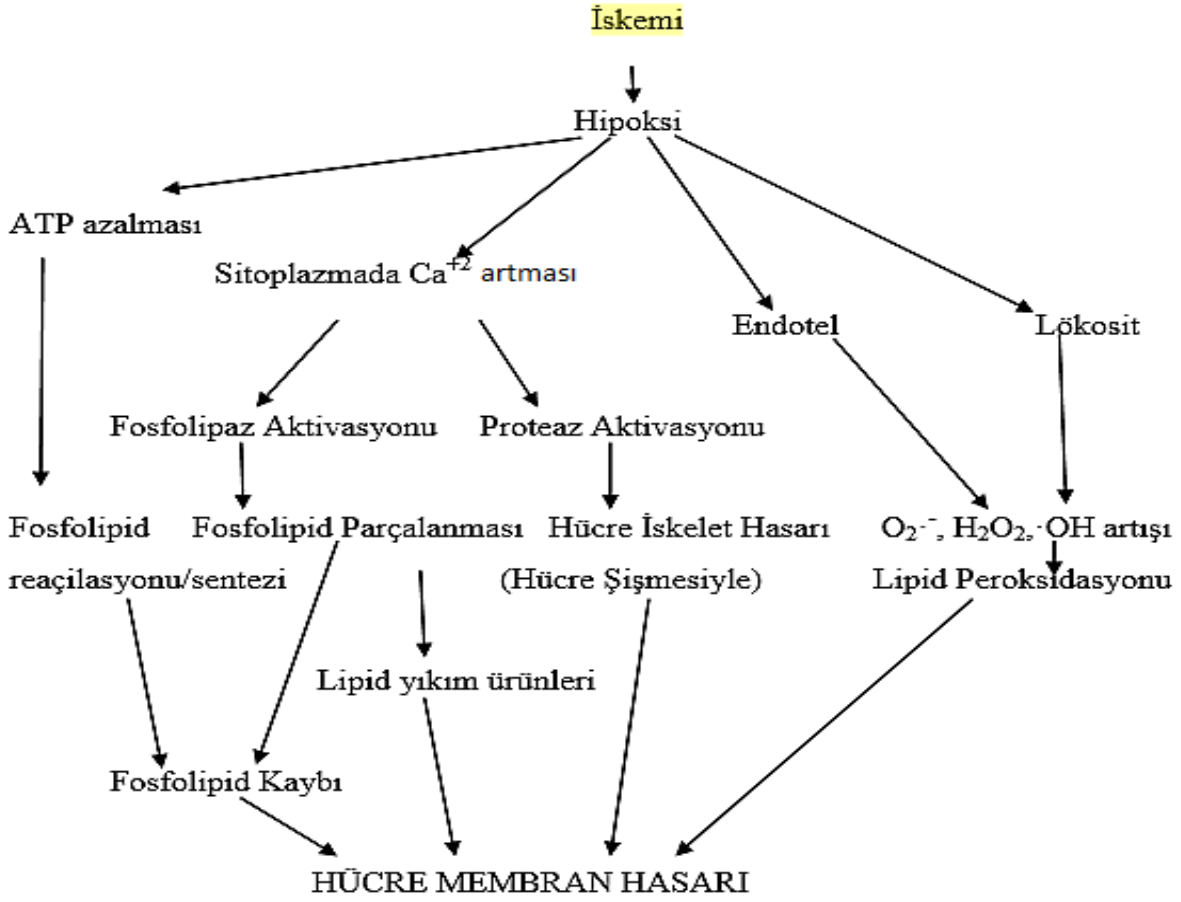
İske mi, inme ve kardiyak infarktüste olduğu gibi akut veya kladikasyoda olduğu gibi kronik olabilir(23,24).Bir organı perfüze eden kan akımındaki azalma geri dönüşümlü veya dönüşümsüz bir şekilde hücre zedelenmesine sebep olur(25).

İskemili dokuda, hücre sel fonksiyon bozukluğu ve hücre nekrozuna kadar ilerleyen birdizi kimyasal reaksiyon gerçekleşir.Sağlıklı hücre fonksiyonları aerobik metabolizma ile sürdürülürken, iskemili hücrelerde ise anaerobik metabolizma görülür. Aerobik dokularda ATP, adeno zin monofosfat, adeno zin, inozin ve hipoksantine parçalanır. Oluşan hipoksantin, ksantin dehidrojenaz ile ksantin ve ürik asite metabolize edilir. Aerobik dokularda hipoksantin, ksantin dehidrojenaz'la olan metabolizmasında nikotinamid adenin dinükleotid kullanıldığı için, toksik oksijen radikalleri oluşmaz. Hipoksantin, iskemili dokuda ksantin dehidrojenaz ile değil, ksantin oksidaz ile metabolize edilir. Çünkü iske mi döneminde ksantin dehidrojenaz, ksantin oksidaz'a dönüştürülür(10,8). Hipoksantin, ksantin oksidaz ile olan metabolizmasında moleküler oksijen (O₂) kullanıldığı için ara ürün olarak toksik oksijen radikaller üretilir (Şekil:1).Ancak, iskemili dokuda O₂'nin yeterince bulunmaması nedeniyle, reperfüzyon olmadığı sürece biriken hipoksantin, ksantine dönüştürülemez ve ara ürün olarak toksik oksijen radikalleri üretilemez(26,27).



Şekil 1: Xsantinoksidaz sisteminin radikal oluşturma mekanizması (28)

İskemi uzun süre devam ettiğinde hücrede enerji depoları boşalır. Hücre enerji depolarının boşalması, hücre membranında bulunan Na⁺,K⁺-ATPaz pompasının inhibisyonuna yol açar. ATPaz pompa inhibisyonu, hücre içinden Na⁺ ve Ca⁺² iyonlarının hücre dışına geçişini durdurur ve intrasellüler Na⁺ ve Ca⁺² iyon konsantrasyonları artar. İntrasellüler Na⁺ artışı, suyun hücrelere geçişini pasif bir difüzyonla artırır ve hücrelerin şişmesine neden olur. Bu şişme, anerobik metabolizma ürünlerinin birikimi ile daha da artar. İntrasellüler Ca⁺² iyon konsantrasyonunun artışı hücrelerde patolojik olayların başlatılmasına sebep olmakta(26) ve hücre içinde artan Ca⁺² konsantrasyonu sitotoksikiteye neden olmakta (29,30). Bu sırada hücrede meydana gelen iyon konsantrasyonunun değişimi proinflatuar sitokinlerin lökosit adhezyon molekülerini artırıp, antioksidan enzimlerinin oluşumunu azaltarak hücreyi reperfüzyon sırasında meydana gelen hasarlara karşı korumasız bırakır (27),(Şekil:2).



Şekil 2:İskemide membran hasarı (31)

Artan anaerobik glikolizle enerji üretilirken laktik asit ve karbondioksit birikir. Karbondioksitin birikimi karbonik asit üretimi ile sonuçlanır ve asidozu artırır. Fosfat türevlerinin hidrolizi ile laktik asit ve inorganik fosfatların birikimine ve buna bağlı olarak hücre içi pH düşmesine ve asidoza neden olur. ATP ve pH azalması, granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomların ayrılmasına ve polizomların monozomlara parçalanmasına ve protein sentezinde azalmaya neden olmaktadır(32). İki dakikalık iskemi sonrasında, özellikle beyin hücrelerinde, ekstrasellüler pH 7.3'ten 6.7'e kadar düşer ve asidoz ortaya çıkar(33,34).

İskemi sonucu oluşan hipoksi ise aerobik oksidatif solunumu etkileyerek, son derece önemli ve genel bir hücre zedelenmesi ve ölüm nedeni olabilmektedir(35). Mitokondrideki oksidatif fosforilasyonun engellenmesine neden olan hipoksi, hayati önemi olan ATP yapımını durdurur. Kritik noktadan sonra öldürücü membran zedelenmesine neden olur. Uzamış hipoksi nedeniyle membran potansiyeli, iyon geçişi ve endotelial hücrelerin iskelet

yapısını bozar, intrasellüler volüm artar. Bu değişiklikler sonucunda enerji depoları ile prostasiklin NO gibi bazı biyoaktif maddelerin yapımı azalırken, endotelin ve tromboksan A₂ gibi maddelerin yapımı artmaktadır(36). Hücre içerisinde oluşan bu sitotoksik olaylar sonucunda ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılır. Polizomlar monozomlara parçalanır ve protein sentezi azalır. Hasara, mitokondrilerde şiddetli vakuolizasyon ve matrikste kalsiyumdan zengin şekilsiz yoğunluk birikimi eşlik eder. Bu aşamadan sonra iskemi hala devam ederse geri dönüşümsüz zedelenme ortaya çıkabilir(37).

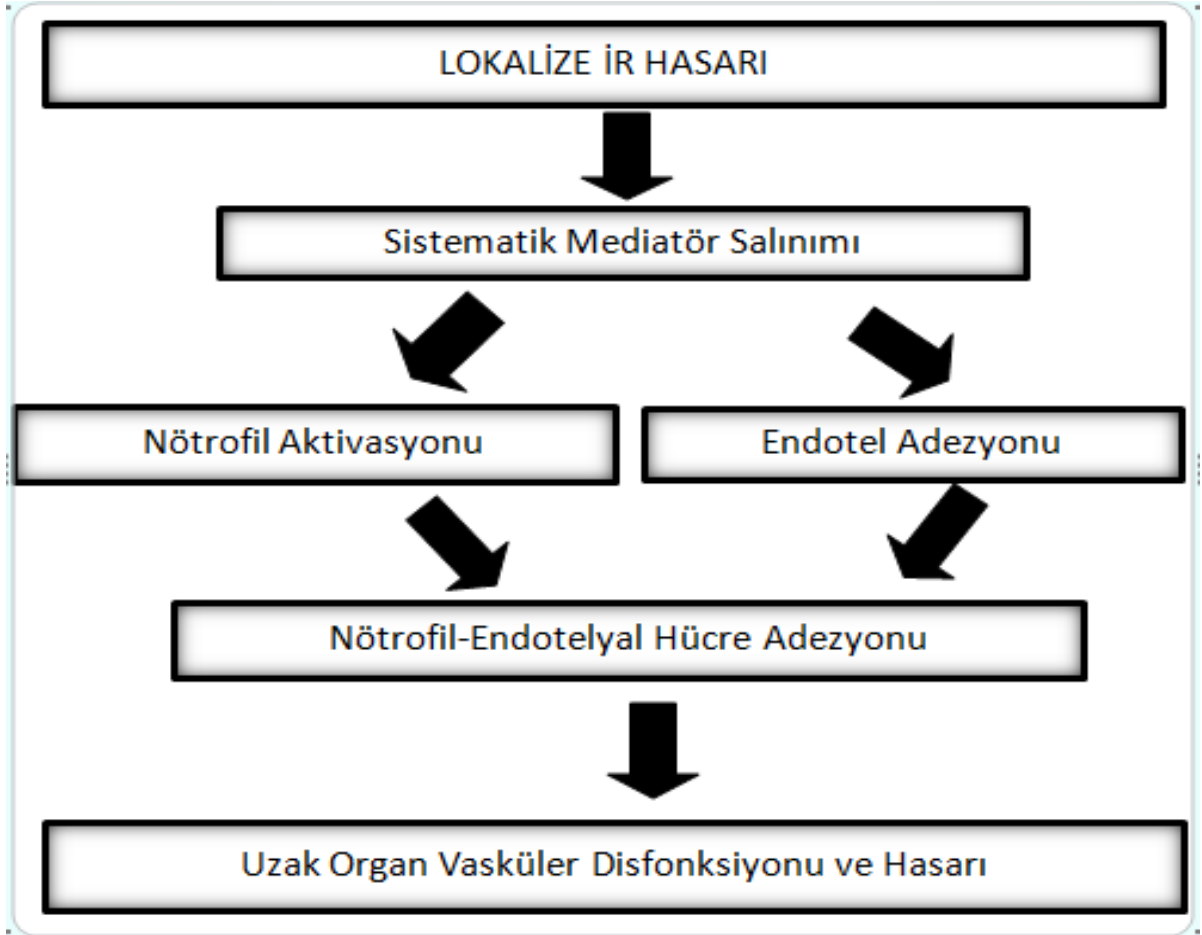
2.2. Reperfüzyon

İskemiye neden olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuya kan akımının yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir(5). Reperfüzyonda en hassas olan hücresel yapılar; proteinler zar lipitleri, nükleik asit ve deoksiribonükleik asit molekülleridir(38). Reperfüzyon ile iskemi sonucu doku veya organda oluşan enerji ihtiyacı karşılanır ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için doku ya da organa kan akımı yeniden sağlanır(39,40). Reperfüzyonla dokuda kan akımının başlamasıyla O₂ hızlıca artmaya başlar. Hipoksantin, iskemide oluşan ksantin oksidazın katalizlediği bir reaksiyonla ürik aside çevrilir. Fakat bu reaksiyonda iskemik ortamda serbest kalan elektronlar moleküler O₂ aktarılır, böylece moleküler O₂ süperoksid radikaline (O₂⁻) ve hidrojen peroksit (H₂O₂)'e dönüştürülür. Endotel hücrelerinde süperoksid anyon radikali H₂O₂, hidroksil radikali (OH⁻) ve hipoklorit asit (HOCL) gibi diğer O₂ metabolitlerinin açığa çıkmasına neden olur. Reperfüzyon sonrasında hücrede Ca⁺² girişinin artması ve endojen fosfolipaz A₂ inhibitörlerinin aktive olmaması, fosfolipaz A₂'nin aktive olmasına neden olur. Hücre içinde Ksantin Dehidrogenaz'ın Ksantin Oksidaz'a dönüşümünde Ca⁺² iyonları gereklidir ve reperfüzyon sonrasında hücre içinde serbest Ca⁺² belirgin artış gösterir. Bu artışa önemli oranda Fosfolipaz A₂'nin aktivasyonundan dolayıdır. Fosfolipaz A₂ aktivasyonu sonucunda siklooksijenaz yolundan prostoglandinler, 7 lipooksijenaz yolundan lökotrien B₄ ve diğer araşidonik asit metaboliti olan tromboksan A₂ oluşur. Tromboksan A₂ ve lökotrien B₄ güçlü bir kemotaktik ajandır. Elastaz gibi proteolitik enzimlerin artışına neden olmaktadır. Bu enzimlerdeki artış O₂ radikallerindeki artışla paraleldir. Membran fosfolipitlerinden aktive olan fosfolipaz tarafından hücre bütünlüğü bozulur. Ayrıca dokunun tekrar kanlanması nötröfillerin aktivasyonuna ve birikimine neden olmaktadır(41).

2.3. İskemi Reperfüzyon Hasarı

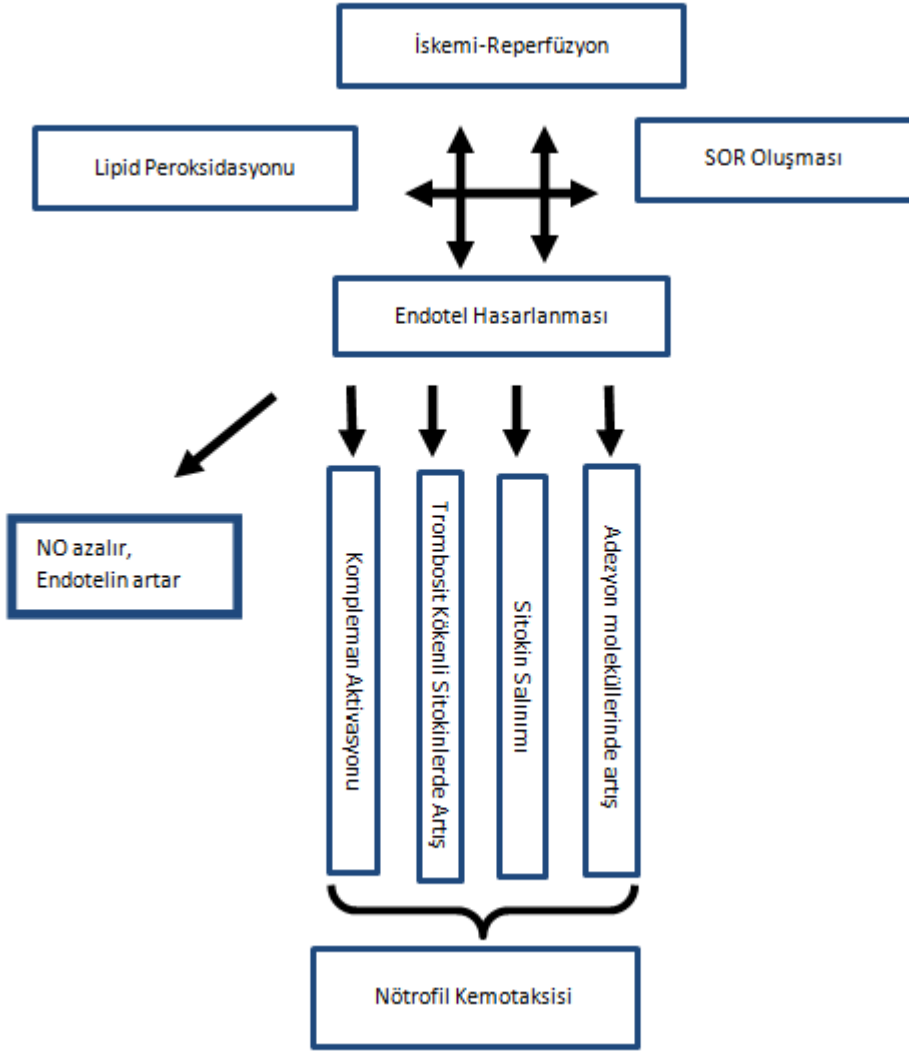
İskemi arteriyel veya venöz kan akımı azalmasına bağlı yetersiz perfüzyon sonucu doku veya organların oksijenden yoksun kalmasına denir. Reperfüzyon ise, iskemik sonucu doku veya organda oluşan enerji ihtiyacının karşılanması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için doku ya da organa kan akımının yeniden başlaması olayıdır. Fakat, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemik ile oluşan hasara göre daha ciddi hasara yol açabilmektedir(38, 39). Son zamanlarda İ/R hasarı, dokunun oksijensiz kalması ile başlayan, serbest oksijen radikallerinin üretimi ile devam eden ve inflamatuvar yanıtla genişleyen karmaşık patolojik bir süreç olarak tanımlanmaktadır(26).

İ/R, tıbbın pek çok alanında sık karşılaşılan klinik bir tablodur. İ/R hasarı hemen hemen bütün doku ve organlarda görülebilmektedir(40). Reperfüzyon hasarı iskemik inme ve miyokard enfarktüsünde uygulanan trombolitik tedavi, hipovolemik şok, sepsis, yanık, pankreatit gibi durumlar sonucunda ortaya çıkan iskeminin tedavisine bağlı olarak veya revaskülarizasyon ameliyatlarında gelişmektedir. Kardiyovasküler cerrahide aortik ya da periferik arteriyel klemplere uygulaması, sonrasında bu uygulamanın sonlandırılması ile İ/R hasarı oluşabilir. Transplantasyon cerrahisinde, transplante edilecek organın iskemik ve reperfüzyon kaçınılmaz olup, oluşan hasar greft fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Birçok cerrahi girişimde doku iskemisi ve bunu takip eden reperfüzyon sürecinin varlığı kaçınılmazdır(43). Bunlara ek olarak vasküler, ortopedik ve rekonstrüktif cerrahide kullanılan turnike uygulaması iyatrojenik bir İ/R modeli olarak bilinmektedir. Oluşan hasar bu bölgede sınırlı kalmayıp, aktive olan birçok mekanizma ile ortaya çıkan toksik ürünler, başta akciğer olmak üzere kalp, beyin gibi uzak organlarda da hasar oluşturarak uzun süreli yoğun bakım izlemi gerektirebilen çoklu organ yetersizliği geliştirebilmektedir(36,44), (Şekil:3). Reperfüzyon hasarı, iskemik hasar sonucu başlangıç hasarının oluşmasıyla saatler ve günler boyunca gelişmektedir(40).



Şekil 3: İskemi-Reperfüzyon sonrası Uzak Organ Hasarı Oluşumu (36)

İskemi ve reperfüzyon sürecinde; mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun değişmesi, ATP'in azalması, hücre içi Ca^{+2} artışı ve hücre iskeleti ile membran fosfolipitlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfatazların aktive olması sonucu SOR oluşarak, oksidatif strese neden olmaktadır(6,7). I/R hasarı birbirleriyle ilişkili, karmaşık, hücresel ve humoral olaylar dizisidir.



Şekil 4:İskemi/Reperfüzyonda Doku Harabiyet Mekanizması (45)

Hasarın fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Özellikle dört faktör hasarın başlıca nedenleri arasında yer almaktadır (37), (Şekil:4).

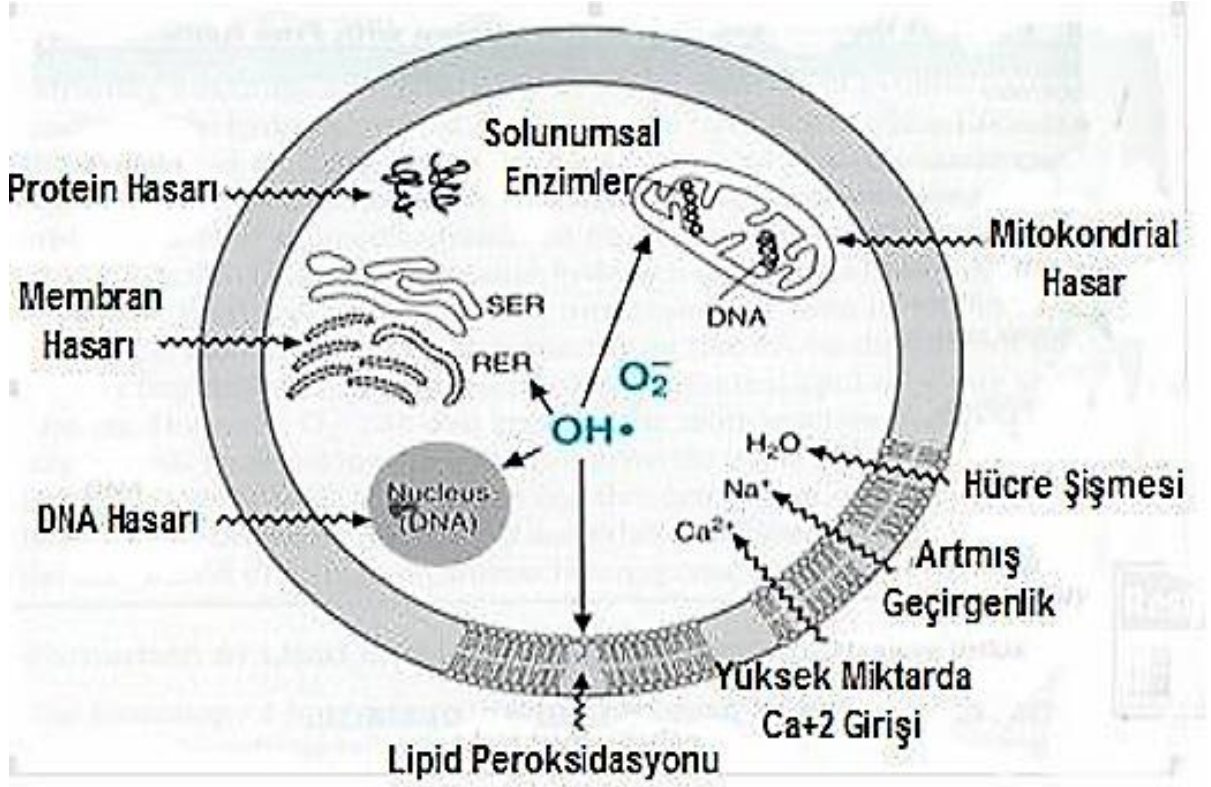
- 1) Serbest oksijen radikalleri (SOR)
- 2) Polimorf nüveli lökositler (PMNL)
- 3) Kompleman sistemi
- 4) Endotel hücreler

2.3.1. Serbest oksijen radikalleri

Serbest radikaller eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküllerdir(37).Genelde elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak buldukları için molekül stabildir ve reaktif değildir.Moleküle bir elektron ilavesi ya da molekülden bir elektron kaybı moleküle reaktif hale getirir. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları oksijen, NO, mitokondriyal elektron transport sistemi,uyarılmış nötrofil, endoplazmik retikulum, plazma membranı ve peroksizom olarak sayılabilir(18). SOR; fagositoz görevi yapan makrofaj, nötrofil ve monositler tarafından enzimatik olarak üretilmektedirler (46).Ayrıca PMNL ve endotel hücre(9-33) tarafından da üretilirler.

SOR üretimi ile ilgili çeşitli mekanizmalar ileri sürülse de en önemlisi ksantin oksidaz sistemidir(47). SOR ilk oluşanı ve öncüsü genellikle stabil olmayan ve hidrojen peroksit (H_2O_2) ile oksijene dönüşen süperoksit (O_2^-) radikalidir. H_2O_2 hücre membranlarından kolaylıkla geçebilen, endotelial hücreleri hasarlayabilen güçlü bir sitokindir. Serbest radikal olmadığı halde birçok reaktifin oluşum reaksiyonlarına katıldığı için H_2O_2 de toksik metabolitler içinde yer alır. Toksik özellik gösterebilmesi için hidroksil radikale dönüşmek zorundadır (Haber-Weiss reaksiyonu) (48). Hidroksil radikali, bilinen serbest radikaller içinde en güçlü olan ve doku hasarında sorumlu ana radikaldir(49). Çok kısa ömürlü ve reaktiftir. Protein, nükleik asit, polisakkarit ve ansatüre yağ asitleri gibi birçok biyolojik madde ile reaksiyona girebilmektedir. Bu radikalın en önemli özelliği, hidrojen atomlarını hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerinden ayırmasıdır. Lipid peroksidasyonunu başlatarak hücre membranında çözülmeye ve buna bağlı hücre ölümüne neden olmaktadır(50). Hidroperoksil radikali ise O_2^- radikalinin protonlanmasıyla oluşan ve süperoksitten daha güçlü olan bir ajandır.Hidroperoksil radikali biyolojik membranlardan kolay geçer ve yağ asitleriyle direkt olarak reaksiyona girebilme özelliğine sahiptir (51).

I/R hasarında aşırı miktarda SOR oluşarak, oksidatif strese neden olmaktadır (6,7). Oluşan SOR lipid peroksidasyonuna yol açarak hasarı arttırmaktadırlar(5).Membranlar da lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran permeabilitesini artırır ve hücrelerde ciddi hasar oluşturur. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Membran lipidleri, serbest radikallerin etkilerine karşı en duyarlı biyomoleküllerdir(52). Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki etmektedirler(53), (Şekil:5).



Şekil 5:Hücrede Radikal Aracılı Hasar (54)

2.3.2. Polimorf Nüveli Lökositler (PMNL)

PMNL'ler, Reperfüzyon hasarının patofizyolojisinde önemli rol oynar. Azurofilik granüllerinde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve myeloperoksidaz enzimlerini içerirler. Aktive PMNL'lerde ksantin oksidazın artması ile SOR'un salınması solunum patlaması olayını meydana getirir.

İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70'i NADPH bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu, çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen peroksit'e dönüşür. Hidrojen peroksit ise klorür iyonlarının varlığında myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile hipoklorik aside indirgenir. Hipoklorik asit birçok biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir ve güçlü bir oksidandır. Damar endotelinde hasara PMNL'lerin aktivasyonu ile granüllerden salıverilen apolaktoferrin, plazminojen aktivatörü, komplemanı aktive eden enzim, jelatinaz elastaz, kollajenaz ve gibi proteolitik enzimler neden olmaktadır(26, 52, 55).

İ/R hasarında PMNL'in rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür (57). Bunlar:

- 1) Mikrovasküler oklüzyon
- 2) SOR salınması
- 3) Sitotoksik enzim salınması
- 4) Sitokin salınmasında artış
- 5) Vasküler permeabilite artışıdır.

2.3.3. Kompleman sistemi

İskemi reperfüzyon hasarında kompleman sisteminin rolü tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluşur ve lökositleri aktive ederler. Bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, monosit kemoatraktan protein, makrofaj inflamatuvar protein, TNF- α , İnterlökin-1 ve İnterlökin-6 üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder. Kompleman tarafından sentezi uyarılan lökosit adhezyon molekülleri şunlardır(39):

- *Vasküler hücre adhezyon molekülü 1
- *İnterselüler adhezyon molekülü 1
- *E-selektin
- *P-selektin

C5b9 endotelde İnterlökin-1a, İnterlökin-8 ve monosit kemoatraktan protein salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar(18).

2.3.4. Endotel hücreleri

İskemi/reperfüzyon hasarının oluşmasında endotel hücreleri önemli role sahiptir. Oksidatif stresle endotel hücrelerinin aktivasyonu ve işlevleri bozulmaktadır. Endotel hücreleri SOR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SOR üretim kaynağıdır. Endotel, endotelin (ET)'i ve NO'yu üretmektedir. ET mikrovasküler homeostazdan sorumludur. NO arteriyel dolaşımında ET'in vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. İ/R hasarında Endotelin/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta, venlerde vazodilatasyon, arterlerde vazokonstriksiyon görülmektedir(58).

NO'nun radikal olarak reaktivitesi düşük olmasına rağmen metal içeren bileşikler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girerler. Özellikle lipit radikallerle tepkimeye girmesi

NO'ya antioksidan bir etki kazandırır. Fizyolojik derişimde üretilen NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrataoksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz enziminin indüksiyonu sırasında NO derişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'in dolaylı etkilerinden sorumludur ve hücrel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna yol açarak, proteinlerin ve enzimlerin aktivitelerinin sonlanmasına neden olabilmektedirler(59).

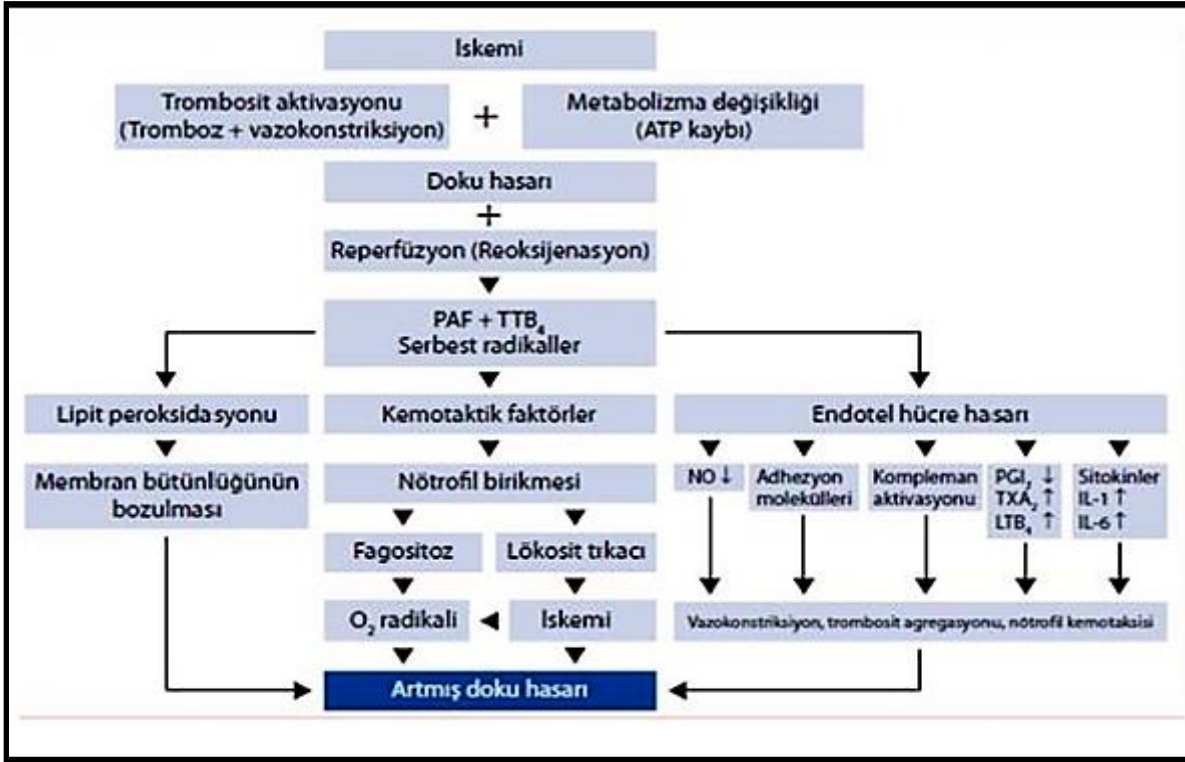
Reperfüzyon dönemindeki, hücrel asit-baz dengesindeki değişiklikler ve yeniden oksijenlenme hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunu arttırdığı ortaya konmuştur. Ca^{+2} 'a bağımlı doku hasarının oluşumunda hücre içi pH değerinin önemli bir faktör olduğunu düşündürmektedir (60).

Reperfüzyon hasarının oluşmasında etkili mekanizmalardan biri hidrolitik bir enzim olan fosfolipaz A_2 'nin iskemik dönemde kalsiyum etkisiyle aktive olarak membranlardaki yağ asitlerini parçalamasıdır(56).Hücre içi Ca^{+2} 'un artması zararlı etkilere sahip çok sayıda enzimin aktif hale gelmesine neden olmaktadır. İntrasellüler Ca^{+2} artışı ile fosfolipazlar ve proteolitik enzimler aktive olur. Fosfolipaz A_2 aktivasyonu ile membran fosfolipidleri bozulmaya başlar; plazma ve mitokondriyal membran biyoenerjetikleri ve geçirgenlikleri değişir (61). Fosfolipazların aktivasyonu sonucu araşidonik asit oluşur. Araşidonik asit, serbest radikal oluşumunu mitokondriyal enzimleri inhibe ederek direkt etkiyleartırır(62).

İ/R hasarının oluşmasında, devam etmesinde ve şiddetinin belirlenmesinde serbest oksijen radikallerinin yanı sıra inflamasyonda önemlidir.İ/R hasarı ile gerçekleşen inflamasyon "aseptik inflamasyon" olarak kabul edilmektedir.Aseptik inflamasyon, septik inflamasyona benzer şekilde proinflamatuvar mediyatörlerin artması, nötrofil ve makrofajların birikimiyle seyreder(63). İskemik hücrelerin kemoatraktan ve adhezyon maddeleri salgılayarak, nötrofil ve trombositlerin vasküler endotele adhezyonuna ve inflamatuvar yanıtı yol açtığı gösterilmiştir (64).

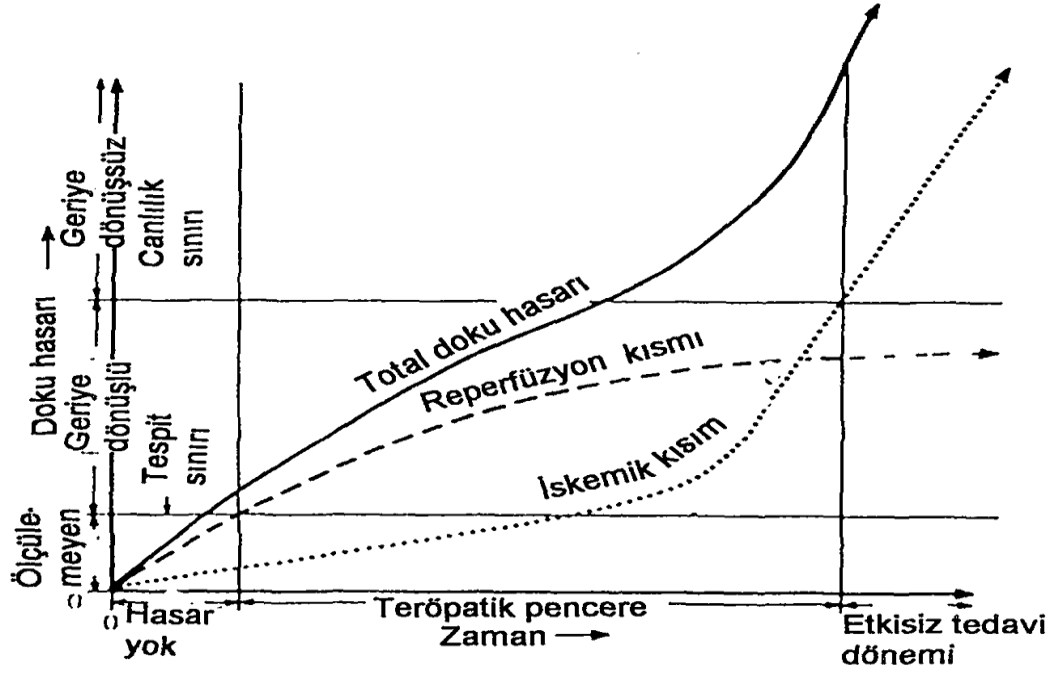
Nötrofiller aktifleştğinde salıverdıkları maddelerle hasara yol açarlar. Ayrıca damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif trombositlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olmaktadır(65). Fosfolipaz A_2 aktivasyonu,SOR üretimi, lizozomal enzimler, endotel hasarı ve doku zedelenmesinin güçlü araçlarıdır ve başlangıçtaki inflamatuvar uyarının etkisini güçlendirmektedirler. İ/R sonrası şekil bozukluğu olan, adezyona ve migrasyona uğrayan lökosit sayısında çok büyük

artışlar olduğu gösterilmiştir. Enflamatuvar olaylarda salınan tümör nekrosis faktör alfa, İ/R hasarında önemli yeri olan mikrovasküler disfonksiyoneden olmaktadır(37), (Şekil.6).



Şekil 6: İskemi Reperfüzyon Hasarında Görülen Olaylar Dizisi (18)

Geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre zedelenmesine organı perfüze eden kan akımındaki azalma neden olur (25). Geri dönüşümlü hücre zedelenmesinde reperfüzyon sayesinde hücrede enerji depoları ve hücre sel korunması geri kazanılabilmektedir(4). Ayrıca toksik metabolitleri uzaklaştırılmasında da reperfüzyon, önemli bir etkiye sahiptir (38). İ/R hasarında hücre içerisinde oluşan sitotoksik olaylar sonucunda ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılır. Polizomlar monozomlara parçalanır ve protein sentezi azalır. Bu aşamadan sonra iskemi hala devam ederse geri dönüşümsüz zedelenme ortaya çıkar (Şekil:7). Hasara, matrikste kalsiyumdan zengin şekilsiz yoğunluk birikimi ve mitokondrielerde şiddetli vakuolizasyon da eşlik eder (37). 30-40 dakika da geri dönüşümsüz iskemik hasarının erken bulguları mitokondride görülmektedir. Proteinler, temel koenzimler, RNA aşırı geçirgen olan zarlar yüzünden sürekli kaybedilmektedir. İskemi sonucu geri dönüşümsüz değişikliklerin gelişmesi için geçen süre dokudan dokuya farklılık göstermektedir. Beyin hipoksiye çok kısa bir süre dayanabilirkeniskelet kasları saatlerce direnebilmekte ve kalp için bu süre yaklaşık 60 dakikadır (66).



Şekil 7:İskemi/reperfüzyon hasarının mekanizması(67)

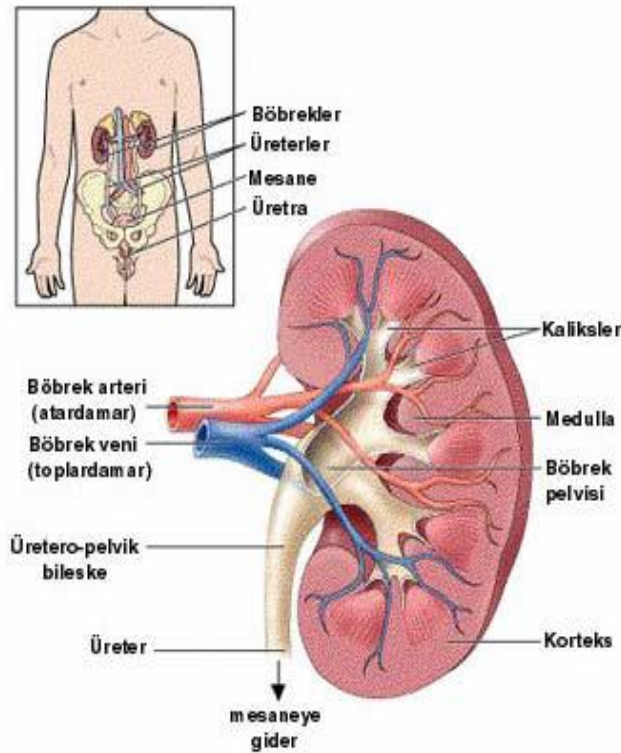
2.4. Böbrekler

2.4.1. Böbreğin Yapısı

Böbrekmetabolizma sonucu meydana gelen atık maddelerden üre, kreatinin, ürik asit gibi toksik maddelerin atılmasını ve kanda osmotik basıncını sabit tutmak için değişik miktarda elektrolit atılmasını sağlayarak vücudu zararlı maddelerden temizler. Vücut için gerekli olan maddelerin geri emilimini sağlayarak (aminoasit, glikoz gibi) madde kaybını önler ve asit baz dengesinin düzenlenmesine de yardımcı olur (68).

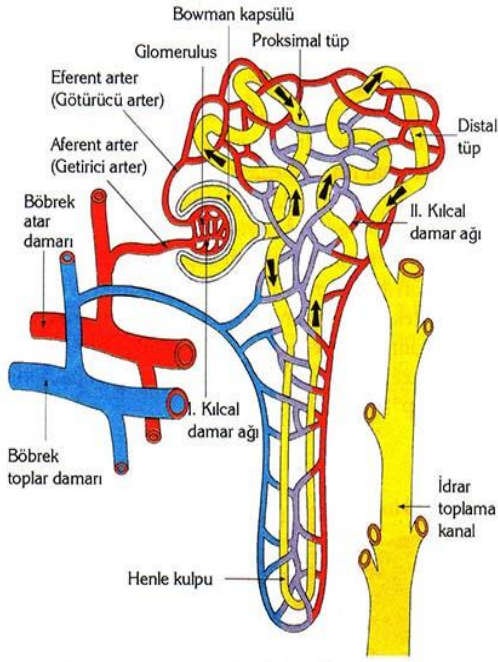
Böbrekler insan vücudunda retroperital kavitede, paravertebral yerleşimli olup, 3. Lomber ve 12. Torasik vertebralar arasında uzanır.Sağ böbrek sol böbreğe göre karaciğerin sağ lobunun basısı ve büyük olması nedeniyle 1-2 cm daha aşağıda bulunmaktadır. Her bir böbrek 12-13 cm uzunluğunda, 6-7 cm eninde ve 2,5-3 cm derinliğinde olup yaklaşık 150-200 gr ağırlığındadır.

Sağ böbreküst ve önde karaciğer, üstte sürrenal bez, hilus seviyesinde duodenum, altta ve lateral kenarda kolon ile komşudur. Sol böbrek ise üstte sürrenal bez, önde mide, dalak, pankreas, jejunum,ve desendan kolon ile komşudur.



Şekil 8:Böbreğin anatomik yapısı

Her bir böbreğin medial ve lateral kenarları, anterior ve posterior yüzeyleri, superior ve inferior kutupları vardır. Lateral kenar konkav, medial kenar ise konveks şeklindedir. Medial kesimde renal hilus denilen ve içinden renal arter, renal ven, renal pelvis, üreter, lenfatik ve sinirlerin geçtiği bir yarık bulunur. Renal hilus böbrek içinde, 2.5 cm derinliğinde olan ve içinde renal pelvis, renal kaliks, renal damar ve sinirler ile değişik miktarlarda yağ dokusunun bulunduğu renal sinüs olarak devam eder(69,70), (Şekil:8). Ağırlığı ise erkeklerde ortalama 150 g iken kadınlarda 125 g civarındadır(71).



Böbrekler ortalama sayısı 1 milyon olan nefron denen alt birimlerden oluşurlar. Böbrek hasarı, hastalıklar veya yaşlanma sonucu nefron sayısında azalmalar meydana gelmektedir.

40 yaşından sonra işlev gören nefron sayısı her 10 yıl için %10 azalma göstermektedir (72).

Şekil 9: Nefron Yapısı (73)

Nefronların temel iki bileşeni vardır; süzme işlemi yapan renal korpüskül ve burdan dışarıya uzanan tübüldür. Renal korpüskül veya malpighi korpüskülü adı verilen bölge glomerül ve onu saran bowman kapsülünden oluşur. Kanın filtrasyonu glomerülde başlar. Yapısındaki kapillerlerde hücrelere geçirgen olmayan suda eriyen maddelere geçirgen olan geniş porlar vardır. Bowman kapsülünün tübül hücrelerinin ilk kısmı oluşturur. Renal tübül, tek katlı epitel hücrelerinden oluşan ince, silindirik şeklinde bir yapıdır. Tübül boyunca değişen epitel hücreler farklı yapı ve işlevdedir, en az sekiz farklı segmente sahiptir. En önemli iki tip nefron vardır. Bunlar; kısa henle kulpu olan ya da hiç olmayan kortikal nefronlar ve uzun henle kulplarına sahip jukstamedüller nefronlardır(74), (Şekil.9)

2.4.2. Böbreğin fonksiyonları

Böbrekler vücuttaki yabancı maddelerin ve bileşiklerin miktarını düzenler. Kanın pH'ının ayarlanmasında rolleri vardır (68).

2.4.2.1. Böbreğin düzenleyici fonksiyonu

2.4.2.1.1. Böbreğin idrar oluşturma fonksiyonu

İdrar böbreklerin kanı süzmesi sonucu meydana gelmektedir. İdrarın oluşması için nefronlarda üç aşama; filtrasyon, geri emilim (reabsorbsiyon) ve salgılama (ekskresyon) gerçekleşmelidir.

1. Filtrasyon

Glomerül kapiller yumağına gelen kanın proteinler ve hücreleri dışındaki tüm maddeler bowman kapsülünde filtre edilmektedir. Protein dışında plazmanın yapısı ile süzüntü hemen hemen aynıdır.

2. Geri emilim (reabsorbsiyon)

Süzüntü içindeki su ve maddeler basit difüzyon ve aktif taşıma ile önce tübül epitel hücrelerine, buradan da kana geri emilmektedirler. Geri emilim organizmanın ihtiyacı doğrultusunda düzenlenmektedir. Geri emilimin %90'ı proksimal tübül de gerçekleşmektedir. Geri emilen maddeler, meydana gelen osmotik basınç nedeni ile bir miktar su da geri emilmektedir.

3. Salgılama (sekresyon)

İdrar oluşması sırasında bazı maddeler tübül epitel hücreleri tarafından doğrudan tübüller içine salgılanmaktadır. Bazı maddeler ise hem glomerül filtrasyon yolu ile hem de salgılama ile idrara çıkmaktadır. Kreatinin bu tür maddelere en iyi örnek olmaktadır (75).

Böbreklerin oluşturdukları idrar sayesinde organizmada birçok fonksiyonları vardır. Bunlar:

- Vücut sıvı elektrolit dengesini düzenlerler.
- Kanın osmotik basıncını sabit tutmak için değişik miktarda elektrolit çıkarılır.
- Vücudu zararlı maddelerden arındırırlar. Üre, ürik asit, kreatinin gibi metabolizma artıklarının atılmasını sağladıkları gibi ilaçlar, toksinler metabolitlerin detoksifikasyonu ve atılımını da sağlarlar.

- Vücut için gerekli olan maddelerin geri emilimini sağlayarak glikoz, aminoasit gibi maddelerin kaybını önlerler.
- Vücuttaki iyon dengesini sağlayarak vücuttaki iyon dengesini korurlar. K^+ , Na^+ , Ca^{+2} , P , Mg^{+2} gibi iyonlar günde belli miktarda böbrekten atılırken bir kısmı ise geri emilir.
- Vücutta normal asit-baz dengesinin düzenlenmesine yardımcı olur. Böbrekler; hücre içi ve dışı sıvıların H^+ iyonu derişimi normalden saptığı zaman, asit ya da baz bileşikleri tutarak dengenin oluşmasını sağlar. Vücutta pH'nın sabit tutulmasına yardımcı olurlar (76).

2.4.2.1.2. Böbreğin Metabolik Fonksiyonu

- 1) Hormonlar ve benzeri maddelerin sentezi: Renin, D vitamini, eritropoietin, prostoglandinler, kallikrein-kinin, büyüme faktörleri.
- 2) Peptid yapılı hormonların yıkımı ve katabolizması: İnsülin, glukagon, parathormon, kalsitonin, prolaktin, büyüme hormonu, vazopressin, gastrointestinal hormonlar.
- 3) Düşük molekül ağırlıklı proteinlerin katabolizması: Hafif zincirler, β -2 mikroglobulin.
- 4) Diğer metabolik fonksiyonlar: Glukoneogenez, lipid metabolizması (70).

2.4.3. Böbreğin kanlanması

Her bir böbrek aortadan köken alan renal arterler ile kanlanır. Renal kan akışı, glomerüllere afferent arteriyoller aracılığıyla girer, efferent arteriyoller aracılığıyla çıkar. Kan, afferent arteriyollerle glomerul kapillere gelir, son olarak proteinleri ve hücreleri haricindeki bileşenleri bowman kapsülü içine süzer. Süzülen sıvı plazma yapısına benzerlik göstermektedir. Renal kan akışı bazı hormonlar ile düzenlenmektedir. Bu hormonlardan norepinefrin damarlarda büzülmeye neden olarak akışı azaltır, dopamin ise vazodilasyon ile akışı artırır. Benzer olarak anjiyotensin II büzülmeye, prostaglandin renal kortekste dilatasyona, renal medullada büzülmeye ve asetilkolin vazodilasyona neden olmaktadır.. Ayrıca Anjiyotensin II sistemik dolaşımdaki arteriyolleri kasarak kan basıncının yükselmesine, adrenal korteksten aldosteron salgısını uyararak tuz ve su tutulmasının artırılmasına, hipotalamusu etkileyerek antidiüretik hormon salgısını ve susama hissinin uyarılmasına sebep olmaktadır. Böylelikle kan basıncı yükselip ekstrasellüler sıvı hacmi artar (77).

Böbreğin kan akımıyla meydana gelen olaylar şunlardır;

- Glomerüler filtrasyon hızının belirlenmesi,
- Erimiş maddelerin ve suyun proksimal tübülde geri emilimi,

- Geri emilenlerin genel dolaşıma katılması,
- Ürenin yoğunlaşması ve seyreltilmesi,
- Oksijen, besinler ve hormonların nefron hücrelerine bırakılmasıdır.

Kan akımı organlarımızda; direnç ile ters, basınç ile doğru orantıdadır. Renal arter ile renal ven arasındaki basınç farkı renal vasküler dirence bölünürse böbrek kan akımı elde edilir. Renal arter basınç, sistemik arter basınç değerlerine yakındır. 3–4 mmHg olan renal ven basıncı düşüktür. Renal vasküler direnci afferent arteriyoller, efferent arteriyoller ve interlobuler arter, renal vasküler direnci belirler. Kontrol faktörleri ise sempatik sinir sistemi, hormonlar, bölgesel vazoaaktif maddelerdir. Glomerüler ve peritübüler kılcal damarlardaki hidrostatik basıncın düzenlenmesi afferent ve efferent arteriyollerin direncinin böbrekler tarafından ayarlanmasına bağlıdır. Böylece glomerüler filtrasyon hızı ve tübüler geri emilimi vücut ihtiyaçları doğrultusunda değiştirebilirler (78).

Böbrek iskemisi; travma, şok, sepsis gibi klinik durumlar, kardiyopulmoner bypass, böbrek transplantasyonu, renal arter ameliyatı, kısmi nefrektomi gibi çeşitli ürolojik girişimlerde görülür. Böbrek iskemisi sonucu meydana gelen akut tübüler nekroz, akut böbrek yetmezliğinin en sık nedeni ve geriye dönüşümlü böbrek hastalığıdır (68,69).

Bu hasarın şiddeti iskemi süresine paralel olarak artmakta, sonuçta belirgin doku hasarı olmaksızın gelişen prerenal azotemiden, tübüler veya kortikal nekroza bağlı ciddi akut böbrek yetmezliğine kadar değişebilen farklı klinik tablolar karşımıza çıkmaktadır (70).

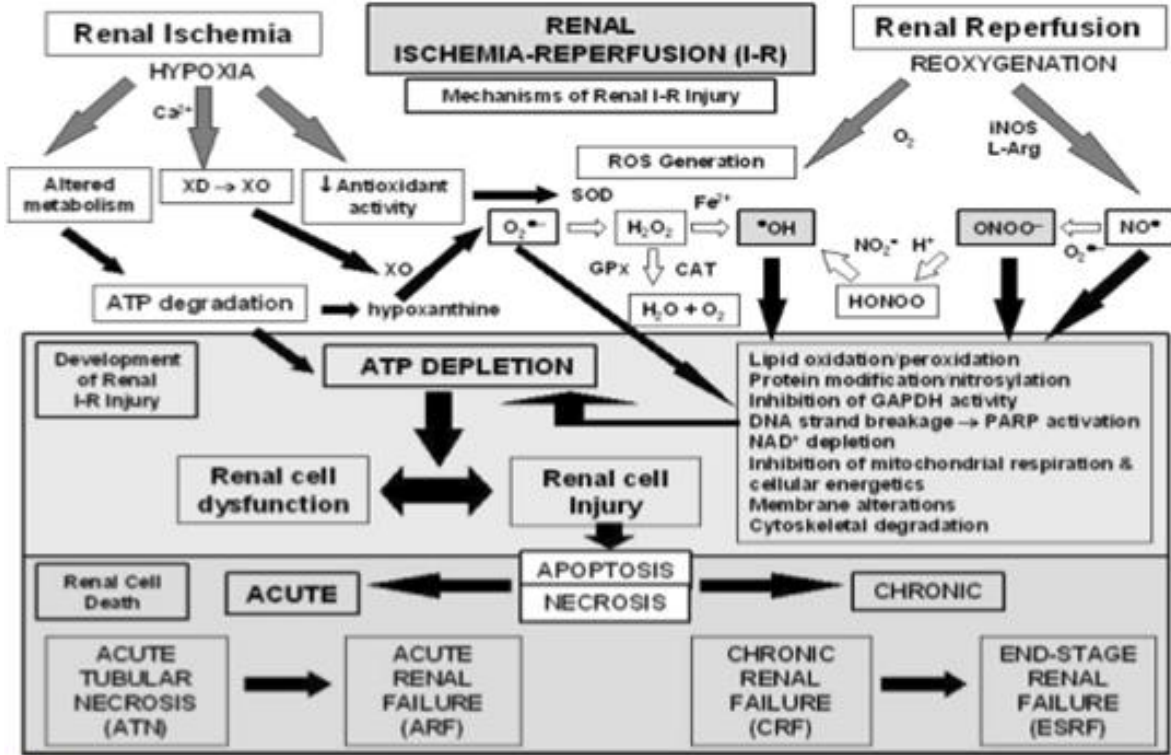
2.5. Renal İskemi Reperfüzyon Hasarı

Akut böbrek yetmezliğinin en önemli etken mekanizmalarından bir renal iskemi reperfüzyon hasarıdır (79). Renal I/R'nin patofizyolojisi eş zamanlı olarak endotel hücre hasarı, tübülerapoptazis, tübülernekrozla apoptozis(80), inflamasyon ve tübüler hücre proliferasyonu ile ilgili karmaşık bir durumdur (81).

İskemik tübüler hasar ile glomerüler feedback sisteminin aktifleşmesi ve vazokonstriksiyonadistal tübüllere fazla miktarda sodyum gelişi sebep olmaktadır. Aktin hücre iskeletindeki bozulma, proksimal tübül hücrelerinin fırçamsı kenarlarının ve hücrelerin, bazal membrandan koparak tübül lümenine dökülmesine ve lümeninde tıkanmaya yol açar. Meydana gelen tıkanma üriner akımı durdurup, tübül içi basıncı artırarak glomerüler filtrasyon hızını azaltır. Zedelenmiş tübüllerden ayrıca interstisyuma sıvı geçer ve interstisyel basınç artışı, tübül kollapsı gelişir (82).

Tübüler hasar oluşumunda bir diğer mekanizma oksidatif strestir. Akut tübüler nekroz sırasında meydana gelen mitokondriyal hasar ve proksimal tübül hücrelerinin metabolik açıdan

yoğun olmaları ve intrasitoplazmik Ca^{+2} artışı fazla oksidatif molekül oluşmasını sağlar. Oksidan strese; proksimal tübül hücreleri, distal tübül hücrelerine göre daha duyarlıdır. Lipit peroksidasyonuna bağlı, özellikle proksimal tübül segmentlerinde tübül yapısı, hücre transport kapasitesi ve enerji üretimi bozulur (83,84).



Şekil 10: Renal iskemi-reperfüzyon hasarı mekanizması (85)

Renal İ/R hasarı, iskemik böbrek yetmezliğinin başlangıç ve akabindeki evrede anahtar bir rol oynayan endotel fonksiyon bozukluğu tarafından karakterize edilir (86). Böbreklerdeki İ/R hasarının mekanizması multifaktöriyel ve birbirine bağlı hipoksi, serbest radikal hasarı ve enflamatuvar cevaplarla ilişkilidir (87).

Oksijenlenmenin bozulması, intrasellüler Ca^{+2} artışıyla birlikte arteriyollerdeki direncin artmasına da neden olmaktadır (88). İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği veya uzamış iskemi glomerüler filtrasyon hızında azalmaya, böbrek damarlarında direnç artışı ve tübül nekroza neden olmaktadır (89). Akut böbrek yetmezliği vakalarının önemli bir kısmında prerenal akut böbrek yetmezliği söz konusudur. İskemik akut böbrek yetmezliği, yetersiz kan akımıyla başlar. Yetersiz kan akımı da azalmış kardiyak debinin yanında renal arter stenozu ya da tıkanıklığı veya intrarenal küçük damarların ateroskleroz, ateroemboli, vaskülit gibi nedenlerle hasarlanması sonucu gelişmektedir. İskemik böbrek dokusunun

reperfüzyonu sonucunda nekrotik ve apoptotik böbrek hücre ölümüne yol açan bir dizi karmaşık hücreyel olayı başlamaktadır (90), (Şekil:10).

2.6. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren, yüksek enerjili, kısa ömürlü (Tablo:1), kararsız, molekül ağırlığı düşük moleküllerdir. Elektron çiftlemek için diğer moleküller ile reaksiyona girme eğiliminde oldukları için serbest radikalleri oldukça reaktif bir hale gelirler. Yapısındaki çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivlik kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid, koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır (91,92).

2.6.1. Reaktif oksijen türleri

2.6.1.1. Süperoksit radikali (O^{2-})

Süperoksit radikali, oksijenden kaynaklanan tüm radikaller içinde en çok ve en kolay oluşandır (34). Soluduğumuz oksijen iki tek elektron içeren, çok stabil ve iki radikalli bir moleküldür. Dış enerji kaynağı sayesinde serbest elektronlardan birisini bir elektron kazanmakla negatif yük elde ederek çift konuma getirerek süperoksid anyonunu oluşturur.

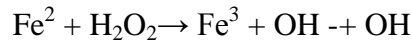
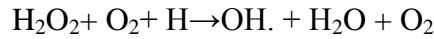
Süperoksit anyonu zararlı oksidatif bir faktör olarak bilinsedeyalnızca nükleofilik özelliklerine dayanarak direk olarak etki yapar ve aktivitesiproton bulunmayan ortamlarda ortaya çıkar (93).

2.6.1.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksidin asıl üretimi biyolojik sistemlerde süperoksidin dismutasyonu ile gerçekleşir. Uzun ömürlüdür. Membranlardan kolayca geçebilir(94). Peroksit süperoksidin bir elektron, moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması ile meydana gelir. Hidrojen peroksit ise peroksit molekülünün iki hidrojen atomu ile birleşmesiyle meydana gelir. Hidrojen peroksit serbest bir radikal değildir. Reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar(95,96). Çünkü O^{2-} ile reaksiyona girip kolaylıkla yıkılarak en reaktif ve en zarar verici oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturur (96).

2.6.1.3. Hidroksil radikali (OH⁻)

Hidroksil radikali, oksijen radikalleri içinde en reaktif olanı ve reaktivitesinden dolayı da en toksik olandır. Geçiş metallerinin varlığında H₂O₂'nin indirgenmesiyle OH⁻ meydana gelir. Oluşan bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denir(94). Süperoksit, Cu⁺² gibi geçiş metalleri ve radikal türleri ile kolayca reaksiyona girip H₂O₂ ile Haber-Weisstepkimesi vererek oldukça toksik hidroksil radikalini oluşturur (97), (Şekil:11).



Şekil 11:Haber-Weiss tepkimesi ve Fenton tepkimesi. Fe: demir (97)

Hidroksil radikali, radikal tepkimelerini başlatabildiği gibi her tür molekül ile üretildiği yerde tepkimeye girer. Komşu moleküllerle çok hızlı reaksiyona girebilme özelliğinde ve yarı ömürleri çok kısadır. Bu reaksiyonlar sonucunda yarı ömürleri daha uzun, stabil ve daha az reaktif radikaller oluşur. Yüksek aktivitesinden dolayı istenmeyen toksik etkilerinin yanısıra normal biyolojik fonksiyonlar içinde üretilmeleri gereklidir. Fagositoz ve birçok enzimatik katalizin zorunlu bir üyesi olarak OH⁻ üretilir ve doğrudan kataliz olayına katılır (93,98).

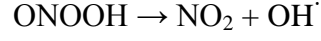
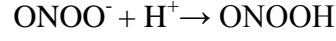
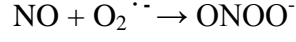
2.6.1.4. Singlet oksijen

Serbest radikal olmadığı halde çok reaktifdir. Üretimi esnasında bazı radikal tepkimeler oluşur. Bu özelliklerinden dolayı serbest radikal ailesinden sayılmaktadır. Serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olduğu gibi serbest radikal reaksiyonları sonucunda da meydana gelmektedir. Oksijenin elektronlarından birinin kendi spininin ters yönünde başka bir orbitalle enerji alarak yer değiştirmesiyle oluşmaktadır. Enerji absorpsiyonu ile uyarılan oksijenin dış elektronları spinlerini değiştirerek aynı ya da ayrı ayrı orbitali işgal edebilmekte ve bu iki forma singlet oksijeni denilmektedir(99).

2.6.1.5. Nitrik oksit (NO)

Damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentetaz enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. Yarı ömrü 20-30 saniyedir. Bir N ile bir O₂'in eşleşmemiş elektronlarının birleşmesi ile meydana geldiği için radikal tanımına uymaktadır. NO damar gevşemesini düz kaslarda siklik guanozin monofosfat sentezini uyararak yapmaktadır. Vücutta meydana gelen

SOR ile reaksiyona girmesi sonucunda güçlü bir oksidan olan peroksinitrit anyonunu oluşturur. Peroksinitritin ileri reaksiyonları sonucu OH⁻ radikalini meydana getirmesi aşağıdaki tepkimelerde gösterilmiştir(100).



Tablo 1:Başlıca Serbest Radikaller ve Yarılanma Ömürleri

Serbest Radikal Sembol	Yarılanma Ömrü
(Saniye, 37°C)	
Alkoksil Radikali	RO [•] 1x10 ⁻⁶
Hidroksil Radikali	OH [•] 1x10 ⁻⁹
Moleküler Oksijen	O ₂ >10 ²
Peroksil Radikali	ROO [•] 1x10 ⁻²
Singlet Oksijen	¹ O ₂ 1x10 ⁻⁶
Süperoksit Anyon Radikali	O ₂ ⁻ 1x10 ⁻⁶

2.6.2. Serbest radikal kaynakları

Radikal yapımı içinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle sürekli dir. Hücre sel koşullarda da ciddi miktarda ve çeşitlilikte radikaller üretilmektedir. Serbest radikal kaynaklarını biyolojik ve hücre sel olmak üzere iki başlık altında toplayabiliriz.

2.6.2.1. Biyolojik kaynaklar

- a. Aktive olmuş fagositler,
- b. Antineoplastikler (Nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin, adriamisin) ve ekzojen kimyasalların enzimatik yıkımı,
- c. Radyant enerjinin emilimi (Ultraviyole, X ışını),
- d. Alkol ve uyuşturucular
- e. Çevresel etkenler (Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, pestisid, sigara dumanı, solventler, anestezi kler ve aromatik hidrokarbonlar),
- f. Stres (Streste katekolaminler artar. Artan katekolaminlerin oksidasyonu sonucu serbest radikaller meydana gelir) (101).

2.6.2.2. Hücre sel kaynaklar

- a. Normal metabolik olaylarda görülen oksidasyon-redüksiyon (redoks) reaksiyonları sırasında (Askorbat, tioller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavin, tetrahidropterin ve antibiyotikler)
- b. Enzim ve proteinler (Ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz ve hemoglobin gibi)
- c. Mitokondrial elektron transport zinciri
- d. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron taşıma sistemleri (sitokrom p450, sitokrom b5 redüktaz)
- e. Peroksizomlar (Oksidazlar ve flavoproteinler)
- f. Plazma membranı (Lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde dihidronikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz ve lipid peroksidasyonu),
- g. Oksidatif stres yapıcı durumlar (iskemi, travma ve intoksikasyon).

Ayrıca geçiş metalleri değ erlilikleri değ iştiği için hücre iç i reaksiyonlar ya da Fenton reaksiyonu sırasında yeri geldiğinde serbest elektronları alarak veya vererek serbest radikal oluşumunu katalizlemektedirler(16).

2.6.3. Serbest radikal oluşum mekanizması

Serbest radikaller nerede ve nasıl üretildiklerine bakılmaksızın 3 yolla meydana gelmektedirler(102,103).

2.6.3.1. Kovalent bağlarda homolitik kırılma

Yüksek elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık (500-600 °C)kimyasal bağları kırmaktadır. Bu kırılma esnasında bağ yapısında bulunan iki elektronun ayrı ayrı atomlarda kalmasına homolitik kırılma denilmektedir. Homolitik kırılmayla atomlar üzerinde kalan elektronlar eşleşmemiş elektronlardırve homolitik kırılan organik moleküllerde bulunan bağlar zıt yüklü reaktif iyon çiftlerini oluşturmaktadır.

2.6.3.2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi

Serbest radikal özelliğinde olmayan bir molekül elektron kaybederek dış orbitalinde eşleşmemiş elektron kalmasıyla radikal formunun oluşmasıdır. Örneğin GSH radikalleri indirgemesi sırasında tiyil radikali oluşmaktadır. Tepkimeye giren iki tiyil radikali sonucunda meydana gelen tür ise glutatyonun oksitlenmiş formudur.

2.6.3.3. Normal bir moleküle elektron transferi

Biyolojik sistemlerde yaygın olarak serbest radikal özelliğinde olmayan bir moleküle elektron eklenmesi sonucu serbest radikal oluşmaktadır. Üretilen serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü yada nötr olabildiği gibi organik yada inorganik moleküller de olabilmektedir. Geçiş elementi yada geçiş metalleri olarak adlandırılan canlıların oksijen kullanabilmesi için gerekli olan demir, bakır, çinko, kobalt, mangan, nikel, krom ve molibden gibi elementler eşleşmemiş elektron bulundurmasına rağmen serbest radikal olarak kabul edilmemektedir(104).

2.6.4. Serbest radikal aracılı hasar mekanizması

2.6.4.1. Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikallerin hücrede başlattığı en önemli ve zararlı etki lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile oksidasyonu olarak tanımlanmaktadır. Lipid peroksidasyonu biyolojik membran potansiyelinde azalmaya, membranlarda akıcılığın kaybına, hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artışıyla hücrenin hasarına ve hücre içeriğinin serbestleşmesine neden

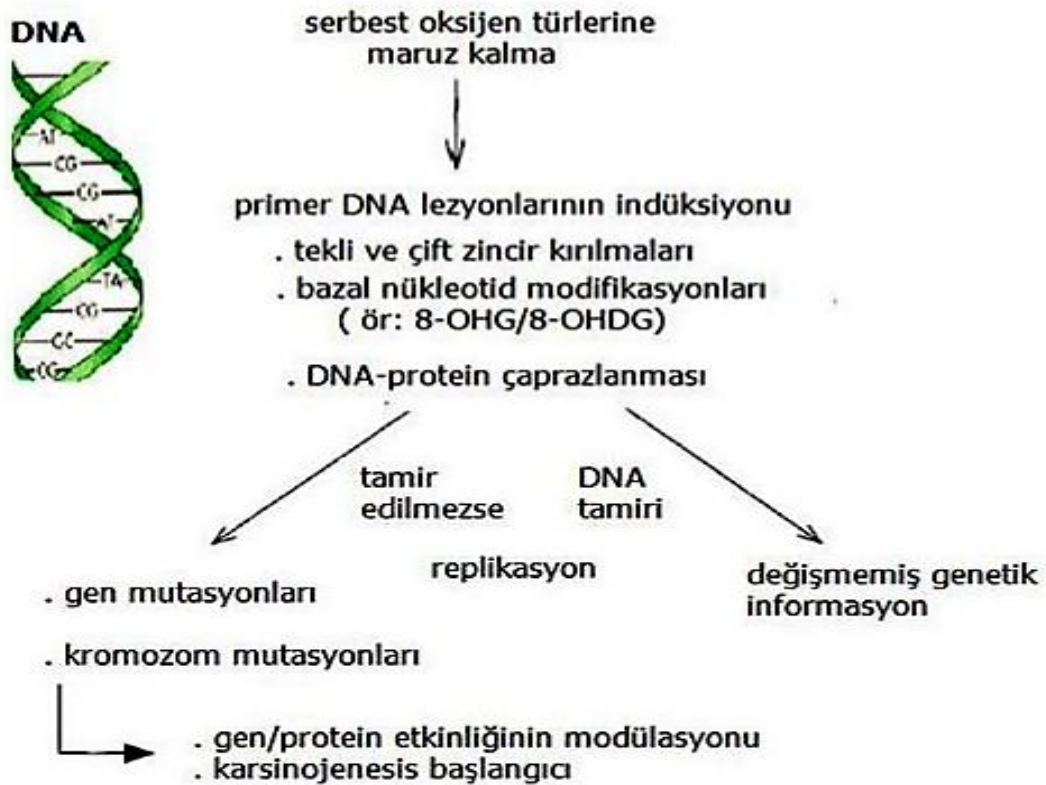
olmaktadır. Ayrıca lipid peroksidasyonunun ürünlerinden biri olan MDA membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağ yapmalarına yol açarak hücre yüzeyinin durumunu, enzim aktivitesini, iyon transportunu etkilemektedir(105,106).

2.6.4.2. Protein oksidasyonu

Protein oksidasyonunun serbest radikaller ile oluşturduğukimyasal reaksiyom sonucunda metiyonin sülfokside, histidin oksihistidin ve aspargin, tirozin, ditirozin ve sistein disüflitlere dönüşür. Bu değışiklikler proteinlerin bağlanma özelliklerinde ve enzim aktivitelerinde farklılaşmaya neden olmakta ve bu durum hücre fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilmektedirler (104,105).

2.6.4.3. DNA hasarı

Serbest oksijen radikalleri adenin ve piridin nükleotid durumlarının sürdürülebilmesi için gerekli yollara engel olabilirler. Serbest oksijen radikalleri DNA ile tepkimeye girerek mutajenik olan 8-Hidroksiguanin'in ortaya çıkmasına neden olmaktadır(107), (Şekil:12).



Şekil 12: Serbest Radikallerin DNA Üzerindeki Etkileri (108)

2.6.4.4. Kovalen bağlanma

Serbest radikaller polisiklik hidrokarbonlar, aromatik aminler ve nitrozaminler gibi ksenobiyotiklerin çeşitli biyomoleküllere kovalen bağlanmasına neden olabilmekte ve bu durum hücre hasarına doğrudan yol açabilmektedir (105).

2.6.4.5. Kalsiyum salınımı

Kalsiyum hücre yaralanması ile ilgili olduğu düşünülen bir elementtir. Kalsiyumun transportunu engelleyen herhangi bir durum hücre fonksiyonlarını olumsuz etkilemektedir. Kalsiyum ATPaz enzimleri önemli sülfidril gruplarına sahiptir ve SOR tarafından inaktive edilebilmektedir. Hipoksi, sitokinler, endotoksin gibi faktörler SOR aracılı yol kullanarak, hücre enerjisini azaltabilmektedirler(106).

2.7. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşmasını veya bu türlerin ortaya çıkardığı toksik etkileri önleyen, serbest radikalleri yakalayarak onları etkisiz hale getirme kabiliyetinde olan maddelere antioksidan adı verilmektedir (109).Antioksidanlar hücrenin hem membran hem de sıvı kısımlarında bulunabilmektedir(99).Serbest radikallerin organizmada belirli düzeyin üzerinde oluştuğlarında veya antioksidan sistemin yetersizliğinde serbest radikal molekülleri, organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler ve enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açabilmektedir(110).

Antioksidan savunma sistemleri vücutta reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve meydana getirdiği hasarı önlemek için antioksidan maddelerin geliştirdiği mekanizmalara denmektedir.

2.7.1. Antioksidan savunma sistemleri

Antioksidan savunma sistemleri etkilerini dört yolla göstermektedir.

- 1) Toplayıcı etki:Antioksidan maddelerin SOR tutarak yeni ve daha zayıf moleküle dönüştürmesi toplayıcı etki olarak adlandırılmaktadır. Küçük moleküller, trakeobronşial mukus ve antioksidan enzimler toplayıcı etkiye örnek gösterilebilir.
- 2) Baskılayıcı etki: Antioksidanların reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girmesi ve hidrojen aktararak bunların etkilerini azaltması veya etkisiz hale getirilmesidir. Vitaminler, antosiyanooidler, flavanooidler ve trimetazin baskılayıcı etkiye örnek gösterilebilir.

- 3) Zincir kırıcı etki: Antioksidanların serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlaması ve ardından zincirlerini kırarak radikallerin fonksiyonlarının engellenmesi zincir kırıcı etkidir. Mineraller, seruloplazmin ve hemoglobin zincir kırıcı etki göstermektedir.
- 4) Onarıcı etki: SOR'un meydana getirdiği hasarın onarılmasında antioksidanların etki göstermesi onarıcı etki olarak adlandırılmaktadır (102).



2.7.2. Antioksidanların sınıflandırılması (Tablo:2)

Tablo 2: Antioksidanların sınıflandırılması (112,113).

ENDOJEN ANTIOKSİDANLAR		
ENZİMATİK ANTIOKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTIOKSİDANLAR	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q 10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
EKSOJEN ANTIOKSİDANLAR		
VİTAMİN EKSOJEN ANTIOKSİDANLAR	İLAÇ OLARAK KULLANILAN EKSOJEN ANTIOKSİDANLAR	
α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)	
β -karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri)	
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Folik asit (Vitamin B9)	Trolox-C (Vitamin E analogu)	
	Endojen antioksidan aktiviteyi arttıranlar (GPx aktivitesini arttıran ebselen ve asetilsistein)	
	Nonenzimatik Serbest Radikal Toplayıcılar (mannitol, albümin)	
	Demir Redoks Döngüsü İnhibitörleri (Desferroksamin)	
	Nötrofil Adhezyen inhibitörleri	
	Sitokinler (TNF ve IL-1)	
	Barbitüratlar	
	Demir Şelatörleri	

2.7.2.1. Endojen antioksidanlar

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak iki alt grupta sınıflandırılabilir (4,114).

2.7.2.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Glutasyon redüktaz (GR) enzimatik savunma hattını oluşturan enzimsel antioksidanlardır (115,116).

2.7.2.1.1.1. SOD (Süperoksit Dismutaz)

Süperoksit dismutaz, süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Hücrel savunma sisteminde önemli bir enzimdir. SOD, sellülobölmelerdeki süperoksid düzeylerini kontrol etmede önemli bir yere sahiptir. SOD enzimi oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilere karşı korur(117,118). Serbest radikal zararının önlenmesinde ilk basamağı SOD enzimi oluşturur. İnsan vücudunda beşinci büyük proteindir. SOD enziminin azalması plazma proteinlerindeki hasarın arttığını gösterir (119).Yüksek oksijen kullanımı olan dokularda SOD aktivitesi fazladır (22). Organizmada oksidatif stresin ve dokuda pO₂'nin arttığı durumlarda SOD enzim aktivitesi deartmaktadır (120).

SOD enzimi metalloprotein yapıdadır. Hücrelerde farklı şekillerde bulunmaktadır.

Bunlar:

SOD-1:Cu-Zn SOD, sitoplazmada bulunur.

SOD-2:Mn-SOD, mitokondride bulunur.

SOD-3 :Fe-SOD, Bazı bakterilerde rastlanmıştır.

SOD-4 : Ni-SOD, Bazı bakteri türlerinde bulunur.(121)

SOD aktivitesi yaş ilerledikçe artar ve hemen hemen bütün canlılarda bulunmaktadır. Memelilerde üç tip SOD bulunmaktadır. Bunlar, sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn ihtiva eden izomer (Cu-Zn SOD), extraselüler etki gösteren EC SOD ve mitokondride bulunan tetrametrik Mn ihtiva eden izomer (Mn-SOD)'dir. Demir ihtiva eden izomeri Fe-SOD ise sadece mikroorganizmalarda ve bazı bitkilerde bulunmaktadır. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dir (122,123).EC düzeyde enzimatik olarak O²⁻'leri etkisizleştirebilen tek antioksidan olması nedeniyle EC SOD oksidan hasarı, yangı ve fibrozis gibi bir çok akciğer hastalıklarından korunmada çok önemli bir role sahiptir (124).

2.7.2.1.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz 60 kDa ağırlığında 4 tane aynı yapıda (tetramerik yapı) hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Görevi hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalamaktır. Peroksidaz aktivitesine sahip olmasıyla birlikte katalaz enzimi bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak, diğerini ise oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilmektedir(125,126).

Her aerobik hücrede CAT enzimi bulunur. Cat'ın en fazla aktivite gösterdiği yerler eritrositler, böbrek, karaciğer, miyokard ve çizgili kaslardır. CAT, % 80 oranında peroksizomlarda ve % 20 oranında sitozolde bulunmaktadır(127).

2.7.2.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon peroksidaz, hücrelerin sitoplazmasında bulunup dört protein alt biriminden oluşur. Her bir alt birim bir selenyum atomu içerir. Hücreleri H_2O_2 'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı korur (101).

Selenoenzimler sınıfından olan glutasyon peroksidaz hidroperoksitleri H_2O_2 varlığında indirgenmede rol alır. Bu reaksiyonda hidrojen peroksit suya ve organik hidroperoksitler alkole indirgenirken, glutasyon (GSH) ise okside glutatyona yükseltgenir (128).

2.7.2.1.1.4. Glutasyon Redüktaz

Glutasyon redüktaz, hem sitozolde hemde mitokandride bulunur. Flavin adenin dinükleotid içeren flavoprotein bir enzimdir (114,129). Koenzimi NADPH ve prostetik grubu Flavin adenin dinükleotiddir(125).

Glutasyon redüktaz, NADPH'nin bir elektronunu okside glutasyonun disülfid bağlarına aktararak yeniden GSH'ye dönüştürülür. Bu nedenle NADPH serbest radikal hasarını engellemek için gereklidir ve en önemli kaynağı heksoz monofosfat (pentoz fosfat) yoludur (114,129).

2.7.2.1.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

Glutasyon (GSH), Melatonin, Ürikasit, Bilirubin, Albumin, KoenzimQ 10, Selenyum, Transferrin, Seruloplazminnonenzimatik savunma hattını oluşturan antioksidanlardır (112,113).

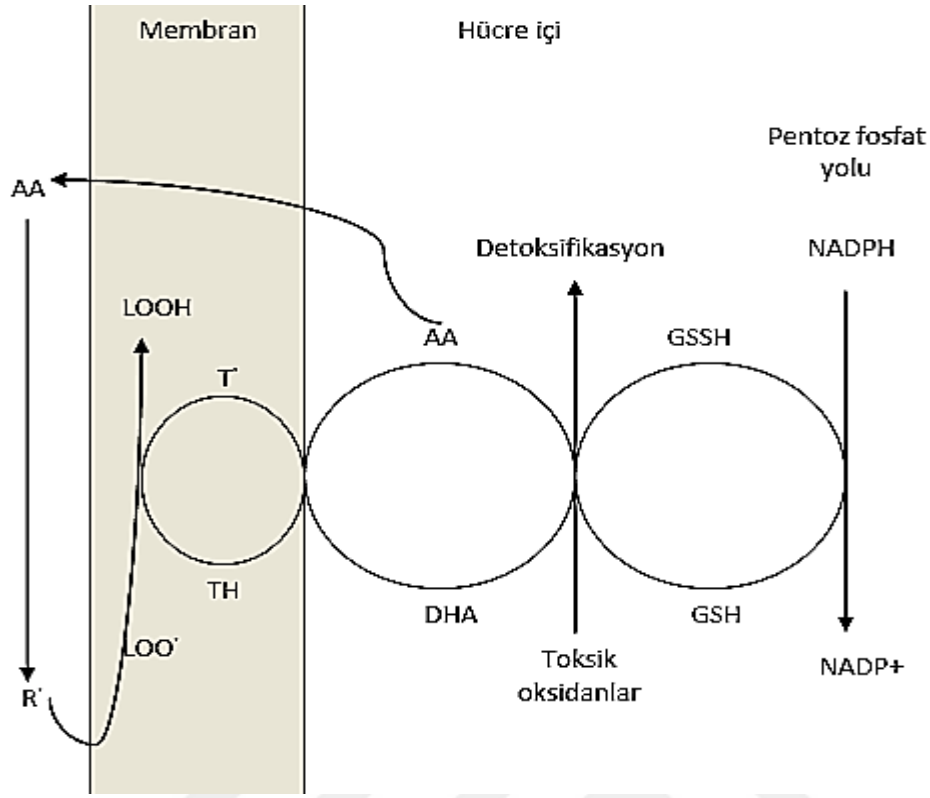
2.7.2.1.2.1. Glutasyon(GSH)

Glutasyon genetik bilgiye ihtiyaç duymadan karaciğerde sentezlenebilir. Glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan tripeptit yapılı, güçlü bir antioksidandır(120). Yapısında biyolojik olarak iki önemli yapı olan g-glutamin bağı ve tiyol grubunu bulundurmaktadır(130).Hücreleri serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasara karşı korumaktadır(120).

Glutasyonun sentezlenmesi iki önemli aşamada olmaktadır. İlk olarak glutamin-sistein ligaz, glutamin ve sisteini bağlayarak γ -glutamilsisteini oluşturmaktadır. İkinci aşamada glutasyon sentetaz, γ -glutamilsisteine glisini bağlayarak GSH molekülünü meydana getirmektedir(131,132).

GSH en çok memeli ve birçok prokaryotik hücrelerde bulunan intrasellüler tiyoldür.GSH'un büyük kısmı redükte halde iken hücreyi etkin olarak koruyabilmektedir. Bu reaksiyonu glutasyon redüktaz katalizlemektedir. Glutasyon redüktazla GSH'ın indirgenmesi reaksiyonunda NADPH'a ihtiyaç duyulduğu için heksoz monofosfat yoluyla bağlantılıdır (133,134) (Şekil:13).

GSH, hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol almakta, proteinlerdeki sülfidril (-SH) gruplarını redükte halde tutarak bu grupları oksidasyona karşı korumakta, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engellenmektedir. Yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu sağlamaktadır. GSH eritrositleri, lökositleri ve göz merceğini oksidatif strese karşı korumada önemli bir yere sahiptir(135).Ayrıca hücrenin redoks durumunu korumada, detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, eikosonoidlerin sentezlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak faaliyet göstermektedir (136).



Şekil 13:İntrasellüler antioksidan olarak glutatyoun aktiviteleri(137)

(GSH:Glutasyon, GSSH:Okside Glutasyon, DHA:Dehidroaskorbat, AA:Askorbat, TH:Alfa-tokoferol, LOOH:Lipid peroksitler)

2.7.2.1.2.2. Melatonin

Birçok yerde sentezlenmesine rağmen temel olarak pineal bezden endojen olarak üretilerek dolaşıma salgılanmaktadır. Karanlık ortamda triptofan aminoasidinden sentezlenir (138). Hem yağda hem de suda çözünebilir özelliğinden dolayı çekirdek dahil hücrenin her organeline kolaylıkla ulaşabilmekte ve bu sayede DNA'nın oksidatif hasara karşı korunmasında etkili olmaktadır (139).

Melatonin, yaşlanma-karşıtı bir moleküldür. Endokrin ritmin düzenlenmesi, immün sistemin uyarılması, bazı antigonadotropik etkilerin açığa çıkarılması, kimyasal karsinojenlere karşı DNA'nın korunması, serbest radikallerin giderilmesi ve sinir sistemi üzerinde koruyucu etkilerin oluşturulması gibi birçok fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde görev almaktadır. Melatoninin farklı organ ve dokularda direkt serbest radikal süpürücü ve indirekt antioksidan etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (140).

2.7.2.1.2.3. Ürik Asit

Ürik asit; Oksipürünleri (ksantin, hipoksantin gibi)ksantin oksidaz'ın oksitlemesi sonucu oluşmaktadır. İnsan ve gelişmiş primatlarda pürin metabolizmasının son ürünüdür. Normal plazma konsantrasyonunda ürat, hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijeni temizler.Vitamin C oksidasyonunu engelleyici etkiye sahiptir. Bilirubin süperoksit ve hidroksil radikali ve albümin lipit hidroksiperoksitleri ve HOCl toplayıcısıdır (5). Lipit peroksidasyonu engelleyerek koruyucu olarak görev yapan ürik asit, güçlü bir serbest radikal süpürücü olmasının yanı sıra Fe ve Cu gibi metal iyonlarının şelatörleri olarak da hareket etmektedir (141,142).Bu etkileri ürik asitin antioksidan etkilerinin olduğunu göstermektedir.

Bir atık ürün olarak da kabul edilen ürik asit, yüksek yoğunluklarda bulunduğu zaman kristalize olduğundan, böbrek taşları ve provoke gut artritise neden olmaktadır(143).

2.7.2.1.2.4. Bilirubin

Bilirubin, esas olarak ömrünü dolduran eritrositlerin parçalanmasıyla eritrositlerin içerisinde bulunan hem proteinlerinin yıkımı sonucunda meydana gelmektedir. Dolaşım esnasında karaciğer tarafından alınır, biyotransformasyona uğratarak safra veya idrarla atılmaktadır. Bilirubin aynı zamanda peroksil radikallerini etkileyerek zincir kırıcı etki gösteren etkili bir antioksidandır(144,145).

2.7.2.1.2.5. Albumin

Albumin, 66 kDa'luk bir molekül ağırlığında ve 585 aminoasit içermektedir. Bu protein insan plazmasında 35-50 mg/ml arasında bulunmakta ve yüksek derecede çözünebilmektedir. Albumin birçok fizyolojik ve farmakolojik etkiye sahiptir. Vücut içerisindeki farklı bölümler arasındaki sıvının dağılımında ve ozmotik basıncın düzenlenmesinde kilit bir role sahiptir. Genel olarak, albümin plazmadaki en önemli ve en etkili antioksidanlardan biri olarak bilinmektedir (146).

2.7.2.1.2.6. KoenzimQ 10

Koenzim Q10 (CoQ10, ubikinon, vitamin Q10, ubidekakinon, ubidekarenon), insan vücudunda doğal olarak sentezlenebilen vitamin benzeri benzokinon bileşimidir. Aerobik solunum, aerobik metabolizma ya da hücre solunumu işlemlerinde enerji üretiminde hayati öneme sahiptir. İnsan hücrelerinde tirozinden sentezlenebilmektedir. Koenzim Q10, lipitlerdeki çözünürlüğü yüksek olan, hemen hemen bütün hücre membranlarında ve

lipoproteinlerde bulunmaktadır. Ayrıca, mitokondri iç zarında bulunan, en az üç mitokondri enzimi (Kompleks I, II, III) için bir kofaktör görevinde olup oksidatif fosforilasyonda önemli bir rol oynamaktadır. Koenzim Q10 bir antioksidan olarak, serbest radikalleri süpürür, lipid ve protein peroksidasyonunu baskılar. (147)

2.7.2.1.2.7. Selenyum

Selenyum, antioksidan ve bağışıklık düzenleyici fonksiyona sahip temel bir elementtir. Aminoasit sentezinde kullanılır,

Selenyum, GPx aktivitesini artırarak SOR oluşumunu baskılar (148).1-1-2-8.α-lipoik asit,α-Lipoik asit (1,2-ditiolan-3-pentanoik asit) ve α-lipoik asitin indirgenmiş formu dihidrolipoik asit güçlü antioksidanlardandır. α-Lipoik asit , hidroksil, hipokloröz asit, peroksinitrit anyonu ve singlet oksijeni süpürür. Dihidrolipoik asit ayrıca süperoksit ve peroksil radikallerini de süpürür(149).

2.7.2.1.2.8. Transferrin

Transferrin beyin dâhil birçok dokuda sentezlenen önemli antioksidan proteindir. Transferin hücrelere Fe⁺³ taşınmasından sorumlu bir taşıyıcı proteindir. Transferin, esas olarak serumda bulunmasına rağmen, diğer vücut sıvılarında daha düşük konsantrasyonlarda bulunur. Transferinin temel fonksiyonu hücrelere Fe⁺³ taşır ve aynı zamanda önemli bir büyüme faktörüdür. Ferröz iyon (Fe⁺²), fenton reaksiyonu tarafından H₂O₂'nin çok fazla derecede toksik olan OH'ye dönüşümünü katalizleyerek oksidatif strese sebep olur. Transferrin, serbest ferröz iyon konsantrasyonu azaltarak bir antioksidan olarak hareket eder (150).

2.7.2.1.2.9. Seruloplazmin

Transferrin beyin dâhil birçok dokuda sentezlenebilen antioksidan özellikte önemli bir proteindir. Seruloplazmin kandaki Cu'nun % 95'ini taşıyan bir α₂ serum glikoproteinidir. Cu'ya geri dönüşümlü olarak bağlanır ve Cu metabolizmasında önemli bir role sahiptir(151).

2.7.2.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen kaynaklı antioksidanları, vitamin eksojen antioksidanlar ve ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar olmak üzere iki grupta sınıflandırabiliriz.

2.7.2.2.1. Vitamin Eksojen Antioksidanlar

α -tokoferol (E Vitamini), Folik Asit (Vitamin B9), β -Karoten (Avitamini), Askorbik Asit (C Vitamini) vitamin eksojen antioksidanlardandır.

2.7.2.2.1.1. α -tokoferol(E Vitamini)

E vitamini yüksek antioksidan potansiyeli olan yağda çözünebilen bir vitamindir.(115)

E vitamini (α – tokoferol) hücrede dolaşan lipoproteinlerde ve membranlarda bulunmaktadır (134,151).

Hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturmaktadır. Bu moleküle yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka antioksidan özellik kazandırmaktadır(120). α -tokoferolün antioksidan olarak temel fonksiyonu lipit peroksidasyonuna karşı korumada bulunmaktadır (115). Vitamin E, radikallerin yok edilmesi, zincirin kırılması, baskılama, bozulan yapıların onarılması ve endojen savunma sistemlerinin güçlendirilmesi gibi mekanizmaların tamamını kullanarak antioksidan görevini yerine getirdiğinden antioksidan kapasitesi çok geniş ve yüksektir(152). E vitamini; kolon, prostat ve göğüs kanserleri, bazı kardiyovasküler hastalıklar, iskemi, katarakt, artrit ve nörolojik bozukluklara karşı koruma özelliğine sahiptir (115).

2.7.2.2.1.2. β -Karoten(Avitamini)

Karotenoidler (β -karoten, Likopen, Zeaksantin, Lutein, Violaksantin), bazı bakteriler ve alglerde, çoğu zaman ise bitkilerde bulunan genelde sarı ve turuncu renkli pigmentlerdir. İnsan ve hayvanlar karotenoid biyosentezini gerçekleştiremedikleri için bu bileşikleri diyetle alırlar(129).

β -karoten, karotenoidlerin yağda çözünen bir üyesidir(115). Duodenumda emilir ve yağ dokusunda depolanır(153). Bunlar aktif A vitaminine dönüşebildikleri için provitamin olarak tanınırlar. β -karoten retinada retinole dönüştüğünden karanlıkta görüş için gereklidir (115).

β -karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü belirlenmiştir (125). Antioksidan aktivitesi, yapısında bulunan konjuge çifte bağlar sayesinde olmaktadır. β -karoten; yapısında bulunan çifte bağlardan dolayı sarı, turuncu ya da kırmızı renkte bulunmaktadırlar. A vitamini dönüşebildiği için plazma dengesinin sağlanmasında görev almaktadır (151).

Karotenoidlerin DNA, lipid ve proteinlere karşı oksidatif hasarı önlediği veya azalttığı bildirilmiştir (152).

2.7.2.2.1.3. Askorbik Asit(VitaminC)

VitaminC (askorbik asit; $C_6H_8O_6$) altı karbonlu bir laktondur. Memelilerde insan hariç çoğu hayvan bu vitamini karaciğerde ya da böbreklerde (kuşlar ve sürüngenler) glukozdan sentezleyebilmektedir. Çilek, portakal, kivi, kırmızı ve yeşilbiber, domates ve patates iyi birer C vitamini kaynağıdır(153).

Vitamin C, suda çözünebilen bir vitamindir. Kollajen, karnitin ve nörotransmitter biyosentezi için gereklidir (154). Vitamin C süperoksit, hidroperoksil, singlet oksijen, ozon, peroksinitrit, nitrojen dioksit, ve hipokloröz asit gibi reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerini kolaylıkla temizleyerek oksidatif hasara karşı etkin bir şekilde koruma sağlamaktadır. Vitamin C lipitlerde çözünen radikallerin temizlenmesi yoluyla üretilen α -tokoferoksil radikallerinden α -tokoferolü yeniden oluşturarak bir koantioksidan olarak hareket edebilmektedir(155).İntraselüler olarak gen ekspresyonunun düzenlenmesi, mRNA translasyonu, intraselüler proteinlerin oksidatif hasara karşı korunması gibi antioksidatif etkileri vardır. İn vitro koşullarda düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu önler (156).Vitamin C, sayılan bu antioksidan görevlerinin yanı sıra, proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali oluşturmaya uygun ferro demire dönüştürmektedir. Fakat bu etkinin gözlemlenebilmesi için sadece düşük konsantrasyonda olması gerekir.Çünkü yüksek konsantrasyonlarda C vitamini güçlü bir antioksidan etkiye sahiptir (124).

2.7.2.2.1.4. Folik asit(Vitamin B9)

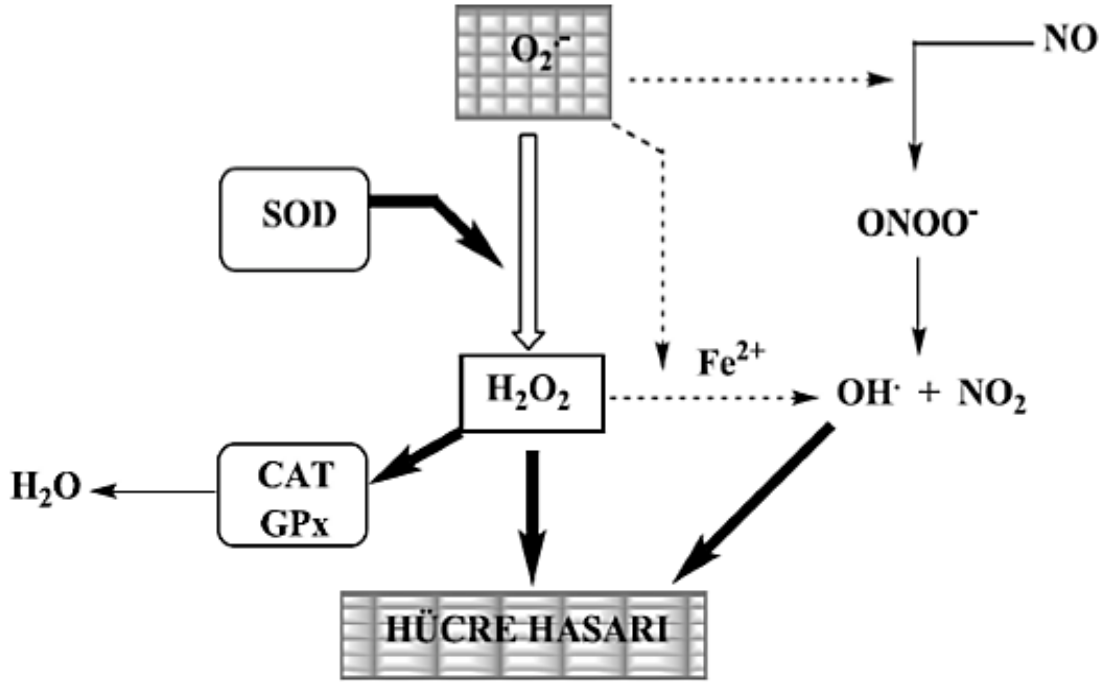
Folik asit (pteroilglutamik asit, vitamin B9 ya da vitamin M) suda çözünebilen bir vitamin B üyesidir. Folik asit SOR'u temizleyebilençok güçlü bir antioksidandır (157). Folik asit, DNA sentezi ve kırmızı kan hücrelerinin üretimi için gereklidir. Kadın ve erkeklerde normal fertilité için önemlidir. Ayrıca, gebelik ve çocukluk gibi büyüme periyotlarında ve hücre bölünmesi sırasında rol almaktadır. Folik asit erkeklerde spermatogenezis için de gereklidir (158). Folik asit hem tek başına hem de diğer B vitaminleri ile birlikte plazma homosistein seviyesini düşürmede etkilidir (157).

2.7.2.2.2. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar(22,124).

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

2.8. Oksidatif Stres

Serbest radikallerin organizmadaki oluşum hızıyla bunların antioksidan sistemler tarafından kaldırılma hızı bir denge içerisinde (Şekil:14). Bu duruma oksidatif denge adı verilmektedir.



Şekil 14:Reaktif Oksijen Türleri Oluşumu ve Antioksidan Savunma Sistemi (159)

Organizma oksidatif denge sağlandığı sürece serbest radikallerden etkilenmemektedir. Ancak antioksidan savunma bozulur ya da ortadan kalkarsa hücrelerin SOR üretimi artar ve denge bozulur. Sonuç olarak doku hasarı meydana gelir. Bu hasara 'oksidatif stres' adı verilir (159,160).

2.8.1. Oksidatif stres biyobelirteçleri

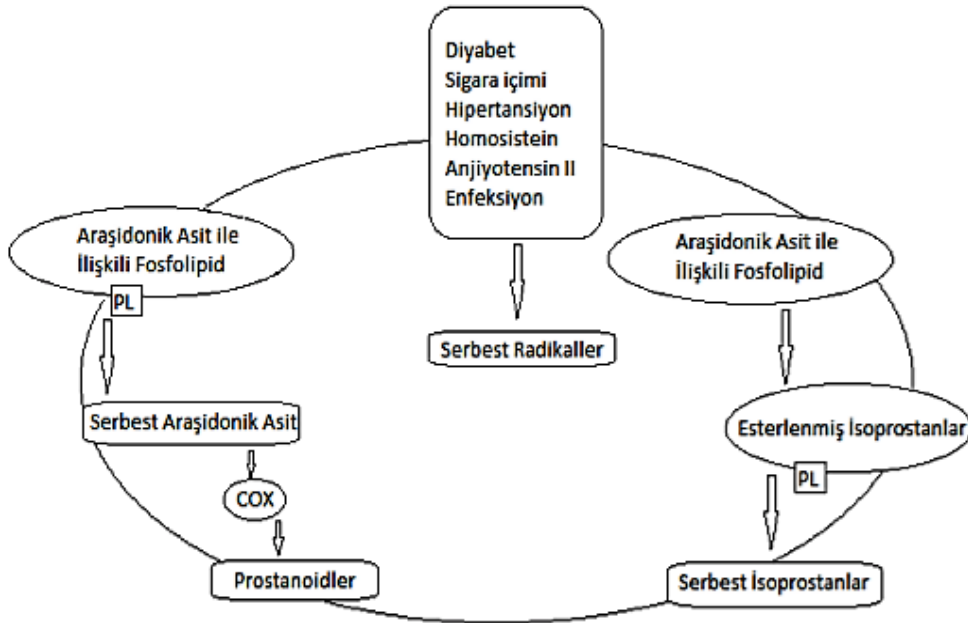
2.8.1.1. Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan stabil bir son üründür (106).MDA aldehit yapılı bileşiktir. Membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açarak esneklik, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey determinantlarının agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirme

yeteneğine sahip olması yanında DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir, amino grupları arasında çapraz bağlanmalara yol açabilmektedir. Oksidatif streste SOD ve CAT enzimleri yetersiz kaldığında serbest oksijen radikallerinin etkilerini hücre ve organel membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatarak göstermektedir. MDA, oksidatif stresin spesifik bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (161).

2.8.1.2. İsoprostanlar

8-iso-PGF₂α, hücre membranları ve lipoproteinlerin fosfolipidlerinde bulunan araşidonik aside oksidatif hasarın (serbest radikal) etkisiyle açığa çıkan prostaglandin analogudur(162).



Şekil:15:İsoprostanların çoğunlukla COX aktivitesine bağımlı ve serbest radikallerin katalize ettiği sentezi (163)

İsoprostanlar oksidatif stresin güvenilir biyolojik belirteçleri olarak yaygın olarak bilinmektedir(164).Dolaşımdaki 8-iso-PGF₂α konsantrasyonlarının, metabolizma ve salınımdan ziyade büyük ölçüde üretime bağlı olduğu ve in vivo oksidatif stres derecesinin gerçek bir göstergesi olduğu gösterilmiştir (162).Kan veya idrarda spesifik bir izoprostan (15F₂t-IsoP, daha önce 8-izo-PGF₂a olarak adlandırılan) konsantrasyonunun ölçümü oksidatif stresin teşhis değerlendirmesinde iyi bilinen bir yöntemdir (164).

2.9. NİTROZATİF STRES

Nitrozatif stres hücre fonksiyonlarını bozar ve nitrozilat proteinlerinin aşırı derecede birikimi ile karakterize edilir. Hücreleri NO'ya ve nitrozotiyollere karşı spesifik enzimler korumaktadır(165).

ONOO⁻ oksidatif etkiye sahip önemli bir mediyatördür. 3 mekanizma ile etkili olduğu düşünülmektedir.

- 1) OH⁻ radikaline dönüşerek,
- 2) ONOO⁻'in kendisi güçlü oksidasyon yeteneğine sahiptir ve molekülleri daha antioksidan sistemin etkisine fırsat bırakmayacak bir hızla okside etmektedir.
- 3) Ömrü 1 sn kadar kısa olduğu için nitronyum iyonuna dönüşerek tirozini 3 pozisyonunda nitratlayarak nitrotirozin (3-NT) oluşturmasıdır. Böylece tirozinin fosfatlanması engellenmekte ve hücre sinyalizasyonu bozulmaktadır. Proteinleri, protein olmayan sülfür gruplarını H₂O₂ göre 1000 kat kadar hızlı okside etmektedir. Metiyonin ile reaksiyona girerek α-1 antiproteinazı inaktive etmekte, lipid peroksidasyonuna neden olmakta ve proteinlerdeki halkalı amino asitleri nitro türevlerine dönüştürmektedir (97).

Oksijenden üretilen en önemli reaktif türler arasında olan ONOO⁻, O₂⁻, H₂O₂, OH⁻; membran hasarı, DNA yıkımı, proteaz aktivasyonu, lipid ve protein peroksidasyonu, takiben apoptozis ve nekrozla sonuçlanan hücre ölümü meydana getirmektedirler (166).

ONOO⁻' in sorumlu tutulduğu pek çok hastalık mevcuttur (97):

- Romatoid artrit
- Kardiyovasküler sistem hastalıkları
- Gastrit (H. Pylori enfeksiyonu)
- İnflamatuvar barsak hastalıkları
- Deri inflamasyonu
- Akut inflamasyon
- Sepsis
- Endotoksik şok
- Akciğer hastalıkları

- Kistik fibrozis
- Yaşlanma
- Viral enfeksiyon
- Diabetes mellitus
- Alzheimer

2.9.1. Nitrozatif stres biyobelirteçleri

2.9.1.1. Nitrik oksit (NO)

İnflamasyon vücudu hasar verici uyaranlara karşı bir savunma mekanizması olarak tanımlanır. NO inflamasyonda major mediatör olarak görev yapmaktadır. Diğer taraftan da NO'nun antiinflamator olabileceği bildirilmektedir. NO'nun fizyolojik etkisi esasında koruyucu ve antiinflamator yöndedir. Ancak yüksek miktarlarda salıverildiği zaman ve ortamın redoks ve oksijenasyon durumuna bağlı olarak hedef hücrelerde ONOO⁻ oluşumu üzerinde moleküler hedeflerin nitrozilasyonu/nitrosasyonuna sebep olabilmektedir. Ayrıca mitokondriyel solunumu, DNA sentezini inhibe edebilir. Nitrojen makrofajların oluşturduğu nonspesifik sitotoksositeye aracılık eder. İnflamasyonda görülen Lewis' in 3' lü (kızarıklık, ödem ve sıcaklık) yanıtına aracılık eden moleküllerden biri de NO'dur. Kızarma ve sıcaklık artışı vazodilatasyondan kaynaklanır. Ödem ise kapiller permeabilite artışından meydana gelmektedir (167).

Nitrozatif stres sırasında NO'dan oluşan ONOO⁻, DNA tek zincir kırılmasına sebep olmaktadır. Bu durumda nükleer bir enzim olan aktive olur. poli ADP riboz sentetazın substratı nikotinamid adenin dinükleotididir. Sonuçta glikoliz hızı elektron transportu ve ATP oluşumu azalır, bu da akut hücre disfonksiyonuna ve hücre ölümüne sebep olmaktadır(168).

2.9.1.2. Nitrotirozin (3-NT)

Nitrozatif stres biyomoleküllerin nitrosasyon tepkimesine uğramasıyla meydana gelmektedir. Nükleofil bir gruba, reaktif nitrojen oksit türleri tarafından nitrozonyum (NO⁺) grubu aktarılarak nitrozil türevinin oluşturulmasıdır (169).

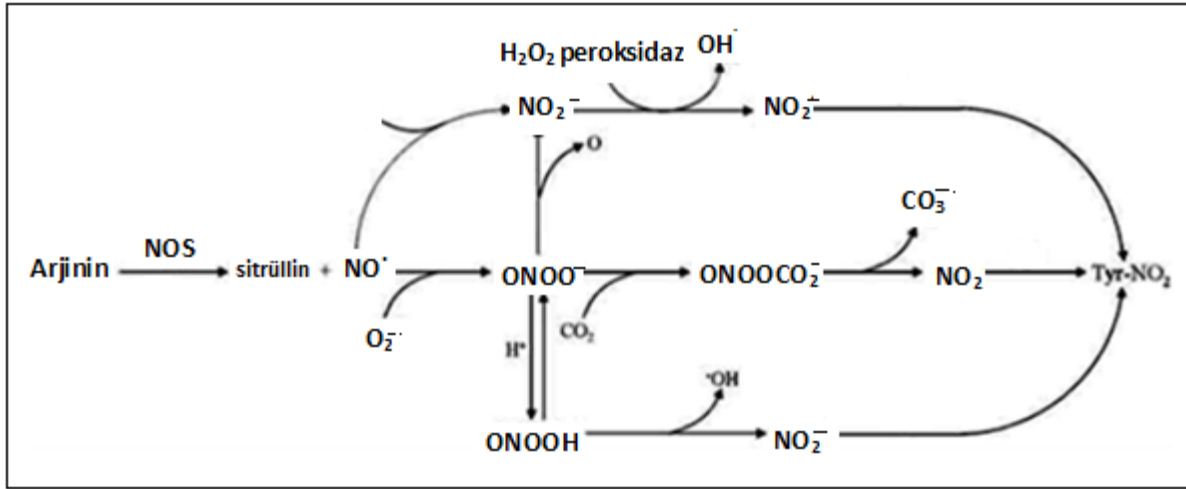
1990 yılında Ohshima ve arkadaşları tarafından insan idrarında serbest nitrotirozin ve onun deaminlenmiş/dekarboksillenmiş metaboliti olan 3-nitro-4-hidroksifenil asetatın tespit edilmesiyle in vivo 3-NT oluşumu ilk kez kanıtlanmıştır. 3-NT, normal bireylerin plazma ve

dokularında saptanamayacak kadar düşük seviyelerdeyken, inflamatuvar ve dejeneratif süreçler gibi artmış NO[•] üretimi ve oksidatif stresle ilişkili durumlarda anlamlı miktarda artış göstermektedir (170).

İn vivo olarak NO[•] ve NO[•] türevli maddelerin ölçümleri oldukça zordur. Çünkü; NO[•], ONOO⁻ ve benzer türler çok çabuk bozulan radikaller olduklarından dolayı kendine özgün ölçüm yöntemlerinin teknik imkanları yoktur. Bu zorluğu aşmanın bir yolu biyobelirteçlerdir. 3-Nitrotirozin (3-NT) bu belirteçlerden biridir ve ONOO⁻'nin spesifik bir belirteçidir (171).

ONOO⁻ reaktif CO₂ ile sulu ortamlarda reaksiyona girerek ONOOCO₂⁻'yi meydana getirir. ONOOCO₂⁻ hemolitik parçalanma ile tirozin nitrasyonuna katılan karbonat (CO₃⁻) ve nitrojen dioksit (NO₂⁻) radikallerini oluşturmaktadır (172). (Şekil:16)

NO[•], NO₂⁻'ye dönüşen NO₂⁻'e okside olabilir. NO₂⁻ ve H₂O₂ myeloperoksidaz gibi bir peroksidaz enzimi ile metabolize edilir ve böylece tirozin nitrasyonuna öncülük eden OH[•] ve NO₂⁻ meydana gelmektedir (172).



Şekil 16: ONOO⁻ Aracılı Protein Tirozin Nitrasyon Yolu (97)

2.10. Kına (*Lawsania inermis* L.) Bitkisi

Tarih boyunca gerek hastalıkların tedavisinde, gerek çeşitli ritüellerde, gerekse kozmetik amaçlarla kullanılan kına (*Lawsonia inermis*); kınagiller (Lythraceae) familyasındandır (173,174). Kökeni Kuzey Afrika ve Güneybatı Asya olan, 9000 yıllık bir geçmişe sahip kına (*Lawsania inermis* L.)'nin, Henna, Mhendi, Shudi, Madurang, Mendi, Manghati, Madayantika ve Goranti gibi birçok ismi bulunmaktadır (175). Günümüzde

Afrika'nın kuzeyi, İran, Hindistan, Pakistan, Arabistan, Seylan gibi ülkelerde ve ülkemizin de Güney Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilmektedir (174,176).



Kına (*Lawsania inermis L.*) bitkisi çok dallı, tüysüz ve 2-6 m yükseklikte bir gövdeye sahiptir (177). Gövdesinde birbirine karşılıklı duran tüysüz, lanseolat damarlı yapraklara sahiptir. Meyveleri küçük 4-8 mm çapında kahverengimsi kapsüller şeklinde, tohumları ise 3mm çapında köşeli ve sert tohum kabuğu ile sarılmış vaziyettedir (178), (Resim:1).

Resim 1: *Lawsonia Inermis L.* (179)

Kına (*Lawsania inermis L.*) bitkisi tropikal ve yarı-kurak iklimlere özgüdür. Bu nedenle en iyi yetiştirme sıcaklık aralığı 35-45°C dir. Yağışların başladığı dönemlerde hızla büyüme ve filizlenmektedir. Kuru ve uzun süreli soğuk günlerde, bitkinin yaprakları sararmaya ve dökülmeye başlamaktadır. 11°C nin altında minimum koşullarda yaşamaya devam eden kına bitkisi sıcaklığın 5°C'nin altına düşmesi halinde ölmektedir (180).

2.10.1. Kına (*Lawsania inermis L.*) bitkisinin farklı kültürlerde kullanımı

Kına (*Lawsania inermis L.*)'ın tarihte bilinen en eski kullanımına Antik Mısır döneminde rastlanmaktadır. Antik Mısır döneminde mumyalarının tırnaklarının ve sargılarının kına ile boyandığı bildirilmiştir (181).

Doğu Akdeniz'de Tunç devrinden beri doğum ve evlilik merasimleri gibi çeşitli geleneksel törenlerde ve halk hekimliğinde kına (*Lawsania inermis L.*)'ın kullanıldığına dair kanıtlar bulunmaktadır (182).

Hindistan'da ve çöl ikliminin hakim olduğu bölgelerde serinletici etki oluşturması nedeniyle, ezilen kına yapraklarının çamurla karıştırılarak el ve ayaklara sürüldüğü bilinmektedir (171). Öte yandan Hint kültüründe kına (*Lawsania inermis L.*)'nın doğurganlığı

ve bereketi sembolize ettiği ve Hindu dđđnlerinde geleneksel el ve ayak boyama işlemine sıklıa kullanıldığı gđzlenmiřtir (183,184).

Malezya halk hekimliğinde, kına(*Lawsania inermis L.*)'nın taze yapraklarından hazırlanan lapa ve yapraklarından hazırlanan dekoksasyonunun kullanıldığı belirtilmiştir. (185)

Endonezya'da yapraklarından hazırlanan macun (Resim:2) tırnak hastalıklarında ve herpes enfeksiyonunda, çok geç meyvelerinden hazırlanan merhem ise uyuz tedavisinde kullanılmıştır. Hoş kokulu çiçekleri de parfüm sanayiinde önemli bir yere sahiptir (185).



Resim 2:Kına (*Lawsania inermis L.*) Bitkisinin Yapraklarından Elde Edilen Toz ve Macun (186)

Kuzey Afrika ve Ortadoğu'daki ritüellerde de sıklıa kullanıldığı, yaprağından elde edilen tozunun turuncu-kırmızı bir boya rengi vermesi sebebiyle de pek çok kđltürde özellikle kadınlar arasında sa boyamak, elleri, tırnakları ve ayakları çeşitli desenlere boyamak suretiyle kullanılan yaygın bir süslenme aracı olduğu bilinmektedir (181).

Türk halk kđltüründe de geleneksel törenlerde, hastalıkların tedavisinde ve kozmetik amaçlarla kullanılması bakımından önemli bir yere sahiptir (187). Öteyandan Türk inançlarında kına (*Lawsania inermis L.*) yakılan varlığın seçilmiş, adak edilmiş olanı sembolize ettiği, ona zarar vermenin ise uğursuzluk ve felaket getireceği dđřünülmektedir(188). Kesilecek kurbana, askere gidecek gelere, gelinlere, sđnnet edilecek çocuklara, hatta ahirete hazırlama adına ölüm dōřeđindeki yaşlılara da kına (*Lawsania inermis L.*) yakıldığı gđzlenmektedir(189).

Filipinler'de çiçeklerinin uyku getirici (soporifik) etki gđsterdiđi rapor edilmiştir (185).

2.10.2. Kına(*Lawsania inermis L.*) bitkisinde bulunan kimyasal bileşenler

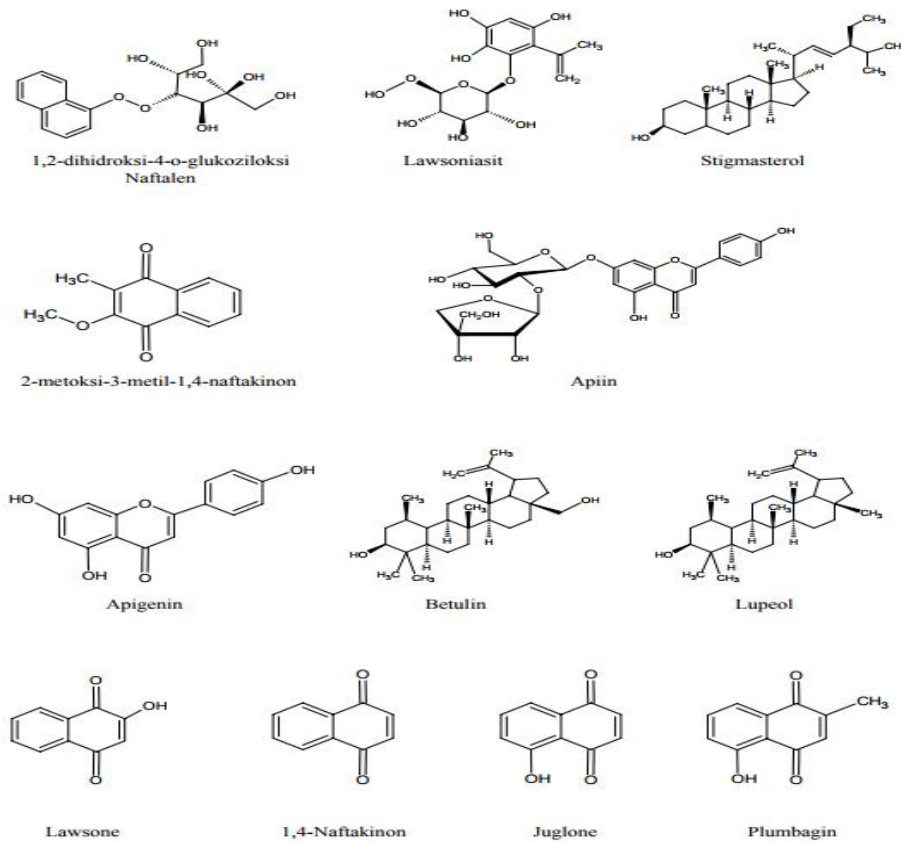
Kına(*Lawsania inermis L.*) bitkisindeki kimyasal bileşenler (Şekil:17) ; başlıca bileşen, lawsone (2-hidroksi-1,4 naftakinon) ($C_{10}H_6O_3$) olarak bilinmektedir. Bu bileşiğin yanı sıra kınanın yapısında yağ, gallik asit, reçine, glikoz, mannitol, zamk ve eser miktarda alkaloid bulunmaktadır.

Çiçekler koyu kahverengi ve güçlü kokulu uçucu yağlar, α -ve β -iyononlar, azotlu bileşikler ve reçine içermektedir (190).

Tohumlar, protein (% 5), karbonhidrat (% 33,62), lif (% 33,5), yağlar (% 10-11) ve behenik asit, stearik asit, palmitik asit, oleik asit, linoleik asitten oluşan kompozit, balmumu ve renklendirici maddeler içermektedir.

Köklerde ise kırmızı renk verici maddeler bulunmaktadır (191).

Yapraklarındaki temel bileşik lawsone (2-hidroksi-1,4 naftakinon) ($C_{10}H_6O_3$) bileşiğidir. Bu bileşiğin yanı sıra luteolin-7-o-glikozid, luteolin-3-o-glikozid, stigmasterol, kozmosiin (asetin-7-o-glikozid), asasetin, pkuarik asit, fraksetin, skopoletin, eskuletin, 1,2-dihidroksi-4-o-glukoziloksinaftalen, lawsoniasit, laliosit, 2-metoksi-3-metil-1,4-naftakinon, apiin, apigenin, lupeol, betulin, betulinik asit bileşikleri de bulunmaktadır (191).



Şekil 17:Kına (*Lawsania inermis L.*) Bitkisinde Bulunan Kimyasal Bileşenler (186)

2.10.3.Kına bitkisinin farmakolojik ve biyolojik etkileri

Kına (*Lawsonia inermis L.*) çeşitli farmakolojik aktivite spektrumuna sahip her yerde deva tıbbi bitki olarak düşünülmektedir. Bu çeşitlilik bitkideki çeşitli aktiviteden sorumlu çeşitli kimyasal bileşenlerinesiz kaynağı olmasındandır (1).

*Antifungal etki*Antikoagulan etki *Antidiyabetik etki

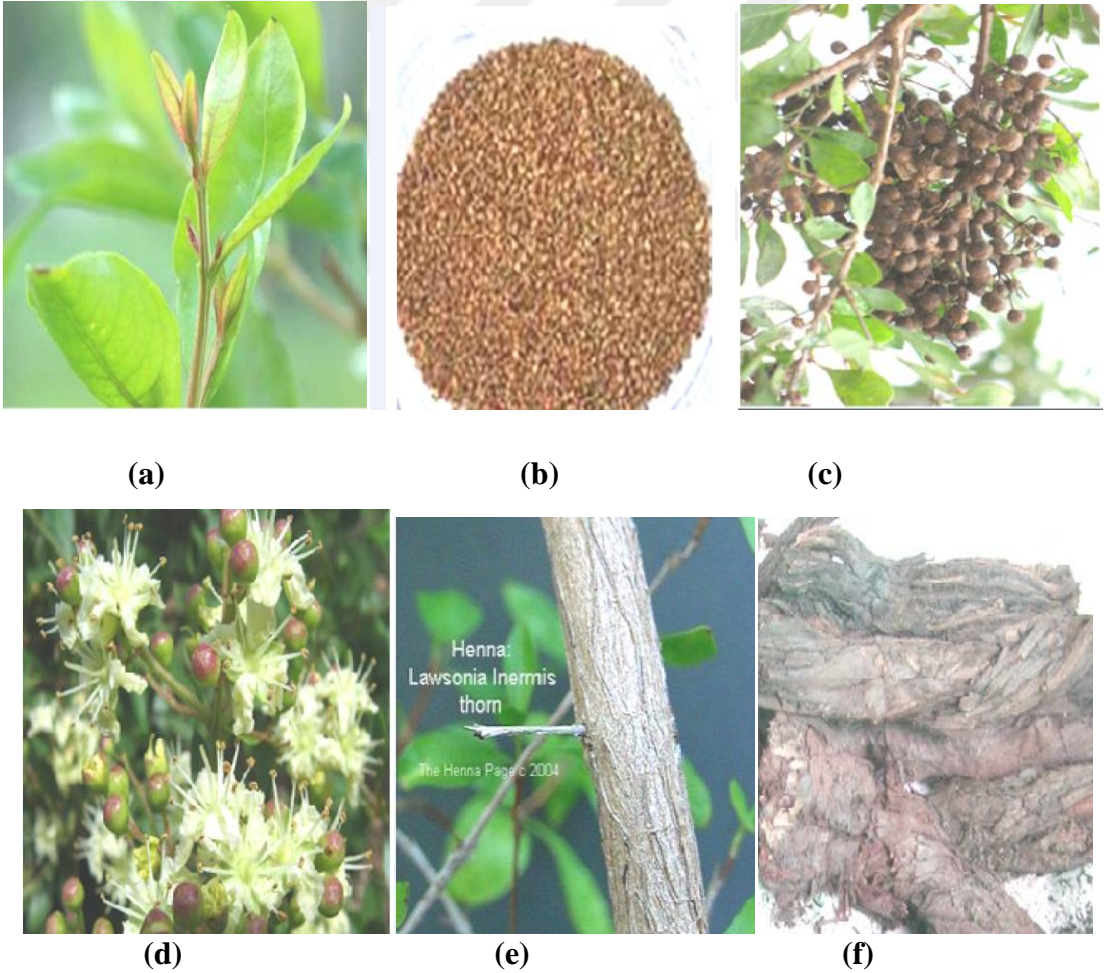
*Antibakteriyel etki*Nootropik etki*Antikanser etki

*Antiviral etki*Hepatoprotektif etki*Ağrı Kesici etki

*Enzim inhibitör etki*Bağıışıklığı düzenleyici etki

*Yara iyileştirici etki*Hafıza ve Davranış Etkinliği

2.10.4. Kınanın geleneksel kullanımında kullanılan kısımları



Resim 3: Kına (*Lawsonia Inermis L.*)' nın Geleneksel Kullanımında Kullanılan Kısımları (a):Yaprak, (b):Tohum, (c):Meyve, (d):Çiçek, (e):Dal, (f):Kök (1)

Tablo 3: Kına (*Lawsonia Inermis L*) 'nın Geleneksel Kullanımında Kullanılan Kısımları (Resim:3)

Bitki kısmı	Geleneksel kullanım
Tohumlar	Ateş düşürücü,hafıza kuvvetlendirici,kabızlık, sıtma, akıl hastalığı, İshal, Dizanteri,Humma
Yapraklar	Ödem, Kusma, Kabızlık, Balgam söktürücü, Bronşit, Dizanteri, Antienflamatuvar,Cüzzam, Yara iyileştirici, Ateş, Ülser, Cüzzam, Uyuz Bel ağrısı, Sakinleştirici,Sarılık,Hemopati,Yangı, Ateş düşürücü
Çiçekler	Kardiyotonik, Ateş düşürücü,Baş ağrısı,Akıl hastalığı,Humma
Kabuk	Deri hastalıkları, Cüzzam,Sarılık,Yanma hissi
Kökler	Diüretik,Yanma hissi,Amonore, Adet hızlandırıcı

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada 250-350 gram ağırlığında, 24 adet sağlıklı Wistar Albino cinsi erkek rat (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı, Kahramanmaraş) kullanıldı.



Ratlar, % 50-60 nem oranı, 25°C oda ısısında tutularak ışık düzeni 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanan odalarda yaşatıldı. Ratlar oda sıcaklığında, bir kafeste dörder tane olmak üzere temiz bir ortamda, standart laboratuvar koşullarında, rat yemi ve çeşme suyu verilerek bakıldı (Resim:4).

Resim 4:Ratların Beslenmesi

04.10.2016 tarihli 1 sayılı Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Etik Kurul izni ile başlanan çalışmamız süresince hayvan hakları ile ilgili NIH tarafından belirlenen 'Hayvan Haklarının Korunması' hususundaki esaslara özenle uyuldu.

3.1.Deney Grupları

Denekler rastlantısal olarak 3 gruba ayrılarak çalışma grupları oluşturuldu. Deneklere anestezi olarak ketamin (50mg/kg) intraperitoneal injeksiyon ile uygulandı.

Grup 1 (Kontrol grubu, n=8): Sadece renal İskemi-reperfüzyon (30 dakika iskemi ve ardından 30 dakika reperfüzyon) uygulandı.

Grup 2 (Sham grubu, n=8): Renal İskemi-reperfüzyon (30 dakika iskemi ve ardından 30 dakika reperfüzyon) + 0,5 ml intraperitoneal (İP) yolla serum fizyolojik (%0,9 NaCl) 5 gün süreyle verildi.

Grup 3 (Tedavi grubu, n=8): Renal iskemi reperfüzyon (30 dakika iskemi ve ardından 30 dakika reperfüzyon) + 0,5 mL liyofilize henna yaprak ekstratı (50 mg/kg/gün) 5 gün süreyle uygulandı.

Enjeksiyonu hazırlamak için, 50 mg/kg/gün liyofilize kına yaprak ekstratını, fındık yağı ve % 0,9'luk steril serum fizyolojik ile çözülerek (4:1 oranında) kullanıldı.

3.2. Cerrahi Yöntem

Çalışma KSÜ Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Ratlar laboratuara getirildiler ve tek tek tartılarak her birine intraperitoneal olarak 50 mg/kg dozunda ketamin hidroklorid (Ketalar flakon, Eczacıbaşı Türkiye) verilerek anestezi sağlandı.

İskemi/reperfüzyon yapılacak deney hayvanlarına anestezi altında, midline laparotomi yapıldı. Sol renal arter izole edilerek, antitravmatik vaskular klemp yardımıyla 30 dakika süre ile kan akışı durduruldu. 30 dakikalık iskeminin hemen ardından 30 dakikalık reperfüzyon işlemi uygulandı (Resim:5). Reperfüzyon süresince her bir deney hayvanına yapılan cerrahiden sonra kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olunması için karın boşluğuna steril serum fizyolojik verildi.



(a)

(b)

Resim 5:Sol Böbrek Renal İskemi ve Reperfüzyon

(a) Sol Böbrek Renal İskemi, (b)Sol Böbrek Renal Reperfüzyon

Deney sonunda hayvanlara ötenazi yapılarak böbrek dokuları alındı. Dokular ikiye bölünerek bir kısmı biyokimyasal analizler için ayrıldı. Diğer doku parçaları ise formaldehitli kap içerisinde alınarak muhafaza edildi. Histopatolojik değerlendirme Sütçü imam Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, biyokimyasal değerlendirmeler ise KSÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında yapıldı.

3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 1,1,3,3 tetrametoksipropan		Sigma
- Bakır sülfat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Sigma
- 2-[2-Tiyobarbitürik asit]	TBA	Merck
- Etilendiamin tetraasetik asit	Na_2EDTA	Sigma
- Disodyum hidrojen fosfat	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	Merck
- Sodyum dihidrojen monofosfat	NaH_2PO_4	Merck
- Dipotasyum hidrojen fosfat	K_2HPO_4	Merck
- Potasyum dihidrojen fosfat	KH_2PO_4	Merck
- Folin-Ciocalteu	Fenol ayırıcı	Sigma
- Hidrojen peroksit	H_2O_2	Merck
- Lauril sülfat	SDS	Sigma
- n-Butanol	1-Butanol	Merck
- Piridin		Merck
- Sodyum hidroksit	NaOH	Merck
- Sodyum karbonat	Na_2CO_3	Merck
- Sodyum klorür	NaCl	Merck
- Sodyum potasyum tartarat	Na-K tartarat	Sigma
- Tris baz		Sigma
- Tris hidroklorit	Tris-HCl	Sigma
- β -Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat	β -NADPH	Sigma
- Hidroklorik asit	HCl	Merck
- Formaldehit	HCHO	Sigma
- Etanol	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	Sigma
- Asetik Asit	CH_3COOH	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
- Soğutmalı santrifüjHettich	
- Cam Kalemi	
- Fotoğraf makinesi	
- Hayvan Kafesi	
- Homojenizatör düzeneği	
- Lam	
- Lamel	
- Mezür (25ml,50 ml,100 ml,250 ml,500 ml)	
- Mikroskop	
- Operasyon Takımı	
- Otomatik pipet, pastör pipeti	
-Su Banyosu	
-Vorteks	

3.5.Homojenat Hazırlama



Resim 6:Homojenat Hazırlama

Biyokimyasal incelemeler için dokular %1,15 KCl ile 1 devir/dakika hızda 3 dk boyunca homojenize edildi. Enzim aktive kaybını önlemek amacıyla örnekler buz dolu küvete yerleştirildi. Daha sonra homojenatlar +4 °C'de 14000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi (Resim 6). Üstteki süpernatantlar alındı ve ependorf tüplere ayrıldı. Ayrılan süpernatantlardan Protein, NO, 3NT, MDA düzeyleri ile SOD, CAT enzim aktivite ölçümleri yapıldı.

3.6. Protein Düzeyinin Tayini

Bu metot proteinlerin içerdiği trozin ve triptofanrezidülerinin fosfotungustik fosfomolibdik asit ile verdiği renk reaksiyonunun spektrofotometrik yöntemle 750 nm'deki absorban ölçümüne dayanır.

Ayırıklar

1. A çözeltisi:

%2 Na₂CO₃ 2 g hazırlanır

0,1 N NaOH ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. B Çözeltisi: B₁ ve B₂ çözeltilerinden oluşur.

a) B₁ Çözeltisi:

% 1 CuSO₄.5H₂O 1g hazırlanır

Saf suyla 100 ml'ye tamamlanır.

b) B₂ Çözeltisi:

%2 Na-K tartarat 2g hazırlanır

Saf suyla 100 ml'ye tamamlanır.

3. C Çözeltisi(Günlük hazırlanır)

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

4. D Çözeltisi (Günlük hazırlanır)

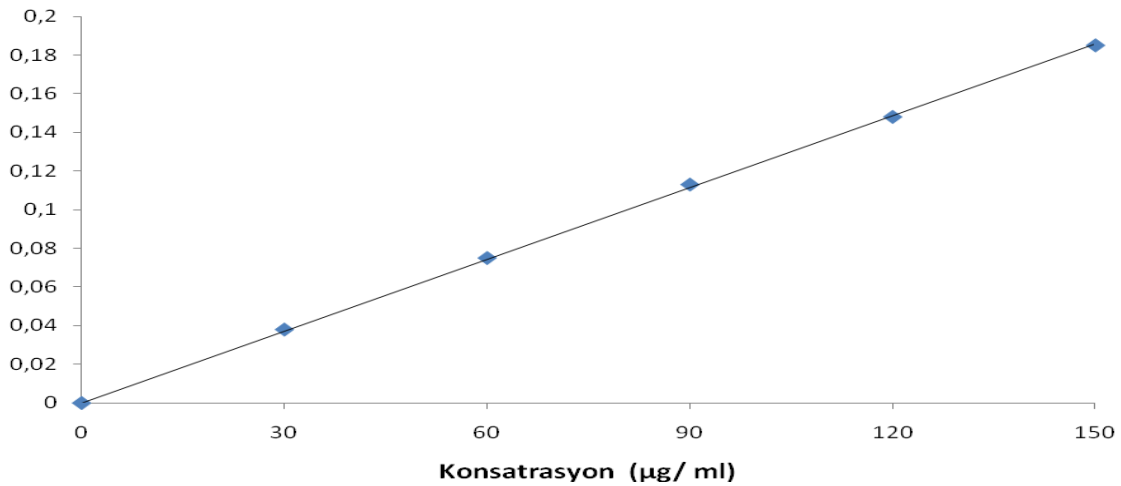
FolinCioacaltea 1: 1,5 (v/v) oranında saf su ile sulandırılır(192).

Standart Eğrinin çizimi

Stok standart için 0,3 g/dl bovinalbumin 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 (Tablo:4) elde edilerek 750 nm'de verdikleri absorbanslar kaydedilir. Bu verilere göre konsantrasyon-absorbans eğrisi çizilir (Şekil:18) ve her numune ölçümünde standart eğri tekrarlanır (192).

Tablo 4. 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 18: Protein standart eğrisi

Böbrek 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:5).

Tablo 5: Doku örneğinde protein tayini için tüplerin hazırlanışı

	Kör (ml)	Standart (ml)	Örnek (ml)
Serum fizyolojik	0,3	-	-
Standart	-	0,3	-
Süpernatant	-	-	0,3
C Çözeltisi	3	3	3
15 dakika oda ısısında bekletilir			
D Çözeltisi	0,3	0,3	0,3
Oda ısısında 30 dakika bekletilir ve 750 nm’de köre karşı okunur.			

Hesaplanması

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

3.7. Biyokimyasal Ölçümler

3.7.1. Malondialdehit 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 (193).

Ayırıcılar

1. SDS %8,1’lik

Sodyum Dodesil Sülfat(SDS)

2. Asetik Asit %20’lik (pH 3,5)

3. Tiyobarbitürik Asit (TBA) %0,8 lik

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

5. Stok Standart 1.1.3.3 tetramethoksiopropan (yoğunluk = 0,99 g/ml)

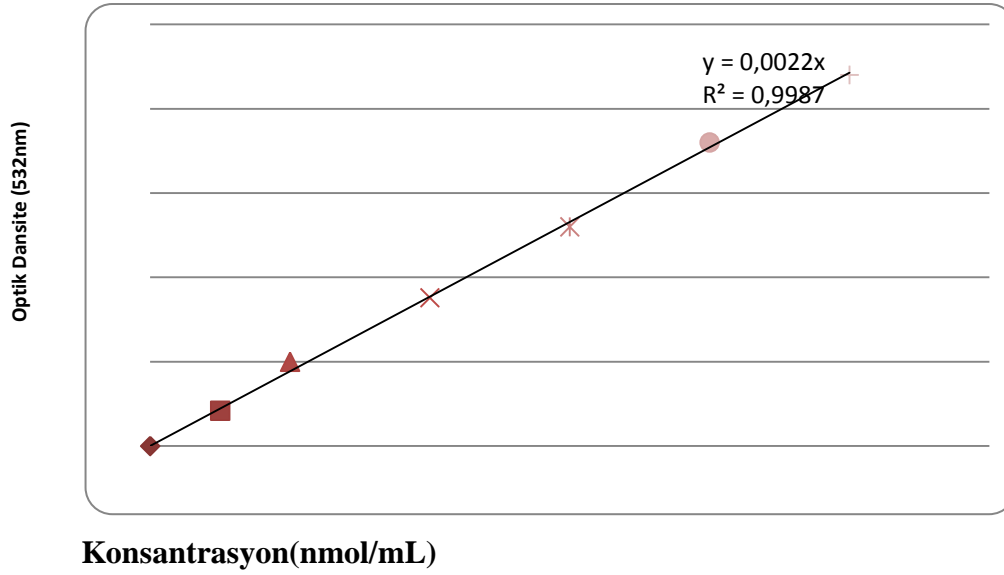
Standart Eğri Çizimi

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 tablo 6'da belirtildiği şekilde ilave edilirler (Tablo:6).

Tablo 6: MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı

Tüp No.	0	1	2	3	4	5	6
Konsantrasyon(nmol/ml)	0	100	80	60	40	20	10
Standart(ml)	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
SDS (ml)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Asetik Asit (ml)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
TBA(ml)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Saf su (ml)	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Vorteksle karıştırılır.60 dk 90 C°de inkübe edildikten sonra musluk suyu altında soğutulur.							
Saf su(ml)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
N-Butanol/Piridin	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Vorteksle karıştırılır.4000 rpm 'de 10 dakika santrifüj edilir.							

Tüpler n-Butanol/Piridin ilavesinden sonra iyice karıştırılır. Daha sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir, üstteki organik kısım (üst faz) alınarak 532 nm'de absorbans fotometrik olarak okunur ve standart eğri grafiği çizilir (Şekil:19).



Şekil 19 : MDA 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 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7: 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.

Hesaplanması

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

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

3.7.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tavini

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 viyole: INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazan boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin (OD) okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdaki uzaklaştırarak 2 numaralı formazan reaksiyonunu inhibe eder. Sonuçta oluşan kırmızı rengin OD'si SOD yokluğunda oluşan renge göre azalır, bu aradaki farkın belirlenmesiyle de SOD aktivitesi ölçülür(194).

Ayırıklar

1. CAPS Tamponu ((3-sikloheksilamino)-1-propan sülfonik asit) (pH:10,2)

50,00 mM CAPS	1,1065gr
0,94 mM EDTA	0,035gr
Doymuş NaOH	11,1 µl

Saf su ile 100 ml 'ye tamamlanır

2. Substrat Karışımı

0,05 mM Ksantin	0,00152gr
INT	0,00253gr

Bu karışım CAPS tamponuyla 100 ml'ye tamamlanır.

3. 80 Ü/L Ksantin oksidaz

50 Ü Ksantin oksidaz	3,04µl
----------------------	--------

Saf su ile 1 ml'ye tamamlanır.

4. 0.01 MFosfat tamponu (pH:7 ayarlanır)

Na₂PO₄ 54,91mg

NaH₂PO₄ 3,58mg

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 distile su ile sulandırılır.Standart eğri çiziminde kullanılacak olan diğer SOD derişimleri fosfat tamponuyla Tablo8'daki gibi hazırlanır.2-8°C'de saklandığında 2 hafta süreyle dayanıklıdır.

Tablo 8: 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, böbrek 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.

Tablo 9: 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_1) okunur. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbansları (A_2) tekrar okunur (Resim 7).

Resim 7: Spektrofotometrede Ölçüm

Hesaplama

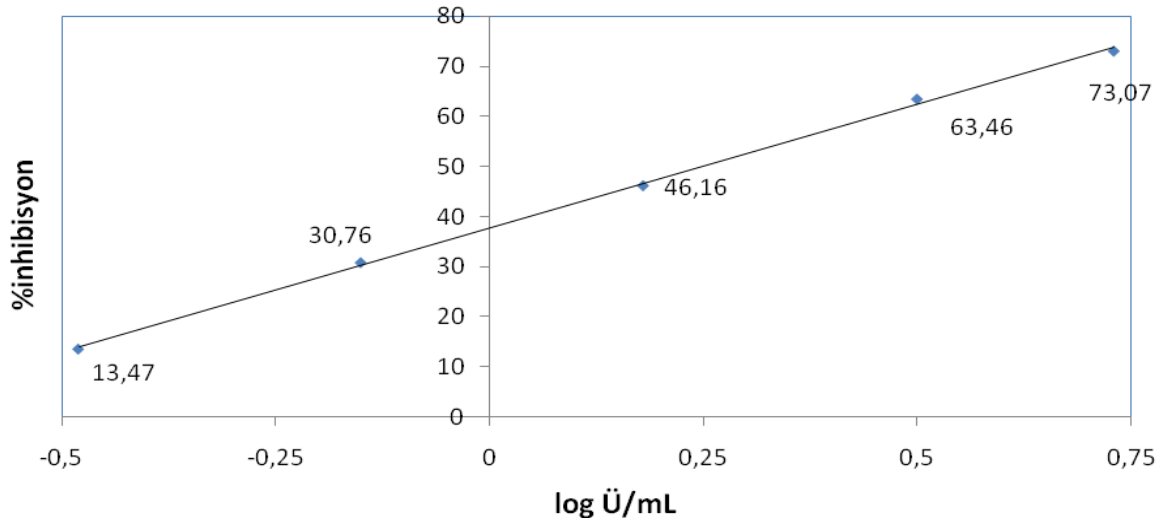
Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edilir ve değeri %100 olarak alınır. Tüm standartlar için % inhibisyon değeri bunlara ait çalışma körüyle oranlanarak hesaplama yapılır.

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

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

ΔA çalışma körü

Hesaplama yapıldıktan sonra x yatay eksenine SOD derişimlerinin (\ddot{U}/ml) logaritmik dönüşüm değerleri, Y (dikey) eksenine standartlara ait % inhibisyon değeri yazılarak standart eğri elde edilir (Şekil:20).



Şekil 20: SOD standart eğrisi

Örnek Çalışması

Tablo 10: Dokuda SOD aktivite tayini için kuvars tüplerin hazırlanışı

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

Dokudaki SOD aktivite tayini için kuvars tüpler tablo 10' daki gibi hazırlanır. Tüpler tekrar karıştırıldıktan 30 saniye sonra 37°C'de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorbands(A_1) okunur. 3 dakika sonra absorbands (A_2) tekrar okunur.

Hesaplama

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

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

$$\Delta A \text{ çalışma körü}$$

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.

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

3.7.3. 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 (195).

Ayırıklar

1. 1M Tris-HCl, 5mM Na_2 EDTA tamponu, pH 8,0

Tris-Baz	5,358gr
Tris-HCl	8,787gr
Na_2 EDTA	0,1461gr

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. 1 M Fosfat tamponu, pH 7.0

K_2HPO_4	6,723gr
KH_2PO_4	8,344gr

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

3. 10 mM H_2O_2

%30' luk peroksitten 10 μ l alınır ve 9,990 μ l saf suyla tamamlanır.

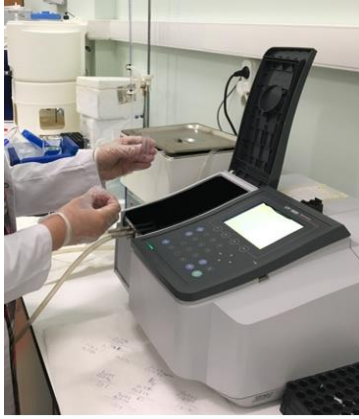
4. Etanol (%95'lik)

Yöntem

Katalaz aktivite tayini için, doku süpernatanı 1:50 oranında saf su ile sulandırılır ve 1 ml'sine 20 μ l saf etanol ilave edilir, karıştırılır ve aktivite tayini yapana kadar tüplerin ağzı kapalı bekletilir. Deneye başlamadan önce, günlük olarak hazırlanan 10 mM H_2O_2 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 μ l saf su 100 μ l fosfat tamponu koyulur karıştırılır ve bu karışımın 900 μ l' 230 nm'de fotometrik olarak okunur OD_1 olarak kaydedilir. Daha sonra aynı küvete hazırladığımız 10 mM'lık peroksitten (H_2O_2) 100 μ l koyulur ve tekrar okuma yapılır absorbans değeri OD_2 olarak kaydedilir. $OD_2 - OD_1 = 0,071$ olmalıdır. Bu değer bulunduktan sonra hazırlanan peroksidin konsantrasyonu tam 10 mM'dır denilir ve kuvars küvetler tablo 11' de gösterildiği şekilde hazırlanarak deneye gibi başlanır.

Tablo 11: Dokuda CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı

	Kör (μ l)	Numune (μ l)
1M Tris-HCl, 5mM Na ₂ EDTA tamponu,pH 8.0	50	50
10 mM H ₂ O ₂	-	900
Saf su	930	30
37 °C’de 10 dakika inkübe edilir.		
Örnek (sulandırılmış)	20	20



Tüpler 37 °C’de 10 dakika inkübe edildikten sonra daha önce 1:50 oranında dilüe ettiğimiz örnekten 20 μ l alınarak tüplere ilave edilir ve 230 nm’de 2,5 dakika kinetik okuma yapılır. Her numune teker teker çalışılarak kaydedilir (Resim 8).

Resim 8: Spektrofotometreye numune yerleştirme

Hesaplama

$$\text{CAT Aktivitesi (Ü/ml)} = \frac{\Delta\text{OD} \times V_T (1.0 \text{ ml})}{0,071 \times V_H (0,02 \text{ ml})}$$

Δ OD: Dakikadaki optik dansite değişimi

V_H: Örnek hacmi

V_T: Toplam hacim

0,071: 10mM H₂O₂ yıkım hızının verdiği OD değeridir.

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

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

3.7.4. NO (nitrit+nitrat) ölçüm yöntemi

Cartos ve Wakid yöntemi (196) kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Gerekli Ayıraçlar

1-Kadmiyum granülleri: 0,1 mol/L H₂SO₄ içinde saklandığı sürece 9 ay stabildir.

2-Glisin-NaOH buffer: 7,5 g glisin bir miktar distile suda çözüldü. 2 mol/L NaOH çözeltisi ile pH'sı 9,7'ye ayarlandı. Bu çözelti 1 ay 0-8 °C'de stabildir.

3-Sülfanilamid: 5 g sülfanilamid 3 mol/L sıcak HCl içinde çözülür ve daha sonra soğumaya bırakıldı. 1 yıl oda sıcaklığında stabil kalabilir.

4-N-Naphthylethylene diamine (NNDA): 50 g NNDA 250 ml distile su içinde çözüldü. 2 ay 0-8 °C'de stabildir.

5-Çinko sulfat (ZnSO₄): 75 mmol/L; 10,8 mg alınıp 500 ml'ye tamamlandı.

6-Bakır sulfat (CuSO₄): 5 mmol/L; 250 mg alınıp 200 ml'ye tamamlandı.

7-Sodyum hidroksit (NaOH): 55 mmol/L; 1,1 g alınıp 500 ml'ye tamamlandı.

8-Standartlar: NaNO₂ standardı 10 mmol/L'lik sodyum tetra borat çözeltisi içinde hazırlandı (69 mg NaNO₂, 380 mg borat (Na₂B₄O₇·10 H₂O) 100 ml içinde çözüldü).

9-KNO₃ standardı: 102 mg potasyum nitrat alınıp 10 mmol'lik 100 ml sodyum tetra borat içinde çözüldü.

DeneySEL İşlemler

Deproteinizasyon: Test tüpüne 0,5 ml distile su, 2 ml ZnSO₄, 2,5 mL NaOH ilave edilip 10 dk. oda ısısında beklettikten sonra 4000 g' de 20 dk. santrifüj edildi.

Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu: Granüller 3 defa distile su ile yıkanır. 1-2 dk. içinde CuSO₄ içinde çalkalanarak bekletilip, 3 defa da Glisin-NaOH ile yıkanıp 10 dk. içinde kullanılmak üzere kurutma kağıdı ile kurutuldu.

Sonucun hesaplanması: KNO₃' ün 10 milimolarlık çözeltisinden 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlanır ve numunelere uygulanan tüm işlemler standartlara da uygulandı.

1ml glisin-NaOH buffer tüm tüplere konuldu. 1'er ml deproteinize numunelerden ve standartlardan alındı. 2.5 g tartılan ve aktivasyon işleminden geçirilen kadmiyumlardan tüm

tüplerin üzerine konuldu. 90 dk. oda ısısında karıştırarak beklendi. Süre sonunda nitrit ölçümü için bu tüplerden 2'şer ml alınarak üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA ilave edildi. Karıştırılır ve 45 dk. beklendikten sonra 545 nm'de okuma yapıldı.

Direkt nitrit ölçümü:NaNO₂ standartlarını 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlandı ve deproteinize numunelerden kadmiyum ile reaksiyona sokmadan direkt olarak 2'şer ml alınarak ayrı tüplere konuldu. Üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA eklendi. 45 dk. sonra 545 nm'de okuma yapıldı.

Nitrat aktivitesinin hesaplanması: Bulunan nitrat değerlerinden nitrit değerleri çıkarıldıktan sonra sulandırma faktörü olan 20 ile çarpılıp yine nitrat standardından elde edilen faktör ile çarptıktan sonra çıkan sonuç milimol/litre olarak hesaplanmış olur.

3.7.5.Nitrotirozin (3-NT) Düzeyi



Rat böbrek dokusunda 3-NTx düzeyleri ELİSA cihazında ticari kit (Rat-3-Nitrotyrosine (NT) Elisa Kit, Cusabio) yardımıyla 450 nm'de ölçüldü (Resim:9). (Kit referans aralıkları 0,156 ng/ml-10ng/ml, sensitivitesi: 0,038 ng/ml)

Resim 9: Elisa ile Ölçüm

3.8. 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; konjesyon, nekroz, kanama alanları, fırçamsı kenar kayıplarına göre değerlendirildi.

3.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizin yapılmasında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 kullanıldı. Sonuçlarımız ortalama \pm standart sapma şeklinde verildi. Biyokimyasal verilerimizin değerlendirilmesinde isegruplar 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

Sıçanlarda oluşturulan renal İ/R modeli her grupta 8 adet sıçan olmak üzere 3 grup ve toplamda 24 adet sıçan üzerinde çalışıldı. Deney süresince gruplarda her hangi bir kayıp yaşanmadı. Tüm gruplardaki sıçanlara ait böbrek dokusunda oksidatif/nitrozatif stres biyobelirteçlerinin düzeyleri Tablo 12-16 ve Şekil 22-26'da verilmiştir.

4.1. BÖBREK DOKUSUNDAKİ MDA DÜZEYLERİ

Tablo 12: Gruplar arası MDA bulguları

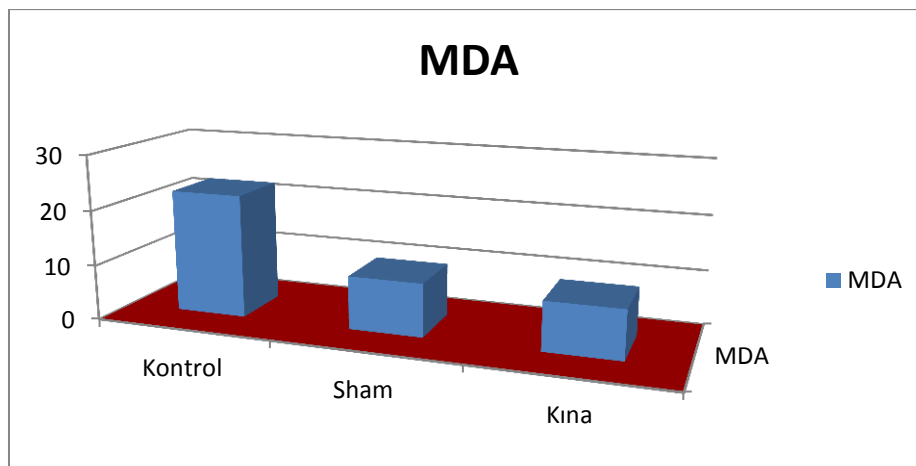
MDA (nmol/mg protein)			
	n	Ort ± SD	min-max
GRUP 1 (KONTROL)	8	22,43±7,54	14,89-29,97
GRUP 2 (SHAM)	8	9,67±2,80	6,87-12,47
GRUP 3 (KİNA)	8	8,86±1,95	6,91-10,81

Gruplar arasındaki MDA düzeyleri kıyaslandığında

Kontrol grubu ile sham ve kına grupları arasında anlamlı farklılıklar saptandı

(p: 0,001), (p<0,05).

Sham ile kına grubu arasında MDA açısından farklılıklar gözlenmedi (p:0,173).(p>0,05).



Şekil 21: Gruplar arası MDA düzeyleri

4.2. BÖBREK DOKUSUNDAKİ SOD DÜZEYLERİ

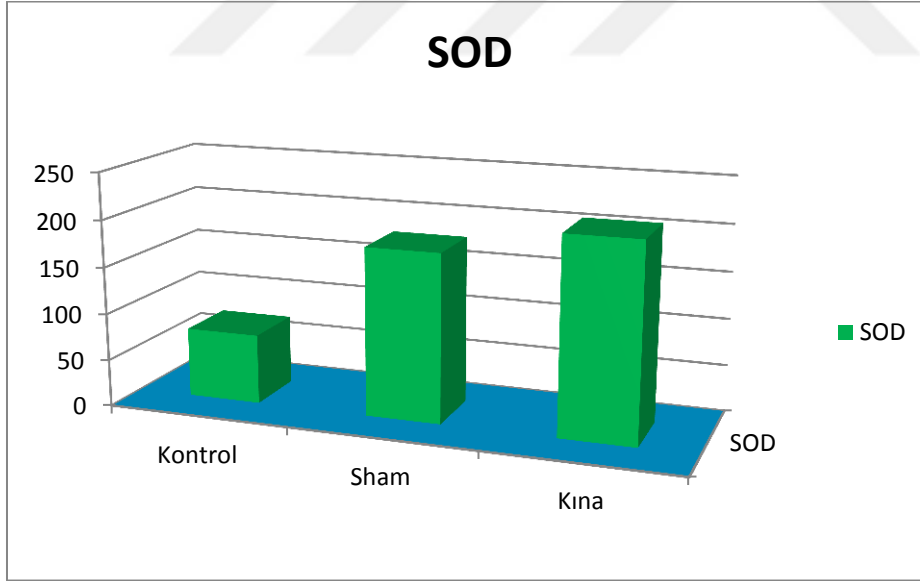
Tablo 13: Gruplar arası SOD bulguları

SOD (U/mg protein)			
	n	Ort ± SD	min-max
GRUP 1 (KONTROL)	8	74,33±15,28	59,05-89,61
GRUP 2 (SHAM)	8	179,42±47,13	132,29-226,55
GRUP 3 (KINA)	8	208,50±67,28	141,22-275,78

Gruplar arasındaki SOD düzeyleri kıyaslandığında;

Kontrol grubu ile sham ve tedavi grupları arasında anlamlı farklılıklar saptandı (p: 0,018), (p<0,05)

Sham ile tedavi grubu arasında SOD açısından farklılıklar gözlenmedi (p:0,882), (p>0,05)



Şekil 22: Gruplar arası SOD düzeyleri

4.4. BÖBREK DOKUSUNDAKİ CAT DÜZEYLERİ

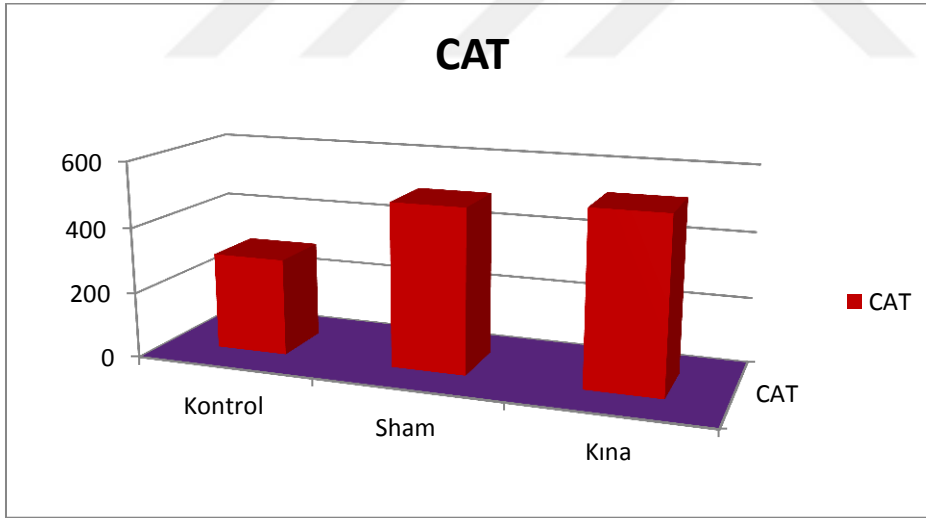
Tablo 14: Gruplar arası CAT bulguları

CAT (U/mg protein)			
	n	Ort±SD	min-max
GRUP 1 (KONTROL)	8	296,37±117,02	179,35-413,39
GRUP 2 (SHAM)	8	498,71±132,69	366,02-631,4
GRUP 3 (KINA)	8	524,33±158,25	366,08-682,58

Gruplar arasındaki CAT düzeyleri kıyaslandığında;

Kontrol grubu ile sham ve tedavi grupları arasında anlamlı farklılıklar saptandı (p: 0,024). (p<0,05)

Sham ile tedavi grubu arasında CAT açısından farklılıklar gözlenmedi (p:0,741), (p>0,05)



Şekil 23: Gruplar arası CAT düzeyleri

4.4. BÖBREK DOKUSUNDAKİ NİTROTOZİN DÜZEYİ

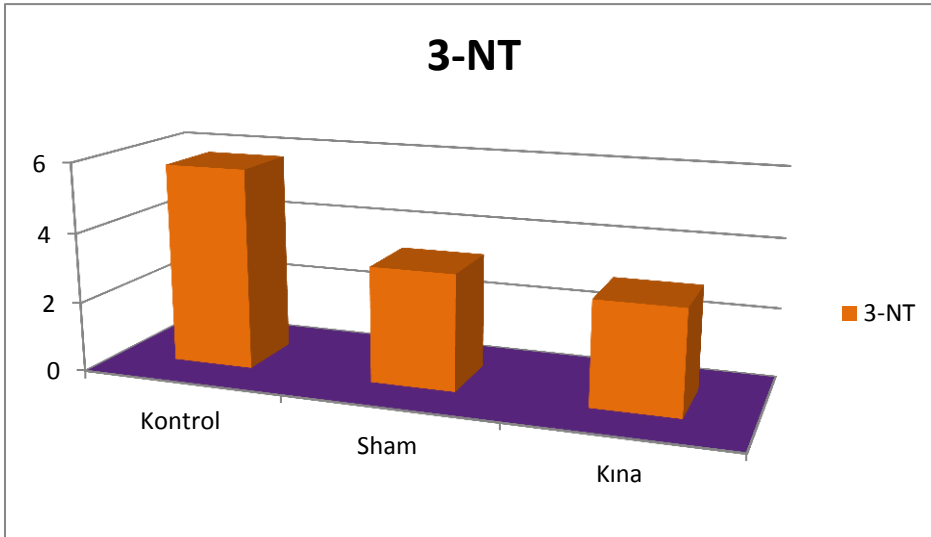
Tablo 15: Gruplar arası 3-NT bulguları

3-NT(pg/mg protein)			
	n	Ort \pm SD	Min-max
GRUP 1 (KONTROL)	8	5,76 \pm 1,25	4,51-7,01
GRUP 2 (SHAM)	8	3,31 \pm 0,76	2,55-4,07
GRUP 3 (KINA)	8	2,97 \pm 0,17	2,8-3,14

Gruplar arasındaki 3-NT düzeyleri kıyaslandığında;

Kontrol grubu ile sham ve tedavi grupları arasında anlamlı farklılıklar saptandı (p: 0,001), (p<0,05).

Sham ile tedavi grubu arasında 3-NT açısından farklılıklar gözlenmedi (p:0,538), (p>0,05).



Şekil 24: Gruplar arası 3-NT düzeyleri

4.5. BÖBREK DOKUSUNDAKİ NİTRİK OKSİT DÜZEYİ

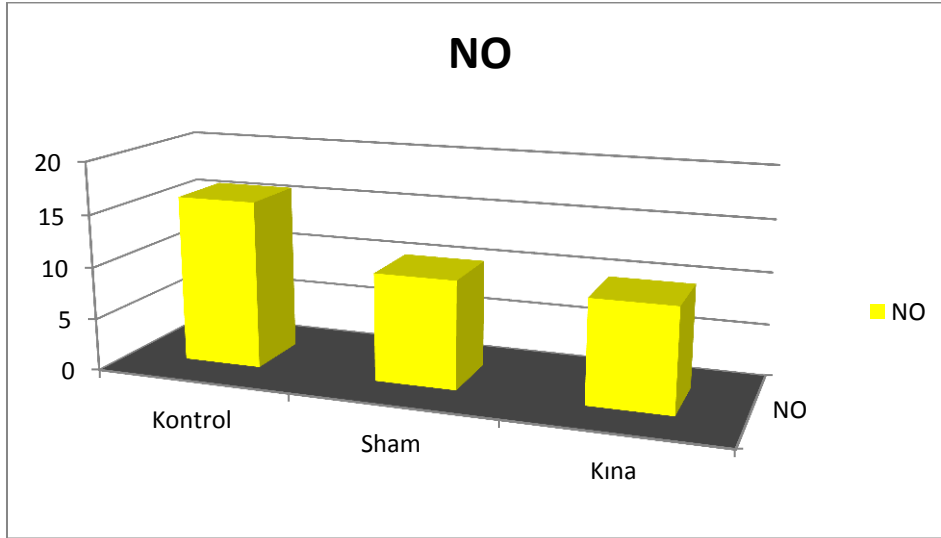
Tablo 16: Gruplar arası NO bulguları

NO($\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein)			
	n	Ort \pm SD	Min-max
GRUP 1 (KONTROL)	8	16,04 \pm 6,45	9,59-22,49
GRUP 2 (SHAM)	8	10,31 \pm 3,73	6,58-14,04
GRUP 3 (KINA)	8	9,85 \pm 2,59	7,26-12,44

Gruplar arasındaki NO düzeyleri kıyaslandığında;

Kontrol grubu ile sham ve tedavi grupları arasında anlamlı farklılıklar saptandı (p:0,009). (p<0,05)

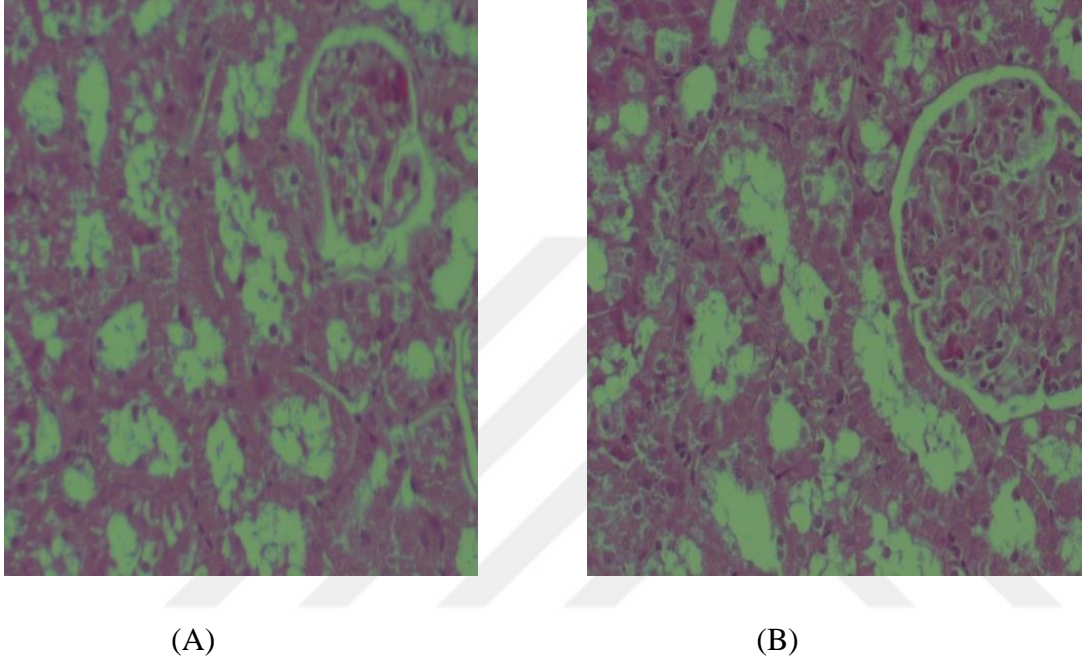
Sham ile tedavi grubu arasında NO açısından farklılıklar gözlenmedi (p:0,164), (p>0,05)



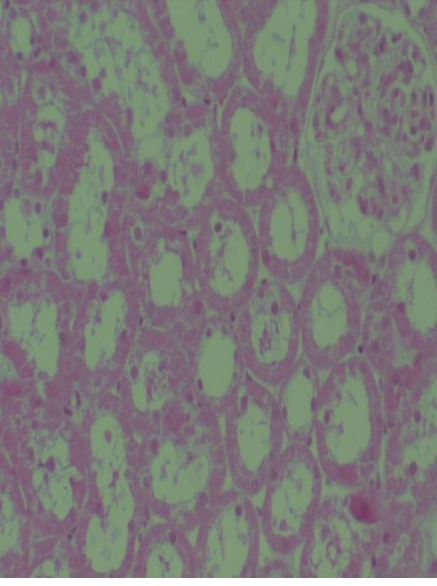
Şekil 25: Gruplar arası NO düzeyleri

4.6. BÖBREK DOKUSUNDAKİ HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

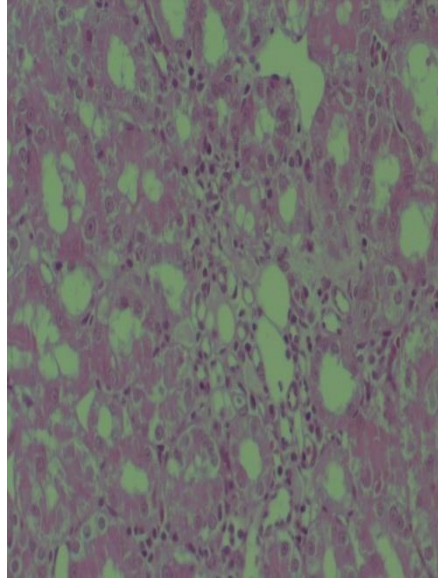
Birinci grup yani sham grubunda normal görünümde yani konjesyon olan böbrek dokusunda, sadece İ/R uygulanan kontrol grubunda ağır nekroz, çok fazla kanama alanları ve fırçamsı kenar kayıpları vardı, kına uygulanan grupta normale yakın görüntü yani konjesyon hali mevcuttu. En çok hasar gerilemesi kına grubunda, kenar kayıplarında gerileme çok az. Resim 10-14' de verilmiştir.



Resim 10: İskemi Reperfüzyon Grubuna Ait Böbrek Korteksinde;
(A), (B) konjesyon ve tübül epitelinde vakuolizasyon görüntüleri

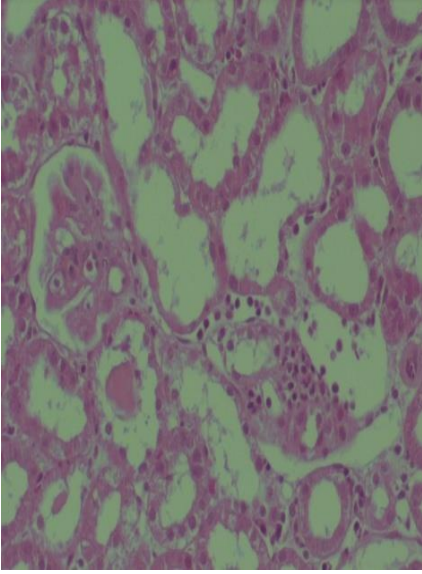


(C)

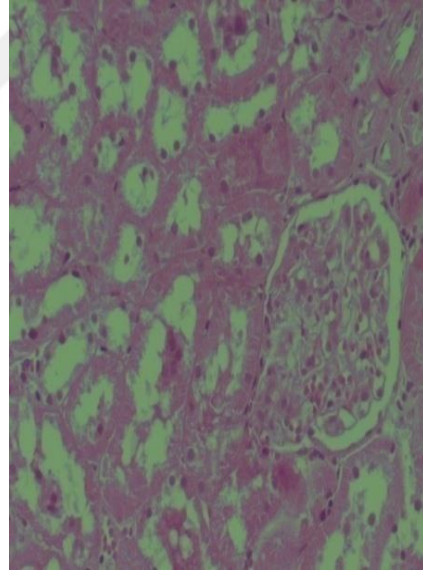


(D)

Resim 11: İskemi Reperfüzyon Grubuna Ait Böbrek Korteksinde;
(C), (D)tübülerepitelinde incelme, nekroz ve fırçamsı kenar kaybı

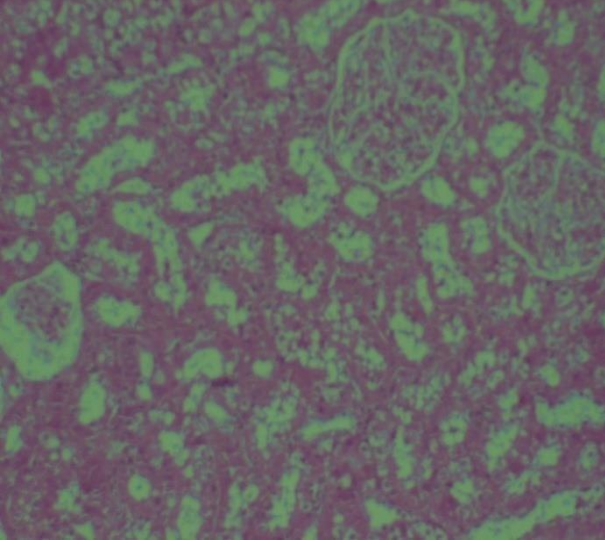


(E)

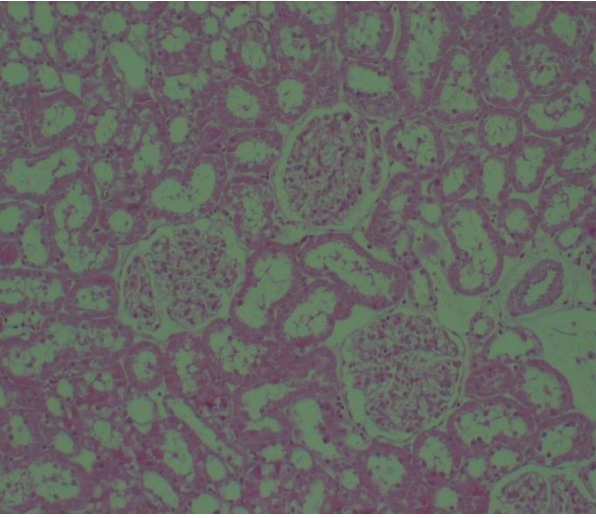


(F)

Resim 12: İskemi Reperfüzyon Grubuna Ait Böbrek Korteksinde;
(E), (F) triiodizasyon görüntüleri



Resim 13:Sham grubuna ait böbreğin korteksinde tubüler epitelde düzleşme



Resim 14: Tedavi grubuna ait böbreğin korteksinde normal yapıda bir görünüm

5.TARTIŞMA

İskemi, bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle yetersiz hale gelmesi veya durmasıdır. Reperfüzyon ise iskemiye neden olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuya kan akımının yeniden sağlanmasıdır (39).

İskemi hücre içinde kalsiyum iyonlarının artmasına, yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin azalmasına ve hücre fonksiyonlarının bozulması sonucu hücrenin parçalanmasına kadar giden bir süreçtir (197,66). İskemi sürecinde meydana gelen hasarlar, reperfüzyonla birlikte daha da ağırlaşmaktadır (66).

İskemide oksijen ihtiyacının artmasıyla birlikte hücre içinde laktik asit, hipoksantin ve lipid peroksidaz gibi metabolitlerin biriktiği gösterilmiştir (66). Reperfüzyon sonrası kanın oksijensiz kalmış dokuya girmesiyle adenozin, NO ve SOR' un salınmasına neden olmaktadır (198).

Renal iskemi; Böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler gibi klinik durumlarda görülür. İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışı meydana gelebilmektedir (199).

Renal IR hasarı, hücre içi haberleşme sisteminin, çeşitli aracı maddelerin ve hücrelerde meydana gelen zincirleme reaksiyonlar sonucu meydana gelen, hipoksi kaynaklı akut böbrek yetmezliğinin temel sebebini oluşturan karmaşık bir durumdur (9).

Daha önce gerçekleştirilen çalışmalarda farklı dokulara iskemi/reperfüzyon için değişik zaman aralıkları uygulanmıştır. Nitekim daha önce yapılan bir çalışmada bu süre böbrek için 15-20 dakika olarak yapılmıştır (200).

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada sıçanlarda uygulanan 30 dakika süreli iskemi ve takiben 30 dakika reperfüzyona bağlı olarak böbrek dokusunda lipid peroksidasyonun göstergelerinden birisi olanMDA, ve protein oksidasyonunun göstergeleri olan NO ve 3-NT değerleri önemli şekilde artış göstermiştir. Bu bulgu çalışmada öncelikli olarak hedeflenen iskemi-reperfüzyon hasarının gerçekleştiğini göstermektedir.

Zou ve arkadaşlarının (2013) çalışmalarında serbest oksijen türlerinin renal iskemide açığa çıkarak lipitlere zarar verdiği öne sürülmüştür. Çeşitli çalışmalar SOR' un İ/R hasarında lipid peroksidasyonunu başlatarak hasar oluşumunda önemli rolü olduğunu ortaya koymuştur (22). Ayrıca SOR canlı yapıdaki biyomoleküllerle reaksiyona girerek dokudaki hasarı artırır (199). Renal iskemi uygulanan diyabetik sıçanlarda böbrek dokusunda lipid peroksidasyon son ürünlerinden MDA miktarında bir artış olduğu tespit edilmiştir (90).1980'li yıllardan beri

oksidatif doku hasarının göstergesi olarak, serum ve doku MDA değerlerine bakılmakta olduğunu belirten Singh ve Chopra ratlarda yaptıkları renal İ/R’de renal oksidatif doku hasarının göstergesi olarak doku MDA düzeylerine bakmışlardır. Bu çalışmada da doku hasarının göstergesi olarak renal doku MDA değerlerine bakılmış ve İ/R grubunda MDA değerlerinin diğer gruplara oranla belirgin olarak arttığı gösterilmiştir(22). Bizim çalışmamızda da lipid peroksidasyonun göstergelerinden birisi olan MDA değerleri böbrek dokusunda incelendi. Bu parametrenin özellikle iskemi-reperfüzyon yapılan grupta önemli şekilde artış göstermiş olması daha önceki çalışmalarda elde edilen artmış MDA değerleri ile paralellik göstermektedir.

Nitrik Oksit Nitrik Oksit Sentaz olarak bilinen sitozolik bir enzimin aktivitesi ile oluşur.NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Bununla birlikte süperoksit anyon radikallerinin düzeylerinin arttığı durumlarda, süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitriti oluşturur (201).

Peroksinitrit (ONOO⁻), nitrik oksidin (NO), O₂⁻ ile canlıdaki reaksiyonu sonucunda meydana gelen sitosidal bir türevidir. Nitrotirozinin oluşturduğu protein hasarı organizmada oksidatif strese neden olmaktadır. Proteinlerde yapısal değişikliğe neden olan başlıca moleküler sistemler: protein karbonil oluşumu ile ayırıcı özelliği ortaya koyulan metal katalizli protein oksidasyonu, 3-Nitrotirozin (3-NT), protein tiyol gruplarının kaybı, ditirozin oluşumudur. 3-NT’nin ONOO⁻’dan oluştuğunu kabul edersek 3NT’nin dokularda veya serumda tespiti protein oksidasyonunun en önemli göstergelerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır (202). Yaptığımız renal İ/R hasarında 3-NT’nin arttığı gözlenmiştir. Ancak, kına takviyesi aşırı üretilen NO düzeyi düşürerek 3-NT oluşumunun azaltıldığı kanısındayız.

İskemi reperfüzyon hasarı konusunda yapılan yoğun çalışmalara karşın, iskemi reperfüzyon sürecinde NO’in ne yönde etkilendiği pek açık değildi. Renal İ/R hasarında rol alan etkenlerden birinin artan NO’in O₂⁻ radikali ile birleşmesi sonucu oluşan ONOO⁻ olabileceği düşünülebilir. Kına antioksidan ve antiinflammatuvar özellikleriyle NO’in ve O₂⁻’in aşırı üretimini dolayısı ile ONOO⁻ oluşumunu azaltarak renal I/R kaynaklı böbrek hasarını önleyebileceği kanısındayız.

SOR oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar “Antioksidan savunma sistemleri” olarak bilinirler.Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya SOR toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (102).

Günümüzde yapılan birçok çalışma, kalp, karaciğer, beyin, barsak ve böbreklerde İ/R hasarının bazı antioksidanlar ile belli ölçülerde önlenebildiğini göstermektedir (22).

Birçok organizmada antioksidan sistem temel olarak SOD, GPx, CAT enzim sistemlerini içerir. SOD süperoksit radikalini H_2O_2 ' ye katalizler. H_2O_2 ise CAT ve GPx tarafından moleküler oksijen ve suya indirgenir. GPx, glutatyon redüktaz aracılığı ile oluşan glutatyonu okside forma dönüştürür. Bundan dolayı bu enzimlerin konsantrasyonlarının ölçümü bize iskemi sonrasında oluşan serbest oksijen radikali hakkında bilgi verir (22,120).

Enzimatik antioksidanlar kadar olmasa da bitkisel kaynaklı antioksidanlarında oksidatif şehasara karşı koruyucu etkili olduğu bilinmektedir (22).

Kınada hidroksi neftokinon denilen renkli madde bulunur. Ayrıca Kına (*Lawsania inermis L*) yağ, luteolin, quinoids, xanthone ve coumarin, çeşitli glikozitler, alkaloidler vs. sayılabilir (17). Yapraklarının antifungal, antihiperglisemik, hepatoprotektif, antioksidan, antibakteriyel, analjezik ve antipiretik aktiviteleri yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur. Yapılan çalışmalar lawsone bileşiğinin, HbSS anemi hücrelerini inhibe ettiğini, kan oksijen affinitesini arttırdığını, tripsin enzimi inhibitör etkisi yarattığını, antikoagulant ve antioksidan etkilere sahip olduğunu, bakteriyostatik ve bakterisidal aktivitesinin bulunduğu göstermiştir (186).

Çalışmamızda antioksidan sistemin göstergesi olarak SOD-CAT düzeyleri çalışılan böbrek dokusunda belirlenmiştir. Bu antioksidan enzimlerin miktarı kına takviyesi yapılan grupta en yüksek olarak belirlenirken iskemi reperfüzyon grubundaki dokuda SOD-CAT aktivite miktarlarında azalma göstermiştir. Bunlar da artmış serbest radikal üretiminin bir işareti olarak kabul edilebilir. Artmış serbest radikallerin düzeyleri SOD-CAT enzimlerinin inhibisyonunda neden olabilir. Süperoksit anyonunun sitokinlerin oluşturduğu hücre hasarındaki rolü tam olarak anlaşılamamasına rağmen, sitokinlerin süperoksit anyonu ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz üretimini arttırdıkları bilinir. Eğer TNF- α gibi sitokinler sürekli yüksek konsantrasyonda kalırsa, kısa yarılanma ömrü olan SOR sürekli üretilir ve böbrek hücre hasarının devam etmesine destek sağlar. Bu açıdan antioksidanlar SOR'un meydana getirdiği hasara karşı etkili olabilir. Bu tür çalışmalar ilerde sitokin inhibitörleri veya süperoksit anyon üretiminin inhibitörleri ve nitrik oksit inhibitörlerinin, böbrek hastalıklarında ilerlemeyi durdurucu ajanlar olarak kullanılmasına öncülük edebilir.

İlk defa yapılan bu çalışmada, renal iskemi reperfüzyon hasarına karşı kınanın (*lawsonia inermis*) oksidatif/nitrozatif stres üzerine etkileri incelendi. Literatür taramalarında, kınanın böbrekte İ/R hasarını önlemedeki etkilerinin ne olduğunun ortaya konulduğu herhangi bir çalışmaya rastlanılmadı. Kınanın tarih boyunca birçok hastalığın tedavisinde kullanılmış olması ve daha önce bu konuda çalışmanın mevcut olmamasından dolayı çalışmada bu bitki seçildi.

Çalışmamızda ilgili dokudaki oksidatif/nitrozatif hasar ve antioksidan savunma mekanizmalarının belirlenmesine ilave olarak histopatolojik yönden de doku değerlendirilmiştir. Böbrek dokusu incelendiğinde özellikle iskemi/reperfüzyona bağlı olarak korteks tubüler yapılarında düzleşme ve tubüler incelme, nekroz belirgin şekilde ortaya çıkarken, iskemi-reperfüzyondan 1 gün öncesive sonrasında 5 gün boyunca uygulanan kınameydana gelen bu patolojik değişimleri belirgin şekilde önlemiştir. Daha önce gerçekleştirilen benzer çalışmalarda böbrekte I/R hasarına bağlı olarak farklı düzeylerde histopatolojik değişiklikler olduğu belirlenmiştir (203, 204, 205). Öksüz ve ark (206) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada sıçanlarda laporaskopiyle oluşan renal hasarın cerrahi uygulama öncesi tek doz 50 mg/kg dozda çinko takviyesiyle önlendiği ortaya konulmuştur. Yapılan başka bir çalışmada ise iskemi sonucu azalan çinkonun daha fazla hasara yol açtığı rapor edilmiştir (207).Çinkonun diabette böbrek hasarı üzerine olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise bu elementin eksikliğinin böbrekte oluşan hasarı daha ileri düzeye ulaştırırken 3 ay süreli takviyesinin ise ilgili dokuda oluşan hasarı belirgin şekilde önlediği rapor edilmiştir (208). Tuzcu ve ark (2010) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise çinko pikolinat uygulamasının sıçanlarda cisplatin ile oluşan böbrek hasarına karşı koruyucu etkisi belirlenmiştir (209). Bizim araştırmamızda ise, sıçanlarda deneysel iskemi(30 dakika), reperfüzyon (30 dakika) hasarında böbrek dokusunda önemli histopatolojik değişimler belirlenirken tedavi amacıyla iskemi/reperfüzyondan bir gün önce ve sonrasında beş gün boyunca 50 mg/kg/gün olarak kına uygulaması böbreklerde iskemi/reperfüzyona bağlı olarak meydana gelen %70 oranındaki tubüler düzleşme ve tubüler inceleme ile %40 civarındaki vakuolizasyon ve triodizasyonu %10 seviyelerine kadar düşürürken, oluşan yangıyı da önlemiştir. Bu bulgular yaptığımız kına tedavisinin böbreklerde oluşan histopatolojik değişimleri düzeltici etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, uyguladığımız deney prosedüründe Kına'nın lipid peroksidasyonunun bir indikatörü olan MDA düzeyini azaltması, SOD, CAT enzim düzeylerini arttırması ve iskemi/reperfüzyon döneminde artan NO ve 3-NT düzeyini azaltması bu modelde Kına'nın yararlı etkilerinin olabileceğini akla getirmektedir.Ayrıca çalışmamızda renal dokuda iskemi reperfüzyon hasarında dokudaki biyokimyasal değişikliklere ilaveten ilgili doku histopatolojik yönden de değerlendirilmiştir. Renal doku ışık mikroskopunda histopatolojik olarak incelendiğinde iskemi reperfüzyon yapılan kontrol grubundaki renal dokularda konjesyon, tübül epitelinde vakuolizasyon ve incelme, nekroz, fırçamsı kenar kaybı ve triadizasyon görüntüleri ile karşılaşılırken sham grubundaki renal dokularda tübüler düzleşme görülmektedir. Kına uyguladığımız grupta ise renal kortekste normal yapıda bir

görünümle karşılaşmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular; böbrek İ/R hasarında oksidatif ve nitrozatif stresin önemli rol oynadığı ve buna karşı kına uygulamasının bu hasara karşı yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan araştırmalar sonucunda renal/iskemi tedavi aşamasında bir değişiklik olabileceği ve bundan sonraki çalışmalara kaynak teşkil edileceği düşünüldü.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1-MDA, NO ve Nitrotirozin açısından kontrol, sham ve kına grupları arasında anlamlı farklılıklar saptandı ($p<0,05$). Sadece iskemi-reperfüzyon uygulan grupta MDA, NO ve 3-NT düzeyleri oldukça yüksekti ($p<0,05$).

2-Antioksidan kapasite (CAT ve SOD) iskemi-reperfüzyon grubunda azalırken ($p<0,05$) kına grubunda normale yaklaştığı gözlemlendi ($p<0,05$).

3-Çalışmamızda histopatolojik olarak iskemi/reperfüzyon grubunda böbrek korteksinin tubülerepitelinde incelme, nekroz ve fırçamsı kenar kaybı bulgularının kına uygulaması ile azaldığı görüldü. Histopatolojik bulgular biyokimyasal sonuçları desteklemektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular; böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında oksidatif/nitrozatif stresin önemli rol oynadığı ve buna karşı kına uygulamasının bu hasara karşı yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Leena Sahu, Amit Roy, Trilochan Satapathy A Phytopharmacological Review on Lawsonia. Inermis L. Research J. Science and Tech. 2012; 4(3): 93-107
2. Kandilci, H. B., Gümüşel, B., 2005, Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi, 25, 35- 49.
3. Basım, S., 2005, Alt Ekstremitede İskemi-Reperfüzyon oluşturulan Ratlarda Ginkgo Biloba EGB 761“İncebarsak Anastomoz İyileşmesi Üzerine Etkisi, uzmanlık Tezi, T.C.Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği, 50.
4. Karabiga, M., Kiriş, İ., Yılmaz, N., Altuntaş, İ., Karahan, N., Okutan, H., 2007, Aprotinin Deneysel Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Böbrek Hasarına Etkisi, 16, 9-18.
5. Paller, M. S., 1994, The Cell Biology of Reperfusion Injury in the Kidney, J Invest Med, 42, 632–639.
6. Laurent B, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. Am J Physiol 1986; 251: F765-F776.
7. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. J Clin Invest 1984; 74: 1156-1164.
8. Conesa LE, Valero F, Nadal JC ve ark. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. Am J Physiol 2001; 281: R730 R737
9. J.M. Thurman, Triggers of inflammation after renal ischemia/reperfusion, Clinical Immunology 123 (2007), 7-13
10. Granger DN, Korthuis RJ. Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. Annu Rev Physiol 1995; 57: 311–32.
11. Chiao H, Kohda Y, McLeroy P, Craig L ve ark. Alpha-melanocyte-stimulating hormone protects against renal injury after ischemia in mice and rats. J Clin Invest 1997; 99: 1165-72.
12. Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. J Invest Med 1994; 42: 632-639.
13. O. Aruoma, H. Kaur, and B. Halliwell, Oxygen free and human diseases, The Journal of the Royal Society for the Promotion of Health 111 (1991), 172-177.
14. D.K. Das, and N. Maulik, Antioksidant effectiveness in ischemia-reperfusion tissue injury, Methods in Enzymology, 223 (1994), 601-611.
15. I. T. Mark and W. B. Weglicki, Antioksidan activity of calcium channel blocking drugs, Methods in Enzymology 224, (1994), 620-630.

16. Yılmaz M.,2014, Sıçanlarda Deneysel Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarında Çinko ve Melatoninin etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizioloji (tıp) Anabilim Dalı
17. Şener A, Altındış NG, Doğan Ö, Akut Hipergliseminin Trombositlerde Oksidatif Strese ve Nitrik Oksit Biyoyaralanımına Etkisi, Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı
18. Şener G, Yeğen BÇ, İskemi Reperfüzyon Hasarı. Klinik Gelişim 2009; 22 (3): 5-13.
19. Özel, Y., 2006, Ratlarda Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Hasarında Grape Seed Proanthocyanidin'in Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, T.C.Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5.Genel Cerrahi Kliniği, 23s.
20. Conesa EL, Valero F, Nadal JC, Fenoy FJ, Lopez B, Arregui B, Salom MG. N Acetyl-L-Cysteine Improves Renal Medullary Hypoperfusion in Acute Renal Failure. American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology, 2001, 281: 730-737.
21. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of İschæmia Reperfusion İnjury: Central Role of The Neutrophil British Journal of Surgery, 1991, 78: 651-655.
22. Taner, S.Ş., 2016, Renal İskemi Reperfüzyon Hasarında Alıç (Crataegus) ve Goji Berry (lycium barbarum)'nin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması , Yüksek Lisans Tezi,Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,
23. Edelstein C.L, Ling H, Schrier RW. The nature of renal cell injury. Kidney Int 1997; 51: 1341– 51.
24. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia/reperfusion injury. J Surg Res 2002; 105: 248-58
25. A 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: 1070–75.
26. Yapca OE, Borekci B, Suleyman H. Ischemia-Reperfusion Damage. The Eurasian Journal of Medicine, 2013, 45: 126-127
27. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of Xanthine Dehydrogenase to Oxidase in İschæmic Rat İntestine: A Reevaluation. American Journal of Physiology, 1988, 254: 768-774.

28. Granger DN: Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemiareperfusion injury. Am J Physiol 255:H1269-H1275, 1988.
29. Green, C., vd., The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys, 1989, Free Radical Research, 7 (3-6) 255-264.
30. Orrenius, S., Burkitt, M. J., Kass, G. EN., Dypbukt, J. M., Nicotera, P., Calcium ions and oxidative cell injury, 1992, Annals of neurology, 32 (S1) S33-S42.
31. Türkyılmaz, Z., 2003, Karaciğer İskemi Reperfüzyon Zedelenmesinde Pentoksifilin, Dimetilsülfoksit ve Eksojen Melatoninin Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması (tez). TÜ Tıp Fakültesi,
32. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Basic Pathology. 7th edition 2003: P:6 11,531-533
33. Grum CM. Cellular energetics. In: Zelenock GB. Clinical ischemic syndromes: mechanism and consequence of tissue injury. St. Louis: The C. V. Mosby Company 1990; 47-62
34. Çetintaş, D., 2011 Suprarenal Kros Klemp Altında Gerçekleştirilen Abdominal Aort Cerrahisinde, İskemik Ön koşullanmanın ve Karnitinin Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarı Üzerindeki Etkisinin, Rat Modelinde Araştırılması, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
35. Keser, H., 2016, Manyetik Alan ve Pterostilbenin Renal İskemi ve Reperfüzyona Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik (tıp)
36. Carden D. L., Granger D. N. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. J.Pathology 2000;190:255-66.
37. Balcı, C., 2011, Ratlarda Renal İskemi Reperfüzyon Modelinde Uzak İskemik Ön Koşullama ve Deksmetomidinin Etkilerinin Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı
38. Wilhelm, J., Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation, 1989, Acta Universitatis Carolinae. Medica. Monographia, 137 1-53 p.
39. Montalvo-Jave EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, Piña E, Geller DA. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. J Surg Res. 2008; 147:153-9.
40. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg Clin North Am 1992; 72: 65-83.

41. Durmaz Çoşkun,Ö., 2015, Deneysel İnce Barsak İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Dexpantenol'un koruyucu etkisi, Uzmanlık Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahi Anabilim Dalı, 6-7s
42. Kisaoglu A, Borekci B, Yapca OE, Bilen H, Suleyman H. Tissue Damage and Oxidant/Antioxidant Balance. The Eurasian Journal of Medicine, 2013, 45: 47-49.
43. Kumbul K. Deneysel intestinal iskemi ve reperfüzyon modelinde caffeic acid phenethyl ester' in akciğer hasarını önlemedeki etkinliği. S.D.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D. Uzmanlık tezi 2007.
44. Şahin E.,Olguner Ç, Bodur H.A., Koca U. ve ark. Uzak ve Doğrudan İskemik Önkoşullamanın Karaciğerin Reperfüzyon Hasarı Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması. Turkiye Klinikleri J Med Sci 2009;29(2):381-7.
45. Durmaz Çoşkun, Ö.,2015, Deneysel İnce Barsak İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Dexpantenol'un Koruyucu Etkisi, Uzmanlık Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahi Anabilim Dalı
46. García-Villalón AL, Amezcua YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. Vascul Pharmacol. 2008;48:109-114
47. Schoenberg MH, Fredholm BB, Haglund U, Jung H ve ark. Studies on the oxygen radical mechanism involved in the small intestinal reperfusion damage. Acta Physiol Scand 1985; 124: 581-90.
48. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. Br J Surg 1994; 81: 637-47.
49. Kılınç K. Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. Biyokimya Dergisi 1985; 2: 60-89.
50. Günel E, Çağlayan F, Çağlayan O, Dilsiz A ve ark. Treatment of intestinalreperfusion injury using antioxidative agents. J Pediatr Surg 1998; 33: 1536-39
51. Oostenbrug GS, Mensink RP, Hardeman MR ve ark. Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation: effects of fish oil and vitamin E. J Appl Physiol 1997; 83: 746-52.
52. Kako KJ. Free Radical Effects on Membrane Protein in Myocardial İschemia/Reperfusion İnjury. Journal of Molecular And Cellular Cardiology 1987, 19: 209-211.
53. Farber JL. Mechanisms of Cell İnjury By Activated Oxygen Species. Environmental Health Perspectives, 1994, 102 Suppl 10: 17-24.
54. D. Tokaç, Bitkisel Kaynaklı Fenolik Bileşiklerin Oksidatif DNA Hasarına Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Ankara, 2007.)

55. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive Oxygen Metabolites, Neutrophils, and the Pathogenesis of Ischemic-Tissue/Reperfusion. *Clinical Cardiology*, 1993, 16: 119-126.
56. Udassin R, Vromen A, Haskel Y. The Time Sequence of Injury and Recovery Following Transient Reversible Intestinal Ischemia. *Journal of Surgical Research* 1994, 56: 221-225
57. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull* 2004; 70: 71-86
58. Cheeseman KH. Slater TF. An Introduction to radical biochemistry. *Br. Med. Bull* 1993; 49: 481-493.
59. Phillips L, Toledo AH, Lopez-Neblina F, Anaya-Prado R, Toledo- Pereyra LH. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *J Invest Surg* 2009; 22: 46-55.
60. Schrier RW, Arnold PE, Putten VJV, Burke TJ: Cellular calcium in ischemic acute renal failure: Role of calcium entry blockers. *Kidney Int* 32:313-321, 1987.
61. McMichael M, Moore MRM. Ischemia-reperfusion injury pathophysiology, part I. *J Vet Emerg Crit Care* 2004; 14: 231-41.
62. Best B. Ischemia and reperfusion injury in cryonics. www.benbest.com.
63. Süleyman, B., 2014, Etorikoksibin Sıçanlarda Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarına Etkisi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, 1s.
64. Horgan MJ, Ge M, Gu J et. al. Role of ICAM-1 in neutrophil mediated vascular injury after occlusion and reperfusion. *Am J Physiol*. 1991; 259: L315-L319.
65. Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 481-497.
66. Danış, S., 2015, Sıçanlarda Kısa Süreli Böbrek İskemi / Reperfüzyon Hasarına Karşı Geraniolün Koruyucu Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Bilim Dalı, 16-20.
67. Uysal M. "Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidan antioksidan dengelyi etkileyen koşullar". *Klinik Gelişim*. 1998; 11: 336-341.
68. Dönmez İ. 2012 Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda hematolojik bazı parametrelerin değerlendirilmesi Yüksek Lisans Tezi Dumlupınar Üniversitesi
69. Moore KL: The abdomen: Clinically Oriented Anatomy. Üçüncü baskı. Satterfield TS(ed) Williams&Wilkins Baltimore 1992, S.127-242

70. Tisher CC: Structure and Function of Kidneys: Cecil Textbook of Medicine. Yirmibirinci baskı. Goldman L, Bennet JC (ed). WB Saunders Company Philadelphia,Pennsylvania 2000, S. 532-539
71. Tisher, C. C., Madsen, K. M., Anatomy of the kidney, 1991, The kidney, 1 3-75 p.
72. Guyton, A. C., The kidneys and body fluids in:Textbook of Medical Physiology, 1991, WB Saunders Company, Philadelphia, 273-353 p.
- 73.<http://www.biyolojisesi.net/uniteler/bosaltim-sistemi/nefronun-yapisi.html>, 12 Şubat 2017’de erişildi.
74. Widmaier E, Raff H, Strang KT. Vander's Human Physiology (13th edition), McGraw Hill Higher Education, A.B.D, 2014, 492-493
75. Madox, D. A., Brenner, B. M., Glomeruler ultrafiltration. in: Brenner BM(eds). The Kidney, 1996, WB Saunders Company, Philadelphia, 286-334 p.
76. Bilge, M. 2010, Hemodiyaliz hastalarında serbest radikallerin organizmaya ve antioksidan savunma sistemleri üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi Dumlupınar Üniversitesi
77. Barrett K, Brooks H, Boitano S, Barman S. Ganong’s Rewiev of Medical Physiology (23rd edition) , Mcgraw Hill , A.B.D., 2010;639-686
78. Köylü H, Tıbbi Fizyoloji Klinik Anlatımlı, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2014; 283-331
79. Hassoun HT, Grigoryev DN, Lie ML, Liu M, Cheadle C, Tuder RM, Rabb H. Ischemic acute kidney injury induces a distant organ functional and genomic response distinguishable from bilateral nephrectomy. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 2007; 293(1):30– 40.
80. Linkermann A, Bräsen JH, Himmerkus N, Liu S, Huber TB, Kunzendorf U, Krautwald S. Kidney Int, 2012; 81(8):751-61.
81. Bonventre JV, Yang L J. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. Clin Invest, 2011; 121(11):4210-21.
82. Friedewald JJ, Rabb H: Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. TKidney Int 2004; 66: 486-91.
83. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. J Biochem 1984; 222 :1-1.
84. Karabulut R, Sönmez K, Sancak B, Türkyılmaz Z, Demiroğullari B, Ozen IO, Ekingen G, Candan S, Başaklar AC, Kale N. Effects of amrinone on bilateralrenal ischemia/reperfusion injury. Urol Res. 2002; 30(3):164-8.
85. Prabal K. Chatterjee: Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury:a comprehensive review. NaunynSchmiedeberg’s Arch Pharmacol, 376:1–43,2007)

86. Shi H, Patschan D, Epstein T, Goligorsky MS, Winaver J. Delayed recovery of renal regional blood flow in diabetic mice subjected to acute ischemic kidney injury. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 2007, 293: F1512–F1517
87. Dillon JJ, Grossman SH, Finn WF. Effect of oxypurinol on renal reperfusion injury in the rat. *Renal Failure*, 1993, 15: 37-45.
88. Noiri E, Gailit J, Sheth D. Cyclic RGD peptides ameliorate ischemic acute renal failure in rats. *Kidney Int* 1994; 46: 1050-58.
89. Devarajan P. Update on Mechanisms of Ischemic Acute Kidney Injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2006, 17: 1503–1520
90. Fouad AA, Al-Mulhim AS, Jresat I, Morsy MA. Protective effects of captopril in diabetic rats exposed to ischemia/reperfusion renal injury. *J Pharm Pharmacol*. 2013 Feb;65(2):243-52.
91. Bekerecioğlu M, Uğras S, Dilek ON, Tercan M, Ozyazgan I. Serbest Radikaller. Sendrom, 1998, 10:85-94.
92. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VM. *Harper's Biochemistry*, 26th ed. USA, McGraw-Hill Press, 2003: 88-622.
93. Aşıcıoğlu YT. Sıçanlardaki kronik alkolik karaciğer hasarına likopenin etkisi (tez). İstanbul: Şişli Eftal Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2005.
94. Odabaşı D. L-Karnitin'in Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Akciğer ve Endotel Hasarı Üzerine Etkisi (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2006.
95. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin. Interv. Aging* 2007;2(2)219-236.
96. Devasagayam TP, Tilak JC, Bloor KK, et al. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J. Assoc. Physicians India* 2004;52794-804.
97. Demirhan, İ., 2017, Deneysel Kalp İskemi-Reperfüzyon Modelinde B₁₇ Vitamininin Sfingozin-1 ve Oksidatif/Nitrozatif Stres Üzerine Etkisi , Doktora Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı
98. Taşdemir B. Streptozotocin ile diyabet oluşturulan ratlarda eksojen kaynaklı L-argininin; arginaz, paraoksonaz, nitrik oksit ve antioksidan enzim düzeylerine etkisi (tez). Elazığ: Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2005.
99. Çiçek E. Nükleer tıp uygulamalarının hastalardaki serbest radikaller üzerine etkileri (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2005.
100. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews* 2007, 87, 315-424

- 101.** Akpolat M. Alkolün oluşturduğu serbest radikaller üzerine ibuprofen ve erusik asidin etkileri (tez). Edirne: TÜ Sağlık Bilimleri Enst, 2000.
- 102.** Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Ed, Konya, 1995, Mimoza Basım Yayım ve Dağıtım
- 103.** Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2002, 33(2), 110-118.
- 104.** Diplock, A. Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe Concise Monograph Series* 1998, 59.
- 105.** Ertan T, Soran A, Kılıç M, Aşlar AK, Koç M, Cengiz Ö. Kan Malondialdehid ve total antioksidan seviyesinin(TAS) önemi. *Cerrahi Tıp Bülteni* 2001; 4:154-67.
- 106.** Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res.* 2000; 39: 1529-42
- 107.** Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 2000; 21: 361-70
- 108.** K. Chandan Sen, Ph.D. Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise, 9, 2000, 197.
- 109.** Elliot JG. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology* 1999, 53(2), 46-48.
- 110.** Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit CareMed* 1993; 21: 1376-1386.
- 111.** Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. Algal antioksidanlar. *EgeJFAS* 2006; 23(1/1): 85-9.
- 112.** Aydemir B, Karadağ Sarı E. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal.* 2009; 2(2): 56-60.
- 113.** Sen S, Chakraborty R. The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy. Chapter 1: 1-37. 2011.
- 114.** Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 2010; 3(1): 91-100.
- 115.** Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.* 2008; 4(2): 89-96.
- 116.** Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MTD, Mazura M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39: 44-84.
- 117.** Namık M. Antioxidants, antimutagens in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1990; 29: 273300.

- 118.**Kayser O, Kolodziej H, Kiderlen AF. Immunomodulatory principles of Pelargonium sidoides. *Phytother Res* 2001; 15(2): 122-6.
- 119.** Velioglu S. Doğal antioksidanların insan sağlığına etkisi. *Gıda* 2000; 25(3): 167-76.
- 120.**Lefer DJ, Scalia R,Campbell B et. al. Peroxynitrite İnhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against ischaemia-reperfusion injury in rats. *J ClinInvest.*1997; 4: 684-691.
- 121.**Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268:416-420.
- 122.**Buettner GR, Ng CF, Wang M, Rodgers VG, Schafer FQ. A new paradigm: manganese superoxide dismutase influences the production of H₂O₂ in cells and thereby their biological state. *Free Radical Biology&Medicine*, 2006, 41:1338-1350.)
- 123.**Gao F, Kinnula VL, Myllärniemi M, Oury TD. Extracellular Superoxide Dismutase in Pulmonary Fibrosis. *Antioxid Redox Signal.* 2008; 10(2): 343-354
- 124.**Avatgil, R., 1997, Deneysel rat iskemi - reperfüzyon böbrek hasarında nitrik oksid' in rolü, Uzmanlık tezi, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı
- 125.**Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109: 655-678.
- 126.**Özkan, A., Gündüz, G., Çıplak, B., Fıışkın, K. 2000. Kimyasal mücadele uygulanmış Dociostaurus Maroccanus epidemik populusyonundan alınan örneklerde antioksidan enzim aktiviteleri. *Turkish Journal of Biology*, 24: 141-149.
- 127.**Chaudiere, J., Ferrari-Iliou, R., 1999. Intracellular Antioxidants: From chemical to biochemical mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, 37: 949-962.
- 128.** Özkan A, Fıışkın K. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi.* 2004; 14: 52-60
- 129.** Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada gluatyonun rolü. *T Klin J Med Sci* 2002; 22: 442-8.
- 130.** Lagman M, Ly J, Saing T, Kaur Singh M, Vera Tudela E, Morris D, et al. Investigating the Causes for Decreased Levels of Glutathione in Individuals with Type II Diabetes. *PLoS ONE.* 2015; 10(3): e0118436. doi:10.1371/journal.pone.0118436
- 131.** Pei S, Minhajuddin M, Callahan KP, Balys M, Ashton JM, Neering SJ, Lagadinou ED, Corbett C, Ye H, Liesveld JL, O'Dwyer KM, Li Z, Shi L, Greninger P, Settleman J, Benes C, Hagen FK, Munger J, Crooks PA, Becker MW, Jordan CT. Targeting Aberrant Glutathione Metabolism to Eradicate Human Acute Myelogenous Leukemia Cells. *The J Biol Chem.* 2013; 288(47): 33542–33558

- 132.**Anderson ME. Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. *Chem Biol Interact.* 1998; 111(112): 1–14.
- 133.**Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fak Derg* 2005; 3: 30-9.
- 134.**Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang J, Ortiz GG, Acuña-Castroviejo D. A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *J Pineal Res*, 1995; 18:1-11.
- 135.**Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother.* 2003; 57(3-4): 145-155
- 136.**Hevia D, Mayo JC, Tan DX, Rodriguez-Garcia A, Sainz RM. Melatonin Enhances Photo-Oxidation of 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein by an Antioxidant Reaction That Renders N1Acetyl-N2-Formyl-5-Methoxykynuramine (AFMK). *PLoS ONE.* 2014; 9(10): e109257. doi:10.1371/journal.pone.0109257.
- 137.**Maxwell SRJ, Lip GYH. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol* 1997;58:95-117
- 138.**Kilic U, Yilmaz B, Ugur M, Yuksel A, Reiter RJ, Hermann DM, Kilic E. Evidence that membrane-bound G protein-coupled melatonin receptors MT1 and MT2 are not involved in the neuroprotective effects of melatonin in local cerebral ischemia. *J Pineal Res*, 2012; 52: 228– 35.
- 139.**Yildirim Z, Kotuk M, Erdogan H, Iraz M, Yagmurca M, Kuku I, Fadillioglu E. Preventive effect of melatonin on bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *J Pineal Res*, 2006; 40: 27-33.
- 140.**Kumar AN, Aruna P, Naidu JN, Kumar R, Srivastava AK. Review of Concepts and Controversies of Uric Acid as Antioxidant and Pro-Oxidant. *Archives Medical Review Journal.* 2015; 24(1): 19-40.
- 141.**Waring WS. Uric acid: an important antioxidant in acute ischaemic stroke. *QJM.* 2002; 95(10): 691-693.
- 142.**Iliesiu A, Campeanu A, Dusceac D. Serum uric acid and cardiovascular disease. *Maedica J Clin Med.* 2010; 5(3): 186-192
- 143.**Gutteridge JMC. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clin Chem.* 1995; 41(12): 1819-1828.
- 144.**Burtis CA, Ashwood ER. Vitaminler. Aslan D. Eds. *Klinik Kimyada Temel İlkeler.* Palme Yayınları, Ankara; 2005.

- 145.**Roche M, Rondeau P, Singh NR, Tarnus E, Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett.* 2008; 582(13): 1783-1787
- 146.** Gürkan AS, Bozdağ-Dündar O. Coenzyme Q10. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara.* 2005; 34(2): 129-154.
- 147.**Kim Y, Kim DC, Cho ES, Ko SO, Kwon WY, Suh GJ, Shin HK. Antioxidant and antiinflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Inflamm.* 2014; 11(36) doi:10.1186/s12950-014-0036-1.
- 148.**Packer L, Kraemer K, Rimbach G. Molecular Aspects of Lipoic Acid in the Prevention of Diabetes Complications. *Nutrition.* 2001; 17: 888-895.
- 149.**Chauhan A, Chauhan V, Brown WT, Cohen I. Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin - the antioxidant proteins. *Life Sci.* 2004; 75: 2539–2549.
- 150.**Derviş, E., Oral antioksidanlar, 2011, *Dermatoz*, 2 263-267 p.
- 151.**Dündar Y, Aslan R. Oksidan-Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü. *Hayvancılık Araştırma Dergisi.* 1999; 9(12): 32-39.
- 152.**Agarwal M, Parameswari RP, Vasanthi HR, Das DK. Dynamic action of carotenoids in cardioprotection and maintenance of cardiac health. *Molecules* 2012, 17, 4755-4769.
- 153.**Yavaşer, R.,2011, Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi,Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı
- 154.**Li Y, Schellhorn HE. New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *J Nutr.* 2007; 137(10): 2171-2184.
- 155.**Carr AC, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69(6): 1086-1107.
- 156.**Padayatty, S.J., Daruwala, R., Wang, Y., Eck, P.K., Song, J., Koh, W.S., Levine, M. 2001. Vitamin C: From molecular actions to optimum intake. *Handbook of Antioxidants*, pp. 117-145, New York.
- 157.**Title LM,Cummings PM, Giddens K, Genest JJ, Nassar BA. Effect of Folic Acid and Antioxidant Vitamins on Endothelial Dysfunction in Patients With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2000; 36(3): 758-765.
- 158.**Ebaid H, Bashandy SAE, Alhazza IM, Rady A, El-Shehry S. Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. *Nutr Metab.* 2013; 10(20) doi:10.1186/1743-7075-10-20.

- 159.** Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Rep* 2004; 9(3): 145-52.
- 160.** Chauhan SS, Ojha S, Mahmood A. Modulation of lipid peroxidation and antioxidation defense systems in rat intestine by subchronic fluotide and ethanol administration. *Alcohol* 2011; 45: 663-72.
- 161.** Kara, S., 2017, *Ratlarda Kırık İyileşmesinde Silimarin'in Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
- 162.** Polat , Ö., 2015, *Ortodontik Ağrının 8-isoprostan ve Prostaglandin f2α Üzerine Olan Etkisinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Ortodonti Anabilim Dalı
- 163.** Karaoğlan H, 2009. *Tip II diyabette oksidatif stresin 8-isoprostan ve koenzim Q düzeyleri ile değerlendirilmesi*. Doktora Tezi. Konya, sf:26)
- 164.** Roberts LJ II, Morrow JD. F2-İzoprostanların Oksidatif Stres İndeksi Olarak İn Vitro Olarak Ölçülmesi *Radic Biol Med* 2000; 28: 505-513.
- 165.** Zhang L., Looney C.G., Qi W.N., Chen L.E., Seaber A.V., Stamler J.S., Urbaniak J.R. Reperfusion injury is reduced in skeletal muscle by inhibition of inducible nitric oxide synthase. *J Appl Physiol.* 94: 1473-1478, 2003.
- 166.** Mehmet N, Refik M, Kafkaslı A. Postmenopozal dönemdeki kadınlarda serum nitrik oksit, malondialdehit ve süperoksit dismutaz düzeylerinin araştırılması. *T Klin Jinekolo Obst* 2001; 11: 274-277.
- 167.** Demiryürek Ş, Turan NN, Demiryürek AT. Peroksinitritin akciğerlerdeki etkileri ve akciğer hastalıklarındaki rolü. *Genel Tıp Derg* 2004; 14(4): 163-169.
- 168.** Kuyumcu A, Polat Düzgün A, Özmen MM, Besler HT. Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus Travma Dergisi* 2004; 10(3): 149-159.
- 169.** Kılınç A, Kılınç K. Nitrik oksit biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. *Palme Yayıncılık*, Ankara, s. 1-120, 2003
- 170.** Bircan FS. Endotoksemi Oluşturulan Kobayların Dalak Dokusunda 3-Nitrotirozin oluşumu ve Taurinin Antioksidan Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2007.
- 171.** Yaman H, Ünlü A, Karabıçak U ve ark. Measurement of 3-nitrotyrosine by high performance liquid chromatography. *T Klin J Med Res* 2000; 18: 26-30.
- 172.** Gunaydin H, Houk KN. Mechanisms of peroxy-nitrite-mediated nitration of tyrosine. *Chem. Res. Toxicol* 2009; 22: 894-98

- 173.** Al-Rubiay KK et al. Antimicrobial Efficacy of Henna Extracts. *Oman Med J* 2008; 23(4):253-256.
- 174.** Baytop T. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün. 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 1999: 263-264.
- 175.** Lavhate M.S. and Mishra S.H., 2007, A review: nutritional and therapeutic potential of *Ailanthus excelsa*, *Pharmacog Rev.*1(1):105-113.
- 176.** Tanker M, Tanker N. *Farmakognozi Cilt 2 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, Ankara 1990: 268.
- 177.** Chauhan M.G. and Pillai A.P.G., 2007, Microscopic profile of powdered drug used in Indian system of medicine, Edn 1, Vol. 2, Gujarat Ayurved University, Jamnagar, Gujarat, pp. 84-85.
- 178.** Makhija IK et al. *Lawsonia inermis* From Traditional Use To Scientific Assessment. *African Journal of Pharmaceutical Sciences and Pharmacy* 2011; 2(1):145-165.
- 179.** Gupta S, Ali M, Alam MS. A naphthaquinone from *lawsoniainermis* stem bark. *Phytochemistry*: 33(3):723-724, 1993.)
- 180.** Bechtold T. and Mussak R., 2009, *Handbook of Natural Colorants*, John Wiley & Sons, p. 155.
- 181.** Zavada MS. The Historical Use of Henna (*Lawsonia inermis* L) In the Balkans. *Thaiszia Journal of Botany* 1993; 3:97-100.
- 182.** Semwal RB, Semwal DK, Combrinck S, Cartwright-Jones C, Viljoen A. *Lawsonia inermis* L. (henna): Ethnobotanical, Phytochemical and Pharmacological Aspects. *Journal of Ethnopharmacology* 2014; 155:80-103.
- 183.** Karaca EG, Şar Sevgi, Geçmişten Günümüze Kına, *Lokman Hekim Tıp Dergisi* 2016; 6(2):30-37
- 184.** Chaudhary G, Goyal S, Poonia P. *Lawsonia inermis* Linnaeus: A Phytopharmacological Review. *IJPSDR* 2010; 2(2):91-98
- 185.** Duke JA, du Cellier JL. *CRC Handbook of Alternative Cash Crops*. United States of America, 1993: 291.
- 186.** Tekin, V., 2013, Kına Yaprağından Ekstrakte Edilen Lawsone Bileşiğinin Radyo İşaretlenerek, İn Vivo ve İn Vitro Yöntemlerle Biyoetkinliğinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nükleer Bilimler Anabilim Dalı
- 187.** Dursunoğlu H. Türkiye Türkçesindeki Arapça Sözcükler ve Bu Sözcüklerdeki Ses Olayları. *Turkish Studies International Periodical for the Languages, Literature and History of Turkish or Turkic* 2014; 9(9):145-155.

- 188.**Kalafat Y. Doğu Anadolu'da Eski Türk İnançlarının İzleri. Ankara 1990: 307, 310
- 189.**Çeltikçi O. Türk Kültüründe “Kına” ve Akdeniz Bölgesi Uygulamaları. Türkbilim Sonbahar 2009; 1:27-36.
- 190.** Muhammad H.S. and Muhammad S., 2005, The use of Lawsonia inermisLinn. (henna) in the management of burn wound infections, African Journal of Biotechnology.; 4:934-93
- 191.**Gagandeep C., Sandeep G. and Priyanka P., 2010, Lawsonia inermis Linnaeus: A Phytopharmacological Review, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research 2(2): 91-98
- 192.** Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265-75.
- 193.**Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979;95: 351–358.
- 194.**Fridovich I. Superoxide dismutase. Adv Enzymol 1974;41:35–97.
- 195.** Beutler E. Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods. 2nd ed. New York: Grune and Stratton Inc; 1984: 68 – 70.
- 196.**Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. Clin Chem 1990; 36: 1440 – 3
- 197.** McCord, J. M., Oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury, 1985, The New England Journal of Medicine, 312 (3) 159-163 p.
- 198.**Yellon DM, Baxter GF. Reperfusion injury revisited: is there a role for growth factors signalling in limiting lethal reperfusion injury. Trends Cardiovasc Med. 1999;9:245–249
- 199.** Aydoğdu N, Kaymak K, Yalçın Ö. Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında N-Asetilsisteinin Etkileri Fırat Tıp Dergisi 2005; 10(4): 151-155
- 200.**Tapuria N, Kumar Y, Habib MM. Remote ischemic preconditioning: a novel protective method from ischemia reperfusion injury-a review. JSR, 2008; 150:304.
- 201.**Ward R Mclish K Polymorphonuclear leukocyte oxidative burst is enhanced in patients with chronic renal insufficiency, J Am Soc Nephrol 1994;5:1967-1702
- 202.**Geldi M. Hepatit B ve C Tanısı Almış Kronik Böbrek Yetmezliği Nedeniyle Hemodiyaliz Tedavisi Uygulanan Hastalarda 3- Nitrotrozın, Tweak ve HSP70 Seviyelerinin Değerlendirilmesi. Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Mart 2016
- 203.**Kaneko T, Shimizu A, Mii A, Fujita E, Fujino T, Kunugi S, Du X, Akimoto T, Tsuruoka S, Ohashi R, Masuda Y, Iino Y, Katayama Y, Fukuda Y. Role of matrix

- metalloproteinase-2 in recovery after tubular damage in acute kidney injury in mice. *Nephron Exp Nephrol*, 2012; 122 (1-2):23-35.
- 204.** Koga H, Hagiwara S, Kusaka J, Goto K, Uchino T, Shingu C, Kai S, Noguchi T. New α -lipoic acid derivative, DHL-HisZn, ameliorates renal ischemia-reperfusion injury in rats. *J Surg Res*, 2012; 174 (2):352-8.
- 205.** Kaushal GP1, Haun RS, Herzog C, Shah SV. Meprin A metalloproteinase and its role in acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013; 304 (9):150-8.
- 206.** Oksuz H, Bulbuloglu E, Senoglu N, Ciralik H, Yuzbasioglu MF, Kilinc M, Dogan Z, Goksu M, Yildiz H, Ozkan OV, Atli Y. Re-protective effects of pre- and post-laparoscopy conditioning, zinc, pentoxifylline, and N-acetylcysteine in an animal model of laparoscopy-induced ischemia/reperfusion injury of the kidney. *Ren Fail*, 2009; 31(4):297-302.
- 207.** Yu QJ, Wang YL, Zhou QS, Huang HB, Tian SF, Duan DM. Effect of repetitive ischemic preconditioning on spinal cord ischemia in a rabbit model. *Life Sci*, 2006; 79(15): 1479- 83.
- 208.** Li Z, Nickkholgh A, Yi X, Bruns H, Gross ML, Hoffmann K, Mohr E, Zorn M, Büchler MW, Schemmer P. Melatonin protects kidney grafts from ischemia/reperfusion injury through inhibition of NF- κ B and apoptosis after experimental kidney transplantation. *J Pineal Res*, 2009; 46 (4):365-72.
- 209.** Tuzcu M, Sahin N, Dogukan A, Aslan A, Gencoglu H, Ilhan N, Kucuk O, Sahin K. Protective role of zinc picolinate on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Ren Nutr*, 2010; 20 (6):398-407.

8.ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

ŞEKİLLER

Şekil 1: Ksantinoksidaz sisteminin radikal oluşturma mekanizması	4
Şekil 2:İskemide membran hasarı	5
Şekil 3: İskemi-Reperfüzyon sonrası Uzak Organ Hasarı Oluşumu	8
Şekil 4:İskemi/Reperfüzyonda Doku Harabiyet Mekanizması	9
Şekil 5:Hücrede Radikal Aracılı Hasar	11
Şekil 6:İskemi Reperfüzyon Hasarında Görülen Olaylar Dizisi	14
Şekil 7:İskemi/reperfüzyon hasarının mekanizması.....	15
Şekil 8:Böbreğin anatomik yapısı	16
Şekil 9: Nefron Yapısı	17
Şekil 10:Renal iskemi-reperfüzyon hasarı mekanizması	21
Şekil 11: Haber-Weiss tepkimesi ve fenton tepkimesi.....	21
Şekil 12:Serbest Radikallerin DNA Üzerindeki Etkileri	27
Şekil 13:İntrasellüler antioksidan olarak glutatyouun aktiviteleri	34
Şekil 14:Reaktif Oksijen Türleri Oluşumu ve Antioksidan Savunma Sistemi	40
Şekil:15: İsoprostanların çoğunlukla COX aktivitesine bağımlı ve serbest radikallerin katalize ettiği sentezi)	41
Şekil 16:ONOO ⁻ Aracılı Protein Tirozin Nitrasyon Yolu.....	44
Şekil 17:Kına (<i>Lawsania inermis L.</i>) Bitkisinde Bulunan Kimyasal Bileşenler	47
Şekil 18: Protein standart eğrisi	55
Şekil 19 : MDA standart eğrisi grafiği	58
Şekil 20 : SOD standart eğrisi	63
Şekil 21: Gruplar arası MDA düzeyleri	68
Şekil 22: Gruplar arası SOD düzeyleri.....	69
Şekil 23:Gruplar arası CAT düzeyleri.....	70
Şekil 24:Gruplar arası 3-NT düzeyleri	71
Şekil 25:Gruplar arası NO düzeyleri	72

RESİMLER

Resim 1: <i>Lawsonia Inermis L.</i>	45
Resim 2:Kına (<i>Lawsania inermis L.</i>) Bitkisinin Yapraklarından Elde Edilen Toz ve Macun. 46	
Resim3:Kına (<i>Lawsonia Inermis L.</i>)' nin Geleneksel Kullanımda Kullanılan Kısımları(a):Yaprak, (b):Tohum, (c):Meyve, (d):Çiçek, (e):Dal, (f):Kök (1).....	48
Resim 4: Rastların beslenmesi	51
Resim 5:Sol Böbrek Renal İskemi ve Reperfüzyon.....	51
(a)Sol Böbrek Renal İskemi, (b)Sol Böbrek Renal Reperfüzyon	51
Resim 6:Homojenat Hazırlama	54
Resim 7: Spektrofotometrede Ölçüm	61
Resim 8: Spektrofotometreye numune yerleştirme	64
Resim 9: Elisa ile Ölçüm.....	66
Resim 10: İskemi Reperfüzyon Grubuna Ait Böbrek Korteksinde;	73
Resim 11: İskemi Reperfüzyon Grubuna Ait Böbrek Korteksinde;	74
(C), (D)tübülepitelinde incelme, nekroz ve fırçamsı kenar kaybı	74
Resim 12: İskemi Reperfüzyon Grubuna Ait Böbrek Korteksinde;	74
(E), (F) triodizasyon görüntüleri.....	74
Resim 13:Sham grubuna ait böbreğin korteksinde tübüler epitelde düzleşme	75
Resim 14: Tedavi grubuna ait böbreğin korteksinde normal yapıda bir görünüm.....	75
(A), (B) konjesyon ve tübül epitelinde vakuolizasyon görüntüleri	73

9.TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1:Başlıca Serbest Radikaller ve Yarılanma Ömürleri	24
Tablo 2: Antioksidanların sınıflandırılması.	30
Tablo 3: Kına (<i>Lawsonia Inermis L</i>) 'nın Geleneksel Kullanımda Kullanılan Kısımları	49
Tablo 4. Protein standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı	55
Tablo 5: Doku örneğinde protein tayini için tüplerin hazırlanışı	56
Tablo 6: MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı	57
Tablo 7: Dokuda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı	58
Tablo 8: SOD standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı	60
Tablo 9: SOD standart eğri çizimi için kuvars küvetlerin hazırlanışı	60
Tablo 10: Dokuda SOD aktivite tayini için kuvars tüplerin hazırlanışı	62
Tablo 11: Dokuda CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı	64
Tablo 12: Gruplar arası MDA bulguları.....	68
Tablo 13: Gruplar arası SOD bulguları	69
Tablo 14: Gruplar arası CAT bulguları	70
Tablo 15: Gruplar arası 3-NT bulguları	71
Tablo 16: Gruplar arası NO bulguları	72

10.EKLER










Sayfa No

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Karar Formu.....100

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

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı	Ratlarda Renal İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Kına Ekstresinin (Lawsonia İnermis l. (Henna)) Koruyucu Etkilerinin Araştırılması	
	Başvuru Tarihi	29.09.2016	
	Protokol No	30	
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Dili	
	Başvuru Formu	Türkçe	
KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2016/09	Karar No: 01	Tarih: 04.10.2016
	Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleşmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.		

K.S.Ü. TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU	
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI	Yrd.Doç.Dr.Akif Hakan KURT

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Araştırma ile ilişki (*)		Katılım (**)		İmza
			E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Akif Hakan KURT Başkan	Tıbbi Farmakoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ali ÇETİNKAYA Üye	İç Hastalıkları	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	KATILMADI
Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN Üye	Tıbbi Biyokimya	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mehmet BOŞNAK Üye	Fizyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	KATILMADI
Doç. Dr. Mehmet ŞAHİN Üye	Tıbbi Biyokimya	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. İsmail ORHAN Üye	KBB	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mehmet ACIPAYAM Üye	Kalp Damar Cerrahi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Bülent ALTUNOLUK Üye	Üroloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	KATILMADI
Doç. Dr. Atilla YOLDAŞ Üye	Anatomi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. İdris ALTUN Üye	Beyin ve Sinir Cerrahisi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Mehmet DEMİR Üye	Anatomi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	KATILMADI
Yrd. Doç. Dr. Adem DOĞANER Üye	Biyostatistik	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Mehmet Emin DARENDELİ Üye	Avukat	Serbest	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Mustafa ÇANSARAN 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

12.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Şeyma NERGİZ
Uyruğu :T.C
Doğum tarihi ve yeri :13.06.1989 /K.MARAŞ
Medeni hali :Bekar
Telefon :05465461305
Faks :
e-posta :ecz.seyma.nergiz@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	KSÜ/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/ Tıbbi Biyokimya AD	-
Lisans	Gazi Üniversitesi/Eczacılık Fakültesi-Eczacılık Bölümü	2013
Lise	Ali Kenger Lisesi	2006

İş Denevimi

Yıl	Yer	Görev
2014-	Kahramanmaraş İl Sağlık Müdürlüğü	Eczacı

Yabancı Diller

İngilizce

Hobiler

Seyahat etmek, kitap okuma, yüzme, yürüyüş yapmak, araba sürmek.

Sözlü Bildiri

Öztürk Ü, Nergiz Ş, Kurutaş Belge E, The Levels of Tau Protein and 8-Isoprostaglandin Patients with Coronary Artery Disease, Uluslararası Biyokimya Kongresi-2017 28.Ulusal Biyokimya Kongresi, Erzurum, 19-23Eylül 2017. (Turk J Biochem, 2017; 42 (S1)).