



**T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA RENAL İSKEMİYE KARŞI  
SİLYMARİN'İN RENOPROTEKTİF ETKİ SÜRESİ**

**Dr. Nâzım Abdülkadir KANKILIÇ**

**UZMANLIK TEZİ**

**KAHRAMANMARAŞ 2014**



**T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA RENAL İSKEMİYE KARŞI  
SİLYMARİN'İN RENOPROTEKTİF ETKİ SÜRESİ**

**Dr. Nâzım Abdülkadir KANKILIÇ**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Tayfun ŞAHİNKANAT**

**KAHRAMANMARAŞ 2014**

**T.C.**  
**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÜROLOJİ ANABİLİMDALI**

**RATLARDA RENAL İSKEMİYE KARŞI**  
**SİLYMARİN'İN RENOPROTEKTİF ETKİ SÜRESİ**

**Dr. Nâzım Abdülkadir KANKILIÇ**  
**UZMANLIK TEZİ**  
**ÜROLOJİ**

Bu tez ...../...../2014 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oy Birliği / Oy Çokluğu ile Kabul Edilmiştir.

**Danışman: Doç. Dr. Tayfun ŞAHİNKANAT** .....

**Üye: Prof. Dr. Sefa RESİM** .....

**Üye: Doç. Dr. Bülent ALTUNOLUK** .....

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Tarih:...../...../ 2014

**DEKAN**

Bu tez, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi tez yazım ve basım yönergesine uygundur.

## TEŞEKKÜR

*Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve tez çalışmam sırasında da desteklerini eksik etmeyen değerli hocalarım; Anabilim Dalı Başkanı; Prof. Dr.Sefa RESİM'e, Doç. Dr.Bülent ALTUNOLUK'a teşekkür ederim.*

*Tez çalışmamın her aşamasında sabırla destek olan ve yol gösteren değerli hocam ve tez danışmanım; Doç. Dr. Tayfun ŞAHİNKANAT'a teşekkür ederim.*

*Yine bu tez çalışmam sırasında emeklerini ve yardımlarını esirgemeyen; Patoloji A.D.dan Doç. Dr. Harun ÇIRALIK'a ve Arş.Gör.Dr. Yaser BAHAR'a; Biyokimya A.D.dan Yrd. Doç.Dr. Ahmet ÇELİK'e; Genel Cerrahi A.D.dan Prof. Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU'na ve Doç. Dr. M. Fatih YÜZBAŞIOĞLU'na; Farmakoloji A.D.dan Doç. Dr. Yusuf ERGÜN'e; Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma laboratuvarı personeli Abdullah YILMAZ'a; teşekkür ederim.*

*Ayrıca uzmanlık eğitimi süresi boyunca beraber çalışma imkanı bulduğumuz; Op. Dr. A. Bora GÜL, Op. Dr. A.Osman KILIÇ, Op. Dr. Önder MALKOÇ, Op. Dr. Mustafa EREN, Yrd. Doç. Dr. Erkan EFE, Arş. Gör. Dr. M. Remzi BAHAR, Arş. Gör. Dr. Burak B. BULUT ve Arş. Gör. Dr. Eyüp KOLUŞ'a teşekkür ederim.*

*Uzmanlık eğitimi süresi boyunca beraber çalıştığımız; iyi ve kötü günlerimizi paylaştığımız; bir aile olduğumuz servis ve ameliyathane hemşireleri ve personellerine teşekkürlerimi sunarım.*

*Uzmanlık eğitimi süresinin sonlarında ve tez yazım aşamasında yaptığı yardım ve verdiği destek için dostum Yusuf YILDIRIM'a;*

*Tüm hayatım ve uzmanlık eğitimi sürecinde verdikleri sonsuz maddi-manevi destek için kardeşlerim Makbule Nur YILDIRIM ve Ekrem Said KANKILIÇ'a;*

*Bu günlere gelmemde büyük emekleri olan, her daim desteklerini esirgemeyen, zaman zaman üzdüğüm, her düştüğümde elimden tutan, zorlu ve karanlık hayat yolumu aydınlatan fenerlerim; babam Kâmil Nâzım KANKILIÇ'a ve annem Hatice KANKILIÇ'a;*

*Ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca bana her türlü sıkıntıda destek olup, zor günlerimde yardımcı olan, bu süreçte çoğu zaman yalnız bırakmama rağmen beraber üzümlüp, sevindiğimiz hayat yoldaşım sevgili eşim Tülay KANKILIÇ'a;*

*Ve...2010 tarihinde ailemize katılan, hayatımıza neşe ve anlam katan, uzmanlık eğitimim sürecindeki zor zamanlarımda hayata tutunma sebebim; oğlum Kamil Agâh KANKILIÇ'a;*

*Sonsuz Teşekkürlerimle...*

*Dr. Nâzım Abdülkadir KANKILIÇ*

# RATLARDA RENAL İSKEMİYE KARŞI SİLYMARİN'İN RENOPROTEKTİF ETKİ SÜRESİ

Tıpta Uzmanlık Tezi

Dr. Nâzım Abdulkadir KANKILIÇ

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

Kasım - 2014

## ÖZET

Parsiyel nefrektomi, böbrek transplantasyonu, şok, çeşitli ürolojik girişimler, hidronefrozis, sepsis ve kardiyopulmoner by-pass gibi çeşitli klinik durumlarda böbrek iskemisi görülebilir. Özellikle parsiyel nefrektomide tümörün çıkarılmasından önce böbrek damarlarının klemplenmesi hem kan kaybını önlemekte, hem de cerrahi işlemi kolaylaştırmaktadır. Ancak damarların klemplenme süresinin uzun olması, böbrek dokusunda geri dönüşümsüz hasara yol açmaktadır. Bu bilgiler ışığında böbreklere yapılacak herhangi bir girişim öncesi, çeşitli madde veya ilaçların kullanımıyla iskemi / reperfüzyon hasarının önleneceği düşünülmüştür.

*Silybum marianum* L. Gaertn (deve dikenini) veya *Carduus marianus* L. (Meryem ana dikenini) bitkisinin yaprak ve tohumlarından elde edilen silymarinin; renoprotektif, hepatoprotektif, antioksidan, antikarsinojenik, antiapoptotik, antidepresan ve daha birçok yararlı etkileri mevcuttur. Bu çalışmanın amacı; ratlarda oluşturulan tek taraflı böbrek iskemisi modelinde, silymarinin farklı böbrek iskemi süreleri üzerine olan koruyucu etkisini incelemektir.

Çalışmamızda 48 adet Wistar ırkı, erişkin erkek sıçan 8 farklı gruba ayrılmıştır. Sham grubuna sadece laparotomi uygulandı ve hiçbir işlem yapılmadan 180 dk. beklendi. 2. gruba ise; 1 hafta boyunca, yalnızca 2 cc/gün serum fizyolojik verildikten sonra 45 dk. iskemiye takiben, 180 dk. reperfüzyon uygulandı. Grup 3, grup 5 ve grup 7; sırasıyla 45-60-90 dk. iskemiye takiben, 180 dk. reperfüzyon uygulandı. Grup 4, grup 6 ve grup 8 ise; silymarin verilen gruplardı. Bu gruplara; 1 hafta boyunca, serum fizyolojik ile çözünen 100 mg/kg/gün silymarin verildi. Gruplara sırasıyla; 45-60-90 dk. iskemi uygulandı. İskemiye takiben, 180 dk. reperfüzyon uygulandı.

Reperfüzyon döneminin sonunda böbrek dokusu ve kan örnekleri alındı. Bu örneklerden Total Antioksidan Kapasite (TAS), Total Oksidan Status (TOS), Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Malondialdehit (MDA) değerleri ve histopatolojik analizler çalışıldı. Sonuçlar birbirleriyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

SIL 45 grubunda en yüksek serum TAS değeri görüldü. Silymarinin koruyucu etkisi zamanla azalmıştır. SIL 45 grubuyla, SIL 60 ve SIL 90 grupları karşılaştırıldığında serum TAS değerlerindeki azalma görüldü ( $p=0,08$  vs  $p=0,4$  sırasıyla). En yüksek doku TAS değeri ise; SIL 45 grubunda ( $1,49317 \pm 0,34566$  nmol/mg protein) olduğu görüldü. Serum SOD değerleri göz önüne alındığında; en yüksek serum SOD değeri SIL 45 grubunda ( $2,31$  U/ml) görüldü. Grupların ortalama serum SOD değerleri incelendiğinde; en yüksek ortalama SIL 45 grubunda ( $1,5950 \pm 0,44921$  U/ml) görüldü. Ortalama doku SOD değerleri hesaplandığında; en yüksek ortalama doku SOD değeri ise; SIL 90 grubunda ( $26,9196 \pm 42,9132$  nmol/mg protein) görüldü. En yüksek ortalama serum TOS değerinin ise 90 IR grubunda ( $9,50933 \pm 5,88859$   $\mu$ mol/L) olduğu saptandı. Tüm iskemi sürelerinde, silymarin verilen gruplarda serum MDA değeri eş zamanlı iskemi- reperfüzyon gruplarına göre düşük saptanmıştır.

Silymarinin renoprotektif etkisi patolojik sonuçlarda daha belirgin ve diğer gruplardan ayrılmaktadır. Dokuların biyokimyasal incelemesinde ise; silymarin verilen gruplarda oksidatif belirteçler azalırken; anti oksidatif belirteçler de artış izlenmiştir.

Sonuç olarak; silymarinin böbrek I/R hasarının histopatolojik ve biyokimyasal olumsuz etkilerini azalttığı görülmüştür. İskemi süresi uzadığında ise; etkilerin azaldığı gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Silymarin, İskemi reperfüzyon hasarı, Farklı renal iskemi süreleri, Total anti oksidan kapasite, Total oksidan status, Süperoksit dismutaz, Malondialdehit

# RENOPROTECTIVE EFFECT OF SILYMARIN ON VARIOUS RENAL ISCHEMIA TIME IN RATS

## Specialization Thesis

Dr. Nâzım Abdulkadir KANKILIÇ

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM UNIVERSITY

FACULTY OF MEDICINE

November - 2014

### ABSTRACT

Renal ischemia is associated with different clinical situations; like partial nephrectomy, renal transplantation, shock, various urological surgery, hydronephrosis, sepsis, cardio-pulmonary bypass. Especially; before removing the part of kidney where tumor is located, clamping renal vessels prevents loss of blood and simplify surgical steps in partial nephrectomy. If duration of clamping renal vessels is extended, irreversibl damage may occur in renal tissue. Ischemia reperfusion injury can be prevented with using different matters or drugs at various renal surgeries.

Silymarin; is extracted from *Silybum marianum (L.) Gaertn. and Carduus marianus L.* seeds and fruits. Silymarin has reno protective, hepato protective, anti oxidant, anti apoptotic, anti neoplastic and many beneficial effects. In this study, we investigated protective effects of silymarin at various ischemia times, left side-renal ischemia model.

Fourty-eight Wistar male rats were divided into eight groups in our study. Rats in the *sham group* were gone laparotomy and wait for 180 minutes without ischemia. Rats in *group 2* were given 2 cc/day SF for a week; ischemia was produced by clamping left renal pedicle for 45 min and than followed by 180 min reperfusion period. *Group 3-5-7* were given nothing with I/R. In order of *group 3, group 5, group 7*; 45-60-90 min ischemia period was applied, and then 180 min reperfusion period was applied. 100 mg/kg/day *silymarin* was given in *group 4-6-8* for a week. And in order of 45-60-90 min ischemia period was applied, and then 180 min reperfusion period was applied. Blood samples, kidney tissues were taken at the end of the reperfusion period.

Biochemical (Total oxidant and antioxidant status, Malondialdehyde, Superoxide dismutase), histopathological analysis are performed with these samples. Results were compared statistically.

In SIL45 group; serum TAS levels were highest. Protective effects of silymarin were decreased by time. SIL45 was compared SIL60,SIL90. When ischemia period was longer, effect of silymarin was decreased ( $p=0,08$  vs  $p=0,4$ ). The highest tissue TAS level was shown in SIL45 group ( $1,49317 \pm 0,34566$  nmol/mg protein). The highest serum SOD level was shown in SIL45 group (2,31 U/ml). The highest tissue SOD level was shown in SIL90 group ( $26,9196 \pm 42,9132$  nmol/mg protein). The highest average serum TOS level was shown in 90 IR ( $9,50933 \pm 5,88859$   $\mu$ mol/L).

Effects of silymarin at histopathological scores were more evident. Results of biochemical analysis at tissues; oxidative indicators were decreased, anti oxidative indicators were increased. These results indicated that silymarin protects against functional, biochemical, and morphological damage better than control in renal I/R injury. The prolongation of ischemia period, effects of silymarin were decreased.

**Keywords:** Silymarin, Ischemia reperfusion injury, Various renal ischemia time, Total antioxidant status, Total oxidant status, superoxide dismutase, malondialdehyde



# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	x
ŞEKİLLER.....	xii
GRAFİKLER.....	xiii
TABLolar .....	xiv
1. GİRİŞ AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Böbrek.....	2
2.1.1. Böbrek Anatomisi.....	2
2.1.2. Böbreğin Komşulukları .....	4
2.1.3. Böbrek Kan Akımı.....	5
2.1.4. Böbrek Fizyolojisi .....	8
2.1.4.1. Pelvis renalis ve üreter fizyolojisi .....	12
2.1.5. Böbreğin Sinirsel Uyarımı.....	12
2.1.6. Böbrek Histolojisi.....	13
2.1.7. Böbreğin Fonksiyonları .....	14
2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı .....	18
2.2.1. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Patofizyolojisi .....	19
2.2.2. Geri Dönüşümlü Zedelenme.....	22
2.2.3. Geri Dönüşümsüz Zedelenme .....	23
2.2.4. Hücre İçi Kalsiyum Artışı.....	25
2.2.5. Serbest Oksijen Radikalleri .....	26
2.2.5.1. Karbonhidratlar .....	26
2.2.5.2. Nükleik asitler .....	26
2.2.5.3. Proteinler.....	26
2.2.5.4. Lipidler.....	27

2.2.5.5. Nitrik oksit .....	27
2.2.6. İskemik Ön Koşullanma .....	28
2.2.7. İ/R Hasarına Karşı Oluşan Savunma Mekanizmaları.....	29
2.2.8. İ/R Hasarına Karşı Başlıca Korunma Mekanizmaları .....	29
2.2.9. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Önlenmesi ve Tedavisi.....	29
2.3. Silymarin.....	30
2.3.1. Silymarinin Genel Bilgileri .....	30
2.3.2. Silymarinin Farmakokinetiği.....	32
2.3.3. Silymarinin Dozajı / Toksisitesi .....	33
2.3.4. Silymarinin Etki Mekanizmaları .....	35
2.3.5. Silymarinin Klinik Kullanım Alanları .....	37
2.3.5.1. Karaciğer hastalıkları .....	37
2.3.5.2. Amanita Phalloides zehirlenmesi.....	38
2.3.5.3. Onkolojik hastalıklar.....	39
2.3.5.4. Nörolojik hastalıklar .....	39
2.3.5.5. Diğer kullanım alanları .....	40
3. MATERYAL METOT .....	43
3.1. Araştırma Tipi.....	43
3.2. Araştırma Yeri ve Ortamı .....	43
3.3. Araştırma Grupları.....	44
3.4. Anestezi .....	45
3.5. Deney Tasarımı – Cerrahi Teknik .....	45
3.6. Araştırma Parametreleri.....	46
3.7. Biyokimyasal Parametreler.....	46
3.8. Doku Analizleri .....	46
3.8.1. Doku Malondialdehit (MDA) Analizleri .....	47
3.8.2. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Analizleri .....	47
3.8.3. Doku Total Antioksidan Kapasite (TAS) Analizleri .....	47
3.8.4. Doku Total Oksidan Status (TOS) Analizleri.....	48
3.8.5. Diğer Biyokimyasal Analizler .....	48
3.9. Histopatolojik Değerlendirme .....	49
3.10. İstatiksel Analizler .....	49
4. BULGULAR .....	50
4.1. Biyokimyasal Serum Analizleri.....	50

4.1.1. Serum Total Antioksidan Kapasite (TAS) Değerlerinin Analizleri .....	50
4.1.2. Serum Süperoksit Dismutaz (SOD) Değerlerinin Analizleri .....	51
4.1.3. Serum Total Oksidan Status (TOS) Değerlerinin Analizleri.....	53
4.1.4. Serum Malondialdehit (MDA) değerlerinin Analizleri.....	54
4.2. Biyokimyasal Doku Analizleri .....	56
4.2.1. Doku Total Antioksidan Kapasite (TAS) Değerlerinin Analizleri .....	56
4.2.2. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Değerlerinin Analizleri.....	57
4.2.3. Doku Total Oksidan Status (TOS) Değerlerinin Analizleri .....	58
4.2.4. Doku Malondialdehit (MDA) Değerlerinin Analizleri .....	60
4.3. Histopatolojik Bulgular .....	61
4.3.1. Böbrek Dokularının Hematoksilen-Eosin ile Boyanma Özellikleri ve Skorları .....	61
4.3.2. Vakuoler Dejenerasyon .....	62
4.3.3. Tubüler Cast .....	63
4.3.4. Tubüler Dilatasyon .....	65
4.3.5. Medüller Konjesyon .....	66
5. TARTIŞMA .....	68
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	80
7. KAYNAKLAR.....	82

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>L</b>	: Litre
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>Å</b>	: Angström
<b>ADH</b>	: Antidiüretik hormon
<b>Ang II</b>	: Anjiotensin II
<b>H<sup>+</sup></b>	: Hidrojen iyonu
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	: Bikarbonat iyonu
<b>H<sub>2</sub>O</b>	: Su
<b>Na<sup>+</sup></b>	: Sodyum
<b>PMNL</b>	: Polimorfonükleer lökositler
<b>SOR</b>	: Serbest oksijen radikalleri
<b>İRH</b>	: İskemi-reperfüzyon hasarı
<b>ATP</b>	: Adenosin trifosfat
<b>HOCl</b>	: Hipokloröz asit
<b>PGI<sub>2</sub></b>	: Prostaglandin I <sub>2</sub>
<b>Tx A<sub>2</sub></b>	: Tromboksan A <sub>2</sub>
<b>PAF</b>	: Platelet aktive edici faktör
<b>NADH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid
<b>GER</b>	: Granüllü endoplazmik retikulum
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit anyonu
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>VCAM-1</b>	: Vasküler hücre adezyon molekülü
<b>ICAM-1</b>	: İntersellüler adezyon molekülü
<b>ELAM-1</b>	: Endotel lökosit adezyon molekülü
<b>NADPH</b>	: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>NADP<sup>+</sup></b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>Ca<sup>+2</sup></b>	: Kalsiyum
<b>OH<sup>-</sup></b>	: Hidroksil iyonu
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit

<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik oksit sentetaz
<b>GIS</b>	: Gastrointestinal sistem
<b>CYP</b>	: Sitokrom P450
<b>GSH</b>	: Redükte glutatyon
<b>ALT</b>	: Alanin aminotransferaz
<b>AST</b>	: Aspartat aminotransferaz
<b>GGT</b>	: Gama glutamil transferaz
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör alfa
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	: Nükleer faktör kappa B
<b>LNCaP</b>	: Kanserli prostat hücre serisi
<b>HUVEC</b>	: İnsan göbek kordonu toplar damar endotel hücreleri
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotel büyüme faktörünü
<b>BV-2</b>	: Mikroglia aktivasyon modeli
<b>iNOS</b>	: Inducible (uyarılabılır) nitrik oksit sentaz
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	: İnterlökin 1 $\beta$
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon- $\gamma$
<b>IFN-<math>\alpha</math></b>	: İnterferon- $\alpha$
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>SKH-1</b>	: Tüysüz fare deri hücreleri
<b>UVA</b>	: Ultraviyole-A
<b>A375-S2</b>	: İnsan melanoma hücreleri
<b>MAPK</b>	: Mitojen aktive edici protein kinaz
<b>ER- B</b>	: Östrojen reseptör B
<b>SDS</b>	: Sodyum dodesil sülfat
<b>TBA</b>	: Tiobarbitürik asit

## ŞEKİLLER

Şekil 1.	Böbreğin iç yapısı ve damarları.....	3
Şekil 2.	Her iki böbreğin anterior yüzeyiyle ilişkili yapılar .....	4
Şekil 3.	Böbreğin arteriyel yapısı .....	6
Şekil 4.	Sağ böbreğin segmental dolaşımı .....	6
Şekil 5.	İntrarenal arteriyel anatomi .....	7
Şekil 6.	Nefronun anatomik yapısı .....	9
Şekil 7.	Nefronun elektron mikroskobundan görünümü .....	13
Şekil 8.	İskemi perfüzyon hasar oluşum mekanizmaları .....	19
Şekil 2.9.	İskemik dokuda serbest oksijen radikalleri üretimi.....	20
Şekil 2.10.	Geri dönüşümlü zedelenme .....	22
Şekil 2.11.	Geri dönüşümsüz zedelenme .....	23
Şekil 2.12.	<i>Silybum marianum</i> bitkisi ve tohumu.....	31
Şekil 2.13.	Silymarinin kimyasal formülü.....	32
Şekil 2.14.	Deve dikeninde bulunan maddelerin kimyasal formülleri .....	33
Şekil 2.15.	Silymarinin etki mekanizmaları.....	36

## GRAFİKLER

<b>Grafik 1.</b>	Gruplarda ortalama serum TAS aktiviteleri.....	51
<b>Grafik 2.</b>	Gruplarda ortalama serum SOD aktiviteleri .....	52
<b>Grafik 3.</b>	Gruplarda ortalama serum TOS aktiviteleri.....	53
<b>Grafik 4.</b>	Gruplarda ortalama serum MDA aktiviteleri.....	55
<b>Grafik 5.</b>	Gruplarda ortalama doku TAS aktiviteleri .....	56
<b>Grafik 6.</b>	Gruplarda ortalama doku SOD aktiviteleri.....	58
<b>Grafik 7.</b>	Gruplarda ortalama doku TOS aktiviteleri .....	59
<b>Grafik 8.</b>	Gruplarda ortalama doku MDA aktiviteleri.....	61
<b>Grafik 9.</b>	Vakuoler Dejenerasyon skorları .....	63
<b>Grafik 10.</b>	Tübüler Cast skorları .....	64
<b>Grafik 11.</b>	Tübüler Dilatasyon skorları .....	65
<b>Grafik 12.</b>	Medüller Konjesyon skorları .....	67

## TABLÖLAR

<b>Tablo 1.</b>	Serbest oksijen radikal kaynakları .....	20
<b>Tablo 2.</b>	İskemi reperfüzyon hasarında rol alan mediyatörler .....	21
<b>Tablo 3.</b>	Grupların serum TAS değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	50
<b>Tablo 4.</b>	Grupların serum SOD değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	52
<b>Tablo 5.</b>	Grupların serum TOS değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	53
<b>Tablo 6.</b>	Grupların serum MDA değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	54
<b>Tablo 7.</b>	Grupların doku TAS değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	56
<b>Tablo 8.</b>	Grupların doku SOD değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	57
<b>Tablo 9.</b>	Grupların doku TOS değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	59
<b>Tablo 10.</b>	Grupların doku MDA değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	60
<b>Tablo 11.</b>	Gruplarda Vakuoler Dejenerasyon skorları, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	62
<b>Tablo 12.</b>	Gruplarda Tubüler Cast skorları, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	64
<b>Tablo 13.</b>	Gruplarda Tubüler Dilatasyon skorları, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	65
<b>Tablo 14.</b>	Gruplarda Medüller Konjesyon skorları, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler .....	66



## 1. GİRİŞ AMAÇ

M.Ö. 4 yüzyılda Theoprastus tanımlanan ve “Pternix” olarak adlandırılan; Silymarin; Milk Thistle olarak da bilinmektedir ve *Silybum marianum* (L.) Gaertn (deve dikenini) ya da *Carduus marianus* L. (Meryem ana dikenini) bitkisinin yaprak ve tohumlarından elde edilir. Fitoterapide etkin olarak silymarinin; antioksidan, antikarsinojenik, renoprotektif, hepatoprotektif, antiapoptotik, antidepresan ve daha birçok yararlı etkileri bulunmaktadır.

Hepato protektif etkisi çok iyi bilinen, bu amaçla kullanıma geçen silymarinin böbrek üzerine etkisi ve süresi bilinmelidir. Akut böbrek yetmezliği önlenabilir sağlık sorunlarının en önemlilerinden biridir. Hastanede yatan hastalardaki en önemli ve en sık komplikasyonlardan birisi; akut böbrek yetmezliğidir. Renal iskemi / reperfüzyon hasarı ise; akut böbrek yetmezliğinin major nedenlerinden birisidir.

Özellikle nefron koruyucu cerrahi sırasında oluşturulan iskemi/reperfüzyon ve süresi, cerrahi sonrası böbrek fonksiyonları üzerine etkisi yadsınmaz. Böbrek transplantasyonu öncesi, operasyon sırası ve sonrasındaki iskemi nakil edilen böbreğin reddine kadar süreci uzatmaktadır. Böbrekte iskemi oluşturacak tüm durumlar; akut böbrek yetmezliği zemininde diyaliz ve böbrek nakline uzanan sürecin başlangıcı olmaktadır.

Bu nedenle iskeminin önlenmesi veya iskemi öncesi-sonrası alınacak önlemler ile hasarı önüne geçilmesi planlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda silymarinin pankreas, beyin, myokard ve karaciğer iskemisi üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir.

Silymarinin renal iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine protektif etkisi morfolojik, histolojik ve biyokimyasal olarak gösterilmiştir. Silymarinin etkisi uzamış iskemi süreleri ile karşılaştırılarak beklenmeyen ve aynı zamanda istenmeyen bu tablo karşısında protektif etkisi gözlenecektir.

Yapacağımız bu çalışmada silymarin’in renal iskemi/perfüzyon hasarı üzerine etkisi görülecektir. İskemi süreleri farklılık göstermektedir. Silymarinin renal iskemi/perfüzyon hasarına etkisi gösterilmekle beraber uzamış ve farklı iskemi süreleri üzerine etkisini değerlendirilecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Böbrek

#### 2.1.1. Böbrek Anatomisi

Böbrekler iyi korunan, retroperitoneal alanda, derinde yerleşmiş bir çift organdır. Böbrekler idrar oluşumu ile birlikte asit-baz ve su-elektrolit dengesinde görev almaktadır. Ayrıca endokrin rolleri de bulunmaktadır. Renin, eritropoetin yapımı ve D vitamini metabolizmasında rol oynar. Böbrekler vasküler organlar olup parankimi frajildir [1].

Erişkinde normal böbrek ağırlığı ortalama 135-150 gr arasındadır. Ağırlığı erişkin erkeklerde, 125 gr ile 170 gr, kadınlarda ise 115 gr ile 155 gr arası kadardır [2, 3]. Uzunluğu 10-12 cm, eni 5-7 cm ve kalınlığı 3-4 cm civarındadır. Böbrekler doğumda relatif olarak daha büyük olup fetal lobulasyon gösterir.

Küçük çocuklarda böbreklerin boyutu vücuda göre göreceli olarak büyüktür. Çocuklarda yaşa göre olması gereken böbrek boyutunu gösteren nomogramlar olmasına rağmen, bir böbreğin normal uzunluğunun 2,5 vertebral korpusa karşılık gelmesi kuraldır [4-6].

Erişkinde değişik derecelerde deve hörgücü ya da fetal lobulasyon gözlenebilir. Böbreğin ön ve arka olmak üzere iki yüzü, iç ve dış iki kenarı, üst ve alt iki ucu vardır. Yüzlerden her ikisi de konvekstir [7].

Böbreğin medial kenarında renal sinüs denilen boşluğa açılan renal hilum denilen bir yarık bulunur. Böbreğin orta kısmı burası olup parankimle çevrilidir. Renal damarlar ve toplayıcı sistemler çevresindeki yağ dokusu ile birlikte sinüste bulunur ve böbreği hilumla terk ederler [1, 7-9].

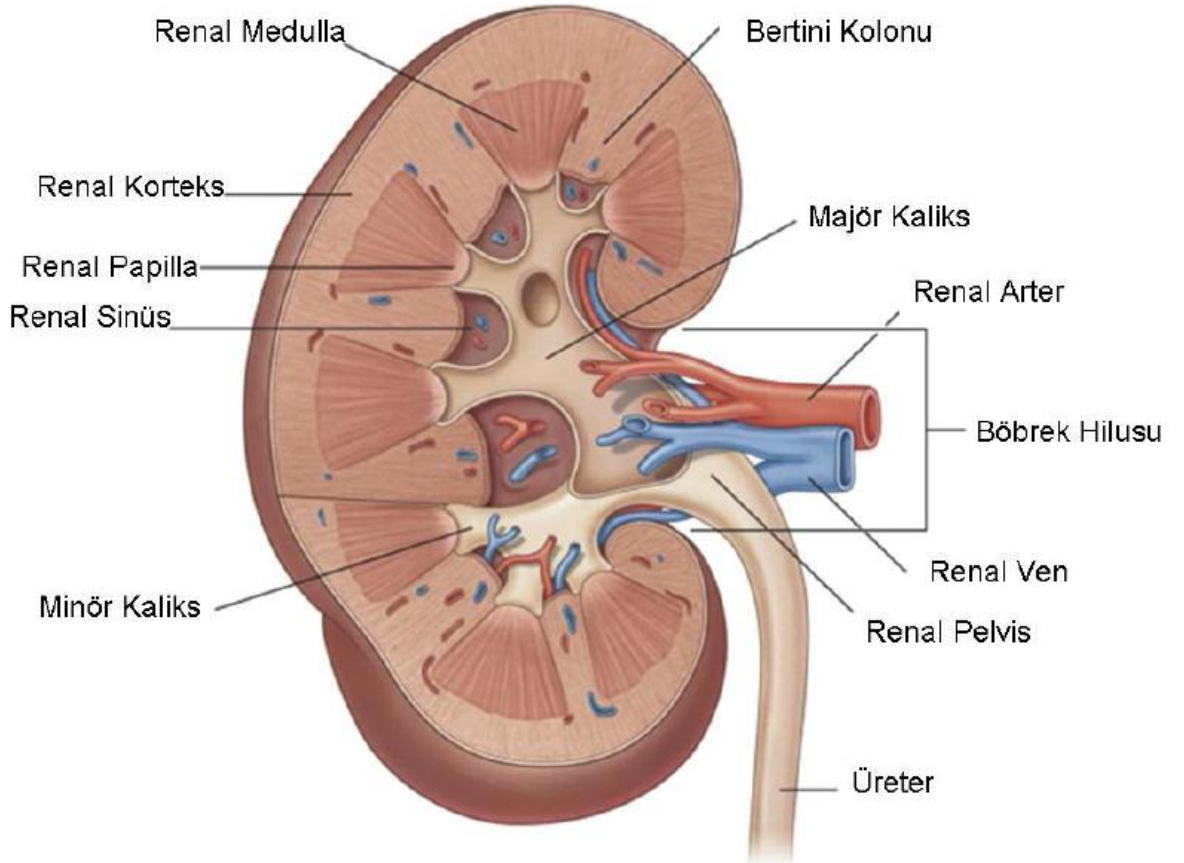
Renal parankim, medulla ve korteks olmak üzere ikiye ayrılır. Böbrek parankiminin en dışına korteks, korteksle toplayıcı boşluklar arasında kalan kesimine de medulla denir [4, 5].

Medulla renalis piramit adı verilen her biri tepesi papilla adını alan ve minor kalikslere açılan birçok konik yapıda segmentler içerir.

Bu piramitlerin *basis pyramidis* denilen taban kısımları böbreğin dış yüzüne yönelip korteks ile medulla sınırından başlar ve üreterin huni biçimli üst ucunun devamından oluşan böbrek pelvisinin devamına doğru uzanan papillada son bulur [10]. Piramitlerin *papilla renalis* denilen tepe kısımları ise sinus renalis'e yönelmiştir. Piramitler renalisler birbirlerine değmeyecek şekilde sinus renalis etrafında dizilmişlerdir [3, 11].

Pelvisin dış sınırı majör kaliks denilen açık ceplerle aşağı doğru uzanır ve her papillada tüplerden idrar toplayan minör kalikslere ayrılır. Kalikslerin, pelvisin ve üreterlerin duvarları idrarı mesaneye doğru ilerletebilen kontraktıl elemanlar içerir [10].

Renal korteks, papillalar hariç olmak üzere piramitlerin hem aralarını hem de periferal olarak renal sinüse kadar sarar [3, 11]. Korteksin piramitler arasındaki bölümü; renal kolonu (Bertini) oluşturur. Damarlar parankime buradan girer ve çıkar [10] (Şekil 2.1).



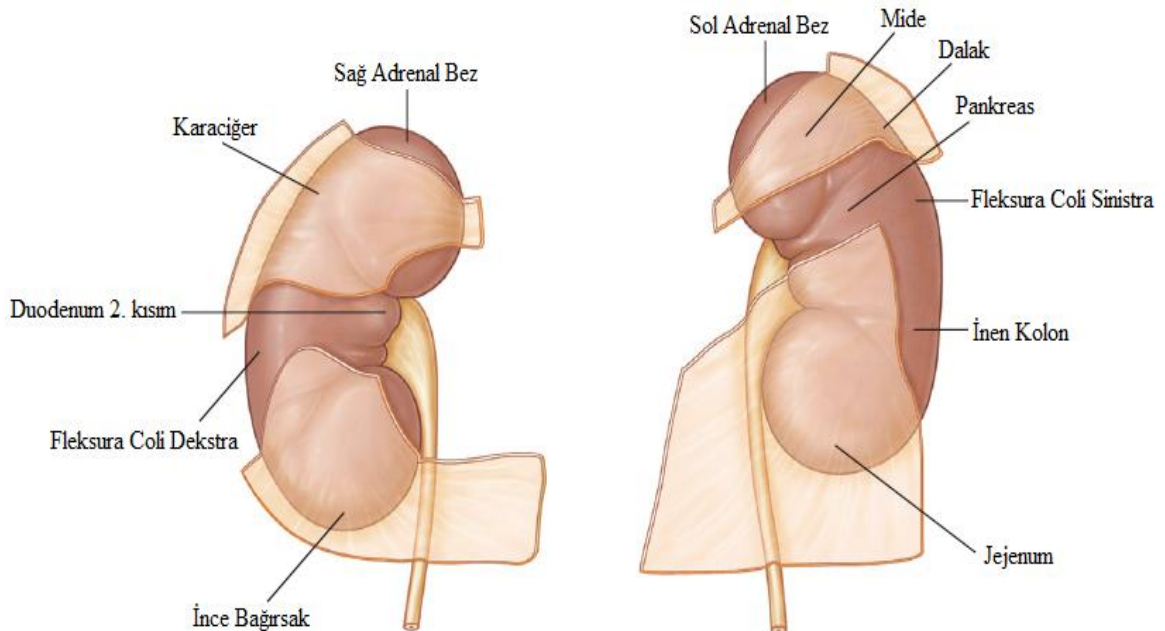
**Şekil 1.** Böbreğin iç yapısı ve damarları [12]

### 2.1.2. Böbreğin Komşulukları

Sağ böbrek karaciğer basısı nedeni ile sola göre 1-2 cm daha aşağıdadır. Sağ böbrek; 1. lumbal ile 3. lumbal vertebra arasında bulunurken, sol böbrek ise; 12. torakal vertebra ile 3. lumbal vertebra düzeyinde yer alır ve solunum ile hareket ederler. Sol böbrek 11. ve 12. kosta ile komşuluk yaparken, sağ böbrek yalnızca 12. kosta ile komşudur [13, 14].

12. kot böbreği çaprazlar. Diyafram böbreklerin üst kutbunu örter. Böbreğin alt kutbu üst kutbuna göre daha önde ve daha lateraldir. Böbreğin mediali longitudinal aksta öne doğru yaklaşık 30 derecelik açı yapar [9, 15].

Her iki böbreğin üst kutbunun superior-medialinde adrenal bezler bulunur. Sağ böbreğin ön yüzü karaciğerin sağ lobu, duodenum ve jejenum kıvrımları ile komşudur [14, 16]. Sağ böbrek karaciğerin arkasından uzanır, burada perirenal fasya ile parietal peritonun oluşturduğu hepatorenal ligament vardır. Duodenum medialindeki hiliar yapıları örter. Solda böbrek hilusu ve üst 2/3 bölümü retroperitoneal pankreas kuyruğu ve dalak damarları ile komşudur. Ayrıca; mide arka duvarı ve jejenum ile komşudur. Dalak sol böbrek kutbu ile komşu olup perirenal fasya ile peritonun oluşturduğu splenorenal ya da lienorenal ligament ile böbrek kapsülüne bağlanır.



Şekil 2. Her iki böbreğin anterior yüzeyiyle ilişkili yapılar [12]

Böbrekler; arkada diyafragma, m. psoas major, m. quadratum lumborum, m. transversus abdominis ve lomber pleksus'un iki dalı ile komşuluk yaparlar [14, 16].

Böbreği içten dışa doğru; capsula fibrosa, capsula adiposa ve fascia renalis olmak üzere üç kılıf sarar [14, 16].

Böbreği saran ince fakat sağlam bu fibröz kılıfa; capsula fibrosa denilir, böbreğe parlak bir görüntü verir. Capsula fibrosayı saran zengin yağ dokusu ise; capsula adiposa (perirenal yağ tabakası) dır. Bu yağ tabakasının kalınlığı kişinin şişmanlık durumuna bağlı olarak değişir.

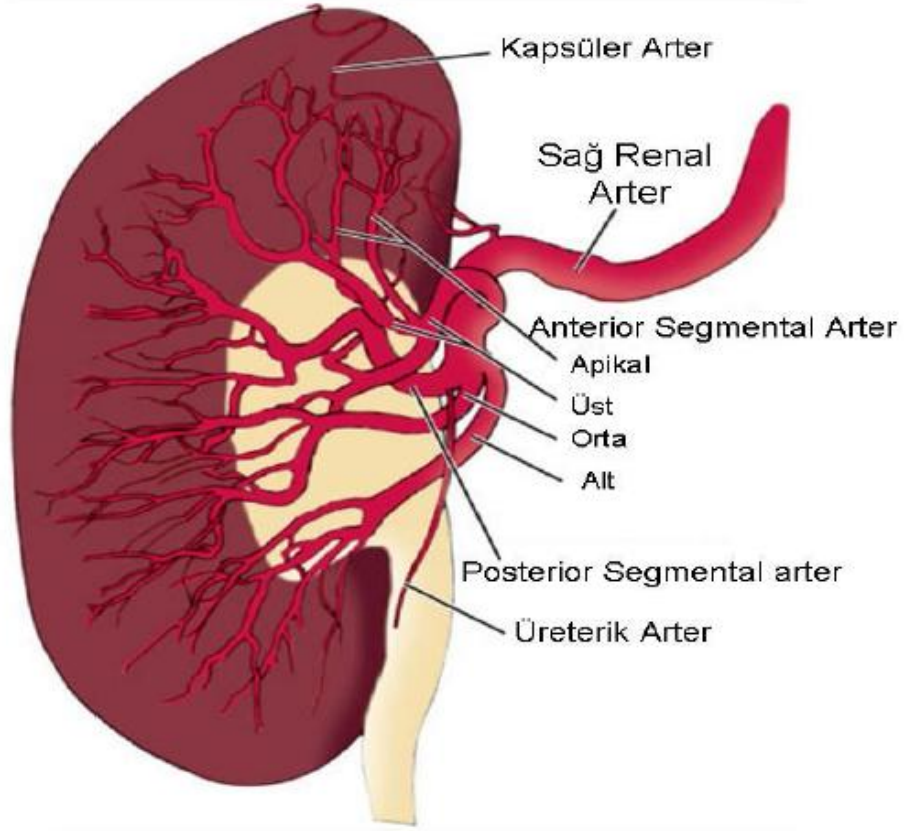
Karın duvarındaki fasya subserosanın capsula adiposayı glandula suprarenalisle birlikte dıştan saran bölümüne; fascia renalis (Gerota fasyası) denilir [3, 17]. Perirenal bir fasya olan gerota fasyası tarafından böbrekler, adrenaller ve çevresindeki pararenal yağ dokusu gevşekçe sarılmıştır. Gerota fasyası; böbreği önden, arkadan sarar ve lateral, medial ve superior olarak 3 kenarda yapışır. Üstte incelererek diyaframın alt yüzünde kaybolur, medialde orta hattı geçerek karşı taraf gerota fasyası ile birleşir, altta gonadal damarları ve üreteri içine alan açık bir alan olarak kalır. Aşağıya doğru retroperitoneal fasyaya yapışarak incilir ve vas deferensi sararak skrotuma kadar uzanır. Gerota fasyası; böbreğin etrafında önemli bir anatomik bariyer oluşturur.

### **2.1.3. Böbrek Kan Akımı**

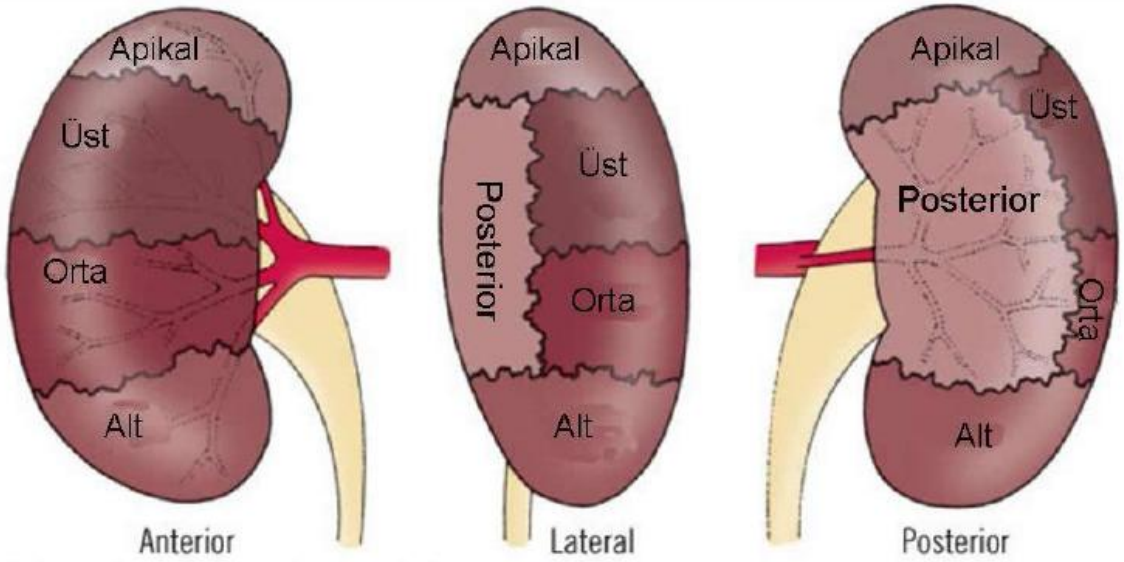
Böbrek damar pedikülü, renal arter ve venden oluşur. Önden arkaya ven, arter ve renal pelvis olarak dizilir.

Her bir böbrek kanlanmasını renal arterden sağlar. Dinlenme halinde yetişkin böbrekler dakikada 1,2 ile 1,3 L kan veya kalp debisinin %21'ini alır [18, 19]. Kan, böbreklere aortanın her iki yanından, 2. lomber vertebra korpusu düzeyinde [20], superior mezenterik arterin çıktığı yerin biraz altından ayrılan renal arterler vasıtasıyla gelir [4].

Sağ böbrek arteri sola göre aorttan daha yukarı seviyeden çıkarak v.kava inferior arkasından geçer ve daha uzundur. Ana renal arter; 4 veya 5 segmental damarlara ayrılır. Bir adet posterior segmental dal ile apikal, üst, orta ve alt anterior olmak üzere 4 adet anterior segmental arter vardır. Bu damarların özelliği anastomoz yapmayan, kollateralleri olmayan end arter olmalarıdır. Bunların hasarlanması böbrek parankim kaybına yol açar (Şekil 2.3, Şekil 2.4).



**Şekil 3.** Böbreğin arteriyel yapısı [21]

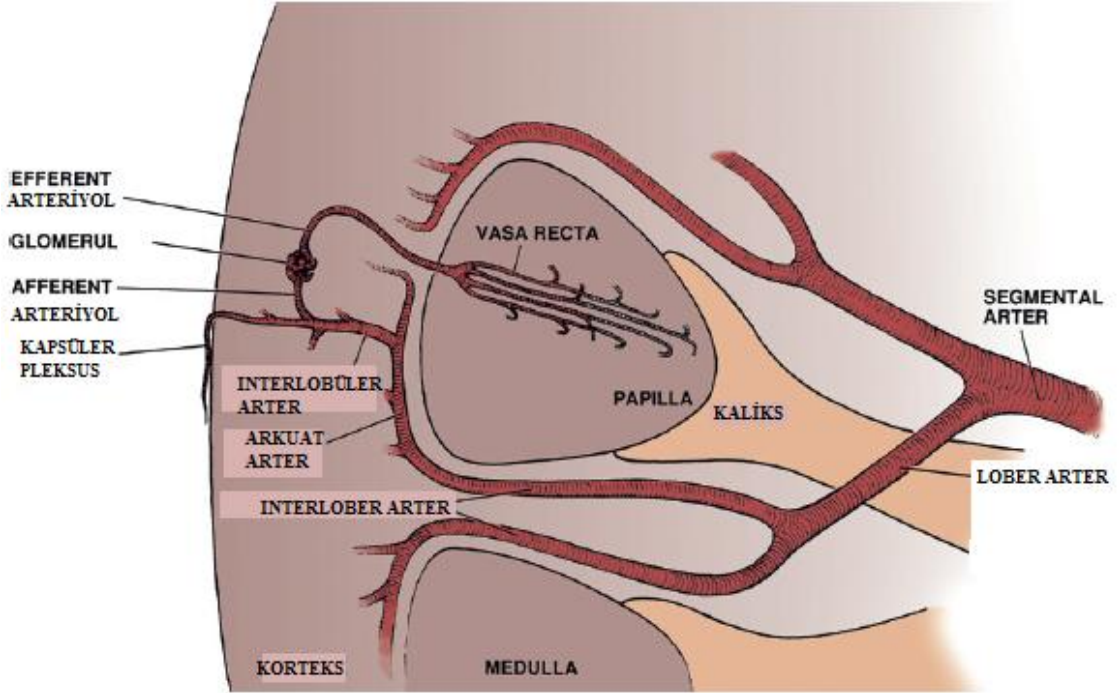


**Şekil 4.** Sağ böbreğin segmental dolaşımı [21]

Segmental arterler renal sinüsten sonra lobar arterleri oluşturur. Bunlar bölünerek renal parankime girer ve interlober arterleri oluşturur. Piramit tabanına

gelince arkuat arter adını alır. Arkuat arterler; kortikomeduller bileşke boyunca böbrek konturuna paralel seyrederek, dönerek interlobüler arterleri ve multiple yan dalları glomerülün afferent arteriollerini yapar. Glomerüler kapsül (Bowman) bu sferik kapiller ağı sarar ve üriner filtratı toplar. Efferent arteriyoller kortekste ikinci kapiller ağı (vasa rekta) oluşturur (Şekil 2.5).

Postglomerüler kapiller interlobular venlere drene olarak arterleri takip ederek sırasıyla arkuat, interlober, lobar ve segmental venler şeklinde 3-5 gövde halinde ana renal venede birleşirler. Arterlerden farklı olarak anastomoz yaparlar. Sol renal ven 6-10 cm olup sol adrenal ven, lomber ven ve gonadal veni de alarak v.kava inferiora dökülür. Sağ renal ven sola göre daha kısa olup (2-4 cm); v.kava inferiora sağ yandan doğrudan girer.



Şekil 5. İnrarenal arteriyel anatomi [21]

Ana renal arter ve venin varyasyonu oranı % 25-40 olup, en sık görüleni çok sayıda renal arter olmasıdır. Solda daha sık olup, ektopik böbreklerde daha çok gözlenir; üreteropelvik bileşkeye baskı yapıp, dışarıdan obstrüksiyona yol açabilirler. Multiple renal ven daha az görülür ve sağda duplikasyon olarak karşımıza çıkar.

Böbrekte perinefrik venlerde subkapsüler pleksus arasında zengin kollateral ağının olması renal venede oluşabilecek obstrüksiyonun iyi tolere edilmesini sağlar.

Solda adrenal, lomber ve gonadal venlerle ilişki ağı sayesinde; sol renal venin akut cerrahi ligasyonu bile tolere edilebilir.

Arterler anastomoz end arterler olup, kollateral olmaması ise; bu dallardan birinin yaralanması durumunda oluşan oklüzyon iskemisi ve enfarktüse bağlı değişik derecelerde parankim kaybına yol açar [20].

Böbreğin ön ve arka segmental dolaşımları arasında; posterolateral yüzde avasküler bir hat (Brödel hattı) mevcuttur. Cerrahi insizyonlarda önemlidir.

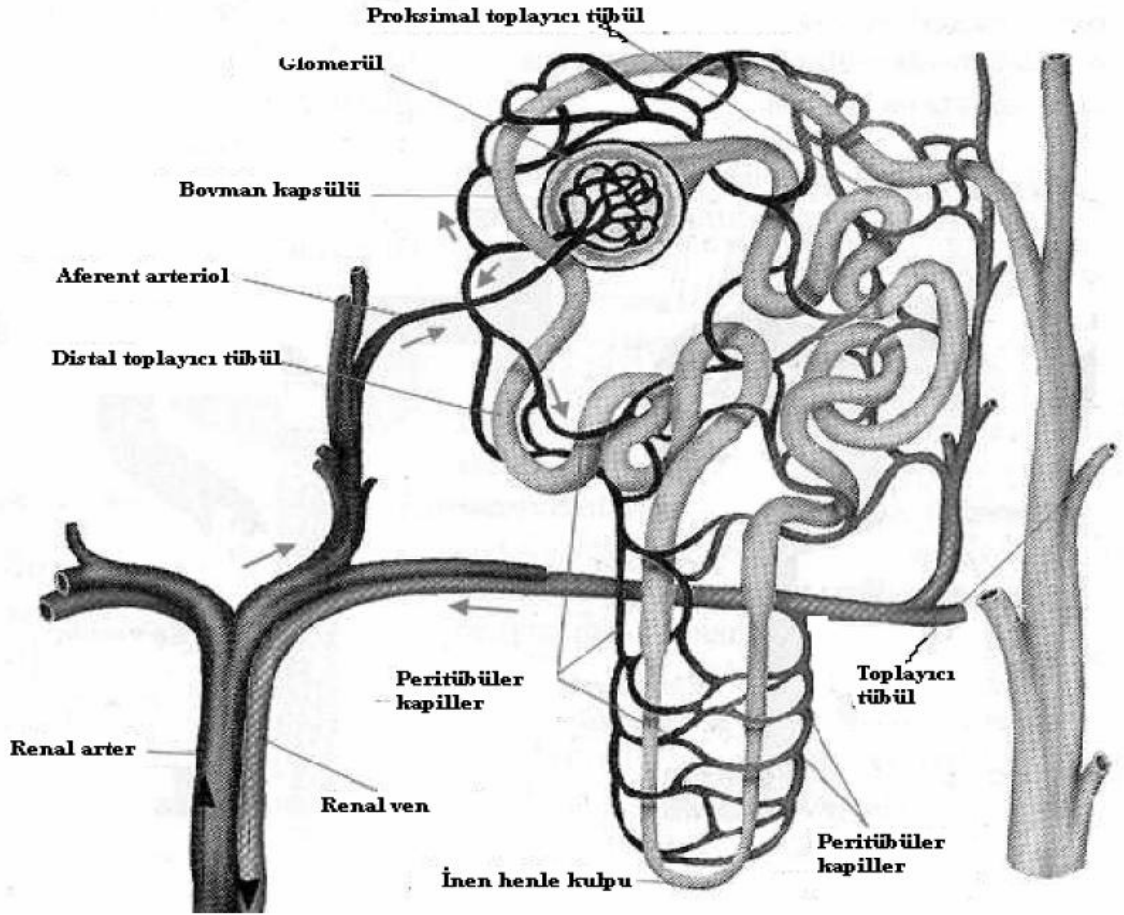
Lenf damarları renal pelvisin etrafında bulunurlar. Böbreğin zengin bir lenfatik drenajı vardır. Sinüsten çıkan kan damarlarını izler, renal sinüde birkaç büyük lenfatik trunkus oluşturur. Renal kapsül ve perinefritik lenfatiklerle de bağlantı sağlar, pelvis ve üst üreterin lenfatiklerini de alarak birleşirler. Renal hilumda 2-3 adet lenf nodu mevcuttur.

Sol böbreğin lenfatik drenajı sol paraaortik lenf nodlarına drene olur. Sağ böbrek lenfatikleri ise sağ parakaval ve interaortokaval lenf nodlarına drene olur.

#### **2.1.4. Böbrek Fizyolojisi**

Böbreğin idrar oluşturma fonksiyonu her biri ayrı bir ünite olan nefronlar tarafından sağlanır [22]. Nefron; en küçük anatomik ve fonksiyonel böbrek ünitesi olarak adlandırılır (şekil 2.6).





**Şekil 6.** Nefronun anatomik yapısı [23]

Her bir böbrek tubülü ve onun glomerülü, böbreğin en küçük işlevsel birimini yani nefronu oluşturur [14]. Her iki böbrek yaklaşık bir milyon nefron içermektedir. Gelişimini tamamlayan bir böbrekte yeni nefron yapılamaz. Bu nedenle yaşlanma, böbrek hastalıkları veya travma nedeniyle kaybedilen nefronların yerine yenileri yapılamaz. Yaşlanma ile %10-40 arasında nefron kaybedilir ama geride kalan nefronlar kendini bu duruma adapte edebilir [4, 6, 9, 24].

Renal korteksteki Bowman kapsülü ve glomerül; böbrek toplayıcı sisteminin mikroskobik olarak başlangıcıdır. Glomerül kapiller, epitel hücreleri ile örtülmüştür ve tümü Bowman kapsülü ile sarılmıştır [18]. Bowman kapsülü ve glomerüler kapiller ağı birlikte renal korpüskülü (Malpighi cismi) oluşturur.

Glomerül, yüksek hidrostatik basınca sahip, dallanan ve anastomoz yapan kapiller bir ağdan oluşmuştur [14]. Glomerül, diğer kapiller ağlar ile karşılaştırıldığında daha yüksek hidrostatik basınca (60 mmHg kadar) sahiptir [25-27]. Glomerülün orta kısmında mezengiyal matriksi çevreleyen mezengiyal hücreler bulunur. Glomerülün diğer içerikleri endotel, glomerüler bazal membran ve epitel hücreleridir.

Endotel hücreleri kapiller lümeni çevreler ve gözenekli bir yapı oluşturur. Endotel hücreleri negatif yüklüdür ve filtrasyon bariyerinin yük seçici özelliklerinden sorumludur. Glomerül endotel hücreleri glomerül fizyopatolojisinde önemli bir rol oynar.

Glomerül bazal membran; tip IV ve tip V kollajen lifler içeren glikoproteinden oluşan hidrate jel tabakasıdır. Orta kısmındaki yoğun tabaka olan lamina densa ve iki dış tabaka lamina rara internadan oluşur. Kalınlığı 315 – 373 nanometre arasında değişir. Glomerüler bazal membran gözenek büyüklüğü ve negatif yükü sebebiyle bir süzme bariyeri olarak işlev görür. Belli bir molekül büyüklüğündeki negatif yüklü parçacıklar; pozitif yüklü olanlara göre daha zor süzülürler. Glomerül bazal membrandaki en büyük gözenek çapı 80 angstrom (Å) olduğu halde; 60 Å çapındaki albümin negatif yüklü olması sebebiyle bu engeli aşamaz.

Visseral epitel hücreleri (podositler); glomerüllerdeki en büyük hücrelerdir. Glomerüler bazal membranın üzerine ayaklı çıkıntılar uzatırlar. Negatif yükleriyle süzme bariyerine katkıda bulunurlar.

Parietal epitel hücreleri; Bowman kapsülünün dış kısmını oluşturur. Bowman kapsülünde asılı duran glomerül kümeleri; mukopolisakkarit ve glikoprotein yapısındaki mesengial destek yapı içerisinde bulunurlar. Mesengial hücrelerde bulunan aktin ve miyosin yapıları mesengial hücrelere kasılma özelliği sağlar. Mesengial hücre kasılması; süzme yüzey büyüklüğünü değiştirir, glomerüler süzme oranını azaltır.

Mesengial hücrelerde antidiüretik hormon (ADH) ve anjiotensin II (AII) gibi vazokonstriktör hormonların reseptörleri vardır. Bu hormonlar mesengial hücre kasılmasıyla glomerüler süzme oranını değiştirir. Mesengial hücrelerin diğer bir görevi ise; kollajen ve glikoproteinden oluşan hücre dışı matriksi üretmek ve yeniden şekillendirmektir. Bu süreç glomerüler bazal membranın kalınlaşmasına neden olur. Özellikle diyabet gibi çeşitli glomerüler hastalıkların patolojisinde önemli rol oynar. Mesengial hücrelerin fagositik özellikleri de vardır [28, 29].

Glomerüldeki kan basıncı, glomerül kapillerlerinden filtre olan sıvıyı, ultrafiltratı Bowman kapsülü içine ve oradan da böbrek korteksinde yer alan [25-27] proksimal kontorti tubülü içine akmasını sağlar [18].

Glomerülün idrar ucu proksimal tubülden başlar. Proksimal tubül iki kısımdan oluşur. Tubülün ilk kısmını korteks içinde konumlanan proksimal kıvrımlı tubül oluşturur. Sıvı ikinci segment olan proksimal düz tubülden medüllaya giren henle kulbuna geçer [28, 29].

Henle kıvrımı; inen kol ve çıkan kol olmak üzere iki kısımdan oluşur. İnen kolun ve çıkan kolun alt ucunun duvarları çok incedir, bu nedenle henle kıvrımının ince kısmı olarak isimlendirilir.

Henle kıvrımının inen kolu; kortekse doğru dönüş yaptıktan sonra, tübüler sistemin diğer kısımlarında olduğu gibi duvarı kalınlaşır ve bundan dolayı çıkan kolun kalın kısmı olarak adlandırılır. Henle kulpu böbrek korteksinde yer alan distal kontorti tubuli (distal tübül) olarak devam eder [6, 18]. Distal tübül, Henle kulbunun çıkan kalın kolu ve distal konvüle tübül olmak üzere iki kısımdan oluşmuştur. Her nefronda distal tübülün başlangıcı; çıkan kalın kolun sonunda, afferent arteriyolün son kısmıyla ve efferent arteriyolün başlangıç kısmıyla temas halindedir. Distal tübülün duvarında bir plak içeren bu kısa bölümüne makula densa adı verilir.

Makula densa; nefron fonksiyonunun kontrolünde önemli rol oynar [22]. Bu bölgedeki tübül hücreleri sayıca daha fazla ve daha uzundur. Makula densa ve damarsal yapılara jukstaglomerüler apparatus denilir. Bu yapı renin üretir ve glomerül ile tübül fonksiyonlarında önemli rolü vardır. Makula densadan sonra sıvı proksimal tübül gibi, böbreğin korteksinde yerleşmiş olan distal tübüle ulaşır [22, 28, 29].

Distal tübülü; birleştirici (connecting) tübül ve kortikal (collecting) toplayıcı tübül izler. Sıvı, buradan kortikal toplayıcı kanala ulaşır. Yaklaşık sekiz ya da on adet kortikal toplayıcı kanalın başlangıç kısımları birleşerek medullada seyreden ve meduller toplayıcı kanal denilen daha geniş bir toplayıcı kanal yaparlar. Toplayıcı kanallar birleşerek giderek daha genişleyen kanalları oluştururlar ve sonunda renal papillaların uçlarındaki Bellini kanalları aracılığı ile böbrek pelvisine boşalırlar [22].

Üriner filtrat ise; en son kollektör tübülilere gelir, medullar piramidin apeksine, renal papillaya açılır. Bu papillalar, medullanın böbrek kaliksleri içine doğru yaptıkları çıkıntılardan ibarettir ve böbrek pelvisinin girintileri bu kaliksleri oluşturur. Her bir böbrekte bulunan 250 kadar geniş toplayıcı kanalın her biri, yaklaşık 4000 kadar nefrondan gelen idrarı iletir [6, 18, 19]. Renal papilla sayıları 4-18 arasında değişir. Her bir papilla minör kalikse açılır. Minör kaliksler sagittal planda arkaya doğru uzanan posterior kaliksler ve koronal planda laterale doğru uzanan anterior kaliksler olmak üzere iki diziliş göstermektedir.

Bazı piramitlerin gelişim sırasında yapışmasıyla birleşik papilla meydana gelir. Bu, genellikle böbrek kutuplarında oluşur [25]. Bu birleşik papillaların özelliği ise; normal idrarın ve infekte idrarda bulunan bakterilerin, yapılarından dolayı renal

parankime reflüsüne izin vermesidir. Enfeksiyona sekonder renal parankimal skar bu tip yapışık papillalarda daha şiddetlidir [25].

Yaklaşık 10-12 minör kaliksler [30] daralarak, bir boyun veya infundubulum oluşturarak diğer minör kalikslerle birleşir; 2 veya 3 major kaliks oluşturarak renal pelvisle sonuçlanır. Renal pelvis intrarenal veya ekstrarenal olabilir, üreteropelvik bileşkedен sonra üreter olarak devam eder.

Renal toplayıcı sistemin gross varyasyonları çok fazladır. Minör kalikslerin sayısı, pozisyonları ve infundubulum boyları değişken olabilir. Bifid pelvis veya duplike üreter gözlenebilir [9].

#### **2.1.4.1. Pelvis renalis ve üreter fizyolojisi**

Normal idrar akımı sırasında, kaliks ve renal pelvisin kontraksiyonlarının gücü üreter üst bölümünden daha kuvvetlidir. Üreteropelvik bileşkede elektriksel aktivite yönünden bir blok söz konusudur [25]. Renal kalikse toplayıcı kanallardan akan idrar kaliksleri gerer ve onların var olan uyarı doğurma etkinliklerini artırarak; böbrek pelvisinde dağılan ve üreterler boyunca aşağı doğru ilerleyerek, idrarı böbrek pelvisinden mesaneye doğru iten peristaltik kasılmaları başlatır. Üreter duvarı; düz kas içerir. Parasempatik sinirler, sempatik sinirler ve ayrıca tüm üreter boyunca, duvar içinde yer almış sinir ağı ile inerve edilir. Diğer organların düz kaslarında olduğu gibi; üreterdeki peristaltik kasılmalar, parasempatik uyarıyla artırılır ve sempatik uyarıyla inhibe edilirler [20].

#### **2.1.5. Böbreğin Sinirsel Uyarımı**

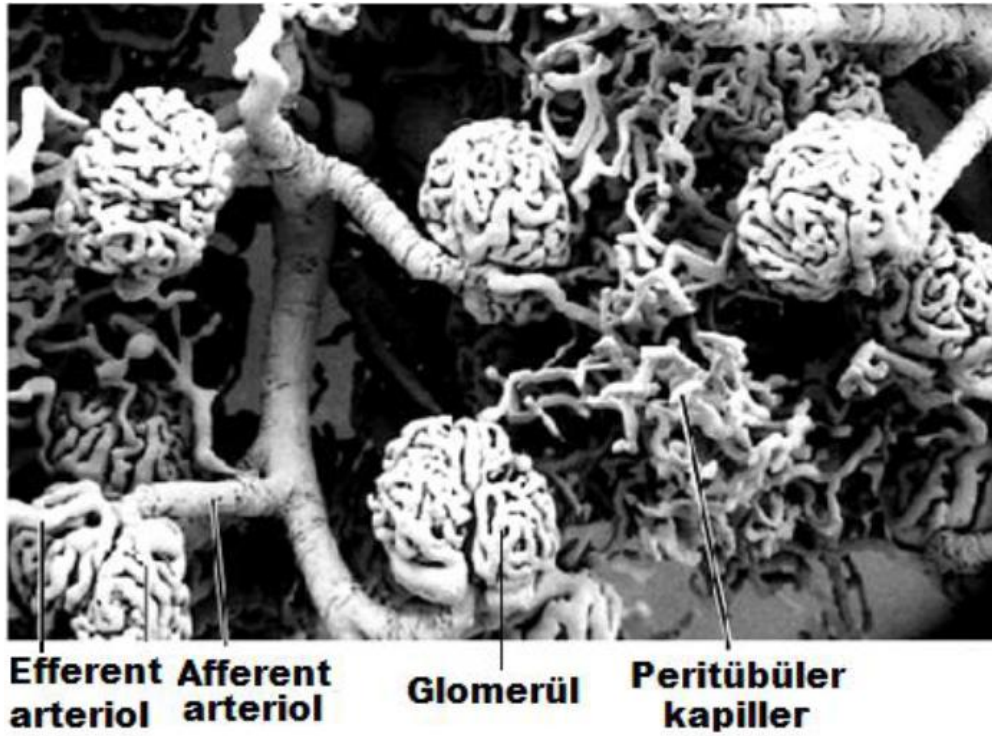
Sinirler ise; renal arterin etrafında bulunurlar. Böbrekler; preganglionik sempatik sinir uyarılarını, sekizinci torakal-birinci lumbal spinal segmentlerinden alır. Postganglionik lifler; çölyak ve aortokoronal ganglionsından ulaşır.

Sempatikler; N.splanchnicus minor içinde seyrederek [17]. Vagustan gelen parasempatik uyarılarla birlikte ana renal arter ve dallarını saran renal otonomik pleksusu oluşturur. Komplet denervasyondan sonra dahi böbrek fonksiyonu çok az etkilenir.

Böbrek, pelvis renalis ve üreterin ağrı lifleri sempatik sinirlerle seyrederek. Ağrı ve refleks kas spazmı; tipik olarak subkostal, iliohipogastrik, ilioinguinal veya genitofemoral sinirlerin dağılım alanlarında oluşur. Böylece böğür, kasık, skrotal veya labial ağrı ve hiperaleji hasarlı organ uyarısının lokalizasyonuna bağlı olarak hissedilir [9].

### 2.1.6. Böbrek Histolojisi

Nefronun ilk parçası olan, Malpighi'nin renal korpüskülleri; korteks dokusu içerisinde yer alır. Her bir nefron; renal cisimcik, proksimal kıvrımlı tubül, Henle kıvrımı ve distal kıvrımlı tubülden oluşmaktadır (Şekil 2.7).



Şekil 7. Nefronun elektron mikroskobundan görünümü [31]

Her renal cisimcik glomerülden oluşmuştur. Glomerül; iki tabakalı epitelyal bir kapsül olan Bowman kapsülü ile sarılmıştır. Kapsülün iç tabakası (visseral tabaka); glomerülün kapillerlerini örter. Dıştaki tabaka; pariyetal tabakadır. Bowman kapsülünün pariyetal tabakası ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. Glomerülün üzerini saran visseral yaprağın hücreleri ise; yıldız

şekilli uzantılı hücrelerdir. Bu hücelere podosit denilmektedir. Glomerül kapillerlerinde, endotel hücreleri ve podositlerin yanı sıra; iki ya da daha fazla sayıdaki kapilleri ortak olarak saran bazal laminanın kılıfının bulunduğu bölgelerde; kapiller duvarına tutunan mezangiyal hücreler yer alır. Hücreler kendilerini saran ve kapiller duvarına destek olan amorf matriksi sentezler. Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epiteli; proksimal kıvrımlı tubüllerde prizmatik epitel şeklinde devam eder. Hücre apeksinde, fırçamsı kenarı oluşturan çok sayıda mikrovilluslar bulunur. Hücrelerin büyük olması nedeniyle, her enine kesitte; hücrelerin merkezinde yer alan üç ile beş adet küre biçiminde çekirdek bulunur. Nefronun en uzun ve en geniş parçası olan proksimal tubülün kıvrımlı parçası kortekste seyrederken, düz parçası medullaya doğru inerek henle kulpunun kalın inen parçasını oluşturur. Henle kulbu kalın inen kol, bir ince inen kol, bir çıkan ince kol ve kalın çıkan koldan oluşan yapıdır. Distal kıvrımlı tubül tek katlı kübik epitel ile döşelidir. Distal tubül hücrelerinde fırçamsı kenarlar bulunmaz. Glomerülün afferent arteriolüne yakın konumda bulunan tubülün yoğunlaşmış epitel hücrelerine *makula densa* denilir. Renal cisimciğin hemen bitişiğinde; afferent arteriyolün tunika mediyasında modifiye düz kas hücreleri bulunmaktadır. Bu hücelere jukstaglomerüler hücreler adı verilir [30].

### 2.1.7. Böbreğin Fonksiyonları

Kalp debisinin yaklaşık % 21'i böbreklerden geçer ve bu oran 1200 mililitre/dakika kan akımına ya da 600 ml/dk'lık renal plazma akımına eşittir. Normal bir erişkin; günde 1000-1500 ml idrar çıkartır. Bu son idrar; glomerüler filtrasyon, tubüler filtrasyon ve sekresyon şeklinde özetlenen ve her bir nefronda ayrı ayrı meydana gelen bir dizi ve oldukça kompleks fonksiyonların sonucudur [25].

Glomerül filtrasyon sıvısı; yarı geçirgen kapiller duvardan dışa doğru yönlendiren net basıncın bir sonucudur. Hidrostatik basınç ve plazma onkotik basınç sıvının kapiller duvardan geçmesini sağlar.

Normal glomerül filtrasyon hızı; 100-120 ml/dk/1,73 m<sup>2</sup> olup, günde 150 - 250 litre ultrafiltrat oluşur. Bunun büyük bir kısmı (% 98 - 99), filtrasyondan sonra yeniden emilir. Proksimal tubülün ana işlevi; ultrafiltratın kütleli izozmotik emilimidir. Glomerüler filtratta en fazla bulunan bileşik; sodyumdur ve proksimal tubülden oluşan taşınma işlemlerinin çoğu sodyumla ilişkilidir. Sodyum; Na-K-ATPaz pompası ile

taşınır. Kalsiyum, glukoz ve aminoasitlerin Emilimi sodyum Emilimi ile paralel bir taşınma ile olur. Filtre edilen bikarbonatın önemli bir kısmı hidrojen iyonlarının katıldığı ters taşınma mekanizmasıyla taşınır. Potasyumun büyük çoğunluğu; bu kısımda geri emilir. Solüt maddelerin Emilimi ile su kendiliğinden peritübüler boşluğa geçer.

Henle kulpu; kortikomedüller kavşakta ince inen kol olarak başlar bir U dönüşü yapar ve ince çıkan kola dönüşür; sonra dış medullada çıkan kalın kol olur ve maküla densada sonlanır. Henle kulbunun her segmenti sodyum klorür ve suya karşı farklı geçirgenliğe sahiptir. İzoozmotik ultrafiltrat volümünün yaklaşık % 15'i, sodyum klorürün ise yaklaşık % 25'i emilir. Bu farklı Emilim ile proksimal tubülden gelen izotonik sıvı distal tubüle seyrelmiş olarak gider. Kalsiyumun büyük kısmı Henle kulpunda emilir.

Kalın çıkan kolun medulla kısmı, paratroid hormon kontrolü altında değilken; kalın çıkan kolun korteks kısmı paratroid hormon kontrolü altındadır. Henle kulbunun kalın çıkan kolu; magnezyumun geri Emilimi için ana bölgedir. Distal kıvrımlı tubül; sodyum klorürün aktif Emilimini sağlayan ve suya geçirgen olmayan korteks içi bir yapıdır. Kortikal toplayıcı kanal; mineralokortikoidlere duyarlı bir mekanizma ile sodyumun geri Emilimini sağlar. Volüm eksikliği tablolarında ve aşırı aldesteron üretiminde idrar sodyumdan arındırılabilir. Potasyum sekresyonu; distal tubülün son kısmında başlar ve toplayıcı kanal boyunca devam eder. Ultrafiltrata süzülen potasyum; proksimal tubülünden neredeyse tamamı geri emildiği için idrarda çıkan potasyum distal kısımlardan salınır. Distal nefronda proton sekresyonu; bu segmentlerde bulunan bikarbonatın Emilmesini sağlar. Salınan proton fosfat ile tamponlanır ya da amonyum iyonları şeklinde atılır.

Toplayıcı kanallar; ADH'nin başlıca etkilediği yerlerdir. Bunlar ADH yokluğunda suya karşı çok az geçirgendir ve ADH olmadan distal tubülden çıkan hipotonik sıvı hiçbir değişime uğramadan idrara verilebilir. Prostaglandinler; toplayıcı kanalda ADH etkisini blokajı dahil birçok mekanizmayla distal su geri Emilimini bozar. Nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar; prostaglandinleri bloke ederek renal su atımını bozarlar.

Böbreklerin idrar oluşumunun yanı sıra; suyun regülasyonu, vücut asit-baz ve elektrolit dengesinin sağlanması, toksik atıkların atılması, kan basıncının düzenlenmesi, hormon metabolizması ve glukoz metabolizması üzerine hemostatik işlevleri vardır. Böbrek vücuda alınan fazla sıvı ve solüt maddelerin eliminasyonundan sorumludur. Vücuttaki tüm elektrolitlerin dengesi böbrek tarafından yapılır. Tubüler sodyum, klor

emilimi ile su volümü ve ozmolar denge; tubüler potasyum sekresyonu ile potasyum konsantrasyonu; tubüler proton sekresyonu ile asit-baz dengesi; tubüler kalsiyum, magnezyum ve fosfat transportu ile bu elektrolitlerin dengesi sağlanır. Üre, kreatinin gibi atık maddeler glomerüler filtrasyon; üre, laktat ve bazı ilaçlar (diüretikler) tubüler sekresyon yoluyla vücuttan uzaklaştırılır. Hipofiz hormonlarının çoğu ve insülin, glukagon gibi peptid hormonlar glomerüler filtrasyonu takiben böbrekte katabolizmaları gerçekleşir. Böbrek sodyum atılımındaki değişiklikler ile hücre dışı volüme etki ederek ve renin salınımıyla vasküler dirence etki ederek kan basıncını düzenler.

Renin üretimi, jukstaglomerüler hücrelerde; eritropoetin üretimi, böbreğin korteks hücrelerinde yapılır ve D vitamini aktivasyonu; böbrekte gerçekleşir. Böbrek uzun süren açlıkta; glukoneogenez yoluyla plazma glukozunun regülasyonunda da rol oynar [28, 29].

*Bu son idrarın başlıca özellikleri şunlardır:* Normal koşullarda 0°C'de idrar dansitesi 1015-1025 arasındadır. Yani plazmaya göre hipertondiktir. İdrar dansitesi genellikle idrar miktarı ile ters orantılıdır. Böbrekler, fizyolojik koşullarda; organizmanın hidrasyon durumuna göre idrarı dilüe (1001-1002'ye kadar) ve konsantre (1035- 1036'ya kadar) etme yeteneğine sahiptir. İdrar dansitesi; 1008-1010 civarında ise izosmotiktir. İdrar pH'sı sabit olmayıp, belirli sınırlar içinde değişir. Böylece asit-baz dengesinin regülasyonunda rol oynar. Normal beslenen bir insanın idrar pH'sı 6.2 civarındadır. Ayrıca 4.8'e inemediği gibi 8.2'ye kadar da çıkabilir [25].

Böbreğin fonksiyonları genel olarak özetleyecek olursak;

**a- Yabancı maddelerin ve metabolik yıkım ürünlerinin atılması;**

Metabolizma sonucu oluşan üre, kreatinin, ürik asit, bilirubin gibi ürünlerin ve hormon metabolitlerinin hızlı bir şekilde organizmadan uzaklaştırılmasını sağlar.

Özellikle tubüller; vücut için zararlı olan ve idrarla atılan maddelerin kandan tubül lümenine atılmasını sağlayarak, homeostaza önemli ölçüde katkıda bulunurlar [19].

**b- Su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi;**

Böbreklerin birincil fonksiyonu; vücuttaki su ve inorganik maddeleri dengede tutarak bu yapıların ekstrasellüler sıvıdaki konsantrasyonlarını sabit tutmaktır. Homeostazın devamı için; elektrolitlerin ve suyun atılması ile alınan miktarları arasında tam uyum olmalıdır. Eğer alınan, atılanı aşarsa o maddenin miktarı artar; eğer atılan alınandan fazla ise; o maddenin vücuttaki miktarı azalır [19].



Su ve birçok elektrolitin alınması, genellikle kişinin yeme ve içme alışkanlığına bağlı olarak değişir ve böbrekler atım işleminin hızını, bu alışkanlığa bağlı olarak dengede tutar. Vücuttaki sodyum, potasyum, klor, bikarbonat gibi bazı inorganik iyonların düzenlenmesinde temel rol oynar [19].

**c- Asit-Baz dengesinin düzenlenmesi;**

Böbrek;  $H^+$  iyonunun uzaklaştırılmasında ve  $HCO_3^-$  konsantrasyonunun kontrolünde önemli rol oynar; vücut sıvılarının tampon stoklarını düzenleyerek, akciğer ile birlikte asit-baz dengesinin ayarlanmasına katkıda bulunur. Protein metabolizmasından türeyen sülfürik ve fosforik asit gibi uçucu olmayan toksik asitlerin de uzaklaştırılmasında önemlidir [19].

**d- Arteriyel kan basıncının düzenlenmesi;**

Böbrekler, arteriyel kan basıncını; daha çok  $H_2O$  ve  $Na^+$  dengesini kullanarak ayarlar. Sodyum dengesi; hem kardiyak atımın hem de uzun dönemde arteriyel direncin kritik belirleyicisidir. Ayrıca böbrekler, kan basıncının düzenlenmesinde; enzim, protein ve peptitlerden oluşan bir hormon kompleksi olan renin-anjiyotensin sisteminde endokrin bir organ gibi görev yapar [19].

**e- Hormon üretimi ve sekresyon;**

Böbrekler; renin, eritropoietinin sentez ve salınımını yapan önemli endokrin organlardır. Renin salgısıyla, renin-anjiyotensin sistemini aktive ederek, kan basıncını düzenlerler. Ayrıca kemik iliğinde eritropoietin adı verilen bir hormon salgılayarak eritrosit yapımını uyarırlar. Kronik böbrek yetersizliğinde; azalmış kemik iliği aktivitesi aneminin önemli nedenlerindedir [19].

**f- 1,25-Dihidroksi Vitamin D<sub>3</sub> Yapımının Düzenlenmesi:**

Böbrekler, bu vitaminin 1. pozisyonuna bir hidroksil ilave ederek, vitamin D'nin aktif şeklini; 1,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub>'ü (kalsitriol) yaparlar.

Kalsitriol; kemiklerde normal kalsiyum depolanması ve gastrointestinal sistemden kalsiyum emilimi için gereklidir. Böbrek yetmezliğinde; kalsitriol yapımı azalacağından, kalsiyum emiliminin azalmasına bağlı olarak, anormal kemik formasyonları oluşur [19].

**g- Glikoz Sentezi:**

Karaciğer ve böbrek hücreleri; glukoneogenez için gerekli bütün alt yapıya sahiptir. Olay, bu hücrelerin mitokondrilerinde başlar ve sitoplazmasında son bulur. Uzun süreli açlık esnasında; böbreklerin kana glikoz ilave etme kapasitesi neredeyse karaciğerinkiyle yarışır. Kronik böbrek hastalıklarında veya akut böbrek yetersizliğinde

bu fonksiyon bozulmakla birlikte; vücut sıvı hacmi ve bileşiminde ciddi bozukluklar ortaya çıkar [19].

## 2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı

İskemi; böbrek transplantasyonu, şok, kardiovasküler cerrahi, parsiyel nefrektomi gibi çeşitli nedenlerle bir organa gelen kan akımının yetersiz olmasına ya da durmasına denir. Doku iskemi neticesinde hipoksik kalır ve hipoksiye bağlı doku hasarı ortaya çıkar. Hücre bütünlüğü iskeminin uzun sürmesi sonucunda kaybolur ve hücrel ölüm meydana gelebilir. Dokuda kanlanmanın yeniden başlamasına ise; reperfüzyon denir. Kan akımının iskemik bir dokuda yeniden başlaması ile birlikte özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin etkisi dokudaki yıkımı artırma yönündedir. Bu olaya; reperfüzyona bağlı doku hasarı denir [32]. Hücrede oksidatif hasarı önleyen, yok eden ya da kısmen azaltan mekanizmalar mevcuttur.

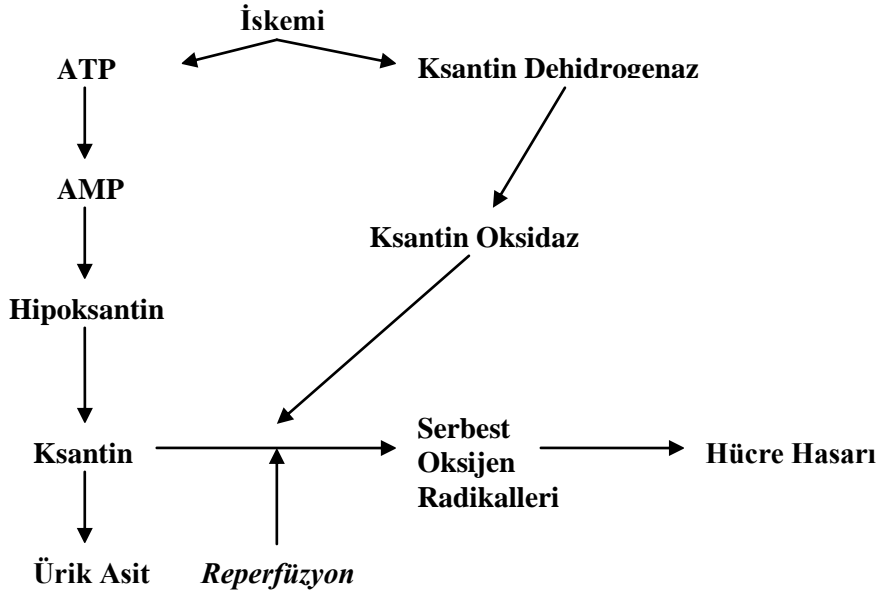
İskemi-reperfüzyon hasarını önlemedeki amaç; doku hasarına yol açan olayın etkisiyle tetiklenen biyokimyasal mekanizmaları, external yolla verilen maddelerle bir ya da birkaç basamakta engelleyerek organizmaya yardımcı olmaktır.

Organlarda; hücre ve doku hasarı geçici bir süre iskemi ve hipoksi sonrası gelişebilir. İskeminin düzelmesiyle; reperfüzyona bağlı olarak ilave hasar gelişir. İskemi-reperfüzyon hasarı; en az iki komponenti olan, kompleks olaylar zinciri olarak bilinmektedir [33-36]. İskemi-reperfüzyon hasarı (İRH), son yıllarda önemi giderek artan bir konu olmuştur. Transplantasyon alanındaki gelişmeler en önemli nedenidir. Bilindiği gibi organ transplantasyonlarında alınan organ, soğuk solüsyonlarda (4 °C) saklanarak nakledilmektedir. İmplantasyona kadar geçen sürede soğuk ve sıcak iskemi travması; greftte hasara sebep olmaktadır. Bu etkileri minimale indirmek, prezervasyon zamanını uzatmak için yıllardır çalışmalar yapılmaktadır.

Bu nedenle reperfüzyon hasarını tanımak ve önlem almak önem kazanmaktadır. Çok sayıda farklı klinik durumlarda; nefron koruyucu cerrahi, böbrek transplantasyonu, mezenter arter tromboembolisi, distal aorta embolisi, miyokard infarktüsü, serebro vasküler tromboemboli, hipovolemik şok, sepsis gibi durumlarda İRH gelişmektedir. Son yıllarda gelişen yaşam destek sistemleri ile hastaların hayatta kalma süresi uzatılmaktadır. İRH'nın önlenmesi veya tedavisinin mümkün olması ile yukarıda sayılan klinik durumlarda tedavi şansı artacaktır. İRH'da hem iskemi safhasının hem de

reperfüzyon safhasının farklı bilinmeyenleri mevcuttur. Her şeye rağmen bazı bilgiler klinik kullanımdadır.

### 2.2.1. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Patofizyolojisi

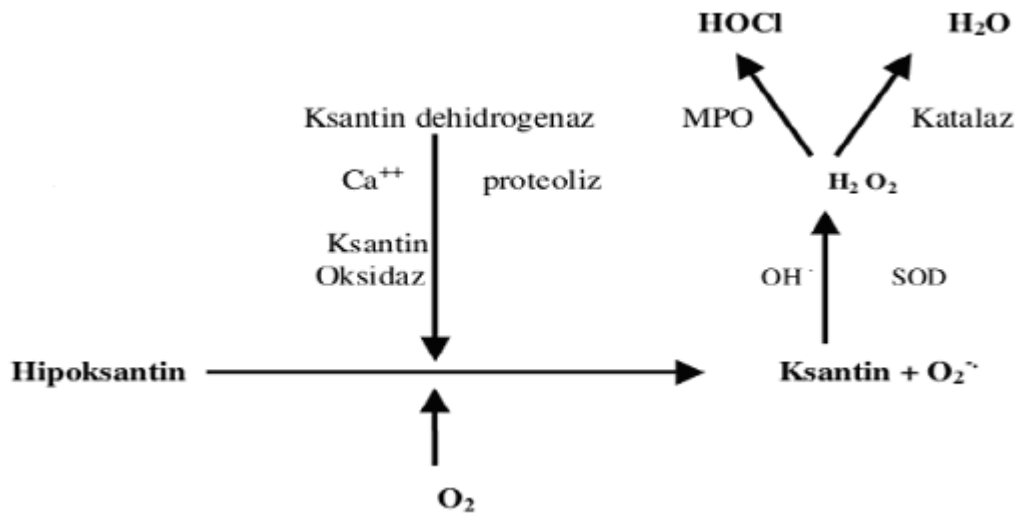


Şekil 8. İskemi perfüzyon hasar oluşum mekanizmaları [37]

Vücutta farklı organların iskemiye karşı verdikleri cevap temelde aynıdır. Ancak organlara özgü bazı farklılıklar vardır. Metabolizma hızına bağlı olarak her organın süre bakımından iskemiye duyarlılığı farklıdır. Hücrede respirasyon ve oksidatif fosforilasyon; doku iskemisine bağlı durur. Adenosin trifosfat (ATP) başta olmak üzere yüksek enerjili fosfatlar yıkılmağa başlar. Başta süperoksit anyonu olmak üzere serbest oksijen radikalleri (SOR) hücre hasarına sebep olmaktadır (Şekil 2.9). SOR'nin hidrolitik özellikli lizozomal enzimleri açığa çıkarmasıyla; hücre membranında lipid peroksidasyonu başlar (Şekil 2.8). Tablo 2.1'de SOR açığa çıkaran kaynaklar görülmektedir [37].

**Tablo 1.** Serbest oksijen radikal kaynakları [37]

1) Mitokondriyal elektron transport zincirinden sızıntı
2) Lökositler, trombositler, makrofajlar
3) Sitokrom oksidaz
4) Ksantin ve Ksantin oksidaz reaksiyonu
5) Katekolamin oksidasyonu
6) Kupffer hücreleri



**Şekil 9.** İskemik dokuda serbest oksijen radikalleri üretimi [38]

(HOCl: Hipokloröz Asit, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen peroksit, OH<sup>-</sup>: Hidroksil iyonu, O<sub>2</sub><sup>-</sup>: Süperoksit anyonu)

Bu olaylar zincirinde; kısır döngünün oluşmasında, lökosit ve trombositler önemli rol oynamaktadır. Bir kısım araşidonik asit metabolitleri hücre hasarına sebep olurken, bir kısım araşidonik asit metabolitleri ise; sitoprotektif rol oynar. Ancak net etki; hücre hasarı yönündedir. İRH'da tek sorumlu SOR'lar değildir. Kalsiyum iyonu hem kendisi direk, hem de diğer mekanizmaları uyararak iskemi ile birlikte zararlı olmaktadır (Şekil 2.9). Araşidonik asit metabolitlerinin İRH'da önemli rolleri vardır. Görüldüğü gibi; tüm metabolitler zararlı etki göstermemektedir. Hatta; Prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) ve analogları İRH profilaksisinde, tedavisinde kullanılmaktadır. Prostaglandin E<sub>2</sub> hakkındaki düşünceler farklılık göstermektedir.

Şiddetli hücre hasarı yapan bir metabolit de; Tromboksan A<sub>2</sub> (Tx A<sub>2</sub>) dir. Hücre membranında mevcut bulunan fosfolipidler aktive edildiğinde; tüm metabolitler ortaya

çıkırsa da, genelde Tx A<sub>2</sub> etkisi ağır basar. Net olarak sonuçta; araşidonik asit şelalesinin etkisi oku hasarı yönündedir. Platelet aktive eden faktör (PAF) de bağımsız bir mekanizma ile hücre hasarına sebep olur. PAF; trombosit agregasyonu, nötrofil aktivasyonu, SOR salınımı, vasküler endotel hasarı ve vazospasm etkileri Tx A<sub>2</sub>'e benzerdir. Aslında belirtilen tüm bu mekanizmalar iç içe ve birbirini bir kısır döngü oluşturacak şekilde birbirlerini uyarırlar.

Lökositler, trombositler, makrofajlar bu mekanizmanın merkezinde bulunmaktadır. Bu hücreler iki şekilde etkili olmaktadır:

a) Belirtilen mediyatörlerin etkisi ile aktifleşmekte ve inflamatuvar cevap ile birlikte doku hasarına sebep olmaktadır.

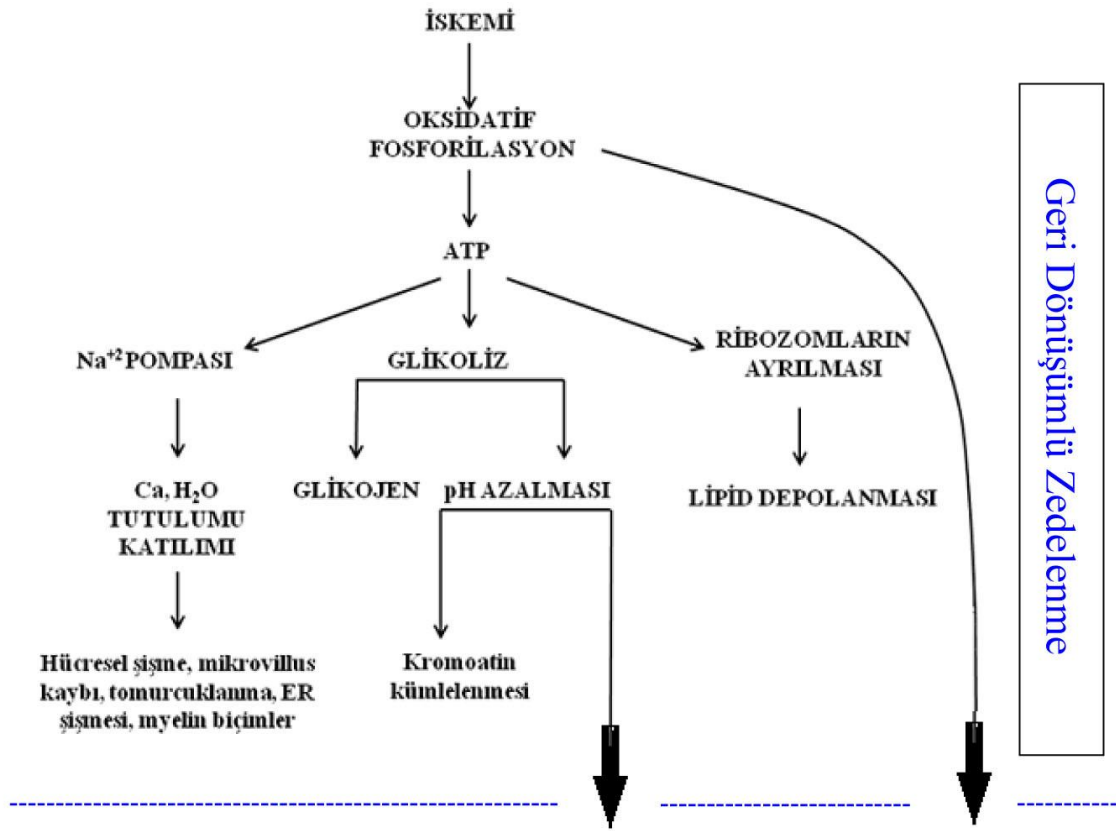
b) Kendileri başka mediyatörler salgılayarak doku hasarını ağırlaştırmaktadır. Tablo 2.2'de İRH'da rol alan mediyatörler görülmektedir [37].

**Tablo 2.** İskemi reperfüzyon hasarında rol alan mediyatörler [37]

1) Serbest Oksijen Radikalleri
2) Platelet Aktive eden Faktör
3) Prostaglandin E <sub>2</sub>
4) Lökotrienler
5) Tromboksan A <sub>2</sub>

Hücrel hasar; iskeminin süresine ve şiddetine bağlı olarak iki türlü ortaya çıkar:

## 2.2.2. Geri Dönüşümlü Zedelenme



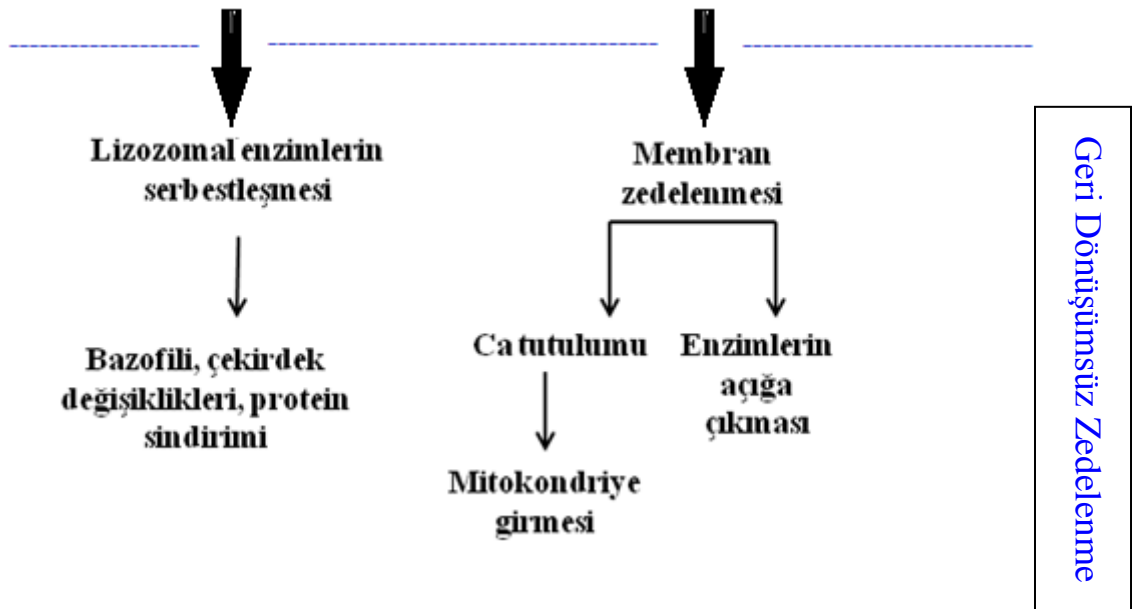
Şekil 10. Geri dönüşümlü zedelenme [39]

Hücrenin aerobik solunumu; iskeminin ilk zarar verdiği yerdir. Mitokondrideki oksidatif fosforilasyon oluşan bu hipoksi ile engellenir. ATP oluşumu yavaşlar ve durur. ATP kaybı hücre içinde çeşitli sistemleri yaygın olarak etkiler. Özellikle; hücre zarındaki quabain duyarlı ATP aktivitesinin azalması, zarda aktif sodyum pompasının yetersizliğine yol açarak, hücreden potasyumun dışarı atılımı ve hücre içi sodyum birikimine yol açar. Akut hücresel şişmesi; solid materyalin birikimine izootmotik su birikiminin eşlik etmesi sonucu oluşur [32]. Glikolitik yol iskeminin ilk dakikalarında aşırı stimüle olarak ortamda; sitrat, laktat, nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) birikimi ve doku asidozunun gelişmesiyle inhibe olur.

Oksidatif fosforilasyonu desteklemek için var olan oksijen yetersiz kalır ve glikoliz sonucu oluşan piruvatın Krebs siklusuna değil de, laktata dönüşü gerçekleşir. Böylece glikojenden ATP oluşumu ile hücre enerji kaynakları korunur. Glikojenin hızla azaldığı PAS boyama ile histolojik olarak da görülebilir. Glikoliz aşamalarında, laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi sonucu oluşan inorganik fosfat birikimine neden olur.

Sonuç olarak hücre içi pH düşer ve asidoz gözlenir. Sonraki aşamada; granüllü endoplazmik retikulumlardan (GER) ribozomlar ayrılır ve polizomları monozomlara parçalanır.

Hipoksinin devam etmesi durumunda zar geçirgenliği artar ve mitokondri fonksiyonları azalır. Hücre yüzeyinde tomurcuklanmalar oluşur. Organel zarları gibi plazmadan köken alan, konsantrik laminalı myelin figürler sitoplazma veya sitoplazma dışında şekillenir. Bu esnada mitokondriler normal, şişmiş ya da yoğunlaşmıştır; tüm hücre belirgin olarak şişmiş ve GER genişlemiştir. Tüm bu bozukluklar oksijen verilince geri dönüşlüdür. Buna rağmen iskemi sürerse, geri dönüşsüz zedelenme oluşur[35] (Şekil 2.9).



Şekil 11. Geri dönüşümsüz zedelenme [39]

### 2.2.3. Geri Dönüşümsüz Zedelenme

Geri dönüşümsüz zedelenme; yapısal olarak lizozomlarda şişme, plazma zarında aşırı zedelenme, mitokondri ve kristalarında aşırı vakuolizasyon; özellikle iskemik alan yeniden beslenirse hücre içi yoğun kalsiyum tutulumu ile birlikte dir.

Amorf kalsiyumdan zengin yapılar; mitokondri matriksinde gelişir.

Geri dönüşsüz zedelenmelerin erken bulguları; 30-40 dakika sonra mitokondride görülebilir. Temel koenzimler, ribonükleik asitler (RNA) ve proteinler; aşırı geçirgen

zarlardan sürekli kaybedilir. Hücreler; hücre içi yüksek enerjili fosfatın yapımında kullanılacak ATP'nin yeniden oluşumu için çok önemli olan metabolitlerini de kaybederler. pH'nın düşmesi, lizozom zarlarının zedelenmesiyle; enzimlerinin sitoplazmaya geçerek, asit hidrolazların aktifleşmesiyle, çekirdek ve sitoplazmik yapıların sindirimi gerçekleşir. Hücre organelleri; hücre ölümünü izleyerek, devamlı parçalanır ve hücre sel enzimler hücre dışı mesafeye sızarlar. Sonuç olarak ölü hücreler myelin oluşumlar ve fosfolipidden oluşan büyük kütlelere dönüşürler. Bunlar; ileriki safhada, diğer hücreler tarafından fagosite edilirler veya yağ asitlerine parçalanırlar. Kalsiyum sabunları bu yağ asitlerinin kalsifikasyonu ile oluşur [36].

Kalsiyumun hücre içine girişiyle kalsiyumdaki net artış hücrenin iyonik dengesi bozulur. Bundan sonra kalsiyum mitokondri içine sızmaya başlar. Mitokondrinin kalsiyumla yüklenmesi sonucu; hücre membranındaki proteazlar ve fosfolipazlar aktive olur. Hücre membranında fosfolipazların aktivasyonu, serbest yağ asidi ve lizofosfolipidlerin salınımına bağlı olarak toksik etkiler oluşur. Bu etkilerle beraber; reperfüzyon sırasında araşidonik asit metabolizması başlatılarak, sitotoksik ürünler üretilir. Proteazların aktive edilmesi; hücre iskeletinin parçalanmasına neden olur. Enzim sisteminde değişimler olurken; yine

reperfüzyon esnasında, SOR'un oluşumu gerçekleşir ve hatta artar. Reperfüzyon hasarı için; iskemi sırasında oluşan hasarın başlangıç noktası olduğu saptanmıştır [40].

Reperfüzyon hasarının bilinen üç bileşeni mevcuttur; **1)** mikrovasküler hasar, **2)** hücre nekrozu, **3)** hemoraji.

Reperfüzyon hasarı, iskemiye maruz kalan her organda görülür. Reperfüzyon hasarı biyokimyasal olayların oluşumuyla kendini gösterir ve sonuçta süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi SOR'ların yanında kalsiyum artar ve sarkolemmaya ait fosfolipidlerin kaybı meydana gelir [41].

Reperfüzyon hasarında en önemli rolü polimorfonükleer lökositler oynar. Polimorfonükleer hücreler; iskemik dokuya gelir ve yerleşirler, birçok yoldan etki ederek iskemik dokuyu yok ederler. Polimorfonükleer hücreler; iskemik dokuya L-selektin, vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1), intersellüler adezyon molekülü (ICAM-1), endotel lökosit adezyon molekülü (ELAM-1) gibi adezyon moleküllerine tutunarak yerleşirler [42].

Bu hücreler; hem oksidatif (oksijen radikalleri ile) hem de nonoksidatif yolla iskemik dokuyu tahrip ederler. Nötrofil granülleri, birçok hidrolitik enzim ve antimikrobiyal polipeptid içerikleriyle; vasküler yaralanmaya neden olurlar [43].



İskemik doku gerçekleşen, polimorfonükleer hücreye bağımlı yıkımda; fosfolipaz ürünleri tromboksan A, prostoglandin E2, lökotrien C4, D4, B4 ve platelet aktive edici faktör (PAF) üretilir. Tüm bu maddeler çeşitli yollardan doku hasarını artırır [43, 44].

#### 2.2.4. Hücre İçi Kalsiyum Artışı

İRH'nın tek sorumlusu SOR'leri değildir. Hücre içi kalsiyum iyonu; iskemi ile birlikte, hem kendisi hem de diğer mekanizmaları uyarak zararlı olmaktadır [45-47].

İskemi sırasında ilk başta membran potansiyeli azalır ve hücre membran permeabilitesi artar. Bu durumda; hücre içine kalsiyum girer [48]. Kalsiyum reseptör veya voltaj bağımlı kanallardan, sodyum veya hidrojen iyonu ile değişerek geçer veya hasarlı hücre membranından direkt olarak geçer [49-51].

Normalde; kalsiyumun %60-70'i intrasellüler organellerde, %10 – 20'si sitozolde serbest ve %10'u hücre membranına bağlı olarak bulunur [52]. Biyolojik olarak aktif form; serbest kalsiyumdur. Kalsiyum; iskemi sonucunda hücre içinde yeniden dağılır ve hücrede kalsiyum birikimi gözlenir. Mitokondriyel solunum fonksiyonu; hücre içi kalsiyumun artması sonucu bozulur ve ATP azalır. Hücre içi yüksek fosfatlı enerji kaynaklarının azalması ile aktif transport mekanizmalarını hasarlar. Sonuçta; hücre içi kalsiyum daha da artar ve artmış permeabilite sonucu; membran fosfolipazları aktive olur [36]. Kalsiyumun regülatör proteini; kalmodulindir ve fosfolipaz aktivitesini de kontrol eder. İskemi sırasında kalmodulin metabolizması değişebilir [53]. Kalsiyum; sitozolik serbest yağ asitlerini artırır ve serbest yağ asitleri hücre membranında deterjan etkisi gösterir. Ayrıca aktin ve mikrotübül destruksiyonu sonucu kalsiyum organellerinin hücresel yapısını bozar [54, 55]. Oluşan serbest radikaller ve kalsiyum ile birlikte hücre lipidleri hücre membranını yıkar. Bunlara ek olarak; hücre içi enzimlerinin fonksiyonlarını bozar [56]. NADPH'nin NADP<sup>+</sup>ye oksidasyonu sırasında serbest oksijen radikalleri oluşur. Bunlar; hidroksil iyonu (OH<sup>-</sup>), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve diğerleridir.

Normal koşullarda oluşan serbest radikaller de hücreye zararlıdır fakat glutatyon peroksidaz enzimi ile etkileri önlenmektedir. Ancak; serbest oksijen radikallerinin yapımı limitli oksijen varlığında belirgin artar. Serbest radikaller; lipid peroksidasyonuna, Ca<sup>+2</sup> ise; mitokondrial disfonksiyona neden olur [57].

### **2.2.5. Serbest Oksijen Radikalleri**

Serbest oksijen radikalleri (SOR); dış yörüngesinde tek sayıda serbest elektron bulunan, kimyasal olarak reaktif atom veya moleküllerdir. Organizmada, süperoksit ve hidroksil gibi serbest radikallerin yanında; hidrojen peroksit ve hipokloröz asit gibi radikal olmayan ancak serbest radikal oluşturma potansiyeli bulunan, zararlı oksijen türevleri de oluşabilmektedir [58, 59]. Aerobik canlılarda belirli oranlarda SOR oluşmaktadır. Fagositik hücrelerin yabancı mikroorganizmalara karşı savunma mekanizmalarında önemli rol oynarlar. Paylaşılmamış elektronlarından dolayı serbest radikalleri; protein, karbonhidrat ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek bu moleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar [60]. Serbest oksijen radikallerinin, hücre bileşenleri ile oluşturdukları reaksiyonlar şunlardır:

#### **2.2.5.1. Karbonhidratlar**

Serbest radikaller; polisakkarit polimerizasyonunda artışa neden olurlar. Glukoz gibi monosakkaritlerin oto-oksidasyonu sonucu; hidrojen peroksit, diğer peroksitler ve oksialdehitler oluşur. Böylece moleküler yapı bozularak işlevini kaybeder [61].

#### **2.2.5.2. Nükleik asitler**

Serbest radikaller; DNA zincirinde kırılmalar meydana getirirler ve DNA hasarı sonrası aktive olan polimeraz enzimi ile reaksiyona girerek, DNA'nın onarımına engel olurlar [60].

#### **2.2.5.3. Proteinler**

Serbest radikaller; aminoasitler ile reaksiyona girerek protein yapısındaki enzimlerin spesifik aktivitelerini ortadan kaldırır. Protein bağlanma ve enzim aktivitelerinde farklılaşma ortaya çıkan hücrede, fonksiyonel bozukluklar oluşturur [62].

#### **2.2.5.4. Lipidler**

SOR; hücre membranlarındaki kolesterol ve doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek, lipid peroksidasyonunu başlatırlar [63, 64]. İskemi-reperfüzyon hasarı sonucunda; serbest oksijen radikalleri aracılığı ile oluşan lipid peroksidasyonunun hücre membranı için, önemli yıkıcı etkileri olduğuna inanılmaktadır [63, 64]. Poliansatüre yağ asitleri, membran bütünlüğünü bozmaktadır. Hücre membranının akışkanlığının ve geçirgenliğinin değişimine lipid peroksidasyonu; neden olur.

Sonuçta membran proteinleri de indirgenir ve tüm bu süreç reperfüzyon hasarı sonucunda oluşan hücre ölümüne yol açan önemli etkenlerden sayılmaktadır. Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunun doku ve plazmadaki son ürünüdür. Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda lipid peroksidasyonunun belirteci olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Postiskemik endotelyum; süperoksit radikalinin ana kaynağıdır. Normal şartlarda süperoksidin zararlı etkileri süperoksit dismutaz (SOD) tarafından engellenir. Süperoksidi hidrojen perokside dönüştüren enzim SOD'dır. Bu doğal savunma mekanizması reperfüzyon esnasında eksiktir. Böylece hidrojen peroksit, membran transport proteinleri, aminoasitler, sitokrom enzimleri ve nükleik asitlere oldukça zararlı olan hidrosil radikaline dönüşür [65]. Günümüzde iskemi-reperfüzyon hasarının azaltılmasına yönelik çalışmaların çoğu; serbest oksijen radikallerinin temizlenmesi üzerine odaklanmıştır. Ancak; pratikte rutin kullanıma geçecek etkin bir madde bulunmuş değildir [66].

#### **2.2.5.5. Nitrik oksit**

Nitrik oksit (NO) için en önemli kaynak endoteldir. İskemi-reperfüzyon hasarına karşı oldukça iyi bilinen mediatör ve koruyucu NO'dur [67]. L-argininin, guanidyum grubundan NO sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile sentezlenen NO; diatomik serbest radikaldir [68].

NO; normal vasküler permeabilitenin devamı, vasküler tonusun fizyolojik regülasyonu, oksijen derive serbest radikallerin temizlenmesi, platelet agregasyonun inhibisyonu, endotele lökosit adezyonunun engellenmesi, düz kas proliferasyonunun

engellenmesi, immün defansın güçlendirilmesi ve endotel hücrelerinin rejenerasyonu gibi birçok hayati olayda etken bir maddedir [69, 70].

NO salınımında ciddi azalma durumunda ise; etkilenen endotelyumda oluşacak iskemi-reperfüzyon hasarı artacaktır. Ancak; NO sentezinin engellenmesinin mekanizması net değildir.

### **2.2.6. İskemik Ön Koşullanma**

İskemik ön koşullanma; hücre veya dokuların iskemi ve reperfüzyona kısa süreli maruz kalması ve sonrasında daha uzun süreli iskemi ile oluşan doku hasarında belirgin olarak azalma oluşturan bir fenomendir [71]. 1986 yılında Murry ve ark. tarafından, iskemik ön koşullanma ilk kez köpek myokardında gösterilmiştir.

İskemik ön koşullanmanın, myokardda ilk defa gösterilmesinden sonra yapılan çalışmalar; bu fenomenin beyin, spinal kord, iskelet kası ve karaciğer gibi organlarda da oluşabileceğini bildirmektedir. Akciğerde iskemik ön koşullanmanın koruyucu etki yapabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur [72, 73]. Bu planlanmış kısa iskemi periyodları ve reperfüzyon epizodları sayesinde; doku veya organ maruz kalınacak gerçek iskemiye daha dirençli hale getirilir. İskemik ön koşullamayı indükleyebilmek için gereken iskemik tekrarlar; türe ve organ sistemine özgüllük göstermektedir.

Literatürlerde; insan, sıçan, köpek ve tavşan kalbi için iskemik ön koşullanma oluşturan farklı sayıda iskemik tekrar protokolleri bulunmaktadır. İskemik ön koşullanmanın erken döneminde oluşan koruyucu etkinin süresi de türe özgü olarak değişiklik göstermektedir.

Tavşan kalbinde bu koruyucu etki 30 dakikalık reperfüzyondan sonra sonlanırken, bu sürenin; sıçan kalbinde bir saat, köpek kalbinde ise; iki saat olduğu bildirilmiştir. Türler arasında iskemik ön koşullanmanın geç dönemdeki koruyucu etkisinin ortaya çıkması için gereken zaman da farklılık göstermektedir.

Erken dönemdeki koruma için; ön koşullanmanın indüklenmesinden itibaren 3 saatlik bir koruma dönemini takiben 12- 24 saatlik korumasız bir dönem tanımı yapılır. Geç dönem korumanın ise; ön koşullanmanın indüklenmesinden 12-24 saat sonra başlayıp 72 saat sonra sona eren süre tanımlanmaktadır [73].

### 2.2.7. İ/R Hasarına Karşı Oluşan Savunma Mekanizmaları

SOR oluşumunu ve meydana getirdiği hasarı önlemek için birden fazla savunma mekanizmaları mevcuttur. Antioksidan olarak da adlandırılan bu savunma mekanizmalarının etkileri dört farklı şekilde olur.

Bunlardan ilki; serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması yani onarıcı etkidir. İkincisi ise; SOR'ni bağlayarak zincirlerini kırıp, fonksiyonlarını engelleyici etki yani zincir kırıcı etkidir. Hemoglobun, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler. Üçüncüsü ise; SOR'yle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme yani; bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler böyle bir etkiye sahiptirler. Dördüncüsü ise; SOR'ni etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme yani; toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller böyle bir etkiye sahiptirler. Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler.

### 2.2.8. İ/R Hasarına Karşı Başlıca Korunma Mekanizmaları

**a) Fizyolojik:** Süperoksit dismutaz, katalaz, NO gibi serbest radikal temizleyicileri

**b) Farmakolojik:** Mannitol, allopurinol, antioksidanlar, desferoksamin

**c) Fiziksel:** İskemik prekondüsyon, hipotermi

### 2.2.9. İskemi-Reperfüzyon Hasarının Önlenmesi ve Tedavisi

İRH'nın şiddeti; iskemi ile karşılaşma süresi ile ilişkilidir. Süre ne kadar kısa olursa; olayın şiddeti de o kadar az olmaktadır. Böbreğin güvenli bir şekilde sıcak iskemiye maruz kalma süresi; hayvan deneylerinde 20- 90 dakika arasında bulunmuştur [74-76].

Ancak; dönüşümsüz hasar riski 40 dakikanın üzerinde artmakta ve barsaklarda stazın varlığı İRH'nı artırmaktadır [76-78]. İskemi sırasında metabolizma hızının düşürülmesi; süre kadar önemli bir faktördür. Böbrek transplantasyonunda; greftin +4° C'de saklanması, metabolizma hızının soğukta yavaşlaması prensibine dayanmaktadır.

Soğukta bile, metabolizma tamamen durmadığı için, iskemik hasar zamanla paralel olarak az ya da çok gelişmektedir. Her greft implantasyonunda, İRH reperfüzyon başladıktan sonra değişik derecelerde gelişmektedir.

Ayrıca reperfüzyon hasarı, oksihemoglobin saturasyonunun %90'ın üstünde olursa şiddetlenebilir. Yukarıda bahsi geçen birçok fizyopatolojik mekanizmaları ve mediatörleri bloke eden çok sayıda kimyasal madde geliştirilmiştir. İRH'nın çok karmaşık ve çok parametrelili bir kompleks olması klinikte kullanım oranını azaltmıştır. Örneğin; deneysel olarak İRH'nı allopurinol'un önlediğini bildiren çalışmalar bulunduğu kadar, faydasını gösteremeyen çalışmalar da mevcuttur [74]. Çalışmalarda kullanılan iskemi modeli, kullanılan hayvanın cinsi, kimyasal maddenin iskemi başlamadan ne kadar zaman önce verildiği, dozu ve İRH'nın tesbit edilme yöntemi gibi birçok faktör çalışma sonuçlarını etkileyebilmektedir. Sitoprotektif etki gösterip, İRH'nı farklı mekanizmalar aracılığı ile önleyebileceği düşünülen kimyasal ajanlar Tablo 2.3'de özetlenmiştir [37].

## 2.3. Silymarin

### 2.3.1. Silymarinin Genel Bilgileri

Meryemana Dikeni olarak bilinen silymarinin (Şekil 2.12);

*Drog adı:* Herba Cardui mariae,

*Latince adı:* Silybum marianum, Carduus marianus,

*İngilizce adı:* St. Mary's thistle' dır.

Almanya'da, 'Meryem Ana'yı andıran bir dinsel sembol olarak görülen bu bitkiye; Kızılderililer ise, 'Deve Dikeni, Kutsal Diken, Okunmuş Diken' adını koymuşlardır.

1958'de başlayan ilk araştırmalar sonrası, yaklaşık 10 yıl sonra, Münih Üniversitesi'nden H. Wagner başkanlığındaki bir araştırma grubu silymarini bu bitkinin tohumlarından ayırmayı başarmışlardır [79-85].

Meryemana dikeni ve tohumları; 1-2 yıllık otsu bir olup, 1-1,5 m yüksekliğinde, gövdesi köşeli, seyrek tüylüdür. Meyveleri ise; 7 mm kadar uzunlukta esmer renkli uç kısımlarında 15mm kadar uzunlukta düsücü ve beyaz renkli bir tüy demeti bulunur. Kalsiyum karbonat birikmesinden dolayı rozet yapraklar beyaz renklidir. Tohumu; koyu

renkli, oval, farklı yüzeylere olup, 6 mm uzunluğundadır. Meryemana Dikeni; Akdeniz ülkeleri, Kuzey Afrika ve Güney Rusya'da yaygın olmasıyla birlikte; ülkemizde Ege ve Marmara bölgelerinde sıkça görülmektedir [79-85].



**Şekil 12.** *Silybum marianum* bitkisi ve tohumu [86]

Meryemana dikeni ve tohumları -Silymarin-; antik çağların iyice araştırılmış olan ve en eski bitkilerinden biri olup; hemen hemen 2000 yıldır karaciğer problemleri ilgili olarak kullanılır [79-85].

Silymarin; uzun yıllardır, karaciğer ve gastrointestinal sistem (GİS) hastalıklarının tedavisinde kullanılan, karaciğer ve safra hastalıklarına karşı koruyucu; kronik hepatit, siroz, sarılık ile kimyasal ve çevresel toksinler; yılan ve böcek sokması, mantar zehiri ve alkole karşı karaciğeri koruyan, hepatoprotektif, antikarsinojenik ve kanseroprotektif aktivite gösteren, hücre çoğalmasını arttıran, nörotoksinlere ve kardiyotoksinlere karşı koruyucu, östrojenik ve anti östrojenik etkileri olan doğal bir antioksidandır [79-85, 87, 88].

Bununla birlikte varis, adet sorunları, depresyon, yetersiz anne sütü üretimiyle ilgili faydalı etkilere sahip olduğu bilinmektedir [89-91].

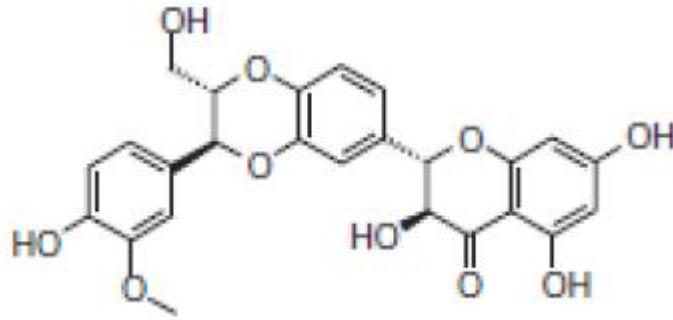
### 2.3.2. Silymarinin Farmakokinetiği

Silymarin; ‘Milk Thistle’ olarak da bilinmektedir ve *Silybum marianum* L. *Gaertn* (deve dikeni) bitkisinin yaprak ve tohumlarından elde edilir.

Silymarin; *Astraceae* (*Compositae*) familyasına ait polifenolik bir flavonoiddir ve molekül ağırlığı 482,44 g’dır.

7-kromanol-3-methyl-taxifolin yapısıyla ana bileşen olarak kabul edilir [92].

Silymarinin kimyasal formülü;  $C_{25}H_{22}O_{10}$ ’dir (Şekil 12).



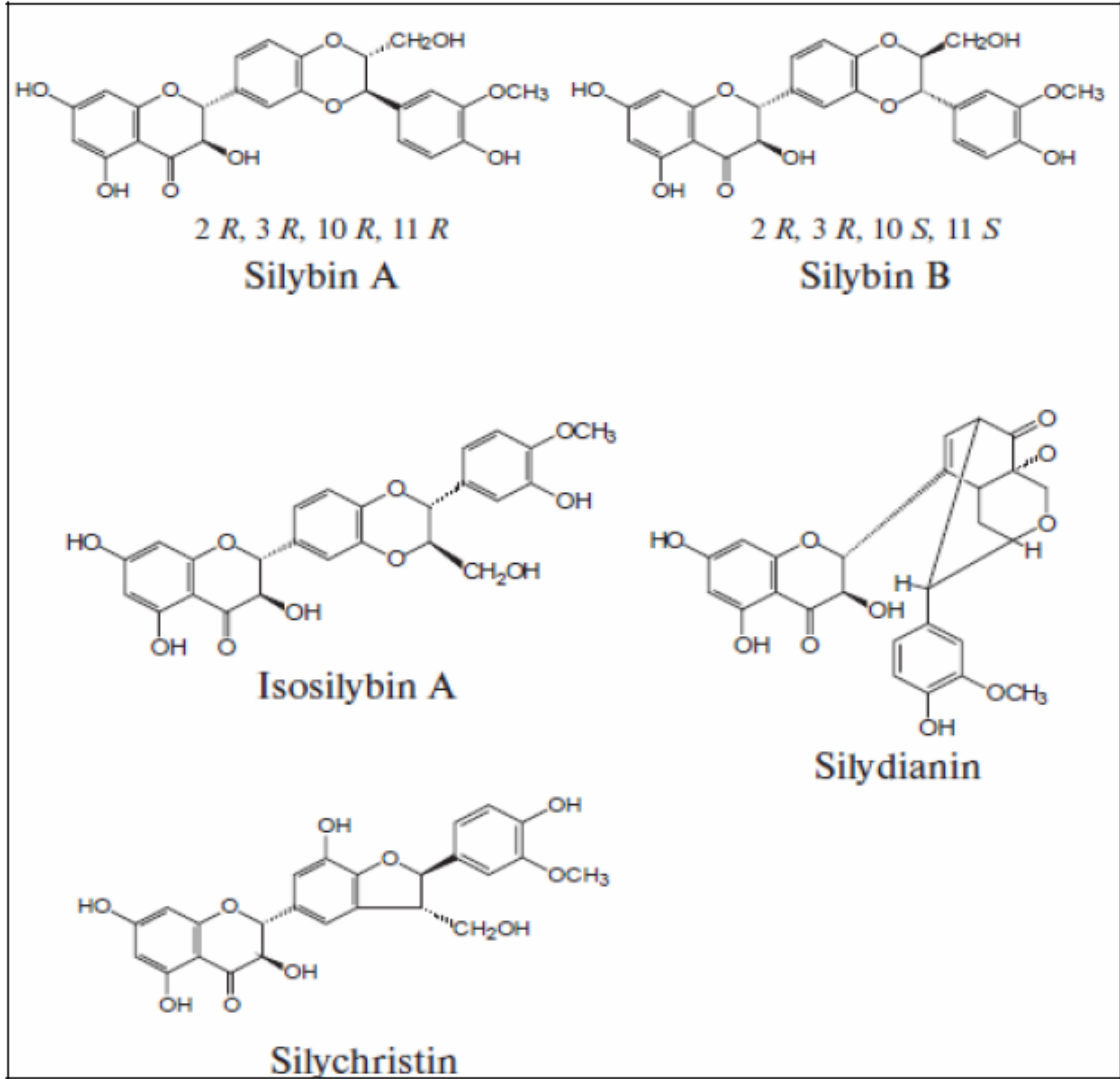
Şekil 13. Silymarinin kimyasal formülü [89]

Flavonoidler; benzo gamma-pyrone familyasına aittirler. Şu ana kadar bilinen 4000’den fazla farklı flavonoid vardır [87]. Silymarindeki bileşenlerin yapısı; 1960’lı yıllarda tanımlanmıştır.

Silymarinin ana maddesi; silybindir ve yaklaşık olarak %60’ını kapsar [87, 88, 92, 93]. Silybin, silymarin kompleksinin birincil ve en önemli bileşenidir. Silymarinin tüm farmakokinetik parametreleri; standardize edilmiş silybin olarak adlandırılır [94]. *Silybum marianum* bitkisinin aktif komponenti olan silymarinin standardize ekstraktı; yaklaşık %70-80 silymarin, flavonolignanlar (Silybin A ve B, isosilybin, silydianin, silychristin) (Şekil 12), flavonoidler (taksifolin ve kuersetin), %20-30 oksidize polifenolik ve polimerik bileşenleri içeren tanımlanmamış izomerlerinin kompleks fraksiyonunu içerir [88, 90]. *Silybum marianum*’un tohumlarında bulunan diğer



flavonolignanlar ise; dehydrosilybin, desoxysilychristin, desoxysilydianin, silandrin, silybinome, silyhermin ve neosilyhermindir [92, 95, 96].



Şekil 14. Deve dikeninde bulunan maddelerin kimyasal formülleri [97]

Silybum tohumları; kanıtlanmış bir hepatoprotektif madde olan, betaine ve esansiyel yağ asitleri de içerir. Bu maddeler; silymarinin antiinflamatuvar etkisine katkıda bulunmaktadır [98].

### 2.3.3. Silymarinin Dozajı / Toksisitesi

Silymarin; suda çözünürlüğü düşük (0.04 mg/ml) rapor edilmektedir. Silymarin, suda çözünürlüğü düşük olsa bile, hiçbir lipofilik özelliğe sahip değildir [99]. Standart

kapsüllenmiş bitki ekstresi olarak kullanılır (%70-80 silymarin). Hayvanlarda, silymarinin yüksek dozda kısa ve uzun süreli kullanımında, herhangi bir yan etki gözlenmemiştir. İnsan çalışmalarında da genelde yan etki saptanmamıştır. Erişkinler için; silymarin dozu iki veya üç bölünmüş doz halinde 240-900 mg/kg/gün'dür. Daha yüksek dozlarda (>1500 mg/gün) silymarinin, laksatif ve safra sekresyonunu ve akımını arttırıcı etkisi oluşmaktadır. Hafif alerjik reaksiyonlar bildirilse de, hiç biri tedavi kesilmesini gerektirecek düzeyde olmamıştır [100].

Ağız yoluyla kapsül halinde alındığında, sindirim kanalından (karaciğer, mide, bağırsak, pankreas) yayılma gösterir. Silymarin; oral olarak alındığında hızlı bir şekilde 6 saat içinde emilir ve kanda maksimum seviyeye ulaşır. Oral silymarinin %20-50'si büyük miktarda gastrointestinal kanaldan enterohepatik dolaşıma geçerek emilir. Silymarinin gastrointestinal kanaldan emilim düşük olması nedeniyle biyoyararlanımı düşüktür [94].

Plazmadaki en yüksek değeri; hem insan hem de hayvan safra tuzlarında, alımından sonraki 4-6 saat arasında bulunur. Silybin ve silymarinli bileşenler; karaciğerde sülfat ve glukronik asitle hızla konjuge olurlar. Konjugatlar; plazmaya ve safraya geçerler. Bulgulara göre, silymarinin enterohepatik dolaşımı; bağırsakta emilim, karaciğerde konjugasyon, safradan salınım, bağırsak florası tarafından hidroliz, bağırsaktan tekrar emilim şeklindedir [87].

Wu ve ark. rat plazmasında silymarinin (silybin olarak standardize edilmiş) oral biyoyararlanımını %0.73 olarak bildirmektedirler [94].

Silymarinin sınırlı biyoyararlanımının başlıca dört nedeni;

- 1- kapsamlı faz II metabolizması,
- 2- bağırsak epitel hücreleri arasında düşük geçirgenlik,
- 3- suda düşük çözünürlüğe sahip olması (0,5 g/L),
- 4- safra ve idrarla hızlı atılımıdır [101].

Silymarin temel olarak safrayla, az bir miktarı da idrarla atılır. Silymarinin yarılanma ömrü yaklaşık olarak 6-8 saattir [87, 102]. Silymarinin toksitesi oldukça düşüktür ve embriyo toksik özellikleri yoktur. Silymarinle yapılan akut toksite çalışmalarında letal doz (LD<sub>50</sub>) değerleri farede 400 mg/kg, sıçanda 385 mg/kg, tavşan ve köpekte ise 140 mg/kg olarak bulunmuştur ve bu değerler infüzyon hızıyla orantılıdır [87, 102].

Silymarin ve silybinin yan etkisinin çok az olduğu, kullanımının güvenilir olduğu ifade edilmektedir. Yapılan çalışmalarda; gastrointestinal semptomların en fazla

görülen yan etkiler olduğu belgelenmiş, aynı zamanda; dermatolojik semptomlar ve baş ağrıları da saptanmıştır.

*In vivo* çalışmalarda; genellikle, silybinin düşük çözünürlüğü nedeniyle toksik konsantrasyonuna ulaşmanın neredeyse imkansız olduğu belirtilmektedir.

*In vitro* çalışmalarda ise; silybin ve flavonoligantlarının aşırı dozunun sitokrom P450 (CYP) izoenzimlerinin katalitik aktivitelerini inhibe ettiği gösterilmiştir [79-85]. Silymarinin temel aktivitesi polifenolik içerenlerinin antioksidan etkisidir. Bu yüzden bu konudaki çoğu çalışma silymarin ve silybin üzerine odaklanmıştır [103]. *In vivo* ve *in vitro* çalışmalarda çeşitli toksinlere karşı koruyucu etkisi çeşitli organ ve hücre tipleri üzerinde farklı mekanizmalarla kanıtlanmıştır. Özellikle oksidatif stresle mücadelede serbest oksijen türevlerini ortadan kaldırmasıyla dikkat çekmektedir [88].

#### **2.3.4. Silymarinin Etki Mekanizmaları (Şekil 2.14)**

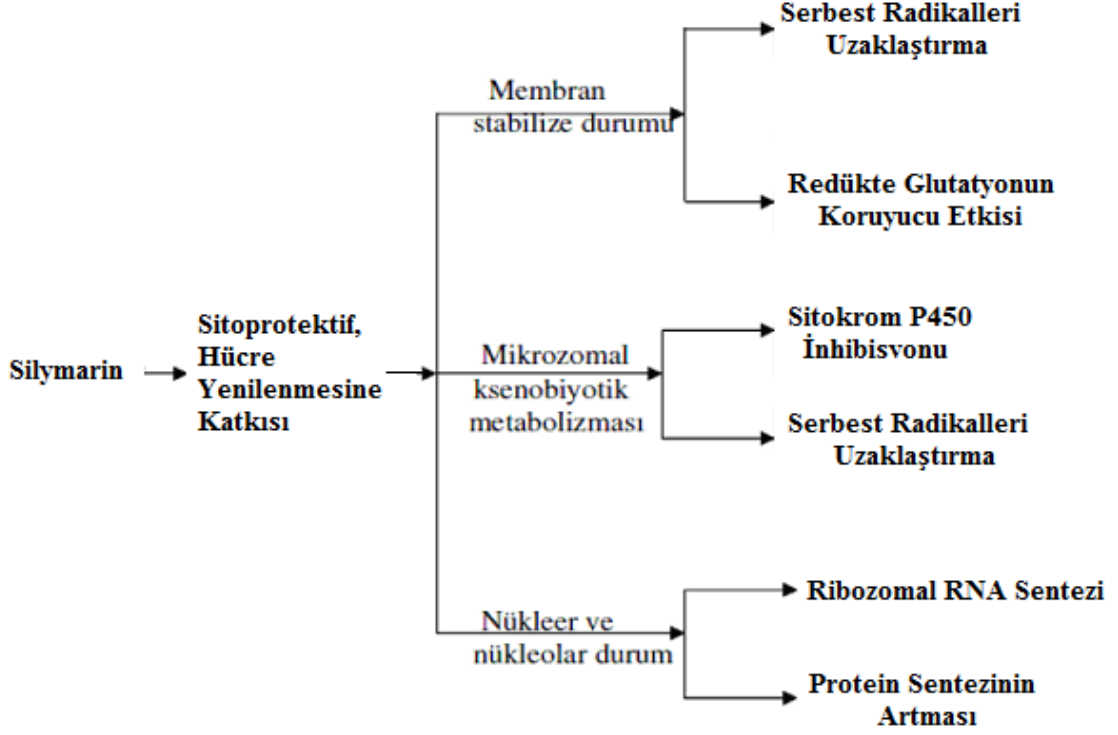
Silymarinin koruyucu özellikleri bakımından 7 etkisi gözlenir [87, 88, 104];

- 1- Redükte glutatyon (GSH)'un hücresel içeriğini artırır ve serbest radikal temizleyicilerle lipid peroksidasyonuna karşı aktivite gösterir.
- 2- Membran geçirgenliğini düzenler ve ksenobiyotik tehlikelerde membran stabilitesini artırır.
- 3- Steroid gibi etkileriyle nükleer ekspresyonu düzenler
- 4- Hepatositlerin, siroza neden olan; kollajen fibrillerin yıkımından sorumlu olan miyofibroblastlara dönüşmesini baskılar.
- 5- Glutatyonun intraselüler miktarının regülatörü olarak,
- 6- Hepatotoksik ajanların hepatositlere girmesini önleyen, hücre membranı stabilizatörü ve permeabilite regülatörleri olarak,
- 7- Karaciğerin rejenerasyonunu stimüle etmesiyle; RNA polimerazın hücre çekirdeğindeki aktivitenin uyarıcı etkisi olarak;

Hepatoprotektif etkinin anahtar mekanizmasının serbest radikal süpürücüsü olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Birçok karaciğer toksini; serbest radikal mekanizmalarla hasar verici etkiler oluşturur. Silymarinin hepatoprotektif ve karaciğer yenilenmesindeki şaşırtıcı etkisindeki ana mekanizmalar; antioksidasyon, güçlü detoksifikasyon, hücresel glutatyon seviyesini artırması, protein sentezini uyarması ve lipid peroksidasyonunu

baskılmasıyla (anti lipid peroksidasyonu) açıklanabilir. Glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin pankreatik aktivitesini uyarır [88, 96, 105].



**Şekil 2.15.** Silymarinin etki mekanizmaları

Silymarin; lipoksijenaz enzimini inhibe ederek, karaciğerden lökotrien oluşumunu engellemektedir [105]. Ayrıca çalışmalarda; silymarinin hepatosit protein sentezini arttırdığı, tümör öncüllerinin aktivitesini azalttığı, mast hücrelerini stabil ettiği, immun fonksiyonları modüle ettiği, antiinflamatuvar ve antifibrotik etkileri gösterilmiştir [105].

Silymarin bileşiklerinin; karaciğer hücrelerinde, ribozomal RNA moleküllerini stimüle ederek, protein sentezini arttırdığı sanılmaktadır. Silymarin; karaciğere zarar veren lökotrienler için kuvvetli bir engelleyici olduğu gibi, karaciğere karşı koruyucu etkisi birçok deneysel ve klinik çalışmalarla ispatlanmıştır [79-85].

Hepatik stellat hücreleri; karaciğer fibrogenesisinde önemli patolojik göreve sahiptirler. Bazı fibrotik etkilere yanıt olarak çoğalırlar ve karaciğerdeki kollajen fiberlerinin depolanmasına yanıt olarak, myofibroblastlara dönüşürler. Silymarin; sıçan hepatik stellat hücrelerinin myofibroblastlara dönüşümünü ve fibrosis için gerekli hücre

dışı matriks içeriğinin gen ekspresyonunu da azaltmıştır. Bu çalışmalar silymarinin anti fibrotik etkisini kanıtlamaktadır [88, 106].

### **2.3.5. Silymarinin Klinik Kullanım Alanları**

#### **2.3.5.1. Karaciğer hastalıkları**

Silymarinin hayvanlarda karaciğer fibrozisini yavaşlattığı ve iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Safra yolları total oklüze edilmiş ratlarda; inflamasyon olmadan progresif karaciğer fibrozisi gelişmektedir. Silymarin (50 mg/kg/gün); bu fibrozisi kontrol grubuna oranla %30-35 oranında azaltmıştır. Safra kanalı oklüzyonu sonrası, sürekli 6 hafta veya sadece son 2 hafta silymarin uygulaması, eşit derecede etkili bulunmuştur. Düşük dozda (25/mg/kg/gün) etkili bulunmamıştır [107, 108].

Silymarin önceleri yalnızca karaciğerde koruyucu ve yenileyici olarak bilinmekteydi. Hayvan modellerinde ve insan hepatositlerinin primer kültüründe; karbon tetraklorid, D-galaktozamin, tioasetamid, etanol, parasetamol, benzopiren, thallium, bakteriyel endotoksinler, viral hepatit, toksik hepatit ve alkol nedenli karaciğer hastalıklarına bağlı karaciğer hasarına karşı korumaktadır [103, 109-112].

Silymarinin karaciğer hücrelerine pek çok toksine karşı koruduğu bildirilmiştir; örneğin asetaminofen, etanol, karbontetraklorid ve D-galaktozamin. Ayrıca; iskemik hasar, radyasyon, demir toksitesi ve viral hepatitte etkili bulunmuştur [113].

Silymarinin karaciğer üzerine immünmodülatör etkisi pek çok çalışmada araştırılmıştır. İki Macar çalışmasında; silymarinin immün fonksiyon üzerine pozitif etkisi gösterilmiştir. İlk çalışma; biyopsi ile kanıtlanmış kronik alkolik karaciğer hastalığı olan hastalarda yapılmış ve bu hastalarda görülen düşük T hücre sayısı, yüksek CD8+ hücre sayısı ve artmış lenfosit sitotoksitesi; 6 aylık silymarin uygulaması ile gerilemiştir [114].

İkinci çalışmada; 40 alkolik siroz hastasına silymarin, aminoimidazolekarboksamido-fosfat veya plasebo 1 ay süre ile çift-kör olarak verilmiştir. Tedavi gruplarında; silymarin serum AST, ALT, GGT ve total bilirubin düzeylerini normale çevirmiş ve lenfositotoksiteyi baskılamıştır [100].

Kronik alkolik karaciğer hastalığı olan 36 hasta ile yapılan başka bir çalışmada; 6 ay süreyle 420 mg/gün silymarin uygulanması; serum AST, ALT, GGT, total bilirubin

düzelemlerinin normale gelmesini ve karaciğer biyopsilerinde düzelme sağlamıştır. Ayrıca tedavi grubunda aktif fibrozis markerı olan; prokollajen III belirgin olarak düşük saptanmıştır [114].

### **2.3.5.2. Amanita Phalloides zehirlenmesi**

Silymarinin klinikte en önemli kullanım alanı; Amanita mantar zehirlenmesidir. Amanita mantarı zehirlenmelerinde de koruyucu etkileri bulunmaktadır [106, 115-117]. Amanita genusuna ait mantarlar; Avrupa ve Kuzey Amerika'da yaygın olarak bulunmaktadır. Bu genusta aşırı toksik pek çok mantar cinsi bulunmaktadır. Amanita mantarları; amanitin ve phalloidin adı verilen çok güçlü hepatotoksinler içermektedir. Bu mantarların yanlışlıkla alımına bağlı, her yıl Amerika ve Avrupa'da ortalama 60 zehirlenme vakası olmakta ve mortalite % 30 olarak bildirilmektedir [118]. Farelerde, silymarinin Amanita zehirlenmesinden hemen önce veya 10 dakika içinde uygulanması; karaciğer toksitesini %100 engellemiştir. Silymarinin ilk 24 saat içinde uygulanması; ağır karaciğer hasarı ve ölümü engellemiştir [119].

Silymarinin hepatoprotektif etkisi; insanlarda Amanita toksini maruziyeti sonrası defalarca gösterilmiştir. Silymarin ile tedavi edilen 18 hasta serisinde, 1 hasta hariç tüm hastalar hayatta kalmıştır. Amanita phalloides mantar alımından 48 saat sonra dahi, silymarin uygulanması ağır karaciğer hasarını engellemede etkilidir [120]. 1995 yılında yayınlanmış bir çalışmada; 41 mantar zehirlenmesi vakasında silymarin ile tedavi edilen grupta ölüm olmamıştır [121]. Amanita mantarı zehirlenmesi sonrası, tedavi altındayken 3. günde kötüleşen ve intravenöz silybin tedavisi başlanan vakada klinik düzelme gözlemlendiği bildirilmiştir [121].

Deneysel hayvan çalışmalarında; öldürücü dozda A. phalloides verilmesinden sonraki 10 dakika içinde silymarin verildiğinde, toksinin etkilerini nötralize ettiği saptanmıştır. Son zamanlarda;  $\alpha$ -amanitine bağlı karaciğer sitotoksitesinde TNF-  $\alpha$ 'nın rolü araştırılmıştır ve silybinin TNF- $\alpha$ 'nın etkilerini önlediği gösterilmiştir [119, 122].

### **2.3.5.3. Onkolojik hastalıklar**

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda; silymarinin östrojenik aktivitesinin olduğu, ilaç taşıyıcıların (P-glycoprotein) modülasyonunda görev aldığı ve nükleer faktör kappa B'nin (NF-κB) baskılanmasıyla DNA ekspresyonu üzerine spesifik etkilerinin olduğu ortaya konmuştur [88, 104, 123].

Silymarin, bazı kimyasalların karsinojenik etkilerini inhibe eder. Silybin hücresel döngü, sinyallerin ve çeşitli mitojeniklerin modülasyonlarında görev alır. İnsan prostat kansinomunda, silymarin mitojenik sinyal yollarını ve hücresel döngü düzenleyicilerini baskılar [88, 124, 125].

Silymarin; steroid hormonlara bağlı tümörleri inhibe eder [88, 124, 125]. Steroid hormon reseptörüne bağlı kanserli prostat hücre serisinde (LNCaP) hücre çoğalmasını engelleyerek anti-androjenik etkisi kanıtlanmıştır [126-128].

Silymarinin ayrıca antianjiojenik etkisi vardır [88, 124, 125]. Silymarinin anti-anjiojenik etkisi; insan göbek kordonu toplar damar endotel hücreleri (HUVEC) üzerinde çalışılmıştır. Bu etkisinin doza bağlı olarak ve vasküler endotel büyüme faktörünü (VEGF) azaltmasıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu etki insan ovaryum kanserinde de kanıtlanmıştır [88, 129].

### **2.3.5.4. Nörolojik hastalıklar**

Silymarin veya silybin, bazı nörodejeneratif hastalıklarda; hücreleri nörotoksik etkilerden korur ve bu hastalıkların tedavilerinde kullanılabilir. Silymarin bazı hücre kültürlerinde farklılaşmayı baskılar ve hücreleri apoptoza karşı korur. Ayrıca, silymarin oksidatif stresin tetiklediği apoptoza karşı primer hippokampal nöronları korur [88, 130-132].

Antioksidan özelliğine bağlı olarak; silymarinin bazı nörodejeneratif ve nörotoksik süreçlerin engellenmesinde ve tedavisinde yararlı olabileceği düşünölmektedir [96, 133].

Lipopolisakkarit uyarımlı BV-2 (mikroglia aktivasyon modelinde) hücrelerinde; silymarin doza bağlı olarak iNOS üretimini baskılamaktadır [96, 133].

### 2.3.5.5. Diğer kullanım alanları

Silymarin makrofajlardaki ve T-lenfositlerdeki interlökin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe eder ve pankreastaki  $\beta$  hücrelerini korur [88, 130-132].

Silymarinin antioksidan etkisi, protein sentezini uyarması ve hücre yenilenme etkisiyle birçok kanser tipinin yayılmasını azaltabileceği düşünülmektedir [134-136].

Silymarin ultraviyolenin (UV) tetiklediği oksidatif stres, inflamasyon, immün cevap ve DNA hasarı gibi tehlikeli etkileri baskılar ve azaltır [88, 137, 138]. Silymarin hayvan modellerinde fotokarsinogenesisine karşı koruyucu etki göstermektedir. Tüysüz fare modelinde (SKH-1); deride lokal silymarin uygulaması, UVB nedenli tümörü, silymarin uygulanmamış hayvanlardaki tümör büyüklüğüyle karşılaştırıldığında azaltıcı etkisi görülmüştür. İnsan deri hücrelerinde yapılan bir çalışmada; silymarinin UVA nedenli oksidatif stresi engellediği görülmüştür [126-128]. Ayrıca insan melanoma hücrelerinde de (A375-S2) UV uygulamasına karşı koruyuculuk göstermiştir [88, 139].

Silymarinin; apoptoz sinyal yollarında, kaspaz aktivasyonun ve MAPK üzerine koruyucu etkileri vardır. Silymarin; sitotoksiteyi ve kaspaz aktivitesini ortadan kaldırır. Bcl ve Bax oranını artırır.

Ayrıca; silymarin ateroskleroza karşı adhezyon moleküllerini etkiler [88, 137, 138]. Silymarinin, anti-aterosklerotik bir etkiye sahip olduğu çok sayıda araştırmada gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda; kolesterol taşıyıcı lipoproteinlerin antioksidatif koruyuculuğuyla ya da adezyon moleküllerinin (VCAM-1, ICAM-1 ve E-selektin) ekspresyonunun inhibisyonu ile gerçekleştirilebileceği düşünülmektedir [79-85].

Silymarinin koruyucu etkisi; sıçanlarda sisplatin uyarımlı nefrotoksisitede de kanıtlanmıştır. Sisplatinde önce; silymarin uygulamasıyla, glomerüler ve böbrek toksisitesinde önemli düşüşler gözlenmiştir [88, 136].

Silymarinin ana komponentlerinden olan silybin; sitosolik östrojen reseptörlerine bağlanır. Silybinin özellikle östrojen reseptör B'ya (ER- B) bağlanır. Silymarinin, ovaryumları çıkartılmış olan sıçanlarda uterus ağırlığına, uterustaki östrojen reseptör B ekspresyonuna ve endometriyumun ağırlığındaki etkileri endojen östrojenle aynıdır [88, 140].

Köksal ve ark.; silymarinin *in vitro* çalışmalarında antioksidan ve radikal giderici aktiviteye sahip olduğunu bildirmekteler [90]. Şimdiye kadar çoğunlukla, karaciğer koruyucu olarak kullanılan silymarin ve silybin; kanser gelişimini önleyici,



koruyucu ve antikanser aktivite gibi başka birçok ilginç aktiviteye sahiptir. Bu aktiviteler; prostat, akciğerler, merkezi sinir sistemi, pankreas ve diğer organlar gibi farklı organların hastalıklarının büyük bir kısmında da saptanmıştır.

Silymarin/Silybin; antioksidatif ve radikal süpürücü oluşumları tarafından hücre koruyucu aktivitelerinin [90] yanında, aynı zamanda ilaç transportu ve inhibisyonu, P-glikoproteinler, östrojenik reseptörler, çekirdek reseptörleri ve diğerleri gibi spesifik reseptör etkileşimine dayanan yeni aktiviteleri olduğu bulunmuştur. Silymarinin türevleri; tedavi edici uygulamalarda yeni yollar açacaktır.

Silymarin; biyolojik ve farmakolojik etkileri geniş bir yelpazeye sahip ve antioksidan içeren [90], protein sentezi ve hücre yenilenmesini uyaran (toksik karaciğer hasarı, kronik inflamatuvar karaciğer hastalıkları, karaciğer sirozu tedavisinde yarar sağlayan) [87, 90, 141] ve birçok insan karsinom hücre hatlarına karşı etkileyici antikanser etkilere sahiptir [101, 129]. Bunlara ek olarak; antidiyabetik aktivite [142], kalbi koruyucu [143], anti-enflamatuvar, anti-fibrotik, hipolipidemik, nörotrofik, nöroprotektif ve bağışıklığı düzenleyici etkileri tanımlanmıştır [144].

Silymarin/Silybin; kemoprotektif ve kansere karşı koruyucu bir ajan olarak uygulanması, ilk bakışta; onun antiradikal potansiyeli ve dolayısıyla sitoprotektif aktivitesi nedeniyle kullanıldığı düşünülür. Bu kısmen doğrudur; ancak buradaki rolü diğer etkileri kadar iyi olduğu giderek daha iyi anlaşılmaktadır [88]. Silymarin/Silybin; aynı zamanda endotel hücre apoptozisini uyardığı, tümör büyümesi ve metastazı için gerekli olan damar oluşumunu inhibe ettiği bilinmektedir [145].

Silymarinin antiaterosklerotik aktiviteye de sahip olduğu bildirilmektedir [137]. Tüm bu etkilerinin yanı sıra silymarin aynı zamanda karbonik anhidraz enzimi üzerine güçlü inhibitör etkiye sahiptir [89]. Silymarin/Silybin asıl olarak; karaciğer toksisitelerini elimine etme ve kemoterapötikler tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı dokuyu koruyucu bir antioksidan olarak hareket eder. Ancak, antikanser aktivitesinin düşmesini önlemek için antioksidatif etki dengeli olmalıdır.

Silymarin bununla birlikte, iyi bir kan temizleyici olup, psöriyazis yani; sedef hastalığı için de faydalıdır. Karaciğerin temel görevlerinden biri olan; infiltrasyon (filtre etme) özelliğinden dolayı, sedef hastalığı ile de ilişkisi vardır. Sedef hastalığının diğer bir nedeni; lökotrienlerin fazla hücre oluşumunu engellemesidir.

Silymarin/silybin; gastrointestinal problemlerin tedavisi ve önlenmesinde kullanılmaktadır. Bu etkileri; intestinal bakteriyel  $\beta$ -glukuronidazın spesifik bir

inhibitörü gibi davranarak veya kemotaksis ve endotel hücrelerin migrasyonunu engelleyerek yaptığı belirtilmektedir [79-85].

### 3. MATERYAL METOT

#### 3.1. Araştırma Tipi

Deney protokolü, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu'nun .... sayılı yazılı onayı alınarak gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmalar, Sütçü İmam Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde "National Institutes of Health, Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" kurallarına uygun olarak gerçekleştirildi.

#### 3.2. Araştırma Yeri ve Ortamı

Bu çalışma; Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Çalışmada; ortalama ağırlıkları 250–300 gram ağırlığında, 48 adet Wistar ırkı, erişkin erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar, optimum laboratuvar koşullarında, (24±2 °C oda sıcaklığı, %50±10 nemli ortam, 12 saatlik aydınlık / karanlık periyodu) polikarbon kafeslerde tutulup, standart kuru peletler halindeki sıçan yemi (Purina®) ile beslendi.

Ratlar; her biri 6 tane hayvan içeren 8 gruba ayrıldı.

*Grup 1:* Sham (Kontrol) grubu (Sham),

*Grup 2:* Serum fizyolojik + 45 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon (SF) grubu,

*Grup 3:* 45 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon (45 IR) grubu,

*Grup 4:* Silymarin + 45 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon (SIL 45) grubu,

*Grup 5:* 60 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon (60 IR) grubu,

*Grup 6:* Silymarin + 60 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon (SIL 60) grubu,

*Grup 7:* 90 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon (90 IR) grubu,

*Grup 8:* Silymarin + 90 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon (SIL 90) grubu olarak belirlendi.

Grup 4, grup 6 ve grup 8'deki ratlar sol nefrektomi öncesi; 1 hafta boyunca 100 mg/kg/gün *Silybum marianum* (silymarin) (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA), serum fizyolojik (SF) ile çözeltiip, orogastrik tüp ile beslendi.

### 3.3. Araştırma Grupları

Deneysel alışma, her biri randomize seçilmiş toplam 48 rat; 8 grup ve her grupta 6 rat ile yapıldı. Herbir hayvan yer alacağı gruba göre işaretlendi.

**Grup 1: Sham (Kontrol) grubu (Sham);** Bu gruptaki hayvanlara; cerrahi veya madde uygulanmadı ve diseksiyon yapıldıktan sonra reperfüzyon yapılmadan 180 dk. beklenildi.

**Grup 2: Serum fizyolojik + 45 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon grubu (SF);** Her hayvana 1 hafta boyunca, yalnızca 2 cc/gün serum fizyolojik orogastrik tüp ile verildi. İşlemin yapıldığı gün; 45 dk. iskemi ve takiben 180 dk. reperfüzyon uygulandı.

**Grup 3: 45 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon grubu (45 IR);** I/R grubu olup, madde uygulaması yapılmadan 45 dk. iskemi ve takiben 180 dk. reperfüzyon uygulandı.

**Grup 4: Silymarin + 45 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon grubu (SIL 45);** Her hayvana 1 hafta boyunca; serum fizyolojik ile çözünen 100 mg/kg/gün silymarin orogastrik tüp ile verildi. İşlemin yapıldığı gün; 45 dk. iskemi ve takiben 180 dk. reperfüzyon uygulandı.

**Grup 5: 60 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon grubu (60 IR);** I/R grubu olup, madde uygulaması yapılmadan 60 dk. iskemi ve takiben 180 dk. reperfüzyon uygulandı.

**Grup 6: Silymarin + 60 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon grubu (SIL 60);** Her hayvana 1 hafta boyunca; serum fizyolojik ile çözünen 100 mg/kg/gün silymarin orogastrik tüp ile verildi. İşlemin yapıldığı gün; 60 dk. iskemi ve takiben 180 dk. reperfüzyon uygulandı.

**Grup 7: 90 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon grubu (90 IR);** I/R grubu olup, madde uygulaması yapılmadan 90 dk. iskemi ve takiben 180 dk. reperfüzyon uygulandı.

**Grup 8: Silymarin + 90 dk. iskemi/180 dk. reperfüzyon grubu (SIL 90);** Her hayvana 1 hafta boyunca; serum fizyolojik ile çözünen 100 mg/kg/gün silymarin orogastrik tüp ile verildi. İşlemin yapıldığı gün; 90 dk. iskemi ve takiben 180 dk. reperfüzyon uygulandı.

### 3.4 Anestezi

Bütün sıçanların anestezisi, 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar® Eczacıbaşı Warner-Lambert İlaç San. Levent/İstanbul) ve 10 mg/kg Xylazine hidrokloritinin (Rompon® Bayer, Şişli/İstanbul) aseptik şartlarda intraperitoneal verilmesi ile sağlandı.

### 3.5. Deney Tasarımı – Cerrahi Teknik

Anestezi alan ratlar, 6 saatlik açlığa dikkat edilerek, insizyon sahası traşlandı. Povidon iyot ile cilt antisepsisi sağlandıktan sonra, ameliyat düzeneğine kol ve bacakları tesbit edildi. Düzenek, aspirasyon riskini önlemek amacıyla 30° eğimle tutuldu.(Resim 2).

Steril örtü insizyon alanı açıkta kalacak şekilde kapatıldıktan sonra; orta hat insizyonu tercih edilerek laparotomi sonrası; ince barsaklar karın dışına alınıp, sol renal pedikül tanımlandı. Renal pedikül ortaya konulduktan sonra, sol böbrek arter ve venine küçük, atravmatik vasküler klemp yerleştirilerek renal iskemi sağlandıktan sonra, arter pulsasyonlarının tamamen kesildiği gözlemlendi.

- a) 45 dakikalık iskemi süresi sonunda Grup 2,3 ve 4'ün,
- b) 60 dakikalık iskemi süresi sonunda Grup 5 ve 6'ın,
- c) 90 dakikalık iskemi süresi sonunda Grup 7 ve 8'in klempleri açıldı.

Renal arter ve vende akımın devam etmesi sonucu, böbrek dokusundaki kanlanma görüldü.

Her bir hayvana yapılan cerrahi işlemde sonra kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olunması için karın boşluğuna steril serum fizyolojik verildi [146]. Bu işlemi takiben, kas ve deri kesileri ayrı ayrı fakat devamlı olarak 3/0 ipek sütürle dikilerek kapatıldı ve poviodeks antiseptik solüsyon ile kesi bölgesi temizlendi. Cerrahi işlem görmüş her bir deney hayvanı kimyasal sterilizasyonu yapılmış, tek bireylik, polikarbonat bileşimli ve şeffaf nitelikteki kafeslere ayrı ayrı koyuldu. Diyet değişikliği yapılmaksızın 3 saatin geçmesi beklendi. Üç saatlik reperfüzyon sonrasında histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler için sol nefrektomi yapılarak doku örneği alındı. Çıkarılan böbrek dokusu histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için eşit iki parçaya ayrılarak saklandı. Biyokimyasal incelemeler için intrakardiyak kan örneği alınarak deney sonlandırıldı.

### **3.6. Araştırma Parametreleri**

Reperfüze edilen sol böbrek dokuları; histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için, eşit iki parçaya ayrıldı. Biyokimyasal incelemeler için alınan böbrek dokuları laboratuvar koşullarında -22°C’de saklandı. Histopatolojik inceleme için alınan örnekler ise; formaldehitte muhafaza edildi. Alınan intrakardiyak kan örnekleri biyokimya tüplerine konularak soğutmalı santrifüjde +4 °C’de, 4000 rpm’de, 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası +4 °C’de saklandı.

### **3.7. Biyokimyasal Parametreler**

Biyokimyasal incelemeler için alınan böbrek dokuları laboratuvar koşullarında -22 °C’de saklandı. Alınan intrakardiyak kan örnekleri biyokimya tüpleri konularak santrifüj sonrası +4 °C’de saklandı. Serumdan ve alınan böbrek dokularından standardize bir metod ile Total Antioksidan Kapasite (TAS), Total Oksidan Status (TOS), Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Malondialdehit (MDA) değerleri çalışıldı.

### **3.8. Doku Analizleri**

Deney sonunda; sıçanların sol nefrektomi materyalinden alınan doku örnekleri tartılıp, 1/5 oranında soğuk %1,15 M KCl solüsyonu ile 14000 devirde 30 dakika homojenize edildi. Daha sonra +4 °C’de 10000 x g’de 30 dakika santrifüj edilerek süpernatantları ayrıldı. Süpernatantlarda antioksidan enzim düzeyleri ve oksidatif hasarın göstergesi olan MDA ile doku protein düzeyleri ölçüldü. Böbrek dokusunda TAS, TOS, SOD, MDA ve protein düzeyleri; Shimadzu-UV 1601 Spectrophotometer (Japan)’de ölçüldü [147]. Protein tayini Lowry yöntemine göre yapıldı.

Antioksidan enzim aktivite sonuçları; U.mg<sup>-1</sup> protein, MDA seviyesi; nmol.mg<sup>-1</sup> protein olarak tayin edilmiştir.

### **3.8.1. Doku Malondialdehit (MDA) Analizleri**

Doku MDA düzeyleri; Okawa ve ark. tariflediği yönteme göre tayin edildi. Bu yöntemin ilkesi; homojenattaki proteinlerin sodyum dodesil sülfat ile bağlanmasından sonra örnekte bulunan MDA'nın tiobarbitürik asit ile asidik pH ve sıcak ortamda tepkimesi sonucu oluşan pembe renkli pigmentin spektrofotometrik ölçümüne dayanmaktadır. MDA'nın kendisi stabil olmadığından, standart olarak test sırasında MDA'ya hidroliz olan 1,1,4,4-tetramethoksiopropan kullanılmıştır. Yöntemin uygulama prosedürüne göre; 0,1 ml süpernatant süspansiyonu üzerine 0,2 ml % 8,1'lik sodyum dodesil sülfat, 1,5 ml % 20'lik asetik asit, 1,5 ml % 0,8'lik tiobarbitürik asit ve 0,7 ml saf su konularak 95°C'de 45 dakika su banyosunda kaynatıldı. Tüpler soğutulduktan sonra 1 ml saf su ve 5 ml n-butanol/piridin (1:15 oranında) ilave edildi ve sonra tüpler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstteki organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorbans okundu ve değerler standart eğriden değerlendirildi.

### **3.8.2. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Analizleri**

Süperoksit dismutaz aktivitesi; hemolizatta Fridovich yöntemiyle saptanmıştır. SOD aktivite tayini için, süpernatant 1/65 oranında 0,01 M fosfat tampon ile dilüe edilerek aktivite tayini yapıldı. Reaksiyon karışımı, 1 ml'lik total volümde 25 µl numune, 850 µl ksantin ve p-iyodo nitrotetrazoliumviyolete içeren miks substrat ve 125 µl 80 Ü.L<sup>-1</sup> ksantin oksidazdan oluştu. Körde tıpkı numune gibi hazırlandı fakat örnek yerine fosfat tamponu kondu. Tepkime, 37°C'de ışık yolu 1 cm olan küvetlerde 505 nm dalga boyunda havaya karşı ilk 30 saniyedeki başlangıç absorbansları (A<sub>1</sub>) okundu. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dk. sonra son absorbansları (A<sub>2</sub>) tekrar okundu ve değerler standart eğriden değerlendirildi.

### **3.8.3. Doku Total Antioksidan Kapasite (TAS) Analizleri**

Total antioksidan durum ölçümünde, TAS kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Yöntemin prensipi, örnekteki antioksidanların, koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini, renksiz ABTS formuna indirgemesine dayanır [148]. TAK ölçümü için, kitin

prosedüründe belirtildiği şekilde, spektrofotometre (Shimadzu UV 1700A) 25 °C'ye ayarlanarak, 500 mL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 30 mL serum karıştırılıp 660 nm'de absorbansı ölçüldü. Karışıma 75 mL reaktif 2 (renkli ABTS solüsyonu) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 660 nm'de absorbans ölçüldü. Standartlar, doku yerine 0 (standart 1) ve 1 (standart 2) milimolar Trolox ekivalan/ litre (mmol Trolox Eq/L) konsantrasyonlarındaki kitin standart çözeltileri kullanılarak çalışıldı. İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbans değişimi ( $\Delta Abs$ ) hesaplandı. Dokulardaki TAS düzeyleri (mmol Trolox Eq/L) kitle belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$TAS = (\Delta Abs standart 1) - (\Delta Abs numune) / (\Delta Abs standart 1) - (\Delta Abs standart 2)$$

#### 3.8.4. Doku Total Oksidan Status (TOS) Analizleri

Total oksidan durum ölçümünde, TOS kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Yöntemin prensipi, örnekteki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesine ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması esasına dayanır [149]. TOS ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, spektrofotometre (Shimadzu UV 1700A) 25°C'ye ayarlanarak, 500 mL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 75 mL serum karıştırılıp 530 nm'de absorbansı ölçüldü. Karışıma 25 mL reaktif 2 (pro-kromojen solüsyon) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 530 nm'de absorbans ölçüldü. Kitin kalite değerlendirilmesi için kitin prosedüründe belirtildiği üzere numune yerine deiyonize su kullanılarak çalışılan reaktif körünün absorbansı 0.500'den küçüktü. Standart, doku yerine 20 mikromolar hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ekivalan/ litre (mmol  $H_2O_2$  Eq/L) içeren dilue standart çözeltisi kullanılarak çalışıldı. İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbans değişimi ( $\Delta Abs$ ) hesaplandı. Dokulardaki TOS düzeyleri (mmol  $H_2O_2$  Eq/L) kitle belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$TOS = (\Delta Abs serum) / (\Delta Abs standart) \times 20$$

#### 3.8.5. Diğer Biyokimyasal Analizler

Serum TAS, TOS, MDA ve SOD değerleri RelAssay Diagnostic, Türkiye; otoanalizatör ve kitleri kullanılarak ölçüldü.



### **3.9. Histopatolojik Değerlendirme**

Histopatolojik inceleme için doku rneklei %10'luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi. rneklei tümü doku takip cihazında rutin takibe alınarak parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom ile her doku rneği için 5 µm kalınlığında seri kesitler hazırlanarak hemotoksilen eozin (HE) boyası ile boyandı. Işıık mikroskobu ile histopatolojik incelemeye tabi tutuldu.

### **3.10. İstatiksel Analizler**

Çalışmadaki tüm veriler; SPSS 17 paket programı ile analizleri yapıldı. Sayısal değişkenler ortalama ± standart sapma şeklinde bulundu. Veriler Kolmogorov-Smirnov testi ile 'parametrik' ve 'non-parametrik' olarak ayrılmıştır. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sırasında gruplar arasındaki farklar ve değişkenler arasındaki farklılıkların incelenmesinde; parametrik testler için; Ki-kare ( $X^2$ ) ve Mann Whitney U testi kullanıldı. Non-parametrik testler için; Bağımsız İki rnek T testi (Independent-Samples T-Test) ve ANOVA testi kullanıldı. İstatistiksel analiz sonucunda;  $p < 0,05$  olarak hesaplanan testler anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Biyokimyasal Serum Analizleri

#### 4.1.1. Serum Total Antioksidan Kapasite (TAS) Değerlerinin Analizleri

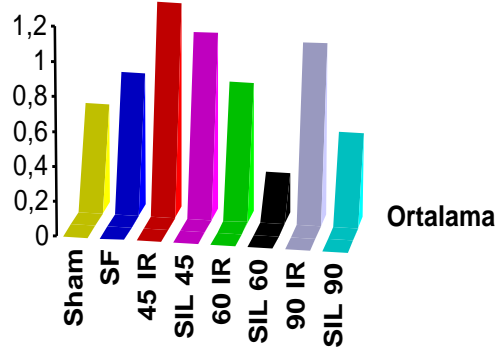
Çalışma gruplarından elde edilen serum TAS değerleri incelendiğinde 0,10 mmol/L (Sham, SIL 45 ve SIL 60 grupları) ile 2,81 mmol/L (SIL 45 grubu) arasında değişen değerler elde edilmiştir.

Ortalama serum TAS değerleri hesaplandığında; en düşük serum TAS değerinin SIL 60 grubunda ( $0,22967 \pm 0,15815$  mmol/L) olduğu; en yüksek serum TAS değerinin ise 45 IR grubunda ( $1,18850 \pm 0,85904$  mmol/L) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 3.** Grupların serum TAS değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Max
Sham	$0,5795 \pm 0,57231$	0,1	1,68
SF	$0,7707 \pm 0,33265$	0,45	1,36
45 IR	$1,1885 \pm 0,85904$	0,46	2,56
SIL 45	$1,0262 \pm 1,00026$	0,1	2,81
60 IR	$0,7472 \pm 0,52828$	0,36	1,78
SIL 60	$0,2313 \pm 0,15646$	0,1	0,47
90 IR	$0,9978 \pm 0,50551$	0,4	1,48
SIL 90	$0,4893 \pm 0,20746$	0,21	0,74

**SF:** Serum Fizyolojik, **45 IR:** 45 dakika İskemi Reperfüzyon, **SIL 45:** Silymarin+45 dakika İskemi Reperfüzyon, **60 IR:** 60 dakika İskemi Reperfüzyon, **SIL 60:** Silymarin+60 dakika İskemi Reperfüzyon, **90 IR:** 90 dakika İskemi Reperfüzyon, **SIL 90:** Silymarin+90 dakika İskemi Reperfüzyon, **SD:** Standart Sapma, **Min:** Minimum Değer, **Max:** Maksimum Değer



**Grafik 1.** Gruplarda ortalama serum TAS aktiviteleri

- İskemi reperfüzyon (IR) grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya (45 IR vs 60 IR) uzadığında serum TAS değerlerinde azalma olduğu görülmüştür. ( $p=0,2$ )
- İskemi uzadıkça silymarin (SIL) gruplarında serum TAS değerlerinde azalma gözlenmiştir. SIL 45 grubuyla SIL 60 ve SIL 90 grupları karşılaştırıldığında serum TAS değerlerindeki azalma görülmüştür ( $p= 0,08$  vs  $p=0,4$  sırasıyla).
- SIL 45 grubu ile Sham ve SF grupları karşılaştırıldığında; serum TAS değerinde artış gözlenmiştir ( $p= 0,4$  vs  $p= 0,9$  sırasıyla).

#### 4.1.2. Serum Süperoksit Dismutaz (SOD) Değerlerinin Analizleri

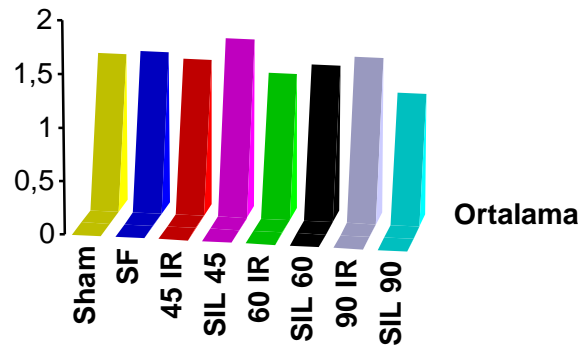
Çalışma gruplarından elde edilen serum SOD değerleri incelendiğinde 0,79 U/ml (SIL 60 grubu) ile 2,31 U/ml (SIL 45 grubu) arasında değişen değerler elde edilmiştir.

Ortalama serum SOD değerleri hesaplandığında; en düşük serum SOD değerinin SIL 90 grubunda ( $1,15 \pm 0,14311$  U/ml) olduğu; en yüksek serum SOD değerinin ise SIL 45 grubunda ( $1,5950 \pm 0,44921$  U/ml) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 4.** Grupların serum SOD değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Max
Sham	1,4050 $\pm$ 0,20423	1,22	1,79
SF	1,4367 $\pm$ 0,30943	1,18	2,03
45 IR	1,3850 $\pm$ 0,34355	1,01	1,97
SIL 45	1,5950 $\pm$ 0,44921	1,21	2,31
60 IR	1,2817 $\pm$ 0,24095	1,06	1,75
SIL 60	1,38 $\pm$ 0,37709	0,79	1,85
90 IR	1,47 $\pm$ 0,23647	1,09	1,72
SIL 90	1,15 $\pm$ 0,14311	1,01	1,3

*SD*: Standart Sapma, *Min*: Minimum Değer, *Max*: Maksimum Değer



**Grafik 1.** Gruplarda ortalama serum SOD aktiviteleri

- İskemi reperfüzyon (IR) grupları karşılaştırıldığında serum SOD değerleri yakın gözlendi. İskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında serum SOD değeri düştüğü görülmüştür ( $p= 0,6$ ).
- İskemi reperfüzyon grupları ile Silymarın verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında 45. ve 60.dk.da serum SOD değerleri silymarın verilen gruplarda yüksek saptanmıştır ( $p= 0,4$  vs  $p= 0,6$  sırasıyla).
- İskemi süresi uzadıkça; silymarın gruplarında serum SOD değerleri azalmıştır ( $p= 0,1$ ).
- Sham ve SF grubu ile karşılaştırıldığında SIL 45 grubunda daha yüksek serum SOD değeri bulunmuştur ( $p= 0,4$  vs  $p= 0,5$ ).

### 4.1.3. Serum Total Oksidan Status (TOS) Değerlerinin Analizleri

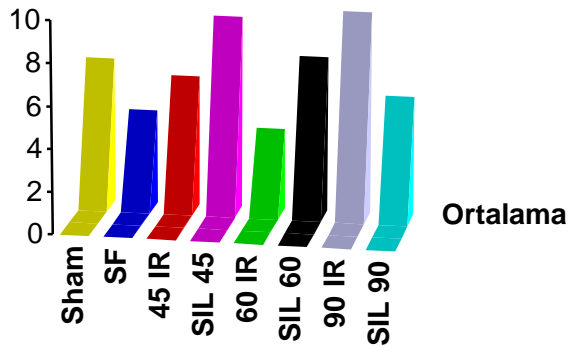
Çalışma gruplarından elde edilen serum TOS değerleri incelendiğinde 0,796  $\mu\text{mol/L}$  (90 IR grubu) ile 20,967  $\mu\text{mol/L}$  (SIL 45 grubu) arasında değişen değerler elde edilmiştir.

Ortalama serum TOS değerleri hesaplandığında; en düşük serum TOS değerinin 60 IR grubunda ( $3,78433 \pm 1,65303 \mu\text{mol/L}$ ) olduğu; en yüksek serum TOS değerinin ise 90 IR grubunda ( $9,50933 \pm 5,88859 \mu\text{mol/L}$ ) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 5.** Grupların serum TOS değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Max
Sham	$6,79867 \pm 2,35409$	4,481	10,445
SF	$4,41983 \pm 3,26704$	1,458	10,574
45 IR	$6,12367 \pm 3,18843$	2,844	11,483
SIL 45	$9,03950 \pm 6,27699$	4,806	20,967
60 IR	$3,78433 \pm 1,65303$	1,970	5,861
SIL 60	$7,29300 \pm 2,01019$	5,202	9,804
90 IR	$9,50933 \pm 5,88859$	0,796	16,409
SIL 90	$5,60967 \pm 2,47911$	3,212	8,982

*SD:* Standart Sapma, *Min:* Minimum Değer, *Max:* Maksimum Değer



**Grafik 3.** Gruplarda ortalama serum TOS aktiviteleri

- İskemi reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında iskemi süresi 45 dk.dan 90 dk.ya çıktığında beklenildiği gibi serum TOS değerinde artış görülmüştür (45 IR vs 90 IR;  $p= 0,2$ ).
- İskemi reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar; birebir süresine göre karşılaştırıldığında, iskemi süresi uzadıkça; yalnızca SIL 90 grubunda serum TOS değeri düşük bulunmuştur ( $p= 0,2$ ).
- Silymarin verilen bütün gruplar, SF grubu ile karşılaştırıldığında ise; bütün gruplarda (SIL 45, SIL 60, SIL 90) daha yüksek serum TOS değerleri gözlenmiştir ( $p= 0,1$ ).

#### 4.1.4. Serum Malondialdehit (MDA) değerlerinin Analizleri

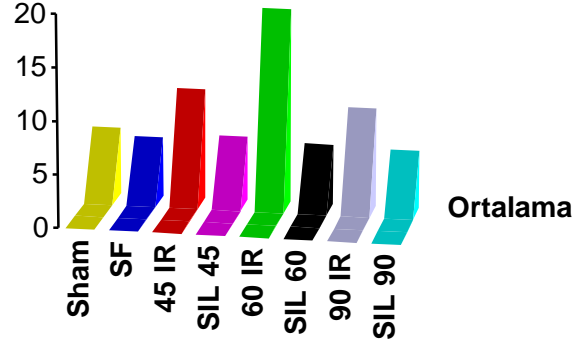
Çalışma gruplarından elde edilen serum MDA değerleri incelendiğinde 4,38 nmol/mg protein (90 IR grubu) ile 48,32 nmol/mg protein (60 IR grubu) arasında değişen değerler elde edilmiştir.

Ortalama serum MDA değerleri hesaplandığında; en düşük serum MDA değerinin SIL 90 grubunda ( $5,4450 \pm 0,60932$  nmol/mg protein) olduğu; en yüksek serum MDA değerinin ise 90 IR grubunda ( $18,3450 \pm 16,75692$  nmol/mg protein) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 6.** Grupların serum MDA değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Max
Sham	$6,32733 \pm 1,27013$	5,09	8,1
SF	$5,59343 \pm 0,70489$	4,78	6,7
45 IR	$10,3983 \pm 4,96992$	6,67	18,8
SIL 45	$6,02588 \pm 0,9938$	4,84	7,18
60 IR	$18,3450 \pm 16,75692$	5,99	48,32
SIL 60	$5,6633 \pm 0,90624$	4,61	7,19
90 IR	$9,33333 \pm 5,45157$	4,38	19,41
SIL 90	$5,4450 \pm 0,60932$	4,74	6,52

*SD:* Standart Sapma, *Min:* Minimum Değer, *Max:* Maksimum Değer



**Grafik 2.** Gruplarda ortalama serum MDA aktiviteleri

- İskemi-reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya uzadığında serum MDA değerinde artış gözlemlendi ( $p=0,5$ ).
- İskemi-reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında; tüm iskemi sürelerinde, silymarin verilen gruplarda serum MDA değeri eş zamanlı iskemi-reperfüzyon gruplarına göre düşük saptanmıştır:
  - i) İskeminin 45 dakika boyunca uygulandığı gruplar karşılaştırıldı. (45 IR vs SIL 45;  
 $p=0,05$ )
  - ii) İskeminin 60 dakika boyunca uygulandığı gruplar karşılaştırıldı. (60 IR vs SIL 60;  
 $p=0,01$ )
  - iii) İskeminin 90 dakika boyunca uygulandığı gruplar karşılaştırıldı. (90 IR vs SIL 90;  
 $p=0,08$ ).
- Silymarin verilen gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde; iskemi süresi uzadıkça serum MDA değerleri azalmıştır ( $p=0,4$ ).
- Sham grubu, silymarin verilen gruplarla karşılaştırıldığında; serum MDA değeri daha yüksek olduğu görüldü ( $p=0,4$ ).
- SF grubu serum MDA değerinin; SIL 90 grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü ( $p=0,7$ ).

## 4.2. Biyokimyasal Doku Analizleri

### 4.2.1. Doku Total Antioksidan Kapasite (TAS) Değerlerinin Analizleri

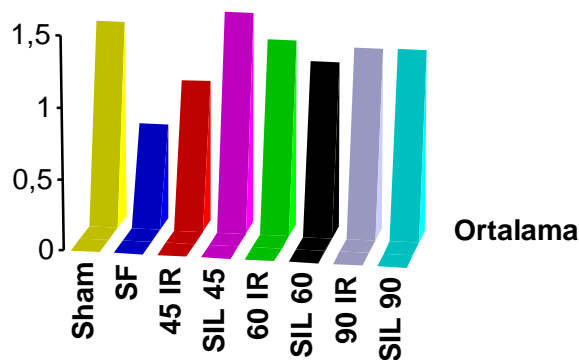
Çalışma gruplarından elde edilen böbreklerdeki doku TAS değerleri incelendiğinde; 0,244  $\mu\text{mol}/\text{mg}$  protein (SF grubu) ile 2,189  $\mu\text{mol}/\text{mg}$  protein (90 IR grubu) arasında değişen değerler elde edilmiştir.

Ortalama doku TAS değerleri hesaplandığında; en düşük doku TAS değerinin SF grubunda ( $0,67433 \pm 0,38738$   $\mu\text{mol}/\text{mg}$  protein) olduğu; en yüksek doku TAS değerinin ise SIL 45 grubunda ( $1,49317 \pm 0,34566$   $\mu\text{mol}/\text{mg}$  protein) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 7.** Grupların doku TAS değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Max
Sham	$1,39417 \pm 0,54564$	0,731	2,08
SF	$0,67433 \pm 0,38738$	0,244	1,402
45 IR	$0,99733 \pm 0,34624$	0,346	1,273
SIL 45	$1,49317 \pm 0,34566$	1,119	2,088
60 IR	$1,3115 \pm 0,31400$	0,853	1,653
SIL 60	$1,172 \pm 0,42162$	0,743	1,921
90 IR	$1,278 \pm 0,54901$	0,654	2,189
SIL 90	$1,284 \pm 0,32104$	0,99	1,846

*SD*: Standart Sapma, *Min*: Minimum Değer, *Max*: Maksimum Değer



**Grafik 5.** Gruplarda ortalama doku TAS aktiviteleri



- İskemi-reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi 60 dk.dan 90 dk.ya çıktığında doku TAS değerinde azalma gözlemlendi ( $p= 0,4$ ).
- İskemi-reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar, birebir süresine göre karşılaştırıldığında; yalnızca SIL 45 grubunda doku TAS değeri, eş zamanlı iskemi-reperfüzyon grubuna göre yüksek saptanmıştır (SIL 45 vs 45 IR;  $p= 0,8$ )
- İskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında silymarin gruplarında doku TAS değeri azalmıştır ( $p= 0,08$ ).
- SF grubu ile karşılaştırıldığında silymarin verilen tüm gruplarda doku TAS değerleri daha yüksek bulunmuştur ( $p= 0,001$ ).

#### 4.2.2. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Değerlerinin Analizleri

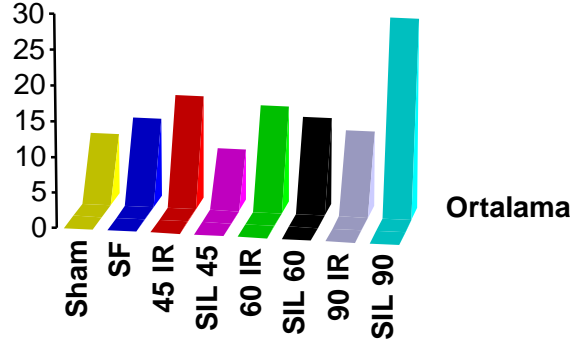
Çalışma gruplarından elde edilen böbreklerdeki doku SOD değerleri incelendiğinde; 4,58  $\mu\text{mol/mg}$  protein (SIL 45 grubu) ile 28,625  $\mu\text{mol/mg}$  protein (SIL 60 grubu) arasında değişen değerler elde edilmiştir.

Ortalama SOD değerleri hesaplandığında; en düşük doku SOD değerinin SIL 45 grubunda ( $7,26322 \pm 2,25726$   $\mu\text{mol/mg}$  protein) olduğu; en yüksek doku SOD değerinin ise SIL 90 grubunda ( $26,9196 \pm 42,9132$   $\mu\text{mol/mg}$  protein) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 8.** Grupların doku SOD değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Max
Sham	8,56229 $\pm$ 2,58794	5,725	12,7222
SF	11,088 $\pm$ 3,68656	7,80681	18,0789
45 IR	14,6123 $\pm$ 6,91721	7,63333	26,423
SIL 45	7,26322 $\pm$ 2,25726	4,58	9,81428
60 IR	13,665 $\pm$ 5,27201	9,28378	20,2059
SIL 60	12,2734 $\pm$ 8,13267	6,73529	28,625
90 IR	10,7012 $\pm$ 2,20435	8,17857	13,2115
SIL 90	26,9196 $\pm$ 42,9132	8,378804	114,5

*SD:* Standart Sapma, *Min:* Minimum Değer, *Max:* Maksimum Değer



**Grafik 6.** Gruplarda ortalama doku SOD aktiviteleri

- İskemi reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi arttıkça (45-60-90 dk.) doku SOD değerleri azalmıştır ( $p=0,1$ )
- Silymarin verilen gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında; iskemi süresi arttıkça doku SOD değerlerinde yükselme saptanmıştır ( $p=0,4$ ).
- Silymarin verilen gruplar (SIL 45, SIL 60 ve SIL 90) ile SF grubu karşılaştırıldığında; tüm iskemi sürelerinde, Silymarin gruplarında doku SOD değerleri daha yüksek bulunmuştur ( $p=0,04$ ;  $p=0,6$  ve  $p=0,8$  sırasıyla).
- Sham grubu ile Silymarin verilen gruplar (SIL 45, SIL 60 ve SIL 90) karşılaştırıldı.
  - i) 45 dk. iskemi uygulanan Silymarin grubu doku SOD değeri; Sham grubundan daha düşüktü ( $p=0,3$ ).
  - ii) Fakat iskemi süreleri arttıkça Silymarin verilen grupların doku SOD değerleri Sham grubuna nazaran daha yüksek izlendi ( $p=0,3$  ve  $p=0,3$  sırasıyla).

#### 4.2.3. Doku Total Oksidan Status (TOS) Değerlerinin Analizleri

Çalışma gruplarından elde edilen böbreklerdeki doku TOS değerleri incelendiğinde; 5,892  $\mu\text{mol/mg}$  protein (90 IR grubu) ile 37,451  $\mu\text{mol/mg}$  protein (SIL 45 grubu) arasında değişen değerler elde edilmiştir.

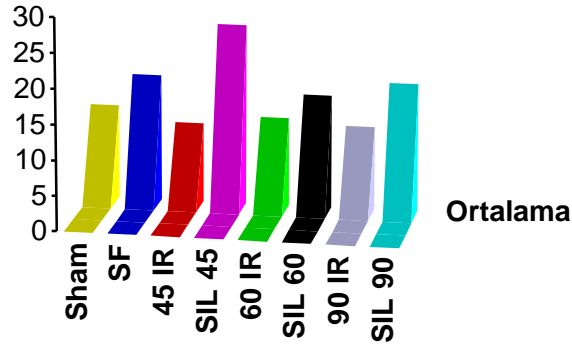
Ortalama doku TOS değerleri hesaplandığında; en düşük doku TOS değerinin 45 IR grubunda ( $11,1565 \pm 1,78689$   $\mu\text{mol/mg}$  protein) olduğu; en yüksek doku TOS

değerinin ise SIL 45 grubunda ( $25,45083 \pm 10,33692$   $\mu\text{mol/mg}$  protein) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 9.** Grupların doku TOS değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Max
Sham	$13,23823 \pm 4,38377$	8,425	19,636
SF	$17,80833 \pm 5,55296$	8,153	22,418
45 IR	$11,1565 \pm 1,78689$	8,33	13,393
SIL 45	$25,45083 \pm 10,33692$	13,467	37,451
60 IR	$12,488 \pm 2,38308$	10,109	15,7
SIL 60	$15,944 \pm 5,50943$	11,407	24,324
90 IR	$11,7685 \pm 3,87708$	5,892	15,595
SIL 90	$18,16833 \pm 5,38161$	11,874	24,356

*SD*: Standart Sapma, *Min*: Minimum Değer, *Max*: Maksimum Değer



**Grafik 7.** Gruplarda ortalama doku TOS aktiviteleri

- İskemi reperfüzyon grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında; iskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında doku TOS değerinde artış gözlemlendi ( $p=0,3$ ).
- İskemi reperfüzyon (I/R) grupları ile Silymarin (SIL) grupları doku TOS değerikarşılaştırıldığında;
  - i) 45 IR grubu; SIL 45 grubuna göre daha düşük bir değere sahipti ( $p=0,008$ ).
  - ii) 60 IR grubu; SIL 60 grubuna göre daha düşük bir değere sahipti ( $p=0,2$ ).

iii) 90 IR grubu; SIL 90 grubuna göre daha düşük bir değere sahiptir ( $p=0,04$ ).

- İskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında; Silymarın gruplarında (SIL 45 vs SIL 60) doku TOS değeri azalmıştır ( $p= 0,07$ ).
- SF grubu ile karşılaştırıldığında SIL 60 grubunda doku TOS değeri daha düşük bulunmuştur ( $p= 0,6$ ).

#### 4.2.4. Doku Malondialdehit (MDA) Değerlerinin Analizleri

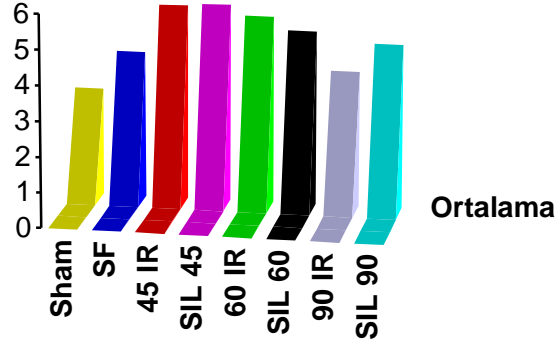
Çalışma gruplarından elde edilen böbreklerdeki doku MDA değerleri incelendiğinde; 1,86237  $\mu\text{mol/mg}$  protein (60 IR grubu) ile 9,12089  $\mu\text{mol/mg}$  protein (SIL 60 grubu) arasında değişen değerler elde edilmiştir.

Ortalama doku MDA değerleri hesaplandığında; en düşük doku MDA değerinin Sham grubunda ( $3,03451 \pm 1,39176$   $\mu\text{mol/mg}$  protein) olduğu; en yüksek doku MDA değerinin ise SIL 45 grubunda ( $5,57738 \pm 1,57451$   $\mu\text{mol/mg}$  protein) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 10.** Grupların doku MDA değerleri, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Max
Sham	$3,03451 \pm 1,39176$	1,99652	5,44981
SF	$4,14062 \pm 1,44022$	2,19696	5,9375
45 IR	$5,50662 \pm 1,79266$	3,63952	7,34375
SIL 45	$5,57738 \pm 1,57451$	2,93876	7,16382
60 IR	$5,28724 \pm 2,44297$	1,86237	8,86205
SIL 60	$4,93265 \pm 2,27512$	2,33743	9,12089
90 IR	$3,83364 \pm 1,34546$	2,91351	6,46148
SIL 90	$4,64567 \pm 2,3074$	7,06714	8,84627

**SD:** Standart Sapma, **Min:** Minimum Değer, **Max:** Maksimum Değer



**Grafik 3.** Gruplarda ortalama doku MDA aktiviteleri

- İskemi reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında doku MDA değerleri arasında yakınlık görülmüştür ( $p= 0,3$ ).
- İskemi reperfüzyon grupları ile Silymarın verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında; SIL 60 grubunda 60 IR grubuna göre; doku MDA değeri daha düşük bulunmuştur ( $p= 0,8$ ).
- İskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya; 60 dk.dan 90 dk.ya çıktığında silymarın gruplarında doku MDA değerleri azalmıştır ( $p= 0,6$  vs  $p= 0,8$  sırasıyla).

### 4.3. Histopatolojik Bulgular

#### 4.3.1. Böbrek Dokularının Hematoksilen-Eosin ile Boyanma Özellikleri ve Skorları

Hematoksilen-Eosin ile boyanmış olan böbrek dokuları; vakuoler dejenerasyon, tubüler cast, tubüler dilatasyon ve medüller konjesyon parametreleri yönünden incelendi (Sekil 14-22).

Akut renal yetmezlikte bulunan değişiklikleri değerlendiren Paller ve arkadaşlarının tanımladığı semikantitatif bir skalada; kronik inflamasyon, tubüler epitalyal hücre düzleşmesi, sitoplazmik vakualizasyon, hücre nekrozu ile iskemik değişiklikler ve tubüler lümen obstruksiyonu skorumda kullanılmıştır [56, 150].

Bu skorumda sistemi modifiye edilerek; bu çalışmada vakuoler dejenerasyon, tubüler cast, tubüler dilatasyon ve medüller konjesyon parametreleri kullanıldı.

İncelemeler sonrası bu parametrelerden bulgu yok ise; ‘negatif (-)’ ve bulgu var ise; ‘pozitif (+)’ olarak derecelendirildi. Bulgu var ise; kendi içinde hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak derecelendirildi.

Histopatolojik bulguların gruplara göre ortalama skorları; (-) bulgu yok, 0 puan; (+) hafif, 1 puan; (++) orta, 2 puan ve (+++) şiddetli, 3 puan olarak derecelendirilerek hesaplandı.

1- Vakuoler Dejenerasyon	(0, +, ++, +++)
2- Tubüler Cast	(0, +, ++, +++)
3- Tubüler dilatasyon	(0, +, ++, +++)
4- Medüller Konjesyon	(0, +, ++, +++)

#### 4.3.2. Vakuoler Dejenerasyon

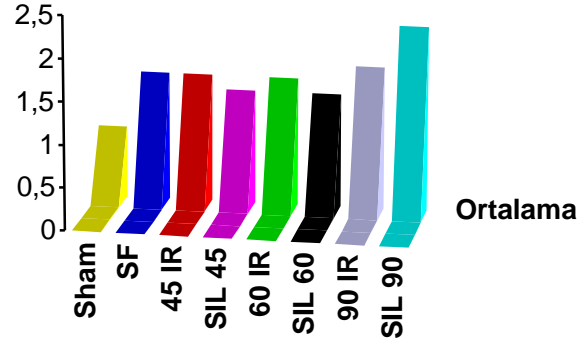
Çalışma gruplarından elde edilen böbrek dokularının Hematoksilen–Eosin’le boyanıp incelenmesi ile ortaya çıkan ‘Vakuoler Dejenerasyon’ skorları incelendiğinde; Sham ve SIL 45 gruplarında minimal değerler gözlemlendi. Maksimal değerler ise; 60 IR, 90 IR ve SIL 90 gruplarıydı.

Ortalama ‘Vakuoler Dejenerasyon’ skorları hesaplandığında; en düşük ortalama skor Sham grubunda ( $0,8333 \pm 0,40825$ ); takiben SIL 60 ve SIL 45 ( $1,3333 \pm 0,51640$  vs  $1,3333 \pm 0,81650$ ) olduğu; en yüksek ortalama skor SIL 90 grubunda ( $2,1667 \pm 0,40825$ ) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 11.** Gruplarda Vakuoler Dejenerasyon skorları, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Max
Sham	$0,8333 \pm 0,40825$	0	1
SF	$1,5000 \pm 0,54772$	1	2
45 IR	$1,5000 \pm 0,54772$	1	2
SIL 45	$1,3333 \pm 0,81650$	0	2
60 IR	$1,5000 \pm 0,83666$	1	3
SIL 60	$1,3333 \pm 0,51640$	1	2
90 IR	$1,6667 \pm 1,03280$	1	3
SIL 90	$2,1667 \pm 0,40825$	2	3

*SD:* Standart Sapma, *Min:* Minimum Değer, *Max:* Maksimum Değer



**Grafik 9.** Vakuoler Dejenerasyon skorları

- İskemi reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi 60 dk.dan 90 dk.ya çıktığında ortalama vakuoler dejenerasyon skorunda artma görülmüştür ( $p=0,8$ ).
- İskemi reperfüzyon grupları ile Silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında; 45 dk. ile 60 dk.da silymarin gruplarında ortalama vakuoler dejenerasyon skoru düşük görüldü (45 IR,SIL 45 vs 60 IR,SIL 60;  $p=0,8$  vs  $p=0,8$  sırasıyla).
- Silymarinin etkinliği 45 dk. iskemi süresi göz önüne alındığında; SF'a göre dahadüşük vakuoler dejenerasyon izlendi ( $p=0,8$ ).

#### 4.3.3. Tubüler Cast

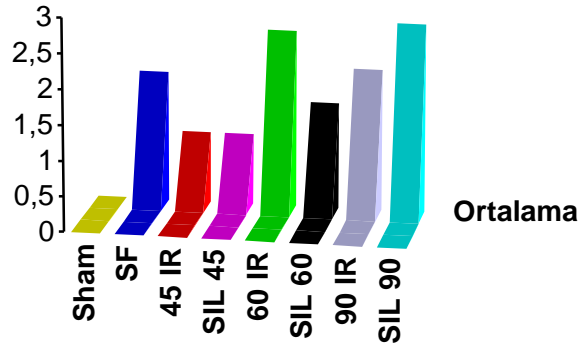
Çalışma gruplarından elde edilen böbrek dokularının Hematoksilen–Eosin’le boyanıp incelenmesi ile ortaya çıkan ‘Tubüler Cast’ skorları incelendiğinde; Sham ve SIL 45 gruplarında minimal değerler gözlemlendi. Maksimal değerler ise; SF, 60 IR, SIL 60, 90 IR ve SIL 90 gruplarıydı.

Ortalama ‘Tubüler Cast’ skorları hesaplandığında; en düşük ortalama skor Sham grubunda ( $0,8333 \pm 0,40825$ ); takiben SIL 45 grubunda ( $1,0 \pm 0,89443$ ) olduğu; en yüksek ortalama skor SIL 90 grubunda ( $2,1667 \pm 0,40825$ ) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 12.** Gruplarda Tubüler Cast skorları, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Maks
Sham	0,0	0	0
SF	1,8333 $\pm$ 0,75277	1	3
45 IR	1,0 $\pm$ 0,0	1	1
SIL 45	1,0 $\pm$ 0,89443	0	2
60 IR	2,5000 $\pm$ 0,83666	1	3
SIL 60	1,5000 $\pm$ 0,83666	1	3
90 IR	2,0000 $\pm$ 0,89443	1	3
SIL 90	2,6667 $\pm$ 0,51640	2	3

*SD*: Standart Sapma, *Min*: Minimum Değer, *Max*: Maksimum Değer



**Grafik 10.** Tubüler Cast skorları

- İskemi reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında ortalama tubüler cast skorunda artma görülmüştür ( $p=0,006$ ).
- Silymarinin etkinliği göz önüne alındığında; iskemi süresi arttıkça ortalama tubüler cast skorlarında artma gözlemlendi ( $p=0,03$ ).
- Silymarin SF ile karşılaştırıldığında; iskeminin 45.dakikası ile 60. Dakikasında ortalama tubüler cast skoru daha düşüktü ( $p=0,1$  vs  $p=0,4$ ).



#### 4.3.4. Tubüler Dilatasyon

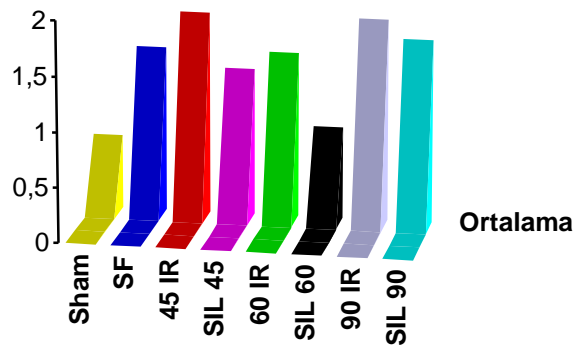
Çalışma gruplarından elde edilen böbrek dokularının Hematoksilen–Eosin’le boyanıp incelenmesi ile ortaya çıkan ‘Tubüler Dilatasyon’ skorları incelendiğinde; Sham ve SIL 45 gruplarında minimal değerler gözlemlendi. Maksimal değerler ise; SF, 60 IR, SIL 60, 90 IR ve SIL 90 gruplarıydı.

Ortalama ‘Tubüler Dilatasyon’ skorları hesaplandığında; en düşük ortalama skor Sham grubunda ( $0,8333 \pm 0,40825$ ); takiben SIL 45 grubunda ( $1,0 \pm 0,89443$ ) olduğu; en yüksek ortalama skor SIL 90 grubunda ( $2,1667 \pm 0,40825$ ) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 13.** Gruplarda Tubüler Dilatasyon skorları, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Maks
Sham	$0,6667 \pm 0,51640$	0	1
SF	$1,5000 \pm 0,54772$	1	2
45 IR	$1,8333 \pm 0,75277$	1	3
SIL 45	$1,3333 \pm 0,51640$	1	2
60 IR	$1,5000 \pm 0,54772$	1	2
SIL 60	$0,8333 \pm 0,40825$	0	1
90 IR	$1,8333 \pm 0,75277$	1	3
SIL 90	$1,6667 \pm 0,51640$	1	2

*SD*: Standart Sapma, *Min*: Minimum Değer, *Max*: Maksimum Değer



**Grafik 11.** Tubüler Dilatasyon skorları

- İskemi reperfüzyon grupları ile Silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında;
  - i) 45. dakikada silymarinin ortalama tubüler dilatasyon skoru daha düşüktü ( $p=0,2$ ).
  - ii) 60. dakikada silymarinin ortalama tubüler dilatasyon skoru daha düşüktü ( $p=0,04$ ).
  - iii) 90. dakikada silymarinin ortalama tubüler dilatasyon skoru daha düşüktü ( $p=0,7$ ).
- Silymarinin etkinliği SF ile karşılaştırıldığında; 45, ve 60. dakikada ortalama tubüler dilatasyon skoru daha düşüktü ( $p=0,6$  vs  $p=0,04$ ).

#### 4.3.5. Medüller Konjesyon

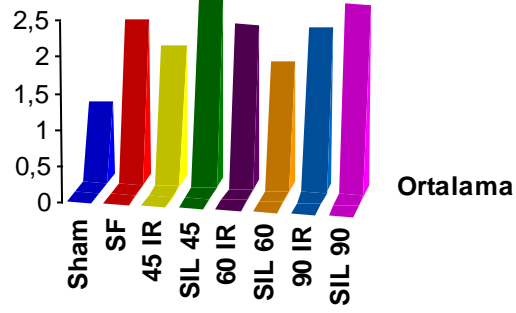
Çalışma gruplarından elde edilen böbrek dokularının Hematoksilen–Eosin’le boyanıp incelenmesi ile ortaya çıkan ‘Medüller Konjesyon’ skorları incelendiğinde; SIL 60 grubunda minimal değer gözlemlendi. Maksimal değerler ise; 45 IR, SIL 45, 60 IR, SIL 60, 90 IR ve SIL 90 gruplarıydı.

Ortalama ‘Medüller Konjesyon’ skorları hesaplandığında; en düşük ortalama skor Sham grubunda ( $1,0000 \pm 0,00000$ ); takiben SIL 60 grubunda ( $1,6667 \pm 1,21106$ ) olduğu; en yüksek ortalama skor SIL 90 grubunda ( $2,5000 \pm 0,83666$ ) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 14.** Gruplarda Medüller Konjesyon skorları, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	Min	Maks
Sham	$1,0000 \pm 0,00000$	1	1
SF	$2,1667 \pm 0,40825$	2	3
45 IR	$1,8333 \pm 0,75277$	1	3
SIL 45	$2,5000 \pm 0,54772$	2	3
60 IR	$2,1667 \pm 0,75277$	1	3
SIL 60	$1,6667 \pm 1,21106$	0	3
90 IR	$2,1667 \pm 0,98319$	1	3
SIL 90	$2,5000 \pm 0,83666$	1	3

*SD:* Standart Sapma, *Min:* Minimum Değer, *Max:* Maksimum Değer



**Grafik 12.** Medüller Konjesyon skorları

- İskemi reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında ortalama medüller konjesyon skorunda artma görülmüştür ( $p= 0,43$ ).
- Silymarinin etkinliği göz önüne alındığında; 60 dakikalık iskemi süresinde daha düşük ortalama medüller konjesyon skoru izlendi ( $p= 0,45$ ).
- Silymarin SF ile karşılaştırıldığında; iskeminin 60. dakikasında ortalama medüller konjesyon skoru daha düşüktü ( $p=0,43$ ).

## 5. TARTIŞMA

Parsiyel nefrektomi, böbrek transplantasyonu, şok, çeşitli ürolojik girişimler, hidronefrozis, sepsis ve kardiyopulmoner by-pass gibi çeşitli klinik durumlarda böbrek iskemisi görülebilir. İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği ise; tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışıyla karakterizedir. Özellikle parsiyel nefrektomilerde tümörün çıkarılmasından önce böbrek damarlarının klemplenmesi hem kan kaybını önlemekte, hem de cerrahi işlemi kolaylaştırmaktadır. Ancak damarların klemplenme süresinin uzun olması, böbrek dokusunda geri dönüşümsüz hasara yol açmaktadır. Aynı zamanda renal transplantasyonda ve suprarenal aortik anevrizmalarda da benzer prosedürler kullanılmaktadır. Bu bilgiler ışığında böbreklere yapılacak herhangi bir girişim öncesi çeşitli madde veya ilaçların kullanımıyla İRH'nin engelleneceği ve hasarın önleneceği düşünülmüştür.

Vücut oksidatif strese karşı anti oksidan savunma sistemini geliştirmiştir. Anti oksidan sistem içindeki sellüler, ekstra sellüler ve membranel anti oksidan maddeler radikallerle hızlıca reaksiyonlara girerek oto oksidasyon / peroksidasyonun ilerlemesini önlerler. Bu oksidan ve anti oksidan sistem arasındaki denge bozukluğu doku hasarının esas nedenidir.

Dokular iskemi sırasında oksijensiz kalarak hasar görmekte ve dolaşım yeniden sağlandığında ise ortamın yeniden oksijenlenmesinin neden olduğu bir seri olay sonucu doku hasarı daha da artmaktadır [56, 151, 152].

İskemi-reperfüzyon hasarı incelendiğinde; inflamatuvar cevap oluşmasına neden olan serbest oksijen radikalleri artışı ön plana çıktığı görülmektedir. Lökosit ve endotelden oluşan serbest oksijen radikalleri; lipid, protein ve nükleik asitler ile hücre zarının nitrasyonuna ve oksidasyona neden olmaktadır. Primer iskemik hasara neden olan endoteldeki ksantin oksidaz; serbest oksijen radikallerinin oluşmasına yol açar ve inflamasyondaki kemotaktik faktörler ile lökositlerin dağılımına neden olur.

İskemi-reperfüzyon hasarını böbrek dokusunda oluşturan serbest oksijen radikallerinin öncüleri; ksantin oksidaz sistemi, araşidonik asit metabolitleri, hücre içi kalsiyum iyon artışı, mitokondriyal elektron transport zinciri ve demir iyonu gibi etkenlerdir. Bunlar birbirini zincirleme şekilde etkileyerek membran yıkımını

artırmakta; endojen toksinleri açığa çıkarmakta ve hücre fonksiyonlarını bozmaktadır [153-155].

Organizmada SOR ile enzimatik/non enzimatik antioksidan savunma mekanizmaları arasında bir denge vardır. Bu dengenin bozulması çeşitli patolojik değişikliklere yol açar. Böbrek kan akımındaki azalma veya kesilme yani oksijenizasyondaki bozulma ve sonradan oluşan reperfüzyon ile birlikte değişik seviyelerde doku hasarı olmaktadır. Böbrek İRH'de, iskemi sonrası böbrek fonksiyon bozukluklarında SOR en önemli rolü oynamaktadır. SOR; DNA üzerinden etki ederek genetik mutasyona, lipidler üzerinden etki ederek membran fonksiyon kaybına, protein üzerinden etki ederek enzim inaktivasyonuna neden olur.

Oksidan-anti oksidan düzen homeostazisinin ölçümü; 'Total Oksidan Status (TOS), Total Anti oksidan Kapasite (TAK) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSI)' ile yapılabilmektedir. Normal oksidan-anti oksidan homeostazisinde; TAK ile TOS dengededir. Oksidatif stres ve oksidatif hasar ile denge; TOS lehine bozulur.

Ayrıca reperfüzyon sonrası; SOR'da hızla yükselme olduğu ve bunun sonucu olarak lipid peroksidasyon düzeyinde artış olduğu bildirilmektedir. Serbest radikallerin indüklediği hücre membranı makromoleküllerinin peroksidasyonu; İRH'nın önemli bir elemanıdır. Lipid peroksidasyonunun yıkımıyla oluşan MDA; daha dayanıklı ve ölçümü daha kolay olan bir üründür [156]. Yun ve ark.; ratlarda renal İRH'da oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu sebebi ile oluşan MDA düzeyinin arttığını göstermişlerdir [157]. Yine başka bir çalışmada, Singh ve ark. böbrek İRH oluşturdukları gruplarda MDA düzeyinde artış tespit etmişlerdir [150]. Silymarinin renoprotektif özelliğini araştırdığımız bu çalışmada ise; iskemi-reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında; tüm iskemi sürelerinde, silymarin verilen gruplarda serum MDA değeri eş zamanlı iskemi-reperfüzyon gruplarına göre düşük saptanmıştır. Ortalama serum MDA değerleri hesaplandığında ise; ortalaması düşük olan grupların silymarin verilen gruplar olduğu, ortalaması yüksek olan grupların ise iskemi-reperfüzyon gruplarının olduğu izlendi. Douk MDA açısından iskemi-reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırdık. SIL 60 grubunda 60 IR grubuna göre; doku MDA değeri daha düşük bulunmuştur ( $p=0,8$ ). İskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya; 60 dk.dan 90 dk.ya çıktığında silymarin gruplarında doku MDA değerleri azalmıştır ( $p=0,6$  vs  $p=0,8$  sırasıyla).

Hücreler oksidatif hasarı önleyen veya azaltan mekanizmalara sahiptir. Doku hasarının başlaması ile gelişen biyokimyasal süreçte antioksidan sistem yetersiz

kalmaktadır. İskemi oluşan dokularda oksidanlara bağılı olarak iskeminin devam ettiğı sürede glutasyon miktarının azaldığı ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GPx) gibi enzimlerin inaktivasyonunu hızlandırmıştır. Böylece hücrelerin reperfüzyon sırasında hızlıca oluşan oksijen radikallerinin etkisine daha duyarlı hale geldiğı bildirilmektedir. İRH'nın geriye dönebilmesi, tübüler hücrelerin nefronda hasarlı epitel hücrelerinin yerini alma ve yenilenme kapasitesine bağılıdır.

Organizmanın prooksidan-antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürüebilmek için çok önemlidir. Organizma İ/R sonrası oluşan SOR'a karşı kendisini antioksidan enzim sistemi ile savunur. Bu enzimler İRH ile dokuda biriken serbest oksijen radikallerinin detoksifikasyonunda görevlidir. Antioksidan enzimlerden; SOD, CAT, GPx; İ/R ile oluşmuş radikallerin detoksifikasyonunda rol oynarlar. Bu enzimlerin seviyelerinin ölçümü serbest radikal aracılı hasar konusunda indirek bilgi verir. Böbrek İRH'nın araştırıldığı tüm farklı çalışmalarda, İ/R oluşturulan gruplarda SOD, GPx ve CAT aktivitelerinde azalma gözlemlenmiştir [158, 159].

Yaptığımız bu çalışmada ise; hem serum düzeyinde hemde doku düzeyinde SOD seviyelerini araştırdık. İskemi-reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında; 45. ve 60.dk.da serum SOD değerleri, silymarin verilen gruplarda yüksek saptanmıştır ( $p= 0,4$  vs  $p= 0,6$  sırasıyla). İskemi süresi uzadıkça; silymarin gruplarında serum SOD değerleri azalmıştır ( $p= 0,1$ ). İskemi-reperfüzyon grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında; iskemi süresi arttıkça (45-60-90 dk.) doku SOD değerleri azalmıştır ( $p= 0,1$ ). Silymarin verilen gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında ise; iskemi süresi arttıkça doku SOD değerlerinde yükselme saptanmıştır ( $p= 0,4$ ). Silymarin verilen gruplar (SIL 45, SIL 60 ve SIL 90) ile SF grubu karşılaştırıldığında; tüm iskemi sürelerinde, Silymarin gruplarında doku SOD değerleri daha yüksek bulunmuştur ( $p= 0,04$ ;  $p= 0,6$  ve  $p= 0,8$  sırasıyla).

İskemi ve anoksi sonucunda yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin azalması, hücre içi serbest kalsiyum iyonunu artırmakta ve hücre fonksiyonlarını bozarak hücre zarının parçalanmasına yol açmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde, hücre içine giren kalsiyumun engellenmesi, giren kalsiyumun bağlanması, serbest oksijen radikallerinin oluşumunun engellenmesi ve blokajı, nötrofillerin rolünün engellenmesi ve lipooksijenaz ve siklooksijenaz yolunun inhibe edilmesi gibi çeşitli yöntemler denenmiştir [160]. Literatür gözden geçirildiğinde ise; böbrekte İRH'nın engellenmesinde birçok ajan kullanılmıştır. L-karnitin, N-asetilsistein, PGE<sub>1</sub>, karnitin, aminoguanidin, kalsiyum kanal blokerleri, immun süpresif ajanlar, PDE<sub>3</sub> inhibitörleri ve

E vitamini gibi birçok ajan deneysel olarak kullanılmış ve sonuçları anlamlı bulunmuştur [161-163].

Bu ajanların deneysel düzeyde olsa bile böbrekte meydana gelebilecek İRH'nın önlenmesinde anlamlı olacağı ihtimaldir. Bu maddelerin kullanımı, başka hangi maddelerin kullanımının iskemi reperfüzyon hasarında etkili olacağı düşüncesini doğurmuştur. Bu düşünceden hareketle ikibin yılı aşkın süredir bilinen, fitoterapide etkin olarak kullanılan deve dikeninin etken maddesi olan silymarin ele alınmıştır.

M.Ö. 4 yüzyılda Theoprastus tanımlanan ve "Pternix" olarak adlandırılan; Silymarin; 'Milk Thistle' olarak da bilinmektedir. *Silybum marianum* L. Gaertn (deve dikenini) ya da *Carduus marianus* L. (Meryem ana dikenini) bitkisinin yaprak ve tohumlarından elde edilir. Silymarinin; antioksidan, antikarsinojenik, renoprotektif, hepatoprotektif, antiapoptotik, antidepresan ve daha birçok yararlı etkileri bulunmaktadır. Özellikle nefron koruyucu cerrahi sırasında oluşturulan iskemi ile reperfüzyonun ve sürelerinin, cerrahi sonrası böbrek fonksiyonları üzerine etkisi yadsınamaz. Ayrıca; böbrek transplantasyonu öncesi, operasyon sırası ve sonrasındaki iskemi nakil edilen böbreğin reddine kadar süreci uzatmaktadır. Akut böbrek yetmezliği (ABY); önlenebilir sağlık sorunlarının en önemlilerinden biridir. Böbrekte iskemi oluşturacak tüm durumlar; ilk etapta ABY, sonrasında yine ABY zemininde diyaliz ve böbrek nakline uzanan sürecin başlangıcı olmaktadır. Bu nedenle iskeminin önlenmesi veya iskemi öncesi-sonrası alınacak önlemler ile hasarı önüne geçilmesi planlanmaktadır. Hepatoprotektif etkisi bilinen, bu amaçla kullanıma geçen silymarinin; yapılan diğer çalışmalarda pankreas, beyin ve myokard iskemisi üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir.

Silymarin; uzun yıllar karaciğer ve gastrointestinal sistem (GİS) hastalıklarının tedavisinde kullanılan, karaciğer ve safra hastalıklarına karşı koruyucu; kronik hepatit, siroz, sarılık ile kimyasal ve çevresel toksinler; yılan ve böcek sokması, mantar zehiri ve alkole karşı karaciğeri koruyan, hepatoprotektif, antikarsinojenik ve kanseroprotektif aktivite gösteren, hücre çoğalmasını arttıran, nörotoksinlere ve kardiyotoksinlere karşı koruyucu, östrojenik ve anti östrojenik etkileri olan doğal bir antioksidandır [79-85, 87, 88].

Saller ve ark. yapmış olduğu çalışmada alkolik karaciğer hastalığında plasebo ile karşılaştırıldığında silymarin ile tedavi edilen gruplarda aspartat aminotransferaz (AST) azaldı. Karaciğer sirozu (özellikle alkolik) olarak mortalite silymarin ile % 16.1 plasebo

ile % 20.5 idi; karaciğer ile ilişkili mortalite silymarin ile % 10,0, plasebo ile % 17.3 oldu [164].

Silymarinin hayvanlarda karaciğer fibrozisini yavaşlattığı ve iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Safra yolları total oklüze edilmiş ratlarda inflamasyon olmadan progresif karaciğer fibrozisi gelişmektedir. Silymarinin oluşan fibrozisi kontrol grubuna oranla %30-35 oranında azalttığı gösterilmiştir [107].

Silymarinin ilaca bağlı hepatotoksisiteyi azaltmasını gösteren diğer çalışmada ise; rifampicin ve pyrogallola bağlı CYP1A2 CYP2E1, glutatyon-S-transferaz, glutatyon redüktaz ve GPx aktivitesinin ekspresyonu ve aktivitelerindeki değişimi düzettiği gösterilmiştir [165].

Pradeep ve ark.; dietilnitrozamin (200 mg/kg) intraperitoneal uygulama sonrası hepatosellüler hasarı gösteren serum alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) seviyelerinde yükselme ve karaciğer dokusunda ilaca bağlı artmış oksidatif stres ise; lipid peroksidasyon seviyesinde artma, SOD, CAT, GPx, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz seviyelerinde azalmayı göstermiştir. 30 günlük oral silymarin (50 mg/kg) uygulaması sonrasında dietilnitrozamin bağlı değişiklikleri tersine çevirdiği gibi tam bir etkin koruma sağladığı gösterilmiştir [166].

Huber ve ark. çalışmasında; ayaktan takipli ve pegylated interferon ve ribavirin kombinasyon tedavisine uygun olmayan kronik Hepatit C hastaları silymarin ile tedavi edildi. 90 günlük tedavi sonunda ALT, AST ve GGT seviyelerinde artış gözlenmedi [167].

Başka bir çalışmada silymarinin Amanita phalloides toksini olan phalloidin'e karşı protektif etkisi gösterilmiştir [168]. 1980-1981 yıllarında Amanita phalloides ile zehirlenmiş 18 hasta silibinin kombine tedavi edilmiştir [120]. İsveç'te Lund Üniversite Hastanesi'nde Amanita mantarı ile zehirlenen 41 hasta alfa lipoik asit ve silymarin içeren medikal rejimler ile tedavi edilmiştir [121].

Ratlarda alloksan ile oluşturulmuş hiperglisemi çalışmasında alloksan ile silymarin veya toksik madde (alloksan) maruziyeti sonrası 9 hafta silymarin tedavisi ile normal insulin ve glukoz seviyesine gerilediği görüldü. Ayrıca histolojik düzeyde pankreas dokusu, Langerhans adacıkları ve ekzokrin alanlarda düzelleme görülmüştür [169]. 2007 yılında yapılan çalışmada; silymarinin 1 hafta gastrik lavajı sonrası sol anterior descending koroner artere 30 dk oklüzyon sonrası 4 saat reperfüzyon yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarda nötrofil infiltrasyonunu suprese ettiği, myokardda



iskemi alanını sınırladığı, serum ve doku MDA ile serum marker enzimlerinde düşüş gösterilmiştir [143].

Silymarinin; anti inflamatuvar, anti proliferatif, apoptoz indükleyici, hücre döngüsünü mo-düle edici-önleyici ve metastaz karşıtı etkileri gösterilmiştir. Son çalışmalarda silymarinin deri, göğüs, akciğer, kolon, mesane, prostat ve böbrek kansinomlarını içeren in vitro ve in vivo kanser modellerinde önemli anti-neoplastik etkileri gösterilmiştir [170].

Colombo ve ark. yaptığı çalışmada; kolon adeno kanser hücre kültüründe tedavi öncesi silymarin uygulamasının doksorubisin ve paklitaksel ile sinerjistik etkisi gösterilmiştir [171]. Silymarinin rat kalp, karaciğer ve böbreğini doksorubisine bağlı toksisiteye karşı koruduğu gösterilmiştir [172]. Abdelmeguid ve ark.; erkek Sprague Dawley ratlarda silymarinin sispla-tine bağlı nefrotoksitesine karşı protektif etkisini göstermiştir [173].

İskemi-reperfüzyon hasarı; greftin fonksiyonunda gecikme ve böbrek nakli ve sonrasındaki uzun periyotta oluşan değişikliklerde önemli bir rol oynar [174]. İskemik akut böbrek yetmezliği (ABY) hem akut hem de kronik sonuçları ile mekanizmaların karmaşık bir kaskad ile ilgili olarak kabul edilmektedir. Renal İRH; nativ ve nakledilen organlarda ABY'nin önemli nedenidir. Destekleyici tedavi dışında ABY için spesifik bir tedavi yoktur [175]. Daha önceki hayvan çalışmalarında asetaminofen, sisplatin ve vinkristine bağlı renal hasara karşı silymarinin protektif etkileri gösterilmiştir. Başka bir çalışmada ise; Şentürk ve ark.; silymarinin doz-bağımlı renal İRH'a bağlı morfolojik değişikliklere üzerine etkisini incelemiştir. Renal İRH sonrası tubüler dilatasyon, tubüler vakuolizasyon, pelvik inflamasyon, interstisyel inflamasyon ve perirenal adipoz infiltrasyonu gözlenmiştir. Silymarin uygulaması ile bozulmuş plasma membran bütünlüğüne bağlı renal hasar gelişmesinde köşetaşı olan tubüler nekroz ve glomerüler nekroz tamamen önlenmiştir [176].

Turgut ve ark.nın yaptığı çalışmada; 100 mg/kg silymarinin 7 günlük uygulaması sonrası renal iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulmuştur. Silymarin+renal İ/R grubunda serum üre, kreatinin ve sistatin C seviyesinin düşük olduğu gözlenmiştir. Aynı grupta serum SOD ve GPx seviyesinin düzelmesi/artması ile MDA, NO ve protein karbonil seviyeleri düzelmiştir. Renal dokuda ise; silymarin uygulaması ile CAT, SOD ve GPx seviyesinde düzelme/artma gözlenirken; MDA, NO ve protein karbonil seviyelerinde anlamlı azalma mevcuttur. Yine aynı grupta; serum TAK değeri yüksek, serum TOS değeri ise düşük saptanmıştır [177].

Turgut ve ark.nın yaptığı çalışmada; akut böbrek yetmezliğinin önlenebilir nedenleri üzerine silymarinin katkısı göz ardı edilmeyip; renal İRH üzerine protektif etkisi morfolojik, histolo-jik ve biyokimyasal olarak gösterilmiştir.

Yaptığımız bu çalışmada ise; silymarinin etkisinin, uzamış iskemi süreleri ile karşılaştırılarak renoprotektif etki süresi gözlemledik. Çalışmamızda silymarinin böbreğin farklı iskemi süreleri üzerine olan protektif etkisini araştırdık. Böylece böbrekte iskemi oluşturulacak durumlarda; güvenli bir zaman aralığı oluşturup ve iskemi sonrası oluşabilecek hasar minimize etmek istedik.

Bizim çalışmamızda serum TAS değerleri tek tek ele alındığında; en yüksek değerlerin SIL 45 grubuna (2,81 mmol/L) ait olduğu görüldü. Grupların ortalama değerleri göz önüne alınıp; ortalama serum TAS değerleri hesaplandığında ise; en yüksek ikinci ortalama SIL 45 grubunda (1,0262 ± 1,00026) görüldü.

İskemi-reperfüzyon (IR) grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya (45 IR vs 60 IR) uzadığında serum TAS değerlerinde azalma olduğu görülmüştür ( $p=0,2$ ). İskemi uzadıkça silymarin (SIL) gruplarında serum TAS değerlerinde azalma gözlenmiştir. Silymarinin koruyucu etkisi zamanla azalmıştır. SIL 45 grubuyla, SIL 60 ve SIL 90 grupları karşılaştırıldığında serum TAS değerlerindeki azalma görülmüştür ( $p= 0,08$  vs  $p=0,4$  sırasıyla). Silymarinin etkisinin iskemi süresi arttıkça; TAS üzerinde etkisinin de olumlu, TAS değer- lerinin de yüksek olması beklendi. Ama iskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında; TAS değerinde azalma görüldü, bu azalma ( $p= 0,08$ ) anlamlı değildi. İskemi süresi 60 dk.dan 90 dk.ya çıktığında ise; TAS değerinde azalma da anlamlı değildi. ( $p= 0,4$ )

Çalışmamızda sham ve SF gruplarının iskemi süresi 45 dk. olduğundan, silymarinin 45. dakikası (SIL 45) ile karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma neticesinde; serum TAS değeri daha yüksek gözlenmiştir ( $p= 0,4$  vs  $p= 0,9$  sırasıyla). Silymarin; serum fizyolojiğe göre 45 dakikalık iskemiye karşı koruyucudur. Bu değerlerdeki yükseklikler istatistiki olarak anlamlı değildi.

Böbrek dokuları incelendiğinde; ortalama doku TAS değerleri hesaplandığında ise; en düşük doku TAS değerinin SF grubunda (0,67433 ± 0,38738 nmol/mg protein) olduğu görüldü. Böbrek dokusundaki, en yüksek doku TAS değerinin ise SIL 45 grubunda (1,49317 ± 0,34566 nmol/mg protein) olduğu görüldü.

İskemi-reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında yalnızca SIL 45 grubunda doku TAS değeri eş zamanlı iskemi

reperfüzyon grubuna göre yüksek saptanmıştır (SIL 45 vs 45 IR;  $p= 0,8$ ). Bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi.

İskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında beklenildiği gibi gruplardaki doku TAS değeri azalmıştır ( $p= 0,08$ ). Turgut ve ark.nın yaptığı çalışmada; silymarinin renoprotektif etkinliği 45 dk. iskemi ile değerlendirilmişti. Çalışmamızda ise; serum TAS değerleri iskemi süresi uzadıkça düşüş gözlemlendi. Beraberinde böbrek dokularında da yapılan TAS değerleri incelemesinde iskemi süresi uzadıkça silymarin koruyuculuğu SF'e göre devam etmiştir (SF, SIL 45, SIL 60, SIL 90). Silymarin verilen tüm gruplarda doku TAS değerleri daha yüksek bulunmuştur ( $p= 0,001$ ). Doku TAS değerleri ele alındığında; silymarinin koruyuculuğu istatistiki olarak anlamlıydı.

En önemli antioksidan parametrelerden biri olan SOD; incelendiğinde ise en yüksek serum SOD değeri SIL 45 grubunda (2,31 U/ml) görüldü. Grupların ortalama serum SOD değerleri dikkate alındığında en yüksek ortalama yine SIL 45 grubundaydı ( $1,5950 \pm 0,44921$  U/ml).

İskemi-reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar, birebir süresine göre karşılaştırıldığında; 45. ve 60.dk.da serum SOD değerleri silymarin verilen gruplarda yüksek saptanmıştır ( $p= 0,4$  ve  $p= 0,6$  sırasıyla). Silymarin gruplarındaki serum SOD değerlerindeki yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Silymarinin anti oksidan özelliği; serum SOD değerlerine göre 45. dakikada belirgin hale gelmiştir. SIL 45 grubunu; sham ve SF grupları ile karşılaştırdığımızda serum SOD değeri daha yüksektir ( $p= 0,4$  ve  $p= 0,5$ ).

İskemi süresi uzadığında ise; silymarinin koruyuculuğu azalmıştır. Serum SOD değerlerinde silymarin gruplarında istatistiksel olarak anlamsız azalma olmuştur ( $p= 0,1$ ).

Doku SOD değerlerinden en yüksek değer; SIL 60 grubunda (28,625 nmol/mg protein) görüldü. Ortalama doku SOD değerleri hesaplandığında; en yüksek ortalama doku SOD değeri ise SIL 90 grubunda ( $26,9196 \pm 42,9132$  nmol/mg protein) görüldü.

İskemi-reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında; beklenildiği gibi iskemi süresi uzadıkça doku SOD değerleri azalmıştır (45 IR, 60 IR, 90 IR;  $p= 0,1$ ).

Silymarin verilen gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında; iskemi süresi arttıkça doku SOD değerlerinde istatistiksel olarak anlamsız yükselme saptanmıştır ( $p= 0,4$ ). Doku SOD değerleri göz önüne alındığında; silymarinin anti oksidatif etkisi; iskemi süresi arttıkça daha da belirgin hale gelmiştir.

Silymarin verilen gruplar (SIL 45, SIL 60 ve SIL 90) ile SF grubu karşılaştırıldığında; tüm iskemi sürelerinde, silymarin gruplarında doku SOD değerleri daha yüksek bulunmuştur ( $p= 0,04$ ;  $p= 0,6$  ve  $p= 0,8$  sırasıyla). Ancak; silymarinin protektif etkisi SF'e göre belirgindir. Bu belirginlik sadece SIL 45 grubunda istatistiksel olarak anlamlı idi.

Fakat iskemi süresi 60 dk. ve 90 dk. olduğunda; silymarin gruplarında (SIL 60 ve SIL 90) doku SOD değerleri sham grubuna göre daha yüksekti ( $p=0,3$  ve  $p=0,3$  sırasıyla).

Oksidatif stresi yansıtan serum TOS değerleri incelendiğinde; en yüksek serum TOS değerlerinden birisi 90 IR grubunda (16,409  $\mu\text{mol/L}$ ) görüldü. Ortalama serum TOS değerleri hesaplandığında ise; en yüksek ortalama serum TOS değerinin ise 90 IR grubunda ( $9,50933 \pm 5,88859 \mu\text{mol/L}$ ) olduğu saptanmıştır.

İskemi-reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi 45 dk.dan 90 dk.ya çıktığında beklenildiği gibi serum TOS değerinde artış görülmüştür (45 IR vs 90 IR;  $p= 0,2$ ). İskemi-reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında iskemi süresi uzadıkça; yalnızca 90. dk.da silymarin (SIL 90) grubunda serum TOS değeri düşük bulunmuştur ( $p= 0,2$ ).

Böbrek dokularının değerlendirilmesi sonucu ortaya çıkan doku TOS değerleri; serum TOS değerlerine göre farklılık, terslik gösterdi. Böbrek dokularından elde edilen; ortalama doku TOS değerleri hesaplandığında; en düşük ortalama doku TOS değerinin 45 IR grubunda ( $11,1565 \pm 1,78689 \text{ nmol/mg protein}$ ) olduğu; en yüksek ortalama doku TOS değerinin ise SIL 45 grubunda ( $25,45083 \pm 10,33692 \text{ nmol/mg protein}$ ) olduğu saptanmıştır. İskemi süresi; 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında, doku TOS değerinde artış gözlemlendi ( $p= 0,3$ ).

İskemi-reperfüzyon (I/R) grupları ile silymarin (SIL) grupları doku TOS değeri karşılaştırıldığında; IR gruplarında daha düşük doku TOS değerleri gözlemlendi. İskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında; silymarinin etkinliği, gruplarda doku TOS değerine göre azalmıştır (SIL 45 vs SIL 60,  $p= 0,07$ ).

Sonuç olarak; doku TOS değerleri; silymarinin renoprotektif özelliğine zıtlık göstermektedir. Yapılacak diğer çalışmalarda böbrek dokusunun elde edilmesinde, incelenmesinde ve doku TOS değerlerinin hesaplanmasında daha titiz davranılmalıdır. Beraberinde doğru yorumların ortaya çıkması için daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışma gruplarından elde edilen serum MDA değerleri incelendiğinde en yüksek değerler; iskemi-reperfüzyon gruplarında elde edilmiştir. Ortalama serum MDA değerleri bakıldığında ise; en düşük serum MDA değerinin SIL 90 grubunda ( $5,4450 \pm 0,60932$  nmol/mg protein) olduğu; en yüksek serum MDA değerinin ise 60 IR grubunda ( $18,3450 \pm 16,75692$  nmol/mg protein) olduğu saptanmıştır. İskemi-reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında ise; iskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya uzadığında serum MDA değerinde artış gözlemlendi ( $p=0,5$ ). İskemi-reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında; tüm iskemi sürelerinde, silymarin verilen gruplarda serum MDA değeri eş zamanlı iskemi-reperfüzyon gruplarına göre düşük saptanmıştır. İskeminin 45. dakikası (45 IR ve SIL 45;

$p=0,05$ ), 60. dakikası (60 IR ve SIL 60;  $p=0,01$ ) ve 90. dakikasında (90 IR ve SIL 90;

$p=0,08$ ) serum MDA, silymarin gruplarında daha düşük izlendi. Serum MDA değer düşüklüğü yalnızca 45.dk.da istatistiksel olarak anlamlıydı.

Silymarinin oksidatif stresi önleyici etkisi iskemi süresi arttıkça azalmıştır. Silymarin gruplarında iskemi süresi uzadıkça serum MDA değerleri azalmıştır ( $p=0,4$ ). Sham grubu silymarin verilen gruplarla karşılaştırıldığında serum MDA değeri daha yüksek olduğu görüldü ( $p=0,4$ ). SF grubu serum MDA değeri; SIL 90 grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü ( $p=0,7$ ).

Böbreklerden elde edilen doku MDA değerleri incelendiğinde; iskemi-reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında doku MDA değerleri arasında yakınlık görülmüştür ( $p= 0,3$ ). İskemi-reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında; doku MDA değeri 60. dk.da silymarin grubunda daha düşük bulunmuştur (SIL 60 ve 60 IR;  $p= 0,8$ ).

Silymarinin oksidatif etkiyi önlemesi; iskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya; 60 dk.dan 90 dk.ya çıktığında doku MDA değerleri azalmıştır (SIL 45 ve SIL 60;  $p= 0,6$ , SIL 60 ve SIL 90;  $p= 0,8$  sırasıyla).

Böbrek dokularının Hematoksilen-Eosin ile boyanması ile ortaya çıkan özellikleri ve skorları incelendiğinde; ortalama ‘vakuoler dejenerasyon’ skorlarına göre; en düşük ortalama skor sham grubunda ( $0,8333 \pm 0,40825$ ); takiben SIL 60 ve SIL 45 gruplarında ( $1,3333 \pm 0,51640$  vs  $1,3333 \pm 0,81650$ ) görüldü.

İskem-reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi 60 dk.dan 90 dk.ya çıktığında ortalama vakuoler dejenerasyon skorunda artma görülmüştür ( $p= 0,8$ ). İskemi reperfüzyon grupları ile Silymarin verilen gruplar birebir süresine göre

karşılaştırıldığında; 45 dk. ile 60 dk.da silymarin gruplarında ortalama vakuoler dejenerasyon skoru düşük görüldü ( $p= 0,8$  vs  $p=0,8$ ). Silymarinin etkinliği, 45 dk. iskemi süresi göz önüne alındığında; SF'a göre daha düşük vakuoler dejenerasyon izlendi ( $p=0,8$ ).

Tübüler cast skorları incelendiğinde; Sham ve SIL 45 gruplarında minimal değerler gözlemlendi. Ortalama tübüler cast skorları hesaplandığında; en düşük ortalama skor Sham grubunda ( $0,8333 \pm 0,40825$ ); takiben SIL 45 grubunda ( $1,0 \pm 0,89443$ ) olduğu görüldü.

İskemi-reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında ortalama tübüler cast skorunda artma görülmüştür ( $p= 0,006$ ). İskemi süresi arttıkça silymarinin etkinliğinin azaldığı; ortalama tübüler cast skorlarının azaldığı görüldü. ( $p= 0,03$ ). Silymarin SF ile karşılaştırıldığında; iskeminin 45.dakikası ile 60. dakikasında

ortalama tübüler cast skoru daha düşüktü ( $p=0,1$  vs  $p=0,4$ ).

Böbrek dokularının Hematoksilen–Eosin'le boyanıp incelenmesi ile ortaya çıkan tübüler dilatasyon skorları incelendiğinde; Sham ve SIL 45 gruplarında minimal değerler gözlemlendi. Ortalama tübüler dilatasyon skorları incelendiğinde; en düşük ortalama skor Sham grubunda ( $0,8333 \pm 0,40825$ ); takiben SIL 45 grubunda ( $1,0 \pm 0,89443$ ) olduğu saptanmıştır.

İskemi-reperfüzyon grupları ile Silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında; 45., 60. ve 90. dakikada silymarinin ortalama tübüler dilatasyon skoru daha düşüktü ( $p=0,2$ ,  $p=0,04$  vs  $p=0,7$ ). Silymarinin etkinliği SF ile karşılaştırıldığında; 45, ve 60. dakikada ortalama tübüler dilatasyon skoru daha düşüktü ( $p=0,6$  vs  $p=0,04$ ).

Medüller konjesyon skorları incelendiğinde; SIL 60 grubunda minimal değer gözlemlendi. Maksimal değerler ise; 45 IR, SIL 45, 60 IR, SIL 60, 90 IR ve SIL 90 gruplarıydı.

Ortalama medüller konjesyon skorları hesaplandığında; en düşük ortalama skor Sham grubunda ( $1,0000 \pm 0,00000$ ); takiben SIL 60 grubunda ( $1,6667 \pm 1,21106$ ) görüldü. İskemi reperfüzyon grupları karşılaştırıldığında; iskemi süresi 45 dk.dan 60 dk.ya çıktığında ortalama medüller konjesyon skorunda artma görülmüştür ( $p= 0,43$ ). Silymarinin etkinliği göz önüne alındığında; 60 dakikalık iskemi süresinde daha düşük ortalama medüller konjesyon skoru izlendi ( $p= 0,45$ ). Silymarin SF ile

karşılaştırıldığında; iskeminin 60. dakikasında ortalama medüller konjesyon skoru daha düşüktü ( $p=0,43$ ).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1) Serum TAS değerinin en yükseği SIL 45 grubunda görüldü. Silymarinin koruyucu etkisi zamanla azalmıştır. SIL 45 grubuyla, SIL 60 ve SIL 90 grupları karşılaştırıldığında serum TAS değerlerindeki azalma görüldü ( $p=0,08$  vs  $p=0,4$  sırasıyla).
- 2) 45 dakika boyunca iskemiye maruz kalmış; sham, SF ve SIL 45 grupları karşılaştırıldığında en yüksek serum TAS değeri; SIL 45 grubunda izlendi.
- 3) Böbrek dokusundaki, en yüksek doku TAS değerinin ise SIL 45 grubunda ( $1,49317 \pm 0,34566$  nmol/mg protein) olduğu görüldü.
- 4) Böbrek dokularında yapılan TAS değerleri incelemesinde iskemi süresi uzadıkça silyma-rinin koruyuculuğu SF'e göre devam etmiştir (SF, SIL 45, SIL 60, SIL 90).
- 5) Serum SOD değerleri incelendiğinde; en yüksek serum SOD değeri SIL 45 grubunda (2,31 U/ml) görüldü. Grupların ortalama serum SOD değerleri dikkate alındığında en yüksek ortalama yine SIL 45 grubunda ( $1,5950 \pm 0,44921$  U/ml) görüldü.
- 6) Doku SOD değerlerinden en yüksek değer; SIL 60 grubunda (28,625 nmol/mg protein) görüldü. Ortalama doku SOD değerleri hesaplandığında; en yüksek ortalama doku SOD değeri ise; SIL 90 grubunda ( $26,9196 \pm 42,9132$  nmol/mg protein) görüldü.
- 7) Oksidatif stresi yansıtan serum TOS değerleri incelendiğinde; en yüksek serum TOS değerlerinden birisi 90 IR grubunda ( $16,409$   $\mu$ mol/L) görüldü. Ortalama serum TOS değerleri hesaplandığında ise; en yüksek ortalama serum TOS değerinin ise 90 IR grubunda ( $9,50933 \pm 5,88859$   $\mu$ mol/L) olduğu saptandı.
- 8) Böbrek dokularının değerlendirilmesi sonucu ortaya çıkan doku TOS değerleri; serum TOS değerlerine göre farklılık gösterdi. Ortalama doku TOS değerleri hesaplandığında; en düşük ortalama doku TOS değerinin 45 IR grubunda ( $11,1565 \pm 1,78689$  nmol/mg protein) olduğu; en yüksek ortalama doku TOS değerinin ise SIL 45 grubunda ( $25,45083 \pm 10,33692$  nmol/mg protein) olduğu saptandı.



- 9) İskemi-reperfüzyon grupları ile silymarin verilen gruplar birebir süresine göre karşılaştırıldığında; tüm iskemi sürelerinde, silymarin verilen gruplarda serum MDA değeri eş zamanlı iskemi- reperfüzyon gruplarına göre düşük saptanmıştır.
- 10) Ortalama 'vakuoler dejenerasyon' skorlarına göre; en düşük ortalama skor sham grubunda ( $0,8333 \pm 0,40825$ ); takiben SIL 60 ve SIL 45 gruplarında ( $1,3333 \pm 0,51640$  vs  $1,3333 \pm 0,81650$ ) görüldü.
- 11) Ortalama tubüler cast skorları hesaplandığında; en düşük ortalama skor Sham grubunda ( $0,8333 \pm 0,40825$ ); takiben SIL 45 grubunda ( $1,0 \pm 0,89443$ ) olduğu görüldü.
- 12) Tubüler dilatasyon skorları incelendiğinde; Sham ve SIL 45 gruplarında minimal değerler gözlemlendi. Ortalama tubüler dilatasyon skorları incelendiğinde; en düşük ortalama skor Sham grubunda ( $0,8333 \pm 0,40825$ ); takiben SIL 45 grubunda ( $1,0 \pm 0,89443$ ) olduğu saptandı.
- 13) Ortalama medüller konjesyon skorları hesaplandığında; en düşük ortalama skor Sham grubunda ( $1,0000 \pm 0,00000$ ); takiben SIL 60 grubunda ( $1,6667 \pm 1,21106$ ) görüldü.
- 14) Silymarinin renoprotektif etkisi patolojik sonuçlarda daha belirgin ve diğer gruplardan ayrılmaktadır. Biyokimyasal olarak serum değerlerinde silymarinin koruyucu etkisi 45. dk.da izlenmekle beraber iskemi süresi arttıkça etki azalmaktadır. Dokuların biyokimyasal incelemesinde ise; silymarin verilen gruplarda oksidatif belirteçler azalırken; anti oksidatif belirteçler de artış izlenmiştir. Tek istisna olarak; doku TOS değerlerinde izlenmiştir.
- 15) Silymarinin renoprotektif etkisi belirgin olması ve bilinmesiyle birlikte; bu etki süresinin belirlenmesi ve klinikte kullanımıyla ilgili çalışmamız bir adım atmıştır. Bu verilerin desteklenmesi için daha fazla pre klinik ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Tisher CC, Madsen KM: Anatomy of the kidney. In: The Kidney. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996; 3-72.
2. Gökmen FG, Ertürk M, Bilge O editor: Gövsa FG Üriner sistem Sistematik Anatomi. İzmir Güven Kitapevi 2003. S.531-37
3. Arıncı K, Elhan A. Üriner sistem. Anatomi cilt1 Güneş Kitapevi. pp. (2001) 311-14
4. Başaklar AC. Böbrek ve üreterin konjenital malformasyonları. İçinde:Bebek ve çocukların cerrahi ve ürolojik hastalıkları II.cilt, I.baskı:Palme Yayınları 2007;1205-1215.
5. Şimşek E. Böbrek anatomisi. İçinde:Anatomi Fizyoloji: Hacettepe T.A.Ş Kitapçılık LTD. ŞKT. 1996;109-112.
6. Guyton AC, Hall JE:The kidneys and body fluids. Textbook of Medical Physiology, WB Saunders Company, Philadelphia,1996:315-365.
7. Hinman FJ: Development of the kidney, ureter and adrenal gland. In: Atlas of urosurgical anatomy. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996; 235-254.
8. Redman JF: Anatomy of genitouriner system. in: Adult and pediatric urology. St. Louis: Mosby Year Book Inc. 1991; 1-631.
9. Kabalin JN: Surgical anatomy of the retroperitoneum, kidneys and ureters. In:Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED. (eds) Campbell's Urology, 9th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 2007, p 3-40.
10. Guyton AC: The kidneys and body fluids. In: Textbook of Medical Physiology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1991; 273-353.
11. Cumhuriyet M, Yener N, Tuncel M. Üriner sistem. Temel Anatomi Ankara Metu press. 2002 S. 257-60

12. Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM. Gray's anatomy for students. Philadelphia: Elsevier; 2005. p. 321.
13. Arıncı K, Elhan A. Anatomi 1. Cilt, 2. Baskı Ankara: Güneş Kitabevi, 1997; 392-398.
14. Oytun E, İşçi A. Anatomi 1. Cilt, 1. Baskı İzmir: Güven Kitabevi, 2005; s.179-186.
15. Lance DD, Brenner BM: The renal circulation in: The Kidney. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996; 247-286.
16. Junquera LC, Carnerio J, Kelley RO (Çeviri: Y. AYTEKİN). Temel Histoloji 1. Cilt, 1. Baskı İstanbul: Barış Kitabevi; 1998; s.363-377.
17. Dere F. Genitoüriner Sistem. Anatomi Atlası ve Ders Kitabı Cilt 2 pp. (1999) 957-976. Adana Nobel tıp Kitabevi.
18. 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.
19. Guyton AC, Hall JE. Urine formation by the kidneys: Glomerular filtration, renal blood flow and their control. Dokuzuncu baskı. WB Saunders Company Philadelphia, Pennsylvania 1996: s.315-330.
20. Kabalin JN. Retroperiton, böbrek ve üreterlerin cerrahi anatomisi (Çeviri: Dr. M. Sevik) Anafarta MK, Yaman MÖ (Editörler), Campbell Üroloji, Sekizinci baskı, İstanbul: Güneş Kitabevi; 2005: s.3-40.
21. Anderson JK, Cadeddu JA: Surgical Anatomy of the Retroperitoneum, Adrenals, Kidneys and Ureters. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED. (eds) Campbell's Urology, 10th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 2011, p 20-25.
22. Öner G, Böbreklerde İdrar Oluşumu: I. Glomerüler Filtrasyon, Böbrek Kan Akımı ve Bunların Kontrolü, Arthur C, Guyton MD, John E, Hall PhD, Tıbbi Fizyoloji, Onbirinci basım, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2007: s.364-79.

23. Biocarampangue – Recursos de Biologia 2009.
24. Kelalis PP, King LR, Belman AB: Renal physiology and function: Clinical pediatric urology, W.B Saunders Company, Philadelphia, volume two, third edicion(25) 1992:1106-1117.
25. Müftüoğlu YZ, Anafarta K. Ürogenital sistemin fizyolojisi, Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N (editörler) Temel Üroloji üçüncü baskı, Güneş Tıp Kitapevleri, 2007:27-51.
26. Öner G. Böbreklerde İdrar Oluşumu: I. Glomerüler Filtrasyon, Böbrek Kan Akımı ve Bunların Kontrolü, Arthur C, Guyton MD, John E, Hall PhD, Tıbbi Fizyoloji, 11. basım, Nobel Tıp Kitapevleri, 2007:307-327.
27. Robbins SL, Kumar V, Cotran SR (Çeviri: U. Çevikbaş). Temel Patoloji. İstanbul Nobel ve Yüce Kitabevi; 1992:3-24.
28. Tierney LM, McPhee SJ, Papadakis MA: Current Medical Diagnosis and Treatment. Fourty-fifth edition. Watnick S, Morrison G (ed). Lange Medical Books, New York 2006, S.898.
29. Carpenter CCJ, Griggs RC, Loscalzo J: Cecil Essentials of Medicine. Beşinci baskı. Chatoth DK (ed). WB Saunders Company Philadelphia, Pennsylvania 2002, S. 223-231.
30. Eşrefoğlu M, Özel Histoloji, Üriner Sistem, Birinci baskı, Ankara: Medipres Matbaacılık, 2009: s.157-77.
31. Kessel RG, Kardon RH. Tissues and Organs: A Text Atlas of Scanning Electron Microscopy, W. H. Freeman; 1979.
32. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL: Robbins pathologic basis of disease. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995; 3-12.
33. Navar LG, Carmines PK, Mitchell KD: Renal circulation in: Text book of nephrology. Baltimore: Wiliams&Wilkins, 1995; 41-54.

34. Arima S, Ren Y, Juncos LA, Carretero OA, Ito S: Glomerular prostaglandins modulate vascular reactivity of downstream efferent arterioles. *Kidney Int* 1994; 45(3): 650-658.
35. McDougal WS: The diagnosis, management, and pathophysiology of acute renal failure in surgical patients. 1985; A.U.A. Update Series, vol. IV: lesson 7.
36. Chien KR, Abrams J, Serroni A, Martin JT, Farber JL: Accelerated phospholipid degradation and associated membrane dysfunction in irreversible, ischemic liver cell injury. *J Biol Chem* 1978; 253(13): 4809-4817.
37. Aydınтуğ S, Akata O: İskemi-Reperfüzyon Hasarı. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 1990; 10(3): 228-232.
38. Ling H, Edelstein C, Gengaro P, Meng X, Lucis S, Knotek M, Wangsiripaisan A, Shi Y, Schrier R. Attenuation of renal ischemia-reperfusion injury in inducible nitric oxide synthase knockout mice. *Am J Physiol* 1999; 277:p.383-390.
39. Türkyılmaz Z. Karaciğer iskemi-reperfüzyon zedelenmesinde pentoksifilin, dimetilsülfoksit ve ekzojen melatoninin koruyucu etkilerinin karşılaştırılması. Edirne: TÜ Tıp Fak: 2003.
40. Grace PA: Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81(5): 637-647.
41. Jacob RA, Burri BJ: Oxidative damage and defense. *Am J Clin Nutr* 1996; 63(6): 985-990.
42. Heinzelmann M, Mercer-Jones MA, Passmore JC: Neutrophils and renal failure. *Am J Kidney Dis* 1999; 34(2): 384-399.
43. Hellberg PO, Källskog TO: Neutrophil-mediated post ischemic tubular leakage in the rat kidney. *Kidney Int* 1989; 36(4): 555-561.
44. Yagi K: Assay of blood plasma or serum methods in enzymology. *Methods Enzymol* 1984; 105: 328-331.

45. Kawada T, Ueda S, Watanabe Y, et al: Protective effect of alpha tocopherol on Ca<sup>2+</sup> regulation by microsomal fractions isolated from preserved rat livers. *Transplant Proc* 1989; 21(1Pt2): 1301-1302.
46. Mora NP, Cienfuegos JA, Pereira F, et al: Value of prostacyclin plus verapamil for obtaining 24-hour preserved liver allografts. *Transplant Proc* 1988; 20(5): 980-982.
47. Umeshita K, Monden M, Ukei T, et al: Different cytoprotective effects of calcium blockers in hypothermic liver preservation. *Transplant Proc* 1989; 21(1Pt2): 1290-1291.
48. Shires GT, Cunningham JN, Backer CR; et al: Alterations in cellular membrane function during hemorrhagic shock in primates. *Ann Surg* 1972; 176(3): 288-295.
49. Farber JL: The role of calcium in cell death. *Life Sci* 1981; 29(13): 1289-1295.
50. Fleckenstein A: Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1977; 17:149-166.
51. Hinnen R, Miyamoto H, Racker E: Ca<sup>2+</sup> translocation in Ehrlich ascites tumor cells. *J Membr Biol* 1979; 49(4): 309-324.
52. Humes HD: Role of calcium in pathogenesis of acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 1986; 250: 579-589.
53. Dunn MJ: Renal prostaglandins, in *Renal Endocrinology*. Baltimore: The Williams & Wilkins. 1983; 1-74.
54. Yin HL, Stossel TP: Control of cytoplasmic action gel-sol transformation by gelsolin, a calcium-dependent regulatory protein. *Nature* 1979; 281(5732): 583-586.

55. Dedman JR, Brinkley BR, Means AR: Regulation of microfilaments and microtubules by calcium and cyclic AMP. *Adv Cyclic Nucleotide Res* 1979; 11: 131-174.
56. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF: Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest* 1984; 74(4): 1156-1164.
57. Arnold PE, Lumlertgul D, Burke TJ, Schrier RW: In vitro versus in vivo mitochondrial calcium loading in ischemic acute renal failure. *Am J Physiol* 1985; 248(6Pt2): 845-850.
58. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkey GB: Pharmacological approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 161(4): 488-502.
59. Feher J, Csomos G, Vereckei A: *Free Radical Reactions in Medicine*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1987; 2-10.
60. Aybey B, Tufan H, Ergenekon G: Serbest radikaller. *Türkderm*. 1996; 30: 116-122.
61. Akkuş İ: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları, 1995; 93-95.
62. Erenel G, Erbaş D, Arıcıoğlu A: Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Dergisi* 1992; 3: 243-250.
63. Halliwell B, Gutteridge JM: Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *Lancet* 1984; 1(8391): 1396-1397.
64. Younes M, Siegers CP: Interrelation between lipid peroxidation and other hepatotoxic events. *Biochem Pharmacol* 1984; 33(13): 2001-2003.
65. Maier CM, Chan PH: Role of superoxide dismutases in oxidative damage and neurodegenerative disorders. *Neuroscientist* 2002; 8(4): 323-334.
66. Yamaguchi T, Oishi K, Uchida M, Echizen H: Edaravone, a radical scavenger, may enhance or produce antiproliferative effects of fluvastatin, amlodipine,

- ozagrel, GF109203X and Y27632 on cultured basilar artery smooth muscle cells. *Biol Pharm Bull* 2003; 26(12): 1706-1710.
67. Fernandez N, Martinez MA, Climent B, et al: In vivo coronary effects of endothelin-1 after ischemia-reperfusion. Role of nitric oxide and prostanoids. *Eur J Pharmacol* 2003; 481(1): 109-117.
  68. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA: Ischemiareperfusion injury. *J Surg Res* 2002; 105(2): 248-258.
  69. Guo JP, Murohara T, Buerke M, Scalia R, Lefer AM: Direct measurement of nitric oxide release from vascular endothelial cells. *J Appl Physiol* 1996; 81(2): 774-779.
  70. Lefer AM, Lefer DJ: The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res* 1996; 32(4): 743-751.
  71. Yin DP, Sankary HN, Chong AS, et al: Protective effect of ischemic preconditioning on liver preservation-reperfusion injury in rats. *Transplantation* 1998; 66(2): 152-157.
  72. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74(5): 1124-1136.
  73. Glazier SS, O'Rourke DM, Graham DI, Welsh FA: Induction of ischemic tolerance following brief focal ischemia in rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994; 14(4): 545-553.
  74. Alvarez-Lopez A, de Hemptine B, Hoebeke Y, Lambotte L: Prostaglandin E2 increases the tolerance of the rat liver to warm ischemia in absence of splanchnic congestion. *Transplant Proc* 1987; 19(5): 4105-4109.
  75. Chiu C, Toledo-Pereyra LH: Effect of catalase and/or allopurinol, or N-t-butylalpha -phenylnitron on hepatic ischemia. *Transplant Proc* 1987; 19(1 Pt 2): 1077-1079.



76. Klausner JM, Paterson IS, Kobzik L, et al: Vasodilating prostalands attenuate ischemic renal injury only if thromboxane is inhibited. *Ann surg* 1989; 209(2): 219-224.
77. Marubayashi S, Dohi K, Ochi K, Kawasaki T: Protective effects of free radical scavenger and antioxidant administration on ischemic liver cell injury. *Transplant Proc* 1987; 19(1 Pt 2): 1327-1328.
78. Marubayashi S, Dohi K, Sumimoto K, et al: Changes in activity of oxygen free radical scavengers and in levels of endogenous antioxidants during hepatic ischemia and subsequent reperfusion. *Transplant Proc* 1989; 21(1 Pt 2): 1317-1318.
79. Gamgam, H. (1998). Parametrik Olmayan İstatistiksel Yöntemler, Gazi Üniversitesi Yayın No: 140, Fen-Edebiyat Fakültesi Yayın No: 21, Ankara, 2. Baskı.
80. Greenwald RA. (1990). Superoxide dismutase and catalase as therapeutic agents for human disease. A critical review. *Free Radic Biol Med*, 8(2):201-209.
81. Güloğlu C, Orak M, Altuncı YA. (2007). Elektrik Hasarı ve Yanıklar. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci*, 3(1):84-88.
82. Katiyar SK, Korman NJ, Mukhtar H, Agarwal R. (1997). Protective effects of silymarin against photocarcinogenesis in a mouse skin model. *J Natl Cancer Inst*, 89(8):556-566.
83. Leinonen JS, Saari KA, Seppanen JM, Myllyla HM, Rajaniemi HJ. (2004). Immunohistochemical demonstration of carbonic anhydrase isoenzyme VI (CA VI) expression in rat lower airways and lung. *J Histochem Cytochem*, 52(8):1107-1112.
84. Mındıkoglu AN. (1993). Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Dersleri I-Yanıklar ve Tedavileri İ.Ü. Basımevi, İstanbul, s.1-110, 127-135.

85. Schriewer H, Kastrup W, Wiemann W, Rauen HM. (1975). The antihepatotoxic effect of silmarin on lipid metabolism in the rat disturbed by phalloidine intoxication. *Arzneimittelforschung*. 25(2):188-94.
86. [www.dkimages.com/discover/Home/Health-and-Beauty/Alternative-Health/Natural-Pharmacy/Medicinal-Herbs/European/Milk-Thistle/Milk-Thistle-1.html](http://www.dkimages.com/discover/Home/Health-and-Beauty/Alternative-Health/Natural-Pharmacy/Medicinal-Herbs/European/Milk-Thistle/Milk-Thistle-1.html).
87. Fraschini F, Demartini G. at Esposti D, Pharmacology of Silymarin, *Clin Drug Invest*, 2002, 22(1): 51-65 p.
88. Kren V, Walterova D. Silybin and silymarin-new effects and applications. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*, 2005, 149: (1) 29-41 p.
89. Innocenti A, Gülçin İ, Scozzafava A, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. Antioxidant polyphenols effectively inhibit mammalian isoforms I–XV. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2010, 20: 5050–5053.
90. Koksal E, Gulcin I, Beyza S, Sarikaya O, Bursal E. In vitro antioxidant activity of silymarin. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2009, 24: 395-405.
91. Pradhan SC, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian Journal of Medical Research* 2006, 124: 491-504.
92. Kvasnicka F, Biba B, Sevcik M, Voldrich M, Kratka J, 2003, Analysis of the active components of silymarin. *Journal of Chromatography A*, 990, 239-245 p.
93. Morazzoni P, Bombardelli E, 1995, *Silybum marianum* (*Carduus marianus*), *Fitoterapia* 64, 3–42 p.
94. Wu JW, Lin LC, Hung SC, Chi CW, Tsai TH. Analysis of silibinin in rat plasma and bile for hepatobiliary excretion and oral bioavailability application. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 45: 635-641.

95. He F, Sun YE, 2007, Glial cells more than support cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 661-665 p.
96. Nencini C, Giorgi G, Micheli L, 2007, Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain. *Phytomedicine*, 14, 129-135 p.
97. Gazak R, Walterova D. at Kren V. Silybin and silymarin new and emerging applications in medicine. *Current Medicinal Chemistry*. 2007; 14 (3): 315-38.
98. Morazzoni P, Montalbetti A, Malandrino S. Comparative pharmacokinetics of silipide and silymarin in rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1993;18:289-297.
99. Wu JW, Lin LC, Tsai TH. Drug-drug interactions of silymarin on the perspective of pharmacokinetics. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 121: 185-193.
100. Lang I, Nekam K, Gonzalez-Cabello R. Hepatoprotective and immunological effects of antioxidant drugs. *Tokai J Exp Clin Med* 1990;15:123-127.
101. Singh RP, Aggarwal R. Prostate cancer prevention by silibinin. *Current Cancer Drug Targets*, 2004, 4: 1-11.
102. Filburn C.R, Kettenacker R. at Griffin D.W, Bioavailability of a silybin phosphatidylcholine complex in dogs. *J. Vet. Pharmacol. Therap*, 2007;30:132-138.
103. Flora K, Hahn M, Rosen H, Benner K, 1998, Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 93, 2, 139-143 p.
104. Valenzuela A. at Garride A, 1994, Biochemical bases of the pharmacological action of the flavonoid silymarin and of its structural isomer silibinin, *Biol. Res*, 27: 105-112.
105. Miguez MP, Anundi I, Sainz-Pardo LA. Hepatoprotective mechanism of silymarin: no evidence for involvement of cytochrome P450 2E1. *Chem Biol Interact* 1994;91:51-63.

106. Luper S, 1998, A review of plants used in the treatment of liver disease: Part 1. *Alternative Medicine Review*, 3, 6, 410-421 p.
107. Boigk G, Stroedter L, Herbst H. Silymarin retards collagen accumulation in early and advanced biliary fibrosis secondary to complete bile duct obliteration in rats. *Hepatology* 1997;26:643-649.
108. Favari L, Perez-Alvarez V. Comparative effects of colchicine and silymarin on CCl<sub>4</sub>-chronic liver damage in rats. *Arch Med Res* 1997;28:11-17.
109. Barreto R, Kawakita S, Tsuchiya J, Minelli E, Pavasuthipaisit K, Helmy A, Marotta F, 2005, Metal-induced oxidative damage in cultured hepatocytes and hepatic lysosomal fraction: beneficial effect of a curcumin/absinthium compound. *Chinese Journal of Digestive Diseases*, 6, 31-36 p.
110. Chrungoo VJ, Singh K, Singh J, 1997, Silymarin mediated differential modulation of toxicity induced by carbon tetrachloride, paracetamol and D-galactosamine in freshly isolated rat hepatocytes. *Indian Journal of Experimental Biology*, 35, 611-617 p.
111. Crocenzi FA, Pellegrino JM, Pozzi EJ, Mottino AD, Garay EA, Roma MG, 2000, Effect of silymarin on biliary bile salt secretion in the rat. *Biomedical Pharmacology*, 59, 1015-1022 p.
112. Crocenzi FA, Pozzi EJ, Pellegrino JM, Garay EA, Mottino AD, Roma MG, 2003, Preventive effect of silymarin against tauroolithocholate-induced cholestasis in the rat. *Biomedical Pharmacology*, 66, 355-364 p.
113. Halim AB, el-Ahmady O, Hassab-Allah S, et al. Biochemical effect of antioxidants on lipids and liver function in experimentally-induced liver damage. *Ann Clin Biochem* 1997;34:656-663.
114. Feher I, Deak G, Muzes G. Liver-protective action of silymarin therapy in chronic alcoholic liver diseases. *Orv Hetil* 1989;130:2723- 2727.
115. Dvorak Z, Kosina P, Walterova D, Simanek V, Bachleda P, Ulrichova J, 2003, Primary cultures of human hepatocytes as a tool in cytotoxicity studies: cell

- protection against model toxins by flavonolignans obtained from *Silybum marianum*. *Toxicology Letters*, 137, 201-212 p.
116. Jacobs BP, Dennehy C, Ramirez G, Sapp J, Lawrence VA, 2002, Milk thistle for the treatment of liver disease: A systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Medicine*, 113, 6, 506-515 p.
  117. Modriansky M, Ulrichova J, Bachleda P, Anzenbacher P, Anzenbacherova E, Walterova D, Simanek V, 2000, Human hepatocyte – A model for toxicological studies, functional and biochemical characterization. *Gen Physiol Biophys*, 19, 223-235 p.
  118. Vogel G, Tuchweber B, Trost W. Protection by silibinin against *Amanita phalloides* intoxication in beagles. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984;73:355-362.
  119. Desplaces A, Choppin J, Vogel G. The effects of silymarin on experimental phalloidine poisoning. *Arzneimittelforschung* 1975;25:89-96.
  120. Hruby K, Csomos G, Fuhrmann M, Thaler H. Chemotherapy of *Amanita phalloides* poisoning with intravenous silibinin. *Hum Toxicol* 1983;2:183-195.
  121. Sabeel AI, Kurkus J, Lindholm T. Intensive hemodialysis and hemoperfusion treatment of *Amanita* mushroom poisoning. *Mycopathologia* 1995;131:107-114.
  122. Choppin J, Desplaces A. The effects of silybin on experimental phalloidine poisoning. *Arzneimittelforschung* 1978; 28: 636-41.
  123. Seidlová-Wuttke, D., Becker, T., Christoffel, V., Jarry, H. at Wuttke, W., 2003, Silymarin is a selective estrogen receptor (ER) agonist and has estrogenic effects in the metaphysis of the femur but no or antiestrogenic effects in the uterus of ovariectomized (ovx) rats, *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 86, 179–188 p.
  124. Dorai T. at Aggarwal B.B. Role of chemopreventive agents in cancer therapy. *Cancer Lett*, 2004;215: 129–140 p.

125. Zi X. at Agarwal R. Silibinin decreases prostate-specific antigen with cell growth inhibition via G1 arrest, leading to differentiation of prostate carcinoma cells: implications for prostate cancer intervention. *Proc Natl Acad Sci.* 1999; 96: 7490–7495 p.
126. Ahmad N, Gali H, Javed S, Agarwal R, 1998, Skin cancer chemopreventive effects of a flavonoid antioxidant silymarin are mediated via impairment of receptor tyrosine kinase signalling and perturbation in cell cycle progression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 248, 294-301 p.
127. Singh RP, Tyagi AK, Zhao J, Agarwal R, 2002, Silymarin inhibits growth and causes regression of established skin tumors in SENCAR mice via modulation of mitogen-activated protein kinases and induction of apoptosis. *Carcinogenesis*, 23, 3, 499-510 p.
128. Svobodova A, Walterova D, Psotova J, 2006, Influence of silymarin and its flavonolignans on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- induced oxidative stress in human keratinocytes and mouse fibroblasts. *Burns*, 32, 973-979 p.
129. Yang SH, Lin JK, Chen WS, Chiu JH, 2003, Anti-angiogenic effect of silymarin on colon cancer LoVo cell line. *Journal of Surgical Research*, 113, 1, 133-138 p.
130. Kang J.S, Jeon Y.J, Park S.K., Yang K.H. at Kim H.M. Protection against lipopolysaccharide-induced sepsis and inhibition of interleukin-1 and prostaglandin E<sub>2</sub> synthesis by silymarin. *Biochem Pharmacol.* 2004; 67: 175–181 p.
131. Kittur S, Wilasrusmee S, Pedersen WA, Mattson MP, Straube-West K, Wilasrusmee C, Jubelt B. at Kittur DS. Neurotrophic and neuroprotective effects of milk thistle (*Silybum marianum*) on neurons in culture. *J Molec Neurosci.* 2002; 18, 265–269 p.
132. Soto C, Recoba R, Barron H, Alvarez C. at Favari L, Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. *Comp Biochem Physiol C.* 2003; 136: 205–212 p.

133. Soliman KF, Mazzio EA, 1998, In vitro attenuation of nitric oxide production in C6 astrocyte cell culture by various dietary compounds. *Proc Soc Exp Biol Med*, 218, 4, 390-397 p.
134. Farghali H, Kamenikova L, Hynie S, Kmonickova E, 2000, Silymarin effects on intracellular calcium and cytotoxicity: A Study in perfused rat hepatocytes after oxidative stress injury. *Pharmacological Research*, 41, 2, 231-237 p.
135. Matsuda T, Ferreri K, Todorov I, Kuroda Y, Smith CV, Kandeel F, Mullen Y, 2004, Silymarin protects pancreatic  $\beta$ -cells against cytokine mediated toxicity: Implication of c-Jun NH<sub>2</sub>-Terminal Kinase and Janus Kinase/Signal transducer and activator of transcription pathways. *Endocrinology*, 146, 1, 175-185 p.
136. Tager M, Dietzmann J, Thiel U, Neumann KH, Ansorge S, 2000, Restoration of the cellular thiol status of peritoneal macrophages from CAPD patients by the flavonoids silibinin and silymarin. *Free Rad Res*, 34, 137-151 p.
137. Kang JS, Park SK, Yang KH, Kim HM. Silymarin inhibits TNF- $\alpha$  induced expression of adhesion molecules in human umbilical vein endothelial cells. *FEBS Lett*. 2002; 550, 89–93.
138. Mohan S, Dhanalakshmi S, Mallikarjuna GU, Singh RP, Agarwal R. Silibinin modulates UVB-induced apoptosis via mitochondrial proteins, caspases activation, and mitogen-activated protein kinase signaling in human epidermoid carcinoma A431 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 320: 183–189.
139. Huang Q, Wu LJ, Tashiro SI, Onodera S, Li LH, Ikejima T, 2005, Silymarin augments human cervical cancer HeLa cell apoptosis via P38/JNK MAPK pathways in serum-free medium. *Journal of Asian Natural Products Research*, 7, 5, 701-709 p.
140. Kummer V, Maskova J, Canderle J, Zraly Z, Neca J. at Machala M, 2001 Estrogenic effects of silymarin in ovariectomized rats, *Vet. Med. Czech.*, 46 (1): 17-23 p.

141. Saller R, Meier R, Brignoli R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs*, 2001, 61: 2035-2063.
142. Lirussi F, Beccarello A, Zanette G, De Monte A, Donadon V, Velussi M, Crepaldi G. Silybin-beta-cyclodextrin in the treatment of patients with diabetes mellitus and alcoholic liver disease. Efficacy study of a new preparation of an anti-oxidant agent. *Diabetes Nutrition and Metabolism*, 2002, 15: 222-231.
143. Rao PR, Viswanath RK. Cardioprotective activity of silymarin in ischemia-reperfusion-induced myocardial infarction in albino rats. *Experimental and Clinical Cardiology*, 2007, 12: 179-187.
144. Radko L, Cybulski W. Application of silymarin in human and animal medicine. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 2007, 1.
145. Yoo HG, Jung SN, Hwang YS, Park JS, Kim MH, Jeong M, Ahn SJ, Ahn BW, Shin BA, Park RK, Jung YD. Involvement of NF-kappaB and caspases in silibinin-induced apoptosis of endothelial cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 2004, 13: 81-86.
146. Kaya Y, Aral E, Coşkun T, Erkasap N, Var A, 2002, Increased intraabdominal pressure impairs liver regeneration after partial hepatectomy in rats, *Journal of Surgical Research*, 108, 250-257.
147. Fridovich I. Superoxide Radical: an Endogenous Toxicant. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1983; 23: 239 -57.
148. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37(4):277-85.
149. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38(12):1103-11.
150. Singh D, Chopra K. Effect of Trimetazidine on Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rat. *Pharmacol Res* 2004; 50: 623 -9.



151. Bulkey GB: Free radical mediated reperfusion injury. A selective review. Br J Cancer Supple 1987; 8: 66-73.
152. Mc Cord JM: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N Engl J Med 1985; 312(3): 159-163.
153. Andreoli SP: Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disaese. Pediatr Nefrol 1991; 5(6): 733-742.
154. Baud L, Ardaillaou R: Involment of reactive oxygen species in kidney damage. British Med Bulletin 1993; 49: 621-630.
155. Greene EL, Paller MS: Oxygen free radicals in acut renal failure. Miner Electrolyte Metab 1991; 17(2): 124-132.
156. Erden M. Serbest Radikaller. T Klin Tıp Bilimleri Journal of Medical Sciences. 1992; 12: 201-7.
157. Yun Y, Duan W, Chen P, et al. Ischemic Postconditioning Modified Renal Oxidative Stres and Lipid Peroxidation Caused by Ischemic Reperfusion Injur in Rats. Transplantation Proceeding. 2009; 41: 3597-602.
158. Singh I, Gulati S, Orak J, al e. Expression of Antioxidant Enzymes in Rat Kidney During Ischemia-Reperfusion Injury. Molecular and Cellular Biochemiyst. 1993; 125(2): 97-104.
159. Ozan E. Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Prostaglandin E1 Kullanımının İncelenmesi: Deneysel Çalışma. Fırat Tıp Dergisi. 2004; 9(3): 67-71.
160. Klausner JM, Paterson M, Goldman S, et al: Postischemic renal injury is mediated by neutrophils and leukotriens. Am J Physiol 1989; 256: 794-802.
161. Ergan O, Ulman C, Kilialp AS, Ulman İ: Carnitin as a preventive agent in experimental renal ischemia- reperfusion injury. Urol Res 2001; 29(3): 186-189.

162. Sahna E, Parlakpınar H, Cihan OF, Turkoz Y, Acet A: Effect of aminoguanidine against renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Cell Biochem Funct* 2006; 24(2): 137-141.
163. Romero F, Rodríguez-Iturbe B, Parra G, et al: Mycophenolate mofetil prevents the progressive renal failure induced by 5/6 renal ablation in rats. *Kidney Int* 1999; 55: 945-955.
164. Saller R, Brignoli R, Melzer J, Meier R An updated systematic review with meta-analysis for the clinical evidence of silymarin. *Forsch Komplementmed.* 2008 Feb;15(1):9-20. doi:10.1159/000113648.
165. Upadhyay G, Kumar A, Singh MP Effect of silymarin on pyrogallol- and rifampicin-induced hepatotoxicity in mouse *Eur J Pharmacol.* 2007 Jun 22;565(1-3):190-201. Epub 2007 Mar 19.
166. Pradeep K, Mohan CV, Gobianand K, Karthikeyan S *Eur J Pharmacol.* 2007 Apr 10;560(2-3):110-6. Epub 2007 Jan 19.
167. Huber R, Futter I, Lüdtke R. Oral silymarin for chronic hepatitis C - a retrospective analysis comparing three dose regimens. *Eur J Med Res.* 2005 Feb 28;10(2):68-70.
168. Desplaces A, Choppin J, Vogel G, Trost W. The effects of silymarin on experimental phalloidine poisoning. *Arzneimittel-Forschung (Impact Factor: 0.56).* 02/1975; 25(1):89-96.
169. Soto C, Mena R, Luna J, Cerbón M, Larrieta E, Vital P, Uría E, Sánchez M, Recoba R, Barrón H, Favari L, Lara A. Silymarin induces recovery of pancreatic function after alloxan damage in rats. *Life Sci.* 2004 Sep 17;75(18):2167-80.
170. Cheung CW, Gibbons N, Johnson DW, Nicol DL. Silibinin - a promising new treatment for cancer. *Anticancer Agents Med Chem.* 2010 Mar;10(3):186-95.
171. Colombo V, Lupi M, Falcetta F, Forestieri D, D'Incalci M, Ubezio P. Chemotherapeutic activity of silymarin combined with doxorubicin or paclitaxel

- in sensitive and multidrug-resistant colon cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2011 Feb;67(2):369-79. doi: 10.1007/s00280-010-1335-8. Epub 2010 Apr 30.
172. Cecen E, Dost T, Culhaci N, Karul A, Ergur B, Birincioglu M *Asian Pac J Cancer Prev.* Protective effects of silymarin against doxorubicin-induced toxicity. 2011;12(10):2697-704.
173. Nabia E. Abdelmeguid, Hania N. Chmaisse, Noura S. Abou Zeinab. Protective effect of silymarin on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2010; 9(7):624-636.
174. Gueler F, Gwinner W, Schwarz A, Haller H. Long-term effects of acute ischemia and reperfusion injury. *Kidney Int.* 2004 Aug;66(2):523-7. .
175. Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure *Kidney Int.* 2004 Aug;66(2):486-91.
176. Senturk H, Kabay S, Bayramoglu G, Ozden H, Yaylak F, Yucel M, Olgun EG, Kutlu A. Silymarin attenuates the renal ischemia/reperfusion injury-induced morphological changes in the rat kidney. *World J Urol.* 2008 Aug;26(4):401-7. doi: 10.1007/s00345-008-0256-1. Epub 2008 Apr 12.
177. Turgut F, Bayrak O, Catal F, Bayrak R, Atmaca AF, Koc A, Akbas A, Akcay A, Unal D. Antioxidant and protective effects of silymarin on ischemia and reperfusion injury in the kidney tissues of rats. *Int Urol Nephrol.* 2008;40(2):453-60. doi: 10.1007/s11255-008-9365-4.