

**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEK TARAFLI PARSİYEL ÜRETER OBSTRÜKSİYONU  
YAPILAN RATLARDA KOENZİM Q VE  
SELENYUMUN BÖBREK ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Mustafa Koray KIRDAĞ**

**UZMANLIK TEZİ**

**KIRIKKALE**

**2016**

**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEK TARAFLI PARSİYEL ÜRETER OBSTRÜKSİYONU  
YAPILAN RATLARDA KOENZİM Q VE  
SELENYUMUN BÖBREK ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Mustafa Koray KIRDAĞ**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Yrd. Doç. Dr. Devrim TUĞLU**

**KIRIKKALE**

**2016**

## TUTANAKTIR

Fakültemiz Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Üroloji Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan Araştırma Görevlisi Dr.Mustafa Koray Kırdag'ın "Tek Taraflı Parsiyel Üreter Obstruksiyonu Yapılan Ratlarda Koenzim Q ve Selenyumun Böbrek Üzerine Etkisi" konulu tezi Tıp Ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. Maddesinin 4. Fıkrası "Jüri en geç bir ay içerisinde uzmanlık öğrencisinin tez savunmasını da alarak tezi inceler ve sonucunu yazılı ve gerekçeli olarak uzmanlık öğrencisi ile program yöneticisine bildirir." hükmü gereğince Araştırma Görevlisi Dr.Mustafa Koray Kırdag'ın uzmanlık eğitimi tezinde başarılı olmuştur.

**Tez Savunma Tarihi:14.12.2016**

ÜYE

**Prof.Dr.Erdal Yılmaz**  
**Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi**  
**Üroloji A.D**



ÜYE

**Yrd.Doç.Dr Devrim Tuğlu**  
**Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi**  
**Hastanesi**  
**Üroloji A.D**



ÜYE

**Doç.Dr Yılmaz Aslan**  
**Ankara Numune Eğitim ve Araştırma**  
**Hastanesi**  
**Üroloji A.D**



## TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitim süresince teorik ve pratik açıdan deneyimlerini ve bilgisini aktaran ve her konuda desteğini esirgemeyen başta sayın hocam Prof. Dr. Ertan BATİSLAM'a sonsuz teşekkürler ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince bütün zor anlarımda ve günlük hayatımda da desteğini benden esirgemeyen, varlığının tarafıma huzur ve güven verdiği, bir ömür bir evlat gibi yanında olacağım sayın hocam, büyüğüm Prof. Dr. Erdal YILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez danışmanım, büyüğüm, her açıdan kendime örnek aldığım ve eğitim sürem boyunca benden desteğini esirgemeyen hocam Yrd. Doç. Dr. Devrim TUĞLU'ya sonsuz sevgiler ve teşekkürler ederim.

Asistanlığım süresince bana yol gösteren, deneyimlerini bana aktaran sayın hocalarım Yrd. Doç. Dr. Ercan YUVANÇ ve Yrd. Doç. Dr. Fatih ATAÇ'a teşekkür ederim.

Dr. Ahmet Hacıislamoğlu, Dr. Timuçin Şipal, Dr. Fatih Bal, Dr. Serhan Gür, Dr. İsmail Beşer, Dr. Mehmet Özavcı ve Oktay Demirel'e asistanlığım süresince paylaştığımız her şey için çok teşekkür ederim.

Ameliyathane hemşiremiz Sultan Yalçın ve kat hemşirelerimize teşekkür ederim.

Beni büyüten okutan biricik annem, babam ve ablalarıma sonsuz teşekkürler.

Eşim Dr. Emine Buket Kırdag'a desteklerini hep hissettirdiği için sonsuz teşekkürler.

## ÖZET

**Kırdağ, M.K., Tek taraflı parsiyel üreter obstrüksiyonu yapılan ratlarda koenzim Q ve selenyumun böbrek üzerine etkisi, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2016.**

Çalışmamızda unilateral parsiyel üreter obstrüksiyonunda meydana gelen antioksidana bağlı böbrek hasarında selenyum ve koenzim Q'nun etkilerini incelemeyi planladık. 24 adet Sprague-Dawley rat 4 gruba ayrıldı. Sham Grup 1, Grup 2 parsiyel unilateral üreteral obstrüksiyon grup (PUÜO), Grup 3 PUÜO+ Koenzim Q, Grup 4 PUÜO+Selenyum grup. Doku ve kan örneklerinden biyokimyasal olarak paroksanaz, total antioksidan seviye (TAK), total oksidan seviye (TOS) değerleri hesaplandı. Doku örnekleri histopatolojik olarak incelendi. Dokularda total antioksidan kapasite (TAK) düzeyi Grup 3 ve Grup 4'de Grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi. Doku TOS düzeyi Grup 3 ve Grup 4'de Grup 2'ye göre anlamlı bir azalma tespit edildi. Serum paroksonaz (PON) düzeyi Grup 1 ve 2'ye göre Grup 3 ve 4'de anlamlı bir artış tespit edildi. Histopatolojik incelemelerde intertisyel inflamasyon, konjesyonun kontrol grubuna göre koenzim Q ve selenyum verilen gruplarda daha az olduğu tespit edildi. Selenyum grubunda koenzim Q grubuna göre daha anlamlı bir azalma tespit edildi. Çalışmamızda koenzim Q ve selenyumun unilateral parsiyel üreter obstrüksiyonunda oluşan oksidasyon ve doku çalışmalarında incelenen hasarı azalttığı gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Böbrek, Parsiyel Unilateral Üreter Obstrüksiyonu (PUÜO), Selenyum, Koenzim Q, Total Antioksidan Kapasite (TAK), Total Oksidan Seviye (TOS), Oksidatif Stres İndeks (OSİ), Paroksanaz (PON)

## ABSTRACT

**Kırdağ, M.K., Effect of coenzyme Q and selenium on the kidney in unilateral partial ureteric obstructed rats, University of KIRIKKALE, Faculty of Medicine, Department of Urology, Master Thesis, KIRIKKALE, 2016.**

In this study, selenium and coenzyme Q unilateral ureteral obstruction, which aimed to investigate the effects of antioxidants to damage occurring in the kidney. 24 female Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups. Sham Group 1, Group 2 partial unilateral ureteral obstruction group (PUUO), Group 3 PUUO + Coenzyme Q Group 4 PUUO + Selenium group. Tissue and blood samples were biochemically Paraoxonase, total capacity (TAC), total oxidant status (TOS), that underwent parameters and histopathological evaluation. Total antioxidant capacity (TAC) tissue levels Group 2, Group 3 and 4 by statistically significant. Tissue TOS values by a statistically significant reduction in the Group 2, Group 3 and 4. When he examined tissue parameter in Group 2, Group 3 and 4. It was found by a statistically significant decrease in value. Serum paroxonase (PON) based on the value of Group 1 and 2, Group 3 and 4 showed a statistically significant increase. Histopathological examination has been found that interstitial inflammation and congestion control group compared to Coenzyme Q, and further reduced to be more in the selenium group. By the results of our study Coenzyme Q and selenium reduced the oxidation and tissue damage in partial ureteral obstruction case.

**Key words:** Kidney, Unilateral Partial Obstruction of Ureter, Selenyum, Coenzim Q, Total Antioxidant Capacity (TAC), Total Oxidant Status (TOS), Oxidative Stress Index (OSI), Paroxonase (PON)

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜRLER .....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	x
ŞEKİLLER .....	xii
TABLolar .....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Üreter.....	2
2.1.1. Embriyoloji .....	2
2.1.2. Anatomi.....	2
2.1.3. Üreterin İnnervasyonu.....	2
2.1.4. Üreter Fizyolojisi .....	3
2.1.5. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu .....	3
2.1.6. Üreter Darlıkları .....	4
2.1.7. Parsiyel Üreter Obstrüksiyonu ve Fizyolojik Değişiklikler .....	4
2.2. Serbest Radikaller .....	5
2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri .....	6
2.2.2. Süperoksit Radikalleri (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) .....	6
2.2.3. Hidroksil Radikalleri (HO <sup>·</sup> ).....	7
2.2.4. Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	9
2.2.5. Hipoklorik Asit (HOCl) .....	9
2.2.6. Singlet O <sub>2</sub> (O <sub>2</sub> <sup>↑↓</sup> ) .....	9
2.2.7. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO <sub>2</sub> , NO <sup>+</sup> , NO <sup>-</sup> ).....	10
2.2.8. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları.....	11
2.2.9. Endojen Serbest Radikal Üretilen Mekanizmalar .....	11
2.2.10. Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi .....	11
2.2.11. Endoplazmik Retikulum.....	12

2.2.12. Redoks Döngüsü .....	12
2.2.13. Araşidonik Asit Metabolizması.....	12
2.2.14. Fagositoz .....	13
2.2.15. Otooksidasyon.....	14
2.2.16. Oksidan Enzimlerin Reaksiyonları .....	14
2.2.17. Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları .....	14
2.2.18. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri .....	15
2.2.18.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri .....	15
2.2.18.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri.....	16
2.2.18.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri.....	16
2.2.18.4. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri .....	16
2.2.19. Antioksidan Savunma Sistemleri .....	18
2.2.19.1. Enzimatik Antioksidanlar .....	18
2.2.19.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	21
2.2.20. Polifenoller.....	22
2.3. Total Antioksidan Kapasite (TAK), Total Oksidatif Seviye (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ).....	23
2.4. Paraoksonaz.....	24
2.4.1. Paraoksonaz Gen Ailesi .....	24
2.4.1.1. PON1'in Kimyasal Yapısı, Polimorfizmi ve Substratları.....	25
2.5. Koenzim Q10'nun Tanımı ve Fonksiyonu.....	28
2.6. Selenyumun Özellikleri.....	30
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>32</b>
3.1. Deney Grupları.....	32
3.2. Histopatolojik, İmmünohistokimyasal ve Biyokimyasal İncelemeler .....	35
3.2.1. Parafin Doku Takibi.....	35
3.2.2. Hematoksilen-Eozin Boyanması.....	36
3.2.3. İmmünohistokimyasal Boyama.....	36
3.3. Biyokimyasal Değerlendirmeler .....	37
3.3.1. Total Antioksidan Kapasite.....	37
3.3.2. Total Oksidan Seviye .....	37
3.3.3. Oksidatif Stres İndeksi .....	38



3.3.4. Paroksonaz .....	38
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>39</b>
4.1. Biyokimyasal Bulgular ve Sonuçlar.....	39
4.2. Histopatolojik Bulgular ve Sonuçlar .....	39
4.3. Apoptozis Değerlendirmesi.....	42
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>45</b>
<b>6. SONUÇLAR .....</b>	<b>47</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>48</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR

5-OH-Cyt	5-Hidroksisitozini
5-OHUr	5-Hidroksi Urasil
Apo A1	Apolipoprotein A1
ATP	Adenozin Trifosfat
C	Karbon
Cu	Bakır
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ETS	Elektrontransport Sistemi
Fe	Demir
GC	Guanilat Siklaz
GSH	İndirgenmiş Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GSH-Rd	Glutasyon Reduktaz
GST	Glutation-S-Transferazlar
H <sub>2</sub>	Hidrojen
H <sub>2</sub> O	Su
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HNO <sub>3</sub>	Nitrik Asit
HO·	Hidroksil
HOCl	Hipoklorid
L	Lösün
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LOOH	Lipid Hidroperoksit
M	Metiyonin
N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Dinitrojen Trioksit
NaCl	Sodyum Klorür
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat Hidrojen

NO·	Nitrik Oksit
NO <sub>2</sub> ·	Azot Dioksit
NOS	Nitrik Oksid Sentaz
O <sub>2</sub>	Oksijen
O <sub>2</sub> ↑↓	Singlet Oksijen
O <sub>2</sub> ·	Süperoksit
O <sub>3</sub>	Ozon
OSİ	Oksidatif Stres İndeks
PLGSH-Px	Fosfolipid Hidroperoksid Glutasyon Peroksidaz
PNL	Polimorfonüveli Lökositler
PON	Paroksonaz
PUÜO	Parsiyel Unilateral Üreter Obstrüksiyonu
R·	Karbon Merkezli Radikaller
RNA	Ribonükleik Asit
RO·	Alkoksil Radikalleri
ROO·	Peroksil Radikalleri
RS·	Tiol Radikalleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAK	Total Antioksidan Kapasite
TIBDAM	Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi
Toc-OH	Tokoferol
TOS	Total Oksidan Seviye
XDH	Ksantin Dehidrogenaz
XOD	Ksantin Oksidaz

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Paroksonazın yapısı .....	25
Şekil 2.2. Koenzim Q10 sentezi .....	30
Şekil 3.1. Orta hat insizyonu ve üreter serbestlenmesi .....	34
Şekil 3.2. Üreterin psoas kası içine sutüre edilerek parsiyel obstrüksiyon oluşturulması .....	35
Şekil 4.1. Normal böbrek dokusu (X10 büyütme ışık mikroskop ile inceleme).....	40
Şekil 4.2. Kontrol grubu böbrek dokusu örneği (X10 büyütme ışık mikroskop ile inceleme) .....	41
Şekil 4.3. Koenzim Q verilen grup böbrek doku örneği (X10 büyütme ışık mikroskop ile inceleme) .....	41
Şekil 4.4. Selenyum verilen grup böbrek dokusu örneği (X20 büyütme ışık mikroskop ile inceleme) .....	42
Şekil 4.5. İmmünohistokimyasal boyama yöntemiyle doku örnekleri (Grup 1 X200, Grup 2 X200, Grup 3 X200, Grup 4 X400 büyütme ile inceleme) .....	44

## TABLÖLAR

Tablo 2.1. Oksijen türevi bileşikler.....	6
Tablo 3.1. Çalışma grupları.....	33
Tablo 4.1. Biyokimyasal sonuçlar.....	39
Tablo 4.2. Histopatolojik sonuçlar (histopatolojik değerlendirme skorlaması).....	40
Tablo 4.3. İmmünohistokimyasal sonuçlar .....	43



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Normal şartlar altında idrar böbreklerde üretildikten sonra üreterler yoluyla, peristaltizm ile mesaneye ulaşır. Ancak parsiyel ya da total üreter obstrüksiyonuna sebep olabilen taş, retroperitoneal fibrozis, yakın komşu dokulardaki malignitelere bağlı üreterlerde staz gelişebilir. Buna bağlı olarak idrar üreterlerden geçemeyebilir veya parsiyel obstrüksiyon mevcutsa az olarak geçer. Obstrüksiyona bağlı olarak böbreklerde erken zamanda dilatasyon ilerleyen zamanlarda nekroz, hücrel inflamasyon ve atrofi meydana gelebilir, hücreler apoptozis sürecine girebilir. Koenzim Q ve selenyumun antioksidan etkileri mevcuttur. Koenzim Q ve selenyum ile yapılan bazı çalışmalarda antioksidan etkilerinin doku hasarını azalttığı görülmüştür. Çalışmamızda parsiyel üreter obstrüksiyonu yapılan ratlarda koenzim Q ve selenyumun böbrek üzerine etkilerini incelemeyi planladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Üreter

#### 2.1.1. Embriyoloji

Gebeliğin 4. haftasında distal mezonefrik kanaldan meydana gelen üreter tomurcuğu metanefrik blastem ile etkileşir. Pelvis, kaliksler ve üreter oluşur. Üreter tomurcuğunun distalindeki mezonefrik kanal segmentine ana boşaltım kanalı denir. Bu kanal mesaneyle birleşir ve trigonun bir parçasını meydana getirirler. Üreter tomurcuğu üreter orifisinden başlar. Ortak boşaltım kanalı mesaneyle birleşir. Üreter orifisleri mesane içinde kranial ve lateral yönde ilerler (1).

#### 2.1.2. Anatomi

Üreterler, idrarın renal pelvisten mesaneye taşınmasında görevli, tubuler yapılardır. Üreterlerin uzunluğu 22-30 cm kadardır. İç tabakası transizyonel epitel ile örtülüdür. Üreter renal arter posteriorundan çıkar ve psoas kası ön kenarı boyunca seyir eder. Bu alanda gonadal damarlar üreteri önden çaprazlar. Üreter, internal ve eksternal iliaklar arasından devam eder. Sağ üreter devamlılığı sırasında çıkan kolon, çekum, kolonik mesenter ve appandiks ile komşuluk yapar. Sol üreter inen kolan, sigmoid ve bunların mesenterleri ile komşuluk yapar. Üreterde seyri boyunca 3 adet göreceli darlık alanları mevcuttur. Bunlar; (1) Üreteropelvik bileşke (2) Üreterin iliak damarları çaprazladığı alan (3) Üreterin mesane içine girdiği yerdir. Üreter kanlamasını izlediği yol boyunca çok sayıda arterden sağlar. Önemli olan, üreter abdominal seyri sırasında arteriyel kanlanması medial taraftan sağlarken, pelvik seyri sırasında lateral taraftan sağlar. Arteriyel damarlar üretere ulaştıktan sonra periüretral adventisyada longitudinal seyreder ve geniş anastomoz ağı oluşturur. Üreterin lenfatik ve venöz drenajı arteriyel yapılara paralel seyreder. Üreterin lenfatik drenajı üreterin seviyesine bağlı olarak değişir (2).

#### 2.1.3. Üreterin İnnervasyonu

Üreterlerde otonomik sistemin kesin rolü bilinmemektedir. Üretral peristaltizmini minör kalikslerde lokalize intrinsek düz kas pacemaker alanları sağlar. Peristaltizm sırasında otonom sinir sisteminin bazı etkileri vardır, ancak kesin rolü

bilinmemektedir. 10. torakal - 2. lomber spinal segmentlerden üreterlerin preganglionik sempatik lifleri köken alır. Postganglionik lifleri ise süperior ve inferior hipogastrik, aortikorenal otonomik pleksus gibi liflerden gelir. Parasempatik innervasyonu ise 2-4. sakral segmentlerden sağlanır. Üreterlerde mukozal uyarı nosiseptörleri uyarır. Bu uyarı sempatik lifler ile taşınır. Sempatik dağılıma bağlı olarak direkt organ ağrısı veya yansıyan ağrı oluşur (3).

#### **2.1.4. Üreter Fizyolojisi**

İdrarın pelviste toplanmasıyla yükselen basınç, pelvisten başlamak üzere üreter boyunca aşağıya doğru ilerleyen bir peristaltik dalgayı başlatır. Peristaltik dalga hareketleri 2-3 dakikada bir 10 saniye süreyle oluşarak 3 cm/sn kadar hızla yayılır. Peristaltik dalga hareketleri idrarı 50-100 mmHg'lik bir dirence karşı ilerletebilir. Peristaltik dalganın oluşumunu üreter çeperindeki sinsisyum yapan düz kastan geçen aksiyon potansiyelinin meydana getirdiği düşünülmektedir. Parasempatik uyarı dalgaların frekansını arttırırken sempatik uyarı ise frekansı azaltır ve bu yolla kontraksiyon şiddeti kontrol edilir.

Mesane hizasında üreterler trigona oblik girerler. Mesane epiteli altında birkaç santimetre ilerleyen üreterler mesanedeki basınç altında olduklarından, idrarın atılması sırasında bu basıncın yükselmesiyle idrarın geriye akışı önlenir. Üreterler ağrı liflerinden zengindir. Üreterde taş ve başka sebeplerden dolayı obstrüksiyon olduğu zaman, şiddetli kasılmayla beraber ağrı meydana gelir. Ağrı uyarıları gerideki böbreklerde de sempatik refleksi uyararak böbrek arteriyollerinin daralmasına ve böylece böbrekten idrar akışının da azalmasına yol açarlar ki bu etkiye üreterorenal refleksi ismi verilir (4).

#### **2.1.5. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu**

Üreterin olasılıkla en sık görülen doğumsal anomolisidir. Erkek çocuklarda kız çocuklara oranla (5/2) daha sık görülür. Sol tarafta daha sık görülür. Olguların %10-15'inde çift taraflı obstrüksiyon görülür. Aynı aile bireylerinde olmasına karşın kalıtsal geçiş gösterilmemiştir (5). Konjenital üreteropelvik darlık aperistaltik üreter segmentiyedir. Histopatolojik çalışmalarda anormal longitudinal kas yapısının ya da fibroz dokunun yer aldığı gösterilmiştir. Bu değişikliklere bağlı mekanik ve fonksiyonel darlıklar oluşabilir. Sıklıkla üreteropelvik bileşke obstrüksiyonları diğer



konjenital anomalilerle, kardiyak anomalilerle ve Hirschsprung's hastalığı ile beraber görülebilir. Üretereopelvik darlıklar konjenital bir problem olmasına karşılık yaşamın herhangi bir döneminde ortaya çıkabilir (5). Yeni doğanda flank bölgesinde palpabl kitle olarak tespit edilebilir.

#### **2.1.6. Üreter Darlıkları**

Üreter darlıklarına neden olan sebepler iskemi, cerrahi veya cerrahi dışı travma periüretral fibrozis, malignitelere bağlı olabilir. İmpakte taşlar 2 aydan daha uzun süre üreterde kalmasına bağlı %24 darlık olduğu izlenmiştir.

#### **2.1.7. Parsiyel Üreter Obstrüksiyonu ve Fizyolojik Değişiklikler**

Parsiyel üreter obstrüksiyonu taş, retroperitonel fibrozise, gebeliğe, aort anevrizmasına, üreter dışarıdan bası yapan malignitelere bağlı olabilir. Hayvan deneylerinde parsiyel üreter obstrüksiyonu oluşturmak için çeşitli metodlar uygulanmıştır. Parsiyel obstrüksiyonu modelleri 3 ana kategoride gösterilebilir. Koyun (Abu-Zidan ve ark. 1999) ve köpeklerin (Ryan ve Fitzpatrick 1987; Leahy ve ark. 1989) üreterlerine akımını azaltmak amacıyla çeşitli ebatlarda intralüminal stent ve kateterler yerleştirildi (6). Sıçanların veya büyümekte olan hayvanlarda birçok araştırmacı psoas kasını longitudinal olarak insize edip üreterin yerleşeceği bir oluk oluşturmak olarak tariflenen Ulm ve Miller (1962) tekniğini kullanmıştır (7). Thornhill ve ark. (2006) neonatal yavru sıçanların üreterlerini belirli genişlikteki bir telle bağlamışlar ve takiben tek üreterde parsiyel ve aşamalı darlık oluşturmuşlardır (8). Üreter çapı %70-75 daraltıldığı zaman böbrek gelişimi ve glomerul sayısı azaldığı, pelvik dilatasyonun arttığı tespit edilmiştir.

Parsiyel üreter obstrüksiyonunda azalmışta olsa böbrekten idrar üriner sistem kanal aracılığıyla çıkabilmektedir. Bu durumda idrarın venöz (piyelovenöz) ve lenfatik (piyelolenfatik) sisteme ekstrasvazyonu olabilir (9).

Bir veya iki böbrekteki obstrüksiyonun sodyum, potasyum, hidrojen salınımı ve üriner konsantrasyon ve dilüsyon üzerine anlamlı etkisi vardır. Unilateral üreter obstrüksiyonu sırasında göreceli olarak normal fonksiyon gösteren obstrükte olamayan böbrek çözülmüş maddeler ve suyu absorbe etmek için fonksiyonu azalmış postobstrüktif böbreği kısmi olarak dengeler. Anormal renal salınımı fonksiyonunun düzelmesi obstrüksiyonun derecesi ve süresine bağlıdır (10).

Normal idrar kontrasyonu olması için bir hipertonic medüller intertisyel gradient gerekir, bu mekanizma sayesinde henlenin çıkan kolunda tuz reabsorpsiyonu, iç meduller toplayıcı kanaldan üre geri alınması, vasopressin ve aquaporin su kanalları aracılığıyla toplayıcı kanallardan su geçirgenliği sağlanır. Obstrükte nefropati bu mekanizmaların bazılarını veya tamamı bozularak idrar kontrasyonunun oluşmasında bozukluğa yol açar (11). Nefrondaki sodyum transportunda oluşan azalma postobstrükte böbreğin idrar konsantrasyon yeteneğinin azalmasında önemli bir ek rol oynadığı düşünülmemektedir. Obstrüksiyonun potasyum dağıtımında karışık etkileri vardır. Harris ve Yarger (1975) unilateral üreter obstrüksiyonu düzeltildikten 24 saat sonra, glomeruler filtrasyondaki düşüşe ters olarak potasyum eksresyonunda artış olduğu belirtmişlerdir (12). Diğer araştırmacılarda unilateral üreter obstrüksiyonu düzeltildikten sonra potasyum sekresyonunda intrensik bir defekt olduğu belirtmişlerdir (13). obstrüksiyonua bağlı idrar asidifikasyonunda defekt olabilir. Bu hayvan modellerinde tespit edildiği gibi, insanlarda da gösterilebilir. Bazı peptitler ve küçük proteinler glomerül tarafından normal olarak filtre edilir ve nefronlarca kolayca emilebilir. Tomm-Horsfall proteini ve aquaporin gibi bazı enzim ve proteinler tübüler sıvı içine normal olarak salgılanır. Obstrüksiyon proteinlerin ve peptidlerin salınımını bozabilir. Monosit kemotaktan protein 1, obstrükte böbrekte gelişen inflamatuvar sürecin bir moderatörüdür. Ünilateral obstrüksiyondan sonra ekskresiyonu artabilir (14) ve tübüler hasarın indeksi olarak kabul edilir. Epidermal growth faktör ekskresiyonu ve Tomm-Harsfall proteini ekskresiyonu obsruksiyonda azalır (15).

Renal obstrüksiyon tübüler atrofi ve hücresele ölüme neden olur. Sıçan böbrekleri obstrükte edildiğinde, renal tübüler hücrelerde 4 gün sonra apoptoz meydana gelir. 15 gün sonra zirveye ulaşır ve obstrüksiyon sırasında intertisyel hücrelerde apoptoz devam eder (16).

## **2.2. Serbest Radikaller**

Atomların çekirdekleri etrafında dönen elektronlar, belirli enerji seviyelerinde, birbirine zıt momentli çiftler şeklinde bulunmaya eğilimlidirler. En dış yörüngede bulunan elektron çiftinin dengesi, yörüngeye bir elektron girmesi ya da çıkmasıyla bozulursa, momenti dengelenmemiş bu tek elektron; atoma (ya da moleküle) büyük bir aktiflik kazandırır. En dış yörüngede eşlenmemiş bir elektronu bulunan molekül ya

da molekül gruplarına “radikal” adı verilmektedir. Ve molekülün kimyasal simgesinin sağ üst köşesine konan nokta veya çizgiyle gösterilir (17-21).

### 2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen 8 atom numaralı, tabiatta dioksijen ( $O_2$ ) olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız konumu, enerji düzeylerinde bulunan elektronlarının yapısıyla bağlantılıdır. Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde ya da farklı yönde döndüğünde “singlet oksijen” meydana gelir. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilir.

**Tablo 2.1.** Oksijen türevi bileşikler

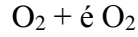
<b>Radikaller</b>	<b>Radikal Olmayanlar</b>
Hidroksil ( $HO\cdot$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
Alkoksil ( $RO\cdot$ )	Singlet oksijen ( $O_2\uparrow\downarrow$ )
Peroksil ( $ROO\cdot$ )	Ozon ( $O_3$ )
Süperoksit ( $O_2\cdot$ )	Hipoklorid ( $HOCl$ )
Nitrik oksit ( $NO\cdot$ )	Lipid hidroperoksit ( $LOOH$ )
Azot dioksit ( $NO_2\cdot$ )	Peroksinitrit ( $ONOO\cdot$ )

Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdan kaybolur. Bu nedenle bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) veya bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta nonradikal yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler. Bu özellikleri ile reaktif oksijen partikülleri iki ana başlık altında incelenmektedir (17).

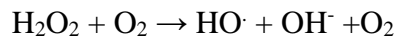
### 2.2.2. Süperoksit Radikalleri ( $O_2\cdot$ )

Süperoksit radikalleri ( $O_2\cdot$ ), hücrelerde redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu ile meydana gelmektedir. Süperoksit oluşumu; a) elektron

taşıyıcısının redoks durumuna ve b) ortamdaki oksijen derişimine bağlıdır. Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikalinin kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir. Ancak süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir (22). Bu reaksiyonların en önemlisi Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda  $O_2$  ve  $H_2O_2$  demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan  $HO\cdot$  radikallerini oluşturmaktadırlar.



(süperoksit radikali)



Üretilen bu  $OH\cdot$  radikalleri oldukça reaktif olup deoksiribonükleik asit (DNA) gibi yapılarla reaksiyonlara girerek önemli hasarlara yol açabilmektedir (23).

$O_2$  radikalleri, hücre içi demir depolarından demiri serbest hale dönüştürürler. Serbest hale geçen demir iyonu Haber-Weiss gibi radikal üreten reaksiyonlarda veya diğer serbest radikal aracılıklı hücre hasarında rol oynayabilir. Süperoksit radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahiptir. Süperoksit radikalleri dismutasyon reaksiyonu ile  $H_2O_2$  ve oksijen üretirler. Dismutasyon reaksiyonu spontan olarak meydana gelmekte ve reaksiyon süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile katalizlenmektedir.

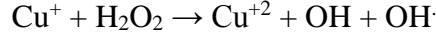
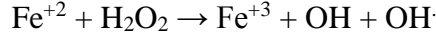


### 2.2.3. Hidroksil Radikalleri ( $HO\cdot$ )

Hidroksil radikali ( $HO\cdot$ ), biyolojik sistemlerde mevcut en güçlü serbest radikaldir. Dokular radyasyona uğradıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorbe edilir ve radyasyon oksijen-hidrojen arasında kovalent bağa sebep olur. Sonuç olarak şekilde görüldüğü gibi iki radikal oluşur. Bu radikallerden biri hidrojen ( $H\cdot$ ) ve diğeri ise hidroksil radikali ( $OH\cdot$ ).

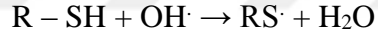


Hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ )  $Fe^{+2}$  veya  $Cu^{+2}$  ile reaksiyona girmesi sonucu  $OH\cdot$  oluşmaktadır.  $H_2O_2$  toksisitesinin büyük çoğunluğunun temelinde bu oluşan  $OH\cdot$  olduğu düşünülmektedir. Bu reaksiyon ilk kez 1894 yılında Fenton tarafından izlenmiş ve günümüzde de Fenton reaksiyonu olarak bilinmektedir.



OH $\cdot$  radikalleri başta lipid, protein ve nükleik asitler [DNA ve ribonükleik asit (RNA)] olmak üzere hemen hemen bütün hücresel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. OH $\cdot$  DNA'da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler meydana getirdiği ve bu oluşan ürünlerin bazılarının mutajenik oldukları görülmüştür. Yine OH $\cdot$  aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiğinden dolayı DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Örneğin: Timine katılarak timin-radikalini meydana getirir ve bu radikal oksijenle reaksiyona girerek son derece reaktif olan timin peroksil-radikalini oluşturmaktadır. Bunun gibi bir dizi reaksiyona katılabilen OH $\cdot$  DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar meydana getirerek DNA iplik kırılmalarına sebep olurlar. Hasar geniş kapsamlı olursa hücresel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve buna bağlı mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (24).

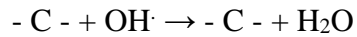
DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşmenin yanısıra tiol grubu içeren biyolojik moleküllerden H atomu da koparabilmektedir.



Sonuç olarak oluşan sülfür radikalleri kimyasal özelliklere sahiptir.

Sülfür radikalleri, O<sub>2</sub> ile kombine olabilir ve oksisülfür radikalleri meydana gelebilir. Bunların birçoğu da biyolojik moleküllerde hasara sebep olurlar.

OH $\cdot$ 'ın neden olduğu en iyi karakterize edilmiş olan biyolojik hasar lipid peroksidasyon olayıdır. OH $\cdot$  membran fosfolipitlerinin doymamış yağ asit yan zincirlerine saldırır. Bu özellikle araşidonik asit gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden -C atomunun birinden H atomunun çıkartılması ve su oluşumu şeklinde gerçekleşir.

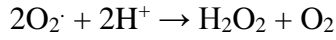


Bu reaksiyon sonunda membranda - C - radikali kalır. Bu - C - radikali oksijen ile kombine olarak peroksil radikalini oluşturur. Peroksil radikaller reaktiftir ve yakınındaki doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerine saldırır; böylece OH $\cdot$  radikalleri, yüzlerce yağ asitlerinin yan zincirlerini lipid hidroperoksitlere dönüştürür. Membranda lipid hidroperoksitlerinin birikimi membran fonksiyonunu bozar.

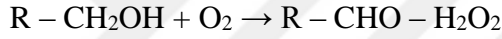
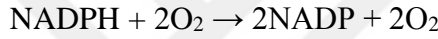
Peroksil radikaller ve sitotoksik aldehitler, membran proteinlerinde ciddi bir hasara sebep olurlar ve membrana bağılı bazı enzimleri ve reseptörleri inaktive ederler (25,26).

#### 2.2.4. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Hidrojen peroksit eşleşmemiş elektrona sahip olmadığından dolayı bir radikal olarak değerlendirilmez. Süperoksit anyonunun (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) hidrojenle yaptığı reaksiyona Dismutasyon reaksiyonu adı verilmektedir. Ve Dismutasyon hızı asidik pH değerlerinde hızlanır (27). Reaksiyon şöyle ifade edilir;

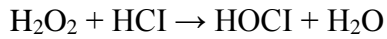


Bazı enzimler ya tekli (NADPH oksidaz) ya da çiftli (Glukoz oksidaz) elektron eklenmesini katalize ederek O<sub>2</sub><sup>-</sup> veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşmasını sebep olurlar.



#### 2.2.5. Hipoklorik Asit (HOCl)

Hipokloröz asit de radikal olmamasına rağmen reaktif oksijen türleri (ROS) içinde yer almaktadır. Fagositik hücrelerin bakterileri öldürülmesinde önemli görev almaktadır. Aktive olan nötrofiller, monositler makrofajlar ve eozinofiller süperoksit radikallerini (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde önemli rol oynar. Özellikle nötrofiller miyeloperoksidaz enzimleri aracılığıyla önce O<sub>2</sub><sup>-</sup>'in oluştururlar ve daha sonra dismutasyonuyla oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonuyla birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'i meydana getirirler.



#### 2.2.6. Singlet O<sub>2</sub> (O<sub>2</sub><sup>↑↓</sup>)

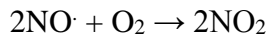
Singlet O<sub>2</sub> yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmadığından serbest radikal olarak değerlendirilmemiş ancak serbest radikal reaksiyonlarını başlattıklarından serbest radikal sınıfına dahil edilmiştir. Singlet O<sub>2</sub>, oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün aksiyonda olan farklı bir

yörüngeye yer değiştirmesi sonucu oluşabileceği gibi süperoksit radikalının dismutasyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da meydana gelebilir. Vücutta deri ve retina gibi ışığa maruz kalan alanlardasıkça oluştuğu tespit edilmiştir.

Serbest oksijen radikallerinin etkisiyle peroksil radikalleri (ROO $\cdot$ ), alkoksil radikalleri (RO $\cdot$ ) karbon merkezli radikaller (R $\cdot$ ) veya tiol radikalleri (RS $\cdot$ ) meydana gelir. Bu radikaller oksijenle tekrar reaksiyona girerek yeni serbest radikaller üretirler (28).

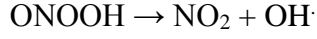
### 2.2.7. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO $_2$ , NO $^+$ , NO $^-$ )

Reaktif nitrojen türleri lipofilik özelliğe sahip olup, oksijensiz ortamdastabildir (29). Düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilen NO, bilinen en düşük molekül ağırlıklı, biyoaktif memeli hücresi sekresyon ürünüdür (30-32). Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir ve çok önemli fizyolojik işlevleri gerçekleştirir. NO bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektronvererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır (33). Bu lipofilik serbest radikal türevi damar endotel hücrelerinde Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. NOS'ın birçok izoformu tanımlanmıştır. NO'in yarı ömrü 10-20 saniyedir. Kolayca düz kasa geçebilir ve Guanilat Siklaz (GC) enziminin "hem"demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini uyarır. Sentezlenen NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO, Fe-S kümelerine afinite gösterdiği için bu grupları içeren akonitaz enzimine de bağlanır. Bu enzim hücre içi demir trafiğini kontrol eder. NO, akonitaz enzimine mRNA bağlanmasını artırır ve enzimin aktivitesini düşürür. NO $\cdot$  metabolize olurken moleküler oksijen ile bağlanıp nitrojen dioksidi (NO $_2$ ) oluşturur:



Nitrik oksidin ROS'leri ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti (ONOOH) meydana getirdiği ve bunun da ileri dekompozisyonla OH $\cdot$  radikalının oluşumuna yol açtığı belirtilmektedir:





$\text{OH}^\cdot$  radikali ise biyolojik olarak yıkıcı bir molekül örneğidir. Ayrıca, peroksinitrit de tirozin gibi fenolik amino asitleri nitrolayarak toksik nitro - türevlerini (nitrotirozin) oluşturmaktadır.

Sonuç olarak NO, endotel hücre disfonksiyonu ve buna bağlı ateroskleroz, hipertansiyon ve Diabetes Mellitus (DM) gibi bazı önemli hastalıklarda rol oynayabilmektedir.

### **2.2.8. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları**

Serbest radikaller organizmada doğal süreç içerisinde meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında oluştuğu gibi çeşitli dış kaynaklı etkilerin etkisiyle de oluşabilir. Hücre organellerinin her biri farklı miktarlarda radikal oluşumuna neden olurlar. Bunlarla birlikte radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini artırırlar. Sitokrom b5, sitokrom P 450, ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, hemoglobin, flavoproteinler, lipid peroksidasyonu, oksidatif stress yapan iskemi, travma ve intoksikasyon gibi durumlar, mitokondrial elektrontransport sistemi (ETS), moleküler otooksidasyon yapan tiol, hidrokinon, katekolamin, flavin ve antibiyotik gibi moleküllerin tümü hücrel serbest radikalleri meydana getirirler (35). Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve ekzojen olarak sınıflandırılabilir.

### **2.2.9. Endojen Serbest Radikal Üretilen Mekanizmalar**

Doğal süreç esnasında metabolizmada, bazı biyokimyasal olayların çeşitli kademelerinde serbest radikaller oluşmaktadır. Serbest radikal yapısına sahip maddelerin organizmaya zarar verme potansiyelleri varsa da, birtakım metabolik olayların ilerleyebilmesi için bunların oluşması kaçınılmazdır.

### **2.2.10. Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi**

Mitokondrideki enerji metabolizması esnasında oksijen kullanılırken, harcanan oksijenin %1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağının olmasıdır. Fizyolojik olarak reaktif oksijen türlerinin ana kaynağı



doğal oksijen metabolizmasıdır. Bu yüzden fizyolojik koşullarda mitokondriyal elektron transport sistemi serbest radikal üretiminin en önemli kısmını oluşturmaktadır (35).

### **2.2.11. Endoplazmik Retikulum**

Endoplazmik retikulumda mevcut olan sitokrom P-450 moleküler oksijeni kullanarak birçok substratı oksitler. Oksijen molekülünün bir atomu substrata bağlanır, diğer atomu ise suyu meydana getirir. Bu reaksiyon; monooksijenaz veya karışık fonksiyonlu oksidaz reaksiyonu olarak nitelendirilir.

Kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli yolakları, mikrozomal sitokrom P-450 sistemi ile aktivasyonudur. Bu sistem sayesinde, molekülleri indirgenerek veya oksitlenerek serbest radikal oluşturur. Son basamakta bir elektron eksikliği vardır ve elektrofilik bileşik oluşur. Oluşan bu elektrofilik madde bir nükleofil ile reaksiyona girer. Bu elektrofilik maddeyi çeken en önemli bileşik sistein kalıntıları üzerindeki tiyol (-SH) grubudur. Tiyol grubu ise birçok endojen makromolekülde (DNA, RNA, enzimler gibi) bulunduğu için reaktif ara ürünler bu moleküllerle kovalent bağ oluşturarak toksisite gösterebilirler (36).

### **2.2.12. Redoks Döngüsü**

Ksenobiyotik grubundan serbest radikal oluşumu sadece mikrozomal reaksiyonlarla meydana gelmemektedir. Menadion, parakuat, dikuat, nitrofurantoin, gibi bileşik yapılar alternatif bir redoks siklusuna girerler. Bu bileşikler, ek bir çiftlenmemiş elektron kazanmaya meyillidirler. Bu ajanlardan oluşan radikaller, tekrar ana bileşiğe dönüşmek için hızlıca oksijenle oksitlenir ve süperoksit radikalini meydana getirirler (37). Oluşan ksenobiyotik ve süperoksit radikalleri intrasellüler ferritin depolarından demiri serbest hale getirirler. Sitozole salınan demir, serbest radikaller arasında en reaktif olan ve bundan dolayı daha yıkıcı olan hidroksil radikali gibi ikincil radikallerin oluştuğu Fenton reaksiyonunda katalitik rol oynar (22).

### **2.2.13. Araşidonik Asit Metabolizması**

Hücre membranlarında bulunan prostaglandin için en önemli doymamış yağ asidi öncülü araşidonik asittir. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonu, plazma membranlarında araşidonik asidin açığa çıkmasına yol

açar. Araşidonik asidin siklooksijenaz tarafından yürütülen oksidasyonu prostaglandinleri, lipooksijenaz tarafından yürütülen oksidasyonu ise lökotrienleri oluşturur ve bu reaksiyonlar esnasında serbest radikaller oluşur (38). Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerinin ikisi de aktivite göstermeleri için peroksitlere ihtiyaçları vardır. Siklooksijenaz aktivitesi daha sonra prostaglandinlerin sentezi içinde önemli olan endoperoksitlerin oluşumuyla neticelenir. Diğer yandan lipooksijenaz lipid peroksitleri üzerinden lökotrienlerin meydana gelmesini katalizler (38). Eş zamanlı olarak bazı ksenobiyotiklerden reaktif ara ürünler oluşmaktadır. Bu ara ürünler hedef yapılara toksisite gösterirler.

#### **2.2.14. Fagositoz**

Radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal oluşumunu tetiklerler. Aktive olmuş fagositler intrasellüler radikal oluşumuna sebep olurlar. Aktive olmuş fagositlerde üretilen serbest radikaller patojenlerle mücadelede önemli rolleri mevcuttur.

Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler

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

Monositler, doku makrofajları (kupfer hücreleri, alveolar makrofajlar) gibi fagositik özelliklere sahip hücreler ve nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granülositler immünojenik veya özel bir uyarı ile uyarılmayı takiben lizozomlarını dışarı salmaya başlarlar. Reaktif oksijen oluşumunun meydana gelmesinin yanı sıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde de bir patlama (respiratory burst) olur. Fagosit edilmiş patojenik oluşumlar oksidan ajanlar tarafından öldürülür. Solunum yolu ile patlamanın (respiratory burst) amacı oksidan ajanlar sağlamaktır. Meydana gelen oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanı sıra myeloperoksidaz sistemine de etki eder. Hidrojen peroksit ve hipoklorit birleşimi myeloperoksidaz sistemine etki ederek güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterir. Bu radikaller memeli bakteri ve parazitlerine karşı sitotoksik etki gösteren oksidan ajanlardır. Membran peroksidasyonu, membran proteinlerinin dekarboksilasyonu ve/veya oksidasyonuna

sebeup olup membran bütünlüğünü bozabilir ve DNA'yı okside ederek parçalanmasına neden olurlar. Fagositik kaynaklı oksidan ajanlar; ototoksik, immünosupresif ve mutojenik etki oluşturabilirler.

### **2.2.15. Otoksidasyon**

Doku bileşenlerinin büyük kısmımoleküler oksijenin varlığında kimyasal olarak unstabildir. Metabolik şartlarda az ya da çok otookside olurlar. Basitçe otookside olabilen bu bileşenler doku ve hücrelerin önemli komponentleridirler (39-41). Bunlardan bazıları, hemoglobin gibi metalloproteinler, hormonlar, tiyoller, doymamış membran lipitleri sayılabilir. Bütün otooksidasyonlar esansında serbest radikal intermediyerleri kadar aktive oksijen türleri de üretilir. Böylece otooksidasyonlar vücudun radikal kaynaklarına katkı sağlamış olurlar.

### **2.2.16. Oksidan Enzimlerin Reaksiyonları**

Aerobik organizmalarda oksijenin eşlik ettiği birçok reaksiyonda oksijenin tek değerlikli indirgenmesiyle süperoksit anyonu meydana gelebilir. Glikojen oksidaz, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, NADH oksidaz, diamin oksidaz, urat oksidaz gibi enzimler bunlara örnektirler. Üzerinde en çok çalışılmış olan enzim ksantin oksidaz (XOD) aslında ksantin dehidrogenaz (XDH) olarak sentezlenmekte ve dokularda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu enzim elektronlarını moleküler oksijene değil NAD'ye verir ve süperoksit anyon radikali oluşturmaz. Ancak XOD sülfidril oksidasyonu ya da sınırlı proteolizis ile dehidrogenaz formunda oksidaz formuna dönüşebilir. XOD moleküler oksijeni kullanarak  $H_2O_2$  ve  $O_2$  meydana getirmektedirler.

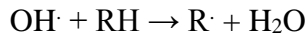
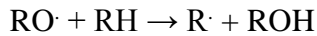
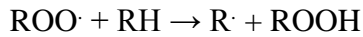
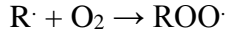
### **2.2.17. Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları**

Serbest radikaller, ekzojen nedenlerle de oluşabilir. Radyasyon, sigara dumanı, zehirli gazlar, bazı ilaçlar, kanserojen maddeler ve pestisitler en önemli ekzojen serbest radikal üretim kaynakları olarak bilinirler (42).

## 2.2.18. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

### 2.2.18.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipitler üzerine yaptığı etkilerdir. Lipit peroksidasyonu olarak isimlendirilir (43-45). Lipit peroksidasyonu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalin süperoksit anyon radikali ile hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Süperoksit anyon radikali hidroksil radikaline dönüşmektedir. Benzer yapıda hidrojen peroksidin de hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir. Bundan dolayı lipit peroksidasyonunu başlıca hidroksil radikali başlatmaktadır (43). Hidrojen atomunun ayrılmasıyla oluşan serbest yağ asidi radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikalini meydana getirir. Oluşan peroksit radikali yüksek reaksiyon kabiliyetine sahip olup başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir hidroperoksit ve yeni bir yağ asidi radikali oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Meydana gelen bu yağ asidi radikali yeniden oksijen ile birleşir ve RH'dan yeniden bir hidrojen atomunun ayrılmasına olanak sağlar. Bu başlayan zincir reaksiyonu oluşan yeni radikallerin etkisiyle devamlı olarak artan bir hızda devam eder (43,44).



Birçok olay sırasında bu şekilde oluşan lipit peroksiti  $RO\cdot$  ve  $OH\cdot$  verecek şekilde parçalanır ve bu oluşan radikaller hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni zincir reaksiyonlarını tetikleyecek olan  $R\cdot$  radikallerini meydana getirir. Böylece oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına sebep olur (44). Lipit peroksitleri hücre zarlarının önemli bir parçasıdır ve Fe, Cu gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksi ve peroksi radikallerini verirler. Bundan dolayı Fe veya Cu tuzları lipit peroksidasyonunun hızını artırırlar. Sonuç olarak hücre zarının akışkanlığını ve permabilitesini azaltarak zar bütünlüğünün bozulmasına sebep olurlar. Lizozomal

membranların hasarı sonucu hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden olur. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermesinden ayrı olarak duyarlı aminoasit kalıntılarını (methionin, histin, stein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (38,44,46).

#### **2.2.18.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri**

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin amino asit yapısına göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üç gruba ayrılır: 1) Amino asitlerin modifikasyonu, 2) Proteinlerin fragmentasyonu, 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır (47). Aromatik amino asitlerde (fenilalanin, tirozin, triptofan) doymamış yapılar olduğundan oksidatif tepkilere çok hassastırlar. Sülfürlü amino asitler olan sistein ve sistin de serbest radikal tepkisine hassas amino asitlerdir. Proteinin temel yapısındaki değişiklikler, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete sebep olabilirler. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına sebep olabilirler (48).

#### **2.2.18.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri**

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler oluşurlar. Bunlar diabetes ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar (48).

Enflamatuvar eklem hastalıklarında synovial sıvıya geçen polimorfonüveli lökositler (PNL)'lerden ekstrasellüler sıvıya salınan  $H_2O_2$  ve  $O_2$  buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronoik asidi parçalarlar (49). Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit mevcuttur. Bununda oksidatif hasarı katarakt oluşumunda etkileri vardır (50).

#### **2.2.18.4. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri**

Serbest radikallerin, DNA saldırıları mutasyonlara ve hücre ölümlerine sebep olmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla basit şekilde reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan rahatlıkla geçebildiğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücresel disfonksiyonuna veya hücre ölümüne yol açar. Bundan

dolayı DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür. RNA ile DNA hasarlarının çok az bir bölümü doğal olarak meydana gelmektedir (49). DNA hasarlarının oluşumundan sorumlu endojen reaksiyonlar oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Nitrik oksid veya nitrojen dioksid ( $\text{NO}_2$ ), peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ), dinitrojen trioksid ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ) ve nitrik asit ( $\text{HNO}_3$ ) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler (51,52). Örneğin  $\text{O}_2^-$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  bazlarla reaksiyona girmezken  $\text{OH}^-$  radikali DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına sebep olmaktadır. Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (53). Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturmaktadır (54). C4-OH- ve C5-OH-pürin radikalleri dehidrasyona uğrayarak okside pürin radikallerini oluştururlar. C8-OH-pürin radikallerinin bir elektronlarının oksidasyonu ve bir elektronlarının redüksiyonu ile sırasıyla 8-hidroksipürinler (7,8-dihidroksi-8-oxo-pürinler) ve formamidopirimidinler meydana gelir. 8-hidroksiguanin (7,8-dihidroksi-8-oxoguanin: 8-OH-Gua) ve 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin (FapyGua) oluşum mekanizmaları görülmektedir. Her ikisi de hem oksijenli hem de oksijensiz ortamlarda meydana gelebilmektedir. İndirgeyici ajanlar formamidopirimidinlerin oluşumunu artırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam uygun görülmektedir. 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak ölçülmektedir. Çoğu zaman 8-hidroksideoksiguanozin (8-OH-dGua) nükleoziti şeklinde ölçülmektedir (55).

Timinin alil radikalının oksidasyonu ile 5-hidroksimetilurasil ve 5-furmilurasil oluşmaktadır. Dehidrasyon ve deaminasyon reaksiyonlarına sadece sitozin katılabilmektedir. Böylece sitozin; glikol dehidrasyonla urasil, glikol deaminasyon ile 5-hidroksi urasil (5-OHUra), dehidrasyon ve deaminasyon ile de 5-hidroksisitozini (5-OH-Cyt) vermektedir.

Hidroksil radikali yapısındaki DNA'daki şeker grubu ile etkileşmesi, beş karbon atomunun herhangi birinden bir H atomunun çıkarılmasıyla olmaktadır (42). Şeker radikalleri çok sayıda farklı reaksiyonla meydana gelmektedir. Oksijensiz sistemlerde C4' merkezli radikaller parçalanmaya uğrarlar ve DNA zincirleri kırılarak sağlam baz ve değişikliğe uğramış şeker serbest hale gelir. C1 merkezli radikallerin

oksidasyonu ile şeker laktonu oluşumu ve sağlam bazın salınımı gerçekleşir. Oksijen yokluğunda, baz radikalleri kendilerine komşu olan şeker grubundan H atomu alarak şeker radikallerini oluştururlar ve sonuçta zincir kırılmalarına sebep olurlar. Oksijenli sistemlerde karbon merkezli şeker radikaline moleküler oksijenin eklenmesi sonucu peroksil radikalleri meydana gelmektedir. Şeker peroksil radikallerinin en karakteristik özelliği karbon-karbon bağı kırarak alkali bölge oluşturmalarıdır. C5' merkezli peroksil radikali oksil radikaline dönüştürülerek parçalanma ile DNA zincirinin kırılmasına, sağlam bazın ve değişmiş şekerin serbest kalmasına yol açmaktadır (56). DNA'daki değişikliğe uğramış şeker grupları DNA zincirinden salınabilir ya da fosfat bağlarıyla DNA'ya bağlı kalabilir. Baz ve şeker radikallerinin reaksiyonları; değişik modifiye baz ve şekerler, kontrolsüz baz dizilimi, zincir kırılmaları ve DNA-protein çapraz bağlarını meydana getirirler. Oksidatif DNA hasarları da denilen bu tip hasarlar mutagezise, kanserogeneze ve yaşlanmaya sebep olmaktadır.

### **2.2.19. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların oluşturduğu hasarı önlemek için vücutta "antioksidan savunma sistemi" adı verilen birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bütün hücreler güçlü savunma sistemlerinin varlığı ile oksidatif strese karşı mücadele etmektedirler. Savunma sistemlerini serbest radikal tutucuları ve bazı enzimler oluşturmaktadır ve savunma sisteminde öncelikle enzim sistemi etkili olmaktadır (57).

#### **2.2.19.1. Enzimatik Antioksidanlar**

##### **Süperoksit Dismutaz**

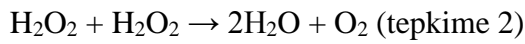
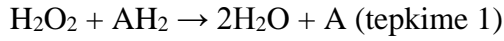
SOD süperoksit anyonunun hidrojen perokside dismutasyonunu katalizler.



SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı başlıca enzimatik savunma mekanizmalarıdır. SOD ile  $O_2^-$ 'nin dismutasyonu ile  $H_2O_2$  çıkarılması hücre için biyolojik avantaj sağlar. Hücreden  $H_2O_2$  çıkarılması için SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile birlikte çalışır (58,59).

### **Katalaz**

Katalaz yapısında hem grubu içerdiğinden bir hemoprotein olarak kabul edilmiştir (60). Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır (61). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşum hızının düşük olduğu durumlarda peroksidatif tepkimeyle (tepkime 1) veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle (tepkime 2) hidrojen peroksiti suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır.



### **Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)**

Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksidlerin indirgenmesinden görevli enzimdir. Tetramerik ve 4 selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Birbirine kenetli enzim sistemi GSH-Px ve GSH-Rd glutasyon harcayarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin redüksiyonunu katalizler (60). Fosfolipid hidroperoksid glutasyon peroksidaz da (PLGSH-Px) molekül ağırlığı 20.000 dalton olan, monomerik selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Membran fosfolipid hidroperoksidlerini, alkollere indirger. Membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E yetersiz olduğu zaman PLGSH-Px membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar. Hidroperoksidlerin redükte olması ile meydana gelen GSSG, glutasyon redüktazın katalizlediği reaksiyon ile tekrar GSH oluşur. GSH-Px'in, fagositik hücrelerde önemli özellikleri vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar.

### **Glutation-S-Transferazlar (GST)**

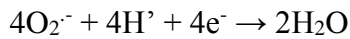
GST'lar antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonları da mevcuttur. Son zamanlara kadar GST'lar katalizledikleri reaksiyona göre sınıflara ayrılmaktadır (aril transferaz, alkil transferaz, epoksit transferaz, aralkil transferaz ve alken transferaz gibi). Daha sonra yapılan çalışmalar bu enzimlerin söz konusu reaksiyonların herhangi birine ait olmadığını, iç içe geçmiş substrat



özgüllüğüne sahip olduğunu ortaya koymuş ve bunlar ‘glutasyon-S-transferaz’lar olarak belirtilmiştir. Günümüzde ise türe bağımsız bir sınıflama yapıldığında GST’lar geleneksel olarak üç sitozolik bir de mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar. Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı GST’lar Se-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir defans mekanizması oluştururlar. Homodimerik veya heterodimerik enzimler olan GST’ların, araştırılan tüm canlı türlerinde bulunması bunların hayati öneminin göstergesidir. Bu enzimler katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; yabancı maddeleri glutasyon (GSH)’daki sisteine ait –SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlarlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar. Bu yol, GST’ların kanserojen, mutajen ve diğer zararlı kimyasalların hücre içi detoksifikasyonunda rolleri olduğunu gösterir. Metabolize edilmeyen lipofilik-hidrofobik pek çok bileşiği bağlamaları ise bu enzimler için depo ve taşıma rolü üstlendiğini gösterir. Birçok pigment (bilirubin, hematin, bromsülfatalein, indosiyanın gren gibi), kolik asitler, steroid hormonlar, polisilik aromatik hidrokarbonlar bu proteinler tarafından bağlanıp taşınabilmektedirler.

### **Mitokondrial Sitokrom Oksidaz**

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, aşağıdaki reaksiyonla süperoksidi detoksifiye eden enzimdir.



Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli devam eden normal bir reaksiyon olup bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi meydana gelir. Ancak, süperoksit üretimi çoğu zaman bu enzimin kapasitesini aşar. Bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin zararlı etkilerini engellerler.

## 2.2.19.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

### Askorbik Asit

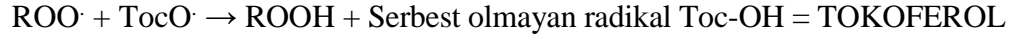
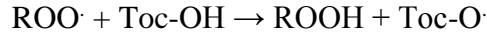
Vitamin C, suda çözünme özelliği gösterir. Fakat lipit peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini yok ederek, lipitleri oksidasyona karşı korur. C vitamini, antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller. E vitaminin yenilenmesinde görev alarak tokoferoksil radikalının  $\alpha$ -tokoferole indirgenmesini sağlar. Böylece E vitamini ile birlikte düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu etkili bir şekilde engellemiş olur. C vitamini, fagositoz için de gereklidir. Bu vitaminin kemotaktik cevabı artırdığı tespit edilmiştir; oksidatif patlama sırasında çevreye yayılan reaktif bakterisidal moleküllerin antibakterisidal etkisini sağlayan intrasellüler konsantrasyonlarında bir azalma yapmadan, oksidatif parçalanma ürünlerinin zarar verici etkilerini önlediği izlenmiştir. C vitamini, antioksidan etkileri yanında organizmada fenton reaksiyonunda ferri demiri ferro demire indirgeyerek hidrojen peroksitle etkileşmeye uygun olan süperoksit radikalının üretimine sebep olur. Bu etkisi sebebiyle askorbik asit eş zamanlı pro-oksidan olarak kabul edilmektedir; fakat bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü daha yüksek konsantrasyonlarda ise güçlü bir antioksidan olarak etki gösterir (61).

### $\beta$ -Karoten (Vitamin A ön maddesi)

A vitamini yağda çözünen bir antioksidan olan  $\beta$ -karoten, serbest radikaller biyolojik hedeflerle interaksyonuna girmeden önce direkt olarak onları yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu önler (60,61).

### Vitamin E ( $\alpha$ -Tokoferol)

$\alpha$ -Tokoferol yağda çözünen ve zincir-kırıcı bir antioksidandır. En önemli görevi oksijen serbest radikallerinin ataklarına karşı membran lipidlerindeki yağ asitlerini korumaktır. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membran fosfolipitlerinin  $\alpha$ -tokoferole karşı çok yüksek affinitesi vardır. Tokoferoller fenolik bir hidrojeni peroksidasyona uğramış bir doymamış yağ asidindeki serbest peroksit radikaline aktarırlar (37). Bunun sonucunda serbest radikal zincir reaksiyonları kırılır.



Oluşan serbest  $\alpha$ -tokoferol radikali bundan sonra yeni bir serbest peroksit radikaliyle reaksiyona girer. Böylece  $\alpha$ -tokoferol kolay reversibl oksidasyona uğramaz. Kroman halkası ve yan zincir şeklindeki serbest olmayan radikal ürününe okside olur. Bu oksidasyon ürünü ikinci konumundaki hidroksil grubu üzerinden glukuronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra yoluyla atılır.

Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. Bundan dolayı en yüksek oksijen kısmi basınçlarına maruz kalan lipid yapılarında örneğin eritrosit ve solunum sistemi membranlarında etkileri belirgindir (44,62).

### **2.2.20. Polifenoller**

Fenoller, aromatik halkaya bağlı OH grubu içeren etkili antioksidanlardır, çünkü bu bileşiklerden oluşan radikaller, rezonans kararlılığına sahiptir, bu nedenle diğer radikallere göre etkin olmayan radikallerdir.

### **Transferin ve Laktoferrin**

Demiri bağlayarak lipid peroksidasyonu ve demir katalizli Haber-Weiss reaksiyonlarına katılımını durdurur veya yavaşlatır.

### **Seruloplazmin**

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmını akut faz proteini olan seruloplazminden kaynaklanır. Seruloplazmin oksijen radikal ara ürünleri salınmaksızın Fe(II)'yi Fe(III)'e oksitler. Seruloplazmin demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu inhibe eder. Daha az önemli olmakla birlikte süperoksit radikali ile reaksiyona da girer.

### **Albümin**

Albümin kuvvetli şekilde bakır ve zayıf olarak da demiri bağlar. Yüksek konsantrasyonlarda (40-60 mg/ml) bulunur. Albümine bağlı bakır, Fenton reaksiyonuna katılabilir fakat albümin yüzeyinde oluşacak olan OH radikali albümin tarafından temizlenir ve radikalın serbest solüsyona kaçmasına izin vermez. Bu

biyolojik olarak önemli olmayan, albümine ait bir reaksiyon örneğidir. Aynı zamanda myeloperoksidaz türevi bir oksidan olan HOCl'i hızlı bir şekilde temizler.

### **Ürik Asit**

Kuvvetli olarak demir ve bakır bağlama yeteneği, antioksidatif rolünün önemli bir parçasıdır. Lipit peroksidasyonunu inhibe etme ve radikalleri temizleme görevine sahiptir.

### **Bilirubin**

Hem katabolizması ile meydana gelen ve albümine bağlı olarak taşınan bir safra pigmentidir. Yağ asitlerini peroksidasyona karşı koruma görevine sahiptir.

## **2.3. Total Antioksidan Kapasite (TAK), Total Oksidatif Seviye (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)**

Normal koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı gelişen oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde, kan çok önemli rol oynamaktadır. Kan, antioksidanların bütün vücuda taşınmasını ve dağıtılmasını sağlar (63).

TAK'ye en büyük katkı plazmada bulunan antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kapan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Albümin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan durumun %85'inden fazlasını oluşturur. Bu fark kanda bilirubin, indirgenmiş glutatyon (GSH), flavinoidler, alfa-tokoferol ve beta-karoten gibi antioksidan durumun komponentlerine nazaran albümin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır. Plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir. Bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek olarak; glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolü yeniden aktifleştirmesini sağlaması verilebilir. Total antioksidan durumun ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada bireysel antioksidanlardan ziyade bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü

yaygınlaşmaktadır (64,65). Oksidatif stres; aktif oksijen ürünlerinin, tampon mekanizması olan antioksidanları ve antioksidan enzimleri aşması demektir. Bu fenomen; aşırı reaktif oksijen ürünlerinin üretimiveya antioksidan mekanizmanın eksikliği sonucu oluşur. Bu reaktif oksijen ürünleri toksiktir ve hücrenin protein, lipid yapıları ve DNA'sına zarar verir. Damar endoteli de kısmen bu durumdan etkilenmektedir (66). Oksidatif stres indeksi değeri TAK ve TOS değerlerinin yüzdesel oranıdır.

## **2.4. Paraoksonaz**

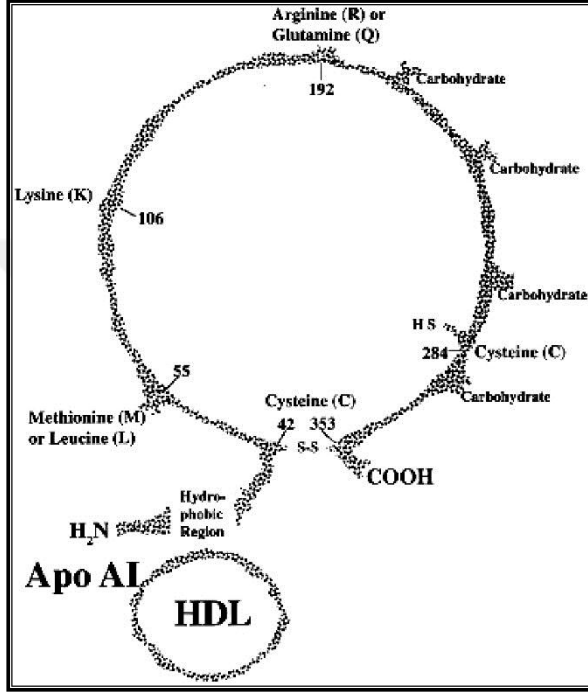
Paraoksonaz (PON1), arilesteraz ve paraoksonaz özelliğine sahip, glikoprotein yapısında olan kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır (67). 1946'da Abraham Mazur hayvan dokusunda organofosfat bileşiklerini hidroliz edebilen bir enzimden bahsetmiştir (68). Bu enzim 1953 yılında Aldridge W.N. tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütiratı hidroliz eden A-testeraz olarak ifade edilmiştir (69,70). 1961'de Uriel tarafından insan serumunda yapılan araştırmalarda ilk defa yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile PON ilişkisi tespit edilmiştir (71). 1988'de, PON'un HDL üzerinde apoA-I ile ilişkili aktivite gösterdiğini tespit edilmiştir (72). PON'un 1991 yılında yapılan çalışmalarda LDL üzerindeki lipidperoksit birikimini azalttığını görülmüştür (73). İmmünoaffinite kromatografi çalışmaları ile insan serum paraoksonazının HDL'nin yapısında bulunan apolipoprotein AI ve klusterin (apolipoprotein J) ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (74).

### **2.4.1. Paraoksonaz Gen Ailesi**

Paraoksonaz için insan genomundaki genin ismi HUMPONA'dır. Paraksonaz geni insanda 7. kromozomun uzun kolunda bulunur. Paraoksonaz gen yapısının PON1, PON2 ve PON3 türevleridir. PON1, PON2 ve PON3 genlerinin memeliler arasında; %60 sekans benzerliği mevcuttur. PON enzimleri substrata özel hidrolaz enzim türevidir. PON1 bu gen yapısının ilk bulunan, üzerinde en çok çalışma yapılan türevidir (75). PON1 enziminde 106. kodonda lizin bulunurken, PON2 ve PON3'te ise lizin bulunmamaktadır. PON1 ve PON3 karaciğer ve plazmada bulunur, PON2'nin karaciğer, böbrek, kalp, beyin, testis dokularında endotel tabakasında bulunduğu tespit edilmiştir. Aortun düz kas hücrelerinde yer aldığı immünohistokimyasal yöntemle belirtilmiştir (68).

#### 2.4.1.1. PON1'in Kimyasal Yapısı, Polimorfizmi ve Substratları

İnsan serumundan izole edilen PON1, minimum 43 000 dalton ağırlığında, 354 amino asitten oluşan bir glikoprotein yapısındadır. Ağırlığının %15,8'ini oluşturan karbohidrat yapıları (67), 4 farklı konumda proteine bağlı olarak bulunur (76) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Paroksonazın yapısı

PON1'in amino asit yapısına bakıldığında, lösinoranın yüksek olmasına rağmen, “kringle” yapısına sahip olacak miktarda sisteine sahip olmadığı görülmüştür (67). Buna ek olarak, 42, 284 ve 353. yerler mevcut olan sistein kalıntılarının, PON1'in yapısal ve fonksiyonel özelliklerine katkı sağladığı söylenebilir. Protein yapısında bulunan tek disülfid bağı yapısı, polipeptid zincirinin siklik yapıda olmasına sebep olmaktadır (76). KC'de üretilen PON1,HDL'nin yapısında mevcuttur (77). PON1'i bağlayan HDL'nin parçaları, Apolipoprotein A1 (Apo A1) ve Apo J (klusterin) proteinlerine sahip olduğundan, Apo A1 ve Apo J'nin bağlanmada rol oynadığı tahmin edilmektedir (78). PON1'in 2 tür genetik polimorfizme sahiptir (79). 192-polimorfizmi: mRNA yapısında 192. yapıda bulunan amino asit (glutamin-Q- veya arginin-R-)'in türüne göre, enzimin Q (Tip A) veya R (Tip B) izozimleri meydana

gelmektedir. 55-polimorfizmi: 55. konumda bulunan amino asit, Lösin (L) ya da metiyonin (M) olabilmektedir. PON1'in substratları arasında, organofosfat ve organofosfimat bileşikleri, somon, sarin gibi sinir gazları, aromatik karboksilik asit esterler, doymamış alifatik esterleri ve laktonlar belirtilebilir (80,81).

**Paraoksonaz Reaksiyonu:** Organofosfat bileşiklerinden paratyonun aktif katabolik metaboliti olan paraokson (o,o-dietil-o-p-nitrofenil fosfat), enzime ismini verdiği gibi, aktivasyonda en çok kullanılan substratlara örnek teşkil ederler (82).

PON1'in hidrolik aktivitesiyle meydana gelen p-nitrofenol ya da fenolün konsantrasyonu üzerinden, PON1 aktivitesi spektrofotometrik olarak tespit edilebilmektedir.

**Arilesteraz Reaksiyonu:** Aromatik karboksilik asitesterlerinden fenil asetat, enziminin arilesteraz aktivitesinin tayininde sıklıkla kullanılmaktadır.

### **PON1'in Fonksiyonları**

**Ksenobiyotik Metabolizması Üzerine Etkisi:** Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunu sebep olan oksidasyon, redüksiyon, hidroliz ve konjugasyon gibi reaksiyonların sıklıkla böbreklerde ve özellikle proksimal tübüllerde meydana geldiği bilinmektedir (83). İmmünohistokimyasal olarak, glomerüler yumak ve proksimal tübüllerin epitel hücrelerinde lokalize olduğu tespit edilen PON1'in, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonuna fonksiyonel katkısının olabileceği düşünülmektedir. Renal epitel hücrelerinde anyon transport sistemleri ve PON1'in benzer intrasellüler özelliğe sahip olması; ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda ve toksik etkilerine karşı organizmanın korunmasında PON1'in önemli rol oynayabileceği fikrini desteklemektedir (80).

**Organofosfatlara Karşı Koruma (Hidrolitik Aktivite):** PON1'in en iyi tespit edilen işlevi, hidroliz yoluyla, organofosfat türevi sinir gazlarını ve insektisitleri etkisiz hale getirmesidir (84). İnsektisit olarak yaygın biçimde kullanılan paratyon ve klorpiroposokson gibi organofosfat bileşikleri ile somon ve sarin gibi sinir gazları, PON1'in önemli substratlarıdır (80,81). Ancak, memelilerde bulunan PON1'in bu substratlara karşı afinitesi düşük olduğundan, tarımsal alanda çalışanlarda organofosfat zehirlenmelerine sık meydana gelmektedir. Buna ek olarak, kronik olarak düşük dozda organofosfat türevlerine maruz kalanlarda, PON1'in daha etkili olduğu

söylenmektedir (84). Organofosfatlara karşı koruma, PON1'in sadece kan veya doku düzeylerine bağlı değildir, PON1'in izoenzimlerine de bağlıdır. PON1'in, organofosfatları ve diğer organik esterleri hidroliz edebilme özelliği, şahıslar arasında belirgin değişiklikler gösterir. R tipi, Q tipine göre paraoksonun hidrolizinde daha etkili olmasına karşın; organofosfatların çoğu, Q izoenzimi ile daha iyi hidroliz edilirler (76). Organofosfatlar, PON1'in haricinde, sinapslarda ve nöromusküler bileşkelerde bulunan psödokolinesteraz ve asetil kolinesteraz gibi B esterazların da substratlarıdır. Bu enzimler, organofosfatlar tarafından dönüşümsüz olarak inhibe edildiklerinden; PON1 dolaşımdaki organofosfatları hidroliz etme şartıyla, sinir sistemini koruyan bir ajan olarak da görev yapmaktadır (85).

#### **Bakteriyal Endotoksinlerden Kaynaklanan Toksikiteye Karşı Koruma:**

Son senelerde, HDL kompleksinin, gram negatif enfeksiyonlar sırasında gelisen endotoksemiye karşı savunmada görev aldığı; bakteriyal lipoprotein polisakkarit ile makrofaj spesifik protein CD14 arasındaki etkileşimin, HDL tarafından henüz tespit edilemeyen bir yolakla önlediği düşünülmektedir. Böylece, KC ve böbrek yetmezliğine, septik şokun çeşitli semptomlarına ve ölüme yol açabilen TNF-IL-1 ve IL-6 gibi sitokinlerin salınımı durdurmaktadır. PON1'in sitokinlerin salınımının önlenmesinde rol oynayabileceği düşünülmektedir.

**LDL ve HDL Oksidasyonunun Önlenmesi:** Oksidatif stres altında lipid peroksidasyonu sadece LDL'de değil; HDL'deki lipidlerde de oluşmaktadır (86). PON1'in hem LDL'yi, hem de HDL'yi oksidasyondan koruduğu tespit edilmiştir (81). PON1'in HDL aracılığıyla antioksidan etkiye katkıda bulunduğu ve HDL'nin inhibitör etkisinde, metal iyon selasyonu ve/veya peroksidaz benzeri aktivite ile ilişkili olabileceği söylenmiştir. HDL-PON1, uzun zincirli okside fosfolipidleri hidroliz edebilme özelliğine sahiptir (87). HDL'nin LDL oksidasyonu üzerine koruyucu etkisinin özellikle PON'dan kaynaklandığı düşünülmektedir. PON1'in, Cu<sup>+2</sup>'nin tetiklediği lipoprotein oksidasyonunu deneysel olarak inhibe ettiği ve nonkompetitif PON1 inhibitörlerinin serbest radikal oluşumunu ve Cu<sup>+2</sup>'nin indüklediği HDL oksidasyonunu artırdığı tespit edilmiştir. Buna ek olarak, PON1'in makrofajlardan kolesterol çıkışını artırdığı bildirilmiştir (88).

**PON1 Alloenzimlerinin (Q ve R) LDL Oksidasyonundaki Yeri:** PON1 Q ve PON1 R alloenzimlerinin, paraoksonaz ve arilesteraz özelliğine sahip olduğu ve



PON1 Q'nun, LDL'yi oksidasyonunu önlemede R alloenzimine göre daha etkili olduğu tepsi edilmiştir (89).

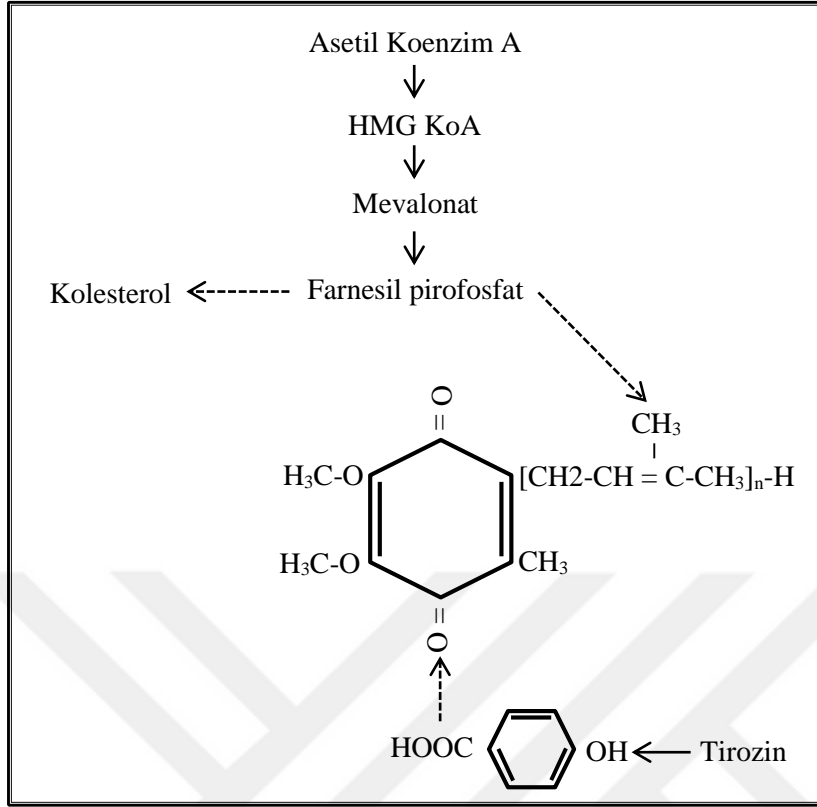
## 2.5. Koenzim Q10'nun Tanımı ve Fonksiyonu

Koenzim Q10 (KoQ10; Ubikinol-10 veya Ubikinon-10) hücredeki enerji üretimi esnasında kilit enzimatik basamaklarda koenzim olarak görev alan, her hücrede bulunabilen, yağda çözünen, vitamin benzeri yapıdır (90). Koenzim Q10 biyolojik dokularda biyokimyasal olarak hem indirgenmiş formda (ubikinol-10) hem de okside formda (ubikinon-10) bulunabilir (91). Ubikinon ve ubikinol Latince "her yerde olan" anlamına gelir. "ubiquitous quinone"dan türemiştir. Bütün hücrelerde bulunması ile özdeşleştirilmiştir (92). Koenzim Q10'un kimyasal açılımı 2,3-dimetoksi-5-metil-6-dekaprenil-1,4-benzokinon olarak belirtilmiştir (91). Farklı uzunlukta bir izoprenoid yan zinciri ile ortak benzokinon halkasını paylaşırlar. İnsanlarda ve bazı memeli türlerinde, yan zincir 10 izopren ünitesinden meydana gelir. Bu sebeple yapıya koenzim Q10 ismi verilmiştir (93). Koenzim Q10 mitokondride bulunur. Ve solunum reaksiyonunu elektron taşıyıcısı olarak görev yapar. Koenzim Q10 elektron transfer reaksiyonunda yükseltgenme-indirgenme tepkimelerinde görevli kompleks I, II ve III olarak adlandırılan enzim sistemlerinin aktivasyonu için gereklidir. Koenzim olarak görev yaparken taşımakla sorumlu olduğu elektron ve protonları ( $2H^{++}2e^{-}$ ) yapısındaki kinon dairesine katarak hidroksikinona farklılaşır. Yapısındaki kinon grubu koenzim Q10'a elektron taşıyıcısı özelliğini kazandırır (94,95). Redoks özelliği (indirgenme-yükseltgenme) ile elektronların kompleks I (nikotinamid adenin dinükleotid dehidrogenaz) ve kompleks II'den (süksinat dehidrogenaz) kompleks III'e (ubikinon - sitokrom c redüktaz) taşınmasına imkan sağlar. Bu esnada çok değerli biyolojik enerji olan adenzin trifosfat (ATP) oluşur. Böylelikle, koenzim Q10 hücresel enerjinin üretilmesinde önemli bir görev alır (96). Koenzim Q10 oksijen kaynaklı radikaller ve singlet oksijen ile etkileşerek lipid peroksidasyonunun başlamasını ve biyomoleküllerin zarar görmesini engeller (97). Serbest radikallerle ara ürün olarak görev alır. Elektron redüksiyon reaksiyonuna uğrar. Stabil yapıda olmayan serbest radikaller ubikinondan gelen bir elektronla stabil hale gelir. Koenzim Q'nun bu yapısı sayesinde dolayı önemli bir antioksidandır (94). Ubikinol-10, tokoferol gibi plazmada bulunan bazı antioksidanlarla mukayese

edildiğinde düşük konsantrasyonlarda olmasına rağmen, plazma oksidanlara maruz kaldığında ilk reaksiyona giren antioksidandır. Koenzim Q10 aynı zamanda diğer antioksidanların yenilenmesinde rol alır (98). Ayrıca koenzim Q10'un membran devamlılığının sağlanmasında, hücre sinyalinde, gen ekspresyonunda, hücre büyümesinin ve ölümünde de görev almaktadır (93,95,96). Koenzim Q10 iki kayanaktan meydana gelir. Bunlar endojen ve eksojen olmak üzere iki gruba ayrılır (99). Koenzim Q10, insanlarda Asetil-KoA ve eksojen kaynaklı tirozin amino asitinin eklenmesiyle kolesterol biyosentezinin de oluştuğu ortak bir mekanizma ile sentezlenir (92). Tirozinin aromatik halkanın ön maddesi olarak koenzim Q10 sentezine eklenmesi için B6 (pidoksal - 5 fosfat) vitaminine ihtiyaç duyulur (95). Koenzim Q10'nun sentezi endoplazmik retikulumda başlar, golgide sonlanır. Ve takiben hücredeki diğer yerlere dağılır. Koenzim Q10 en fazla iç mitokondriyal membranda tespit edilmiştir (100). Endojen üretilen koenzim Q10, insan dokularında en fazla miktarda bulunduğu dokular kalp (110 µg/g doku), karaciğer (60 µg/g doku) ve böbrektir (70 µg/g doku). En düşük konsantrasyon 8 µg/g, akciğerde bulunur. Beyin ve akciğer dokuları dışında insan dokularının büyük bölümünde indirgenmiş formda koenzim Q10 bulunur (101).

Eksojen koenzim Q10 ise diyetten sağlanır. Koenzim Q10, ilk defa 1957 yılında sığır kalp mitokondrisinde tespit edilmiştir. Koenzim Q10, dana eti, tavuk eti, alabalık, brokoli, soya fasulyesi gibi tüm hayvansal ve bitkisel gıdalarda farklı miktarlarda tespit edilmiştir (102,103).

Kagan ve Quinn (2001), koenzim Q10 içeren gıdaların oran açısından fazla (20 µg/g dan daha fazla) ve oran açısından daha az (20 µg/gdan daha az) kaynaklar olarak sınıflanabileceğini belirtmişlerdir. Koenzim Q10'ca zengin gıdalar kas dokusundaki mitokondrinin yüksek miktarda içermesine bağlı olarak başlıca kırmızı et (8 - 200 µg/g) ve balık (4-64µg/g) olarak ifade etmiştir (104). Weber ve ark. (1997)'nin yaptıkları çalışmalarında, tüketim verileri ve gıdaların içerdiği koenzim Q10 oranlarından faydalanılarak Danimarka diyetinde ortalama günlük koenzim Q10 temininin çoğunluğunun kırmızı etten (%64) olduğu belirtilmiştir (105). Farklı bir çalışmada, 30 mg koenzim Q10'un sadece birkaç gıda ile temin edilebileceği, örnek olarak domuz kalbinin yüksek konsantrasyonda koenzim Q10 (260-280 µg/g) içerdiği belirtilmiştir (106).



**Şekil 2.2.** Koenzim Q10 sentezi

## 2.6. Selenyumun Özellikleri

Selenyum periyodik tablonun 6A grubunda bulunmaktadır. Eser elementler arasında en az olanlarındandır. Doğal olarak meydana gelmiş altı izotopu vardır. Selenyum elementinin ana kaynağı dünya çekirdeğini örten ergimiş volkanik kayalık kütlelerdir (107). Selenyum toprak ve gıdalarda az miktarlarda bulunmaktadır. Bölgesel dağılımı ve biyoyararlanımı değişkenlik gösteren bir elementtir. Başlıca görevi glutatyon tarafından hidrojen peroksitin azaltılmasını katalizleyen glutatyon peroksidazın kofaktörü olarak bulunmasıdır (108).

Selenyum antioksidan özelliğinden başka bağışıklık sistemi düzenleyicisi etksi vardır. Selenyum glutatyon peroksidazın katalitik aktivitesi için önemli olan aktive olmuş alanı sunar. Glutatyon peroksidazın esas yapıtaşı olduğu için aerobik mikroorganizmaları hücre hasarını tetikleyen oksijen radikallerinden korumada önemli görevi mevcuttur (109). Glutatyon peroksidaz gibi aktivite göstermesine bağlı olarak hidroperoksidazın ve lipoperoksidazın aktivitesi azaltır. Serbest radikal oluşumunu ve peroksit formasyonunu durdurur (110). Selenyum, vücuttan serbest oksijen

radikallerinin atılması ve oksidatif stresin durdurulması için gereklidir. Selenyumun kalp, akciğer, bağırsak ve böbrek gibi değişik organlarda IR hasarını önlemede önemli etkileri belirtilmiştir (108). İnsan için en önemli selenyum kaynakları bitkisel ve hayvansal besinler olarak ikiye ayrılabilir. Çayır bitkileri, turpgiller, fiberler, et, deniz ürünleri ve balık selenyum açısından zengindir. Bazı meyve ve sebzeler, süt ve süt ürünleri, yağlar, içecekler ve pek çok bebek maması selenyum miktarı açısından fakirdirler. Selenyum az oranda içme suyunda mevcuttur (107).

Selenyum, duodenum ve proksimal jejunumdan önemli miktarda emilir. Karaciğer ve eritrositler tarafından hızla şekilde hücre içine alındıktan sonra metabolize olarak plazmaya geri döner. Eritrositler tarafından indirgenerek plazma proteinlerine bağlanabilecek hale gelir. Alınan selenyumun %55-60 kadar miktarı idrarla atılır. Toksik seviyelerde ter ve solunumla atılımı önem arz eder (107).

Selenyum fazla alındığında bulgu saç ve tırnakların dökülmesidir. Deri ve sinir sistemi lezyonları, diş bozuklukları meydana gelir. Düşüklere oluşabilir. Akut intoksikasyonunda ilk belirtiler; bulantı, kusma ve diyaredir. Geçici EKG değişiklikleri, karaciğer fonksiyon bozuklukları ve sarımsak kokulu solunum da tespit edilmiştir. Selenyum eksikliğinin de Keshan hastalığı, Duchenne tipi muskuler distrofi gibi bir takım hastalıklara yol açtığı tespit edilmiştir (107).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda ağırlıkları 150 gr ile 250 gr arasında değişen (ortalama 200 gr) 3-4 aylık 24 adet, her iki cinsten Wistar türü sıçan kullanıldı. Tüm işlemler, 1986 Uluslararası Strazburg Hayvan Hakları Evrensel Beyannamesi şartlarına uygun olarak, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (TIBDAM), Etik Kurulu onayı ile veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirildi. Denekler; TIBDAM kontrollü ortamdaki standart sıçan kafesleri içinde her kafeste altı sıçan olacak şekilde barındırıldı. Sıçanlar, kemirgenlere özel palet yem ve su ile beslendiler. Hayvan atıklarının uzaklaştırılması, su ve yemlerinin sağlanması, kafeslerin temizlenmesi ve kontrolü merkezin veteriner hekimi ve deneyimli personelleri tarafından yapıldı.

Sıçanlara postoperatif analjeziyi sağlamak amacıyla Meperidin HCl 5-10 mg/kg i.p. uygulandı ve anestezi ajanının etkisi geçtikten sonra yem ve su verildi. Postoperatif yedi gün povidon-iyot ile pansuman uygulandı ve yedinci günde sütürleri alındı. Sıçanlar median abdominal 5 cm'lik insizyonla katlar açıldı, ligature edilen üreter bulundu ve böbrek pelvisi dahil eksize edildi. Spesmenlerin bir kısmı formol içeren flakonlara alındı ve histopatolojik inceleme yapılmak üzere +4°C'de saklandı. Bir kısmı da formolsüz flokonlara alınarak immünohistokimyasal inceleme ve antioksidan inceleme için hazırlandı.

#### 3.1. Deney Grupları

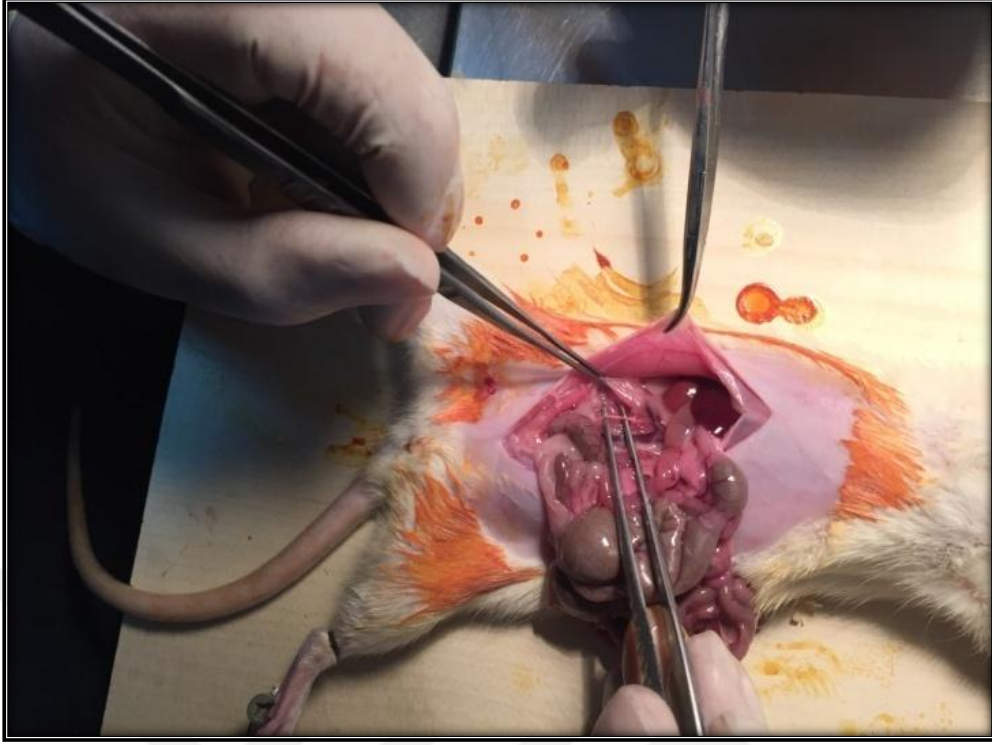
Çalışmamızda denekler 4 gruba ayrılmıştır. Gruplar aşağıdaki tabloda sıralanmıştır.

**Tablo 3.1.** Çalışma grupları

<b>Deney ve Kontrol Grupları</b>	<b>Grup Başına Düşen Hayvan Adedi</b>
Grup 1 (Sham Grubu)	6
Grup 2 (Kontrol Grubu)	6
Grup 3 (Koenzim Q Verilen Grup)	6
Grup 4 (Selenyum Verilen Grup)	6
Kullanılan Toplam Hayvan Sayısı	24

**Grup 1 (Sham Grubu):** Grupta altı denek yer alacaktır. Deneklere cerrahi girişim öncesi deneklere 5-10 mg/kg dozunda xylazin (Rompun, Bayer-İstanbul) ve 50-70 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer-İstanbul) kas içine uygulanarak genel anestezi sağlandı. Abdomen duvarı orta hatta %10'luk povidon iyot çözeltisi ile temizlik yapılacak. Deneklere abdomen orta hattın, iki cm uzunluğunda cilt ve cilt altı kesisi uygulanacak. Abdominal boşlukta sağ böbrek üreteri bulunduğundan sonra tabakalar tekrar usulüne uygun şekilde kapatılacak ve insizyon ılık ve ıslak gaz kompres ile kapatılacaktır. Bahsedilen cerrahi işlemler sonrasında sağ nefrektomi uygulanacaktır.

**Grup 2 (Kontrol Grubu):** Altı denekten oluşan abdomen duvarı orta hatta %10'luk povidon iyot çözeltisi ile temizlik yapılacak. Deneklere abdomen orta hattın, iki cm uzunluğunda cilt ve cilt altı kesisi uygulanacak. Abdominal boşlukta sağ böbrek üreteri bulunduğundan sonra üreter 2.0 ipek ile psoas kasının içine parsiyel obstrüksiyon yapılacak şekilde bağlanacak. Ardından tabakalar anatomik şekilde kapatılacak ve bu ratlara herhangi bir etken madde verilmeyecektir. 15 gün bitiminde ratların aynı yöntemle abdomen insizyonlarından girilecek ve ratlara sağ nefrektomi uygulanacaktır.

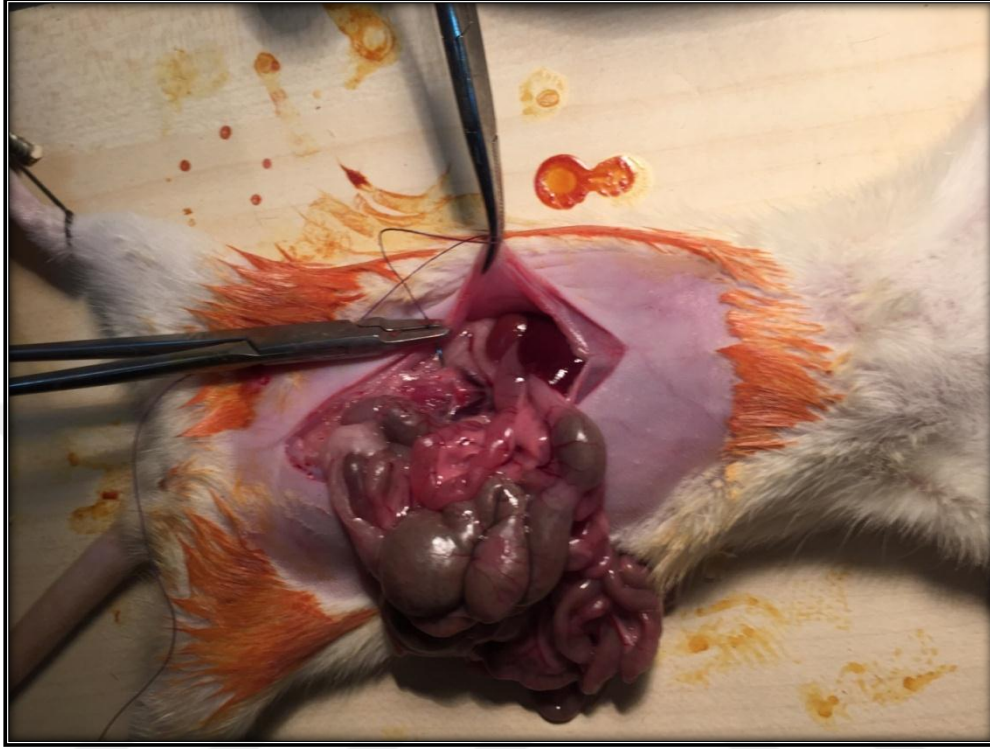


**Şekil 3.1.** Orta hat insizyonu ve üreter serbestlenmesi

**Grup 3 (Koenzim Q Verilen Grup):** Altı denekten oluşan abdomen duvarı orta hatta%10'luk povidon iyot çözeltisi ile temizlik yapılacak. Deneklere abdomen orta hattın, iki cm uzunluğunda cilt ve cilt altı kesisi uygulanacak. Abdominal boşlukta sağ böbrek üreteri bulunduktan sonra üreter 2.0 ipek ile psoas kasının içine parsiyel obstrüksiyon yapılacak şekilde bağlanacak. Ardından tabakalar anatomik şekilde kapatılacak ve bu ratlara 15 gün boyunca Koenzim Q10/mg/kg/gün p.o. (median lethal dose: 5.2-8.2 g/kg of coenzim) (MicroTherapeutics Inc., Irvine, California, United States) uygulanacak. 15 gün bitiminde ratların aynı yöntemle abdomen insizyonlarından girilecek ve ratlara sağ nefrektomi uygulanacaktır.

**Grup 4 (Selenyum Verilen Grup):** Altı denekten oluşan abdomen duvarı orta hatta %10'luk povidon iyot çözeltisi ile temizlik yapılacak. Deneklere abdomen orta hattın, iki cm uzunluğunda cilt ve cilt altı kesisi uygulanacak. Abdominal boşlukta sağ böbrek üreteri bulunduktan sonra üreter 2.0 ipek ile psoas kasının içine parsiyel obstrüksiyon yapılacak şekilde bağlanacak. Ardından tabakalar anatomik şekilde kapatılacak ve bu ratlara 15 gün boyunca selenyum i.p. selenyum 0,25 mg/kg/gün

uygulanacak. 15 gün bitiminde ratların aynı yöntemle abdomen insizyonlarından girilecek ve ratlara sağ nefrektomi uygulanacaktır.



**Şekil 3.2.** Üreterin psoas kası içine sutüre edilerek parsiyel obstrüksiyon oluşturulması

### **3.2. Histopatolojik, İmmünohistokimyasal ve Biyokimyasal İncelemeler**

Tüm gruplara ait ratların böbrekleri alındı. Takiben ölümleri sağlandı. Alınan dokular %10 formalin solüsyon içerisinde tespit edildi. Ardında rutin uygulanan parafin takip işlemi yapıldı. Bu dokular histopatolojik, apoptotik hücrelerin tespiti için immünohistokimyasal testleri için kullanıldı.

Histopatolojik incelemeler için rutin protokol uygulandı, hematoksilin-eozin ile boyandı. İmmünohistokimyasal inceleme için cyto death kiti protokole uygun kullanıldı. Bu yöntemle apoptotik hücrelerin boyanması sağlandı.

#### **3.2.1. Parafin Doku Takibi**

Tespit edilen doku örnekleri fiksatiflerin uzaklaştırılması amacıyla akar su altında yıkandı. Takiben dehidratasyon için 30'ar dakika %60'dan %80'e kadar artan etil alkol uygulamalarından geçirildi. Dokular %95 alkol içeren solüsyon içerisinde 1'er saat aralıklarla iki değişim yapılarak tutuldu. Dokular 30 dakika boyunca 1:1



oranında ksilen alkol karışımına ve şeffaflaştırma maksadıyla 1'er saat iki kez ksilene tutuldu. 1:1 ksilen:parafin içerisinde 30 dakika boyunca 60°C'lik etüvde tutulan dokular 1 saat süresince 2 değişim yapılarak parafin ile immersiyonu sağlandı. Takiben dokular blok kaplara konuldu. Ardından parafin içine yerleştirildi. Alınan 5 mikron boyutunda kesitler histopatolojik, immünohistokimyasal testler için boyandı. Bir kısım dokularda antioksidan, oksidan ve paroksanaz enzim düzeyi için kaplar içine alınarak -80°C'de muhafaza edildi.

### **3.2.2. Hematoksilen-Eozin Boyanması**

Rotary mikrotom (RM 2135, Leica) aracılığı ile alınan 5 µm'lik parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece boyunca 60°C'lik etüvde bırakıldı. 30'ar dakika süresince iki değişim olmak şartıyla ksilene tabi tutuldu. Takiben rehidratasyon işlemi için %95'den %60'a kadar azalan miktarlarda alkol serilerinden geçirilen doku kesitleri 5 dakika akar su altında yıkandı. Hematoksilen (01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile 30 dk. boyanmasını takiben, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 5 dk. akar suda altında yıkandı. Ardından kesitler 2 dk. süresince eozin (01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) boyası ile boyandı. Aynı şekilde 5 dk. akar su altında yıkama yapıldıktan sonra sırasıyla %80 ve %95'lik alkol serilerinden geçirildi. Ve havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilende tutuldu. Ardından entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

### **3.2.3. İmmünohistokimyasal Boyama**

İmmünohistokimya için primer antikor olarak M30 CytoDEATH (12140322001, Roche Diahnostics Gmbh) antikorunu kullanıldı. Ön çalışmalarda optimal dilüsyon oranı olarak 1/10 olarak saptandı ve bu dilüsyonda primer antikorlar uygulandı. İmmünohistokimyasal inceleme için sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı. Çalışma bloklarından 5 µm kalınlığında kesitler adeziv lama alındı ve preparatlar 1 gece boyunca 60 °C'de etüvde bekletildi. Daha sonra etüvden alınan preparatlar Bench Mark GX boyama cihazına yerleştirildi. Boyama işlemi sırasında her bir preparat üzerine 1/10 dülüsyon oranı da hazırlanan primer antikordan 150 µL antikor damlatıldı. Boyama işlemi sonunda preparatlar alkolle yıkandı ve 60 °C'lik etüvde

kuruma işlemine bırakıldı. Etüvden alınan preparatlar 5 dk. ksilende bekletildi ve entelan damlatılarak lamelle kapatıldı.

### 3.3. Biyokimyasal Değerlendirmeler

#### 3.3.1. Total Antioksidan Kapasite

Total antioksidan durum ölçümünde, TAK kiti kullanıldı. Yöntemin prensipi, örnekteki antioksidanların, koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini, renksiz ABTS formuna indirgemesine dayanır. 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, serum 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. Serumlardaki TAS düzeyleri (mmol Trolox Eq/L) kitte belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı.  $TAK = \frac{[(\Delta Abs \text{ standart 1}) - (\Delta Abs \text{ numune})]}{[(\Delta Abs \text{ standart 1}) - (\Delta Abs \text{ standart 2})]}$  Total antioksidan status (TAK) ölçümü total antioksidan aktivite metodu kullanılarak yapıldı. Ölçümün sonuçları  $\mu$ mol Trolox quivalent/L olarak birimlendirilmiştir (65).

#### 3.3.2. Total Oksidan Seviye

Total oksidan durum ölçümünde, TOS kiti 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. 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, serum yerine 20 mikromolar hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ekivalan/litre (mmol  $H_2O_2$ Eq/L) içeren dilüe standart çözeltisi kullanılarak çalışıldı.

İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbanans değişimi ( $\Delta\text{Abs}$ ) hesaplandı. Serumlardaki TOS düzeyleri (mmol  $\text{H}_2\text{O}_2\text{Eq/L}$ ) kitle belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı.  $\text{TOS} = [(\Delta\text{Abs serum}) / (\Delta\text{Abs standart})] \times 20$ . ölçümün sonuçları mmol  $\text{H}_2\text{O}_2$  Equiv./L olarak birimlendirilmiştir (111).

### 3.3.3. Oksidatif Stres İndeksi

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) değeri TAK ve TOS değerlerinin yüzde oranı olarak kabul edildi. Öncelikle TAK değerleri mmol/L'ye çevrildi. OSİ değeri Formula yöntemine göre hesaplandı.  $\text{OSİ (Arbitrary Unit)} = \text{TOS (mmol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L)} / \text{TAK (mmol Trolox Equiv./L)}$  (111).

### 3.3.4. Paroksonaz

Paraoksonaz-1 aktivitesi ticari olarak (Relassay<sup>®</sup>, Gaziantep, Turkey) deney kitleri kullanılarak tespit edilmiştir. Paraoksonaz-1 deneyi sodyum klorür (NaCl) varlığında veya yokluğunda gerçekleştirilebilir ve  $\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  enzim etkinliğinin hesaplanması için 18290 molar absorptivitesi katsayısı kullanılmıştır (112).

## 4. BULGULAR

### 4.1. Biyokimyasal Bulgular ve Sonuçlar

Doku TAK düzeyleri ipsilateral değerlendirildiğinde Grup 1'e göre Grup 3 ve 4'de istatistiksel olarak anlamlı bir ( $p<0,001$ ) bir artış olduğu. Grup 2'ye göre Grup 3'te istatistiksel olarak anlamlı olduğu yine Grup 2'ye göre Grup 4'de istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,001$ ) bir artış olduğu (Tablo 4.1). Grup 3 ve Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,001$ ) bir artış olduğu (Tablo 4.1). Doku TOS değerleri incelendiğinde Grup 1'e göre Grup 4'de istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,001$ ) bir azalma olduğu, Grup 2'ye göre Grup 3 ve 4'de istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,001$ ) bir azalma olduğu, Grup 3 ve Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,001$ ) bir fark olduğu, doku OSİ parametresi incelendiğinde Grup 1'e göre Grup 3 ve 4'de OSİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi (Tablo 4.1). Grup 2'ye göre Grup 3 ve 4'de OSİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu, Grup 3 ve Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı ( $p=0,025$ ) bir azalma olduğu gözlemlendi (Tablo 4.1). Serum PON değerleride Grup 1 ve 2'ye göre Grup 3 ve 4'de istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,001$ ) bir artış gösterdi. Grup 3 ve 4 arasında da Grup 4 lehine PON değerlerinde istatistiksel anlamlı bir artış gözlemlendi.

**Tablo 4.1.** Biyokimyasal sonuçlar

	<b>Grup 1 (n=6) (Sham)</b>	<b>Grup2 (n=6) (PO)</b>	<b>Grup 3 (n=6) (PO+CQ)</b>	<b>Grup 4 (n=6) (PO+SE)</b>	<b>P (ANOVA)</b>
TAK (nmol Trolox Equiv. per mg protein)	0,71±0,24	1,01±0,05	1,17±0,04	1,31±0,10	<0,001
TOS (nmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Equiv. per mg protein)	22,71±1,75	29,02±2,90	17,04±1,21	14,53±5,10	<0,001
OSİ (arbitrary unit)	26,80±3,88	28,71±2,54	14,84±1,52	11,22±4,20	0,003
PON (mUI/ml)	45,6±2,4	36,2±3,5	51,6±1,3	62,3±2,4	<0,001

OSİ, oksidatif stres indeksi; TAK, total antioksidan kapasitesi; TOS, total oksidatif seviye.

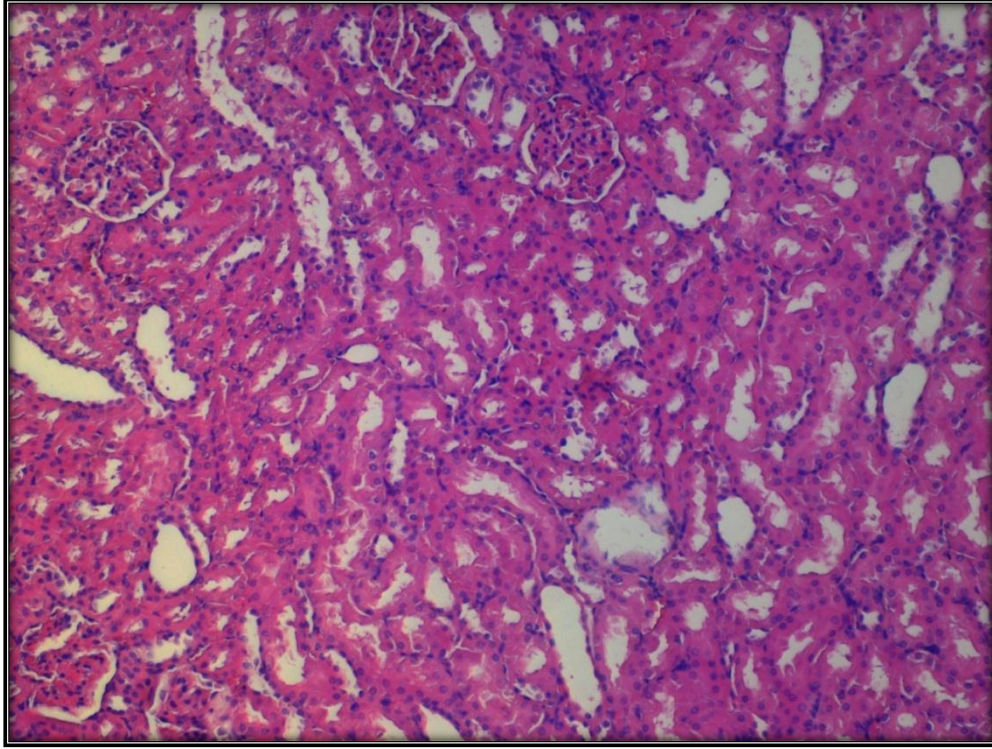
### 4.2. Histopatolojik Bulgular ve Sonuçlar

Gruplar histopatolojik olarak değerlendirildiğinde glomerüler atrofi ve tübüllerde dejenerasyon ile interstisyel inflamasyon ve konjesyonun kontrol grubuna

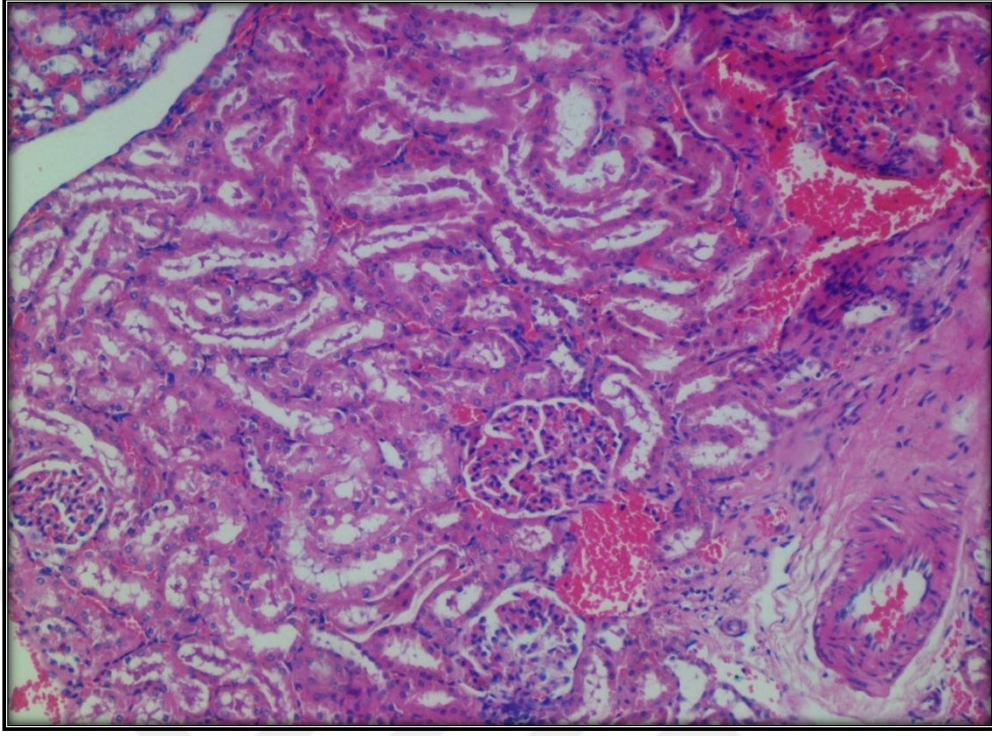
göre Koenzim Q ve daha da fazla olmak üzere Selenyum grubunda azaldığı tesbit edilmiştir (Tablo 4.2). Apoptozis değerlendirildiğinde histopatolojik bulgularla paralel olarak Selenyum grubunda daha fazla olmak üzere Apoptotik hücre sayısında azalma olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 4.2.** Histopatolojik sonuçlar (histopatolojik değerlendirme skorlaması)

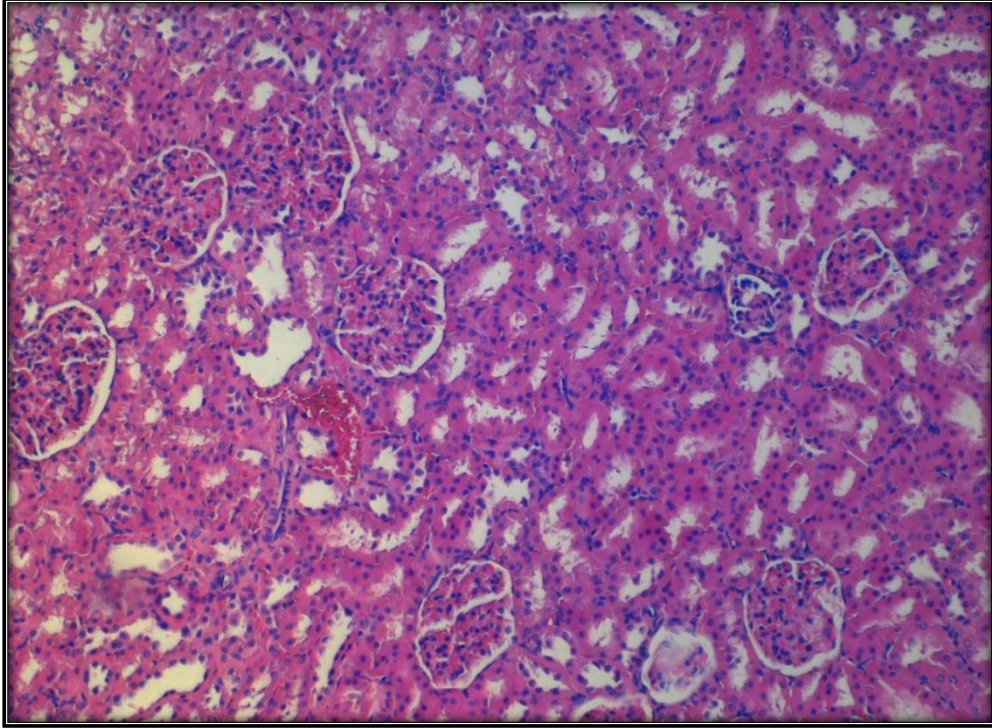
	Sham	Kontrol	PUÜO+Koenzim Q	PUÜO+Selenyum
İnterstiyel inflamasyon	-	+++	++	+
Tübüler ve glomerüler dejenerasyon	-	++	+	+
Tübüler dilatasyon	-	++	+	+



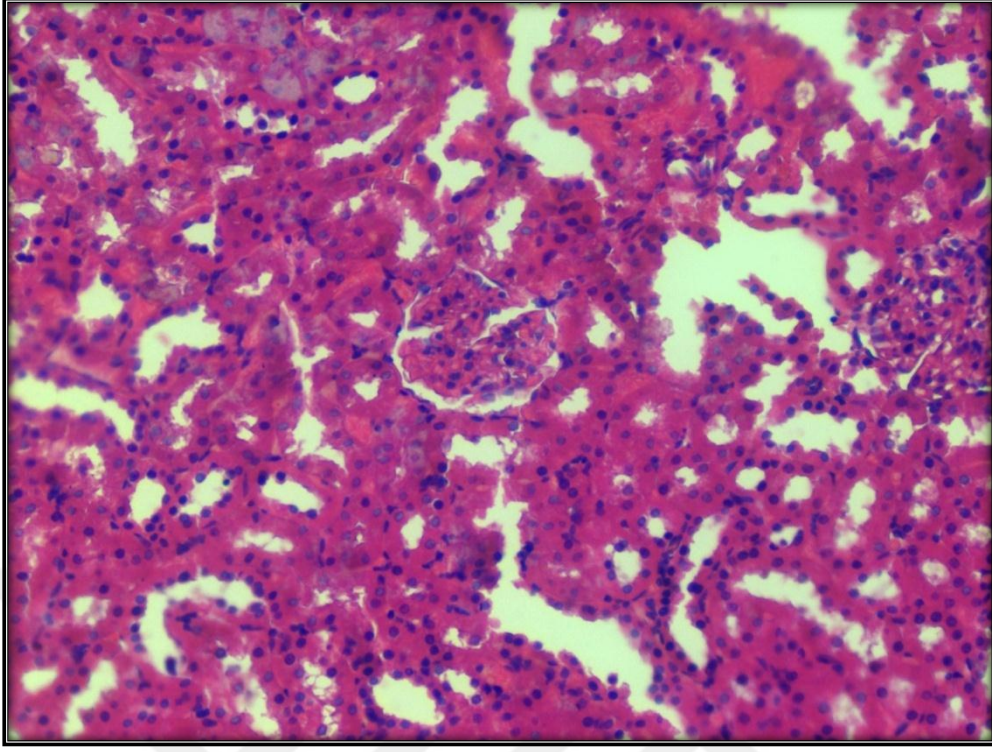
**Şekil 4.1.** Normal böbrek dokusu (X10 büyütme ışık mikroskop ile inceleme)



**Şekil 4.2.** Kontrol grubu böbrek dokusu örneği (X10 büyütme ışık mikroskop ile inceleme)



**Şekil 4.3.** Koenzim Q verilen grup böbrek doku örneği (X10 büyütme ışık mikroskop ile inceleme)



**Şekil 4.4.** Selenyum verilen grup böbrek dokusu örneği (X20 büyütme ışık mikroskop ile inceleme)

### **4.3. Apoptozis Değerlendirmesi**

M-30 ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada gruplar arasındaki boyanma farklılıkları semikantitatif olarak değerlendirilmiş; buna göre skorlama

0: immünreaksiyon izlenmedi

1: hafif derecede boyanma

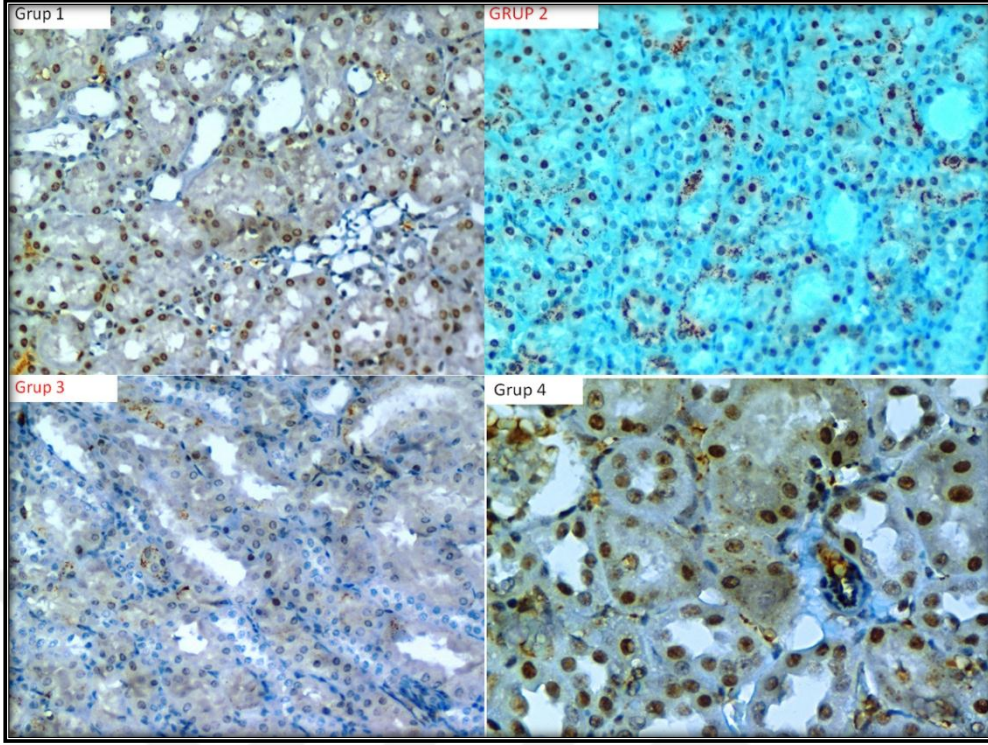
2: orta derecede boyanma

3: belirgin immünreaksiyon olarak derecelendirilmiştir.

**Tablo 4.3.** İmmünohistokimyasal sonuçlar

	0	1	2	3
S1	+			
S2	+			
S3	+			
S4	+			
S5	+			
S6	+			
K1				+
K2				+
K3				+
K4			+	
K5			+	
K6				+
Q enzim			+	
Q2		+		
Q3				+
Q4		+		
Q5	+			
Q6	+			
SE1	+			
SE2		+		
SE3		+		
SE4		+		
SE5	+			
SE6	+			





**Şekil 4.5.** İmmünohistokimyasal boyama yöntemiyle doku örnekleri (Grup 1 X200, Grup 2 X200, Grup 3 X200, Grup 4 X400 büyütme ile inceleme)

## 5. TARTIŞMA

Üriner sistem taşları, üreteropelvik bileşke darlıkları, tümörler, üreterovezikal bileşke darlıkları ve iyatrojenik nedenler gibi faktörlere bağlı olarak üreterde parsiyel obstrüksiyon meydana gelebilir. Parsiyel obstrüksiyona bağlı olarak böbrekte hidronefroz, böbrek kan akımında değişkenlik ve böbrek fonksiyon kaybı gelişebilir. Obstrüksiyonun akut döneminde ise, obstrüksiyonun proksimalindeki basınç artışını düşürmek için pelvik dilatasyon, böbrek kan akımı değişkenlikleri ve glomerüler filtrasyon azalması gibi mekanizmalar devreye girer (113,114).

Bu çalışmada tek taraflı parsiyel üreter obstrüksiyonunda koenzim Q ve selenyumun antioksidan etkilerinin obstrüksiyona bağlı oluşan glomerüler sklerozu, intertisyel fibrozisi, inflamasyonu, vasküler konjesyonu, apoptozisi azalttığı görülmüştür.

Literatürde koenzim Q ve selenyumun antioksidan etkilerinden bahsedilen çalışmalar mevcuttur. Üç haftalık heminefrektomi yapılan erkek Sprague-Dawley cinsi ratlarda ubiqinolonun antioksidan etkisi sayesinde renal fonksiyonu düzelttiği tespit edilmiştir (115).

Başka bir çalışmada asetaminofen p.o. verilerek karaciğer hasarı oluşturulan ratlara 2 doz şeklinde asetaminofen verilmesini takiben 1. ve 12. saatlerde i.p. olarak koenzim Q verilmiş. Histopatolojik ve immünohistokimyasal çalışmalarda koenzim Q'nun anlamlı olarak dokulardaki yıkımı azatlığı görülmüştür (116). İskemi-reperfüzyon yapılan ratlardan izole edilen kalp dokularında koenzim Q'nun mitokondriyal fonksiyon üzerinden kardiyoprotektif etkisi olduğu görülmüştür (117).

Çalışmamızda koenzim Q'nun PUÜO yapılan ratlarda kontrol grubuna göre biokimyasal açıdan böbreği anlamlı derecede koruduğu tespit edilmiş aynı histopatolojik ve immünohistokimyasal parametrelerle doğrulanmıştır.

Selenyumun antioksidatif özelliğini gösteren çalışmalardan, Zendel'in yaptığı siyatik sinir iskemi-reperfüzyonu çalışmasında selenyum verilen gruplarda nitrik oksit seviyesinde azalma, glutatyon peroksidaz ve paroksonaz düzeyinde artma gözlenmiş. Bu gruplarda iskemi-reperfüzyona bağlı siyatik sinir hasarlanmasının az olduğu görülmüştür (118). Diğer bir çalışmada da non-steroid anti-inflamatuar türevi olan indometasin (25 mg/kg/gün) kullanan hastalarda indometasine bağlı gastrik ülser

alanları gözlenmiştir. Bu hastalara oral olarak 10, 50 ve 100 µg/kg 3 gün boyunca selenyum verilmiştir. Selenyum sonrası gastrik ülser alanlarının azaldığı görülmüştür. Selenyumun lipid peroksidaze aktivitesini azaltarak mukozal hasarı engellediği görülmüştür (119).

Ancak Akman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada intestinal yapılar histopatolojik evrelendirme ve oksidatif hasar belirteçleri bakımından değerlendirilmiştir. Selenyum invajinasyonda oluşan oksidatif hasarı antioksidan enzim aktivitesini artırarak önlese de, benzer etkiler histopatolojik bulgularda izlenmemiştir (108). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada intravenöz selenyum verildikten 24 saat sonra superior mezenterik arter klemplenip 30 dakika sonra klemp alınıp reperfüzyonu sağlanan intestinal segmentin mukozal kısmı incelenmiş. Selenyum verilmeyen gruba nazaran mukoza hasarının daha az olduğu görülmüştür (120). Başka bir çalışmada kemoterapik ajan olan doksorubisinin ratlara verilerek selenyumun karaciğer ve kalp üzerinde doksorubisine bağlı oluşan hasarı anlamlı derecede olmasa da hafif derecede azalttığı görülmüştür (121). Çalışmamızda selenyumun PUÜO yapılan ratlarda kontrol grubuna göre biokimyasal açıdan böbreği anlamlı derecede koruduğu tespit edilmiş aynı histopatolojik ve immünohistokimyasal parametrelerle doğrulanmıştır. Çalışmamızda koenzim Q ve selenyumun total oksidatif düzeyde, oksidatif stres indeksinde azaltma meydana getirmişlerdir. Ancak biokimyasal parametrelerdeki kontrol grubuna göre olan düzelmeye selenyum kullanılan grupta koenzim Q kullanılan gruba göre istatistiksel olarak daha anlamlı bulunmuştur. Histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemelerde koenzim Q ve selenyumun intertisyel inflamasyonu, konjesyonu ve apoptozisi azalttığı tespit edilmiştir. Ancak selenyum kullanılan grubun koenzim Q kullanılan gruba göre istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu görülmüştür.

## 6. SONUÇLAR

Çalışmamızda tek taraflı parsiyel üreter obstrüksiyonunda koenzim Q10 ve selenyumun böbrek üzerine etkilerini araştırdık. Koenzim Q ve daha fazla olmak üzere selenyumun antioksidan, histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmelerde böbrek üzerine olumlu ve anlamlı etkileri olduğu görülmüştür. Bu bulgular ışığında pratik kullanımda parsiyel üreter obstrüksiyonlu hastalarda koenzim Q ve selenyumun antioksidan özelliklerinden faydalanılabileceği kanısına varılmıştır.



## KAYNAKLAR

1. Walsh CP, Retik BA, Vaughan DE, Wein AC. Campbell's Urology. 8th Ed, USA: Elsevier Science, 2002;2:1735-1765.
2. Sampaio FJB. Renal anatomy: endourologic considerations. Urol Clin North Am 2000;27:585-607.  
Williams PL, Bannister LH, Berry MM, et al. Gray's anatomy. 38th ed. New York, Churchill Livingstone, 1995.
3. Tobin CE. The renal fascia and its relation to the transversalis fascia. Anat Rec 1944; 89:295-311.  
Williams PL, Bannister LH, Berry MM, et al. Gray's anatomy. 38th ed. New York, Churchill Livingstone, 1995.
4. Guyton CA. Tıbbi Fizyoloji. 7. baskı, İstanbul: Merk Yayıncılık, 1987; 2: 649-664.
5. Campbell-Walsh Urology. 10. Baskı, Bölüm 9, 1084-1168, 2011.  
Smith Genel Üroloji. 17. Baskı, Bölüm 36, 559-573, 2008.  
Avrupa Üroloji Derneği Klavuzları, Çocuk Ürolojisi Bölümü, 2012.
6. Abu-Zidan FM, Elgazzar AH, Bahar RH, et al. A new experimental model for partial ureteric obstruction in sheep. Int Urol Nephrol 1999;31:149-155.  
Ryan PC, Fitzpatrick JM. Partial ureteric obstruction: a new variable canine experimental model. J Urol 1987;137:1034-1038.
7. Ulm A, Miller F. An operation to produce experimental, reversible hydronephrosis in dogs. J Urol 1962;88:337-341.
8. Thornhill BA, Burt LE, Chen C, et al. Variable chronic partial ureteral obstruction in the neonatal rat: a new model of ureteropelvic junction obstruction. Kidney Int 2005;67:42-52.
9. Stenberg A, Bohman SO, Morsing P, et al. Back-leak of pelvic urine to the bloodstream. ActaPhysiol Scand 1988;134:223-234.

10. Li C, Wang W, Norregaard R, et al. Altered expression of epithelial sodium channel in rats with bilateral or unilateral ureteral obstruction. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;293(1):F333-F341.
11. Li C, Wang W, Kwon TH, et al. Downregulation of AQP1, -2, and -3 after ureteral obstruction is associated with a long-term urine-concentrating defect. *Am J Physiol* 2001; 281:F163-F171.
12. Harris RH, Yarger WE. The pathogenesis of post-obstructive diuresis. The role of circulating natriuretic and diuretic factors, including urea. *J Clin Invest* 1975;56:880-887.
13. Thirakomen K, Kozlov N, Arruda JA, et al. Renal hydrogen ion secretion after release of unilateral ureteral obstruction. *Am J Physiol* 1976;231:1233-1239.
14. Stephan M, Conrad S, Eggert T, et al. Urinary concentration and tissue messenger RNA expression of monocyte chemoattractant protein-1 as an indicator of the degree of hydronephrotic atrophy in partial ureteral obstruction. *J Urol* 2002;167:1497-1502.
15. Storch S, Saggi S, Megyesi J, et al. Ureteral obstruction decreases renal proepidermal growth factor and Tamm-Horsfall expression. *Kidney Int* 1992;42:89-94.
16. Canbay A, Friedman S, Gores GJ. Apoptosis: the nexus of liver injury and fibrosis. *Hepatology* 2004;39(2):273-278.
17. Meister A. Glutathione ascorbate and cell cycle regulation. *FEBS letters* 1994;1-4.
18. Southorn P, Powis G. Free radical in medicine I. Chemical nature and biological reactions. *J Mayo Clin Proc* 1988;63:381-388.
19. Halliwell B, Gutteridge JMC. Lipid peroxidation oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *Lancet* 1984;23:1396-1397.
20. Hochstein P, Atallah AS. The nature of oxidant and antioxidant systems in the inhibition of mutation and cancer. *J Mut Res* 1988;202:363-375.

21. Tappel AI. Lipid Peroxidation damage to cell components. *J Fed Proc* 1993;32:1870-1874.  
  
Cros CE, Halliwell B, Borish ET. Oxygen radicals and human disease. *J Annals Int Med* 1997;107:526-545.
22. Brent JA, Rumack HH. Role of free radicals in toxic hepatic injury. *J Free Radical Chemistry J Clinical Toxicology* 1993;49:481-493.
23. Dizdaroğlu M. Mechanisms of oxidative DNA damage. Lesion and their measurement. Kluwer Academic/Plenum Publishers 1999;302:67-87.
24. Dizdaroğlu M. Chemical determination of free radical-induced damage to DNA. *J FreeRadical Biol Med* 1993;61:225-242.
25. Wetberg AB, Weitzman SA, Clarck EP. Effects on antioxidants on antioxidant induce: sister chromatid exchange formation. *J Clin Invest* 1985;75:35-37.
26. Slater TF. Free radical mechanism in tissue injury. *J Biochem* 1984;222:1-15.
27. Tappel AL, Dillard JC. In vivo lipid peroxidation measurement via exhaled pentane and protection by vitamin E. *J Federation Proceedings* 1981;40:174-178.
28. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *J Clin Chem* 1995;42:18-19.
29. Moncada S, Palmer RMJ, Higs EA. Nitric oxide. Physiology, pathophysiology and pharmacology. *J Pharmacol Review* 1991;43:109-137.
30. Lancaster J. Nitric oxide, principles and actions. Copyright by Academic Press Inc., California/USA 1990.
31. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthase in mammals. *J Biochem* 1994;298:249-258.
32. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993;268:123-125.
33. Myatt L, Rosenfield RB, Eis ALW. Nitrotyrosine residues in placenta. Evidence of peroxynitrite formation and action. *J Hypertension* 1996;28:488-493.

34. Halliwell B. Oxygen is poisonous. The nature and medical importance of oxygen radicals. *J Med Lab Sci* 1984;41:157-162.
35. Canbaş A. Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Ziraat Fakültesi Yayını No: 78, ÇÜ, Adana 1983.
36. Sies H, De Groot H. Role of reactive oxygen species in toxicity. *J Toxicology* 1992;64:547-551.
37. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems. Source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991;91:14-22.
38. Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. *Free Radical in Molecular Biology, J Aging Dis* 1984;65:53-66.
39. Notarjan D. Oxidants and signal transduction in vascular endothelium. *J Clin Med* 1994;125:26-37.
40. Logani MK, Davies RE. Lipid Oxidation. Biological effects and antioxidants *J Lipids* 1985;15:6-12.
41. Reubset FAG, Veerkamp JH, Tirjbels JMF, Monnens LA. Total and peroxisomal oxidation of various saturated and unsaturated fatty acids in rat liver, heart. *J M Quadriceps Lipids* 1992;24:11-16.
42. Stevenson MA, Pollock SS, Coleman CN, Calderwood SK. X-irradiation, phorbol esters, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stimulate mitogen-activated protein kinase activity in NIH-3T3 cells through the formation of reactive oxygen intermediates. *J Cancer Res* 1994;54:12-15.
43. Ball S, Weindruch R, Walford L. Antioxidants and immun response. *J Free Radicals, Aging and Degenerative Diseases* 1986;57:427-456.
44. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *J Nutr* 1989;119:109-111.
45. Niki E. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem Phys Lipids* 1987;44:227-253.



46. Braugher M, Chose L, Pregenter F. Oxidation of ferrous iron during peroxidation of lipid substrates. *J Biochemica and Biophysica Acta* 1987;921:457-464.
47. Ripine JE, Bast A. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *J Respir Crit Care Med* 1997;156:341-347.
48. Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YJ, Khwaja S, Safadi A. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *J Biochem* 1992;286:607-611.
49. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Ed. Mimoza Yayınları, Konya, 1995;5:1-3.
50. Mccord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *J Clin Biochem* 1993;26:351-357.
51. Halliwell B, Dizdaroglu M. Free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *J Free Radical Res* 1992;16:75-87.
52. Dizdaroglu M. DNA and free radicals. *Ellis Horwood Chichester* 1993:19-39.
53. Horwood E, Epe B. DNA and free radicals. *J Chichester* 1993:41-65.
54. Steenken S. Purine bases, nucleosides, and nucleotides: aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e- and OH adducts. *J Chem Rev* 1989;89:503-520.
55. Dizdaroglu M. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *J Mutat Res* 1992;275:331-342.
56. Aruoma OI, Halliwell B. DNA and free radicals. Techniques mechanisms and applications. *OICA International* 1998;25:3-26.
57. Seven A, İnci F, Civelek S, Burçak G, İnci E, Korkut N. Larenks kanserli olgularda lipid peroksidasyon ve antioksidan statü göstergelerinin dokuda incelenmesi. *Türk ORL Arşivi* 1998;36:33-36.
58. Ceballos L, Triver JM, Nicole A. Age correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *J Clin Chem* 1992;36:66-70.

59. Smith EL, Hill RL, Lehmal R. Principle of biochemistry. 7th cd- McBraw Hill, inc. USA, 1983;382-383.
60. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harpers biochemistry. 2nd edition. Typo 1991.
61. Anderson ME, Meister A. Glutathione moesters. J Anal Biochem 1989;183:16-20.
62. Berger SJ, Gosky D, Zberowska E. Sensitive enzymatic cycling in diabetes. J Diabetes 1991;46:405-412.
63. Yao JK, Reddy R, McElhinny LG, et al. Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. Schizophr Res 1998;32(1):1-8.
64. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, et al. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status. Critical view and experimental data. Free Radic Biol Med 2000;29(11):1106-1114.
65. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. J Clin Biochem 2004;37:112-119.
66. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, 2nd ed. Oxford, Clarendon Press, 1989.
67. Gan N, Smolen A, Eckerson W, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. Drug Metab Dispos 1991;19:100-106.
68. Mazur A. An enzyme in animal tissues capable of hydrolyzing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophosphates. J Biol Chem 1946;164:271-289.
69. Aldridge WN. Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl pnitrophenylphosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. Biochem J 1953;53(11):7-24.
70. Aldridge WN. Serum esterases. Two types of esterase (A and B) hydrolysing pnitrophenylacetate, propionate and butyrate, and a method for their determination. Biochem J 1953;53(11):0-7.

71. Uriel, A. Characterisation des cholinesterases et d'autres esterases carboxylique apreselectrophorese en gelose. *Annal Instit Pasteur* 1961;101-104.
72. Mackness MI, Walker CH. Multiple forms of sheep serum a-esterase activity associated with the high-density lipoprotein. *Biochem J* 1988;250:539-545.
73. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991;286:152-154.
74. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patient with coronary heart disease. *Lancet* 1994;344:1383-1389.
75. Deakin S, James RW. Genetic and Enviromental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-I. *Clinical Science* 2004;107:435-447.
76. La Du BN, Aviram M, Billecke S, et al. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact* 1999;119-120:379-388.
77. Mackness MI, Halton SD, Pend T, Warner S, Walken CN. The seperation of sheep and human serum A-esterase activity with the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Biochem Physiol* 1985;82:675-677.
78. Blatter MC, James RW, Messmer J, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by lipoprotein subspecies defined by alipoprotein-associated protein. K-85: Identify of K-85 with paraoxonase. *Eur J Biochem* 1993;211:871-879.
79. Humbert R, Adler DA, Disteché CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet* 1993;40:73-76.
80. Rodrigo L, Hernandez F, Caballero L, Gil F, Pla A. Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue. Implications for its physiological role. *Chem Biol Interact* 2001;137:123-137.

81. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998;101:1581-1590.
82. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The Human serum paraoxonase polymorphism: Identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983;35:214-227.
83. Lock EA, Reed CJ. Xenobiotic metabolizing enzymes of the kidney. *Toxicol Pathol* 1998;26:18-25.
84. Walker CH, Mackness MI. A-esterases and their role in regulating the toxicity of organophosphates. *Arch Toxicol* 1987;60:30-33.
85. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:473-480.
86. Hahn M, Subbiah MT. Significant association of lipid peroxidation products with high density lipoproteins. *Biochem Mol Biol Int* 1994;33:699-704.
87. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidised low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995;96:2882-2891.
88. La Du BN. Structural and functional diversity of paraoxonases. *Nat Med* 1996;2:1186-1187.
89. Aviram M, Billecke S, Sorenson R, et al. Paraoxonase active site required against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different than that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action for human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1617-1624.
90. Stocker R. "Coenzyme Q10" Reviewed, Linus Pauling Institute Micronutrient Research for Optimum Health, <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/othersnuts/coq10/>

91. Parkhideh, Daryoush, "Methods and compositions that enhance bioavailability of coenzyme-Q10", United States Patent 7,438,903, Parkhideh, October 21, (2008).
92. Overvad K, Diamant B, Holm L, Hülmer G, Mortensen SA, Stender S. Review Coenzyme Q10 in health and disease. *EurJ Clin Nutr* 1999;53:764-770.
93. Bhagavan HN, Chopra RK, Craft NE, Chitchumroonchokchai C, Failla ML. Assessment of coenzyme Q10 absorption using an *in vitro* digestion-Caco-2 cell model. *IntJ Pharmaceutics*2007;333:112-117.
94. Turunen M, Olsson J, Dallner G. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA), Biomembranes* 2004;1660(1-2):171-199.
95. Kayapınar D. Akut Koroner Sendromlu Olgularda Koenzim Q10 Düzeyleri. Biyokimya (Eczacılık) Programı Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2002, 61s.
96. Crane FL. Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr* 2001;20:591-598.
97. Bonakdar RA, Guarneri E. Coenzyme Q10. *Am Fam Physician* 2005;72(6):1065-1070.
98. Ruiz-Jiménez J, Priego-Capote F, Mata-Granados JM, Quesada JM, Luque de Castro MD. Determination of the ubiquinol-10 and ubiquinone-10 (coenzyme Q10) in human serum by liquid chromatography tandem mass spectrometry to evaluate the oxidative stress. *J Chromatography A*2007;1175:242-248.
99. Oudshoorn JH, Lecluse ALY, Berg R, Vaes WHJ, Laag J, Houwen RHJ. Decreased Coenzyme Q10 concentration in plasma of children with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006;43(5):646-650.
100. Altekin E. HMG CoA Redüktaz İnhibitörlerinin Plazma Ubikinon, ATP Düzeyi ve Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, İnciraltı İzmir, 1999, 76s.

101. Paulsen S. "Coenzyme Q10", Reviewed, PharmD, [http://www.uchsc.edu/sop/pharmd/6.Experiential\\_Programs/downloads/coenzyme\\_q10.pdf](http://www.uchsc.edu/sop/pharmd/6.Experiential_Programs/downloads/coenzyme_q10.pdf), (Erişim tarihi: 10 Eylöl 2009).
102. Mattila P, Kumpulainen J. Coenzyme Q9 and Q10: contents in foods and dietary intake. *J Food Composition and Analysis* 2001;14:409-417.
103. Weber C, Bysted A, Holmer G. Coenzyme Q10 in the Diet-daily intake and relative bioavailability. *Molecular Aspects of Medicine* 1997;18(Suppl):251-254.
104. Kagan VE, Quinn PT. Coenzyme Q: Molecular Mechanisms in Health and Disease. CRC Press, United States of America, 2001, 390p.
105. Weber C, Bysted A, Holmer G. The coenzyme Q10 content of the average Danish diet. *Int J Vitamin Nutr Res* 1997;67:123-129.
106. Weber C, Bysted A, Holmer G. Intestinal absorption of coenzyme q10 administered in a meal or as capsules to healthy subjects. *Nutr Res* 1997;17(6):941-945.
107. Orak E, Yanardağ R, Orak H. Selenyum ve kalp hastalıkları ile ilişkisi. *Türk Kardiyol Dern Ars* 2000;28(4):230-238.
108. Akman H, Somuncu S, Dikmen G, Ayva ř, Soyer T, Doğan P, akmak M. Protective effect of selenium on intussusception-induced ischemia/reperfusion intestinal oxidative injury in rats. *Turk J Med Sci* 2010;40(3):391-397 (25th National Congress of Pediatric Surgery, 24-27 October 2009, İzmir, Turkey 10.12.2009).
109. Öztürk C, Avlan D, Cinel İ, et al. Selenium pretreatment prevents bacterial translocation in rat intestinal ischemia/reperfusion model. *Pharmacological Research* 2002;46(2):171-177.
110. Özbal S, Erbil G, Koçdor H, Tuğyana K, Pekçetin , Özoğul C. The effects of selenium against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *Neuroscience Letters* 2008;438:265-269.

111. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005;38:1103-1111.
112. Toy H, Camuzcuoglu H, Celik H, Erel O, Aksoy N. Assessment of serum paraoxonase and arylesterase activities in early pregnancy failure. *Swiss Med Wkly* 2009;139:76-81.
113. Vaughan Ed Jr, Sorenson EJ, Gillenwater JY. The renal hemodynamic response to chronic unilateral complete ureteral occlusion. *Invest Urol* 1970,8(1):78-90.
114. Ekinçi S, Ciftçi AO, Atilla P, Muftuoğlu S, Senocak ME, Büyükpamukcu N. Ureteropelvic junction obstruction causes histologic alterations in contralateral kidney. *J Pediatr Surg* 2003;38(11):1650-1655.
115. Ishikawa A, Kawarazaki H, Ando K, Fujita M, Fujita T, Homma Y. Renal preservation effect of ubiquinol, the reduced form of coenzyme Q10. *Clin Exp Nephrol* 2011;15(1):30-33.
116. Fouad AA, Jreisat I. Received 25 August 2011 Received in revised form 17 November 2011 Accepted 9 December 2011 Available online 16 December 2011.
117. Crestanello JA, Doliba NM, Doliba NM, Babsky AM, Niborii K, Osbakken MD, Whitman GJR. Effect of coenzyme Q10 supplementation on mitochondrial function after myocardial ischemia reperfusion. *J Surg Res* 2002;102(2):221-228.
118. Zendedel A, Delavari S, Ahmadvand H, Ghanadi K, Gholami M. Effects of selenium on antioxidant activity and recovery from sciatic nerve ischemia-reperfusion in adult rats. *Zahedan J Res Med Sci* 2015;17(12):29-33.
119. Jeong-Hwan K, Byung-Woo K, Hyun-Ju K, Soo-Wan N. Curative effect of selenium against indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *J Microbiol Biotech* 2011;21(4):400-404.
120. Yongsoo K, Dong Chil K, Eui-Sic C, Seung-O K, Woon Yong K, Gil Joon S, Hyo-Keun S. Antioxidant and anti-inflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Inflamm* 2014;11:36.

121. Ibrahim SS, Barakat MA, Helmy HTS. Modulating effect of carvedilol on doxorubicin-induced cardiomyopathy and hepatic damage. *J Am Sci* 2010;6(12):20-32.

