

**T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

Yüksek Lisans Tezi

**RATLARDA LPS'NİN SEBEP OLDUĞU BÖBREK HASARI
ÜZERİNE SODYUM SELENİT VE VİTAMİN E'NİN
KORUYUCU ROLÜ**

FATMA İLÇE

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Dilek PANDIR**

Yozgat 2019

**T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

Yüksek Lisans Tezi

**RATLARDA LPS'NİN SEBEP OLDUĞU BÖBREK HASARI
ÜZERİNE SODYUM SELENİT VE VİTAMİN E'NİN
KORUYUCU ROLÜ**

FATMA İLÇE

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Dilek PANDIR**

**Bu çalışma, Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından 6601-FBE/18-218 kodu ile desteklenmiştir.**

Yozgat 2019



YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ

TEZ ONAY FORMU

T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Enstitümüzün Biyoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans/Doktora Programı 70110317003 numaralı öğrencisi Fatma İLÇE'nin hazırladığı "Ratlarda LPS'nin Sebep Olduğu Böbrek Hasarı Üzerine Sodyum Selenit ve Vitamin E'nin Koruyucu Rolü" başlıklı tezi ile ilgili tez savunma sınavı, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri gereğince 01/08/2019 Perşembe günü saat 15.00'da yapılmış, tezin onayına oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Sedat PER

Jüri Üyesi (Danışman) : Prof. Dr. Dilek PANDIR

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Zekiye KOCAKAYA

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 07.08.2019 tarih ve 36 sayılı Enstitü Yönetim Kurulu Kararı ile onaylanmıştır.

07.08.2019

Prof. Dr. Mustafa SACMACI
Müdür

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Sodyum Selenit ile İlgili Genel Bilgi.....	2
1.2. Vitamin E ile İlgili Genel Bilgi	3
1.3. Oksidatif Stres ile İlgili Genel Bilgi	4
1.4. Malondialdehit (MDA) ile İlgili Genel Bilgi	4
1.5. Antioksidan Enzimler	5
1.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) ile İlgili Genel Bilgi.....	5
1.5.2. Katalaz (CAT) ile İlgili Genel Bilgi.....	5
1.5.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx) ile İlgili Genel Bilgi.....	5
1.6. Böbrek ile İlgili Genel Bilgi.....	6
2. MATERYAL VE YÖNTEM	7
2.1. Hayvanlar.....	7
2.2. Kimyasallar.....	7
2.3. Hayvanlara Uygulama Planı.....	7
2.3.1. Kontrol Grubu	8

2.3.2. Vitamin E Uygulanan Grup.....	8
2.3.3. Sodyum Selenit Uygulanan Grup.....	8
2.3.4. Vitamin E + Sodyum selenit Uygulanan Grup.....	8
2.3.5. LPS Uygulanan Grup.....	8
2.3.6. LPS + Vitamin E Uygulanan Grup.....	8
2.3.7. LPS+SS Uygulanan Grup.....	8
2.3.8. LPS+SS+VE Uygulanan Grup.....	8
2.3.7. LPS + SS Uygulanan Grup.....	9
2.3.8 LPS+SS+VE Uygulanan Grup.....	9
2.4 Malondialdehit (MDA) Miktarının Belirlenmesi.....	9
2.5. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	9
2.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	9
2.5.2. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	9
2.5.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	10
2.6. Işık Mikroskobu İncelemeleri.....	10
2.7. Verilerin Değerlendirilmesi.....	10
3. BULGULAR	11
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	18
KAYNAKLAR	21
ÖZGEÇMİŞ	26

RATLARDA LPS'İN SEBEP OLDUĞU BÖBREK HASARI ÜZERİNE SODYUM SELENİT VE VİTAMİN E'NİN KORUYUCU ROLÜ

Fatma İLÇE

**Yozgat Bozok Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

2019; Sayfa:27

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilek PANDIR

ÖZET

Bir endotoksin olarak lipopolisakkarit (LPS), gram-negatif bakterilerin hücre duvarının bir kısmını oluşturur ve canlı dokuya girdikten sonra bir akut iltihaplanmanın başlatılmasından sorumludur. Bu çalışmada, erkek sıçanlar sekiz gruba ayrıldı: kontrol grubu, E vitamini (VE) uygulanan grup (200 mg/kg), sodyum selenit (SS) uygulanan (0.35 mg/kg) grup, VE + SS uygulanan grup (200 + 0.35 mg/kg), LPS uygulanan grup (10 mg/kg), LPS + VE uygulanan grup (10 + 200 mg/kg), LPS + SS uygulanan grup (10 + 0.35 mg/kg) ve LPS + SS + VE uygulanan grup (10 + 0.35 + 200 mg/kg). Oksidatif stres parametreleri ve histolojik değişiklikler 6 saat sonunda kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. LPS ile muamele edilen grup ve LPS+SS+VE ile muamele edilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, antioksidan enzim aktiviteleri azalmış; histolojik değişimler ve MDA seviyesi 6 saat sonunda artmıştır. Bununla birlikte, LPS + SS ve/veya VE ile muamele edilen grup, LPS ile muamele edilen grup ile karşılaştırıldığında, SOD, CAT ve GPx aktivitesi artmış ve uygulama periyodunun sonunda histolojik değişimler ve MDA seviyeleri anlamlı olarak azalmıştır. LPS+SS ve/veya VE uygulanan grupla LPS uygulanan gruplarda böbreğin histolojik yapısındaki değişiklikler azalmıştır. Sonuç olarak, antioksidanların birlikte kullanılması, LPS'ye karşı tek başına kullanımından daha koruyucu olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: LPS, Vitamin E, Sodyum selenit, MDA, GPx, CAT, SOD, Oksidatif stres.



THE PROTECTIVE ROLE OF SODIUM SELENITE AND VITAMIN E ON THE KIDNEY DAMAGE BY LPS IN RATS

FATMA ILÇE

Yozgat Bozok University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Master of Science Thesis

2019; Page: 27

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Dilek PANDIR

ABSTRACT

Lipopolysaccharide (LPS), as an endotoxin, forms part of the cell wall of gram-negative bacteria and is responsible for initiating an acute inflammation after entering live tissue. In this study, male rats were divided into eight groups: control group, vitamin E (VE)-treated group (200 mg/kg), sodium selenite (SS)-treated group (0.35 mg/kg), VE + SS-treated group (200 + 0.35 mg/kg), LPS treated group (10 mg/kg), LPS + VE-treated group (10 + 200 mg/kg), LPS + SS-treated group (10 + 0.35 mg/kg) and LPS + SS + VE-treated group (10 + 0.35 + 200 mg/kg). Oxidative stress parameters and histological changes were investigated and compared with control group after 6 hours. When LPS treated group and LPS + SS + VE treated group compared to the control group, antioxidant enzyme activities decreased; histological changing and MDA levels increased significantly after 6 hours. However, when LPS + SS and/or VE-treated group compared with the LPS-treated group SOD, CAT and GPx activities increased and histological changing and MDA levels decreased significantly at the end of the treatment period. As a result, it was observed that the collective use of antioxidants was more protective than the use of alone against LPS.

Key words: LPS, Vitamin E, Sodium Selenite, MDA, GPx, CAT, SOD, Oxidative Stress.

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam boyunca bana yol gösteren Sayın Hocam Prof. Dr. Dilek PANDIR’a, çalıőmalarımnda bana yardımcı olan Arő. Gör. Glőife GÖK’e ve kardeőim Biyolog Zehra İLÇE’ye; tüm çalıőmam boyunca maddi ve manevi yönden desteklerini esirgemeyen aileme teőekkürlerimi borç bilirim.

Bu tez alıőması Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Arastırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: 6601-FBE/18-218). Maddi desteklerinden dolayı Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Arastırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Deneyde oluşturulan gruplar ve uygulanan madde miktarları.....	9



ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1. Kontrol ve uygulama grupları arasında SOD aktivitelerinin karşılaştırılması.....	11
Şekil 3.2. Kontrol ve uygulama grupları arasında CAT aktivitelerinin karşılaştırılması.....	12
Şekil 3.3. Kontrol ve uygulama gruplarında GPx aktivitelerinin karşılaştırılması..	12
Şekil 3.4. Kontrol ve uygulama grupları arasında MDA seviyelerinin karşılaştırılması.....	13
Şekil 3.5. Kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı.....	14
Şekil 3.6. LPS uygulanan gruptaki sıçanların böbrek histolojik yapısı.....	15
Şekil 3.7. LPS uygulanan gruptaki sıçanların böbrek histolojik yapısı.....	15
Şekil 3.8. LPS+SS uygulanan gruptaki ratların böbrek histolojik yapısı.....	16
Şekil 3.9. LPS+VE uygulanan gruptaki ratların böbrek histolojik yapısı.....	16
Şekil 3.10. LPS+SS+VE uygulanan gruptaki ratların böbrek histolojik yapısı...	17

KISALTMALAR

LPS	:Lipopolisakkarit
SS	:Sodyum Selenit
VE	:Vitamin E
SOD	:Süperoksit Dismutaz
CAT	:Katalaz
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
H ₂ O ₂	:Hidrojen Peroksit
O ₂	:Moleküler Oksijen
TBA	:Tiyobarbitürik Asit

1.GİRİŞ

Hücrelerde bulunan okside olabilecek lipit, karbonhidrat, protein ve DNA gibi maddelerin oksidasyonunu geciktirebilen veya önleyen maddelere ‘antioksidanlar’ denir. Antioksidanlar, antioksidan savunma sistemini oluşturur [1]. İnsan sağlığı için büyük öneme sahip olan antioksidanların etkileri üzerine çalışmalar günden güne artmaktadır. Antioksidanlar, toksik maddelerden korunma bakımından vücut savunmasında etkin rol oynarlar ve serbest radikallerle savaşırlar [2].

Gram (-) bakterilerin hücre duvar yapısında yer alan LPS, bağışıklık sistemi tarafından tanınabilen bir doğal bakteriyel üründür. Gram (-) bakteri hücre duvarı; içte peptidoglikan tabaka, dışta lipopolisakkaridler, fosfolipitler ve proteinlerden oluşur [3]. LPS; lipit A, çekirdek oligosakkarit ve yineleyen polisakkarit zincirlerinden oluşmaktadır. Dış kısmındaki O-antijen yapısının bakteri türlerine göre antijenitesi bulunmaktadır. Orta kısımda çekirdek bölge yer alır ve bu bölge daha az antijenik özellik göstermektedir. En içteki bölgede ise lipit A yapısı bulunmaktadır [4].

Escheriachia coli (*E. coli*)’den izole olarak elde edilen LPS, deneysel sepsis çalışmalarında sıklıkla tercih edilir. Liyofilize LPS suda çözülür ve deney hayvanlarına periton veya damardan uygulanır. Canlı dokuya girdikten sonra bir akut yangı başlatır [5]. LPS’nin toksik bileşeni olan Lipit A; septik sürecin başlamasında ve ilerlemesinde önemlidir. Serbest radikaller oksidatif stres oluşturur ve oksidatif stres endotoksik şok ile yüksek mortaliteye neden olur [6, 7].

Hücrenin yıkımı veya hızlı büyümesi sırasında açığa çıkarak sepsis/endotoksevide olaylar dizisini başlatan anahtar moleküldür. Endotoksin hücre membranında bulunduğu sürece inaktiftir [8]. *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi birçok Gram (-) bakteriden elde edilebilmesine rağmen deneysel çalışmalar *E. coli*’den elde edilen LPS’ler üzerinde yoğunlaşmıştır. Genelde liyofilize toz halinde ticari olarak temin edilen LPS deneysel çalışma protokolleri esas alınarak, suda çözülerek deney hayvanlarına damar içine veya peritoneal olarak tek doz ve/veya infüzyon şeklinde verilir. Yapılan

çalışmalarda uygulanan dozun 1 mg/kg ile 80-100 mg/kg gibi geniş bir doz aralığına sahip olduğu grlmştir [9, 10].

1.1. Sodyum Selenit

Selenyum olarakta bilinen sodyum selenit (SS), suda çözünebilen, insan vücudu için de belirli oranda faydalı olan bir maddedir ve deniz ürünlerinde, yumurtada, tahıllarda, sebzelerde, karaciğerin kimyasal yapısında bulunmaktadır [11].

Selenyum, sebzelerde, tahıllarda ve deniz mahsllerinde çok miktarda bulunduğundan bu besinler önemli diyet kaynaklarıdır. Selenyumca zengin bir diyetle beslenilmesi ile Glutasyon Peroksidaz (GPx) enzim aktivitesi arasında yüksek bir korelasyon bulunmaktadır [12]. Selenyum kayalar ve toprakta katı halde, suda erimiş halde bulunmakta, toprak ve sudan insanlara, bitkilere ve mantarlara kadar geçip tekrar çevreye dönmektedir [13].

Yapılan çalışmalarda selenyumun biyolojik sistemler açısından önemli bir element olduğu ortaya konulmuştur. Selenyum uygulaması ile karaciğerde deneysel olarak meydana getirilen tümörlerde % 50 civarında bir iyileşme meydana geldiği vurgulanmıştır [14]. Selenyum, insan ve hayvan dokuları için antioksidan özellik gösteren önemli bir elementtir [15]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda deney hayvanlarına selenyum olarak bilinen sodyum selenit verilmektedir [16, 17]. Yapılan araştırmalarda insanlarda sodyum selenitin %90'ının biyolojik sistemler tarafından absorbe edildiği ve dokularda dağıldığı gösterilmiştir [18]. Selenyum kullanımı ile ilgili yapılan bir çalışmada prostat, akciğer, kolon kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir [19]. Selenyumun antikarsinojenik etkisinin yanında [20], hücre büyümesinin ve tiroid hormon metabolizmasının düzenlenmesi gibi görevleri de bulunmaktadır [21]. Selenyum bazı hastalıklardan korunmada, kimyasalların neden olduğu anormallikleri azaltmada önemli rol oynamaktadır [22]. Katarakt, kas distrofisi, artrit, hemofilik anemi, gece körlüğü gibi hastalıklar insanlardaki selenyumla bağlantılı olduğu düşünülen hastalıklar olarak bilinmektedir [23].

Yapılan bir çalışmada adriomisin maddesine maruz kalan tavşanlarda kalp dokusu incelemelerinde meydana gelen değişikliklerin selenyum uygulamasında kalbin histolojik yapısını koruduğu belirtilmiştir [24].

Selenyumun eksik olduğu diyetle beslenen ratlarda incelenen dokuda sitozolik GPx aktivitesinde % 87 azalma gözlenmiş ve hidrojen peroksitin detoksifikasyonu için önemli olduğu ortaya koyulmuştur [25].

1.2. Vitamin E

Vitamin E; ilk kez Evans ve Bishop tarafından 1922 yılında keşfedilmiştir [26]. α -tokoferol olarak adlandırılan vitamin E, 1936 yılında buğday tohumundan ekstrakte edilmiştir [27]. Bitkisel sıvı yağlar, hayvansal yağlar, et, yumurta gibi besinlerde ve karaciğerde bulunur. Anne sütünde oldukça fazladır [28]. Vitamin E'nin günlük gereksinimi çocuklarda 3-10 mg, yetişkin erkeklerde 10 mg ve kadınlarda 8 mg arasında değişmektedir [29]. α -tokoferol, dokularda farklı konsantrasyonlarda bulunur ve lipit peroksidasyonunu inhibe eder [30].

α -Tokoferol, dokularda farklı konsantrasyonlarda bulunur. En yüksek E vitamini konsantrasyonları, mikrozomlar ve mitokondriyon gibi membranca zengin hücre yapılarındandır. Sitozol ve peroksizomda ise daha az bulunur [31].

Diyetle alınan ve enzimatik olmayan vitamin E, hayvanlarda hücre farklılaşması ve fonksiyonu için gereklidir [32]. Doğanın bilinen en etkili zincir kırıcı antioksidanıdır [33]. Kalp kası hücrelerinin metabolik fonksiyonlarını düzenleyen veya onaran, membran bileşenlerinin lipofilik özellikteki önemli bir zincir kırıcı antioksidanıdır [34]. Vitamin E'nin antioksidan fonksiyonunun temeli; lipoproteinlerde ve hücre membranlarında, lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu kırmak ve oluşan peroksil radikallerini yakalamaya dayanmaktadır [35, 36].

Vitamin E'nin hücre içi savunmayı artırma mekanizmalarının hemen hepsinde etkin bir şekilde bulunduğu ve bu nedenle geniş bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir [37].

Yapılan pek çok çalışmada; vitamin E'nin biyolojik sistemlerde lipit peroksidasyonunu azaltarak, serbest radikal oluşumunu engellediği ortaya koyulmuştur [38-40].

Ağır metaller ve kimyasallara maruz kalmış ratlarda yapılan birçok çalışmada; vitamin E'nin toksik etkilere karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir [41, 42].

1.3. Oksidatif Stres

Oksidatif denge, organizmada serbest radikallerin oluşma hızı ile oluşan radikallerin ortadan kaldırılma hızının dengede olması durumudur. Dengenin bozulmasına, radikallerin oluşum hızında meydana gelen artma ya da ortadan kaldırılma hızındaki bir düşüş neden olabilir. Bu durum 'oksidatif stres' olarak adlandırılır. Sonuçta, doku hasarına yol açan bu durum; antioksidan savunma mekanizması ile serbest radikal oluşumu arasındaki dengenin bozulduğunu göstermektedir [43]. Serbest radikaller çevresel faktörlerle etkileşimde bulunmakta ve vücutta normal metabolik süreçte üretilebilmektedirler. Bu radikallerin yol açtığı olumsuz sonuçlara karşı antioksidanlar fizyolojik olarak vücudu savunmaktadırlar [44].

1.4. Malondialdehit (MDA)

Serbest radikallerin doymamış yağ asitlerini peroksidasyona uğratarak oluşturdukları son ürünlerden biri MDA'dır. İki den fazla çift bağ içeren doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan MDA, lipit peroksidasyonunun en yaygın olarak bilinen son ürünüdür. MDA'nın nonpolar özellikte ve nispeten küçük yapılı olması biyomoleküllerle etkileşimini kolaylaştırmakta ve membranlar başta olmak üzere, yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadır [45, 46]. Lipit peroksidasyonunun saptanmasında, artan MDA içeriği oksidatif membran hasarının önemli göstergesidir [47-49]. MDA'nın tüm bu özellikleri sebebiyle genotoksik, mutajenik ve karsinojenik olduğu belirtilmektedir [50]. Ayrıca bir aldehit türeviden olan MDA, nükleik asitler, fosfolipitler ve proteinlerin amino grupları ile reaksiyona girerek yapılarının bozulmasına da yol açmaktadır [51].

1.5. Antioksidan Enzimler

Canlı hücrelerde bulunan DNA, protein, karbonhidrat ve lipit gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddeler antioksidanlardır [52]. Antioksidanlar yapılarına göre; enzimatik yapıda olanlar (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidazdır (GPx) ve enzimatik yapıda olmayanlar (vitamin E, vitamin A, vitamin C) olarak gruplandırılabilir [53]. Aerobik organizmalar oksijen toksisitesinden başlıca üç enzim yardımıyla korunur. Bu enzimler; SOD, CAT ve GPx'tir [54].

1.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD enziminin antioksidan özelliği ilk kez 1968 yılında bir gurup araştırmacı tarafından yapılan araştırmalar sonucu anlaşılmıştır [55]. Hücre içi antioksidanların en önemlilerinden olan SOD, oksidasyon metabolizmasının toksik süperoksit anyonunu daha zararsız olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizler [56].

1.5.2. Katalaz (CAT)

CAT, SOD enziminin de etkisiyle, H_2O_2 'nin su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlamaktadır [19]. Hayvanlarda özellikle eritrositlerin sitoplazmasında ve hepatositlerin mitokondrisinde yoğun olarak yer almaktadır [57]. Organizmaya dışarıdan gelen canlı veya cansız etkenlerin önüne geçerek hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı korumaktadır [58]. H_2O_2 konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda CAT detoksifikasyonunu sağlarken, konsantrasyon düşüklüğünde GPx enzimi görev almaktadır [59].

1.5.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

H_2O_2 'in suya dönüşümünden sorumludur ve bu nedenle H_2O_2 seviyesini azaltmaktadır [60]. Yapısında 4 selenyum atomu bulunan, tetramerik yapıda, lipid peroksidasyonunun başlamasını ve devam etmesini inhibe edici özellikte, 84 kDa moleköl ağırlığında bir moleküldür [61]. E vitamini yetersizliğinde membran lipidlerini peroksidasyona ve hemoglobini oksidatif strese karşı korur [16].

1.6. Böbrek

Yaşamsal organlardan biri olan; vücudun homeostasisinin düzenlenmesi, vücuttaki yabancı kimyasalların uzaklaştırılması, asit-baz dengesinin korunması, arteriyel kan basıncının düzenlenmesi, eritrosit üretiminin düzenlenmesi, sıvı ve elektrolit dengenin sağlanması böbreğin görevlerindedir [62]. Böbreğin en küçük fonksiyonel birimi nefrondur [63]. Her bir böbrekte medulla ve kortekste bulunan 1-2 milyon kadar nefron vardır [64]. Plazmadaki maddelerin süzölmesini nefronlardaki glomerüluslar sağlar [18]. Bu nedenle organizmaya yabancı çeşitli bileşikler için hedef yapılarıdır [65].

Glomerülün; kandan atık maddeleri uzaklaştırmak, su, sodyum ve üre gibi molekülleri süzme gibi fonksiyonları vardır. Üre, karaciğerde meydana gelir ve amonyağın detoksifikasyonunu sağlayan bir moleküldür [66].

Nefrotoksik maddeler nefronların üstlendiği fonksiyonları etkileyerek nefrotoksisiteye neden olur [18]. Bu durum oluşan atıkların atılmasını sekteye uğratarak vücut sıvı miktarı ve elektrolit dengesini bozarak sistemik toksisiteye neden olabilir [67]. Toksik maddenin yapısına, maruz kalma süresine ve toksik maddenin dozuna göre; kimi zaman geri dönüşümü mümkün ancak kimi zaman mümkün olmayacak şekilde hücre ölümlerine yol açabilir [18].

Bu çalışmada, toksik bir madde olan LPS'nin ratların böbrek dokusunda sebep olduğu hasara karşılık, antioksidan özelliğe sahip SS ve VE'nin koruyucu rolünün ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmada sadece antioksidan enzim aktiviteleri değil aynı zamanda böbrekte meydana gelen histolojik değişikliklerde incelenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma, Yozgat Bozok Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

2.1. Hayvanlar

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (HAYDEK) (16/133) etik kurul onayı alınarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmada erkek Wistar sıçanları kullanılmıştır (yaklaşık 300-320 gr ağırlığında). Sıçanlar, her kafeste 7 rat olacak şekilde konulmuştur. Toplamda 8 grup oluşturulmuştur. Su ve standart laboratuvar diyeti ile beslenen hayvanlara 22-30 °C oda sıcaklığında, aydınlık/karanlık (12 saat/12 saat) fotoperiyodu uygulanmıştır. Sıçanlarda uygulama yapılmadan 10 gün önce karantina altına alınmışlardır.

2.2. Kimyasallar

Deneyde hayvanlara 3 madde uygulanmıştır. Bunlar;

- Lipopolisakkarit (LPS)
- Sodyum selenit (SS)
- Vitamin E (VE)

Uygulanan kimyasal maddeler LPS ve SS Sigma'dan, VE Merck'den temin edilmiştir. VE mısır yağında, SS ve LPS su içinde çözüldükten sonra hayvanlara uygulanmıştır.

2.3. Hayvanlara uygulama planı

Sıçanlar, kontrol gurubu (n=7) ve uygulama gurubu (n=49) olarak ikiye ayrılmıştır. Deneyde oluşturulan gruplar ve gruplardaki hayvanlara uygulanan madde miktarları Tablo 1'de verilmiştir. Deneyde oluşturulan gruplar;

1. Grup: Kontrol grubu
2. Grup: VE uygulanan grup
3. Grup: SS uygulanan grup
4. Grup: VE+SS uygulanan grup
5. Grup: LPS uygulanan grup
6. Grup: LPS+VE uygulanan grup
7. Grup: LPS+SS uygulanan grup
8. Grup: LPS+VE+SS uygulanan grup

Tablo 2.1. Denejde oluşturulan gruplar ve uygulanan madde miktarları

Grup No	Gruplar	Hayvan Sayısı	Uygulanan Madde Miktarı	Uygulama Süresi
1	Kontrol	7	-	6 saat
2	Vitamin E	7	200 mg/kg v.a	
3	Sodyum selenit	7	0.35 mg/kg v.a	
4	VE+SS	7	200 mg/kg v.a VE 0.35 mg/kg v.a SS	
5	LPS	7	10 mg/kg v.a	
6	LPS+VE	7	10 mg/kg v.a LPS 200 mg/kg v.a VE	
7	LPS+SS	7	10 mg/kg v.a LPS 0.35 mg/kg v.a SS	
8	LPS+SS+VE	7	10 mg/kg v.a LPS 0.35 mg/kg v.a SS 200 mg/kg v.a VE	

2.3.1 Kontrol Grubu

Kontrol grubuna herhangi bir kimyasal madde uygulanmamıştır.

2.3.2 Vitamin E Uygulanan Grup

Her bir rata 200 mg/kg v.a (vücut ağırlığı) vitamin E, mısır yağında çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.3 Sodyum Selenit Uygulanan Grup

Her bir rata 0.35 mg/kg v.a SS, suda çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.4 Vitamin E + Sodyum selenit Uygulanan Grup

Her bir rata 200 mg/kg v.a Vitamin E, mısır yağında çözülerek; 0.35 mg/kg v.a sodyum selenit, suda çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.5 LPS Uygulanan Grup

Her bir rata 10 mg/kg v.a LPS suda çözülerek intraperitoneal (i.p) olarak uygulanmıştır.

2.3.6 LPS + Vitamin E Uygulanan Grup

Her bir rata 10 mg/kg v.a LPS, suda çözülerek i.p olarak; 200 mg/kg v.a vitamin E, mısır yağında çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.7 LPS + SS Uygulanan Grup

Her bir rata 10 mg/kg v.a LPS, suda çözülerek i.p olarak; 0.35 mg/kg v.a SS, suda çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.8 LPS+SS+VE Uygulanan Grup

Her bir rata 10 mg/kg v.a LPS, suda çözülerek i.p olarak; 0.35 mg/kg v.a SS, suda çözülerek ve 200 mg/kg v.a VE, mısır yağında çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.4 Malondialdehit (MDA) Miktarının Belirlenmesi

Süpernatantlar MDA miktarının tayini için 10 dakika 4.000 g'de santrifüj edilmiştir. Ohkawa ve ark. [68]'nin metodu kullanılarak tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona giren LPO'nun son ürünü olan MDA miktarı ölçülmüştür. TBA ilave edilmiş olan karışımın spektrofotometrede 532 nm'de absorbansı okunmuştur. MDA miktarı nmol/mg protein olarak verilmiştir.

2.5. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Süpernatantlar SOD enzim aktivitesinin tayini için 4 °C'de 10 dakika 1000 g'de santrifüj edilmiştir. Aktivite tayini için Marklund ve Marklund'un [69] metodu kullanılmıştır. Öncelikle küvetlere Tris-EDTA tamponu ve farklı hacimlerde süpernatant eklenerek üzerlerine enzim kaynağı ilave edilmiştir. Ardından bu karışımlara pyrogallol konulmuş ve spektrofotometrede 440 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Hesaplamalar yapıldıktan sonra aktivite U/mg protein olarak verilmiştir.

2.5.2. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Süpernatantlar CAT enzim aktivitesinin tayini için 4 °C'de 10 dakika 1000 g'de santrifüj edilmiştir. Aktivite, Aebi [70] tarafından ortaya konulan metot ile tayin edilmiştir. İlk etapta süpernatanta peroksizomlardaki CAT'ı açığa çıkarmak amacı ile Triton X-100 ilave edilmiştir, daha sonra H₂O₂ eklenmiş ve absorbans 240 nm'de

ölçülmüştür. Hesaplamaların ardından enzim aktivitesi U/mg protein birimiyle verilmiştir.

2.5.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Süpernatantlar GPx enzim aktivitesinin tayini için 4 °C'de 20 dakika 16.000 g'de santrifüj edilmiştir. GPx aktivitesinin belirlenmesi için Paglia ve Valentine [71]'nin metodu uygulanmıştır. Bu yöntem, GR'nin 340 nm'de nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat'ı (NADPH) okside etmesi ile oluşan absorbansın ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. NADPH'ın Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADP)'a yükseltgenmesi 340 nm'de absorbansın azalmasına sebep olur, böylece dolaylı olarak GPx'in aktivitesinin tespitinde kullanılmaktadır. Bu karışımın üzerine H₂O₂ eklenerek enzimatik reaksiyon başlatılmış ve 3 dakika boyunca 340 nm'de absorbanslar okunmuştur. Enziminin spesifik aktivitesi U/mg protein olarak verilmiştir.

2.6. Işık Mikroskobu İncelemeleri

Disekte edilen hayvanlardan alınan böbrek dokuları ışık mikroskobu incelemeleri için formaldehit fiksatifine konularak tespit edilmiştir. Fiksasyon aşamasının ardından yıkama ve dehidrasyon işlemleri yapılmıştır. Daha sonra dokular parafin bloklar haline getirilmiştir. Hazırlanmış olan bloklardan mikrotom (Leica RM2255) ile 6-7 µ kalınlığında kesitler alınmıştır. Bu kesitler hematoksilin-eozin ile boyanmış, fotoğraf makinesi ataçmanlı Olympus BX 51 (Olympus Corp. Tokyo, Japan) marka mikroskop ile incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

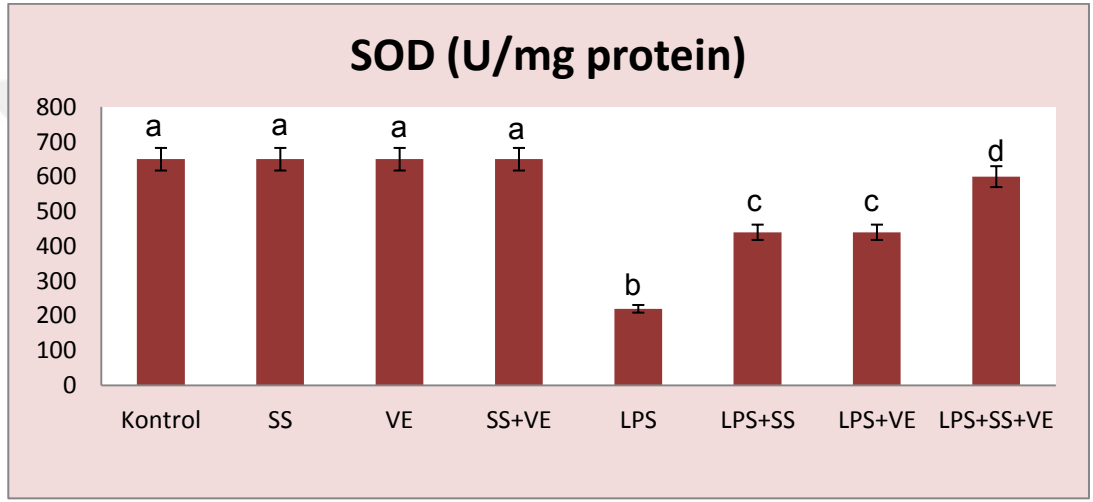
2.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmada verilen istatistiksel analizlerin tamamı Windows SPSS 11.5 bilgisayar programında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi ile yapılmıştır. p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Bulgular

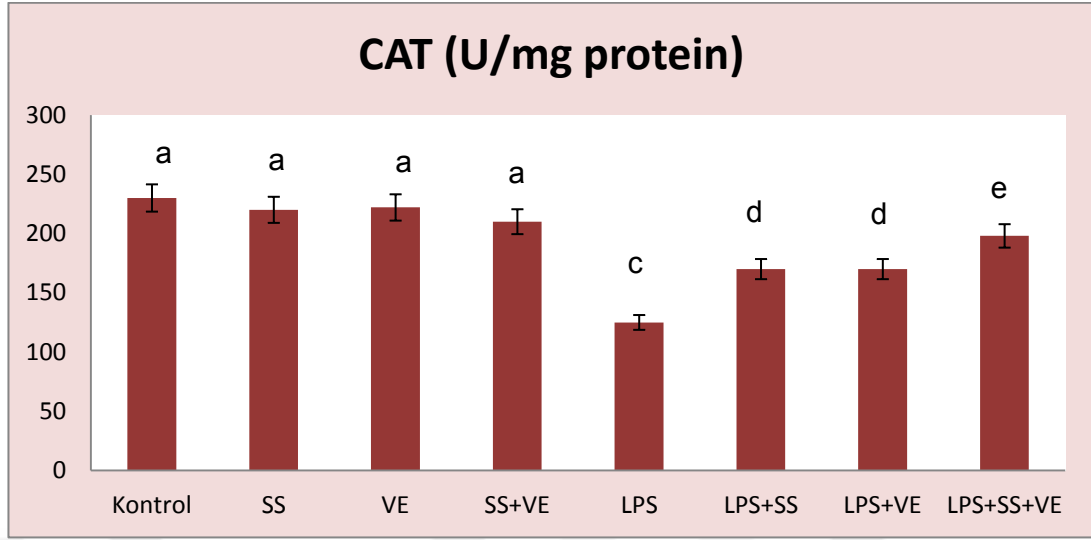
SOD enzim aktivitesi LPS uygulanan grupta kontrol grubuna, SS, VE ve SS+VE gruplarına göre anlamlı bir azalma göstermiştir. LPS+SS ve LPS+VE uygulanan gruplar LPS grubuna göre anlamlı bir artış göstermiş ve LPS+SS+VE uygulanan grupta SOD aktivitesi LPS+SS ve LPS+VE gruplarına göre belirgin bir artış göstermiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kontrol ve uygulama grupları arasında SOD aktivitelerinin karşılaştırılması

Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir, aynı harfteki gruplar arasında farklılık bulunmamaktadır.

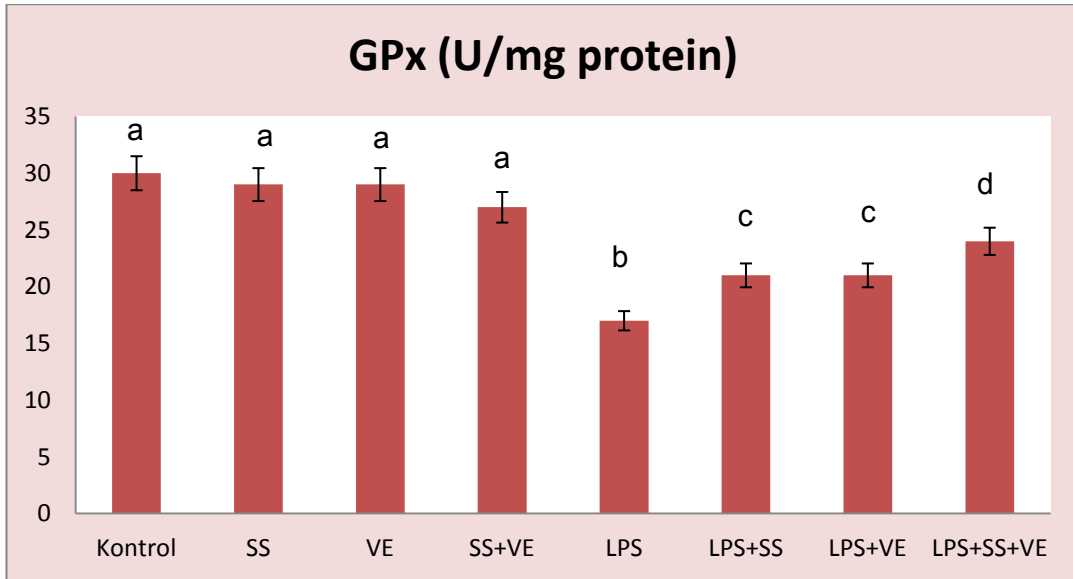
LPS uygulanan grupta CAT enzim aktivitesi kontrol grubuna ve SS, VE, SS+VE gruplarına göre anlamlı bir azalma göstermektedir. LPS+SS ve LPS+VE uygulanan gruplarda LPS uygulanan gruba göre anlamlı bir artış göstermiş ve LPS+SS+VE uygulanan grupta CAT aktivitesi LPS+SS ve LPS+VE gruplarına göre daha çok arttığı tespit edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Kontrol ve uygulama grupları arasında CAT aktivitelerinin karşılaştırılması

Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir, aynı harfteki gruplar arasında farklılık bulunmamaktadır.

GPx aktivitesi LPS uygulanan grupta, kontrol grubu ve SS, VE, SS+VE uygulanan gruplara göre anlamlı bir azalma göstermiştir. LPS+SS ve LPS+VE uygulanan gruplarda LPS grubuna göre GPx aktivitesinde artış göstermiş ve LPS+SS+VE uygulanan grupta GPx aktivitesi LPS+SS ve LPS+VE gruplarına göre daha çok artış olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.3).

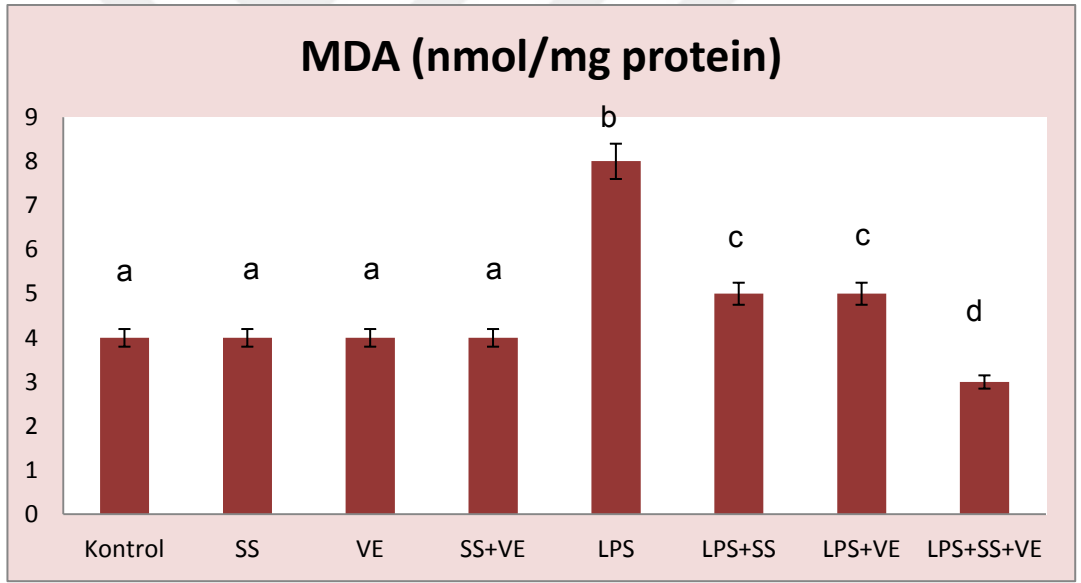


Şekil 3.3. Kontrol ve uygulama gruplarında GPx aktivitelerinin karşılaştırılması

Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir, aynı harfteki gruplar arasında farklılık bulunmamaktadır.

3.2. MDA Miktarının Değerlendirilmesi

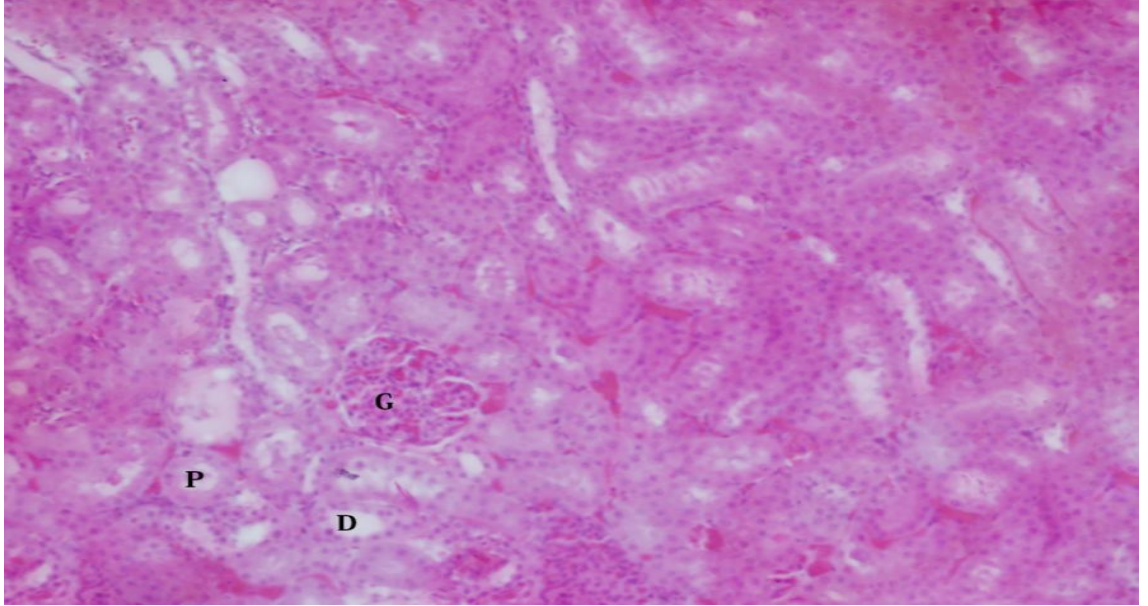
MDA seviyesi bakımından LPS uygulanan grupla kontrol grubu ve SS, VE ve SS+VE uygulanan gruplar karşılaştırıldığında MDA seviyesinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. Ancak LPS+SS ve LPS+VE uygulanan gruplar LPS uygulanan grupla karşılaştırıldığında MDA seviyesinde anlamlı bir azalma meydana geldiği belirlenmiştir. MDA seviyesi bakımından en fazla artış LPS uygulanan sıçanlarda belirlenmiştir. LPS+SS+VE uygulanan grup LPS+SS ve LPS+VE uygulanan gruplarla kıyaslandığında MDA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Kontrol ve uygulama grupları arasında MDA seviyelerinin karşılaştırılması Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir, aynı harfteki gruplar arasında farklılık bulunmamaktadır.

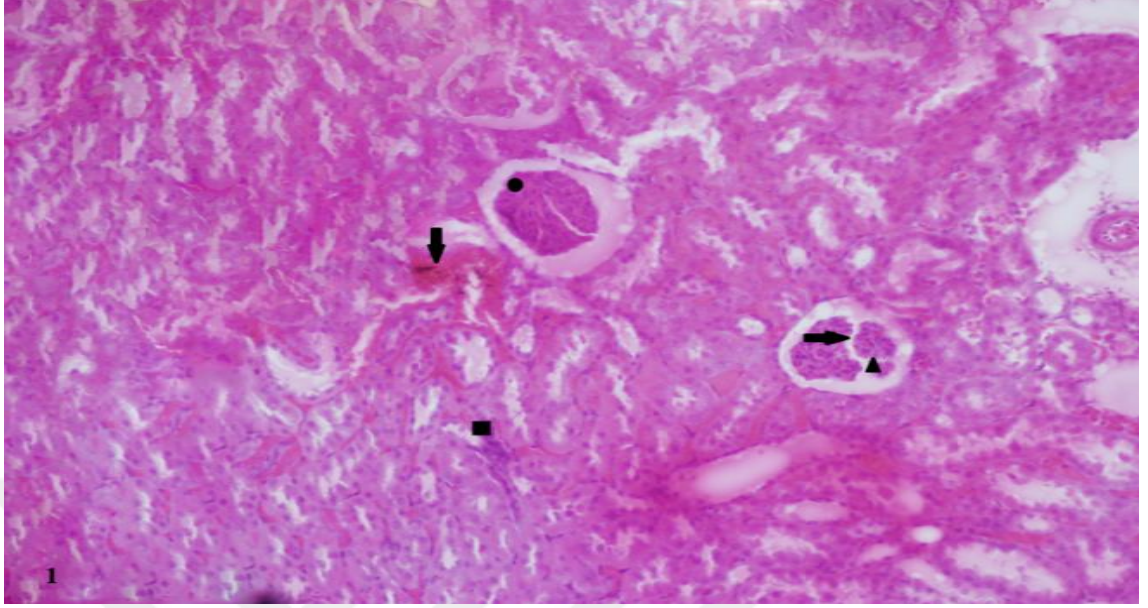
3.3. Histolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait bireylerin Hematoksilen&Eozin boyası ile boyanan böbreklerinde, korteksdeki distal tübül, proksimal tübül ve glomerular yumağı düzenli yapılanma gösterirken (Şekil 3.5), LPS uygulanan bireylerin böbreklerinde oldukça belirgin değişiklikler meydana geldiği tespit edildi. LPS uygulanan ratlara ait böbrek kesitinde hemoraji, tübüler dejenerasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, glomerular lobulasyon, bowman kapsülünde genişlemeler ve glomerular atrofi izlendi (Şekil 3.6 ve Şekil 3.7). LPS+SS uygulanan grupta hemoraji ve nekroz meydana geldiği (Şekil 3.8), LPS+VE uygulanan grupta yalnızca nekroz meydana geldiği görülmüştür (Şekil 3.9). LPS+SS ve LPS+VE uygulanan gruplar LPS uygulanan grupla karşılaştırıldığında daha az patolojik olay meydana geldiği görülmüştür. LPS+SS+VE uygulanan ratlarda tübüllerde dejenerasyon izlenmiştir (Şekil 3.10). SS ve VE'nin beraber uygulanması, ayrı ayrı uygulanmalarına oranla patolojik etkiyi daha da azalttığını göstermiştir.



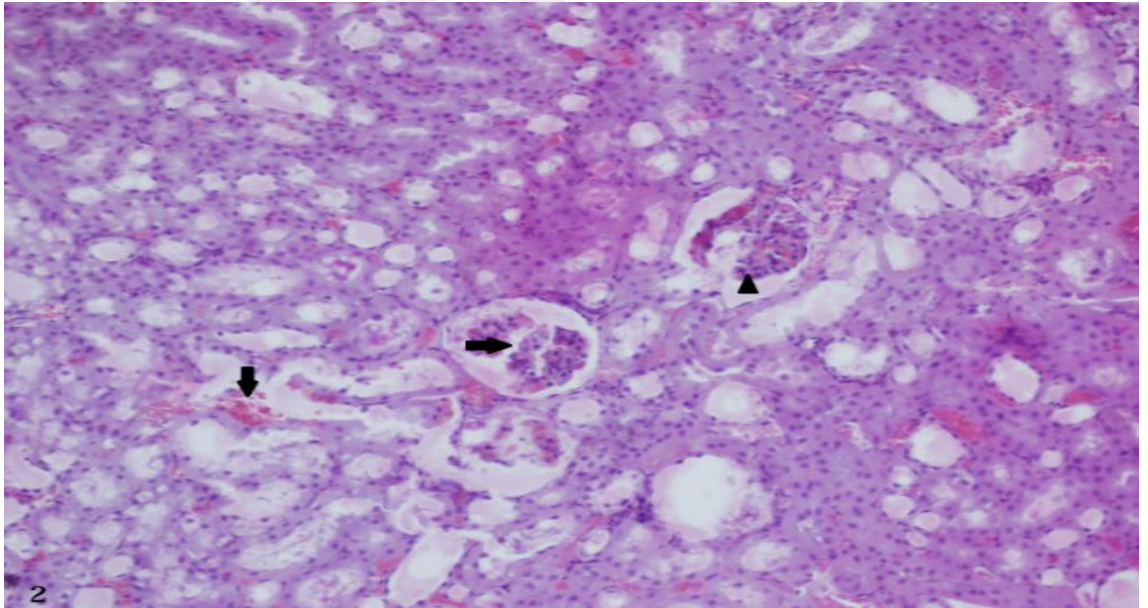
Şekil 3.5. Kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı

Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde glomerulus (G), proksimal tübül (P) ve distal tübül (D). X200.



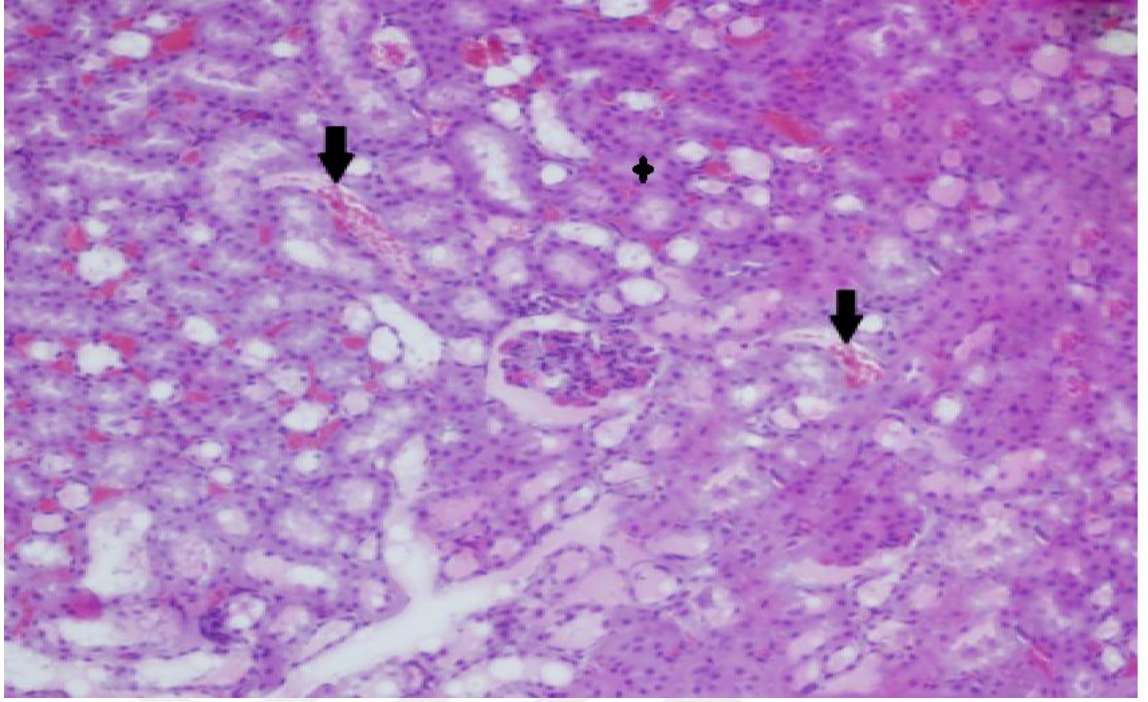
Şekil 3.6. LPS uygulanan gruptaki sıçanların böbrek histolojik yapısı

LPS uygulanan gruptaki sıçanların böbrek korteksinde hemoraji (↓), glomerular lobulasyon (→), bowman kapsülünde genişleme (▲), glomerular atrofi (●), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (■). X200.



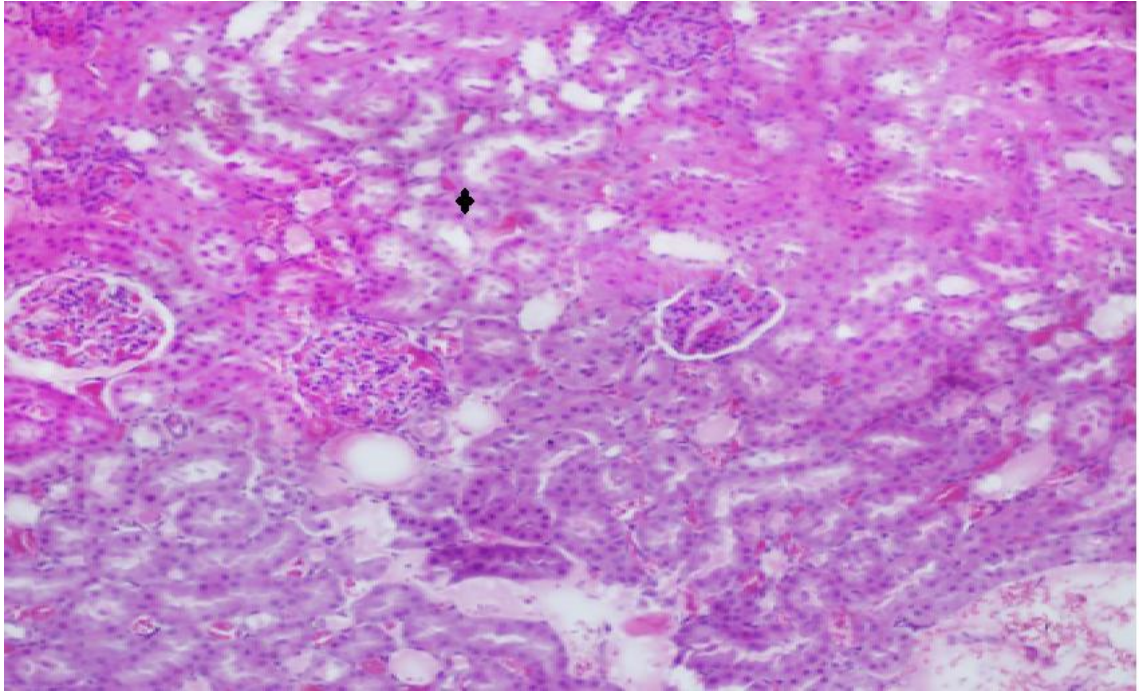
Şekil 3.7. LPS uygulanan gruptaki sıçanların böbrek histolojik yapısı

LPS uygulanan gruptaki sıçanların böbrek korteksinde hemoraji (↓), glomerular lobulasyon (→), bowman kapsülünde genişleme (▲). X200.



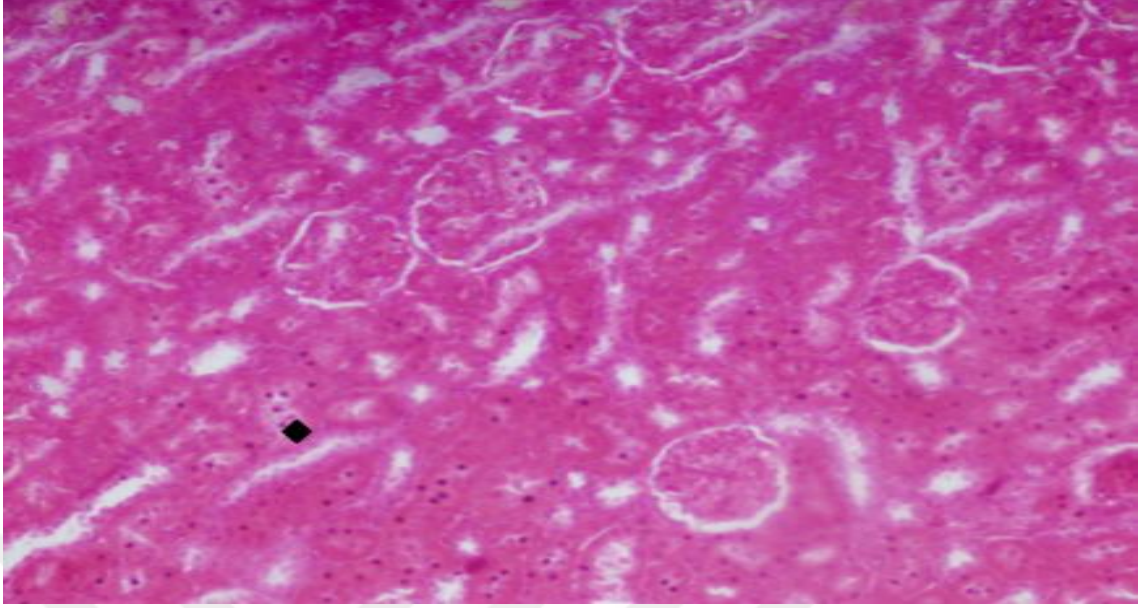
Şekil 3.8. LPS+SS uygulanan gruptaki ratların böbrek histolojik yapısı

LPS+SS uygulanan gruptaki hayvanların böbrek korteksinde hemoraji (↓) ve nekroz (+). X200.



Şekil 3.9. LPS+VE uygulanan gruptaki ratların böbrek histolojik yapısı

LPS+VE uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde nekroz (+). X200.



Şekil 3.10. LPS+SS+VE uygulanan gruptaki ratların böbrek histolojik yapısı

LPS+SS+VE uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde tübüler dejenerasyon(◆).X200

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sepsis olayının nedeni mikroorganizmalar veya toksinler olsa da, organizmanın immün tepkisi yaygın inflamasyon, çoklu organ fonksiyon bozukluğu ve organ yetmezliği ile sonuçlanır. Organizmaya giren LPS, önce LPS bağlayıcı proteine bağlanır. Birçok hücre tipinde enflamatuar sitokinler, Hsp proteinleri, ROS ve reaktif azot türleri (NO, O₂, ONOO, OH ve H₂O₂) üretiminde aşırı bir artış meydana gelir [72, 73]. Sepsis, organ fonksiyon bozukluğu ve organ ölümü, hücre hipoksisine ve apoptoza neden olmaktadır [74]. Apoptoz akciğer, karaciğer, böbrek ve bağırsak dokuda da tespit edilmiştir [75].

Gram(-) bakterilerin hücre duvarının bir bileşeni olan LPS, laboratuvar hayvanlarında deneysel endotoksemi üretmek için yaygın olarak kullanılır. Her ne kadar *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi birçok gram-negatif bakteriden LPS elde edilmiş olsa da, mevcut olan LPS, *E. coli* tiplerinden olan O26: B6, O55:B5, O111:B4 suşlarından elde edilmektedir. LPS ve septik şok ile ilgili metabolik, immünolojik, fizyolojik, toksikolojik ve farmakolojik çalışmalar yürütülmektedir. Literatürler incelendiğinde, uygulanan dozların 1 mg/kg ile 80-100 mg/kg arasında geniş bir doz aralığına sahip olduğu belirlenmiştir [76, 77]. Bu çalışmada, *E. coli*'nin O55:B5 serotiplerinden elde edilen LPS kullanılmıştır. LPS, çalışmada kullanılan sıçanlara 10 mg/kg dozunda enjekte edilmiştir. SS ve VE verildikten 6 saat sonra böbrek dokusu üzerinde patolojik değişimler, MDA seviyesi ve antioksidan enzim aktiviteleri ortaya konulmuştur.

Sepsis sırasında gözlenen redoks dengesizliği, sepsis araştırmalarında çok önemli rol oynayan oksidatif strese, organ hasarına ve endotel disfonksiyonuna yol açmaktadır. Septik şoklu hastalarda antioksidan koşullarına bakıldığında retinol (Vitamin A), VE, beta-karoten ve likopen plazma konsantrasyonlarının azalmış olduğu tespit edildiği bildirilmiştir [78]. Galley ve ark. septik hastalardaki artmış redoks-reaktif demir konsantrasyonlarını bildirmişler ve C vitamini düzeylerinin plazma seviyelerindeki düşüşü, lipit peroksidasyonunun artmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir [79]. MDA, hücre ve hücre içi membranlar ile ROS arasındaki etkileşmeden kaynaklanan lipit peroksidasyonunun son ürünüdür [80]. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran

bileşenlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerleşmesine neden olur. Bu reaksiyonlar sonucu, deformasyon, iyon taşınması, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyi bileşenlerinin toplanması gibi içsel zar özelliklerinde değişiklikler meydana gelmektedir [81]. Bu özellikler nedeniyle, MDA mutajenik hücre kültürleri için genotoksik ve kanserojendir [74]. SOD, biyolojik sistemlerde serbest radikal kaynaklı işlemlerin düzenlenmesi için büyük düzenlemeye sahip bir antioksidan enzimdir [82]. SOD, ROS'a bir elektron vererek H₂O₂'yi bir süperoksit'e indirgerken, CAT ve GPx H₂O₂'yi degrade eder. Antioksidanlar, hücrede artan ROS'u yakalar, hücre zarındaki lipit peroksidasyonunu bloke ederek koruma sağlar. Aynı zamanda, inflamasyon sitokinlerin ve endotoksinin sinyal iletimini bloke eder veya inflamasyon yanıtını erken dönemde değiştirir, böylece hücrel aktivasyonu düzenler [83]. Bu çalışmada sıçanlar 6 saat LPS'ye maruz bırakılmıştır. LPS uygulanan grup, MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiş ve uygulama süresi sonunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinde azalma görülmüştür. LPS+SS, LPS+VE, LPS+SS+VE grubuna ait MDA seviyesi ve antioksidan enzimlerinin aktivitesi istatistiksel olarak incelendiğinde MDA seviyesinde azalma SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinde anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir.

LPS, memelilerde ve diğer canlı dokularda histopatolojik ve sitopatolojik değişikliklere neden olmaktadır. LPS'den en çok etkilenen organlar böbrek [84], karaciğer [74] ve akciğerler [85]'dir. Birçok çalışma, LPS'nin böbreği etkilediğini göstermiştir [84, 86]. Bir çalışmada, ışık mikroskobu altında yapılan inceleme sonucunda, LPS uygulanan sıçanların böbreklerinde dejenerasyon, nekroz ve renal tübüler vakuolar gibi değişiklikler bildirilmiştir [84]. Bu çalışmada, LPS'nin 6 saat uygulamasında sıçanlara intraperitoneal olarak verilmiş olup, böbrek dokusu üzerine etkileri araştırılmıştır. LPS uygulanan sıçanların böbrek dokuları ışık mikroskobu altında incelendiğinde, kanama, inflamasyon, hücre infiltrasyonu, tübüler dejenerasyon, glomerüler atrofi, glomerüler lobulasyon ve Bowman kapsülünde dilatasyon tespit edilmiştir. Histopatolojik olarak LPS + SS, LPS + VE ve LPS + SS + VE uygulama gruplarında LPS uygulanan gruba göre patolojik değişimlerde azalma gözlenmiştir.

Yüksek sepsis mortalitesi, her yıl vaka sayısındaki artış ve klinik araştırmaların başarısızlık sonuçları modern tıbbi sorgulamaya devam etmektedir. Sepsiste antimikrobiyal ve destekleyici tedavi olabilecek kanıtlanmış çok az ajan bulunmaktadır. Mortalite oranlarını azaltmak için sistemik bir inflamatuvar yanıt sendromu olan sepsis ile ilgili araştırmalara daha çok ihtiyaç vardır. Sepsis fizyopatolojisi oldukça karmaşık olduğu için, moleküler biyolojideki gelişmeler de sepsis alanına yansımıştır ve bu karmaşık reaksiyonlarda birçok nokta daha anlaşılır hale gelmiştir. Bu çalışmada VE ve/veya SS, sıçanlarda LPS ile indüklenen nefrotoksisiteyi önemli ölçüde azaltmıştır, fakat tamamen koruyamamıştır. Buna rağmen, antioksidanların veya kombinasyonlarının en koruyucu olanının etkisini bulmak için daha fazla çalışma yapılmalı ve böylece ölümler azaltılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Ertürk, B., Akciğer kanserli hastalarda malondialdehit (MDA) ve total antioksidan kapasite (TAOK) düzeyi ölçümü ile oksidan-antioksidan dengenin araştırılması, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Süreyyapaşa Göğüs ve Kalp-Damar Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2010.
2. Gökpınar, Ş., et al., Algal antioksidanlar. E.Ü. Su Ürün. Der., 23, 85-89, 2006.
3. Cohen, J., The immunopathogenesis of sepsis. Nat., 420, 885-91, 2002.
4. Appelmelk, B.J., Lynn, W.A., The cause of sepsis: bacterial cell components that trigger the cytokine cascade. In: Dhainaut JF, Thijs LG, Park G. Eds. Septic shock, 1st Ed. Çin: W.B Saunders Co, 21-26, 2000.
5. Lohuis, J.A.C.M., et al., Pathophysiological effects of endotoxins in ruminants. 1.Changes in body temperature and reticulo-rumen motility and the effect of repeated administration, Vet. Q., 10(2), 109-116, 1988.
6. Lewis, D.H., et al., The immunopathology of sepsis: pathogen recognition, systemic inflammation, the compensatory anti-inflammatory response, and regulatory T cells, J. Vet. Intern. Med., 26(3), 457-482, 2012.
7. Skirecki, T., et al., Sepsis immunopathology: perspectives of monitoring and modulation of the immune disturbances, Arch. Immunol. Ther. Exp., 60(2), 123-135, 2012.
8. Fışgın, N.T., Sepsis, OMÜ Tıp Der., 21(2), 100-109, 2004.
9. İskit, A.B., et al., The effects of bosentan, aminoguanidine and L-canavine on mesenteric blood flow, spleen and liver in endotoxaemic mice, Euro. J. Pharmacol., 379, 73-80, 1999.
10. İskit, A.B., Güç, M.O., The timing of endotelin and nitric oxide inhibition affects survival in a mice model of septic shock, Euro. J. Pharmacol., 414, 281-287, 2001.
11. dos Santos, R.A., et al., Protection of doxorubicin-induced DNA damage by sodium selenite and selenomethionine in Wistar rats, Nut. Res., 27, 343-348, 2007.
12. Kaur, P., et al., The in vitro effects of selenomethionine on methylmercury-induced neurotoxicity, Toxicol. Vit., 23, 378-385, 2009.
13. Büyükakyüz, N., et al., Kanser profilaksisinde antioksidan maddelerden E vitamini ve selenyumun önemi, Diş Hek. Klin. Der., 12, 136-139, 2000.
14. Vernie, L.N., Selenium in carcinogenesis, Biochim. Biophys. Acta, 738, 203-217, 1984.
15. Luo, Y., et al., Preparation, characterization and evaluation of selenite-loaded chitosan/TPP nanoparticles with or without zein coating, Carbohydr. Polym., 82, 942-951, 2010.
16. Hintz, F.H., The many phases of selenium, nutrition, J. Equine Vet. Sci., 4, 9-22, 1999.
17. Orun, I., et al., Antioxidative role of selenium on some tissues of (Cd²⁺, Cr³⁺)-induced rainbow trout, Ecotoxicol. Environ. Saf., 71, 71-75, 2008.
18. Vural, N., Toksikoloji, Ankara Üni. Ecz. Fak. Yay., Ankara, 555-560, 2005.
19. Derviş, E., Oral antioksidanlar, Derm., 2(1), 263-267, 2011.
20. Csanaky, I., Gregus, Z., Effects of selenite on the disposition of arsenate and arsenite in rats, Toxicol., 186, 33-50, 2003.

21. Grosicki, A., Kowalski, B., Lead, cadmium and mercury influence on selenium fate in rats, *B. Vet. I. Pulawy*, 46, 337-343, 2002.
22. Fahmy, M.A., et al., Studies on the genotoxic effect of beryllium chloride and the possible protective role of selenium/vitamins A, C and E, *Mutat. Res.*, 652, 103-111, 2008.
23. Foster, L.H., Sumar, S., Selenium in health and disease: a review, *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, 37, 211-228, 1997.
24. Dimitrov, N.V., et al., Abrogation of adriamycin-induced cardiotoxicity by selenium in rabbits, *Am. J. Pathol.*, 126, 376-383, 1987.
25. Molina, H., Garcia, M., Enzymatic defenses of the rat heart against lipidperoxidation, *Mech. Ageing Dev.*, 97, 1-7, 1997.
26. Mydlik, M., et al., Vitamin E-coated dialyzer and antioxidant defense parameters: Three-month study, *Semin. Nephrol.*, 24(5), 525-531, 2004.
27. Marcus, R., Coulston, A.M., Vitamins in; Gilman AG (ed). *Goodman and Gilman's, Pharm. Comp.*, 1585-1590, 1996.
28. Kayaalp, O., *Tıbbi Farmakoloji*, Cilt 2, Baskı No 9, Hacettepe Taş Kitabevi, 1541-1575, Ankara, 2000.
29. Samur, G., *Vitaminler mineraller ve sağlığımız*, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2008.
30. Noworyta-Sokoowska, K., et al., LPS-induced oxidative stress and inflammatory reaction in the rat striatum, *Pharmacol. Reports.*, 65, 863-869, 2013.
31. Kazanç, M.B., *Antioksidan vitaminler*, Sendrom, 14-23, 1997.
32. Olson, R.E., Vitamin E and its relation to heart disease, *J. Am. Heart. Assoc.*, 48, 179-184, 1973.
33. Packer, L., Protective role of vitamin E in biological systems, *Am. J. Clin. Nutr.*, 53, 1050-1055, 1991.
34. Janero, D.R., Therapeutic potential of vitamin E against myocardial ischemic reperfusion injury, *Free Radic. Biol. Med.*,
35. Young, I.S., Woodside, J.V., Antioxidants in health and disease, *J. Clin. Pathol.*, 54, 176-186, 2001.
36. Schneider, C., Chemistry and biology of vitamin E, *Mol. Nutr. Food. Res.*, 49, 7-30, 2005.
37. Dündar, Y., Aslan, R., Bir antioksidan olarak vitamin E, *Gen. Tıp Der.*, 9 (3), 109-116, 1999.
38. Kalender, Y., et al., Effects of diazinon on pseudocholinesterase activity and haematological indices in rats: The protective role of Vitamin E, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 22, 46-51, 2006.
39. Kalender, S., et., Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 88, 213-218, 2007.
40. Kalender, S., et al., Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E, *Food Chem. Toxicol.*, 48, 633-638, 2010.
41. Sobacı, G., et al., Deneysel fototromboz modelinde E vitamininin antioksidan etkinliğinin ince yapı düzeyinde incelenmesi, *Turk. J. Ophthalmol.*, 2, 323-327, 1993.
42. Söğüt, S., et al., Sıçanlarda sisplatin ile oluşturulan nefrotoksisitede bazı metabolik enzim aktiviteleri ve bunlarüzerine E vitamininin etkileri, *Tıp Araş. Der.*, 2(1), 23-28, 2004.

43. <https://www.sodyum.gen.tr/sodyum-selenit.html>
44. Birrel, A.M., et al., Functional and structural abnormalities in the nerves of type 1 diabetic baboons: aminoguanidine treatment does not improve nerve function, *Diabetologia*, 43, 110-116, 2000.
45. Rumley, A.G., Paterson, J.R., Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry, *Ann. Clin. Biochem.*, 35, 181-200, 1998.
46. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., *Free Radicals in Biology and Medicine* 2nd ed. Oxford, Clarendon Press, 10, 187-288, 1996.
47. Esterbauer, H., et al., Separation and characterization of the aldehydic products of lipid peroxidations stimulated in rat liver microsomes, *Biochem. J.*, 129-140, 1982.
48. Yerer, M.B., Aydoğan, S., Oksidatif stres ve antioksidantlar, *Erciyes Üniv. Sağ. Bil. Der.*, 9, 49-53, 2000.
49. Freeman, B.A., Crapo, J.D., Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lung and lung mitochondria, *J. Biol. Chem.*, 256, 10986-10992, 1981.
50. Mercan, U., Toksikolojide serbest radikallerin önemi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, s:15: 91-96, Van, 2004.
51. Krishnan, N., Kodrik, D., Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): Are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress, *J. Insect Physiol.*, 52, 11-20, 2006.
52. Halliwell, B., Drug antioxidant effects. A basis for drug selection, *Drugs*, 42(4), 569-605, 1991.
53. Gutteridge, J.M.C., Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage, *Clin. Chem.*, 41(12), 1819-1828, 1995.
54. Bhagavan, N.V., *Medical biochemistry*, Harcourt Academic Press, Kanada, 2002.
55. Noumohammadi, I., et al., Evaluation of erythrocyte glutathione peroxidase, superoxide dismutase and total antioxidants in cataract patients, *Arch. Irn. Med.* 4, 123-126, 2001.
56. Sun, Y.I., et al., A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clin. Chem.*, 34, 497-500, 1998.
57. Çaylak, E., Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar, *Tıp Araş. Der.*, 9(1), 73-83, 2011.
58. Akkuş, İ., Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, *Mimoza Yayınevi*, s:1-3, 32-37, 46-48, Konya, 1995.
59. Yılmaz, S., Temizer, O., Meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki, *Türk. Biyokim. Derg.*, 28: 252-256, 2003.
60. Aly, H.A.A., et al., Effect of nonylphenol on male reproduction: Analysis of rat epididymal biochemical markers and antioxidant defense enzymes, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 261, 134-141, 2012.
61. Kılınç, K., Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. *Biyokim. Derg.*, 11, 59-76, 1986.
62. Hall, J.E., Guyton, A.C., *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. 12th ed. 2011, Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier. 1091 p.
63. Johnson, R.J., et al., *Comprehensive clinical nephrology*. Fifth edition. ed, Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders. xx, 1299 pages, 2015.
64. Wein, A.J., et al., *Campbell, Campbell-Walsh urology*. 10th ed., Philadelphia, PA: Elsevier Saunders, 2012.

65. Fetoui, H., et al., Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid, *Exp. Toxicol. Pathol.*, 62, 593-599, 2010.
66. Russel, K., Roussel, A.J., Evaluation of the ruminant serum chemistry profile, *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.*, 23, 403-426, 2007.
67. Afshar, S., Farshid, A.A., Heidari, R., Ilkhanipour, M., "Histopathological changes in the liver and kidney tissues of Wistar albino rat exposed to fenitrothion", *Toxicology and Industrial Health*, 24: 581-586 (2008).
68. Ohkawa, H., et al., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal. Biochem.*, 95, 351-358, 1979.
69. Marklund, S., Marklund, G., Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *Eur. J. Biochem.*, 47, 469-474, 1974.
70. Aebi, H., Catalase in vitro, *Method. Enzymol.*, 105, 121-126, 1984.
71. Paglia, D.E., Valentine, W.N., Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathione peroxidase, *J. Lab. Med.*, 70, 158-165, 1987.
72. Lin, N.T., et al., Inducible nitric oxide synthase mediates cytokine release: the time course in conscious and septic rats, *Life Sci.*, 78(10), 1038-1043, 2006.
73. Sanikidze, T.V., et al., Role of free nitrogen and oxygen radicals in the pathogenesis of lipopolysaccharide induced endotoxemia, *Bull. Exp. Biol. Med.*, 141(2), 211-215, 2006.
74. Doğanyığıt, Z., et al., Protective effects of propolis on female rats' histopathological, biochemical and genotoxic changes during LPS induced endotoxemia. *Phytomedic.*, 20, 632-639, 2013.
75. Hotchkiss, R.S., et al., Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction, *Crit. Care. Med.*, 27(7), 1230-1251, 1999.
76. Blaszyk, K., et al., Impact of low and high molecular weight oat beta-glucan on oxidative stress and antioxidant defense in spleen of rats with LPS induced enteritis. *Food Hydrocoll*, 51, 272-280, 2015.
77. Kalaz, E.B., et al., Protective effects of carnosine alone and together with alpha-tocopherol on lipopolysaccharide (LPS) plus ethanol-induced liver injury. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 42, 23-29, 2016.
78. Goode, H.F., et al., Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction, *Crit. Care. Med.*, 23, 646-651, 1995.
79. Galley, H.F., et al., The effects of intravenous antioxidants in patients with septic shock. *Free Radic. Biol. Med.* 23, 768-774, 1997.
80. Uzun, F.G., et al., Protective effect of catechin and quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats. *Food Chem. Toxicol.*, 45, 1714-1720, 2010.
81. Noworyta-Sokoowska, K., et al., LPS-induced oxidative stress and inflammatory reaction in the rat striatum, *Pharmacol. Reports.*, 65, 863-869, 2013.
82. Denisov, E.T., Afanas'ev, I.B., *Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology*. New York, NY: Taylor and Francis, 835-903, 2009.
83. Victor, V.M., et al., Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis, *Int. Immunopharm.*, 4(3), 327-347, 2004.
84. Chen, D., et al., Esculetin inhibits LPS-induced acute kidney injury by activating PPAR-g, *Microb. Pathog.*, 110, 208-213, 2017.

- 85.** Zhang, X., et al., A novel role of endocan in alleviating LPS-induced acute lung injury, *Life Sci.*, 202, 89–97, 2018.
- 86.** Dian, F., et al., MiRNA-21 has effects to protect kidney injury induced by sepsis, *Biome. Pharmacother.*, 94, 1138–1144, 2017.



ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Hatay'da doğan Fatma İLÇE, ilk, orta ve lise öğrenimini sırasıyla Kurtlusöğüksü İlköğretim Okulu, Kırıkhan Lisesi'nde tamamlamıştır. 2010 yılında kazandığı Yozgat Bozok Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü 2016 yılında bitirmiştir.

2015 yılında, Yozgat Bozok Üniversitesi Eğitim Fakültesi Pedagojik Formasyon eğitimini başarıyla tamamlamıştır.

2017 yılında yüksek lisans eğitimine Yozgat Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalında Prof. Dr. Dilek PANDIR danışmanlığında başlamıştır.

Yayın

İlçe F., Gök G., Pandır D. Acute effects of LPS on kidney of rats and preventive role of Vitamin E and Sodium selenite. Human and Experimental Toxicology 2019 May;38(5):547-560.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler

1. Per S., Koç K., İlçe F., Pandır D. Changing membran morphology induced by dichlorvos and protective role of lycopene. International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2017). 05-08 July 2017, Belarus.

2. Demirbağ A., Doğanyığıt Z., Bekdemir F.O., İlçe Z., Koç K., İlçe F., Pandır D., Per S. Usage random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprint in liver tissue on male rats. 1st International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018). 26-27 April 2018, Ankara.

3. Demirbağ A., Doğanyığıt Z., Bekdemir F.O., İlçe Z., Koç K., İlçe F., Pandır D., Per S. Endotoxemia Induced DNA Damage in Rat Lung. 1st International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018). 26-27 April 2018, Ankara.

4. Demirbağ A., Koç K., İlçe F., Bekdemir F.O., İlçe Z., Pandır D. Evaluate the toxicity of mercury chloride on human erythrocytes form *in vitro*. 1st International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018). 26-27 April 2018, Ankara.

5. Demirbağ A., Per S., Bekdemir F.O., İlçe Z., Koç K., İlçe F., Pandır D., Doğanyığıt Z. Effect of lipopolysaccharide on antioxidant capacity of rat brain. 9th Ecology Symposiums 2018, 19-23 June, 2018 Kastamonu.

6. Demirbağ A., İlçe Z., Bekdemir F.O., Koç K., İlçe F., Per S., Pandır D., Doğanyığıt Z. Determination toxicity of lipopolysaccharide with antioxidant capacity in rat pancreas. 9th Ecology Symposiums 2018, 19-23 June, 2018 Kastamonu.

7. Demirbağ A., Bekdemir F.O., **İlçe F.**, Koç K., İlçe Z., Pandır D. Determination toxicity of lead nitrate with antioxidant capacity in *A. cepa*. 9th Ecology Symposiums, 19-23 June, 2018 Kastamonu.

8. Demirbağ A., Bekdemir F.O., **İlçe F.**, Koç K., İlçe Z., Pandır D. Protective effect of sodium selenite against H₂O₂ in *A. cepa*. 9th Ecology Symposiums, 19-23 June, 2018 Kastamonu.

Proje

Ratlarda LPS'nin sebep olduğu endotoksemi üzerine sodyum selenit ve Vitamin E'nin koruyucu rolü. Bozok Üniversitesi BAP Projesi, 6601-FBE/18-218, Proje Araştırmacısı (9.940,60 TL).