

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**DENEYSEL RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON MODELİNDE  
OKSERUTİN'İN BÖBREK İSKEMİ- REPERFÜZYON HASARI  
VE APOPİTOZİS ÜZERİNE MUHTEMEL KORUYUCU  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Ahmet GÜZEL**

**UZMANLIK TEZİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**I. DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Alper ÖZORAK**

**II. DANIŞMAN**

**Doç. Dr. A. Sedat SOYUPEK**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi  
tarafından 3457-TU2-13 Proje numarası ile desteklenmiştir**

**ISPARTA-2013**

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli danışman hocalarım Yrd. Doç. Dr. Alper ÖZORAK ve Doç. Dr. A. Sedat SOYUPEK başta olmak üzere Prof. Dr. T. Ahmet SEREL, Prof. Dr. Alim KOŞAR, Prof. Dr. Hakkı PERK, Doç. Dr. Abdullah ARMAĞAN ve Yrd. Doç. Dr. Taylan OKSAY hocalarıma,

Beş yıllık uzmanlık eğitimim sürecinde iyi kötü pek çok şey paylaştığımız ve bu süreçte hep yanımda olup zor ve sıkıntılı günlerimde desteğini esirgemeyen başta eş kıdemlim Sefa Alperen ÖZTÜRK ve tüm asistan arkadaşlarıma, başta Selma SÖNMEZ olmak üzere tüm hemşire arkadaşlarıma, sekreter arkadaşlarıma ve tüm servis ve ameliyathane personeline,

Tez çalışmamda deneysel modelin oluşturulmasında emeği geçen Tıbbi Biyoloji öğretim görevlisi Vet. Hek. İbrahim ONARAN ve HÜDAL personeline,

Tez çalışmamda biyokimyasal analizlerin yapılmasında yardımcı olan Biyokimya AD öğretim üyesi Doç. Dr. Efkan UZ ve asistan arkadaşım Dr. Özlem YÜKSEL'e,

Tez çalışmamda histopatolojik analizlerin yapılmasında yardımcı olan Patoloji AD öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. K.Kemal BOZKURT ve patoloji personeli Vasfi Bey'e,

Çalışmamızın verilerinin istatistiksel değerlendirilmesinin yapılmasında değerli bilgilerini bizimle paylaşan SDÜ Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Özgür KOŞKAN'a,

Doktora projemi destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Hayatım boyunca beni her konuda tereddütsüz destekleyen, her zaman yanımda olan canım aileme,

CANIM EŞİM K. Görkem ULU GÜZEL'e

Teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
2.1. Böbreğin Anatomisi .....	4
2.2. Böbrek Fizyolojisi .....	5
2.3. Böbrek Kan Akımı .....	7
2.4. Böbrek Fonksiyonları .....	9
2.5. Parsiyel Nefrektomi ve İskemik Akut Böbrek Yetmezliği .....	10
2.6. İskemi-Reperfüzyon (I/R) Hasarının Fizyopatolojisi .....	11
2.6.1. İskemik Hasar .....	11
2.6.1.1. Geridönüşümlü Hasar .....	12
2.6.1.2. Geridönüşümsüz Hasar .....	12
2.6.2. Reperfüzyon Hasarı .....	13
2.6.3. İskemi-Reperfüzyon Hasarında Kompleman, Endotel Ve Lökositlerin Rolü.....	14
2.7. Akut Böbrek Yetmezliğinin Tanısı .....	14
2.7.1. Sistatin-C .....	15
2.7.1.1. Sistatin-C Ölçüm Metodları .....	17
2.8. Serbest Radikaller.....	17
2.8.1. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları .....	18
2.8.1.1. Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları .....	18
2.8.1.2. Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları .....	18
2.8.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu Ve Hücreye Zararlı Etkileri ....	19
2.8.3. Renal Korunma İçin Antioksidanlar .....	20
2.8.3.1. Enzimatik Antioksidanlar.....	20
2.8.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar .....	20
2.8.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri .....	21

2.8.4.1. Total Oksidan Seviye-Total Antioksidan Kapasite-Oksidatif Stres İndeksi.....	21
2.8.4.1.1. Total Antioksidan Kapasite(Seviye) (TAK-TAS).....	21
2.8.4.1.2. Total Oksidan Seviye (TOS) .....	22
2.8.4.1.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) .....	22
2.9. Flavonoidler.....	22
2.9.1. Okserutin.....	23
<b>3. MATERYAL ve METOD .....</b>	<b>25</b>
3.1. Deney Hayvanları.....	25
3.2. Okserutinün Hazırlanması.....	26
3.3. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması ve Deneyin Yapılışı .....	28
3.4. Serum Örneklerinin Hazırlanması.....	30
3.5. Doku Örneklerinin Hazırlanması .....	30
3.6. Biyokimyasal İnceleme .....	31
3.6.1. Serum Bun, Kreatinin, Üre Analizi .....	31
3.6.2. Serum TNF- $\alpha$ , Sistatin-C Analizi .....	31
3.6.3. Dokuların Homojenizasyonu .....	31
3.6.4. Doku TAS(TAK)-TOS Analizi .....	32
3.7. Patolojik İnceleme.....	32
3.7.1. Hematoksilin Eozin İle Boyama ile Histopatolojik Değerlendirme .....	32
3.7.2. Insitu Cell Detection Tunel (Apoptosis) Analizi.....	33
3.8. İstatistiksel Değerlendirme.....	33
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>35</b>
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	35
4.2. Histopatolojik Bulgular .....	46
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>	<b>63</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>75</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>76</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>77</b>



**KISALTMALAR**

<b>ABY</b>	: Akut Böbrek Yetmezliği
<b>GFR</b>	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
<b>PMNL</b>	: Polimorfonükleer Lökositler
<b>SOR</b>	: Serbest Oksijen Radikalleri
<b>İ/R</b>	: İskemi-Reperfüzyon
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>GSHPx</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>GR</b>	: Glutasyon Redüktaz
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>gr</b>	: Gram
<b>mmHg</b>	: Milimetreciva
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>ATN</b>	: Akut Tübüler Nekroz
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>ADP</b>	: Adenozin Difosfat
<b>AMP</b>	: Adenozin Monofosfat
<b>O<sub>2</sub></b>	: Moleküler Oksijen
<b>Na<sup>+</sup></b>	: Sodyum İyonu
<b>K<sup>+</sup></b>	: Potasyum İyonu
<b>GER</b>	: Granüllü Endoplazmik Retikulum
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	: Kalsiyum İyonu
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit Radikali
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör Nekroz Faktör-Alfa
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>MCP-1</b>	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
<b>BUN</b>	: Kan Üre Azotu
<b>IL-18</b>	: İnterlökin-18

<b>KIM-1</b>	: Kidney İnjury Molecule-1
<b>kDa</b>	: Kilodalton
<b>mg</b>	: Miligram
<b>L</b>	: Litre
<b>OH<sup>-</sup></b>	: Hidroksil Radikali
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	: Demir İyonu (Ferröz Form)
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	: Demir İyonu (Ferrik Form)
<b>H<sup>+</sup></b>	: Hidrojen İyonu
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>TOS</b>	: Total Oksidan Seviye
<b>TAS(TAK)</b>	: Total Antioksidan Seviye (Kapasite)
<b>OSİ</b>	: Oksidatif Stres İndeksi
<b>C</b>	: Karbon
<b>XO</b>	: Ksantin Oksidaz
<b>MPFF</b>	: Mikronize Flavinoit Fraksiyonu
<b>°C</b>	: Santigrat
<b>dk</b>	: Dakika
<b>rpm</b>	: Dakikadaki Devir Sayısı
<b>µm</b>	: Mikrometre
<b>dl</b>	: Desilitre
<b>EGCG</b>	: Epigallokateşin-3-Gallat
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>PC</b>	: Karbonil Protein Seviyesi
<b>ICAM-1</b>	: İnterselüler Adezyon Molekülü-1
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>EPO</b>	: Eritropoetin
<b>İNOS</b>	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz
<b>COX-2</b>	: Siklooksijenaz-2

**TABLolar DİZİNİ**

<b>Tablo 1.</b> Sıstatın C ile kreatının/kreatının klırensının karşılaştırılması.....	16
<b>Tablo 2.</b> Rat serumlarında çalışılan parametrelerin ortalama değęrlerinin tüm gruplar arasında karşılaştırılması.....	35
<b>Tablo 3.</b> Tüm gruplar arasında böbrek dokusunda çalışılan TAS ortalama değęrlerinin karşılaştırılması.....	41
<b>Tablo 4.</b> Tüm gruplar arasında böbrek dokusunda çalışılan TOS ortalama değęrlerinin karşılaştırılması.....	43
<b>Tablo 5.</b> Tüm gruplar arasında böbrek dokusunda çalışılan OSİ ortalama değęrlerinin karşılaştırılması.....	45
<b>Tablo 6.</b> Kronik inflamasyon parametresının gruplara göre dağılımı .....	47
<b>Tablo 7.</b> Epıtelyal düzleşme parametresının gruplara göre dağılımı.....	49
<b>Tablo 8.</b> Sıtoplazmik vakualizasyon parametresının gruplara göre dağılımı .....	51
<b>Tablo 9.</b> Nekroz-ıskemi parametresının gruplara göre dağılımı .....	53
<b>Tablo 10.</b> Tübüler obstrüksiyon parametresının gruplara göre dağılımı.....	55
<b>Tablo 11.</b> Tüm gruplar arasında böbrek dokusunda çalışılan Apopıtosis skor ortalama değęrlerinin karşılaştırılması.....	57

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Fenton ve Haber-Weiss Reaksiyonu.....	19
<b>Şekil 2.</b> Tri-okserutin (Trihydroxyethylrutin) kimyasal yapısı.....	23
<b>Şekil 3.</b> Gruplar arasında Üre ortalama değerlerinin karşılaştırılması.....	36
<b>Şekil 4.</b> Gruplar arasında BUN ortalama değerlerinin karşılaştırılması .....	37
<b>Şekil 5.</b> Gruplar arasında Kreatinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması.....	38
<b>Şekil 6.</b> Gruplar arasında Sistatin C ortalama değerlerinin karşılaştırılması .....	39
<b>Şekil 7.</b> Gruplar arasında TNF- $\alpha$ ortalama değerlerinin karşılaştırılması.....	40
<b>Şekil 8.</b> Gruplar arasında TAS ortalama değerlerinin karşılaştırılması .....	42
<b>Şekil 9.</b> Gruplar arasında TOS ortalama değerlerinin karşılaştırılması .....	44
<b>Şekil 10.</b> Gruplar arasında OSİ ortalama değerlerinin karşılaştırılması .....	46
<b>Şekil 11.</b> Kronik İnflamasyon parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	48
<b>Şekil 12.</b> Epitelyal Düzleşme parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	50
<b>Şekil 13.</b> Sitoplazmik Vakualizasyon parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması .....	52
<b>Şekil 14.</b> Nekroz-İskemi parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması .....	54
<b>Şekil 15.</b> Tübüler Obstrüksiyon parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması...	56
<b>Şekil 16.</b> Gruplar arasında Apoptozis skor ortalama değerlerinin karşılaştırılması .	57

**RESİMLER DİZİNİ**

<b>Resim 1:</b> Nefronun yapısı .....	6
<b>Resim 2:</b> Böbrek kan akımı .....	8
<b>Resim 3A:</b> İntraperitoneal anestezi madde enjeksiyonu .....	28
<b>Resim 4A:</b> Kontrol grubu sol böbrek kesitinde düzenli yapıda glomerül (ok) yapısı .....	58
<b>Resim 5A:</b> I/R 1. saat grubu sol böbrek kesitinde tübül epitelinde düzleşme (kalın ok) ve sitoplazmik vakuolizasyon (ince ok).....	59
<b>Resim 6A:</b> I/R + Okserutin 1. saat grubu sol böbrek kesitinde proksimal tübül epitelinde düzleşme (kalın ok) ve tübüler obstrüksiyon (ince oklar).....	60
<b>Resim 7A:</b> I/R 24. saat grubu sol böbrek kesitinde glomerülleri (oklar) ve tübüleri tutan yaygın nekroz .....	61
<b>Resim 8A:</b> I/R + Okserutin 24. saat grubu sol böbrek kesitinde proksimal tübül epitelinde yaygın (oklar) düzleşme .....	62

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Böbrekler vücudun sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesi üzerinde büyük bir role sahip, homeostazisi sağlayan hayati organlardır. Çeşitli nedenler ile renal hasar oluşabilmekte ve bu durumun neticesinde “Akut Böbrek Yetmezliği” (ABY) gelişebilmektedir. Günümüzde görülme sıklığı giderek artan ABY, önemli bir morbidite ve mortalite sebebi olarak da karşımıza çıkmaktadır. Hastaneye başvuran hastaların %5’inde, yoğun bakım ünitelerindeki hastaların %30’unda (1), kardiyopulmoner operasyon geçiren hastaların %4-15’inde (2) ve non kardiyojenik operasyon geçiren hastaların ise %25-27’sinde ABY oluşturmaktadır (3). ABY’li hastalarda %50’ye varan bir mortalite söz konusudur (2, 4, 5). ABY, saatler-günler içinde böbrek fonksiyonlarının bozulması ve glomerüler filtrasyon hızında (GFR) azalmayla seyreden bir tablo olup, serum kreatinin düzeyinin; bazal düzeyin en az %50 oranında veya 0,5 mg/dL’nin üzerinde artış göstermesi olarak tanımlanabilir (5). GFH’de gelişen azalma sonucunda kan üre azotu, kreatinin ve diğer üremik toksinler vücutta birikir. ABY’de GFH düşüşü daha hızlıdır ve günler, haftalar içinde gelişir (5). Bu nedenle, bu hastalarda eşlik eden ciddi ek bir hastalığı olmadığı takdirde, uygun koruyucu tedavi planları ve gerekirse uygun ve etkili renal replasman tedavisi ile gelişebilecek üremik komplikasyonların önlenmesi ve böbrek fonksiyonlarında düzelmesi sağlanabilir (6).

Son yıllarda böbrek nakli, böbrek travması, anatofik nefrolitotomi, nefron koruyucu cerrahi, renal arter cerrahisi ve suprarenal aortik anevrizmaların cerrahi tedavisi gibi böbrek kan akımını azaltan cerrahi girişimlerin yaygınlaşmasıyla birlikte renal iskemi-reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan ve ABY ile sonuçlanabilen bir patolojiden sıkça bahsedilmeye başlanmıştır.

Bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle yetersiz hale gelmesine veya durmasına iskemi denir. İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskeminin uzun sürmesi sonucunda hücrelerin bütünlüğü kaybolur hatta hücrelölüm meydana gelir. Reperfüzyon ise dokunun kanlanmasının yeniden başlamasıdır. İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda (reperfüzyon), özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri

(SOR) dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Bu olaya reperfüzyona bağlı doku hasarı denir (7–11).

Böbrekler iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarından en fazla etkilenen organlardandır. Böbrek iskemisi; böbrek transplantasyonu, parsiyel (nefron koruyucu) nefrektomi, kardiyopulmoner bypass, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler ve hidronefrozis gibi çeşitli klinik durumlarda görülür (7). İskeminin süresi ve şiddetine göre renal tübüler epitel hücreleri, yapısal ve fonksiyonel tam düzelme, apoptoz ve nekroz arasında farklı etkilenimler gösterebilirler (12). İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışıyla karakterizedir. Reperfüzyon sonrası ortama gelen nötrofiller ve bunlardan açığa çıkan reaktif oksijen radikalleri (SOR) ve sitokinlerin etkileri de eklenince organ veya doku ölümü kaçınılmaz olmaktadır (8, 11) Nefron koruyucu cerrahide böbreğin I/R hasarına değişik düzeylerde maruz kalması kalan böbrek rezervini ve karşı böbreği olumsuz etkileyebilmektedir. Renal transplantasyon işleminde de transplante edilecek greftin I/R hasarına değişik düzeylerde maruz kalması, postoperatif dönemde bu olaya bağlı greft fonksiyon gecikmeleri ve greft kayıplarına sebep olabilmektedir. Bu nedenle büyük ameliyatlar, nefron koruyucu cerrahi ve renal transplantasyon öncesinde akut renal I/R yaralanmasından korunmak amacıyla uygun bir profilaktik tedavinin bulunması akılcı bir yaklaşımdır(19).

Reaktif oksijen radikallerinin potansiyel zararlarına çok sayıda hücre koruyucu enzimler ile karşı koyulur ve antioksidan maddeler ile radikal hasar sınırlandırılmaya çalışılır. Vücuttaki hücresele antioksidan enzimler, antioksidan maddeler ve serbest radikallerin birbirleri arasındaki ilişki ile bir denge oluşturmaktadır (10, 11). Antioksidan savunmada öncelikle etkili olanlar endojen enzimatik antioksidanlardır. Bunlar superoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimlerdir (7, 10, 11). Böbrekte I/R sırasında oluşan serbest radikaller endojen antioksidan kaynaklarının hızla tükenmesine yol açmaktadır (13). Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkileri, eksojen antioksidan maddeler tarafından da azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır (14). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, diyetlerde antioksidan içeren besinlere yer

verilmesi serbest oksijen ve nitrojen radikallerinden kaynaklanan hasarı engellemektedir (15).

Bu kadar sık görülen, morbidite ve mortalitesi yüksek olan ABY'de koruyucu ve tedavi edici yaklaşımların geliştirilmesi önemli olup, bu konuda da birçok çalışma yapılmaktadır. Son zamanlarda yapılan çeşitli deneysel I/R modellerinde, özellikle endojen antioksidan maddelerin I/R hasarında koruyucu veya önleyici etkileri gösterilmeye çalışılmıştır. Ancak; bu hasarın engellenmesinde, eksojen antioksidan maddeler daha da ilgi çekici hale gelmektedir (16). Flavonoidler bitkilerde yaygın olarak görülen ve antioksidan özellik taşıyan polifenolik bileşiklerdir. Tüm flavonoidlerin antioksidan etkileri, kimyasal yapılarında bulunan fenolik hidrojenler ile ilgilidir. Fenolik hidrojenlerin kaybı flavonoidlerin antioksidan etkilerini azaltır (17). Bu çalışmada, üroloji pratiği dışında, kronik venöz yetmezlik, diyabetik retinopati ve mikroanjyopatilerin, hemoroidal hastalıkların tedavisinde sıkça tercih edilen ve antioksidan etkinliği gösterilmiş olan flavonoid olan okserutin b6brek dokusunda I/R hasarı üzerine muhtemel koruyucu etkilerini incelemek amaçlandı.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Böbreğin Anatomisi

Böbrekler insan vücudunda retroperitoneal boşlukta, paravertebral yerleşimli olup, 12. torakal ve 3. lomber vertebralar arasında uzanırlar. Sağ böbrek, karaciğerin sağ lobunun büyük olması ve basısı nedeni ile sola göre 1-2 cm daha aşağıda yer almaktadır. Her bir böbrek yaklaşık olarak 150-200 gr ağırlığında olup, 12-13 cm uzunluğunda, 6-7 cm eninde ve 2,5-3 cm derinliğindedir. Sağ böbrek üstte sürrenal bez, üst ve önde karaciğer, hilus seviyesinde duodenum, altta ve lateral kenarda kolon ile komşudur. Sol böbrek ise üstte sürrenal bez, önde mide, dalak, pankreas, jejunum, ve desendan kolon ile komşuluk göstermektedir. Her iki böbrek arkada diafragma, kuadratus lumborum ve psoas kaslarına dayanmaktadır. Böbrekler içten dışa doğru; fibröz kapsül, perirenal yağ dokusu, Gerota fasyası ve pararenal yağ dokusu ile örtülüdür. Her bir böbreğin anterior ve posterior yüzeyleri, medial ve lateral kenarları, superior ve inferior kutupları vardır ve süperior kutuplar anterior kutuplara göre orta hatta 1 cm daha yakındır. Lateral kenar konkav, medial kenar ise konveks şeklindedir. Medial kesimde renal hilus denilen ve içinden renal arter, renal ven, renal pelvis, üreter, lenfatik ve sinirlerin geçtiği bir yarık bulunur. Renal hilus böbrek içinde, 2,5 cm derinliğinde olan ve içinde renal pelvis, renal kaliks, renal damar ve sinirler ile değişik miktarlarda yağ dokusunun bulunduğu renal sinüs olarak devam eder (18, 19).

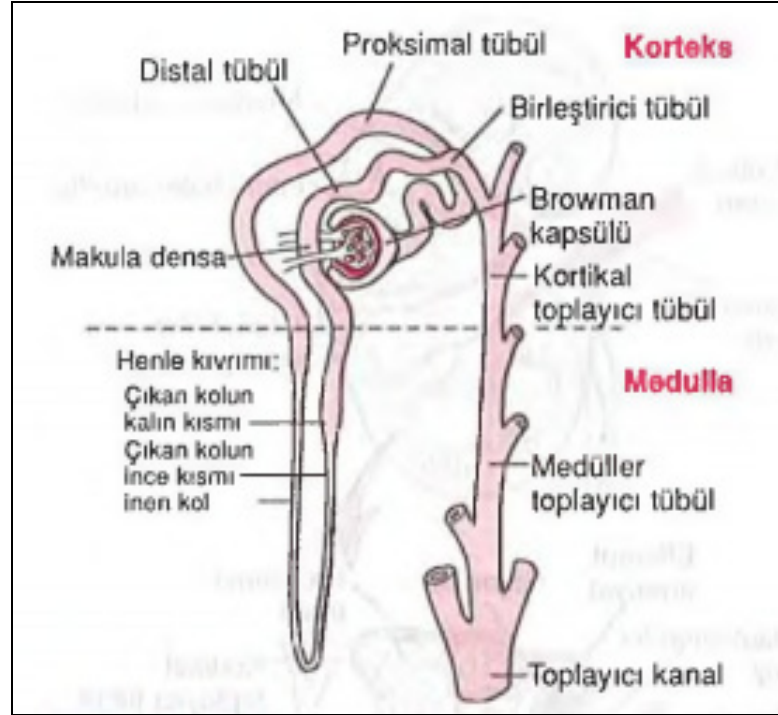
Her bir böbrek aortadan köken alan ve 1. ve 2. Lumbal vertebra arasındaki intervertebral discus hizasından çıkan renal arterler ile kanlanır. Renal arter hilustan böbreğe girdikten sonra önce segmental sonra interlobar daha sonra arkuat arterlere ayrılır. Arkuat arterlerden dik olarak interlobüler arterler çıkar. Bu arterlerden glomerüle giden afferent arterioller köken alır. Glomerülü oluşturan kapillerler birleşerek efferent arteriollerini oluşturur. Efferent arterioller daha sonra dallanarak tübülüsleri saran, böbrekteki 2. kapiller ağ sistemi olan peritübüler kapiller ağı oluşturur. Peritübüler kapillerlerden gelen kan venöz sisteme dökülür. Oradan sırası ile arteryel sistemle paralel olarak interlobüler ven, arkuat ven, interlobar ven ve renal veni takip eder. Renal venler ise inferior vena kavaya drene olurlar (18, 20)

Üreterin üst kısmının genişlemesi ile oluşan renal pelvis ilk önce 3 majör kalikse, majör kaliksler de 8 veya daha fazla minör kalikse bölünür (18, 19).

Böbrek sagittal olarak kesildiğinde dışta korteks, içte medulla olmak üzere 2 kısımdan oluşur. Medulla, medüller piramit ismi verilen 10-18 adet piramidal yapıdan oluşur. Piramitlerin tabanları kortikomedüller bölgede bulunurken, tepe kısımları kaliks içine kadar uzanır. Kaliks içine açılan bu kısımlara papilla ismi verilir. Korteks böbreğin dış kısmının yanı sıra medüller piramitler arasında da yer alır ve bu kısma Bertini'nin böbrek kolonları denir (18, 19)

## 2.2. Böbrek Fizyolojisi

Böbrekte idrar oluşumunu sağlayan en küçük yapısal ve anatomik birim nefrondur. Her bir böbrekte idrar yapabilme fonksiyonu olan yaklaşık 1 milyon nefron bulunur. Böbrek yeni nefron rejenere edemez. Dolayısıyla renal bir hasar ile nefron sayısındaki azalma tekrar yerine konulamaz. Her bir nefronun iki kısmı vardır: 1) Glomerül; sıvının kandan filtre edildiği kısım, 2) Tübülüsler; filtre edilen sıvının idrara dönüştüğü proksimal ve distal tübülüsler, Henle Kulpu ile toplayıcı kanallardan oluşan kısımdır. Glomerüller, proksimal ve distal tübülüsler ve dış korteksteki nefronların Henle kulpları kortekste; toplayıcı kanallar, Henle kulpları ve vasa rectalar medüllada bulunur. Nefronlar böbrek dokusunda ilerledikleri derinliğe göre, kortikal ve juksttaglomerüler olmak üzere 2 tiptir. Glomerül, dallanan ve anastomozlar yapan ve epitelyal hücreler ile kaplı kapiller bir yumaktır. Glomerül, diğer kapiller ağlar ile karşılaştırıldığında, daha yüksek hidrostatik basınca (70 mmHg) sahip, dallanan ve anastomoz yapan kapiller bir ağdan oluşmuştur. Bowman kapsülü denen bir yapı içinde bulunur. Glomerülden filtre edilen sıvı sırasıyla proksimal tübül, henle kulpu, distal tübül, distal tübülü birleştirici (connecting) tübül ve kortikal toplayıcı (collecting) tübül izler. Sıvı buradan kortikal toplayıcı kanala ulaşır. 8-10 adet kortikal toplayıcı kanalın başlangıç kısımları birleşerek, medullada seyreden ve medüller toplayıcı kanal denilen daha geniş bir toplayıcı kanal yaparlar (Resim 1). Toplayıcı kanallar sonunda papillanın tepesi aracılığı ile papillaların içinden renal kalikse açılır. Oradan da renal pelvise ve üretere geçer (20–22).



**Resim 1.** Nefronun yapısı (20)

Distal tübülüsün başlangıcı her nefronda afferent ve efferent arteriyoller ile temas halindedir ve bu üç yapı jukstaglomerüler apparatus denen yapıyı oluşturur. Bu apparatusun görevi renin salgılayarak kan basıncı üzerinde etkili olmak, glomerüler filtrasyon ve renal kan akımının regülasyonunu idare etmektir. Jukstaglomerüler apparatusun distal tübülüsteki değişiklik gösteren hücrelerine makula densa ismi verilir ve distal tübülüsteki sıvının birleşimine göre jukstaglomerüler apparatusun aktivitesini ayarlar (21, 22).

İdrar oluşumu; proteinsiz fazla miktarda sıvının glomerüler kapillerden Bowman kapsülü içine filtrasyonu ile başlar. Proteinler ve eritrosit dâhil hücresel şekilli elemanlar hariç plazmadaki maddelerin çoğu serbestçe Bowman kapsülü içine filtre olduğu için, Bowman kapsülü içindeki glomerüler filtratta bu maddelerin konsantrasyonları plazmadakine eşittir. Plazma proteinlerine bağlanan moleküller kolayca filtrata geçemedikleri için bunların konsantrasyonları aynı değildir. Filtre olan sıvı Bowman kapsülünü terkedip tübüller boyunca ilerlerken içindeki spesifik solütlerin ve suyun geri emilerek kana geçmesi veya başka maddelerin peritübüler kapillerden tübül içine salgılanması nedeniyle değişikliğe uğrar (20, 21).

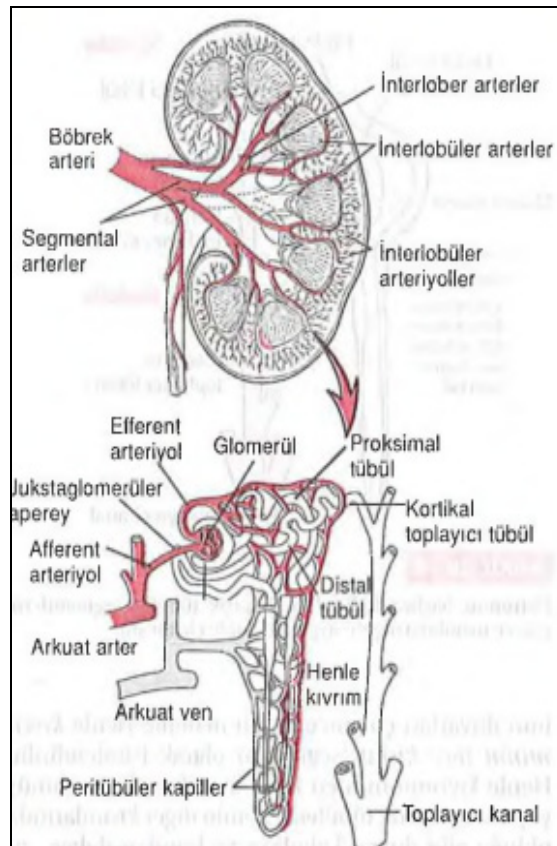
Glomerüler filtrasyon hızı (GFR); Her iki böbreğin nefronlarının tümünden 1 dakikada oluşan glomerüler filtratın miktarına denir ve net filtrasyon basıncını veren filtrasyonu kolaylaştıran ve engelleyen, glomerüler kapiller membrana etki eden kolloid osmotik basınçlar ve hidrostatik basınçların toplamı ile kapillerin filtrasyon yapan yüzey ve geçirgenliğinin ölçütü olan kapiller filtrasyon sabitesi tarafından tayin edilir. Normal yetişkin bir insanda GFR 120 ml/dakikadır (20–22).

Glomerüler kapiller membran; kapiller endoteli, bazal membran ve bazal membranın dış yüzeyini çevreleyen epitelyal hücre (podosit) tabakasından oluşmaktadır. Bu tabakalar birlikte filtrasyon bariyerini oluşturur. Glomerüler kapiller membrandan yüksek filtrasyon hızı kısmen membranın kendine has özelliklerine bağlıdır. Kapiller endotelium pencere (fenestra) denilen binlerce küçük oyuk ile delinmiştir. Endoteli bir bazal membran çevreler. Arasından su ve küçük solitlerin geçebileceği genişlikte mesafe bulunan kollagen ve proteoglikan fibril ağından yapıldığı için, bol miktarda ve küçük maddeleri filtre edebilir. Bazal membranın plazma proteinlerinin geçişini etkin bir şekilde önlemesinin kısmen sebebi, proteoglikanların güçlü negatif elektrik yüküne sahip olmalarıdır. Glomerüler membranın son kısmı glomerülün dış yüzünü döşeyen epitelyal hücrelerdir. Bu hücreler kesintisiz değildir, kapillerin dış yüzünü çevreleyen podositler vardır. Bu ayaksı çıkıntılar glomerüler filtratın geçtiği dar, por denen aralıklarla birbirinden ayrılmıştır. Her ne kadar epitelyal hücreler filtrata engel teşkil etseler de, plazma proteinlerine esas direnci bazal membran oluşturuyor gibi görünmektedir. Elektriksel olarak negatif yüke sahip epitel hücreleri de Plazma proteinlerinin filtrasyonuna ayrıca bir kısıtlama getirir (20).

### **2.3. Böbrek Kan Akımı**

Sağlıklı bir insanda her iki böbreğe giden kanın miktarı dakikada 1200 ml veya kalp debisinin %21 kadardır. Böbreğe gelen kanın çoğu renal korteks tarafından almaktadır. Böbrek medullasına giden kan, peritubuler kapiller sistemin özelleşmiş bir kısmı olan vaza rekta tarafından sağlanır. Bu damarlar medullada Henle kıvrımlarına paralel olarak derinlere ilerler ve sonra kortekse dönerek venöz sisteme dökülürler. Vaza rektalar böbreklerin konsantre idrar yapmasında önemli rol oynarlar(20).

Böbrek kan akımının ve glomerül filtrasyonun fizyolojik kontrolünde birçok faktör rol oynar. Afferent ve efferent arteriyoller de dâhil olmak üzere bütün böbrek damarları, özellikle sempatik sinir liflerinden zengindir. Böbrek sempatik sinirlerinin kuvvetli aktivasyonu, böbrek arteriyollerini daraltabilir ve böbrek kan akımı ve GFR'yi azaltabilir. Bu savunma reaksiyonu, renal medulladan salınan epinefrin ve norepinefrin aracılığı ile, beyin iskemisi veya ağır hemorajide oluşabilir. Endotelin ise, böbrek damarlarının hasar görmüş endotel hücrelerinden salınır, GFR'yi azaltır ve böbrek vazokonstrüksiyonuna katkıda bulunur. Güçlü bir damar daraltıcı olan Anjiotensin II efferent arteriyollerini daraltarak etkili olur (20, 21).



**Resim 2.** Böbrek kan akımı (20)

Arteriye kan basıncında belirgin değişikliklere karşın böbrek içi feedback mekanizmalar normalde böbrek kan akımını ve GFR'yi oldukça sabit tutarlar. Bu otoregülasyon olarak adlandırılmaktadır. Bu sayede, kan basıncında 75 mmHg'ye varan düşmeler ve 160 mmHg'ye varan yükselmeler GFR'de sadece % 1-2 kadar değişiklik yapar. Otoregülasyonu gerçekleştirmek için böbrekler makula densadaki sodyum klorür yoğunluğu değişiklikleriyle renal arteriyollerin direncin kontrolü

arasında bağlantı kuran bir feedback mekanizmaya sahiptir. Bu feedback, distal tubule oldukça sabit miktarda sodyum klorür gönderilmesini garantilemeye yardım eder (20, 21).

Tübüloglomerüler feedback mekanizmanın afferent ve efferent arteriyoller feedback mekanizma olarak adlandırılan iki komponenti vardır. Jukstaglomerüler kompleks distal tübülün başlangıcındaki makula densa hücreleri ile afferent ve efferent arteriyollerin duvarlarındaki jukstaglomerüler hücrelerden oluşur. Makula densa distal tubulde afferent ve efferent arteriyollerle temas eden bir grup özelleşmiş epitel hücreleridir. Sodyum klorür yoğunluğundaki azalma makula densadan, iki etkiye sahip bir uyarıyı başlatır; afferent arteriöl direncini azaltarak glomerüler hidrostatik basıncı artırır ve GFR'nin normale dönmesine yardım eder. Buna ek olarak reninin jukstaglomerüler hücrelerden serbestlenmesini artırır (20, 21).

#### **2.4. Böbrek Fonksiyonları**

Nefronların temel işlevi istenmeyen maddeleri plazmadan temizlemektir. Bunun için kullanılan mekanizmalar şunlardır:

1) Glomerüler Filtrasyon: Glomerüldeki kanın plazmasının bir bölümü (yaklaşık 1/5'i) glomerüler membrandan filtre edilir.

2) Tübüler Reabsorpsiyon: Filtre edilen sıvı, tübüllerde ilerlerken su ve diğer gerekli maddeler reabsorbe edilir. İstenmeyen maddeler geri emilmez ve idrar oluşumuna katkıda bulunur.

3) Tübüler Sekresyon: Plazmadaki bazı maddeler tübüleri döşeyen epitel hücrelerince doğrudan tübüler sıvı içine sekrete edilir (20–22).

#### **Böbreğin temel fonksiyonları:**

1) Ekskretuar (İtrah) fonksiyonları; idrar oluşumu

- Artık maddelerin eliminasyonu: Metabolik artık maddeler (üre, kreatinin, ürik asit gibi) Ekzojen maddeler (ilaçlar, toksinler ve metabolitleri).
- Su dengesinin korunması: Total vücut suyunun korunması, plazma osmolalitesinin korunması.

- Elektrolit ve asit baz dengesinin korunması: Sodyum, klorür, kalsiyum, fosfat, potasyum, magnezyum ve asit-baz dengesinin korunması.

## 2) Metabolik Fonksiyonlar

- Hormonlar ve benzeri maddelerin sentezi: Renin, D vitamini, eritropoietin, prostoglandinler, kallikrein-kinin, büyüme faktörleri.
- Peptid yapıli hormonların yıkımı ve katabolizması: İnsülin, glukagon, parathormon, kalsitonin, prolaktin, büyüme hormonu, vazopressin, gastrointestinal hormonlar.
- Düşük molekül ağırlıklı proteinlerin katabolizması: Hafif zincirler,  $\beta$ -2 mikroglobulin...
- Diğer metabolik fonksiyonlar: Glukoneogenez, lipid metabolizması (20–23).

## 2.5. Parsiyel Nefrektomi ve İskemik Akut Böbrek Yetmezliği

Renal hücreli kanser hastalarında tedavisinde halen altın standart tedavi radikal nefrektomidir. Ancak hastaların soliter böbrekli, kötü renal fonksiyonlu, bilateral renal kanserli olması gibi durumlar veya hastaların radikal nefrektomiyi istememesi parsiyel nefrektomi fikrinin doğmasına sebep olmuştur. Zaman içerisinde karşı böbrek normal olsa bile küçük renal tümörler parsiyel nefrektominin endikasyonları arasına girmiştir ve birçok merkezde küçük renal tümörlerde altın standart tedavi haline gelmiştir. Her ne kadar 4'cm den küçük ve T1 evre renal tümörlerde yapılması önerilsede son yıllarda Avrupa Üroloji Derneğinin Kılavuzlarına (2010) göre 7'cm ye kadar olan ve T2 evre tümörlerde de deneyimli merkezlerde iyi seçilmiş vakalara parsiyel nefrektomi yapılması önerilmektedir (24).

Parsiyel nefrektominin amacı tümöral alanın rezeke edilip kalan böbrek parankiminin renal fonksiyon rezervinin korunmasıdır. Operasyon esnasında kanamanın azaltılması, doku ve organ vizualizasyonunun artırılması amacıyla renal arter ve vene klemp konulmaktadır. Bunun sonucunda kalan böbrek parankiminde iskemi reperfüzyon hasarı meydana gelmektedir. Reperfüzyon hasarı akut böbrek hasarının ana nedenlerinden biridir. Bu durumun histolojik incelemelerdeki

göstergesi akut tübüler nekrozdur. İskemik organ reperfüzyonundan sonra dokuda reaktif oksijen radikalleri artmaktadır. Bunun sonucunda glomerül ve tübüler epitelyumun bütünlüğünü bozularak akut tübüler nekroz oluşur (24).

İskemik ABY sonrasında endotel geçirgenliğinin arttığı bilinmektedir. Gelişen interstisyel ödem kan akımını, medulladaki damarlara bası uygulayarak daha da bozmaktadır. Plazmanın damar dışına kaçağı sonrası hemokonsantrasyon gelişir ve dolaşım daha da bozulur. Bu durum lökositlerin endotel hücreleri ile karşılaşması olasılığını arttırmaktadır. Eritrositler ve lökositlerin medullada birikmeye başlar. Endotel hücrelerin de P ve E selektin ekspresyonu arttığından, lökositlerin endotel hücrelerine adhezyonu artar. Aynı şekilde interselüler adhezyon molekül ekspresyonu da artmaktadır (15).

Akut tübüler nekroz (ATN) gelişen hastaların böbrek dokuları morfolojik olarak incelendiğinde, nekrozun çoğunlukla olmadığı ya da fokal olduğu belirtilmiştir. Patolojik kesitlerde tübül epitel hücrelerinin döküldüğü ve bu dökülmelerden dolayı tübül bazal membranlarında yer yer boş alanların olduğu rapor edilmiştir. Nekroz olmaksızın da ölümcül olmayan hasara bağlı ATN tablosu gelişebilir. İskemik hasar sırasında gelişen hücre içi bir dizi metabolik olay söz konusudur. Bu metabolik olaylar (ATP eksikliği, hücre içi pH değişiklikleri, hücre içi sodyum ve suyun artması sonucu hücre şişmesi, intraselüler kalsiyum miktarının artması, serbest radikallerin artması) sonucunda apoptozis, nekroz gibi değişiklikler meydana gelir. İskeminin en kötü sonucu renal kortikal nekroz gelişmesi sonucunda böbrek fonksiyonlarının geri dönüşümsüz olarak bozulmasıdır (15).

## **2.6. İskemi-Reperfüzyon (I/R) Hasarının Fizyopatolojisi**

### **2.6.1. İskemik Hasar**

İskemi; dokunun ihtiyaç duyduğu oksijen ve diğer metabolitlerin sağlanması ve oluşan artık ürünlerin ise uzaklaştırılması için gerekli ve yeterli dolaşımın sağlanamamasıdır. İskemi, akut veya kronik olabilir. İskemik hasarın derecesi, hipoksinin derinliğine ve süresine bağlıdır. Sonuçta iskemi hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi ile hücre ölümüne yol açmaktadır (25).



### 2.6.1.1. Geridönüşümlü Hasar

Aerobik solunum yani mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon, hipoksinin hücrede ilk etkilediği işlemdir. O<sub>2</sub> basıncının azalmasıyla hücre içi ATP depolarındaki azalma, birçok sistem üzerinde etkili olur. Plazma membranlarında bulunan ATP bağımlı sodyum (Na<sup>+</sup>) pompasının aktivitesi azalır. Bunu, Na<sup>+</sup>'un hücre içinde birikimi ve potasyumun (K<sup>+</sup>) hücre dışına çıkışı takip eder. Na<sup>+</sup> konsantrasyonundaki artış, suyun izoozmotik artışına ve akut hücresel şişmeye neden olur. Bu şişme, inorganik fosfatlar, laktik asit ve pürin nükleozitleri gibi diğer metabolitlerin birikimi ile artan hücre içi ozmotik yükü daha da ilerler. Sonuçta; glikojen hızla tükenir, artan glikoliz ise fosfat esterlerinin hidrolizi ile laktik asit ve inorganik fosfatların birikimiyle hücrede asidoza neden olur. Ribozomların granüllü endoplazmik retikulumdan (GER) ayrılması ve polizomlardan monozomların oluşumu ile protein sentezinde azalma bunu takip eder. Hipoksinin devam etmesi ile mitokondrial fonksiyonun daha da kötüleşmesi ve membran geçirgenliğinin artışı sonucunda morfolojik hasar artar. Hücrenin ana hatlar, mikrovillus gibi ultrastrüktürel özelliklerin kaybı ve hücre yüzeyinde kabarcıkların oluşumu ile bozulur. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve tüm hücreler ozmotik regülasyonun bozulmasından dolayı şişmişlerdir. İskemi düzeltilir ve O<sub>2</sub> düzeyleri normale dönerse tüm bu bozulmalar geri dönebilir, ancak iskemi ve hipoksi devam ederse geridönüşümsüz hasar meydana gelir (26).

### 2.6.1.2. Geridönüşümsüz Hasar

Morfolojik olarak geridönüşümsüz hasarda mitokondrilerin şiddetli vakuolizasyonu ve mitokondri matriksinde şekilsiz, kalsiyumdan (Ca<sup>2+</sup>) zengin depozitlerin birikimi görülür. Bununla birlikte, plazma membranlarında büyük ölçülü hasar ve lizozomlarda şişme eşlik eder. Özellikle iskemik alanın reperfüzyonu hücre içine masif Ca<sup>2+</sup> akışına ve Ca<sup>2+</sup>'a bağlı değişikliklere yol açar. Geçirgenliği bozulan membranlardan proteinlerin, esansiyel koenzimlerin ve ribonükleik asitlerin kaybı devam eder. Membranlardan ATP sentezi için gerekli olan metabolitler de kaybedileceğinden, hücre içi yüksek enerjili fosfat bileşikleri daha da azalır. Lizozomal membranların hasarı, lizozomal enzimlerin sitoplazmaya kaçmasına neden olur. Asit hidrolazlar, iskemik hücrenin asidik pH'sında aktif hale geçip

sitoplazmik ve nükleer elemanları yıkıma uğrattır. Lizozomal hidrolazlar, hücre ölümü gerçekleştikten sonra da, hücresel elemanları sindirmeye devam ederler (9).

### 2.6.2. Reperfüzyon Hasarı

Reperfüzyon, iskemide kalan dokuya kan akımının ve bununla birlikte  $O_2$ 'nin tekrar gelmesidir, yani dolaşımın düzeltilmesidir. Eğer hücrede geri dönüşümsüz hasar oluşmamış ise enerji depoları ve hücresel homeostaz geri kazanılır. Reperfüzyon sağlanırken iskemik hücreler geri dönüşümsüz hasara uğrayabilirler (27). Hatta reperfüzyon sonucunda ortaya çıkan hasar iskeminin tek başına oluşturduğu hasardan daha ağır olabilir (28).

İskemi sonucunda hücre içindeki yüksek enerjili adenin bileşikler olan ATP ve ADP, AMP'ye indirgenir ve hücre içi AMP düzeyleri yükselir. Artmış AMP'den adenzin ayrılarak sırayla inozin ve hipoksantine dönüştürülür. ATP azalması membranların iyon gradiyentini koruyamamasına ve hücre içine  $Ca^{2+}$  girişine yol açar (29). Hücre içine giren  $Ca^{2+}$ , proteazlar aktifleyerek ksantin dehidrogenazdan ksantin oksidaz oluşumuna yol açar ve ksantin oksidaz aracılığı ile de sırasıyla hipoksantinden ksantin ve ürik asit oluşur. Reperfüzyon sırasında dokuya gelen bol miktarda  $O_2$  molekülünden, bu reaksiyonlar sırasında serbest oksijen radikalleri, süperoksit ve hidrojen peroksit ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ) meydana gelir. Hücredeki iskemi eğer hipoksantin yıkılmaya başlamadan önce düzeltilip yeterli oksijen sağlanırsa, hipoksantin ve diğer bileşiklerden tekrar ATP oluşur (30, 31).

İskemi sonrası dokudaki diğer önemli bir SOR kaynağıdır. Nötrofillerin membranlarında bulunan NADPH bağımlı oksidaz sistemleri SOR oluşumunun en önemli kaynaklarından biridir. Bu enzim sistemi normalde inaktif olup, bakteriler, mitojenler ya da sitokinlerce aktive edildiklerinde  $O_2$ 'nin  $H_2O_2$ 'e ve  $O_2^-$ 'e dönüşmesini sağlarlar.  $O_2^-$  oluşumunda nötrofil kemotaksisinin de önemi büyüktür.  $Ca^{2+}$ 'da fosfolipaz A2 aktivitesini sağlayarak, lökotrienlerin aktive ettiği polimorfonükleer (PMNL) hücreler üzerinden  $O_2^-$  oluşumunu gerçekleştirir. PMNL kaynaklı reperfüzyon hasar mikrovasküler alana kemotaktik birikimi ve mikrovasküler endotele adezyonla karakterizedir (32). İ/R etkisinin dokuda nötrofil birikimi ile doğrudan ilişkili olduğu ve bu birikimin normal homeostazla kıyaslandığında iskemik dönemde 5 kat ve reperfüzyon döneminde ise 18 kat daha

fazla olduğu gösterilmiştir (33). Nötrofil bağımlı reperfüzyon hasarında nötrofil adezyonu en önemli basamak olup, nötrofil membran molekülü olan CD18, nötrofillerin mikrovasküler endotele adezyonunda en önemli rolü üstlenen glikoprotein yapılı moleküldür. CD18 reseptörleri, monoklonal antikorlar ile inhibe edilerek nötrofillerin kapiller endotele kemotaksi, agregasyon ve adezyon etkileri baskılanır (34).

### **2.6.3. İskemi-Reperfüzyon Hasarında Kompleman, Endotel Ve Lökositlerin Rolü**

İskemi/reperfüzyon kompleman sistemini aktive eder. Kompleman aktivasyonunun başlangıç dönemi ve mekanizması halen tartışmalıdır ve tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Kompleman aktivasyonu sonucu oluşan, proinflamatuvar komponentler bir yandan lokositleri aktive ederken, diğer yandan TNF- $\alpha$  , IL-1 ve IL-6 oluşumunu uyararak inflamatuvar cevabı güçlendirir (35).

TNF-  $\alpha$ , ciddi bir ameliyata bağlı doku travması veya infeksiyonlar sonucu oluşan inflamatuvar kompleks, bir proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. Bu sitokinler arasında TNF- $\alpha$  , konakçı cevabının oluşumuna yol açan ilk ve en güçlü mediyatörlerden biridir. TNF- $\alpha$  sentezinin kaynağı, periton ve splanknik dokularda çok bulunan monositler, makrofajlar ve T hücreleridir. İç organlardaki cerrahi veya travmatik yaralanmalar, inflamatuvar mediatörlerin oluşumu ve akut faz proteinlerinin yapımı gibi homeostatik cevapların oluşumunda belirgin etkiye sahiptir. Makrofajların iskemik hasarda ne derece rol oynadığı ise netleşmemiş olup, İ/R öncesi sistemik monosit/makrofaj depleksyonu yapılan hayvan deneyinde IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  düzeylerinin, tübüler nekroz ve inflamasyonun azaldığı gösterilmiştir. IL-6'nın inflamasyondaki rolü tartışmalı olmakla birlikte makrofajlardan salınan IL-6'nın, yine makrofajlardan salınan TNF- $\alpha$  , IL-1 $\beta$  ve MCP-1'in iskemik renal hasarda rolü olduğu düşünülmektedir (35).

### **2.7. Akut Böbrek Yetmezliğinin Tanısı**

ABY'nin tanısındaki belirteçlerden birincisi serum kreatinin seviyesindeki artıştır. Aynı zamanda kan üre azotundaki (BUN) ve Üre artışı da ABY bulguları arasında ilk dikkat edilmesi gereken unsurlar arasındadır. ABY tanısının

konulmasında serum kreatinin seviyesindeki artışın izlenmesi BUN ve üre seviyesindeki artışın izlenmesinden daha iyi bir belirteçtir (5).

ABY gelişimini gösteren bir diğer önemli bulgu ise idrar çıkışındaki azalmadır. Oligüri varlığı (<400 mL/gün) veya anüri varlığı (idrar çıkışının olmaması) ABY varlığını gösteren belirtilerdir (36).

Akut böbrek yetersizliği tanısında, GFR'de düşme olmadan önce böbrekte meydana gelen hasarın saptanabilmesi en önemli faktörlerden birisidir. Bu nedenle erken yetmezlik belirteçleri adı verilen biyobelirteçler kullanılmaktadır. Önerilen belirteçler arasında plazmada bulunanlar nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin ve sistatin C, idrarda bulunanlar ise nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin, KIM- 1, IL-18, alfa 1 mikroglobulin, fetuin-A, gro-alfa ve meprin sayılabilir (37).

Bu belirteçlerden olan Sistatin C'nin tamamının reabsorbsiyona uğraması ve idrar konsantrasyonunun düşük olması nedeni ile böbrek hasarının saptanmasında iyi bir belirteçtir. Sistatin C'ye dayalı bulgular, serum kreatininin seviyesinde meydana gelen değişikliklerin monitorizasyonu ile karşılaştırıldığında 1-2 gün daha önce ABY gelişimi riskinin belirlenmesini sağlamaktadır (38).

### 2.7.1. Sistatin-C

Sistatin C 122 aminoasitli 13 kDa ağırlığında nonglikozile polipeptidli bir sistein proteinaz inhibitörüdür. Bir housekeeping gen ürünü olup tüm çekirdekli hücreler tarafından üretilmektedir. Sabit bir üretim hızı olup üretim hızı inflamatuvar ve immunolojik faktörler, vücut kas kitlesi gibi diğer faktörlerden etkilenmemektedir. Düşük moleküler ağırlığı, bazik pH'ı nedeniyle glomerüllerden serbestçe filtre olur ve serum düzeyleri sabittir (39, 40). Hemen hemen tüm çekirdekli hücrelerden sabit hızda üretilen ve serum ve plazmada oldukça sabit olan sistatin C ekstraselüler sıvıdan düşük moleküler ağırlığı ve bazik pH'ı nedeniyle glomerül membranı aracılığıyla kolayca filtre edilir. Tamamı reabsorbsiyona uğrar ve proksimal tübül hücrelerince kolaylıkla katabolize edilir. Dolayısı ile normal idrar konsantrasyonu oldukça düşük olup ortalama 0,03-0,3 mg/L'dir (39, 40).

Böbreğin fonksiyonel kapasitesinin en sensitif ve spesifik ölçüsü glomerül filtrasyon hızıdır. Dolayısıyla GFR'de saptanan düşüş fonksiyonel böbrek hastalığının

en erken bulgusudur (39, 40). Günümüzde tüm kliniklerde GFR ölçümünde kolay, ucuz ve ulaşılabilir bir yöntem olan serum kreatinini kullanılmaktadır. Kreatinin, iskelet kasında bulunan kreatin ve fosfokreatinin bir metabolitidir. Bu nedenle üretimi kas kitlesi ile orantılıdır. Sabit bir oranda yapıldığı ve idrarla atıldığı kabul edilmektedir. Hâlbuki serum kreatinini cinsiyet, enflamasyon, tübüler sekresyonu inhibe edebilen bazı ilaçlar (Simetidin, trimetoprim, primetamin ve dapson), fiziksel aktivite ve beslenme gibi faktörlerden de etkilenmektedir. Dolayısı ile GFR hesaplamasında kreatinin yetersiz kalabilmektedir (41).

GFR ölçümü için kullanılacak maddenin GFR dışında inflamatuvar, immunolojik ve neoplastik bozukluklar gibi durumlardan etkilenmemesi gerekmektedir. Sistatin C bu faktörlerden etkilenmez, gün içerisinde belirgin diurnal ritmi yoktur, düşük molekül ağırlığı ve bazik pH'ından (yaklaşık 9.0) dolayı glomerüllerden kolayca filtre olur, proksimal tübüllerden tamamına yakını geri emilerek katabolize edilir. Sistatin C serum düzeyleri yaşa ve cinsiyete bağlı olarak değişiklik göstermez. Bu yüzden Sistatin C'nin, GFR için yeni bir belirleyici olarak kullanılması söz konusudur (39, 40). Birçok araştırmacıya göre serum sistatin C'nin GFR düşüklüğü için duyarlılık ve özgüllüğü %100'e yakın iken kreatinin ise %50'den azdır (42).

**Tablo 1.** Sistatin C ile kreatinin/kreatinin klirensinin karşılaştırılması (40).

<b>Kreatinin/ kreatinin klirensi</b>	<b>Sistatin C</b>
Kreatinin konsantrasyonu; • Kas kitlesinden, • Vücut yüzey ölçümünden, • Alınan besinlerden etkilenir. • Tübüler sekresyonu vardır	Serum konsantrasyonu sadece GFR'ye bağlıdır. • Kas kitlesinden, • Vücut yüzey ölçümünden, • Alınan besinlerden • İnflamatuvar olaylardan etkilenmez. • Tübüler sekresyonu yoktur.
Kreatinin tayininde yaygın olarak kullanılan Jaffe metodu bilirübin, sefalosporinler, aspirin, siklosporinden etkilenir.	"Particle-Enhanced Nephelometric Immunoassay" (PENIA) kullanılır. Jaffe metodunu interfere eden maddelerden etkilenmez.
GFR, 50 ml/dakikanın altına düştüğünde serum kreatinin artışı görülebilir	GFR' daki en küçük değişikliklere bile yüksek hassasiyet gösterir.
Serum ve 24 saatlik idrar toplanması gereklidir. Özellikle çocuklarda ve yaşlılarda 24 saatlik idrar toplanması önemli hatalara açar.	Sadece serum örneği yeterlidir. İdrar toplanmasına gerek yoktur
Sonuçlar, 24 saatlik idrar toplanması gerektiğinden en erken 24 saat sonra çıkar.	Dakikalar içinde sonuç alınabilir.

### 2.7.1.1. Sistatin-C Ölçüm Metodları

İlk sistatin C ölçümü immunoassay yoluyla Loffberg ve Grubb tarafından 1979 yılında gerçekleştirilmiştir. Yakın zamanda ise otomatize edilmiş homojen immunoassaylerde kullanılan lateks veya polisitiren kaplı sistatin C spesifik antikorları geliştirilmiştir. Bunlar sistatin C ölçümü için 2 farklı yöntemde kullanılmaktadır: PETİA (Particle-Enhanced Turbidimetric İmmunoassay) ve PENİA (Particle-Enhanced Nephelometric İmmunoassay). Bu assayler daha önceki ölçüm metodlarına göre daha doğrudur ve referans değerleri daha tutarlıdır. Sistatin C 3 aydan küçük çocuk ve 70 yaşından büyük kişilerde daha yüksektir(42).

Serum sistatin C referans aralıkları (5):

- Erişkin : 0.48-0.98 mg/L
- Erişkin (65 yaş üstü) : 0.93-3.35 mg/L
- Çocuk (1-16 yaş) : 0.63-1.33 mg/L

### 2.8. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip kararsız kimyasal ürünlerdir. Canlılarda en önemli serbest radikaller, oksijenin radikal türevleridir. Serbest oksijen radikal reaksiyonları, normal metabolik yollardan oluşabildiği gibi çeşitli dış etkenlerle (sigara, alkol, radyasyon v.s) de oluşabilmektedir. Bunlar organizmanın yabancı maddelere ve enfeksiyöz ajanlara karşı mücadelesinde önemli rol oynamaktadırlar. Yaşam süreleri çok kısa olmasına rağmen, yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapıda olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliğine sahiptirler. Bu nedenle serbest radikallerin üretimi artarsa ve antioksidan sistemler ile arasındaki denge bozulursa, vücudun temel yapı elemanları olan proteinlerin, lipitlerin, nükleik asitlerin ve enzimlerin yapılarını ve fonksiyonlarını bozabilmektedirler (10, 11, 43).

Serbest oksijen radikallerin tahrip edici etkilerine karşı organizmada geliştirilmiş olan güçlü doğal antioksidan savunma sistemleri vardır ve bunlar serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı ile sonuçlanan reaksiyonları önlemektedir. Hücrelerin korunmasına yönelik olan bu sistem, normal şartlarda yeterli miktarda

koruyucu enzim ve kimyasal bileşiklerin sentezlenmesini sağlamaktadır (10, 11, 43). Organizmada, sistemi etkileyen çeşitli preoksidatif faktörler ile bunların etkilerinden korunmak amacıyla oluşan antioksidatif sistem arasında bir denge bulunmaktadır. Biyolojik sistemlerde, normalin üzerinde bir serbest oksijen radikali olduğu zaman, organizma bu duruma uyum sağlayacak şekilde yanıt vermektedir. Eğer oluşan serbest oksijen radikalleri çok fazla olursa veya organizmanın yanıtı yetersiz kalırsa, oksidatif stres denilen durum ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stresin sonucu olarak ise oksidatif hasar oluşmaktadır ve bu da proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerin oksidasyona uğraması ve buna bağlı olarak da hücre membranı başta olmak üzere çeşitli hücre elemanlarında oksidatif harabiyeti şeklinde karşımıza çıkmaktadır (10, 11, 43). Yüzden fazla hastalık serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilmektedir (44).

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

#### **2.8.1.1. Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları**

Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi

Endoplazmik Retikulum

Redoks Döngüsü

Araşidonik Asit Metabolizması

Fagositoz

Otooksidasyon

Oksidan Enzimlerin Reaksiyonları

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

Radyasyon

Sigara dumanı

Zehirli gazlar

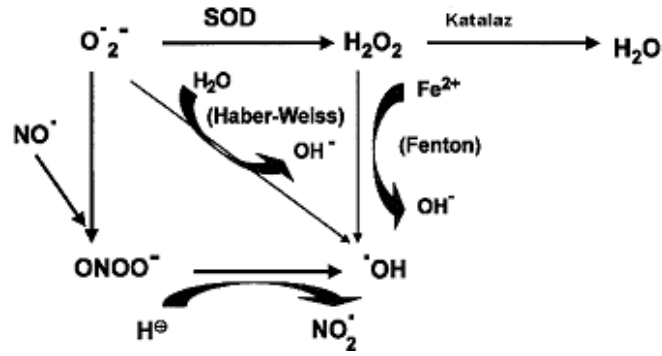
Bazı ilaçlar

Kanserojen maddeler

Pestisitler (45).

### 2.8.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu Ve Hücreye Zararlı Etkileri

Oksijen, endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında, peroksisomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından süperoksit ( $O_2^-$ ) anyonuna dönüştürülmektedir. Oluşan süperoksit anyonları, SOD enzimi ile hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) dönüştürülmektedir.  $Fe^{2+}$  veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalının ( $O_2^-$ ) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ( $OH^\bullet$ ) oluşur (43).



**Şekil 1.** Fenton ve Haber-Weiss Reaksiyonu (Galle, J. Nephrol. Dial. Transplan. 2001'den alındı).

Serbest radikaller, hücresel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Oluşan serbest oksijen radikalleri sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran permeabilitesi artar. Serbest radikallerin etkisiyle proteinler okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Reaktif oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı meydana gelir (10, 43).

Serbest radikaller, sinir sisteminde Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı etyopatogenezinde rol oynamaktadır. Endokrin sistemde Tip II Diabet oluşumunun etyopatogenezinde, immünolojik sistemde Romatoid artrit etyopatogenezinde,



kardiyovasküler hastalıkların etyopatogenezinde rol almaktadır. Böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır. Serbest oksijen radikalleri ayrıca, erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, inflamatuvar hastalıkların etyopatogenezinde de suçlanmaktadır (43).

### **2.8.3. Renal Korunma İçin Antioksidanlar**

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta “antioksidan savunma sistemi” adı verilen birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Savunma sistemlerini serbest radikal tutucuları ve bazı enzimler oluşturmaktadır.

#### **2.8.3.1. Enzimatik Antioksidanlar**

Süperoksit Dismutaz

Katalaz

Glutatyon Peroksidaz

Glutation-S-Transferazlar

Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

#### **2.8.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar**

Askorbik Asit

$\beta$ -Karoten

Vitamin E ( $\alpha$  -Tokoferol)

Transferin ve Laktoferrin

Seruloplazmin

Albümin

Ürik Asit

Bilirubin

Polifenoller (10, 11, 46).

### 2.8.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidanlarla ilgili bilimsel makaleler incelendiğinde farklı araştırmacılar tarafından antioksidan kapasiteyi tanımlamak için farklı terimlerin kullanıldığı görülür. Karşılaşılabilecek terimler total antioksidan “kapasite” veya “etkinlik”, “güç”, “parametre”, “potansiyel”, “potens” ve “aktivite” dir. Bir kimyasalın “aktivitesi” basınç, sıcaklık, reaksiyon ortamı, diğer reaktifler gibi spesifik reaksiyon koşulları belirtilmedikçe anlamsızdır. Tek bir analiz yöntemi ile ölçülen “antioksidan aktivite” o yöntemde uygulanan spesifik koşullardaki kimyasal reaktiviteyi yansıttığından verileri “total antioksidan aktivitenin” göstergesi olarak genellemek uygun olmayabilir ve yanıltıcıdır. Bu nedenle “aktivite” terimi yerine farklı deneylerde elde edilen sonuçları “kapasite” olarak sunmak önerilmektedir. Ya da “peroksil radikal süpürücü kapasite”, “süperoksit süpürücü kapasite”, “demir iyonu indirgeme kapasitesi” gibi ölçüm yöntemini daha spesifik olarak belirten terimlerin kullanılması da önerilmektedir (47).

#### 2.8.4.1. Total Oksidan Seviye-Total Antioksidan Kapasite-Oksidatif Stres İndeksi

Reaktif oksijen türleri, metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilir ve organizmada zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelebilir. Bunlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalarla uzaklaştırılır. Bazı durumlarda, oksidanlardaki artış, ve antioksidanlarda azalma önlenemez. Oksidan/ antioksidan denge, oksidatif taraf lehine kayar. Sonuç olarak, 100’den fazla hastalığa neden olan oksidatif stres meydana gelir (44).

##### 2.8.4.1.1. Total Antioksidan Kapasite(Seviye) (TAK-TAS)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metottur (48).

##### Prensip

$Fe^{2+}$ -o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak  $OH^-$  radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgen düşük pH’da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi

dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir (48).

#### **2.8.4.1.2. Total Oksidan Seviye (TOS)**

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir.

Prensip

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyona oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (49).

#### **2.8.4.1.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)**

Total Oksidant Seviye (TOS) / Total Antioksidan Kapasite (TAK) X 100 şeklinde Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanır (49).

Birimi Trolox equivalent/L (49).

### **2.9. Flavonoidler**

Flavonoidler, bitkisel gıdalarda bol ve yaygın olarak bulunan yararlı biyokimyasal ve antioksidan etkileri olan bileşiklerdir. 15C atomlu 2 fenilbenzopiron (difenil propan) yapısı gösterirler (50). Bu yapıları nedeniyle polifenolik bileşikler olarak adlandırılırlar. Yapısal olarak genellikle CS-C3-CS karbon iskeleti ve A, B, C halkaları vardır. Flavonoidler moleküler yapılarına göre başlıca antosiyoninler, flavanlar, flavanonlar, flavonlar, flavonoller ve isoflavonoidler şeklinde sınıflandırılır. Yaklaşık olarak 4000'den fazla flavonoid türü belirlenmiştir (51). Flavonoidler başlıca sebzeler, meyveler, kırmızı şarap, çay, soğan baklagillerde bulunur ve çoğu çiçeklerin, meyvelerin rengini verir (52, 53). Flavonoidlerin en önemli etkilerinden birisi serbest radikalleri temizleme özellikleridir (51). Serbest

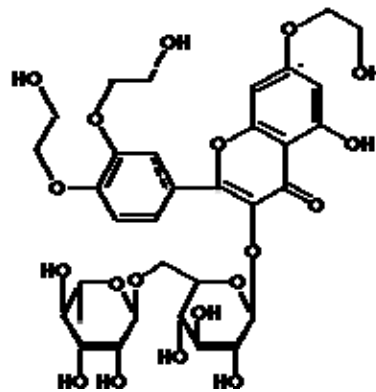
radikallerin üretim artışı endojen temizleyici bileşiklerin (süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimler) kullanılıp azalmasına yol açar. Hemen her flavonoid grubunun en iyi tanımlanmış özelliği antioksidan kapasiteleridir ve flavonoidlerin direkt radikal temizleme özellikleri vardır (51–53).

Flavonoidlerin serbest radikalleri temizleme özelliklerine ilave olarak antiinflamatuvar, antiviral, antiallerjik, antitrombotik, antiaterosklerotik, anatitümöral etkileri içeren çeşitli biyolojik özellikleri de vardır (51–53). Flavonoidler, XO (ksantin oksidaz), fosfolipaz-A2, siklooksijenaz, lipooksijenaz enzimlerinin inhibisyonu, lökosit adhezyonun ve aktivasyonunun azaltılması, mast hücresi degranülasyonunun inhibisyonu gibi etkileriyle antiinflamatuvar özellik gösterirler.

Flavonoidlerin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkileri epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir ve flavonoid alımının mortalite ile ters ilişkili olduğu bulunmuştur. Radikal aracılı hasar sonucu oluşması muhtemel pek çok hastalıktan korunmada flavonoidlerin etkin bir rol oynayabileceği düşünülebilir (51,52).

### 2.9.1. Okserutin

Okserutin saflaştırılmış mikronize flavonoid fraksiyonu (MPFF) içerir. Okserutin flavonoidlerin flavonol alt grubu üyesidir ve rutin ve kersetin türevidir. Okserutin standart bileşiminde doğal biyoflavonoid olan rutin'in trihidroksietil türevi olan tri-okserutin bulunmaktadır. Rutin quercetin glikozid formu olup aromatik trimerik heterosiklik yapıya sahiptir ve çay, kahve, tahıl ve çeşitli sebze ve meyvede bulunmaktadır(54).



Şekil 2. Tri-okserutin (Trihidroxyethylrutin) kimyasal yapısı

Yapılan birçok çalışmada tri-okserutin antioksidan, antiinflamatuvar, antineoplastik, antieritrositik, antitrombotik, antifibrinolitik ve radyoprotektif aktivite gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (54–57). Bununla birlikte tri-okserutin halen bazı kardiyovaküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (58). Son dönemdeki Fan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri sayesinde nefroprotektif etkisinin olduğu ortaya konmuştur(54).

### 3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (SDÜ-HADYEK)'nin 25 Aralık 2012 tarihli ve 03 sayılı etik kurul izniyle, Deneysel Araştırma Laboratuvarı (SDÜ-HÜDAL)'da; Üroloji, Biyokimya ve Patoloji Anabilim Dalları'nın ortak çalışmasıyla gerçekleşti. Biyokimyasal analizler Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı Merkez Laboratuvarında, histopatolojik incelemeler Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nce (3457-TU2-13 nolu proje) desteklendi.

#### 3.1. Deneysel Hayvanları

Çalışmamızda SDÜ-HÜDAL'dan temin edilen, toplam 50 adet Wistar Albino cinsi, ağırlıkları 200-300 gr (ortalama 250 gr) arasında değişen 12-16 haftalık erişkin erkek rat kullanıldı. Bunların 2 tanesi reperfüzyon süresinin belirlenmesi için pilot çalışmada kullanıldı. Tüm deneysel hayvanları 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda normal oda sıcaklığında ( $22\pm 2$  °C) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda ayrı kafeslerde tutularak takip edildi. Deneye başlanmadan önce hayvanların bir hafta süre ile ortam koşullarına adaptasyonu sağlandı. Tüm denekler standart rat yemi ile beslendi, şebeke suyu kullanıldı ve düzenli olarak kafes bakımları yapıldı.

Deneysel esnasında kullanılacak anestezi, intraperitoneal yoldan verilen ketamin HCl (40 mg/kg; 50 mg/cc; Ketalar®; Parke-Davis) ve % 2 Xylazin HCl (10 mg/kg; 23.32 mg/cc; Rompun®; Bayer) kombinasyonu ile sağlandı (Resim 3A). Tekrar laparotomi yapılacak deneklere ilk laparotomi sonrası Xylazin HCl'nin analjezik etkisine ilave olarak postoperatif analjezi uygulanmadı. Deneysel protokolü süresince uygulanacak girişimler için aynı dozlar ile anestezi idamesi sağlandı. Genel anestezi altındaki ratlar operasyon masasına alınarak flaster yardımı ile ayaklarından masaya sabitlendi Cerrahi işlemin gerçekleştirileceği alan traş bıçağı ile traş edildi. Operasyon sahası önce cerrahi sabun sonra povidone-iodine ile temizlendi (Resim 3C). Batın orta hattın cerrahi aletlerle uygun teknikte açıldı (Resim 3C). Sol taraftaki

bağırsaklar mediale itilince sol böbrek, böbrek pedikülü ve vena kava ve aort görünür hale geldi.

### **3.2. Okserutinın Hazırlanması**

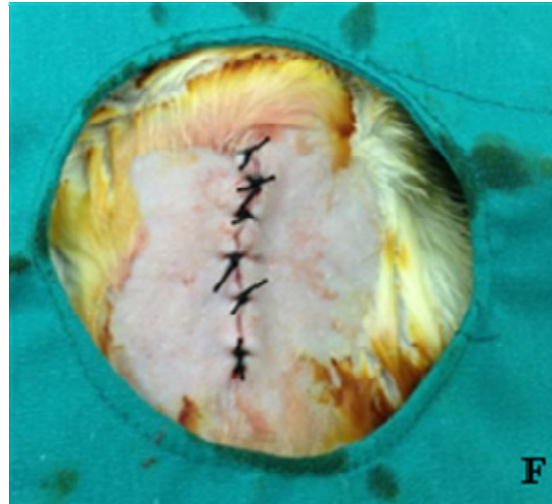
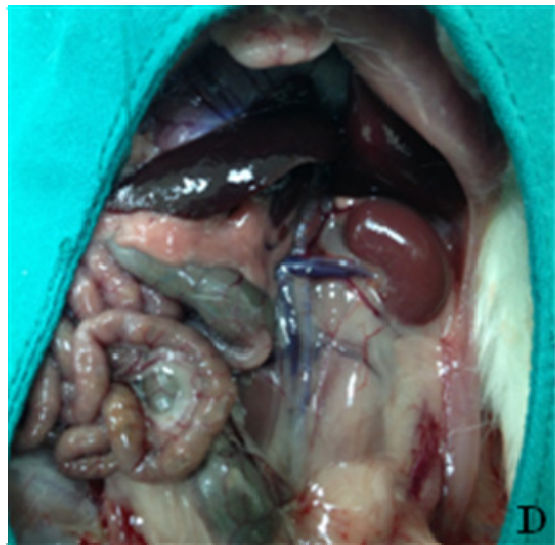
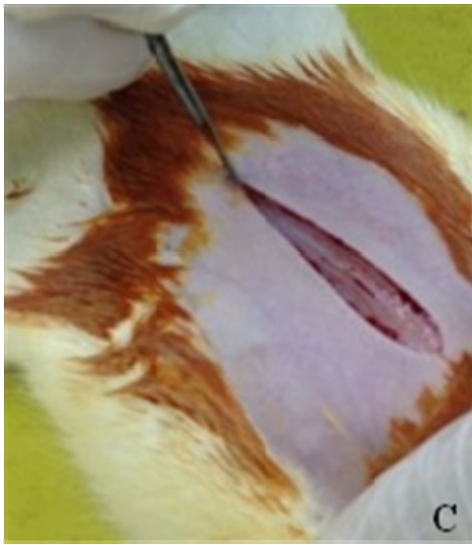
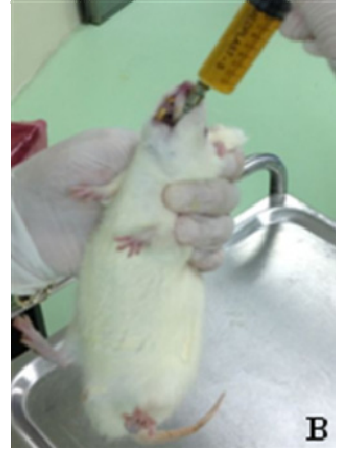
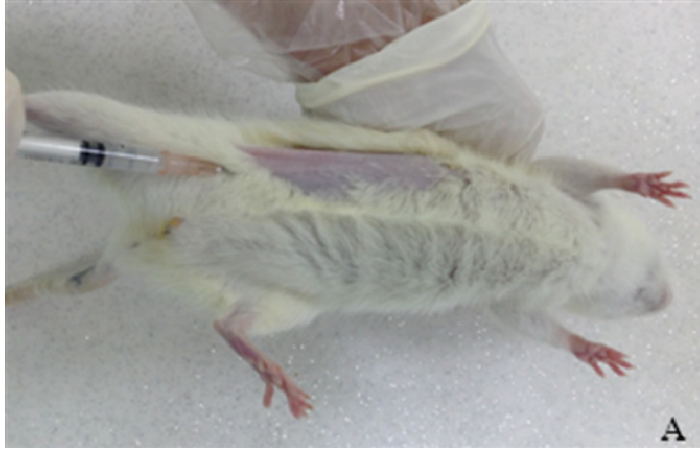
Okserutin (VENORUTON®, Novartis, 500mg tablet) içme suyu ile 1 ml de verilecek total doz olan 500 mg/kg olacak şekilde hazırlanan çözeltiler oral gavaj yolu ile uygulandı.

#### **Kullanılan Malzeme ve Aletler**

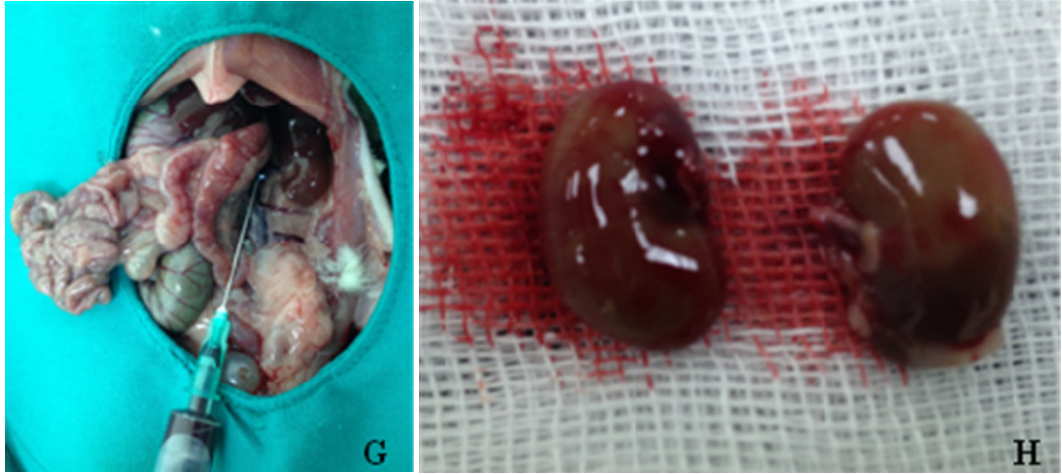
1. Soğutmalı santrifüj Eppendorf MR 5415 (Almanya)
2. Derin dondurucu Facis (Fransa)
3. Hassas terazi Scaltec (İsviçre)
4. Vorteks (karıştırıcı) Nüve NM 100 (Türkiye)
5. Otomatik pipetler Gilson (Fransa), Eppandörf
6. Homojenizatör Ultra Turrax T25 (Almanya)
7. Sonikatör UW- 2070 Bandeun Electronic (Almanya)
8. Otoanalizör Beckman Coulter AU5800 (ABD)
9. Organon Teknika Microwell ELİSA Okuyucu
10. Bio-tek ELX50 Otomatik Yıkayıcı

#### **Kullanılan Kimyasallar**

1. Fosfat tamponu (ph 7.0)
2. Formaldehit solüsyonu
3. Alkol
4. Parafin
5. Ksilol
6. Hemotoksilen-eozin







**Resim 3A:** İntraperitoneal anestezi madde enjeksiyonu, **3B:** Orogastrik gavaj ile okserutin verilmesi, **3C:** Batının (operasyon sahasının) povidone-iodine ile temizlendikten ve traş edildikten sonra bistüri ile orta hattan açılması, **3D:** Laparotomi sonrası batın orta hattan barsakların sağa doğru medialize edilerek sol böbrek ve pedikülünün vizüalize edilmesi, **3E:** Mikrovasküler klemple sıcak iskemi modeli oluşturulmuş sol böbrek, **3F:** Sıcak iskemi sonrası 24 saat reperfüzyon uygulanacak gruptaki ratların laparotomi insizyonlarının kapatılması, **3G:** Vena cava inferior'dan biyokimyasal çalışma için kan alınması, **3H:** İskemi-Reperfüzyon hasarı sonrası nefrektomi yapılmış sol böbrek ve nefrektomi yapılmış non-iskemik sağ böbrek.

### 3.3. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması ve Deneyin Yapılışı

Bu çalışmada ratlar pilot çalışma grubunda 2 rat, kontrol-sham grubunda 8 rat diğer gruplarda 10 rat olacak şekilde 6 ayrı gruba ayrıldı. Deney hayvanları preoperatif ve postoperatif dönemlerde normal oda ısısında ve ayrı kafeslerde tutularak takip edildi. GRUP I (Kontrol-Sham Grubu), GRUP II (İskemi- 1 saat reperfüzyon Grubu) ve GRUP IV'e (İskemi- 24 saat reperfüzyon Grubu) herhangi bir tedavi verilmeden takip edildi. GRUP III (İskemi- 1 saat reperfüzyon + Okserutin Grubu) ve GRUP V'e (İskemi- 24 saat reperfüzyon + Okserutin Grubu) cerrahi işlemden 24 saat önce ve 2 saat önce 500 mg/kg Okserutin (VENORUTON®, Novartis, 500 mg tablet) 1 ml içme suyunda eritilip oral intragastrik gavaj yoluyla verildi (Resim 3B).

**Grup 0: Pilot Çalışma Grubu (n=2):** Ratlara genel anestezi altında orta hat laparotomi yapılarak sonrası sol böbrek, renal arter ve ven ortaya konup (Resim 3D) pediküle bir adet non-travmatik klemp konulup 30 dk uygulandıktan sonra klemp kaldırıldı. İskemi işlemi tamamlandıktan sonra 24 saatlik reperfüzyon uygulanacak

deneklerin laparotomi insizyonu primer 3/0 ipek iplikle kapatılarak deneklere kan ve sıvı kaybını önlemek için 24 saatlik reperfüzyon süresince cilt altına 3 ml serum fizyolojik uygulandı. Bu deneklere 24 saat sonra tekrar anestezi işlemi uygulanarak ve laparotomi insizyonları tekrar açılıp, kan ve her iki böbrek dokusu örnekleri alınıp. Hayvanlar sakrifiye edildi. Pilot çalışma grubundaki ratların 30 dk iskemi sonrası 24 saat yaşadıkları görüldükten ve alınan doku örneklerinde histopatolojik değişiklikler gözlemlendikten sonra reperfüzyon süreleri belirlenerek çalışma grupları planlandı.

**Grup 1: Kontrol - Sham Grubu (n=8):** Ratlara genel anestezi altında orta hat laparotomi yapılarak sonrası sol böbrek, renal arter ve ven ortaya konup, mobilize edildikten sonra 90 dk sonunda deneklerden kan ve sonrasında her iki böbrek dokusu alınarak hayvanlar sakrifiye edildi.

**Grup 2: Renal İskemi - 1 Saat Reperfüzyon Grubu (n=10):** Ratlara genel anestezi altında orta hat laparotomi yapılarak sonrası sol böbrek, renal arter ve ven ortaya konup pediküle bir adet non-travmatik klemp konulup 30 dk uygulandıktan sonra klemp kaldırıldı (Resim 3E). 1 saatlik reperfüzyon uygulanan deneklerinin 1 saat boyunca açıkta kalan karın bölgesi üzerine ılık serum fizyolojik ile ıslatılmış spanç konuldu. Bir saatin sonunda deneklerden kan ve sonrasında her iki böbrek dokusu alınarak hayvanlar sakrifiye edildi.

**Grup 3: Renal İskemi - 1 Saat Reperfüzyon + Okserutin Grubu (n=10):** Ratlara işlemden 24 saat önce tek doz 500 mg/kg ve işlem günü işlemden 2 saat önce tek doz oral gavaj yolu ile 500 mg/kg okserutin verildi. Ratlara genel anestezi altında orta hat laparotomi yapılarak sonrası sol böbrek, renal arter ve ven ortaya konup pediküle bir adet non-travmatik klemp konulup 30 dk uygulandıktan sonra klemp kaldırıldı. 1 saatlik reperfüzyon uygulanan deneklerinin 1 saat boyunca açıkta kalan karın bölgesi üzerine ılık serum fizyolojik ile ıslatılmış spanç konuldu. Bir saatin sonunda deneklerden kan ve sonrasında her iki böbrek dokusu alınarak hayvanlar sakrifiye edildi.

**Grup 4: Renal iskemi- 24 saat reperfüzyon grubu (n=10):** Ratlara genel anestezi altında orta hat laparotomi yapılarak sonrası sol böbrek, renal arter ve ven ortaya konup pediküle bir adet non-travmatik klemp konulup 30 dk uygulandıktan

sonra klemp kaldırıldı. İskemi işlemi tamamlandıktan sonra 24 saatlik reperfüzyon uygulanacak deneklerin laparotomi insizyonu primer 3/0 ipek iplikle kapatılarak (Resim 3F) deneklere kan ve sıvı kaybını önlemek için 24 saatlik reperfüzyon süresince cilt altına 3 ml serum fizyolojik uygulandı. Bu deneklere 24 saat sonra tekrar anestezi işlemi uygulanarak ve laparotomi insizyonları tekrar açılıp, kan ve her iki böbrek dokusu örnekleri alınıp hayvanlar sakrifiye edildi.

**Grup 5: Renal iskemi- 24 saat reperfüzyon grubu+okserutin grubu (n=10):** Ratlara işlemden 24 saat önce tek doz 500 mg/kg ve işlem günü işlemden 2 saat önce tek doz oral gavaj yolu ile 500 mg/kg okserutin verildi. Ratlara genel anestezi altında orta hat laparotomi yapılarak sonrası sol böbrek, renal arter ve ven ortaya konup pediküle bir adet non-travmatik klemp konulup 30 dk uygulandıktan sonra klemp kaldırıldı. İskemi işlemi tamamlandıktan sonra 24 saatlik reperfüzyon uygulanacak deneklerin laparotomi insizyonu primer 3/0 ipek iplikle kapatılarak deneklere kan ve sıvı kaybını önlemek için 24 saatlik reperfüzyon süresince cilt altına 3 ml serum fizyolojik uygulandı. Bu deneklere 24 saat sonra tekrar anestezi işlemi uygulanarak ve laparotomi insizyonları tekrar açılıp, kan ve her iki böbrek dokusu örnekleri alınıp hayvanlar sakrifiye edildi (Resim 3G ve Resim 3H).

### 3.4. Serum Örneklerinin Hazırlanması

Deney gruplarındaki ratlardan, iskemi-reperfüzyon süreleri sonunda 5ml'lik enjektörlerle kan vena cava inferiordan alınarak heparinli tüplere aktarılmıştır. Kan örnekleri soğutmalı ortamda 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek serumları ayrılarak 1.5 ml'lik ependorf tüplere alınmıştır. Plazma örneklerinde BUN, kreatinin, serum TNF- $\alpha$  düzeyi, Serum sistatin C düzeyi ölçümleri için her hangi bir ön işleme tabi tutulmaksızın analiz zamanına kadar -80° C'de bekletilmiştir.

### 3.5. Doku Örneklerinin Hazırlanması

Deney gruplarındaki ratlardan, iskemi-reperfüzyon süreleri sonunda kan örnekleri alındıktan sonra her iki böbrek dokusuna hızlıca nefrektomi yapıldı. Alınan sağ ve sol böbrek dokularının yarısı soğuk % 0.9'luk sodyum klorür çözeltisiyle yıkandı ve aliminyum folyoya sarılarak biyokimyasal analiz için homojenizasyon

işlemine kadar -80 °C'de muhafaza edilirken, kalan yarıları ise histopatolojik inceleme için tamponlanmış %10'luk nötral formaldehit içinde muhafaza edildi.

### **3.6. Biyokimyasal İnceleme**

#### **3.6.1. Serum Bun, Kreatinin, Üre Analizi**

Serumlar oda ısısında çözdürüldükten sonra üre ve kreatinin düzeyleri ticari kit kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Beckman Coulter AU 5800, USA). BUN değerleri üre değerlerinden hesaplanmıştır.

Tüm standart ve sıçan serumları çift çalışılmıştır ve tüm konsantrasyonlar kitlerde sağlanan standart serumları kullanılarak elde edilen standart eğrilerine göre hesaplanmıştır.

#### **3.6.2. Serum TNF- $\alpha$ , Sistatin-C Analizi**

Serum sistatin C düzeyi, BioVendor (Brno, Çek Cumhuriyeti) ve serum TNF- $\alpha$  düzeyi İnvitrogen (Camarillo, Kuzey Amerika) marka sıçan spesifik ticari kitler ve okuma cihazı (Oganon Teknika Microwell system Reader 530, Austria) kullanılarak enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile saptandı.

Tüm standart ve sıçan serumları çift çalışılmıştır ve tüm konsantrasyonlar kitlerde sağlanan standart serumları kullanılarak elde edilen standart eğrilerine göre hesaplanmıştır.

#### **3.6.3. Dokuların Homojenizasyonu**

Böbrek dokuları tartılıp 1/10 oranında fosfat tamponu ile karıştırılarak homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işlemi iki adımda tamamlanmıştır. İlk adımda doku mekanik parçalayıcı (Janke & Kunkel Ultra-Turrax T25, Almanya) ile yaklaşık olarak 1 dk parçalanmış ve ikinci adımda 30 sn sonikatöre (UW-2070 Bandeun Electronic, Almanya) maruz bırakılmıştır. Elde edilen homojenatlar 10000 g'de +4 °C'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Süpernatantları alınıp yedeklenerek çalışılincaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

### 3.6.4. Doku TAS(TAK)-TOS Analizi

Dokulardan elde edilen homojenatlar oda ısısında çözdürüldükten sonra TAS ve TOS düzeyleri Reel Assay (Gaziantep, Türkiye) marka ticari kit kullanılarak modifiye Erel metodu (kaynak) ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Beckman Coulter AU 5800,USA). Homojenatların protein düzeyleri mikroprotein ticari kiti kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Beckman Coulter AU 5800, USA). TAS ve TOS değerleri her bir numunenin kendi protein değerine bölünerek TAS için mmol Trolox Eq/gr protein biriminde, TOS için  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Eq/gr protein biriminde sonuçlar verilmiştir.

### 3.7. Patolojik İnceleme

#### 3.7.1. Hematoksilen Eozin İle Boyama ile Histopatolojik Değerlendirme

Hayvanların böbrek dokuları alındıktan sonra %10 nötral formalinde fikse edildi. Dehidrasyon ve parafin inkluzyon işleminden sonra dokular parafin bloklara gömüldüler. Parafin bloklardan rotary mikrotom yardımıyla 4-5 $\mu\text{m}$  kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Boyama işlemi takiben tüm kesitler ışık mikroskopunda (Nikon elips 400 Araştırma Mikroskobu) incelenerek değerlendirildi ve fotoğrafları çekildi. Akut renal yetmezlikte bulunan değişiklikleri değerlendiren Paller ve arkadaşlarının tanımladığı semikantitatif bir skala modifiye edilerek skorlandı (59).

Modifiye edilmiş Paller ve arkadaşlarının tanımladığı skora sistemi:

- 1- Kronik inflamasyon ( 0, +, ++)
- 2-Tübüler epitalyal hücre düzleşmesi (0 , +, ++)
- 3-Sitoplazmik vakualizasyon (0, +, ++)
- 4-Hücre nekrozu ve iskemik değişiklikler (0, +, ++)
- 5-Tubuler lümen obstruksiyonu (0 ,+, ++)

### 3.7.2. Insitu Cell Detection Tunel (Apoptosis) Analizi

Alınan böbrek dokuları %10'luk formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin takiplerden sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardaki böbrek dokularından 5µm kalınlığında kesitler alınarak, poly-L-lysine ile kaplı lamalar üzerine yerleştirildi. preparatlar bir gece 37°C'lik etüvde bekletildi ve deparafinizasyon işlemi için 20 dakika ksilende bekletildi, absöü alkolde 20 dakika bekletilip distile sudan geçirildi. Antijen retrievel işlemi için kesitler PT modulle Buffer 1 (Labvision) cihazında sitrat tampon içerisinde 98° C 'de 20 dakika ısıtıldı. İşlem sonrası 20 dakika oda ısısında sitrat tampon içerisinde soğutuldu, distile sudan geçirildi. Kesitlere H2O2 (hidrojen Peroksit) damlatıldı ve 20 dakika inkübasyona bırakıldı. PBS (pH: 7,6) (Fosfat buffer Saline)'de yıkandı. Kesitlere -25° C'de muhafaza edilen Enzyme(Terminal deoxynucleotidyl Transferase yani TDT 5x50 ul Roche Diagnostik GMBH Mannheim Germany) ve Labeling solusyonundan (Nucleotid mixture reaction buffer 5x550 Roche Diagnostik GMBH Mannheim GMBH Germany) hazırlanan karışım damlatılarak 37° C'de etüvde kapalı ve karanlık üstü kapalı nemlendirilmiş bir kaptta 60 dk. inkübasyon yapıldı. İnkübasyon sonrası dokular PBS te üç ayrı şalede yıkandı. Converter-POD (horse-radish peroxidase 3.5 ml ready to use Roche Diagnostik GMBH Mannheim Germany) damlatıldı 37 C de etüvde kapalı ve karanlık üstü kapalı nemlendirilmiş bir kaptta 30 dk. inkübasyon yapıldı. PBS te üç ayrı şalede yıkandı DAB kromogen damlatıldı 5-10 dk. inkübasyon yapıldı. Distile suda yıkandı. Methylen Green damlatıldı 1-5 dk. inkübe edildi. Distile suda yıkandı. Alkolden geçirilip havada kurutuldu ve ksilene konuldu. Daha sonra entelen kullanılarak kapatma işlemi yapıldı. Kesitler Olympus BH-2 araştırma mikroskobu ile değerlendirildi.

### 3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Denemede üzerinde durulan Üre, BUN, Kreatinin, TNF- $\alpha$ , Cystatin C parametreleri özellikleri bakımından elde edilen veriler parametrik testlerin ön şartlarını sağladığı için bu parametrelerin grup ortalamaları arasındaki farkların belirlenmesinde tek yönlü varyans analizi tekniği (One Way ANOVA) ile analiz edilmiştir. Grup ortalamaları arasındaki farkların belirlenmesinde de TUKEY testi kullanılmıştır.

TAS ve TOS parametreleri özellikleri bakımından elde edilen verilere ise faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlere varyans analizi tekniği uygulanmıştır. Denemede grup faktörünün 5 seviyesi ve yön faktörünün de 2 seviyesi mevcuttur. Tekrarlanan ölçümler yön faktörünün seviyelerinde gerçekleştirilmiştir.

Apoptosis parametresi özelliği bakımından elde edilen veriler açığı transformasyonuna tabi tutulduktan sonra faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlere varyans analizi tekniği uygulanmıştır. Denemede grup faktörünün 4 seviyesi ve yön faktörünün de 2 seviyesi mevcuttur. Tekrarlanan ölçümler yön faktörünün seviyelerinde gerçekleştirilmiştir. Grupların ortalamaları arasındaki farklar belirlenirken ise çoklu karşılaştırma yöntemlerinden TUKEY testi kullanılmıştır.

Histopatolojik parametrelerin (inflamasyon, epitelyal düzleşme, sitoplazmik vakuolizasyon, nekroz-iskemi, lümen obstrüksiyon) özellikler bakımından elde edilen sınıflandırılmış veriler grup faktörü ile iki yönlü tablolar oluşturularak sayı ve yüzde şeklinde gösterilmiştir. Gruplar ile her bir sınıflandırılmış özellik arasındaki bağımlılığın olup olmama durumunda kıkare bağımsızlık testi ile değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Biyokimyasal Bulgular

Ratlardan alınan serum örneklerinden çalışılan Üre, BUN, Kreatinin, TNF- $\alpha$ , Cystatin C parametrelerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde grupların birbiri ile karşılaştırmasında tek yönlü varyans analiz tekniği (One Way ANOVA) kullanıldı. İstatistiksel olarak  $p<0,01$  değeri anlamlı kabul edildi. Gruplar arası karşılaştırmada TUKEY testi kullanıldı. Ve  $p<0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Tablo 2.** Rat serumlarında çalışılan parametrelerin ortalama değerlerinin tüm gruplar arasında karşılaştırılması

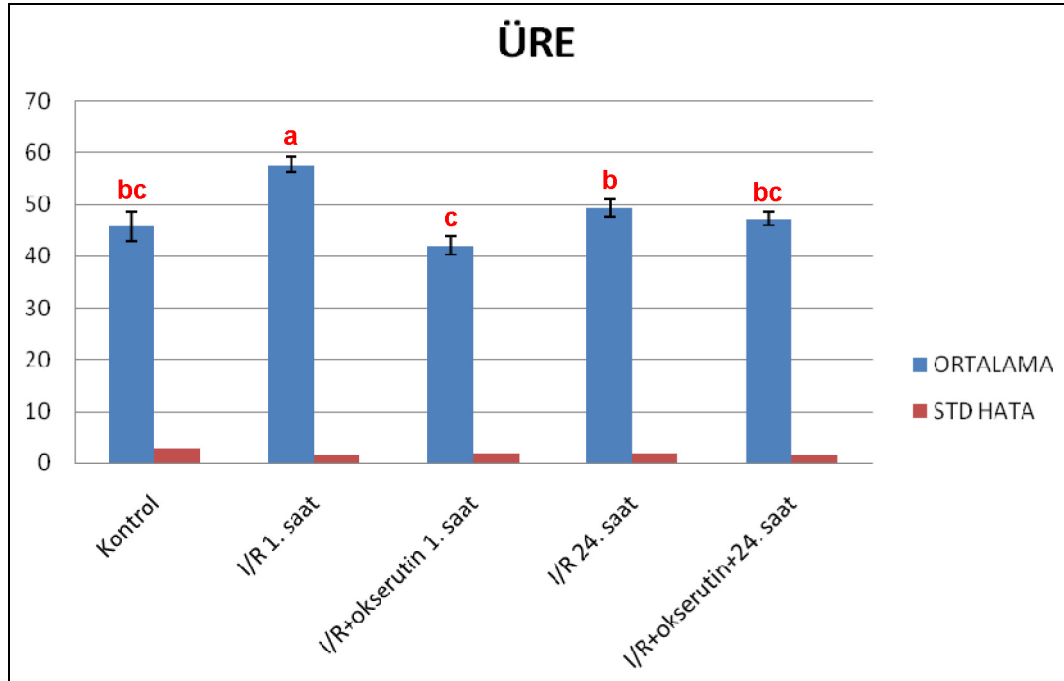
ÖLÇÜLEN PAREMETRELER	Kontrol (n=8)	I/R 1. saat (n=10)	I/R+okserutin 1. saat (n=10)	I/R 24. saat (n=10)	I/R+okserutin 24. saat (n=10)
Üre(mg/dl)	45.77±2.76 <sup>bc</sup>	57.70±1.49 <sup>a</sup>	42.11±1.72 <sup>c</sup>	49.30±1.72 <sup>b</sup>	47,33±1.34 <sup>bc</sup>
BUN(mg/dl)	21.38±1.27 <sup>bc</sup>	26.90±0.67 <sup>a</sup>	19.80±0.74 <sup>c</sup>	23.10±0.85 <sup>b</sup>	22.20±0.65 <sup>bc</sup>
Kreatinin(mg/dl)	0.51±0.01 <sup>b</sup>	0.61±0.01 <sup>a</sup>	0.61±0.02 <sup>a</sup>	0.59±0.01 <sup>a</sup>	0.60±0.01 <sup>a</sup>
Sistatin C(mg/L)	1.31±0.09 <sup>bc</sup>	1.05±00.06 <sup>c</sup>	1.65±0.13 <sup>b</sup>	1.57±0.14 <sup>b</sup>	2.28±0.15 <sup>a</sup>
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	68.29±2.55 <sup>a</sup>	55.98±2.76 <sup>bc</sup>	52.34±2.42 <sup>c</sup>	64.45±3.11 <sup>ab</sup>	49.87±1.92 <sup>c</sup>

a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

Gruplar arasında serum üre değerleri açısından yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ). TUKEY testi sonuçlarında Tablo 2 'de ortalama üzerinde Latin harfleri ile gösterilmiştir. Ve grupların üre ortalama değerlerinin karşılaştırılması Şekil 3'de gösterilmiştir.

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada kontrol grubu ile I/R 1. saat grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken ( $p<0,05$ ) diğer gruplar arasındaki fark anlamsızdı ( $p>0,05$ ). I/R 1. saat grubunda tespit edilen üre ortalama değeri diğer gruplardan daha yüksek bulundu. I/R 1. saat grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).



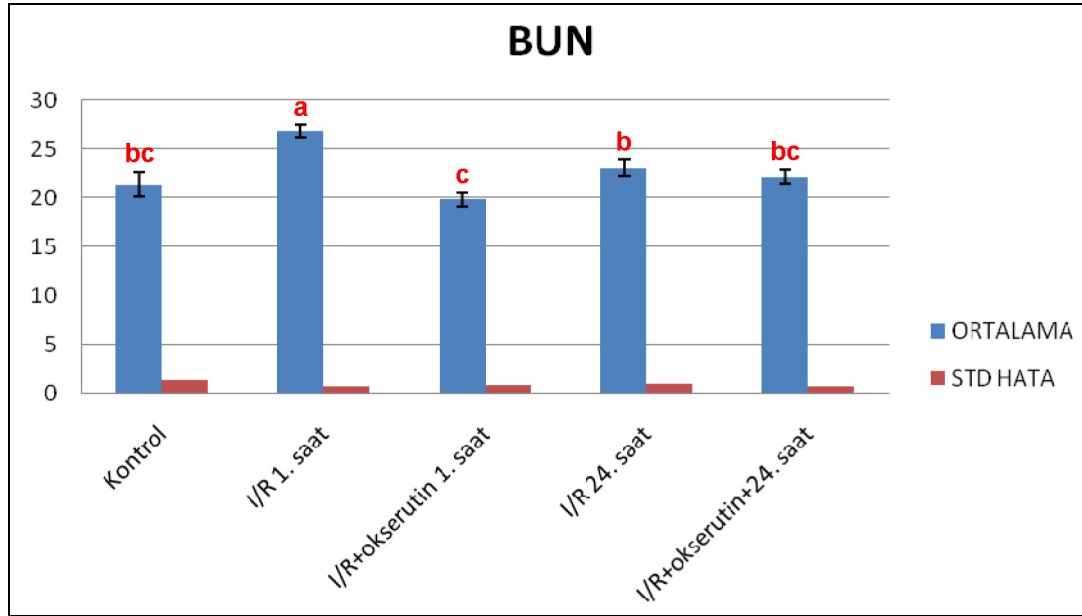


**Şekil 3.** Gruplar arasında Üre ortalama değerlerinin karşılaştırılması a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

I/R+okserutin 1. saat grubunda Üre ortalama değerleri I/R 24. saat grubu ve I/R+okserutin 24. Saat gruplarından daha düşük bulundu. I/R+okserutin 1. saat grubu ile I/R 24. saat grubu karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olup ( $p<0,05$ ) I/R+okserutin 1. saat grubu ile I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı ( $p>0,05$ ).

I/R 24. saat grubu ile I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ( $p>0,05$ ). I/R+okserutin 24. saat grubunda bulunan üre ortalama değeri daha düşüktü.

Gruplar arasında serum BUN değerleri açısından yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ). TUKEY testi sonuçlarında Tablo 2’de ortalama üzerinde Latin harfleri ile gösterilmiştir. Ve grupların BUN ortalama değerlerinin karşılaştırılması Şekil 4’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.** Gruplar arasında BUN ortalama değerlerinin karşılaştırılması a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

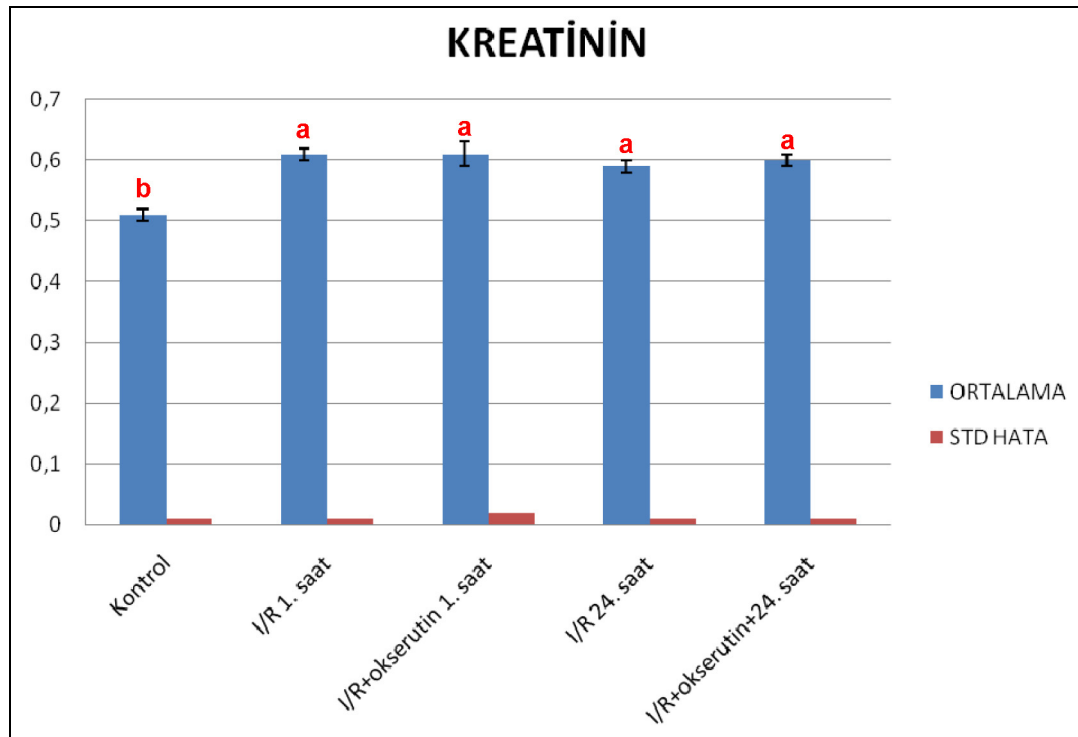
Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada kontrol grubu ile I/R 1.saat grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken ( $p<0,05$ ) diğer gruplar arasındaki fark anlamsızdı ( $p>0,05$ ). I/R 1. saat grubunda tespit edilen BUN ortalama değeri diğer gruplardan daha yüksek bulundu. I/R 1. saat grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

I/R+okserutin 1. saat grubunda BUN ortalama değerleri I/R 24. saat grubu ve I/R+okserutin 24. Saat gruplarından daha düşük bulundu. I/R+okserutin 1. saat grubu ile I/R 24. saat grubu karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olup ( $p<0,05$ ) I/R+okserutin 1. saat grubu ile I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı ( $p>0,05$ ).

I/R+okserutin 24. saat grubunda bulunan BUN ortalama değeri I/R 24. saat grubundan daha düşüktü. I/R 24. saat grubu ile I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı ( $p>0,05$ ).

Gruplar arasında serum kreatinin değerleri açısından yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ). TUKEY testi sonuçlarında Tablo 2 'de ortalama üzerinde

Latin harfleri ile gösterilmiştir. Ve grupların Kreatinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması Şekil 5’de gösterilmiştir.



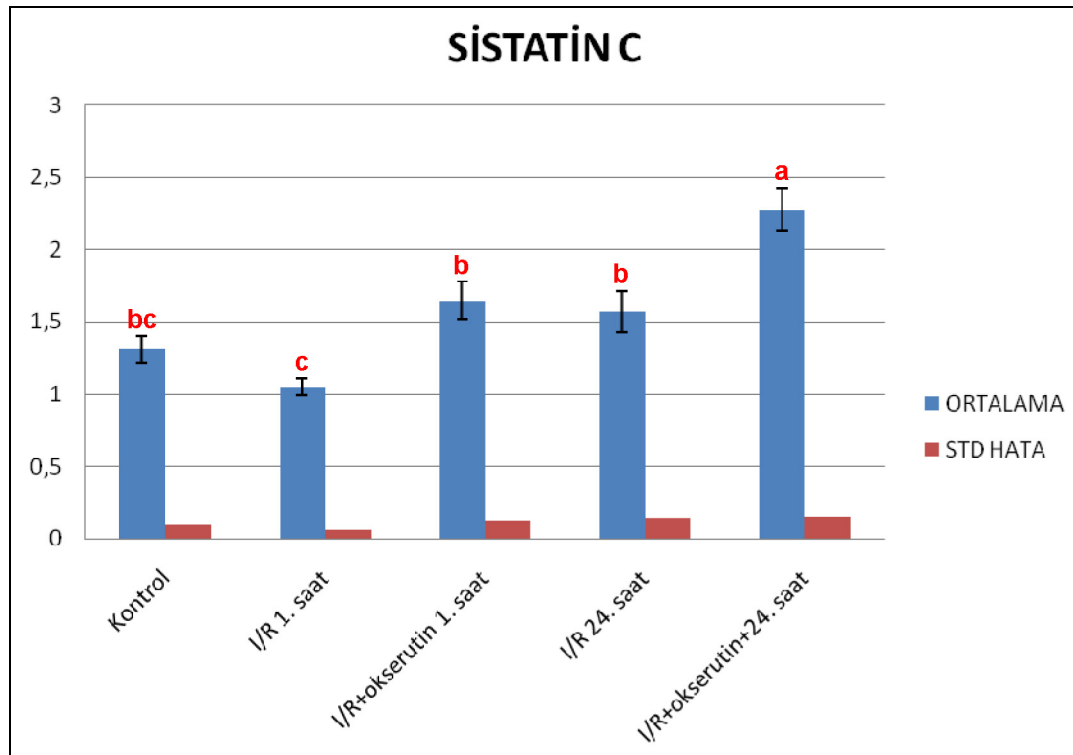
**Şekil 5.** Gruplar arasında Kreatinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada kontrol grubunun dışındaki tüm gruplarda kreatinin ortalama değerleri kontrol grubundan yüksek olarak bulundu ve kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Ancak I/R 1. saat grubu ile I/R+okserutin 1. saat grubu, I/R 24. saat grubu ve I/R+okserutin 24. saat grupları karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark anlamsızdı ( $p>0,05$ ).

I/R+okserutin 1. saat grubu ile I/R 24. saat grubu ve I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark anlamsızdı ( $p>0,05$ ). I/R 24. saat grubu ve I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark anlamsızdı ( $p>0,05$ ).

Gruplar arasında serum sistatin C değerleri açısından yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ). TUKEY testi sonuçlarında Tablo 2’de ortalama üzerinde

Latin harfleri ile gösterilmiştir. Ve grupların Sistatin C ortalama değerlerinin karşılaştırılması Şekil 6'da gösterilmiştir.



**Şekil 6.** Gruplar arasında Sistatin C ortalama değerlerinin karşılaştırılması a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

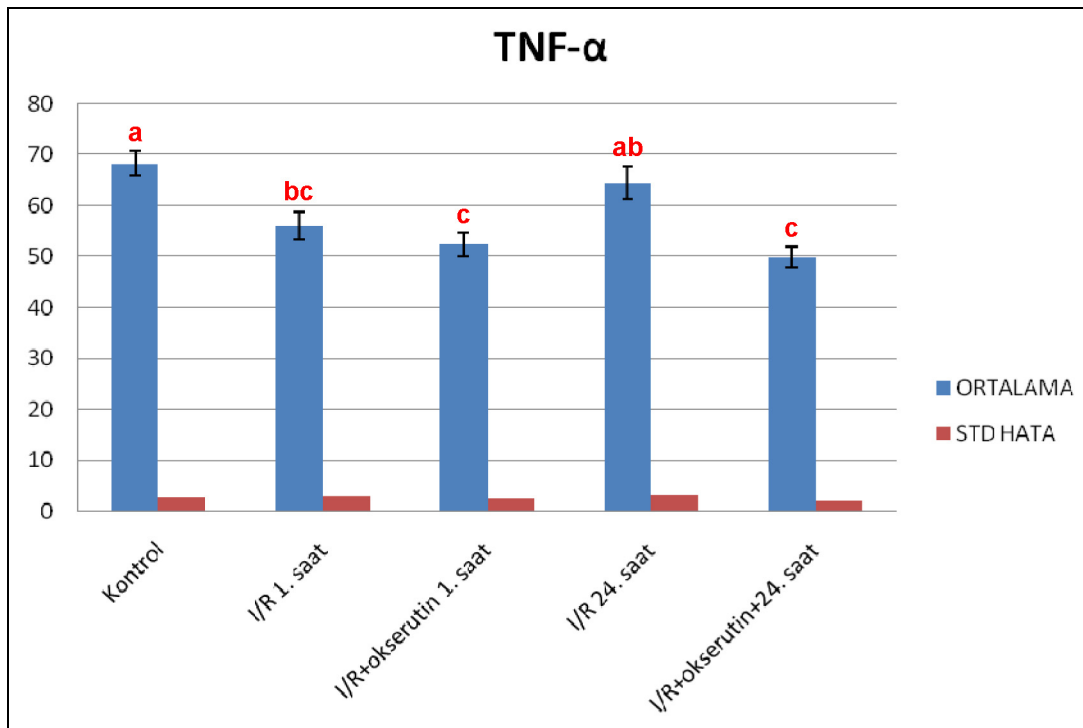
Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada kontrol grubu ile I/R 1. saat grubu, I/R+okserutin 1. saat grubu ve I/R 24. saat grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ). I/R+okserutin 24. saat grubunda sistatin C değeri kontrol grubundan daha yüksek bulundu ve kontrol grubu ile I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

I/R 1. saat grubu ile I/R+okserutin 1. saat grubu ve I/R 24. saat grubu ile I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,05$ ).

I/R+okserutin 1. saat grubu ile I/R 24. saat grubu karşılaştırıldığında arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ( $p>0,05$ ). I/R+okserutin 1. saat grubu ile I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,05$ ). Aynı şekilde I/R 24. saat grubu ile

I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Okserutin tedavi gruplarında sistatin C değerleri diğer gruplardan daha yüksek olarak bulundu.

Gruplar arasında serum TNF- $\alpha$  değerleri açısından yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,01$ ). TUKEY testi sonuçlarında Tablo 2'de ortalama üzerinde Latin harfleri ile gösterilmiştir. Ve grupların TNF- $\alpha$  ortalama değerlerinin karşılaştırılması Şekil 7'de gösterilmiştir.



**Şekil 7.** Gruplar arasında TNF- $\alpha$  ortalama değerlerinin karşılaştırılması a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada tüm gruplarda TNF- $\alpha$  değerleri kontrol grubundan daha düşük bulundu ve kontrol grubu ile I/R 1. saat grubu, I/R+okserutin 1. saat grubu ve I/R+okserutin 24. saat grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). Kontrol grubu ile I/R 24. saat grubu karşılaştırıldığında ise gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu ( $p>0,05$ ).

I/R 1. saat grubu ile I/R+okserutin 1. saat grubu, I/R 24. saat grubu ve I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p>0,05$ ).

I/R+okserutin 1. saat grubu ile I/R 24. saat grubu karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken ( $p<0,05$ ). I/R+okserutin 1. saat grubu ile I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında ise gruplar arasındaki fark anlamsız bulundu ( $p>0,05$ ).

I/R 24. saat grubu ile I/R+okserutin 24. saat grubu karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,05$ ). Okserutin tedavi gruplarında en düşük TNF- $\alpha$  değerleri bulundu.

Gruplar arasında doku TAS değerleri açısından yapılan varyans analizi sonucunda yön x grup etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ) ve grupların ortalamaları arasındaki farklar da istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). Sadece yönlerin ortalamaları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,01$ ). Sonuçlar Tablo 3'de ortalama üzerinde Latin harfleri ile gösterilmiştir. Ve grupların TAS ortalama değerlerinin karşılaştırılması Şekil 8'de gösterilmiştir.

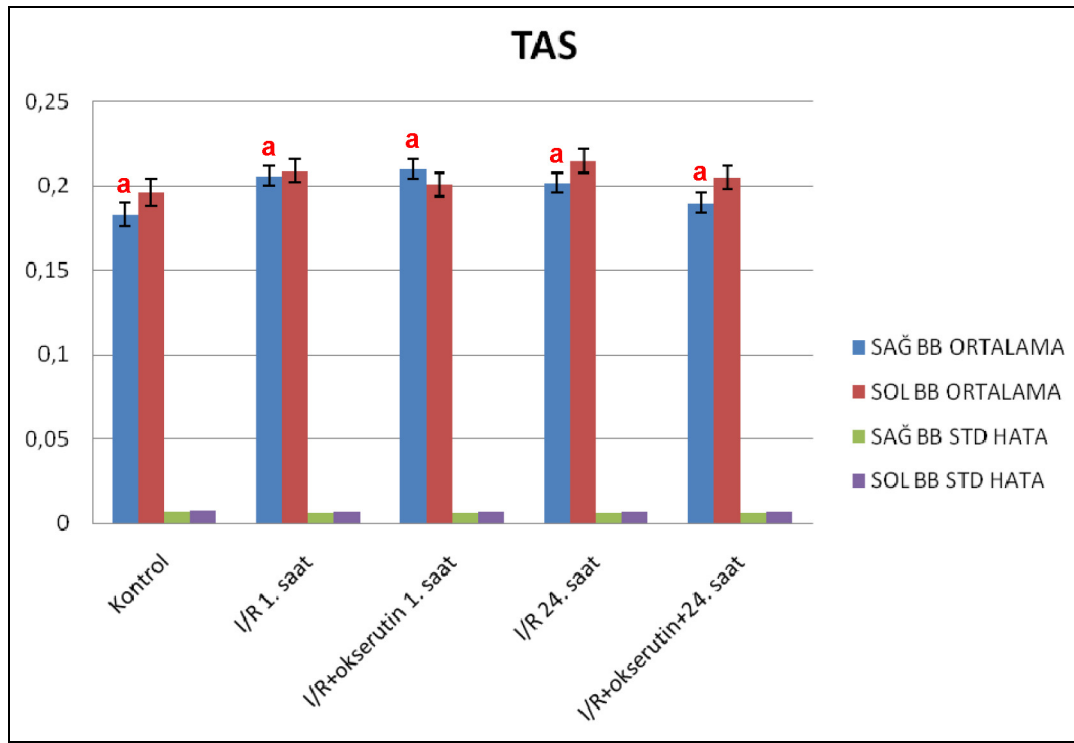
**Tablo 3.** Tüm gruplar arasında böbrek dokusunda çalışılan TAS ortalama değerlerinin karşılaştırılması.

GRUP	SAĞ BÖBREK	SOL BÖBREK	TOTAL
Kontrol (n=8)	0,183±0,007	0,196±0,008	0,189±0,007 <sup>a</sup>
I/R 1. saat (n=10)	0,206±0,006	0,209±0,007	0,208±0,006 <sup>a</sup>
I/R+okserutin 1. saat (n=10)	0,210±0,006	0,201±0,007	0,205±0,006 <sup>a</sup>
I/R 24. saat (n=10)	0,202±0,006	0,215±0,007	0,208±0,006 <sup>a</sup>
I/R+okserutin+24. saat (n=10)	0,190±0,006	0,205±0,007	0,198±0,006 <sup>a</sup>
TOTAL	0,198±0,003 <sup>b</sup>	0,205±0,003 <sup>a</sup>	

a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında önemli derecede farklılık bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

Sağ ve sol böbrekler TAS ortalama değerleri karşılaştırıldığında Sol böbrek TAS ortalama değerleri sağ böbrek TAS ortalama değerlerinden daha yüksek bulundu ve yukarıda belirtildiği gibi ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,01$ ).

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ( $p>0.05$ ) kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda TAS ortalama değerleri daha yüksek olarak bulundu. Ayrıca I/R+okserutin 1. saat grubu sağ böbrek ortalama değeri hariç diğer tedavi gruplarının TAS ortalama değerleri tedavi almayan grupların TAS ortalama değerlerinden daha düşük bulundu.



**Şekil 8.** Gruplar arasında TAS ortalama değerlerinin karşılaştırılması a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

Gruplar arasında doku TOS değerleri açısından yapılan varyans analizi sonucunda yön x grup etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ) ve grupların ortalamaları arasındaki farklar da istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Yönlerin ortalamaları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsızdı ( $p>0.05$ ). Sonuçlar Tablo 4'de ortalama üzerinde Latin harfleri ile gösterilmiştir. Ve grupların TOS ortalama değerlerinin karşılaştırılması Şekil 9'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.** Tüm gruplar arasında böbrek dokusunda çalışılan TOS ortalama değerlerinin karşılaştırılması.

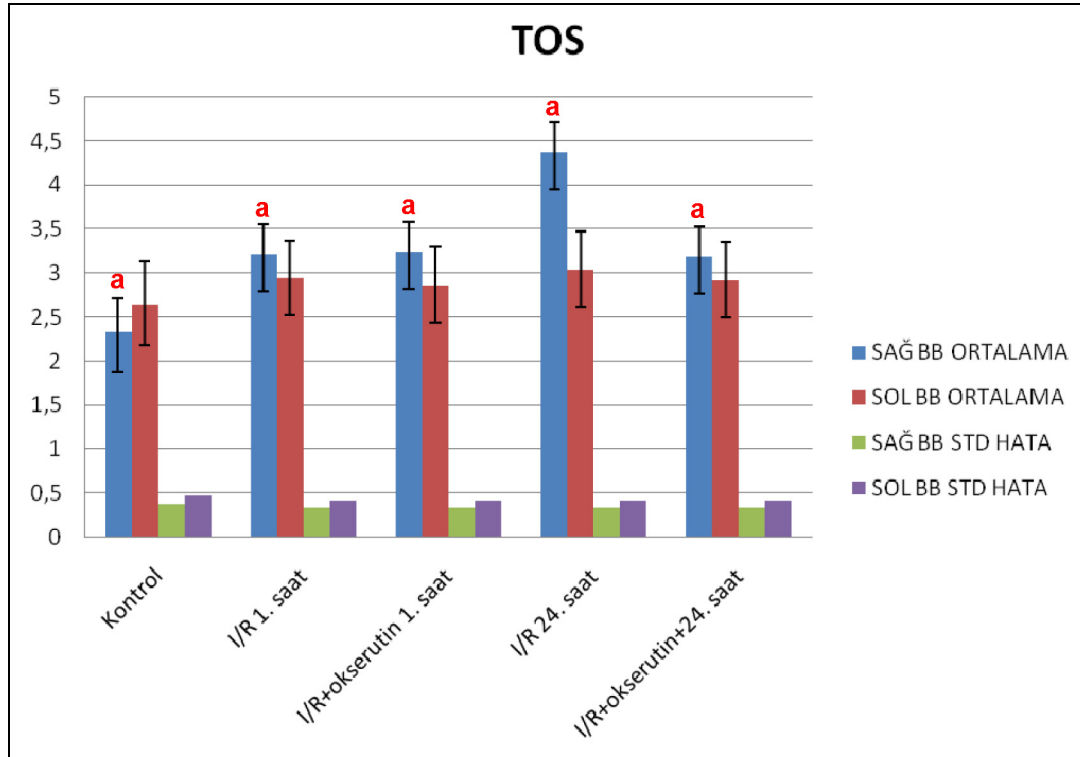
GRUP	SAĞ BÖBREK	SOL BÖBREK	TOTAL
Kontrol (n=8)	2,339±0,375	2,654±0,475	2,526±0,339 <sup>a</sup>
I/R 1. saat (n=10)	3,222±0,335	2,947±0,424	3,084±0,303 <sup>a</sup>
I/R+okserutin 1. saat (n=10)	3,244±0,335	2,871±0,424	3,058±0,303 <sup>a</sup>
I/R 24. saat (n=10)	4,378±0,335	3,047±0,424	3,713±0,303 <sup>a</sup>
I/R+okserutin+24. saat (n=10)	3,189±0,335	2,922±0,424	3,055±0,303 <sup>a</sup>
TOTAL	3,286±0,154 <sup>a</sup>	2,888±0,195 <sup>a</sup>	

a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında önemli derecede farklılık bulunmamıştır (P>0.05). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

Sağ ve sol böbrekler TOS ortalama değerleri karşılaştırıldığında sol böbrek TOS ortalama değerleri sağ böbrek TOS ortalama değerlerinden daha düşük bulundu ve yukarıda belirtildiği gibi ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05).

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak önemli olmasa da (p>0.05) kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda TOS ortalama değerleri daha yüksek bulundu. Ayrıca I/R+okserutin 1. saat grubu sağ böbrek ortalama değeri hariç diğer tedavi gruplarının TOS ortalama değerleri tedavi almayan grupların TOS ortalama değerlerinden daha düşük bulundu.





**Şekil 9.** Gruplar arasında TOS ortalama değerlerinin karşılaştırılması a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

Gruplar arasında doku OSİ değerleri açısından yapılan varyans analizi sonucunda yön x grup etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ) ve grupların ortalamaları arasındaki farklar da istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Sadece yönlerin ortalamaları arasındaki farklar istatistik olarak anlamlıydı ( $p<0,01$ ). Sonuçlar Tablo 5’de ortalama üzerinde Latin harfleri ile gösterilmiştir. Ve grupların OSİ ortalama değerlerinin karşılaştırılması Şekil 10’de gösterilmiştir.

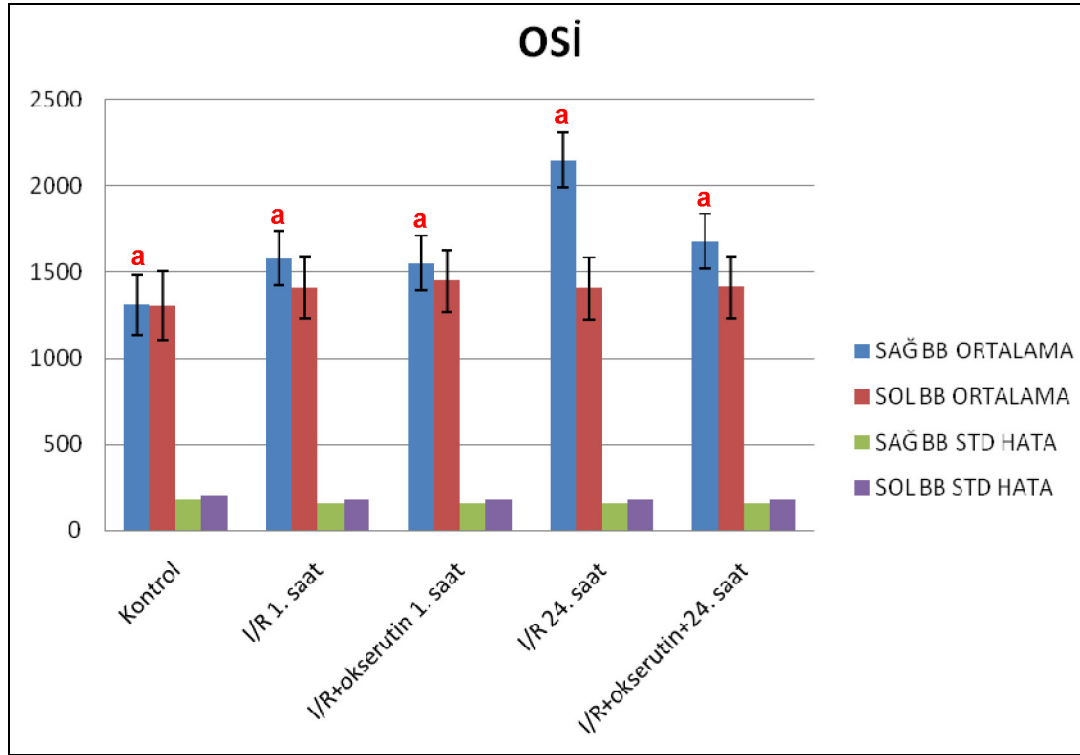
**Tablo 5.** Tüm gruplar arasında böbrek dokusunda çalışılan OSİ ortalama değerlerinin karşılaştırılması.

GRUP	SAĞ BÖBREK	SOL BÖBREK	TOTAL
Kontrol (n=8)	1307,643±176,205	1303,851±200,649	1305,747±150,148 <sup>a</sup>
I/R 1. saat (n=10)	1580,697±157,603	1409,066±179,466	1494,882±134,296 <sup>a</sup>
I/R+okserutin 1. saat (n=10)	1551,766±157,603	1448,473±179,466	1500,120±134,296 <sup>a</sup>
I/R 24. saat (n=10)	2150,998±157,603	1406,790±179,466	1778,894±134,296 <sup>a</sup>
I/R+okserutin+24. saat (n=10)	1676,425±157,603	1412,746±179,466	1544,586±134,296 <sup>a</sup>
TOTAL	1653,506±72,223 <sup>a</sup>	1396,185±82,242 <sup>b</sup>	

a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında önemli derecede farklılık bulunmamıştır (P>0.05). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

Sağ ve sol böbrekler OSİ ortalama değerleri karşılaştırıldığında sol böbrek OSİ ortalama değerleri sağ böbrek OSİ ortalama değerlerinden daha düşük bulundu ve yukarıda belirtildiği gibi ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,01).

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da (p>0.05) kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda OSİ ortalama değerleri daha yüksek bulundu. Ayrıca I/R 1. Saat grubu, I/R+okserutin 1. saat grubu, I/R 24. saat grubu ve I/R+okserutin+24. saat grubu sağ böbrek OSİ ortalama değerleri karşılaştırıldığında tedavi gruplarının OSİ ortalama değerleri tedavi almayan grupların OSİ ortalama değerlerinden daha düşük bulundu. Ancak I/R 1. Saat grubu, I/R+okserutin 1. saat grubu, I/R 24. saat grubu ve I/R+okserutin+24. saat grubu sol böbrek OSİ ortalama değerleri karşılaştırıldığında tedavi gruplarının OSİ ortalama değerleri tedavi almayan grupların OSİ ortalama değerlerinden daha yüksek bulundu.



**Şekil 10.** Gruplar arasında OSİ ortalama değerlerinin karşılaştırılması a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

## 4.2. Histopatolojik Bulgular

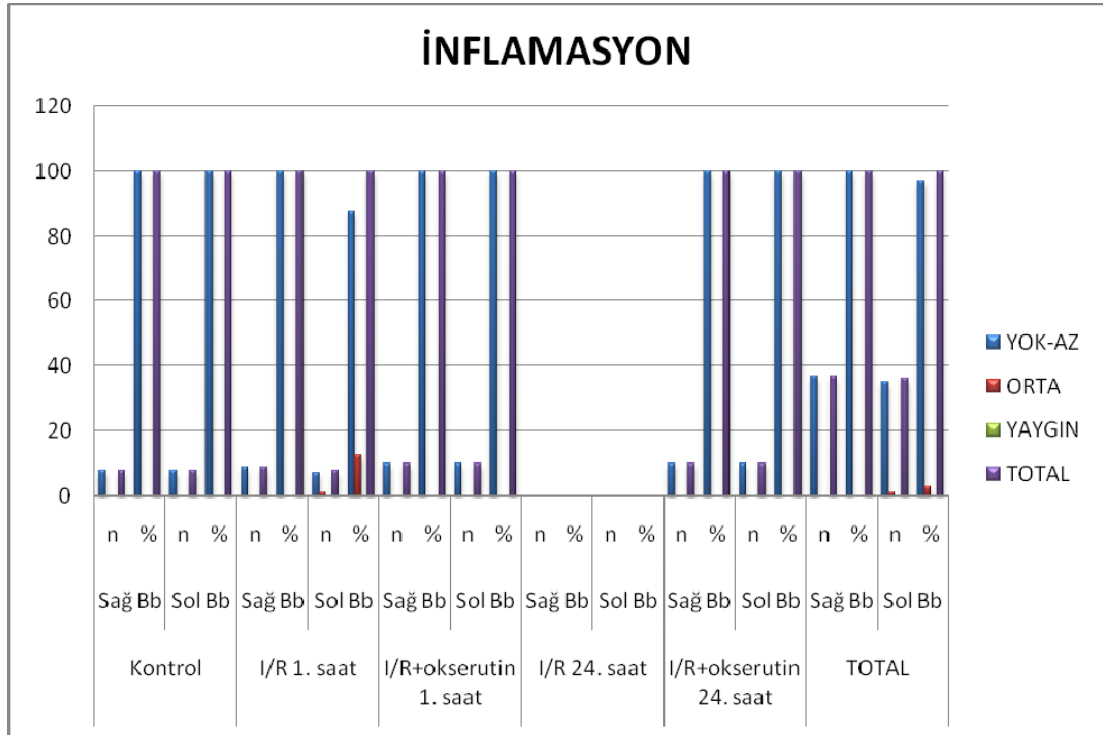
Deneyde kullanılan ratların patolojik inceleme için her iki böbreğinin yarısı alınıp değerlendirildi. Alınan böbreklerinin her biri için histopatolojik parametreler ayrı ayrı çalışıldı. Elde edilen sonuçlar her böbrek yarımı için ayrı ayrı verildi. Yapılan histopatolojik incelemede I/R 1. saat grubundan 1. Ratın sağ, 2. Ratın sol ve 3. Ratın sol böbrekleri ile I/R 24. saat grubunda tüm ratların sağ ve sol böbreklerinde total nekroz olduğu görüldüğünden nekroz-iskemi parametresi dışındaki parametreler değerlendirilemedi.

Sağ ve sol böbrek inflamasyon parametresi ile grupların arasında oluşturulan iki yönlü tablo, Tablo 6'da görülmektedir. Ve inflamasyon parametresinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 11'de gösterilmiştir. Yapılan kıkare bağımsızlık testi sonucunda sol böbrekte gruplar ile inflamasyon olmaması, kısmi ve yaygın olması durumları birbirinden bağımsız bulundu ( $p>0.05$ ).

**Tablo 6.** Kronik inflamasyon parametresinin gruplara göre dağılımı

GRUP			YOK-AZ	ORTA	YAYGIN	TOTAL
Kontrol	Sağ Bb	n	8	0	0	8
		%	100	0	0	100
	Sol Bb	n	8	0	0	8
		%	100	0	0	100
I/R 1. saat	Sağ Bb	n	9	0	0	9
		%	100	0	0	100
	Sol Bb	n	7	1	0	8
		%	87.5	12.5	0	100
I/R+okserutin 1. saat	Sağ Bb	n	10	0	0	10
		%	100	0	0	100
	Sol Bb	n	10	0	0	10
		%	100	0	0	100
I/R 24. saat	Sağ Bb	n				
		%				
	Sol Bb	n				
		%				
I/R+okserutin 24. saat	Sağ Bb	n	10	0	0	10
		%	100	0	0	100
	Sol Bb	n	10	0	0	10
		%	100	0	0	100
TOTAL	Sağ Bb	n	37	0	0	37
		%	100	0	0	100
	Sol Bb	n	35	1	0	36
		%	97.1	2.9	0	100

Yapılan histopatolojik incelemede I/R 24. Saat grubunda tüm böbrekler I/R 1. saat grubundan 1 adet sağ ve 2 adet sol böbrek total nekroz olduğu için inflamasyon parametresi açısından değerlendirilemedi.



**Şekil 11.** Kronik İnflamasyon parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması

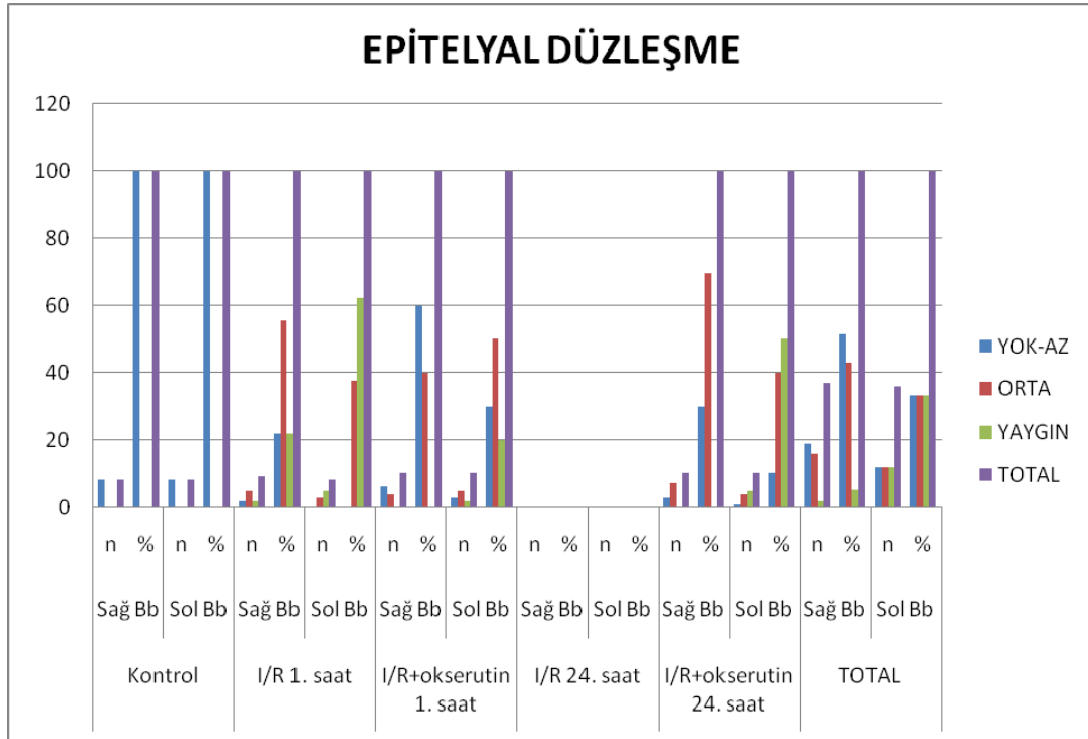
Kontrol grubu, I/R 1. saat grubu, I/R+okserutin 1. saat grubu ve I/R+okserutin 24. saat grubunda inflamasyon parametresi açısından böbrekler değerlendirilip gruplar karşılaştırıldığında sağ böbreklerde inflamasyon gözlenmedi. Sol böbreklerden ise sadece I/R 1. saat grubunda 1 böbrekte orta derecede inflamasyon gözlemlendi.

Sağ ve sol böbrek epitelyal düzleşme parametresi ile grupların arasında oluşturulan iki yönlü tablo, Tablo 7'de görülmektedir. Ve epitelyal düzleşme parametresinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 12'de gösterilmiştir. Yapılan kikare bağımsızlık testi sonucunda sol böbrekte gruplar ile epitelyal düzleşme olmaması, kısmi ve yaygın olması durumları birbirinden bağımsız değildi ( $p < 0,01$ ). Aynı şekilde yapılan kikare bağımsızlık testi sonucunda sağ böbrekte de gruplar ile epitelyal düzleşme olmaması, kısmi ve yaygın olması durumları birbirinden bağımsız değildi ( $p < 0,01$ ).

**Tablo 7.** Epitelyal düzleşme parametresinin gruplara göre dağılımı

GRUP			YOK-AZ	ORTA	YAYGIN	TOTAL
Kontrol	Sağ Bb	n	8	0	0	8
		%	100	0	0	100
	Sol Bb	n	8	0	0	8
		%	100	0	0	100
I/R 1. saat	Sağ Bb	n	2	5	2	9
		%	22,2	55,6	22,2	100
	Sol Bb	n	0	3	5	8
		%	0	37,5	62,5	100
I/R+okserutin 1. saat	Sağ Bb	n	6	4	0	10
		%	60	40	0	100
	Sol Bb	n	3	5	2	10
		%	30	50	20	100
I/R 24. saat	Sağ Bb	n				
		%				
	Sol Bb	n				
		%				
I/R+okserutin 24. saat	Sağ Bb	n	3	7	0	10
		%	30	70	0	100
	Sol Bb	n	1	4	5	10
		%	10	40	50	100
TOTAL	Sağ Bb	n	19	16	2	37
		%	51,4	43,2	5,4	100
	Sol Bb	n	12	12	12	36
		%	33,3	33,3	33,3	100

Yapılan histopatolojik incelemede I/R 24. Saat grubunda tüm böbrekler I/R 1. saat grubundan 1 adet sağ ve 2 adet sol böbrek total nekroz olduğu için epitelyal düzleşme parametresi açısından değerlendirilemedi.



**Şekil 12.** Epitelyal Düzleşme parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması

Kontrol grubu, I/R 1. saat grubu, I/R+okserutin 1. saat grubu ve I/R+okserutin 24. saat grubunda epitelyal düzleşme parametresi açısından böbrekler değerlendirilip gruplar karşılaştırıldı. Kontrol grubunda sağ böbreklerde epitelyal düzleşme görülmez iken, I/R 1. saat grubundaki sağ böbreklerin %55,6'sında orta derece, %22,2'sinde yaygın epitelyal düzleşme gözlemlendi.

I/R+okserutin 1. saat grubunda ve I/R+okserutin 24. saat grubunda ise sağ böbreklerin sırası ile %40 ve %70'inde orta derece epitelyal düzleşme gözlemlendi. Sol böbrekler değerlendirildiğinde ise kontrol grubunda epitelyal düzleşme görülmez iken I/R 1. saat grubundaki sol böbreklerin %37,5'inde orta derece, %62,5'inde yaygın epitelyal düzleşme gözlemlendi.

I/R+okserutin 1. saat grubunda sol böbreklerin %50'sinde orta derece %20'sinde yaygın epitelyal düzleşme ve I/R+okserutin 24. saat grubunda %40'ında orta derece % 50'sinde yaygın epitelyal düzleşme gözlemlendi. Sol böbreklerde beklendiği gibi sağ böbreklere göre daha fazla ve yaygın epitelyal düzleşme gözlemlendi.

Sağ ve sol böbrek sitoplazmik vakualizasyon parametresi ile grupların arasında oluşturulan iki yönlü tablo, Tablo 8’de görülmektedir. Ve sitoplazmik vakualizasyon parametresinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 13’de gösterilmiştir. Yapılan kıkare bağımsızlık testi sonucunda sol böbrekte gruplar ile sitoplazmik vakualizasyon olmaması, kısmi ve yaygın olması durumları birbirinden bağımsız değildi ( $p<0,01$ ). Aynı şekilde yapılan kıkare bağımsızlık testi sonucunda sağ böbrekte gruplar ile sitoplazmik vakualizasyon olmaması, kısmi ve yaygın olması durumları birbirinden bağımsız değildi ( $p<0,01$ ).

**Tablo 8.** Sitoplazmik vakualizasyon parametresinin gruplara göre dağılımı

GRUP			YOK-AZ	ORTA	YAYGIN	TOTAL
Kontrol	Sağ Bb	n	7	1	0	8
		%	87,5	12,5	0	100
	Sol Bb	n	4	4	0	8
		%	50	50	0	100
I/R 1. saat	Sağ Bb	n	6	1	2	9
		%	66,7	11,1	22,2	100
	Sol Bb	n	0	8	0	8
		%	0	100	0	100
I/R+okserutin 1. saat	Sağ Bb	n	0	9	1	10
		%	0	90	10	100
	Sol Bb	n	0	6	4	10
		%	0	60	40	100
I/R 24. saat	Sağ Bb	n				
		%				
	Sol Bb	n				
		%				
I/R+okserutin 24. saat	Sağ Bb	n	0	6	4	10
		%	0	60	40	100
	Sol Bb	n	0	6	4	10
		%	0	60	40	100
TOTAL	Sağ Bb	n	13	17	7	37
		%	35,1	45,9	18,9	100
	Sol Bb	n	4	24	8	36
		%	11,1	66,7	22,2	100

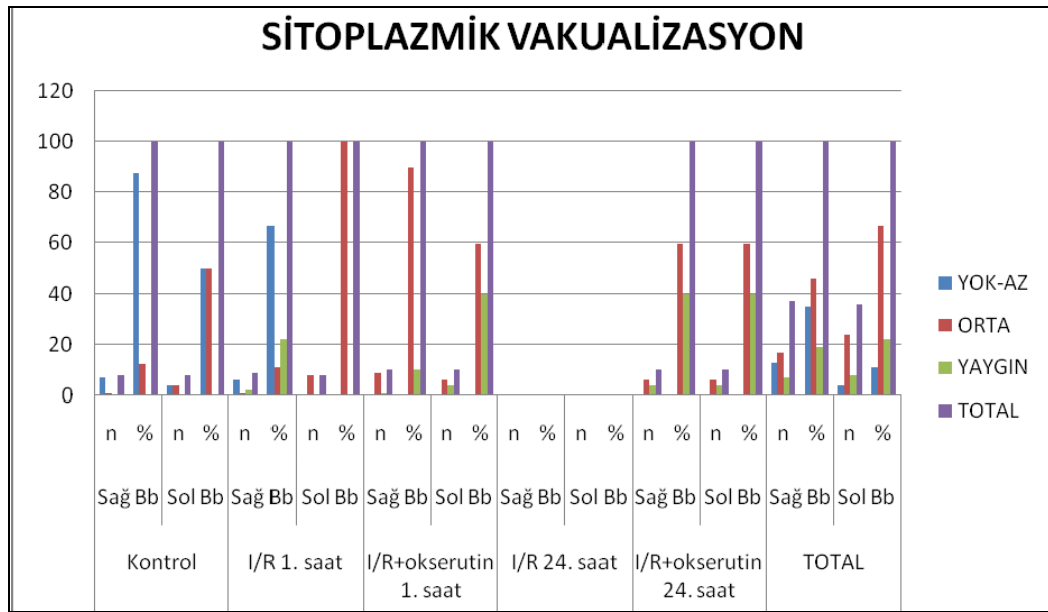
Yapılan histopatolojik incelemede I/R 24. Saat grubunda tüm böbrekler I/R 1. saat grubundan 1 adet sağ ve 2 adet sol böbrek total nekroz olduğu için sitoplazmik vakualizasyon parametresi açısından değerlendirilemedi.

Kontrol grubu, I/R 1. saat grubu, I/R+okserutin 1. saat grubu ve I/R+okserutin 24. saat grubunda sitoplazmik vakualizasyon parametresi açısından böbrekler değerlendirilip gruplar karşılaştırıldı. Kontrol grubunda sağ böbreklerin



%12,5’inde sitoplazmik vakualizasyon gözlenirken, I/R 1. saat grubundaki sağ böbreklerin %11,1’inde orta derece, %22,2’inde yaygın sitoplazmik vakualizasyon gözlemlendi.

I/R+okserutin 1. saat grubunda sağ böbreklerin %90’ında orta derece, %10’unda yaygın ve I/R+okserutin 24. saat grubunda sağ böbreklerin %60’ında orta derece, %40’ında yaygın sitoplazmik vakualizasyon gözlemlendi. Sol böbrekler değerlendirildiğinde ise kontrol grubunda sol böbreklerin %50’sinde sitoplazmik vakualizasyon gözlenirken I/R 1. saat grubundaki sol böbreklerin %100’ünde orta sitoplazmik vakualizasyon gözlemlendi.



**Şekil 13.** Sitoplazmik Vakualizasyon parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması

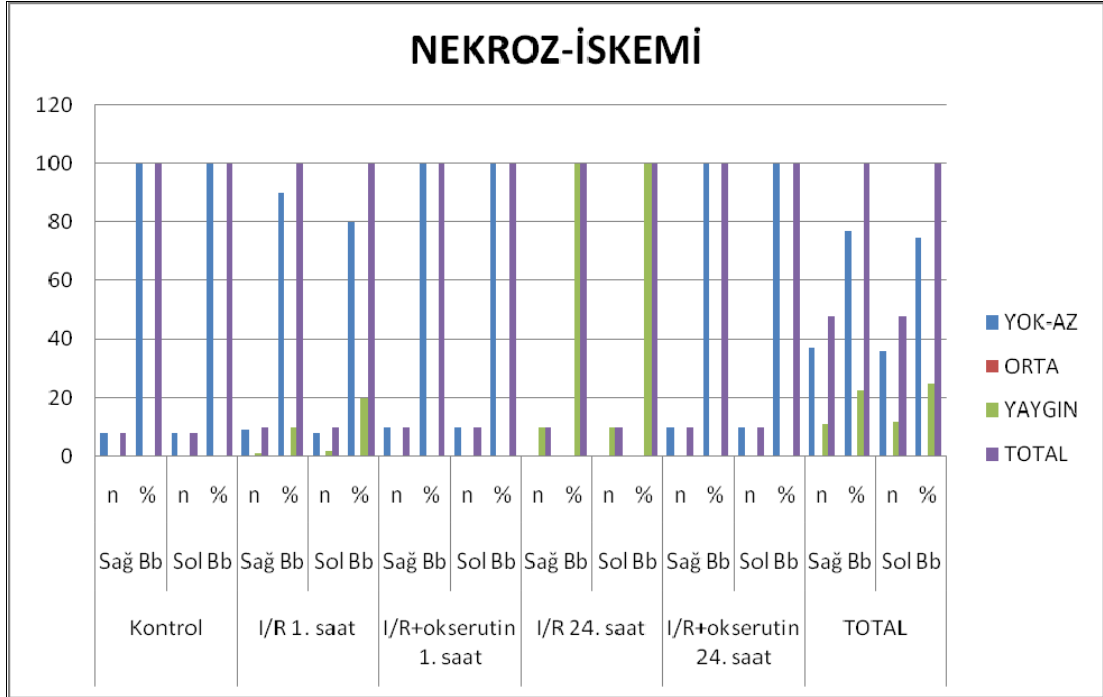
I/R+okserutin 1. saat grubu ve I/R+okserutin 24. saat grubunun her ikisinde de sol böbreklerin %60’ında orta derece % 40’ında yaygın sitoplazmik vakualizasyon gözlemlendi. Sol böbreklerde beklendiği gibi sağ böbreklere göre daha fazla ve yaygın sitoplazmik vakualizasyon gözlemlendi.

Sağ ve sol böbrek nekroz-iskemi parametresi ile grupların arasında oluşturulan iki yönlü tablo, Tablo 9’da görülmektedir. Ve nekroz-iskemi parametresinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 14’de gösterilmiştir. Yapılan kıkare bağımsızlık testi sonucunda sol böbrek ve sağ böbrekte gruplar ile nekroz-iskemi olmaması, kısmi ve yaygın olması durumları birbirinden bağımsız değildi ( $p<0,01$ ).

**Tablo 9.** Nekroz-iskemi parametresinin gruplara göre dağılımı

GRUP			YOK-AZ	ORTA	YAYGIN	TOTAL
Kontrol	Sağ Bb	n	8	0	0	8
		%	100	0	0	100
	Sol Bb	n	8	0	0	8
		%	100	0	0	100
I/R 1. saat	Sağ Bb	n	9	0	1	10
		%	90	0	10	100
	Sol Bb	n	8	0	2	10
		%	80	0	20	100
I/R+okserutin 1. saat	Sağ Bb	n	10	0	0	10
		%	100	0	0	100
	Sol Bb	n	10	0	0	10
		%	100	0	0	100
I/R 24. saat	Sağ Bb	n	0	0	10	10
		%	0	0	100	100
	Sol Bb	n	0	0	10	10
		%	0	0	100	100
I/R+okserutin 24. saat	Sağ Bb	n	10	0	0	10
		%	100	0	0	100
	Sol Bb	n	10	0	0	10
		%	100	0	0	100
TOTAL	Sağ Bb	n	37	0	11	48
		%	77,1	0	22,9	100
	Sol Bb	n	36	0	12	48
		%	75	0	25	100

Kontrol grubu, I/R 1. saat grubu, I/R+okserutin 1. saat grubu, I/R 24. saat ve I/R+okserutin 24. saat grubunda nekroz-iskemi parametresi açısından böbrekler değerlendirilip gruplar karşılaştırıldı. Yapılan değerlendirme sonucunda I/R 1. saat grubunda sağ böbreklerden 1 adet (%10) ve sol böbreklerden 2 adet (%20) olmak üzere toplam 3 böbreğin total nekroza gittiği gözlemlendi. I/R 24. Saat grubunda ise tüm böbreklerin (%100) total nekroza gittiği gözlemlendi. Diğer gruplarda nekroz gözlemlenmedi. Bu sonuçların ışığında tedavi gruplarında verilen okserutin böbreklerin nekroza gidişini önlediği düşünülmektedir.



**Şekil 14.** Nekroz-İskemi parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması

Sağ ve sol böbrek tübüler obstrüksiyon parametresi ile grupların arasında oluşturulan iki yönlü tablo, Tablo 10'da görülmektedir. Ve tübüler obstrüksiyon parametresinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 15'de gösterilmiştir. Yapılan kıkare bağımsızlık testi sonucunda sol böbrek ve sağ böbrekte gruplar ile tübüler obstrüksiyon olmaması, kısmi ve yaygın olması durumları birbirinden bağımsız değildi ( $p < 0,01$ ).

**Tablo 10.** Tübüler obstrüksiyon parametresinin gruplara göre dağılımı

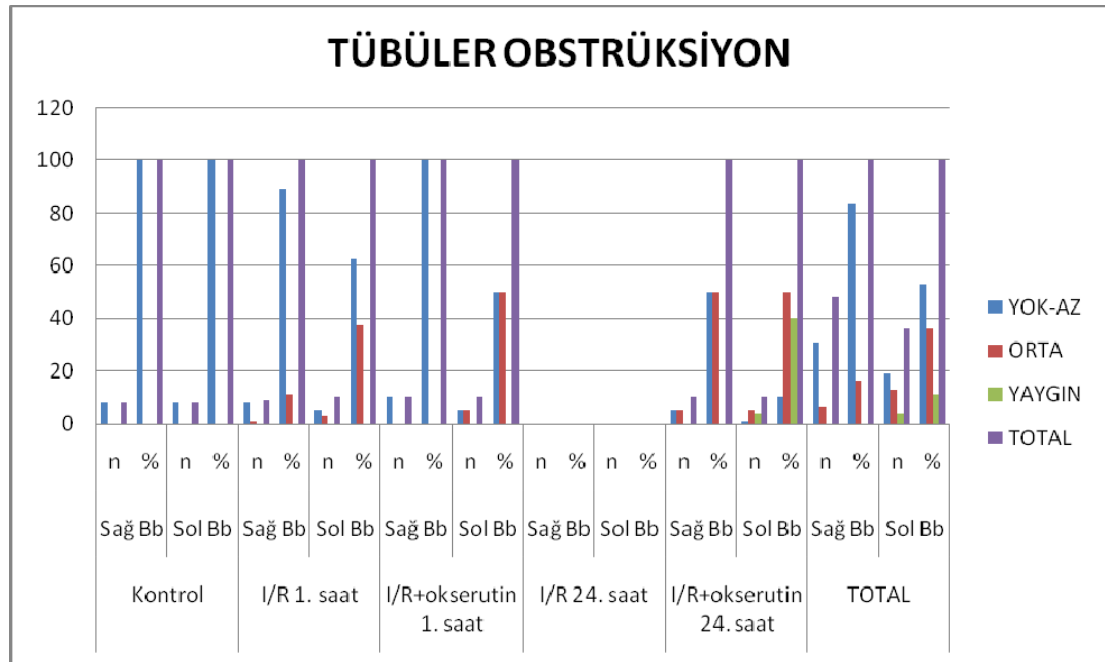
GRUP			YOK-AZ	ORTA	YAYGIN	TOTAL
Kontrol	Sağ Bb	n	8	0	0	8
		%	100	0	0	100
	Sol Bb	n	8	0	0	8
		%	100	0	0	100
I/R 1. saat	Sağ Bb	n	8	1	0	9
		%	88,9	11,1	0	100
	Sol Bb	n	5	3	0	10
		%	62,5	37,5	0	100
I/R+okserutin 1. saat	Sağ Bb	n	10	0	0	10
		%	100	0	0	100
	Sol Bb	n	5	5	0	10
		%	50	50	0	100
I/R 24. saat	Sağ Bb	n				
		%				
	Sol Bb	n				
		%				
I/R+okserutin 24. saat	Sağ Bb	n	5	5	0	10
		%	50	50	0	100
	Sol Bb	n	1	5	4	10
		%	10	50	40	100
TOTAL	Sağ Bb	n	31	6	0	37
		%	83,8	16,2	0	100
	Sol Bb	n	19	13	4	36
		%	52,8	36,1	11,1	100

Yapılan histopatolojik incelemede I/R 24. Saat grubunda tüm böbrekler I/R 1. saat grubundan 1 adet sağ ve 2 adet sol böbrek total nekroz olduğu için tübüler obstrüksiyon parametresi açısından değerlendirilemedi.

Kontrol grubu, I/R 1. saat grubu, I/R+okserutin 1. saat grubu ve I/R+okserutin 24. saat grubunda tübüler obstrüksiyon parametresi açısından böbrekler değerlendirilip gruplar karşılaştırıldı. Kontrol grubunda sağ böbreklerde tübüler obstrüksiyon görülmez iken, I/R 1. saat grubundaki sağ böbreklerin %11,1'inde orta derece tübüler obstrüksiyon gözlemlendi.

I/R+okserutin 1. saat grubunda sağ böbreklerde tübüler obstrüksiyon gözlenmez iken I/R+okserutin 24. saat grubunda ise sağ böbreklerin %50'sinde orta derece tübüler obstrüksiyon gözlenmiştir.

Sol böbrekler değerlendirildiğinde ise kontrol grubunda tübüler obstrüksiyon görülmez iken I/R 1. saat grubundaki sol böbreklerin %37,5'inde orta derece, tübüler obstrüksiyon gözlemlendi. I/R+okserutin 1. saat grubunda sol böbreklerin %50'sinde orta derece tübüler obstrüksiyon ve I/R+okserutin 24. saat grubunda %50'sinde orta derece % 40'ında yaygın tübüler obstrüksiyon gözlemlendi. Sol böbreklerde beklendiği gibi sağ böbreklere göre daha fazla ve yaygın tübüler obstrüksiyon gözlemlendi.



**Şekil 15.** Tübüler Obstrüksiyon parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması

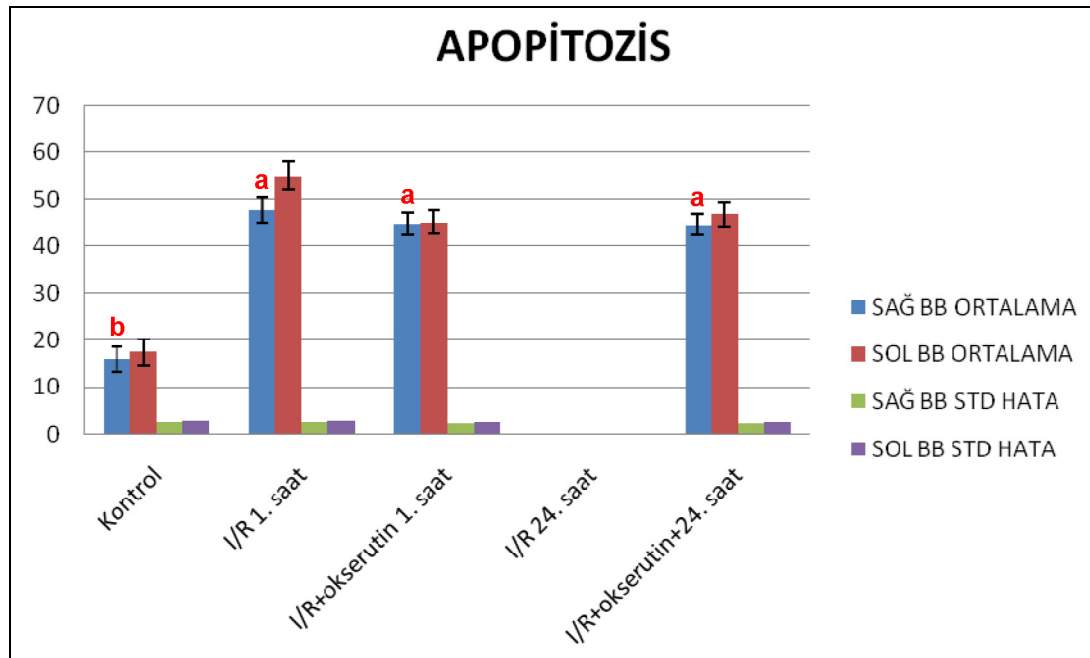
Gruplar arası doku apoptozis değerleri açısından yapılan varyans analizi sonucunda yön x grup etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Grupların ve yönlerin ortalamaları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,01$ ). TUKEY testi sonuçlarında Tablo 11'de ortalama üzerinde Latin harfleri ile gösterilmiştir. Ve grupların apoptozis ortalama değerlerinin karşılaştırılması Şekil 16'da gösterilmiştir.

**Tablo 11.** Tüm gruplar arasında böbrek dokusunda çalışılan Apoptozis skor ortalama değerlerinin karşılaştırılması.

GRUP	SAĞ BÖBREK	SOL BÖBREK	TOTAL
Kontrol (n=8)	16±2,593	17,5±2,850	16,750±2,546 <b>b</b>
I/R 1. saat (n=10)	47,714±2,772	55±3,047	51,357±2,721 <b>a</b>
I/R+okserutin 1. saat (n=10)	44,8±2,319	45,2±2,549	45±2,277 <b>a</b>
I/R 24. saat (n=10)			
I/R+okserutin 24. saat (n=10)	44,7±2,319	46,9±2,549	45,8±2,277 <b>a</b>
TOTAL	38,304±1,254 <b>b</b>	41,150±1,378 <b>a</b>	

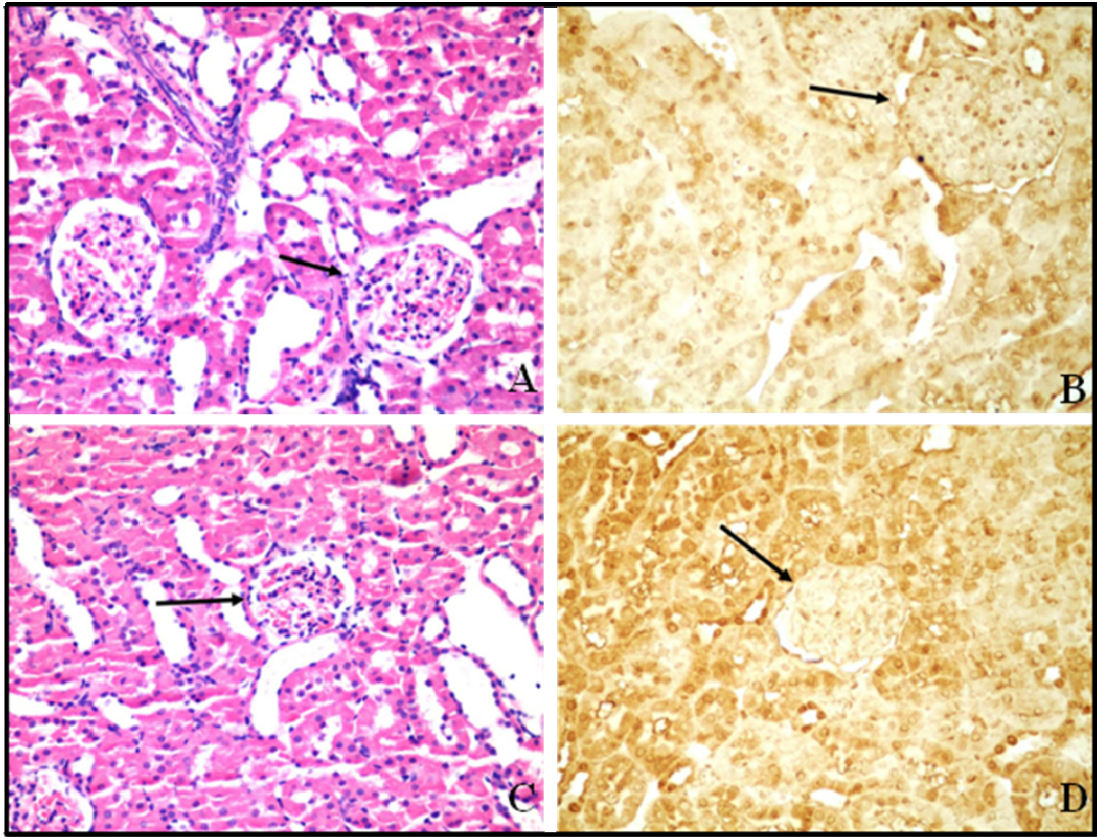
a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında önemli derecede farklılık bulunmamıştır (P>0.05). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

Sağ ve sol böbrekler apoptozis skor ortalama değerleri karşılaştırıldığında sol böbrek apoptozis skor ortalama değerleri sağ böbrek apoptozis skor ortalama değerlerinden daha yüksek bulundu ve yukarıda belirtildiği gibi ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,01). Yapılan histopatolojik incelemede I/R 24. Saat grubunda tüm böbrekler I/R 1. saat grubundan 1 adet sağ ve 2 adet sol böbrek total nekroz olduğu için apoptozis skor parametresi açısından değerlendirilemedi.



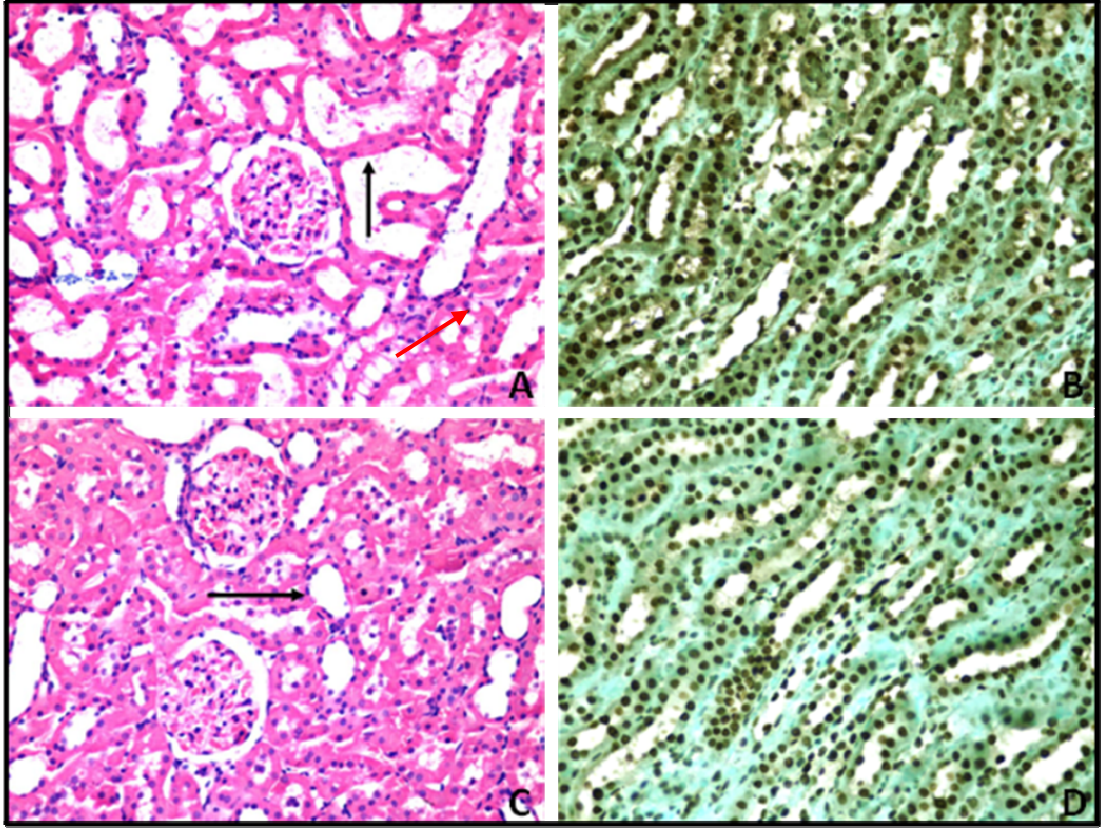
**Şekil 16.** Gruplar arasında Apoptozis skor ortalama değerlerinin karşılaştırılması a, b, c: Her bir özellik için aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (P>0.05). F testi (Varyans analizi) önem düzeyi

Kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda apoptozis skor ortalama değerleri daha yüksek bulundu. Ayrıca I/R 1. Saat grubu ile I/R+okserutin 1. saat grubu ve I/R+okserutin+24. saat grubu sağ böbrek ve sol böbrek apoptozis skor ortalama değerleri karşılaştırıldığında tedavi gruplarının apoptozis skor ortalama değerleri tedavi almayan grupların apoptozis skor ortalama değerlerinden daha düşük bulundu. Yapılan apoptozis skor değerlendirmesi sonuçları da histopatolojik değerlendirme sonuçlarıyla paralel olarak tedavi gruplarında verilen okserutin'in böbrekteki I/R hasarı sonucunda oluşan apoptozis skorunu azalttığını düşündürmekteydi.



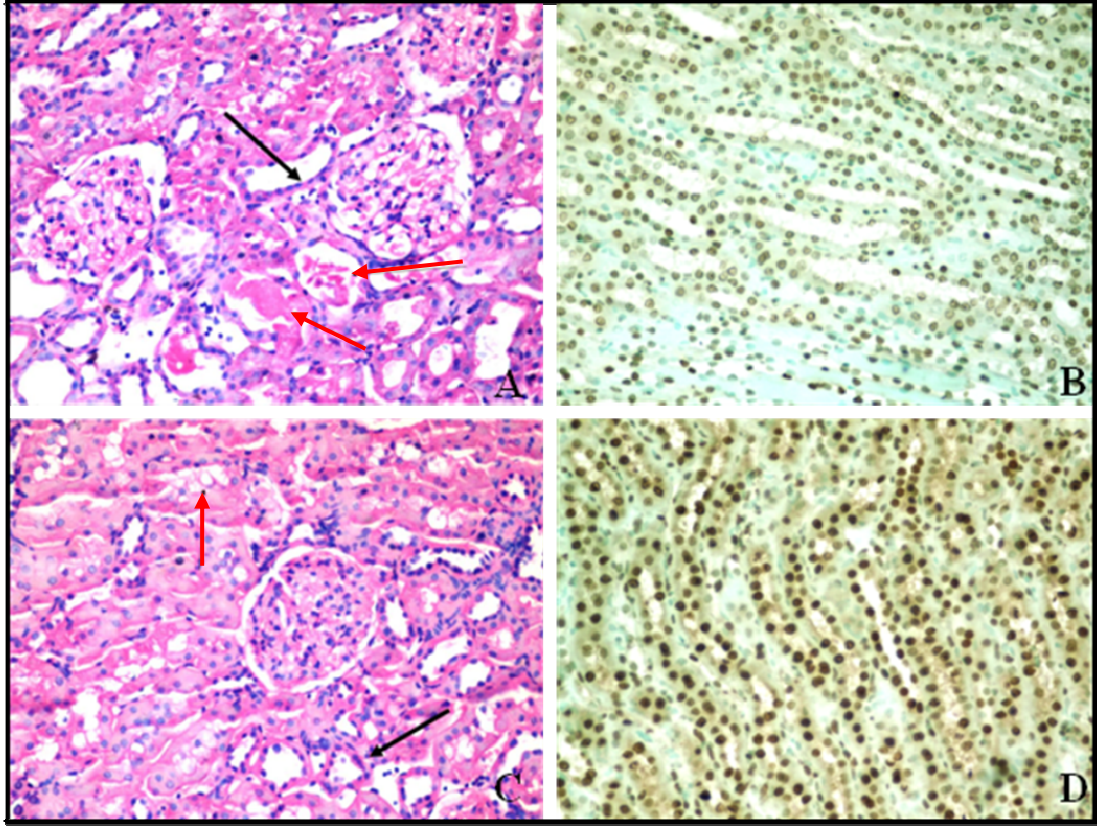
**Resim 4A:** Kontrol grubu sol böbrek kesitinde düzenli yapıda glomerül (ok) yapısı (H&E, x400), **4B:** Kontrol grubu sol böbrek kesitinde TUNEL ile glomerüllerde (ok) ve proksimal tübüllerde düşük apoptotik indeks (TUNEL, x400), **4C:** Kontrol grubu sağ böbrek kesitinde düzenli yapıda glomerül (ok) yapısı (H&E, x400), **4D:** Kontrol grubu sağ böbrek kesitinde TUNEL ile glomerüllerde (ok) ve proksimal tübüllerde düşük apoptotik indeks (TUNEL, x400).



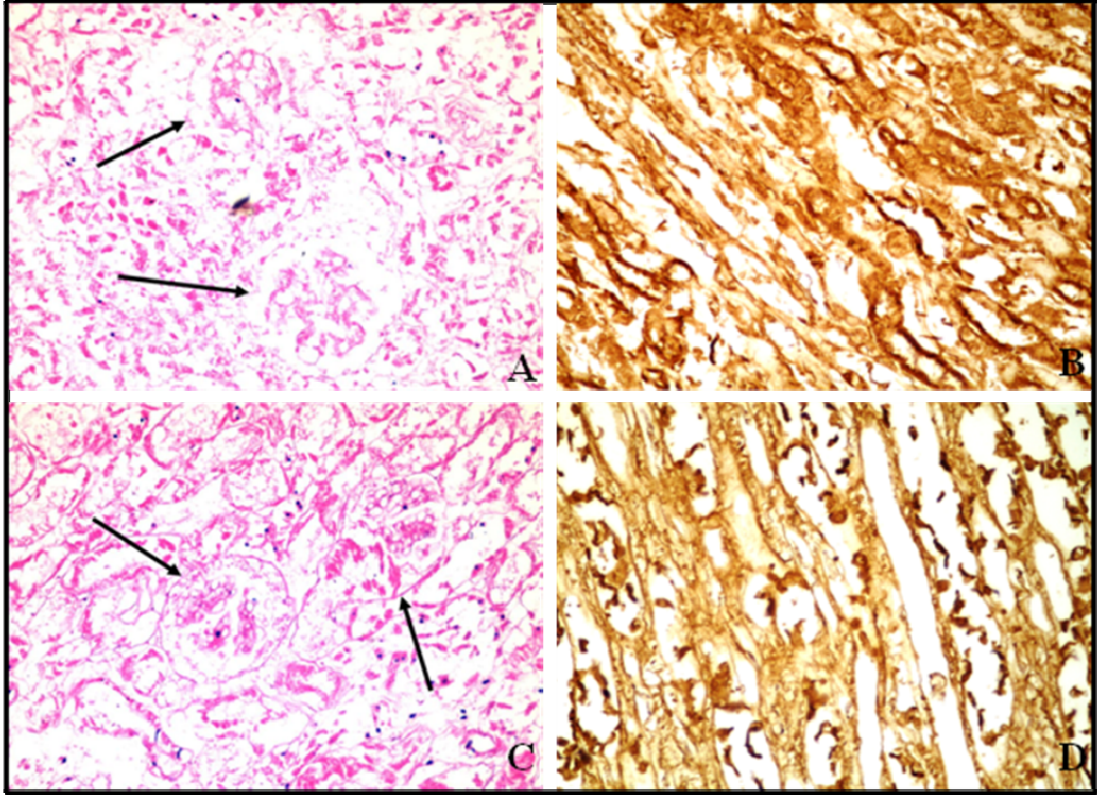


**Resim 5A:** I/R 1. saat grubu sol böbrek kesitinde tübül epitelinde düzleşme (siyah ok) ve sitoplazmik vakuolizasyon (kırmızı ok) (H&E, x400), **5B:** I/R 1. saat grubu sol böbrek kesitinde distal tübül yapılarında yüksek apoptotik indeks (TUNEL, x400), **5C:** I/R 1. saat grubu sağ böbrek kesitinde tübül epitelinde fokal düzleşme (ok) (H&E, x400), **5D:** I/R 1. saat grubu sağ böbrek kesitinde distal tübül yapılarında sol böbreğe göre daha düşük apoptotik indeks (TUNEL, x400).



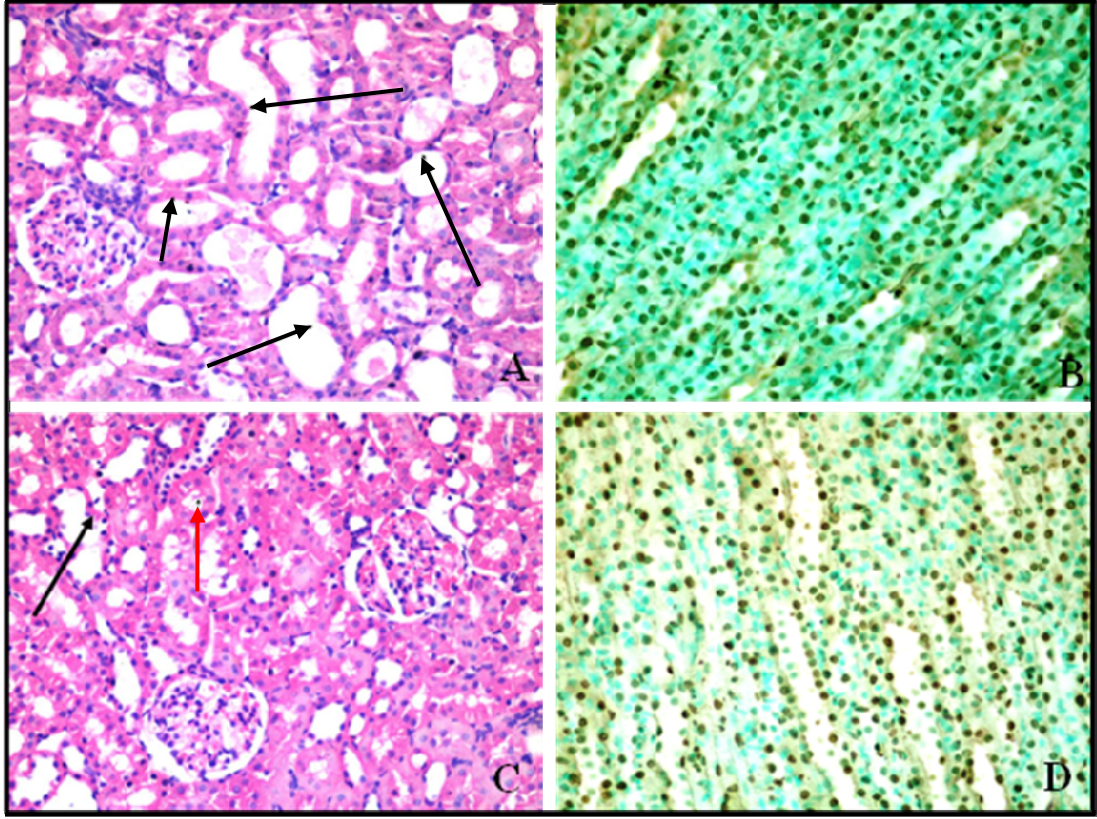


**Resim 6A:** I/R + Okserutin 1. saat grubu sol böbrek kesitinde proksimal tübül epitelinde düzleşme (siyah ok) ve tübüler obstrüksiyon (kırmızı oklar) (H&E, x400), **6B:** I/R + Okserutin 1. saat grubu sol böbrek kesitinde distal tübüllerde yüksek apoptotik indeks (TUNEL, x400), **6C:** I/R + Okserutin 1. saat grubu sağ böbrek kesitinde tübül epitelinde fokal düzleşme (siyah ok) ve sitoplazmik vakuolizasyon (kırmızı ok) (H&E, x400), **6D:** I/R + Okserutin 1. saat grubu sağ böbrek kesitinde distal tübüllerde yüksek apoptotik indeks (TUNEL, x400).



**Resim 7A:** I/R 24. saat grubu sol böbrek kesitinde glomerülleri (oklar) ve tübüleri tutan yaygın nekroz (H&E, x400), **7B:** I/R 24. saat grubu sol böbrek kesiti (TUNEL, x400), **7C:** I/R 24. saat grubu sağ böbrek kesitinde glomerülleri (oklar) ve tübüleri tutan yaygın nekroz (H&E, x400), **7D:** I/R 24. saat grubu sağ böbrek kesiti (TUNEL, x400).





**Resim 8A:** I/R + Okserutin 24. saat grubu sol böbrek kesitinde proksimal tübül epitelinde yaygın (oklar) düzleşme (H&E, x400), **8B:** I/R + Okserutin 24. saat grubu sol böbrek kesitinde distal tübüllerde yüksek apoptotik indeks (TUNEL, x400), **8C:** I/R + Okserutin 24. saat grubu sağ böbrek kesitinde proksimal tübül epitelinde fokal (siyah ok) düzleşme ve sitoplazmik vakuolizasyon (kırmızı ok) (H&E, x400), **8D:** I/R + Okserutin 24. saat grubu sağ böbrek kesitinde distal tübüllerde sol böbreğe göre daha düşük apoptotik indeks (TUNEL, x400).

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Böbrek iskemisi, abdominal aortaya yönelik cerrahilerde suprarenal klemp konulması sonrasında, böbrek transplantasyonu ve parsiyel nefrektomide renal pedikülün klempenmesi sonrası, sepsis, hipotansiyon, abondan kanamalar gibi hemodinamiyi etkileyen durumlar ve çeşitli ürolojik müdahaleler ile ortaya çıkabilir.

Renal hücreli kanser hastalarının tedavisinde altın standart tedavi radikal nefrektomidir. Ancak böbreğin anatomik yapısının daha iyi anlaşılması, böbrek tümörlerinin klinik seyrinin daha öngörülebilir hale gelmesi ve cerrahi tekniklerdeki ilerlemeler seçilmiş hastalarda nefron koruyucu cerrahi yapılabileceğini göstermiştir. Ve zaman içerisinde birçok merkezde küçük renal tümörlerde parsiyel nefrektomi altın standart tedavi haline gelmiştir. Her ne kadar 4'cm den küçük ve T1 evre renal tümörlerde yapılması önerilse de son yıllarda Avrupa Üroloji Derneğinin (EAU) Kılavuzlarına (2013) göre 7'cm den küçük ve T2 evre tümörlerde deneyimli merkezlerde iyi seçilmiş vakalara parsiyel nefrektomi yapılması önerilmektedir (24).

Parsiyel nefrektominin amacı tümöral alanın rezeke edilip kalan böbrek parankiminin renal fonksiyon rezervinin korunmasıdır. Operasyon esnasında kanamanın azaltılması, doku ve organ vizualizasyonunun artırılması amacıyla renal arter ve vene klemp konulmaktadır. Bunun sonucunda kalan böbrek parankiminde iskemi reperfüzyon hasarı meydana gelmektedir. Reperfüzyon hasarı akut böbrek hasarının ana nedenlerinden biridir. Bu durumun histolojik incelemelerdeki göstergesi akut tübüler nekrozdur. İskemik organ reperfüzyonundan sonra dokuda reaktif oksijen radikalleri artmaktadır. Bunun sonucunda glomerül ve tübüler epitel bütünlüğünü bozularak akut tübüler nekroz oluşur (24).

Sıcak iskeminin böbrekte kalıcı hasar yapması için 3 saatten uzun süreli iskemi maruziyeti gerekirken, geçici fonksiyon kaybı için 1 saatten kısa bir süre yeterlidir (60). Böbreklerde I/R hasarının gelişimi için öngörülen iskemi süresi 30 dakika olarak belirtilmektedir (61). Yamaki ve ark. (62) 30 dakikalık sıcak renal iskemi sonrası tübülüslerde orta derece nekroz, medüller konjesyon ve fonksiyonel değişiklikler saptarken, Selçuk ve ark. (63) da benzer şekilde 30 dk sıcak renal iskemi sonrası tübülüslerde saptadıkları iskemik nekrozun 60 dk'lık reperfüzyonu takiben daha da yaygınlaştığını göstermişlerdir. Önal ve ark. (7) ise 60 ve 90

dakikalık iskemi süresi uygulamışlar ve 90 dakikalık iskemi grubunda doku hasarının daha ağır olduğunu saptamışlardır. Diğer yandan literatürde reperfüzyon sürelerinin 15 dakika ile günler arasında değiştiği çalışmalar mevcuttur (7,64). Serum üre ve kreatinin düzeyleri I/R hasarının oluşumunu gösteren en basit ve önemli parametrelerdir (65). Biz çalışmamızda 30 dakikalık iskemi uyguladık ve deneklerin üre, BUN ve kreatinin düzeylerindeki yükselme ile I/R hasarını oluşturmada başarılı olduğumuzu gösterdik. Ayrıca yapılan histopatolojik incelemelerde ve apoptotik indeks değerlendirmelerinde kontrol grubundaki böbrek dokularının histopatolojik olarak normal görünümde olması ve düşük apoptotik indekse sahip olmasına karşın, I/R gruplarında değişen düzeylerde glomerüler yapılarda bozulma, inflamasyon, sitoplazmik vakuolizasyon, epitelyal düzleşme, nekroz, tübüler obstrüksiyon izlenmiş olması ve yüksek apoptotik indeks tespit edilmesi I/R hasarı için belirlenen sürelerin yeterli olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte reperfüzyon sürelerinin belirlenmesi için, bu konudaki deneyim eksikliği ve deneklerin mortalitesinden çekinildiğinden 2 adet denek ile ön çalışma (pilot çalışma) yapıp deneklerin 72 saate kadar yaşaması üzerine reperfüzyon süreleri 1 saat ve 24 saat olarak belirlenmiştir. Yapmış olduğumuz bu ön çalışmanın daha uzun süreli çalışmalar için yol gösterici olacağı düşünmekteyiz.

İskemik ABY sonrasında hasarlanmış endotelde vazodilatasyon olmaz; vasküler düz kaslar etkili vazokonstriktör maddeler salgırlar. Renal distal nefronlarda, hücreler arası birleşim yerleri bozulur. Bu durum sodyum emiliminin bozulmasına, hücre polaritesinin kaybına ve proksimal tübüllerde Na-K-ATPaz pompasının bozulmasına yol açar. Sonuç olarak vasküler geçirgenlik artar ve interstisyel ödem gelişir. Gelişen interstisyel ödem kan akımını, medulladaki damarlara bası uygulayarak daha da bozar. Plazmanın damar dışına kaçtığı sonrası hemokonsantrasyon gelişir, sonrasında lökosit ve trombositlerin endotele yapışmasıyla doku perfüzyonu daha da bozulur (60, 66, 67).

Renal iskemi sonrasındaki reperfüzyon esnasında oluşan serbest oksijen radikallerin yıkıcı etkileri, belirli bir düzeye kadar vücutta sabit bulunan doğal antioksidan sistemler ile engellenir. Sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların etkinliği bir denge içindedir. Oksidan düzeyi belirli bir seviyenin üzerine çıkar veya antioksidanların yetersiz olduğu durumlarda, oksidan moleküller

organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve enzimlerin yapısını bozarak zararlı etkilere yol açarlar. Çoğu hastalıkta artmış serbest oksijen radikalleri (SOR) hastalığın ana sebebi değildir, ancak primer bozukluğa ikincil olarak oluşurlar ve ardından patogeneizde yer alırlar (46).

Dobashi ve ark. ratlarda renal iskemi sürelerini 30, 60, 90 dk ve reperfüzyon sürelerini 2, 24, 72, 120 saat olarak belirleyip, yaptıkları çalışmada; 60 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uyguladıkları grupta, SOD, CAT ve GSHPx aktivitelerinde anlamlı bir azalma ve lipid peroksidasyon düzeyinde artma olduğu bildirmişlerdir (64). Aydoğdu ve ark. yaptıkları çalışmada böbreklere iskemi ve reperfüzyonu farklı sürelerde uygulamışlar, ve glutatyon düzeyinin azaldığını, lipid peroksidasyon ile plazma üre ve kreatinin düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir (68).

Literatürde çeşitli dokularda iskemi reperfüzyon hasarına karşı antioksidan maddeler kullanılarak gerek koruyucu gerekse tedavi edici önlemler ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (43, 55–57). Vitaminler (C vit ve E vit), N-asetilsistein, allopurinol, L-karnitin, alfatokoferol, kalsiyum kanal blokerleri, anjiyotensin enzim inhibitörleri ve reseptör blokerleri, flavonoidler (naringin ve kuersetin) (7, 63, 68–73) gibi birçok antioksidan madde ile yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar alınmıştır. Ancak klinik çalışmaların sayısı azdır.

Kakuta ve arkadaşları ratlarda renal iskemi reperfüzyon hasarı modelinde epigallocateşin-3-gallat (EGCG)'ın etkilerini araştırmışlardır. Ratların sol böbreklerine 45 dakika iskemi uyguladıktan sonra rastgele 4, 24, 72 saat, 7 gün, 14 gün reperfüzyon uygulamışlar. Böbrek fonksiyon göstergesi olarak kreatinin düzeyini, lipid peroksidasyon göstergesi olarak doku malondialdehit (MDA) düzeylerini kullanmışlar ve histopatolojik olarak böbreklerde tübüler dilatasyon, fırçamsı kenar kaybı, nekroz durumuna göre skorlama yapmışlardır. EGCG tedavi grubunda ve kontrol grubunda kreatinin düzeyi belirgin olarak artmış ancak 24 saat sonra EGCG tedavi grubundaki kreatinin artışı baskılanmış olarak bulmuşlar. EGCG grubunda kreatinin düzeylerini daha düşük olarak bulmuşlar. Patolojik skor ve MDA seviyeleri açısından EGCG tedavi grubunda daha az renal tübüler hasar ve daha düşük MDA seviyesi bulunmuştur (74).

Turgut ve arkadaşları renal iskemi reperfüzyon hasarı modelinde silmarin'in böbrek dokusu üzerine koruyucu ve antioksidan etkilerini araştırmışlardır. Ratlar her kontrol, sham, I/R, silmarin, I/R+silmarin olmak üzere beş gruba ayırmışlar. I/R gruplarında her iki böbreğe 45 dk iskemi uygulanıp, iskemiye takiben 24 saat reperfüzyon uygulanmış. Böbrek fonksiyon testi olarak serum üre, kreatinin ve sistatin-C'yi kullanmışlar. Bunun yanında oksidatif stres ve antioksidan kapasite için ise serum ve doku düzeyinde malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksida (GSHPx), nitrik oksit (NO) ve karbonil protein seviyesi (PC), ve serumdan total oksidan durum (TOS) ve total antioksidan kapasite (TAS) düzeylerini ölçmüşlerdir. Histopatolojik olarak dokudaki hücre nekrozunu değerlendirip skorlamışlar. I/R grubunda diğer gruplara göre serum üre, kreatinin, sistatin C seviyelerinde belirgin artış izlemişler. Bununla birlikte silmarinle verilen gruplarda bu üç parametrenin seviyesini I/R grubuna göre belirgin olarak düşük bulunmuşlar. I/R ile I/R+silmarin grubu serum enzim aktiviteleri açısından karşılaştırıldığında serum CAT, SOD, GSHPx seviyesi I/R grubunda önemli ölçüde düşük bulunmuş iken, doku enzim aktiviteleri açısından karşılaştırıldığında sadece CAT seviyesi I/R grubunda önemli ölçüde düşük bulunmuşlar. Histopatolojik olarak da I/R grubunda renal hasar skoru I/R+silmarin grubundan daha yüksek olarak bulunmuşlar (75). Biz de yaptığımız çalışmada benzer olarak böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için serum kreatinin, üre ve sistatin C parametrelerine ek olarak BUN parametresini de değerlendirdik. Üre ve BUN açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırmada kontrol grubu ile I/R 1.saat grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken ( $p<0,05$ ) diğer gruplar arasındaki fark anlamsızdı ( $p>0,05$ ). Ancak tüm I/R uygulanan gruplarda üre ve BUN değerleri kontrol grubundan daha yüksek bulundu. I/R 1. saat grubu ile diğer gruplar arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlı bulduk ( $p<0,05$ ). Ayrıca I/R 1. saat grubunda tespit edilen Üre ortalama değerini diğer gruplardan daha yüksek bulduk. Bu durumun reperfüzyonun ilerleyen saatlerde geçici iskemik hasara uyrayan hücrelerin normal fonksiyonlarını geri kazanması sonucunda olduğunu düşünmekteyiz. Okserutin tedavisi alan I/R gruplarında Üre ve BUN değerleri almayan I/R gruplarından daha düşüktü ve I/R 1. saat grubu ile I/R+okserutin 1. saat grubu üre ve BUN parametreleri açısından karşılaştırıldığında aralarındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,05$ ). Bundan

dolayı Okserutinün iskemü sonrası reperfüzyonun erken döneminde daha etkili olmakla birlikte I/R bağlı renal hasarda koruyucu olabileceğini düşünmekteyiz. Kreatinin değerlerini kontrol grubuna göre diğer gruplarda daha yüksek bulduk ve bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0,05$ ). Ancak I/R gruplarında okserutin tedavisi alan ve almayan gruplar arasında fark yoktu ( $p > 0,05$ ). Renal iskemü reperfüzyon hasarına yönelik yapılan çalışmaların birçoğunda tek taraflı nefrektomi sonrası iskemü reperfüzyon modeli oluşturulmuş iken biz alışmamızda I/R hasarını diğer böbreğe nefrektomi yapmaksızın karşı böbrekte oluşturduk. Kreatinin değerleri açısından I/R+Okserutin grupları ile I/R yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasını ratlardaki sağlam böbreğin kompanzasyonuna bağlı olduğunu düşündük.

Turgut ve arkadaşlarının (75) yaptıkları çalışmada renal fonksiyonların erken dönem kayıplarının değerlendirilmesinde serum sistatin C düzeylerinin ölçülmesinin serum kreatinin düzeylerinin ölçülmesine göre daha üstün olduğunu bulmuşlardır. Bunun nedeni sistatin C'nin BUN, kreatinin ve üreye göre kanda daha erken tespit edilmesidir. Literatürde renal fonksiyonların değerlendirilmesinde sistatin C'nin konvansiyonel tekniklerden üstün olduğunu destekleyen çalışmalar mevcuttur (42,76). Bizde I/R bağlı renal hasarda hem hasarın şiddetini hemde okserutinün böbrek fonksiyonları üzerine etkinliğini göstermek için BUN, kreatinin ve üre yanında sistatin C'yi kullandık. Ancak gruplar arasında sistatin C açısından anlamlı fark bulamadık ( $p > 0,05$ ).

TNF- $\alpha$  iskemik renal hasarda, makrofaj, lökosit ve renal tübüler hücreler tarafından sekrete edilir. TNF- $\alpha$  glomerüler kan akımını, glomerüler filtrasyon hızını azaltır; glomerüler albumin permeabilitesini artırır; serbest oksijen radikali, IL-1 gibi endojen pirojen ve diğer proinflatuar sitokinlerin üretimini stimüle eder; nötrofil ve monosit (recruitment) infiltrasyonunu artırır; ICAM-1 ve L-selektin ekspresyonunu artırır; hücresele apoptosisi indükler; glomerüler fibrin depozisyonunu artırır (77). Renal TNF- $\alpha$  üretimi için 30 dakikalık iskemü yeterli olmakla birlikte TNF- $\alpha$  proteininin ekspresyonu ve biyoaktivitesi 1 saatlik iskemü ve bunu takip eden 2 saatlik reperfüzyonda tepe yapmaktadır (78, 79).



Bonventre ve Weinberg TNF- $\alpha$ 'nın renal I/R hasarındaki rolünü araştırmışlar ve deneklere TNF- $\alpha$  bağlayıcı protein vermişler. İskemi sonrası yaptıkları incelemede nötrofil infiltrasyonunun azaldığını göstermişlerdir (80). Meldrum ve arkadaşları renal I/R hasarında TNF- $\alpha$  'nın etkinliğini araştırmışlar ve reperfüzyon hasarının göstergesi olarak çeşitli zaman dilimlerinde serum TNF- $\alpha$  değerlerine bakmışlar ve reperfüzyonun birinci saatinde TNF- $\alpha$ 'nın en yüksek seviyeye ulaştığını belirlemişlerdir. Aynı zamanda renal TNF- $\alpha$ 'nın, tübüler hücrelerden salgılandığını da immünohistokimyasal yöntemler kullanarak göstermişlerdir (81).

Ateş ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, Sham, I/R kontrol, EPO (eritropoetin) +I/R, genistein(tirozin kinaz inhibitörü)+I/R, EPO+genistein+I/R olarak beş grupta, renal iskemi reperfüzyon hasarı modelinde EPO'nun koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Tüm ratlara sağ nefrektomi uyguladıktan sonra sham hariç tüm I/R gruplarında sol renal pediküle 45 dakika iskemi uygulayıp 45 dakika ve 24 saat reperfüzyon uygulamışlardır. İskemi değerlendirilmesi için tüm gruplarda BUN kreatinin, laktik dehidrogenaz, lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi için doku MDA, glutasyon (GSH), inflamasyon değerlendirmesi için TNF- $\alpha$ , IL-2 seviyelerini ölçmüşlerdir. Ayrıca histopatolojik değerlendirme yaparak skorlama yapmışlardır. Yaptıkları çalışmanın sonucunda I/R grubunda TNF- $\alpha$  değerlerini sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı miktarda yüksek bulmuşlardır ve EPO tedavi grubundaki TNF- $\alpha$  değerlerini I/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı miktarda düşük bulmuşlardır (82). Bizim alışmamızda Ateş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın tersine I/R gruplarında TNF- $\alpha$  değerleri kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur. Ancak okserutin tedavisi alan I/R gruplarında TNF- $\alpha$  değerlerinin almayan I/R gruplarından daha düşük bulunması okserutin TNF- $\alpha$  baskılayıcı etkisi olduğunu düşündürmektedir. Okserutin önemli bir inflamatuvar sitokin olan TNF- $\alpha$ 'yı bu şekilde baskılaması I/R hasarının önlenmesinde okserutine ait beklentileri artırmaktadır.

1990'lı yılların başında Miller ve ark. total antioksidan kapasiteyi ölçmeye yönelik TAS olarak tanımlanan yeni bir test geliştirdiler. Bu testin en önemli avantajı bir biyolojik örnekte tüm antioksidanların antioksidan kapasitesini ölçmesidir (83). Yapılan bir çalışmada iskemik reperfüzyon hasarına bağlı oluşan ABY'de antioksidan enzim düzeylerinin önemli oranda azaldığı (SOD, CAT ve GSHPx)

gösterilmiştir (64). Biz de çalışmamızda total antioksidan kapasiteyi ve total oksidan seviyeyi değerlendirmek için doku düzeyinde TAS, TOS ve OSİ parametrelerini kullandık. TAS ve OSİ değerlerinde sadece iskemi uygulanmayan sağ ve iskemi uygulanan sol böbrekler arasında anlamlı bir fark varken ( $p<0,05$ ) gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ). TOS değerlerinde ise anlamlı bir fark bulamadık ( $p>0,05$ ). İ/R uygulanan böbrekler ile uygulanmayan böbrekler arasında TAS ve OSİ açısından bu anlamlı farkın cerrahi olarak renal pedikülün klemplenmesine bağlı olduğunu düşündük.

Sentürk ve arkadaşları yaptıkları çalışmada renal iskemi reperfüzyon hasarı modelinde silmarin'in doz bağımlı böbrekteki histopatolojik değişikliklere etkilerini araştırmışlardır. Ratlar sham, renal I/R, renal I/R+50 mg/kg silmarin, renal I/R+100 mg/kg silmarin olmak üzere dört gruba ayırmışlardır. Bütün gruplardaki ratlara sağ nefrektomi yapıp 15 gün takip etmişler. I/R gruplarında sol böbreğe 45 dakika iskemiye takiben 6 saat reperfüzyon uygulamışlardır. Histopatolojik olarak dokularda tübüler dilatasyon, tübüler vakualizasyon, pelvik inflamasyon, intestisyel inflamasyon, perirenal yağ dokusu infiltrasyonu, tübüler nekroz ve glomerüler nekroz değerlendirilip skorlama yapmışlardır. Renal I/R grubunda tübüler dilatasyon, tübüler vakualizasyon, pelvik inflamasyon, intestisyel inflamasyon, perirenal yağ dokusu infiltrasyonu, tübüler nekroz ve glomerüler nekroz I/R hasarına bağlı olarak oluşmuştur. Renal İ/R+50 mg/kg silmarin grubunda daha az oranda tübüler dilatasyon, tübüler vakualizasyon, pelvik inflamasyon, intestisyel inflamasyon, perirenal yağ dokusu infiltrasyonu gözlenmiştir ve tübüler nekroz ve glomerüler nekroz oluşumu önlenmiştir. Renal İ/R+100 mg/kg silmarin tübüler dilatasyon, tübüler vakualizasyon, pelvik inflamasyon, intestisyel inflamasyon, perirenal yağ dokusu infiltrasyonu belirgin olarak önlenmiştir (84). Biz de çalışmamızda histopatolojik olarak dokularda kronik inflamasyon, tübüler epitelyal düzleşme, sitoplazmik vakualizasyon, nekroz-iskemik değişiklikler, tübüler obstrüksiyonu değerlendirdik ayrıca TUNEL yöntemi ile apoptotik hücre indeksini değerlendirdik. I/R 1. saat grubundan 3 böbrek ve I/R 24. saat grubundaki böbreklerin ise tamamında nekroz geliştiğini tespit ettik. Bu böbreklerde kronik inflamasyon, tübüler epitelyal düzleşme, sitoplazmik vakualizasyon, tübüler obstrüksiyon değerlendirmesi ve apoptotik hücre indeksininin değerlendirmesini

yapamadık. Grupları histopatolojik bulguları bakımından karşılaştırdığımızda I/R 1. saat grubunda sadece 1 böbrekte kronik inflamasyon gözlemlendi ve I/R gruplarında tübüler epitelyal düzleşme, sitoplazmik vakualizasyon, nekroz-iskemik değişiklikler, tübüler obstrüksiyon çeşitli oranlarda gözlemlendi. Okserutin tedavisi alan gruplarda daha az oranda tübüler epitelyal düzleşme, sitoplazmik vakualizasyon, tübüler obstrüksiyon gözlenirken nekrozun önleildiğini gözlemledik. Tüm bu histopatolojik değişiklikler iskemi uyguladığımız sol böbrekte daha fazla miktarda gözlemlendi. Grupları apoptotik hücre indeksleri bakımından karşılaştırdığımızda I/R gruplarının apoptotik hücre indeksleri kontrol grubundan daha yüksek bulundu ve okserutin tedavisi alan I/R grupların apoptotik hücre indekslerini almayan I/R gruplarından daha düşük bulduk. Ayrıca apoptotik hücre skorlarını iskemi uyguladığımız sol böbrekte önemli ölçüde yüksek bulundu. Bu bulguların ışığında okserutin I/R bağlı oluşan renal hasarda histopatolojik değişiklikleri ve apoptozis ile hücre ölümünü azaltıp, nekrozu önleyerek koruyucu etki gösterdiğini düşünmekteyiz.

Flavonoidler, bitkisel gıdalarda bol ve yaygın olarak bulunan yararlı biyokimyasal ve antioksidan etkileri olan bileşiklerdir. Yaklaşık olarak 4000'den fazla flavonoid türü belirlenmiştir (51). Flavonoidler başlıca sebzeler, meyveler, kırmızı şarap, çay, soğan baklagillerde bulunur (52, 53). Flavonoidlerin en önemli etkilerinden birisi serbest radikalleri temizleme özellikleridir (51). Serbest radikallerin üretim artışı endojen temizleyici bileşiklerin (süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimler) kullanılıp azalmasına yol açar. Hemen her flavonoid grubunun en iyi tanımlanmış özelliği antioksidan kapasiteleridir ve flavonoidlerin direkt radikal temizleme özellikleri vardır (51–53).

Flavonoidlerin serbest radikalleri temizleme özelliklerine ilave olarak antiinflamatuvar, antiviral, antiallerjik, antitrombotik, antiaterosklerotik, anatitümöral etkileri içeren çeşitli biyolojik özellikleri de vardır (51–53). Flavonoidler XO (ksantin oksidaz), fosfolipaz-A2, siklooksijenaz, lipooksijenaz enzimlerinin inhibisyonu, lökosit adhezyonunun ve aktivasyonunun azaltılması, mast hücresi degranülasyonunun inhibisyonu gibi etkileriyle antiinflamatuvar özellik gösterirler.

Korkmaz ve Kolonkaya'nın yaptığı renal iskemide reperfüzyon hasarı modelinde bir flavinoid türevi olan rutin'in etkilerini araştırmışlar. Ratlar sham-kontrol, sağ nefrektomi kontrol, İ/R, L-N6-(1-iminoethyl)lysine(L-NIL) +İ/R, Rutin+İ/R olmak üzere beş gruba ayrılmış. Kontrol grubu dışındaki tüm ratlara sağ nefrektomi yapıp; sham-kontrol, sağ nefrektomi kontrol, İ/R gruplarına iskemiden 1 saat önce intraperitoneal serum fizyolojik uygulanmış. L-NIL+İ/R grubuna iskemiden 30 dakika önce L-NIL, Rutin+İ/R grubuna ise iskemiden 1 saat önce rutin intraperitoneal uygulanmış. İ/R, L-NIL+İ/R, Rutin+İ/R gruplarına 45 dakika iskemiyi takiben 3 saat reperfüzyon uygulanmış. Çalışmalarının sonucunda İ/R esnasında İNOS aktivitesindeki artışının oluşturduğu NO türevleri renal hasara neden olduğunu bulmuşlar ve Rutin'in güçlü İNOS aktivitesini inhibe edici etkisi ile bu hasarı önlediğini bulmuşlar (85).

Ohkita ve arkadaşları yaptıkları çalışmada renal I/R modelinde bir flavinoid türevi olan Flavangenol'un I/R hasarına bağlı oluşan akut renal hasarı önleyici etkileri araştırmışlar. Ratlara sağ nefrektomi uygulanıp 2 hafta takip etmişler. 2 hafta sonunda ratlar sham, İ/R, I/R+3 mg/kg Flavangenol, I/R+10 mg/kg Flavangenol, I/R+30 mg/kg Flavangenol olmak üzere 5 gruba ayrılmış. I/R gruplarında sol böbreğe 45 dakika iskemiyi takiben 24 saat reperfüzyon uygulamışlar. Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için BUN, serum kreatinin, kreatinin klirensi, idrar miktarı, fraksiyone sodyum ekskresyonu, idrar osmolalitesini kullanmışlar. Histopatolojik olarak dokular değerlendirip skorlama yapmışlar. Tedavi almayan İ/R grubunda önemli derecede BUN, serum kreatinin, idrar akımı, fraksiyone sodyum ekskresyonu artışı olurken önemli derecede kreatinin klirensi ve idrar osmolalitesinde azalma olduğu görmüşler. Tedavi gruplarında doza bağımlı olarak oluşan bu renal fonksiyon bozukluklarında düzelme olduğu görmüşler. Tedavi almayan I/R grubunda belirgin histopatolojik hasar görülürken I/R+30 mg/kg Flavangenol grubunda bu hasarın azaldığı gözlemlenmiştir (86).

Okserutin, flavonoid sınıfına ait olan bir bileşiktir. Okserutin Saphora Japonica adlı geleneksel Çin tıbbında kullanılan bir bitkiden elde edilen bir flavonoid olan rutinlerin türevi olan standart mono-di-tri ve tetra hydroxyethyl rutoside karışımıdır. Standartize edilmiş flavonoid karışımı olan Okserutin 0-( $\beta$ -hydroxyethyl)-rutoside vasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (87).

Okserutin'in farmakolojik etkisi doz bağımlıdır. Yüksek dozlar toplam farmakolojik etki süresini değiştirmeden, etki başlangıcının daha hızlı gerçekleşmesini sağlar (87). Okserutin, hücrel hasarı arttıran ve inflamatuvar reaksiyonu uzatan serbest radikallerin antagonisti ve interreceptörü olarak davranır (87). Okserutin'in endotel zarı ve lipooksijenaz üzerine inhibitör etkisi ödem oluşumunun azalmasıyla birlikte kapiller geçirgenlikte azalma, serbest radikaller tarafından oluşturulan bölgesel hücrel hasarın azalması ve venöz endotele granülosit ve platelet adhezyonunun azaltılmasıyla sağlanır. Okserutin klinikte iyi etkinlik, komplians ve yan etkisiz kullanılmaktadır (87).

Çalışmamızda daha önce renal iskemi-reperfüzyon hasarında çalışılmamış olan antioksidan etkinliği çeşitli çalışmalarda gösterilmiş olan sentetik bioflavonoid olan okserutin renal iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada Wistar tipi erkek sıçanlar kullanıldı. Denek olarak sıçan kullanılmasının sebepleri öncelikle taksonomik olarak memeliler sınıfında yer alması, genetik ve moleküler yönlerden insana yakın birçok protein benzerliğinin bulunması, küçük bir yapıya sahip olup kolay müdahale edilebilmesi ve bütçe olarak masraflı olmayıp daha kolay bulunabilmesi olarak sıralanabilir.

Çalışmamızda 500 mg/kg oral gavaj yoluyla okserutin uygulanmıştır. Okserutin oral yoldan verildikten sonra pik plazma seviyesine ulaşma süresi 2-9 saat olması ve yarılanma ömrü 13,5-25,7 saat (ort:18,3 saat) olması nedeniyle, okserutin'i yeterli plazma konsantrasyonuna ulaşabilmesi için işlemden 24 saat ve işlemden 2 saat önce olmak üzere toplam iki doz oragastrik yoldan ratlara verdik. Uygulanan Okserutin dozu ve uygulanış şekli yapılan diğer çalışmalar göz önünde tutularak kararlaştırılmıştır.

Okserutin literatürde; hamster akciğer fibroblast hücreleri ve fare karaciğeri üzerine radyasyonun zararlı etkilerinin engellenmesinde, Tekrarlayan D-galaktoz maruziyetine bağlı fare böbreğinde oluşun oksidatif DNA hasarının önlenmesi, diabete bağlı uzun dönem deri ve böbrek hasarındaki taurin ve N-asetil sistein ile karşılaştırmalı etkileri, Tekrarlayan D-galaktoz maruziyetine bağlı fare beyinde oluşun kolinerjik sistem zayıflamasının önlenmesi ile ilgili deneysel modellerde

kullanıldığı görülmektedir (54–57,88). Ancak böbrek iskemisi reperfüzyon hasarının önlenmesine yönelik kullanımına literatürde rastlamadık.

Odetti ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada farklı antioksidan maddelerin (N-asetil-sistein (NAC), taurin (TAU), okserutin (OXE)) streptozosin ile diyabet modeli oluşturulan ratlarda, diyabetin uzun dönem deri ve böbrekte oluşturduğu hasar üzerine etkilerini karşılaştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda bu antioksidan maddelerin diyabetin glomerüler hasarını engelleyebileceği veya oluşacak hasarı azaltabileceği gösterilmiştir (88).

Maurya ve arkadaşlarının farelerde yaptıkları deneysel çalışmada trokserutinün tümör transplantasyonu yapılan farelerin gama-radyasyona maruziyet sonrası sağlıklı dokularda oluşan hasara karşı koruyucu etkileri araştırılmış ve trokserutinün radyoterapilerde sağlıklı dokunun korunmasında ideal destekleyici tedavi olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (89).

Fan ve arkadaşlarının farelerde yaptığı çalışmada trokserutinün tedavisinin D-galaktoza bağlı oluşan renal hasarda antiinflamatuvar ve antioksidan etkinliği yoluyla koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada histopatolojik olarak gruplar arasında önemli bir fark görmemelerine rağmen biyokimyasal olarak trokserutinün antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği olduğunu göstermişlerdir. Yaptıkları çalışmada trokserutinün D-galaktoza bağlı oluşan renal hasarındaki koruyucu etkisini antioksidan enzim aktivitesini artırarak, MDA düzeyini azaltarak ve İNOS, COX-2 ekspresyonunu azaltarak sağladığını göstermişlerdir (54).

Liu ve arkadaşlarının farelerde yaptığı çalışmada kronik trokserutinün tedavisinin D-galaktoza bağlı oluşan renal oksidatif DNA hasarındaki koruyucu etkilerini araştırmışlar ve trokserutinün nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH oksidaz) aktivitesini ve SOR seviyelerini azaltarak antioksidan özellik gösterdiğini bulmuşlardır. Buna bağlı olarak trokserutinün D-galaktoza bağlı oluşan renal oksidatif DNA hasarında koruyucu etkisi olabileceği gösterilmiştir (56).

Çalışmamızda elde ettiğimiz biyokimyasal parametreler olan BUN, kreatinin, üre, sistatin C ve TNF- $\alpha$  değerleri renal I/R hasarı modelinin böbrek fonksiyonları üzerine olumsuz yönde etki ettiğini göstermektedir. Okserutinün I/R bağlı renal hasarda böbrek fonksiyon göstergesi olarak incelediğimiz parametreler olan BUN ve

üre üzerine olumlu etkileri olduğunu ancak kreatinin ve sistatin C üzerine olumlu etkisinin olmadığını gördük. Bu durumun daha öncede belirttiğimiz gibi çalışmamızdaki I/R modelinde, I/R hasarının iskemi oluşturulmayan böbrek üzerine olan etkilerini gözlemek için iskemi öncesi diğer böbreğe nefrektomi yapmamamızdan kaynaklandığını düşündük. TNF- $\alpha$  değerlerini diğer renal I/R hasarı çalışmalarının tersine I/R gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük bulduk. Ancak TNF- $\alpha$  değerlerinin okserutin tedavisi alan I/R gruplarında almayan I/R gruplarından daha düşük bulunması okserutin TNF- $\alpha$  baskılayıcı etkisi olduğunu düşündürmektedir. Beklenenin aksine oksidan ve antioksidan durumun değerlendirmesi için biyokimyasal olarak doku düzeyinde bakılan TAS ve TOS parametrelerinde ve hesaplamalar ile elde edilen OSI parametrelerinde gruplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Yapılan histopatolojik değerlendirme ve apoptotik hücre indeksi sonuçları da renal I/R hasarı modelinin böbrek dokusu ve hücreleri üzerine olumsuz yönde etki ettiğini gösterdik. Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada I/R 1. saat grubundan 3 böbrek ve I/R 24. saat grubundaki böbreklerin ise tamamında nekroz geliştiğini tespit ettik. I/R 1. saat grubundan sadece 1 böbrekte kronik inflamasyon gözlemlendi ve I/R gruplarında çeşitli oranlarda tübüler epitelyal düzleşme, sitoplazmik vakualizasyon, nekroz-iskemik değişiklikler, tübüler obstrüksiyon gözlemledik. Okserutin tedavisi alan gruplarda daha az oranda tübüler epitelyal düzleşme, sitoplazmik vakualizasyon, tübüler obstrüksiyon gözlenirken nekrozun önlendiğini gözlemledik. Tüm bu histopatolojik değişiklikleri iskemi uyguladığımız sol böbrekte daha fazla miktarda gözlemledik. Okserutin tedavisi alan I/R grupların apoptotik hücre indekslerini almayan I/R gruplarından daha düşük bulduk. Ayrıca apoptotik hücre indekslerini iskemi uyguladığımız sol böbrekte önemli ölçüde yüksek bulduk.

Sonuç olarak okserutin, renal iskemi reperfüzyon hasarında böbrek fonksiyonlarının korunmasında, BUN, kreatinin üzerine olumlu etki göstererek ve I/R hasarında rolü olduğu düşünülen inflamatuvar önemli sitokin olan TNF- $\alpha$ 'yı baskılayarak etkili olmasının yanında histopatolojik iyileşme sağlayarak da etkili olmaktadır.

## ÖZET

### **Deneysel Renal İskemi-Reperfüzyon Modelinde Okserutin'in Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve Apoptozis Üzerine Muhtemel Koruyucu Etkilerinin Araştırılması**

Operasyon sırasında böbrek kan akımının azaldığı (suprarenal aortik anevrizma) veya azalması gerektiği (parsiyel nefrektomi) durumlarda böbreklerde iskemi daha sonrasında tekrar kanlanma ile birlikte reperfüzyon hasarı oluşabilmektedir. Bu durumda Akut Tübüler Nekrozun (ATN) klinik bir sonucu olan İskemik Akut Böbrek Yetmezliği (ABY) tablosu meydana gelir. İskemi-reperfüzyon hasarından sorumlu serbest oksijen radikallerinin etkilerini önlemeye yönelik birçok ajan bir çok hayvan modelinde çalışılmıştır. Flavonoidler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve antioksidan özellik taşıyan polifenolik bileşiklerdir. Okserutin, rutin ve kersetin türevi olup flavonoidlerin flavonol alt grubu üyesidir. Okserutin standart bileşiminde doğal biyoflavonoid olan Rutin'in trihidroksietil türevi olan tri-okserutin bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda tri-okserutin antioksidan, antiinflamatuvar, antineoplastik, antieritrositik, antitrombotik, antifibrinolitik ve radyoprotektif aktivite gibi biyolojik aktivitelere sahip olduğu belirtilmiştir.

Çalışmamızda renal iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda okserutin böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı ve apoptozis üzerine koruyucu etkinliğini araştırdık.

Çalışmamızda 48 adet Wistar Albino cinsi erkek rat, kontrol ve deney grupları olarak beşe ayrıldı. Grup I; kontrol/sham grubu, Grup II; 30 dakika iskemi oluşturulan ve 1 saat reperfüzyon uygulanan, Grup III; İskemiden 24 saat ve 2 saat önce 500 mg/kg okserutin uygulanan, 30 dakika iskemi oluşturulan sonrasında 1 saat reperfüzyon uygulanan, Grup IV; 30 dakika iskemi oluşturulan ve 24 saat reperfüzyon uygulanan, Grup V; İskemiden 24 saat ve 2 saat önce 500 mg/kg okserutin uygulanan, 30 dakika iskemi oluşturulan, 24 saat reperfüzyon uygulanan olarak gruplar oluşturuldu.

Reperfüzyon sürelerinin sonundan kan ve doku örnekleri alınarak sakrifiye edildi. BUN, ÜRE, kreatinin, sistatin-C, TNF- $\alpha$ , total antioksidan durum (TAS) ve total oksidan durum (TOS) biyokimyasal parametreler değerlendirildi. TUNNEL yöntemi ile apoptozis ve rutin histopatolojik değişiklik değerlendirildi.

Çalışmamızın sonucunda renal iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda profilaktik okserutin verilmesinin iskemi-reperfüzyona bağlı gelişen renal hasar ve apoptoziste koruyucu olduğunu gösterdik.

**Anahtar kelimeler:** Akut böbrek yetmezliği, iskemi-reperfüzyon hasarı, okserutin, oksidatif stres,



## ABSTRACT

### **Evaluation of the Possible Protective Effects of Oxerutin on Renal Ischemia-Reperfusion Injury and Apoptosis in the Experimental Renal Ischemia-Reperfusion Model**

Ischemia-reperfusion injury can occur in conditions where blood supply to the kidney is reduced spontaneously (suprarenal aortic aneurysm) or where this is required on purpose (partial nephrectomy). In such cases, ischemic acute renal failure develops which is a clinical consequence of acute tubular necrosis (ATN). Numerous agents have been studied in animal models to preclude the effects of free oxygen radicals responsible from the ischemia-reperfusion injury.

Flavonoids are polyphenolic compounds commonly found in the plants and possess anti-oxidant features. Oxerutin is a derivative of rutin and quercetin, and the member of the flavonols, a subgroup of flavonoids. The standard composition of oxerutin contains natural bioflavonoid tri-oxerutin, which is trihydroxyethyl derivative of rutin. The studies indicated many biologic activities for tri-oxerutin including anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-neoplastic, anti-erythrocytic, anti-thrombotic, anti-fibrinolytic and radio-protective activities.

In the present study, we evaluated the protective effects of oxerutin on renal ischemia-reperfusion injury and apoptosis in the rat model of renal ischemia-reperfusion injury.

We used 48 male Wistar Albino rats in the study, and the rats were divided into 5 groups as the control and the study group. Group I, control/sham operated; Group II, 30 minutes ischemia and 1 hour reperfusion group; Group III, 500 mg/kg oxerutin 24 hours and 2 hours before ischemia, 30 minutes ischemia and 1 hour reperfusion; Group IV, 30 minutes ischemia and 24 hours reperfusion; Group V, oxerutin 500 mg/kg 24 hours and 2 hour before ischemia, 30 minutes ischemia and 24 hours reperfusion.

At the end of the reperfusion periods, blood and tissue samples were obtained, and the rats were sacrificed. The biochemical parameters evaluated include BUN, Urea, creatinine, cystatin-C, TNF- $\alpha$ , total anti-oxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS). Apoptosis and routine histopathological changes were evaluated using TUNNEL method.

In conclusion, it was revealed that prophylactic administration of oxerutin showed protective effects on renal injury and apoptosis caused by ischemia-reperfusion injury in the rat renal ischemia-reperfusion model.

**Keywords:** Acute kidney failure, ischemia-reperfusion damage, oxerutin, oxidative stress,

## KAYNAKLAR

1. Brady HR, Singer GG. Acute renal failure. *Lancet*. 1995 Dec 9; 346(8989): 1533–40.
2. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med*. 1996 May 30; 334(22): 1448–60.
3. Nolan CR, Anderson RJ. Hospital-acquired acute renal failure. *J Am Soc Nephrol JASN*. 1998 Apr; 9(4): 710–8.
4. Schrier RW, Wang W, Poole B, Mitra A. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. *J Clin Invest*. 2004 Jul; 114(1): 5–14.
5. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet*. 2005 Feb 29; 365(9457): 417–30.
6. Jörres AJ. Acute renal failure: pathogenesis, diagnosis and conservative treatment. *Minerva Med*. 2002 Apr; 93(2): 85–93.
7. Önal A, Astarcioglu H, Örmən M, Atila K, Sarıoğlu S. Sıçandaki renal iskemi reperfüzyon hasarında L-karnitinin koruyucu etkisi. *Ulus Travma Ve Acil Cerrahi Derneği Derg*. 2004; 10(3): 160–7.
8. Conesa EL, Valero F, Nadal JC, Fenoy FJ, López B, Arregui B, et al. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001 Sep; 281(3): R730–737.
9. Kumar V, Robbins SL, Çevikbas U. Robbins Basic pathology = Temel patoloji. 7. edisyon. Istanbul: Nobel Tip Kitabevleri; 2003.
10. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. 1st ed. Konya: Mimoza Yayınları; 1995.
11. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J*. 1984 Aug 15; 222(1): 1–15.
12. Lieberthal W, Levine JS. Mechanisms of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury. *Am J Physiol*. 1996 Sep; 271(3 Pt 2): F477–488.
13. Gurel A, Armutcu F, Sahin S, Sogut S, Ozyurt H, Gulec M, et al. Protective role of alpha-tocopherol and caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury via nitric oxide and myeloperoxidase in rat kidneys. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2004 Jan; 339(1-2): 33–41.
14. Granger DN, Korthuis RJ. Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. *Annu Rev Physiol*. 1995; 57: 311–32.
15. Çakan M, Çakan T, Aydos T, Yilmazer D, Öğüş E, Kılıç A. Sıçan Testisindeki İskemi -Reperfüzyon Hasarı Sonucu Oluşan Oksidatif Stres ve Histopatolojik Değişiklikler Üzerine Ketoprofenin Koruyucu Etkisi. *Türk Üroloji Derg*. 2007; 33(1): 50–5.
16. Sheridan AM, Bonventre JV. Pathophysiology of ischemic acute renal failure. *Contrib Nephrol*. 2001; (132): 7–21.

17. Da Silva EL, Piskula M, Terao J. Enhancement of antioxidative ability of rat plasma by oral administration of (-)-epicatechin. *Free Radic Biol Med.* 1998 May; 24(7-8): 1209–16.
18. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi.* 3. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2001.
19. Anafarta K. Ürogenital Organların Anatomik ve Histolojik Yapısı. *Temel Üroloji.* 4. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2011. p. 1–20.
20. Guyton A, Hall J. *Urine Formation by the Kidneys: I. Glomerular Filtration, Renal Blood Flow, and Their Control: Textb Med Physiol.* Dokuzuncu baskı. Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders Company; 1996. p. 315–30.
21. Blumenfeld JD, Vaughen ED, Walsh PC. Yukarı Üriner Sistem Hastalıklarının Fizyolojisi, Patolojisi ve Tedavisi. *Campbells Urol Walsh Retik Vaughan Wein Ed Anafarta M K Yaman M Ö Çev Ed.* 8. Baskı. Philadelphia: Saunders, Güneş Kitabevi; 2005. p. 167–227.
22. Müftüoğlu YZ, Anafarta K. Ürogenital Sistemin Fizyolojisi. *Temel Üroloji.* 4. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2011. p. 27–53.
23. Tisher C. *Structure and Function of Kidneys.* Cecil Textb Med. Yirmibirinci baskı. Philadelphia, Pennsylvania: Goldman L, Bennet JC (ed). WB Saunders Company; 2000. p. 532–9.
24. Yazıcı C, Türker P, Türkeri L. Ürogenital Tümörler. *Temel Üroloji.* 4. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2011. p. 721–914.
25. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol.* 2000 Feb; 190(3): 255–66.
26. Newmeyer DD, Ferguson-Miller S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. *Cell.* 2003 Feb 21; 112(4): 481–90.
27. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology.* 2001 Jun; 94(6): 1133–8.
28. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol.* 1986 Jun; 250(6 Pt 1): G749–753.
29. Ichimiya M, Chang SH, Liu H, Berezesky IK, Trump BF, Amstad PA. Effect of Bcl-2 on oxidant-induced cell death and intracellular Ca<sup>2+</sup> mobilization. *Am J Physiol.* 1998 Sep; 275(3 Pt 1): C832–839.
30. Orrenius S, Ankarcrona M, Nicotera P. Mechanisms of calcium-related cell death. *Adv Neurol.* 1996; 71: 137–149; discussion 149–151.
31. Salvemini D, Cuzzocrea S. Superoxide, superoxide dismutase and ischemic injury. *Curr Opin Investig Drugs Lond Engl* 2000. 2002 Jun; 3(6): 886–95.
32. Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, Musial WJ. Oxidative stress and neutrophil activation--the two keystones of ischemia/reperfusion injury. *Int J Cardiol.* 2002 Nov; 86(1): 41–59.

33. Grisham MB, Hernandez LA, Granger DN. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. *Am J Physiol.* 1986 Oct; 251(4 Pt 1): G567–574.
34. Thiagarajan RR, Winn RK, Harlan JM. The role of leukocyte and endothelial adhesion molecules in ischemia-reperfusion injury. *Thromb Haemost.* 1997 Jul; 78(1): 310–4.
35. Jo S-K, Sung S-A, Cho W-Y, Go K-J, Kim H-K. Macrophages contribute to the initiation of ischaemic acute renal failure in rats. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2006 May; 21(5): 1231–9.
36. Klahr S, Miller SB. Acute oliguria. *N Engl J Med.* 1998 Mar 5; 338(10): 671–5.
37. Wagener G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch JM, Sladen RN, et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology.* 2006 Sep; 105(3): 485–91.
38. Metnitz PGH, Krenn CG, Steltzer H, Lang T, Ploder J, Lenz K, et al. Effect of acute renal failure requiring renal replacement therapy on outcome in critically ill patients. *Crit Care Med.* 2002 Sep; 30(9): 2051–8.
39. Grubb A, Nyman U, Björk J, Lindström V, Rippe B, Sterner G, et al. Simple cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. *Clin Chem.* 2005 Aug; 51(8): 1420–31.
40. Laterza OF, Price CP, Scott MG. Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem.* 2002 May; 48(5): 699–707.
41. Morris MC, Allanby CW, Toseland P, Haycock GB, Chantler C. Evaluation of a height/plasma creatinine formula in the measurement of glomerular filtration rate. *Arch Dis Child.* 1982 Aug; 57(8): 611–5.
42. Mares J, Stejskal D, Vavroušková J, Urbánek K, Herzig R, Hlustík P. Use of cystatin C determination in clinical diagnostics. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacký Olomouc Czechoslov.* 2003 Dec; 147(2): 177–80.
43. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39(1): 44–84.
44. Brieger K, Schiavone S, Miller FJ Jr, Krause K-H. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly.* 2012; 142: w13659.
45. 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. *Cancer Res.* 1994 Jan 1; 54(1): 12–5.
46. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Hastalıkların patogenezi ve tedavisinde reaktif oksijen partikülleri ve antioksidanlar. *Türk Nefroloji Diyaliz Ve Transplant Dergisi* Office J Turk Assoc. 1997; (3-4): 96–101.

47. Koleva II, van Beek TA, Linszen JPH, de Groot A, Evstatieva LN. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem Anal PCA*. 2002 Feb; 13(1): 8–17.
48. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005 Dec; 38(12): 1103–11.
49. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*. 2004 Feb; 37(2): 112–9.
50. Peterson J, Dwyer J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutr Res*. 1998 Aralık; 18(12): 1995–2018.
51. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*. 2001 Oct; 74(4): 418–25.
52. Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev*. 2000 Dec; 52(4): 673–751.
53. Kahraman A, Serteser M, Köken T. Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Derg*. 2002; (3): 1–8.
54. Fan S-H, Zhang Z-F, Zheng Y-L, Lu J, Wu D-M, Shan Q, et al. Troxerutin protects the mouse kidney from d-galactose-caused injury through anti-inflammation and anti-oxidation. *Int Immunopharmacol*. 2009 Jan; 9(1): 91–6.
55. Ping X, Junqing J, Junfeng J, Enjin J. Radioprotective effects of troxerutin against gamma irradiation in mice liver. *Int J Radiat Biol*. 2012 Aug; 88(8): 607–12.
56. Liu C-M, Ma J-Q, Lou Y. Chronic administration of troxerutin protects mouse kidney against D-galactose-induced oxidative DNA damage. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc*. 2010 Oct; 48(10): 2809–17.
57. Lu J, Wu D-M, Hu B, Cheng W, Zheng Y-L, Zhang Z-F, et al. Chronic administration of troxerutin protects mouse brain against D-galactose-induced impairment of cholinergic system. *Neurobiol Learn Mem*. 2010 Feb; 93(2): 157–64.
58. Gohel MS, Davies AH. Pharmacological agents in the treatment of venous disease: an update of the available evidence. *Curr Vasc Pharmacol*. 2009 Jul; 7(3): 303–8.
59. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest*. 1984 Oct; 74(4): 1156–64.
60. Singbartl K, Ley K. Protection from ischemia-reperfusion induced severe acute renal failure by blocking E-selectin. *Crit Care Med*. 2000 Jul; 28(7): 2507–14.
61. Laven BA, Orvieto MA, Chuang MS, Ritch CR, Murray P, Harland RC, et al. Renal tolerance to prolonged warm ischemia time in a laparoscopic versus open surgery porcine model. *J Urol*. 2004 Dec; 172(6 Pt 1): 2471–4.

62. Yamaki VN, Gonçaves TB, Coelho JVB, Pontes RVS, Costa FL da S, Brito MVH. Protective effect of remote ischemic per-conditioning in the ischemia and reperfusion-induced renal injury in rats. *Rev Colégio Bras Cir.* 2012 Dec; 39(6): 529–33.
63. Selçuk NY, Yakan B, San A, Başoğlu M, Tonbul Z, Kızıltunç A, et al. Deneysel Sıcak Renal İskemi ve Reperfüzyonda Lipid Peroksidasyonu ve Alpha-Tocopherol Tedavisinin Değerlendirilmesi. *Türk Nefroloji Diyal Ve Transplant Derg.* 1996; (1): 5–10.
64. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defenses. *Mol Cell Biochem.* 2000 Feb; 205(1-2): 1–11.
65. Thiemermann C, Patel NSA, Kvale EO, Cockerill GW, Brown PAJ, Stewart KN, et al. High density lipoprotein (HDL) reduces renal ischemia/reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2003 Jul; 14(7): 1833–43.
66. Derweesh IH, Novick AC. Mechanisms of renal ischaemic injury and their clinical impact. *BJU Int.* 2005 May; 95(7): 948–50.
67. Ozcan AV, Sacar M, Aybek H, Bir F, Demir S, Onem G, et al. The effects of iloprost and vitamin C on kidney as a remote organ after ischemia/reperfusion of lower extremities. *J Surg Res.* 2007 Jun 1; 140(1): 20–6.
68. Aydoğdu N, Kaymak K, Yalçın Ö. Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında N-Asetilsisteinin Etkileri. *Fırat Tıp Derg.* 2005; (10): 151–5.
69. Koga H, Hagiwara S, Mei H, Hiraoka N, Kusaka J, Goto K, et al. The Vitamin E Derivative, ESeroS-GS, Attenuates Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *J Surg Res.* 2012 Temmuz; 176(1): 220–5.
70. Unal D, Yeni E, Erel O, Bitiren M, Vural H. Antioxidative effects of exogenous nitric oxide versus antioxidant vitamins on renal ischemia reperfusion injury. *Urol Res.* 2002 Jul; 30(3): 190–4.
71. Inal M, Altinişik M, Bilgin MD. The effect of quercetin on renal ischemia and reperfusion injury in the rat. *Cell Biochem Funct.* 2002 Dec; 20(4): 291–6.
72. Onozato ML, Tojo A, Goto A, Fujita T, Wilcox CS. Oxidative stress and nitric oxide synthase in rat diabetic nephropathy: effects of ACEI and ARB. *Kidney Int.* 2002 Jan; 61(1): 186–94.
73. Otçu S, Öztürk H, Dokucu Aİ. Deneysel Böbrek Sıcak İskemi-Reperfüzyon Hasar Üzerine Allopurinolün Etkileri. *Türk Üroloji Derg.* 2000; (26(2)): 150–3.
74. Kakuta Y, Okumi M, Isaka Y, Tsutahara K, Abe T, Yazawa K, et al. Epigallocatechin-3-gallate protects kidneys from ischemia reperfusion injury by HO-1 upregulation and inhibition of macrophage infiltration. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant.* 2011 May; 24(5): 514–22.
75. Turgut F, Bayrak O, Catal F, Bayrak R, Atmaca AF, Koc A, et al. Antioxidant and protective effects of silymarin on ischemia and reperfusion injury in the kidney tissues of rats. *Int Urol Nephrol.* 2008; 40(2): 453–60.

76. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C serum concentrations underestimate glomerular filtration rate in renal transplant recipients. *Clin Chem*. 1999 Oct; 45(10): 1866–8.
77. Donnahoo KK, Shames BD, Harken AH, Meldrum DR. Review article: the role of tumor necrosis factor in renal ischemia-reperfusion injury. *J Urol*. 1999 Jul; 162(1): 196–203.
78. Donnahoo KK, Meldrum DR, Shenkar R, Chung CS, Abraham E, Harken AH. Early renal ischemia, with or without reperfusion, activates NFkappaB and increases TNF-alpha bioactivity in the kidney. *J Urol*. 2000 Apr; 163(4): 1328–32.
79. Donnahoo KK, Meng X, Ao L, Ayala A, Shames BD, Cain MP, et al. Differential cellular immunolocalization of renal tumour necrosis factor-alpha production during ischaemia versus endotoxaemia. *Immunology*. 2001 Jan; 102(1): 53–8.
80. Bonventre JV, Weinberg JM. Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2003 Aug; 14(8): 2199–210.
81. Meldrum KK, Meldrum DR, Meng X, Ao L, Harken AH. TNF-alpha-dependent bilateral renal injury is induced by unilateral renal ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Feb; 282(2): H540–546.
82. Ates E, Yalcin AU, Yilmaz S, Koken T, Tokyol C. Protective effect of erythropoietin on renal ischemia and reperfusion injury. *ANZ J Surg*. 2005 Dec; 75(12): 1100–5.
83. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*. 2004 Apr; 37(4): 277–85.
84. Senturk H, Kabay S, Bayramoglu G, Ozden H, Yaylak F, Yucel M, et al. Silymarin attenuates the renal ischemia/reperfusion injury-induced morphological changes in the rat kidney. *World J Urol*. 2008 Aug; 26(4): 401–7.
85. Korkmaz A, Kolankaya D. Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Can J Surg J Can Chir*. 2013 Feb; 56(1): 6–14.
86. Ohkita M, Nakajima A, Ueda K, Takaoka M, Kiso Y, Matsumura Y. Preventive effect of flavangenol on ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats. *Biol Pharm Bull*. 2005 Sep; 28(9): 1655–7.
87. Petruzzellis V, Troccoli T, Candiani C, Guarisco R, Lospalluti M, Belcaro G, et al. Oxerutins (Venoruton®): Efficacy in Chronic Venous Insufficiency A Double-Blind, Randomized, Controlled Study. *ANGIOLOGY*. 2002 May 1; 53(3): 257–63.

88. Odetti P, Pesce C, Traverso N, Menini S, Maineri EP, Cosso L, et al. Comparative trial of N-acetyl-cysteine, taurine, and oxerutin on skin and kidney damage in long-term experimental diabetes. *Diabetes*. 2003 Feb; 52(2): 499–505.
89. Maurya DK, Salvi VP, Krishnan Nair CK. Radioprotection of normal tissues in tumor-bearing mice by troxerutin. *J Radiat Res (Tokyo)*. 2004 Jun; 45(2): 221–8.