



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**FUKOİDİN'İN RAT AORTİK İSKEMİ REPERFÜZYON  
MODELİNDE BÖBREK VE AKCİĞERLER ÜZERİNE ETKİSİ**

**TEZ TİPİ  
DOKTORA TEZİ**

**TÜRKAN GÜNEY**

**DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. FAHRETTİN AKYÜZ**

**Mart-2015**





**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**FUKOİDİN'İN RAT AORTİK İSKEMİ REPERFÜZYON  
MODELİNDE BÖBREK VE AKCİĞERLER ÜZERİNE ETKİSİ**

**TEZ TİPİ  
DOKTORA TEZİ**

**TÜRKAN GÜNEY**

**DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. FAHRETTİN AKYÜZ**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

**Türkan GÜNEY**'in Doktora Tezi olarak hazırladığı "**Fukoidin'in Rat Aortik İskemi Reperfüzyon Modelinde Böbrek Ve Akciğerler Üzerine Etkisi**" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirerek "**KABUL**" edilmiştir.

Tarih 27.02.2015

Üye : Prof.Dr.Kubilay UZUNER



Üye : Prof.Dr.Güngör KANBAK

Üye : Prof.Dr.Sema USLU



Üye : Yrd.Doç.Dr.Fahrettin AKYÜZ(Danışman)



Üye : Yrd.Doç.Dr.Filiz ÖZDEMİR



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 03/03/2015 tarih ve .1035../4861.... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof Dr. Kazım ÖZDAMAR  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Aort cerrahisinde abdominal aortun klemplenmesi ile oluşan iskemide birçok dokuda uzak organ hasarı meydana gelmektedir. Bu çalışmada fukoidinin rat aortik iskemi reperfüzyon modelinde böbrek ve akciğerler üzerine etkisini araştırdık.

Çalışmamızda 40 tane Wistar türü erkek sıçan, her grupta 8 tane olacak şekilde Grup 1 (Sham), Grup 2 (Kontrol), Grup 3 (İskemi öncesi) (İÖ), Grup 4 (Reperfüzyon öncesi) (RÖ), Grup 5 (Hem iskemi hem reperfüzyon öncesi) (İRÖ) olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Sham grubuna, sadece laparotomi uygulandı. Diğer gruplara laparotomi ve infrarenal aortik iskemi reperfüzyon (AİR) uygulandı ( 120 dakika iskemi ardından 120 dakika reperfüzyon). İÖ iskemiden 10 dak. önce juguler venden 25mg/kg fukoidin verildi. RÖ grubuna, reperfüzyondan 10 dak. önce juguler venden 25mg/kg fukoidin verildi. İRÖ grubuna, iskemiden 10 dak. önce 12,5mg/kg ve reperfüzyondan 10 dak. önce 12,5mg/kg olmak üzere juguler venden toplam 25mg/kg fukoidin verildi. İşlemlerden sonra tüm hayvanlardan kan, böbrek ve akciğer dokuları alınarak sakrifiye edildi. Plazmada protein karbonil (PCO), protein sülfidril (P-SH) ve kitotriozidaz (CHIT), serumda iskemi modifiye albümin (İMA), kan üre azotu (BUN), kreatinin, malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), myeloperoksidaz (MPO), böbrek ve akciğer doku örneklerinde, MDA, NO, MPO, katalaz (CAT) düzeyleri biyokimyasal olarak ölçüldü ve histolojik olarak doku örnekleri hemotoksilen-eosin boya ile boyanarak ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

Kontrol grubu ile RÖ ve İRÖ karşılaştırıldığında; PCO, CHIT, İMA, BUN, kreatinin, MDA, NO, MPO, CAT da istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenirken, P-SH grubunda istatistiksel olarak anlamlı artma olduğunu belirledik. Kontrol grubu ile İÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı.

Böbrek dokusu, kontrol grubu ile Grup 4 ve Grup 5 histoloji yönünden (fokal glomeruler nekroz, bowman kapsül dilatasyonu, tubuler epitel dejenerasyonu, tubuler epitel nekrozu, tubuler dilatasyon, interstisiyel inflamatuvar infiltrasyon) değerlendirildiğinde toplam skora göre anlamlı azalma bulundu. Kontrol grubu ile İÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı.

Akciğer dokusu, kontrol grubu ile RÖ ve İRÖ grubu histoloji yönünden (fibrin platelet trombüs varlığı, kronik inflamasyon, intra alveolar kanama, ödem, konjesyon, PMNL) değerlendirildiğinde toplam skora göre anlamlı azalma bulundu. Kontrol grubu ile İÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı.

Aortaya infrarenal kros-klempin konması iskemi-reperfüzyonuna bağlı olarak böbreklerde ve akciğerde uzak organ hasarı meydana getirmiş ve fukoidinin reperfüzyondan önce uygulanması bu hasarı azalttı. Fukoidinin iskemi öncesi uygulamasında ise, iskemi de kan akışının tamamen durması nedeni ile, nötrofil infiltrasyonu ve serbest oksijen radikal hasarı meydana gelmediğinden, iskemi reperfüzyon hasarı üzerine koruyucu etki göstermedi. Fukoidinin reperfüzyon hasarından önce verilmesinin iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olabileceğini belirledik.

**Anahtar Kelimeler: İskemi, reperfüzyon, fukoidin**

## **SUMMARY**

Remote organ damage in many tissues occurs due to the ischemia caused by clamping of the abdominal aorta during aortic surgery. In this study, we investigated the effect of fucoidin on kidney and lungs in rat aortic and ischemia-reperfusion model.

In the study, we subdivided 40 Wistar male rats into five groups, Group 1 (Sham), Group 2 (control), Group 3 (AIR + fucoidin prior to Ischemia) (IO), Group 4 (AIR + fucoidin prior to reperfusion) (RO), Group 5 (AIR + fucoidin prior to ischemia and prior to reperfusion) (IRO) and each group consisted of 8 rats. Sham group underwent laparotomy only. Laparotomy and infrarenal aortic ischemia-reperfusion (AIR) have been performed for other groups (120 minutes of ischemia, 120 minutes reperfusion consecutively). 25 mg/kg fucoidin have been injected into the jugular vein 10 minutes before the ischemia in IO group. 25 mg/kg fucoidin have been injected into the jugular vein 10 minutes before the reperfusion in RO group. For IRO group, 12.5 mg/kg fucoidin 10 minutes before the reperfusion and 12.5 mg/kg fucoidin 10 minutes before the reperfusion, totally 25 mg fucoidin injected into the jugular vein. After these injections, all rats have been sacrificed and blood, kidney and lung tissue samples have been received. Protein carbonyl (PCO), protein sulfhydryl (P-SH) and chitotriosidase (CHIT) levels in plasma, ischemia modified albumin (IMA), blood urea nitrogen (BUN), creatinine, malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), and myeloperoxidase (MPO) levels in serum, and MDA, NO, MPO, catalase (CAT) levels in kidney and lung tissue samples were analyzed biochemically, and also tissue samples stained with hematoxylin and eosin for histopathological assessment and examined under light microscopy.

PCO, CHIT, IMA, BUN, creatinine, MDA, NO, MPO, CAT levels were significantly lower in RO and IRO groups comparing with those of controls while serum P-SH levels were significantly increased. There are no statistical difference between the IO group and controls.

Total scores according to histopathological findings of renal tissue samples (focal glomerular necrosis, dilatation of bowman capsule, tubular epithelial degeneration, tubular epithelial necrosis, tubular dilatation, interstitial inflammatory infiltration) were significantly lower in the RO and IRO groups than those controls. But there are no statistical difference between the IO group and controls.

Total scores according to histopathological findings of lung tissue samples (presence of fibrine-platelet thrombus, chronic inflammation, intra-alveolar haemorrhage, edema, congestion, PMNL), were significantly lower in

RO and IRO groups than those of controls. But there are no statistically difference between the IO group and controls.

Infrarenal aortic cross-clamping results with tissue damage in lung and kidney due to ischemia-reperfusion and fucoidin injection before the reperfusion reduce the damage. Fucoidin injection before ischemia have no protective effect on ischemia-reperfusion injury because of no neutrophil infiltration and oxygen free radical damage during the ischemia period due to sudden complete interruption of blood flow. Fucoidin administration before complete reperfusion injury, may be protective against ischemia reperfusion injury.

**Keywords:** ischemia, reperfusion, fucoidin



## İÇİNDEKİLER

KAPAK.....	
İÇ KAPAK.....	i
ÖZET.....	iii
SUMMARY.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	xI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xiii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İskemi.....	3
2.2. Reperfüzyon.....	5
2.3. İskemi Reperfüzyon Hasarı Mekanizmaları.....	6
2.3.1. Serbest oksijen radikalleri (SOR).....	6
2.3.1.1. Serbest oksijen radikalleri ve etkileri.....	6
2.3.1.2. Süperoksit radikali (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ).....	8
2.3.1.3. Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) ve Hidroksil (OH <sup>-</sup> ) radikali.....	9
2.3.1.4. Serbest Radikallerin Hasar Mekanizması.....	11
2.3.2. Polimorfonükleer lökosit (PMNL).....	12

2.3.3. Komplemanın rolü.....	13
2.3.4. Endotel hücrelerinin rolü.....	14
2.3.5. İskemi-Reperfüzyon hasarında inflamasyonun kimyasal araçları.....	15
2.3.5.1. Araşidonik asit (AA) metabolitleri (eikosanoidler; PG ve LT) .....	15
2.3.5.2. Platelet Activating Factor (PAF).....	15
2.3.5.3. Sitokinler.....	16
2.3.6. Mikrodolaşım ("no reflow" fenomeni).....	16
2.4. İR'a Bağlı Gelişen Uzak Organ Hasarı.....	16
2.5. Fukoidin.....	18
2.5.1. Yapısı.....	18
2.5.2. Fukoidin'in Biyolojik Etkileri.....	19
2.5.2.1. Antikoagülan etkisi.....	19
2.5.2.2. Antiinflamatuvar etkisi.....	19
2.5.2.3. Antioksidan etkisi.....	20
2.6. İskemi Modifiye Albümin (İMA).....	20
2.7. Kitotriozidaz (CHIT).....	22
2.8. Myeloperoksidaz (MPO).....	22
2.9. Malondialdehit (MDA).....	23
2.10. Protein karbonil / Protein Sülfidril (PCO / P-SH).....	24
2.11. Nitrik Oksit (NO).....	25
2.12. Katalaz (CAT).....	26
3. MATERYAL METOD.....	27
3.1. Deneklerin Hazırlanması, Cerrahi İşlem ve Operasyon Protokolü.....	27
3.2. Biyokimyasal Ölçümler.....	31

<b>3.2.1. Serum BUN ölçümü.....</b>	<b>31</b>
<b>3.2.2. Serum Kreatinin ölçümü.....</b>	<b>31</b>
<b>3.2.3. Serum İskemi Modifiye Albumin (İMA) ölçümü..</b>	<b>31</b>
<b>3.2.4. Plazma Protein Karbonil (PCO) Grupları Tayini...32</b>	
<b>3.2.5. Plazma Total Protein Sülfidril (P-SH) Grupları Tayini.....</b>	<b>33</b>
<b>3.2.6. Plazma Kitotirozidaz (CHIT) Aktivitesinin Ölçümü.....</b>	<b>33</b>
<b>3.2.7. Akciğer, böbrek ve serum Nitrik Oksit (NO) Düzeylerinin Belirlenmesi.....</b>	<b>34</b>
<b>3.2.8. Akciğer, böbrek ve serum Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Belirlenmesi.....</b>	<b>35</b>
<b>3.2.9. Akciğer, böbrek ve serum Myeloperoksidaz (MPO) Düzeylerinin Belirlenmesi.....</b>	<b>36</b>
<b>3.2.10. Akciğer ve böbrek dokularında Katalaz (CAT) Düzeylerinin Belirlenmesi.....</b>	<b>37</b>
<b>3.2.11. Biüret protein tayini yöntemi.....</b>	<b>38</b>
<b>3.2.12. Böbrek ve Akciğer Dokusu Histolojik Preparatların Hazırlanması.....</b>	<b>39</b>
<b>3.3. İstatistiksel Analiz.....</b>	<b>40</b>

#### **4. BULGULAR**

<b>4.1. Serum İMA Bulguları.....</b>	<b>41</b>
<b>4.2. Serum MDA Bulguları.....</b>	<b>43</b>
<b>4.3. Böbrek Doku MDA Bulguları.....</b>	<b>45</b>
<b>4.4. Akciğer Doku MDA Bulguları.....</b>	<b>47</b>
<b>4.5. Serum NO Bulguları.....</b>	<b>49</b>

<b>4.6. Böbrek Doku NO Bulguları.....</b>	<b>51</b>
<b>4.7. Akciğer Doku NO Bulguları.....</b>	<b>53</b>
<b>4.8. Böbrek Doku Katalaz Bulguları.....</b>	<b>55</b>
<b>4.9. Akciğer Doku Katalaz Bulguları.....</b>	<b>57</b>
<b>4.10. Plazma CHIT Bulguları.....</b>	<b>59</b>
<b>4.11. Serum BUN Bulguları.....</b>	<b>61</b>
<b>4.12. Serum Kreatinin Bulguları.....</b>	<b>63</b>
<b>4.13. Plazma PCO Bulguları.....</b>	<b>65</b>
<b>4.14. Plazma Protein Sülfidril Bulguları.....</b>	<b>67</b>
<b>4.15. Serum MPO Bulguları.....</b>	<b>69</b>
<b>4.16. Akciğer Doku MPO Bulguları.....</b>	<b>71</b>
<b>4.17. Böbrek Doku MPO Bulguları.....</b>	<b>73</b>
<b>4.18. Akciğer Histoloji Bulguları.....</b>	<b>75</b>
<b>4.19. Böbrek Histoloji Bulguları.....</b>	<b>81</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>86</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>99</b>
<b>7. KAYNAKLAR DİZİNİ.....</b>	<b>100</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>113</b>

## Tablolar Dizini

<b>Tablo 2.1.</b> Önemli SOR ve RNOS molekülleri ve Özellikleri.....	10
<b>Tablo 3.1.</b> Deney grupları ve gruplardaki sıçanlara yapılan cerrahi uygulamalar.....	28
<b>Tablo 4.1.</b> Çalışma gruplarının serum İMA düzeyleri .....	41
<b>Tablo 4.2.</b> Çalışma gruplarının serum MDA düzeyleri .....	43
<b>Tablo 4.3.</b> Çalışma gruplarının MDA böbrek doku düzeyleri .....	45
<b>Tablo 4.4.</b> Çalışma gruplarının MDA akciğer doku düzeyleri .....	47
<b>Tablo 4.5.</b> Çalışma gruplarının NO serum düzeyleri .....	49
<b>Tablo 4.6.</b> Çalışma gruplarının NO böbrek doku düzeyleri .....	51
<b>Tablo 4.7.</b> Çalışma gruplarının NO akciğer doku düzeyleri .....	53
<b>Tablo 4.8.</b> Çalışma gruplarının katalaz böbrek doku düzeyleri .....	55
<b>Tablo 4.9.</b> Çalışma gruplarının katalaz akciğer doku düzeyleri .....	57
<b>Tablo 4.10.</b> Çalışma gruplarının CHIT plazma düzeyleri .....	59
<b>Tablo 4.11.</b> Çalışma gruplarının BUN serum doku düzeyleri .....	61
<b>Tablo 4.12.</b> Çalışma gruplarının kreatinin serum düzeyleri .....	63
<b>Tablo 4.13.</b> Çalışma gruplarının plazma PCO düzeyleri .....	65
<b>Tablo 4.14.</b> Çalışma gruplarının plazma protein sülfidril düzeyleri .....	67
<b>Tablo 4.15.</b> Çalışma gruplarının MPO serum düzeyleri .....	69
<b>Tablo 4.16.</b> Çalışma gruplarının MPO akciğer doku düzeyleri .....	71
<b>Tablo 4.17.</b> Çalışma gruplarının MPO böbrek doku düzeyleri .....	73
<b>Tablo 4.18.</b> Çalışma gruplarının akciğer histoloji ortalama skorları .....	77
<b>Tablo 4.19.</b> Çalışma gruplarının akciğer histoloji ortalama skorları .....	82

## Şekiller Dizini

<b>Şekil 2.1.</b> Hücre hasarında sitozoldeki kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçlar.....	4
<b>Şekil 2.2.</b> Hücre içindeki ATP kaybının fonksiyonel ve morfolojik sonuçları...	5
<b>Şekil 2.3.</b> İskemi reperfüzyon hasarında meydana gelen olaylar.....	8
<b>Şekil 2.4.</b> İ-R hasarı sırasında gerçekleşen lökosit-endotel adezyonu ve lökosit göçü.....	13
<b>Şekil 2.5.</b> Fukoidinin kimyasal yapısı.....	19
<b>Şekil 2.6.</b> İnsan serum albuminin şematik yapısı.....	21
<b>Şekil 2.7.</b> Proteinlerin karbonilasyonu.....	24
<b>Şekil 2.8.</b> Nitrik Oksit Sentezi.....	25
<b>Şekil 4.1.</b> Sham grubu akciğer histoloji bulguları.....	78
<b>Şekil 4.2.</b> Kontrol grubu akciğer histoloji bulguları.....	78
<b>Şekil 4.3.</b> Kontrol grubu akciğer histoloji bulguları.....	78
<b>Şekil 4.4.</b> İÖ grubu akciğer histoloji bulguları.....	79
<b>Şekil 4.5.</b> RÖ grubu akciğer histoloji bulguları.....	79
<b>Şekil 4.6.</b> İRÖ grubu akciğer histoloji bulguları. ....	79
<b>Şekil 4.7.</b> Sham grubu böbrek histoloji bulguları.....	83
<b>Şekil 4.8.</b> Kontrol grubu böbrek histoloji bulguları.....	83
<b>Şekil 4.9.</b> Kontrol grubu böbrek histoloji bulguları.....	83
<b>Şekil 4.10.</b> İÖ grubu böbrek histoloji bulguları.....	84
<b>Şekil 4.11.</b> RÖ grubu böbrek histoloji bulguları.....	84
<b>Şekil 4.12.</b> İRÖ grubu böbrek histoloji bulguları.....	84

## **Grafikler Dizini**

<b>Grafik 4.1.</b> Çalışma gruplarının serum İMA düzeyleri .....	42
<b>Grafik 4.2.</b> Çalışma gruplarının serum MDA düzeyleri .....	44
<b>Grafik 4.3.</b> Çalışma gruplarının MDA böbrek doku düzeyleri .....	46
<b>Grafik 4.4.</b> Çalışma gruplarının MDA akciğer doku düzeyleri .....	48
<b>Grafik 4.5.</b> Çalışma gruplarının NO serum düzeyleri .....	50
<b>Grafik 4.6.</b> Çalışma gruplarının NO böbrek doku düzeyleri .....	52
<b>Grafik 4.7.</b> Çalışma gruplarının NO akciğer doku düzeyleri .....	54
<b>Grafik 4.8.</b> Çalışma gruplarının katalaz böbrek doku düzeyleri .....	56
<b>Grafik 4.9.</b> Çalışma gruplarının katalaz akciğer doku düzeyleri .....	58
<b>Grafik 4.10.</b> Çalışma gruplarının CHIT plazma düzeyleri .....	60
<b>Grafik 4.11.</b> Çalışma gruplarının BUN serum doku düzeyleri .....	62
<b>Grafik 4.12.</b> Çalışma gruplarının kreatinin serum düzeyleri .....	64
<b>Grafik 4.13.</b> Çalışma gruplarının plazma PCO düzeyleri .....	66
<b>Grafik 4.14.</b> Çalışma gruplarının plazma protein sülfidril düzeyleri .....	68
<b>Grafik 4.15.</b> Çalışma gruplarının MPO serum düzeyleri .....	70
<b>Grafik 4.16.</b> Çalışma gruplarının MPO akciğer doku düzeyleri .....	72
<b>Grafik 4.17.</b> Çalışma gruplarının MPO böbrek doku düzeyleri .....	74

## Simge ve Kısaltmalar Dizini

AA	Araşidonik asit
AİR	Aortik iskemi reperfüzyon
ARDS	Akut solunumsal distres sendromuna
ATP	Adenozin trifosfat
BH <sub>4</sub>	Tetrahidrobiyopterin
BUN	Kan üre azotu
Ca <sup>+2</sup> /CaM	Kalsiyum/kalmodulin
CAT	Katalaz
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
CHIT	Kitotriozidaz
COX	Siklooksijenaz
ER	Endoplazmik retikulum
FAD	Flavin adenin dinükleotid
FMN	Flavin mononükleotid
GC	Guanilat siklaz
GM-CSF	Granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör
GSHPx	Glutatyon peroksidaz
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
HOCI	Hipokloröz asit
ICAM-1	İnterselüler adezyon molekülü 1
IFN-γ	İnterferon gama
IR	İskemi Reperfüzyon
İMA	İskemi modifiye albümin
İÖ	İskemi öncesi
İRÖ	Hem iskemi hem reperfüzyon öncesi
L <sup>*</sup>	Lipit radikalleri
L-NAME	N-omega-nitro-L-arginin metil ester
LO <sub>2</sub> <sup>*</sup>	Lipit peroksit radikalleri
LT	Lökotrien
MDA	Malondialdehit
MODS	Multipl organ disfonksiyon sendromu
MPO	Myeloperoksidaz
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NO	Nitrik oksit
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Nitrit
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrat
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit radikali
O <sub>2</sub> ↑↓	Singlet Oksijen
OH <sup>-</sup>	Hidroksil radikali
ONOO <sup>-</sup>	Peroksinitrit
PAF	Platelet aktive edici faktör



PCO	Protein karbonil
PECAM-1	Trombosit-endotel hücresi adezyon molekülü 1
PG	Prostoglandinler
PG I2	Prostasiklin
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
PSGL-1	P-selektin glikoprotein 1
P-SH	Protein sülfidril
RCOO·	Peroksil radikali
RNOS	Reaktif nitrojen türleri
RO·, R·, R-S·	Organik radikaller
RÖ	Reperfüzyon öncesi
SOR	Serbest oksijen radikalleri
TNF- $\alpha$	Tümör nekroz faktör alfa
TNF- $\beta$	Tümör nekroz faktör beta
TXA2	Tromboksan A2
XO	Ksantin oksidaz

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi, perfüzyonun yeterli olmaması nedeniyle, dokuya gerekli olan oksijen ve diğer metabolitlerin dolaşım tarafından karşılanamaması ve meydana gelen artık ürünlerin yine dolaşım ile buradan uzaklaştırılamamasıdır (Siemionow & Arslan, 2004).

Reperfüzyon; şok, kardiyak arrest, kanama, vasküler, hepatik ve diğer ameliyatların neden olduğu iskemiden sonra; kan akımı, O<sub>2</sub> ve besinlerin geri dönmesinin sağlanmasıdır (Chapp, 2012).

İskemi ve reperfüzyon klinikte çok çeşitli durumlarda meydana gelmektedir. Trombolitik tedavi, koroner anjiyoplasti, transplantasyon, aort kros klemp veya kardiyopulmoner baypastır. Abdominal aort cerrahisi sırasında iskemi reperfüzyon hasarının lokal ve sistemik etkileri mevcuttur (Eltzschig & Collard, 2004).

Doku reperfüzyonu sonucu, başlangıçtaki iskemik hasara katılmayan organlarda da hasar gelişerek, multiple organ disfonksiyon sendromu (MODS) oluşur (Teke, Kabay & Özden, 2008).

Multiple organ disfonksiyon sendromunda oluşan sistemik inflamasyon hemen hemen her organda hasar oluşturur. Fakat ilk oluşan akciğer yetmezliğidir. MODS' a bağlı oluşan hasar sadece akciğerlerde değil, aynı zamanda (Siemionow & Arslan, 2004; UZ vd., 2002) karaciğer, böbrek, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve miyokardta da hasar oluşturabilir (Carden & Granger, 2000; Teke vd., 2008).

Kylin ilk olarak 1913 de fukoidini izole ettiğinden beri, farklı kahverengi deniz yosunlarında gelen fukoidinlerin yapıları araştırıldı (Li, Lu, Wei & Zhao, 2008). Fukoidinin; antikoagülan, antiinflamatuvar ve antioksidan etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Fitton, 2011; Sinurat & Marraskuranto, 2013).

Fukoidinin, böbrek iskemisi ve renal peroksidatif değişikliklerde oluşan hasar üzerine etkisi araştırılmış olup, abdominal aort cerrahisinde uzak organ hasarı olarak böbrekler ve akciğerler üzerine etkileri henüz yeterince araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı, rat infrarenal abdominal aortasında okluzyon-reperfüzyon sonrası, böbreklerde ve akciğerlerde oluşan iskemi-reperfüzyon hasarına fukoidinin etkisini araştırmaktır. Bu nedenle, rat infrarenal abdominal aortasında okluzyon-reperfüzyon sonrası, plazmada protein karbonil (PCO), protein sülfidril (P-SH) ve kitotriozidaz (CHIT), serumda iskemi modifiye albümin (İMA), kan üre azotu (BUN), kreatinin, malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), myeloperoksidaz (MPO), böbrek ve akciğer doku örneklerinde, MDA, NO, MPO, katalaz (CAT) düzeyleri

biyokimyasal olarak ölçüldü ve histopatolojik olarak doku örnekleri hemotoksilen-eosin boya ile boyanarak ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İskemi

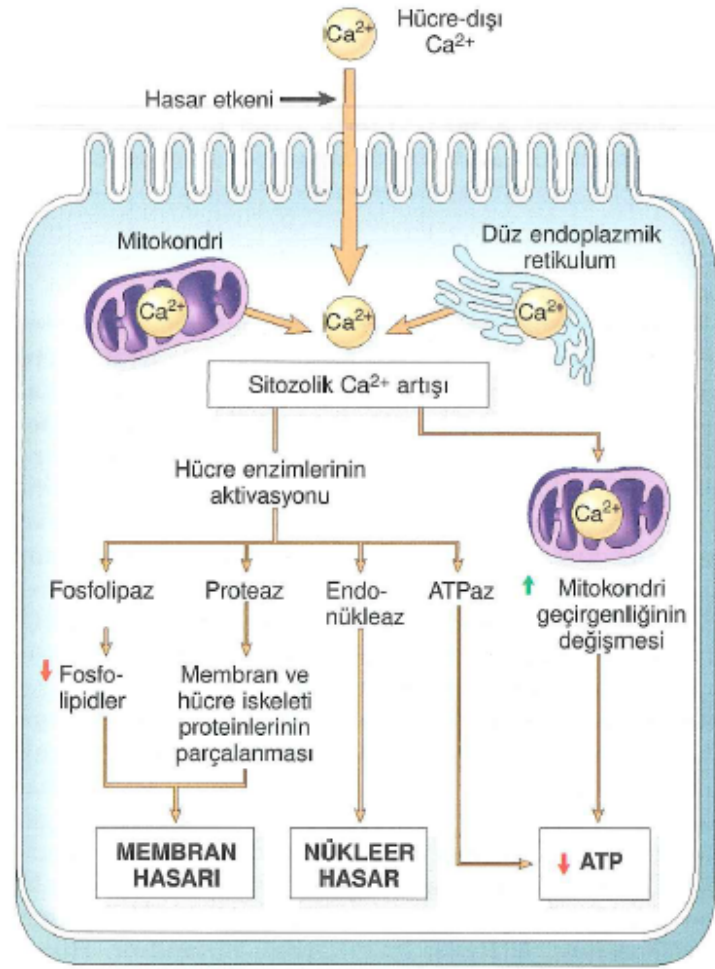
İskemi, perfüzyonun yeterli olmaması nedeniyle, dokuya gerekli olan oksijen ve diğer metabolitlerin dolaşım tarafından karşılanamaması ve meydana gelen artık ürünlerin yine dolaşım ile buradan uzaklaştırılmamasıdır (Siemionow & Arslan, 2004).

İskemi esnasında; hücre ATP'ı kullanarak belirli bir süre hayatını devam ettirse de, daha sonra hücre enerji gereksinimini sağlamak için anaerobik solunum yapar (Bilal & Sarioğlu, 1992; Brandão, Roselino, Piccinato, & Cherri, 2003). İskemi sırasında meydana gelen olaylar aşağıdaki gibidir.

Hücrelerin canlılığının ve fonksiyonunun devam edebilmesi için gerekli olan temel yakıtın eldesinde oksijen, çok önemli bir role sahiptir. Oksijen yokluğunda anaerobik metabolizma devreye girer ve laktik asit konsantrasyonu artar. Laktik asit artışı hücre içi pH değerinin azalmasına sebep olur. Sonuçta asidoz meydana gelir (UZ vd., 2002; Kumar, Abbas, & Aster, 2014).

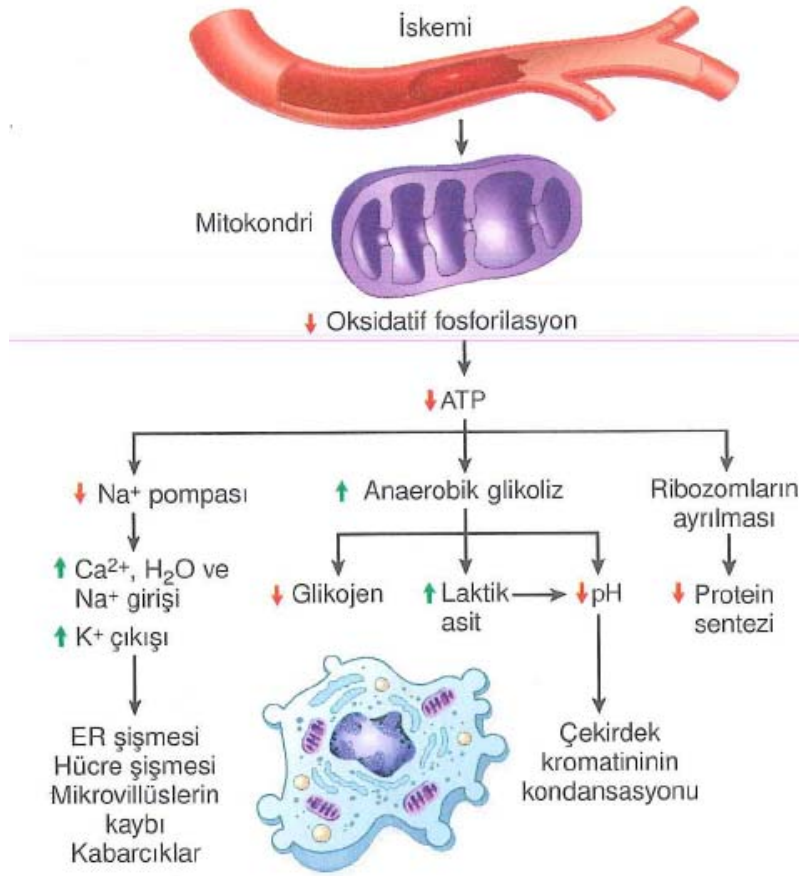
Hücre içindeki ATP miktarının azalmasıyla, plazma membranındaki ATP bağımlı sodyum pompasının aktivitesi azalır. Bu durum hücre içinde sodyum birikmesi ve hücre dışına potasyum çıkmasıyla sonuçlanır. Çözünmüş madde artışı, izo-osmotik tutulumuna neden olur. Bu da hücrenin şişmesine ve endoplazmik retikulumun genişlemesine sebep olur (Kumar vd., 2014).

ATP bağımlı  $Ca^{+2}$  pompalarının yetersizliği ve hücre içi  $Na^{+}$  artışı membranda depolarizasyon yaparak, geçici olarak voltaj bağımlı  $Ca^{+2}$  kanallarının açılmasına ve hücre içi  $Ca^{+2}$  miktarının artmasına neden olur. Hücre içinde  $Ca^{+2}$  artması, fosfolipaz aktivitesini artırarak fosfolipidlerin parçalanmasına neden olur. Fosfolipidlerin yıkımı ile araşidonik asit ortaya çıkar ve serbest radikal oluşturan siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarını aktive eder. Sitoplazmada artan serbest  $Ca^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$  'a bağımlı ATP'az enzimini aktive eder ve hücre içi ATP daha hızlı tüketilir. Hücre iskeletindeki filamentler plazma membranını hücre içine bağlar ve hücre yapısının normal olarak devam ettirilmesine katkıda bulunur. Hücre içi kalsiyum artmasıyla aktive olan proteazlar, hücre iskeleti elemanlarına zarar vererek membran hasarına neden olabilir. Sonuç olarak bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflatuar sitokinlerin ve lökosit adezyon moleküllerinin yapımında artış olmasına rağmen, antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız hale getirmektedir (Paschen, 2000; Kumar vd., 2014).



**Şekil 2.1.** Hücre hasarında sitozoldeki kalsiyum artışının kaynakları ve sonuçları. ATP (Adenozin trifosfat), ATPaz (Adenozin trifosfataz) (Kumar vd., 2014).

ATP kaybının uzun süre devam etmesi, protein sentezinde yapısal bozukluklara sebep olur. Bu bozukluk, ribozomların granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılmasına ve polizomların monozomlardan ayrılmasına neden olur. Sonuç olarak, protein sentezinde azalma meydana gelir. Bunların sonucunda, mitokondrilerde ve lizozom membranında geri dönüşsüz hasar oluşur ve hücrede nekroz meydana gelir (Kumar vd., 2014).



**Şekil 2.2.** Hücre içindeki ATP kaybının fonksiyonel ve morfolojik sonuçları ATP (Adenozin trifosfat), ER (Endoplazmik Retikulum) (Kumar vd., 2014).

İskemide iki türlü hüresel zedelenme ortaya çıkar:

1. Geri dönüşlü zedelenme,
2. Geri dönüşsüz zedelenme

İskemi sonlandırıldığında yani hürelere oksijen sağlandığında, yukarıdaki tüm biyokimyasal ve patolojik bulgular geri dönebilir. Bu şekilde olan iskemide geri dönüşlü zedelenme ortaya çıkar. Eğer iske mi devam edecek olursa, ATP'deki azalma şiddetlenir ve geri dönüşsüz zedelenme oluşur (Kumar vd., 2014).

## 2.2. Reperfüzyon

Reperfüzyon; şok, kardiyak arrest, kanama, vasküler, hepatik ve diğer ameliyatların neden olduğu iskemiden sonra; kan akımı, O<sub>2</sub> ve besinlerin geri dönmesinin sağlanmasıdır (Chapp, 2012).

Reperfüzyon iki aşamaya ayrılır.

İlk aşama; kan akımının sağlanması ile, aerobik solunumun tekrar dönmesidir. NADH tükenir ve hücrenin antioksidan yetenekleri önemli ölçüde azalır. Serbest oksijen radikali kaynağı olan mitokondriyal elektron transport zincirinden sızıntıyla serbest oksijen radikalleri (SOR) hızlı bir artış meydana gelir. Mitokondri zar oksidasyonu artar ve hücrel prosesler daha da bozulur (Chapp, 2012).

Reperfüzyonun ikinci aşaması; nötrofil infiltrasyonu, histamin salınmasını ve enflamatuvar cevabı içerir. Apoptoz ve inflamasyon artar (Chapp, 2012).

İskemiye bağlı hasarın geri döndürülebilmesi için, doku reperfüzyonu gereklidir. Ancak paradoksik olarak, reperfüzyon sonrası oluşan metabolitler doku hasarının artışına neden olur. Hücrel şişme, hücre iskeleti değişiklikleri ve seçici mikrovasküler geçirgenlik kaybı reperfüzyona bağlı hasarın önemli özelliklerindedir. Bu mekanizmalar, dokuda ödem oluşmasına ve kapiller kan akımında azalmaya neden olur (Homer-Vanniasinkam, Crinnion & Gough, 1997).

### **2.3. İskemi Reperfüzyon Hasarı Mekanizmaları**

İskemik dokunun reperfüzyonu sırasında dokuya sağlanan oksijen ve metabolitler, hasarı geriletebileceği gibi hasarın ilerlemesine de neden olabilir. Bu ince çizgi, iskemik hasarın geri dönüşümlü olup olmadığına bağlıdır (Siemionow & Arslan, 2004).

İskemi Reperfüzyon Hasarında Özellikle;

- Serbest oksijen radikalleri
- Polimorf nüveli lökositler (PMNL)
- Kompleman sistemi
- Endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında yer almaktadır (Şener & Yeğen, 2009).

#### **2.3.1. Serbest oksijen radikalleri (SOR)**

##### *2.3.1.1. Serbest oksijen radikalleri ve etkileri*

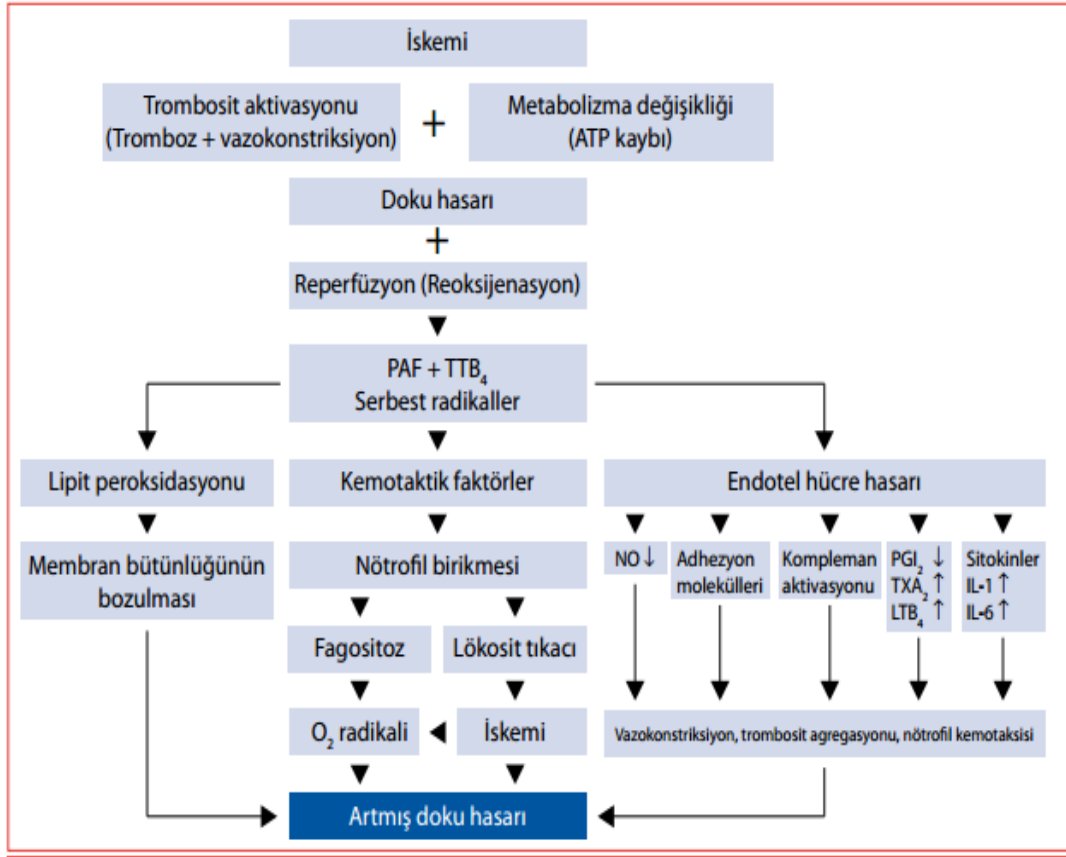
Serbest radikaller, en dış yörüngesinde tek sayıda elektron içeren, çok reaktif ve kısa ömürlü moleküllerdir. Moleküler oksijenin indirgenmesi ile, oksijen serbest radikalleri üretilebilirler (Acworth & Bailey, 1995; Cuzzocrea, Riley, Caputi, & Salvemini, 2001).

İskemik dokularda, oksijen sağlanamadığından serbest oksijen radikali üreten mekanizmalar tam olarak fonksiyon görmezler. Kan akımı ve oksijen sağlanması ile büyük miktarlardaki serbest oksijen radikali üretilir ve böylece reperfüzyon hasarı indüklenir (Cuzzocrea vd., 2001; Şener & Yeğen, 2009).

Reperfüzyon; iskemik dokularda, süperoksit anyon ( $O_2^-$ ) hidroksil radikalleri ( $OH^-$ ), hipokloröz asit ( $HOCl$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve NO den türeyen peroksinitrit de dahil olmak üzere SOR oluşumuna neden olur (Eltzschig & Collard, 2004).

İskemi döneminde ATP üretimi durur, fakat kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP ve AMP'den adenzin meydana gelir. Adenzinin hücre dışına difüze olmasıyla birlikte, inozin ve hipoksantine parçalanır. Bu nedenle, iskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine neden olur. Ayrıca iskemi sırasında, ksantin dehidrojenaz (XDH) ksantin oksidaza (XO) dönüştürülür. Normalde, hipoksantin ürik asite metabolize olması reaksiyonunda, elektron alıcı  $NAD^+$  (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu) dir. Fakat iskemi nedeniyle XDH, XO'a dönüşür ve hipoksantin ürik asite dönüşümü XO tarafından gerçekleşir. Bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır (Berry & Hare, 2004; Li & Jackson, 2002).

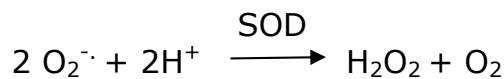
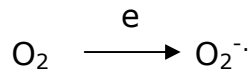




**Şekil 2.3.** İskemi reperfüzyon hasarında meydana gelen olaylar (Şener & YEĞEN, 2009).

### 2.3.1.2. Süperoksit radikali ( $O_2^-$ )

Süperoksit radikali, moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile oluşur (Miller, Buettner, & Aust, 1990).



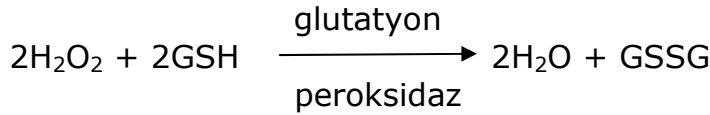
Süperoksit radikalinin fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ( $NO^-$ ) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) oluşur. Peroksinitrit, nitrit ( $NO_2^-$ ) ve nitrat ( $NO_3^-$ ) oluşturmak için metabolize olur. Peroksinitrit, toksik ürünlerden olan, azot dioksit, hidroksil radikali ( $OH^-$ ) gibi ürünlere dönüşebilir. Nitrik oksitin ( $NO^-$ ) zararlı etkileri peroksinitritten

kaynaklanır (Şener & YEĞEN, 2009; Zimiani, Guarnier, Miranda, Ehara Watanabe & Cecchini, 2005).

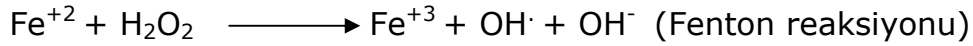
### 2.3.1.3. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve Hidroksil ( $OH^\cdot$ ) radikali

Hidrojen peroksitin hücre içinde metabolize edilmesi aşağıdaki yollarla olabilir.

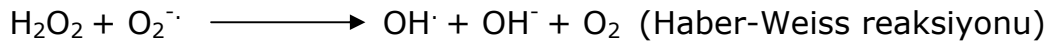
1-  $H_2O_2$ , katalaz veya glutatyon peroksidaz (GSHPx) tarafından toksik olmayan ürünlere dönüşür:



2- Geçiş metallerinin varlığında,  $H_2O_2$  toksik olan  $OH^\cdot$  radikaline dönüşür: Fenton reaksiyonu.



$H_2O_2$  serbest radikal olmadığı halde SOR' i kapsamına girer. Çünkü  $Fe^{+2}$  veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton Reaksiyonu sonucu hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ) oluşur. Ayrıca süperoksit radikalinin varlığında Haber-Weiss Reaksiyonu sonucu hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ) oluşur. En reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ) dir (Lee & Blair, 2001; Reiter, 1998).



Serbest oksijen radikalleri paylaşılmamış elektronlarından dolayı lipid, protein, karbonhidrat, nükleik asit gibi çeşitli makro moleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar. SOR ve reaktif nitrojen türleri (RNOS); kanser, ateroskleroz, artrit, yaşlanma, inflamasyon, iskemi reperfüzyon hasarı ve birçok dejeneratif olayında patogenezinde rol oynayabilmektedir (Gümüştaş & Atukeren, 2008; Yarsan, 1998).

**Tablo 2.1.** Önemli SOR ve RNOS molekülleri ve Özellikleri (Gümüştas & Atukeren, 2008)

$O_2^-$	Süperoksit anyonu	Organizmada çeşitli kaynaklardan oluşur. Oluşum yerinden fazla uzağa difüzenmez ve SOR oluşur.
$H_2O_2$	Hidrojen Peroksit	Serbest radikal değildir. Fe, Cu gibi geçiş metalleri ile serbest radikal oluşturup, hücre membranını içe ve dışa geçebilir.
$OH^-$	Hidroksil radikali	Biyolojik moleküllere en kuvvetli atak yapan ve $H_2O_2$ varlığında, metal iyonu varlığında oluşan radikallerdir.
$RO\cdot, R\cdot, R-S\cdot$	Organik radikaller	Sırasıyla ROH, RH, RSH gibi yapıllı moleküllerden köken alırlar.
$RCOO\cdot$	Peroksil radikali	$LOO\cdot$ olarak da gösterilen örneğin lipit yıkımında oluşan organik peroksil radikali
HOCl	Hipokloröz asit	Zararlı mikroorganizmaları yıkan, nötrofil oksidatif patlama reaksiyonunda üretilir.
$O_2\uparrow\downarrow$	Singlet Oksijen	Yüksek oksijen basıncında UV ışını in vivo toksik etkisi yoktur.
NO	Nitrik Oksit	NO sentaz ile endojen iyonlarına bağlanır. $O_2$ ve diğer $O_2$ içeren radikallere farklı RNOS'lar üretir.
$ONOO\cdot$	Peroksinitrit	Serbest radikal olmayan RNOS, fakat güçlü okside ajan olarak, radikal olan $NO_2$ (nitrojen dioksit) oluşturabilir.

#### 2.3.1.4. Serbest Radikallerin Hasar Mekanizması

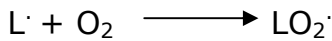
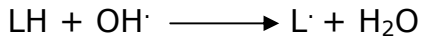
Serbest radikallerin oluşturduğu hücrel hasar oluşumunda özellikle üç tip reaksiyon önemlidir;

**a-)Lipit Peroksidasyonu:** Serbest radikallerin hücrede başlattığı en önemli ve zararlı etki lipit peroksidasyonudur. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile oksidasyonu lipit peroksidasyonu olarak tanımlanır (Girotti, 1998).

Lipid peroksidasyonu üç aşamada meydana gelir (Gutteridge, 1995).

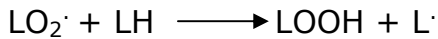
### 1. Başlangıç

Lipit peroksidasyonunun ilk basamağı, özellikle OH<sup>•</sup> radikali gibi bir serbest radikalin, doymamış yağ asidinin yan zincirindeki metilen karbonundan bir hidrojen atomu çıkarması ile başlar ve lipit radikalleri (L<sup>•</sup>) meydana gelir. Lipit radikalleri O<sub>2</sub> ile reaksiyona girerek, lipit peroksit radikallerini (LO<sub>2</sub><sup>•</sup>) meydana getirir (Gutteridge, 1995; Yarsan, 1998).



### 2. İlerleme

LO<sub>2</sub><sup>•</sup> çevredeki bir doymamış yağ asidinden, bir hidrojen atomu kopararak başka bir lipit radikali reaksiyonunu gerçekleştirir ve kendisi lipit hidroperokside indirgenir (Gutteridge, 1995; Yarsan, 1998).



### 3. Sonlanma

Lipit peroksidasyonu; 2. aşamada meydana gelen lipit hidroperoksitlerin, doymamış yağ asidi aldehytleri, alkanlar, epoksi yağ asitleri, hidroksi yağ asitleri gibi ürünlere yıkılması ile sonlanır (Yarsan, 1998).

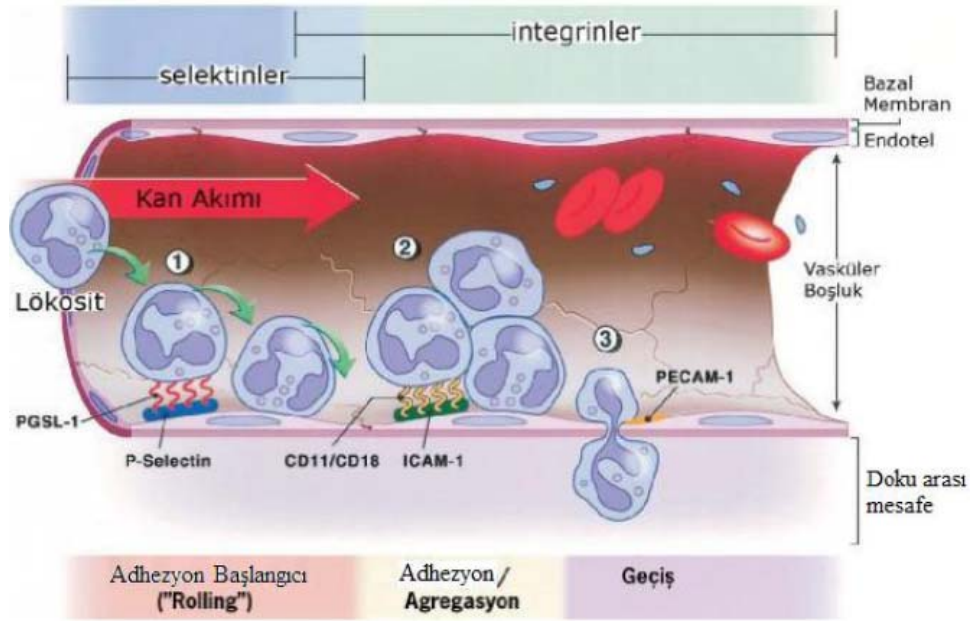
Lipit peroksidasyonu biyolojik membranlarda akıcılığın kaybına, membran potansiyelinde azalmaya, hidrojen ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğin artmasına ve sonuçta da hücre hasarına neden olur. Ayrıca lipit peroksidasyonunun ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA) ile hücre hasarını izlemek mümkündür (Girotti, 1998; Yarsan, 1998).

**b. Proteinlerin oksidatif modifikasyonu:** Serbest oksijen radikalleri, aminoasit yan zincirleri oksidasyonuna neden olarak protein-protein çapraz bağlarının oluşmasına ve protein yapısında, ana zinciri okside ederek proteinlerin parçalanmasına neden olurlar. Böylece hücrede fonksiyonel önemi olan enzimlerde bozulmalar ortaya çıkar (Berlett & Stadtman, 1997)

**c. DNA hasarı:** Serbest oksijen radikalleri, nükleer ve mitokondrial DNA'da timin ile tepkimeye girerek, tek zincir kırılmaları oluştururlar. Daha sonra hücrelerin enerji kaybederek, nekrotik tipte hücre ölümü meydana gelir (Cuzzocrea & Reiter, 2001).

### **2.3.2. Polimorfonükleer Lökosit (PMNL)**

Doku iskemisi sonrası, platelet, endotel ve diğer lökositlerden çıkan kemotaktik sinyaller ile nötrofil yuvarlanma, adezyon ve diapedez sürecini oluşturur. Dolaşımda serbest dolaşan nötrofiller aktive olduklarında, iskemik doku endoteline yapışarak, interstisyel alana geçerler. Bu süreçte; lökosit ve endotel hücreleri üzerindeki glikoproteinler, hareket eden kanın mikro dolaşıma olan kuvveti, lökosit ve endotel hücrelerinin birbirlerine olan elektrostatik itici kuvveti ve hücrelerce (endotel, lökosit, platelet) oluşturduğu SOR, NO, PAF gibi kimyasal maddeler görev almaktadır (Granger & Kubes, 1994). Bu PMNL (polimorfonükleer lökosit)'lerin göçü üç aşamada oluşur. PMNL'lerin aktivasyonu ve migrasyonu endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan ve selektinler olarak bilinen adezyon molekülleri aracılığıyla olur. Selektinlerin; L, P ve E selektin olmak üzere üç üyesi vardır. IR, ilk olarak, endoteldeki P-selektin ekspresyonunu arttırır (Şener & YEĞEN, 2009). Bu molekül, PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein 1 (PSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek, lökositlerin endotel yüzeyde yuvarlanmasını ("rolling") meydana getirir. İkinci aşamada, endoteldeki interselüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1) ile lökosit beta 2 integrinler olarak bilinen CD11a/CD18 ve CD11b/CD18 integrinler arasındaki etkileşim sonucunda lökosit adezyonu ve agregasyonu meydana gelir. Üçüncü aşama ise, trombosit-endotel hücresi adezyon molekülü 1 (PECAM-1) ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim sonucu lökosit transmigrasyonu oluşur. Aktive lökositler damar dışına ulaştıncaya hasar bölgesine doğru göç ederler ve kemotaksis meydana gelir (Eltzschig & Collard, 2004; González-Amaro, Diaz-González, & Sánchez-Madrid, 1998) (Şekil 2.4.).



**Şekil 2.4.** İ-R hasarı sırasında gerçekleşen lökosit-endothel adezyonu ve lökosit göçü (Eltzschig & Collard, 2004).

Aktive olan lökositlerin cevabı şu mekanizmalarca gerçekleştirilir;

- Fosfolipaz A2 aktivasyonu sonucu araşidonik asit metabolitleri olan prostaglandin ve lökotrienler üretilir.
- Degranülasyon meydana gelmesiyle lizozomal enzimler salınır.
- SOR üretimi gerçekleşir.

Bu ürünler endothel hasarı ve doku zedelenmesinin güçlü mediatörleridir. Bu mediatörler, başlangıçtaki inflamatuvar uyarının etkisini güçlendirir. Bazı durumlarda lizozomal enzimler hücre dışına salınabilir. İnflamatuvar cevap, hasar yapıcı etkeni ortadan kaldırmaya veya dilüe etmeye yöneliktir. Bunun sonucu olarak, mikrovasküler permeabilite artışı, ödem, tromboz ve parankim hücresi ölümü de gerçekleşir. Görevini tamamlayan lökositler apoptotik hücre ölümüne uğrarlar ve daha sonra lenfatik dolaşım ile ortamdaki uzaklaştırılırlar (Şener & Yeğen, 2009) .

### **2.3.3. Komplemanın rolü**

İskemi reperfüzyon (IR)' a bağlı olarak ortaya çıkan kompleman aktivasyonu, damarsal hemostazı etkileyen inflamatuvar aracı maddelerin oluşmasına neden olur (Eltzschig & Collard, 2004). Kompleman sistemi konağın savunmasında yer alır. Kompleman proteinleri inaktif halde ve

prekürsör zimojenler şeklinde bulunmaktadır. Komplemanın aktivasyonu ile inflamasyona sebep olan anafilotoksinler (C3a, C4a ve C5a) salınır (Carroll & Sim, 2011; Diepenhorst, van Gulik, & Hack, 2009). C3a, C4a ve C5a gibi anafilotoksinler diğer inflamatuvar hücrelerin aktive olarak toplanmasını sağlarlar. Vazoaktif aminler ve lizozomal enzimlerin salınmasında, ayrıca vasküler permeabilite artışı ve düz kas kontraksiyonunda rol oynarlar. C5a, nötrofil aktivasyonunu, kemotaksisin uyarılmasını ve serbest oksijen radikallerinin salınmasını sağlar. Buna ek olarak, C5a eozinofiller, bazofiller, monositler / makrofajlar ve mikroglial hücreleri için güçlü bir kemotaktik faktördür. C5a aynı zamanda kompleman sisteminin aktivasyonu sonrasında E-selektin, ICAM-1 ve VCAM-1 gibi vasküler adezyon moleküllerinin up-regülasyonundan sorumludur. C3a, eosinofiller ve mast hücrelerinin migrasyonunda aracılık eder. C5b ise C6, C7, C8 ve C9 ile etkileşime girerek C5b-9 kompleksini oluşturur (Arumugam vd., 2006). C5b-9 ve iC3b, endotel fonksiyon değişikliklerine sebep olurlar. C3b' nin parçalanması sonucunda, iC3b meydana gelir. Oluşan iC3b, lökosit CD11b/CD18 yüzey molekülü için endotel üzerinde bir adezyon alanı meydana getirir. C5b-9 ise; transkripsiyonel faktör Nükleer faktör kapp B (NF-κB) aktivasyonu aracılığıyla VCAM-1, ICAM-1, E selektin ve P selektin gibi adezyon moleküllerinin artmasına sebep olur. C5b-9 aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe eder ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltır, böylece vasküler tonusda bozulma olur (Collard, Lekowski, Jordan, Agah, & Stahl, 1999). Dolayısıyla İ-R'a bağlı gelişen kompleman sistem aktivasyonu, vasküler hemostaz değişikliklerini ve lökosit-endotel adezyon etkileşimini oluşturarak, doku iskemisinde artış meydana getirir (Eltzschig & Collard, 2004).

#### **2.3.4. Endotel hücresinin rolü**

Endotel hücreleri, kan damarlarının iç yüzeyini kaplar ve vasküler homeostazın temelini oluşturur. Endotel hücreleri iskemi ve reperfüzyonun zararlı etkilerine karşı duyarlıdır. Hipoksinin uzaması; membran potansiyelini değiştirir, iyonların dağılımını bozar, hücre içi volümü arttırır, membran akışkanlığını azaltır ve endotel hücrelerinin hücre iskeleti organizasyonunu bozar. Ayrıca; enerji depolarının tükenir, prostasiklin, nitrik oksit gibi biyoaktif ajanların üretiminde azalma olur ve endotelin, trombokan A2 gibi diğer ajanların üretiminde artma meydana gelir. Buna ek olarak, hipoksik endotel hücrelerinde adezyon molekülleri ve sitokinlerin indüklelendiği; eNOS ve trombomodulinin ise baskılandığı belirtilmiştir (Carden & Granger, 2000).

Reperfüzyon sonrası, serbest oksijen radikallerinin üretimi artar ve NO' in üretimi azalır (Grisham, Granger, & Lefler, 1998).

### **2.3.5. İskemi-Reperfüzyon hasarında inflamasyonun kimyasal araçları**

#### **2.3.5.1. Araşidonik asit (AA) metabolitleri (eikosanoidler; PG ve LT)**

İskeminin oluşmasıyla, sitozolik kalsiyum seviyesi artar, bu da fosfolipaz A2 yi aktive eder ve hücre membran fosfolipidlerinden araşidonik asit sentezini oluşturur. Araşidonik asit iki yol ile metabolize olur. Birincisi, siklooksijenaz (COX) yolu ile prostoglandinler (PG) ve tromboksan A2 (TXA2) oluşur. İkincisi, lipooksijenaz yoluyla lökotrienler (LT) oluşur. Araşidonik asidin 5-lipooksijenaz ile oksidasyonu sonucu 5 hidroperoksitetraenoik asit meydana gelir (Gubitosi-Klug, Talahalli, Du, Nadler, & Kern, 2008; Kumar vd., 2014).

Siklooksijenaz (COX): Burada PG E2, PG D2, PG F2, prostasiklin (PG I2) ve TxA2 bulunur. PG I2, güçlü bir trombosit agregasyon inhibitörü ve vazodilatördür. PG D2, COX yolunun mast hücrelerindeki ana metabolitidir. Çoğunlukla PG E2 ve PG F2 ile birlikte bulunurlar ve PG D2 vazodilatasyona neden olur, ödemi arttırır (Kumar, Abbas, Fausto, & Aster, 2009).

Lipooksijenaz: Nötrofillerde araşidonik asit metabolizması enzimi olarak, 5-lipooksijenaz bulunur. Araşidonik asidin 5-hidroperoksi ürünü olan, 5-hidroperoksieikosatetraenoik asit (5-HPETE) oldukça kararsızdır. 5-HPETE ya indirgenir (nötrofil için kemotaktiktir), ya da lökotrienlere dönüşür. 5-HPETE'den türeyen ilk lökotrien, LT-A4 dür. LT-A4' ten enzimatik reaksiyonlarla LT-B4 veya LT-C4 oluşur. Güçlü kemotaktik bir ajan olan, LT-B4 nötrofillerin agregasyonuna neden olur. LT-D4 ve LT-E4, LT-C4 alt ürünleridir. Bunlar vazokonstrüksiyon, bronkospazm ve vasküler permeabilite artış oluştururlar (Kumar vd., 2009).

Sonuç olarak, eikosanoidler akut inflamasyonda yer alırlar. Aspirin ve NSAID gibi güçlü anti inflamatuvar ajanların COX aktivitesini baskılaması, eikosanoidlerin iltihabi proseslerin merkezinde rol aldıklarını gösterir (Kumar vd., 2009).

#### **2.3.5.2. Platelet aktive edici faktör (PAF)**

Platelet aktive edici faktör, inflamasyonda güçlü bir biyolojik mediatördür ve IR hasarına önemli ölçüde etki eder. IR hasarı meydana geldiğinde, oksidatif stres koşulları altında, PAF nötrofiller ve monositler tarafından serbest bırakılır. IR hasarında PAF' ün; nötrofil aktivasyonuna, kemotaksise, vasküler geçirgenlikte değişikliklere ve trombosit aktivasyonuna etkisi olduğu belirtilmiştir (Morgan vd., 1999).



### 2.3.5.3. Sitokinler

Sitokinler, aktive olmuş lenfositler ve makrofajlar tarafından sentezlenen, ayrıca bağışıklık ve inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde rol oynayan polipeptit moleküllerdir. Kendi üretildikleri hücreleri (otokrin etki) ve yakın çevredeki hücreleri (parakrin etki) etkilerler. Ayrıca sistemik etkileri de (endokrin etki) mevcuttur. IL-1, TNF- $\alpha$  ve tümör nekroz faktör beta (TNF- $\beta$ ), interferon- $\gamma$  gibi bazı sitokinlerin inflamatuvar yanıtın oluşumunda rolleri vardır. Ayrıca bu sitokinler, sistemik akut-faz reaksiyonlarını stimüle eder (Güner, Özmen, & Bayındır, 1997; Kumar Vd., 2009).

### 2.3.6. Mikrodolaşım ("no reflow" fenomeni)

Mikrodolaşım (terminal vasküler yatak) arteriol ve venül arasında yer alan, koordineli bir etkileşimin gerçekleştiği damar kesimidir (Segal, 2005). İskemiden sonra reperfüzyon sağlandığında, lökosit aktivasyonu ve iltihabi cevap gelişir. Aktive olmuş lökositler mikrodolaşımında birikirler. Bu birikme kollaps ve tıkanıklığa sebep olur. Ayrıca interstisyel sıvı birikimi ve azalmış endotel bağımlı vazodilatasyonda bu duruma katkıda bulunur. Bu durum "no reflow" fenomeni olarak adlandırılır (Reffelmann, Hale, Dow & Kloner, 2003; Rezkalla & Kloner, 2002).

Hayvan deneylerine bakıldığında "no-reflow" alanlarında mikrovasküler yatakta lökosit sayısında artış meydana geldiği gözlenmiştir. Lökosit-endotel adezyonu, endotelde şişme ve daha fazla lökosit adezyonuyla sonuçlanır. Ayrıca bu tıkanmada, endotel hücrelerinin trombositler ve miyositler ile etkileşimleri de söz konusudur. Lökosit-platelet adezyonunda ise plateletler subendotel alanda birikirler ve endotel ayrılmasına neden olurlar. Bu yapışmış plateletler, selektin ve integrinler aracılığı ile, daha fazla lökositin plateletlere yapışmasını sağlarlar (Boztosun, Güneş, & Kıрма, 2006; Kuijper vd., 1996).

## 2.4. İR'a Bağlı Gelişen Uzak Organ Hasarı

Doku reperfüzyonu sonucu, başlangıçtaki iskemik hasara katılmayan organlarda da hasar gelişerek, multipl organ disfonksiyon sendromu (MODS) oluşur (Teke vd., 2008).

Multipl organ disfonksiyon sendromunda oluşan sistemik inflamasyon hemen hemen her organda hasar oluşturur. Fakat ilk oluşan akciğer yetmezliğidir. MODS' a bağlı oluşan akciğer hasarı; akut akciğer hasarı olan hafif disfonksiyondan, ağır solunum yetmezliği veya akut solunumsal distres sendromuna (ARDS) kadar değişen klinik tabloya sahiptir. MODS' a bağlı oluşan akciğer hasarını, mikrovasküler geçirgenlik artışının ve alveol sıvısı

nötrofil birikiminin oluşturduğu düşünülmektedir. MODS' a bağlı oluşan hasar sadece akciğerlerde değil, aynı zamanda karaciğer, böbrek, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve miyokardta da hasar oluşturabilir (Carden & Granger, 2000; Teke vd., 2008).

İR' a bağlı uzak organ disfonksiyonunu açıklayacak birkaç mekanizma düşünülmektedir:

1. Ksantin Oksidaz
2. Lökositler
3. İnflamatuar Mediyatörler

**1. Ksantin oksidaz:** Ksantin oksidaz, İR'a bağlı uzak organ hasarına katkıda bulunan önemli bir faktördür. Ksantin oksidaz (XO), süperoksit ve hidrojen peroksit üretiminde önemli rol oynar. İskemi reperfüzyon modellerinde, plazmadaki XO artışı ile uzak organ hasarı arasında korelasyon bulunmuştur. XO enzim aktivitesinin artmasıyla birlikte, vasküler sistemin tümünde SOR maruziyeti ve yaygın endotel aktivasyonu meydana gelir. Ayrıca XO, endotel hücre yüzeyi glikozaminoglikanlarına bağlanarak hücre yüzeyinde yoğunlaşır. Bu da sitotoksik etki oluşturur (Carden & Granger 2000; Teke vd., 2008).

**2. Lökositler:** Nötrofiller,  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  üreterek,  $H_2O_2$  ve klorür iyonlarından hipoklorik asit oluşumunu katalizleyen myeloperoksidazı salgırlar. Aktive olmuş nötrofiller, endoteliyal bazal membran bileşenlerini ve endoteliyal bariyer fonksiyonunu sürdüren bileşke proteinlerini parçalayabilen güçlü proteazların üretiminde rol oynar. İskemik dokuda biriken aktif lökositler, reperfüzyon periyoduyla birlikte sistemik dolaşıma geçerler ve uzak organ hasarında rol oynarlar (Carden & Granger, 2000; Teke vd., 2008).

**3. İnflamatuar Mediyatörler:** Dokular iskemi sonrasında, dolaşan nötrofilleri aktive edebilen inflammatuar mediyatörler üretir. Bir dokuda oluşan İR, inflammatuar araçların sistemik düzeylerinin artmasına ve lökosit-endotel-trombosit etkileşimine neden olarak, uzak organ vasküler disfonksiyonunu oluşturur (Carden & Granger, 2000; Teke vd., 2008).

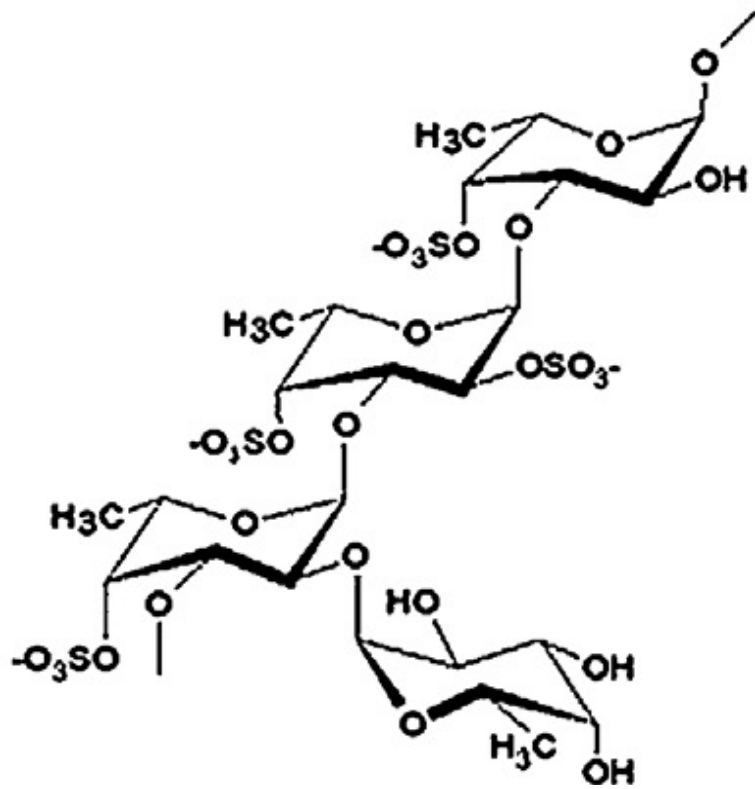
## 2.5. Fukoidin

### 2.5.1. Yapısı

Fukoidinler, L-fukoz ve sülfat ester gruplarını önemli oranlarda içeren polisakkarit yapısındaki bileşiklerdir. Kahverengi deniz yosununda, ayrıca deniz kestanesi ve deniz salatalığı gibi bazı deniz omurgasız bileşenlerinde

bulunmaktadır. Bu polisakkarit ilk olarak 1913 yılında Kylin tarafından deniz kahverengi alglerinden izole edildiğinde "Fukoidin" olarak adlandırıldı. Günümüzde IUPAC kurallarına göre "Fukoidan" olarak adlandırılır, ama bazıları da Fukan, fukosan ya da sülfatlı fukan olarak adlandırmaktadır (Bilan vd., 2002; Chizhov vd., 1999; Li, Lu, Wei & Zhao, 2008).

Kylin ilk olarak 1913 de fukoidini izole ettiğinden beri, farklı kahverengi deniz yosunlarında gelen fukoidinlerin yapıları araştırıldı. Kahverengi deniz yosunlarının çeşitli türlerinden oluşan fukoidinler, örneğin temelde fukoz ve sülfatın oluşturduğu *Fucus vesiculosus* gibi basit kimyasal bileşimleri vardır. Fakat çoğu fukoidinlerin kimyasal bileşimleri karmaşıktır. Bunlar fukoz ve sülfatın yanı sıra, aynı zamanda diğer monosakaritler (mannoz, galaktoz, glukoz, ksiloz, vb) ve üronik asitler, hatta asetil grupları ve protein içerir ( Li vd., 2008).



**Şekil 2.5.** Fukoidinin kimyasal yapısı (Senthilkumar, Manivasagan, Venkatesan, & Kim, 2013).

## **2.5.2. Fukoidin'in Biyolojik Etkileri**

### *2.5.2.1. Antikoagülan etkisi*

Fukoidinin en çok çalışılan özelliği antikoagülan aktivitesidir. Birçok araştırma fukoidinin antikoagülan aktivitesinin sülfat içeriğine, pozisyonuna, molekül ağırlığı ve şeker kompozisyonu ile ilgili olabileceğini göstermiştir. Yüksek sülfat içeriği, fukoidinin yüksek antikoagülan aktivitesini gösterir. Qiu ve arkadaşları aşırı sülfatlanmış fukoidinin, normal insan sitrat plazmasında ki protothrombin süresini iki katına ve pıhtılaşma önleyici aktivitesini ise dört katına çıkardığını bildirmiştir (Sinurat & Marraskuranto, 2013; Qiu, Amarasekara & Doctor, 2006).

### *2.5.2.2. Antiinflamatuvar etkisi*

Fukoidin potansiyel olarak pleiotropik anti-enflamatuar etkiler de bulunur. Bu etkiyi; selektinleri, komplemanları ve enzim aktivesini inhibe ederek meydana getirir (Fitton, 2011).

Fukoidin, her ikisi de sülfatlanmış oligosakaritler ile etkileşime giren L-veya P-Selektin için bir ligand olarak görev yapar. Fukoidin P ve L selektini önleyerek, lökosit adezyonunu inhibe eder. Böylece kalp, karaciğer, böbrek gibi bütün organlarda inflamasyonu azaltır (Berteau & Mulloy, 2003; Fitton, 2011).

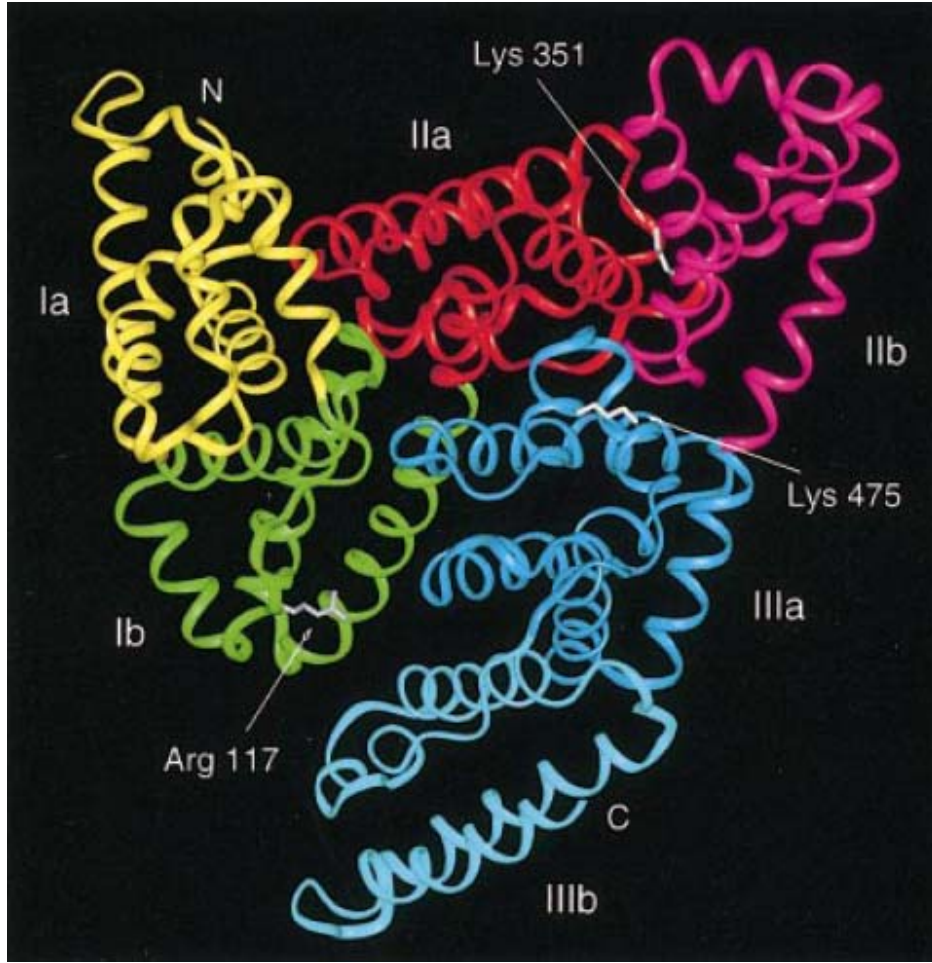
Kompleman sistemi; patojenlerin temizlenmesine ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesine yardım eden proteinlerden meydana gelen bir kaskat sistemidir. Kompleman sistemi; C1' den C9' a kadar subünitleriyle birlikte, yaklaşık olarak 30 tane proteinden meydana gelir. C1 ve C4 spesifik antikor oluşturmaya karşı, C3 ve C5 lökositlerin kemotaksisini sağlar. Fukoidin klasik C3 konvertazın oluşumunu engelleyebilmektedir. Bu pro-enflamatuar anaflatoxinlerin üretimini engelleyebilir (Fitton, 2011).

### *2.5.2.3. Antioksidan etkisi*

Birçok çalışma fukoidinin antioksidan etkisi olduğunu göstermektedir. Fukoidin, doğal bir antioksidandır ve serbest radikal aracılı hastalıkların önlenmesi için büyük bir potansiyele sahiptir. Antioksidan aktivitesi, fukoidinin molekül ağırlığı ve sülfat içeriği ile ilgilidir (Li vd., 2008). Fukoidin, süperoksit radikalleri ve hipoklorik asit üzerinde süpürücü etkiye sahiptir (Sinurat & Marraskuranto, 2013).

## 2.6. İskemi Modifiye Albümin (İMA)

İnsan serum albumini, kanda en fazla bulunan proteindir. Plazma proteinlerinin %60'ını oluşturur ve karaciğerde sentezlenir. Serum albumin konsantrasyonu 3.5-5.3 gr/dL dir. İnsan serum albumini 585 amino asitlik primer zincirden meydana gelmiştir. 17 disülfid köprüsü ve bir serbest sistein amino asidi içermektedir (Sugio, Kashima, Mochizuki, Noda & Kobayashi, 1999).



**Şekil 2.6.** İnsan serum albuminin şematik yapısı (Sugio vd., 1999)

Albüminin yapısındaki son aminoasit terminalinin, bakır, nikel, kobalt gibi ağır metalleri bağlama kapasitesi vardır. İskemi durumunda meydana gelen; hipoksi, asidoz ve serbest radikal hasarı bu metallerin albüminin N-terminaline bağlanmalarını azaltır. Akut iskemik durumlarda, albüminin N-terminal bölgesinde metal bağlama kapasitesi azalır ve "iskemi modifiye

albumin" IMA oluşur (Christenson vd., 2001; Karagöl, Karagöl, Kıyıcı & Keleş, 2012).

Bakır ve demir fizyolojik olarak kanda bol miktarda bulunur. Bu moleküller; dolaşımında transferrin, albumin, seruloplazmin gibi taşıyıcılarına bağlı olarak ya da intrasellüler ortamda bulunurlar. Vücutta herhangi bir bölgede iskemi başlamasından kısa bir süre sonra serbest bakır ve demir konsantrasyonları artar. Bu artışın nedeni, taşıma proteinlerine bağlı olan bakır ve demirlerin bağlandıkları proteinlerden veya intrasellüler ortamdan dolaşıma salınmasıdır (Chevion vd., 1993).

## **2.7. Kitotriozidaz (CHIT)**

Kitin,  $\beta$ -1,4 bağlı N-asetilglukozamin polimeridir. Dünyada selülozdan sonra en fazla bulunan polisakariddir. Kitin, birçok canlı türünün kabuğunda, birçok böceğin sindirim kanalının duvarında yapısal eleman olarak yer almaktadır (Elias, Homer, Hamid & Lee, 2005; Renkema, Boot, Muijsers, Donker-Koopman & Aerts, 1995).

İnsan vücudunda yapısal eleman olarak kitin bulunmaz. Ayrıca insan vücudunun, kitini sentez veya metabolize ettiğine dair herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Bundan dolayı, kitinaz enziminin de bulunmaması beklenir, fakat insan genomunda kitinaz ve benzeri proteinleri kodlayan GH18 ailesine ait 8 adet gen tesbit edilmiştir (Funkhouser & Aronson, 2007; Fusetti vd., 2002). Hollak ve ark. 1994 yılında semptomatik Gaucher hastalarının plazmalarında 100 ile 1000 kat arasında kitinaz aktivitesinin arttığını saptamışlardır. Bu kitinaza , "kitotriozidaz" (CHIT) adını vermişlerdir (Hollak, Van Weely, Van Oers & Aerts, 1994).

Kitotriozidaz ise, N-asetil-D-glukozaminin dallanmamış polimeri kitini parçalayabilen bir grup enzim olan memeli kitinaz ailesinin bir üyesidir. Selektif olarak aktiflenmiş makrofaj ve nötrofillerden salgılanır (Madazlı, Kucur, Gezer, Isman & Bulut, 2008).

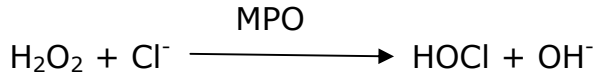
Kitotriozidazın fizyolojik fonksiyonu tam olarak açıklanamamasına rağmen, son bulgular immün yanıt ve inflamatuvar süreçle ilgili mekanizmalarla ilgili olduğunu ve kitin içeren patojenlere karşı konakçı savunmasında yer aldığını belirtmektedir (Michelakakis, Dimitriou & Labadaridis, 2004). CHIT enzimi, özel uyarılara cevap olarak, aktiflenmiş makrofajlardan ve nötrofillerden (fagositlerden) salınır. İnsan aktive olmamış monosit ve lenfositlerinde belirgin sentez ve sekresyonu bulunmamaktadır (Boot vd., 1999).

Yapılan çalışmalarda; IL-10'un immün yanıt olarak aktive olmuş makrofajlarda CHIT gen ekspresyonunu suprese ettiği, fakat interferon gama (IFN- $\gamma$ ) ve TNF- $\alpha$ 'nın CHIT gen ekspresyonunu arttırdığı belirtilmiştir (Isman, Hobert, Thompson & Natowicz, 2008).

## 2.8. Myeloperoksidaz (MPO)

MPO insan polimorfonükleer lökositlerinde bol miktarda bulunmaktadır. MPO polimorfonükleer lökositlerin ve monositlerin euzonofil granüllerinde depolanır. MPO sentezleme yeteneğini kaybetmiş makrofajlar içinde, MPO ya tek başına ya da nötrofillerin endositozu ile hücre içerisine alınırlar. Hücre aktivasyonu ve degranülasyonunun sırasında, MPO fagositik vakuol içine salınabilmesinin yanı sıra ekstrasellüler alana da salınabilir (Lau & Baldus, 2006).

Nötrofillerin aktive olması;  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  ve  $OH^-$  salınımını oluşturur. Nötrofillerdeki myeloperoksidaz enziminin etkisiyle hidrojen peroksit klorlanarak hipokloröz asiti meydana getirir. Ayrıca nötrofil sitoplazmasındaki granüllerde elastaz, kollajenaz ve katepsin gibi bulunan proteaz yapısındaki enzimler de doku hasarının meydana gelmesinde katkı sağlarlar (Arumugam, Shiels, Woodruff, Granger & Taylor, 2004; Hampton, Kettle & Winterbourn, 1998; Karmeli, Okon & Rachmilewitz, 1996).



## 2.9. Malondialdehit (MDA)

Biyolojik moleküllerin hepsi serbest radikaller tarafından etkilenirler. Fakat lipitler serbest radikal hasarından en fazla etkilenen biyomoleküllerdir. Hücre membranında bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle tepkimeye girer ve peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin ve kolesterolün, Serbest oksijen radikalleri aracılığıyla oksidatif hasarlanmasına lipit peroksidasyonu denilmektedir. Hücre membran hasarının önemli bir nedenidir ve membran geçirgenliğini etkileyerek hücre içinde aşırı  $Ca^{+2}$  birikimine neden olur. Hücre membranı disfonksiyonunda, hücre şişmesi ve hücre ölümü meydana gelir.

Lipit peroksidasyonu üç basamakta oluşmaktadır.

- Birinci basamakta; serbest radikalın çoklu doymamış yağ asitlerinin metil grubuna saldırısı ile lipit molekülündeki alkilik hidrojen kopartılır ve alkil

radikali oluşur. Alkil radikali de  $O_2$ 'le tepkimeye girer ve  $OH^\cdot$  radikali oluşturur.

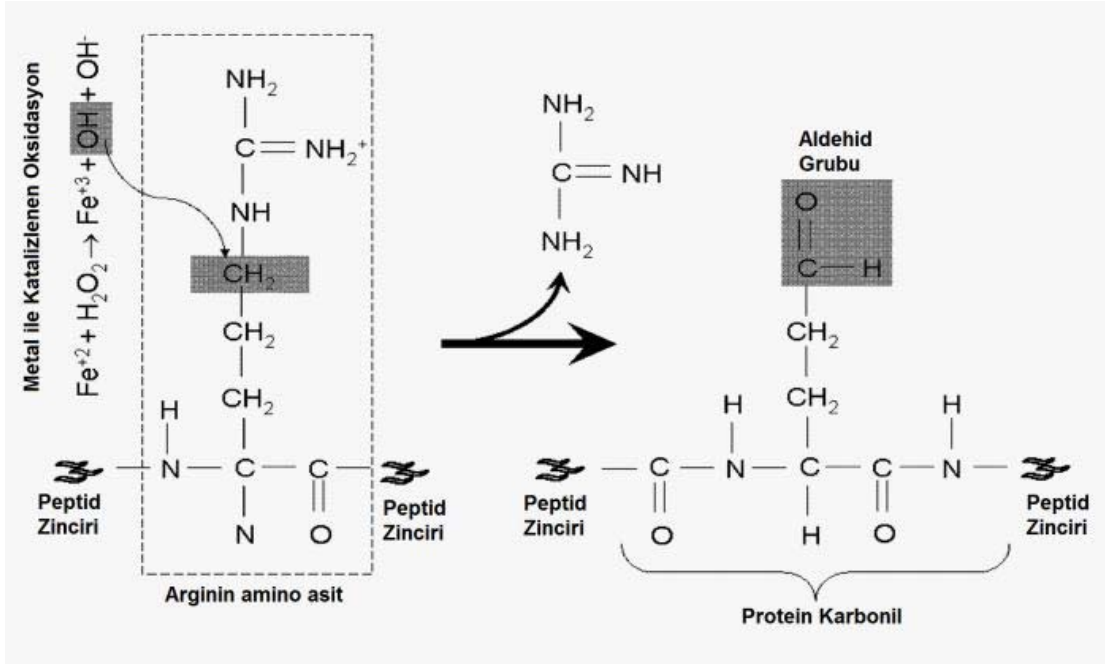
- İkinci aşamada; radikal membran lipitleri moleküler  $O_2$ 'le reaksiyona girer ve lipit peroksit radikalleri oluşur. Lipit peroksit radikalleri hücre membranının da bulunan çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek, yeni lipit radikallerini oluşturur ve kendileri de açığa çıkan H atomlarını alarak lipit peroksitlerine dönüşmektedir.

- Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona ermektedir. Bu ürünlerden biri olan malondialdehit (MDA) Malondialdehit, lipid peroksidasyonunda bir son üründür ve oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılır (Cui, Luo, Xu & Ven Murthy, 2004; Kaklıkkaya vd., 2010).

## **2.10. Protein karbonil / Protein Sülfidril (PCO/P-SH)**

Protein karbonil, protein oksidasyonunun en iyi göstergesidir. Demir ve bakır gibi kolay indirgenen ve oksitlenen iyonlar proteinlerde katyon bağlayıcı bölgelere bağlanıp, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ) ile reaksiyon verebilirler. Bu reaksiyon sonucunda lizin, arginin, prolin ve histidin gibi aminoasitlerin amin yan zincirleri karbonillere dönüşür (Şekil 2.7.). SOR'lerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi çok sayıda aminoasitlerin amin yan zincirleri karbonillere dönüşür ve PCO ürünleri meydana gelir (Aslan, Cort & Yucel, 2008).





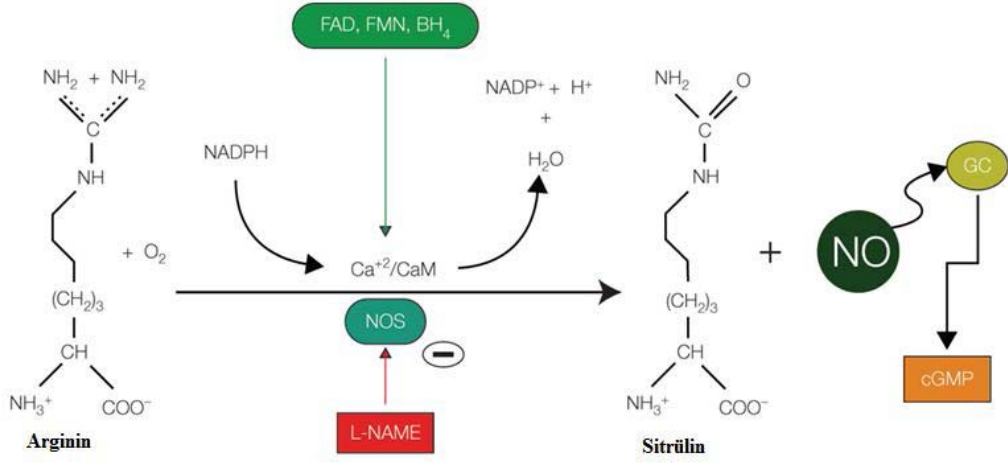
**Şekil 2.7.** Proteinlerin karbonilasyonu (Aslan vd., 2008)

Oksidatif protein hasarı, protein karbonil düzeylerindeki artış ve protein tiyol düzeylerindeki azalma ile karakterizedir. Ayrıca serbest radikaller proteinlerdeki tiyol gruplarının oksidasyonuna yol açarak oksidatif protein hasarı meydana getirirler. Protein tiyoller (P-SH) peroksidasyonu başlatan oksidanları tutarak, antioksidan fonksiyonlarını gösterir. Protein SH grupları oksidasyon zincirini kırma özelliğine sahip olan önemli antioksidanlardır (Köken, Kahraman, Serteser & Gökçe, 2004; Levine, 2002; Stadtman & Levine, 2003).

## 2.11. Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit, biyolojik membranlardan kolayca difüze olabilen hem otokrin hem de parakrin özellikte haberci bir moleküldür. Nitrik oksit, antitrombotik, antiproliferatif ve antioksidan özellikte biyolojik etki gösterir. NO renksiz bir gazdır ve yüksek konsantrasyonlarda oksijensiz ortamda suda erime gösterir. Ancak düşük konsantrasyonlarda oksijen varlığında bile stabildir (Jobgen, Fried, Fu, Meininger, & Wu, 2006; Türköz & Özerol, 1997).

Nitrik oksit, NOS enziminin katalizlediği reaksiyonla, fizyolojik pH'da bazik bir amino asit olan L- argininden meydana gelir (Şekil 2.8.) Nitrik oksit sentaz (NOS) çok kompleks bir enzimdir. Nitrik oksit sentaz, plazma membranı, sitoplazma, nükleus, endoplazmik retikulum ve mitokondri hücrelerinde bulunabilir (Freire, Guimarães, Leal, & Pereira, 2009; Jobgen vd., 2006).



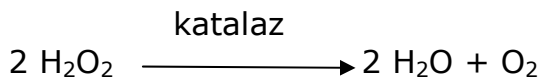
**Şekil 2.8.** Nitrik Oksit Sentezi (Freire vd., 2009)

NADPH; Nikotinamid adenin dinükleotid, BH<sub>4</sub>; fosfat tetrahidrobiopterin, FMN ; flavin mononükleotid, FAD; flavin adenin dinükleotid, L-NAME; N-omega-nitro-L-arginin metil ester, Ca<sup>2+</sup>/CaM; Kalsiyum/kalmodulin, cGMP; siklik guanozin monofosfat, GC;guanilat siklaz

Endojen vazodilatör olan endotel kaynaklı nitrik oksit etkisini çözünür guanilat siklazın uyarılması ile cGMP oluşturarak göstermektedir. NO kan akımının damarlara yaptığı mekanik kuvvet sonucu endotelden salınır. Norepinefrin, endotelin, anjiotensin II, ve serotoninin gib, vazokonstriktör mevcuttur. NO' in salınması bu etkilere karşı koyar. NO, kan basıncının düzenlenmesi, savunma mekanizmaları, düz kas gevşemesi, immun düzenlemede rol oynar ve yapısında eşlenmemiş elektron bulundurmasından dolayı bir radikaldir. Nitrik oksitin süperoksit anyonu ile reaksiyonu sonucunda peroksinitrit anyonu (ONOO<sup>-</sup>) meydana gelir. Peroksinitrit anyonu, oksidatif olarak çok daha fazla aktif olan, DNA'nın kırılmasına ve lipid oksidasyonuna neden olan güçlü bir oksidandır (Valko vd., 2007)

## 2.12. Katalaz (CAT)

Katalaz peroksizomlarda çok miktarda bulunmasına rağmen, sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda az miktarda bulunur. Katalaz enzimi hidrojen peroksiti, su ve oksijene çevirir. Böylece OH<sup>-</sup> iyonu oluşmasına neden olan, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in ortadan kalkmasını sağlar (Rodriguez vd., 2004).



Yüksek turnover hızına sahip bir enzim olan, bir molekül katalaz bir dakikada ~6 milyon molekül H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i oksijen ve suya dönüştürebilir (Valko, Rhodes, Moncol, Izakovic, & Mazur, 2006).

Hem içeren temel enzimlerden biri olan katalaz, hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene katalizlendiği yer olan peroksizomlarda bulunur. Katalazın antioksidan olarak işve görür. Bunlardan biri; Cu ve Fe iyonları tarafından katalizlenen Fenton reaksiyonu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' ten OH<sup>-</sup> radikali oluşma riskini azaltmaktır (Nordberg & Arner, 2001).

### **3. MATERYAL METOD**

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 30.01.2014 tarih ve 377 kayıt numaralı onayı alındıktan sonra çalışmaya başlandı. Deney hayvanları, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (TİCAM) temin edildi. Ortalama ağırlıkları 200-250 g olan 40 adet Wistar cinsi, erkek sıçan randomize olarak eşit sayıda (n = 8) 5 gruba ayrıldı. Sıçanlar deney süresince 12'şer saatlik aydınlık-karanlık ışıklandırması olan ısı 20-22 °C ve nemi %45-%50 otomatik olarak ayarlanan odalarda yaşatıldı. Bu süreçte tüm sıçanlar şeffaf kafeslerde tutuldu, standart sıçan yemi ile beslendi ve çeşme suyu verildi.

#### **3.1. Deneklerin Hazırlanması, Cerrahi İşlem ve Operasyon Protokolü**

Deneyde kullanılacak tüm sıçanlar, uygulanacak cerrahi işlemler öncesinde tartılarak vücut ağırlıkları kaydedildi. Tüm sıçanlara intraperitoneal olarak 50mg/kg thiopental sodyum anestezisi altında opere edildi. Operasyon öncesi karın ve boyun cildi tüyleri epilasyonla uzaklaştırıldı. Sağ juguler ven ilaç uygulamaları için 16 gauge' lik intraket ile kataterize edildi. Sıçanlar ısıtıcı lamba altında supin pozisyonda masaya yatırıldı. Orta hat median laparotomi yapıldı. Abdominal aortayı ortaya çıkarmak için posterior periton kesildi. Laparotomi sonrası barsaklar nemli gazlı bez yardımı ile devriye edildi. Sıvı resüsitasyonu amacıyla peritoneal boşluğa yaklaşık 10 ml serum fizyolojik enjekte edildi. İnfrarenal abdominal aorta künt diseksiyonla explore edildi. İnfrarenal abdominal aortaya atravmatik mikrovasküler klemp kondu. (clamping pressure 10-15 grams; Vascu-Stat®, Scanlan International, Minnesota, U.S.A.) Isı ve sıvı kaybını en aza indirmek amacıyla batın ipek dikiş ile yaklaştırıldı. 120 dakikalık iskemiye takiben 120 dakika reperfüzyon periyodu uygulandı.

**Tablo 3.1.** Deney grupları ve gruplardaki sıçanlara yapılan cerrahi uygulamalar

Grup 1 (Sham)	Sadece laparotomi uygulandı.
Grup 2 (Kontrol)	Laparotomi ve infrarenal aortik iskemi reperfüzyon (AİR) uygulandı. ( 120 dakika iskemi ardından 120 dakika reperfüzyon)
Grup 3 (AİR + İskemi öncesi fukoidin)	Laparotomi ve AİR uygulandı. Ayrıca ratlara iskemiden 10 dak. önce (klemp kapatılmadan önce) juguler venden 25 mg/kg fukoidin verildi. ( 120 dakika iskemi ardından 120 dakika reperfüzyon)
Grup 4 (AİR + Reperfüzyon öncesi fukoidin)	Laparotomi ve AİR uygulandı. Ayrıca ratlara reperfüzyondan 10 dak. önce (klemp açılmadan önce) juguler venden 25 mg/kg fukoidin verildi. ( 120 dakika iskemi ardından 120 dakika reperfüzyon)
Grup 5 (AİR + Hem iskemi öncesi, hem de reperfüzyon öncesi fukoidin)	Laparotomi ve AİR uygulandı. Ayrıca ratlara iskemiden 10 dak. önce 12,5 mg/kg ve reperfüzyondan 10 dak. önce 12,5 mg/kg olmak üzere juguler venden toplam 25 mg/kg fukoidin verildi. ( 120 dakika iskemi ardından 120 dakika reperfüzyon)

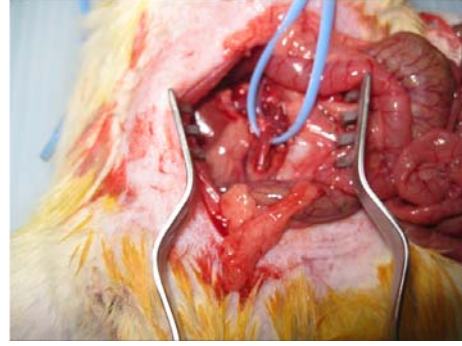
İşlemlerden sonra tüm hayvanlardan kan, böbrek ve akciğer dokuları alınarak sakrifiye edildi. Kanlar serum için jelli tüpe ve plazma eldesi içinde EDTA' lı tüplere alınarak 3500 rpm' de 10 dakika santrifüj edildiler (Jouan MR 22). Üstte kalan berrak renkte ayrılan serum ve plazma örnekleri eppendorf tüpe alındı. Ayrılan serum örneklerinin bir kısmı bekletilmeden, aynı gün içinde İMA, BUN ve kreatinin çalışıldı. Diğer serum ve plazma örnekleri ölçüm zamanına kadar -80° C'de derin dondurucuda (Jouan VX350 series Thermo Electron) saklandı.

Alınan böbrek ve akciğer doku örneklerinin bir kısmı serum fizyolojik ile muamele edildikten sonra eppendorf tüplere alınarak ölçüm zamanına kadar -80° C'de derin dondurucuda (Jouan VX350 series Thermo Electron) saklandı. Dokuların diğer kısmı histolojik çalışmalar için nötral formalin ile fikse edildi.



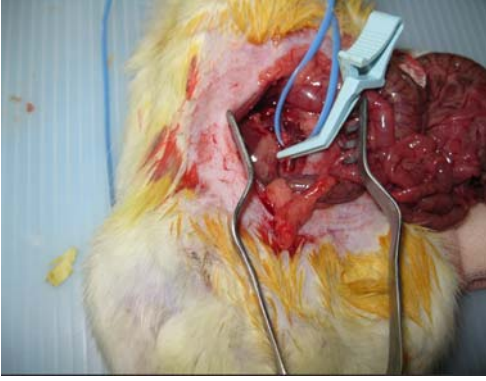
Fotoğraf 1

(juguler vene intraket takılması)



Fotoğraf 2

(Abdominal aort diseksiyonu yapılması)



Fotoğraf 3

(Abdominal aortun klemplenmesi)



Fotoğraf 4

(Akciğer ve böbreklerin çıkarılması)



Fotoğraf 5

(Akciğer ve böbreklerin uygun olarak ayrılması)

## 3.2. Biyokimyasal Ölçümler

### 3.2.1. Serum BUN ölçümü

#### Ölçüm prensibi:

Üre üreaz tarafından hidrolize edilir. Bu reaksiyonda hidrolize edilen her mol üre için iki mol NADH, NAD<sup>+</sup> 'ya yükseltgenir. NADH konsantrasyonunda azalma hızı örnek içindeki üre konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak Roche Modular Systems Analizörü ile ölçüldü.

### 3.2.2. Serum Kreatinin ölçümü

#### Ölçüm prensibi:

Kreatinin, alkali ortamda pikrik asitle portakal sarısı bir kompleks oluşturur. Meydana gelen rengin şiddeti kreatinin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve kolorimetrik olarak Roche Modular Systems Analizörü ile ölçüldü.

### 3.2.3. Serum İskemi Modifiye Albumin (İMA) ölçümü

#### Ölçüm prensibi:

İskemi modifiye albumin (İMA) tespiti; albümine kobaltın azalan bağlanma kapasitesi, Bar-or ve ark. tarafından geliştirilen hızlı ve kolorimetrik tayin yöntemi ile değerlendirildi (Bar-Or, Lau & Winkler, 2000). Albumin Kobalt Bağlama Testi; albuminin kurşun, nikel, kobalt gibi metallerin taşınmasında görevli olan NH<sub>2</sub> terminalinde, iskeminin indüklediği asidoz, extrasellüler hipoksi, serbest radikal hasarı ve Na-K pompası disfonksiyonu sonucu meydana gelen endotelial hasarın, albumin kobalt bağlanmasını azaltması esasına dayanır.

#### Kullanılan çözeltiler:

1. Kobalt II Klorür (CoCl<sub>2</sub>) 6H<sub>2</sub>O Çözeltisi (1g/l)
2. Dithiothreitol (DTT) Çözeltisi (1,5 g/l)
3. İzotonik NaCl Çözeltisi (9.0 g/l)

#### Deney prosedürü:

▪ 200 µL sıçan serumları cam tüplere alındı ve üzerlerine % 0.1'lik 50 µL CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O eklendi. Daha sonra yeterli kobalt albumin bağlanması sağlanması amacıyla 10 dakika beklendi.



- Renklendirici ajan olarak 50 µL 1.5 mg/mL'lik Dithiothreitol (DTT) eklendi ve 2 dakika beklendi.
- Kobalt ve albumin arasında meydana gelen bağlanmayı durdurmak amacıyla 1 mL % 0.9'luk NaCl eklenerek reaksiyon durduruldu.
- Her bir numune için numune körü yapıldı. DTT eklenen aşamada, 50 µL 1.5 mg/mL'lik Dithiothreitol (DTT) yerine 50 µL distile su konarak DTT' siz serum kobalt körü hazırlandı.
- Numune absorbansları spektrofotometrede 470 nm ölçüldü.
- DTT'li örneklerdeki renk oluşumu kör tüplerindeki renk oluşumuyla karşılaştırılarak sonuçlar absorbans ünitesi (ABSU) cinsinden rapor edildi.

### **3.2.4. Plazma Protein Karbonil (PCO) grupları tayini**

#### **Ölçüm prensibi:**

Plazma protein karbonil grupları Levine ve arkadaşlarının modifiye spektrofotometrik metoduna göre çalışıldı (Levine, 2002). Bu metod, 2,4-dinitrofenilhidrazin ile proteinlerin karbonil gruplarının reaksiyonu sonucu renkli bir hidrazon oluşması ve oluşan bu hidrazonun absorbansı 360 nm dalga boyunda okutulması prensibine dayanır.

#### **Kullanılan çözeltiler:**

1. DNP (10 Mm)
2. HCl (2 N)
3. Trikloroasetikasit (TCA) (%10, %20)
4. NaOH(1 M)

#### **Deney prosedürü:**

- 500 µl plazma 500 µl %20' lik TCA ile karıştırıldı. 4000 rpm' de 15 dakika santrifüj edilip süpernatant döküldü.
- Pellet, 500 µl DNP (2N HCl içinde çözülmüş) ile karıştırılıp, 1 saat karanlıkta, oda ısısında bekletildi. Her 10 dk da bir vortelenerek peletin DNP ile muamelesi sağlandı.
- Daha sonra 500 µl %20'lik TCA ile karıştırılıp 2-3 dk oda ısısında bekletildi. 4000 rpm'de 3 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant döküldü ve aynı işlem % 10'luk TCA ile üç kez tekrarlandı.
- Presipitant 2 ml 1 M NaOH içinde 37°C de 30 dk bekletilerek çözüldü. Numunenin absorbansı NaOH körüne karşı 360 nm dalga boyunda okutuldu.
- Sonuçlar µmol/L olarak verildi.

### **3.2.5. Plazma Total Protein Sülfidril (P-SH) grupları tayini**

#### **Ölçüm prensibi:**

Plazma -SH grupları Koster ve ark. spektrofotometrik metoduna göre belirlendi (Koster, Biemond & Swaak, 1986). Protein -SH grupları, 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) tarafından indirgenir ve disülfid bağı oluşturularak bir kromofor ( 5-merkapto-2-nitrobenzoik asit) açığa çıkarılır. Oluşan kromoforun absorbansı 412 nm dalga boyunda okunmaktadır.

#### **Kullanılan çözeltiler:**

1. DTNB (2 mM)
2. Potasyum fosfat tamponu (0,1 M pH 7,4)
3. Sodyum sitrat (%1)

#### **Deney prosedürü:**

- 10 µl plazma alındı ve üzerine 150 µl potasyum fosfat tamponu eklendi,
- 40 µl DTNP (%1 lik sodyum sitrat içinde) ilave edildikten sonra 5 dk 37°C de bekletildi.
- Numunenin absorbansı 412 nm dalga boyunda reaktif körüne karşı okundu.
- Glutasyon ile kalibrasyon grafiği çizilerek SH konsantrasyonları belirlendi.
- Sonuçlar µmol/L olarak verildi.

### **3.2.6. Plazma Kitotirozidaz (CHIT) aktivitesinin ölçümü**

#### **Ölçüm prensibi:**

Plazma kitotriozidaz enzim aktivitesi ölçüm yöntemi, Hollak ve arkadaşlarının florometrik yönteminden çalışıldı (Hollak vd., 1994). Bu yöntemde, sentetik kitinaz substratı olan 4-metilumbeliferil-β-D'N,N'N'' triasetilkitotriozun hidrolizi sonucu oluşan 4-metilumbelliferonun alkali ortamda verdiği floresansın şiddeti florometrede ölçülür. Floresans şiddeti, plazma kitotriozidaz aktivitesi ile doğru orantılıdır.

#### **Kullanılan çözeltiler:**

1. Sitrat/fosfat tamponu pH: 5.2 (0.1/0.2 M)

2. Disodyum karbonat/sodyum hidrojen karbonat tamponu pH: 10.7 (0.5 M)
3. 4-metilumbelliferon (kullanma standartı) (75 µM)
4. 4-metilumbelliferil-β-D’N,N’N’’-triasetilkitotrioz/sitrat fosfat tampon (kullanma substratı) (22µM)

### **Deney prosedürü:**

- Kör için 5 µl distile su, standart için 5 µl kullanma standardı ve örnek için 5 µl plazma ayrı ayrı mikroplate kuyucuklarına konuldu.
- Daha sonra örnek, kör ve standart kuyucuklarına 100'er ml kullanma substratı ilave edildi ve karıştırıldı.
- İnkübasyon için, mikropleyitin üzeri parafilm ile kapandı ve önceden 37° C'ye ayarlanmış mikropleyit okuyucuda 1 saat beklendi.
- İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 120 µl karbonat tamponu eklenerek reaksiyon sonlandırıldı.
- Daha sonra mikroplate, eksitasyon: 355, emisyon: 460 nm dalga boyunda, 25 nm slit aralığında floresans modda hava körüne karşı (direkt) okutulurak, test standart ve körün floresans intensiteleri (F) ölçüldü.
- Kitotriozidaz enzim aktivitesi nmol/saat/ml olarak ifade edildi.

### **3.2.7. Akciğer, böbrek ve serum Nitrik Oksit (NO) düzeylerinin belirlenmesi**

#### **Ölçüm prensibi:**

Vücutta endojen olarak üretilen nitrik oksit, çok hızlı bir şekilde önce nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) sonra da nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) dönüşür. Bu nedenle NO konsantrasyonu total nitrit ve nitrat cinsinden hesaplanır. Deproteinizasyon işlemi ile ortamdan proteinler uzaklaştırıldıktan sonra nitrit ve nitrat ölçümüne geçilir (Cortas & Wakid, 1990).

#### **Kullanılan çözeltiler:**

1.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  çözeltisi (0.2 M)
2. Glisin-NaOH tamponu (0.2 mol/L)
3. Sülfanilamid Çözeltisi (58 mM)
4. NaOH (0.1 M)
5. NaOH (55 mM)
6. N-Naftiletilediamin Çözeltisi (0.77 M)
7.  $\text{CuSO}_4$  Çözeltisi (5 mM)
8.  $\text{ZnSO}_4$  Çözeltisi (75 mM)
9. HCl Çözeltisi (3 M)
10. Fosfat tamponu (0,1M) pH:7.4

## **Doku homojenatının hazırlanması:**

Akciğer ve böbrek dokuları homojenizatör kullanılarak 1/10 oranında soğuk 0.1 M Fosfat tamponu (pH:7.4) ile homojenize edildi. Doku homojenatları 4000x g'de ve +4°C'de 10 dakika süre ile santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi.

## **Deney prosedürü:**

**1. Deproteinizasyon işlemi:** 125 µl serum (dokular için, doku homojenatı) alındı, üzerine 500 µl 75 mM çinko sülfat çözeltisi ve üzerine 625 µl 55 mM NaOH çözeltisi ilave edildi. 10 dakika beklendi. Daha sonra 10 dakika 3500 devirde santrifüj edildi.

**2. Kadmiyum granüllerinin aktive edilmesi:** Kadmiyum granülleri 2,5-3 gr ağırlığında tartıldı. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içerisinde tutulan kadmiyum granülleri distile su içerisinde üç defa yıkandı. CuSO<sub>4</sub> içerisinde iki dakika bekletildikten sonra glisin-NaOH tamponu ile üç defa yıkandı ve 10 dakika içerisinde kullanıldı.

**3. Reaksiyon:** 250 µl Glisin üzerine 250 µl süpernatant ve 500 µl distile su eklendi. Üzerine aktive edilmiş kadmiyum eklendi. 90 dak. oda sıcaklığında beklendi. Buradan 500 µl alınarak üzerine 125 µl distile su, 250 µl sülfanilamid ve 250 µl N-Naftiletiledimin çözeltisi eklendi ve 45 dak. oda ısısında beklendi. Sonra 545 nm'de köre karşı okundu.

Örneklerin konsantrasyonlarını hesaplayabilmek için NaNO<sub>2</sub> standart çözeltisinin konsantrasyonundan yararlanarak; serum NO sonuçları µmol/ml olarak hesaplandı. Doku örneklerin konsantrasyonları, standart NaNO<sub>2</sub> çözeltisinin konsantrasyonundan yararlanarak hesaplandı. Doku nitrik oksit düzeylerinin hesabı için, aynı doku homojenatların total proteinleri ölçüldü ve örneklerin konsantrasyonları total proteinlerine oranlandı. Doku NO sonuçları, µmol/mg protein olarak verildi.

## **3.2.8. Akciğer, böbrek ve Serum Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Belirlenmesi**

### **Ölçüm prensibi:**

MDA, lipid peroksidasyonun son ürünlerinden olan malondialdehit (MDA)'in tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna dayanan Ohkawa ve arkadaşlarının metodu ile ölçülmüştür (Ohkawa & Yagi, 1979).

### **Kullanılan çözeltiler:**

1. Sodyum dodesil sülfat (SDS) (%8.1)
2. Asetat tamponu (%20) pH: 3.5
3. Thiobarbütirik asit (TBA) (%0,8) pH: 5.5-7
4. KCl solüsyonu (% 1,15' lik)

### **Doku homojenatının hazırlanması:**

Akciğer ve böbrek dokuları, tüplere 1 gr doku başına 9 mL hacimde olacak şekilde % 1,15' lik KCl solüsyonundan eklenerek örnekler homojenize edildi. Doku homojenatları 1000 rpm' de ve +4°C'de 15 dakika süre ile santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi.

### **Deney prosedürü:**

- Kapaklı tüpler alınarak kör ve örnek tüpleri hazırlandı.
- Kör tüpüne, 0,2 mL SDS, 1,5 mL asetat tamponu, 1,5 mL TBA ve 0,8 mL distile su eklendi.
- Örnek tüplerine ise, 0,5 mL serum (dokular için, doku homojenatı) 0,2 mL SDS, 1,5 mL asetat tamponu, 1,5 mL TBA ve 0,4 mL distile su eklendi.
- Bütün tüpler 95 °C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı, renk hafifçe pembeleşti ve süre sonunda musluk suyu altında soğutuldu.
- Karıştırıldıktan sonra, 4000 rpm'de 10 dk santrifüj yapıldı.
- Örneklerin absorbanları 532 nm'de köre karşı okundu

Örneklerin konsantrasyonlarını hesaplayabilmek için lipid peroksit standardı (1.1.3.3.tetraetoksipropan) 10, 20, 40, 60, 80, 100 nmol/mL konsantrasyonlarda hazırlandı. Bu standart çözeltilerden yararlanılarak, serum MDA sonuçları nmol/ml olarak hesaplandı. Doku örnekleri için hazırlanan homojenatlardan total proteinleri ölçüldü ve örneklerin konsantrasyonları total proteinlerine oranlandı. Doku MDA sonuçları standart çözeltilerden ve total protein ölçümünden yararlanılarak nmol/mg protein olarak hesaplandı.

### **3.2.9. Akciğer, böbrek ve serum Myeloperoksidaz (MPO) Düzeylerinin Belirlenmesi**

#### **Ölçüm prensibi:**

Nötrofillerin sitozolik granüllerinden salınan MPO enzimi, dokulardaki nötrofil aktivasyonunun göstergesi olarak kullanılmaktadır. Myeloperoksidazın katalize ettiği, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bağımlı tetrametil benzidine oksidasyonu kullanılarak saptandı. Doku ve serum örneklerindeki MPO

düzeyleri, Suzuki ve arkadaşlarının geliştirdikleri yöntemle göre saptandı (Suzuki, Ota, Sasagawa, Sakatani & Fujikura, 1983).

#### **Kullanılan çözeltiler:**

1. pH' sı 5,4 olan 160 mM Potasyum Fosfat Tamponu (%1'lik HETAB eklendi.)
2. pH' sı 7,4 olan 50 mM Potasyum Fosfat Tamponu
3. pH' sı 6,0 olan 50 mM Potasyum Fosfat Tamponu (10 mM EDTA ve % 0,5'lik HETAB eklendi.)
4. 3,3' -5,5'- tetrametil benzidin (TMB) (substrat)
5. % 0,06' lık H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

#### **Doku homojenatının hazırlanması:**

1g doku başına 10 ml olacak şekilde pH'sı 7,4 olan potasyum fosfat tamponu eklendi. Dokular homojenize edildi. Homojenattan 1 ml alarak santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve çökelek 1 ml pH'sı 6 olan potasyum fosfat tamponuna koyularak tekrar homojenize edildi.

#### **Deney prosedürü:**

- Kör tüpüne pH'sı 5,4 olan potasyum fosfat tamponundan 500 µl, 100 µl TMB ve 350 µl distile su eklendi.
- Numune tüpüne pH'sı 5,4 olan potasyum fosfat tamponundan 500 µl, 100 µl TMB, 20 µl homojenat veya serum ve 330 µl distile su eklendi.
- Tüplere tüm reaktifler sırayla koyularak bu şekilde hazırlandıktan sonra 37°C su banyosunda 2 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası tüplere 50 µl % 0,06' lık H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenerek numuneler kuvarts tüplere alındı. Bütün örnekler 655 nm dalga boyunda köre karşı okutuldu 5 dakika boyunca absorbans artışı izlendi.
- Serum sonuçları nmol/L olarak verildi.
- Doku sonuçları nmol/g protein olarak verildi.

#### **3.2.10. Akciğer ve böbrek dokularında Katalaz (CAT) düzeylerinin belirlenmesi**

##### **Ölçüm prensibi:**

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 240 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermektedir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' in CAT tarafından parçalanması, ultraviyole spektrumunda bir absorbans azalması olarak takip edilir. Absorbans değerlerinde meydana gelen bu azalma enzim aktivitesi ile doğru orantılı olmaktadır. CAT aktiviteleri Beutler'in spektrofotometrik metoduna göre çalışıldı (Beutler, 1973)

### **Kullanılan çözeltiler:**

1. Tris-HCl-EDTA pH: 8,0
2. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 mM)

### **Doku homojenatının hazırlanması:**

Akciğer ve böbrek dokuları homojenizatör kullanılarak 1/10 oranında soğuk 0.1 M Fosfat tamponu (pH:7) ile homojenize edildi. Doku homojenatları 600x g'de ve +4°C'de 10 dakika süre ile santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi.

### **Deney prosedürü:**

- Kör tüpüne 100 µl Tris-HCl-EDTA (pH:8,0) alındı, üzerine 1860 µl distile su eklendi.
- Numune tüplerine 100 µl Tris-HCl-EDTA (pH:8,0) alındı, üzerlerine 1800 µl 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 60 µl distile su eklendi.
- Su banyosunda 10 dakika 37 °C' de inkübe edildi.
- Enzimatik reaksiyon, dilüe hemolizattan 30 µl eklenmesi ile başlatıldı.
- 2 dk süreyle köre karşı absorbanstaki düşme ölçüldü.
- Sonuçlar U/mg protein olarak verildi.

### **3.2.11. Biüret protein tayini yöntemi**

Protein tayini biüret yöntemiyle yapıldı (Lowry, Rosebrough, Farr & Randall, 1951).

### **Kullanılan çözeltiler:**

1. NaOH
2. Na-K tartarat
3. CuSO<sub>4</sub>

### **Deney prosedürü:**

- Kör tüpüne 50 µl distile su ve 1, 25 ml biüret çözeltisi eklendi.
- Numune tüpüne 50 µl homojenat ve 1, 25 ml biüret çözeltisi eklendi.
- 15 dk. beklendi ve 545 nm' de ölçüm yapıldı.

### **3.2.12. Böbrek ve akciğer dokusu histolojik preparatların hazırlanması**

Histopatolojik incelemenin yapılabilmesi için, tüm sıçanlardan alınan böbrek ve akciğer dokuları % 10' luk formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Sıçanların böbrek ve akciğer dokuları ayrı ayrı rutin takip işlemleri sonrası parafine gömülerek bloklandı. Bu parafin bloklardan mikrotom ile her doku örneği için 4 mikrom kalınlığında kesitler hazırlanarak Hemotoksilen Eozin (HE) boyası ile boyandı. Işık mikroskobu ile histopatolojik incelemeye tabi tutuldu.

Akciğer dokularının histolojik incelemesinde Fibrin platelet trombüs varlığı, kronik inflamasyon, intra alveolar kanama, ödem, konjesyon ve PMNL varlığı baz alınarak değerlendirme yapıldı. Skorlar değerlendirilip toplam skor elde edildi.

- 0: değişiklik yok
- 1: fokal hafif değişiklik
- 2: multi fokal hafif değişiklikler
- 3: multi fokal ileri derecede değişiklikler

Böbrek dokularının histolojik incelemeleri yapılırken fokal glomerüler nekroz, Bowman kapsül dilatasyonu, tübüler epitel djenerasyon, tübüler epitel nekroz, tübüler dilatasyon ve interstisiyel inflamatuvar infiltrasyon yönünden inceleme yapıldı ve bu bulgulara göre skora yapıldı. Skorlar değerlendirilip toplam skor elde edildi.

- 0: bulgu yok
- 1: fokal hafif değişiklikler
- 2: multi fokal orta derecede değişiklikler
- 3: multi fokal yaygın değişiklikler



### **3.3. İstatistiksel Analiz**

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde IBM SPSS 21 paket programı kullanıldı. Değişkenlerin gruplara göre normal dağılıma uygunluğu Kolmogrov-Smirnov testi ile araştırıldı. Normal dağılım gösteren grupların karşılaştırılması Tek Yönlü Varyans Analizi (Oneway ANOVA) ile gerçekleştirildi. Çoklu karşılaştırmalar, varyansları homojen olan gruplarda Tukey testi ile, homojen olmayan gruplarda ise Tamhane testi ile yapılmıştır. Gruplara ait belirtici istatistikler ortalama±standart sapma olarak verildi. Karşılaştırma sonuçları  $p < 0,05$  durumunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

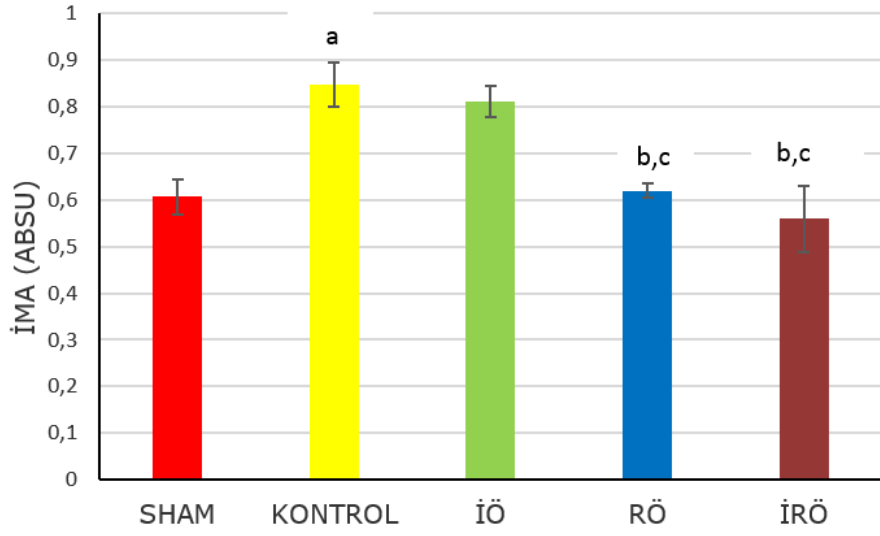
Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların istatistiki anlamlılıkları belirtilmiş ve gruplara ait veriler hem tablo hem de grafik halinde verilmiştir.

### 4.1. Serum İMA Bulguları

**Tablo 4.1.** Çalışma gruplarının serum İMA düzeyleri

Gruplar	N	İMA (ABSU) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	0,607±0,038	<0,001
KONTROL	8	0,847±0,048	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,810±0,034	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,619±0,015	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,559±0,070	

Çalışma gruplarımızın serum İMA düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.1 ' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın serum İMA düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın serum İMA düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; İRÖ grubunda ve RÖ grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelmiştir. Ayrıca, kontrol grubuna göre İÖ grubunda azalma olmasına rağmen, istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.1.** Çalışma gruplarının serum İMA düzeyleri

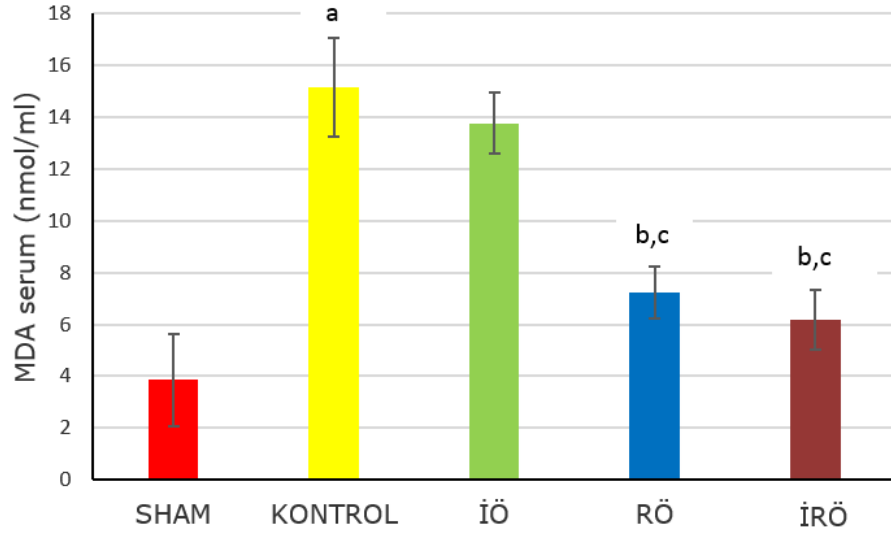
Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

## 4.2. Serum MDA Bulguları

**Tablo 4.2.** Çalışma gruplarının serum MDA düzeyleri

Gruplar	N	MDA serum (nmol/ml) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	3,851±1,779	<0,001
KONTROL	8	15,126±1,908	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	13,761±1,183	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	7,227±0,986	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	6,190±1,148	

Çalışma gruplarımızın serum MDA düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.2' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın serum MDA düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın serum MDA düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuna göre İRÖ grubuna baktığımızda ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.2.** Çalışma gruplarının serum MDA düzeyleri

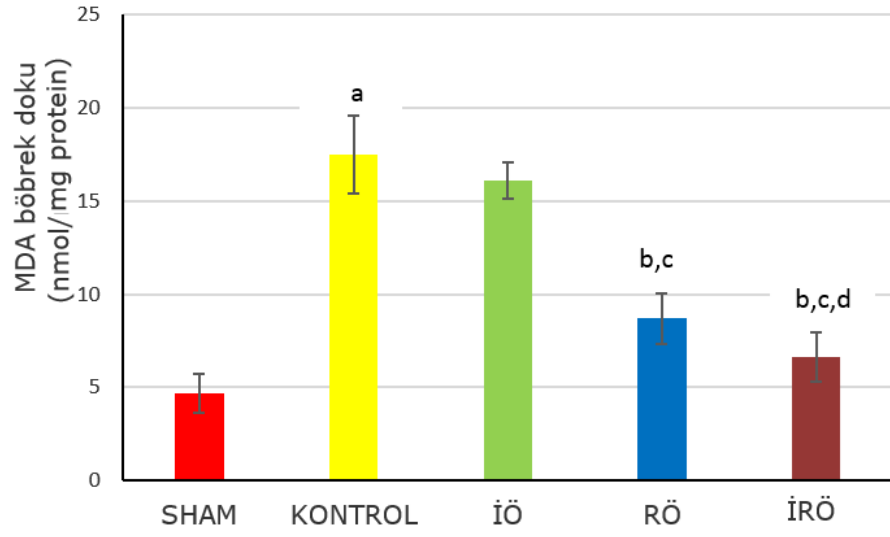
Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

### 4.3. Böbrek Doku MDA Bulguları

**Tablo 4.3.** Çalışma gruplarının MDA böbrek doku düzeyleri

Gruplar	N	MDA böbrek (nmol/mg protein) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	4,706±1,053	<0,001
KONTROL	8	17,510±2,089	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	16,084±0,961	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	8,698±1,347	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	6,645±1,331	

Çalışma gruplarımızın böbrek doku MDA düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.3' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın böbrek dokusu MDA düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın böbrek dokusu MDA düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuna göre İRÖ grubuna baktığımızda ise istatistiksel olarak azalma ( $p<0,05$ ) bulunmuştur.



**Grafik 4.3.** Çalışma gruplarının MDA böbrek doku düzeyleri

Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )  
RÖ grubuna göre: d; ( $p < 0,05$ )

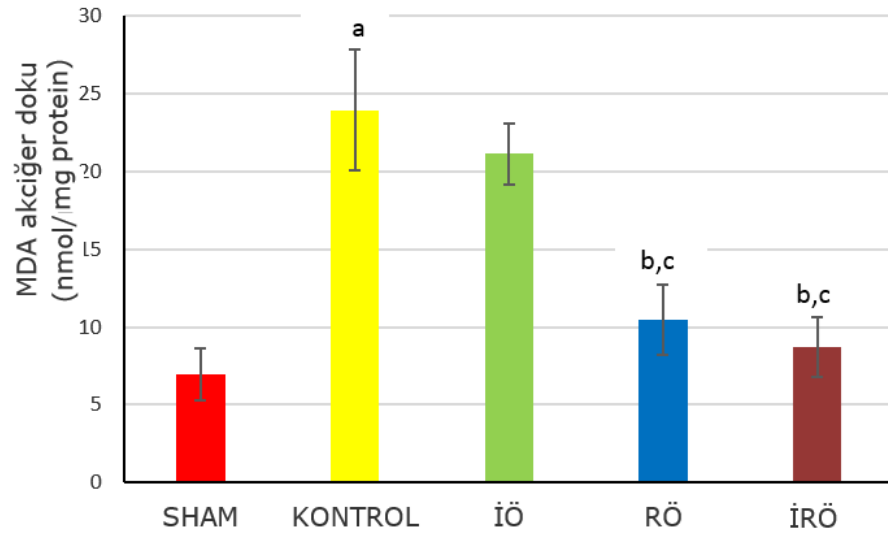
#### 4.4. Akciğer Doku MDA Bulguları

**Tablo 4.4.** Çalışma gruplarının MDA akciğer doku düzeyleri

Gruplar	N	MDA akciğer (nmol/mg protein) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	6,948±1,705	<0,001
KONTROL	8	23,931±3,893	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	21,115±1,941	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	10,456±2,240	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	8,710±1,890	

Çalışma gruplarımızın akciğer doku MDA düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.4' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın akciğer dokusu MDA düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın akciğer dokusu MDA düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.





**Grafik 4.4.** Çalışma gruplarının MDA akciğer doku düzeyleri

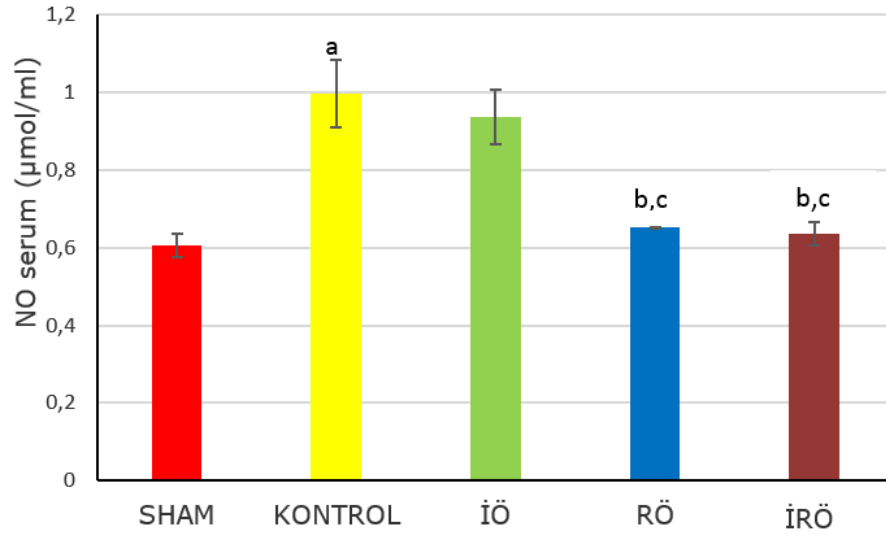
Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

#### 4.5. Serum NO Bulguları

**Tablo 4.5.** Çalışma gruplarının NO serum düzeyleri

Gruplar	N	NO Serum ( $\mu\text{mol/ml}$ ) ortalama $\pm$ standart sapma	p
SHAM	8	0,606 $\pm$ 0,031	<0,001
KONTROL	8	0,996 $\pm$ 0,087	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,936 $\pm$ 0,069	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,651 $\pm$ 0,002	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,634 $\pm$ 0,030	

Çalışma gruplarımızın serum NO düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.5 ' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın serum NO düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın serum NO düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.5.** Çalışma gruplarının NO serum düzeyleri

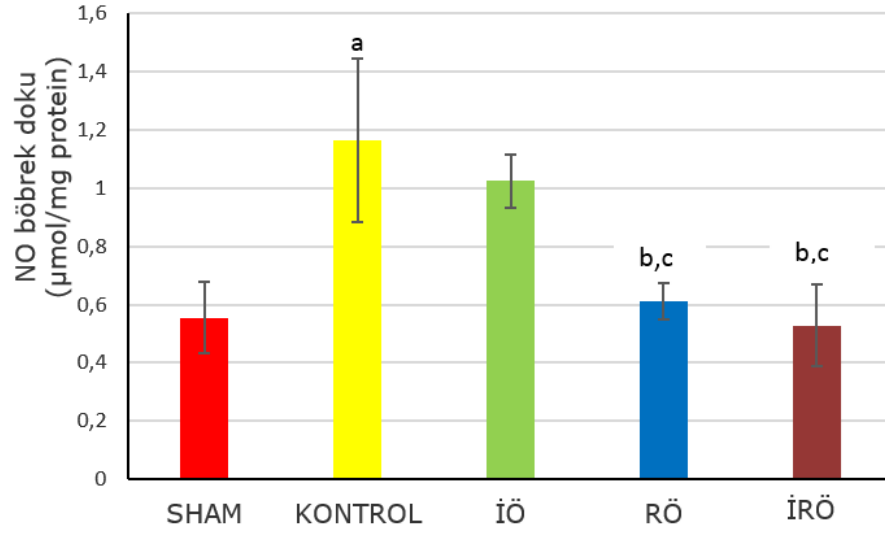
Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

#### 4.6. Böbrek Doku NO Bulguları

**Tablo 4.6.** Çalışma gruplarının NO böbrek doku düzeyleri

Gruplar	N	NO böbrek ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein) ortalama $\pm$ standart sapma	p
SHAM	8	0,555 $\pm$ 0,122	<0,001
KONTROL	8	1,163 $\pm$ 0,279	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	1,024 $\pm$ 0,091	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,612 $\pm$ 0,063	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,528 $\pm$ 0,140	

Çalışma gruplarımızın böbrek doku NO düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4. 6' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın böbrek dokusu NO düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p < 0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın böbrek dokusu NO düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p < 0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p > 0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p < 0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p > 0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.6.** Çalışma gruplarının NO böbrek doku düzeyleri

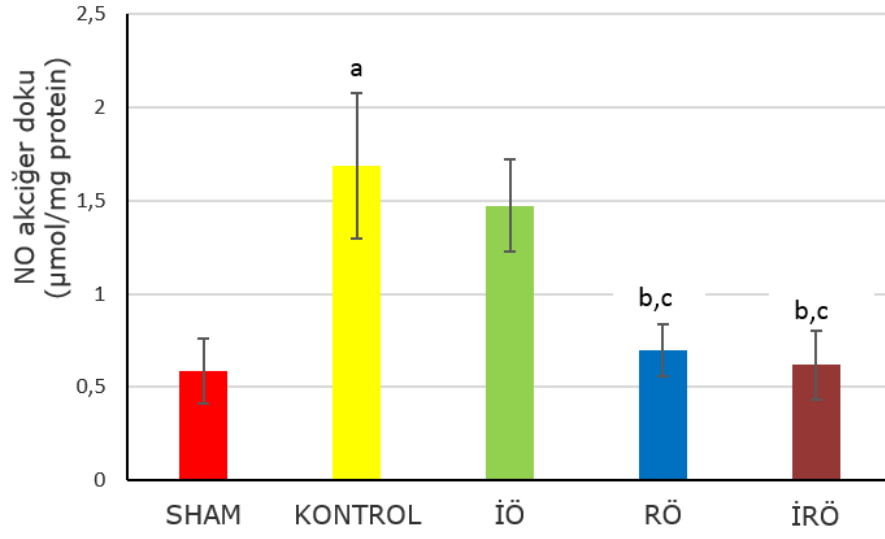
Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

#### 4.7. Akciğer Doku NO Bulguları

**Tablo 4.7.** Çalışma gruplarının NO akciğer doku düzeyleri

Gruplar	N	NO akciğer ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein) ortalama $\pm$ standart sapma	p
SHAM	8	0,585 $\pm$ 0,173	<0,001
KONTROL	8	1,685 $\pm$ 0,390	
İ Ö (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	1,473 $\pm$ 0,247	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,696 $\pm$ 0,139	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,618 $\pm$ 0,186	

Çalışma gruplarımızın akciğer doku NO düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4. 7' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın akciğer dokusu NO düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p < 0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın akciğer dokusu NO düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p < 0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p > 0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p < 0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p > 0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.7.** Çalışma gruplarının NO akciğer doku düzeyleri

Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

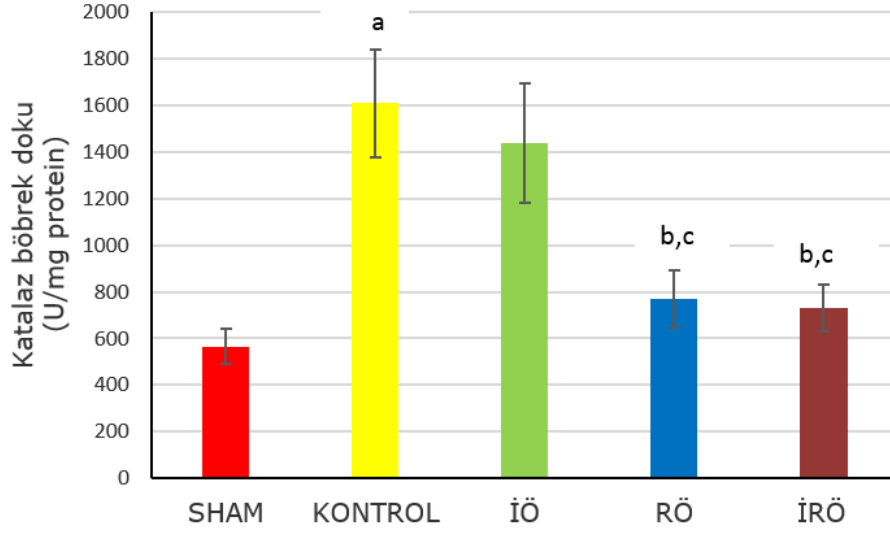
#### 4.8. Böbrek Doku Katalaz Bulguları

**Tablo 4.8.** Çalışma gruplarının katalaz böbrek doku düzeyleri

Gruplar	N	Katalaz böbrek (U/mg protein) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	566,259±76,988	<0,001
KONTROL	8	1607,811±230,006	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	1439,155±256,498	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	772,303±122,692	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	730,596±99,378	

Çalışma gruplarımızın böbrek doku katalaz düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.8' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın böbrek dokusu katalaz düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın böbrek dokusu katalaz düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde, İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.





**Grafik 4.8.** Çalışma gruplarının katalaz böbrek doku düzeyleri

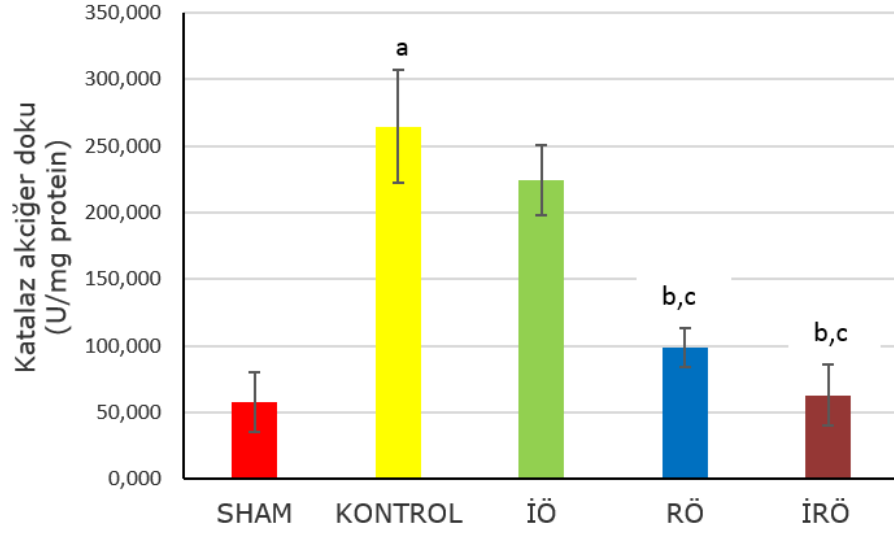
Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

#### 4.9. Akciğer Doku Katalaz Bulguları

**Tablo 4.9.** Çalışma gruplarının katalaz akciğer doku düzeyleri

Gruplar	N	katalaz akciğer (U/mg protein) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	57,557±22,160	<0,001
KONTROL	8	264,728±42,388	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	224,146±26,131	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	98,737±14,443	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	63,069±22,836	

Çalışma gruplarımızın akciğer doku katalaz düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.9' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın akciğer dokusu katalaz düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın akciğer dokusu katalaz düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde, İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.9.** Çalışma gruplarının katalaz akciğer doku düzeyleri

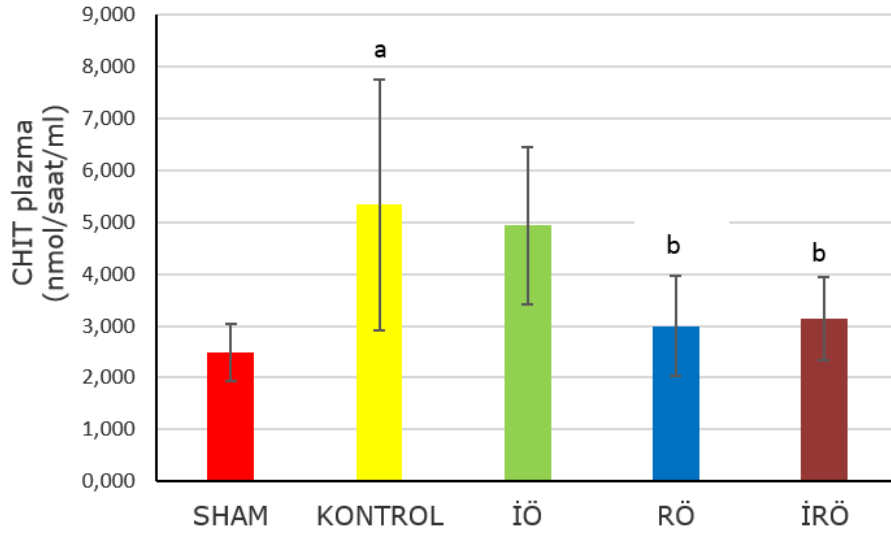
Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

#### 4.10. Plazma CHIT Bulguları

**Tablo 4.10.** Çalışma gruplarının CHIT plazma düzeyleri

Gruplar	N	CHIT plazma (nmol/saat/ml) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	2,494±0,550	<0,01
KONTROL	8	5,336±2,421	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	4,939±1,515	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	2,994±0,962	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	3,136±0,811	

Çalışma gruplarımızın plazma CHIT düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.10 ' da verilmiştir. Çalışma gruplarımızın plazma CHIT düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda önemli ( $p<0,01$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın plazma CHIT düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında önemli ( $p<0,05$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre, RÖ ve İRÖ gruplarında azalma meydana gelmesine rağmen, istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.10.** Çalışma gruplarının CHIT plazma düzeyleri

Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,01$ )

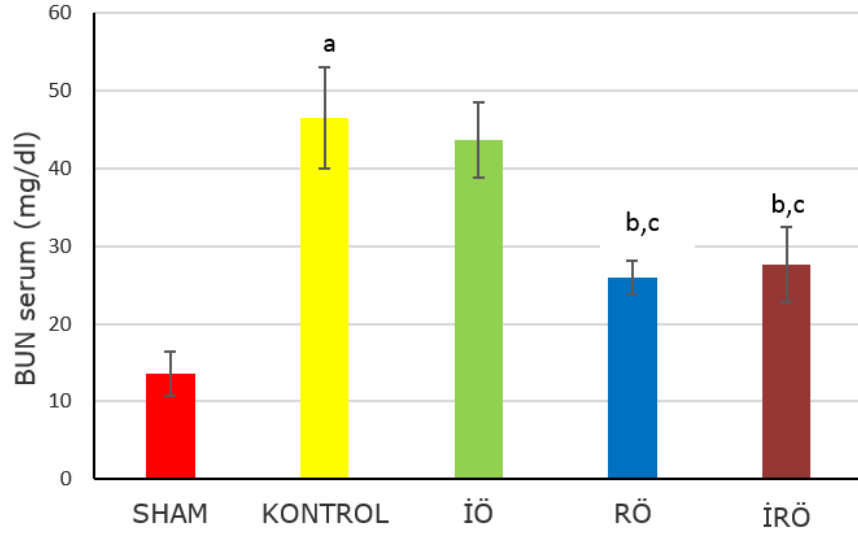
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,05$ )

#### 4.11. Serum BUN Bulguları

**Tablo 4.11.** Çalışma gruplarının BUN serum doku düzeyleri

Gruplar	N	BUN serum (mg/dl) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	13,570±2,776	<0,001
KONTROL	8	46,527±6,492	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	43,700±4,834	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	25,953±2,210	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	27,551±4,826	

Çalışma gruplarımızın serum BUN düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.11' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın serum BUN düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma bulunmuştur. Çalışma gruplarımızın serum BUN düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.11.** Çalışma gruplarının BUN serum doku düzeyleri

Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

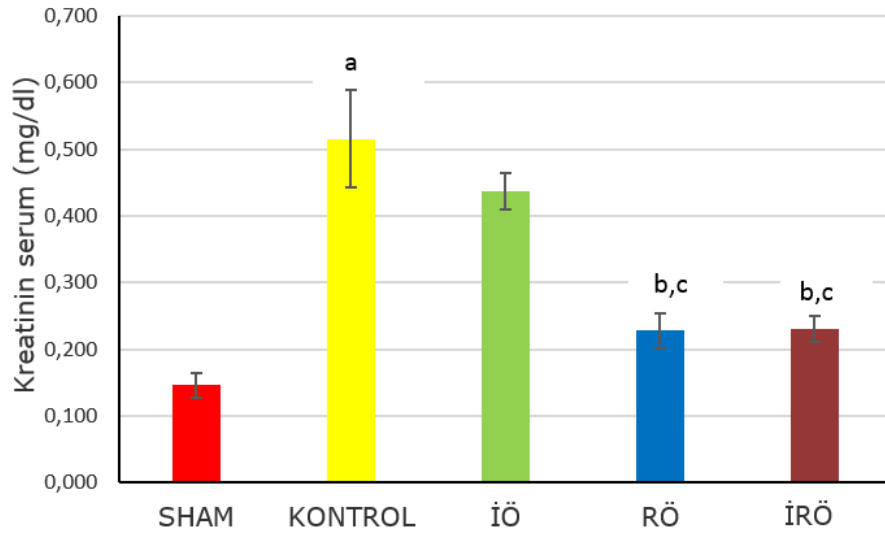
#### 4.12. Serum Kreatinin Bulguları

**Tablo 4.12.** Çalışma gruplarının kreatinin serum düzeyleri

Gruplar	N	Kreatinin serum (mg/dl) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	0,146±0,019	<0,001
KONTROL	8	0,515±0,073	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,437±0,028	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,228±0,026	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	0,230±0,019	

Çalışma gruplarımızın serum kreatinin düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.12' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın serum kreatinin düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde, kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın serum kreatinin düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde, İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken; RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.





**Grafik 4.12.** Çalışma gruplarının kreatinin serum düzeyleri

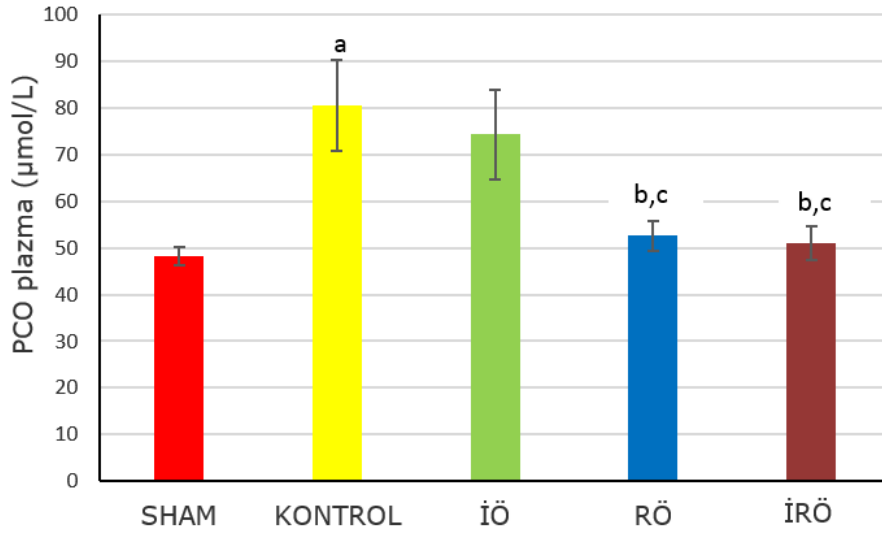
Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

#### 4.13. Plazma Protein Karbonil (PCO) Bulguları

**Tablo 4.13.** Çalışma gruplarının plazma PCO düzeyleri

Gruplar	N	PCO plazma ( $\mu\text{mol/L}$ ) ortalama $\pm$ standart sapma	p
SHAM	8	48,301 $\pm$ 1,975	<0,001
KONTROL	8	80,511 $\pm$ 9,628	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	74,318 $\pm$ 9,528	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	52,557 $\pm$ 3,276	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	51,073 $\pm$ 3,649	

Çalışma gruplarımızın plazma PCO düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.13' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın plazma PCO düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma meydana geldiği bulunmuştur. Çalışma gruplarımızın plazma PCO düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.13.** Çalışma gruplarının plazma PCO düzeyleri

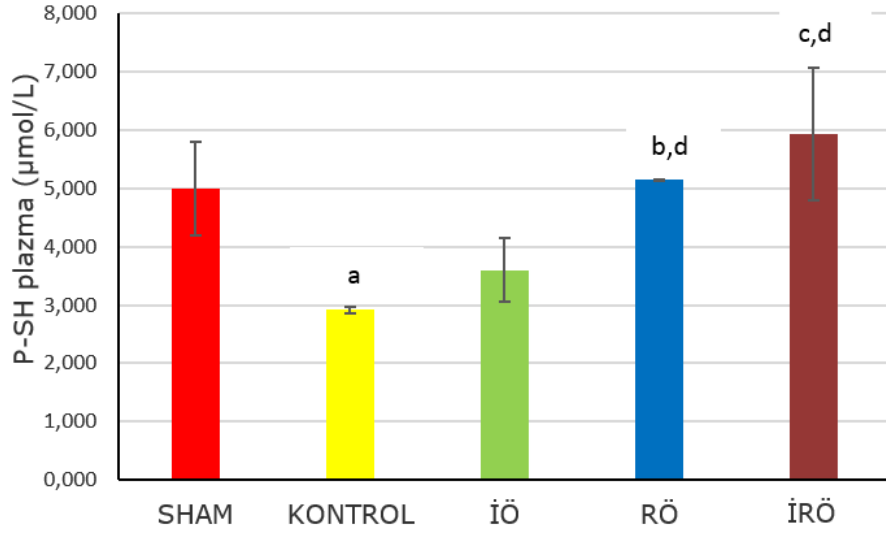
Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

#### 4.14. Plazma Protein Sülfidril (P-SH) Bulguları

**Tablo 4.14.** Çalışma gruplarının plazma protein sülfidril düzeyleri

Gruplar	N	Sülfidril plazma ( $\mu\text{mol/L}$ ) ortalama $\pm$ standart sapma	p
SHAM	8	5,000 $\pm$ 0,802	<0,001
KONTROL	8	2,920 $\pm$ 0,057	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	3,600 $\pm$ 0,552	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	5,140 $\pm$ 0,017	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	5,925 $\pm$ 1,142	

Çalışma gruplarımızın plazma sülfidril düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.14' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın plazma sülfidril düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda önemli ( $p < 0,01$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. Çalışma gruplarımızın plazma sülfidril düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; İRÖ gruplarında önemli ( $p < 0,01$ ) düzeyde artma meydana gelirken RÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p < 0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Ayrıca kontrol grubu ile, İÖ grubu arasında istatistiksel olarak fark ( $p > 0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında önemli ( $p < 0,01$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p > 0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.14.** Çalışma gruplarının plazma protein sülfidril düzeyleri

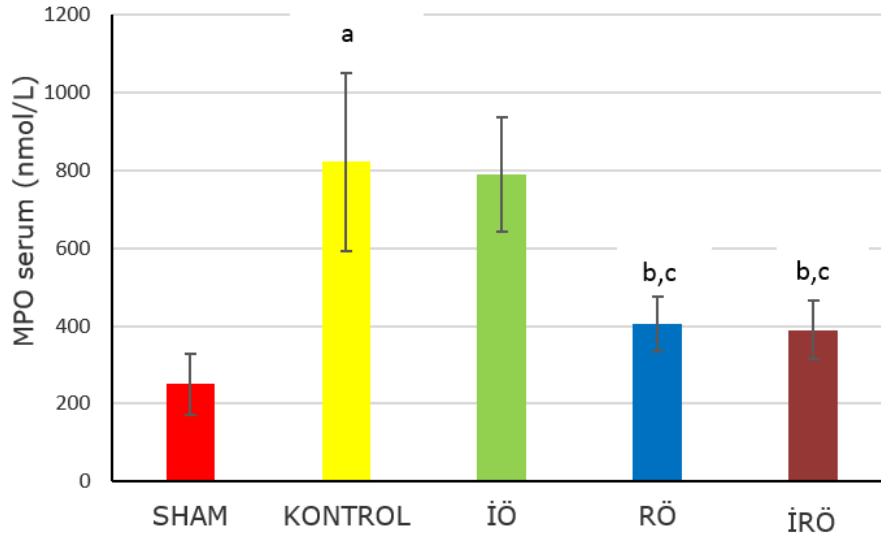
Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,01$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: c; ( $p < 0,01$ )  
İÖ grubuna göre: d; ( $p < 0,001$ )

#### 4.15. Serum MPO Bulguları

**Tablo 4.15.** Çalışma gruplarının MPO serum düzeyleri

Gruplar	N	MPO serum (nmol/L) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	250,425±79,163	<0,001
KONTROL	8	821,137±228,157	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	789,750±147,786	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	406,350±70,259	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	389,812±74,586	

Çalışma gruplarımızın serum MPO düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.15' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın serum MPO düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın serum MPO düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde, İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.15.** Çalışma gruplarının MPO serum düzeyleri

Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

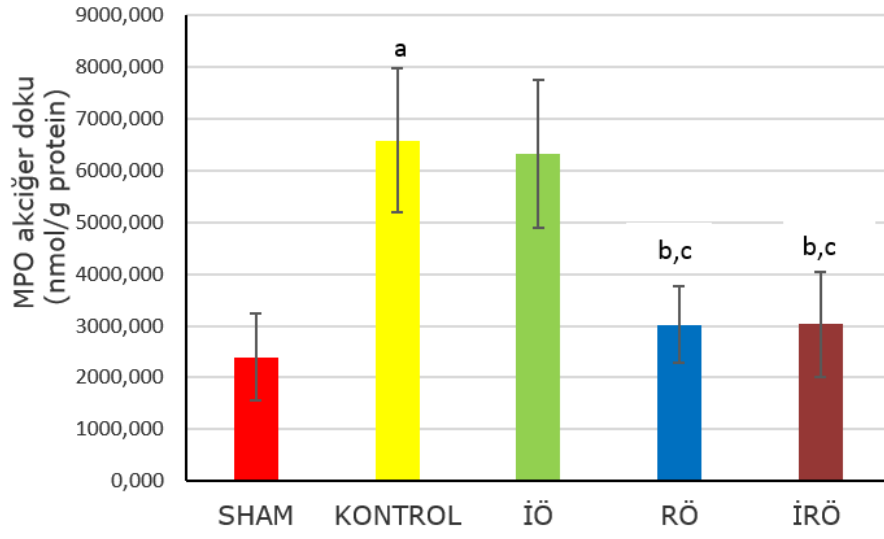
#### 4.16. Akciğer Doku MPO Bulguları

**Tablo 4.16.** Çalışma gruplarının MPO akciğer doku düzeyleri

Gruplar	N	MPO akciğer (nmol/g protein) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	2398,711±828,429	<0,001
KONTROL	8	6575,249±1388,450	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	6314,712±1421,269	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	3025,595±749,131	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	3029,199±1015,768	

Çalışma gruplarımızın akciğer doku MPO düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.16' da verilmiştir. Çalışma gruplarımızın akciğer dokusu MPO düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p < 0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın akciğer dokusu MPO düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p < 0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p > 0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p < 0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p > 0,05$ ) bulunmamıştır.





**Grafik 4.16.** Çalışma gruplarının MPO akciğer doku düzeyleri

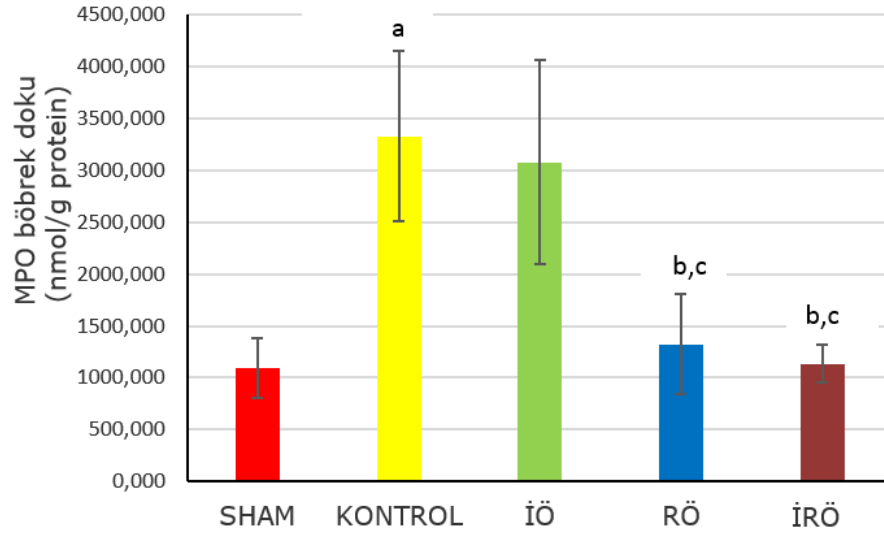
Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

#### 4.17. Böbrek Doku MPO Bulguları

**Tablo 4.17.** Çalışma gruplarının MPO böbrek doku düzeyleri

Gruplar	N	MPO böbrek (nmol/g protein) ortalama ± standart sapma	p
SHAM	8	1096,646±286,673	<0,001
KONTROL	8	3328,294±816,192	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	3076,724±982,122	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	1323,404±478,303	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	1133,337±183,569	

Çalışma gruplarımızın böbrek doku MPO düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.17' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın böbrek dokusu MPO düzeylerini sham grubuna göre değerlendirdiğimizde; kontrol grubunda ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde artma meydana gelmiştir. Çalışma gruplarımızın böbrek dokusu MPO düzeylerini kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde; RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır. Tedavi gruplarımızı kendi arasında değerlendirdiğimizde; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli ( $p<0,001$ ) düzeyde azalma bulunmuştur. RÖ grubuyla, İRÖ grubu arasında ise istatistiksel olarak fark ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır.



**Grafik 4.17.** Çalışma gruplarının MPO böbrek doku düzeyleri

Sham grubuna göre: a; ( $p < 0,001$ )  
Kontrol grubuna göre: b; ( $p < 0,001$ )  
İÖ grubuna göre: c; ( $p < 0,001$ )

#### 4.18. Akciğer Histoloji Bulguları

SHAM	Fibrin Platelet Trombüs	Kronik inflamasyon	İntra alveolar kanama	Ödem	Konjesyon	PMNL varlığı	Toplam skor
1	0	1	0	1	1	0	3
2	0	1	0	1	1	0	3
3	0	1	0	0	1	0	2
4	0	1	0	1	2	0	4
5	0	2	0	0	2	0	4
6	0	1	0	0	1	0	2
7	0	1	0	1	1	0	3
8	0	1	0	0	1	0	2

KONTROL	Fibrin Platelet Trombüs	Kronik inflamasyon	İntra alveolar kanama	Ödem	Konjesyon	PMNL varlığı	Toplam skor
1	1	1	1	2	3	1	9
2	1	1	2	3	3	1	11
3	2	2	2	3	3	2	14
4	1	1	1	2	3	2	10
5	1	1	1	3	3	2	11
6	0	1	1	2	2	1	7
7	1	1	1	2	3	2	10
8	1	2	2	3	2	2	12

İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	Fibrin Platelet Trombüs	Kronik inflamasyon	İntra alveolar kanama	Ödem	Konjesyon	PMNL varlığı	Toplam skor
1	1	1	1	2	3	1	9
2	0	1	1	1	2	1	6
3	1	1	2	2	2	2	10
4	1	1	1	2	3	2	10
5	1	1	1	2	2	1	8
6	1	1	1	2	2	1	8
7	1	1	2	3	2	2	11
8	0	1	2	2	3	2	10

RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	Fibrin Platelet Trombüs	Kronik inflamasyon	İntra alveolar kanama	Ödem	Konjesyon	PMNL varlığı	Toplam skor
1	1	1	1	2	2	1	8
2	0	1	1	1	3	2	8
3	1	1	0	2	2	1	7
4	0	0	1	2	2	1	6
5	1	1	1	1	2	2	8
6	0	1	1	2	2	1	7
7	1	1	1	2	2	1	8
8	0	0	1	2	2	1	6

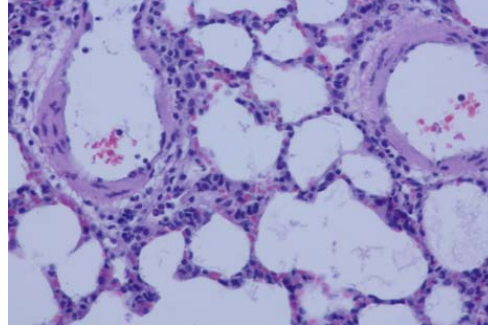
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	Fibrin Platelet Trombüs	Kronik inflamasyon	İntra alveolar kanama	Ödem	Konjesyon	PMNL varlığı	Toplam skor
1	1	1	1	2	1	2	8
2	0	1	0	1	1	1	4
3	1	0	1	2	1	2	7
4	0	0	0	1	1	1	3
5	0	1	0	1	2	1	5
6	1	1	1	2	2	1	8
7	0	1	0	1	1	1	4
8	0	1	0	1	1	1	4

**Tablo 4.18.** Çalışma gruplarının akciğer histotoloji ortalama skorları

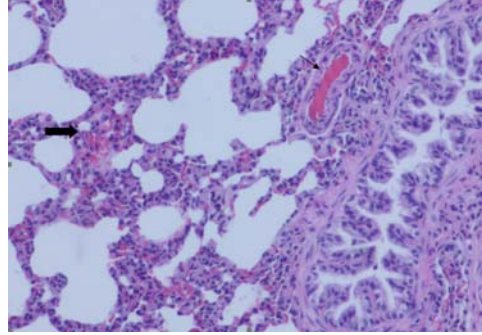
Gruplar	N	Akciğer histotoloji ortalama skor Median (Q1-Q3)	p
SHAM	8	2,857 ± 0,854	<0,001
KONTROL	8	10,500 ± 2,070	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	9,000 ± 1,603	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	7,142 ± 0,899	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	5,375 ± 1,995	

Verilerin karşılaştırılmaları Oneway ANOVA testi ve grupların çoklu karşılaştırılmalarında TUKEY HSD testi kullanılmıştır.

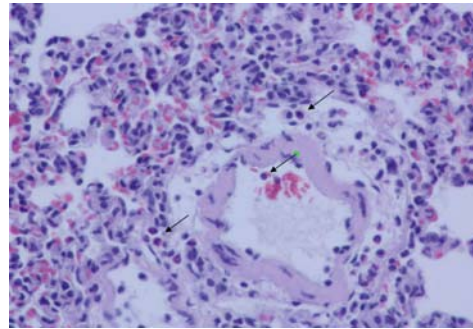
İstatistiksel sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) olarak verildi.



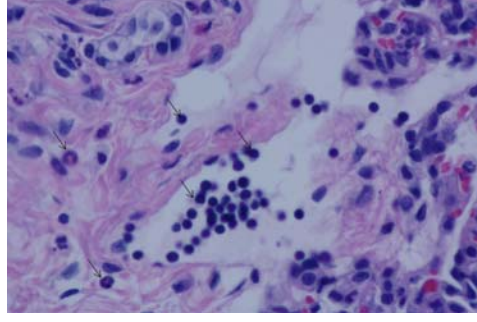
**Şekil 4.1.** Sham grubu akciğer histoloji bulguları. Normal histopatolojik görünüm. (40X)



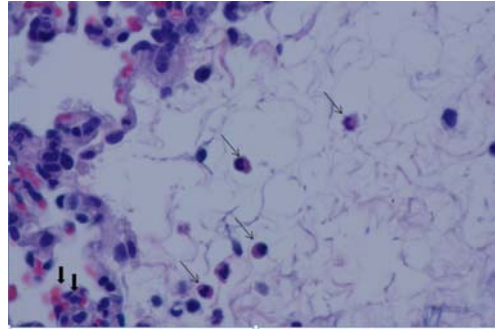
**Şekil 4.2.** Kontrol grubu akciğer histoloji bulguları. (→) Kapiller damar içinde fibrin ve eritrositlerden oluşan trombüs. (▲) Alveol duvarında ödem ve konjesyon. (40X)



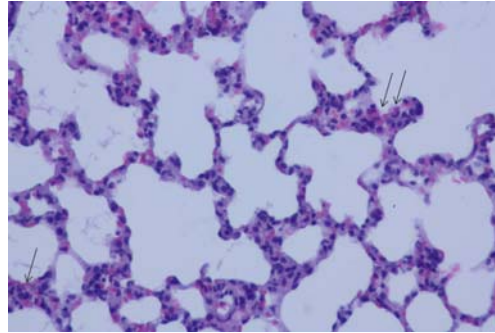
**Şekil 4.3.** Kontrol grubu akciğer histoloji bulguları. (▲) Artmış PMNL filtrasyonu. (40X)



**Şekil 4.4.** İÖ grubu akciğer histoloji bulguları. (↘) Artmış PMNL filtrasyonu. (40X)



**Şekil 4.5.** RÖ grubu akciğer histoloji bulguları. (↘) Azalmış PMNL filtrasyonu. (↓) Minimal konjesyon ve ödem. (40X)



**Şekil 4.6.** İRÖ grubu akciğer histoloji bulguları. (↙) Minimal derecede konjesyon ve ödem içeren akciğer görüntüsü. (40X)



Sham grubuna ait akciğer doku kesitlerinin mikroskopik incelemesinde PMNL varlığı, fibrin-platelet-trombüs varlığı ve intraalveoler kanama yönünden değerlendirmede normal histopatolojik bulgular gözlemlendi. skorlama puanı 0 (sıfır) olarak değerlendirildi.

Kontrol grubunda, PMNL varlığı, fibrin-platelet-trombüs varlığı, kronik inflamasyon ve intraalveoler kanama değerlendirildiğinde fokal hafif değişiklikler görüldü. (PMNL varlığı ortalama skor=1,625, fibrin-platelet-trombüs varlığı ortalama skor=1, kronik inflamasyon ortalama skor=1,25, intraalveoler kanama ortalama skor=1,375) Ödem ve alveoler konjesyon yönünden inceleme yapıldığında yer yer multifokal ileri derecede değişiklikler tespit edildi. (ödem ortalama skor=2,5, alveoler konjesyon ortalama skor=2,75)

İÖ grubunda, PMNL varlığı, fibrin-platelet-trombüs varlığı, kronik inflamasyon ve intraalveoler kanama değerlendirildiğinde fokal hafif değişiklikler görüldü. (PMNL varlığı ortalama skor=1,5, fibrin-platelet-trombüs varlığı ortalama skor=0,75, kronik inflamasyon ortalama skor=1, intraalveoler kanama ortalama skor=1,375) Ödem yönünden inceleme yapıldığında multi fokal hafif değişiklikler tespit edildi. (ödem ortalama skor=2,5,) alveoler konjesyon yönünden inceleme yapıldığında yer yer multifokal ileri derecede değişiklikler tespit edildi, (alveoler konjesyon ortalama skor=2,375)

RÖ grubunda, PMNL varlığı, fibrin-platelet-trombüs varlığı, kronik inflamasyon ve intraalveoler kanama değerlendirildiğinde fokal hafif değişiklikler görüldü. (PMNL varlığı ortalama skor=1,25, fibrin-platelet-trombüs varlığı ortalama skor=0,5, kronik inflamasyon ortalama skor=0,75, intraalveoler kanama ortalama skor=0,875) Ödem yönünden inceleme yapıldığında fokal hafif değişiklikler tespit edildi. (ödem ortalama skor=1,75,) alveoler konjesyon yönünden inceleme yapıldığında multi fokal hafif değişiklikler tespit edildi, (alveoler konjesyon ortalama skor=2,125)

İRÖ grubunda, PMNL varlığı, fibrin-platelet-trombüs varlığı, kronik inflamasyon ve intraalveoler kanama değerlendirildiğinde fokal çok hafif değişiklikler görüldü. (PMNL varlığı ortalama skor=1,25, fibrin-platelet-trombüs varlığı ortalama skor=0,375, kronik inflamasyon ortalama skor=0,75, intraalveoler kanama ortalama skor=0,375) Ödem yönünden inceleme yapıldığında fokal hafif değişiklikler tespit edildi. (ödem ortalama skor=1,375) alveoler konjesyon yönünden inceleme yapıldığında fokal hafif değişiklikler tespit edildi, (alveoler konjesyon ortalama skor=1,25)

#### 4.19. Böbrek Histoloji Bulguları

Sham Grubu	Fokal Glomeruler Nekroz	Bowman Kapsül Dilatasyonu	Tubuler Epitel Dejenerasyonu	Tubuler Epitel Nekrozu	Tubuler Dilatasyon	İnterstisiyel İnflamatuvar İnfiltrasyon	Toplam skor
1	0	0	0	0	0	1	1
2	0	1	1	0	1	0	3
3	0	0	0	0	0	0	0
4	1	1	0	0	1	0	3
5	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	1	0	0	1	2
8	0	0	1	0	1	0	2

2.Grup	Fokal Glomeruler Nekroz	Bowman Kapsül Dilatasyonu	Tubuler Epitel Dejenerasyonu	Tubuler Epitel Nekrozu	Tubuler Dilatasyon	İnterstisiyel İnflamatuvar İnfiltrasyon	Toplam skor
1	1	1	1	2	1	1	7
2	1	1	2	1	2	2	9
3	2	2	3	2	2	2	13
4	1	1	2	1	1	1	7
5	2	2	3	2	2	2	13
6	2	1	2	1	2	2	10
7	2	2	2	1	2	1	10
8	1	2	2	2	2	2	11

3.Grup	Fokal Glomeruler Nekroz	Bowman Kapsül Dilatasyonu	Tubuler Epitel Dejenerasyonu	Tubuler Epitel Nekrozu	Tubuler Dilatasyon	İnterstisiyel İnflamatuvar İnfiltrasyon	Toplam skor
1	1	1	2	1	1	2	8
2	1	1	1	2	1	1	7
3	2	2	2	1	2	2	11
4	1	1	2	1	1	1	7
5	2	1	2	2	2	2	11
6	1	1	2	1	2	1	8
7	2	2	3	1	2	1	10
8	2	1	2	2	1	2	10

4.Grup	Fokal Glomeruler Nekroz	Bowman Kapsül Dilatasyonu	Tubuler Epitel Dejenerasyonu	Tubuler Epitel Nekrozu	Tubuler Dilatasyon	İnterstisiyel İnflamatuar İnfiltrasyon	Toplam skor
1	1	1	1	1	1	1	6
2	2	1	1	1	2	1	8
3	1	1	2	1	1	1	7
4	1	1	1	2	2	1	8
5	1	1	1	2	1	2	8
6	1	1	2	1	1	1	7
7	1	1	1	1	1	1	6
8	1	0	1	1	2	1	6

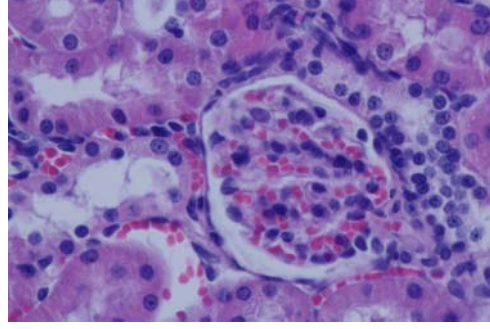
5.Grup	Fokal Glomeruler Nekroz	Bowman Kapsül Dilatasyonu	Tubuler Epitel Dejenerasyonu	Tubuler Epitel Nekrozu	Tubuler Dilatasyon	İnterstisiyel İnflamatuar İnfiltrasyon	Toplam skor
1	1	1	1	0	1	1	5
2	0	0	0	0	1	0	1
3	1	0	1	1	0	1	4
4	1	1	1	1	1	1	6
5	1	1	1	0	0	1	4
6	0	0	1	0	0	0	1
7	1	1	1	1	0	1	5
8	0	1	0	1	1	0	3

**Tablo 4.19.** Çalışma gruplarının akciğer histoloji ortalama skorları

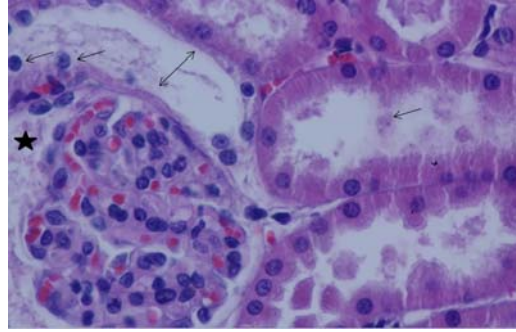
Gruplar	N	Böbrek histoloji ortalama skor Median (Q1-Q3)	p
SHAM	8	1,375 ± 1,302	<0,001
KONTROL	8	10,000 ± 2,329	
İÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	9,000 ± 1,690	
RÖ (25 mg/kg fukoidin uygulama)	8	6,857 ± 0,899	
İRÖ (12,5-12,5 mg/kg fukoidin uygulama)	8	3,625 ± 1,846	

Verilerin karşılaştırılmaları Oneway ANOVA testi ve grupların çoklu karşılaştırılmalarında TUKEY HSD testi kullanılmıştır.

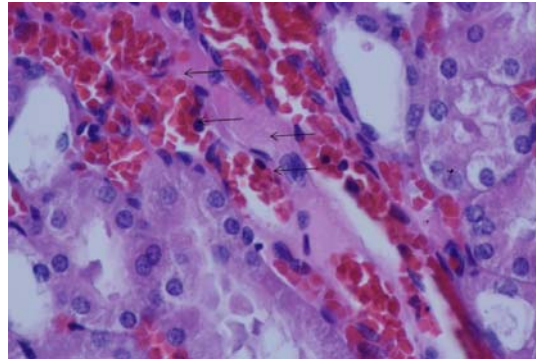
İstatistiksel sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) olarak verildi.



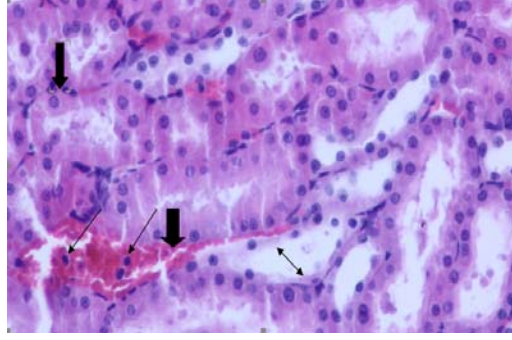
**Şekil 4.7.** Sham grubu böbrek histoloji bulguları. Normal histopatolojik görünüm. (40X)



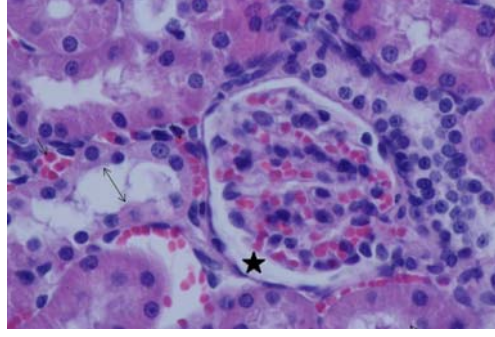
**Şekil 4.8.** Kontrol grubu böbrek histoloji bulguları. (↔) Tübüller genişleme (↙). Tübül hücrelerinin lümen içine dökülmesi. (★) Akut tübüller nekroz ve Bowman kapsül aralığında genişleme. (40X)



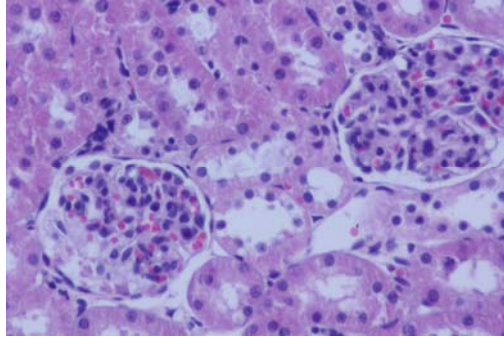
**Şekil 4.9.** Kontrol grubu böbrek histoloji bulguları. Yoğun konjesyon, plazma eksudasyonları (↔), tübüller hücrelerde ödem. (40X)



**Şekil 4.10.** İÖ grubu böbrek histoloji bulguları. Peritübüler konjesyon (↙), ödem, Tübüler epitel nekrozu (↓) ve tubüler dilatasyon (↘) görülmekte. (40X)



**Şekil 4.11.** RÖ grubu böbrek histoloji bulguları. (↘) Hafif peritübüller konjesyon. (★) Minimal bowman kapsül dilatasyon. (↘) Hafif tübüller dilatasyon. (40X)



**Şekil 4.12.** İRÖ grubu böbrek histoloji bulguları. Bowman kapsül aralığı normal sınırlar içinde, tübüler epitel nekroz bulgularının da minimale inmiş görünümü. (40X)

Sham grubuna ait deneklerin böbrek dokularının incelenmesinde normal histopatolojik bulgular tespit edildi.

Kontrol grubunda, bulunan deneklerin böbrek dokularının incelemesinde fokal glomerüler nekroz,(ortalama skor=1,5) Bowman kapsül dilatasyonu (ortalama skor=1,5) ve tübüler epitel nekrozu (ortalama skor=1,5) değerlendirildiğinde yer yer fokal hafif değişiklikler yer yer de multifokal orta derecede değişiklikler tespit edildi. tübüler epitel dejenerasyonu değerlendirilmesinde multifokal orta derecede değişiklikler ve yer yer yaygın multifokal değişiklikler görüldü. ( ortalama skor=2,125). tübüler dilatasyon (ortalama skor=1,75) ve interstisiyel inflamatuvar infiltrasyon (ortalama skor=1,625) yönünden incelendiğinde multifokal orta derecede değişiklikler ağırlıklı histopatolojik bulgular saptandı.

İÖ grubunda bulunan deneklerin böbrek dokularının incelemesinde Bowman kapsül dilatasyonu (ortalama skor=1,25) ve tübüler epitel nekrozu (ortalama skor=1,375) değerlendirilmesinde alanların çoğunluğunda fokal hafif değişiklikler ve 2-3 alanda multi fokal orta derecede değişiklikler tespit edildi. fokal glomerüler nekroz,(ortalama skor=1,5), tübüler dilatasyon (ortalama skor=1,5)ve interstisiyel inflamatuvar infiltrasyon (ortalama skor=1,5) değerlendirildiğinde yer yer fokal hafif değişiklikler yer yer de multifokal orta derecede değişiklikler tespit edildi. tübüler epitel dejenerasyonu (ortalama skor=2) değerlendirilmesinde multifokal orta derecede değişiklikler saptandı.

RÖ grubunda bulunan deneklerin böbrek dokularının incelemesinde Bowman kapsül dilatasyonu (ortalama skor=0,88) , fokal glomerüler nekroz (ortalama skor=1,125) ve interstisiyel inflamatuvar infiltrasyon (ortalama skor=1,125) değerlendirilmesinde fokal hafif değişiklikler tespit edildi. tübüler dilatasyon (ortalama skor=1,375), tübüler epitel dejenerasyon(ortalama skor=1,25) ve tübüler epitel nekrozu (ortalama skor=1,25) değerlendirildiğinde alanların çok büyük bir kısmında fokal hafif değişiklikler çok nadir alanlarda ise multifokal orta derecede değişiklikler saptandı.

İRÖ grubunda bulunan deneklerin böbrek dokularının incelemesinde Bowman kapsül dilatasyonu (ortalama skor=0,625) , fokal glomerüler nekroz (ortalama skor=0,625) interstisiyel inflamatuvar infiltrasyon (ortalama skor=0,625), tübüler dilatasyon (ortalama skor=0,5), tübüler epitel dejenerasyon(ortalama skor=0,75) ve tübüler epitel nekrozu (ortalama skor=0,5) değerlendirildiğinde alanların bir kısmında fokal hafif değişiklikler saptanırken, bir kısım alanda ise normal histopatolojik bulgular görülmüştür.

## 5. TARTIŞMA

İnfrarenal abdominal aort cerrahisi; aortun klemplenmesi sonucu iskemi oluşturur ve aortik klempin kaldırılmasıyla aniden alt ekstremitelere dolaşım yeniden sağlanır. Bu reperfüzyon hasarını başlatır ve iskemi reperfüzyon hasarı olarak tanımlanır (Gülmen vd., 2011; Pararajasingam, Weight, Bell, Nicholson & Sayers, 2000).

İskemi ve reperfüzyon sırasında, iskemiye maruz kalan bölgede hasar oluşurken, ayrıca uzak organ ve dokularda da hasar oluşur. Aortik IR hasarı sonucu; serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin oluşumu, sistemik vazokonstrüktif mediatörler, nötrofil aktivasyonu, lipid peroksidasyonu ve sistemik enflamatuvar yanıt meydana gelir. Bunlar, uzak organ hasarına neden olmaktadır (Gülmen vd., 2011; Kaklıkkaya vd., 2010). Bu uzak organlar arasında en çok etkilenen akciğer ve böbreklerdir. Özellikle alt ekstremitte IR dönemi sonrası meydana gelen uzak organ hasarında akciğerler ve böbrekler hedef organ konumundadır ve klinikte büyük önemi vardır. Abdominal aort iskemi-reperfüzyon sonrasında meydana gelen akciğer ve böbrek hasarı önemli derecede ameliyat sonrası morbidite ve mortaliteye sebep olur (Kaklıkkaya vd., 2010; Ozcan vd., 2007).

İnsan serum albümininin ilk üç amino asidi kobalt, nikel ve bakır için bağlanma bölgelerini içermektedir. Akut iskemik durumlarda, Albuminin N-terminal bölgesinde metal bağlama kapasitesi azalmakta ve bir metabolik protein oluşmaktadır. Bu değişim ölçülebilir ve İMA olarak bilinir (Keating vd., 2006; Turedi vd., 2008).

Yaptığımız literatür taramalarında ratlarda İMA seviyeleri; mezenter iskemisi (Gunduz vd., 2009), testis iskemisi (Yuluğ vd., 2014), over iskemisinde (Gencer vd., 2014) ölçülmüştür. Ayrıca ratlarda aort cerrahisi sonrası bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısında İMA seviyelerine bakılmıştır (Guner vd., 2014). İnsanlarda ise, aort patoloji tanısında iskemi modifiye albümin tanısız değerine bakılmıştır (Eroğlu vd., 2014). Fakat fukoidinin rat aortik iskemi reperfüzyon modeli üzerine etkisinde İMA düzeyleri seviyelerine bakılan bir literatüre rastlanmamıştır.

Anwaruddin ve arkadaşları, iskemi modifiye albuminin miyokard iskemisi tanısında standart kardiyak belirteçlerin faydalanılabilirliğini artırdığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada standart kardiyak belirteçlerden olan miyogloblin, kreatin kinaz-MB ve troponin I ile birlikte değerlendirilmiştir. Bu çalışmada İMA' nın son derece hassas ve yüksek negatif prediktif değere sahip olduğu, ayrıca miyokard iskemisi standart belirteçlerin yararını geliştirmede faydalı olabileceğini belirtmiştir (Anwaruddin, Januzzi, Baggish, Lewandrowski & Lewandrowski, 2005).

Bhakthavatsala ve arkadaşları, akut koroner sendromda iskemi modifiye albuminin rolünü araştırmışlardır. Non-iskemik göğüs ağrısı, unstable angina veya miyokard infarktüsü bulunan hastalarda İMA değerlerine bakmışlardır. İMA' nın non-iskemik göğüs ağrısına göre, miyokard iskemisi ve unstable anginada anlamlı şekilde arttığı belirtilmiştir. Ancak miyokard iskemisi ve unstable angina arasında önemli derecede bir anlamlılık bulunamamıştır (Bhakthavatsala, Cyriac & Desle, 2013).

Guner ve arkadaşları, sıçan modelinde aort cerrahisi sonrası iskemi reperfüzyonda fluoksetinin etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada abdominal aort klemplenerek akciğerde oluşan uzak organ hasarı bronkoalveoler lavaj sıvısından değerlendirilmiştir. Burada kontrol grubuna göre iskemi-reperfüzyon grubunda İMA değerinin anlamlı bir şekilde arttığını ve fluoksetin verilen grupta ise anlamlı olarak düşüş olduğu belirtilmiştir (Guner vd., 2014).

Çalışmamızda İMA düzeylerinin; sham grubuna göre kontrol grubunda ileri derecede önemli düzeyde arttığını belirledik. Kontrol grubuna göre, fukoidin uygulanan gruplardan İRÖ ve RÖ gruplarında ileri derecede önemli azalma meydana gelmiştir. İÖ grubunda ise azalma meydana gelirken istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yine tedavi gruplarımıza baktığımızda; İÖ grubuna göre, RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli düzeyde azalma meydana gelmiştir. Fakat RÖ ve İRÖ grupları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Bu bize fukoidinin reperfüzyondan önce uygulandığında İMA düzeyleri üzerine etkili olduğunu gösterdi.

Yaptığımız literatür taramalarında; iskemi oluşturulan ratlarda İMA düzeyleri ölçülmüştür. Fakat fukoidin ile tedavi grubu oluşturularak İMA düzeylerinin bakıldığı bir literatüre rastlanmamıştır. Bu çalışmada, iskemi durumunda meydana gelen; hipoksi, asidoz ve serbest radikal hasarının albuminin N-terminal bölgesinde metal bağlama kapasitesi azalttığını ve bu nedenle kontrol grubunda İMA düzeyleri artarken, RÖ ve İRÖ grubunda fukoidinin serbest radikal hasarını azaltması nedeniyle İMA' ni anlamlı şekilde azalttığını, fakat İÖ grubuna uygulanan fukoidinin iskemiden önce olması nedeniyle etkisini tam olarak göstermediğini düşünmekteyiz.

Chen ve arkadaşları, renal iskemi-reperfüzyonda fukoidinin etkisini araştırmışlardır. Burada böbrek iskemisi yapılmadan önce, 7 gün boyunca farelerin periton boşluğuna fukoidin enjekte edilmiştir. Daha sonra böbrek iskemisi ve reperfüzyonu oluşturularak, kan ve böbrek dokuları alınmıştır. Burada IR uygulanan farelerin BUN ve kreatinin seviyelerinin önemli düzeyde arttığı, böbrek morfolojisinin ve fonksiyonlarının ileri derecede bozulduğu bulunmuştur. Fukoidin uygulanan ratlarda, BUN ve kreatinin miktarının düştüğünü, böbrek morfolojisinin ve fonksiyonlarının önemli derecede



düzeldiği belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada IR oluşturulan ratlarda böbrek dokusu MPO düzeyleri artarken, fukoidin verilen grupta böbrek dokusu MPO düzeylerinde önemli ölçüde azalma olduğu belirtilmiştir. IR uygulananan ratların böbrek dokusunda MDA düzeylerinde önemli ölçüde artış bulunmuştur. Fakat fukoidin verilen grupta böbrek dokusunda MDA seviyelerinin önemli ölçüde azalmadığı bulunmuştur. Sonuç olarak, fukoidin ile tedavinin inflamatuvar hücre infiltrasyonunu engellediği ve lökosit rollingini inhibe ettiği belirtilmiştir (Chen vd., 2013).

Çetin ve arkadaşları, epigastrik ada fleplerinde iskemi reperfüzyon sonrası fukoidinin etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada ratların karın derileri traşlanarak epigastrik ada flepleri oluşturulmuştur. Daha sonra kontrol ve deney gruplarında proksimal femoral arter mikrovasküler bir klemp ile kapatılarak 6 saatlik ve 10 saatlik iskemi grubu oluşturulmuştur. Bu iki iskemi grubuna fukoidinin doza bağımlı etkisi araştırmak için 10mg/kg ve 25mg/kg fukoidin verilmiştir. Burada fukoidin reperfüzyondan hemen önce intraperitoneal olarak verilmiştir. Daha sonra fleplerden deri örnekleri alarak MDA ve MPO düzeyleri bakılmıştır. 6 saatlik iskemi oluşturulan grupta hem MDA hem de MPO düzeylerinin anlamlı olarak arttığı belirtilmiştir. Bu gruba fukoidin uygulandığında ise, hem 10 mg/kg hem de 25mg/kg fukoidin verilen her iki tedavi grubunda da MPO nun ve MDA nın anlamlı olarak azaldığı belirtilmiştir. 10 saatlik iskemi oluşturulan grupta ise hem MDA hem de MPO düzeylerinin anlamlı olarak arttığı belirtilmiştir. Bu gruba fukoidin uygulandığında ise, hem 10 mg/kg hem de 25mg/kg fukoidin verilen her iki tedavi grubunda da MPO nun anlamlı olarak azaldığı, MDA' nın ise azaldığı fakat anlamlılık göstermediği belirtilmiştir. Yüksek dozda fukoidin verildiğinde, flep sağ kalımının daha yüksek olduğunu, bunu da fukoidinin nötrofillerin rolling etkisini inhibe ederek gerçekleştirdiği bulunmuştur (Çetin vd., 2001).

Bojakowski ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, fukoidinin sıçan böbrek iskemi reperfüzyon hasarının erken evresinde böbrek kan akımını artırdığını belirtmişlerdir (Bojakowski vd, 2001). Bu koruyuculuğun nedenini ise, P-selektinin baskılanması ile iskemi reperfüzyonda oluşan nötrofil infiltrasyonunun azalması olduğunu belirtmişlerdir. Fukoidinin de, P-selektin inhibitörü olması nedeniyle iskemi reperfüzyona bağlı post iskemik renal kan akışını önemli dercede artırdığı belirtilmiştir (Singbartl, Green & Ley, 2000).

Literatürü taradığımızda abdominal aort iskemisinin uzak organ hasarı oluştuğuna dair çalışmalar mevcuttur.

Gulmen ve arkadaşları, abdominal aort iskemi-reperfüzyonunun indüklediği böbrek hasarını araştırmışlardır. Bu çalışmada abdominal aortaya klemp koyulmuş ve 120 dakika sonra klemp kaldırılarak reperfüzyon

başlatılmıştır. Reperfüzyonda 120 dakika uygulandıktan sonra kan alınıp, böbrek dokuları alınarak sakrifiye edilmiştir. Bu çalışmada böbrek dokusunda MDA, katalaz, MPO, serumda ise BUN ve kreatinin seviyeleri kontrol grubuna göre, aortik iskemi uygulanan grupta daha yüksek bulunmuştur. İstatistiksel olarak MDA, MPO, katalaz seviyelerinde önemli derecede anlamlı olduğu belirtilmiştir (Gulmen vd., 2009).

Yine Gulmen ve arkadaşları, deneysel aortik iskemi-reperfüzyonda beta-glukanın akciğer hasarı üzerine etkisini araştırmışlardır. Burada yine 120 dakika abdominal aort iskemisi ve 120 dakika reperfüzyon uygulanmıştır. Bu çalışmada, beta-glukanın sıçanlarda aortik İR'nin indüklediği akciğer hasarı üzerine koruyucu etkileri olduğu gösterdiği belirtilmiştir. Aortik İR'nin indüklediği akciğer hasarında, beta-glukanın doku MDA, katalaz ve MPO değerlerinde anlamlı azalma sağladığı ve ayrıca histopatolojik değişiklikleri de anlamlı şekilde azalttığı bulunmuştur. Burada beta-glukanın, oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve lökosit infiltrasyonunu azalttığı belirtilmiştir (Gulmen vd., 2010).

Bizim çalışmamıza benzer olarak yapılan bir deneysel aortik iskemi-reperfüzyonda fukoidinin akciğer ve böbrek hasarı üzerine etkisini araştıran bir çalışma literatür taramalarında bulunamamıştır. Fakat beta-glukanın da hem nötrofil infiltrasyonunu hem de oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunu azalttığı belirtildiği aortik iskemi-reperfüzyonun akciğer ve böbrek hasarı üzerine etkisini araştıran benzer çalışmalar mevcuttur.

Çalışmamızda serum, böbrek ve akciğer doku MDA düzeylerinin; sham grubuna göre kontrol grubunda ileri derecede önemli düzeyde arttığını belirledik. Kontrol grubuna göre, fukoidin uygulanan gruplardan İRÖ grubunda ve RÖ grubunda ileri derecede önemli azalma meydana gelirken, İÖ grubunda ise istatistiksel olarak anlamlılık yoktu. Yine tedavi gruplarımıza baktığımızda; İÖ grubuna göre, RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli düzeyde azalma meydana gelmiştir. Serum ve akciğer dokusunda, RÖ ve İRÖ grupları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Böbrek dokusunda ise RÖ grubuna göre ve İRÖ grubunda önemli derecede azalma gözlenmiştir. Bu bize fukoidinin reperfüzyondan önce uygulandığında, uzak organ doku MDA düzeyleri üzerine etkili olduğunu gösterdi.

Serbest oksijen radikalleri aracılığı ile oluşan İR hasarı lipid peroksidasyonu ile yakından ilişkilidir. Serbest oksijen radikalleri DNA ve protein düzeyinde zararlı etki oluşturmaktadır. Ayrıca, fosfolipid ve poliansature yağ asitlerini içeren hücre membranında geçirgenliği bozarak, hücre içi kalsiyum birikimi ve hücre ölümüne sebep olmaktadır. Bu nedenle, hücre membranının lipid peroksidasyonu İR hasarının önemli bir basamağıdır. Malondialdehit, lipid peroksidasyonunda bir son üründür ve oksidatif hasarın

düzeşinin hassas bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Gülmen vd., 2011; Nielsen, Mikkelsen, Nielsen, Andersen & Grandjean, 1997).

Bu çalışmada, sham grubuna göre, kontrol grubunun MDA seviyelerinin artması bize lipit peroksidasyonunun iskemi reperfüzyon hasarı nedeniyle arttığını gösterdi. Yine fukoidin uygulandığında, fukoidinin antioksidan etkisi nedeniyle serbest oksijen radikallerinin oluşumunu azaltarak, lipit peroksidasyonunu azalttığını gösterdi. Fukoidini iskemi öncesi uyguladığımızda ise, antioksidan seviyesinin yeterince azaltmadı. Bunun nedeninin ise, iskemik dokularda oksijen sağlanamadığından serbest oksijen radikali üreten mekanizmaların tam olarak fonksiyon görmediğini, ayrıca kan akımı ve oksijen sağlanması ile serbest oksijen radikallerinin üretiminin artmasının olduğunu düşünmekteyiz.

Li ve arkadaşları, miyokard iskemi reperfüzyonunda fukoidinin etkisini araştırdıkları deneşsel bir çalışma yapmışlardır. Yapılan çalışmada; fukoidinin, infarktüsün boyutunu azalttığı, hemodinamiği iyileştirdiği, miyokard hasarı şiddetini hafiflettiği, PMN infiltrasyonu ve MPO aktivitesi azalttığı bulunmuştur. İskemi reperfüzyon hasarından gelen, miyokard fonksiyonunu fukoidin'in koruduğı belirtilmiştir (Li vd., 2011).

Omata ve arkadaşları, sıçanlarda miyokard iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine polisakkarit fukoidinin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Burada sıçan miyokardına 30 dakikalık iskemi ve 6 saatlik reperfüzyon modeli uygulanmıştır. Reperfüzyondan 10 dakika önce fukoidin verilmiş ve MPO aktivitesi ölçülmüştür. Kontrol grubuna göre fukoidin uygulanan grupta MPO aktivitesi önemli ölçüde azalmıştır. Polisakarit olan fukoidinin venüller lökosit rollingi inhibe etmek için P ya da L-selektin bağlandığı bilinmektedir. Bu çalışmada, fukoidinin sıçan miyokardiyal iskemi-reperfüzyon yaralanması sonucu miyokardiyal-enfarktüs boyutunu ve nötrofil birikimini azalttığı gösterilmiştir (Omata, Matsui, Inomata, & Ohno, 1997).

Çalışmamızda serum, böbrek ve akciğer doku MPO düzeylerinin; sham grubuna göre kontrol grubunda ileri derecede önemli düzeyde arttığını belirledik. Kontrol grubuna göre, fukoidin uygulanan gruplardan İRÖ grubunda ve RÖ grubunda ileri derecede önemli azalma meydana gelirken, İÖ grubu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yine tedavi gruplarımıza baktığımızda; İÖ grubuna göre, RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli düzeyde azalma meydana gelmiştir. Fakat RÖ ve İRÖ grupları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Bu bize fukoidinin reperfüzyondan önce uygulandığında, uzak organ doku MPO düzeyleri üzerine etkili olduğunu göstermiştir.

İR hasarında myeloperoksidaz aktivitesinin artması, nötrofil birikimi olduğunu göstermektedir. Aortik İR hasarında nötrofil infiltrasyonu önemli bir role sahiptir. MPO lökositlerde lokalize bir enzimdir, deneysel çalışmalarda uzak organ olarak akciğer ve böbrek gibi pek çok dokuda IR hasarında nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olarak kullanılmaktadır. MPO aktivitesi ile MDA konsantrasyonu korelasyon gösterir. Bu korelasyon, lipid peroksidasyonunun nötrofil kaynaklı SOR ile oluştuğunu gösterir. MPO aktivitesindeki artışın nedeni olarak, hücre zarı fosfolipidlerinin lipoperoksidasyonu sonucu oluşan fosfolipid kaynaklı araçılara (örneğin PAF) bağlı da oluşabileceği belirtilmiştir (Gulmen vd., 2010; Gülmen vd., 2011; Otamiri, Lindahl & Tagesson, 1988).

Yaptığımız çalışmada, sham grubuna göre kontrol grubunda MPO seviyelerinin artması, reperfüzyonda akciğer ve böbrek hasarını oluşturan mekanizmalardan biri olan, endotele yapışan nötrofillerin etkisiyle serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasıyla endotelde hasar oluşturduğunu gösterdi. Yine fukoidininin P ve L selektini önleyerek, nötrofil adezyonunu inhibe etmesiyle, RÖ ve İRÖ grubunda MPO düzeyleri anlamlı şekilde azalmıştır. İskemide nötrofil infiltrasyonunun olmaması nedeniyle de, İÖ grubuna uygulanan fukoidinin MPO düzeylerini anlamlı olarak azaltmadığını düşünmekteyiz.

Aortik İR hasarı oluşumunda, SOR'nin oluşumu çok önemlidir. Reperfüzyon sonucu O<sub>2</sub> düzeyinin tekrar sağlanması ve moleküler O<sub>2</sub>'nin hücre içerisinde oksidatif enzimler tarafından indirgenmesi, SOR üretimini artırır. Bilinen en önemli SOR'ler; süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve hidroksil (OH<sup>-</sup>) iyonlarıdır. Süperoksit radikali, normal hücre metabolizmasında membran elektron transportu sırasında oluşur. İskemik koşullarda ise, hipoksantin ve ksantin katabolizması sırasında ksantin oksidaz katalizörlüğünde bir reaksiyon ile süperoksit anyonları üretilir. SOD, süperoksitin hidrojen peroksitine dönüşümünü katalizler. Katalaz enzimi SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksiti, su ve oksijene çevirir. Burada; SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz, SOR'e karşı savunma ve en önemli hücre içi antioksidan enzimleridir (Granger, 1988; Gülmen vd., 2011).

Çalışmamızda böbrek ve akciğer doku katalaz düzeylerinin; sham grubuna göre kontrol grubunda ileri derecede önemli düzeyde arttığını belirledik. Kontrol grubuna göre, fukoidin uygulanan gruplardan İRÖ grubunda ve RÖ grubunda ileri derecede önemli azalma meydana gelirken, İÖ grubu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yine tedavi gruplarımıza baktığımızda; İÖ grubuna göre, RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli düzeyde azalma meydana gelmiştir. Fakat RÖ ve İRÖ grupları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Bu bize fukoidinin reperfüzyondan önce

uygulandığında, uzak organ doku katalaz düzeyleri üzerine etkili olduğunu gösterdi.

Bu çalışmada da, sham grubuna göre kontrol grubunda katalaz seviyelerinin artmasını, reperfüzyonda akciğer ve böbrek hasarını oluşturan mekanizmalardan biri olan, serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasıyla katalazın antioksidan aktivite gösterdiğini düşünmekteyiz. Yine fukoidin antioksidan etkisi nedeniyle SOR' lerinin etkilerini azaltarak, RÖ ve İRÖ grubunda katalaz düzeyleri anlamlı şekilde azalmıştır. Fukoidini iskemik öncesi uyguladığımızda ise, antioksidan seviyesini yeterince azaltmadı. Bunun nedeninin ise, iskemik dokularda oksijen sağlanamadığından serbest oksijen radikali üreten mekanizmaların tam olarak fonksiyon görmediğini, ayrıca kan akımı ve oksijen sağlanması ile serbest oksijen radikallerinin üretiminin artmasının olduğunu düşünüyoruz.

Nitrik oksit IR hasarında önemli ve tartışmalı bir rol oynamaktadır (Cure vd., 2014). NO, trombosit aggregasyonunu engeller ve nötrofillerin yapışmasını azaltır (Liu, Yin, Nagele, & Wong, 1998). Nitrik oksit (NO), SOR bileşiklerinden biridir ve nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığı ile arjininden üretilmektedir. NO' in organizmada çift yönlü etki gösterdiği bildirilmektedir. NO, birçok fizyolojik fonksiyonun gerçekleşmesi için gereklidir ve antioksidan savunmaya katkıda bulunur. Fakat, aşırı üretim durumunda radikal etki gösterdiği ve peroksinitrit gibi daha güçlü radikal bileşiklerin oluşmasına yol açtığı belirtilmektedir (Kurtuluş, Eskiocak, Tütüncüler, Başaran & Gülen, 2003).

Bu çalışmada, serum, böbrek ve akciğer doku NO düzeylerinin; sham grubuna göre kontrol grubunda ileri derecede önemli düzeyde arttığını belirledik. Kontrol grubuna göre, fukoidin uygulanan gruplardan İRÖ grubunda ve RÖ grubunda ileri derecede önemli düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubu ise istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yine tedavi gruplarımıza baktığımızda; İÖ grubuna göre RÖ ve İRÖ gruplarında ileri derecede önemli düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ayrıca RÖ ve İRÖ grupları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Bu bize fukoidinin reperfüzyondan önce uygulandığında, serum NO düzeyleri üzerine etkili olduğunu gösterdi.

Çalışmamızda, infrarenal AKK sırasında, böbrek ve akciğerde hücre hasarına sebep olan peroksinitrit ve hidroksil iyonları gibi serbest oksijen radikallerini artırdığı için, kontrol grubunda sham grubuna göre nitrik oksitin arttığını düşünüyoruz. Yine İÖ ve İRÖ grubunda, fukoidinin antioksidan etkisi nedeniyle azaldığını düşünmekteyiz.

İkizler ve arkadaşları, alt ekstremitelerde iskemisi için abdominal aortayı klempledikleri bir hayvan modeli oluşturmuşlardır. Burada oksidatif stres belirteçlerinden olan protein karbonilde kontrol grubuna göre, iskemi olan grupta istatistiksel olarak önemli azalma ve protein sülfidride ise kontrol grubuna göre iskemi olan grupta istatistiksel olarak önemli artış olduğunu belirtmişlerdir (Ikizler vd., 2006).

Veena ve arkadaşları, renal peroksidatif değişikliklerde fukoidinin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada fukoidin verilen grupta glomerüller tübüllerdeki dilatasyonu normale yakın bir şekilde azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca oksidatif strese bağlı olarak artan protein karbonil ve azalan protein sülfidril gruplarının, fukoidin verildiğinde, protein karbonilde azalma görülürken, protein sülfidride artma görüldüğü bulunmuştur. Ayrıca antioksidan enzim aktivitelerini artıran fukoidinin MDA düzeyini azaltmak üzerine önemli bir etkisi olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada peroksidatif yaralanmaya karşı fukoidinin koruyucu olduğu belirtilmiştir (Veena, Josephine, Preetha, Varalakshmi & Sundarapandiyani, 2006).

Serbest radikaller, doku protein yapılarında da oksidasyona neden olurlar (Erdem vd., 2010). Protein karbonil (PCO) düzeylerinde artma ve protein tiol düzeylerinde azalma meydana gelmesi, oksidatif protein hasarının önemli bir göstergesidir. PCO, reaktif oksijen türlerinin proteinlerle etkileşimi nedeniyle; histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi çok sayıda amino asit kalıntısında ve/veya peptid omurgasında meydana gelen oksidatif hasar sonucunda, meydana gelmektedir. Oksidatif protein hasarını belirlemede, PCO düzeylerinin ölçümü oldukça duyarlı bir yöntemdir. Ayrıca, serbest radikaller proteinlerdeki tiol gruplarında oksidasyon meydana getirerek, oksidatif protein hasarına yol açarlar. Protein tiollerini, antioksidan özellik gösterir. Bunun için, peroksidasyonu başlatan oksidanları tutarlar (Çakatay, Telci, Yılmaz, Akçay & Sivas, 2000).

Çalışmamızda plazma PCO düzeylerinin; sham grubuna göre kontrol grubunda ileri derecede önemli düzeyde arttığını belirledik. Kontrol grubuna göre, fukoidin uygulanan gruplardan İRÖ grubunda ve RÖ grubunda ileri derecede önemli düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda ise istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı. Yine tedavi gruplarımıza baktığımızda; İÖ grubuna göre İRÖ ve RÖ gruplarında ileri derecede önemli düzeyde azalma meydana gelmiştir. Ayrıca RÖ ve İRÖ grupları arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Bu bize fukoidinin reperfüzyondan önce uygulandığında, plazma PCO düzeyleri üzerine etkili olduğunu gösterdi.

Bu çalışmada, plazma P-SH düzeylerinin; sham grubuna göre kontrol grubunda önemli düzeyde azalma belirledik. Kontrol grubuna göre, fukoidin uygulanan gruplardan İRÖ grubunda ileri derecede önemli düzeyde artma

meydana gelirken, RÖ grubunda önemli düzeyde artma meydana gelmiştir. İÖ grubunda ise bir artış olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yine tedavi gruplarımıza baktığımızda; İÖ grubuna göre İRÖ ve RÖ gruplarında ileri derecede önemli düzeyde azalma meydana gelmiştir. Ayrıca RÖ ve İRÖ grupları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Bu bize fukoidinin reperfüzyondan önce uygulandığında, plazma P-SH düzeyleri üzerine etkili olduğunu gösterdi.

Yaptığımız çalışmada, reaktif oksijen türlerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda, sham grubuna göre kontrol grubunda PCO düzeyleri artmış ve serbest radikallerin proteinlerdeki tiol gruplarının oksidasyonuna yol açarak oksidatif protein hasarına neden olması nedeniyle P-SH düzeyleri azalmıştır.

Artieda ve arkadaşları, aterosklerozda serum kitotriozidaz seviyelerini araştırmışlardır. Bu çalışmada ateroskleroz hastalığı olan kişilerde, serum kitotriozidaz aktivitesinin önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. Ayrıca aterosklerozun değerlendirilmesinde, kitotriozidazın önemli bir belirteç olabileceği belirtilmiştir (Artieda vd., 2003).

Sotgiu ve arkadaşları, akut iskemik inmeli hastalarda kitotriozidaz seviyelerini araştırmışlardır. Makrofaj aktivasyonunun spesifik bir belirteci olarak, akut iskemik inmeli hastalarda kitotriozidaz seviyelerinin arttığı belirlenmiştir (Sotgiu vd., 2005).

Kitotriozidaz enzimi, başlıca aktiflenmiş makrofajlardan ve nötrofillerden salgınır. Granülosit-makrofaj koloni-uyaran faktör(GM-CSF), hem makrofaj hem de nötrofillerden kitotriozidaz salgınımını uyarırlar (Bargagli, Maggiorelli, & Rottoli, 2008). Periferal makrofajlar, akut / kronik enflamatuar durumların oluşması sırasında son derece aktif oldukları için, CHIT bu koşullarda oldukça fazla miktarda artmaktadır (Kanneganti, Kamba & Mizoguchi, 2012).

Çalışmamızda plazma CHIT düzeylerinin; sham grubuna göre kontrol grubunda önemli düzeyde arttığını belirledik. Kontrol grubuna göre, fukoidin uygulanan gruplardan İRÖ grubunda ve RÖ grubunda önemli düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yine tedavi gruplarımıza baktığımızda; İÖ grubuna göre İRÖ ve RÖ gruplarında istatistiksel olarak anlamlılık belirlenemedi.. Ayrıca RÖ ve İRÖ grupları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Bu bize fukoidinin reperfüzyondan önce uygulandığında, plazma CHIT düzeyleri üzerine etkili olduğunu gösterdi.

Bu çalışmada, sham grubuna göre kontrol grubunda kitotriozidaz seviyelerinin artması, reperfüzyonda oluşan nötrofillerin etkisiyle olduğunu düşünmekteyiz. Yine fukoidininin P ve L selektini önleyerek, nötrofil adezyonunu inhibe etmesiyle, RÖ ve İRÖ grubunda kitotriozidaz düzeyleri

anlamli şekilde azalttığını düşünmekteyiz. İskemide nötrofil infiltrasyonunun olmaması nedeniyle de, İÖ grubuna uygulanan fukoidinin kitotriozidaz düzeylerinin anlamlı olarak azaltmadığını düşünmekteyiz.

Zhang ve arkadaşları, fucoidinin aktif Heyman nefritlerinde proteinüri gelişimi engellediğini tesbit etmişlerdir. Bu çalışmada, 50 mg/kglık bir dozda fukoidin uygulanan ratlarda, plazma kreatinin seviyesi üzerinde herhangi bir etkisi bulunamamış olmasına rağmen, 100 ve 200 mg/kg arasında bir dozda fukoidin uygulanan ratlarda plazma kreatinin normal seviyelere gerilediği gözlenmiştir. Fukoidinin aktif Heyman nefritlerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Zhang vd., 2005).

Chen ve arkadaşlarının yaptığı böbrek iskemisinde kreatinin ve BUN değerleri önemli derecede artarken, fukoidin uygulanan grupta önemli düzeyde azalmanın olduğu bulunmuştur (Chen vd., 2013).

Çalışmamızda serum kreatinin düzeylerinin; sham grubuna göre kontrol grubunda ileri derecede önemli düzeyde arttığını belirledik. Kontrol grubuna göre, fukoidin uygulanan gruplardan İRÖ grubunda ve RÖ grubunda ileri derecede önemli düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yine tedavi gruplarımıza baktığımızda; İÖ grubuna göre İRÖ ve RÖ gruplarında ileri derecede önemli düzeyde önemli bir azalma bulunmuştur. Ayrıca RÖ ve İRÖ grupları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Bu bize fukoidinin reperfüzyondan önce uygulandığında, serum kreatinin düzeyleri üzerine etkili olduğunu gösterdi.

Bu çalışmada, serum BUN düzeylerinin; sham grubuna göre kontrol grubunda ileri derecede önemli düzeyde arttığını belirledik. Kontrol grubuna göre, fukoidin uygulanan gruplardan İRÖ grubunda ve RÖ grubunda ileri derecede önemli düzeyde azalma meydana gelirken, İÖ grubunda istatistiksel olarak anlamlı anlamlılık bulunamadı. Yine tedavi gruplarımıza baktığımızda; İÖ grubuna göre İRÖ ve RÖ gruplarında ileri derecede önemli düzeyde azaldığını belirledik. Ayrıca RÖ ve İRÖ grupları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Bu bize fukoidinin reperfüzyondan önce uygulandığında, serum BUN düzeyleri üzerine etkili olduğunu gösterdi.

Veena ve arkadaşları, sıçanlarda renal peroksidatif değişikliklerde fukoidinin koruyucu rolünü değerlendirmiştir. Renal peroksidatif hasar sonucu; histoloji sonuçlarına göre, tübüler dilatasyon, glomerüller büzülme ve mononükleer infiltrasyon olduğu belirtilmiştir. Fukoidin ile tedavi edilen sıçanlarda ise, normal glomerüller ve tübüller yapı olduğu gözlenmiştir (Veena vd., 2006).



Çetin ve arkadaşları sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlarda, trakeobronşiyal ve akciğer parankim hasarında fukoidinin inhibitör etkisini araştırmıştır. Burada sigara dumanına maruz kalan grupta, trakeada goblet hücre sayısında artış ve bölgesel silia kabı, artmış mukus sekresyonu ve vakuolizasyon gözlenmiştir. Fukoidin verilen grupta ise mukus sekresyonunun azaldığı, trekea epitel hücreleri ve siliaların normal görünümde olduğu belirlenmiştir. Akciğer hücrelerinde ise, intra alveolar kanama, atelektazi, makrofaj ve lökosit hücre sayısında artış gözlenmiştir. Fukoidin verilen grupta ise, normal alveol gözlenmiştir. Ayrıca atelektazi, makrofaj ve lökosit hücre sayısında azalma olduğu belirlenmiştir. Fukoidinin, trakeo epitel ve akciğer parankim hasarını azalttığı belirlenmiştir (Çetin, Özyılmaz, Bayçu, Köse, & Karabağlı, 2003).

Bizim çalışmamızda, histolojik olarak böbrek fokal glomeruler nekroz, bowman kapsül dilatasyonu, tubuler epitel dejenerasyonu, tubuler epitel nekrozu, tubuler dilatasyon ve interstisiyel inflamatuvar infiltrasyon yönünden inceleme yapıldı ve bu bulgulara göre skorlama yapıldı. Skorlar değerlendirilip toplam skor elde edildi.

Akciğer dokularının histolojik incelemesinde ise, fibrin platelet trombüs varlığı, kronik inflamasyon, intra alveolar kanama, ödem, konjesyon ve PMNL yönünden inceleme yapıldı ve bu bulgulara göre skorlama yapıldı. Skorlar değerlendirilip toplam skor elde edildi.

Literatürde, fukoidinin böbrek fonksiyonları (Chen vd., 2013; Veena vd., 2006) ve akciğerler (Çetin vd., 2003) üzerine fukoidinin histopatolojik olarak iyileştirici etkisi gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak kontrol grubuna göre, hem RÖ hem de İRÖ ilaç uygulanan gruplarda, histolojik olarak böbrek ve akciğer dokularındaki hasarda önemli derecede azalma gözlenmiştir.

İskemi reperfüzyon hasarının temelini, reperfüzyon sırasında dokunun oksijenizasyonu sonucu meydana gelen serbest oksijen radikalleri oluşturmaktadır. Reperfüze olan dokuda serbest oksijen radikalleri oluşumuna bağlı nekrotik değişiklikler oluşabilir. Reaktif oksijen radikalleri birçok kaynaktan salınabilir. En önemli olanı ise aktive nötrofillerdir. Aortik iskemi reperfüzyon (AIR) hasarı sırasında serbest oksijen radikallerinin, sistemik vazokonstriktörlerin salınması ve nötrofillerin aktivasyonu; böbrek, akciğer ve birçok uzak organda doku hasarına yol açmaktadır. Reperfüzyonda akciğer hasarını oluşturan en önemli mekanizma; endotele yapışan nötrofillerin etkisiyle serbest oksijen radikalleri ve proteolitik enzimlerin ortaya çıkması ve bunlarında endotelde hasar meydana getirmesidir. Bununla birlikte, plazmada bulunan proinflamatuvar ajanlardan kompleman faktörleri, sitokinler (IL-6;IL-8;TNF), trombosit aktive edici faktör ve lökotrienler de

endotel hücrelerinde hasarında rol oynar. Pulmoner vazokonstriksiyon, hipertansiyon ve artmış pulmoner vasküler geçirgenlik endotel hücre fonksiyon bozukluğunun akciğerlerde en sık görülen sonuçlarıdır (Ekim vd., 2005; Kiris, Okutan, Savas, Yonden & Delibas, 2005). Ayrıca böbrekte İskemi reperfüzyona bağlı olarak; renal hasar, tübül ve vasküler yataktaki kompleks birtakım değişiklikler meydana gelmektedir (Bonventre & Weinberg, 2003).

Fukoidin, hidrojen peroksit temizleme deneyinde; oldukça kuvvetli bir serbest radikal süpürme aktivitesini göstererek, DNA hasarına karşı güçlü bir koruyucu etki göstermiştir (Heo, Park, Lee & Jeon, 2005). Fukoidin, deniz kökenli polisakaridler içinde benzersiz bir antioksidan potansiyele sahiptir (Veena, Josephine, Preetha, Rajesh & Varalakshmi, 2008).

Fukoidin P ve L selektini önleyerek, lökosit adezyonunu inhibe eder. Böylece kalp, karaciğer, böbrek gibi bütün organlarda inflamasyonu azaltır (Fitton, 2011).

Fukoidinin mitokondriyal hasar ve böbrek yetmezliğine karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir (Mohamed, Hashim & Rahman, 2012; Veena et al., 2008). Ayrıca akciğerlerde pulmoner fibrozisi inhibe ettiği belirtilmiştir (Jiang & Guan, 2009; Mohamed vd., 2012).

İskemik dokularda, oksijen sağlanamadığından serbest oksijen radikali üreten mekanizmalar tam olarak fonksiyon görmezler. Kan akımı ve oksijen sağlanması ile büyük miktarlardaki serbest oksijen radikali üretilir ve böylece reperfüzyon hasarı indüklenir (Cuzzocrea vd., 2001; Şener & Yeğen, 2009).

Reperfüzyon; iskemik dokularda, süperoksit anyon ( $O_2^-$ ) hidroksil radikalleri ( $OH^-$ ), hipokloröz asit ( $HOCl$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve NO den türeyen peroxynitrite de dahil olmak üzere SOR oluşumuna neden olur (Eltzschig & Collard, 2004).

Bu çalışmada; aortaya infrarenal kros-klempin konması iskemi-reperfüzyona bağlı olarak böbrekler ve akciğerlerde uzak organ hasarı geliştirmiştir. Çalışmamızda histopatolojik ve biyokimyasal verilere dayanarak, fukoidinin reperfüzyon öncesi ve hem iskemi hem de reperfüzyon öncesi uygulanmasının böbrekler ve akciğerlerde gelişen uzak organ hasarını azaltabileceğini düşünmekteyiz. Yine çalışmamızda histopatolojik ve biyokimyasal verilere dayanarak, fukoidinin iskemi öncesi uygulanmasının uzak organ hasarı üzerine bir miktar etkili olduğu, fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirledik. Bunun iskemide tamamen kan akışının durması, reperfüzyonda ise nötrofil infiltrasyonu ve serbest oksijen radikal hasarının olması ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz. Sonuç olarak, fukoidinin

reperfüzyon hasarından hemen önce verilmesinin iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkileri olabilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada biyokimyasal ve histopatolojik testler kullanılarak, abdominal aortaya klemp konulması sonucu oluşan uzak organ hasarında akciğer ve böbreklere fukoidinin etkisi belirlenmiştir.

Çalışmamızda abdominal aort iskemisi sonucunda serumda İMA, BUN ve kreatinin seviyeleri anlamlı olarak artmış, reperfüzyon öncesi fukoidin verilen grupta ve hem iskemi hem de reperfüzyon öncesi fukoidin verilen grupta anlamlı derecede azalma meydana gelmiştir.

Çalışmamızda abdominal aort iskemisi sonucunda serumda, böbrek ve akciğer dokusunda MDA, MPO, NO seviyeleri anlamlı olarak artmış, reperfüzyon öncesi fukoidin verilen grupta ve hem iskemi hem de reperfüzyon öncesi fukoidin verilen grupta anlamlı derecede azalma meydana gelmiştir.

Yine böbrek ve akciğer dokusunda katalaz seviyeleri abdominal aort iskemisi sonucunda anlamlı olarak artmış, reperfüzyon öncesi fukoidin verilen grupta ve hem iskemi hem de reperfüzyon öncesi fukoidin verilen grupta anlamlı derecede azalma meydana gelmiştir.

Abdominal aort iskemisi sonucunda plazmada ise, plazma sülfidril düzeyleri anlamlı olarak azalırken, plazma karbonil ve kitotriozidaz düzeyleri anlamlı olarak artmıştır. Reperfüzyon öncesi fukoidin verilen grupta ve hem iskemi hem de reperfüzyon öncesi fukoidin verilen grupta ise plazma sülfidril anlamlı olarak artarken, plazma karbonil ve kitotriozidaz anlamlı olarak azalma meydana gelmiştir.

Histopatolojik olarak incelediğimiz böbrek ve akciğer hasarı üzerine fukoidinin etkisi ise yine biyokimya sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

Sonuç olarak çalışmamızda; aortaya infrarenal kros-klempin konması iskemi-reperfüzyona bağlı olarak böbrekler ve akciğerlerde uzak organ hasarı meydana getirmiş ve fukoidinin reperfüzyondan önce uygulanması bu hasarı azaltmıştır. Fukoidinin iskemi öncesi uygulanmasının uzak organ hasarı üzerine bir miktar etkili olduğu, fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmektedir. İskemide tamamen kan akışının durması, reperfüzyonda ise nötrofil infiltrasyonu ve serbest oksijen radikal hasarının olması ile ilgili olarak, fukoidinin reperfüzyondan hemen önce verilmesinin iskemi reperfüzyonda uzak organ hasarına karşı koruyucu etkilerinin olabileceğini düşünmekteyiz.

Abdominal aort iskemisinde farklı deneysel modeller oluşturularak ve fukoidin verilerek yapılacak ileri çalışmaların yararlı olabileceği görüşündeyiz.

## 7. KAYNAKLAR DİZİNİ

- Acworth, I. N., & Bailey, B. (1995). *The handbook of oxidative metabolism*: ESA, Incorporated.
- Anwaruddin, S., Januzzi, J. L., Baggish, A. L., Lewandrowski, E. L., & Lewandrowski, K. B. (2005). Ischemia-modified albumin improves the usefulness of standard cardiac biomarkers for the diagnosis of myocardial ischemia in the emergency department setting. *American journal of clinical pathology*, 123(1), 140-145.
- Artieda, M., Cenaarro, A., Gañán, A., Jericó, I., Gonzalvo, C., Casado, J. M., & Civeira, F. (2003). Serum chitotriosidase activity is increased in subjects with atherosclerosis disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 23(9), 1645-1652.
- Arumugam, T. V., Shiels, I. A., Woodruff, T. M., Granger, D. N., & Taylor, S. M. (2004). The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *shock*, 21(5), 401-409.
- Arumugam, T. V., Magnus, T., Woodruff, T. M., Proctor, L. M., Shiels, I. A., & Taylor, S. M. (2006). Complement mediators in ischemia-reperfusion injury. *Clinica Chimica Acta*, 374(1), 33-45.
- Aslan, M., Cort, A., & Yucel, I. (2008). Oxidative and nitrative stress markers in glaucoma. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(4), 367-376.
- Bar-Or, D., Lau, E., & Winkler, J. V. (2000). A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia—a preliminary report. *The Journal of emergency medicine*, 19(4), 311-315.
- Bargagli, E., Maggiorelli, C., & Rottoli, P. (2008). Human chitotriosidase: a potential new marker of sarcoidosis severity. *Respiration*, 76(2), 234-238.
- Berlett, B. S., & Stadtman, E. R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272(33), 20313-20316.
- Berry, C. E., & Hare, J. M. (2004). Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *The Journal of physiology*, 555(3), 589-606.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Berteau, O., & Mulloy, B. (2003). Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. *Glycobiology*, 13(6), 29R-40R.
- Beutler, E. (1973). Red cell metabolism: a manual of biochemical methods.
- Bhakthavatsala, R. C., Cyriac, C., & Desle, H. (2013). Role of " Ischemia Modified Albumin"(IMA) in acute coronary syndromes. *Indian heart journal*, 66(6), 656-662.
- Bilal, M. S., & Sarioğlu, T. (1992). İskemik Miyokard İnjurisi ve İntraoperatif Miyokard Korunmasına Genel Bir Bakış. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, 1(2), 118-126.
- Bilan, M. I., Grachev, A. A., Ustuzhanina, N. E., Shashkov, A. S., Nifantiev, N. E., & Usov, A. I. (2002). Structure of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus evanescens* C. Ag. *Carbohydrate Research*, 337(8), 719-730.
- Bojakowski, K., Abramczyk, P., Bojakowska, M., Zwolinska, A., Przybylski, J., & Gaciong, Z. (2001). Fucoidan improves the renal blood flow in the early stage of renal ischemia-reperfusion injury in the rat. *Journal of physiology and pharmacology*, 52(1).
- Bonventre, J. V., & Weinberg, J. M. (2003). Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology*, 14(8), 2199-2210.
- Boot, R. G., van Achterberg, T. A., van Aken, B. E., Renkema, G. H., Jacobs, M. J., Aerts, J. M., & de Vries, C. J. (1999). Strong induction of members of the chitinase family of proteins in atherosclerosis chitotriosidase and human cartilage gp-39 expressed in lesion macrophages. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 19(3), 687-694.
- Boztosun, B., Güneş, Y., & Kıрма, C. (2006). Review Current management of no-reflow. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*, 6, 255-260.
- Brandão, M. L., Roselino, J. E., Piccinato, C. E., & Cherri, J. (2003). Mitochondrial alterations in skeletal muscle submitted to total ischemia. *Journal of Surgical Research*, 110(1), 235-240.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Carden, D. L., & Granger, D. N. (2000). Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *The Journal of pathology*, 190(3), 255-266.
- Carroll, M. V., & Sim, R. B. (2011). Complement in health and disease. *Advanced drug delivery reviews*, 63(12), 965-975.
- Chapp, A. (2012). *Indole based antioxidants for the treatment of ischemia reperfusion injury*. (master of science), Michigan Technological University.
- Chen, J., Wang, W., Zhang, Q., Li, F., Lei, T., Luo, D., & Yang, B. (2013). Low Molecular Weight Fucoidan against Renal Ischemia-Reperfusion Injury via Inhibition of the MAPK Signaling Pathway. *PloS one*, 8(2), e56224.
- Chevion, M., Jiang, Y., Har-El, R., Berenshtein, E., Uretzky, G., & Kitrossky, N. (1993). Copper and iron are mobilized following myocardial ischemia: possible predictive criteria for tissue injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(3), 1102-1106.
- Chizhov, A. O., Dell, A., Morris, H. R., Haslam, S. M., McDowell, R. A., Shashkov, A. S., Usov, A. I. (1999). A study of fucoidan from the brown seaweed *Chorda filum*. *Carbohydrate Research*, 320(1), 108-119.
- Christenson, R. H., Duh, S. H., Sanhai, W. R., Wu, A. H., Holtman, V., Painter, P., & Morris, D. L. (2001). Characteristics of an albumin cobalt binding test for assessment of acute coronary syndrome patients: a multicenter study. *Clinical chemistry*, 47(3), 464-470.
- Collard, C., Lekowski, R., Jordan, J., Agah, A., & Stahl, G. (1999). Complement activation following oxidative stress. *Molecular immunology*, 36(13), 941-948.
- Cortas, N. K., & Wakid, N. W. (1990). Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clinical chemistry*, 36(8), 1440-1443.
- Cui, K., Luo, X., Xu, K., & Ven Murthy, M. (2004). Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 28(5), 771-799.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Cure, E., Cumhuriyet Cure, M., Tunckaya, L., Kalkan, Y., Aydın, I., Kirbas, A., & Yücel, A. F. (2014). Adalimumab Ameliorates Abdominal Aorta Cross Clamping Which Induced Liver Injury in Rats. *BioMed research international*, 2014.
- Cuzzocrea, S., & Reiter, R. J. (2001). Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *European journal of pharmacology*, 426(1), 1-10.
- Cuzzocrea, S., Riley, D. P., Caputi, A. P., & Salvemini, D. (2001). Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacological reviews*, 53(1), 135-159.
- Çakatay, U., Telci, A., Yılmaz, İ. A., Akçay, T., & Sivas, A. (2000). Yaşlanmanın Plazma Oksidatif Protein Hasarına Etkisi.
- Çetin, C., Köse, A. A., Aral, E., Çolak, Ö., Erçel, C., Karabagli, Y., & Eker, A. (2001). Protective effect of fucoidin (a neutrophil rolling inhibitor) on ischemia reperfusion injury: experimental study in rat epigastric island flaps. *Annals of plastic surgery*, 47(5), 540-546.
- Çetin, C., Özyılmaz, M., Bayçu, C., Köse, A. A., & Karabağlı, Y. (2003). Effects of rolling inhibition on smoke inhalation injury. *Burns*, 29(4), 307-314.
- Diepenhorst, G. M., van Gulik, T. M., & Hack, C. E. (2009). Complement-mediated ischemia-reperfusion injury: lessons learned from animal and clinical studies. *Annals of surgery*, 249(6), 889-899.
- Ekim, H., Erdoğan, H. B., Kutay, V., Başel, H., Özen, S., Hazar, A., & Özbek, H. (2005). Abdominal aortaya kros klemp konmasının neden olduğu iskemi/reperfüzyon hasarının akciğerlere etkisi. *Van Tıp Dergisi*, 12, 175-178.
- Elias, J. A., Homer, R. J., Hamid, Q., & Lee, C. G. (2005). Chitinases and chitinase-like proteins in T<sub>H</sub>2 inflammation and asthma. *Journal of allergy and clinical immunology*, 116(3), 497-500.
- Eltzschig, H. K., & Collard, C. D. (2004). Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British medical bulletin*, 70(1), 71-86.



## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Erdem, M., Bostan, B., Güneş, T., Özkan, F., Şen, C., Özyurt, H., & Erdoğan, H. (2010). Melatoninin iskelet kası iskemi-reperfüzyon yaralanması üzerine koruyucu etkisi. *Eklem Hastalıkları ve Cerrahisi*, 21(3), 166.
- Eroğlu, O., Türkmen, S., Mentеше, A., Altun, G., Türedi, S., Eryiğit, U., & Gündüz, A. (2014). The diagnostic value of ischemia-modified albumin in the diagnosis of aortic pathology. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 44(1), 62-67.
- Fitton, J. H. (2011). Therapies from fucoidan; multifunctional marine polymers. *Marine drugs*, 9(10), 1731-1760.
- Freire, M. A. M., Guimarães, J. S., Leal, W. G., & Pereira, A. (2009). Pain modulation by nitric oxide in the spinal cord. *Frontiers in neuroscience*, 3(2), 175.
- Funkhouser, J. D., & Aronson, N. N. (2007). Chitinase family GH18: evolutionary insights from the genomic history of a diverse protein family. *BMC evolutionary biology*, 7(1), 96.
- Fusetti, F., von Moeller, H., Houston, D., Rozeboom, H. J., Dijkstra, B. W., Boot, R. G., & van Aalten, D. M. (2002). Structure of human chitotriosidase implications for specific inhibitor design and function of mammalian chitinase-like lectins. *Journal of Biological Chemistry*, 277(28), 25537-25544.
- Gencer, M., Karaca, T., Güngör, A. N., Haciveliöğlü, S. Ö., Demirtaş, S., Turkon, H., & Hancı, V. (2014). The protective effect of quercetin on IMA levels and apoptosis in experimental ovarian ischemia-reperfusion injury. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 177, 135-140.
- Girotti, A. W. (1998). Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of lipid research*, 39(8), 1529-1542.
- González-Amaro, R., Diaz-González, F., & Sánchez-Madrid, F. (1998). Adhesion molecules in inflammatory diseases. *Drugs*, 56(6), 977-988.
- Granger, D. N., & Kubes, P. (1994). The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *Journal of Leukocyte Biology*, 55(5), 662-675.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Granger, D. N. (1988). Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol*, 255(6 Pt 2), H1269-1275.
- Grisham, M. B., Granger, D. N., & Lefer, D. J. (1998). Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 25(4), 404-433.
- Gubitosi-Klug, R. A., Talahalli, R., Du, Y., Nadler, J. L., & Kern, T. S. (2008). 5-Lipoxygenase, but not 12/15-lipoxygenase, contributes to degeneration of retinal capillaries in a mouse model of diabetic retinopathy. *Diabetes*, 57(5), 1387-1393.
- Gulmen, S., Kiris, I., Kocyigit, A., Kumbul Dogus, D., Ceylan, B. G., & Meteoglu, I. (2010).  $\beta$ -Glucan protects against lung injury induced by abdominal aortic ischemia-reperfusion in rats. *Journal of Surgical Research*, 164(2), e325-e332.
- Gulmen, S., Kiris, I., Narin, C., Ceylan, B. G., Mermi, B., Sutcu, R., & Meteoglu, I. (2009). Tezosentan reduces the renal injury induced by abdominal aortic ischemia-reperfusion in rats. *Journal of Surgical Research*, 157(1), e7-e13.
- Gunduz, A., Turkmen, S., Turedi, S., Mentese, A., Yulug, E., Ulusoy, H., & Topbas, M. (2009). Time-dependent Variations in Ischemia-modified Albumin Levels in Mesenteric Ischemia. *Academic Emergency Medicine*, 16(6), 539-543.
- Guner, I., Yaman, M. O., Aksu, U., Uzun, D., Erman, H., Inceli, M., & Sahin, G. (2014). The effect of fluoxetine on ischemia-reperfusion after aortic surgery in a rat model. *Journal of Surgical Research*, 189(1), 96-105.
- Gutteridge, J. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, 41(12), 1819-1828.
- Gülmen, Ş., Doğuç, D. K., Ceylan, B. G., Çetin, N. K., Meteoğlu, İ., Okutan, H., & Öcal, A. (2011). Deneysel aortik iskemi-reperfüzyonda beta-glukanın böbrek hasarı üzerine etkisi. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg*, 19(2), 234-241.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Gümüştaş, K., & Atukeren, P. (2008). Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Türkiye'de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi*, 62, 329-340.
- Güner, İ., Özmen, D., & Bayındır, O. (1997). Sitokinler. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 17(2), 65-74.
- Hampton, M. B., Kettle, A. J., & Winterbourn, C. C. (1998). Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood*, 92(9), 3007-3017.
- Heo, S.-J., Park, E.-J., Lee, K.-W., & Jeon, Y.-J. (2005). Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresource Technology*, 96(14), 1613-1623.
- Hollak, C., Van Weely, S., Van Oers, M., & Aerts, J. (1994). Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease. *Journal of Clinical Investigation*, 93(3), 1288.
- Homer-Vanniasinkam, S., Crinnion, J., & Gough, M. (1997). Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *European journal of vascular and endovascular surgery*, 14(3), 195-203.
- Ikizler, M., Ovali, C., Dernek, S., Erkasap, N., Sevin, B., Kaygisiz, Z., & Kural, T. (2006). Protective effects of resveratrol in ischemia-reperfusion injury of skeletal muscle: A clinically relevant animal model for lower extremity ischemia. *Chinese Journal of Physiology*, 49(4), 204.
- Isman, F., Hobert, J. A., Thompson, J. N., & Natowicz, M. R. (2008). Plasma chitotriosidase in lysosomal storage diseases. *Clinica Chimica Acta*, 387(1), 165-167.
- Jiang, H.-d., & Guan, H.-s. (2009). MS80, a novel sulfated oligosaccharide, inhibits pulmonary fibrosis by targeting TGF- $\beta$ 1 both in vitro and in vivo. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(7), 973-979.
- Jobgen, W. S., Fried, S. K., Fu, W. J., Meininger, C. J., & Wu, G. (2006). Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. *The Journal of nutritional biochemistry*, 17(9), 571-588.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Kaklıkkaya, İ., Menteşe, Ü., Koramaz, İ., Altun, G., Menteşe, A., Çakıroğlu, Y., & Özcan, F. (2010). Deneysel iskemi reperfüzyon modelinde, etil pirüvat uygulamasının sonuçları. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, 18(4), 310-314.
- Kanneganti, M., Kamba, A., & Mizoguchi, E. (2012). Role of chitotriosidase (chitinase 1) under normal and disease conditions. *Journal of epithelial biology & pharmacology*, 5, 1.
- Karagöl, C., Karagöl, H. İ. E., Kıyıcı, A., & Keleş, S. (2012). Çocuklarda Akut Astım Atağında İskemi Modifiye Albumin Düzeyleri. *Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi*, 6(3).
- Karmeli, F., Okon, E., & Rachmilewitz, D. (1996). Sulphydryl blocker induced gastric damage is ameliorated by scavenging of free radicals. *Gut*, 38(6), 826-831.
- Keating, L., Benger, J., Beetham, R., Bateman, S., Veysey, S., Kendall, J., & Pullinger, R. (2006). The PRIMA study: presentation ischaemia-modified albumin in the emergency department. *Emergency medicine journal*, 23(10), 764-768.
- Kiris, I., Okutan, H., Savas, C., Yonden, Z., & Delibas, N. (2005). The Effect Of Gadolinium Chloride On Renal Injury In The Model Of Experimental Aortic Ischemia-Reperfusion. *Turkish J Vasc Surg*, 14(2), 13-18.
- Koster, J., Biemond, P., & Swaak, A. (1986). Intracellular and extracellular sulphhydryl levels in rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 45(1), 44-46.
- Köken, T., Kahraman, A., Serteser, M., & Gökçe, Ç. (2004). Hemodiyaliz ve oksidatif stres. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5, 9-13.
- Kuijper, P., Torres, H. G., Van Der Linden, J., Lammers, J., Sixma, J., Koenderman, L., & Zwaginga, J. (1996). Platelet-dependent primary hemostasis promotes selectin-and integrin-mediated neutrophil adhesion to damaged endothelium under flow conditions. *Blood*, 87(8), 3271-3281.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Aster, J. C. (2009). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional Edition: Expert Consult-Online*: Elsevier Health Sciences.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Kumar, V., Abbas Abul, K., & Aster, J. C. (2014). *Robbins Temel Patoloji*.
- Kurtuluş, H., Eskiocak, S., Tütüncüler, F., Başaran, Ü., & Gülen, Ş. (2003). Deneysel sistemik hipoksi geliştirilmiş yenidoğan ratlarda N-asetilsistein uygulamasının etkileri. *Türk Biyokimya Dergisi*, 28(2), 40-44.
- Lau, D., & Baldus, S. (2006). Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. *Pharmacology & therapeutics*, 111(1), 16-26.
- Levine, R. L. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(9), 790-796.
- Li, B., Lu, F., Wei, X., & Zhao, R. (2008). Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules*, 13(8), 1671-1695.
- Li, C., & Jackson, R. M. (2002). Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 282(2), C227-C241.
- Li, C., Gao, Y., Xing, Y., Zhu, H., Shen, J., & Tian, J. (2011). Fucoidan, a sulfated polysaccharide from brown algae, against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats via regulating the inflammation response. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 2090-2095.
- Liu, P., Yin, K., Nagele, R., & Wong, P. Y. (1998). Inhibition of nitric oxide synthase attenuates peroxynitrite generation, but augments neutrophil accumulation in hepatic ischemia-reperfusion in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 284(3), 1139-1146.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193(1), 265-275.
- Madazli, R., Kucur, M., Gezer, A., Isman, F., & Bulut, B. (2008). Chitotriosidase and YKL-40 in normal and pre-eclamptic pregnancies. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 100(3), 239-243.
- Michelakakis, H., Dimitriou, E., & Labadaridis, I. (2004). The expanding spectrum of disorders with elevated plasma chitotriosidase activity: an update. *Journal of inherited metabolic disease*, 27(5), 705-706.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Miller, D. M., Buettner, G. R., & Aust, S. D. (1990). Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(1), 95-108.
- Mohamed, S., Hashim, S. N., & Rahman, H. A. (2012). Seaweeds: a sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends in Food Science & Technology*, 23(2), 83-96.
- Morgan, E. N., Boyle, E. M., Yun, W., Kovacich, J. C., Canty, T. G., Chi, E., Verrier, E. D. (1999). Platelet-activating factor acetylhydrolase prevents myocardial ischemia-reperfusion injury. *Circulation*, 100(suppl 2), II-365-Ii-368.
- Nielsen, F., Mikkelsen, B. B., Nielsen, J. B., Andersen, H. R., & Grandjean, P. (1997). Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical chemistry*, 43(7), 1209-1214.
- Nordberg, J., & Arner, E. S. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287-1312.
- Ohkawa H. , O. N., & Yagi K. (1979). Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal. Biochem.* (95), 351-358.
- Omata, M., Matsui, N., Inomata, N., & Ohno, T. (1997). Protective effects of polysaccharide fucoidin on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 30(6), 717-724.
- Otamiri, T., Lindahl, M., & Tagesson, C. (1988). Phospholipase A2 inhibition prevents mucosal damage associated with small intestinal ischaemia in rats. *Gut*, 29(4), 489-494.
- Ozcan, A. V., Sacar, M., Aybek, H., Bir, F., Demir, S., Onem, G., & Colakoglu, N. (2007). The effects of iloprost and vitamin C on kidney as a remote organ after ischemia/reperfusion of lower extremities. *Journal of Surgical Research*, 140(1), 20-26.
- Pararajasingam, R., Weight, S., Bell, P., Nicholson, M., & Sayers, R. (2000). Prevention of renal impairment following aortic cross-clamping by manipulation of the endogenous renal nitric oxide response. *European journal of vascular and endovascular surgery*, 19(4), 396-399.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Paschen, W. (2000). Role of calcium in neuronal cell injury: which subcellular compartment is involved? *Brain research bulletin*, 53(4), 409-413.
- Qiu, X. D., Amarasekara, A., and Doctor, V. (2006). Effect of oversulfateion on the chemical and biological properties of fucoidan. *Carbohydrate Polymers*. 63, 224-228.
- Reffellmann, T., Hale, S. L., Dow, J. S., & Kloner, R. A. (2003). No-reflow phenomenon persists long-term after ischemia/reperfusion in the rat and predicts infarct expansion. *Circulation*, 108(23), 2911-2917.
- Reiter, R. J. (1998). Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Progress in neurobiology*, 56(3), 359-384.
- Renkema, G. H., Boot, R. G., Muijsers, A. O., Donker-Koopman, W. E., & Aerts, J. M. (1995). Purification and characterization of human chitotriosidase, a novel member of the chitinase family of proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 270(5), 2198-2202.
- Rezkalla, S. H., & Kloner, R. A. (2002). No-reflow phenomenon. *Circulation*, 105(5), 656-662.
- Rodriguez, C., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V., & Reiter, R. J. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of pineal research*, 36(1), 1-9.
- Segal, S. S. (2005). Regulation of blood flow in the microcirculation. *Microcirculation*, 12(1), 33-45.
- Senthilkumar, K., Manivasagan, P., Venkatesan, J., & Kim, S.-K. (2013). Brown seaweed fucoidan: biological activity and apoptosis, growth signaling mechanism in cancer. *International journal of biological macromolecules*, 60, 366-374.
- Siemionow, M., & Arslan, E. (2004). Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*, 24(6), 468-475. doi: 10.1002/micr.20060
- Siemionow, M., & Arslan, E. (2004). Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*, 24(6), 468-475.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Singbartl, K., Green, S. A., & Ley, K. (2000). Blocking P-selectin protects from ischemia/reperfusion-induced acute renal failure. *The FASEB Journal*, 14(1), 48-54.
- Sinurat, E., & Marraskuranto, E. (2013). Fucoidan From Brown Seaweed And Its Bioactivity. *Squalen, Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 7(3).
- Sotgiu, S., Barone, R., Zanda, B., Arru, G., Fois, M. L., Arru, A., & Musumeci, S. (2005). Chitotriosidase in patients with acute ischemic stroke. *European neurology*, 54(3), 149-153.
- Stadtman, E., & Levine, R. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino acids*, 25(3-4), 207-218.
- Sugio, S., Kashima, A., Mochizuki, S., Noda, M., & Kobayashi, K. (1999). Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Protein engineering*, 12(6), 439-446.
- Suzuki, K., Ota, H., Sasagawa, S., Sakatani, T., & Fujikura, T. (1983). Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Analytical biochemistry*, 132(2), 345-352.
- Şener, G., & YEĞEN, B. Ç. (2009). İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim*, 22(3), 5-13.
- Teke, Z., Kabay, B., & Özden, A. (2008). İskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojisi. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 1, 65-72.
- Turedi, S., Gunduz, A., Mentese, A., Topbas, M., Karahan, S. C., Yeniocak, S., & Karaca, Y. (2008). The value of ischemia-modified albumin compared with d-dimer in the diagnosis of pulmonary embolism. *Respir Res*, 9(1), 49.
- Türköz, Y., & Özerol, E. (1997). Nitrik oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. *Journal of Turgut Özal Medical Center*, 4(4), 453.
- Uz, E., Yılmaz, H. R., Iraz, M., Fadıllıoğlu, E., Özyurt, H., Söğüt, S., & Biyoloji, İ. Ü. F.-E. F. (2002). Deneysel Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Oluşturulan Sıçanlarda E Vitamini Ve Kafeik Asit Fenetil Ester'in (Cape) Metabolik Enzimlere Etkileri. (2), 77-82.



## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions, 160*(1), 1-40.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology, 39*(1), 44-84.
- Veena, C. K., Josephine, A., Preetha, S. P., Varalakshmi, P., & Sundarapandiyam, R. (2006). Renal peroxidative changes mediated by oxalate: the protective role of fucoidan. *Life sciences, 79*(19), 1789-1795.
- Veena, C. K., Josephine, A., Preetha, S. P., Rajesh, N. G., & Varalakshmi, P. (2008). Mitochondrial dysfunction in an animal model of hyperoxaluria: a prophylactic approach with fucoidan. *European journal of pharmacology, 579*(1), 330-336.
- Yarsan, E. (1998). Lipid peroksidasyon olayı ve önlenmesine yönelik uygulamalar. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 9*(1), 89-95.
- Yuluğ, E., Türedi, S., Karagüzel, E., Kutlu, Ö., Menteşe, A., & Alver, A. (2014). The short term effects of resveratrol on ischemia-reperfusion injury in rat testis. *Journal of pediatric surgery, 49*(3), 484-489.
- Zhang, Q., Li, N., Zhao, T., Qi, H., Xu, Z., & Li, Z. (2005). Fucoidan inhibits the development of proteinuria in active Heymann nephritis. *Phytotherapy Research, 19*(1), 50-53.
- Zimiani, K., Guarnier, F. A., Miranda, H. C., Ehara Watanabe, M. A., & Cecchini, R. (2005). Nitric oxide mediated oxidative stress injury in rat skeletal muscle subjected to ischemia/reperfusion as evaluated by chemiluminescence. *Nitric Oxide, 13*(3), 196-203.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

### Bireysel Bilgiler

**Adı-Soyadı** : Türkan GÜNEY  
**Doğum tarihi ve yeri** : 11.08.1981, ESKİŞEHİR  
**Uyruğu** : TC  
**Medeni durumu** : Bekar  
**İletişim adresi** : ESOGÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD.  
**Telefon** : 0 222 2392979-4520  
**Email** : turkanguney81@mynet.com

### Eğitim Durumu

**İlköğretim** : 1987-1992, Eskişehir Mareşal Fevzi Çakmak İlkokulu  
**Ortaöğretim** : 1992-1995, Eskişehir Sami Sipahi Ortaokulu  
**Lise** : 1995-1998, Eskişehir Gazi Meslek Lisesi  
**Yüksek Okul** : 1999-2001, ESOGÜ Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Tıbbi Laboratuvar Bölümü  
**Üniversite** : 2001-2005, Erciyes Üniversitesi Kimya Bölümü  
**Yüksek Lisans** : 2005-2008, Dumlupınar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Bilim Dalı  
**Doktora** : 2008-2015, ESOGÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD.  
**Mesleki Deneyim** : ESOGÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD. Arş.Gör.

**Yayınlar**

Guney T., Yıldız B., Altıkat S., Kural N., Alatas O., (2009), Journal of Pediatric Sciences, Decreased antioxidant capacity and increased oxidative stress in patients with juvenile idiopathic arthritis, *Journal of Pediatric Sciences*, 1; e3.

Kocman E. A., Ozatik O., Sahin A., Guney T., Kose A. A., Dag I., Alatas O., Cetin C., (2015), Effects of ischemic preconditioning protocols on skeletal muscle ischemia-reperfusion injury, *Journal of Surgical Research* 193; 942-952.

**Bilimsel Etkinlikler****Projeler :**

PROJE ADI: Sıçan arka bacak İSKEMİ REPERFÜZYON modelinde çeşitli iskemik koşullanmaların serum İskemi Modifiye Albumin düzeyleri ve kas hasarı üzerine etkilerinin araştırılması

PROJE NO: 2013-227

**Sözlü Konferans veya Seminerler :**

The 10th World Congress on Inflammation 25–29 June 2011 (Paris, France)

**Kurslar ve Eğitim Programları :**

2008 Deney hayvanları kullanımı ile ilgili eğitim programı.

2009 Tıpta araştırma ve veri analizi yöntemleri



