



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

**Bazı Salvia Türlerinin Ekstrelerinin, Böbrek
İskemi/Reperfüzyon Modeli Oluşturulan Ratlarda
İnflamasyon ve Oksidatif Stres Açısından
Değerlendirilmesi**

DOKTORA TEZİ

İPEK ERTORUN

DANIŞMAN

Prof.Dr. Özkan ALATAŞ

Haziran-2015



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

**Bazı Salvia Türlerinin Ekstrelerinin, Böbrek
İskemi/Reperfüzyon Modeli Oluşturulan Ratlarda
İnflamasyon ve Oksidatif Stres Açısından
Değerlendirilmesi**

DOKTORA TEZİ

İPEK ERTORUN

DANIŞMAN

Prof.Dr. Özkan ALATAŞ

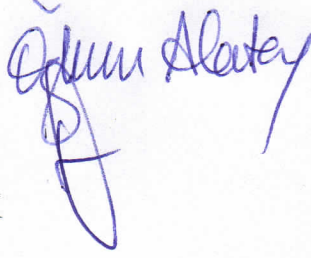
Haziran-2015

KABUL VE ONAY SAYFASI

İpek ERTORUN'un Doktora Tezi olarak hazırladığı "Bazı Salvia Türlerinin Ekstrelerinin, Böbrek İskemi/Reperfüzyon Modeli Oluşturulan Ratlarda İnflamasyon ve Oksidatif Stres Açısından Değerlendirilmesi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

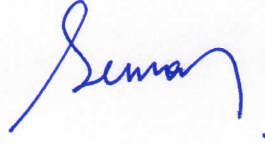
Tarih: 05/06/2015

Üye : Prof.Dr. Özkan ALATAŞ



Üye : Prof. Dr. Güngör KANBAK

Üye : Prof.Dr. Sema USLU



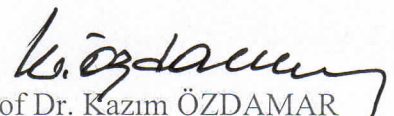
Üye : Prof.Dr. Aslıhan KARUL



Üye : Doç. Dr. Garip ŞAHİN



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 08/06/2015 tarih ve .../050../4914.. sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof Dr. Kazım ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

Özet

İskemi ve reperfüzyon hasarı trombolitik tedavi, organ nakli, koroner anjioplasti ve kardiyopulmoner bypass gibi çeşitli tıbbi ve cerrahi girişimler sırasında görülen potansiyel olarak ciddi bir sorundur. İskemi ve reperfüzyon hasarında temel patofizyoloji, iskemik dokuların reperfüzyonu sonrası gelişen mikrovasküler disfonksiyondur. Bu durum, böbrek nakli ve aort anevrizması gibi bazı cerrahi girişimlerde sık görülmesi ve yüksek mortalite oranına sahip olması açısından klinik öneme sahiptir. Bu deneysel çalışma, renal iskemi reperfüzyon hasarında, Salvia L. ekstralarının böbrek dokusundaki koruyucu etkisini araştırmak amacıyla planlanmıştır. Çalışmada 40 Sprague Dawley sıçan her birinde 8 sıçan bulunan 5 gruba ayrıldı. Tüm gruplara sağ nefrektomi yapıldı. 1. Grup: Kontrol, 2. Grup: I/R, 3. Grup: I/R+50 mg/kg Salvia L., 4. Grup: I/R+100 mg/kg Salvia L., 5. Grup: I/R+50 mg/kg Rosmarinik asit. Salvia L. ve Rosmarinik asit 7 gün boyunca tek doz gavaj olarak verildi. Kontrol grubu hariç tüm gruplara 60 dakikalık iskemi, 60 dakikalık reperfüzyon uygulandı. İntrakardiyak kan örneği alındı, Kan Ürea Azotu (BUN), Kreatinin (CREA), Alanin Aminotransferaz (ALT), Aspartat Aminotransferaz (AST), Gama Glutamil Transpeptidaz (GGT), yüksek duyarlılıklı C-Reaktif Protein (hsCRP), Myeloperoksidaz (MPO), Malondialdehid (MDA), Nitrik Oksit (NO), Kitotriozidaz (ChT) ve Tümör Nekroz Faktör (TNF- α) düzeyleri tespit edildi. Değerler istatistiksel olarak SPSS 20.0 Windows paket programda değerlendirildi. Böbrek dokuları ışık mikroskopta 100-500 μ m kesitte Hematoksilen-Eozin yöntemiyle incelendi. Biyokimyasal ve histolojik verilerimize dayanarak I/R ile oluşturulan renal hasar sonucu rat doku örneklerinde oksidatif ve inflamasyon açısından ciddi hasarlar gözlemlenmiştir. Fakat buna rağmen elde ettiğimiz verilere göre tedavi gruplarımızdan 100 mg/kg Salvia L. başta olmak üzere 50 mg/kg Salvia L. ve 50 mg/kg rosmarinik asit kullanımının böbrek yapı ve fonksiyonlarına karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: İskemi/Reperfüzyon, İnflamasyon, Oksidatif Stres, Salvia L.

Summary

Ischaemia and reperfusion injury is a potentially serious problem that is encountered during a variety of medical and surgical procedures, such as thrombolytic therapy, organ transplantation, coronary angioplasty, and cardiopulmonary bypass. The basic pathophysiology of ischaemia and reperfusion injury is microvascular dysfunction which is developed following reperfusion of ischaemic tissues. It has clinical importance because of its frequent occurrence and mortality in some surgical conditions such as renal transplantation, aort aneurysm. This experimental study was designed to investigate the protective effect of Salvia L. extracts on kidneys from I/R injury. Forty Sprague Dawley rats were divided into 5 groups (n=8). Right nephrectomy was performed to all groups. Group 1: control; group 2: I/R; group 3: I/R+50 mg/kg Salvia L.; group 4: I/R+100 mg/kg; group 5: I/R+50 mg/kg Rosmarinic acid. Salvia L. and rosmarinic acid for 7 days was given single dose as a gavage. 60 minutes ischemia, 60 minutes reperfusion were applied to groups except control. Intracardiac blood samples were taken, Blood Urea Nitrogen (BUN), Creatine (CREA), Alanin Aminotransferaz (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST), Gama Glutamil Transpeptidaz (GGT), High sensitivity C-reactive protein (hsCRP), Myeloperoxidase (MPO), Malondialdehyde (MDA), Nitric Oxide (NO), Chitotriosidase (ChT) ve Tumor Necrosis Factor (TNF- α) levels were detected. Mean values were evaluated by statistical analysis. The renal tissues were examined under light microscopy. Based on our biochemical and histological data, I/R induced renal damage in rat tissue by oxidative damage and inflammation as a result of severe in terms of samples was observed. Our treatment group 50 mg/kg Salvia L. and 50 mg/kg rosmarinic acid especially 100 mg/kg of Salvia L. were found to show a protective effect against renal structure and function.

Keywords: Ischemia/Reperfusion, Inflammation, Antioxidant, Salvia L.

İçindekiler

Özet	i
Summary	ii
İçindekiler	iii
Tablo Dizini	vii
Şekil Dizini	viii
Simge ve Kısaltmalar Dizini	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ	4
2. GENEL BİLGİLER.....	8
2.1.Böbrekler:.....	8
2.1.1.Böbreğin Anatomisi :	8
2.1.2. Böbreğin Fizyolojisi:	10
2.1.3.Böbreğin Kan Akımı :	11
2.1.4.Böbreğin Fonksiyonları:.....	12
2.1.4.1.Vücuttaki sıvı ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi.....	12
2.1.4.2.Asit-baz dengesi	12
2.1.4.3.Metabolik atık ürünlerin ve yabancı maddelerin atılması.	12
2.1.4.4.Endokrin fonksiyon	13
2.2.Böbrek Patofizyolojisi	13
2.2.1.Böbrek yetmezliği tipleri	13
2.2.2.Akut böbrek yetmezliği	13
2.3.İskemi/Reperfüzyon	15

2.3.1.İskemi:.....	15
2.3.2.Reperfüzyon :.....	17
2.3.3.İskemi/Reperfüzyon Hasarı :.....	19
2.3.4.İskemi-Reperfüzyon Hasar Mekanizmaları	19
2.3.4.1.Serbest oksijen radikalleri :.....	19
2.3.4.2.Polimorf nüveli lökositler (PMNL) :.....	20
2.3.4.3.Komplemanların rolü :.....	21
2.3.4.4.Endotel hücrelerinin rolü:	21
2.3.5.İskemi-Reperfüzyon Hasarının Önlenmesi ve Tedavisi	22
2.4.Antioksidanlar :.....	23
2.4.1.Antioksidan Savunma Sistemleri :.....	23
2.4.2.Antioksidan Kaynakları :.....	23
2.5.Lamiaceae (Labiatae) Familyası	25
2.5.1.Adaçayının Fitokimyasal İçerikleri ve Özellikleri.....	28
2.5.2.Salvia L. 'nin Etki Mekanizması :.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	33
3.1 Gereç.....	33
3.1.1.Deney Hayvanlarının Temini ve Bakımı	33
3.1.2.Deneylerde Kullanılan Sarf Malzemeler	33
3.1.3.Deneyde Kullanılan Cihazlar	34
3.1.4.Cerrahi İşlemler:.....	34

3.1.4.1.Nefrektomi ve Cerrahi Uygulamalar	34
3.1.4.2.İskemi / Reperfüzyon (I/R):	35
3.1.5.Ekstrelerin Hazırlanması:.....	35
3.1.6.Deney Gruplarının Oluşturulması	36
3.2.YÖNTEMLER.....	38
3.2.1. Böbrek Fonksiyon Testleri :.....	38
3.2.1.1 BUN Ölçüm Test Prensipleri:	38
3.2.1.2. Kreatinin Ölçüm Test Prensipleri :	39
3.2.2. Böbrek Hasarı Belirteçleri :	39
3.2.2.1. ALT Ölçüm Test Prensipleri:	39
3.2.2.2. AST Ölçüm Test Prensipleri:	40
3.2.2.3. GGT Ölçüm Test Prensipleri:	40
3.2.3. İnflamasyon ve Endotel Fonksiyon Belirteçleri :	40
3.2.3.1. hsCRP Ölçüm Test Prensipleri:.....	40
3.2.3.2. Doku Myeloperoksidaz (MPO) Düzeylerinin Ölçümü:	40
3.2.3.3. Doku Nitrik oksit (NO) Düzeylerinin Ölçümü:.....	41
3.2.4. Oksidatif Stres Belirteci :.....	43
3.2.4.1. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü :.....	43
3.2.5. Tümör Nekroz faktörü – α (TNF- α) Düzeyleri	44
3.2.6. Plazma Kitotriozidaz (CHIT) Düzeylerinin Ölçümü :.....	48
3.2.7. Böbrek Doku Homojenatlarında Protein Ölçümü	48

3.2.8.Böbrek Doku Örneklerinin Histolojik Analizleri.....	50
3.3.İstatistiksel Analiz.....	52
4. BULGULAR.....	53
4.1. Ratların Ağırlıkları	53
4.2. Böbrek Fonksiyon Testleri	54
4.3. Böbrek Hasarı Belirteçleri	57
4.4. İnflamasyon ve Endotel Fonksiyon Belirteçleri	61
4.5. Oksidatif Stres Belirteci	65
4.6. Tümör Nekroz faktörü – α (TNF- α) Düzeyleri.....	67
4.7. Makrofaj Aktivasyon Belirteci.....	69
4.8. Böbrekte Histolojik Bulgular	71
5.TARTIŞMA	79
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	86
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	87
Özgeçmiş	99

Tablo Dizini

Tablo 3.1. Deney grupları ve gruptaki sıçanların özellikleri.....	33
Tablo 4.2. Çalışma Gruplarından BUN ve Kreatinin Değerleri.....	50
Tablo 4.3. Çalışma Gruplarının ALT, AST ve GGT değerleri.....	53
Tablo 4.4. Çalışma Gruplarının İnflamasyon ve Endotel Fonksiyon Belirteç Değerleri.....	57
Tablo 4.5. Çalışma Gruplarının Doku MDA düzeyleri.....	61
Tablo 4.7. Çalışma Gruplarının Plazma Kitotriozidaz Düzeyleri.....	65
Tablo 4.8. Deney gruplarına ait skorların istatistiksel değerlendirilmesi.....	68

Şekil Dizini

Şekil 2.1. Böbreğin Yapısı.....	5
Şekil 2.2. Böbrekte Kan Akımı.....	7
Şekil 2.3. İskemi Reperfüzyon hasarında radikal oluşumu.....	12
Şekil 2.4. İskemi reperfüzyon hasarı oluşma mekanizmaları.....	14
Şekil 2.5. Moleküler oksijenden serbest radikal oluşumu ve Nitrik oksitle ilişkisi.....	16
Şekil 2.6. Rosmarinus officinalis.....	22
Şekil 2.7. Salvia Lamiaceae.....	22
Şekil 2.8. Adaçayında bulunan başlıca fenolik maddelerin kimyasal yapısı.....	27
Şekil 2.9. Rosmarinik Asitin Kimyasal Formülü.....	28
Şekil 3.1. Standart TNF-a Grafiği.....	43
Şekil 4.2.A BUN düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	51
Şekil 4.2.B. Kreatinin düzeylerinin gruplar arasındaki Karşılaştırılması.....	52
Şekil 4.3.A. AST düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	54
Şekil 4.3.B. ALT düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	55
Şekil 4.3.C. GGT düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	56
Şekil 4.4.A. hsCRP düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	58
Şekil 4.4.B. MPO düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	59
Şekil 4.4.C. NO düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	60
Şekil 4.5. Doku MDA düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	62

Şekil 4.6. Serum TNF- α düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	64
Şekil 4.7. Plazma Kitotriozidaz düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması.....	66
Şekil 4.7. Grup I'e ait böbrek dokusu Örneklerinin Işık Mikroskobu İnceleme Görüntüleri.....	69
Şekil 4.8. Grup II'ye ait böbrek dokusu örneklerinin ışık mikroskobu inceleme görüntüleri.....	70
Şekil 4.9. Grup III'ye ait böbrek dokusu örneklerinin ışık mikroskobu inceleme görüntüleri.....	72
Şekil 4.10. Grup IV'e ait böbrek dokusu örneklerinin ışık mikroskobu inceleme görüntüleri.....	73
Şekil 4.11. Grup V'e ait böbrek dokusu örneklerinin ışık mikroskobu inceleme görüntüleri.....	74

Simge ve Kısaltmalar Dizini

Simge ve Kısaltma

Açıklama

SOR	Süper Oksit Radikali
PMNL	Polimorf Nükleer Lökosit
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
I/R	İskemi/Reperfüzyon
ABY	Akut Böbrek Yetmezliği
GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
ATN	Akut Tübüler Nekroz
ATP	Adenozin Trifosfat
NO	Nitrik Oksit
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
PAF	Platelet Aktive Edici Faktör
PG	Prostaglandin
MCP	Monosit Kemoakraktan Protein
ET	Endotelin
DMSO	Dimetilsülfoksit
H&E	Hematoksilen&Eozin
ChT	Kitotriozidaz
MPO	Myeloperoksidaz
MDA	Malondialdehid
RA	Rosmarinik Asit
CGRP	Kalsitonin Gen İlişkili Peptid

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemide, hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemide oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar. Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücrel yapılar, zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir. İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücrel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenosin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır. Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na^+K^+ -ATPaz pompası inhibe olur. Yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflatuar sitokinlerin, adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar. İskemireperfüzyon (İ/R) hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür (Şener & Yeğen, 2009).

Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücrel ve humoral olaylar serisidir. Özellikle serbest oksijen radikalleri, polimorf nükleer lökositler (PMNL), kompleman sistemi, endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında yer almaktadır (Wilhelm, 1990).

Organizmanın prooksidan/antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için çok önemlidir. Serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere organizmayı koruyan "antioksidan savunma sistemi" devreye girmektedir. Bu sistem etkilerini 4 farklı mekanizmayla göstermektedir. Bunlar; 1)- Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma, yok etme, "süpürücü etki". Antioksidan enzimler, küçük moleküller bu yolla etki gösterirler. 2)- Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya "inaktif şekle dönüştürücü etki". Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler. 3)- Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller "zincir kırıcı etki" gösterirler. 4)- Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde "onarıcı etki" gösterirler.

Endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olan antioksidanların tanımlanmasında ve etkinliklerinin ortaya konmasında İ/R hasarı modelleri önemli katkı sağlamıştır. Antioksidan özelliği öne sürülmüş pek çok madde çeşitli İ/R modellerinde test edilerek değerlendirilmiştir (Şener, 2009).

Bu bilgilerin ışığı altında, İ/R'un dokuda pek çok hasara yol açtığı ve buna karşı koruma mekanizmalarının araştırıldığı bilinmektedir. İ/R, doku ve organ fonksiyonlarının bozulmasında en önemli nedenlerden birisidir. Özellikle böbrek dokusunda, böbrekte fonksiyon bozuklukları ve hasarlara yol açmakta böylece klinikte gözlenen böbrek hastalıkları oluşmaktadır.

Böbrek iskemisi; böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi, kardiyopulmoner bypass, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler ve hidronefrozis gibi çeşitli klinik durumlarda görülür. İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışıyla karakterizedir. Renal iske mi kompleks bir olayı başlatır; böbrek hücrelerinin hasarına ve ölümüne neden olur.

İskemik böbrek dokusunun dolaşımının yeniden sağlanması için reperfüzyon gerekli olduğu halde, bu durum böbreğin I/R'u ile ilişkili hasar ve renal disfonksiyona neden olan ilave bir yıkıma neden olur. Reperfüzyon sonrası ortama gelen nötrofiller ve bunlardan açığa çıkan mediatörlerin etkileri de eklenince organ veya doku ölümü kaçınılmaz olmaktadır (Önal, Astarçioğlu, Örmen, Atila & Sarioğlu, 2004). Bununla birlikte böbrek dokusunda I/R hasarında, kuvvetli bir antioksidan ajan olarak bilinen *Salvia* ekstreleri'nin koruyucu etkisi henüz araştırılmamıştır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır (Kalaycıoğlu & Öner 1994). Son yıllarda, bitki ekstraktlarının gıda endüstrisinde antioksidan olarak kullanılması ticari olarak yaygınlaşmıştır. Bu bileşiklerin antioksidan kapasitesinin, bazen sentetik antioksidanlardan daha yüksek olduğunu kanıtlanmıştır. Özellikle, çok sayıda bitki içeren *Lamiaceae* familyası antioksidan özellikleri bakımından iyi bilinir. Bunların arasından *Salvia* (adaçayı) yaygın olarak kullanılmaya başlandı ve antioksidan içeriklerinin çoğu tespit edildi. Adaçayının antioksidan özellikleri, çoğunlukla içerdiği fenolik bileşiklerdendir (Tosun vd., 2009).

Sentetik ürünlerin toksik olması ve kullanımı sonucu ortaya çıkan yan etkileri sebebiyle ve tüm dünyanın artık doğal ürünlere yönelmesinden dolayı *Salvia L.* (Adaçayı) bitkisinin çeşitli yararlı yönlerinin ortaya çıkartılması konusunda deneysel çalışmalar yapılması gereklidir.

Bu tez çalışmasında amacımız renal İ/R hasarı modeli oluşturmak, son yıllarda araştırmacıların yoğun ilgisini çeken bazı endemik Salvia L.(Adaçayı) türlerinin İ/R hasarı üzerindeki etkilerini biyokimyasal ve histolojik düzeyde araştırarak ortaya koymak ve bu süreçte Salvia L. türlerinin potansiyel koruyucu ajanlar olup olamayacaklarının, ortaya konması ve mekanizmalarının değerlendirilerek araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.BÖBREKLER:

Böbrekler üre ve vücudun metabolik faaliyet ürünlerinin atılmasını, su ve elektrolit dengesini sağlarlar (Dere, 2010). Periton boşluğunun dışında ve karın arka duvarında yerleşen böbrekler, vertebral kolonun iki yanında on ikinci torakal ve üçüncü lomber vertebraların arasında, psoas kasının dış kenarına paralel (oblik) duran, solid boşaltım organlarıdır. Ortalama olarak erişkin erkeklerde 150 gr. kadınlarda ise 135 gr. ağırlığındadır. Boyutları kadınlarda erkeklere oranla daha küçüktür. Boyutların küçük olması cinsiyetten daha çok vücut boyutları ile ilişkilidir (Campbell & Walsh, 1998; Ay vd., 2014).

Hücrelerde metabolik aktivitenin devam etmesi ile birlikte atık madde üretimi de devam eder. Eğer bu metabolik atık maddelerin hücrede birikmesine izin verilirse, toksik yoğunlaşma artar ve homeostazis bozulur. Boşaltım sistemi, homeostazise katılan en önemli organ sistemlerinden biridir (Aydın, 2006).

2.1.1.Böbreğin Anatomisi :

Böbrekler, insan organizmasında topografik olarak en iyi korunmuş organlardır. Arkasında kalın sırt kasları, üstte ve yanda 11. ve 12. kostalar ile önde ve yanda karın duvarı kasları ile çevrilmişlerdir. Bu kas tabakasının altında pararenal yağ dokusu, onunda altında renal fascia (Gerota) bulunur. Bu fascia önde periton ile yapışık olup böbreği destekleyip sarar ve bir çeşit bariyer oluşturur. Karaciğerin konumu nedeni ile sağ böbrek sola oranla daha aşağıda yerleşmiştir (Anafarta, 1998).

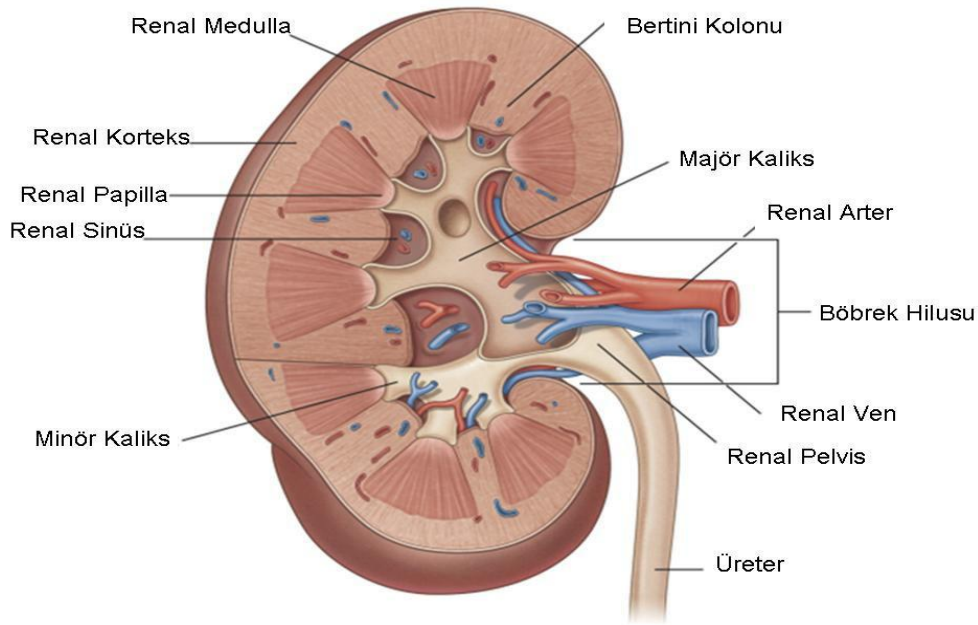
Böbreğin uzunluğu 12 cm, genişliği 5-7 cm, kalınlığı 3-4 cm kadardır. Böbreğin ön ve arka olmak üzere iki yüzü, iç ve dış iki kenarı, üst ve alt iki ucu vardır. Yüzlerden her ikisi de konvektir. İç kenarın ortasında hilus renalis denen bir yarık vardır. Buradan böbreğin içinde bulunan ve sinüs renalis denilen boşluğa girilir.

Böbreğin hilusunu oluşturan bu alanda böbreğe giren ve çıkan damar ve sinirler, renal pelvis ve bunların arasını dolduran yağ dokusu bulunur. Bu oluşumların hilustaki sıralanışı önde renal ven, bunun arkasında renal arter ve en arkada renal pelvis şeklindedir. Lenf damarları renal pelvisin, sinirler ise renal arterin etrafında bulunurlar.

Böbreği içten dışa doğru fibröz bir kılıf olan kapsula fibrosa, bunu saran yağ tabakası kapsula adiposa ve karın duvarındaki kapsula adiposa'yı dıştan saran fascia renalis olmak üzere üç kılıf sarar (Arıncı & Elhan, 2001).

Böbrekler uzun ekseninden ikiye kesilecek olursa dış kısmında korteks, iç kısmında medulla denilen iki ana bölge ayırt edilir. Böbreğin medullasında böbrek piramidleri denen koni biçimli çok sayıda doku kitleleri bulunur.

Piramidlerin tabanı korteks ile medulla sınırından başlar ve üreterin huni biçimli üst ucunun devamından oluşan böbrek pelvisinin devamına doğru uzanan papillada son bulur. Renal papilla sayıları 4-18 arasında değişebilir. Her bir papilla, minör kalikse açılır. Minör kaliksler, renal toplayıcı sistemin ilk büyük yapısıdır (Anafarta,1998)(Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Böbreğin Yapısı

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

Renal arter hilum bölgesinden böbrek veni ve üreterler ile birlikte böbreğe girer ve interlober, arkuat, interlobuler (radial arter) arterlere ve afferent arteriollere ayrılır. Afferent arterioller, glomerüler kapillerleri oluşturur. Her glomerül kapillerinin distal ucu, böbrek tübüllerini çevreleyen ve peritübüler kapiller denilen ikinci bir kapiller ağı oluşturan efferent arteriyolu oluşturmak için bir araya gelirler. Peritübüler kapillerler arteriyoller damarlara paralel seyreden venöz sistemin damarlarına boşalırlar ve bunlar da sırasıyla interlobüler ven, arkuat ven, interlober ven ve en sonunda böbreği renal artere komşu olarak terkeden böbrek venini oluştururlar (Campbell & Walsh, 1998).

2.1.2. Böbreğin Fizyolojisi:

Böbrekler yaklaşık olarak 1.3×10^6 sayıda nefron içerirler ve her bir nefron kendi başına idrar yapma yeteneğine sahiptir. Böbrek hasarı, hastalık veya yaşlanma ile nefron sayısı giderek azalır. 40 yaşından sonra işlev gören nefron sayısı her on yıl için %10 azalır (Altan, 2000).

Her nefron, arteriyal kapillerden yüksek filtrasyon basınçlı kanla düşük molekül ağırlıklı materyallerin plasmadan ultrafiltrasyonunu sağlayacak glomerül yapılarını içerir (Altan, 2000).

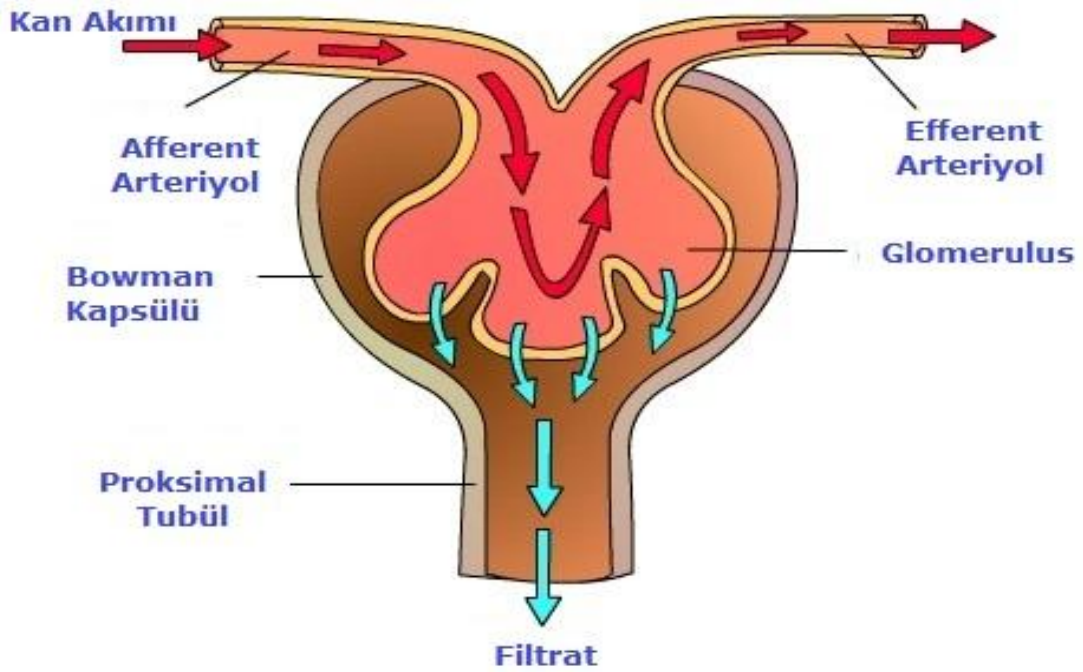
Glomerüller filtrat Bowman kapsülünde toplanır. Buradan sırasıyla, proksimal tübul, henle kulpu, distal tübul ve bütün nefronları süzen toplayıcı kanallara ilerler (Altan, 2000).

Glomerüller özelleşmiş bir kılcal damar ağından oluşmuştur. Her bir kılcal damar yaklaşık 200 μm çapında olan 40 kadar glomerüler ilmeğe açılır ve Bowman Kapsülünü oluşturan, özelleşmiş bir bazal membranla desteklenen değişik hücre tiplerini içerir. Bowman kapsülü proksimal kıvrımlı tübülün başlangıcını oluşturur (Burtis & Bruns, 2014). Proksimal tübul nefronun metabolik olarak en aktif bölümü olup, glomerüler filtrat hacminin %60-80'inin, filtre edilmiş Na^+ ve Cl^- 'ün %70'inin ve böbrekten atılan H^+ 'nin %90'ının, ayrıca sülfat, fosfat, bikarbonat, glukoz ve potasyumun büyük bir bölümünün geri emilimini sağlar. Proksimal tübul önce Henle'nin aşağı doğru inen ince kulpuna boşalır ve yukarı doğru uzanan ilk ince dal, sonra da yukarı doğru çıkan kalın ilmeği oluşturur. Yukarı doğru çıkan ince dalın hücreleri aşağı doğru inen kulptakilere çok benzer, ancak suya geçirgenlikleri ve aktif taşıma yetenekleri açısından önemli farklılıkları vardır. Henle kulpunun ana görevi seruma kıyasla daha hipertonic ve konsantre idrar üretimini sağlamaktır. Distal tübul yukarı doğru çıkan henle kulpunu toplayıcı tübülle birleştirir. Sodyum, potasyum, klorür ve hidrojen iyon atılımı ve geri emiliminde görev alır (Burtis & Bruns, 2014).

Henle'nin yukarı doğru çıkan kulpunun kendi nefronunun Bowman kapsülünün çok yakınından geçtiği yerde, tübul hücreleri ve afferent arteriyol bölgesel özelleşme gösterir. Tübul makula densa'yı oluşturur, arteriyoler hücreler granüllerle (renin içeren) doludur ve sempatik sinir lifleri tarafından innerve edilirler. Bu bölge 'juktastaglomerular aparat' (JGA) olarak adlandırılır. JGA dolaşımdaki damar içi kan hacmini ve sodyum konsantrasyonunu düzenleyerek sistemik kan basıncının sürdürülmesinde önemli bir rol oynar (Burtis & Bruns, 2014).

2.1.3.Böbreğin Kan Akımı :

Renal arter glomerülü oluşturan çok özelleşmiş kılcal damar yatağına doğru yayılan afferent arteriyollere bölünür. Bu kılcal damarlar daha sonra besin maddeleri ve oksijenle nefronun geriye kalanını destekleyen ve nefron tarafından geri emilen su, moleküller ve iyonların uzaklaştırılmasını sağlayan efferent arteriyolü oluşturmak üzere birleşirler. Efferent arteriol ise daha sonra renal venüllerle birleşerek inferior vena cavaya açılan renal venleri oluşturur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Böbrekte Kan Akımı

Yetişkin bir kişide böbrekler kardiyak çıktının yaklaşık % 25'ini alır; ancak yeni doğan bir bebekte bu değer % 5'tir ve yetişkin insan oranlarına yaşamının birinci yılı sonunda ulaşır. Bu kanın %90'ı renal korteksin gereksinimi sağlayarak oldukça aktif olan tübüler hücrelerin varlığını sürdürmesini sağlar. Böbrek kan akımının sürdürülmesi böbrek işlevleri için yaşamsal önem taşır ve böbrek içi kompleks bir seri düzenleme mekanizmalarının desteği ile geniş kan basıncı aralıklarında sürdürülür. Böbrek glomerüler perfüzyon basıncı sistemik basınçtan göreceli olarak bağımsızdır ve 45 mmHg değerinde sabit bir şekilde sürdürülür (Burtis & Bruns, 2014).

2.1.4.Böbreğin Fonksiyonları:

Böbrekler düzenleyici ve salgılayıcı organlardır. Böbrekler vücuttaki fazla suyu ve atık ürünleri idrar şeklinde vücuttan atarlar. Böbrekler; endokrin, kardiyovasküler ve sinir sistemi ile koordineli çalışarak vücut sıvılarının içeriklerini, vücuda fazla miktarda su ve gıda maddeleri alınsa bile, çok dar bir aralıkta tutmayı başarırlar. Böbreklerin homeostatik rolü sayesinde vücuttaki dokular ve hücreler nispeten sabit bir hemodinamik ortamda işlevlerini sürdürürler.

Dinlenme halindeki bir insanda böbrekler, kardiyak çıkışın yaklaşık % 25'ini almaktadır. Kanın plazma kısmı glomerüllerde süzülerek ultrafiltratı oluşturur. Bu ultrafiltratın içerisinde kanın hücresel bileşenleri ve proteinlerin büyük kısmı bulunmaz. Glomerüler ultrafiltrat nefronun tübül sisteminde ilerlerken suyun % 99'dan fazlası ve bazı ihtiyaç duyulan moleküller çeşitli miktarlarda geri emilime uğrarken bazı molekülleri ise salgırlar. Sonuçta ultrafiltratta geri emilmeyen maddeler ve su, idrarı meydana getirir ve vücuttan uzaklaştırılır (Berne & Levy, 2000).

2.1.4.1.Vücuttaki sıvı ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi

Vücut sıvısındaki elektrolitlerin kontrolü, dokulardaki normal hücre volumünün korunması için gereklidir. Vücuttaki sıvı miktarının kontrolü ise kardiyovasküler sistemin normal fonksiyon görmesi için gereklidir. Böbrekler ayrıca sodyum, potasyum, klor, bikarbonat, hidrojen, kalsiyum ve fosfat gibi bazı inorganik iyonların miktarlarının düzenlenmesi rolünü de üstlenirler. Bu maddelerin vücutta birikmemeleri için idrarla atılmaları gereklidir (Dostbil, 2006).

2.1.4.2.Asit-baz dengesi

Vücuttaki metabolik olayların pek çoğu pH'ya oldukça duyarlıdır. Bu nedenle pH değerinin çok dar bir aralıkta kalması gerekir. pH; böbrek, karaciğer ve akciğerin koordineli çalışması ve vücut sıvılarındaki tamponlarla dengede tutulmaya çalışılır (Berne & Levy, 2000; Dostbil, 2006).

2.1.4.3.Metabolik atık ürünlerin ve yabancı maddelerin atılması

Üre, kreatinin, ürik asit, hemoglobin metabolizmasının son ürünleri ve hormonların metabolitleri böbrekler vasıtasıyla vücuttan uzaklaştırılır. Böbrekler aynı zamanda, ilaçlar, pestisitler ve diğer kimyasal maddeleri de vücuttan atarlar (Berne & Levy, 2000).

2.1.4.4.Endokrin fonksiyon

Böbrekler; kalsitriol, renin, eritropoetin üreten önemli endokrin fonksiyonu gösteren organlardır. Kalsitriol [1,25(OH)2D3], kalsiyumun gastrointestinal sistemden emilmesini sağlar. Kalsiyumun kemiklere yerleşmesi için gereklidir. Renin, reninanjiotensin-aldosteron sistemini aktive ederek, Na⁺-K⁺ dengesini ve kan basıncını düzenlemeye yardımcı olur. Eritropoietin, kemik iliğinde eritrosit yapımını uyarır (Berne & Levy, 2000; Dostbil, 2006).

2.2.BÖBREK PATOFİZYOLOJİSİ

Böbrek yetmezliği, böbreklerin homeostatik düzenleme yetilerini kaybetmeleri sonucu ortaya çıkar. Nefronlar, öncelikle glomerül veya tübül ya da her ikisine zarar veren toksik, anoksik veya immünolojik yaralanmalar sonucu kaybedilirler. Böbreklerin yaralanmaya yanıt olarak işlevsel kapasitelerini belirgin şekilde arttırma yetileri vardır. Bu nedenle böbrek işlevsel kütledeki önemli miktarda bir azalma (% 50-60) herhangi bir belirgin biyokimyasal değişim ya da herhangi bir önemli belirti açığa çıkmadan gerçekleşebilir. İşlevsel değişimin en duyarlı ve özgül ölçümü glomerül filtrasyon hızı (GFR) 'dir. En küçük bir akut böbrek yetmezliği semptom ve bulgusu olmadan GFR 50 mL/dakika/1.73 m²'nin altına inebilir. Nefron başına düşen iş yükünün artışının tek başına ilerleyici böbrek yetmezliğinin önemli bir nedeni olduğu düşünülür.İyi bilinen bir varsayıma göre, nefron sayısındaki azalma primer renal yaralanmadan bağımsız olarak, öyle bir noktaya gelir ki, bundan sonraki kayıplar interstisyel fibrozise gidişin hızlanmasına neden olur (Remuzzi, Ruggenenti & Benigni 1997)

2.2.1.Böbrek yetmezliği tipleri

Böbrek yetmezliği tipleri akut böbrek yetmezliği (ABY) ve kronik böbrek yetmezliği (KBY)'dir.

2.2.2.Akut böbrek yetmezliği

ABY, sıklıkla iskemik veya nefrotoksik olaylar sonucunda, yaygın olarak hastane ortamında oluşan bir hastalıktır. Akut böbrek yetmezliği, saatler veya günler içerisinde ani olarak böbrek fonksiyonlarının bozulması ve buna bağlı olarak azotlu bileşiklerin vücutta birikmesi ile karakterize bir durumdur. Böbrek yetmezliğinin ağırlığına ve süresine bağlı olarak, metabolik asidoz, su ve elektrolit dengesinin bozulması gibi metabolik bozukluklar da tabloya eklenebilir. Bu hastaların %20-60'ında diyaliz ihtiyacı olmaktadır (Brady & Singer, 1995; Lameire & Biesen, 2005).

Akut böbrek yetmezliğinin tanımı ile ilgili farklı görüşler olmakla birlikte yakın zamanda The Acute Dialysis Quality Initiative Group, ABY'yi ağırlığına göre 3, klinik sonuçlarına göre 2 kategoriye ayırdığı bir sınıflama geliştirmiştir.

ABYnin etyolojisi patogenezinin göre 3 kategoride incelenebilir.

- 1) Prerenal Azotemi (Prerenal ABY):** Akut böbrek yetmezliğinin en sık nedenidir ve böbreğin hipoperfüzyonuna bağlı oluşur. Eğer altta yatan sebep düzeltilirse böbrek fonksiyonları hemen geri döner. Başlangıçta böbrek hasarı yok iken, eğer perfüzyon hemen sağlanmaz ise böbrek hasarı gelişir ve akut tübüler nekroz (ATN)'e ilerler.
- 2) Akut İntrinsik Böbrek Yetmezliği:** Akut böbrek yetmezliğinin %25'ini oluşturur. Böbreğin büyük ve mikrovasküler damarları ile glomerüllerini tutan hastalıklara, tübülointerstisyel hastalıklara, iskemik ve nefrotoksik ATN'e bağlı oluşabilir. Akut tübüler nekroz çoğu zaman ABY ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır. Ancak iskemik ve nefrotoksik ABY'li olguların %20-30'unda ATN'de olduğu gibi tübüler nekroza rastlanmaz. İskemik ve toksik ATN, olguların yaklaşık %90'ını oluşturur.
- 3) Postrenal ABY:** Tüm ABY olgularının %5'ini oluşturur. Tek bir böbreğin, kreatinin dengesini sağlayacak kapasiteye sahip olması nedeni ile obstrüksiyona bağlı böbrek yetmezliği gelişmesi için bilateral üreterlerde, üretrada veya mesane boynunda tıkanma olması gereklidir (Brady & Singer, 1995).

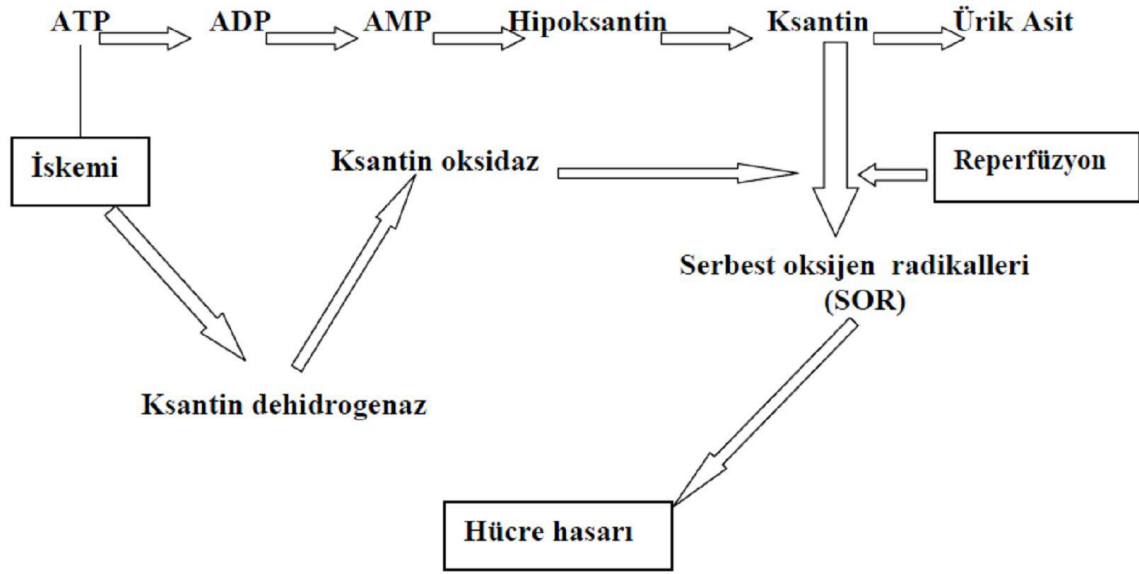
2.3.İSKEMİ/REPERFÜZYON

2.3.1.İskemi:

Bir organa gelen kan akımının bazı etkenlerle özellikle de organ transplantasyonu ve vasküler cerrahi işlemler esnasında yetersiz hale gelmesine veya durmasına iskemi denir (Şener, 2009). İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskeminin uzun sürmesi sonucunda hücrelerin bütünlüğünün kaybolması söz konusudur. Bu durum hücre ölümüne kadar da gidebilmektedir. Hipoksinin ilk zarar verdiği yer hücrenin aerobik solunumudur. Hücrede oksidatif fosforilasyon bozulur, fosfokreatin ve ATP sentezinde azalma meydana gelir. Bu durum ATP'ye bağımlı iyonik pompa fonksiyonunun bozulmasına ve hücreye daha fazla Na⁺ ve kalsiyum (Ca⁺²), ile su girmesine neden olur. Hücre ATP azlığı adenozin monofosfat (AMP) artımı ile birlikte. Fosfofrüktokinaz enzimini uyarır, anaerobik glikoliz hızı artarak glikojenden ATP oluşumu ile hücre enerji kaynakları korunur. Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinden hidroliz sonucu oluşan inorganik fosfat birikimine yol açarak hücre içi pH'yı düşürür. Granüllü endoplazmik retikulumdan ribozomlar ayrılır ve polizomlar monozomlara parçalanır. Hipoksi devam ederse membran geçirgenliği artar ve mitokondri fonksiyonları azalır. Mitokondriler normal, şişmiş ya da gerçekten yoğunlaşmıştır. Endoplazmik retikulum genişlemiştir ve tüm hücre belirgin olarak şişmiştir. Bu bozuklukların tümü oksijen verilince *geri dönüşlü*dür. Eğer iskemi sürerse geri dönüşsüz zedelenme oluşur (Kumar, Abbas & Aster, 2013).

Geri dönüşsüz zedelenme yapısal olarak mitokondri ve kristallerinde aşırı vakuolizasyon, plazma zarında aşırı zedelenme, lizozomlarda şişme ve özellikle iskemik alan yeniden beslenirse hücre içine yoğun kalsiyum tutulumu ile birlikte. Amorf kalsiyumdan zengin yapılar mitokondri matriksinde gelişir. Geri dönüşsüz zedelenmeyi karakterize eden iki olay vardır. Birincisi mitokondri bozukluğunun reperfüzyon ve reoksijenasyonuna rağmen düzeltilemeyişi ve ikincisi membran fonksiyonlarının çok ciddi bozukluğudur (Şener, 2009; Öner G, 2007)

Böbrekteki iskemik süreç proksimal tübül hücrelerinde hasara ve kortikal nekroz sonucunda böbrek yetmezliğine neden olmaktadır. Postiskemik reperfüzyonu takiben oluşan oksijen serbest radikallerinin akut böbrek yetmezliği patojenezinde ve transplantasyondan sonra gecikmiş graft fonksiyonunda önemli rolleri vardır. Reperfüzyonda hipoksantin, ksantin oksidaz tarafından ksantine çevrilir ve bu sırada moleküler oksijenin yıkım ürünü olarak superoksit radikali oluşur (Dikmen & Özgüven, 2004) (Şekil 2.3)



Şekil 2.3. İskemi Reperfüzyon hasarında radikal oluşumu

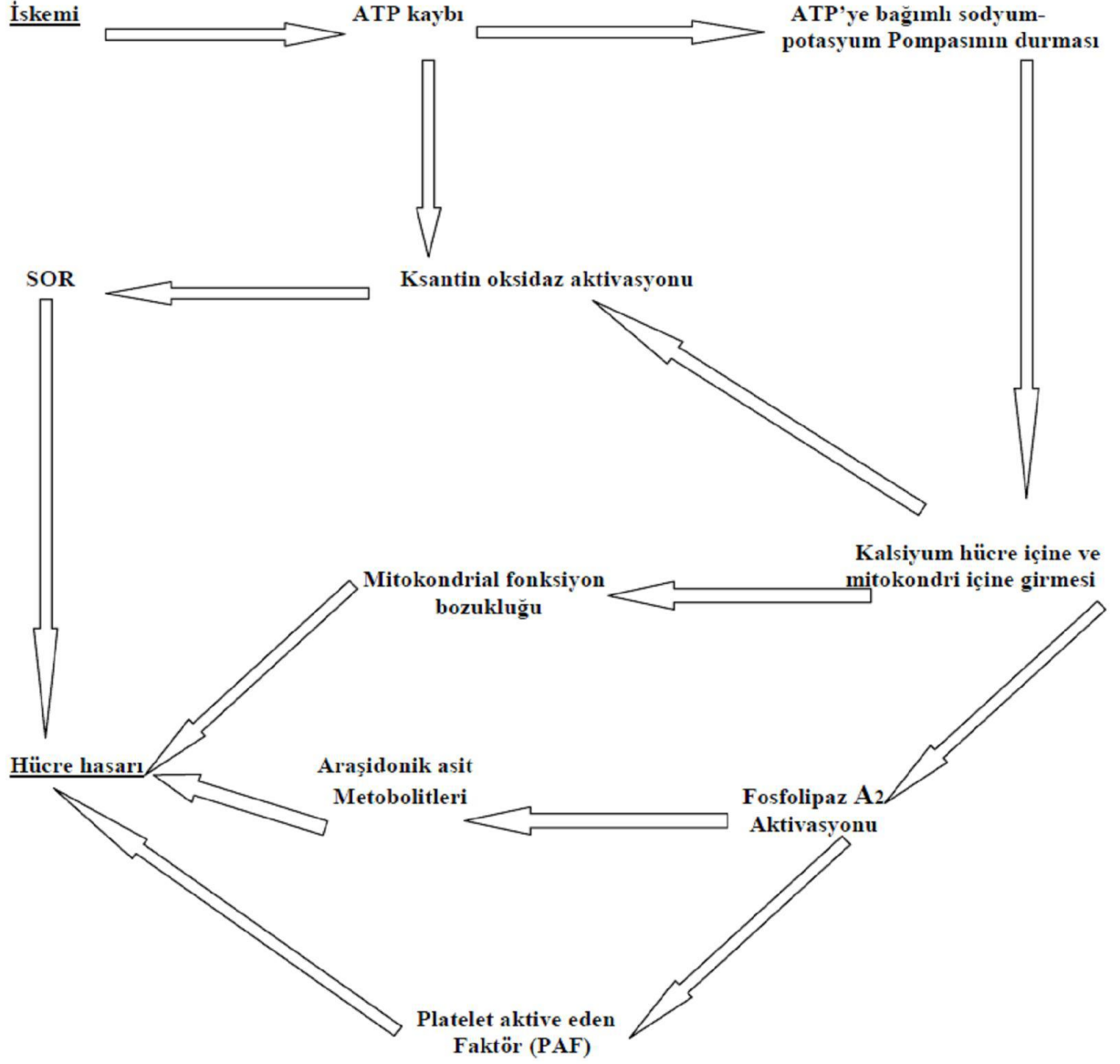
Membran zedelenmesinin oluşumunda dört potansiyel neden suçlanmaktadır.

- 1-** Membran fosfolipidlerinin giderek artan kaybı: Oksijen kaybı, mitokondri ve endoplazmik retikulumu içine alan kalsiyum artıklarının birikimi ve sitozolik kalsiyum artışının nedenidir. Fosfolipidlerin sürekli kaybı sonucu ATP-bağımlı fosfolipidlerin yeniden yapımı veya dönüşümü olmaz.
- 2-** Hücre iskelet anomalileri: İskemide hücre iskeletinden hücre membranının ayrılması hücre şişmesinde görülür. Hücre iskelet proteinlerinin parçalanması, sitozolik kalsiyum artışıyla hücre içi proteazlarının aktivasyonu sonucudur.
- 3-** Toksik oksijen radikalleri: İleri derecede toksik olan kısmen oksijenasyonu azalmış türevler hücre membran ve diğer hücre yapılarında zedelenmeye yol açar. Toksik oksijen türevlerinin büyük ölçüde reperfüzyon sırasında iskemi alanında infiltre olan polimorfonükleer lökositler tarafından yapıldığı düşünülmektedir.
- 4-** Lipid yıkım ürünleri: İskemik hücrelere membranlar üzerinde deterjan etkisi olan fosfolipidlerin parçalanması sonucu katabolik ürünler birikir.

Sonuç olarak, hipoksi oksidatif fosforilasyonu etkiler ve hayati olan ATP yapımını engeller; kritik noktadan sonra öldürücü olan membran zedelenmesi yapar. Kalsiyum hücre ölümünde yapısal değişikliklerin potansiyel mediatörüdür (Öner G, 2007; Kumar V, 2013)

2.3.2.Reperfüzyon :

Reperfüzyon ise iskemiye maruz kalan doku veya organların yeniden kanlanmasına bağlı olarak oksijenlenmesi olayıdır. Reperfüzyon hasarı ise, iskemiden sonraki yeniden kanlanma döneminde meydana gelen doku ya da organlardaki hasar olarak tanımlanır (Akkoc H, 2008). Hücre içine moleküler oksijenin sunumuyla hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri en çok suçlanan faktör olmakla birlikte, reperfüzyon hasarından birçok mekanizma sorumlu tutulmuştur. Birçok farklı dokuda çeşitli şartlarda meydana gelebilen bu durumu fizyopatolojik olarak iskemik hasar ve İ/R hasarı şeklinde ayırt etmekte fayda vardır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. İskemi reperfüzyon hasarı oluşma mekanizmaları

2.3.3.İskemi/Reperfüzyon Hasarı :

İskemi-reperfüzyon hasarı (İRH),son yıllarda önemi giderek artan bir konu haline gelmiştir. Bunun en önemli nedeni transplantasyon alanındaki gelişmelerdir.

İ/RH kalp, akciğer, karaciğer, böbrek ve bağırsaklarda sık rastlanan ve oldukça ciddi patolojilere yol açabilen olaylar dizisidir (Saba vd, 2000).

Akut böbrek yetmezliğinin görülen en yaygın nedeni böbrek iskemi reperfüzyon hasarıdır. İ/R sonrası akut renal hasardan dolayı mortalite ve morbidite oranı artabilmektedir (Şentürk, Kolankaya & Şahin, 2008). Böbrek iskemisinin en çok görüldüğü klinik durumlar; böbrek transplantasyonu, kardiyopulmoner bypass, sepsis, aşırı kan kayıpları, travmalar, kısmi nefrektomi, hidronefrozis ve çeşitli ürolojik girişimlerdir. İskemi sonrasında hücrelerde birçok metabolik ve yapısal değişiklikler oluşmaktadır.

Bunlardan bazıları; vasküler endotel hücrelerde, tübüler epitelyum hücrelerde ve böbrek immün sistem hemostazındaki değişikliklerdir.

2.3.4.İskemi-Reperfüzyon Hasar Mekanizmaları

İ/RH ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücresele ve humoral olaylar serisidir.

Özellikle;

- 1- Serbest oksijen radikalleri
- 2- Polimorf nüveli lökositler (PMNL)
- 3- Kompleman sistemi
- 4- Endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında yer almaktadır.

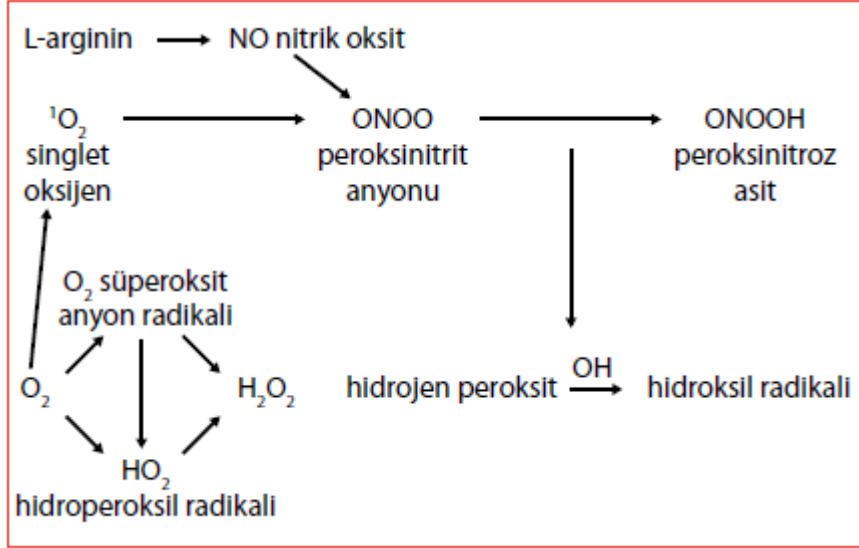
2.3.4.1.Serbest oksijen radikalleri :

Reperfüzyon hasarından sorumlu ana etkenlerden biri serbest radikallerdir. Genelde elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir.

Ancak, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı onu reaktif hale getirir.

Organizma sürekli olarak serbest radikal ataklarıyla karşı karşıyadır. Serbest radikaller fizyolojik şartlarda ve dış etmenlere karşı organizmanın savunmasında da belirli oranda oluşur. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikallerin endojen kaynakları oksijen, nitrik oksit (NO), uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranı olarak sayılabilir (Şekil 2.5).

Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan ve oksidan hasar oluşumu ile birlikte artan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H_2O_2)'e indirgenir. Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir. Hidrojen peroksit daha sonra katalaz enzimi ile suya dönüştürülür.



Şekil 2.5. Moleküler oksijenden serbest radikal oluşumu ve nitrik oksitle ilişkisi

2.3.4.2. Polimorf nüveli lökositler (PMNL) :

İskemi sonrasında endotelin hasar görmesi ile nötrofil ve platelet aktivasyonu meydana gelmektedir. İ/R ile lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu meydana gelir. Diğer taraftan, PMNL yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. İskemi reperfüzyon hasarında PMNL'in rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür.

Bunlar:

- 1) Mikrovasküler oklüzyon;
- 2) SOR salınması;
- 3) Sitotoksik enzim salınması;
- 4) Vasküler permeabilite artışı ve
- 5) Sitokin salınmasındaki artış

PMN'lerin aktivasyon ve migrasyonları endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan adhezyon molekülleri aracılığıyla olur. Selektinlerin adhezyon molekülü olarak bilinen L, P ve E selektin olmak üzere bilinen üç üyesi vardır.

İ/R, endoteldeki P-selektin ekspresyonunu artırır. Bu molekül, PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein 1 (PSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur (lökosit rolling). İkinci aşamada, lökosit beta2 integrinler (CD11a/CD18 ve CD11b/CD18) ile endoteldeki interselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1) arasındaki etkileşim sonucunda lökosit adhezyonu ve agregasyonu gelişir. Üçüncü aşama ile trombosit-endotel hücresi adhezyon molekülü 1 (PECAM-1) ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile lökosit transmigrasyonu gerçekleşir. Aktive lökositler damar dışına ulaşınca hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar (kemotaksis). Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için gerekli kemotaktik maddeler arasında C3a ve interlökin-1 (IL-1), lökotrien B4 (LT-B4), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve prostaglandin (PG) türleri vardır. Aktif lökositler nükleer transkripsiyon faktörlerinin (NF-kB) aktivasyonuna ve tümör nekrozis faktör (TNF-a) sentezine yol açar.

2.3.4.3.Komplemanların rolü :

İ/RH'da kompleman sisteminin rolü tam olarak açıklığa kavuşmamış olsa da kompleman sisteminin aktivasyonu sonunda proinflamatuvar komponentler oluştuğu bilinmektedir ki bunlar C3a, C5a, iC3b ve C5b-9'dur. C3a ve C5a anaflatoksinlerdir ve lökositleri aktive ederler. Lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasına ek olarak C5a, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)- 1, TNF-a, IL-1 ve IL-6 üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı amplifiye eder. Kompleman tarafından sentezi uyarılan lökosit adhezyon molekülleri ise şunlardır:

- Vasküler hücre adhezyon molekülü 1 (VCAM-1)
- İnterselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1)
- E-selektin
- P-selektin

C5b9 endotelde IL-1a, IL-8 ve MCP-1 salgısını uyararak lökosit aktivasyonu ve kemotaksisi artırır. Aynı zamanda endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ederek ve endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltarak vasküler tonusu bozar

2.3.4.4.Endotel hücresinin rolü:

İ/RH'nın oluşmasında endotel hücrelerinin de önemi büyüktür. Oksidatif stres sırasında endotel hücrelerinin aktivasyonu ve işlevleri bozulur. Endotel hücreleri SOR için potansiyel hedef konumundayken diğer taraftan da SOR üretim kaynağıdır. Endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'i ve NO'yu üretir. NO arteriyel dolaşımda ET'in vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir.

Venlerde ise bunun tersi söz konusudur. İ/RH'da endotelin/ NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon olur. Endotel hücrelerinin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive edilir; lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artar.

SOR etkisi ile endotel hücreleri hasara yanıt olarak IL-1, PAF, prostaglandinler (PG I₂, PG E₂), GM-CSF, büyüme faktörleri, endotelin, NO ve tromboksan A₂ (TxA₂) salgırlar. Aktive olan endotel hücreleri ek olarak kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılaya yeteneğindedir. Nitrik oksitlerin radikal olarak reaktivitesi düşüktür, ancak metal içeren bileşikler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girerler. Özellikle lipid radikallerle tepkimeye girmesi NO'ya antioksidan bir etki kazandırır. Fizyolojik derişimde üretilen NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO₃⁻) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz enziminin indüksiyonu sırasında NO derişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'nin dolaylı etkilerinden sorumludur ve hücrel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna yol açarak, proteinlerin ve enzimlerin aktivitelerinin sonlanmasına neden olabilirler (Şener G, 2009).

2.3.5.İskemi-Reperfüzyon Hasarının Önlenmesi ve Tedavisi

İskemi ile karşılaşma süresi ne kadar kısa olursa İ/RH'nın şiddeti de o kadar az olmaktadır. Hayvan deneylerinde böbreğin güvenli bir şekilde sıcak iskemiye maruz kalma süresi 20- 90 dakika arasında bulunmuştur. Ancak 40 dakikanın üzerinde dönüşümsüz hasar riski artmakta ve barsaklarda stazın varlığı İ/RH'nı artırmaktadır.

Yukarıda bahsi geçen fizyopatolojik mekanizmaları ve mediatörleri bloke eden çok sayıda bitkisel ve kimyasal madde geliştirilmiştir. Ancak bugüne kadar çok azı klinik kullanıma girmiştir. Tabi bunda İ/RH'nın çok karmaşık ve çok parametrel bir kompleks olmasının da rolü vardır.

Çalışmalarda kullanılan hayvanın cinsi, kullanılan iskemi modeli, iskeminin süresi verilecek maddenin iskemi başlamadan ne kadar zaman önce verildiği, veriliş şekli, dozu ve İ/RH'nın tesbit edilme yöntemi gibi birçok faktör araştırma sonuçlarını değiştirebilmektedir.

2.4.ANTİOKSİDANLAR :

2.4.1.Antioksidan Savunma Sistemleri :

Sağlıklı bireylerde normal metabolizma sonucunda oluşan SOR"lar vücudun savunma mekanizması olan antioksidan savunma sistemiyle uzaklaştırılır. Sağlıklı vücutta, oksijen radikalleri ile antioksidan savunma mekanizması tam bir denge halinde çalışır (Karaca & Güder, 2009). Fakat çeşitli nedenlerle savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılındanda daha fazla radikal meydana gelmesi oksidatif stres olarak tanımlanır. Metabolizmada kullanılan oksijen çeşitli etmenlerin etkisiyle aktif oksijen formları oluşumuna katılmaktadır. Oluşan aktif oksijen formları, protein, karbonhidrat ve lipidlerde yapısal bozukluklara neden olmaktadır. Oksidatif hasar meydana geldikten sonra telafi edilmezse zamanla artar ve ateroskleroz, diyabet, alzheimer, koroner kalp hastalıkları ve kanser gibi birçok hastalığın oluşmasına neden olur (Aydemir & Sarı karadağ, 2009).

Antioksidanlar düşük konsantrasyonlarda okside edilebilen ve diğer bir substratın oksidasyonunu azaltan veya engelleyen yani oksidasyona karşı mücadele eden maddelerdir (Çaylak, 2011). Organizmayı koruyan antioksidan savunma sistemi; süpürücü etki, inaktif şekle dönüştürücü etki, zincir kırıcı etki ve onarıcı etki olmak üzere dört yolla etki gösterir (Eşrefoğlu, 2009 ; Moure vd, 2001).

2.4.2.Antioksidan Kaynakları :

Antioksidanlar *enzimatik* ve *non-enzimatik* olarak incelenirler: Süperoksit dismutaz (SOD) katalaz (CAT) glutatyon peroksidaz (GSH-Px) birinci derece enzimatlere, glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz 6- fosfat dehidrojenaz (G6PD) ikinci derece enzimatlere örnek gösterilmektedir (Yılmaz, 2010).

Non-enzimatik olanlar ise; mineral (Se, Zn), vitamin (A, C, K ve E), karotenoitler (β -karoten, likopen, lutein, zeaksantin), organosülfür bileşikleri (allium, allil sülfid, indoller), düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar (GSH, ürik asit), antioksidan kofaktörler (koenzim Q10) ve polifenoller şeklinde incelenmektedir (Yılmaz, 2010).

Ayrıca antioksidanlar;

- ❖ Eksojen (karoten)
- ❖ Endojen (melatonin, SOD, GSH-Px, CAT),
- ❖ Protein (melatonin),
- ❖ Vitamin (A, C ve E vitamini),
- ❖ İz element (Mg, Se)
- ❖ Kompleks bileşik (kateşinler, epigallaktokateşin),
- ❖ Hidrofilik (askorbik asit, ürik asit, flavonoidler),
- ❖ Hidrofobik (β -karoten, α -tokoferol),
- ❖ Direkt etkili (SOD, CAT),
- ❖ İndirekt etkili (vitamin E) olanlar şeklinde gruplandırılabilirdiği gibi,
 - ❖ Membran (vitamin A ve E, β - karoten),
 - ❖ Dolaşım (vitamin C, aminoasitler ve polifenoller),
 - ❖ Sitosol (ko-enzim Q10) ve
 - ❖ Sistem (Se, Zn) antioksidanları şeklinde de sınıflandırılmaktadır (Cornelli, 2009 ; Stahl vd, 2002).

Bazı gıda kaynaklı antioksidanların oksidasyonu engelleyerek, ateroskleroz, malarya, romatoid artrit ve diyabette faydalı olabileceği, antitümoral, antimutajenik, antimetastatik, antitrombik, antiülser, antikarsinojenik ve antihipertansif ayrıca antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiaging etkileri de olduğu yapılan in-vivo çalışmalarla belirlenmiştir (Hassimoto, Pinto & Ljolo, 2008).

Gıdalar; flavonoid, polifenol, flavon, antosiyanin, ellajitannin, likopen, resveratrol, kateşin ve epikateşin, kuersetin, fisetin, rutin, morin, kaemferol, amigdalın, hesperidin, narinjin ve narinjenin, viniferin, triterpenoid, hidroksisinnamik asit, benzoik asit, gallik asit, sinapik asit, vanilik asit, sirinjik asit, kafeik asit, ferulik asit ve pkuarolik asit ve bazı vitaminler ve/veya vitamin ön maddesi olan α -tokoferol, tokotrienol, karotenoid, askorbik asit ile mineraller gibi aynı zamanda antioksidanlardan bir ve/veya birkaçını içermektedir (Yılmaz, 2010).

Antioksidanların *in vivo* olarak biyoyararlanımı, absorpsiyonu, metabolizması, farmakokinetiği ve besin maddelerinde kullanımını açısından bu mekanizmalar önem kazanmıştır.

Besinlerdeki doğal antioksidanlar, bitkinin bütün kısımlarında bulunabilen polifenolik yapılu bileşiklerdir. Bitki fenollerini çok fonksiyonlu olup indirgeyici ajan, metal şelatörleri ve oksidasyon önleyici etkileri vardır. Genel olarak bitkisel fenolik antioksidanlara örnek olarak flavonoid bileşikleri, fenolik asit türevleri, naftakinonlar, kumarinler ve tokoferoller gösterilmektedir. Doğal antioksidanlar organizmadan absorbe edildikten sonra fizyolojik fonksiyonları açısından önemli duruma gelirler (Triantaphyllou, Blekas & Boskou, 2001).

Besinlere ilave edilen sentetik antioksidanların ortaya çıkan çeşitli yan etkileri üreticileri doğal kaynaklı antioksidanları kullanmaya yöneltmiştir. Bu sentetik antioksidanların fenolik yapıda olması bu konuda yapılan araştırmaların da doğal yapıli antioksidanlarda aynı yapıya sahip moleküllerin, özellikle de flavonoidler ve fenolik asitlerin incelenmesi üzerinde yoğunlaşmasını sağlamıştır (Balasundram, Sundram & Samman, 2006).

Fenolik bileşikler serbest radikallerin engellenmesinde önemli bir rol oynarlar. Böylelikle LDL oksidasyonuna karşı dayanıklılığı arttırır ve lipid peroksidasyonunu engellerler. Fenolik bileşiklerin aynı zamanda iltihap kurutucu etkileri de vardır. Sağliğa yararlı olan fenolik flavonoidler, meyvelerde ve çay, şarap gibi içeceklerde de bulunmaktadır. Ortalama flavonoid tüketiminin koroner kalp hastalıkları ölümleri ile ters orantılı olduğu görülmüştür (Samman S, Lyons & Cook, 1998).

Gıdalarda kullanılacak antioksidanlar bazı özelliklere sahip olmalıdır. Bunlardan bazıları şunlardır:

- ❖ İnsan sağliğı için zararsız olmalı,
- ❖ Çok küçük miktarlarda kullanılmalı, böylece maliyeti arttırmamalı,
- ❖ Gıdanın doğal koku, görünüş ve tadını bozmamalı,
- ❖ Koruyacağı madde içinde çözünmeli veya iyice karışmalı,
- ❖ Normal üretim sırasında etkisini kaybetmemelidir (özellikle yüksek sıcaklık uygulamalarında) (Maddox, 1976; Josse 1987; Köylüoğlu & Yurteri, 2000).

İnsanlar yüzyıllardan beri hastalıklara karşı bitkiler ile çare bulmaya çalışmışlardır. Bitkiler ile hastalıkları tedavi etme yöntemleri oldukça başarılı sonuçlar vermiştir. Bundan dolayı bitkilerin tedavide kullanımı günümüze kadar devam etmiştir. Birçoğu tesadüfen, birçoğu da merak sonucu denenerek etkileri anlaşılan doğal ilaçlar, kulaktan kulağı yayılarak herkes tarafından tanınmış ve yıllar geçtikçe daha farklı bitkilerin başka dertlere de deva oldukları anlaşılmıştır.

2.5.Lamiaceae (Labiatae) Familyası

Lamiaceae (Labiatae) familyası bitkileri Kuzey Kutbu'ndan Himalayalar'a, Güney Doğı Asya'dan, Hawaii ve Avustralya'ya, Afrika ve Amerika'ya kadar geniş bir alanda yetişmekle birlikte, özellikle Akdeniz bölgesinde oldukça yoğun bir yayılışa sahiptir. Dünya üzerinde 224 cins ve yaklaşık 5600 tür ile temsil edilen kozmopolit bir familyadır (Duman vd, 2005).

Özellikle, çok sayıda bitki içeren *Lamiaceae* familyası antioksidan özellikleri bakımından iyi bilinir. Bu bitkilerden halen dünyada etkisi iyi bilinen ve kullanılan *Rosmarinus officinalis* ve *Salvia L. (Adaçayı)* türleridir (Şekil 2.6;2.7).

Halk arasında tıbbi bitkiler en fazla çay formunda tüketilmektedir. Tıbbi çaylar arasında da önemli bir kısmı *Lamiaceae* (Labiatae) bitkileri oluşturmaktadır. *Lamiaceae* familyası tüm dünyada uçucu yağları ile en çok tanınan ve çalışılan bitkileri kapsar. *Salvia* L. 'nin antioksidan özellikleri, çoğunlukla içerdiği fenolik bileşiklerdendir.



Şekil 2.6. *Rosmarinus officinalis*



Şekil 2.7. *Salvia* Lamiaceae

Türkiye, *Salvia* cinsinin, 97 tür ve % 54 endemizm oranı ile temsil edildiği geniş yayılış merkezlerinden biridir (Celep, Kahraman & Doğan, 2011). Çalışmamızda kullanacağımız *Salvia* türleri olan *S. aethiopsis*, *S. dichroantha*, *S. cryptantha*, *S. cerarophylla*, *S. tchihatchetii* ise iç Anadolu bölgesine endemiktir (İpek & Gürbüz, 2010; Süntar, Akkol, Şenol, Keleş & Orhan, 2011).

Türk halk hekimliğinde bazı *Salvia* türlerinin; yaralar, cilt hastalıkları ve inflamasyona karşı kullanıldığı kaydedilmiştir. Örneğin; yapılan çalışmalarda *Salvia aethiopsis* köklerinin yaraya her gün uygulanması ile yaranın 5-10 gün süreyle iyileşme gösterdiği yine *Salvia cryptantha*'nın parçaları ile hazırlanan infüzyonun, mide rahatsızlıklarında ve yaralar için antiseptik olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Sezik vd, 1997).

Cinsin Türkiye'de yetişen türlerinin halk arasında başlıca, dahilen gaz söktürücü, mide ağrısı giderici, hazmı kolaylaştırıcı, ter kesici, idrar arttırıcı, öksürük kesici, göğüs yumuşatıcı, ağrı kesici, ateş düşürücü, antiseptik (boğaz ve burun hastalıklarında), soğuk algınlığının tedavisinde, boğmaca ve astım tedavisinde, diş eti hastalıklarının tedavisinde kadın hastalıkları ve rahim kanseri tedavisinde, haricen hemoroitte, sivilce ve yaraların tedavisinde yara iyileştirici olarak kullanıldığı bildirilmiştir. (Bayrak, Kutbay & Ergen, 2006; Baytop, 1999; Cansaran & Kaya 2010; Bulut, 2008; Gürhan & Ezer, 2004, Gürsoy & Gürsoy, 2004; Koyuncu vd, 2010; Özgökçe & Özçelik, 2004; Şiğva & Seçmen, 2009).

Salvia türleri tüm dünyada antibakteriyel, antioksidan, antidiyabetik ve antitümör etkileri nedeni ile geleneksel ilaç olarak kullanılır. Pek çok türü bitkisel çay ve yiyecek (adaçayı, dağ çayı), kozmetik, parfümeri ve eczacılık endüstrilerinde kullanım alanlarına sahiptir (Bagherpour, Miinaei & Khoshtaghaza, 2010).

Cinsin, analjezik, antiinflamatuvar, antipiretik, antioksidan, hepatoprotektif ve hipoglisemik, antiepileptik, antiülserojenik, etkileri gibi çoklu farmakolojik etkileri de bilinir (Hosseinzadeh & Imanshahid, 2006).

Salvia L. türlerinin inflamasyonla ilişkili rahatsızlıkların iyileştirilmesinde kullanılmasına bağlı olarak, antiinflamatuvar etkisini incelemek amacı ile gerçekleştirilmiş çalışmalar bulunmaktadır (Baricevic vd, 2001; Benrezzouk vd, 2001; Chan vd, 2011; Ding vd, 2005; Hernández-Pérez vd, 1995; Hosseinzadeh vd, 2003; Junga, Songa & Limb, 2009; Qnais vd, 2010; Ren vd, 2010).

Literatür taramalarına göre *Salvia cryptantha* da dahil olmak üzere bazı *Salvia* türleri geleneksel yaraların iyileşmesi için güncel olarak kullanılmaktadır. Birçok *Salvia* türü yara iyileştirici aktivite ve antiinflamatuvar özellikte rozmarinik ve kafeik asit grupları içermektedir. Geller ve arkadaşları rosmarinik asitin TNF alfa salınımı ve 5' lipoksijenaz salınımına inhibitör etki gösterdiğini belirtmişlerdir (Geller vd, 2010). Song ve ark. ise derisi kazınmış fareden izole edilen hücreler üzerinde kafeik asitin yara iyileşmesi üzerine etkili olabileceğini öne süren hücre kültür sisteminde antiinflamatuvar özellikte olduğunu göstermişlerdir (Song vd, 2008).

Sentetik ürünlerin toksik olması ve kullanımı sonucu ortaya çıkan yan etkileri sebebiyle ve tüm dünyanın artık doğal ürünlere yönelmesinden dolayı *Salvia (adaçayı)* bitkisinin çeşitli yararlı yönlerinin ortaya çıkartılması konusunda deneysel çalışmalar yapılması gereklidir.

Salvia türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar, cinsin mono, di, triterpenler, flavonoidler ve fenolik asitler yönünden oldukça zengin olduğunu göstermiştir. *Salvia* türlerinden antosiyanin, flavonoid, lignan yapısında bileşikler de izole edilmiştir. Polisakkaritler, lektinler, steroller, alkaloidler ve aromatik bileşikler *Salvia* türlerinin ihtiva ettiği diğer bileşik grupları arasında yer almaktadır. *Salvia* cinsine ait türlerden elde edilen uçucu yağların pek çoğunun bileşimi de çeşitli çalışmalarda incelenmiştir.

2.5.1.Adaçayının Fitokimyasal İçerikleri ve Özellikleri

Uçucu yağlar

Uçucu yağlar bitkilerden ya da bitkisel droglardan, su veya su buharı damıtması ile elde edilebilen, oda sıcaklığında bile buharlaşabildiklerinden ve genellikle güzel kokulu olduklarından *uçucu yağ*, *eterik yağ*, *esans* gibi isimlerle anılırlar (Büyükkaya, 2002).

Uçucu yağlar petrol eteri, benzen, eter, etanol gibi organik çözücülerde çözünürler. Uçucu yağları sabit yağlardan ayıran en önemli özelliklerden biri sulu etanolde çözünebilmesidir. Uçucu yağlar, su buharı ile sürüklenebilirler ve süzgeç kağıdı üzerinde leke bırakmazlar. Sabit yağlar ise su buharı ile sürüklenmezler ve süzgeç kağıdı üzerinde yağlı bir leke bırakırlar. Bu özellik uçucu yağları sabit yağlardan ayırır (Tanker & Tanker, 1990; Duru, 1993; Güvenalp, 1993).

Sabit yağlar

Sabit yağların karışımında başlıca gliseridlerden başka, serbest yağ asitleri ile sabunlaşmayan kısımlar bulunmaktadır. Sabunlaşmayan kısımlar, steroller ile A, D, E vitaminleri gibi yağda çözünen vitaminlerden başka, az miktarda uçucu yağ, reçine, hidrokarbon ve acı madde ihtiva eder. Sabit yağlardaki gliseridler genellikle trigliseridlerdir. Bitkisel yağları elde etmek için uygulanan yöntem ufak farklılıklarla beraber bütün droglar için aynıdır. Bitkilerin hemen her organında yağ bulunmakla beraber, genellikle tohumlar sabit yağ bakımından zengindir (Büyükkaya, 2002).

Terpenler

Terpenler, beş karbonlu izopren moleküllerinden oluşmuştur. İzopren moleküllerinin birbiriyle baş ve kuyruk konumundan bağlanması ile mono, seski, di, sester, tri, tetra ve politerpenler meydana gelir. Terpenler alifatik ve alisiklik yapıda olabilirler. Hidrokarbonlu terpenlerin yanı sıra oksijen molekülü içeren yani alkol, keton, eter, aldehit, karbonik asit, oksit gibi fonksiyonel gruplu terpenler de doğal olarak bulunmaktadır.

Terpenoidler, bitkiler ve hayvanlarda bulunan doğal bileşiklerin en önemli ve en geniş sınıflarından birisidir. Bitkilerde serbest halde bulunabildikleri gibi, glikozitleri, organik asit esterleri ve bir kısmı da proteinlerle birlikte bulunabilmektedir (Büyükkaya, 2002).

Diterpenler

Diterpenler, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan, dört izopren molekülünden meydana gelen, çeşitli farmakolojik etkilere sahip olan bileşiklerdir. Diterpenler kimyasal yapılarına göre şu şekilde gruplandırılabilir:

Asiklik diterpenler: Doğada az rastlanan diterpenler olup genellikle deniz ürünlerinden elde edilmektedir. Yeşil algler doğrusal yapıdaki asiklik diterpenler için bir kaynak oluşturmaktadır (Hanson, 1984).

Monosiklik diterpenler: Doğada en çok bulunan ve en önemli monosiklik diterpen A1 vitamini (Retinol) dir.

Son yıllarda kromatografik yöntemlerin gelişmesiyle diterpenlerin ayrılması ve saflaştırılması, modern spektroskopik tekniklerin gelişmesiyle de yapılarının aydınlatılması daha kolay ve hızlı olmuştur (Büyükkaya, 2002).

Triterpenler

Triterpenler altı izopren biriminden oluşmuş 30 karbonlu iskelete sahip yapılardır. Skualen bu grubun en önemli üyesidir. Triterpenler, bitkilerde serbest veya bağlı olarak bulunmaktadır. Serbest triterpenler, asit, alkol, aldehit, keton, epoksit ve lakton fonksiyonel gruplarından birini veya birkaçını bir arada taşıyabilirler veya hiç süstitüent taşımazlar (Ulubelen vd, 2003).

Fenolik maddeler

Fenoller, benzen halkasına bağlı -OH grubu içeren ve bu özellikleri dolayısıyla zincir kırılması ile peroksil radikallerini sönmleyici rol oynayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ettikleri için in vitroda güçlü antioksidan olarak kullanılan önemli bitki bileşenleridir (Hatano vd, 1989; Yen, 1993).

Fenolik maddeler, *fenolik asitler* ve *flavonoidler* olmak üzere iki ana başlıkta incelenmektedir.

Fenolik Asitler

Fenolik asitler; hidrokisisinamik asitler ve hidrokisibenzoik asitler olmak üzere iki grupta incelenirler. Şekillerde görülen bu bileşiklere OH ve OCH₃ grupları bağlanarak önemli türevleri olan fenolik asitler oluşabilmektedir. Fenolik asitler genel olarak serbest halde bulunmazlar.

Karboksil grupları karbohidratlar, glikozidler, aminoasitler veya proteinlerle reaksiyona girebilirler ve alkollerle fenol esterler, amino bileşikleri ile de amidleri oluştururlar. Fenolik asitlerin, fenol halkasına bağlı hidroksil grupları da çok aktif olup, şekerlerle birleşerek glikozitleri oluştururlar.

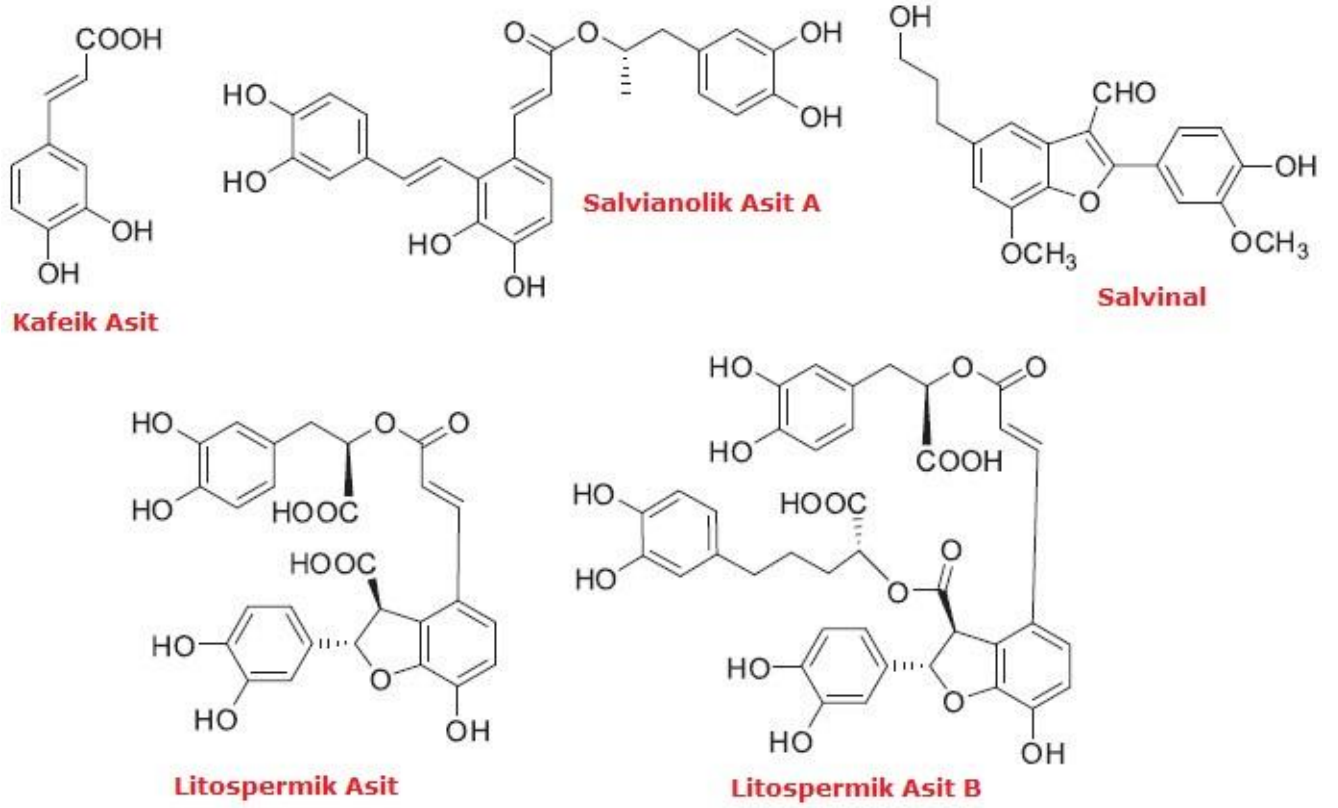
Flavonoidler

Genellikle sarı renkli olmaları nedeniyle, Latince *sarı* anlamına gelen *flavus* sözcüğünden türetilerek flavonoid adını alan bileşiklerdir. Kimyasal bakımdan 15 karbon atomlu 2-fenil benzopiron yapısı gösterirler. Bu tür ya da benzer yapıya sahip olan bileşikler ister doğal olarak, ister sentezle elde edilmiş olsun, renklerine bakılmaksızın flavonoid bileşiklerinin sayıca çok artması sebebiyle, iskeletlerindeki farklılıklara göre sınıflandırılmışlardır (Büyükkaya, 2002).

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda, bazı flavonoidlerin süperoksit (Tsujiimoto, Hashizume & Yamazaki, 1993) ve hidroksil radikallerini (Zhou & Zheng, 1991; Hanasaki, Ogawa & Fukui, 1994) ortadan kaldırdığını; lipid peroksil radikallerini indirgediğini ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini ortaya koymuştur.

Adaçayı aydınlatılmış bileşenleri, fenolik bileşenlerin üç sınıfı şeklinde gruplandırılabilir:

- ❖ Fenolik asitler (kafeik asit ve rosmarinik asit),
- ❖ Flavonoidler (apigenin),
- ❖ Fenolik diterpenler (karnosik asit, rosmadial) (Santos-Gomes, Seabra, Andrade & Ferreira, 2002) (Şekil 2.8).



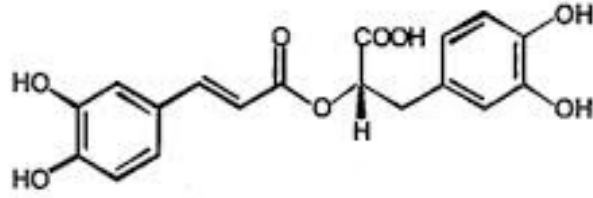
Şekil 2.8. Adaçayında bulunan başlıca fenolik maddelerin kimyasal yapısı

2.5.2. *Salvia L.* 'nin Etki Mekanizması :

Salvia türlerinde rastlanan fenolik asitlerin başlıcası kafeik asit türevlerinden olan rosmarinik asit olmakla beraber 4- Hidroksibenzoik asit (Wang vd, 2000), 3,4-dihidroksibenzoik asit (protokateşik asit), 3-metoksi-4- hidroksibenzoik asit (vanillik asit) (Lu & Foo, 2002) ve 2,4-dimetoksibenzoik asit (Topçu, Tan, Ulubelen, Sun & Watson, 1995), heksil 4-hidroksibenzoat ve 6,7- dihidroksikumarin (eskuletin) (Ulubelen vd, 2001) ve 7-metoksikumarin (herniarin) gibi fenolik asitlere de rastlanmaktadır.

Salvia türlerinde bulunan fenolik asitler kimyasal olarak gruplandırılırsa kafeik asit türevleri ve fenolik glikozitleri olmak üzere iki çeşittir. Kafeik asit türevleri de kendi içinde monomerler, dimerler, trimerler, tetramerler ve oligomerler olmak üzere beşe ayrılmaktadır.

Kafeik asit dimerlerinin en önemlisi rosmarinik asittir (Cuvelier, Berset & Richard, 1994; Lu & Foo, 2002) ve bu bileşik *Salvia* türlerinde antioksidan etkiden sorumlu asıl bileşik olarak belirlenmiştir (Cuvelier, Berset & Richard, 1994) (Şekil 2.9).



Rosmarinik Asit

Şekil 2.9. Rosmarinik Asitin Kimyasal Formülü

Kafeik asit trimerleri grubunda litospermik asitle beraber salvianolik asitlerin bir kısmına da rastlanır. Litospermik asitlerin metil esterlerinde yüksek oranda serbest radikal süpürücü etkiye rastlanmıştır, bu etkinin askorbik asitte daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Benzer etkilerin bu grubun diğer önemli üyesi olan salvianolik asitlerden salvionelik asit A' da bulunduğu belirtilmiştir (Lu & Foo, 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 GEREÇ

3.1.1. Deney Hayvanlarının Temini ve Bakımı

Çalışmalara başlamadan önce Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan onay alınmıştır (346/2013). ESOĞÜ Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (TICAM) alınan *Sprague Dawley* türü 250 – 300 gr ağırlığındaki 40 erkek sıçan her grupta 8 deney hayvanı olacak şekilde 5 gruba ayrılarak 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda, %45-65 nem oranı 22 ± 1 °C sabit oda ısısı sağlanan ESOĞÜ Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında barındırılmıştır. Temizlik kurallarına dikkat edilmiştir. Çalışma başında ve sonunda deney hayvanlarının tartımları alındı. Deney süresince hayvanlar günlük olarak kontrol edilerek genel morfolojik görünüşleri (tüy dökülmesi, dışkılama bozuklukları) makroskobik olarak değerlendirildi. Sıçanlara yem ve su kısıtlaması yapılmamıştır. Tüm cerrahi işlemler ve ötenazi anestezi altında gerçekleştirildi.

Gruplardaki sıçanlara 80 mg/kg ketamin (Ketalar®), 10 mg/kg Xylazine (Rhompun®) intraperitoneal olarak verildi.

3.1.2. Deneylerde Kullanılan Sarf Malzemeler

- Eldiven: (Non-Steril Ameliyat Eldiveni, 7.5 Numara)
- Cam kalemi
- Rosmarinik asit (536954, Aldrich)
- Salvia L. (Anadolu Üniv. Ecz. Fak.)
- No 6 Çelik Gavaj Tüpü (Harvard Apparatus)
- Dimetilsülfoksit; (DMSO, D8418 Sigma)
- Serum fizyolojik (Eczacıbaşı-Baxter)
- 1 ml, 10 ml steril enjektör
- 10 – 1000 µL hacim aralıklı pipet uçları
- 2,5 – 50 mL hacim aralıklı pipetör uçları
- Kurutma kağıdı, 40x40 cm (Isolab)
- Eppendorf tüp (1.5 ml)
- Bistüri ucu
- Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide (HETAB) (SIH5882, Sigma)
- Ethylenediamine Tetraacetic Acid (EDTA) (SIE9884, Sigma)
- 3,3'-5,5'-Tetrametilbenzidin (TMB) (AL8615, Aldrich)
- N-N Dimetilformamid (AL319937, Aldrich)
- H₂O₂ (Riedel de Haen)
- Thiobarbituric Acid (Riedel de Haen)
- 1,1,3,3-Tetraetoksipropan (T9889 Aldrich)
- Sülfanilamid (SA, S9251 Sigma-Aldrich)

- N-1-Naftiletildiamin dihidroklorür (NED, 33461 Fluka)
- Sodyum nitrit (S2252, Sigma)
- Kadmiyum Granülleri (Fluka)
- 4-Methylumbelliferyl B-D-N,N',N''-Triacetylchito (Sigma)
- 4-Methylumbelliferone (Sigma)
- Absolü etanol (Riedel de Haen)
- Düz tabanlı, 96 kuyucuklu kültür plate'i (Guangzhou Jet Bio-Filtration Products Co., Ltd)
- TNF- α ELISA Kit (KRC3011 İnvitrogen)
- Blok kaseti çelik kapağı (Isolab)
- Doku blok kaseti (Isolab)

3.1.3.Deneyde Kullanılan Cihazlar

- BioTek ELx50 mikro plate yıkayıcı
- Buzdolabı (Arçelik)
- Derin Dondurucu, -80°C (Thermo, ULT 1386-5-V40)
- Disposable mikrotom bıçağı Low profil (Thermo Shandon, USA)
- Distile su cihazı
- Eppendorf EDOS elektronik pipetleyici (Eppendorf EDOS 5222)
- Etüv (Binder)
- Hassas terazi (Sartorius)
- Mikroplatt okuyucu (Perkin Elmer 2030 Multilabel reader, Victor X3)
- Santrifüj (Nüve NF800)
- Santrifüj, soğutmalı (Jouan MR22)
- Shaker (WiseMax)
- Spektrofotometre (Shimadzu, UV-1601)
- Su banyosu (Nüve BM402)

3.1.4.Cerrahi İşlemler:

3.1.4.1.Nefrektomi ve Cerrahi Uygulamalar

Tüm cerrahi işlemler steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirildi. Diurnal hormonal değişimlerin sıçanlar üzerine olası etkileri dikkate alınarak tüm cerrahi işlemler 09.00 ile 12.00 saatleri arasında yapıldı (Kaya, Aral, Çoşkun, Erkasap & Var, 2002; Akino vd, 2005). Nefrektomi yapılacak sıçanlara anestezi 10 mg/kg Xylazine (Rhompun®) ve 80 mg/kg ketamin (Ketalar®) karışımının kas içine enjeksiyonu ile sağlandı (Aydoğdu, Kaymak & Yalçın, 2005). Her bir deney hayvanı, ılık ve sabit sıcaklıkta olan diseksiyon tablasına tespit edildi ve rektal ısı kontrolü yapıldı. Cerrahi uygulama bölgesi %70" lik etil alkol ile temizliği sağlandıktan sonra sağ böbrek alındı (Waynforth & Flecknell 1994).

Her bir hayvana yapılan cerrahi işlemten sonra kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olunması için karın boşluğuna steril serum fizyolojik verildi. Sol böbreğe giren atardamar izole edilerek antitravmatik vaskular klemp yardımıyla 60 dakika süre ile sol renal arterden kan akışı durduruldu. 60 dakika iskeminin hemen ardından klemler çıkarılarak 60 dakika reperfüzyon uygulandı (Irazu vd, 1989). Reperfüzyon süresince her bir hayvana yapılan cerrahiden sonra kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olunması için karın boşluğuna önceki cerrahi uygulamada olduğu gibi steril serum fizyolojik verildi. Bu işlemi takiben, kas ve deri kesileri ayrı ayrı fakat devamlı olarak 3/0 ipek sütürle dikilerek kesi bölgesi kapatıldı. Deney gruplarına ait hayvanlar hafif eter anestezisi altında, intrakardiyak olarak kalpten bütün kanın alınması yoluyla öldürüldü.

3.1.4.2. İskemi / Reperfüzyon (I/R):

Anestezi altında median insizyon ile abdominal kaviteye girilip, I/R oluşturmak üzere sol böbreğe ulaşılip, sol arteria renalis'in klemlenmesi ile 60 dakikalık iskemi oluşturulmuştur. Sürenin dolması ile klemp açılıp 60 dakika reperfüzyon sağlandı.

3.1.5. Ekstrelerin Hazırlanması:

Salvia L. Eskişehir ve çevresindeki doğal yetiştirme ortamlarından, çiçeklenme döneminde toplanıp uygun şartlarda kurutuldu. Kurutulan bitkilerin çiçekli toprak üstü kısımları, toz haline getirilip % 70 metanol (suda) ile hazırlandı.

Fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere çalışılacak *Salvia L.* türlerinden hazırlanan % 70'lik metanol (suda) ekstralarının Folin-Ciocalteu metoduyla (Folin & Ciocalteu, 1927) toplam fenolik madde ve AlCl₃ ile standart olarak rutin kullanılarak toplam flavonoid miktarları spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

Ayrıca ekstraların rosmarinik asit başta olmak üzere, fenolik asitleri ters faz C 18 kolon kullanılarak Diode Array Dedektör (YBSK-DAD) metoduyla tayin edildi.

Çalışmada kullanılacak *Salvia L.* türünün çiçekli toprak üstü kısımları uygun yöntemle kurutulduktan sonra toz haline getirildi ve drog için ekstraksiyon yöntemi kullanıldı (Öztürk vd, 2011).

Yaklaşık 20g toz drog Soxhlet apareyinde önce yağlarından kurtarılmak üzere petrol eteri (40-60°) ile 8 saat ekstre edildi, klorofil ve yağlarından kurtarıldıktan sonra geride kalan drog ise % 70 metanolle (suda) 40 C⁰'de su banyosunda 30 dakika ekstraksiyona tabi tutuldu. İşlem 4 kez tekrarlandı ve birleştirilen ekstraktlar, 40 C⁰'de alçak basınç altında yoğunlaştırıldı (ME). Her ekstre için kuru baz üzerinden % verim hesaplandı.

3.1.6.Deney Gruplarının Oluşturulması

Her bir grupta vücut ağırlıklarına göre 8 adet sıçan olacak şekilde 5 grupta deneysel çalışma yapıldı. Gruplara sıçanlar rastgele dağıtılmıştır. Çalışmada kullanılmak üzere *Salvia L.* Eskişehir Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'ndan temin edildi. *Salvia L.* ve rosmarinik asit % 0,5'lik Dimetilsülfoksit (DMSO) içinde süspansiyon edilerek intragastrik gavajla hayvanlara verildi.

Deneyimizde sıçanlara gavaj yoluyla verilen *Salvia L.*'nin 2 farklı dozu (50 mg/kg, 100 mg/kg) ve Rosmarinik asitin ise 50 mg/kg'lık tek dozu literatür taramaları sonucu belirlenip (Chen & Wu, 2012) 7 gün boyunca günde 1 kez olmak üzere, günlük ve taze hazırlanarak verilmiştir.

Tablo 3.1. Deney grupları ve gruplardaki sıçanların özellikleri

Gruplar	Gruplardaki sıçanların özellikleri
Kontrol (Grup 1)	Bu grupta yer alan sıçanlara herhangi bir yem ve su kısıtlaması olmaksızın toplam 7 gün boyunca herhangi bir işlem uygulanmadı. Sonrasında sağ nefrektomi uygulanarak kan ve böbrek dokusu örnekleri alınarak sıçanlar kurban edildi.
I/R Grubu (Grup 2)	Gruptaki sıçanlara 7 gün boyunca günde bir kez, sabah saatlerinde ve her gün aynı saatte olacak şekilde tek doz gavaj yoluyla % 0.05'lik DMSO çözücü olarak verildi. Sonrasında sağ nefrektomi yapıp sol böbreğe 60 dk iskemi ve 60 dk reperfüzyon uygulamasından sonra kan ve doku örnekleri alınıp sıçanlar kurban edildi.
I/R+50 mg/kg <i>Salvia</i> <i>L. Grubu</i> (Grup 3)	Gruptaki sıçanlara 7 gün boyunca günde bir kez, sabah saatlerinde ve her gün aynı saatte olacak şekilde tek doz gavaj yoluyla 50 mg/kg <i>Salvia L.</i> verildi. Sonrasında bu deneklere sağ nefrektomi yapıp sol böbreğe 60 dk. iskemi ve 60 dk reperfüzyon uygulamasından sonra kan ve doku örnekleri alınıp sıçanlar kurban edildi.
I/R+100 mg/kg <i>Salvia</i> <i>L. Grubu</i> (Grup 4)	Gruptaki sıçanlara 7 gün boyunca günde bir kez, sabah saatlerinde ve her gün aynı saatte olacak şekilde tek doz gavaj yoluyla 100 mg/kg <i>Salvia L.</i> verildi. Sonrasında bu deneklere sağ nefrektomi yapıp sol böbreğe 60 dk. iskemi ve 60 dk reperfüzyon uygulamasından sonra kan ve doku örnekleri alınıp sıçanlar kurban edildi.
I/R+50 mg/kg Rosmarinik Asit (Grup 5)	Gruptaki sıçanlara 7 gün boyunca günde bir kez, sabah saatlerinde ve her gün aynı saatte olacak şekilde tek doz gavaj yoluyla Rosmarinik asit verildi. Sonrasında bu deneklere sağ nefrektomi yapıp sol böbreğe 60 dk. iskemi ve 60 dk reperfüzyon uygulamasından sonra kan ve doku örnekleri alınıp sıçanlar kurban edildi.

Grup 1'de bulunan deney hayvanlarına hiç bir ön işlem gerçekleştirilmeden, anestezi edilerek sol böbrekleri alındı. Grup 2, 3, 4 ve 5'teki deney hayvanlarına sağ böbrek nefrektomi işlemi uygulandı. İskemiden 30 dk. önce tek doz madde verilerek 60 dakikalık iskemi, ardından 60 dakikalık reperfüzyon gerçekleştirildi. Reperfüzyonun bitiminde anestezi altında diseksiyon yapıldı.

3.2.YÖNTEMLER

Anestezi altında karın ön duvarı ve diyafram açılarak kalbe ulaşıldıktan sonra apeks'ten 3-4 ml kan ölçümler için uygun tüpler içerisine alındı. Tüpler içerisindeki numuneler (serum için jelli tüp, plazma için heparinli tüp) 1097 g.'de 10 dakika santrifüj edildiler (Jouan MR 22). Üstte berrak renkte ayrılan serum ve plazma örneklerinin bir kısmı pipetle (eppendorf) başka bir eppendorf tüpe alınarak ölçüm zamanına kadar -80 °C'de derin dondurucuda (Jouan VX350 series Thermo Electron) saklandı. Kalan serum örneklerinde aynı gün içinde biyokimyasal parametreler rutin laboratuarda ölçüldü.

Böbrek fonksiyonlarındaki olası bozukluğu tespit etmek için (BUN) ve (KREATİNİN) düzeylerinin ölçümü gerçekleştirildi. Karaciğer hücrelerinin olası fonksiyon bozukluğunu tespit etmek amacıyla biyokimyasal olarak serum örneklerinde aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT), Gama-Glutamil Transferaz (GGT) enzimlerinin seviyeleri belirlendi. İnflamasyon belirteci olarak da (hsCRP) düzeylerine bakıldı.

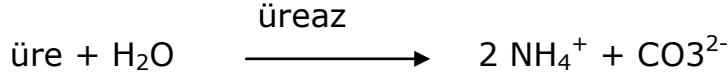
Çalışmamızda hücre aktivasyonu ve inflamasyonun değerlendirilmesinde myeloperoksidaz (MPO), oksidatif strese bağlı oluşan lipid peroksidasyonu düzeyinin tayini için malondialdehid (MDA), endotel fonksiyon belirteci olarak nitrik oksit (NO) düzeyleri ve makrofaj aktivasyon göstergesi olarak kitotriozidaz (CHIT) düzeylerine bakıldı. Ayrıca (TNF- α) düzeyleri de gruplar arasında değerlendirildi.

Çıkarılan böbrek örnekleri, soğuk (4°C) % 0.9' luk sodyum klorürle üç kez yıkama serisinden geçirildi ve kısımlara ayrıldı. Histokimyasal görüntüleme için ayrılan böbrek örnekleri nötral formalin içine alındı.

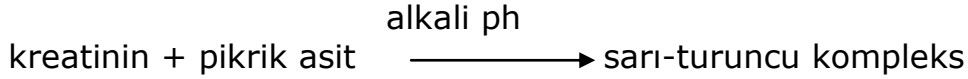
Rutin biyokimyasal testlerin (BUN, Kreatinin, ALT, AST, GGT ve hsCRP) ölçümü Modular Systems (Roche Diagnostics) analizörüyle uyumlu kitler ile ölçüldü.

3.2.1. Böbrek Fonksiyon Testleri :

3.2.1.1 BUN Ölçüm Test Prensi: Üre üreaz tarafından hidrolize edilir ve amonyum ile karbonat oluşur. İkinci reaksiyonda 2-oksoglutarat ortamda glutamat dehidrojenaz (GLDH) ve koenzim NADH bulunduğu amonyum ile reaksiyona girip L-glutamat oluşturur. Bu reaksiyonda hidrolize edilen her mol üre için iki mol NADH NAD⁺'ya yükseltgenir. NADH konsantrasyonunda azalma hızı örnek içindeki üre konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülür.

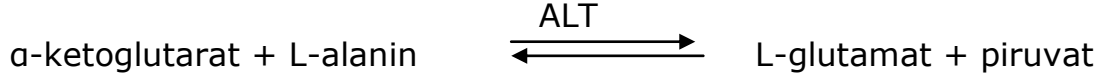


3.2.1.2. Kreatinin Ölçüm Test Prensi: Alkali ortamda kreatinin pikrat ile sarı-turuncu renkte bir kompleks oluşturur. Boya oluşumunun oranı örnek içindeki kreatinin konsantrasyonu ile orantılıdır. Testte, bilirubin interferansının en aza indirgenmesi için "rate-blanking" (hız örtücü) kullanılır.



3.2.2. Böbrek Hasarı Belirteçleri :

3.2.2.1. ALT Ölçüm Test Prensi: ALT denge reaksiyonunu katalizlemiştir. Piruvattaki artış laktat dehidrogenaz ile kataliz edilen bir indikatör reaksiyonunda belirlenmiştir. NADH NAD⁺'ya okside edilmiştir. NADH'da meydana gelen azalma piruvat oluşumu ile ve ALT aktivitesi ile doğru orantılı olarak belirlenmiştir.

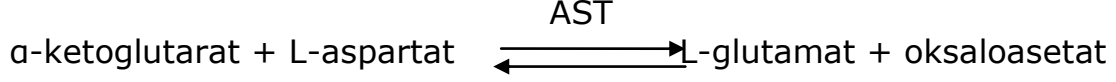


ALT enzimi bu denge reaksiyonunu katalize eder. Piruvattaki artış, laktat dehidrogenazın katalize ettiği bir indikatör reaksiyonunda tayin edilir.

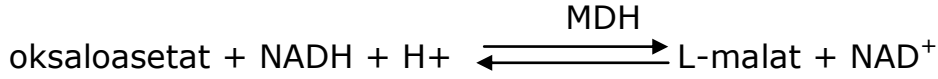


NADH, NAD⁺'ya yükseltgenir. Fotometrik olarak tayin edilen NADH'nin azalma hızı, piruvatın oluşma hızı ve böylelikle ALT aktivitesiyle doğru orantılıdır.

3.2.2.2. AST Ölçüm Test Prensi: AST denge reaksiyonunu katalizlemiştir. Okzalasetattaki artış malat dehidrogenaz ile kataliz edilen bir indikatör reaksiyonunda belirlenmiştir. NADH NAD⁺'ya okside edilmiştir. NADH'da meydana gelen azalma oksaloasetat oluşumu ile ve AST aktivitesi ile doğru orantılı olarak ölçülmüştür.

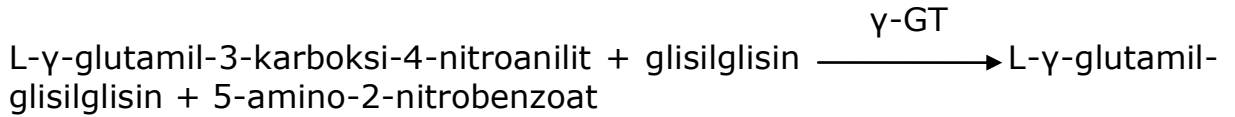


AST enzimi bu denge reaksiyonunu katalize eder. Oksaloasetattaki artış, malat dehidrogenazın katalize ettiği bir indikatör reaksiyonunda tayin edilir.



NADH, NAD⁺'ya yükseltgenir. Fotometrik olarak tayin edilen NADH'nin azalma hızı, oksaloasetatın oluşma hızı ve böylelikle AST aktivitesiyle doğru orantılıdır.

3.2.2.3. GGT Ölçüm Test Prensi: Gamma-glutamiltransferaz, L-γ-glutamil-3-karboksi-4-nitroanilidin γ-glutamil grubunu glisilglisine transfer eder. Serbest kalan 5-amino-2-nitrobenzoat miktarı GGT aktivitesi ile orantılıdır ve fotometrik olarak tayin edilebilir.



3.2.3. İnflamasyon ve Endotel Fonksiyon Belirteçleri :

3.2.3.1. hsCRP Ölçüm Test Prensi: Partikül yüzeyi genişletilmiş immünotürbidimetrik bir testtir. Lateks mikropartiküllerine bağlanmış anti-CRP antikörleri numune içindeki antijenle reaksiyona girip, bir antijen/antikor kompleksi oluşturmuştur. Aglütinasyonun ardından bu türbidimetrik olarak ölçülmüştür.

3.2.3.2. Doku Myeloperoksidaz (MPO) Düzeylerinin Ölçümü:

MPO enzimi nötrofil granüllerinde fazla miktarda bulunur. MPO, hücrelerde H₂O₂'den hipoklorik asit (HOCl) oluşturur. MPO aktivitesi, asidik pH oluşumuna bağlı olarak artmaktadır.

Artan MPO aktivitesiyle H₂O₂ membranı kolayca geçerek ya bakteriye toksik etki yapmakta ya da hidroksil (OH•) radikaline dönüşmektedir.

MPO, Cl^- iyonlarını kullanarak H_2O_2 'yi HOCl'e dönüştürmektedir. Oldukça reaktif olan HOCl birçok biyolojik molekülü oksitlemektedir (Powell, 2000; Kocyigit, Erel & Gür, 2001).

Ölçüm Prensipleri :

Myeloperoksidaz aktivitesi kinetik ölçüm ile spektrofotometrik olarak belirlendi. Doku örnekleri, pH'sı 7,4 olan potasyum fosfat tamponunda homojenize edildi.

Kör tüpüne pH: 5,4 olan potasyum fosfat tamponundan 500 µl, 100 µl TMB (16 mM DFM içinde çözünen) ve H_2O_2 ilave edilerek aynı çözeltileri eşit miktarda içeren ve aynı zamanda 20 µl homojenat içeren numune tüpüne karşı 37⁰ C'de 655 nm.de 5 dk. boyunca absorbans artışı spektrofotometre ile izlendi (Suzuki, Ota & Sasagawa, 1983).

3.2.3.3. Doku Nitrik oksit (NO) Düzeylerinin Ölçümü:

Birçok çalışmada vücutta endojen olarak üretilen NO konsantrasyonu total nitrit ve nitrat cinsinden hesaplanır. Çünkü üretilen NO çok hızlı bir şekilde önce nitrite (NO_2^-) sonra da nitrate (NO_3^-) dönüşür. Deproteinizasyon işlemi ile ortamdan proteinler uzaklaştırıldıktan sonra nitrit ve nitrat ölçümlerine geçilir (Cortas & Wakid, 1990).

Ölçüm Prensipleri:

Nitrik oksitin direkt ölçümü çok güçtür. Bu nedenle biyolojik sıvılarda NO'nin stabil oksidasyon ürünleri olan nitrat (NO_3^-) ve nitrit (NO_2^-) düzeyleri in vivo ve in vitro NO markırı olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda rat böbrek dokularındaki nitrit miktarı Cortas ve arkadaşlarının yöntemine göre belirlenmiştir (Cortas & Wakid, 1990).

Doku homojenatının hazırlanması:

Böbrek dokuları homojenizatör kullanılarak 1/10 oranında soğuk 0.1 M Fosfat tamponu (pH:7.4) ile homojenize edildi. Doku homojenatları 4000xg'de ve +4°C'de 20 dakika süre ile santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi.

1) Deproteinizasyon işlemi:

125 µl homojenat, 500 µl 75 mM çinko sülfat çözeltisi üzerine 625 µl 55 mM NaOH (Merck) çözeltisi ilave edildi. 10 dakika beklendi. Daha sonra 10 dakika 1163 g. de santrifüj edildi (Jouan MR 22). Elde edilen süpernatantlar ölçüm için kullanıldı.

2) Kadmiyum aktivasyonu:

Yaklaşık 750 mg kadmiyum (Fluka) 0,1 M sülfirik asit (Riedel) içinde bekledikten sonra alındı. 3 kez distile suda yıkandı. 2 dak. 5 mM CuSO₄ içerisinde beklenip drenaj yapılarak glisin (%1,5) ile 3 kez yıkandı ve 10 dk. içerisinde kullanıldı.

3) Reaksiyon:

250 µl glisin, 250 µl süpernatant ve 500 µl distile üzerine aktive edilmiş kadmiyum eklendi. 90 dak. oda sıcaklığında beklendi. Buradan 500 µl alınarak üzerine 25 µl distile su, 250 µl sülfanilamid (Sigma) (%1) ve 250 µl Naftiletiledimin (Sigma) (%0,02) çözeltisi eklendi ve 45 dak. oda ısısında beklendi. Oluşan renk 545 nm'de Elisa okuyucuda (Perkin Elmer/Victor/X3) 96 kuyucuklu plakalara aktarılarak spektrofotometrik ölçüm prensibine göre değerlendirildi (Cortas & Wakid, 1990).

Standart Sodyum Nitrit (NaNO₂) Çözeltisi: 5, 10, 20, 50, 100 µmol/L konsantrasyonlarda NaNO₂ çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiler kadmiyumsuz ortamda direkt renklendirilerek standart eğri elde edildi. 100 µM NaNO₂ çözeltisi hazırlamak için 6.9 mg NaNO₂ tartıldı, bir miktar distile su içinde çözülerek son hacim distile su ile 1 L'ye tamamlandı. Stok çözelti seyreltilerek 5, 10, 20, 50, 100 µmol/L konsantrasyonlarda standart çözeltiler elde edildi.

Nitrik Oksit Düzeylerinin Hesaplanması:

- Örneklerin konsantrasyonlarını hesaplayabilmek için NaNO₂ standart çözeltisi seyreltilerek 5, 10, 20, 50, 100 µmol/L konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlandı.
- Standart tüplerine 2 mL NaOH, 2.5 mL ZnSO₄, 1 mL glisin tamponu eklendi. Kadmiyumsuz ortamda 1 mL sülfanilamid ve 1 mL N-naftiletilediamin ve farklı konsantrasyonlardaki standartlardan numaralandırılmış tüplere eklendi.
- Kör ve örnek tüplerinde olduğu gibi işlemlerden geçirildi ve 545 nm'de absorbansları okundu.
- Örneklerin konsantrasyonları, standart grafiği kullanılarak 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.

3.2.4. Oksidatif Stres Belirteci :

3.2.4.1. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü :

Ölçüm prensibi:

Yöntem, lipid peroksidasyonu son ürünlerinden olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır (Okhawa, Ohishi & Yagi, 1979).

Doku homojenatının hazırlanması:

Dokular -80°C 'lik derin dondurucudan çıkarıldı ve her biri tartıldı. Örnek sayısı kadar alınan ve numaralandırılan tüplere konuldu. Tüplere 1 gr doku için 9 mL hacimde olacak şekilde 0,15 N KCl solüsyonundan eklenerek örnekler homojenize edildi. Homojenatlar, $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar alındı ve ölçüm için kullanıldı.

Deney protokolü:

Kapaklı tüpler alınarak kör, standart 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; örnek tüplerine 0,4 mL homojenat, 0,2 mL SDS, 1,5 mL asetat tamponu, 1,5 mL TBA ve 0,4 mL distile su eklendi. Tüpler 95°C 'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı ve süre sonunda musluk suyu altında soğutuldu. Soğutulmuş tüplere n-butanol/pyridine karışımından 5'er mL eklenerek vortekslendi. 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant alınarak ölçüm için kullanıldı. Örneklerin absorbanları 532 nm'de köre karşı okundu.

MDA düzeylerinin hesaplanması:

- Örneklerin konsantrasyonlarını hesaplayabilmek için lipid peroksit standardı (1.1.3.3.tetraetoksipropan) 10, 20, 40, 60, 80, 100 nmol/mL konsantrasyonlarda hazırlandı.
- Kör ve örnek tüplerinde olduğu gibi işlemlerden geçirildi ve 532 nm'de absorbanları okundu.
- Örneklerin konsantrasyonları, standart grafiği kullanılarak hesaplandı.
- Aynı homojenatların total proteinleri ölçüldü ve örneklerin konsantrasyonları total proteinlerine oranlandı. Doku MDA sonuçları nmol/mg protein olarak verildi.

3.2.5. Tümör Nekroz faktörü – α (TNF- α) Düzeyleri

Serum TNF- α düzeyleri Invitrogen Rat TNF- α (KRC3011, Invitrogen Corporation, USA) kantitatif ELISA test kiti kullanılarak ölçüldü.

TNF - α Düzeyleri Ölçüm Metodu Prensibi:

İnvitrogen TNF- α kiti solid faz sandviç Enzim Bağlı İmmün Ölçüm (ELISA) prensibine dayanır. Rat TNF- α molekülüne spesifik monoklonal antikolar strip halindeki kuyucuklara kaplanmıştır.

İlk inkübasyon sırasında, bilinen konsantrasyondaki TNF- α standartları, kontroller ve bilinmeyen örnekler kuyucuklara pipetlenir. Yıkamadan sonra biyotin ile konjuge edilmiş ikincil antikolar eklenir. Tekrar yıkama işleminden sonra streptavidin ile konjuge peroksidaz enzimi eklenir. Üçüncü inkübasyondan sonra bağlanmayan enzimler yıkama işlemiyle ekarte edilir. Substrat solüsyonu ilave edilerek bağlı enzimlerin reaksiyonuyla renk değişimi gözlenir. Renk şiddeti TNF- α konsantrasyonu ile orantılı olarak değişim gösterir.

TNF - α Düzeyleri Ölçüm Materyalleri

1. Rat TNF- α Standartları

- ❖ Kit içeriğinde 2 adet liyofilize şişe halinde bulunmaktadır.

2. Standart Dilüsyon Tamponu

- ❖ % 0,1 Sodyum azid içerisinde 25 ml'lik 1 adet şişe halinde kit içeriğinde mevcuttur

3. İnkübasyon Tamponu

- ❖ 1 adet şişe içerisinde 12 ml'lik tampon kit içeriğinde mevcuttur.

4. Rat TNF- α Kontrolleri (Yüksek ve Düşük Konsantrasyon)

- ❖ % 0,1 sodyum azid içerisinde liyofilize halde 2 şişe halinde kit içeriğinde mevcuttur.

5. Rat TNF- α Biotin Konjugatı

- ❖ % 0,1 Sodyum azid içerisinde 11 ml'lik 1 adet şişe halinde kit içeriğinde mevcuttur.

6. Streptavidin – HRP (100X)

- ❖ 3,3 mM Timol içerisinde 0,125 ml'lik 1 adet şişede kit içeriğinde mevcuttur.

7. Streptavidin – HRP Dilüent

- ❖ 3,3 mM timol içerisinde 25 ml'lik şişede 1 adet kit içeriğinde mevcuttur.

8. Konsantre Yıkama Tamponu (25X)

- ❖ 100 ml'lik 1 adet şişede kit içeriğinde mevcuttur.

9. Stabilize Kromojen, Tetrametil benzidin (TMB)

- ❖ 25 ml'lik 1 adet şişede kit içeriğinde mevcuttur.

10. Stop Solüsyonu

- ❖ 25 ml'lik 1 adet şişede kit içeriğinde mevcuttur.

TNF - α Düzeyleri Ölçüm Metodu

1. Örneklerin Hazırlanması

- ❖ Tüm kit bileşenleri ve serumlar oda ısısına getirildi. Serumlar mikrofüj tüpünde *İnkübasyon Tamponu* içinde 1:2 oranında seyreltildi ve well'lere koyulmadan önce iyice karıştırıldı.

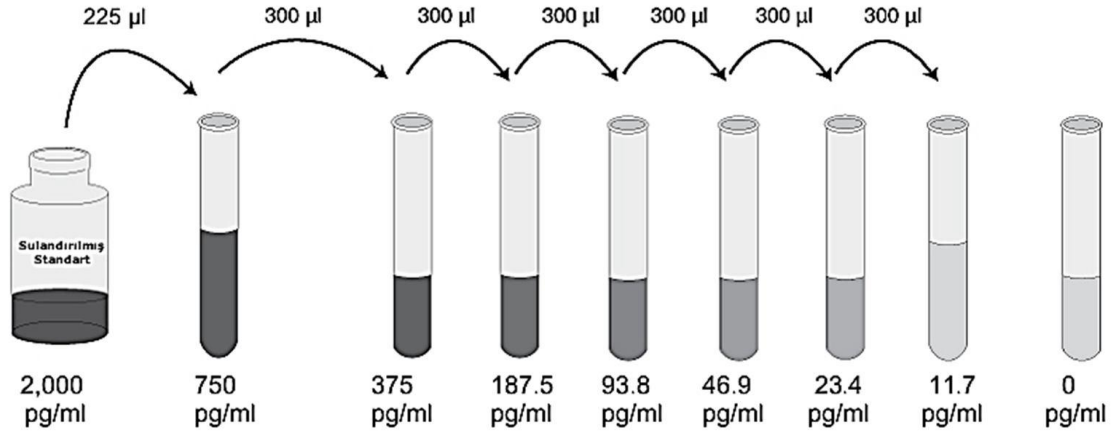
2. Kontrollerin Hazırlanması

- ❖ Vial üzerindeki bilgiye göre hazırlanıp seyreltilmeden kullanıldı.

3. Standartların Dilüsyonu

- ❖ Rekonstitüe (2,000 pg/mL) standart hazırlanışı: Vial üzerindeki bilgiye göre **Standart Seyreltme Tamponu** ile hazırlandı. Dikkatli karıştırılıp en az 10 dakika oda ısısında bekletildi. 1 saat içinde kullanıldı.
- ❖ Diğer standartların hazırlanışı:

Standartlar (pg/mL)	Standart seyreltme tamponu	Eklenecek solüsyon
750	375 μ L	225 μ L 2000 pg/mL'den
375	300 μ L	300 μ L 750pg/mL'den
187.5	300 μ L	300 μ L 375 pg/mL'den
93.8	300 μ L	300 μ L 187.5pg/mL'den
46.9	300 μ L	300 μ L 93.8pg/mL'den
23.4	300 μ L	300 μ L 46.9pg/mL'den
11.7	300 μ L	300 μ L 23.4pg/mL'den
0	300 μ L	---



4. Streptavidin – HRP Hazırlanması: Oda sıcaklığındaki **Streptavidin-HRP Konsantresi (100X)**'ten 8 well için 10 µL alınıp 1 mL **Streptavidin-HRP Diluent** ile seyreltildi (11x8 well için 110 µL konsantreye 11mL dilüent). Pipetleme sırasında pipet ucuna yapışan konsantre, emici kağıtla silindi. Hazırlanan bu solüsyon **Streptavidin-HRP Çalışma Solüsyonu'** dur. Nazikçe karıştırılıp 15 dakika içinde de kullanıldı.

5. Yıkama Tamponu dilüsyonu: Oda sıcaklığındaki **Yıkama Tamponu Konsantresi (25X)** kullanılmadan önce karıştırıldı. 1:25 oranında distile su ile seyreltildi (20 mL 500mL'ye seyreltilir). Hazırlanan bu solüsyon **Çalışma Yıkama Tamponu'** dur. Kuyucuk başına harcanan miktar hesaplanarak gerekli miktarda tampon hazırlandı.

Ölçüm Prosedürü:

- 1)-** Deney için gerekli 8-well'li strip miktarı belirlendi ve kullanılmayacak fazla stripler tekrar orijinal kabına yerleştirildi.
- 2)-** Zero standart well'lerine 100 µL **Standart Seyreltme Tamponu** eklendi. Kromojen körü için ayrılmış well(ler) boş bırakıldı.
- 3)-** Uygun well'lere 100 µL standartlardan eklendi.
- 4)-** Uygun well'lere örnekler ve/veya kontrollerden 100 µL eklendi.
- 5)-** Plate **Plate Kapağı** ile kapatıldı ve oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi. Bu aşamada örnek, standart ve kontroller içindeki mevcut TNF-α molekülleri kuyucukların iç duvarına kaplanmış TNF-α antikoru tarafından tutulur.
- 6)-** Well'ler 400 µL yıkama tamponu ile 4 kez otomatik plate yıkama cihazında yıkandı ve sonrasında plate, emici kağıt üzerine ters çevrilerek vuruldu.
- 7)-** Kromojen körü hariç her well' e biyotinlenmiş **Rat TNF-α BiotinKonjugatı**'ndan 100 µL pipetlendi.
- 8)-** Plate, **Plate Kapağı** ile kapatıldı ve oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi.

9)- Well' ler yine aynı 6.basamaktaki gibi 4 kez yıkandı. Plate, emici kağıt üzerine ters çevrilerek vuruldu. (Bu sırada Streptavidin-HRP Çalışma Solüsyonu hazırlandı).

10)- Kromojen körü hariç her well' e 100 µL *Streptavidin-HRP Çalışma Solüsyonu* eklendi.

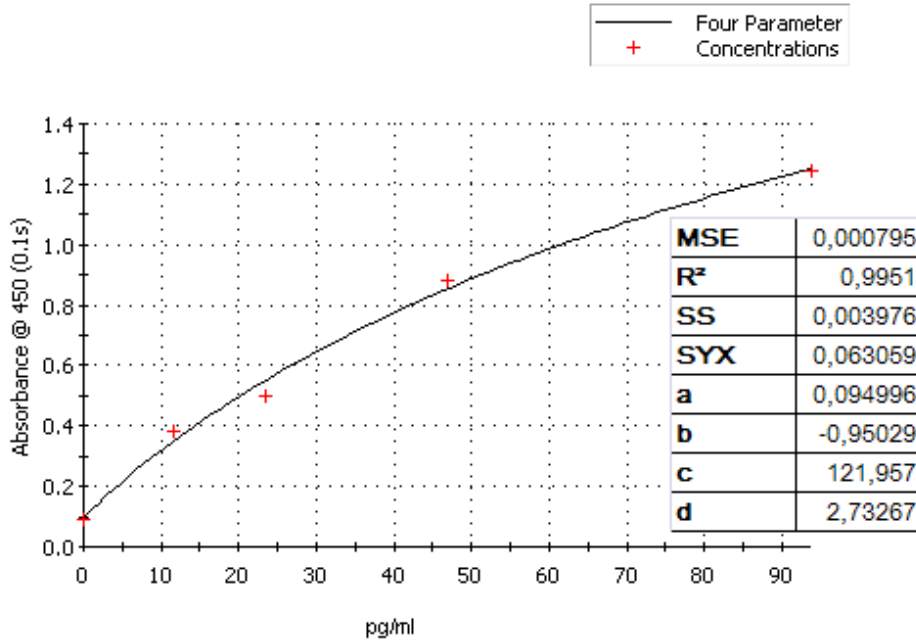
11)- Plate, *Plate Kapağı* ile kapatılıp oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.

12)- Altıncı basamaktaki yıkama işlemi tekrarlandı

13)- Tüm kuyucuklara 100 µL Substrat (tetrametilbenzidin - TMB) eklendi ve karanlık bir ortamda 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Renk maviye dönmeye başladı.

14)- İnkübasyon işlemi bitiminde tüm kuyucuklara 100 µL stop solüsyonu eklendi ve stop öncesi mavi rengin sarı renge değiştiği gözlemlendi. Renk değişimi örnekteki TNF-α konsantrasyonuyla orantılı olarak 450 nm'de absorbans düzeyleriyle belirlendi.

15)- Tüm sonuçlar standart seri dilüsyonlarına karşılık çizilen absorbans eğrisi üzerinden hesaplandı (Şekil 3.1). Örnek sonuçları dilüsyon faktörüyle çarpılarak verildi.



Şekil 3.1. Standart TNF-α Grafiği (Grafik VICTOR™ X3, PerkinElmer Inc., USA, Plate Okuyucuda, WorkOut 2.5, DAZDAQ LTD, England, programında çizilmiştir).

3.2.6. Plazma Kitotriozidaz (CHIT) Düzeylerinin Ölçümü :

5 µl plazma 22 µmol/L 4-methylumbelliferyl-b-D-N'-N''-triacetylchitotriosidase (Sigma M-5639) 'ın McIlvain's fosfat-sitrat çözeltisinin (pH:5,2) 100 µl'si ile 37°C'de 1 saat karanlıkta inkübe edildi. Reaksiyon 120 µl 0,5 mol/L Na₂CO₃-NaHCO₃ çözeltisi ile pH: 10,7 ilavesi ile tamamlandı. Reaksiyon 360 nm eksitasyon 450 nm emisyon dalga boyunda fluorometre ile ölçüldü (Hollak, Weely & Oers,1994).

3.2.7. Böbrek Doku Homojenatlarında Protein Ölçümü

Büret Ölçüm Prensipleri:

1-20 mg/ml hassasiyette çalışan bu yöntem, alkali koşullar altında Cu⁺² iyonlarının amonyum, aminoasitler, peptidler, proteinler ve biüretler gibi amonyumlu bileşiklerle mavi-mor renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Protein ve peptidlerde iki peptid bağı oluşumuna katılan 4 azot atomu ile biüret ayırıcından gelen Cu⁺² nin renkli kompleks oluşturması esastır. Oluşan bu kompleks 540-560 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon verir.

Biüret bileşiği yapı olarak peptid bağına benzer bir maddedir ve Cu⁺² iyonları ile proteinlerin verdiği reaksiyona benzer bir renkli kompleks oluşturur. Bu nedenle kullanılan yöntem Biüret Yöntemi, Cu⁺² içeren çözeltiye de Biüret reaktifi adı verilir.

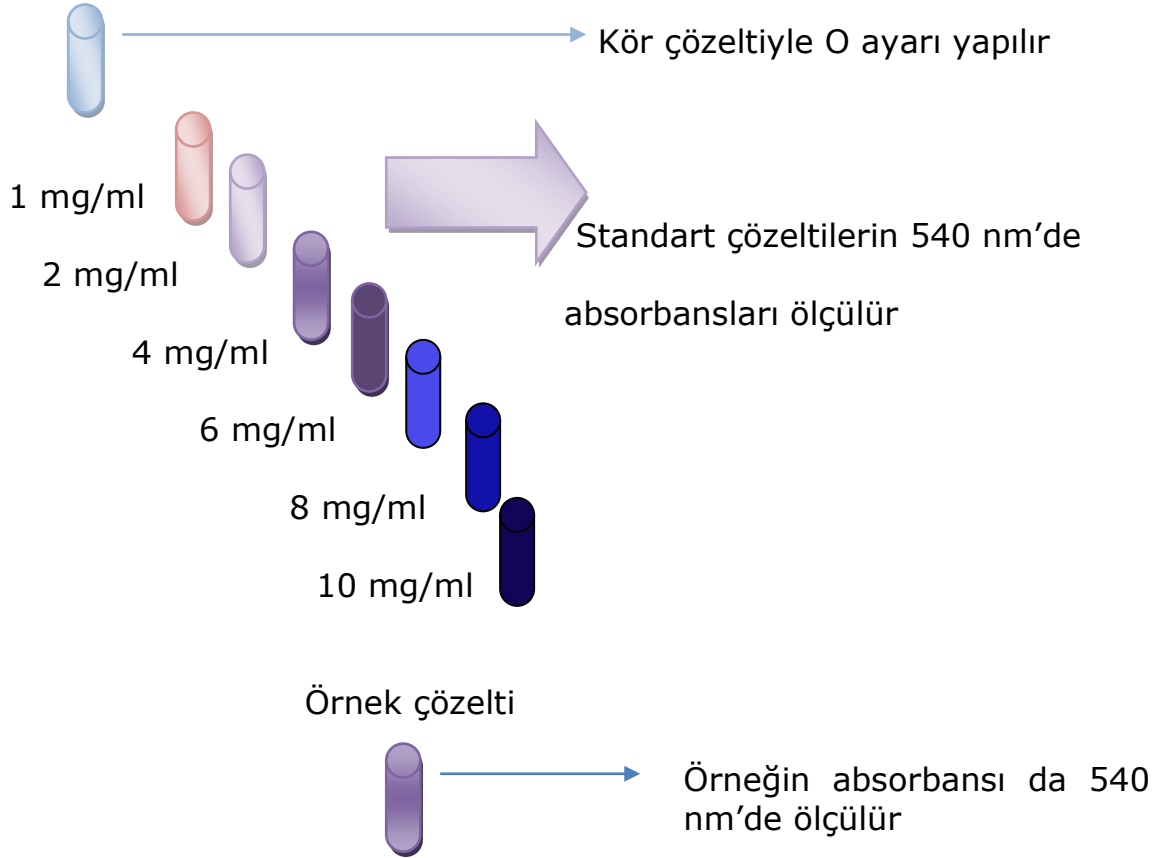
Biüret Reaktifinin Hazırlanması: 1,5 gr CuSO₄ ve 6 gr Na-K-tartarat tartılarak ayrı kaplarda çözüldü (az miktar distile su ile). 30 gr NaOH de yine 300 ml de çözüldü (2,5 N). Bu reaktifler karıştırıldı ve 1 L'ye tamamlandı.

	KÖR	NUMUNE
Homojenat	-	10 µl
Distile Su	50 µl	-
Biüret	1,25ml	1,25ml

15 dk beklenir ve 545 nm'de ölçüm yapılır.

Sonucun Hesaplanması :

1' er ml 1-12mg BSA proteini içeren standartlar (1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 mg/ml) ve tayini yapılacak protein örneği ve kör örnek (1 ml tampon veya saf su) üzerine 4 ml biüret reaktifi ilave edilerek vortekslenir.
30 dakika oda sıcaklığında bekletilir.



3.2.8.Böbrek Doku Örneklerinin Histolojik Analizleri

Karın açıldıktan sonra iskemi ve reperfüzyon uygulanmış sol böbrek, serum fizyolojik bulunan kaplara alınarak yıkandı. Longitudinal olarak ikiye ayrılan sıçanların böbrek dokuları histolojik inceleme yapılmak üzere %10 'luk formalin fiksatifine içine alınarak 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı.

Böbrek için uygulanan doku takibi:

Sırasıyla aşağıdaki protokole göre takip yapıldı.

- Boin solüsyonunda fiksasyon : 18-24 saat
- 30°'lik alkol : 1 saat
- 50°'lik alkol : 1 saat
- 70°'lik alkol : 1 saat
- 80°' lik alkol : 15 dakika
- 90°' lik alkol : 15 dakika
- 96°' lik alkol I : 10 dakika
- 96°' lik alkol II : 10 dakika
- Ksilol I : 10 dakika
- Ksilol II : 15 dakika
- Parafin I : 45 dakika
- Parafin II : 1 saat
- Parafin III : 1 saat

Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi (H&E):

Parafin bloklardan alınan 5 µm'lik kesitler Hematoksilen-Eozin yöntem ile boyandı.

- Ksilol I :20 dakika
- Ksilol II :20 dakika
- 96°' lik alkol I :5 dakika
- 96°' lik alkol II :5 dakika
- 90°' lik alkol :5 dakika
- 80°'lik alkol :5 dakika
- 70°'lik alkol :5 dakika
- Distile Su :5 dakika
- Hematoksilin :2 dakika
- Yıkama (akar suda) :5 dakika
- Eozin :5 dakika
- 70°'lik alkol :3 dakika
- 80°' lik alkol :3 dakika
- 90°' lik alkol :3 dakika
- 96°' lik alkol I :3 dakika
- 96°' lik alkol II :3 dakika
- Ksilol I :20 dakika
- Ksilol II :20 dakika

H&E boyanmış böbrek kesitlerinde ışık mikroskop düzeyde histopatolojik incelemeler yapıldı. Hazırlanan tüm doku kesitleri Olympus marka, CH40 model ışık mikroskobunda incelenerek Spot Insight marka, 3.2.0. model dijital kamera ve Spot advanced, 4.0.6. version program yardımıyla fotoğraflandırdı.

Bulguların değerlendirilmesinde fokal glomeruler nekroz; Bowman Kapsül dilatasyonu; tübüler epitel dejenerasyonu; tübüler epitel nekrozu; tübüler dilatasyon; interstisiyel inflamatuvar infiltrasyon; peri tübüler konjesyon yönünden skorlama yapılmıştır. Skorlar değerlendirilip toplam skor elde edildi.

Skorlamada ;

0: bulgu yok

1: fokal hafif değişiklikler

2: multi fokal orta derecede değişiklikler

3: multi fokal yaygın değişiklikler

3.3.İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapıldı. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Statistics Version 20 paket programı kullanıldı. Öncelikle gruplar arasındaki değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı analiz edildi. Parametrik verilerin normal dağılıp dağılmadığı Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri kullanılarak değerlendirildi. Normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmaları Tek Yönlü Varyans Analiz (Oneway ANOVA) testi kullanılmıştır. Veriler, ortalama±standart sapma (SD, standard deviation) olarak verildi. Normal dağılım göstermeyen verilerin karşılaştırılmalarında ise Kruskal-Wallis kullanılmıştır. Veriler ortanca değer, 25'inci ve 75'inci yüzdelerik değerler olarak ifade edilmiştir. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

DeneySEL prosedür uygulanan gruplar; Sağlıklı Kontrol Grubu (Grup I), İskemi/Reperfüzyon uygulanan Grup (Grup II), İskemi/Reperfüzyon + 50 mg/kg *Salvia L.* verilen Grup (Grup III), İskemi/Reperfüzyon + 100 mg/kg *Salvia L.* verilen Grup (Grup IV), İskemi/Reperfüzyon + 50 mg/kg *Rosmarinik Asit* verilen Grup (Grup V), olarak sınıflandırıldı.

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

4.1. Ratların Ağırlıkları

Çalışma gruplarının, çalışma başında ve sonundaki rat ağırlıkları Tablo 4.1' de verilmiştir. Çalışma başında Grup I, Grup II, Grup III, Grup IV ve Grup V' teki rat ağırlıkları değerlendirildiğinde değerler sırasıyla; 235 (212-247); 245 (227-276); 236 (219-273); 214 (189-235) ve 257 (254-299) bulunmuştur. Grup I'e göre çalışma öncesi ağırlıklar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde Grup V'te anlamlı düzeyde bir artış gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). Grup III ile Grup V kıyaslandığında ise Grup V'te yine anlamlı düzeyde bir artış belirlenmiştir ($p < 0,05$). Grup V'e istatistiksel olarak bakıldığında ise Grup IV'te ileri derecede bir azalış olduğu belirlenmiştir ($p < 0,001$). Grup II'ye göre Grup IV'de ise anlamlı düzeyde bir azalış meydana gelmiştir ($p < 0,05$). Diğer gruplar da ise istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p > 0,05$).

Çalışma sonundaki rat ağırlıklarına bakılacak olursa; Grup I, Grup II, Grup III, Grup IV ve Grup V' teki rat ağırlıkları sırasıyla; 252 (226-271); 262 (250-290); 236 (219-273); 223 (191-241); 272 (264-311) bulunmuştur. Çalışma sonunda sıçan ağırlıklarına bakıldığında Grup IV'e Grup V'te ileri derecede bir artış gözlenmiştir ($p < 0,001$). Çalışmamızda yer alan diğer gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

4.2. Böbrek Fonksiyon Testleri

Çalışma gruplarımızın serum BUN ve Kreatinin değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.2' de verilmiştir.

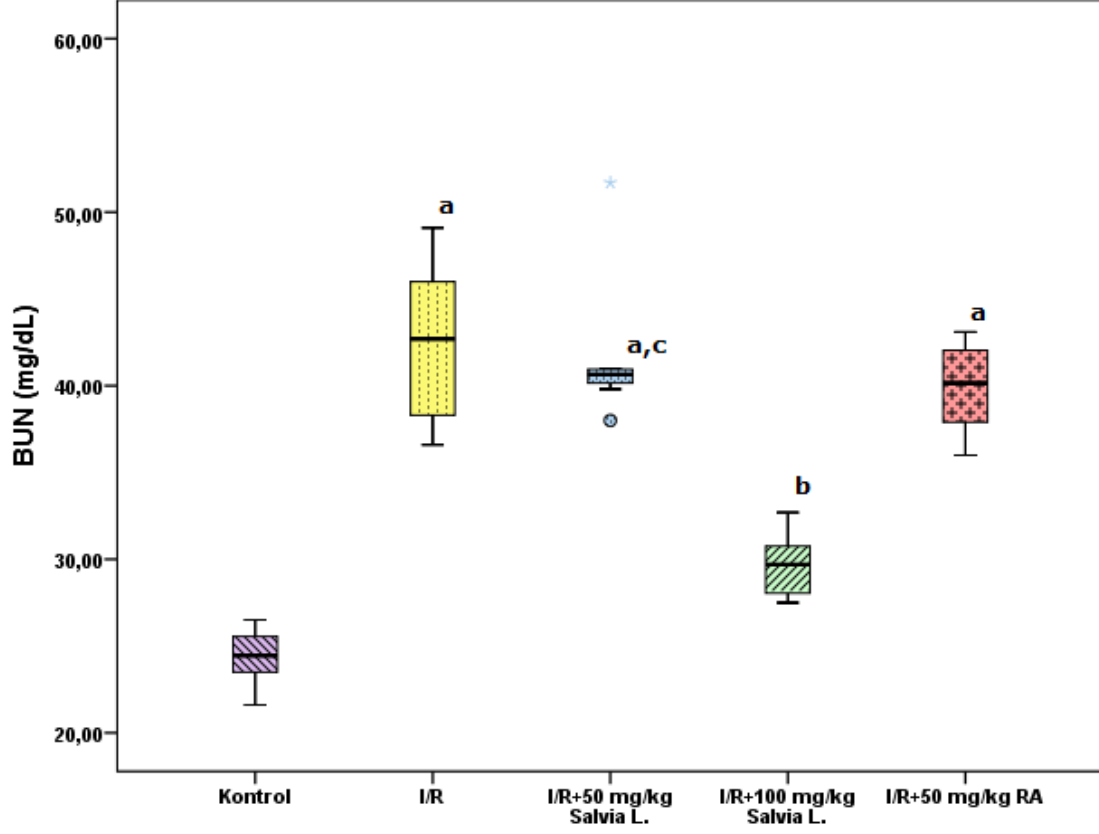
Tablo 4.2. Çalışma Gruplarından BUN ve Kreatinin Sonuçlarının Karşılaştırılması (mg/dL)

GRUPLAR (n=8)	BUN Median (%25-%75)	KREATİNİN Median (%25-%75)
Kontrol (Grup I)	24,45 (23,45-25,77)	0,37 (0,35-0,39)
I/R Grubu (Grup II)	42,70 ^a (38,25-47,00)	0,70 ^a (0,65-0,72)
I/R+50 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup III)	40,65 ^{a,c} (39,97-40,97)	0,72 ^{a,c} (0,67-0,74)
I/R+100 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup IV)	29,70 ^b (27,97-31,17)	0,61 ^{d,e} (0,49-0,68)
I/R+50 mg/kg Rosmarinik Asit (Grup V)	40,15 ^a (37,75-42,07)	0,60 ^d (0,58-0,66)

- ^a; Grup I'e göre fark: $p < 0,001$
^b; Grup II'ye göre fark: $p < 0,001$
^c; Grup II'ye göre fark: $p < 0,05$
^d; Grup I'e göre fark: $p < 0,05$
^e; Grup II'ye göre $p < 0,05$

Çalışma gruplarımızın serum BUN değerleri sırasıyla; 24,45(23,45-25,77); 42,70(38,25-47,00); 40,65(39,97-40,97); 29,70(27,97-31,17); 40,15(37,75-42,07) bulunmuştur.

Kontrol grubuna (Grup I'e) göre değerlendirildiğinde Grup II, Grup III ve Grup V'te ileri derecede artış olurken ($p < 0,001$), Grup II'ye göre Grup IV'te ileri derecede azalma gözlemlenmiştir ($p < 0,001$). Grup IV'te Grup III'e göre istatistiksel bir anlamlılık bulundu ($p < 0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Şekil 4.2.A)



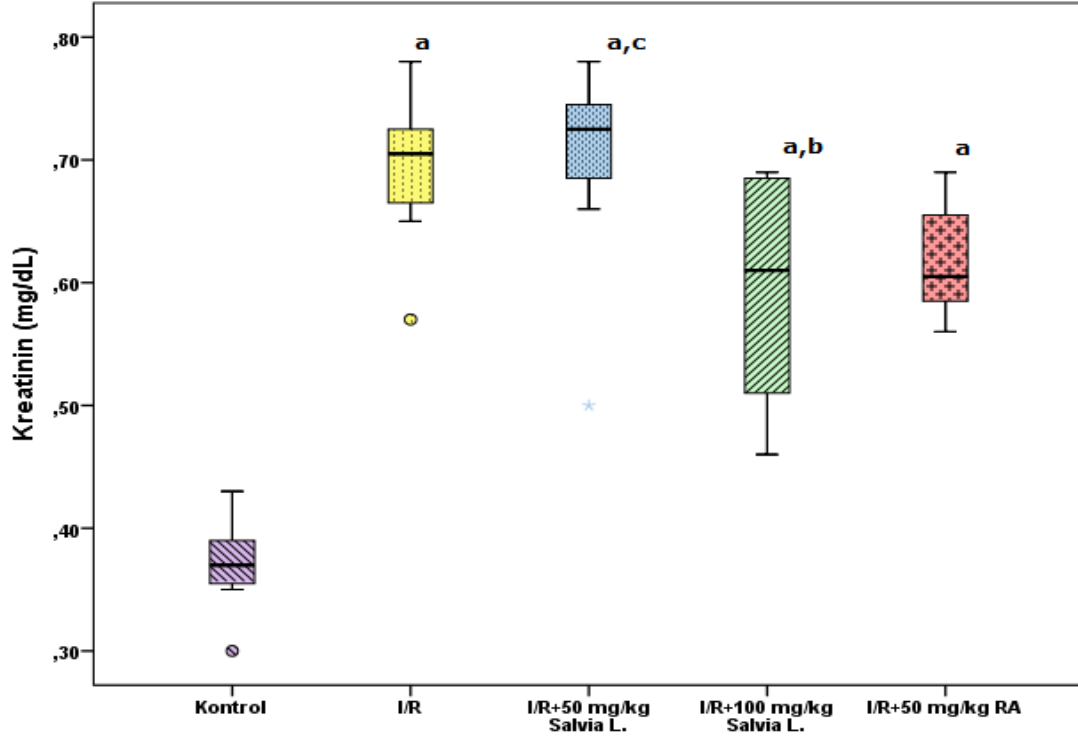
Her bir grubun değeri ortanca (%25-%75 persantil) olarak verildi.

- a: Grup I'e göre farklılık $p < 0,001$
- b: Grup II'ye göre farklılık $p < 0,001$
- c: Grup IV'e göre farklılık $p < 0,05$

Şekil 4.2.A BUN düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

Çalışma gruplarımızın serum kreatinin değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.2' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın serum kreatinin değerleri sırasıyla; 0,37(0,35-0,39); 0,70(0,65-0,72); 0,72(0,67-0,74); 0,61(0,49-0,68); 0,60(0,58-0,66) olarak bulunmuştur. Grup I'e göre istatistiksel olarak değerlendirme yapıldığında Grup II ve Grup III'te ileri derecede artış gözlemlenirken ($p < 0,001$), Grup IV ve Grup V'te anlamlı düzeyde artış bulunmuştur ($p < 0,05$).

Grup II'ye göre istatistiksel bir değerlendirme yapıldığında ise Grup IV'te anlamlı düzeyde bir azalış bulunmuştur ($p < 0,05$). Çalışma grupları kendi aralarında istatistiksel olarak değerlendirildiğinde ise; Grup IV'te Grup III'e göre anlamlı düzeyde bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Çalışmamızda yer alan diğer grupları kendi içinde değerlendirildiğinde ise önemli bir fark bulunamadı ($p > 0,05$) (Şekil 4.2.B)



Her bir grubun değeri ortanca (%25-%75 persantil) olarak verildi.

- ^a; Grup I'e göre fark: $p < 0,001$
- ^b; Grup II'ye göre fark: $p < 0,05$
- ^c; Grup IV'e göre fark: $p < 0,05$

Şekil 4.2.B. Kreatinin düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

4.3. Böbrek Hasarı Belirteçleri

Çalışma gruplarımızın serum AST, ALT ve GGT değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.3' de verilmiştir.

Tablo 4.3. Çalışma Gruplarının ALT, AST ve GGT Sonuçlarının Karşılaştırılması (U/L)

GRUPLAR (n=8)	ALT* Mean±SD	AST** Median (%25-%75)	GGT** Median (%25-%75)
Kontrol (Grup I)	70,75±17,84	167,50 (136,25-204,50)	1,7 (0,82-2,4)
I/R Grubu (Grup II)	98,50±21,30 ^{a,e}	259,00 ^e (231,00-389,25)	2,8 ^b (1,92-3,77)
I/R+50 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup III)	81,25±14,83 ^d	191,50 ^d (154,50-232,50)	1,65 (1,35-2,15)
I/R+100 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup IV)	63,37±7,00 ^c	169,50 ^d (159,50-216,75)	0,65 ^{b,c} (0,27-1,10)
I/R+50 mg/kg Rosmarinik asit (Grup V)	76,00±10,92 ^e	170,50 ^d (164,50-204,25)	0,20 ^c (0,10-1,00)

^a: Grup I'e göre farklılık p<0,001

^b: Grup I'e göre farklılık p<0,05

^c: Grup II'ye göre farklılık: p<0,001

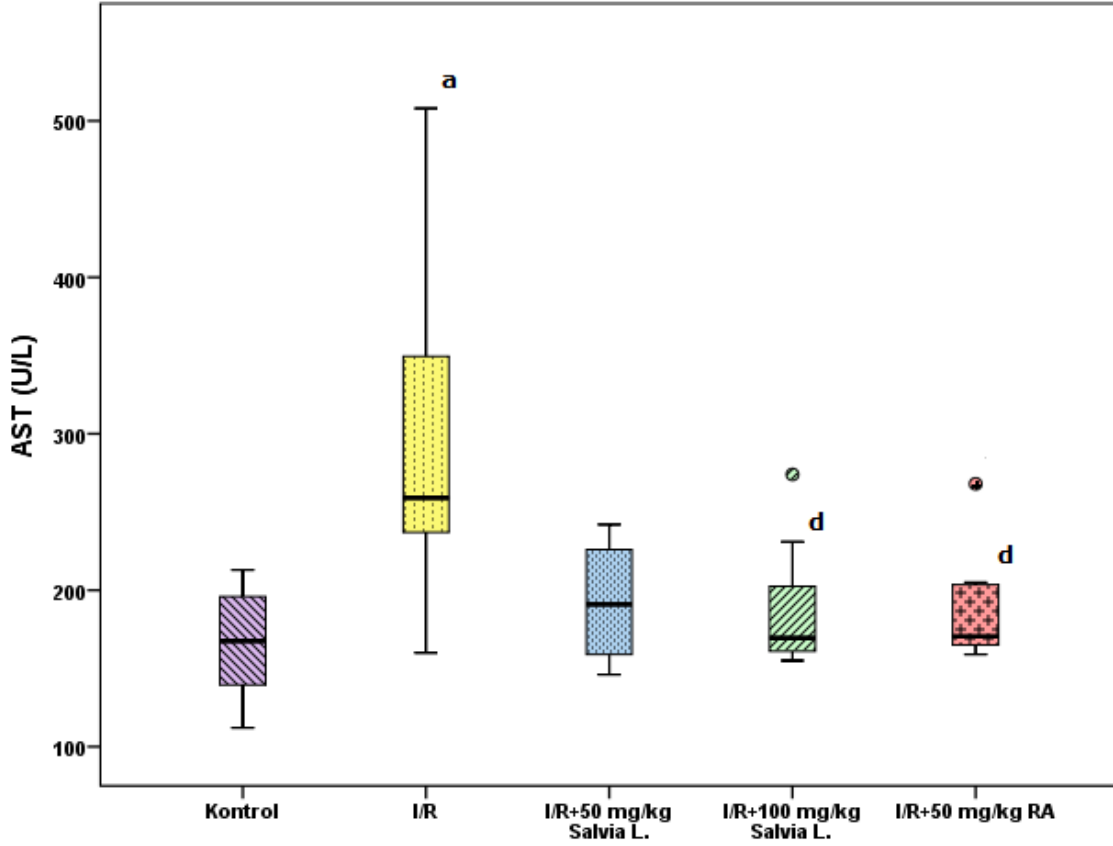
^d: Grup II'ye göre farklılık: p<0,05

^e: Grup V'e göre farklılık p<0,05

Çalışma gruplarımızın serum AST değerleri gruplarda sırasıyla; 167,50 (136,25-204,50); 259,00 (231,00-389,25); 191,50 (154,50-232,50); 169,50 (159,50-216,75); 170,50 (164,50-204,25) olarak bulunmuştur.

İstatistiksel olarak Grup I'e göre değerlendirildiğinde Grup II'de ileri derecede önemli artış bulunmuştur (p<0,001). Grup II'ye göre değerlendirme yapıldığında ise Grup III, Grup IV ve Grup V'te anlamlı düzeyde azalış gözlemlenmiştir (p<0,05) (Şekil 4.3.A).

Çalışmamızda yer alan diğer gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde ise önemli bir fark bulunamadı (p>0,05).

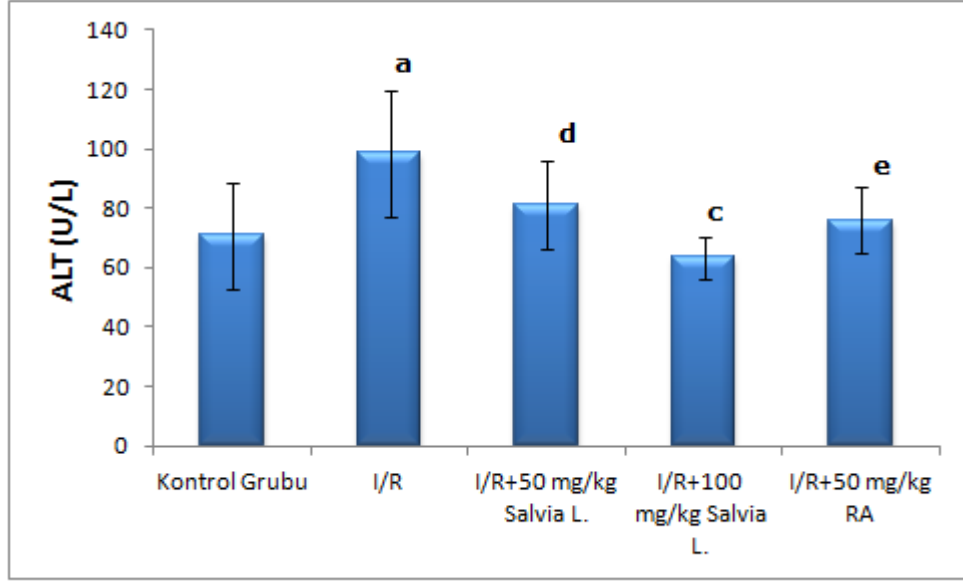


^a: Grup I'e göre farklılık $p < 0,001$
^d; Grup II'e göre fark: $p < 0,05$

Şekil 4.3.A. AST düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

Çalışma gruplarımızın serum ALT değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.3' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın serum ALT değerleri sırasıyla; $70,75 \pm 17,84$; $98,50 \pm 21,30$; $81,25 \pm 14,83$; $63,37 \pm 7,00$; $76,00 \pm 10,92$ olarak bulunmuştur.

Grup I' e göre istatistiksel olarak değerlendirme yapıldığında Grup II' de ileri derecede önemli artış olurken ($p < 0,001$), diğer gruplarda anlamlılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). Grup II'ye göre karşılaştırma yapıldığında ise Grup IV' te ileri derecede azalma ($p < 0,001$) gözlemlendi. Yine Grup V' te Grup II' ye göre istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur ($p < 0,05$). Çalışmamızda yer alan diğer gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde ise önemli bir fark bulunamadı ($p > 0,05$). (Şekil 4.3.B)



- a: Grup I'e göre farklılık $p < 0,001$
b: Grup II'e göre farklılık: $p < 0,001$
c: Grup II'e göre farklılık: $p < 0,05$
d: Grup V'e göre farklılık $p < 0,05$

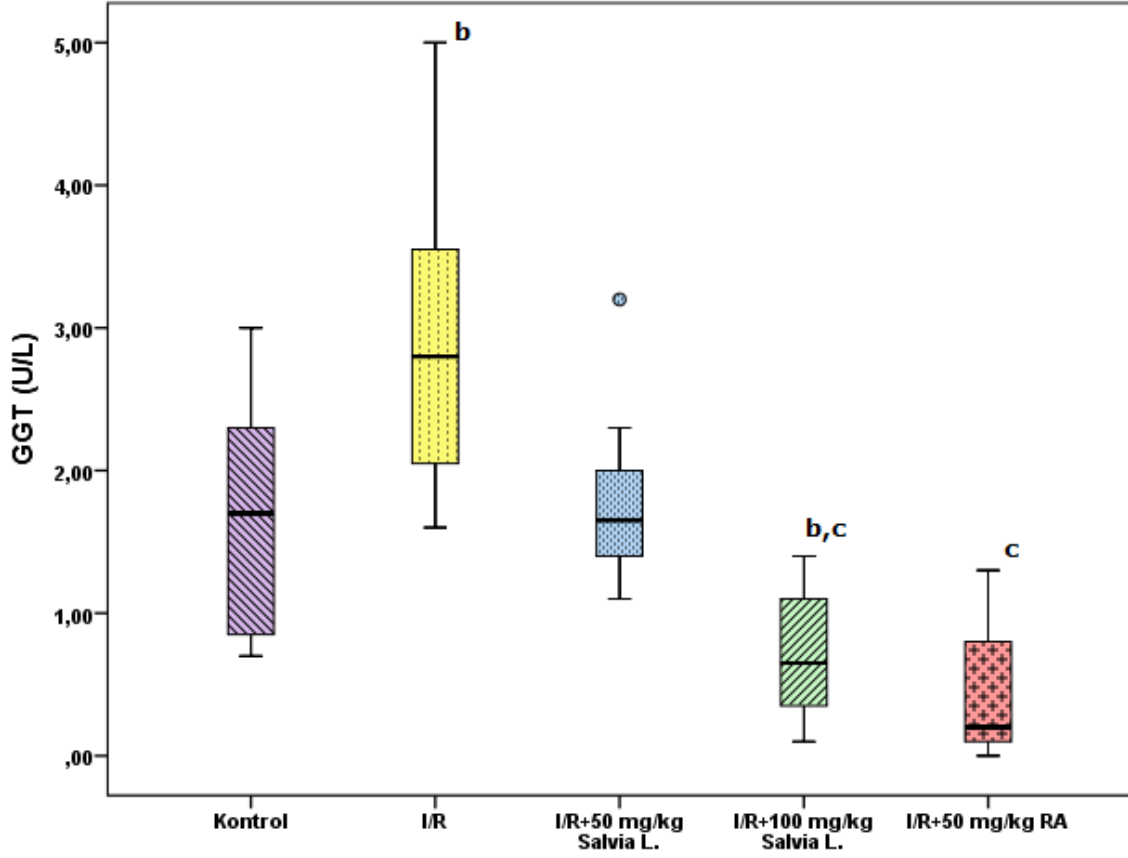
Şekil 4.3.B. ALT düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

Çalışma gruplarımızın serum GGT düzeylerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi Tablo 4.3'de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın serum GGT değerleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde değerleri gruplarda sırasıyla; 1,7 (0,82-2,4) ; 2,8 (1,92-3,77) ; 1,65 (1,35-2,15) ; 0,65 (0,27-1,10) ; 0,20 (0,10-1,00) olarak bulunmuştur.

İstatistiksel olarak Grup I'e göre değerlendirme yapıldığında Grup II'de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış bulunurken ($p < 0,05$); Grup IV'te ise anlamlı düzeyde azalış gösterilmiştir ($p < 0,05$).

Grup II'ye göre değerlendirme yapıldığında ise Grup IV ve Grup V'te ileri düzeyde anlamlı azalış bulunmuştur ($p < 0,001$) (Şekil 4.3.C)

Çalışmamızdaki diğer gruplar ise kendi içinde değerlendirildiğinde önemli bir fark bulunamadı ($p > 0,05$).



^b; Grup I'e göre farklılık $p < 0,05$
^c; Grup II'e göre farklılık: $p < 0,001$

Şekil 4.3.C. GGT düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

4.4. İnflamasyon ve Endotel Fonksiyon Belirteçleri

Çalışma gruplarımızın serum hsCRP ile doku MPO ve NO düzeylerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi Tablo 4.4' de verilmiştir.

Tablo 4.4. Çalışma Gruplarının İnflamasyon ve Endotel Fonksiyon Belirteç Değerlerinin Karşılaştırılması

GRUPLAR (n=8)	hsCRP (mg/dL) Median (%25-%75)	MPO (U/mg prot) Median (%25-%75)	NO (µmol/mgprot) Median (%25-%75)
Kontrol (Grup I)	1,2 (0,92-1,35)	0,26 (0,21-0,29)	11,78 (10,52-13,02)
I/R Grubu (Grup II)	1,5 (1,40-1,82) ^a	1,60 (1,55-2,44) ^a	3,70 (3,04-4,67) ^a
I/R+50 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup III)	1,25 (1,02-1,40) ^d	0,51 (0,41-0,65) ^{a,d}	7,43 (5,54-7,96) ^{a,d}
I/R+100 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup IV)	1,10 (1,10-1,35) ^c	0,38 (0,31-0,44) ^{c,f}	10,05 (9,22-11,24) ^c
I/R+50 mg/kg Rosmarinik Asit (Grup V)	1,25 (1,05-1,37) ^d	0,46 (0,40-0,54) ^{a,d}	6,08 (5,36-8,35) ^{a,e}

^a: Grup I'e göre farklılık: p<0,001

^b: Grup I'e göre farklılık: p<0,05

^c: Grup II'ye göre farklılık: p<0,001

^d: Grup II'ye göre farklılık: p<0,05

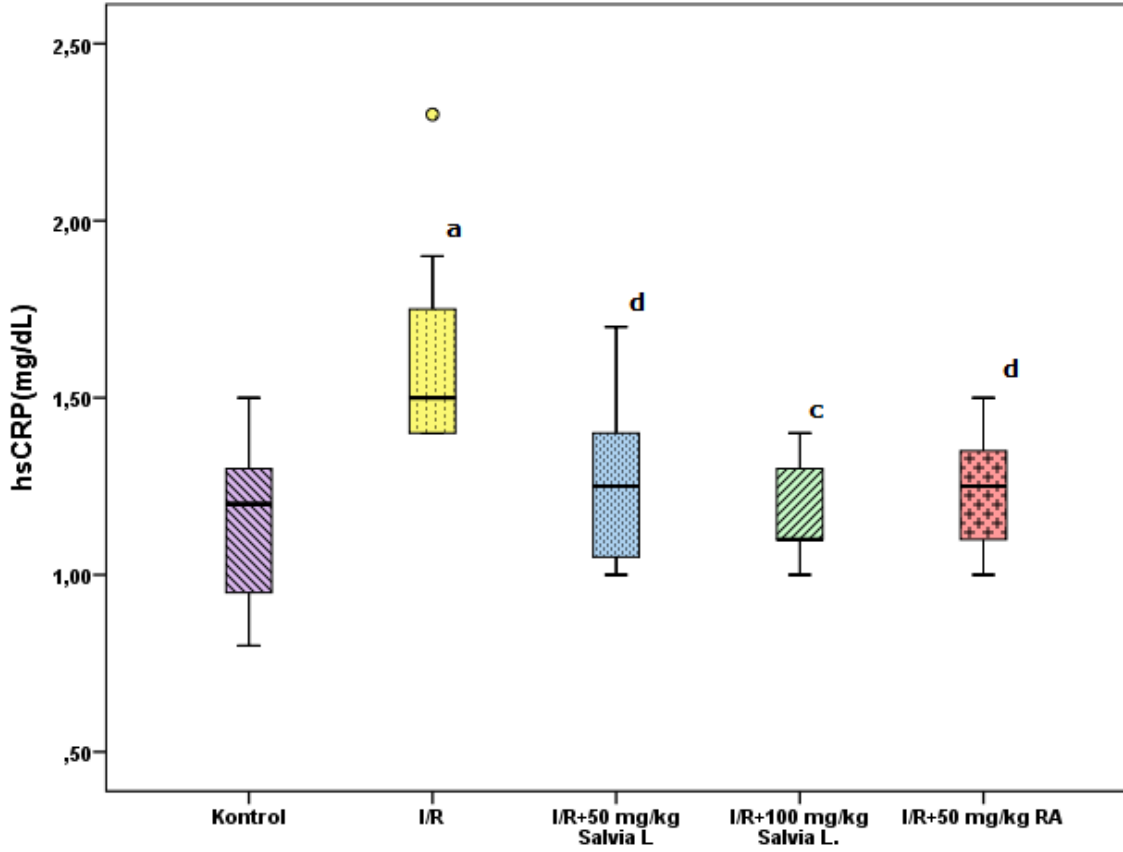
^e: Grup IV'e göre farklılık: p<0,05

^f: Grup V'e göre farklılık: p<0,05

Çalışma gruplarımızın serum hsCRP değerleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde değerleri gruplarda sırasıyla; 1,2 (0,92-1,35); 1,5 (1,40-1,82) ; 1,25 (1,02-1,40) ; 1,10 (1,10-1,35) ; 1,25 (1,05-1,37) olarak bulunmuştur.

İstatistiksel olarak Grup I'e göre değerlendirme yapıldığında Grup II'de ileri derecede anlamlı artış gözlemlenmiştir (p<0,001). Grup II'ye göre Grup III ve Grup V'te istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalış bulunmuştur (p<0,05). Yine Grup II'ye göre Grup IV karşılaştırdığımızda ise istatistiksel olarak ileri düzeyde azalış göze çarpmaktadır (p<0,001).

Çalışma gruplarımız kendi içinde değerlendirildiğinde istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 4.4.A)



a: Grup I'e göre farklılık: $p<0,001$
c: Grup II'e göre farklılık: $p<0,001$
d: Grup II'ye göre farklılık: $p<0,05$

Şekil 4.4.A. hsCRP düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

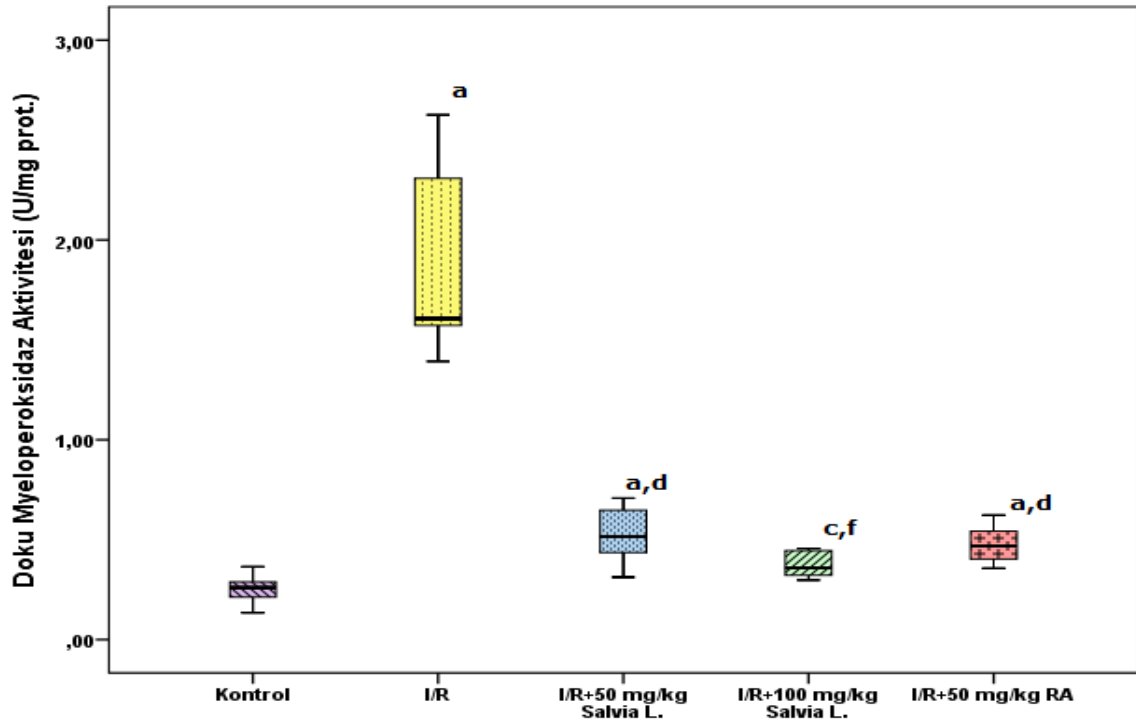
Çalışma gruplarımızın doku MPO düzeylerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi Tablo 4.4' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın doku MPO değerleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde değerleri gruplarda sırasıyla; 0,26 (0,21-0,29) ; 1,60 (1,55-2,44) ; 0,51 (0,41-0,65) ; 0,38 (0,31-0,44) ; 0,46 (0,40-0,54) olarak bulunmuştur.

İstatistiksel olarak Grup I'e göre değerlendirme yapıldığında Grup II,III ve IV'de ileri derecede artış belirlenmiştir ($p<0,001$).

Grup II'ye göre Grup IV'te istatistiksel olarak ileri düzeyde azalış gözlemlenirken ($p<0,001$). Grup III'de ve Grup V'de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma gözlemlendi ($p<0,05$).

Gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde ise Grup V ve Grup IV arasında anlamlı düzeyde bir fark bulundu ($p<0,05$) (Şekil 4.4.B)

Doku MPO düzeyleri açısından diğer çalışma gruplarımız kendi içinde değerlendirildiğinde istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmadı ($p>0,05$).



- a: Grup I'e göre farklılık $p<0,001$
- c: Grup II'ye göre farklılık: $p<0,001$
- d: Grup II'ye göre farklılık: $p<0,05$
- f: Grup V'e göre farklılık: $p<0,05$

Şekil 4.4.B. MPO düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

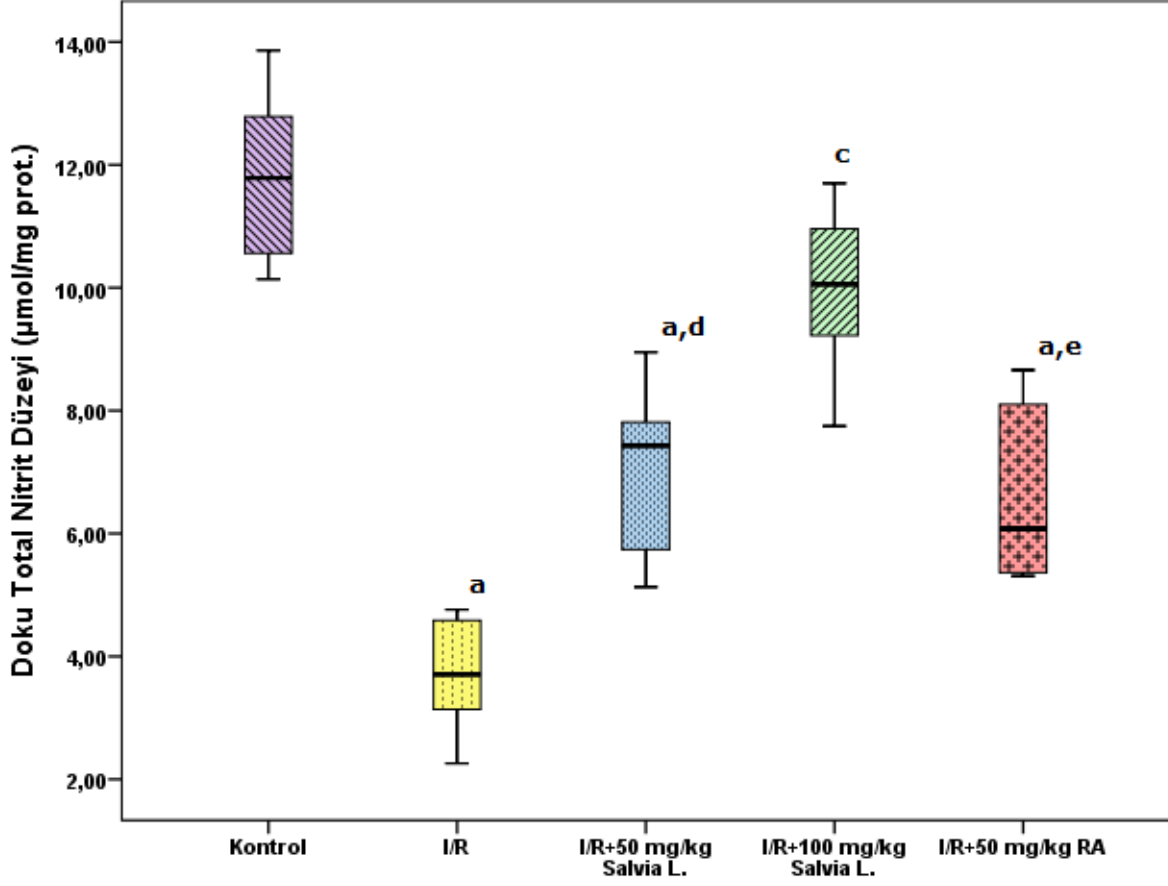
Çalışma gruplarımızın doku NO düzeylerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi Tablo 4.4' da verilmiştir. Çalışma gruplarımızın doku NO değerleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde değerleri gruplarda sırasıyla; 11,78 (10,52-13,02); 3,70 (3,04-4,67); 7,43 (5,54-7,96); 10,05 (9,22-11,24); 6,08 (5,36-8,35) olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel olarak Grup I'e göre değerlendirme yapıldığında Grup Grup II, III ve V'de ileri derecede bir azalma belirlendi ($p<0,001$).

Grup II ile Grup IV ve Grup III istatistiksel olarak karşılaştırıldığında Grup IV'de Grup II'ye göre ileri derecede bir azalma gözlemlenirken ($p<0,001$); Grup III ise anlamlı düzeyde bir azalma gözlemlendi ($p<0,05$).

Grup IV ile Grup V kendi aralarında istatistiksel olarak değerlendirildiğinde ise Grup IV'de anlamlı düzeyde bir azalış belirlendi ($p<0,05$) (Şekil 4.4.C)

Diğer gruplar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak bir fark bulunamadı ($p > 0,05$).



^a: Grup I'e göre farklılık: $p < 0,001$

^c: Grup II'e göre farklılık: $p < 0,001$

^d: Grup II'e göre farklılık: $p < 0,05$

^e: Grup IV'e göre farklılık: $p < 0,05$

Şekil 4.4.C. NO düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

4.5. Oksidatif Stres Belirteci

Çalışma gruplarımızın doku MDA düzeylerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi Tablo 4.5' de verilmiştir.

Tablo 4.5. Çalışma Gruplarının Doku MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması (nmol/mg protein)

GRUPLAR (n=8)	MDA Mean±SD
Kontrol (Grup I)	8,13±1,04
I/R Grubu (Grup II)	11,52±1,32 ^a
I/R+50 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup III)	8,05±0,73 ^c
I/R+100 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup IV)	8,63±0,95 ^b
I/R+50 mg/kg Rosmarinik Asit (Grup V)	9,46±0,83

^a: Grup I'e göre farklılık: p<0,001

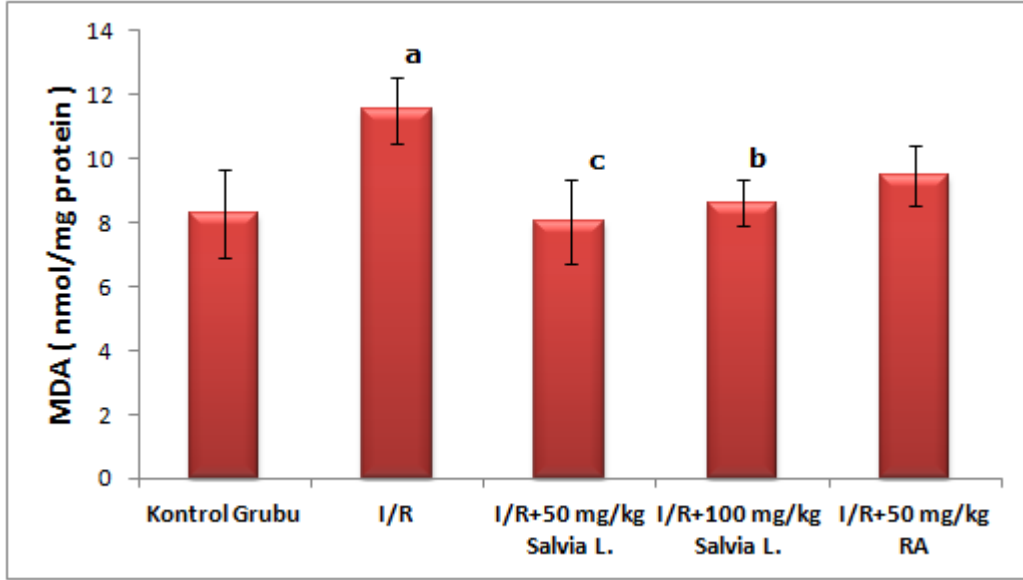
^b; Grup II'e göre farklılık: p<0,001

^c Grup II'ye göre farklılık: p<0,05

Çalışma gruplarımızın doku MDA değerleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde değerleri gruplarda sırasıyla; 8,13±1,04; 11,52±1,32; 8,05±0,73; 8,63±0,95; 9,46±0,83 olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel olarak Grup I'e göre değerlendirme yapıldığında Grup II'de ileri derecede anlamlı bir artış gözlemlenmiştir (p<0,001). Grup II'ye göre değerlendirme yapıldığında ise Grup IV'te istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bir azalış belirlenmiştir (p<0,001). Yine Grup II'ye göre Grup III'te istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir azalış belirlenmiştir (p<0,05).

Doku MDA düzeyleri olarak bakıldığında çalışmamızda yer alan diğer gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi anlamlılık bulunamamıştır (p>0,05) (Şekil 4.5)



Her bir grubun değeri ortalama \pm standart sapma (SD) olarak verildi

- ^a: Grup I'e göre farklılık: $p < 0,001$
- ^b: Grup II'e göre farklılık: $p < 0,001$
- ^c: Grup II'ye göre farklılık: $p < 0,05$

Şekil 4.5. Doku MDA düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

4.6. Tümör Nekroz faktörü – α (TNF- α) Düzeyleri

Serum TNF- α değerleri bakımından grupların istatistiksel değerlendirilmesi Tablo 4.6' da verilmiştir.

Tablo 4.6. Çalışma Gruplarının Serum TNF- α Düzeylerinin Karşılaştırılması (pg/ml)

GRUPLAR (n=8)	TNF- α Median (%25-%75)
Kontrol (Grup I)	8,69 (7,78-9,84)
I/R Grubu (Grup II)	12,94 (11,79-20,45) ^a
I/R+50 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup III)	9,77 (8,50-13,63) ^c
I/R+100 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup IV)	9,06 (8,34-9,94) ^b
I/R+50 mg/kg Rosmarinik Asit (Grup V)	10,28 (8,79-11,10) ^c

^a: Grup I'e göre farklılık: $p < 0,001$

^b: Grup II'e göre farklılık: $p < 0,001$

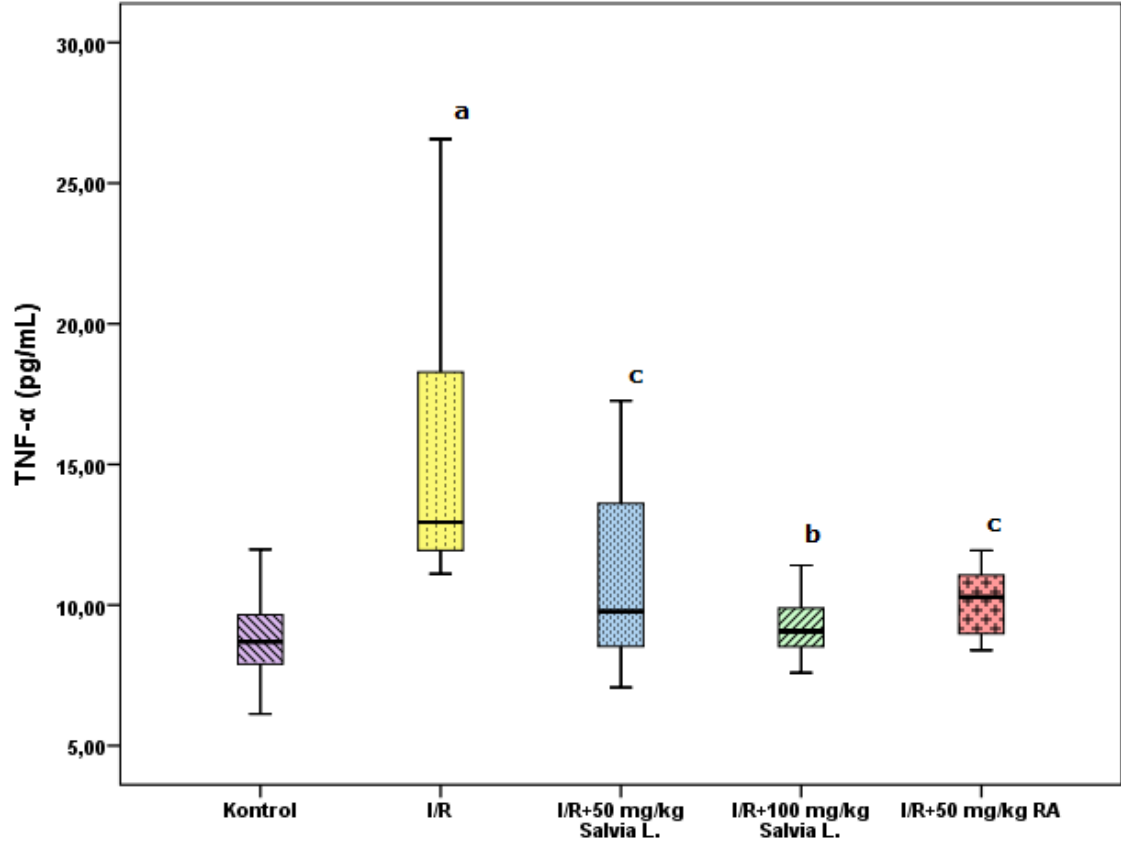
^c: Grup II'ye göre farklılık: $p < 0,05$

Bir pro-inflamatuar sitokin olan TNF- α 'nın değerlendirildiği bu çalışmada gruplar arası karşılaştırılması incelendiğinde değerler sırasıyla; 8,69(7,78-9,84); 12,94 (11,79-20,45); 9,77(8,50-13,63); 9,06(8,34-9,94); 10,28(8,79-11,10) olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel olarak Grup I'e göre değerlendirme yapıldığında Grup II'de ileri derecede anlamlı bir artış belirlenirken ($p < 0,001$); Grup I'e göre diğer gruplarda herhangi bir anlamlılık bulunamadı ($p > 0,05$).

Grup II'ye kıyasla Grup IV'te istatistiksel olarak ileri derecede azalma gözlemlenirken ($p < 0,001$); Grup III ve V'te anlamlı düzeyde bir azalma tespit edildi ($p < 0,05$) (Şekil 4.6)

Benzer şekilde diğer gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark bulunamadı ($p > 0,05$).



Her bir grubun değeri ortanca (%25-%75 persantil) olarak verildi.

- ^a: Grup I'e göre farklılık: $p < 0,001$
- ^b: Grup II'e göre farklılık: $p < 0,001$
- ^c: Grup II'ye göre farklılık: $p < 0,05$

Şekil 4.6. Serum TNF- α düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

4.7. Makrofaj Aktivasyon Belirteci

Çalışma gruplarımızın plazma Kitotriozidaz (ChT) düzeylerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi Tablo 4.6' da verilmiştir.

Tablo 4.7. Çalışma Gruplarının Plazma Kitotriozidaz Düzeylerinin Karşılaştırılması (nmol/saat/ml)

GRUPLAR (n=8)	Kitotriozidaz Median (%25-%75)
Kontrol (Grup I)	2,96 (2,35-3,68)
I/R Grubu (Grup II)	4,39 (3,99-5,76) ^a
I/R+50 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup III)	3,45 (2,69-3,97) ^c
I/R+100 mg/kg <i>Salvia L.</i> (Grup IV)	3,00 (2,56-3,56) ^b
I/R+50 mg/kg Rosmarinik Asit (Grup V)	3,34 (2,43-3,58) ^b

^a: Grup I'e göre farklılık: p<0,001

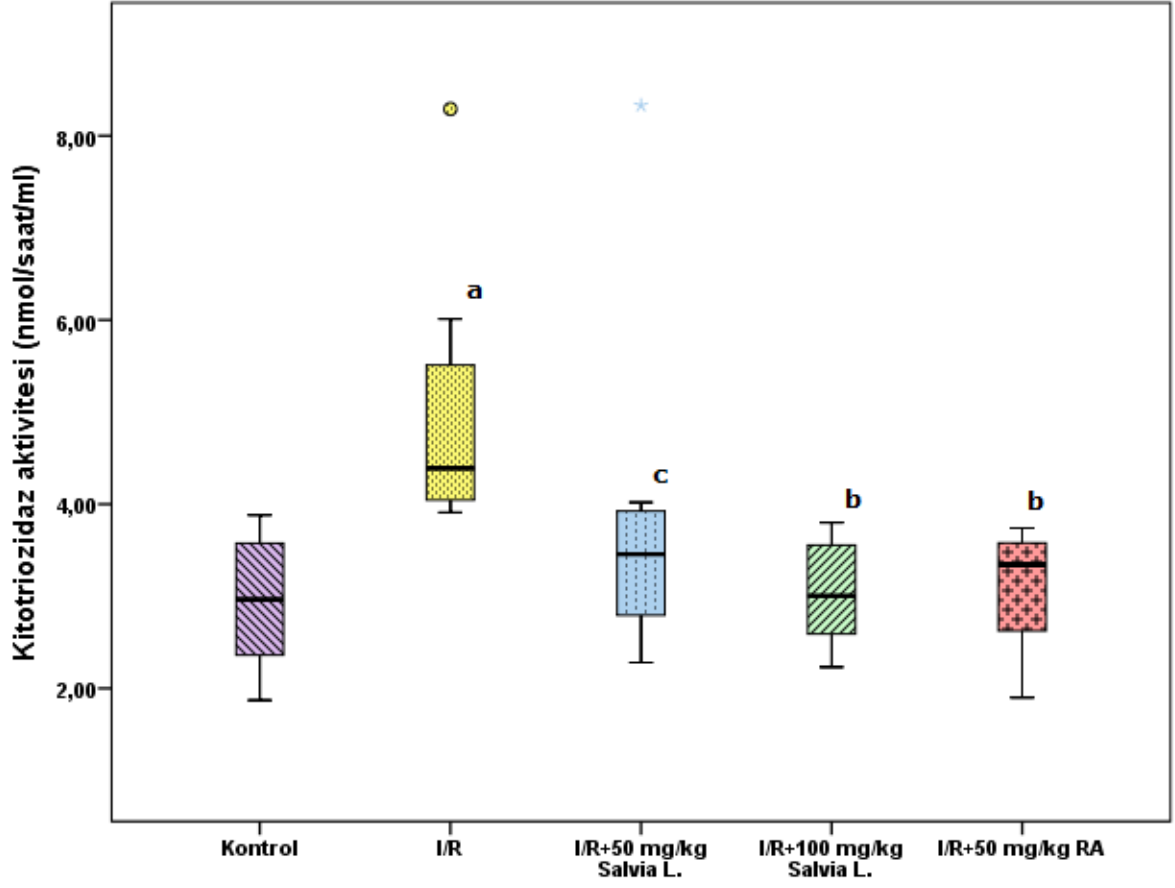
^b; Grup II'e göre farklılık: p<0,001

^c: Grup II'ye göre farklılık: p<0,05

Çalışma gruplarımızın plazma ChT değerleri istatistiksel olarak incelendiğinde değerleri gruplarda sırasıyla; 2,96 (2,35-3,68) ; 4,39 (3,99-5,76) ; 3,45 (2,69-3,97) ; 3,00 (2,56-3,56) ; 3,34 (2,43-3,58) olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel olarak Grup I'e göre değerlendirme yapıldığında Grup Grup II ileri derecede anlamlı bir artış belirlendi (p<0,001). Grup II'ye kıyasla Grup IV ve V'te istatistiksel olarak ileri derecede azalma gözlemlenirken (p<0,001); Grup III'te anlamlı düzeyde bir azalma tespit edildi (p<0,05) (Şekil 4.6).

Benzer şekilde diğer gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark bulunamadı (p>0,05).



Her bir grubun değeri ortanca (%25-%75 persantil) olarak verildi.

- ^a: Grup I'e göre farklılık: $p < 0,001$
- ^b: Grup II'ye göre farklılık: $p < 0,001$
- ^c: Grup II'ye göre farklılık: $p < 0,05$

Şekil 4.7. Plazma Kitotriozidaz düzeylerinin gruplar arasındaki karşılaştırılması

4.8. Böbrekte Histolojik Bulgular

Çalışmamızdaki böbrek doku örnekleri Hematoksilen-Eozin boyama yöntemiyle incelendi. Tüm gruptaki bulguların değerlendirilmesinde;

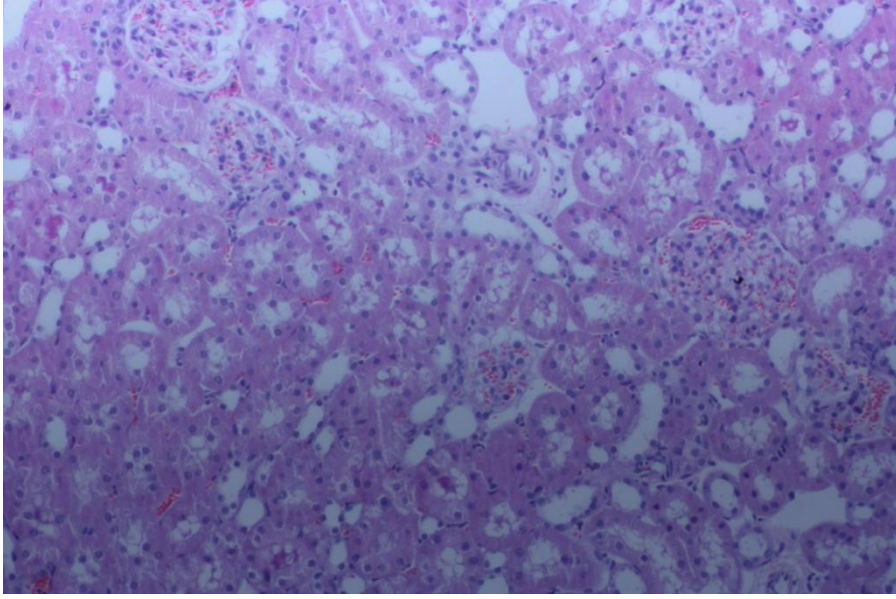
- ❖ Fokal Glomeruler Nekroz;
- ❖ Bowman Kapsül Dilatasyonu;
- ❖ Tübüler Epitel Dejenerasyonu;
- ❖ Tübüler Epitel Nekrozu;
- ❖ Tübüler Dilatasyon;
- ❖ İnterstisiyel İnflamatuar İnfiltrasyon ve
- ❖ Peri Tübüler Konjesyon yönünden skorlama yapılmış olup, sonuçlar tablo halinde verilmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Deney gruplarına ait skorların istatistiksel olarak değerlendirilmesi

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Fokal Glomerüler Nekroz	0,00 (0,00-0,00)	1,50 (1,00-2,00) ^{***}	1,00 (1,00-,00) ^{***,##}	0,50 (0,00-1,00)	1,00 (1,00-2,00) ^{***, ##}
Bowman Kapsül Dilatasyonu	0,00 (0,00-1,00)	2,00 (1,00-2,00) ^{***}	2,00 (1,00-2,00) ^{***}	1,00 (0,00-1,00)	2,00 (1,00-2,00) ^{***}
Tübüler Epitel Dejenerasyon	0,00 (0,00-0,75)	2,00 (2,00-2,75) ^{***, ###}	2,00 (2,00-2,00) ^{***, ###}	0,00 (0,00-0,75) ^{aaa}	2,00 (2,00-2,00) ^{***}
Tübüler Epitel Nekroz	0,00 (0,00-0,75)	1,50 (1,00-2,00) ^{***, #}	2,00 (1,00-2,00) ^{***, ###}	0,50 (0,00-1,00) ^a	1,00 (1,00-2,00) ^{***}
Tübüler Dilatasyon	0,00 (0,00-1,00)	2,00 (1,25-2,00) ^{***}	2,00 (1,25-2,00) ^{***, ###}	0,00 (0,00-0,00) ^{aaa}	2,00 (1,00-2,00) ^{***, ###}
İnterstisiyel İnflamatuvar İnfiltrasyon	0,00 (0,00-0,75)	2,00 (1,00-2,00) ^{***}	2,00 (1,00-2,00) ^{***, ###}	0,00 (0,00-1,00) ^{aaa}	2,00 (1,00-2,00) ^{***, ###}
Peri Tübüler Konjesyon	0,00 (0,00-0,75)	2,50 (2,00-3,00) ^{***}	2,00 (2,00-2,75) ^{***, ###}	1,00 (0,00-1,00) ^{aaa}	2,00 (2,00-2,00) ^{***, ###}

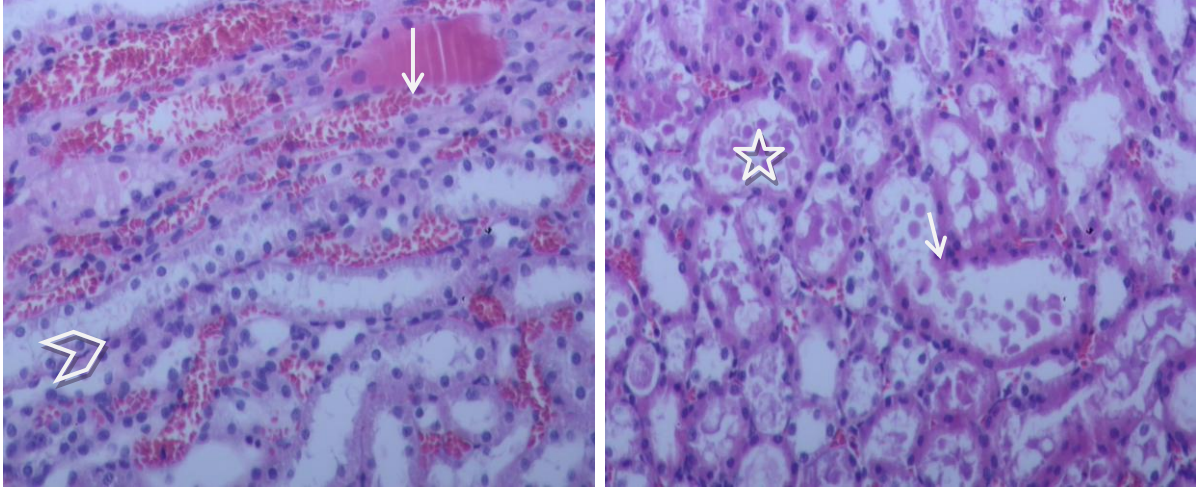
*; Grup I'e göre fark: *; p<0,05, **; p<0,001
^a; Grup II'ye göre fark: ^a; p<0,05, ^{aaa}; p<0,001
^b; Grup III'ye göre fark: ^b; p<0,05; ^{bbb}; p<0,001
[#]; Grup IV'e göre fark: [#]; p<0,05, ^{###}; p<0,001

Kontrol Grubunu (Grup I) oluşturan sıçanlardan alınan böbrek örneklerinde yapılan ışık mikroskopik incelemelerinde; tübüler ve glomerüler yapılar normal olarak değerlendirildi (Şekil 4.7).



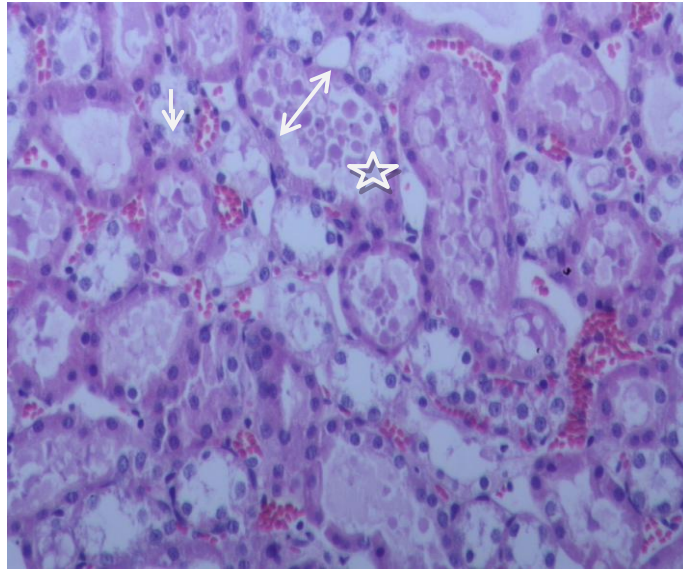
Şekil 4.7. Grup I'e ait böbrek dokusu Örneklerinin Işık Mikroskobu İnceleme Görüntüleri. (HE, bar:200µm)

İskemi/Reperfüzyon uygulanan gruptan (Grup II) alınan böbrek örneklerinin histolojik incelemesinde ise yoğun konjesyon, plazma eksudasyonları, tübüler hücrelerde hidrofik şişme, tübül lümenine nekroze olmuş hücrelerin dökülmesi ve akut tübüler nekroz gibi bulgular göze çarpmaktadır (Şekil 4.8).



A

B



C

Şekil 4.8. Grup II'ye ait böbrek dokusu örneklerinin ışık mikroskobu inceleme görüntüleri.

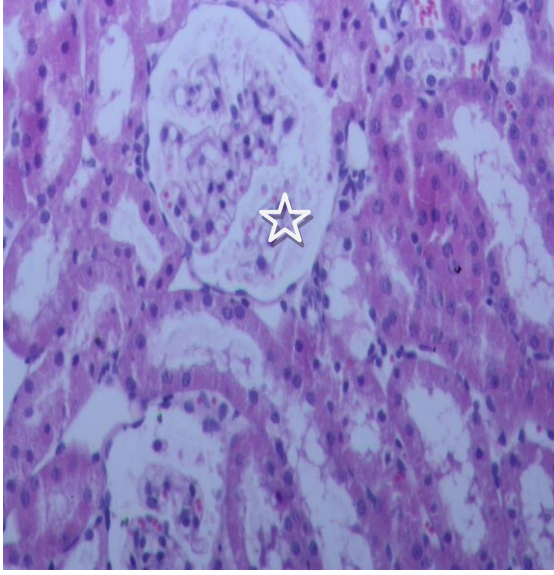
A) Yoğun konjesyon, plazma eksudasyonları (ok), tübüler hücrelerde hidropik şişme, tübül lümenine nekroze olmuş hücrelerin dökülmesi, Akut Tubuler Nekroz bulgusu

B) Tübül içine yoğun plazma eksudasyonu (**yıldız**), tübüler hücrelerin nekrozu sonrası tübül lümeni içine dökülen hücreler görünmektedir(**ok**)

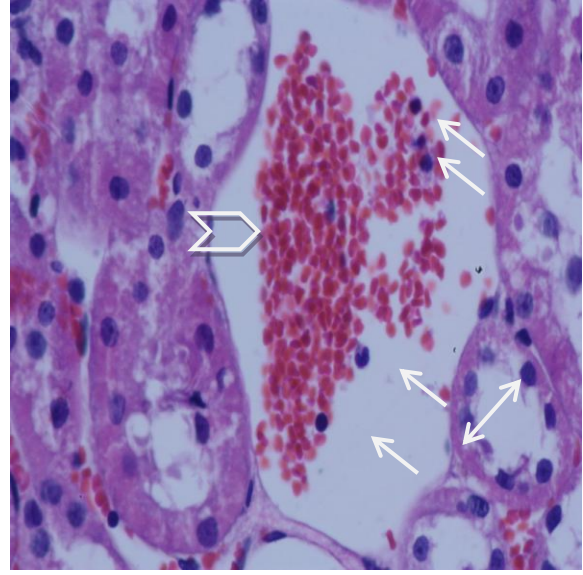
C) Tübül içine yoğun plazma eksudasyonu(**yıldız**), tübüler genişleme(**↔**), tübül hücrelerinin lümen içine dökülmesi (**ok**), bazal membranların kaybı.ATN (HE, bar:100µm, bar:50.0µm).

İskemi/Reperfüzyon yapıp 50 mg/kg *Salvia L.* verilen gruptan (Grup III) alınan böbrek örneklerinin histolojik incelemesinde elde edilen bulgulara bakıldığında tübüler genişleme, glomerüler hücrelerin ve plazma eksudasyonunun tübüler boşluğun içine dökülmesi, ayrıca tübül içinde yoğun plazma eksudasyonu, bazal membran bütünlüğünün bozulması net olarak izlenmekteydi (Şekil 4.9).

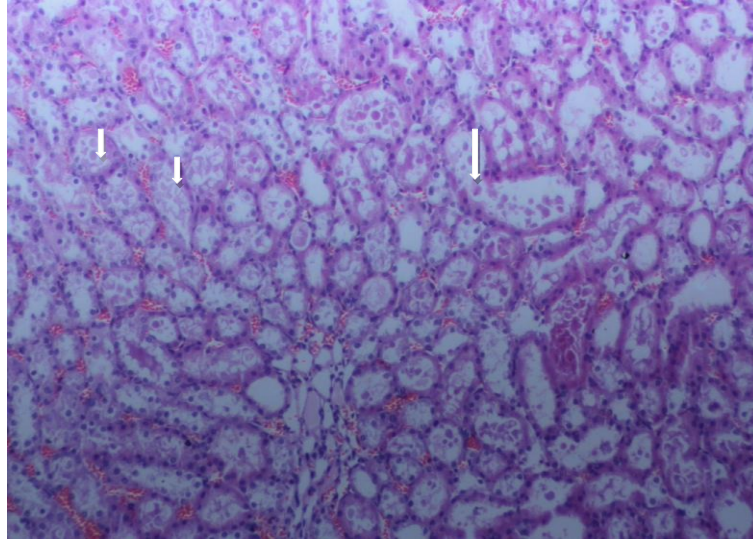
İskemi/Reperfüzyon ve 100 mg/kg *Salvia L.* verilen gruptan (Grup IV) alınan böbrek örneklerinin histolojik incelemesinde elde edilen bulgularda ise bazal membran yapılarının korunduğu, tübül içindeki plazma eksudasyonlarının minimal seviyede olduğu, tübüler genişliklerin ve tübüler hücrelerin normal görünümü ile glomerül yapısının normal olduğu izlenmektedir (Şekil 4.10).



A



B



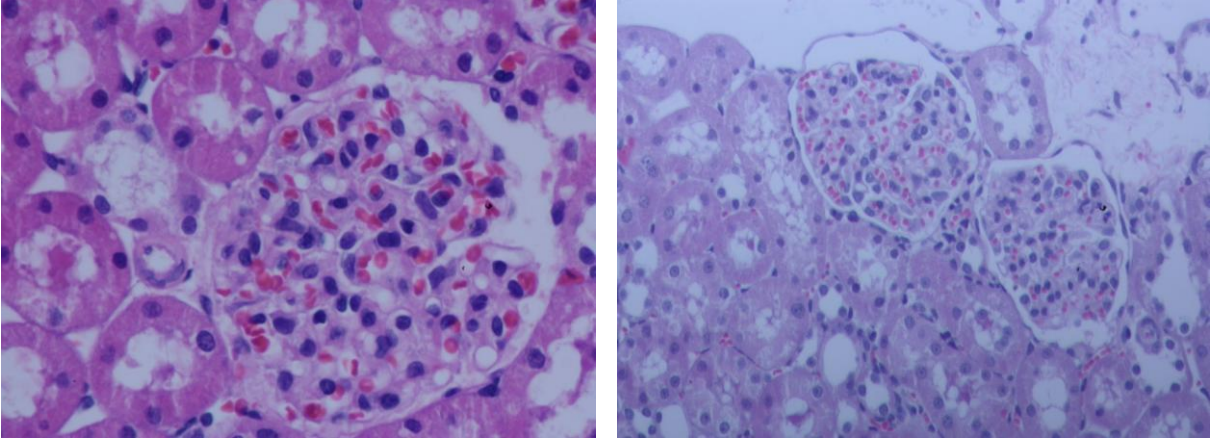
C

Şekil 4.9. Grup III'ye ait böbrek dokusu örneklerinin ışık mikroskobu inceleme görüntüleri

A) Tübüler genişleme, glomerüler hücrelerin ve plazma eksudasyonunun idrar boşluğu içine dökülmesi (**yıldız**), ayrıca tubul içinde yoğun plazma eksudasyonu, bazal membran bütünlüğünün bozulması net olarak izlenmekte

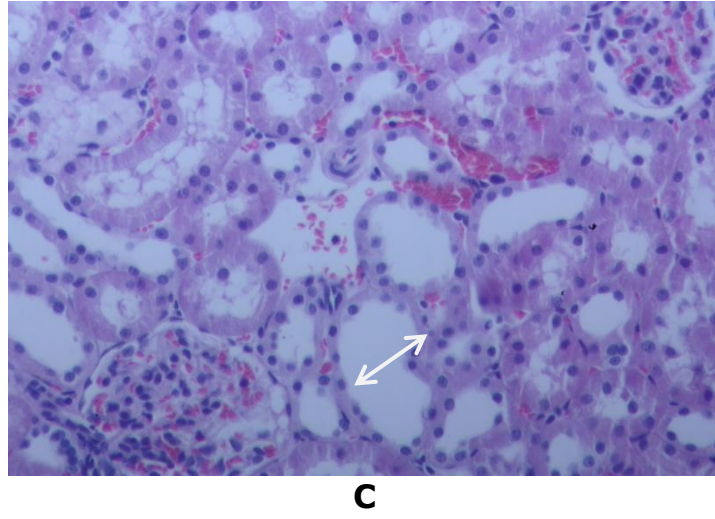
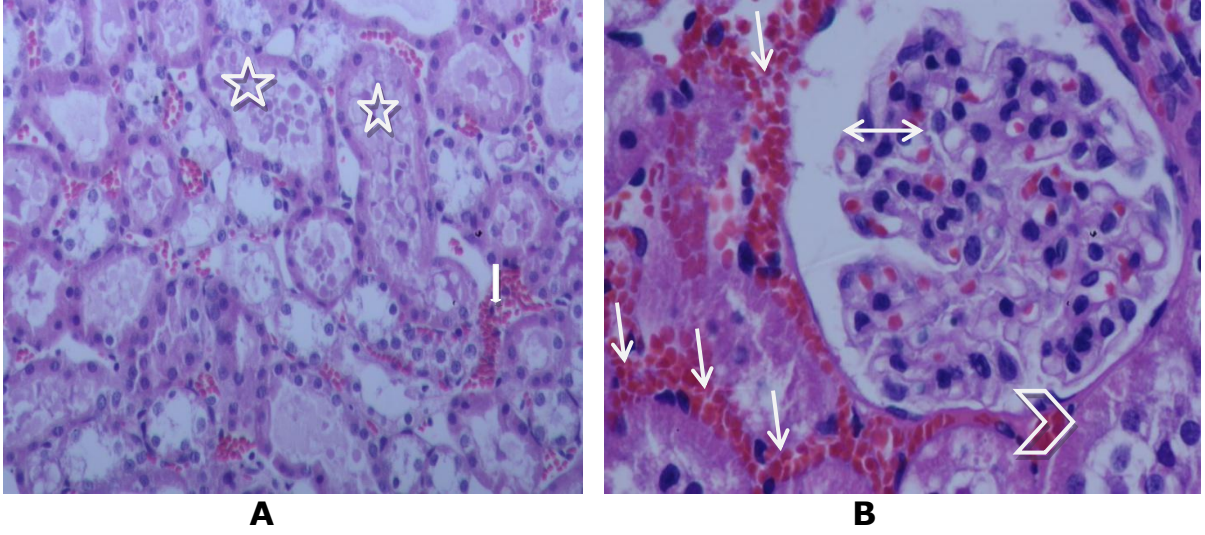
B) PMNL artışı (**ok**), konjesyonda artış (**ok başı**), tubuler genişleme (**↗**), tubuler bazal membranlarda düzensizlik görülmekte

C) Tübüler genişleme (**ok**), tübüllerin içinde yoğun plazma eksudasyonu gözlenmekte



Şekil 4.10. Grup IV'e ait böbrek dokusu örneklerinin ışık mikroskobu inceleme görüntüleri. Çok hafif konjesyon mevcut olup tübül yapıların normal olarak değerlendirildiği böbrek dokusu izlenmekte

İskemi/Reperfüzyon ve 50 mg/kg Rosmarinik Asit uygulanan gruptaki (Grup V) ratların böbrek dokularının histolojisi incelendiğinde ise Peritübül konjesyon, tübüllerin içine yoğun plazma eksudasyonu, doku bütünlüğünde bozulma ve tübül hücrelerde hidropik şişme ve dejenerasyon izlenmekteydi (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Grup V'e ait böbrek dokusu örneklerinin ışık mikroskobu inceleme görüntüleri.

- A)** Peri tübüler konjesyon (**ok**) Tübüllerin içine yoğun plazma eksudasyonu (**yıldız**),
- B)** Peritübüler konjesyon(ok), tübül hücrelerinde hidropik şişme(ok başı), doku bütünlüğünde bozulma, bazal membran yapısında bozulma, tübüler hücrelerin lümen içine dökülmesi görülmekte (**ok başı**)
- C)** Peritübüler konjesyon , tübüler genişleme (↔), tübül içine plazma eksudasyonu (↙↘)

5.TARTIŞMA

Böbrek fonksiyonundaki değişiklikler ciddi hastalıklara neden olabilir. Son yıllardaki ilerlemelere rağmen, mortalite ve morbidite oranları % 60'a ulaşmıştır. Akut böbrek hasarı vakalarının %75'inde akut tübüler nekroz görülür (André Roberto vd, 2014).

Transplantasyon, travma, nefrektomi, nefron koruyucu cerrahi ve renal arter cerrahisi gibi renal kan akımını azaltan cerrahi girişimlerin yaygınlaşması ile birlikte iskemi-reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan patolojiden de sıkça söz edilir olmuştur. Yapılan birçok böbrek ameliyatında postoperatif dönemde oluşan serbest radikaller böbrekte oluşan hasarı artırmaktadır. Bu bilgilerden yola çıkılarak böbreğe yapılacak herhangi bir girişim öncesi birtakım madde veya ilaçların kullanımıyla iskemi reperfüzyon hasarının engelleneceği ve hasarın önleneceği düşünülmüştür.

İskemi esnasında aerobik dokular tarafından üretilen adenosin trifosfat; adenosin monofosfat, adenosin, inosine ve hipoksantin'e, parçalanır. Üretilen hipoksantin; ksantin ve ürik asit oluşturmak üzere ksantin dehidrogenaz tarafından metabolize edilir. Bu süreçte nikotinamid dinükleotid kullanıldığından toksik olmayan oksijen radikalleri oluşur. İskeminin en önemli özelliği, ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümüdür. Ksantin oksidazın hipoksantini metabolize ederek ksantin ve ürik asite dönüştürme sırasında moleküler oksijen kullanıldığından reperfüzyon sırasında ara ürün olarak toksik oksijen radikalleri meydana gelir. Uzun süreli iskemi esnasında, hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi hücre ölümüne neden olabilir (Çetin, Süleyman & Şener, 2014). İskemi ve reperfüzyon esnasında; mitokondriyal oksidatif fosforilasyondaki değişim ve bunu takiben ATP miktarının azalma meydana gelir. ATP'deki bu azalma hücre içi Ca^{+2} düzeylerinde artış ve hücre iskeleti ve membran fosfolipitlerinin yapısının bozulmasına öncülük eden enzimlerden olan proteaz ve fosfatazların aktive olmasıyla aşırı miktarda serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşturarak, oksidatif strese neden olur. Paller ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada İ/R hasarının fizyopatolojisinde SOR'nin önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir. Serbest radikallerin bu kadar artış göstermesinin asıl nedeni iskemik durum değil, azalmış oksijen seviyesinin reperfüzyonla birlikte ani artışıdır (Paller, 1984) SOR'i her ne kadar iskemi sırasında oluşmaya başladıysa da reperfüzyon döneminde dokunun yeniden oksijenlenmesinin ardından çok daha büyük miktarda serbest radikal oluşumu gözlenmekte ve bunlar da lipid peroksidasyonuna yol açarak hücresel hasarı daha da artırmaktadır.

Böbreklerde oluşan İ/R hasarının etkilerinin deneysel olarak ortaya çıkması için belirli bir iskemi süresine ihtiyaç vardır. Literatürdeki mevcut çalışmaları incelediğimizde böbrekte hasar oluşturmaya yönelik olarak karşımıza oldukça çeşitli iskemi süreleri çıkmaktadır. Bu tez çalışmasında iskemi-reperfüzyon süresinin saptanmasında literatürdeki benzer çalışmalar incelendi (Reel vd, 2012; Damianovich vd, 2006; Foglieni vd, 2006; Matthijsen vd, 2007; Kınacı vd,2012).

Bhalodia ve ark. renal iskemi reperfüzyon hasarı oluşturdukları ratlarda inceledikleri *Benincasa Cerifera* isimli meyve ekstresinin renoprotektif etkisine baktıkları çalışmada iskemi süresi 60 dakika olarak tutulmuştur. Foglieni ve ark. yapmış olduğu EDTA'nın renal iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada ise yine iskemi süresi 60 dakika ve reperfüzyon zamanı 60 dakika olarak belirlenmiştir. Başay ve ark. yapmış olduğu Verapamil ve Alfa Tokoferolün iskemi reperfüzyon hasarına karşı etkilerinin araştırıldığı çalışmada serbest oksijen radikallerinin etkinliği gösterilmiştir ve mevcut çalışmada 60 dakikalık iskemi süresi tercih edilmiştir. Ozan ve ark., tek böbreğe uyguladıkları 60 dakika iskemi, 60 dakika reperfüzyon modelinde böbrekte İ/R hasarının oluştuğunu biyokimyasal olarak göstermişlerdir (Bhalodia vd, 2009; Foglieni vd, 2006; Başay, Adsan, İnal & Çetinkaya, 2003; Ozan, Koyutürk & Sapmaz, 2004).

Bu literatür bilgilerinin ışığında tez çalışmamızda 60 dakikalık renal iskemi süresi ve onu takiben de 60 dakikalık reperfüzyon süresinin uygun olacağı kararlaştırılarak deneysel protokol oluşturulmuştur.

I/R hasarının iyi bir şekilde anlaşılabilmesi için, klinik denemeler öncesi yeni tedavi protokollerinin bulunmasında deneysel modellerin önemi son derece büyüktür. Fakat unutulmaması gereken en önemli nokta insanlar üzerindeki klinik çalışmalar öncesinde, ilaçların hayvan deneylerinde mutlaka denenmesi ve incelenmesi gerekmektedir.

Bu tür modellerde test edilen ve sonucunda da geliştirilen antioksidan ajanların kliniğe uygulanması uzun süreçlere dayansa da, çeşitli patolojik durumlarda ya da cerrahi işlemlerde organ koruyucu olarak tedavi protokollerinde yer verilen pek çok antioksidan bulunmaktadır (Şener, 2009).

Literatür taraması yapıldığında böbrek iskemi reperfüzyon hasarının engellenmesinde birçok ajan kullanılmıştır. Bu ajanların deneysel düzeyde olsa bile böbrekte oluşabilecek iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde fayda sağlayabileceği olasıdır. Bu tür maddelerin denenerek kullanılması, başka hangi maddelerin kullanımının iskemi reperfüzyon hasarında etkili olacağı düşüncesini ilgi çekici hale getirmektedir.

Çalışma konumuz olan *Salvia L.* cinsi ülkemizde geniş bir coğrafi yayılış göstermekle birlikte, halk arasında özellikle çay olarak kullanılmaktadır. Birçok *Salvia L.* türü adaçayı olarak uzun yıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu nedenle bu cinse şifa verici özelliğinden dolayı Latince de '*iyilestirmek, kurtarmak*' anlamına gelen *Salveo* kelimesinden türetilmiş *Salvia* ismi verilmiştir (Baytop, 1984).

Çalışmamızda kullandığımız *Salvia L.* ekstreleri, dünya çapında geleneksel tıpta oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin adaçayı (*Salvia Officinalis*), değişik formlarda spazmolitik, antimikrobiyal, sedatif, antiinflamatuvar, antioksidan, antitümör, antihipertansif, diüretik, diaforetik, antiseptik ve ekspektoran özellikleri ile koroner kalp hastalıkları, kronik bronşit, astım, kronik renal yetmezlik, siroz, dismenore, insomnia, infantil kolik, Alzheimer hastalığı gibi çeşitli klinik durumlarda bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır (Sarıcı vd, 2004).

Son yıllarda sentetik antioksidanların insanlar üzerindeki zararlı etkilerinin ortaya çıkması nedeniyle bunların yerine kullanılabilir doğal madde arayışı hızla sürmektedir. *Salvia* türleri de bu araştırmaların yoğun olarak sürdürüldüğü türlerin başında gelmektedir. Tüm dünyada tıbbi adaçayı olarak bilinen ve kullanılan *S. officinalis*'in antioksidan aktivitesi de çok iyi bilinmekte ve bu amaçla da kullanılmaktadır. *Salvia* türlerinin bu etkilerinden daha çok içermiş oldukları hidroksisinnamik asit türevleri (*kafeik ve rozmarinik asitler*), flavonoidler (*luteolin, apigenin ve glikozitleri*) ve diterpenoidleri (*karnosol, karnosik asit ve metil karnosol gibi*) sorumludur (Deans & Simpson 2000; Yumrutaş, Sökmen & Öztürk, 2011).

Çalışmamızda kullandığımız Rosmarinik asit'i *Salvia* türlerinin içermiş olduğu en güçlü flavonoid olmasından dolayı pozitif kontrol olarak incelemek amacıyla çalışmaya dahil ettik. Rosmarinik asit (RA); gıda endüstrisinde yemeklerde baharat olarak da kullanılan Lamiacea familyasına ait bir bitki etken maddesidir. RA'nin biyolojik aktivitelerine dair yapılmış oldukça fazla sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu bileşiğin antioksidan, antiinflamatuvar ve antialerjik aktiviteye sahip olduğuna dair in vitro çalışmalar da bulunmaktadır.

Bu etkileri arasında; süperoksit ve hidroksil radikalleri süpürücü etkisi, LDL 'nin inhibisyonu, yağ oksidasyonundan koruma gibi bir dizi reaksiyon sıralanabilir. Ayrıca proinflamatuvar moleküllerin ekspresyonunu azalttığına ve antioksidatif aktiviteyi artırdığına dair yapılmış çalışmalar da mevcuttur (Fuhrman, Volkova, Rosenblat & Aviram, 2000).

Salvia L.'nin bu mevcut farmakolojik özelliklerinden yola çıkılarak böbrek iskemisi reperfüzyon hasarında da koruyucu etkisi olabileceği düşünülmüş ve bu etkilerinden dolayı çalışmamızda yer almıştır.

Bu çalışmada kullandığımız *Salvia L.* ekstreleri şehrimizde endemik olarak yayılım göstermektedir. Kullandığımız bu endemik türlerin ise farklı iki dozu literatür taramaları sonucunda elde edilen bilgiler doğrultusunda verilmiştir (Wang & Yeung, 2011).

Chen ve ark. renal iskemi reperfüzyon hasarı oluşturdukları ratlarda *Salvia miltiorrhiza* ekstresinin bu hasarı önlemedeki etkilerini araştırmışlardır. Yapmış oldukları bu çalışmada 60 dakika iskemi ve iskemiye takiben 30 dakika reperfüzyon uygulamasını tercih edilmişlerdir. I/R öncesi 20 gün boyunca *Salvia miltiorrhiza* ekstresinin farklı dozları ratlara uygulanmıştır ve bu dozlar 25-50-100-150 mg/kg şeklinde uygulanmış olup özellikle en etkin doz 50 ve 100 mg/kg olarak tespit edilmiştir (Chen & Wu, 2012) Yine aynı şekilde vermiş olduğumuz RA dozunu da literatüre uygun bir şekilde ayarladık (Baba, Osakabe & Natsume, 2004).

Böbrek hastalıklarının teşhisi, takibi ve tedavisinde kullanılan laboratuvar bulguları, böbrek hasarını, böbrek ve idrar yollarına ilişkin patolojileri ve böbreğin fonksiyonel durumunu göstermekte olup, rutin böbrek fonksiyon testleri olarak adlandırılmaktadır (Gowda vd, 2010).

Tez çalışmamızdaki amacımız; renal İ/R hasarı modeli oluşturarak son yıllarda yoğun ilgi duyulan ve şehrimize endemik olan *Salvia L.* (Adaçayı) türlerinin İ/R hasarı üzerindeki etkilerini biyokimyasal ve histolojik düzeyde araştırmak ve bu süreçte *Salvia L.* türlerinin potansiyel koruyucu ajanlar olup olamayacaklarını tespit etmektir.

Çalışmamızda özellikle oluşturduğumuz iskeminin böbrekte hasarlanma yapıp yapmadığını, glomerüler fonksiyonu değerlendirmede kolay ve basit bir yöntem olan BUN ve kreatinin serum konsantrasyonlarına bakarak incelendi.

Üre insanda protein katabolizmasının başlıca azot içeren metabolik son ürünüdür. Ürenin %90'dan fazlası böbrekler tarafından atılır. Böbrek hastalıklarının pek çoğunda plazma üre konsantrasyonlarında artış görülür (Erbil, 2007).

İ/R sonrasında serum BUN miktarındaki artış akut böbrek yetmezliğinin göstergesi olabilmektedir. Çalışmamızda İ/R sonrası serum BUN düzeyi incelendiğinde tüm gruplarda Grup I'e göre yükselme kaydedildi. İskemi reperfüzyon uyguladığımız Grup II'de ileri derecede yükselme görüldü. Bu durumun İ/R'nin böbrek fonksiyonlarına olumsuz etkilerinin yansımaları olduğu düşünüldü. Grup IV'de ise yani 100 mg/kg *Salvia L.* uyguladığımız grupta belirgin iyileşme olmakla birlikte BUN değerinin Grup II'e oranla düştüğü saptandı.

Kreatinin, vücut sıvılarına salınımı dar sınırlar içinde ve sabit bir oranda olduğundan, glomerüler filtrasyon oranı ve böbrek fonksiyonu için iyi bir indikatördür (Erbil, 2007).

İ/R uygulaması sonrasında serum kreatinin seviyesinde gözlenen yükselme, böbrek proksimal tübül hücrelerinde meydana gelen fonksiyon bozukluğunu gösteren bir durumdur. Kreatinin açısından kontrol grubuna göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi. Grup IV'in sahip olduğu fark düzeyinin I/R grubuna göre olumlu yönde olduğu tespit edildi. Yapılan benzer çalışmaların da bulgularımızla paralellik gösterdiği tespit edildi (Chen & Wu, 2012; Şentürk, vd, 2010; Önal vd, 2004; Özdamar, Yurtçu, Toy, Aköz & Günel, 2010; Aydoğdu, 2005; Sugita vd, 2013; Qin & Zhan, 2014).

Camara ve ark. bilateral böbrek arter ve venine klemp koyarak 45 dakika iskemi ve 24 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında serum AST düzeyleri ile böbrek tübül hasar skorunun anlamlı düzeyde arttığını bildirmişlerdir. Serum AST düzeyi non-spesifik hücresel hasarın veya nekrozun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. AST böbrek tübül hücrelerinde de bulunan bir enzimdir. Böbrek iskemi reperfüzyon modellerinde AST düzeylerindeki yükselmenin karaciğer hasarı değil böbrek hasarı sonucu olduğu bildirilmektedir (Camara vd, 2009).

Chatterjee ve ark. 'nın sıçanlarda yapmış olduğu böbrek I/R hasarı çalışmasında AST düzeyinin arttığı buna karşın, karaciğerdeki hasarın bir göstergesi olarak kullanılan ALT düzeyinin değişmediği bildirilmiştir. Bu nedenle böbrek I/R hasarında yükselmiş AST düzeyleri böbrek tübül hasarının bir göstergesi olarak düşünülmesi gerekmektedir (Chatterjee vd, 2000).

Çalışma gruplarımızdan olan Grup I'e göre değerlendirme yaptığımızda Grup II'de ileri derecede önemli artış bulunmuştur ($p < 0,001$). Grup II'ye göre yani I/R Grubuna göre değerlendirme yapıldığında ise Grup III, Grup IV ve Grup V'te anlamlı düzeyde azalış gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). Çalışmamızda serum AST düzeyindeki artışın böbreklerdeki nekroz düzeyi ile paralel olması bunu desteklemektedir.

Feilleux ve ark. rat böbreğinde tübül hasar sonrası AST artışı olduğunu ve AST'nin karaciğere özgü olmayıp renal tübüllerde de oluşan hasarı gösteren nonspesifik bir enzim olduğunu göstermişlerdir. Avlan ve ark. ise AST'yi renal İ/R çalışmalarında, renal tübül hasarında artan bir enzim olarak, hasarın derecesini belirlemede kullanmışlardır (Feilleux vd, 2003; Avlan vd, 2006).

Serum ALT değerlerine baktığımızda ise kontrol grubuna (Grup I) göre Grup II' (I/R) de ileri derecede önemli artış olurken ($p < 0,001$), diğer gruplarda anlamlılık bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Kullanmış olduğumuz 100 mg/kg *Salvia L.* ekstresi grubunda ise I/R grubuna göre ileri derecede azalma ($p < 0,001$) gözlemlendi. Seifi ve ark. renal iskemi hasarı sonrası uzak organ olarak karaciğerin korunması üzerine yapmış oldukları çalışmada uzak organ yetmezliği olarak ALT ve AST düzeylerinde farklılık bulmuşlardır.

Reaktif oksijen türlerinin üretimindeki artış ve oksidatif stresin indüklenmesi renal reperfüzyon hasarı olarak sonuçlanır ve bu şekilde bir hasarın tetiklenmesi uzak organlarda önemli rol oynayabilir (Seifi vd, 2014). Rajan ve ark. vagus siniri aracılığıyla renal iskemi reperfüzyon hasarı oluşturdukları hayvanlarda ghrelinin koruyucu etkilerini incelemişlerdir. Yapmış oldukları bu çalışmada ALT ve AST enzimlerinde iskemi sonucunda buldukları yüksek değerlerin ghrelin tedavisi ile anlamlı derecede azaldığını da tespit etmişlerdir (Rajan vd, 2012).

Bizim elde ettiğimiz bulgular da literatür bilgisi ile uyumlu bulunmuştur.

GGT veya diğer bilinen ismiyle gama glutamil transpeptidaz (glutamine:D-glutamyl-peptide 5- glutamyltransferase) serumda ve birçok hücrenin dış yüzeyinde bulunan ve aminoasit veya küçük peptidlerin gama glutamil artıklarının transferini kataliz eden bir enzimdir. GGT birbirine benzemeyen iki alt üniteden oluşmuş bir hücre yüzey glikoproteinidir. Serumdaki gama GGT' nin en önemli kaynağı karaciğerdir ve böbrek tübülleri, safra epiteli ve beyin kapillerinde yüksek miktarda sentez edilir. Serum GGT aktivitesindeki artışlar, diabetes mellitus, obesite ve konjestif kalp yetmezliğiyle de yakından ilişkilidir (Noyan, 2009). GGT aktivitesindeki değişimlerin böbrek fonksiyonlarının da takibinde kullanılabilir bir parametre olduğu bildirilmiştir. Yapılan son epidemiyolojik çalışmalar, GGT aktivitesindeki artışların diyabet ve diyabete bağlı komplikasyonların gelişimini gösteren bir belirteç olmasının yanı sıra, kardiyovasküler ve böbrekle ilişkili hastalıklarda da yükselmiş GGT aktivitesinin mortalite ve morbiditeyi etkileyen önemli bir gösterge olduğu ortaya konulmuştur (Lee vd, 2007).

Bu çalışmada böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla GGT düzeyleri de ölçülmüştür. *Salvia L.* gruplarında GGT düzeyleri I/R grubuna göre oldukça düşüktü. Bu durum bize hasarlanma gerçekleşmeden önce *Salvia L.* alımının böbrek fonksiyonları üzerinde koruyucu etkisi olabileceğini göstermektedir.

C-reaktif protein inflamasyonun spesifik olmayan bir biyokimyasal belirteçidir. Düzeyi akut inflamatuvar durumlarda veya doku hasarında geçici olarak 1000 kata kadar artmakta, kronik inflamatuvar olaylarda ise sürekli yüksek değerler izlenmektedir. Romatoid artrit, ankilozan spondilit, sistemik lupus, infektif endokardit gibi birçok klinik tabloda hastalık aktivitesini belirlemede kullanılmaktadır.

Majör cerrahi veya travmada ise CRP bir belirteç olarak önemini yitirmektedir; çünkü bu gibi klinik durumlarda CRP düzeyleri 2-3 hafta kadar yüksek seyretmektedir (Yıldırım, 2005).

İskemi sırasında hsCRP düzeylerinin arttığı görülmüştür. İskemiye takip eden reperfüzyon sonrasında kısa bir sürede (yaklaşık 15 dakika) serbest oksijen radikallerinin oluşumu, kompleman sistem aktivasyonu, koroner endoteline nötrofil tutunması ve IL-6 ve IL-1 gibi akut proinflamatuvar sitokinlerin aktive olduğu deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (Kukielka vd, 1995).

Çalışmamızda I/R grubunun hsCRP düzeyleri kontrol ile kıyaslanınca anlamlı düzeyde yüksekti. Ayrıca 50 mg/kg *Salvia L.* ve 50 mg/kg Rosmarinik asit uygulanan gruplarda I/R grubuna göre anlamlı bir azalış olurken; 100 mg/kg *Salvia L.* uygulaması hsCRP düzeylerini I/R Grubuna kıyasla ileri derecede anlamlı olarak düşürdü.

Çalışmamızda diğer bir inflamatuvar gösterge olan, lökosit ve mononükleer hücrelerden salgılanan doku MPO düzeylerine de bakıldı. Post-iskemik durumda PMNL'de içerdikleri MPO enzimi ile İ/R hasarında rolü olan SOR'un oluşumuna neden olduğu çalışmalar da gösterilmiştir (Grisham vd, 1986).

İskemi-reperfüzyon grubunda MPO düzeyleri kontrol ve tedavi gruplarına göre yüksek bulundu. Tedavi grubunun hem 50 mg/kg *Salvia L.* hem de 100 mg/kg *Salvia L.* uygulamasındaki MPO değerleri I/R grubuna göre düşüktü. Ancak bu düşüklük 100 mg/kg *Salvia L.* verilen grupta istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıydı. Tedavi grubunda MPO'nun düşük bulunması *Salvia L.* ekstresinin I/R oluşturulmuş dokuya, bilinen T ve B hücre proliferasyonunu azaltıcı etkilerinin yanısıra, lökosit ve mononükleer hücre göçünü de anlamlı ölçüde engellediği ve bu sayede antiinflamatuvar, ilave bir etki meydana getirebileceğini göstermektedir. İnflamatuvar hücre göçünü azaltıcı bu etkiler ekstrenin, I/R hasarı sürecinde inflamatuvar hücrelere bağlı oluşacak hasarın azaltılmasında da etkili olabileceği konusunda beklentileri artırmaktadır.

Benzer bir çalışmada Tan ve ark. da İ/R uygulanmış böbrek dokusunda MPO aktivitesinin sağlıklı dokuya göre anlamlı yükseldiğini rapor etmişlerdir (Tan vd, 2013)

Qiao ve ark. renal iskemi reperfüzyon hasarına karşı kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) ailesine ait bir peptid olan intermedinin koruyuculuğunu test ettikleri çalışmada nötrofil infiltrasyon markırı olan MPO aktivitesinin renal iskemi reperfüzyonda artış gösterdiğini vurgulamışlardır. Tedavi sonrasında ise MPO aktivitesindeki azalmayı rapor etmişlerdir (Qiao vd, 2012).

Küçük ve ark.yapmış olduğu çalışmanın amacı ise İ/R'un neden olduğu oksidatif hasarı böbrek dokusunda incelemek ve *Tadalafil* ve *Sildenafil* olarak bilinen indüklenebilir NOS (iNOS) üzerine fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) inhibitörü olan ilaçların, endotelial NOS (eNOS) ve p53 gen ifadeleri ve apoptoz üzerine etkisini değerlendirmektir.

Yaptıkları bu çalışmada ise I/R ile artan MPO aktivitesini bahsi geçen ilaçlar göreceli olarak düşürmüş bulundu (Küçük vd, 2012).

Otokrin ve parakrin bir hücrel ajan olan nitrik oksit (NO) normal fizyolojik koşullar ile birçok patofizyolojik koşulda homeostazın sürdürülmesinde önemli bir etkidir. Septik şok, reperfüzyon hasarı gibi hastalıklarda NO aktivitesinin arttığı bilinmektedir. Yapısal NOS ile üretilen NO normal fizyolojik olayların sürdürülebilmesi için gereklidir. İndüklenebilir NOS ile üretilen yüksek konsantrasyonlar ise hasarı artırır. Kısaca NO akut inflamatuvar olaylarda hem koruyucu hem de hasarlayıcı bir molekül olarak etki gösterebilir. Bu paradoks ve puliripotent aktivite birçok araştırmacı için yorumsal karmaşıklığa neden olmakta ve yeni çalışmaların yapılmasına yol açmaktadır (Kuyumcu, Polat Düzgün, Özmen & Besler, 2004). NO, oluşan SOR"lar ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan ONOOH oluşturmakta ve sonuçta da HO• radikali oluşumuna yol açmaktadır. NO bazı durumlarda da bir antioksidan gibi davranarak hücreleri lipid peroksidasyonundan korumaktadır (Memişoğulları, 2005) Yapılan birçok araştırmada ise İ/R'ye bağlı olarak yüksek miktarda meydana gelen NO ve ONOO- oluşumu azaltılarak hasarın önlenebileceği ileri sürülmüştür (Özer, Çiçek & Gökalp, 2005).

I/R, endotel hücrelerinde NO ile süperoksid arasındaki dengeyi değiştirerek hem arteriyollerde endotel bağımlı vazodilatasyonda bozulmaya hem de venüllerde akut inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır. Normal şartlar altında, NO akışı süperoksid üretim hızını oldukça aşmaktadır. Bu durum, hücre içi düşük süperoksid seviyelerinin etkili bir biçimde temizlenmesine, düz kasta guanilat siklaz aracılığıyla arteriel tonusun azalmasına, trombosit agregasyonu ve trombüs oluşumunun önlenmesine ve lökositler ile endotel hücre yüzeyi arasında adeziv etkileşimleri en aza indirmeye olanak tanır.

Bununla birlikte, iskemik dokuların reperfüzyonundan sonra dakikalar içerisinde NO ile süperoksid arasındaki denge süperoksid tarafına doğru değişir. Bu dengesizlik, endotel hücrelerince ve bölgeye birikmiş yapışık lökositlerce süperoksid üretiminde çok büyük bir artışa ve buna karşılık endotelial NO sentaz'a bağlı NO sentezinde bir azalmaya yol açar.

Endotel hücrelerince üretilen çok düşük seviyelerdeki NO, bol miktardaki süperoksid ile reaksiyona girer. Endotelial ortamda NO kalmadığı için endotel bağımlı, NO aracılı vazodilatasyon gelişemez (Teke, Kabay & Özden, 2008).

Çalışmamızda, kontrol gruba göre kıyaslama yapıldığında I/R uygulanan grupta NO düzeyleri oldukça düşük bulundu. Tedavi amaçlı uyguladığımız *Salvia L.* ektrelerinin her iki dozu da düşen NO düzeylerini yükseltti. Hatta pozitif kontrol olarak kullandığımız 50 mg/kg Rosmarinik asit grubu da bu oranı artırdı. Fakat 100 mg/kg *Salvia L.* uyguladığımız gruptaki artış diğer gruplara göre NO değerlerini artırmada daha etkili bulundu.

Hem iskemi hem de reperfüzyonu takiben zarar gören endotelyumda NO sentezi belirgin derecede azalır. Nitrik oksit gibi inhibitör etkisi çok kuvvetli bir ajanın eksikliği nötrofil aktivasyonunun kolaylaşmasına ve doku hasarının artmasına yol açabilir. Aynı zamanda böbreklerde glomerüler kapiller kan basıncının, glomerüler plazma akışının ve glomerüler filtrasyon hızının fizyolojik düzenlenmesinde NO önemli role sahiptir.

Hekimoğlu ve ark. ratlarda yapmış olduğu iskemi reperfüzyon çalışmasında iskemi reperfüzyon uyguladıkları grupta azalmış NO düzeyleri dikkat çekmektedir. Nitrik oksidin I/R sırasında hücreler üzerinde koruyucu etkisi olduğunu ve oksidatif stres, sitokin salımını inhibe ettiği göstermişlerdir. I/R sırasında nitrik oksitteki azalma genel olarak endotel disfonksiyonu ve endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesinin indirgenmesi aracılığıyla gerçekleşir (Hekimoğlu vd, 2013).

Renal I/R hasarı sırasında üretilen serbest radikaller lipid peroksidasyonu ile yapısal ve fonksiyonel olarak hücre hasarına neden olurlar. Serbest oksijen radikalleri oldukça reaktif olmalarından dolayı direkt olarak ölçülememekte, lipid peroksidasyonu esnasında açığa çıkan daha stabil moleküllerin ölçümü yapılmaktadır. Lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak en sık kullanılan ve doku hasarı konusunda fikir veren bu moleküllerden birisi Malondialdehid (MDA)'dir.

Biz de çalışmamızda lipid peroksidasyonunu ve hücre hasarı değerlendirmek üzere MDA düzeylerini inceledik. Doku MDA değerleri iskemi/reperfüzyon grubunda (Grup II) beklenildiği üzere diğer tüm gruplardan yüksek bulundu. 100 mg/kg *Salvia L.* uygulanan gruptaki (Grup IV) MDA değerleri diğer gruplara göre ve özellikle de 50 mg/kg *Salvia L.* olan (Grup 3) grubu göre düşük bulundu. MDA düzeylerinin doku hasarı konusunda önemli olması nedeniyle *Salvia L.* ekstresinin renal iskemik hasarda lipid peroksidasyonunu azaltıcı yönde etki göstererek oluşabilecek hasar üzerine önleyici yönde bir katkısı olduğu düşünülebilir.

Bizim bulgularımız Ge ve ark. yaptığı çalışmada gözledikleri I/R modelinde *Salvia miltiorrhiza* 'nın MDA üretimindeki önemli artışı azaltması ile uyumludur (Ge vd, 2014).

Salvia miltiorrhiza 'dan izole edilen litospermik Asit B (LSB)'nin I/R ile böbrek hasarı oluşturulan ratlarda iyileştirici etkisi olup olmadığını incelemek üzere tasarlanmış olan bir çalışmada ise; Litospermik Asitin, doza bağımlı bir şekilde, reaktif oksijen türlerinin üretimine ve lipid peroksit üretimine karşı güçlü bir aktivite gösterdiği gözlenmiştir (Kang vd, 2004).

TNF- α iskemik renal hasarda, makrofaj, lökosit ve renal tübüler hücreler tarafından sekrete edilir. TNF- α glomerüler kan akımını, glomerüler filtrasyon hızını azaltır; glomerüler albumin permeabilitesini artırır; serbest oksijen radikali, IL-1 gibi endojen pirojen ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin üretimini stimüle eder; nötrofil ve monosit infiltrasyonunu artırır; ICAM-1 ve L-selektin ekspresyonunu artırır; hücrel apoptosisi indükler; glomerüler fibrin birikimini artırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına ve sıvı filtrasyonunun artmasına, post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Endotel hücreleri ksantin oksidaz enzimi bakımından zengindir ve reperfüze olan dokudaki endotel hücrelerinde fazla miktarda süperoksit radikali oluşur ve nitrik oksit (NO) oluşumu azalır. NO salınımında azalma; arteriollerde endotel bağımlı dilatasyonda bozulma, lökosit endotel adhezyonunu sağlayan adhezyon moleküllerinin yapımında artış, komplemanların aktivasyonu, platelet aktive edici faktör (PAF) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) gibi inflamatuvar araçların yapımındaki artışla sonuçlanır (Teke, 2008; Weight, 1996).

Nötrofil, iskemi oluşturan böbrek dokusundaki hasarda en fazla etkiye sahip inflamatuvar hücredir. İskemide oluşan bu endotel hasarı, endotel-lökosit adezyonu ve kapillerlerdeki lökosit ve eritrosit tutulumunu artırır ve renal mikrosirkülasyonu da bozar (Bonventre & Zuk, 2004).

Oluşan lökosit infiltrasyonu ise peritübüler bölgede daha da belirgin şekilde gözükür (Miyazawa, Watanabe, Miyaji, Hotta & Abo, 2002). Sitokinler, reaktif oksijen radikalleri, eikozonoidler gibi moleküller lökositleri de aktive ederler. Bu sitokinler IL-1, IL-2, IL-8, IL-10, IL-18, ve TNF- α 'dır. Bu sitokinler nötrofil deformasyonunu ve bu bölgedeki tutulma eğilimlerini arttırırken, aynı zamanda da serbest oksijen radikalleri ve proteaz artışıyla doku hasarını da arttırırlar. Sonuç olarak bir kısır döngü oluşur ve böylece hasar daha da ilerler.

Bizim çalışmamızda beklenildiği üzere I/R grubunda TNF- α düzeyleri en yüksek olarak bulundu. İskemi-reperfüzyon grubundaki bu belirgin artış istatistiksel olarak kontrol grubuna göre ileri derecede anlamlı olarak bulundu. Bu yüksek TNF- α düzeyleri 100 mg/kg *Salvia L.* verilen grupta (Grup IV) anlamlı olarak azalmıştı. Çalışma gruplarımızdaki TNF- α düzeylerine göre *Salvia L.*'nin TNF- α salınımını baskılayıcı etkisi olduğu ve önemli bir inflamatuvar sitokin olan TNF- α 'nın bu şekilde baskılanmış olmasının I/R hasarının önlenmesinde *Salvia L.* 'nin önemli katkısının olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızın özgünlüğünü sağlayan kısımlarından birisi ise son zamanlarda dikkat çeken yeni bir inflamasyon markırı olan kitotriozidaz'ın iskemi reperfüzyon modelinde inceleniyor olmasıdır.

Kitotriozidaz (ChT) N-Asetil-D-Glukozaminin dallanmamış polimeri kitini parçalayabilen bir grup enzim olan memeli kitinaz ailesinin bir üyesidir. Selektif olarak aktive edilmiş makrofaj ve nötrofillerden salgılanır. Makrofaj lizozomlarında glikosfingolipid, demir, glikojen birikmesi gibi bazı patolojik durumlar, makrofajlardan aşırı kitotriozidaz yapımı ve salınımını tetikler. Kitotriozidaz enzim aktivitesi, lizozomal depo hastalığı (örn. Gaucher) olan hastaların plazmalarında aşırı artmasının yanı sıra makrofaj aktivasyonunun baskın olduğu diğer hastalıklarda da artar.

Artieda ve ark. aterosklerotik hastalarda gerçekleştirmiş oldukları bir çalışmada plazma kitotriozidaz düzeylerinin oldukça yükseldiğini ve endotel disfonksiyonun gerçekleştiğini göstermişlerdir (Artieda vd, 2007).

Ayrıca kitotriozidaz hücre kültür ortamında da bir hafta sonra yükselmeye başlamıştır. Bu artış zamanla daha fazla katlanarak devam etmiştir. Dolayısıyla kitotriozidazı akut faz proteini gibi değil de kronik inflamasyon markırı olarak değerlendirmek gerekebilir. Ayrıca insanlarda ChT aktivitesi özellikle etnik gruplar arasında da farklılıklar gösterir. Bireyler arasında genetik düzeyde ekspresyon farklılıkları da söz konusu olabilir. Kullanmış olduğumuz bitki ekstresi *Salvia L.*'nin ise türe bağlı olmaksızın I/R uygulanan gruptaki artışı belli oranda düşürmüştür. Bu azaltıcı etki bitki ekstresinin antiinflamatuvar özellikleri ile makrofaj aktivasyonunu engellemeleri üzerinden olabilir.

Ayrıca çalışmamızın göze çarpan bir kısmı da literatür taramalarımız sonucunda ChT aktivitesinin I/R hasarına karşı nasıl bir etki gösterebileceğine dair yapılmış çalışmanın bulunmamasıdır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda böbrek dokusu, histolojik olarak incelendiğinde İ/R grubunda görülen yoğun konjesyon, plazma eksudasyonları, tübüler hücrelerde hidrofik şişme, tübül lümenine nekroze olmuş hücrelerin dökülmesi ve akut tübüler nekroz gibi göze çarpan bulgular 100 mg/kg *Salvia L.* uygulanan grupta yerini bazal membran yapılarında belirgin düzelmeye, tübüler genişliklerin ve tübüler hücrelerin normal görünümüne, tübül içindeki plazma eksudasyonlarının minimal seviyeye düşmesine ve glomerül yapısının normal izlenmesine bırakmıştır. Elde ettiğimiz bilgilere göre; I/R kaynaklı renal hasarı, 100 mg/kg *Salvia L.* ekstresinin büyük oranda ortadan kaldırdığını düşünmekteyiz.

Özetle biyokimyasal ve histolojik verilerimize dayanarak I/R ile oluşturulan renal hasar sonucu rat doku örneklerinde oksidatif ve inflamasyon açısından ciddi hasarlar gözlemlenmiştir. Fakat buna rağmen elde ettiğimiz verilere göre tedavi gruplarımızdan 100 mg/kg *Salvia L.* başta olmak üzere, 50 mg/kg *Salvia L.* ve 50 mg/kg Rosmarinik Asit kullanımının böbrek yapı ve fonksiyonlarına karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu deneysel çalışma verileri inflamasyona karşı koruyucu etkisi bilinen *Salvia L.* ekstresinin I/R'a karşı da etkili olabileceği ile ilgili araştırmalara önemli bir katkı sağlayabilir. Sonuç olarak nefrektomi ve I/R uygulanmış ratlarda meydana gelen renal hasarlanmadaki durumu engellemede kullandığımız ekstrenin olumlu etkilerinin olabileceğini biyokimyasal ölçümlerimiz ve histolojik incelemelerimiz açık bir şekilde ortaya koymaktadır. Rat böbrek dokusunda yaptığımız bu araştırma; daha ileriki zamanlarda organ transplantasyonlarında da oluşabilecek hasarların önlenmesinde, *Salvia L.* kullanımını destekleyecek niteliktedir. *Salvia L.* ekstresi renal İ/R hasarına yol açabilecek cerrahi girişimlerden önce kullanılarak, oluşabilecek oksidatif renal doku hasarını azaltabilir ve renal fonksiyonun ileri derecede bozulmasını engelleyebilir kanısındayız.

Ancak bu elde edilen bilgilerin klinik açıdan uygulanması ve insan deney çalışmalarıyla desteklenmesi bu sonuçların güvenilirliğini artırmada faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Akino, K., Akita, S., Mizuguchi, T.(2005). A novel molecular marker of pituitary tumor transforming gene involves in a rat liver regeneration. The Journal of Surgical Research, 129:142-146.

Akkoç, H.,(2008). Miyokardiyal İskemi reperfüzyon hasarı. Dicle Tıp Derg, 35(3): 211-5.

Aktan, Ö.A., Yalçın, S.A. (1998). Ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen metabolites, and the surgeon. Türk J Med Sci. 1-5.

Altan, N. (2000). Biyokimya 'Olgu Sunumlu Yaklaşım', Palme Yayıncılık Anafarta, K. (Ed.).(1998). Temel Üroloji, Ankara: Güneş Kitapevi.

André Roberto, B., Marcos Antônio, M.F., Marília Pinheiro, M. (2014). Effect of Allopurinol on The Kidney Function, Histology and Injury Biomarker (NGAL, IL-18) Levels in Uninephrectomised Rats Subjected to Ischaemia-Reperfusion Injury. Acta Cirúrgica Brasileira, 29:(8) 515.

Arıncı, K., Elhan, A. (Ed). (2001). Üriner sistem. Anatomi cilt1. Güneş Kitapevi. 311-14.

Artieda, M., Cenarro, A., Gañán, A.(2003). Serum Chitotriosidase Activity Is Increased in Subjects With Atherosclerosis Disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 23:1645-1652.

Avlan, D., Tamer, L., Ayaz L. (2006). Effects of trapidil on renal ischemia-reperfusion injury. Journal of Pediatric Surgery, 41:1686– 1693.

Ay, O., Avcı M., Acehan A.S. (2014). Acil Serviste Renal Kolikli Hasta Yönetimi. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. 23(2):345-361.

Aydemir, B., Karadağ, S.E., (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi, Kocatepe Vet J. 2(2) 56-60.

Aydoğdu, N., Kaymak, K., Yalcin, Ö. (2005). Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında N-asetilsisteinin Etkileri. Fırat Tıp Dergisi, 10:151-155.

Aydoğdu, N., Kaymak, K., Yalçın, Ö. (2005). Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında N-asetilsisteinin Etkileri. Fırat Tıp Dergisi 10(4): 151-155.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Baba, S., Osakabe, N., Natsume, M. (2004). Orally administered rosmarinic acid is present as the conjugated and/or methylated forms in plasma, and is degraded and metabolized to conjugated forms of caffeic acid, ferulic acid and m-coumaric acid. *Life Science* 75:165-178.

Bagherpour, H., Miinaei, S., Khoshtaghaza, M.H. (2010). Selected physico-mechanical properties of lentil seed. *Int.Agrophysics*, 24: 81-84.

Balasundram, N., Kalyana S., Samir S. (2006). Phenolic Compounds in Plants and Agri-industrial by-products: Antioxidant activity, Occurrence, and Potential uses *Food Chemistry*, 99:191-203

Baricevic, D., Sosa, S., Loggia, R.D. (2001). Topical Anti-inflammatory Activity of *Salvia officinalis* L. Leaves: The Relevance of Ursolic Acid. *Journal of Ethnopharmacology*, 75:125-132.

Başay, S. , Adsan, Ö., İnal, G. (2003). Verapamil ve Alfa-Tokoferolün Rat Böbreğindeki Deneysel Reperfüzyon Hasarı Üzerine Karşılaştırmalı Etkileri *Türk Üroloji Dergisi*: 29 (1): 11-15.

Bayrak Ö.T., Kutbay, H.G., Ergen A.Ö. (2006). The Contribution of Wild Edible Plants to Human Nutrition in the Black Sea Region of Turkey, *Ethnobotanical Leaflets*, 10: 98-103.

Baytop, T. (1984). *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*, Türk Dil Kurumu Yayınları No:578 Ankara

Baytop, T.(1999). *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün*, İkinci Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri

Benrezzouk, R., Terencio, M.C., Ferrandiz, M.L. (2001). Inhibition of 5-Lipoxygenase Activity by The Natural Anti-inflammatory Compound Aethiopinone. *Inflamm Res* 50(2):96-101.

Berne, R.M., Levy, M.N., (2000). Elements of Renal Function. In: Berne R.M., Levy, M.N., eds *Principles of physiology*, 3rd ed. Mosby, 408-421.

"Bhalodia, Y., Kanzariya, N., Patel, R. (2009). Renoprotective Activity of Benincasa Cerifera Fruit Extract on Ischemia/Reperfusion-Induced Renal Damage in Rat. *IJKD* ;3:80-5.

Bonverte, J. V.,ZUK, A. (2004). Ischemic acute renal failure: An inflammatory disease? *Forefronts in Nephrology*, 480-485.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Brady, H.R., Singer, G.G. (1995). Acute Renal Failure. *Lancet* 346: 1533-1540.

Bulut, E.G., (2008). Bayramiç (Çanakkale) Yöresinde Etnobotanik Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.

Burtis, C.A, Bruns, D.E. (2014). *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 7.Edition, Elsevier, Saunders.

Büyükkaya, F., (2002). Sideritis Trojana Bitkisinin Kimyasal Analizi ve Bileşenlerinin Yapılarının Aydınlatılması. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.

Camara-Lemarroy, C.R., Guzman, G.F.J. (2009). Effect of sulfasalazine on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Renal Failure*, 31: 822-8.

Campbell M.F., Walsh P. (1998). Surgical Anatomy of The Retroperitoneum, Kidneys and Ureters. In *Campbell's Urology*, 7th ed. (Eds PC Walsh, AB Retik, ED Vaughan, AJ Wein): Philadelphia: Saunder, 49-88.

Cansaran, A., Kaya, Ö.F. (2010). Contributions of the ethnobotanical investigation carried out in Amasya district of Turkey (Amasya-Center, Bağlarüstü, Boğaköy and Vermiş villages; Yassıçal and Ziyaret towns), *Biological Diversity and Conversation*, 3/2, 97-116.

Celep, F., Kahraman A. & Doğan, M. (2011). Taxonomic Notes for *Salvia Aucheri* (Lamiaceae) from South Anatolia, Turkey. *Novon*, 21(1): 34-35.

Chan, H.H., Hwang, T.L., Su, C.R. (2011). Anti-inflammatory, Anticholinesterase and Antioxidative Constituents from The Roots and The Leaves of *Salvia Nipponica* Miq. var. *Formosana* *Phytomedicine*, 18: 148-150.

Chatterjee, P.K., Cuzzocrea, S., Brown, P.A., (2000). Tempol, a membrane-permeable radical scavenger, reduces oxidant stress-mediated renal dysfunction and injury in the rat. *Kidney Int.* 58: 658-73.

Chen, G., Fu, Y., Wu, X. (2012). Protective effect of *Salvia miltiorrhiza* extract against renal ischemia-reperfusion-induced injury in rats. *Molecules*. 30;17(2):1191-202.

Cornelli, U. (2009). Antioxidant Use in Nutraceuticals. *Clin Dermatol*, 27: 175-94.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Cortas, K., Wakid, N.W. (1990). Determination of Inorganic Nitrate in Serum and Urine by a Kinetic Cadmium-Reduction Method. Clin. Chem. 36/8: 1440-1443.

Cuvelier, M.E., Berset, C., Richard, H. (1994). Antioxidant Constituents in sage (*S. officinalis*), J. Agric. Food Chem., 42: 665-669.

Çaylak, E. (2011). Hayvan ve Bitkilerde Oksidatif Stres ile Antioksidanlar. Tıp Araştırmaları Dergisi: 9(1) : 73-83.

Çetin, N., Suleyman, H., Sener, E. (2014). The prevention of ischemia/reperfusion induced oxidative damage by venous blood in rabbit kidneys monitored with biochemical, histopathological and immunohistochemical analysis. journal of physiology and pharmacology, 65(3): 383-392.

Damianovich, M., Ziz I., Heyman S.N. (2006). ApoSense: a novel technology for functional molecular imaging of cell death in models of acute renal tubular necrosis. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 33(3).

Deans, S.G., Simpson, E.J.M. (2000). Antioxidants from *Salvia officinalis*. In: Kintzios SE (Ed.), SAGE - The Genus *Salvia*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 185-192.

Dere, F. (2010). Anatomi Atlası ve Ders Kitabı, 6. Baskı. Adana: Nobel Tıp Kitabevi.

Dikmen, N., Özgüven, T., (2004) Harper Biyokimya,

Ding, M., Ye, T.X., Zhao, GR., (2005). Aqueous Extract of *Salvia Miltiorrhiza* Attenuates Increased Endothelial Permeability Induced by Tumor Necrosis Factor- α . International Immunopharmacology, 5:1641-1651.

Dostbil, Z. (2006). Üreteropelvik Obstrüksiyon Şüphesi Bulunan Çocuklarda Pelvikalisiyel Staz ile Böbrek Fonksiyonları Arasındaki İlişkinin ^{99m}Tc-mag3 Sintigrafisi ile Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Nükleer Tıp AD, Konya

Duman, H., Kırimer, N., Ünal, F., Güvenç, A., Şahin, P. (2005). " Türkiye Sideritis L. Türleri'nin Revizyonu" Proje No: TBAG-1853 (199T090) Ankara
Duru, M.E., (1993). *Orientalis* ve *Liquidambar Orientalis* var. *Integriloba* Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağın Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Erbil K.(2007). Laboratuvar Testleri ve Klinik Kullanımı, Gata Komutanlığı Basımevi

Eşrefoğlu, M., (2009). Cell Injury and Death: Oxidative Stress and Antioxidant Defense System: Review. J.Med.Sci. 29(6),1660-76.

Feilleux-Duche, S., Garlatti, M., Aggerbeck, M., (2003). Cell-specific regulation of cytosolic aspartate aminotransferase by glucocorticoids in the rat kidney. AJP - Cell Physiology, 265:1298-1305.

Foglieni, C., Fulgenzi, A., Ticozzi, P. (2006). Protective effect of EDTA preadministration on renal ischemia. BMC Nephrology, 7:5.

Folin, O., Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. J. Biol. Chem. 73:627-650.

Fuhrman, B., Volkova, N., Rosenblat, M.(2000). Lycopene synergistically inhibits LDL oxidation in combination with vitamin E, glabridin, rosmarinic acid, carnosic acid, or garlic. Antioxidants Redox Signaling, 2:491 – 506.

Ge, G., Zhang, Q., Ma, J.(2014). Protective effect of Salvia miltiorrhiza aqueous extract on myocardium oxidative injury in ischemic-reperfusion rats. Gene, 546:97-103.

Geller, F., Schmidt, C., Gottert, M. (2010). Identification of Rosmarinic Acid as The Major Active Constituent in Cordia. Americana Journal of Ethnopharmacology, 128:561-566.

Gowda, S., Desai, P.B., Kulkarni, S.S. (2010). Markers of renal function tests North American. Journal of Medical Sciences, 2(4).

Grisham, M., Jefferson, M.M., Melton, D.F. (1984).Chlorination of endogenous amines by isolated neutrophils: ammonia-dependent bactericidal, cytotoxic, and cytolytic activities of the (-)hioramines. J Biol. Chem. 259, 10404-10413.

Gürhan, G., Ezer N.(2004). Halk Arasında Hemoroit Tedavisinde Kullanılan Bitkiler-I, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 24/1:37-55.

Gürsoy, O.V., Gürsoy, U.K. (2004). Anadolu’da Diş ve Diş eti ile ilgili hastalıkların tedavisinde halk arasında yaygın olarak kullanılan bitkiler, kullanım şekilleri ve bitkisel özellikleri, Cumhuriyet Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 7/1.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Güvenalp, Z. (1993). *Artemisia austriaca* JACO ve *Artemisia spicigera* C. KOCH Uçucu Yağlarının Bilesimi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S., (1994). The Correlation Between Active Oxygen Scavenging and Antioxidative Effects of Flavonoids. *Free Radicals Biol. Med*, 16: 845-850.

Hanson, J.R., (1984). Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.*, 1:533.

Hassimotto, N.M.A., Pinto, M.D.S., Lajolo, F.M. (2008). Antioxidant Status in Humans After Consumption of Blackberry (*Rubus fruticosus* L.) Juices with and without Defatted Milk. *J Agric Food Chem*, 56:11727-33.

Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A.(1989). Effect of interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37: 2016-2021

Hekimoglu, A., Toprak, G., Akkoc, H. (2013). Oxytocin Ameliorates Remote Liver Injury Induced by Renal Ischemia-Reperfusion in Rats *Korean J Physiol Pharmacol*, 17: 169-173.

Hernández-Pérez, M., Rabanal, R.M., de la Torre M.C. (1995). Anti-inflammatory, Antipyretic and Haematological Effects of Aethiopinone, an O-naphthoquinone Diterpenoid from *Salvia Aethiopis* Roots and Two Hemisynthetic Derivatives. *Planta Med* 61(6):505-9.

Hosseinzadeh H., Haddadkhodaparast, M.H., Arash A.R. (2003). Antinociceptive, Antiinflammatory and Acute Toxicity Effects of *Salvia Leriifolia* Benth. Seed Extract in Mice and Rats. *Phytotherapy Research*, 17:422-425.

Hosseinzadeh, H., Imanshahid, M. (2006). The Pharmacological Effects of *Salvia* Species on The Central Nervous System. *Phytotherapy Research*. 20(6); 427-437.

Irazu, C.E., Ruidera, E., Singh, I. (1989). Effect of ischemia and 24 hour reperfusion on ATP synthesis in the rat kidney. *J Exp Pathol*, 4:29-36.

İpek A., Gurbuz, B., (2010). Türkiye Florasında Bulunan *Salvia* Türleri ve Tehlike Durumları. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 19(1-2): 30-35.

Josse, R., (1987). Food Oxidation and its Prevention with The Use of Naturel Antioxidants. The First International Symposium on Food Industry "Food Additives", 363-382.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Junga, H.Y., Songa, Y.S., Limb, C.J. (2009). Anti-inflammatory, Anti-angiogenic and Anti-nociceptive Activities of an Ethanol Extract of *Salvia plebeia* R. Brown. *Journal of Ethnopharmacology*, 126:355–360.

Kalaycıoğlu, A., Öner, C. (1994). Bazı Bitki Ekstraksiyonlarının Antimutajenik Etkilerinin Amest-Salmonella Test Sistemi ile Araştırılması. *Tr.J. Botany*, 18:117-122.

Kanga, D.G., OhHyuncheol, S., Eun, J.(2004). Lithospermic acid B isolated from *Salvia miltiorrhiza* ameliorates ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. *Life Sciences*, 75:1801–1816.

Karaca, Ş., Güder, H., (2009). Dermatolojide Antioksidan Sistem. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Dermatoloji Anabilim Dalı Dergisi, 3:32-39.

Kaya, Y., Aral, E., Coşkun, T. (2002). Increased intraabdominal pressure impairs liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *Journal of Surgical Research*, 108:250-257.

Kınacı, M.K., Erkasap, N., Küçük, A., Tulay. (2012). Effects of Quercetin on apoptosis, NF- κ B and NOS gene expression in renal ischemia/reperfusion injury. *Experimental and Therapeutic Medicine* 3: 249-254.

Kocyigit, A., Erel, O., Gur, S. (2001). Effects of tobacco smoking on plasma selenium, zinc, copper and iron concentrations and related antioxidative enzyme activities. *Clinical Biochemistry*, 34: 629-633.

Koyuncu, O., Yaylacı, Ö.K., Öztürk D., Potoğlu-Erkara İ. (2010). Risk categories and ethnobotanical features of the Lamiaceae taxa growing naturally in Osmaneli (Bilecik/Turkey) and environs, *Biological Diversity and Conservation*, 3/3: 31-45.

Köylüoğlu, C., Yurter, Ö. (2000). Yemeklik Yağların Stabilizasyonu ve Antioksidanlar. *Gıda Bilimi Tekn.* 13-14.

Kukielka, G.L., Smith, C.W., Manning, A.M. (1995). Induction of Interleukin-6 Synthesis in the Myocardium Potential Role in Postreperfusion. *Inflammatory Injury Circulation*.92(7):1866-75.

Kumar, V., Abbas, A., Aster, J.C., (2013). Robin's Temel Patoloji, 9th Edition, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi

Kuyumcu, A., Polat, A., Özmen, M.M. (2004). Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus Travma Derg*,10(3):149-159.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Küçük, A.,Yücel, M.,Erkasa, N. (2012). The effects of PDE5 inhibitory drugs on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Mol Biol Rep*, 39:9775–9782.

Lameire, N., Biesen, W.V., Vanholder, R. (2005). Acute renal failure. *The Lancet* 365: 417-430

Lee, D.S., Evans, J.C., Robins, S.J. (2007) Gamma Glutamyl Transferase and Metabolic Syndrome, Cardiovascular Disease, and Mortality Risk The Framingham Heart Study *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27:127-133.

Lu, Y., Foo, L.Y. (2002). Polyphenolics of *Salvia L.* A review. *Phytochemistry*, 59:117– 140.

Maddox, D.N. (1976). Role of the Gallates as Foodstuff Antioxidants. *Flavours*,117-119.

Matthijsen, R.A., Huugen, D., Hoebbers N.T.(2007). Myeloperoxidase is critically involved in the induction of organ damage after renal ischemia reperfusion. *Cardiovascular, Pulmonary and Renal Pathology*, 171(6).

Memişoğulları, R. (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3: 30-39.

Miyazawa, S., Watanabe, H., Miyaji, C.(2002). Leukocyte accumulation and changes in extra-renal organs during renal ischemia reperfusion in mice. *J Lab Clin Med*, 269-278.

Nakamura, Y., Ohto, Y., Murakami, A., Ohigashi, H.(1998). Superoxide scavenging activity of rosmarinic acid from *Perilla frutescens* Britton Var. *Acuta*, *F. viridis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:4545 – 4550.

Noyan T. (2009). Serum Gama Glutamil Transferaz: Son Elde Edilen Bulgular ve Çeşitli Hastalıkların Fizyopatolojisindeki Önemi. *Van Tıp Dergisi*: 16 (1):48-55.

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annals of Biochemistry*. 95:351–358.

Ozan, E. Koyutürk, L., Sapmaz, T. (2004). Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Prostaglandin E1(PGE) Kullanımının İncelenmesi: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Ve Embriyoloji Anabilimdalı. *Fırat Tıp Dergisi*, 9(3):67-71.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Önal, A., Astarçioğlu, H., Örmən, M., (2004). Sıçandaki Renal İskemi Reperfüzyon Hasarında L-Karnitinin Koruyucu Etkisi. *Ulus Travma Derg*, 10(3) : 161.

Öner, G. (2007). *Guyton & Hall Tıbbi Fizyoloji Kitabı, Böbreklerde İdrar Oluşumu: I. Glomerüler Filtrasyon, Böbrek Kan Akımı ve Bunların Kontrolü*, 11. basım, Nobel Tıp Kitapevleri, 307-327.

Özdamar, M.Y., Yurtçu, M., Toy, H. (2010). Renal iskemi-reperfüzyon hasarında üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstresinin etkisi. *Genel Tıp Derg*,20(1).

Özer, M.K., Çiçek, E., Gökalp, O. (2005). Myokardiyal iskemi reperfüzyon sonrası böbrek hasarında nitrik oksit.in rolü ve caffeic acid phenethyl ester (cape).in etkisi.D.Ü. Tıp Fak. Derg.12(4)/23-27.

Özgökçe, F., Özçelik, H.(2004). Ethnobotanical Aspects of Some Taxa in East Anatolia, Turkey 1, *Economic Botany* 58(4):697-704.

Öztürk, N., Tunçel, M.,Uysal, D.,Oncu-Kaya, E.M. (2011). Determination of Rosmarinic Acid by High-Performance Liquid Chromatography and Its Application to Certain Salvia Species and Rosemary. *Food Analytical Methods*. 4(3): 300-306

Paller, M.S., (1994). The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Invest Med*, 42: 632-639.

Powell, SR.(2000).The antioxidant properties of zinc. *Journal of Nutrition*, 130: 1447-1454.

Qiao, Xi, Li, R.S., Li H. (2013). Intermedin protects against renal ischemia-reperfusion injury by inhibition of oxidative stress *Am J Physiol Renal Physiol*, 304

Qin Z., Lv E., Zhan, L. (2014). Intravenous pretreatment with emulsified isoflurane preconditioning protects kidneys against ischemia/reperfusion injury in rats. *BMC Anesthesiology*,14:28.

Qnais, Y., Abu-Dieyeh, M., Abdulla, F.A. (2010). The Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of Salvia officinalis Leaf Aqueous and Butanol Extracts. *Pharm Biol*, 48(10):1149-56.

Rajan, D., Wu, R., Shah K.G. (2012). Human ghrelin protects animals from renal ischemia-reperfusion injury through the vagus nerve. *Surgery* 151(1)

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Reel, B., Guzeloglu, M., Bagriyanik A., Atmaca, S. (2013). The effects of PPAR-g agonist pioglitazone on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Journal of surgical research* 182:176-184

Remuzzi, G., Ruggenenti, P., Benigni, A. (1997). Understanding the Nature of Renal Disease Progression. *Kidney Int.* 51:2-15.

Ren, Z.H., Tong, Y.H., Xu, W. (2010). Tanshinone IIA Attenuates Inflammatory Responses of Rats with Myocardial Infraction by Reducing MCP-1 Expression, *Phytomedicine*, 17:212-218.

Saba, D., Yavuz, H., Şenkaya, I., (2000). Kalsiyum Dobesilatın İskelet Kası İskemi- Reperfüzyon Hasarındaki Rolü. *Turkish J Thorac and Cardiovasc Surg*, 8:797-801.

Samman, S., Lyons, Wall, P. M., & Cook, N. C. (1998). Flavonoids and Coronary Heart Disease: Dietary perspectives. In C. A. Rice- Evans & L. Packer (Eds.), *Flavonoids in health and disease* New York: Marcel Dekker 469-482.

Santos-Gomes, P.C., Seabra, R.M., Andrade, P.B. (2002). Phenolic Antioxidant Compounds Produced by in vitro Shoots of Sage. *Plant Science*, 162:981- 987.

Sarıcı, S.Ü., Kul, M., Candemir, G. (2004). Neonatal Convulsion After Accidental Ingestion of Sage Oil: A Case Report. *Gulhane Med J.* 161-162.

Seifi, B., Kadkhodae, M., Najafi, A. (2014). Protection of Liver as a Remote Organ after Renal Ischemia-Reperfusion Injury by Renal Ischemic Postconditioning. *International Journal of Nephrology*,

Sentürk, H., Kolankaya, D., Şahin, Y., (2008). Silymarin Attenuates the Renal Ischemia/Reperfusion Injury Induced Morphological Changes in The Rat Kidney. *Cankaya University Journal of Science and Engineering*, 7(1):59-74.

Sezik, E., Yesilada, E., Tabata, M., (1997). Traditional Medicine in Turkey VIII. Folk Medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağrı, Kars, Iğdır Provinces, *Economic Botany* 51:195-211.

Song, H.S., Park, T.W., Sohn, U.D. (2008). The Effect of Caffeic Acid on Wound Healing in Skin-incised Mice. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 12: 343-347

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Stahl, W., Berg, H., Arthur, J., (2002). Bioavailability and Metabolism. *Mol Aspects Med*, 23: 39–100.

Sugita, S., Okabe, T., Sakamoto, A.(2013). Continuous Infusion of Dexmedetomidine Improves Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Kidney. *J Nippon Med. Sch*,80 (2).

Suntar, I., Kupeli, Akkol, E., Sezer, S.F., (2011). Investigating Wound Healing, Tyrosinase Inhibitory and Antioxidant Activities of the Ethanol Extracts of *Salvia Cryptantha* and *Salvia Cyanescens* Using in vivo and in vitro Experimental Models. *Journal of Ethnopharmacology*, 135:71–77.

Suzuki, K., Ota, H., Sasagawa, S. (1983). Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Anal Biochem* 132:345-52.

Şener, G., Yeğen, Ç.B., (2009). İskemi Reperfüzyon Hasarı, *Klinik Gelişim*, 5-13.

Şığva, H.Ö., Seçmen, Ö. (2009). Ethnobotanic Survey of Işıklı (Çarpın), Dağdancık and Tokdemir in Gaziantep, Turkey, *IUFS J Biol*, 68/1: 19-26.

Tan, S., Wang, G., Guo, Y. (2013). Preventive Effects of a Natural Anti-Inflammatory Agent, Astragaloside IV, on Ischemic Acute Kidney Injury in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* , Article ID 284025, 12.

Tanker, M., Tanker, N., (1990). *Farmakognozi*, Cilt 2, Ankara Üniv.Basımevi, Ankara.

Teke, Z., Kabay, B., Özden, A. (2008). İskemi-Reperfüzyon Hasarının Patofizyolojisi. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 1:65-72.

Topçu, G., Tan, N., Ulubelen, A. (1995). Terpenoids and Flavonoids From the Aerial Parts of *S. Candidissima*. *Phytochemistry*, 40:501-504.

Tosun, M., Ercişli, S., Sengul, M., (2009). Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of Eight *Salvia* Species from Turkey. *Biol Res*, 42: 175-181.

Triantaphyllou, K., Blekas, G., & Boskou, D. (2001). Antioxidative properties of water extracts from herbs of the species of Lamiaceae. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52:313–317.

Tsujimoto, Y., Hashizume, H., Yamazaki, M. (1993).Superoxide Radical Scavenging Activity of Phenolic Compounds. *Int. J. Biochem.* 25, 491.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Ulubelen, A.(2003). Cardioactive and antibacterial terpenoids from some *Salvia* species. *Phytochemistry*, 64(2):395-399.

Ulubelen, A., Öksüz, S., Topcu, G. (2001). A New Antibacterial Diterpene From The Roots of *S. caespitosa*, *Nat. Prod. Lett.*, 15: 307-314.

Wang, M., Kikuzaki, H., Zhu, N. (2000). Isolation and Structural Elucidation of Two New Glycosides from Sage (*S. officinalis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48:235-238.

Wang, X., Yeung, J.H.K. (2011). Effects of *Salvia miltiorrhiza* Extract on the Liver CYP3A Activity in Humans and Rats. *Phytotherapy Research* *Phytother. Res.* 25: 1653-1659.

Waynforth, H.B., Flecknell, P.A. (1994). Experimental and surgical technique in the rat. Chapter, 29:174-175.

Weight, S.C., Bell, P.R., Nicholson, F.M.L. (1996). Renal ischaemia reperfusion injury. *Br J Surg.*, 83:162-170.

Wilhelm J. (1990). Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr*, 137:1-53.

Yen, G.C., Duh, P.D., Tsai, C.L. (1993). Relationship Between Antioxidant Activity and Maturity of Peanut Hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 67-70.

Yıldırım, A. (2005). Yeni bir risk faktörü olarak yüksek duyarlıklı C-reaktif protein (hsCRP). *Arch Turk Soc Cardiol*, 33(6):360-371

Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17 (2) 143-153.

Yumrutaş, O., Sokmen, A., Oztürk, N. (2011). Determination of in vitro antioxidant activities and phenolic compounds of different extracts of *Salvia verticillata* ssp. *verticillata* and ssp. *amasiaca* from Turkey's flora. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01 (10); 43-46.

Zhou, Y.C., Zheng, R.L.(1991). Phenolic compounds and an analog as superoxide anion scavengers and antioxidants. *Biochem. Pharmacol.* 42: 1177-9.

Özgeçmiş

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : İpek ERTORUN
Doğum tarihi ve yeri : 19.12.1983 / Eskişehir
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Evli
İletişim adresleri : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı.

Eğitim Durumu

İlköğretim : Adalet İlkokulu, 1990-1995, Eskişehir
Ortaöğretim : Atatürk Ortaokulu, 1995-1998, Eskişehir
Lise : Gazi Lisesi, 1998-2001, Eskişehir
Üniversite : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 2001-2005, Eskişehir.
Yüksek Lisans : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 2005-2008, Eskişehir.
Doktora : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 2009-devam ediyor, Eskişehir.

Üye Olunan Bilimsel

Kuruluşlar : Biyoloji Derneği

Yayınlar

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

A1. Akalin, G ; **Erdogan, I** ; Akalin, A; Alatas O. Assesment of Antioksidan Capacity of Metformin and Insulin on Treatment of Type II Diabetes Mellitus. Drug Metabolism Reviews. Volume: 42 Pages: 243-243 2010

A2. Ciftci, A.G., **Erdogan I.**, Alatas O., 'In vitro effects of a-tocopherol and ascorbic acid on antioxidant charecteristics of HDL' .Turk J Biochem, 36(3);242-247, 2011

A3. Özkan Alataş, Aysen Akalin, Gülşen Akalin Çiftçi, Gök Nur Yorulmaz, **İpek Ertorun**, Nur Kebapçı, Belgin Efe. Oxidative and inflammatory status and HDL functions of obese pre and post menopausal women. Türk Biyokimya Dergisi 2014; 39 (2) ; 162-168

A4. Ahmet Özdemir, Mehlika Dilek Altıntop, Gülhan Turan-Zitouni, Gülşen Akalın Çiftçi, **İpek Ertorun**, Özkan Alataş, Zafer Asim Kaplancikli. Synthesis and evaluation of new indole-based chalcones as potential antiinflammatory agents. European Journal of Medicinal Chemistry 2015, 89: 304-9

A5. Gülşen Akalın Çiftçi, **İpek Ertorun**, Aysen Akalın, İbrahim Özkan Alataş, Ahmet Musmul. The effects of atorvastatin on antioxidant/antiinflammatory properties of HDLs in hypercholesterolemics Turk J Med Sci (2015) 45: 345-351

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler:

B1. I. Erdogan, G. Akalin , O. Alatas , Proinflammatory HDL levels of smokers, 33 rd FEBS Congress Molecules in Health &Disease, 28 June-3 July 2008, Athens/Greece

B2. G. Akalin ,**I. Erdogan** ,O. Alatas ,The effect of in vitro alpha tocopherol and ascorbic acid supplementation on inflammatory characteristic of HDL, 33 rd FEBS Congress Molecules in Health &Disease, 28 June-3 July 2008, Athens/Greece

B3. Akalin G., **Erdogan I.**, Musmul A., Akalin A., Alatas O., The effects of rosiglitazone and pioglitazone on serum nitric oxide levels in Hypercholesterolemic rats, 7 th Euro Lipit Fed Congress, 18-21 October 2009,Graz/Austria

B4. Alatas, O. Akalin A., Akalin G., **Erdogan I.**,The effect of Metformin and Insulin on antiinflammatory High Density Lipoprotein in Type 2 Diabetes, 7 th Euro Fed Lipid, 18-21 October 2009, Graz/Austria

B5. Gülşen Akalın, **İpek Erdoğan**, Aysen Akalın, Özkan Alataş. Assesment of antioksidan capacity of metformin and insulin on treatent of Type II Diabetes Mellitus, 9 th İnternational ISSX Meeeting, September 4-8, 2010. İstanbul, Turkey.

B6. Erdogan I., Akalin G., Musmul A., Akalin A.,O. Alatas Effects of two synthetic PPAR-g agonists in Hypercholesterolemic rats, 7 th Euro Fed Lipid, 18-21 October 2009, Graz/AustriaCongress, Lipits, Fats and Oils, 18-21 October 2010, Graz/Austria

B7. G. Akalin, G. Yorulmaz, **I. Erdoğan**, B. Efe, O. Alataş, A. Akalin, N. Kebapçı, Antiinflammatory effects of HDL against LDL oxidation in post and premenopausal women, 7 th Euro Fed Lipid Congress, Lipits, Fats and Oils, 18-21 October 2010, Graz/Austria

B8. O. Alatas, A. Akalin, G. Akalin Ciftci, **I. Erdogan**. Management of Inflammatory State in Hypercholesterolemic Patients with Atorvastatin Treatment. The 10th World Vongress on Inflammation 25-29 June 2011 Paris,France

B9. G. Akalin Ciftci1, **I. Erdogan**, A. Musmul, O. Alatas Antıinflammatory Consequences of Atorvastatin and Glitazone Therapies on Hypercholesterolemic Rats. The 10th World Vongress on Inflammation 25-29 June 2011 Paris, France

B10. Erdogan, I; Akalin, A ; Ciftci, GA ; Alatas O. The Effects of Metformın and Insulin on Management of Inflammatory State of Diabetic patients. The 10th World Vongress on Inflammation 25-29 June 2011 Paris, France

C. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

C1. Gülşen Akalın, **İpek Erdoğan**, Ahmet Musmul, Ali Dokumacıoğlu, Aysen Akalın, Özkan Alataş. Hiperkolesterolemik sıçanlarda bazı tiazolidinedionlar ve statin kombine tedavisinin serum nitrik oksit düzeylerine etkileri, 21. Ulusal Biyokimya Kongresi, 28-31 ekim, 2009, İstanbul/Türkiye

C2. İpek Erdoğan, Gülşen Akalın, Aysen Akalın, Özkan Alataş, Tip 2 Diyabetlilerde Metformin ve İnsulin tedavisinin NO düzeylerine etkisi, 21. Ulusal Biyokimya Kongresi, 28-31 ekim, 2009, İstanbul/Türkiye

Bilimsel Etkinlikler

Projeler

1. PROJEYİ DESTEKLEYEN KURULUŞ :

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ ARAŞTIRMA FONU

PROJE NO : 200811024

PROJE ADI : Hiperkolesterolemik Hastalar ve Ratlarda Atorvastatin ve Bazı Thiazolinedion Türevlerinin Kardiyovasküler Hastalar ve Ratlarda Kardiyovasküler Faktörler Endotel Fonksiyon ve İnflamasyon Açısından Değerlendirilmesi

PROJENİN KAPANMA YILI : 2010

PROJENİN BÜTÇESİ : 129.042,70 TL

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ :Prof.Dr. Özkan ALATAŞ

PROJE ÇALIŞANLARI :

Bio. İpek ERTORUN (Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı)

Prof.Dr. Aysen AKALIN (Tıp Fak. Endokrinoloji Anabilim Dalı)

Araş.Gör. Ahmet Musmul (Tıp fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı)

Araş.Gör. Gülşen Akalın (Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)