

T. C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

Tez Yöneticisi:
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON
HASARINDA LİKOPENİN ETKİLERİ

(Doktora Tezi)

Meryem DEMİRCAN POYRAZ

EDİRNE-2016

**T. C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi:
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON
HASARINDA LİKOPENİN ETKİLERİ**

(Doktora Tezi)

Meryem DEMİRCAN POYRAZ

Destekleyen Kurum: TÜBAP-2013/162

Tez No:

EDİRNE-2016

KABUL VE ONAY

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU danışmanlığında doktora öğrencisi Meryem DEMİRCAN POYRAZ tarafından tez başlığı “**Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Likopenin Etkileri**” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **05/01/2016** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Doktora Tezi**” olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU
JÜRİ BAŞKANI



Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK
ÜYE



Prof. Dr. Metehan UZUN
ÜYE



Prof. Dr. Mustafa EDREMİTLİOĞLU
ÜYE



Yard. Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

TEŐEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalıőmamda bilimsel katkıları ile yardımlarını esirgemeyen, bana yol gösteren başta tez danıőmanım ve Anabilim Dalı Baőkanımız Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya; eğitimimde emekleri olan emekli hocam Prof. Dr. Kadir KAYMAK'a, Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK, Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR ve Yrd. Doç. Dr. Mevlüt YAPRAK'a; çalıőmalarımnda yardımlarıyla yanımda olan, Prof. Dr. Necdet SÜT, Yard. Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN, Semiha UZUN, Mehmet Deniz ÖZDEMİR, Araő. Gör. Pınar TAYFUR, Araő. Gör. Özlem YALIKAYA YAVUZ'a; Vet. Hek. Ziya ÇUKUR'a, Fizyoloji Anabilim Dalı çalıőanlarına ve TÜBAP birimine teőekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.	1
GENEL BİLGİLER.	3
AKUT BÖBREK HASARI.	3
BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ PATOFİZYOLOJİSİ	6
SERBEST RADİKALLER	8
ANTIÖKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	12
GLUTATYON	12
NİTRİK OKSİT	13
BÖBREK HASAR MOLEKÜLÜ-1	16
LİKOPEN	17
GEREÇ VE YÖNTEMLER	20
BULGULAR	30
TARTIŞMA	61
SONUÇLAR	72
ÖZET	74
SUMMARY	76
KAYNAKLAR	78
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

ABH: Akut Böbrek Hasarı

eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

FeNa: Fraksiyonel Sodyum Atılımı

GFR: Glomerüler Filtrasyon Hızı

GSH: Okside Glutatyon

GSH-Px: Glutatyon Peroksidaz

İR: İskemi/Reperfüzyon

iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

KIM-1:Böbrek Hasar Molekülü-1

LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

MDA: Malondialdehit

NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (Redükte)

NO: Nitrik Oksit

NO₃⁻: Nitrat

NO₂⁻: Nitrit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

RNT: Reaktif Nitrojen Türleri

ROT: Reaktif Oksijen Türleri

SOD: Süper Oksit Dismutaz

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek hasarı (ABH), azalmış idrar çıkışı ve kanda azotlu (kreatinin ve üre) ve azotlu olmayan atık ürünlerde birikme ile sonuçlanan, böbrek fonksiyonlarının ani azalması (1), sıvı ve elektrolit, asit ve baz dengesinin bozulması ile karakterize bir sendromdur (2).

Akut böbrek hasarı, hastanede uzun süreli tedavi gerektirir ve yüksek ölüm oranıyla birlikte seyreder. Böbrek iskemi/reperfüzyon (İR) hasarı ile böbrek nakli, kısmi nefrektomi, renal arter anjiyoplastisi, kardiyopulmoner bypass, aortik bypass cerrahisi, kaza sonucu veya iatrojenik travma, sepsis, hidronefroz ve elektif ürolojik operasyonlar gibi birçok klinik durumlarda sıklıkla karşılaşılır (3).

Karmaşık ve birbiri ile ilişkili olaylar dizisinin öncülük ettiği, hasara neden olan ve renal hücre ölümü ile sonuçlanan ABH'nın başlıca sebebinin, renal iskemi olduğu bildirilmektedir (4).

İskem/reperfüzyon hasarının patofizyolojisi; reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif nitrojen türleri (RNT), pürin metabolitleri, nötrofil akümülyasyonu, bazı vazoaaktif maddeler (endotelin, anjiyotensin II) ve daha sonra salınan litik enzimler ile ilişkilidir (5).

Reperfüzyonun, iskemik böbrek dokusunun yaşamı için gerekli olduğu bildirilmiştir. Reperfüzyonun kendisinin ROT'un üretiminde artma, ATP'nin tükenmesi, nötrofil infiltrasyonu, fosfolipaz aktivasyonu ve membran lipit hasarına, hücre iskelet fonksiyon kaybı ve hücre içi Ca^{+2} birikimine bağlı hücre hasarına neden olduğu rapor edilmiştir (6).

Likopen, batı diyetlerinde en çok tüketilen karotenoidlerden biri olup, ağırlıklı olarak domates ve domates ürünlerinde bulunmaktadır. Güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olması nedeni ile oksidatif hasarlarda, doku iyileşmesi ve korunmasına katkıda bulunduğu bildirilmiştir (7,8). Likopenin, böbrek İR hasarının da içinde olduğu civaya bağlı

nefrotoksisite, diabetik nefropati, kolsitine bağlı nefrotoksisite gibi birçok böbrek hasarı modelinde, renal hasarı azalttığı, doza bağlı olarak yararlı etkilerinin olduğu, böbrekteki metabolik homeostazisi koruduğu ve koruyucu etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca likopenin prostat kanseri insidansını, kardiyovasküler hastalık, mide, kolon, göğüs ve serviks kanseri risklerini azalttığı da bildirilmiştir (9-13).

Bu çalışmada deneysel İR'nin sıçan böbreklerinde yol açtığı oksidatif hasarda, iskemik hasar oluşmadan önce likopen verilmesinin; böbrek fonksiyonları, nitrik oksit (NO) metabolizması, lipit peroksidasyonu, endojen güçlü bir antioksidan olan glutatyon (GSH) düzeyleri ve böbrek hasarındaki koruyucu rolü üzerindeki etkilerini araştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

AKUT BÖBREK HASARI

Böbrek işlevlerinin hızlı bir şekilde bozulması durumu ilk olarak William Heberden tarafından 1802'de "ischura nephritis", 1. Dünya Savaşı yıllarında "savaş nefriti", Homer Smith tarafından 1951'de "akut böbrek yetmezliği" olarak tanımlanmıştır. Böbrek işlevlerindeki akut bozukluğun son aşaması akut böbrek yetmezliği olmakla birlikte yetmezlik kavramı hasarlanmanın erken dönemini tanımlamak için kullanılamamaktadır. Bir başka deyişle yetmezlik gelişmeden de böbrek hasarı meydana gelebilir ve hayatı tehdit edebilir. Son yıllarda kullanılan ABH tanımlaması, akut böbrek yetmezliğini de içine almaktadır (2).

Akut böbrek hasarı, vazokonstriksiyon, glomerüler filtrasyon hızında büyük bir düşüşle birlikte glomerüler hasar, yoğun tübüler hasar, tübüler hücre nekrozu, vasküler hasar ve böbrek fizyolojik süreçlerini kötüleştiren glomerüler podositlerin yok olması ile karakterizedir (14,15). Akut böbrek hasarı, azalmış idrar çıkışı ve kanda azotlu (kreatinin ve üre) ve azotlu olmayan atık ürünlerde birikme ile sonuçlanan böbrek fonksiyonlarının ani azalması için kullanılan genel bir terimdir (1). Bu durum, genellikle kan akımındaki geçici ve ani düşüşten sonra gelişir (15).

Akut böbrek hasarı, hastanede yatan hastalarda, morbidite ve mortalitenin eşlik ettiği sıklıkla karşılaşılan bir durumdur. Hastanede ölen hastaların yaklaşık % 20'sinde akut böbrek hasarı olduğu ve yoğun bakım ünitelerinde bu oranın % 50'ye çıktığı da bildirilmektedir. Akut böbrek İR hasarı nedenleri, kontrast madde nefropatisi, acil ve yoğun bakım ünitelerinde resüsitasyonu takip eden şok, böbrek nakli, sepsis, ve kardiyovasküler cerrahi olarak rapor

edilmiştir. Hastane kökenli ABH'nın çeşitli nedenleri arasında, yüksek ölüm oranına sahip olan IR en önde gelmektedir (16).

Akut İR sonrasında renal hasar ve disfonksiyon açısından erkeklerin kadınlardan daha fazla risk taşıdıkları bildirilmiştir. Hayvan çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre bunun östrojenin koruyucu etkisinden kaynaklandığı ve ayrıca erkeklerde serum testosteron düzeylerinin azalmasının kalp hastalığı, obezite, hipertansiyon ve böbrek hastalığı gibi kronik hastalıkların gelişmesinde rol oynadığı rapor edilmiştir (17).

Akut böbrek hasarı, patofizyolojik mekanizmalara göre, prerenal, renal (intrinsik) ve postrenal ABH olarak üç ayrı kategoride incelenmektedir (18).

Prerenal Akut Böbrek Hasarı

Prerenal faktörler renal hipoperfüzyon sonucu filtrasyon hasarı ile ilişkilidir (18). Prerenal ABH'de böbrek kan akımındaki bozukluk renal parankim hasarı oluşturmayacak düzeydedir. Sistemik kan basıncının 70 mmHg'nin altına düşmesi ile glomerüler filtrasyon hızı (GFR) durur, buna bağlı olarak hipofizden antidiüretik hormon (ADH) salınımı artar. Bu hasarın şiddetini artırır (19). Prerenal ABH'de böbrek normovolemiyi devam ettirebilmek için su geri emilimini arttırıp fazla miktarda sodyum tutar. Bu nedenle fraksiyonel sodyum ekskresyonu (FeNa) % 1'in altındadır (20). Prerenal faktörler ABH nedenlerinin, yaklaşık % 60-70'ini oluşturur. Kardiyovasküler yetersizlik, kanın pompalama gücünün yetersiz olması, hipotansiyon, kanamalar, kusmalar, fazla diüretik kullanımı, geniş yanıklar, glukozüri, peritonit, akut pankreatit, sepsis gibi durumlar hipovolemiye neden olur ve bu renal perfüzyon basıncının düşmesine neden olur. Düşük perfüzyon basıncı, aferent arteriyolde daralmaya, eferent arteriyolde genişlemeye, glomerüler hidrostatik basınçta düşmeye neden olur. Prerenal ABH'nın iyileştirilememesi iskemik akut tübüler nekroz (ATN)'a neden olur (18). Prerenal ABH'de böbrek kan akımının normale dönmesini takiben 24-48 saat içerisinde böbrek fonksiyonlarında düzelmeye başlamaktadır (20).

İntrinsik Akut Böbrek Hasarı

İntrinsik akut böbrek hasarı böbrek parankiminde hasar oluşması ile prerenal ABH'dan ayrılır. Parankimde oluşan hasara bağlı olarak FeNa % 1'in üzerindedir ve idrar ozmolaritesi izotoniktir (20). İntrinsik faktörler ABH nedenlerinin, yaklaşık % 20-40'ını oluşturur (19). Renal ABH nedenleri, nefrotoksik ajanlar ya da böbrek hastalıkları nedeniyle böbrek dokusunun hasara uğramasıdır. Bunlar arasında nefrotoksinler, ağır metaller,

antibiyotikler, anestezipler, glomerülonefrit, travma, ateroskleroz, küçük ve büyük damarların iltihaplanması bulunmaktadır (18). İskemi ya da toksinlere bağlı gelişen ATN, hastaneye yatmış bireylerde intrinsik renal ABH'nin en sık nedenidir. Böbrek kan akımının düzeltilmesinin ardından, iskemik ATN hemen düzelmez. Bu yönüyle prerenal azotemiden farklıdır. Genellikle geri dönüşümlü bir durum olmakla birlikte, iskemi kortikal nekroz oluşturacak düzeyde ise kalıcı olabilir (20).

Postrenal Akut Böbrek Hasarı

Postrenal ABH her iki böbrekte veya tek böbreği olan bireylerde bu böbrekte idrar akımının bozulmasıyla oluşur (21). Postrenal faktörler, ABH nedenlerinin yaklaşık % 5'ini oluşturur ve tedavi edilebilirler (19). Postrenal nedenler intrarenal (tübüler) ve ekstrarenal olarak iki grupta incelenebilir. Tübüllerde protein ve çözülmeleyen kristallerin çökmesi tübül içi iyon hızının düşmesine neden olur. Renal pelvis, ureter, uretra gibi böbrek dışı toplayıcı sistemde oluşan obstrüksiyonlar, prostat hipertrofisi, uretra ağzını tıkayan mesane tümörü, mesane boynu darlığı, bilateral böbrek ve ureter taşları, cerrahi girişimler sırasında ureterin kesilmesi veya bağlanması postrenal ABH gelişmesine neden olur (18).

Akut böbrek hasarı aşağıdaki nedenlerden herhangi biri olarak tanımlanır:

- ✓ Serum kreatinin düzeyinin 48 saat içinde 0,3 mg/dl (26.5 µmol/l)'ye eşit veya yüksek olması,
- ✓ Serum kreatinin düzeyinde bilinen ya da tahmin edilenden 7 gün öncesinde bazal değerinde 1,5 kat artış,
- ✓ İdrar hacminin 6 saat süre ile 0,5 ml/kg/saat olması (22).

Akut Diyaliz Kalite Girişimi (ADQI) grubunun uzmanları tarafından, böbrek fonksiyonlarında akut bozukluğun tanı ve sınıflandırması için genel kabul gören bir sistem geliştirdi. Kısaltması RIFLE olan bu sınıflamada, şiddeti artanlar sınıflaması risk (R: Risk), hasar (I: Injury) ve yetmezlik (F: Failure) ve iki sonuç sınıflaması, kayıp (L: Los) ve son dönem böbrek yetmezliği (E: End stage kidney disease)'ni ifade etmektedir. Risk, hasar ve yetmezliğin derecesi, serum kreatinin veya idrar çıkışındaki değişikliklerle tanımlanır. Kayıp ve son dönem böbrek yetmezliği, böbrek fonksiyon kaybının süresi ile tanımlanır. Bu kriterlere göre ABH riski serum kreatinin seviyesinde 1,5 kat artış veya GFR'de % 25'den fazla azalma ve idrar atılımının 6 saatten uzun süre saatte 0.5 ml/ kg düzeyinin altına düşmesi ile; böbrek hasarı serum kreatinin seviyesinde 2 katı artış veya GFR'de % 50'den fazla azalma ve idrar atılımının 12 saatten uzun süre saatte 0.5 l/kg'dan daha düşük olması ile;

böbrek yetmezliği ise serum kreatinin seviyesinde 3 kat artış veya GFR'de % 75 azalma ve 24 saatten uzun süre idrar atılımının saatte 0,3 ml/kg'dan az olması ya da 12 saatten fazla süre idrar çıkışının olmaması ile tanımlanmaktadır. Renal fonksiyon kaybı kalıcı akut böbrek yetmezliği hastalığı, 4 haftadan uzun süre ile böbrek fonksiyonlarının tümüyle kaybolması olarak; renal fonksiyonların tümüyle kaybı da son dönem böbrek yetmezliğinin 3 aydan fazla süre ile olması olarak tanımlanmıştır (18,22-24).

BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ

Dokulara giden kan akımının herhangi bir nedenle kesilmesi iske mi olarak tanımlanmaktadır ve bu durumda fazla miktarda ROT açığa çıkmaktadır (25). İskeminin arkasından tekrar kan akımının sağlanması reperfüzyon olarak tanımlanmaktadır ve bu iskemik organlarda hücre sel nekroz riskini artırmaktadır. Bu durum fonksiyonun geri dönmesini kısıtlamaktadır. Kılcal kan damarları endotel hücrelerinin reperfüzyon hasarına duyarlı oldukları bildirilmiştir (26).

Böbrek kan akımının azalması halinde, kan akımının metabolik olarak hassasiyeti daha fazla olan medullaya yöneldiği bildirilmiştir. Buna bağlı olarak değişen oranlarda kortikal nekroz ve GFR'de azalma olduğu gözlenmiştir (27).

İske mi/reperfüzyon hasarının renal hücre ölümüne, akut böbrek hasarına, eskiden akut böbrek yetmezliği olarak bilinen ATN'nin, akut rejeksiyona, gecikmiş greft fonksiyonuna ve kronik allograft disfonksiyonuna yol açtığı rapor edilmiştir. İske mi/reperfüzyon hasarının temel mekanizması anoksi, özellikle reperfüzyon esnasında serbest radikal üretimi ve iltihabi yanıtlar gibi multifaktöriyeldir ve birbiri ile ilişkilidir (14).

Vasküler ve tübüler defektler iske mi sonrasında ve reperfüzyon esnasında gerçekleşir. Vasküler defektler, GFR'de azalmaya neden olan intrarenal vazokonstriksiyon ile birlikte dış medullada vasküler konjesyon ve tübüloglomerüler geri bildirim aktivasyonunu kapsamaktadır. Endotelin, adeno zin ve anjiyotensin II gibi vazokonstriktör faktörlerin salınmasındaki artış; NO, prostaglandin, asetilkolin ve bradikinin gibi vazodilatatörlerin üretiminde azalma; endotelial ve vasküler düz kas hücrelerinin yapısal hasarındaki artış bu yanıttan sorumlu mekanizmalardır. Tübüler defektler, tübüler polaritenin kaybolması, tübüler obstrüksiyon, interstisyel inflamasyon, hücre iskeletinin parçalanması, ölümcül hücre hasarı, apopitozis ve tübüler nekrozunu kapsamaktadır (15). Tübüler değişikliklerden sorumlu olan mekanizmalar; hipoksi, ATP'nin tükenmesi, ROT konsantrasyonunun artması, hücre içi

asidoz, sitosolik kalsiyum konsantrasyonlarının artması, fosfolipazların aktivitesinin artması ve tübüler hücre fırçamsı kenarlarından proteazların salınmasıdır (6,15).

İskemi/reperfüzyon koşulları altında, ksantin dehidrogenaz, substrat olarak oksijeni kullanan ksantin oksidaza dönüştürülür. İskemi sırasında, fazla miktarda ATP tüketimi, pürin katabolitler olan hipoksantin ve ksantin birikimine yol açar. Birikmiş olan hipoksantin ve ksantin, reperfüzyon ve oksijen girişinin sağlanmasının ardından, ksantin oksidaz (XO) tarafından büyük miktarlarda süperoksit anyonu (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) üretmek için metabolize edilir (28).

Hücrel ATP'nin tüketilmesi, iyon transferinin bozulmasına neden olarak su ve iyonların birikimine yol açar. Bu durum, endotelial ve epitelyal hücreleri hasara uğratar. Bu hasara lökositlerin göçü ve interlökinler, tümör nekroz faktör α (TNF α) ve trombosit aktive edici faktörler gibi inflamatuvar mediatörler hem enerji yokluğuna hem de reperfüzyona bağlı olarak sitokinlerin ve oksidan faktörlerin salınması eşlik eder (29). İskemik dokunun reperfüzyonu onarım için vazgeçilmez olmakla birlikte ROT ve RNT üretimi ile akut iskemik hasarı şiddetlendirir. Bu faktörlerin üretilmesi, nötrofillerin ve mast hücrelerinin aktivasyonunu ve sistemik proinflamatuvar mediatörler ve sitokinlerin üretimini de içeren olaylar zincirini başlatarak renal hücrelerin hem apoptozuna hem de nekrozuna neden olur (30).

Makromoleküllerin hasarına yol açan oksidatif stres, oksidasyon ve antioksidasyon arasındaki kalıcı bir dengesizlik olarak tanımlanır (31). Oksidatif stres, ROT'un üretilmesi ve yok edilmesi arasındaki dengesizlik sonucu ROT'un aşırı miktarlarda olması olarak anlaşılmaktadır (32). İskemi/reperfüzyon hasarının erken fazı esnasındaki hücrel hasarda, ROT'un fazla üretimi ve mitokondriyal hasarın aracılık ettiği oksidatif stres seviyesindeki artış anahtar rol oynar. Böbrekler, lipit peroksidasyonuna duyarlı çoklu doymamış yağ asitlerini daha yüksek seviyelerde içerdikleri için oksidatif strese özellikle dayanıksızdır. ROT'un, çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu yolu ile membranlara saldırarak, ilerleyici böbrek hasarına neden olan sarmal kısır döngüye aracılık ettiği rapor edilmiştir. Fizyolojik koşullar altında hücrede mitokondri, endoplazmik retikulum, perokizom ve diğer hücre kompartımanlarındaki birçok enzim vasıtasıyla ROT üretilir. Fizyolojik koşullarda, endojen antioksidan enzimler, ROT'a karşı savunma sistemleridir. İskemi gibi patolojik koşullarda bu savunma sistemleri yeterli değildir (33).

İskemi/reperfüzyon ABH'ında endotelial disfonksiyonun "no-reflow" "yeniden akımın sağlanamaması" fenomenine neden olarak otheregülasyonda gözlenen bozulmayı

açıklayabileceği bildirilmiştir. Renal otoregülasyon hem böbrek kan akımı (BKA)'nı hem de GFR'yi kontrol eder. Endotelial disfonksiyona sekonder olarak otoregülasyonun kaybında azalmış GFR'nin ve kalıcı vazokonstriksiyonun veya böbrek damarlarının vazokonstriktörlere hassasiyetinin merkezi rol oynayabileceği rapor edilmiştir (34).

İşlevsel açıdan endotelial disfonksiyon renal ya da farklı arteriyel yataklarda, asetilkolin gibi endotel bağımlı vazodilatatörlere bağlı damar gevşemesinin bozulması olarak tanımlanır. Renal endotelial disfonksiyon, bradikinin ya da asetilkoline yanıt olarak bozulmuş NO üretimi ya da NO yararlanılabilirliğinin bozulması olarak tanımlanır. İskemik ABH'da endotelial hasarın morfolojik ve moleküler göstergelerinin, endotelial hücrelerin erimesi, hücrelerarası adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve Arg-Asp (RGD)-bağlayıcı integrinlerin gen ifadesinin artması olarak bildirilmiştir (34). Reperfüzyon hasarının başlangıç döneminde meydana gelen endotelial disfonksiyonda hücre şişmesi, pinositik veziküllerin kaybı, endotel hücrelerinin üzerine oturdukları bazal membrandan ayrılması ve başta nötrofiller olmak üzere aktive olmuş lökositlerin endotel hücre yüzeyine yapışması gibi morfolojik değişiklikler gözlenmektedir. Endotelial disfonksiyona bağlı olarak interstisyuma sıvı filtrasyonunda artış ve perfüze olan kapillerler sayısında azalma görülmektedir (26).

SERBEST RADİKALLER

Elektrik yüklü veya yüksüz olabilen, dış orbitallerinde tek sayıda eşlenmemiş elektronu bulunan atom ya da moleküller serbest radikal olarak tanımlanmaktadır. Kısa ömürlüdürler ve radikal olmayan maddelerle etkileşime girerek yeni radikaller oluştururlar (35). Serbest radikaller, ROT ve RNT'den oluşur. ROT, $O_2^{\cdot-}$, hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve H_2O_2 'den oluşur; RNT, nitrik oksit radikali ($\cdot NO$), azot dioksit (NO_2) ve peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)'ten oluşur. Nitrat (NO_3^-) ve nitrit (NO_2^-), genellikle NO düzeylerinin bir belirteci olarak kullanılmaktadır (31).

Sağlıklı bir insan vücudunda, ROT ve RNT'den prooksidanların üretimi etkili antioksidan savunmalar tarafından çeşitli düzeylerde kontrol altında tutulur. Ancak fizikokimyasallar, atmosferik kirleticiler, sigara içiciliği, ultraviyole ışınları, radyasyon, toksik kimyasallar, aşırı beslenme ve ileri glikasyon son ürünleri gibi olumsuz çevresel ya da patolojik ajanlara maruz kalındığında bu denge oksidatif stresle sonuçlanan oksidanlar lehine kaydırılır. Oksidatif stres, birçok hastalığın etyolojisinden ve yaşlanmadan sorumludur (36).

Oksijenin, dış yörüngesindeki iki elektronu eşleşmemiştir ve paralel spini (paramanyetik) vardır. Diğer moleküllerin dış elektronları eşleştirilmiştir ve tersi bir spini

vardır. Oksijen, bir elektronunun benzer spindeki bir elektron ile eşleştirilmesi için bu moleküllerle reaksiyona girer. Her defasında bir elektron eklenebilmesi reaksiyonu yavaşlatır. Bu kimyasal inertlik oluşturur ve atmosferdeki oksijen birikimine katkıda bulunur. Tek elektron transfer reaksiyonları ile oksijenin azalması ile en yaygın ROT üretimi gerçekleşir. İlk elektron transferi ile O_2^- , ardından H_2O_2 , OH ve son olarak ta su (H_2O) oluşur (37). Vücut tarafından tüketilen oksijenin yaklaşık olarak % 1-3'ü ROT'a çevrilir (38).

Reaktif oksijen türleri hem endojen hem de eksojen olarak üretilirler. Endojen ROT kaynakları, mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar ve aktive olmuş nötrofiller, eozinofiller ve makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerdir. Aktive olan makrofajlar, oksijen alımını artırarak, O_2^- , NO ve H_2O_2 gibi çeşitli reaktif oksijen türlerinin artmasına yol açar (28). Sitokrom P450'nin katalitik döngüsünün eşleşmemesi ya da yıkılmasını takiben sitokrom P450 enzimlerinin induksiyonu, O_2^- ile H_2O_2 üretimine neden olabilir (28).

Diğer ROT kaynakları, mikrozoim ve peroksizomlardır. Mikrozoimler hiperoksik koşullarda in vivo olarak üretilen H_2O_2 'in % 80'inden sorumludur. Peroksizomlar, fizyolojik koşullarda, H_2O_2 üretirler ancak O_2^- üretmezler. Karaciğer peroksizomal H_2O_2 üretiminde primer organdır ancak diğer organlarda da peroksizom ve H_2O_2 üretimi vardır. Uzun süreli açlığın bir sonucu olarak yağ asitlerinin peroksizomal oksidasyonu H_2O_2 üretiminin önemli bir potansiyel kaynağı olarak kabul edilmiştir (28).

Reaktif oksijen türlerinin seviyelerinde geçici dalgalanmalar, ROT'un dozuna, süresine ve hücre tipine bağlı olarak, hücre çoğalmasına, apoptoza veya nekroza yol açan sinyal transdüksiyon yollarının aktivitesini etkiler. ROT'un, düşük dozlarda olması mitojenik, orta dozda geçici veya kalıcı büyüme durması (replikatif yaşlanma) ve yüksek dozda genellikle ya apoptozla ya da nekrozla hücre ölümü gibi etkilere neden olur. Nekroz ve apoptoz hücre kaybı açısından olumsuz olmakla birlikte immün yanıtı aşağı doğru düzenleyerek tümör baskılanmasında rol oynar (38).

Renal İR hasarında, serbest radikaller tüm biyolojik moleküllere hasar verir. Böyle hasarlı moleküller hücre fonksiyonlarını bozar ve hatta sonunda hücre ölümüne yol açar (36).

Serbest oksijen radikalleri, hücrelerde, mitokondri ve lizozomlarda zar geçirgenliklerinde artışla sonuçlanan lipid peroksidasyonuna neden olarak renal hücrelerde hasara yol açar (39).

Lipit peroksidasyonu, Fe^{+2} , Cu gibi eşleşmemiş elektronlara sahip geçiş metallere varlığında biyolojik membranlardaki konjuge olmayan çoklu doymamış yağ asidi zincirinde bulunan metilen grubundan bir H^+ atomunun uzaklaştırılması ile başlar. Hidrojen atomunun

uzaklaştırılması zincirin radikal (L[•]) hale gelmesine neden olur. Molekül içi çift bağ aktarılması sonucu dien konjugatları ve bunlara moleküler oksijenin katılması ile de lipit peroksit (LOO[•]) radikali oluşur. Lipit peroksit radikalının, membrandaki komşu yan zincirlerden H⁺ atomlarını çıkarması ile lipit peroksit (LOOH) ve yeni bir LOO[•] oluşur (40). Bu zincir reaksiyonlarla üretilen lipit radikalleri hücre membranında birikir ve sayısız hücre fonksiyonunu etkiler (41). Lipit radikalleri ve lipit peroksidasyon ürünlerine bağlı olarak gelişen lipit peroksidasyonunda plazma membran akışkanlığında, membran potansiyelinde ve membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde azalma görülür. Eğer peroksidasyon lizozom ve mitokondriyal membranda meydana gelirse, organellerin içeriklerinin boşalmasına neden olarak, proteolize ve hasarın şiddetlenmesine neden olur (42). Okside lipitler, hücre membranı içinde birikerek, plazma membranında geçirgenliği artırır ve membrana bağlı reseptörlerin fonksiyonunu karıştırarak hücre fonksiyonunu etkileyebilir (38). Malondialdehit (MDA), konjuge dienler ve hidroksinonenol gibi lipit peroksidasyon ürünleri İR'nin farklı modellerinde ROT'un ayak izleri olarak yaygın bir şekilde kullanılırlar (43). Lipit peroksidasyon yan ürünleri olan doymamış aldehytler ve diğer metabolitler, sitotoksik ve mutajenik özelliklere sahiptir (38,41). Çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) peroksidasyonu ile üretilen 4-hidroksinonenal (4-HNE), MDA, akrolein, aldehytler, hücre proteinlerinde özellikle histidin ve sistein ya da lizin üzerinde ilave bileşikler oluşturacak şekilde ilerleyici protein disfonksiyonuna neden olurlar (44). Okside düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), vasküler enflamasyon alanlarına infiltre makrofajlar üzerinde ifade edilen süpürücü reseptörler tarafından tanınır ve alınır. Makrofajlar tarafından okside LDL'nin alımı köpük hücreler olarak adlandırılan lipit dolu makrofajların oluşumu ile sonuçlanır ve bunlar apoptoza giderler (38).

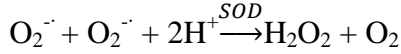
Serbest oksijen radikallerinin nükleik asitler üzerinde, DNA-protein çapraz bağlanması, iplik kopması, pürin ve pirimidin bazlarının yapısının bozulması ve DNA mutasyonu gibi etkileri vardır (32).

Süperoksit Anyonu

Süperoksit anyonu, kısa ömürlüdür ve diğer moleküller için reaktif bir doğası vardır (37). Mitokondriyal iç membranın her iki tarafında O₂^{-•}, başlangıçta H₂O₂ ve sonra Cu, Zn-SOD [membranlar arası boşluğa lokalize SOD1(süper oksit dismutaz 1)] ve Mn-SOD (matriks içinde lokalize SOD2) ile suya çevrilerek etkili bir şekilde detoksifiye edilir.

Süperoksit anyonu, polipeptidler, şekerler ya da nükleik asitlerle doğrudan reaksiyona girmez ve lipitleri oksitleme yetenekleri tartışmalıdır (28).

Süperoksit anyonunun dismutasyon reaksiyonu ile H₂O₂ ve O₂ meydana gelir (28).



Süperoksit anyonu ve NO arasındaki reaksiyonun ana ürünü ONOO⁻'dur. Peroksinitrit, özellikle DNA için güçlü bir hücresele oksidandır (45).

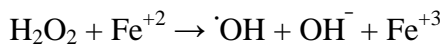
Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit, oldukça stabil antioksidandır. İskemi/reperfüzyon [hipoksi/reoksijenasyon (H/R)]'a maruz kalan doku ya da hücrelerde hücrelerin oksidatif strese yanıtını değerlendirmede ROT'un temsilcisi olarak kullanılır (43). Fizyolojik koşullarda H₂O₂ üretimi organizmanın toplam oksijen alımının yaklaşık ~ % 2'si olarak tahmin edilmektedir (28). Süperoksit anyonundan daha kararlı olması nedeniyle iç mitokondri, endoplazmik retikulum ve peroksizom membranından kolayca diffüze olur. Bu işlem, akuaporinler tarafından kolaylaştırılır. Bu nedenle uzak molekülleri etkileyebilir. Eğer ferro demir (Fe⁺²) ile etkileşirse Fenton reaksiyonu ile çok daha reaktif olan OH[•]'ne dönüşür. Köken aldığı hücrenin etrafındaki biyomoleküllerle hızlıca reaksiyona girer. Ferro demirin ferritin ile şelat oluşturması, onun H₂O₂ ile reaksiyona girmesini engeller (37).

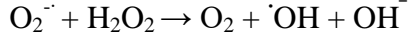
Hidrojen peroksit, fizyopatolojik konsantrasyonlarda (10-100 µM), en fazla, postiskemik dokuda kanıtlanmış olan endotelial bariyer disfonksiyonunu (artmış damar geçirgenliği) ve endotelial hücre adezyon moleküllerinin ifadesinde artışa bağlı olarak lökosit-endotelial hücre adezyonunu kapsayan endotelial fonksiyondaki fenotipik değişikliklere neden olur (43).

Hidroksil radikali

Fenton reaksiyonu ile H₂O₂'nin geçiş metallere olan Fe⁺² varlığında indirgenmesiyle hidroksil iyonu (OH⁻) ve [•]OH meydana gelir (46).



Haber-Weiss reaksiyonu ile H₂O₂ ile O₂⁻ reaksiyona girerek OH⁻, [•]OH ve oksijen meydana gelir (47).



Hidroksil radikali yüksek reaktiviteye sahiptir ve yarılanma ömrü 10^{-9} sn gibi kısa bir süredir (47).

Singlet oksijen

Oksijenin elektronlarından birinin dışarıdan enerji almasıyla kendi spininin tersi yönünde başka bir orbitale yer değiştirmesiyle oluşabilir. Süperoksit anyonunun NO ile girdiği reaksiyonda ve H_2O_2 'nin hipokloritle girdiği reaksiyon da da oluşabilir (48).

Enerjetik olarak uyarılan O_2 formunda olup, reaktivitesi çok yüksektir. Moleküllerle etkileşiminde ya enerji transfer eder, ya da onlarla kovalent tepkimelere girer. Singlet oksijen (1O_2), tokoferoller, fenoller, bilirubin, DNA, karotenler, kolesterol, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), triptofan, methionin, sistein ve histidin gibi bileşiklerin karbon-karbon çift bağları ile tepkimeye girer. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikali ($ROO\cdot$) oluşumuna neden olur (49).

ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Serbest radikalleri ya da onların etkilerini nötralize eden maddelere antioksidan (36), vücutta birçok yolla oluşan serbest radikallere karşı savunma mekanizmalarına da antioksidan savunma sistemleri denir (50).

Normal fizyolojik koşullarda oksidatif hasara karşı hücreyel savunma birçok mekanizma ve antioksidan enzimlerle sağlanır (51).

Antioksidanların etkilerini gösterme yolları:

- 1) Süpürücü Etki: Serbest oksijen radikallerini etkilerler, tutup, yok ederler. Küçük moleküller ve antioksidan enzimler.
- 2) İnaktif şekle dönüştürücü etki: Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen aktararak onların aktivitelerini azaltır ya da inaktif hale dönüştürürler. Flavanoidler ve vitaminler.
- 3) Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını engellerler. Hemoglobın, mineraller ve seruloplazmin.
- 4) Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarı onarırlar (52,53).

GLUTATYON

Glutatyon, özellikle renal hücreler, hepatosit ve eritrositler olmak üzere tüm memeli

hücrelerinde bulunur (51). Glutasyon, kimyasal olarak γ -L-glutamil-L-sisteinilglisin, canlı organizmaların en önemli hücre içi bileşenlerinden biridir. Sistein, amin grubu ve glutamat yan zincirlerinin karboksilat grubu arasında bir peptit bağı içeren, protein olmayan tripeptid amino asit bileşimidir. Sadece bu bileşik için değil diğer birçok biyolojik tiol bileşikleri için de indirgenme işlevselliğine sahip tiol grubu vardır. Tiol içeren bileşikler, oksidasyon-redüksiyon döngülerinin yürütülmesi, protein sentezi, biyolojik bileşiklerin taşınması, metabolizma reaksiyonları, vitamin C ve E aktif formlarını sağlamak ve NO döngüsünün düzenlenmesi gibi vücudumuzdaki birçok biyolojik fonksiyonları için önemlidir. Canlı hücrelerde, Hg^{+2} , Pb^{+2} ve siyanürün de içinde bulunduğu zehirli ağır metallerin detoksifikasyonu GSH'nin birincil ve hayati bir fonksiyonudur. Okside (GSSG) ve indirgenmiş (GSH) formlarda bulunur. Glutasyonun oksitlenmiş ve indirgenmiş formlarının molar oranı, hücrelerin fonksiyonlarının izlenmesinde önemlidir (54).

Antioksidan savunma sistemlerinde görev alan indirgenmiş GSH'nin, ksenobiyotiklerin zehirsizleştirilmesi, aminoasitlerin transportu, proteinlerdeki sülfidril (SH) gruplarının redükte halde tutulması, enzimatik reaksiyonlarda koenzim olma gibi fizyolojik fonksiyonları da vardır. İndirgenmiş GSH, glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enziminin katalizlediği reaksiyonla, H_2O_2 veya lipit peroksitlerle reaksiyona girerek onların detoksifikasyonunda rol alır. Bu süreçte kendisi de bir başka GSH molekülü ile disülfid köprüsü kurarak GSSG haline geçer. Okside GSH, NADPH'nin kullanıldığı bir reaksiyonla GSHPx enzimiyle yeniden GSH'a indirgenebilir ve serbest radikallerin detoksifikasyonunu sürdürebilir (55).

Glutasyon, yapısındaki sistein kalıntısının içerdiği tiyol grubu aracılığı ile hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam sağlayarak hücreyi oksidatif hasarlara karşı korur. Oksidatif strese ya da antioksidan potansiyelin yetersizliğine bağlı olarak gelişen oksidatif hasarda, hücre içi redoks değişiminde GSH hızla tüketilir. Hem glutasyon sentaz hemde glutasyon redüktaz enzimlerinin aktivitesi ile hızlı bir şekilde yeniden üretilmekte ya da yenilenmektedir (56).

Non-enzimatik endojen antioksidanlardan biri olan GSH, H_2O_2 , $\cdot OH$, $O_2^{\cdot -}$ ve alkoksil ($RO\cdot$) radikalleri ile etkileşime girerek hücreyi radikallere karşı korur (57).

NİTRİK OKSİT

Nitrik oksit, 1980 yılında endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak tanımlanmış daha sonra da NO olarak adlandırılmıştır (58). Birçok dokuda NO varlığı gösterilmiştir (59). Nitrik oksit sentaz (NOS) enzim ailesinin katalizlediği reaksiyonda L-

argininin'den NO ve L-sitrülin meydana gelmektedir (60). Tüm NOS formları hem oksidaz hem de redüktaz bölgelerine sahiptir. Redüktaz bölgesi flavinleri (FAD ve FMN) içerir ve NADPH'ı bağlar; oksijenaz sahası hem ve tetrahidrobiopterin (BH₄) içerir ve L-arginin'i bağlar. Arginin substrat, O₂ ve NADPH kosubstrat, BH₄ kofaktör olarak iş görür. Nikotinamid adenin dinükleotid fosfattan gelen elektronlar redüktaz bölgesindeki flavinler üzerinden oksidaz bölgesindeki önde olan heme aktarılır. Oksijen, heme bağlanır ve ferroz-dioksijene indirgenir. Bu basamak BH₄ tarafından kolaylaştırılır. Oksijenin aktivasyonu, L-arginin'in oksidasyonunu sağlar ve NO ve L-sitrülinin oluşumu ile sonuçlanır. Hemin katalitik alanında O₂'nin indirgenmesi normalde NO üretimi ile eşleniktir. Oksijene elektron akışı, arginini oksidasyonu ile eşlenmezse indirgenmiş O₂, hemden O⁻ olarak salınır. Nitrik oksit sentaz eşlenmemesi, enzimlerin yapısal (dimer ayrılması) veya fonksiyonel (yetersiz kofaktörler) değişikliklerine bağlıdır. Her üç NOS izoformunda da eşlenmeme gösterilmiştir ancak en fazla eNOS'un eşlenmemesinin patolojik sonuçları dikkat çekmiştir (43). Nitrik oksit, hızla hemoglobin, metilen mavisi ve süperoksit anyonu tarafından nötrale edilir veya 10 sn içinde NO₃⁻ ve NO₂⁻'ye, dönüşür ve idrarla atılır (60,61).

Endotelden salınan NO, guanilat siklazın hem molekülüne bağlanarak hücre içi cGMP artışına neden olur. Guanilat siklazdan ayrılan NO, NO₂⁻'ye, dönüşür, önce plazmaya sonra da eritrositlere geçer. Siklik GMP, hücre içindeki kalsiyumu sarkoplazmik retikuluma ve hücre dışına pompalar. Hücre içi kalsiyum miktarındaki azalma, potasyum kanallarının açılması ve hiperpolarizasyon ile birlikte damarlarda dilatasyona neden olur. Eritrositlere geçen NO, oksihemoglobinden (HbO₂) gelen oksijenin ilave olması ile NO₃⁻'e dönüşür. Oluşan NO₃⁻ plazmaya verilir ve böbrekler yoluyla vücuttan uzaklaştırılır (62).

Bazı koşullar altında hemoglobin, miyogloblin, ksantin oksidoredüktaz mitokondriyal sitokrom oksidaz, aldehid dehidrogenaz 2, sitokrom P450 redüktaz ve sitokrom P450 gibi farklı enzimler, NO oluşturmak için, NO₃⁻ veya NO₂⁻ indirgenmesini katalize ederler. Hemoglobin oksijen sensörüdür ve hipoksik koşullar altında NO₂⁻'den NO üretir. Hipoksi hemoglobinin dörtlü yapısında oksihemoglobinden deoksihemoglobine yapısal değişikliğe neden olur. Hemoglobin % 40-60 oranında oksijene doymuş ve pH 6.4 olduğunda maksimal hızda NO₂⁻'den NO üretilir. Ksantin oksidoredüktaz da anoksik dokuda NO₃⁻ ve NO₂⁻'den, NO üretir. Bu mekanizmanın İR hasarına karşı koruyucu olduğu rapor edilmiştir (63).

Nitrik oksit, hücrelerde hem monomer hem de homodimer olarak bulunan NOS'un, endotelial (e), nöronal (n) ve indüklenebilir (i) olmak üzere üç farklı izoformu ile üretilir (43,64). Nitrik oksit sentazın üç farklı izoformu; tip I (nNOS), tip II (iNOS) ve tip III (eNOS)

endotel hücrelerinde yaygın halde bulunur (65). Spesifik geni tanımlanmamış olmakla birlikte mitokondriyal NOS (mtNOS) olarak adlandırılan dördüncü bir izoformunun varlığı da öne sürülmektedir (43).

Nitrik oksit sentaz enziminin izoformları olan NOS1 ve NOS3, yapısal nitrik oksit sentaz (cNOS) olarak ifade edilir ve Ca^{+2} /kalmodüline bağımlı olarak aktive olur. Küçük miktarlarda NO üretimine neden olur (66).

İndüklenebilir NOS, eNOS'un aksine kalsiyumdan etkilenmez, oksidatif stres koşullarında uyarılır ve büyük miktarlarda NO üretir (67). Sinir ve endotel hücreleri ile endokard, miyokard ve trombositlerde bulunan eNOS, küçük miktarlarda NO üretir, hücre içi ve hücreler arası iletişimde fizyolojik olarak görev alır. Serebellum ve ön beyindeki nöronlarda ve bazı otonom sinirlerin uçlarında nNOS tarafından sentezlenip salınan NO'nun merkezi sinir sisteminde hafıza oluşumu, denge, uyarı geçişi, koku alma gibi birçok fonksiyonda nörotransmitter olarak görev aldığı kaydedilmektedir (59).

Nitrik Oksitin Böbrekteki Etkileri

Renal medullada renal kortekse göre NO üretiminin daha fazla olduğu ve NOS aktivitesinin de üç kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (68). Renal damar ağında eNOS, makula densada nNOS tanımlanmıştır. Sağlıklı sıçan böbreklerinde iNOS, renal tübülün birçok segmentinde, glomerülde, interlober ve arkuat arterlerde ifade edilmektedir (5,69).

Nitrik oksidin, kan basıncının düzenlenmesinde, vasküler tonus ile nöronal sinyalizasyonda rol oynadığı ve immünolojik işlevi olduğu bilinmektedir (3). Renal dolaşımın sürdürülmesi ve idrar oluşumuna katkıda bulunur. Tübüloglomerüler geri bildirim mekanizmasında sinyal molekülüdür. Böbrek içi düşük NO seviyeleri, böbrek kan akımını ve GFR'yi azaltmakla birlikte idrarla Na atılımını ve renovasküler direnci artırır. Nitrik oksit, stres aracılı endotelial hücre apoptozunu baskılar ve İR hasarı aracılı apoptozu hafifletir (58).

Böbrekte NO, renin üretimini, glomerüler mesangiyal hücrelerin tonusunu, afferent arteriyollerin ve bazı durumlarda da efferent arteriyollerin direncini kontrol eder. Endotelial NOS, böbreklerde damar tonusunu belirler, nNOS renin salınımını düzenlenleyerek afferent arteriyollerin damar çapını kontrol eder (70). Nitrik oksit, cGMP aracılı olarak Na^{+} geri emilimini, proksimal tübül ve Henle kulpunda $Na^{+}-K^{+}$ ATPaz'ı, proksimal tübülde $Na^{+}-H^{+}$ değişimini, medullada Henle kulpunda Cl^{-} geri emilimini, toplayıcı kanallarda ADH'a bağlı ozmotik su geçirgenliğini inhibe eder (71,72).

Renal İR sırasında böbrek korteksinde NO düzeylerinde azalma olduğu rapor edilmiştir. Endotelial NOS kaynaklı NO'nun doku hasarına karşı koruyucu olduğu, aşırı miktardaki iNOS kaynaklı NO'nun zararlı etkilerinin olduğu, cNOS inhibisyonunun GFR'yi bozabileceği ve cNOS aktivitesinin yukarı düzenlenmesinin hasarı azaltabileceği rapor edilmiştir (64). İndüklenebilir NOS aracılı NO üretiminin baskılanmasının İR hasarının neden olduğu oksidatif stresi baskıladığı ve renal hasara karşı koruyucu olduğu rapor edilmiştir (73)

BÖBREK HASAR MOLEKÜLÜ-1

Böbrek hasar molekülü (KIM-1), tip 1 transmembran glikoproteindir. Dış kısmı bir 6-sistein immunglobülin benzeri bölge, iki *N*-glikolizasyon bölgesi ve bir treonin/serin ve prolinden zengin bir bölge içeren müsin benzeri *O*-glikolize protein özelliğindedir. Sitoplazmik bölgesi oldukça kısadır. Renal formunun pozisyon 350'de ileri derecede korunmuş tirozin kinaz fosforilasyon motifi içermesinin KIM-1'in sinyal molekülü olduğunun göstergesi olduğu bildirilmiştir. Hücre yüzeyindeki (olgun) form 104 kDa peptid içermektedir (74).

Böbrek hasar molekülü-1'in, 1998 yılında izole edildiği, karakteristiğinin tanımlandığı, sağlıklı böbrek dokusunda ölçülemediği ve iskemi sonrası böbrek dokusunda fazla miktarlarda ifade edildiği rapor edilmiştir. Böbrek hasar molekülü-1 pozitif tübüllerin büyük kısmının çeşitli renal hastalıklarda (yaklaşık % 90'ında) proksimal tübül kökenli olduğu, proksimal tübül belirteci aquaporin-1'le çift etiketleme çalışmasıyla tanımlandığı bildirilmiştir. Akut ve kronik böbrek hasarında, KIM-1'in, dilate tübüllerin apikal membranında yerleşik olduğu bildirilmektedir. İskemik hasarda KIM-1 gen ifadesinin, iskemi kaynaklı hasara en hassas olan, kortikomedüller bölümünde S3 segmentinde en belirgin olduğu bildirilmektedir (74).

Böbrek hasar molekülü, iskemide proksimal tübüler hasar için bir belirteçtir ve epitel hücrelerinin dökülmesini azaltmak için yapışma molekülü gibi davranır. Böbrek hasar molekülü-1 fosfatidilserin reseptörü gibi fonksiyon görür, apoptotik hücreler üzerindeki ligandları tanır, bağlar ve onları içselleştirerek tübüler tıkanıklığı azaltır. Değişmiş düşük yoğunluklu lipoprotein ve nekrotik hücre artıklarının alımına aracılık ederek süpürücü reseptör olarak işlev görür (75,76).

Deneysel ve insan böbrek hastalıklarında KIM-1 pozitif tübüllerde makrofaj yığılması ve miyofibroblast dönüşümünün bir belirteci olan α -düz kas aktin (α -SMA) ifadesindeki artışın gözlemlendiği alanların birlikte olduğunun belirlendiği bildirilmiştir (74).

Akut böbrek hasarında, KIM-1 gen ve protein ürünlerinin deneysel böbrek İR hasarından 3 saat sonra yukarı düzenlendiği ve üriner KIM-1 seviyesindeki artışın 24 saatte maksimal seviyeye ulaştığı rapor edilmiştir (74,77).

Üriner KIM-1 atılımını ölçmek için KIM-1'in hücre dışı kısmı yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun için 30 µl idrar örneği yeterlidir. Böbrek hasar molekülü-1'in hücre dışı kısmı oda ısısında stabildir. Böbrek hasar molekülü-1 idrarda 24 saat belirlenebilir (74).

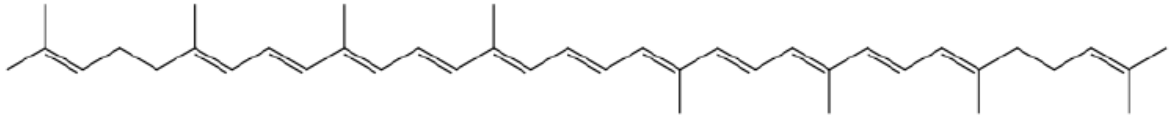
Akut böbrek hasarında idrar KIM-1 band yoğunluğunun sağlıklı gönüllülere göre belirgin şekilde daha fazla olduğu rapor edilmiştir (78). Normal idrar KIM-1 düzeyindeki bir birimlik artışın iskemik ATN varlığının 12 kat artışı ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (74).

LİKOPEN

Likopen karotenoid ailesinin bir üyesidir. Karotenoidler, kimyasal yapılarına göre karotenler ve ksantofiller olarak sınıflandırılır. Karotenler, beta-karoten ve likopeni kapsar. Karotenoidlerin antioksidan özellikleri sağlığa yararlı etkilerinin temel mekanizması olarak kabul edilmiştir. Yüksek serbest radikal ortamı var ise dolaşımdaki karotenoid oranı düşük olacaktır. Karotenoidler insanda karaciğer, akciğer, meme, serviks, deri, yağ ve oküler doku gibi çeşitli doku ve organlarda bulunmaktadır (79).

Domates ve domates kaynaklı gıda ürünleri alımı insan serum ve dokularında çok çeşitli karotenoidlerin emilimine katkıda bulunur. Domatesteki dikkati çeken kırmızı pigment olan likopen, beta-karoten'in asiklik izomeridir (8,80). Bitkiler ve fotosentetik mikroorganizmalar tarafından sentezlenir ancak hayvanlar tarafından sentezlenmez. Domates, karpuz, kayısı, pembe greyfurt, papaya ve pembe guava dahil olmak üzere kırmızı meyve ve sebzeler likopen içerirler (80-82). Gıdalarda likopen ana kaynakları domates ürünleri (yaklaşık % 50-60) ve taze domates (yaklaşık % 30-40)'tir (80). Domateste en fazla bulunan karotenoid likopendir, konsantrasyonu çeşidine göre 0,9-4,2 mg/100 g arasında değişmektedir. Domates sosu ve ketçaptaki likopen işlenmemiş domatese göre daha konsantre (33-68 mg/kg)'dir, taze domateste 100 g'da 0,88-7,44 mg likopen bulunmaktadır (81,83).

Likopenin moleküler formülü $C_{40}H_{56}$, moleküler ağırlığı ise 536'dır. Likopenin kimyasal yapısı aşağıda Şekil 1'de gösterilmiştir. Likopen yüksek ölçüde doymamış 11 eşlenmiş (konjuge) ve 2 eşlenmemiş (konjuge olmayan) çift bağ içeren bir hidrokarbondur. Bir polien olarak ışık, termal enerji ve kimyasal reaksiyonlar tarafından cis-trans izomerizasyonuna uğrar (80,81). Likopen, beta-karotenden 2 kat, alfa-tokoferolden ise 10 kat fazla tekli oksijen tutma yeteneğine sahip, en güçlü antioksidandır (80,82,83).



Şekil 1. Likopenin kimyasal yapısı (84)

İnsan besin kaynaklarında domates all-trans formunda bulunurken kan, plazma ve dokularda büyük ölçüde cis-izomer formunda bulunur. Domatesi ısıtma işlemi all-trans likopeni çeşitli cis-izomerlerine çevirir. İn-vivo izomerizasyona uğrayabilmesine rağmen, cis-likopenin çözünürlüğü daha fazladır ve ince barsak lümeninden all-trans formuna göre daha iyi emilir. Likopenin canlıda tanımlanmış olan izomerizasyon yerleri, gastrointestinal lümen, karaciğer ve enterositlerdir (85).

Likopen lipofilik bir molekül olması onun emilimini, taşınmasını ve atılımını etkiler (86). Likopenin, ince barsakta safra tuzları ile miçeller oluşturarak ve pasif taşıma ile emildiği rapor edilmekle birlikte, karotenoidlerin, süpürücü reseptör B sınıfı tip 1 protein (SR-B1) taşıyıcısı aracılığı ile aktif olarak ta emilebildiği bildirilmiştir (81,83,87). Likopen ve diğer karotenoidler, şilomikronlarla birleşerek barsak mukozasından genel dolaşıma lenfatik sistem aracılığı ile taşınırlar (81). Karotenoidler kanda lipoproteinlerle taşınırlar ve likopenin primer taşıyıcısı LDL'dir (81,88). Likopenin yarılanma ömrünün doza bağlı olarak (10-120 mg'a kadar) 28 ile 62 saat arasında değiştiği bildirilmektedir (81).

Karotenoidler kanserde, kardiyovasküler hastalıklarda doğrudan birçok redoks duyarlı sinyal yollarını değiştirirler. Likopen, antioksidan yanıt elemanları (ARE), ROT üreten enzimler, küçük GTP-azlar, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), nüklear faktör- κ B (NF- κ B), aktivatör protein-1 (AP-1) gibi hücre düzenleyici fonksiyonlardan sorumlu redoks duyarlı sinyal yollarını ve aynı zamanda hücre döngüsü ve apoptozisi düzenleyen p53, Bcl-2 ailesi proteinleri ve Ku proteinler gibi redoks duyarlı proteinleri düzenlenmektedir (82,83).

Likopenin oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin, singlet oksijen tutucu ve serbest radikalleri süpürücü etkisine bağlı olduğu bildirilmiştir (81,82,85). Likopenin, OH, NO ya da peroksinitrit gibi ROT radikallerini yakalaması onun oksidatif yıkımına neden olur. Bu yüzden likopenin, canlı organizmada, lipitler, proteinler ve DNA'nın oksidasyonuna karşı koruyucu olabileceği rapor edilmiştir (89).

Likopenin lipit düşürücü etkilerinin incelendiği deneysel çalışmalarda, diyetine 60 mg/gün dozunda likopen ilave edilen 6 erkek hastada plazma LDL konsantrasyonlarının % 14 oranında azaldığı, 4 mg likopen içeren domates ekstrakt kapsülünün 6 ay süre ile ilave olarak verildiği postmenapozal kadınlarda da plazma kolesterol ve LDL seviyelerinin düştüğü

bildirilmiştir (88). Beyinde İR'nin neden olduğu beyin hasarında SOD aktivitesini artırarak apoptozisi baskılayarak koruyucu olduğu, yenidoğan fare kardiyomiyositlerinde hipoksi/reoksijenasyon hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği, testiste İR'nin neden olduğu oksidatif hasarı giderdiği, karaciğerde İR'nin neden olduğu hasarda anti-inflamatuar aktivite göstererek hasarı azaltıcı etkileri olduğu gösterilmiştir (8,90-92). Bunlara ek olarak likopenin, mide ülserine karşı koruyucu olduğu, kanser hücrelerinde apoptozu uyardığı ve hücre döngüsünü engellediği bildirilmiştir (81,89).

Ayrıca likopenin birçok deneysel modelde etkilerinin incelendiği görülmektedir. Likopenin böbrekte meydana gelen hasarlarla ilgili olarak, İR'nin neden olduğu hasarda renal hasarı azalttığı, civaya bağlı nefrotoksisitede doza bağlı olarak koruyucu olduğu, diabetik nefropatide böbrekteki metabolik homeostazisi koruduğu, kolistine bağlı nefrotoksisitede nükleer faktör eritroid-2 ilişkili faktör 2 (Nrf-2)/hemoksijenaz-1 (HO-1) yolağını aktive ederek koruyucu etki gösterdiği, doksorubisinin oluşturduğu böbrek toksisitesinde antioksidan savunma sistemini güçlendirdiği bildirilmiştir (9-11,93).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan (Ek-1) çalışma için onay alındı. Çalışmamızda; Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen 300-350 g ağırlığında 32 adet erkek Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlara standart sıçan yemi ve musluk suyu ad libitum (serbest olarak) verildi. Laboratuvar koşulları standart (22 ± 1 °C ve 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) koşullarda tutuldu.

Denekler, her grupta 8 sıçan olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Tüm gruptaki hayvanlara verilecek olan likopen ya da likopenin çözücüsü olan mısır yağı operasyondan önce 24 saatte bir kez olmak üzere ve son doz operasyondan 60 dk önce olacak şekilde, 7 gün süre ile toplamda 7 doz olmak üzere gavaj yolu ile verildi (94).

Sıçanlara kas içi enjeksiyon yolu ile 10 mg/kg ksilazin (Rompun, Bayer, Türkiye) ve 90 mg/kg ketamin (Ketasol, Richterpharma AG, Wels-Austria) anestezisi uygulandı ve 37 °C'de ısıtılmış deney masası üzerinde karın bölgesi traş edilip betadin ile antisepsi sağlanarak, median hattın insizyonu açılarak karın organları steril gazlı bez üzerine alındı (95). Sağ ve sol böbrek damarları kör diseksiyonla açığa çıkarılarak, mısır yağı verilen ve taklit operasyon uygulanan Kontrol (K) grubu ile likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan Kontrol+Likopen (K+LK) grubundaki sıçanlar hariç; iskemi/reperfüzyon uygulananan (İR) grubu ile likopen verilen ve İR uygulanan İR+Likopen (İR+LK) grubundaki sıçanların böbrek damarlarına (arter ve ven) kan akımı nontravmatik mikrovasküler klemple (FST,85 g, Amerika) kesilerek 60 dk süre ile iskemi uygulandı (96). Deney süresince, batın açıkken, zorunlu kaybedilen sıvıyı yerine koymak amacıyla vücut ağırlığının % 5'i oranında 37 °C'deki steril fizyolojik serum batın içine verildi. Altmış dk iskemi sonunda klempler alınarak

kan akımı sağlandıktan sonra 2 dk süreyle böbreklerdeki renk değişimi gözlemlendi ve insizyon kapatılarak betadin ile sterilizasyon yapıldı. Mısır yağı verilen ve taklit operasyon uygulanan K grubu ile likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubundaki sıçanlara da aynı prosedür uygulandı, ancak böbrek damarları klemplenmeyerek 60 dk sonunda insizyon kapatılarak taklit operasyon yapıldı.

Tüm gruplarda gavaj yolu ile verilen miktar 2 ml/kg dozunda olacak şekilde verildi.

Kontrol (K) Grubu: Bu gruptaki sıçanlara 7 gün süre ile ve son doz operasyondan 60 dk önce olmak koşulu ile likopenin çözücüsü olan mısır yağı 2 ml/kg hacminde gavaj yolu ile verildi. Bilateral olarak renal arter ve ven diseksiyonla ayrılarak 60 dk beklendikten sonra batın yeniden kapatıldı.

Kontrol+Likopen (K+LK) Grubu: Bu gruptaki sıçanlara 7 gün süre ile ve son doz operasyondan 60 dk önce olmak koşulu ile 10 mg/kg dozunda likopen, 2 ml/kg hacminde mısır yağı içinde çözdürülerek gavaj yolu ile verildi (97). Bilateral olarak renal arter ve ven diseksiyonla ayrılarak 60 dk beklendikten sonra batın yeniden kapatıldı.

İskemi/reperfüzyon (İR) Grubu: Bu gruptaki sıçanlara 7 gün süre ile ve son doz operasyondan 60 dk önce olmak koşulu ile likopenin çözücüsü olan mısır yağı 2 ml/kg hacminde gavaj yolu ile verildi. Bilateral olarak 60 dk süre ile yapılan renal iskeminin ardından batın kapatıldı.

İskemi/reperfüzyon+Likopen (İR+LK) Grubu: Bu gruptaki sıçanlara 7 gün süre ile ve son doz operasyondan 60 dk önce olmak koşulu ile 10 mg/kg dozunda likopen, 2 ml/kg hacminde mısır yağı içinde çözdürülerek gavaj yolu ile verildi. Bilateral olarak 60 dk süre ile yapılan renal iskeminin ardından batın kapatıldı.

Tüm gruplardaki sıçanlar batın kapatıldıktan sonra 24 saat süre boyunca metabolik kafeslerde tutularak idrar örnekleri toplandı. İdrar toplama sürelerinin dolmasından sonra sıçanlar 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin kas içine verilerek yapılan anestezi altında kalpten kan ve her iki böbreği alınarak sakrifiye edildi. Çıkarılan böbrekler buz kalıbı üzerine alınarak bistüri yardımıyla kapsülü uzaklaştırıldı. Böbrekler uzunlamasına ikiye bölündü. Sağ böbreğin bir yarısı patolojik inceleme için % 10'luk formalin solüsyonuna konuldu ve diğer parçalar soğuk FS içine konulup daha sonra kurutma kağıdı ile kurutulup alüminyum folyo içinde analizler yapılincaya kadar -80°C 'de saklandı. Alınan kan ve toplanan idrar örnekleri tüplere aktarıldı, soğutmalı santrifüj ile $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 3000 devirde 10 dk santrifüj edildi. Serum ve idrar örnekleri ependorf tüplere alınarak laboratuvar çalışmaları yapılincaya kadar -80°C 'de saklandı.

Kullanılan Cihazlar

Derin dondurucu : Thermo Elektron Corporation, USA
Hassas terazi : Mettler Toledo, AB204-S, İsviçre
Soğutmalı santrifüj : MPW 350R, Polonya
Vorteks : Heidolp, Almanya
pH metre : InoLab, Level 1, Almanya
Manyetik karıştırıcı : Biosan MSH-300, Litvanya
Homojenizatör : Polytron Kinematica AG, İsviçre
Spektrofotometre : Spectronic Unicam Helios α , İngiltere
Su banyosu : Nickel Clifton Elektro LTD, İngiltere
Otomatik pipetler: Biohit Proline, Finlandiya, Mettler Toledo, İsviçre,
Eppendorf Multipipette/Repeate(Xstream), Almanya
Otoanalizör : Abbot Architect c16, Amerika
ELISA okuyucu : Biotek, μ Quant, Amerika

Kullanılan Kimyasal Maddeler

Likopen Redivivo : Sigma Aldrich, Amerika
Rat KIM-1 ELISA Kiti : Bioassay, Amerika
iNOS antikor : Spring, Amerika
eNOS antikor : Spring, Amerika
Tiyobarbitürik asit : Merck, Almanya
Sülfanilamid : Sigma, Almanya
DTNB : Sigma, Almanya
NaCl : Merck, Almanya
NNDA : Sigma, Almanya
CuSO₄ : Panreac, İspanya
EDTA : Merck, Almanya
Piridin : Merck, Almanya
Sodyum dodesil sülfat: Merck, Almanya
NaOH : Merck, Almanya
KH₂PO₄ : Merck, Almanya
Na₂HPO₄ : Merck, Almanya
Glisin : Merck, Almanya

KCl : Merck, Almanya
HCl : Merck, Almanya
Butanol : Merck, Almanya
Etanol : Riedel de Haen, Almanya
Asetik asit : Merck, Almanya
Na₂CO₃ : Riedel de Haen, Almanya

Biyokimyasal Çalışmalar

Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Laboratuvarı'nda (Abbot Architect c16, Amerika) otoanalizör kullanılarak, idrar kreatinin ve sodyum düzeyleri; serum alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve kreatin kinaz (CK) aktiviteleri ile sodyum (Na), potasyum (K⁺), üre, kreatinin düzeyleri ölçüldü. Kreatinin klirensi standart klirens formülüne göre hesaplanarak kg/vücut ağırlığına bölündü.

$$\text{Kreatinin klirensi (ml/dk)} = \frac{\text{İdrar kreatinin (mg/dl)} \times \text{Günlük idrar hacmi (ml)}}{\text{Serum kreatinin (mg/dl)} \times 1440}$$

Fraksiyonel sodyum atılımı % olarak hesaplandı.

$$\text{FeNa (\%)} = \frac{\text{İdrar Na (mmol/l)} \times \text{Serum kreatinin (mg/dl)} \times 100}{\text{İdrar kreatinin (mg/dl)} \times \text{Serum Na (mmol/l)}}$$

Böbrek Dokusu Homojenizasyonu

Çalışma yapılıncaya kadar -80 °C'de saklanan böbrekler alınıp buz çözülmeyen bistüri ile kesildi, tartıldı ve tüplere konuldu. 0.15 M KCl solüsyonu, MDA ve GSH düzeyleri için; 50 mM fosfat tamponu (pH 7.4), NO düzeyi için % 10'luk (w:v) olacak şekilde hazırlandı. Tüpler buz üzerinde tutularak homojenizatör ile homojenize edilerek hazırlanan homojenatlar 10 dk +4 °C'de 4000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant kısmı ayrıldı. Elde edilen süpernatantlar MDA, GSH, NO ve protein düzeylerinin spektrofotometrik olarak ölçümlerinde kullanıldı.

Malondialdehit Miktar Tayini

Lipit peroksidasyonunun bir belirteci olan MDA'nın sıcak ve asit ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girmesi neticesinde ortaya çıkan pembe renk spektrofotometrik yöntemle ölçüldü (98,99).

Çözeltiler:

1. % 8.1'lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)
2. % 20'lik Asetik asit (NaOH ile pH 3.5 olarak ayarlandı)
3. % 0.8'lik Tiyobarbitürik asit (TBA)
4. n-Butanol/Piridin (15:1)

Deneyin yapılışı: 0.2 ml 10 kat dilüe edilmiş doku homojenatı; 0.2 ml % 8.1'lik SDS, 1.5 ml % 20'lik asetik asit, 1.5 ml % 0.8'lik TBA ve 0.6 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım 1 saat süre ile 95 °C'deki sıcak su banyosunda tutuldu. Musluk suyu altında soğutulduktan sonra üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) eklenerek 1 dABHka vorteksle karıştırıldı. Organik fazın ayrılması için 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı absorbanslar okundu.

Sonuçların hesaplanması;

$$C \text{ (nmol/ml)} = \frac{A \times V_t \times 10^9}{E \times V_s \times L \times 10^3}$$

A: Absorbans

V_t: Total reaksiyon hacmi

10⁹: Molün nanomole çevrilmesi

V_s: Total reaksiyon içindeki numune hacmi

E: Tüketim katsayısı (1.56 10⁵ M⁻¹ cm⁻¹)

L: Küvet çapı

10³: Litrenin mililitreye çevrilmesi

Sonuçlar MDA nmol/g yaş doku olarak ifade edildi.

Glutasyon Düzeyinin Ölçümü

Ellman ayıracı ile doku homojenatlarındaki serbest sülfidril gruplarının oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak saptanması glutasyon düzeyinin belirlenmesi için kullanıldı (100).

Çözeltiler:

1. Proteinsizleştirme çözeltisi: 120 g NaCl, 6.68 g metafosforik asit ve 0.8 g sodyum-EDTA tartıldı ve 400 ml distile suda çözüldü,
2. 0.3 M Disodyum fosfat (Na_2HPO_4),
3. 1 mM Ellman ayıracı: 4mg 5.5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DNTB), 10 ml % 1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözüldü.

Deneyin yapılışı: 0.25 ml doku homojenatı üzerine 0.75 ml 0.15 M KCl ve 1.5 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi. Bu karışım 20 dk 3000 rpm'de santrifüj edildikten sonra 0.5 ml süpernatant alındı ve üzerine 2 ml M Na_2HPO_4 ve 0.5 ml Ellman ayıracı eklendi. Spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı absorbanslar okundu. Ekstinksiyon katsayısı ($\Sigma=1.36 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak GSH düzeyleri hesaplandı. Sonuçlar $\mu\text{mol GSH/g doku}$ olarak bildirildi.

Nitrat ve Nitrit Tayini

Nitrat ve nitrit tayini Cortas ve Wakid'in tarif ettiği yönteme göre ölçüldü (101).

Kullanılan reaktifler;

1. Kadmiyum granülleri.
2. Glisin-NaOH buffer: 7.5 g glisin bir miktar distile suda çözüldü. 2 mol/l NaOH çözeltisi ile pH'sı 9.7'ye ayarlandı.
3. Sülfanilamid: 2.5 g sülfanilamid 250 ml sıcak 3 mol/l HCl içinde çözüldü ve daha sonra soğumaya bırakıldı.
4. N-Naphthylethylene diamine (NNDA): 50 mg NNDA 250 ml distile su içinde çözüldü.
5. Çinko Sülfat (ZnSO_4): 75 mmol/l; 10.8 mg alınıp 500 ml'ye tamamlandı.
6. BABHr Sülfat (CuSO_4): 5 mmol/l; 250 mg alınıp 200 ml'ye tamamlandı.
7. Sodyum Hidroksit (NaOH): 55 mmol/l; 1.1 g alınıp 500 ml'ye tamamlandı.
8. Standartlar: NaNO_2 standardı 10 mmol/l'lik sodyum tetra borat çözeltisi içinde hazırlanır (69 mg NaNO_2 , 380 mg borat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) 100 ml içinde çözülür).

Potasyum nitrat (KNO_3) standardı; 102 mg potasyum nitrat alınıp 10 mmol'lik 100 ml sodyum tetra borat içinde çözüldü.

Deneyin yapılışı: Deproteinizasyon: Test tüpüne 0.5 ml numune 0,25 ml distile su, 1 ml $ZnSO_4$, 1.25 ml NaOH ilave edilip vorteksle karıştırılıp 10 dk oda ısısında bekletildi. Daha sonra 10 dk süre ile 4000 rpm'de santrifüj edildi.

Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu: Granüller 3 defa distile su ile yıkandı. 1-2 dk içinde $CuSO_4$ 'de çalkalanarak bekletildi. Ardından 3 defa glisin-NaOH ile yıkayıp kurutma kâğıdı ile kurutularak 10 dk içinde kullanıldı.

Potasyum nitrat standardından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 mM'lık seri dilüsyonlar hazırlandı ve numunelere uygulanan tüm işlemler standartlara da uygulandı. Tüm tüplere 1ml glisin-NaOH buffer konuldu. 1'er ml deproteinize numunelerden ve standartlardan alındı, 2.5 g tartılan ve aktivasyon işleminden geçirilen kadmiyumlardan tüm tüplere eklendi ve 90 dk oda ısısında karıştırarak beklendi.

Nitrit Ölçümü

Bu tüplerden, 90 dk'lık bekleme süresinden sonra 2'şer ml alınarak üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA ilave edildi. Vorteksle karıştırıldı ve 45 dk beklendikten sonra 545 nm'de okuma yapıldı.

Direkt NO_2^- ölçümü: $NaNO_2$ standartlarından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 nM'lık seri dilüsyonlar hazırlandı ve deproteinize numunelerden kadmiyum ile reaksiyona sokmadan doğrudan 2'şer ml alınarak ayrı tüplere aktarıldı. Üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA eklendi. 45 dk'lık sürenin ardından 545 nm'de okuma yapıldı.

Nitrat Ölçümü

Nitrit değerleri bulunan NO_3^- değerlerinden çıkarıldıktan sonra sulandırma faktörü olan 20 ile çarpılıp yine nitrat standardından elde edilen faktör ile çarptıktan sonra çıkan sonuç $\mu\text{mol/mg}$ protein olarak hesaplandı.

KIM-1 Ölçümü

Böbrek hasar molekülü-1 ölçümü için BioAssay Works Rat KIM-1 ELISA (Cat. No: R-RENA-E-001) test kiti kullanıldı. Deneysel çalışmalar yapılmaya kadar -80°C 'de saklanan idrar örnekleri ve kullanılacak olan çözeltiler oda ısısına gelinceye kadar bekletildi. Antikor kaplı olmayan tüplerde örnek seyreltici tampon eklenerek idrar numuneleri 1:10

oranında seyreltildi. Sıçan KIM-1 antikor kaplı plakada bulunan şeritler yıkama çözeltisi ile 3 defa yıkandı. Son yıkama sırasında yıkama çözeltisi kuyucuklarda 30 dk süre ile bekletildikten sonra çözelti kuyucuklardan boşaltıldı. Bütün kuyucuklara 50µl KIM-1 Mab çözeltisinden pipetlendi. Daha sonra negatif kontrol, üretici firmanın yönergesine uygun olarak hazırlanmış olan kalibratörler ve seyreltilmiş olan numunelerden de 50'şer µl her bir kuyucuğa pipetlendi. İnkübasyon için 37 °C'de, 30 dk bekletildikten sonra plak boşaltılarak kuyucuk başına 350 µl yıkama çözeltisi olacak şekilde ve her yıkama arasında 30 sn süre ile bekleme yapılarak, 5 defa yıkama yapıldı. Her bir kuyucuğa 100 µl peroksidaz konjugat çözeltisinden pipetlendi ve 37 °C'de, 30 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra plak boşaltılarak kuyucuk başına 350 µl yıkama çözeltisi olacak şekilde ve her yıkama arasında 30 sn süre ile bekleme yapılarak, 5 defa yıkama yapıldı. Her bir kuyucuğa ABTS substrat çözeltisinden 100 µl pipetlenerek 20 dk oda ısısında ve karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun arkasından her bir kuyucuğa 100 µl reaksiyonu sonlandırıcı (stop) çözelti eklendi. Ana dalga boyu 405 nm, referans dalga boyu 490 nm filtreleri kullanılarak ELISA okuyucuda okuma işlemi yapıldı.

Histolojik Çalışmalar

Işık mikroskobu incelenmesi için sagittal olarak kesilen böbrekler ve % 10'luk tamponlu formalinde fikse edildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Bloklamanın ardından 4 µm kalınlığında kesitler alınarak hematoksil-eozin (HE) ile boyandı ve ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Böbrek hasarı (stoplazmik vakuol formasyonu, tübüler hücre nekrozu ve tübüler dilatasyon) derecesini belirleme amacıyla semikantitatif bir skala kullanıldı. Hasarın yayılımı ve tutulan böbrek alanı yüzdesi bu skalada derecelendirildi. Skala değerleri 0-4 arasında skorlandı.

- 0: Normal böbrek (Hasar yok)
- 1: Minimal hasar (% 0-5 tutulum)
- 2: Hafif dereceli hasar (% 5-25 tutulum)
- 3: Orta dereceli hasar (% 25-75 tutulum)
- 4: Şiddetli hasar (% 75-100 tutulum)

Ek olarak kast gözlenen tübüller % cinsinden ifade edildi. Sayım yapılırken sadece proksimal ve distal tübüllerin bulunduğu ancak toplayıcı kanalların olmadığı alanlarda sayım yapılması göz önünde bulunduruldu (102).

İmmünohistokimyasal Çalışmalar

Bütün gruplarda immünohistokimyasal boyama için sağ böbrek kullanıldı. Tamponlu formalin (% 10'luk) ile fikse edilip parafine gömülmüş olan tüm doku bloklarından, 4 µm kalınlığında kesitler yapılarak polizinli lamlara alındı. Önce bir gece boyunca 37 °C'lik etüvde ve ardından 56 °C'lik etüvde 1,5-2 saat boyunca inkübasyon yapıldı. Üç kere, her defasında 10'ar dk süre ile 60 °C'lik etüvde, ksilende bekletildi. Ardından üç kere 10'ar dk sırası ile 96, 80, 70 derecelik alkol banyosuna alındı. Bu işlemi takiben lamlar 3 kere su banyosuna alındı. Antijenin yeniden kazanılması amacıyla 1/10 oranında distile su ile sulandırılmış (90 ml distile su + 10 ml Citrat buffer), "CİTRAT buffer 10X pH 8,0" (Kod: 15-M820, Lot.50930) çözeltisi kullanıldı. Kesitler bu çözeltide mikrodalga fırında 900 watt' ta 20 dk, 600 watt'ta 10 dk süre ile kaynatıldı. Dışarıda oda sıcaklığına gelinceye kadar 20 dk bekletildi. Ardından lamlar 3 kez distile sudan geçirildi. Dokularda bulunan endojen peroksiti bloke etmek için 10 dakika süre ile 37 °C'lik etüvde metanolde hazırlanmış % 3'lük H₂O₂ uygulandı. Lamlar 3 kez distile sudan geçirilerek, 10 dk süre ile PBS (pH 7,4) çözeltisinde tutuldu. Lamlardaki kesitlerin etrafı Pap-pen ile çizilerek reaktiflerin kesit dışına taşması engellendi. Large Volume Ultra V Blok (Kod No: TA-125-UB, Neomarkers, Fremont, CA, ABD)'tan her lama damlatılarak 7 dk bekletildi. Ardından lamlar üzerindeki çözelti PBS ile uzaklaştırıldı. Her bir olgu için ayrı ayrı numaralandırılmış lamlara eNOS ve iNOS antikorları damlatılıp oda sıcaklığında, ancak nemli ortamda ("chamber" içinde) 45 dk süre ile inkübasyona bırakıldı. Distile su ile lamlar üzerindeki antikorlar uzaklaştırıldı ve 5 dk süre ile PBS çözeltisinde tutuldu. Super Block Sensi Tek Anti Polyvalent HRP kitinin (Scy Tek, Kod. SHP 125, Utah, USA) 1 nolu Super Block (Ref: AAA125, lot. 18325) çözeltisi zemin boyanmasını engellemek amacıyla damlatıldı ve 10 dk bekletildi. Ardından lamlar PBS çözeltisi ile 5 dk yıkandı ve yukarıda tanımlanan kitin 2 nolu biotine bağlanacak olan işaretleyici çözeltisi Anti-Polyvalent Biotinylated antibody (Ref: ABF125, Lot. 18452) damlatılarak 20 dk bekletildi. Lamlara tekrar PBS çözeltisi ile 5 dk yıkama işlemi yapıldı ve yine aynı kitin 3 nolu çözeltisi, Sensi Tek HRP Streptavidin biotinylated peroxidase-complex, (Ref: ABG125, Lot.18452) damlatılarak 20 dk bekletildi. PBS ile 3 dk yıkanan lamlara, Scy Tek AEC chromogen/substrate kit (ref: ACJ 125, Lot. 18739) (1 mililitre AEC substrat buffer + 1 damla AEC chromogen (Ref: ACD 030, Lot.18618)) damlatıldı ve 10 dk bekletildi. Musluk suyunda 5 dk süre ile yıkanan lamlar, 1.5 - 2 dk Harris hematoksilen çözeltisinde tutularak zıt boyama yapıldı ve lamlar musluk suyunda yıkandı. Ardından % 5'lik amonyak çözeltisinde 15 sn

tutularak, morartma işlemi gerçekleştirildi. Musluk suyunda yıkanan lamalar, Aqueous-Mount (Ref: AML030, Lot. 13457) yardımı ile lamelle kapatıldı.

Hazırlanmış kesitler immünohistokimyasal boyama ışık mikroskobu ile değerlendirildi. iNOS ve eNOS antikoru ile boyanma değerlendirilirken boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı ayrı ayrı değerlendirildi. Boyanma yoğunluğu için hücrelerdeki sitoplazmik boyanma göz önüne alındı. Hiç boyanma gözlenmeyen kesitlerde 0, hafif boyanan kesitler +1, orta yoğunlukta boyanan kesitler +2, kuvvetli boyanan kesitler +3 şeklinde derecelendirildi. Boyanma yaygınlığı 0 ile 100 arası % olarak değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu skorlarının çarpılması ile 0 ile 300 arasında immunohistokimyasal skora elde edildi (5).

İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda elde edilen bulguların istatistiksel analizleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD'da yapıldı. Böbrek GSH, MDA düzeyleri, idrar KIM-1 düzeyleri, böbrek, serum ve idrardaki NO_2^- ve NO_3^- düzeyleri, biyokimyasal analizler, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler sonucunda elde edilen bulgular ortalama (ort) \pm standart (sd) sapma olarak ifade edildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Tek Örneklem Kolmogorov-Smirov testi ile incelendi. Taklit operasyon uygulanan K grubu ile likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubu, K ile İR uygulanan İR grubu, İR grubu ile likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubu arası farklılığı saptamada Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık sınır değeri olarak $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizlerde SPSS 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmamızda sıçanlarda 60 dk iskemi ve 24 saat reperfüzyon (96) uygulamasıyla oluşturulan deneysel iskemik ABH modelinde, her grupta 8 adet sıçan olmak üzere 4 grup ve toplamda 32 adet sıçan üzerinde çalışıldı. Reperfüzyonun 24. saatinde sıçanlar anestezide alınarak sıçanlara ait kan ve doku örnekleri alındı. Deney boyunca gruplarda herhangi bir kayıp yaşanmadı, ancak likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubundaki 1 sıçanın serum kreatin kinaz (CK) düzeyi ölçülemedi; likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubundaki 2 sıçandan idrar örneği alınamadığı için 6 sıçanın idrar KIM-1, idrar Na, idrar üre ve idrar kreatinin düzeyleri ölçülebildi.

Tüm gruplardaki sıçanlara ait, doku MDA düzeyi nmol/g doku, doku GSH düzeyleri $\mu\text{mol/g}$ doku, doku NO düzeyi $\mu\text{mol/mg}$ protein, serum sodyum (Na) düzeyi mmol/l, serum potasyum (K^+) düzeyi mmol/l, serum üre düzeyi mg/dl, serum kreatinin düzeyi mg/dl, serum alanin aminotransferaz (ALT) düzeyi U/l, serum aspartat aminotransferaz (AST) düzeyi U/l, serum kreatin kinaz (CK) düzeyi U/l, serum NO düzeyi $\mu\text{mol/L}$, idrar KIM-1 düzeyi ng/ml, idrar kreatinin düzeyi mg/dl, idrar sodyum (Na) düzeyi mmol/L, idrar NO düzeyi $\mu\text{mol/l}$, kreatinin klirensi standart klirens formülüne göre hesaplanarak kg/vücut ağırlığına bölündü (ml/dk) ve FeNa, % olarak hesaplandı. Gruplara ait veriler Tablo 1-4'de, deney gruplarının parametrelerine ait ortalamalar Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 1. K grubundaki her bir sıçana ait biyokimyasal veriler

SN	MDA	GSH	Böbrek NO	Serum Na	Serum K ⁺	Serum üre	Serum kreatinin	ALT	AST	CK	Serum NO	İdrar hacmi	İdrar KIM-1	İdrar kreatinin	İdrar Na	İdrar NO
	nmol/g doku	µmol/g doku	µmol/mg protein	mmol/l	mmol/l	mg/dl	mg/dl	U/l	U/l	U/l	µmol/l	ml (24 saat)	ng/ml	mg/dl	mmol/l	µmol/l
1	2,69	2,73	38,51	149,00	4,50	38,00	0,51	74,00	451,00	682,00	3,65	6,00	6,06	197,07	66,00	112,45
2	2,65	3,08	16,35	142,00	5,40	35,00	0,50	123,00	696,00	530,00	2,95	5,00	16,24	165,20	35,00	236,10
3	2,05	2,78	29,85	146,00	4,70	43,00	0,55	129,00	816,00	439,00	2,37	5,00	10,07	187,20	22,00	250,62
4	2,43	2,40	12,38	144,00	6,50	35,00	0,52	104,00	554,00	611,00	1,91	7,00	4,93	150,80	110,00	197,51
5	2,61	3,31	18,34	144,00	4,60	41,00	0,51	232,00	669,00	662,00	2,24	7,50	5,52	159,32	46,00	119,09
6	2,35	3,15	19,69	145,00	4,70	46,00	0,52	117,00	593,00	277,00	4,15	5,00	11,47	176,52	78,00	216,18
7	2,48	2,37	19,19	143,00	5,00	37,00	0,51	417,00	816,00	297,00	3,07	7,50	12,68	174,20	64,00	156,85
8	2,72	2,79	26,88	141,00	5,90	45,00	0,51	118,00	532,00	458,00	3,73	14,00	1,71	55,23	103,00	24,48

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Nitrik oksit; Na: Sodyum; K⁺: Potasyum; ALT: Alanin aminotransferaz; AST: Aspartat aminotranferaz; CK: Kreatin kinaz; KIM-1: Böbrek hasar molekülü-1.

Tablo 2. K+LK grubundaki her bir sıçana ait biyokimyasal veriler

SN	MDA	GSH	Böbrek NO	Serum Na	Serum K ⁺	Serum üre	Serum kreatinin	ALT	AST	CK	Serum NO	İdrar hacmi	İdrar KIM-1	İdrar kreatinin	İdrar Na	İdrar NO
	nmol/g doku	µmol/g doku	µmol/mg protein	mmol/l	mmol/l	mg/dl	mg/dl	U/l	U/l	U/l	µmol/l	ml (24 saat)	ng/ml	mg/dl	mmol/l	µmol/l
1	3,99	2,81	29,54	150,00	5,20	41,00	0,57	132,00	694,00	552,00	5,44	6,00	6,47	171.97	8,00	153,53
2	4,08	2,17	17,36	152,00	5,70	35,00	0,55	118,00	609,00	993,00	3,86	5,00	10,61	187.61	40,00	154,77
3	4,23	2,81	19,11	155,00	5,40	55,00	0,63	201,00	1038,00	924,00	2,32	5,50	7,01	154.11	40,00	174,27
4	3,93	2,75	9,62	147,00	7,00	40,00	0,56	135,00	771,00	1074,00	3,44	7,50	6,99	131.97	23,00	132,78
5	3,71	3,25	31,07	142,00	5,00	36,00	0,46	69,00	359,00	382,00	2,16	9,50	3,46	115.01	43,00	164,32
6	3,95	3,30	34,79	142,00	4,90	32,00	0,49	100,00	746,00		3,32	7,50	5,79	140.90	7,00	146,06
7	3,32	2,94	27,65	138,00	6,60	32,00	0,44	84,00	485,00	848,00	2,49	8,00	3,04	121.76	26,00	131,95
8	3,12	2,82	34,11	139,00	5,60	32,00	0,43	76,00	342,00	387,00	2,20	11,00	3,48	99.75	59,00	119,92

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Nitrik oksit; Na: Sodyum; K⁺: Potasyum; ALT: Alanin aminotransferaz; AST: Aspartat aminotranferaz; CK: Kreatin kinaz; KIM-1: Böbrek hasar molekülü-1.

Tablo 3. İR grubundaki her bir sıçana ait biyokimyasal veriler

SN	MDA	GSH	Böbrek NO	Serum Na	Serum K ⁺	Serum üre	Serum kreatinin	ALT	AST	CK	Serum NO	İdrar hacmi	İdrar KIM-1	İdrar kreatinin	İdrar Na	İdrar NO
	nmol/g doku	µmol/g doku	µmol/mg protein	mmol/l	mmol/l	mg/dl	mg/dl	U/l	U/l	U/l	µmol/l	ml (24 saat)	ng/ml	mg/dl	mmol/l	µmol/l
1	3,20	3,04	18,69	142,00	4,60	239,00	2,82	96,00	533,00	567,00	7,34	23,00	32,89	22,95	11,00	20,33
2	3,55	2,25	19,26	146,00	5,20	184,00	2,45	102,00	688,00	345,00	5,48	17,00	16,85	33,40	58,00	26,14
3	5,30	2,28	18,07	136,00	5,90	284,00	4,66	135,00	729,00	628,00	6,06	11,00	18,77	17,25	42,00	29,05
4	4,78	1,83	26,50	132,00	6,30	288,00	4,45	180,00	764,00	891,00	7,47	12,00	15,64	12,91	37,00	41,08
5	5,54	1,82	51,47	132,00	4,90	286,00	4,68	147,00	788,00	816,00	5,64	7,50	18,01	18,47	59,00	37,34
6	3,82	3,13	43,24	129,00	4,30	178,00	1,23	163,00	844,00	902,00	6,60	20,00		39,29	33,00	4,56
7	4,62	2,35	38,05	145,00	5,50	56,00	0,67	82,00	740,00	768,00	3,98	9,00	13,47	117,11	42,00	110,37
8	4,22	1,34	46,12	146,00	6,90	326,00	4,94	149,00	854,00	777,00	6,06	11,00	14,66	16,46	46,00	31,54

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutasyon; NO: Nitrik oksit; Na: Sodyum; K⁺: Potasyum; ALT: Alanin aminotransferaz; AST: Aspartat aminotranferaz; CK: Kreatin kinaz; KIM-1: Böbrek hasar molekülü-1.

Tablo 4. İR+LK grubundaki her bir sıçana ait biyokimyasal veriler

SN	MDA	GSH	Böbrek NO	Serum Na	Serum K ⁺	Serum üre	Serum kreatinin	ALT	AST	CK	Serum NO	İdrar hacmi	İdrar KIM-1	İdrar kreatinin	İdrar Na	İdrar NO
	nmol/g doku	µmol/g doku	µmol/mg protein	mmol/l	mmol/l	mg/dl	mg/dl	U/l	U/l	U/l	µmol/l	ml (24 saat)	ng/ml	mg/dl	mmol/l	µmol/l
1	3,46	1,58	45,09	137,00	5,40	279,00	3,89	143,00	916,00	985,00	8,38	13,00	19,77	11,95	15,00	14,52
2	3,62	2,00	30,60	133,00	7,20	321,00	5,51	118,00	833,00	699,00	5,48					
3	2,54	2,11	39,12	124,00	6,40	309,00	4,61	192,00	808,00	1476,00	5,56	5,50	14,13	15,72	38,00	43,15
4	3,17	1,88	45,77	135,00	7,00	327,00	4,85	133,00	810,00	565,00	7,34	4,00	14,49	15,69	29,00	48,55
5	1,88	1,91	46,45	135,00	6,50	308,00	4,10	156,00	849,00	962,00	5,73	7,50	57,68	29,01	18	18,26
6	2,75	2,35	40,96	138,00	4,90	260,00	3,03	114,00	618,00	245,00	6,18	15,50	38,51	27,19	37,00	41,08
7	2,35	1,15	49,72	134,00	5,80	283,00	5,11	128,00	1259,00	937,00	6,14					
8	2,12	1,42	47,02	123,00	6,40	307,00	4,80	145,00	992,00	844,00	5,02	5,00	4,93	15,98	64,00	49,79

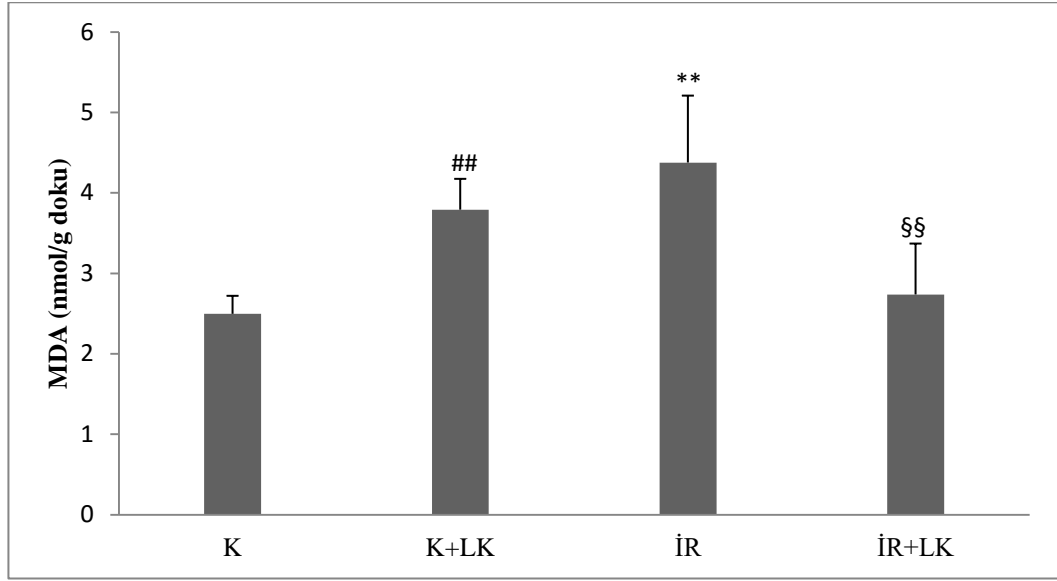
SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Nitrik oksit; Na: Sodyum; K⁺: Potasyum; ALT: Alanin aminotransferaz; AST: Aspartat aminotranferaz; CK: Kreatin kinaz; KIM-1: Böbrek hasar molekülü-1.

Tablo 5. Tüm grupların değişkenlerine ait Ort ± SD verileri

	K Grubu	K+LK Grubu	İR Grubu	İR+LK Grubu
Parametreler	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD
MDA nmol/g doku	2,50 ± 0,22	3,79 ± 0,38	4,38 ± 0,83	2,74 ± 0,63
GSH µmol/g doku	2,83 ± 0,34	2,86 ± 0,35	2,25 ± 0,61	1,80 ± 0,39
Böbrek NO µmol/mg protein	22,65 ± 8,50	25,41 ± 9,04	32,68 ± 13,64	43,09 ± 6,07
Serum Na mmol/l	144,25 ± 2,49	145,63 ± 6,30	138,50 ± 7,05	132,38 ± 5,71
Serum K⁺ mmol/l	5,16 ± 0,72	5,68 ± 0,75	5,45 ± 0,88	6,20 ± 0,78
Serum üre mg/dl	40,00 ± 4,38	37,88 ± 7,77	230,12 ± 87,68	299,25 ± 22,96
Serum kreatinin mg/dl	0,52 ± 0,02	0,52 ± 0,07	3,24 ± 1,69	4,49 ± 0,78
ALT U/l	164,25 ± 111,84	114,38 ± 42,95	131,75 ± 34,81	141,13 ± 24,89
AST U/l	640,88 ± 132,51	630,50 ± 233,53	742,50 ± 101,64	885,63 ± 184,83
CK U/l	494,50 ± 155,27	737,14 ± 291,30	711,75 ± 188,64	839,13 ± 358,44
Serum NO µmol/l	3,00 ± 0,80	3,15 ± 1,13	6,08 ± 1,12	6,23 ± 1,11
İdrar hacmi ml(24 saat)	7,13±2,99	7,50±2,04	13,81±5,54	8,42±4,73
İdrar KIM-1 ng/ml	8,58 ± 4,82	5,86 ± 2,53	18,1 ± 6,56	18,37 ± 12,46
İdrar kreatinin mg/dl	158,19 ± 44,16	140,39 ± 29,59	34,73 ± 34,49	19,26 ± 7,03
İdrar NO µmol/l	164,16 ± 76,29	147,20 ± 18,16	37,55 ± 31,48	35,89 ± 15,50
İdrar_{Na} mmol/l	65,50 ± 31,04	30,75 ± 18,06	41,00 ± 15,21	33,50 ± 17,70
Kreatin klirensi ml/dk/100gxvücut	0,42 ± 0,07	0,43 ± 0,08	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,01
FeNa %	0,20 ± 0,20	0,08 ± 0,05	7,10 ± 4,17	6,62 ± 5,13

MDA: Malondialdehit; **GSH:** Glutasyon; **NO:** Nitrik oksit; **Na:** Sodyum; **K⁺:** Potasyum; **ALT:** Alanin aminotransferaz; **AST:** Aspartat aminotranferaz; **CK:** Kreatin kinaz; **KIM-1:** Böbrek hasar molekülü-1; **Fe_{Na}:** Fraksiyonel sodyum atılımı, **Ort:** Ortalama; **SD:** Standart Sapma

Karşılaştırılan gruplar arası böbrek MDA düzeylerinde, taklit operasyon uygulanan K grubuna göre likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda istatistiksel olarak $p<0.01$ düzeyinde ve K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p<0.01$ düzeyinde anlamlı yükselme gözlemlendi. İskemi/reperfüzyon grubuna göre likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda istatistiksel olarak $p<0.01$ düzeyinde anlamlı düşüş gözlemlendi. Karşılaştırılan gruplar arası ortalama böbrek MDA düzeyleri Şekil 2’de gösterildi.



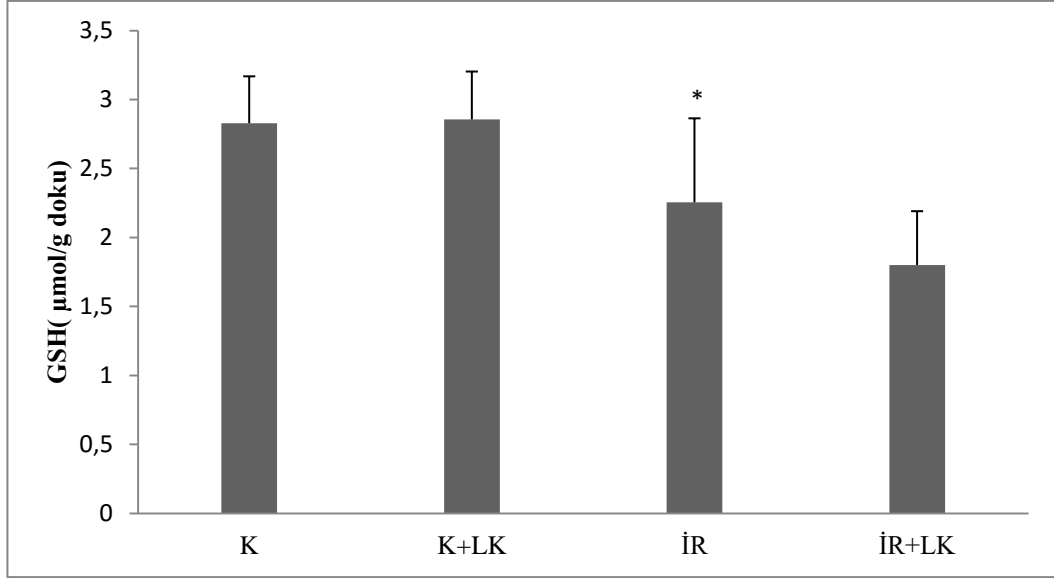
Şekil 2. Ortalama böbrek MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: K grubuna göre K+LK grubunda ^{##} $p<0.01$;

K grubuna göre İR grubunda ^{**} $p<0.01$;

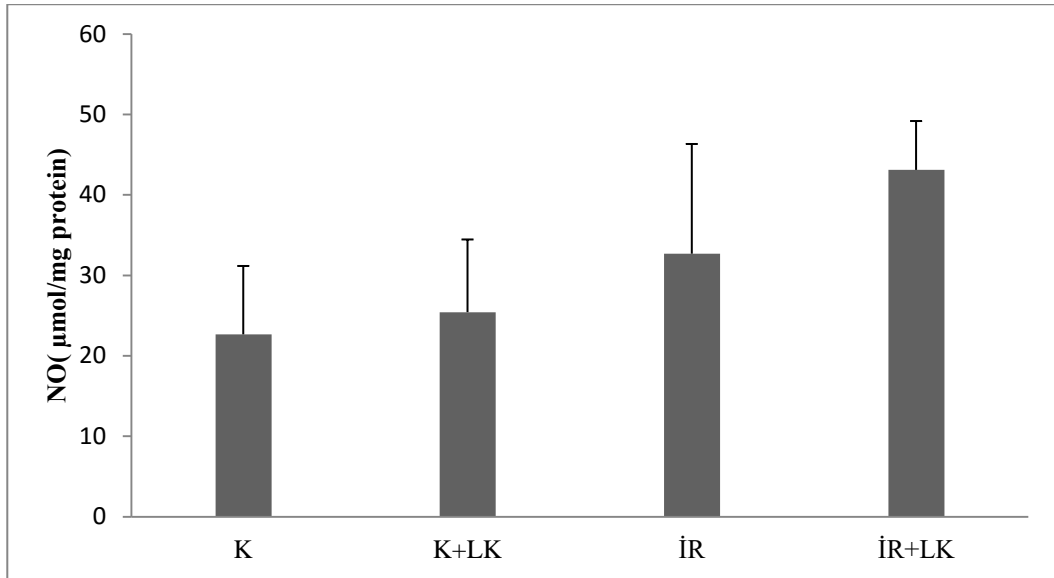
İR grubuna göre İR+LK grubunda ^{§§} $p<0.01$.

Karşılaştırılan gruplar arası böbrek GSH düzeylerinde taklit operasyon uygulanan K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p<0.05$ düzeyinde anlamlı düşüş gözlemlendi. Bununla birlikte K grubuna göre likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda ve İR grubuna göre likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama böbrek GSH düzeyleri Şekil 3’te gösterildi.



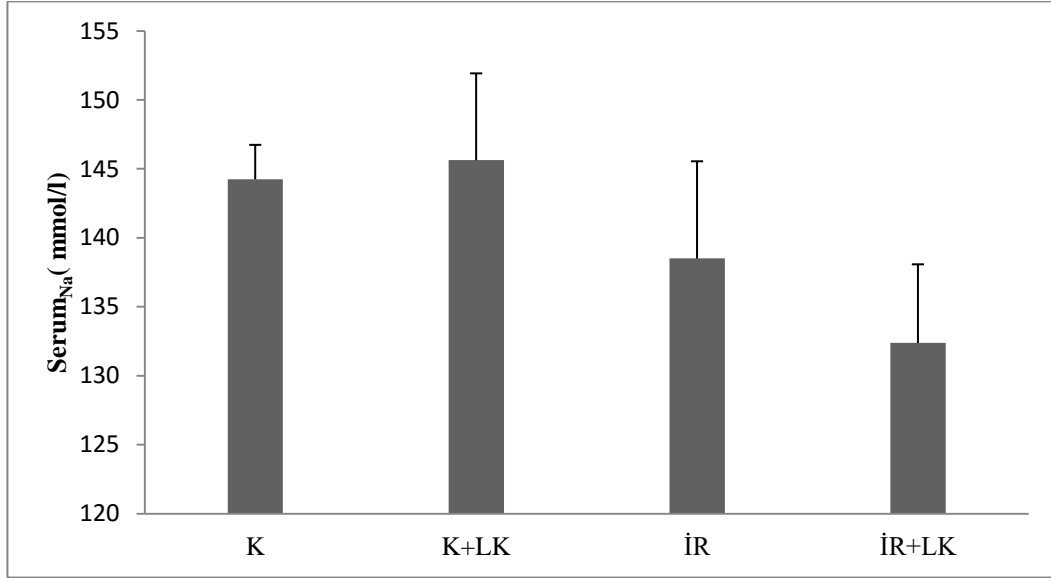
Şekil 3. Ortalama böbrek GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
 Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda * $p < 0.05$.

Karşılaştırılan gruplar arası böbrek NO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama böbrek NO düzeyleri Şekil 4'te gösterildi.



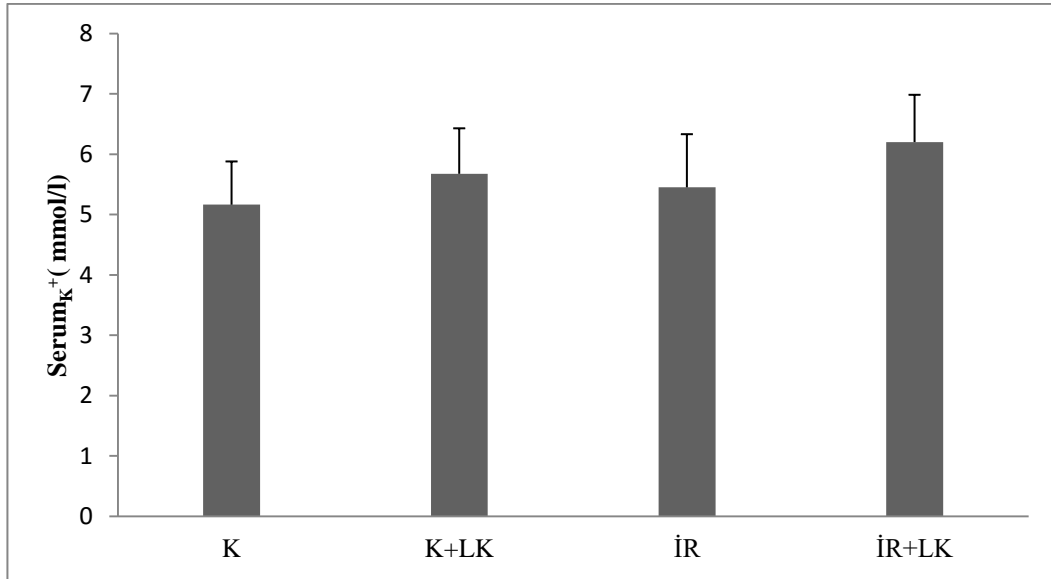
Şekil 4. Ortalama böbrek NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırılan gruplar arası serum Na düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama serum Na düzeyleri Şekil 5’de gösterildi.



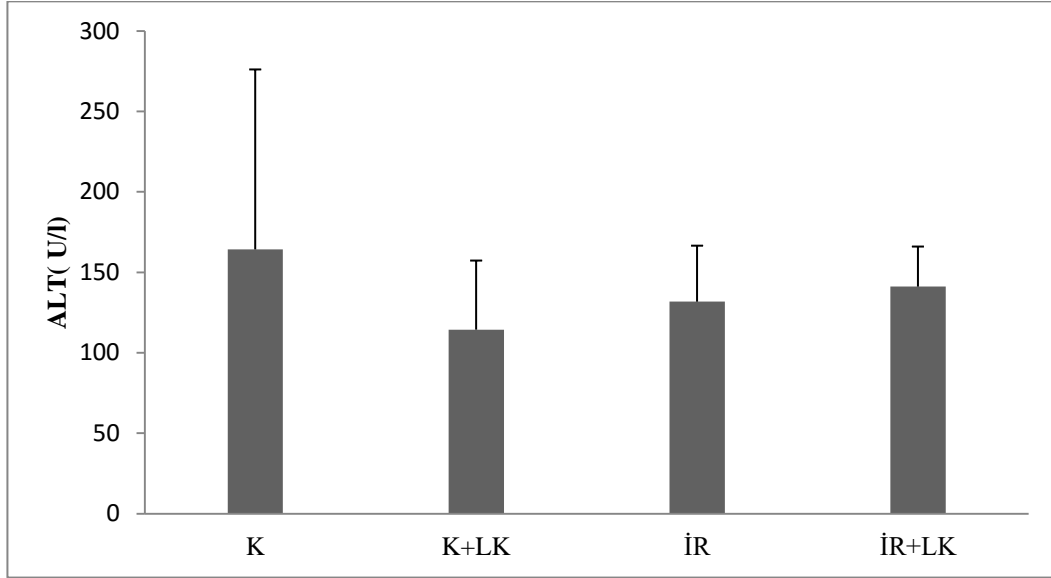
Şekil 5. Ortalama serum Na düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırılan gruplar arası serum K^+ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama serum K^+ düzeyleri Şekil 6’da gösterildi.



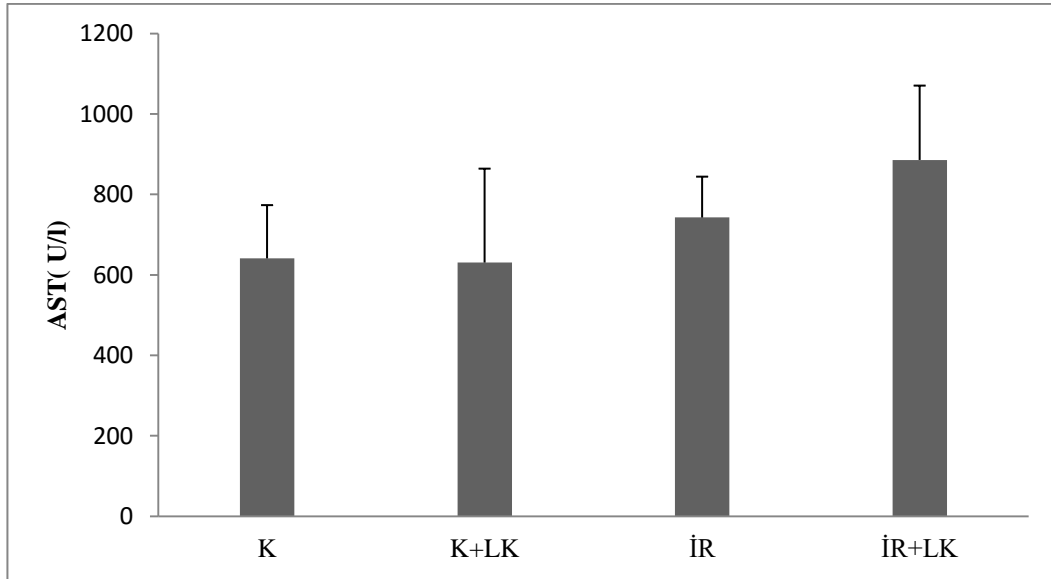
Şekil 6. Ortalama serum K^+ düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırılan gruplar arası serum ALT düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama serum ALT düzeyleri Şekil 7’de gösterildi.



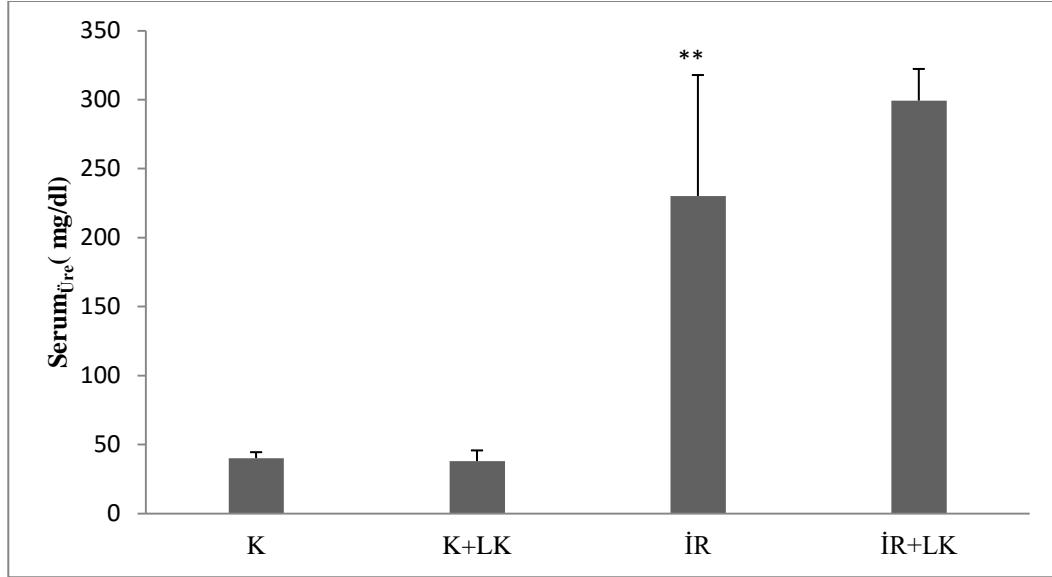
Şekil 7. Ortalama serum ALT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırılan gruplar arası serum AST düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama serum AST düzeyleri Şekil 8’de gösterildi.



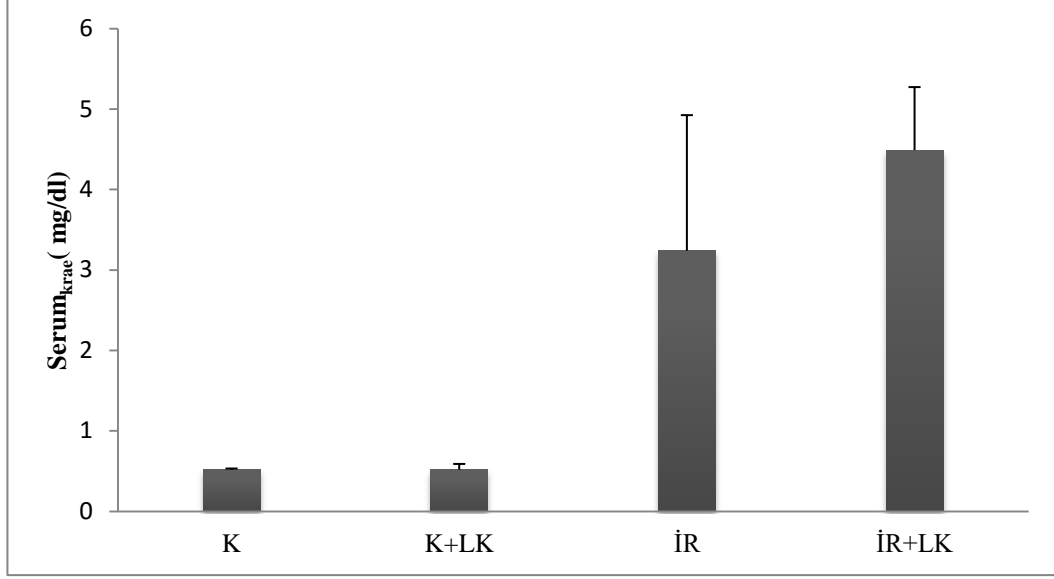
Şekil 8. Ortalama serum AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırılan gruplar arası serum üre düzeylerinde taklit operasyon uygulanan K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Bununla birlikte K grubuna göre likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda ve İR grubuna göre likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama serum üre düzeyleri Şekil 9’da gösterildi.



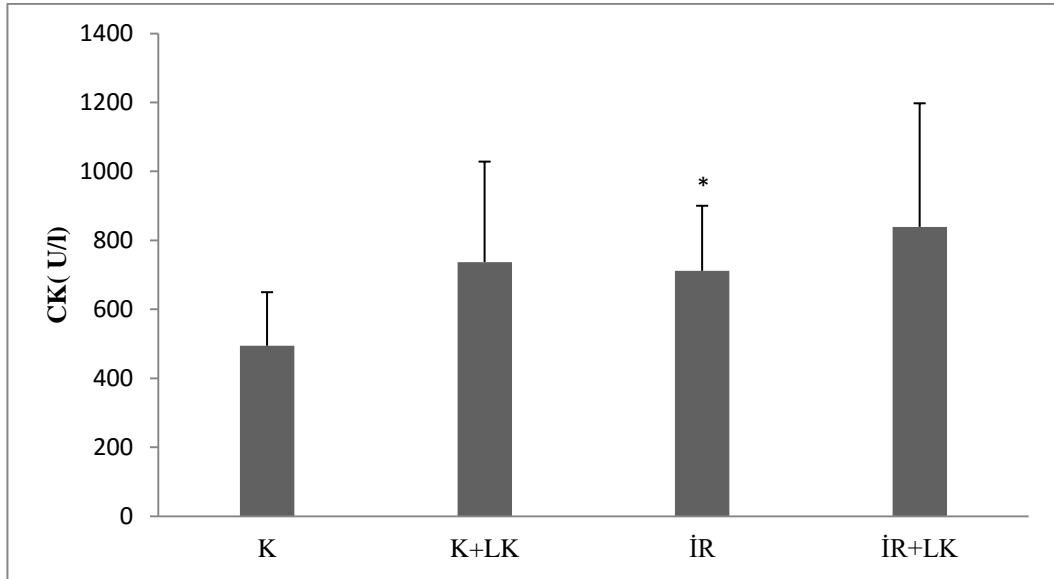
Şekil 9. Ortalama serum üre düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda $**p < 0.01$.

Karşılaştırılan gruplar arası serum kreatinin düzeylerinde taklit operasyon uygulanan K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Bununla birlikte K grubuna göre likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda ve İR grubuna göre likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama serum kreatinin düzeyleri Şekil 10’da gösterildi.



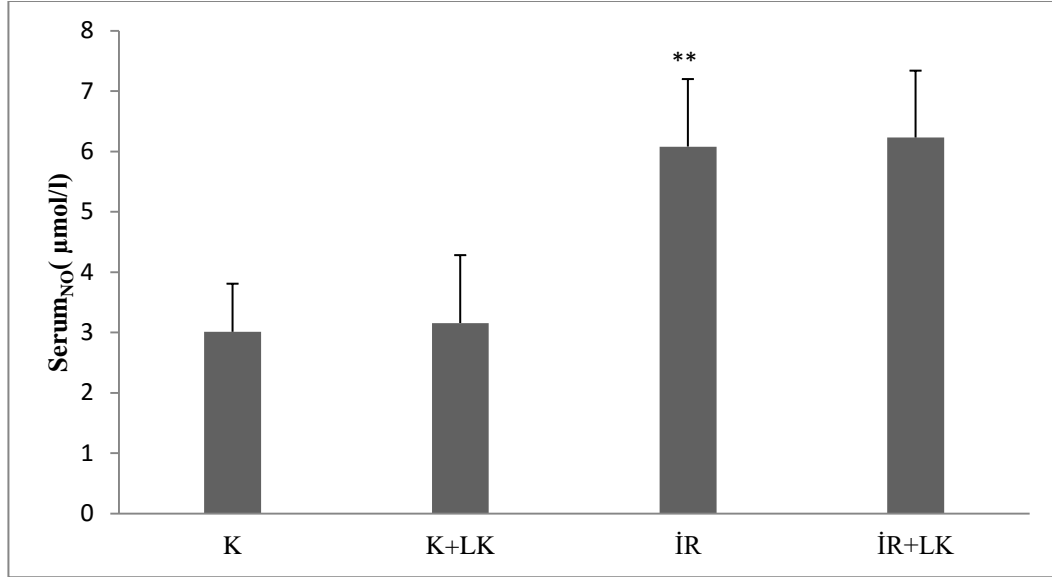
Şekil 10. Ortalama serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda **p<0,01.

Gruplar arası serum kreatin kinaz (CK) aktivitelerinde taklit operasyon uygulanan K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p<0.05$ düzeyinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Bununla birlikte K grubuna göre likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda ve İR grubuna göre likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama serum CK aktiviteleri Şekil 11’de gösterildi.



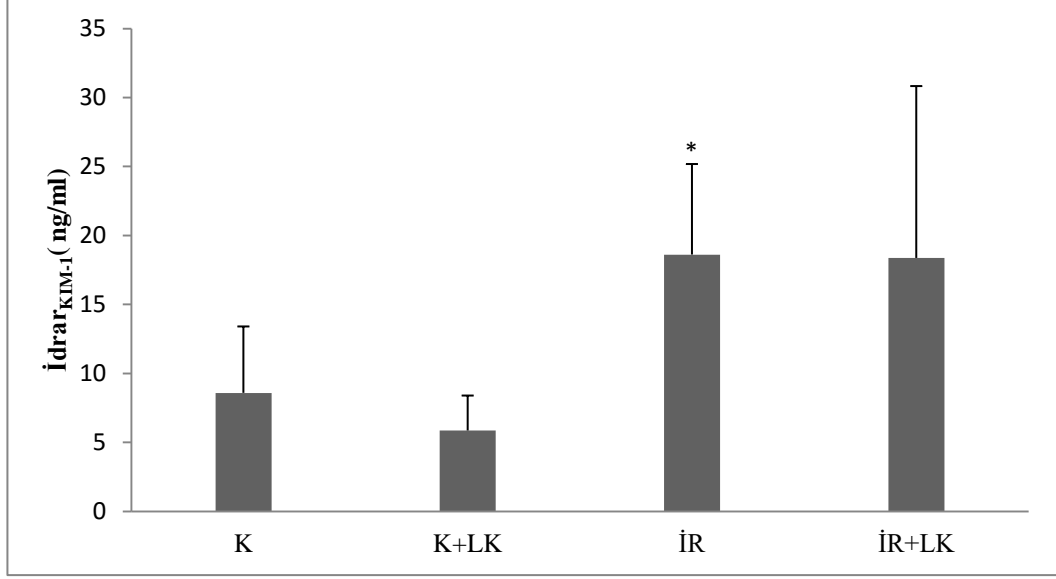
Şekil 11. Ortalama serum CK aktivitelerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda *p<0.05.

Karşılaştırılan gruplar arası serum NO düzeylerinde taklit operasyon uygulanan K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p<0.01$ düzeyinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Bununla birlikte K grubuna göre likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda ve İR grubuna göre likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama serum NO düzeyleri Şekil 12’de gösterildi.



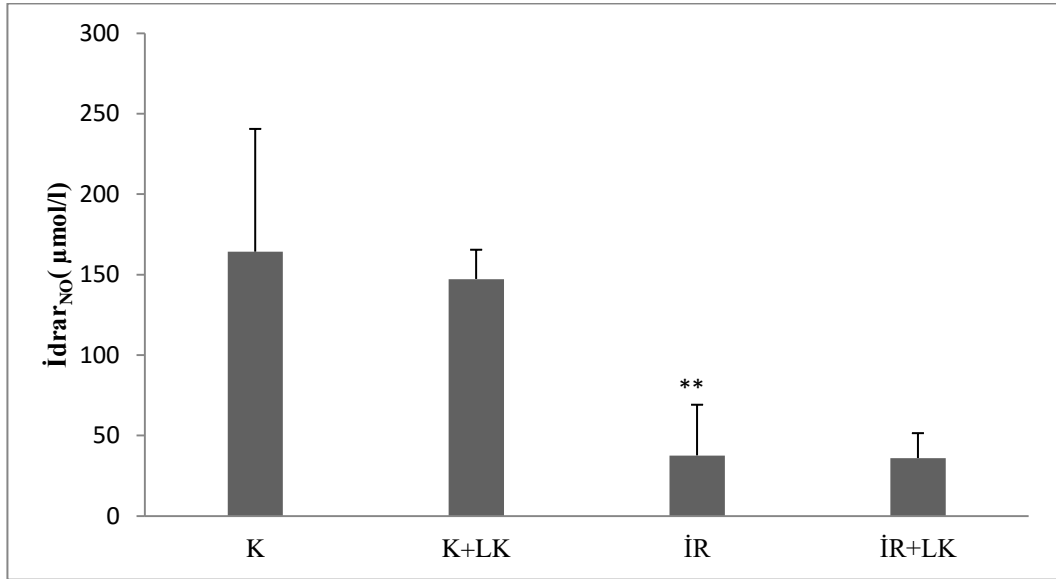
Şekil 12. Ortalama serum NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda ** $p<0.01$.

Karşılaştırılan gruplar arası serum KIM-1 düzeylerinde taklit operasyon uygulanan K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p<0.05$ düzeyinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Bununla birlikte K grubuna göre likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda ve İR grubuna göre likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama serum KIM-1 düzeyleri Şekil 13’te gösterildi.



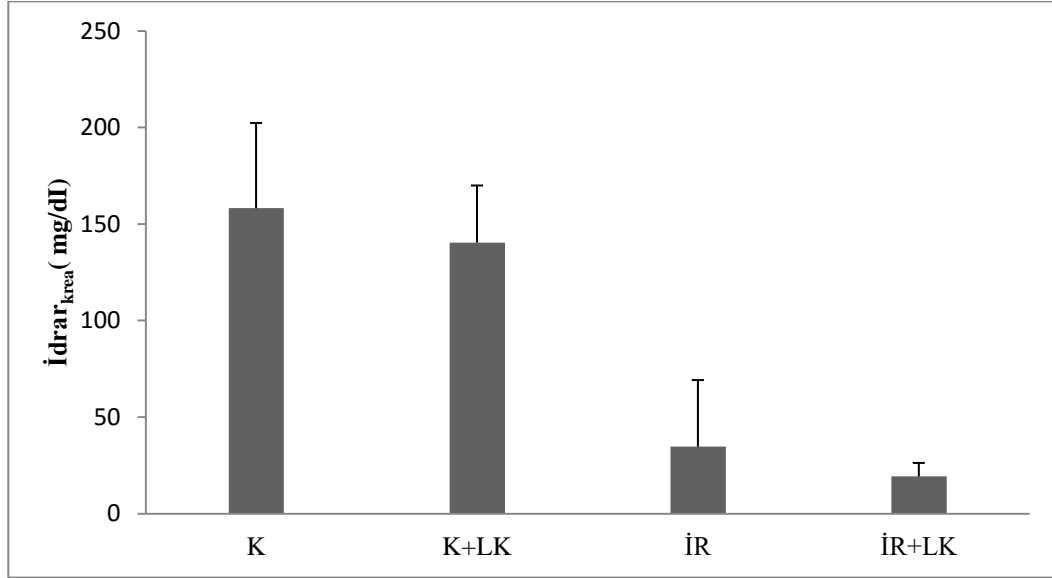
Şekil 13. Ortalama idrar KIM-1 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda * $p < 0.05$.

Karşılaştırılan gruplar arası idrar NO düzeylerinde taklit operasyon uygulanan K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Bununla birlikte K grubuna göre likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda ve İR grubuna göre likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama idrar NO düzeyleri Şekil 14’te gösterildi.



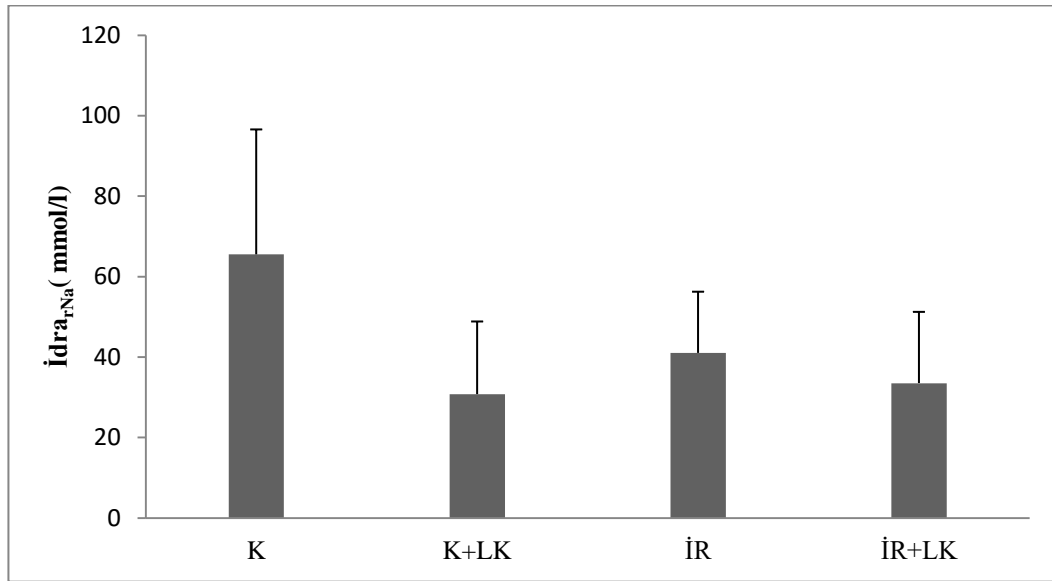
Şekil 14. Ortalama idrar NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda ** $p < 0.01$.

Karşılaştırılan gruplar arası idrar kreatinin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama idrar kreatinin düzeyleri Şekil 15'te gösterildi.



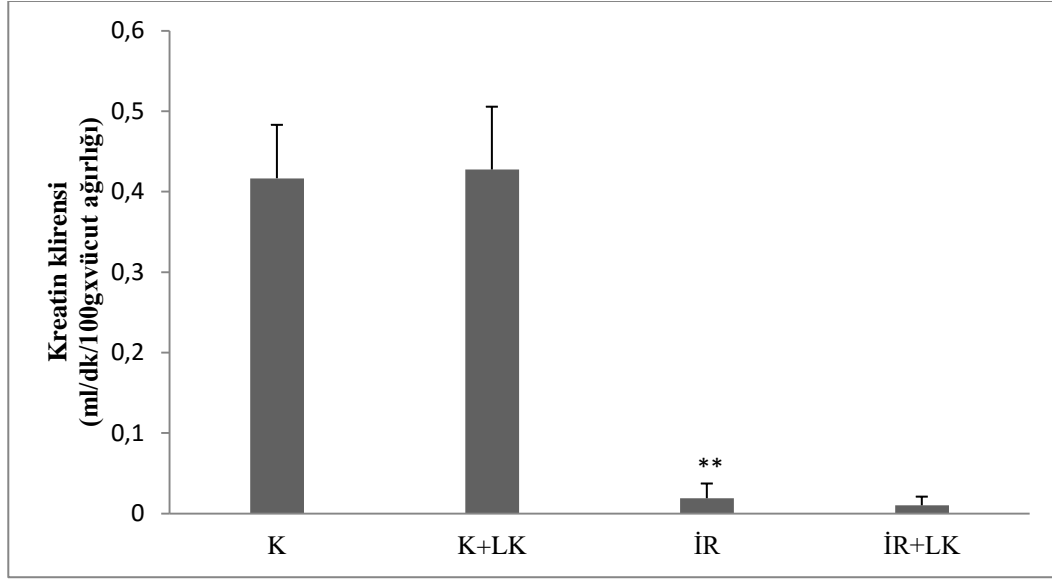
Şekil 15. Ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırılan gruplar arası idrar Na düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama idrar Na düzeyleri Şekil 16'da gösterildi.



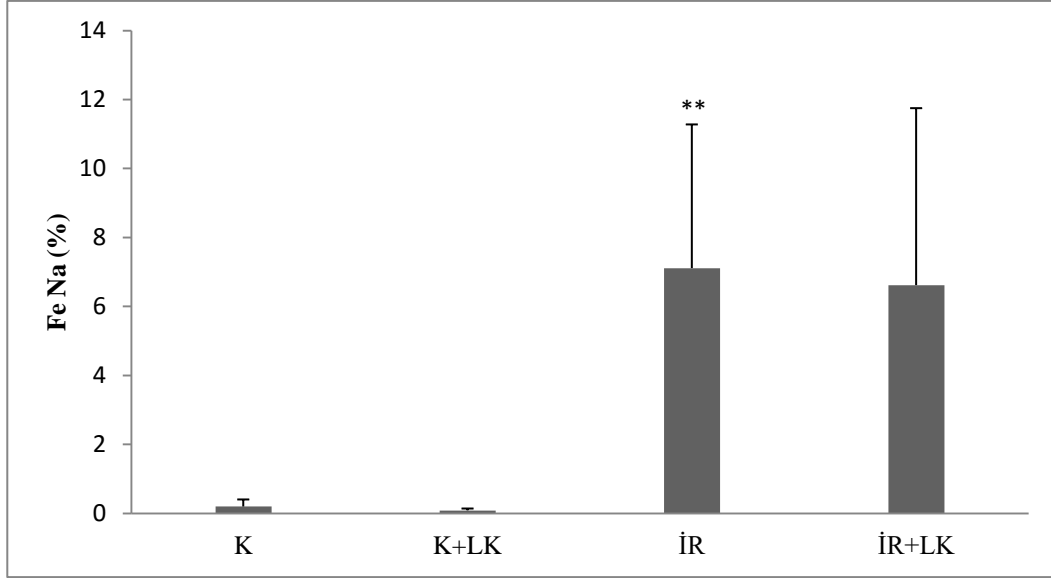
Şekil 16. Ortalama idrar Na düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırılan gruplar arası kreatinin klirensi düzeylerinde taklit operasyon uygulanan K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p<0.01$ düzeyinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Bununla birlikte K grubuna göre likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda ve İR grubuna göre likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama kreatinin klirensi düzeyleri Şekil 17’de gösterildi.



Şekil 17. Ortalama kreatinin klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda $**p<0.01$.

Karşılaştırılan gruplar arası FeNa % düzeylerinde taklit operasyon uygulanan K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p<0.01$ düzeyinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Bununla birlikte K grubuna göre likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda ve İR grubuna göre likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0.05$). Karşılaştırılan gruplar arası ortalama FeNa % düzeyleri Şekil 18’de gösterildi.



Şekil 18. Ortalama FeNa % düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda **p<0.01.

Histopatolojik Sonuçlar

Çalışmamızda böbrek dokularının histopatolojik incelenmesinde; her bir sıçan için böbrek hasarı derecesi ve ayrıca % kast değerleri 100 alanda, 0-4 skalası kullanılarak hesaplandı. Hesaplanan bu değerler Tablo 6 ve 7’de gösterilmiştir.

Tablo 6. Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçlar

SN	K Grubu	K+LK Grubu	İR Grubu	İR+LK Grubu
1	0	0	4	4
2	0	0	4	4
3	0	1	4	3
4	0	0	3	4
5	1	1	4	4
6	0	0	4	4
7	1	0	3	3
8	0	0	4	4
Ort±SD	0,25±0,46	0,25±0,46	3,75±0,46	3,75±0,46

SN: Sıra numarası

Tablo 7. Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçlar

SN	K Grubu	K+LK Grubu	İR Grubu	İR+LK Grubu
1	0	0	80	90
2	1	0	80	90
3	0	1	90	80
4	0	0	70	80
5	0	1	80	90
6	1	0	80	80
7	1	0	70	80
8	0	0	80	80
Ort±SD	0,38±0,52	0,25±0,46	78,75±6,41	83,75±1,18

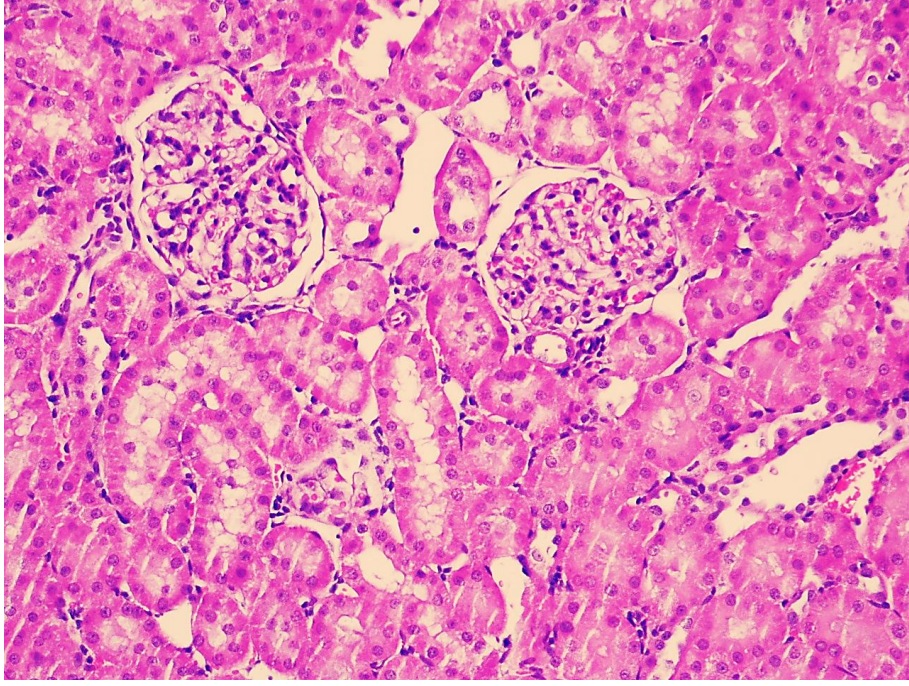
SN: Sıra numarası

Sıçanlara ait HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; K grubundaki mikroskopik kesitlerde tübül ve glomerüllerin düzenli yapıda olduğu izlendi, herhangi bir nekroz veya kast oluşumu izlenmedi (Şekil 19).

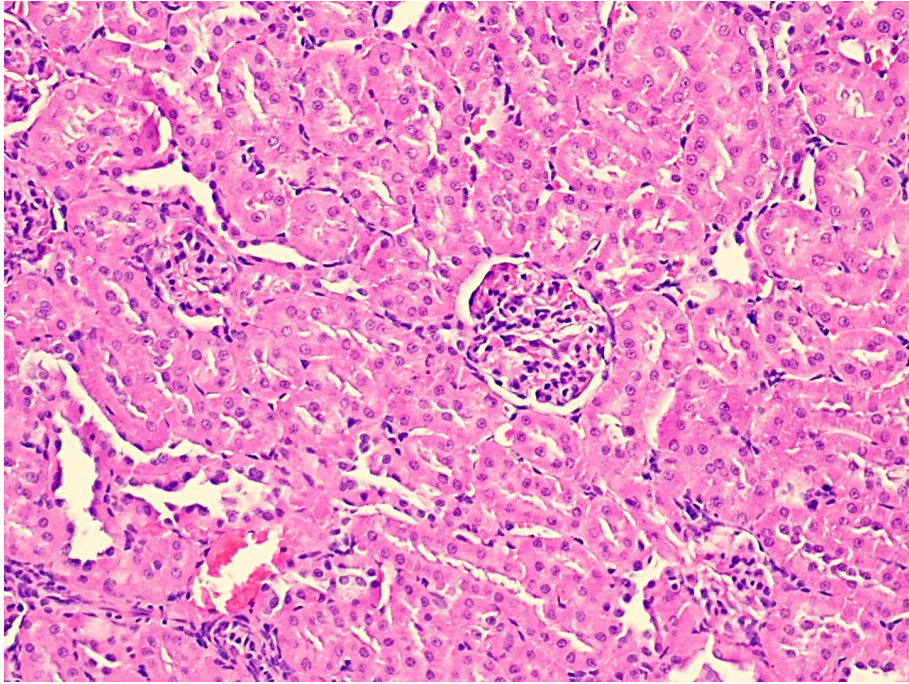
Sıçan böbreklerinin HE boyalı kesitlerinin ışık mikroskopu ile yapılan incelemesinde; K+LK grubunda K grubuna benzer şekilde, tübül ve glomerüllerin düzenli yapıda olduğu izlendi. Tübüllerde herhangi bir nekroz veya kast oluşumu izlenmedi. Glomerüllerde herhangi bir değişiklik izlenmedi (Şekil 20).

Işık mikroskopu ile yapılan incelemede HE boyalı sıçan böbrek kesitlerinde; İR grubunda tübül epitellerinde basıklaşma, vakuolizasyon ve yer yer nekroz, tübüllerde belirgin dilatasyon izlendi. Tübül lümenlerinde yaygın kast oluşumu izlendi. Glomerüllerde belirgin konjesyon, peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon izlendi (Şekil 21).

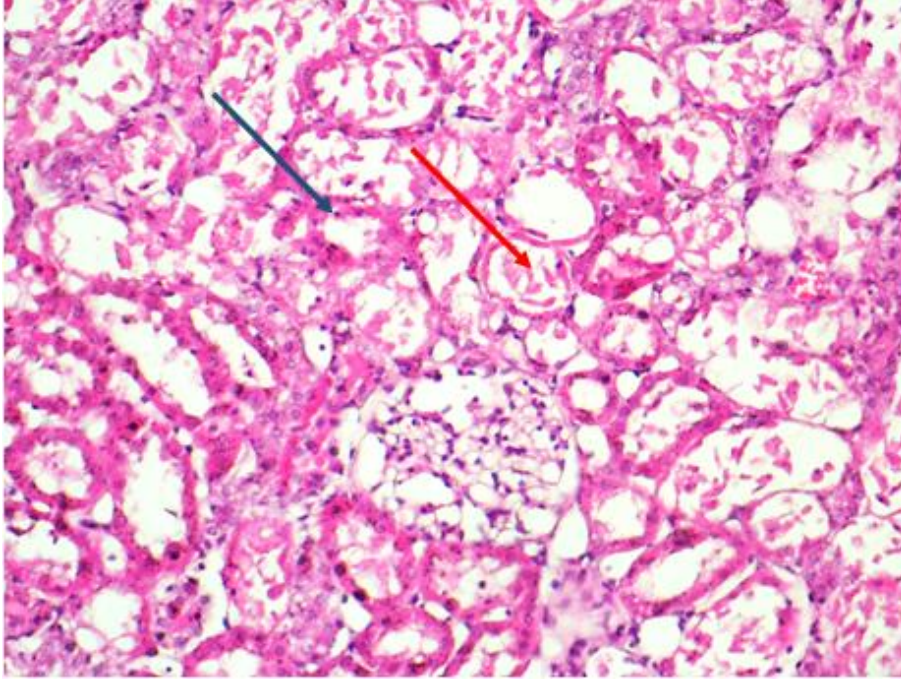
Hematoksilen-eozin ile boyanmış sıçan böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; İR+LK grubunda İR grubuna benzer şekilde belirgin tübüler dilatasyon, tübül epitellerinde basıklaşma, vakuolizasyon izlendi. Glomerüllerde belirgin konjesyon, peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon gözlemlendi (Şekil 22).



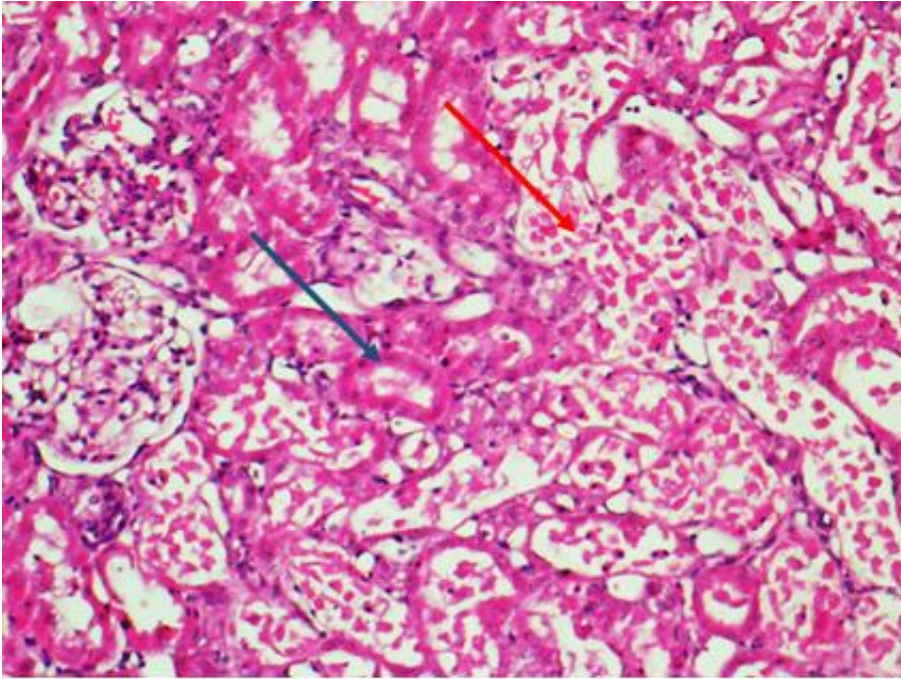
Şekil 19. K grubunun böbrek kesiti (HEx200)



Şekil 20. K+LK grubunun böbrek kesiti (HEx200)

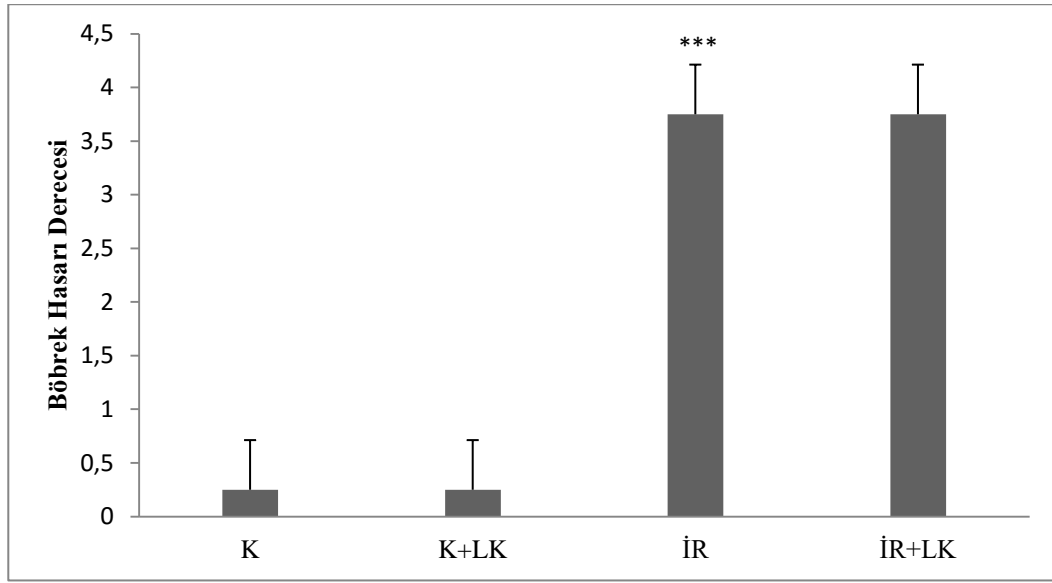


Şekil 21. İR grubunun böbrek kesiti (HEx200)
Mavi ok: tübüler nekroz, kırmızı ok: kast birikimi.



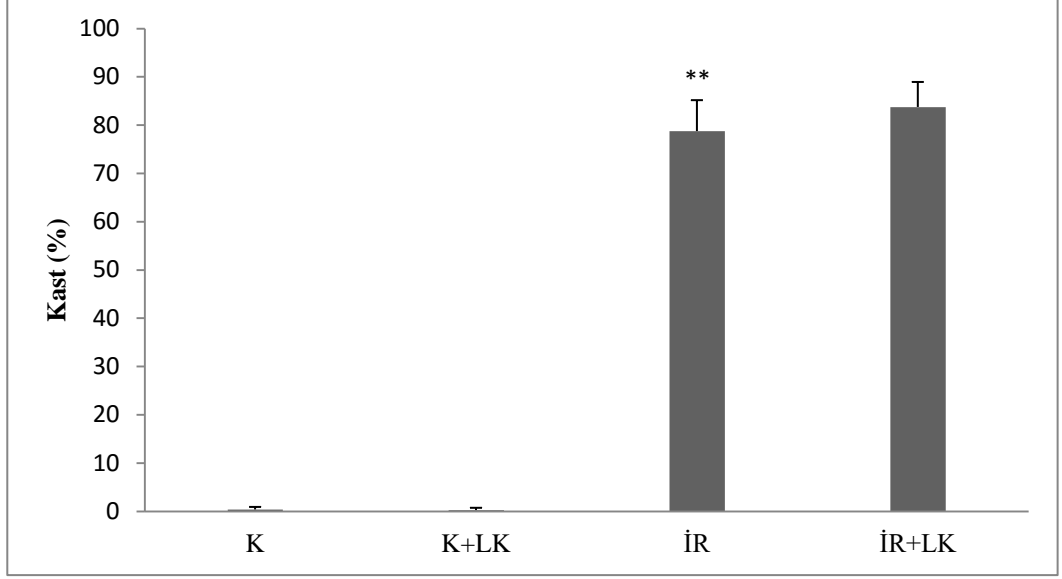
Şekil 22. İR+LK grubunun böbrek kesiti (HEx200)
Mavi ok: tübüler nekroz, kırmızı ok: kast birikimi.

Taklit operasyon uygulanan K grubu ile likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda böbrek hasarı görülmedi ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). İskemi/reperfüzyon uygulana İR grubunda böbrek hasarı görüldü. Böbrek hasarı derecesi açısından K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p<0.001$ düzeyinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda İR grubuna benzer şekilde böbrek hasarı gözlemlendi. Karşılaştırılan gruplar arası ortalama böbrek hasarı derecesi düzeyleri Şekil 23'te gösterildi.



Şekil 23. Böbrek hasarı derecesinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda *** $p<0.001$.

Taklit operasyon uygulanan K grubu ile likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda kast birikimi gözlenmedi ve % kast birikimi açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). İskemi/reperfüzyon uygulanan İR grubunda kast birikimi belirgindi. İstatistiksel olarak % kast birikimi açısından K grubuna göre İR grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Karşılaştırılan gruplar arası ortalama % kast birikimi değerleri Şekil 24'te gösterildi.



Şekil 24. % kast değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda **p<0.01.

İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Çalışmamızda olgulara ait böbrek dokularının immünohistokimyasal olarak değerlendirmesinde; sitoplazmik boyamanın yaygınlığı ve yoğunluğu baz alınarak değerlendirildi. Boyanma yoğunluğu ise, boyanmanın hiç gözlenmediği olgularda 0, hafif boyanmanın gözlendiği olgularda +1, orta yoğunlukta boyanmanın gözlendiği olgularda +2, kuvvetli boyanmanın gözlendiği olgularda +3 olarak skorlandı. Boyanma yaygınlığı 0 ile 100 arasında skorlandı. Boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu skorlarının çarpılması ile toplam immünohistokimyasal skorlama elde edildi, sonuçlar Tablo 8 ve 9 gösterildi.

Tablo 8. Grupların eNOS immünohistokimyasal boyanma skorları

SN	K Grubu			K+LK Grubu			İR Grubu			İR+LK Grubu		
	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor
1	3	80	240	3	80	240	2	20	40	1	20	20
2	2	80	160	3	70	210	2	10	20	2	20	40
3	3	70	210	2	90	180	1	20	20	1	20	20
4	3	70	210	3	80	240	1	20	20	1	30	30
5	2	90	180	2	90	180	1	30	30	2	20	40
6	3	80	240	3	70	210	2	10	20	2	10	20
7	2	90	180	2	90	180	1	30	30	1	20	20
8	3	70	210	3	80	240	1	30	30	1	20	20
Ort±SD			203,75±28,75			210,00±27,78			26,25±7,44			26,25±9,16

52

SN: Sıra numarası

Tablo 9. Grupların iNOS immünohistokimyasal boyanma skorları

SN	K Grubu			K+LK Grubu			İR Grubu			İR+LK Grubu		
	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor	Yoğunluk	Yaygınlık	Skor
1	2	10	20	1	30	30	3	70	210	3	70	210
2	1	20	20	1	20	20	2	90	180	3	80	240
3	2	10	20	2	10	20	3	70	210	2	90	180
4	2	20	40	2	20	40	3	80	240	3	80	240
5	1	30	30	1	30	30	2	90	180	2	90	180
6	1	20	20	2	20	40	3	70	210	3	80	240
7	2	10	20	1	20	20	2	90	180	2	90	180
8	1	20	20	2	20	40	3	70	210	3	70	210
Ort±SD			23,75±7,44			30,00±9,26			202,50±21,20			210,00±27,78

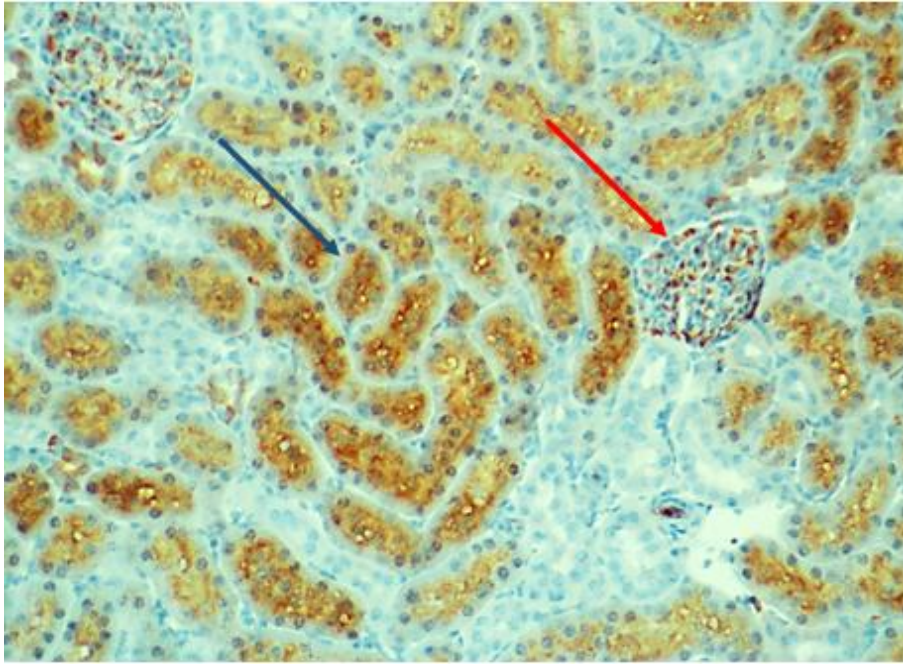
SN: Sıra numarası

İmmünohistokimyasal olarak eNOS antikoruna ile boyalı sıçan böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; taklit operasyon uygulanan K grubundaki mikroskopik kesitlerde tübüllerde yaygın ve kuvvetli boyanma izlendi. Ayrıca glomerül kapiller duvarında boyanma gözlemlendi (Şekil 25).

Işık mikroskobu ile incelenen immünohistokimyasal olarak eNOS antikoruna ile boyalı sıçan böbrek kesitlerinde; likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda da K grubuna benzer şekilde tübüllerde yaygın ve kuvvetli boyanma izlendi. Ayrıca glomerül kapiller duvarında boyanma gözlemlendi (Şekil 26).

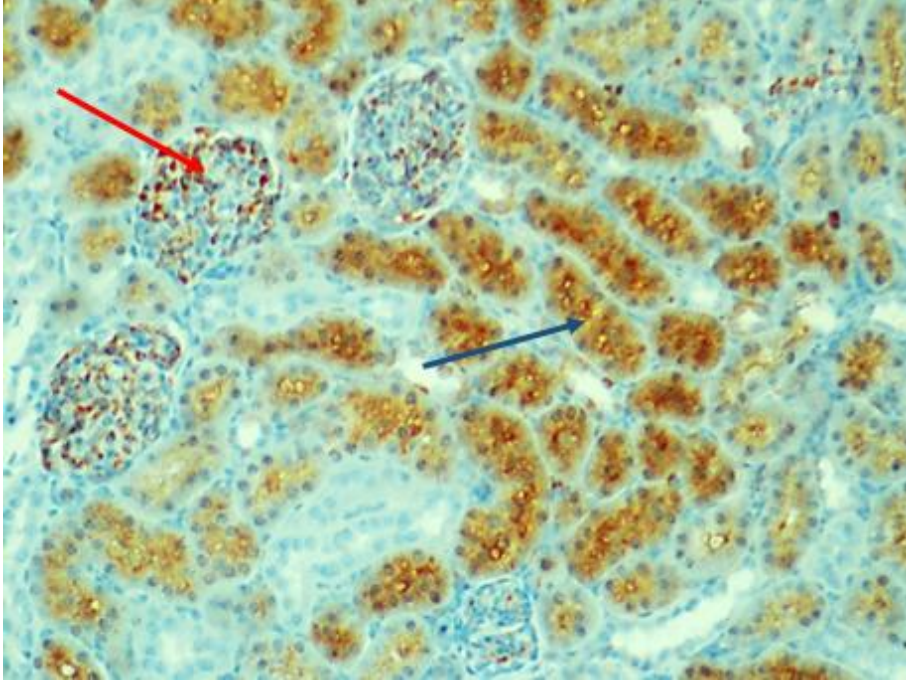
Sıçanların immünohistokimyasal olarak eNOS antikoruna ile boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; İR uygulanan İR grubunda tübüllerde boyanma kaybı izlendi (Şekil 27).

Sıçanların böbrek kesitleri immünohistokimyasal olarak eNOS antikoruna ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendiğinde; likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda İR grubu ile benzer şekilde tübüllerde boyanma kaybı izlendi (Şekil 28).



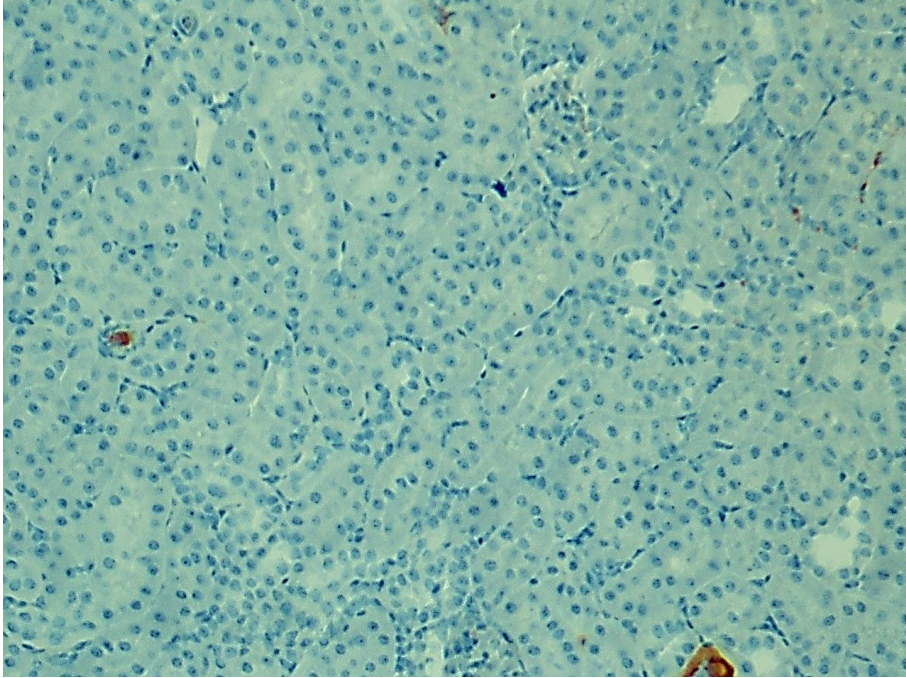
Şekil 25. K grubunun böbrek kesiti (eNOSx200)

Mavi ok: tübüllerde boyanma, kırmızı ok: glomerül kapiller duvarında boyanma.

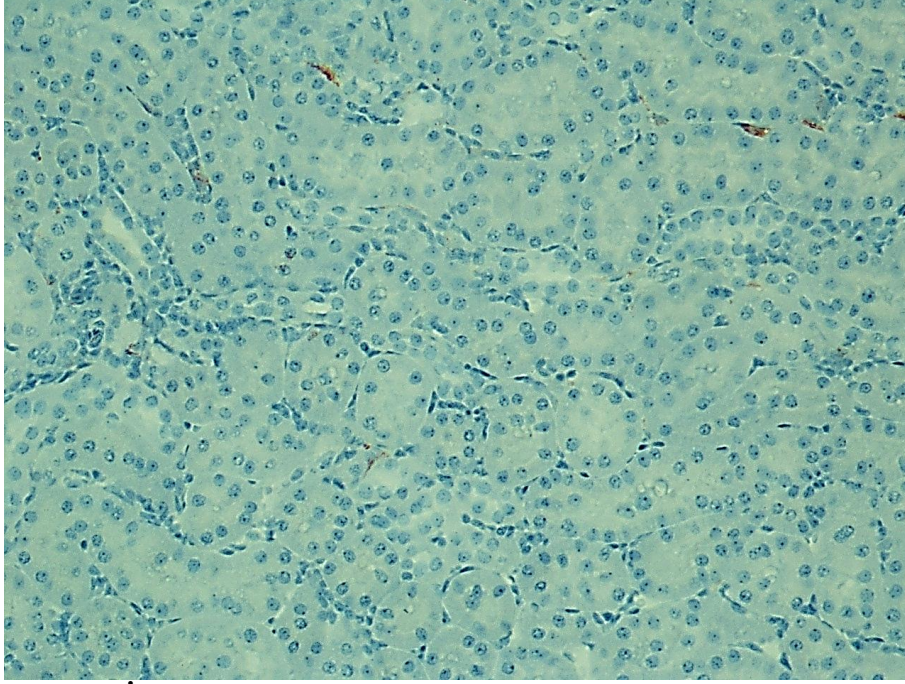


Şekil 26. K+LK grubunun böbrek kesiti (eNOSx200)

Mavi ok: tübüllerde boyanma, kırmızı ok: glomerül kapiller duvarında boyanma.

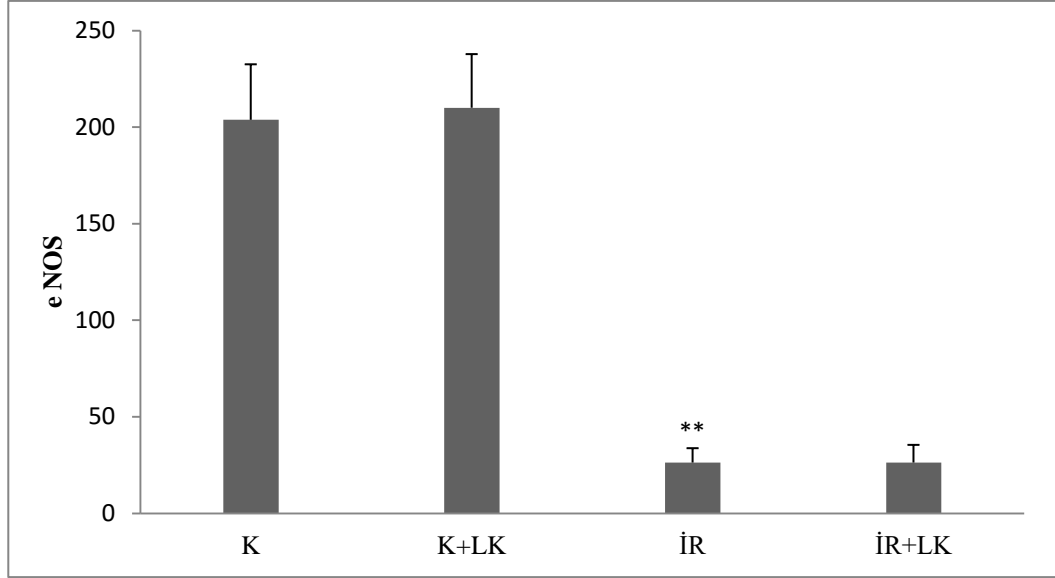


Şekil 27. İR grubunun böbrek kesiti (eNOSx200)



Şekil 28. İR+LK grubunun böbrek kesiti (eNOSx200)

İmmünohistokimyasal olarak eNOS antikoru ile taklit operasyon uygulanan K grubu ile likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda tübüllerde yaygın ve kuvvetli boyanma izlendi. Ayrıca glomerül kapiller duvarında boyanma gözlemlendi. İmmünohistokimyasal olarak eNOS antikoru ile boyanma açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0.05$). İskemi/reperfüzyon uygulanan İR grubunda immünohistokimyasal olarak eNOS antikoru ile tübüllerde boyanma kaybı izlendi. İmmünohistokimyasal olarak eNOS antikoru ile boyanma açısından K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p<0.01$ düzeyinde anlamlı düşüş gözlemlendi. Likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda İR grubuna benzer şekilde tübüllerde boyanma kaybı izlendi. Karşılaştırılan gruplar arası eNOS aktivitesi değerleri Şekil 29'da gösterildi.



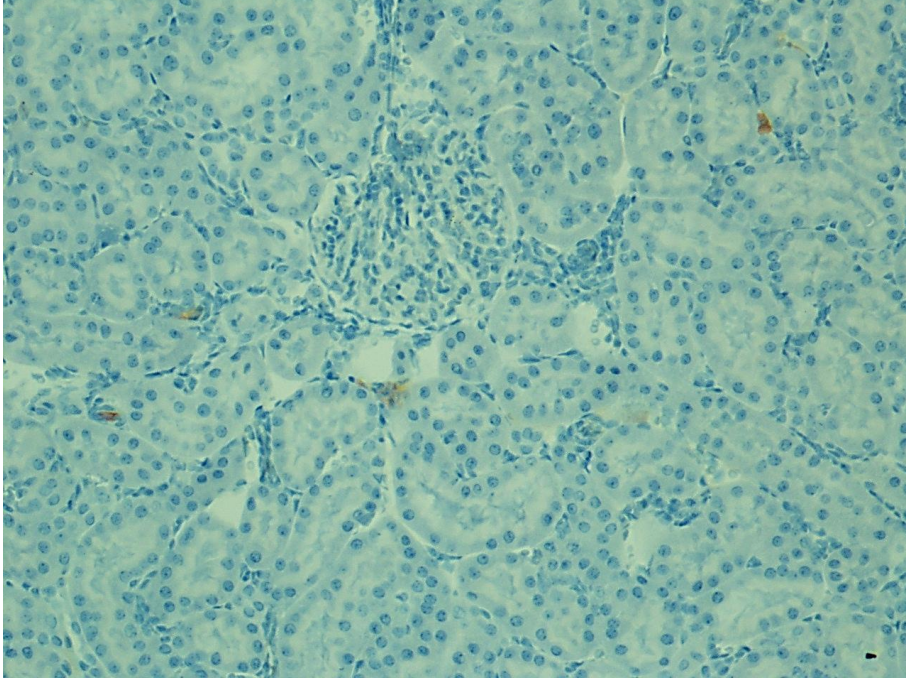
Şekil 29. eNOS aktivitesinin gruplar arası karşılaştırılması
Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda **p< 0.01.

İmmünohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile boyalı sıçan böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; taklit operasyon uygulanan K grubundaki mikroskopik kesitlerde tübüllerde anlamlı boyanma izlenmedi (Şekil 30).

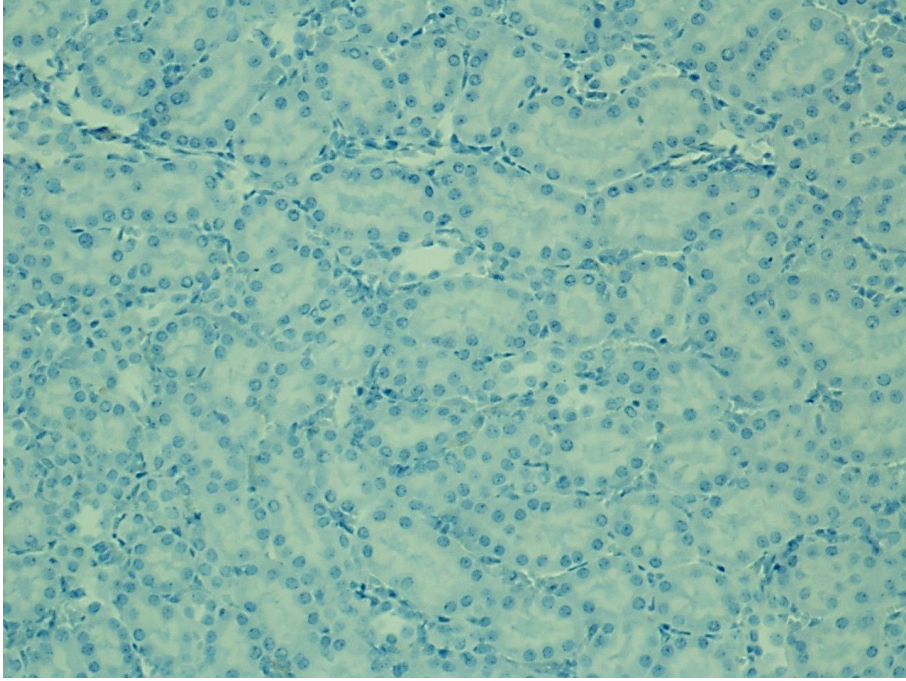
İşık mikroskobu ile incelenen immünohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile boyalı sıçan böbrek kesitlerinde; likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda K grubuna benzer şekilde tübüllerde anlamlı boyanma izlenmedi. (Şekil 31).

Sıçanların immünohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; İR uygulanan İR grubunda tübüllerde kuvvetli boyanma izlendi (Şekil 32).

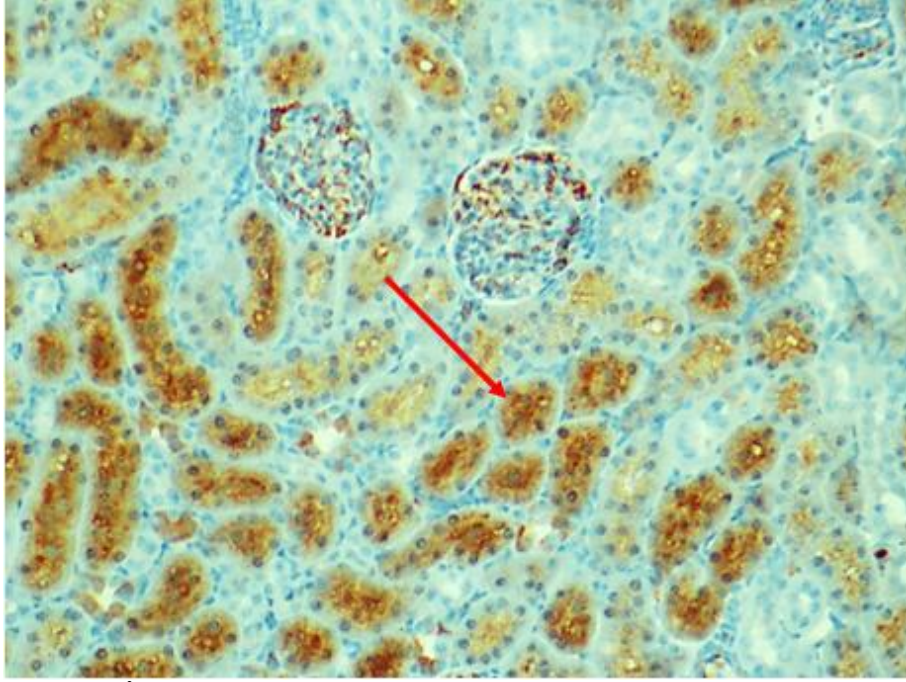
Sıçanların böbrek kesitleri immünohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendiğinde; likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda İR grubu ile benzer şekilde tübüllerde kuvvetli boyanma izlendi (Şekil 33).



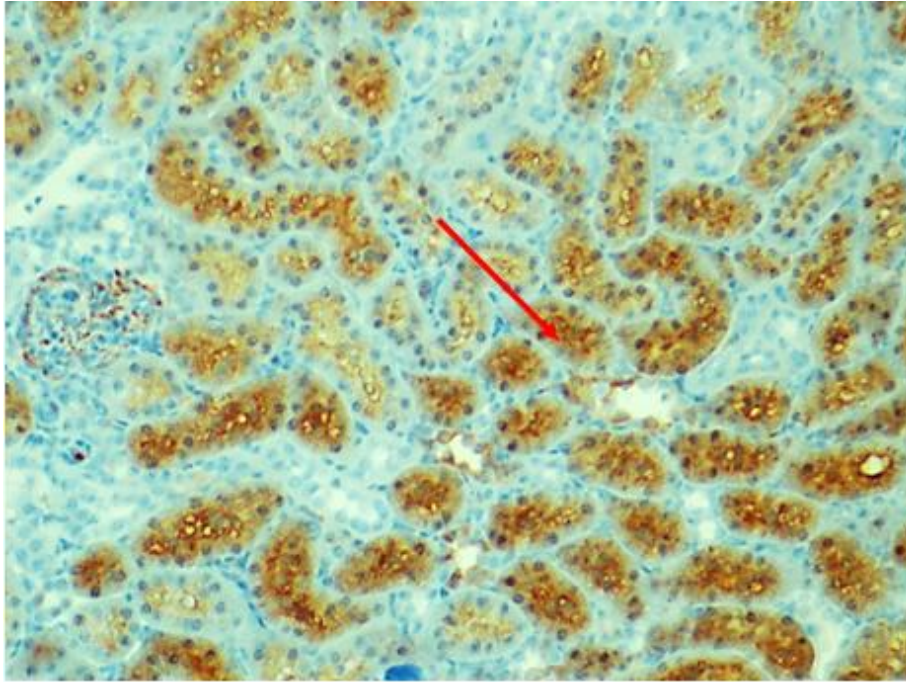
Şekil 30. K grubunun böbrek kesiti (iNOSx200)



Şekil 31. K+LK grubunun böbrek kesiti (iNOSx200)

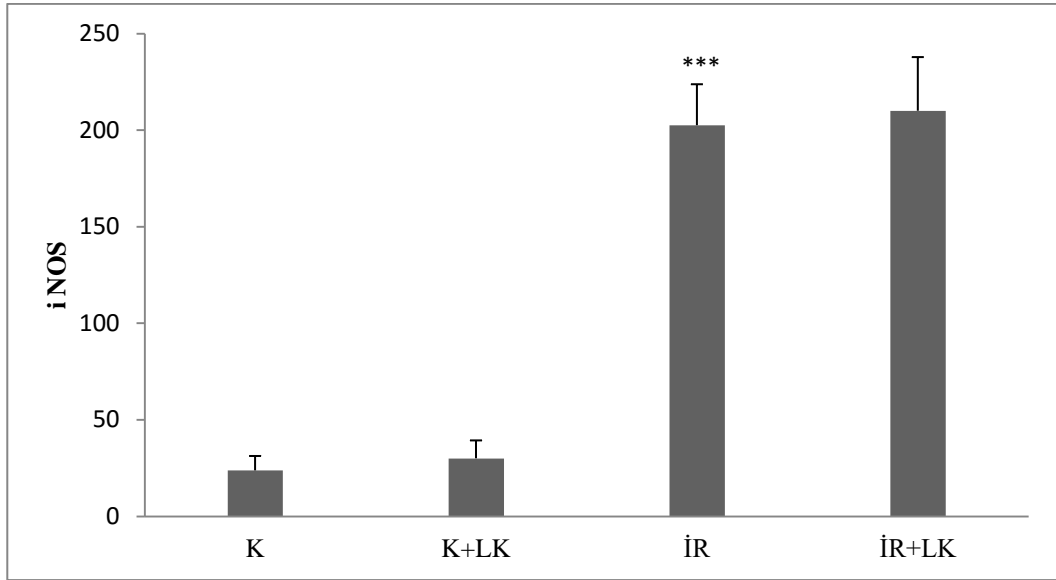


Şekil 32. İR grubunun böbrek kesiti (iNOSx200)
Kırmızı ok: tübüllerde boyanma.



Şekil 33. İR+LK grubunun böbrek kesiti (iNOSx200)
Kırmızı ok: tübüllerde boyanma.

İmmünohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile taklit operasyon uygulanan K grubu ile likopen verilen ve taklit operasyon uygulanan K+LK grubunda tübüllerde yaygın boyanma izlenmedi. İmmünohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile boyanma açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). İskemi/reperfüzyon uygulanan İR grubunda immünohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile tübüllerde kuvvetli boyanma izlendi. İmmünohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile boyanma açısından K grubuna göre İR grubunda istatistiksel olarak $p<0.001$ düzeyinde anlamlı yükselme görüldü. Likopen verilen ve İR uygulanan İR+LK grubunda İR grubuna benzer şekilde tübüllerde kuvvetli boyanma izlendi. Karşılaştırılan gruplar arası eNOS aktivitesi değerleri Şekil 34'te gösterildi.



Şekil 34. iNOS aktivitesinin gruplar arası karşılaştırılması

Karşılaştırmalar: K grubuna göre İR grubunda *** $p<0.001$.

TARTIŞMA

Böbrek İR hasarı; böbrek nakli, kısmi nefrektomi, renal arter anjiyoplastisi, kardiyopulmoner bypass, aortik bypass cerrahisi, kaza sonucu veya iatrojenik travma, sepsis, hidronefroz, elektif ürolojik operasyonlar kontrast madde nefropatisi, acil ve yoğun bakım ünitelerinde resüsitasyonu takip eden şok gibi birçok klinik durumlarda sıklıkla görülür (3,16). Akut böbrek hasarı, uzun süre hastanede kalmayı, yüksek tedavi masrafları gerektirir ve yüksek ölüm oranıyla birlikte seyrederek (103). Hastanede ölen hastaların yaklaşık % 20'sinde akut böbrek hasarı olduğu ve yoğun bakım ünitelerinde bu oranın % 50'ye çıktığı rapor edilmiştir (16). Akut böbrek hasarı görülen hastaların yaklaşık olarak % 10'unda böbrek replasman tedavisine ihtiyaç duyulmaktadır. Akut böbrek hasarı gelişen, yoğun bakım hastalarının % 2-10'unda son dönem böbrek yetmezliği gelişmektedir. Son dönem böbrek yetmezliği uzun dönem diyaliz tedavisi gerektirir (103).

Sıçanlarda 60 dk iskemi ve ardından 24 saat reperfüzyon uygulaması ile oluşturduğumuz böbrek İR modelinde, oksidatif stresin arttığı, böbrek fonksiyonlarının bozulduğu, antioksidan düzeylerinin düştüğü, histopatolojik olarak böbrek hasarının geliştiği, immünohistokimyasal yöntemle iNOS enzim aktivitesinde artma ve eNOS enzim aktivitesinde azalma olduğu görüldü. Bu sonuçlarımız böbrek İR hasarının geliştiğini ve deneysel modelin oluştuğunu göstermektedir. Koruyucu amaçla iskemik hasardan 7 gün önce likopen verilmesinin, lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan MDA düzeylerinde bir düşüşe neden olmasına rağmen diğer parametreler üzerinde koruyucu bir etkisinin olmadığı görüldü.

Deneysel çalışmalarda iskemik hasarın ortaya çıkması için 60 dk'lık sürenin yeterli olduğu bildirilmiştir (96,104). Mevcut literatürde farklı sürelerde iskemi ve reperfüzyon uygulanan birçok deneysel İR modeli bulunmaktadır. Bu çalışmamızda daha önce laboratuvarımızda çalıştığımız model olan 60 dk her iki böbrek iskemisi ve 24 saatlik reperfüzyon sürelerini tercih ettik (95).

Çalışmamızda taklit operasyon uyguladığımız K grubu ile 7 gün süre ile likopen verdiğimiz ve taklit operasyon uyguladığımız K+LK grubunu karşılaştırdığımızda, K+LK grubunda MDA düzeyinde anlamlı bir yükselme olduğu görüldü. Diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamı bir değişiklik görülmedi. Deltametrinin sıçan böbreklerinde oluşturduğu hasara karşı likopenin etkilerinin incelendiği çalışmada, 1 mg/kg dozunda likopenin kontrol grubu sağlıklı sıçanlarda histopatolojik değişiklikler üzerinde anlamlı değişiklikler oluşturmadığı bildirilmektedir (105). Kolistinin böbreklerde oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı 5 mg/kg ve 20 mg/kg dozunda likopenin etkilerinin incelendiği çalışmada, sağlıklı kontrol grubu farelerde 20 mg/kg dozunda 7 gün süre ile verilen likopenin üre, kreatinin, MDA, NO, iNOS, GSH düzeylerinde istatistiksel olarak herhangi bir anlamlı değişiklik oluşturmadığı rapor edilmektedir (12). Kaya ve ark. (9) çalışmalarında sıçanlarda böbrek İR hasarına karşı likopenin 100 mg/kg dozunda gavaj yolu ile verilmesiyle üre kreatinin, böbrek MDA, böbrek GSH düzeylerinde anlamlı değişiklik olmadığını bildirmiştir. Bu sonuçlar, çalışmamızda böbrek MDA düzeyi dışındaki diğer verilerin sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Çalışmamızda K+LK grubunda MDA düzeyindeki yükselmenin likopenin veriliş süresi ve dozu ile ilişkili olabileceğini düşünüyoruz. Bu sonuçlarımıza göre sağlıklı sıçanlarda likopen, veriliş süresi ve dozuna bağlı olarak oksidatif hasara yol açabilir.

Çalışmamızın İR grubunda, böbrek MDA, serum NO düzeylerinde, böbrek fonksiyon belirteçlerinden olan serum üre ve serum kreatinin düzeylerinde, tübüler fonksiyonun göstergesi olan fraksiyonel sodyum atılımında, serum CK aktivitesinde, idrar KIM-1 düzeylerinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Glomerüler filtrasyon belirteci olan kreatinin klirensinde, idrar NO ve böbrek GSH düzeylerinde ise anlamlı düşüş görüldü. Histopatolojik kesitlerde yapılan incelemelerde nekroz ve tübüler kast birikimi izlendi. Böbrek İR hasarı oluşturulan grupta immünohistokimyasal olarak lokalizasyonları incelenen iNOS aktivitelerinde yükselme, eNOS aktivitelerinde ise düşüş görüldü.

Hastane kökenli ABH'nın çeşitli nedenleri arasında, yüksek ölüm oranına sahip olan İR en önde gelmektedir (16). Böbrek kılcal damar ağı oldukça karmaşıktır ve yüksek enerjiye ihtiyaç duyar. Kararlı durum koşullarında böbreklere, ihtiyacından daha fazla O₂

sağlanmaktadır. Patolojik koşullarda, kılcal damar ağının benzersiz yapısı ve artan pasif şant yolları nedeniyle ihtiyaç duyulan O₂ ile temin edilen arasındaki hassas denge bozulur. Bu medulla ve kortikomedüller kavşağın oksijen teminindeki azalmaya karşı yüksek hassasiyete neden olur. Sınırlı O₂ temini, solüt değişimi ve yüksek orandaki aerobik glikoliz için gerekli olan tübüler O₂ tüketimindeki artışa bağlı olarak artan O₂ ihtiyacı ile daha da kötüleşir. Birbirine paralel bu durumlar böbreği, hipoksik kuşullara son derece duyarlı hale getirir (103). Böbrek nakli ve böbrek damar cerrahisi gibi klinik koşullarda böbrek İR hasarı yaygın bir problemdir. Böbrek nakli esnasındaki İR, böbrek hücrelerinin ölümüne, böbrek hasarına, nakledilen organ fonksiyonunda gecikmeye ve böbrek nakli reddine neden olabilir. Altta yatan nedenler ATP'nin tükenmesi, Ca⁺² ve ROT'un hücre içinde birikmesi, proinflamatuvar sitokinlerin üretimi ve apoptotik yolağın aktivasyonunu içine alan karmaşık inflamatuvar koşullardır (106). İskemi/reperfüzyon hasarının majör nedeni oksidatif strestir. İskemik dokuya reperfüzyonun sağlanması ile birlikte bol miktarda moleküler oksijenin dokuya ulaşması, aşırı miktarda serbest ROT üretimine neden olur. Oluşan oksidatif strese bağlı olarak renal epitelyal ve endotelyal hücrelerde endoplazmik retikulum (ER) stresi yaratır. Endoplazmik retikulum stresine bağlı olarak apopitozis uyarılır ve Ca⁺² homeostazisi bozulur (107). İskemi/reperfüzyon hasarı, ATP'nin azalmasına, sitozolik Ca⁺² miktarının artmasına, proteaz ve fosfatazların aktive olmasına ve ROT'un üretimine neden olur. Reperfüzyon aşamasında kompleman sistem, lökosit aktivasyonuna ve kemotaksise neden olarak proinflamatuvar sitokinlerin üretiminin uyarılması ile daha güçlü inflamatuvar yanıtı neden olur. Reaktif oksijen türleri, polimorf nükleer lökosit kemotaksisine neden olarak aktive lökositlerden daha fazla miktarlarda ROT üretimini uyarır (6,9,15).

Son zamanlarda, sol renal artere 60 dk süre ile iskemi ardından 60 dk reperfüzyon uygulanarak yapılan çalışmada, İR uygulanan grupta (108), Wang ve ark. (73) sıçanlara 45 dk iskemi ve 6 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında, İR grubunda, Mousavi (104), 60 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uygulaması ile sıçanlarda böbrek İR hasarı oluşturduğu çalışmasında, İR grubunda MDA düzeylerinde anlamlı yükselme olduğunu rapor etmişlerdir. Chen ve ark. (109) çalışmalarında, sıçanlara 45 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uygulayarak oluşturdukları İR grubunda böbrek MDA düzeylerinde anlamlı yükselme, GSH düzeylerinde ise anlamlı düşüş, Singh ve ark. (110) çalışmalarında, 45 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uygulayarak oluşturdukları İR grubunda böbrek GSH düzeylerinde anlamlı düşüş, Kaya ve ark. (9) 45 dk iskemi ve 6 saat perfüzyon uyguladıkları çalışmalarında, sıçanlarda böbrek MDA düzeyinde yükselme ve GSH düzeyinde düşüş olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim

çalışmamızda, İR grubunda gözlenen MDA düzeylerindeki anlamlı yükselme ile GSH düzeylerindeki istatistiksel olarak anlamlı düşüş, bu çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur. Bu sonuçlarımız İR grubunda oksidatif hasarın arttığını ve antioksidan düzeylerinin de azalmış olduğunu göstermektedir.

İskemiden sonra glomerüler filtrasyon oranının belirteci olan serum BUN ve kreatinin değerlerinin artmasının nedeninin tübüler inhibisyon ya da tersine kaçak olduğu; bu artışın tübüler nekroz gelişmeden önce renal disfonksiyon evresinde meydana geldiği bildirilmiştir (9). Hoffman ve ark. (111) sıçanlara 30 dk süre ile bilateral böbrek iskemisinin ardından değişik sürelerde reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında, 24 saatlik reperfüzyon uygulanan grupta böbrek fonksiyon belirteçlerinden olan serum üre ve kreatinin seviyelerinde, Wang ve ark. (73) sıçanlara 45 dk iskemi ve 6 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında İR grubunda serum kreatinin düzeyinde, Mousavi (104), 60 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uygulaması ile böbrek İR hasarı oluşturduğu çalışmasında, İR grubunda serum kreatinin, BUN ve ürik asit seviyelerinde, Chen ve ark. (109) sıçanlara 45 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uygulayarak oluşturdukları İR grubunda serum kreatinin seviyelerinde, Guan ve ark. (34) sıçanlara unilateral 60 dk, bilateral 30 ve 60 dk iskeminin ardından 24 saat reperfüzyon sürelerini uyguladıkları çalışmalarında, tüm İR gruplarında serum kreatinin düzeylerinde anlamlı yükselme olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızın İR grubunda, glomerüler filtrasyon bozukluğunun göstergesi olan üre ve kreatinin düzeyindeki yükselme, daha önce farklı iskemi ve farklı reperfüzyon sürelerinde yapılan böbrek İR modeli çalışmalarındaki sonuçlar ile uyumluluk göstermektedir. Glomerüler filtrasyon hızının bir göstergesi olan kreatinin klirensinde görülen azalma; böbrek İR hasarı modelinin farklı zaman periyotlarında yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir (39,95,112). Bu sonuçlarımızın, uyguladığımız iskemi ve reperfüzyon sürelerinin böbrek fonksiyonlarının bozulmasını sağladığı ve literatürdeki sonuçlarla uyumlu olduğu görüldü.

Normal böbrekte NO, hem renal hemodinamikler hem de renal tübüler fonksiyon üzerinde etkilidir. Hem afferent hem de efferent arteriyoller direnci azaltır ve renal proksimal tübülde $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaz pompasının aktivitesini azaltarak Na geri Emilimini düşürür. İskemi/reperfüzyon hasarını takiben yükselmiş olan FeNa, bozulmuş olan tübüler fonksiyonun bir belirtecidir. Bu durum İR'den sonra artmış olan NO aktivitesinin bir sonucu olabilir. Artmış olan NO aktivitesi, doğrudan $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaz pompasının aktivitesini azaltarak, tübüler Na geri Emilimini azaltabilir (113). Sıçanlarda İR hasarının böbreklerde sodyum taşınması üzerindeki etkilerinin incelendiği farklı İR sürelerinde, 60 dk iskemi ve 24

saat reperfüzyon uygulanan grupta FeNa atılımındaki artış çalışmamızda elde edilen bulgularımızla benzerlik göstermektedir (114). Tübüler fonksiyonun bir göstergesi olan FeNa atılımındaki artış tübüler hasara bağlı olarak Na emiliminin bozulduğuna işaret etmektedir (95).

İdrar örneklerinde ölçülen KIM-1'in proksimal tübül hasarı için duyarlı bir belirteç olduğu rapor edilmektedir. Soljancic ve ark. (17) sıçanlarda 40 dk iskemi ve 24 saat reperfüzyon sürelerini uyguladıkları çalışmalarında, idrar KIM-1 düzeyinin İR grubunda, Hoffmann ve ark. (111) sıçanlara 30 dk süre ile bilateral böbrek iskemisinin ardından değişik sürelerde reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında, idrar KIM-1 düzeylerinin 24 saatlik reperfüzyon uygulanan grupta, Todorovic ve ark. (115) sıçanlarda 45 dk iskemi ve 4 saat reperfüzyon sürelerini kullandıkları çalışmalarında, İR grubunda KIM-1 düzeylerinin belirgin şekilde yükseldiğini, Speir ve ark. (116) sıçanlarda 45 dk iskemi 3, 24 ve 120 saat reperfüzyon sürelerini inceledikleri çalışmalarında KIM-1 düzeylerindeki artışın en çok 24. saatteki reperfüzyon sürelerinde olduğunu rapor etmişlerdir. Birçok çalışmada, idrar KIM-1 düzeylerinin, hem akut hem de kronik böbrek hasarında bir belirteç olarak farklı deneysel modellerde kullanıldığı bildirilmektedir (116). Mevcut çalışmamızda KIM-1 düzeyindeki yükselme farklı İR sürelerinde yapılan önceki çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Bu da mevcut çalışmamızda uyguladığımız 60 dk iskemi 24 saat reperfüzyon süresinde yoğun bir proksimal tübül hasarının oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda histopatolojik olarak böbrek hasarındaki artış da bu sonucu desteklemektedir.

Üriner NO, böbrek içi NO üretiminin indirekt bir belirteçidir ve İR hasarından sonra iskemik böbrekte belirgin şekilde artar (105,113). İskemik ABH'da anjiyotensin-II, endotelin ve NO gibi birçok maddenin böbrek damar direncini düzenlediği gösterilmiştir (113). İndüklenebilir NOS aktivitesinin artmasına bağlı olarak yüksek miktardaki NO üretimi durumlarında, eNOS kaynaklı NO üretiminin azalması ve BH₄ yetersizliğine bağlı olarak NO yetersizliği meydana gelmektedir (34). Nitrik oksit, böbrek İR sürecinin fizyolojik ve patofizyolojik önemli bir mediyatördür. Renal iskemi sürecini takiben gelişen reperfüzyon döneminde iNOS aktivitesinin arttığı birçok çalışmada rapor edilmiştir. İndüklenebilir NOS aktivitesindeki artışın sonucu olarak NO'nun göstergesi olan NO₂⁻ ve NO₃⁻ düzeylerinde de artış olduğu gösterilmiştir (73). Bu veriler bizim çalışmamızda İR grubunda elde ettiğimiz artmış iNOS aktivitesi ve azalmış eNOS aktivitesi ile uyumludur. Ayrıca bizim çalışma sonuçlarımızda da böbreklerdeki NO göstergesi olan NO₂⁻ ve NO₃⁻ düzeylerindeki artışa paralel olarak gözlenen immünohistokimyasal olarak lokalizasyonu gösterilen iNOS

aktivitesindeki artış bu çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda eNOS düzeyinde azalma olması ve böbrekteki NO metabolitlerinin düzeylerindeki artışın iNOS kaynaklı olduğunu düşündürmektedir.

Öztürk ve ark. (108) sıçanlarda sol renal artere 60 dk süre ile iskeminin ardından 60 dk reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında İR grubunda histopatolojik olarak; belirgin nekroz, tübüler dilatasyon, luminal kojesyon, kast birikimini içeren böbrek hasarının anlamlı derecede arttığını, Mousavi (104), 60 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uygulaması ile böbrek İR hasarı oluşturduğu çalışmasında; İR grubunda histopatolojik olarak tübüler dilatasyon, kast birikimi, inflamasyon, nekroz ve selüler vakuolizasyon gözlendiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda, HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde tübül epitellerinde basıklaşma, vakuolizasyon, belirgin nekroz ve dilatasyon izlendi. Ayrıca tübül lümenlerinde yaygın kast oluşumu, glomerüllerde ve vasküler yapılarda konjesyon izlendi. Bu bulgularımızın daha önce yapılan çalışmaların sonuçları ile benzerlik gösterdiği görüldü (104,108).

Likopen, α tokoferolden 10 kat, β karotenden 47 kat ve E vitamininden de 100 kat daha güçlü singlet oksijen tutucudur (117). Singlet oksijen temizleme esnasında, 1O_2 'den likopene enerji transferi olur ve enerjiden zengin üçlü durumuna dönüşür. Hidroksil radikali, NO_2 ya da peroksinitrit gibi diğer ROT türlerini yakalama ise likopenin oksidatif yıkımına neden olur. Böylece likopen canlıda lipit, protein ve DNA'nın oksidasyonuna karşı koruyucu rol oynar (8,118). Likopen, sıçanlarda hızlıca emilir ve serum düzeyleri 3 ile 24 saat arasında yüksek kalır. Normalde böbreklerde likopen birikimi olmaz. Likopen alımından itibaren 3 ile 24 saat arasında böbreklerdeki seviyesi yükselir (119).

Tayvanda yapılan bir çalışmada, plazma likopen seviyesi ve CKD görülme sıklığının ters orantılı olduğu, plazma likopen seviyesi en yüksek olanlarda CKD görülme sıklığının 0,32 ile 0,49 kat daha az olduğu bildirilmiştir (120). Diyaliz hastaları ile yapılan bir diğer çalışmada, hemodiyaliz hastalarında azalmış likopen seviyesi ve GSH-Px aktivitesinin, lipit peroksidasyonu ve HDL-c seviyesindeki artışla ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Hemodiyaliz hastalarında eksojen likopen ve endojen GSH-Px aktivitesindeki düşüşün lipit profili ile ilişkili olarak ölüm hızı ve oranını etkileyebileceği rapor edilmiştir (121).

Sıçanlarda böbrek İR hasarı oluşturulan 2 çalışmada likopenin etkilerinin incelendiği literatürde görülmektedir. Pektaş ve ark. (122) sıçanlarda sağ nefrektomi ve sol böbreğe 45 dk iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulayarak oluşturdukları böbrek İR modelinde, 2 gün günde 1 defa gavaj yoluyla 4 mg/kg dozunda likopen verilmesinin, yükselmiş olan serum kreatinin, üre düzeylerini ve histopatolojik hasarı azalttığını, yükselmiş olan Na, GSHPx,

MDA düzeyleri ile CAT aktivitelerini, azalmış olan GSH düzeyleri ile SOD aktivitelerini değiştirmedigini rapor etmişlerdir. Kaya ve ark. (9) sıçanlara iskemiden 30 dk önce gavaj yolu ile 100 mg/kg likopen verilmesini takiben 45 dk iskemi 6 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında, İR grubunda üre, kreatinin, doku ve böbrek MDA düzeylerinin yükseldiğini; GSH düzeylerinin düştüğünü; histopatolojik olarak tübüler vakuolizasyon fırçamsı kenar kaybı, tübüler nekroz, tübüler dilatasyon gözlendiğini; koruyucu olarak likopen verilmesinin MDA düzeylerini düşürdüğünü, GSH düzeylerini yükselttiğini, histopatolojik hasara karşı koruyucu olduğunu göstermişlerdir. Likopenin antioksidan ve antiinflamatuvar etki göstererek histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerin gösterge olarak kullanıldığı böbrek İR hasarını azalttığını bildirmişlerdir. Böbrek İR hasarı oluşturularak yapılan bu iki çalışmada likopenin kısmen koruyucu rol oynadığı rapor edilmektedir. Bizim çalışmamızda, likopenin MDA dışındaki diğer parametreler üzerinde herhangi bir koruyucu rolü olmadığı görüldü. Bu çalışmalarda görülen kısmi etkinliğin nedeni: a) Likopenin verilmiş süresi, b) Likopenin verilmiş dozu, c) İskemi/reperfüzyon sürelerindeki farklılıklar sonucu olabilir. Ayrıca önceki çalışmalarda likopen verilmesinin 3. saatinden sonra serum likopen seviyesinde düşüş olduğu bildirilmektedir (119). Çalışmalarında 24 saatlik reperfüzyon süresinde iyileşme görülmemesinin nedenlerinden biri de serum likopen seviyesindeki azalma sonucu olabilir.

Pierine ve ark. (123) yüksek yağlı ve karbonhidratlı beslenme ile oluşturdukları obezitede, diyetle birlikte 6 hafta, haftada 5 gün gavaj yolu ile 10 mg/kg dozunda likopen uyguladıkları çalışmalarında, diyetle likopen ilave edilmesinin sıçanlarda obeziteye bağlı olarak böbrekte yükselmiş olan MDA, glikasyon son ürün reseptörü (RAGE) ve TNF α düzeylerini anlamlı bir şekilde düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Sisplatinin neden olduğu böbrek hasarında, sıçanlara 6 mg/kg dozunda ve 10 gün süre ile gavaj yolu uygulanan likopenin tedavi edici etkilerinin incelendiği bir çalışmada, likopenin yükselmiş olan serum üre, kreatinin, böbrek MDA ve 8-izoprostan düzeylerini, Bax proteini, ısı şok proteini 60 (HSP60) ile HSP70 gen ifadelerini anlamlı derecede düşürdüğü ve sisplatinin neden olduğu böbrek hasarını azalttığını bildirilmiştir (124).

Sıçanlarda diabetik nefropatide, haftada 3 kez, 8 hafta süre ile intragastik yolla 40 mg/kg ve 80 mg/kg dozlarında likopenin verildiği bir çalışmada, diabet grubuna likopen verilmesinin kan glukoz seviyesinde düşüş, vücut ağırlığında artış, proteinüride azalma, LDL-C seviyesinde düşüş, HDL-C seviyesinde artış, SOD ve GSH-Px seviyesinde artış, MDA seviyesinde ve hücresel hasarda azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Likopenin antioksidan kapasitedeki bozukluğu tersine çevirdiğini ve MDA'nın neden olduğu böbrek hücre

sitotoksitesinde hemeoksijenaz-1 (HO-1) gen ifadesini artırarak böbrekteki metabolik homeostazisi düzenlediğini rapor etmişlerdir (11). Sıçanlarda streptozotosinin neden olduğu böbrek hasarında, likopenin tedavi edici etkilerinin incelendiği çalışmada, diabetin oluşmasından sonra 8 hafta süre ile 20 mg/kg dozunda likopenin gavaj yolu ile verilmesinin, diabete bağlı olarak anlamlı derecede artmış olan renal hasarı azalttığı, yükselmiş olan serum kreatinin, BUN, üre, protein ve MDA düzeylerini anlamlı derecede düşürerek, diabetik hastalardaki metabolik sendroma ve oksidatif strese karşı tedavi edici etkileri olduğu bildirilmiştir (125).

Deltametrinin neden olduğu nefrotoksistide, sıçanlara 30 gün süre ile ve 1 mg/kg dozunda likopenin verildiği çalışmada, likopen ve deltametrinin birlikte uygulandığı grupta TNF- α seviyelerinin düştüğü, tübül ve glomerüllerde kollajen çökmesinin azaldığı, glomerüllerde ve proksimal tübüllerde perivasküler fibrozis ve hyalinizasyonun izlenmediği gösterilmiştir. Likopenin deltametrinin neden olduğu böbrek hasarında koruyucu olduğu, likopen kullanımı ya da antioksidanlardan zengin besinlerin alımının erkek çiftçilerde pestisit maruziyetine bağlı toksisiteyi sınırladığı ve nefrotoksisteyi minimize ettiği rapor edilmiştir (105).

Civanın neden olduğu sitotoksiste, likopenin koruyucu etkilerini incelendiği bir çalışmada farelere günde bir defa 20 gün süre ile 5, 10, 15, 20 mg/kg/gün dozunda ve gavaj yolu ile likopen verilmiştir. Civa verilen grupta böbrek medullasında hiperemi, tübüler lezyonlar, tübüler dilatasyon ve tübüllerin albüminli içerikle dolu olduğu, 5 mg/kg dozunda likopen verilen grupta da tübüler dejenerasyonun olduğu, bunun 15 mg/kg dozunda likopen verilen grupta anlamlı olarak azaldığı, histopatolojik olarak gözlenen tübüler lezyonların 20 mg/kg dozunda likopen verilen grupta gerilediği rapor edilmiştir. Çalışmada, likopenin potansiyel bir antioksidan olarak hareket ettiği, civa aracılı sitotoksistide koruyucu olduğu ve bunun likopenin dozu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (10). Civaklorürün neden olduğu nefrotoksistide, sıçanlara 10, 25, 50 mg/kg dozunda gavaj yolu ile verilen likopenin koruyucu etkilerinin incelendiği bir çalışmada, koruyucu olarak verilen tüm likopen dozlarında MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü, serum kreatinin düzeyleri ve tespit edilen histopatolojik değişiklikler üzerinde ise koruyucu etkisinin görülmediği rapor edilmiştir (119). Sıçanlarda civaklorürün neden olduğu nefrotoksistide 2 gün süre ile gavaj yoluyla verilen 40 mg/kg dozunda likopenin koruyucu etkilerinin incelendiği bir çalışmada, likopenin, BUN, GSH ve MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü ve civaklorürün neden

olduğu oksidatif stres nedeniyle gelişen renal hasara karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir (117).

Kolistinin neden olduğu böbrek hasarında likopenin koruyucu etkilerini incelendiği bir diğer çalışmada, farelere 7 gün süre ile kolistin verilmeden 2 saat önce 5 ya da 20 mg/kg dozunda verilen likopenin her iki dozunun da, BUN, serum kreatinin, MDA düzeyleri ve iNOS aktivitesini anlamlı düzeyde düşürdüğü, ancak NO düzeylerinin yalnızca 20 mg/kg dozunda likopen uygulaması ile düştüğü gösterilmiştir. Apoptoziste önemli bir biobelirteç olan kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivitelerinin kolitsinin neden olduğu nefrotoksisitede anlamlı düzeyde yükselmiş olduğu ve likopenin her iki dozunda da anlamlı olarak düşüş olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, likopenin farelerde kolistinin neden olduğu nefrotoksisitede, Nrf-2/HO-1 yolağını aktive ederek koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir (12).

Sıçanlarda gentamisininin neden olduğu nefrotoksisitede likopenin etkilerinin incelendiği çalışmada, oral yolla 10 gün süre ile 4 mg/kg dozunda likopen uygulanmıştır. Likopenin ön tedavi olarak verildiği grupta, yükselmiş olan MDA seviyelerinin değişmediği, ancak likopen ve gentamisininin eşzamanlı olarak uygulandığı grupta anlamlı bir düşüş görüldüğü, gentamisin uygulamasının GSH seviyelerinde değişikliğe neden olmadığı, ancak likopen uygulanan her iki grupta da GSH seviyelerinin anlamlı düzeyde yükselmiş olduğu rapor edilmiştir. Gentamisin uygulanan grupta gözlenen ileri derecedeki tübüler nekrozun, her iki likopen grubunda da anlamlı derecede düştüğü, ancak eşzamanlı likopen uygulamasında düşüşün daha belirgin olduğu gösterilmiştir (7).

Kontrast maddenin sıçan böbreklerinde neden olduğu oksidatif strese, 4 mg/kg dozunda ve 10 gün süre gavaj yolu ile verilen likopenin koruyucu etkilerinin incelendiği çalışmada, likopenin immünohistokimyasal yöntemle incelenen iNOS lokalizasyonu, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile tübüler nekrozu anlamlı olarak azalttığı ve MDA seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (126).

Sıçanlarda adriamisininin neden olduğu nefrotoksisitede likopenin koruyucu ve tedavi edici etkilerinin incelendiği bir çalışmada, hem hasar öncesi hem de hasar sonrası likopen verilmesinin tübüler nekroz, tübüler lümende kast birikimi, desquamasyon ve tübüler dejenerasyon, tübüler dilatasyon, glomerüler konjesyon ve intertübüler hemorajiyi anlamlı olarak düzelttiği; üre, kreatinin, MDA düzeylerini ve GSH düzeylerini düşürdüğü rapor edilmiştir (127).

Likopenin sıçanlarda kadmiyuma bağlı olarak meydana gelen kilo kaybı ve lipit peroksidasyonundaki etkilerinin incelendiği çalışmada, 20 gün süre ile 10 mg/kg dozunda oral

olarak likopen kullanılmıştır. Kadmiyumla birlikte likopen verilmesinin hem serumda hem de plazmada yükselmiş olan MDA seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir (128).

Okratoksin A uygulamasıyla oluşturulan böbrek hasarında sıçanlara 14 gün süre ile 5 mg/kg dozunda gavaj yolu ile verilen likopenin etkilerinin incelendiği çalışmada, likopenin GSH seviyelerini anlamlı olarak yükselttiği, histopatolojik olarak gözlenen tübüler epitelyal hücre dökülmesi, kast birikimi bulgularını ise kısmi olarak düzelttiği rapor edilmiştir (129).

Termal hasara bağlı böbrek hasarı oluşan sıçanlarda oral yolla 50 mg/kg dozunda likopen uygulanan grupta MDA seviyelerinin anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir (130).

Bizim çalışmamızda ise sadece taklit operasyon uyguladığımız K grubu ile 10 mg/kg dozunda, 7 gün süre ile likopen verdiğimiz ve taklit operasyon uyguladığımız K+LK grubunu karşılaştırdığımızda sadece MDA'da anlamlı yükselme olduğu görüldü.

Sıçanlara koruyucu amaçla 24 saatte bir kez ve son doz iskemiden 60 dk olacak şekilde, 7 gün süre ile 10 mg/kg dozunda gavaj yolu ile likopen verilmesinin ardından, 60 dk iskemi, 24 saat reperfüzyon uygulayarak oluşturduğumuz İR+LK grubunda, birçok deneysel modelde etkileri incelenen likopenin, MDA seviyelerini düşürerek lipid peroksidasyonunu azaltması haricinde böbrek fonksiyonları ve histopatolojik değişiklikler üzerinde koruyucu etkisinin olmadığını tespit ettik.

Likopenin birçok çalışmada antioksidan etki gösterdiği, böbrek fonksiyonlarını düzelttiği ve böbrek hasarını azaltarak tedavi edici rol oynadığı yukarıda özetlediğimiz çalışmalarda görülmektedir. Bizim çalışmamızda likopenin böbrek iskemisinden önce 7 gün süre ile 10 mg/kg dozunda gavajla verilmesinin ve reperfüzyonun 24. saatinde incelediğimiz parametreler üzerinde MDA düzeyinde anlamlı düşüş görülmesine rağmen koruyucu etkisinin olmadığı, hatta normal sıçanlarda likopen verilmesinin MDA düzeyini yükselttiği görüldü. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularımız ile yukarıda özetlediğimiz farklı böbrek hasarı geliştirilen modellerde likopenin etkilerini birlikte değerlendirdiğimizde likopenin oluşturduğumuz deneysel böbrek İR modelimizde koruyucu etkisinin görülmemesinde birkaç faktör rol oynayabilir: 1) Hasar gelişmeden önce 7 gün süre ile likopen verilmesinin normal böbreklerde lipid peroksidasyonuna neden olması yukarıda özetlediğimiz çalışmaların bazılarında 1 doz, bazılarında 2 doz likopenin koruyucu amaçla verildiği ancak çalışmaların büyük bir kısmında (7,9-11,122-125,127-130) likopenin tedavi edici etkilerinin görüldüğü rapor edilmiştir. 2) Likopenin bu farklı böbrek hasarı modellerinde tedavi edici etkilerinin görülmesinde, veriliş dozunun, verilme zamanının ve verilme sürelerindeki farklılıklar ile böbrek hasarı gelişiminden sonra verilmesine bağlı olabilir. 3) Çalışmamızdaki bulgularımız

deneysel böbrek İR modelinde likopenin koruyucu etkilerinin görülmemesinin nedenini açıklamada yetersiz kalmaktadır. Bu konuda koruyucu amaçla likopen verilmesinin oluşturduğu hasarın mekanizmasını açıklama amacıyla likopenin dozu ve veriliş süresinde yapılacak düzenlemeler ile yapılacak farklı modellerdeki etkilerinin incelendiği çalışmalarla bu mekanizmanın açığa çıkarılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda koruyucu amaçla likopen verilmesinin, İR uygulaması ile meydana gelen histopatolojik hasarı azaltıcı etki göstermemesinin nedeninin, likopenin veriliş dozuna ve süresine bağlı olabileceği görüşündeyiz.

SONUÇLAR

Çalışmamızda deneysel İR'nin sıçan böbreklerinde yol açtığı oksidatif hasarda, iskemik hasar oluşmadan önce likopen verilmesinin; antioksidan enzimler; MDA, NO, GSH KIM-1 düzeylerine, böbrek fonksiyonları ile histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerini inceledik.

Sonuçlar incelendiğinde;

Karşılaştırılan gruplar arasından K grubuna göre K+LK grubunda incelenen parametrelerden yalnızca MDA düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiği görüldü.

Deney gruplarının karşılaştırılmasında K grubuna göre İR grubunda, böbrek MDA, serum NO düzeylerinde, böbrek fonksiyon belirteçlerinden olan serum üre ve serum kreatinin düzeylerinde, tübüler fonksiyonun göstergesi olan FeNa atılımında, serum CK aktivitesinde, idrar KIM-1 düzeylerinde anlamlı yükselme gözlemlendi. Glomerüler filtrasyon belirteci olan kreatinin klirensinde, idrar NO ve böbrek GSH düzeylerinde ise anlamlı düşüş görüldü. Histopatolojik kesitlerde yapılan incelemelerde nekroz ve tübüler kast birikimi izlendi. Böbrek İR oluşturulan grupta immünohistokimyasal olarak aktiviteleri incelenen iNOS aktivitelerinde yükselme, eNOS aktivitelerinde ise düşüş görüldü. Bu sonuçlar modelimizin oluştuğunu göstermektedir.

İskemi/reperfüzyon grubu ile iskemi oluşturulmadan 7 gün önce koruyucu amaçla likopen verdiğimiz İR+LK grubu karşılaştırıldığında MDA düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü.

Bu sonuçlar dikkate alındığında, likopenin İR ile oluşturulan ABH üzerindeki koruyucu etkilerinin incelendiği çalışmamızda K grubuna likopen verilmesinin MDA düzeyini arttırdığı ve koruyucu olmadığı görüldü. İskemi/reperfüzyon grubuna likopen verilmesinin MDA düzeylerini azaltması dışında etki göstermemesinin mekanizmasının kapsamlı araştırmalarla incelenmesi gerektiği görüşündeyiz.

ÖZET

Likopenin, deneysel böbrek hasarı oluşturulan modellerin de içinde olduğu birçok çalışmada koruyucu ve tedavi edici etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda deneysel İR'nin sıçan böbreklerinde oluşturduğu hasarda, likopenin oksidatif hasar, nitrik oksit metabolizması, böbrek fonksiyonları ile histopatolojik değişiklikler üzerindeki koruyucu etkilerini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda kullanılan 300-350 g ağırlığında 32 adet erkek Sprague-Dawley sıçan, her grupta 8 sıçan olacak şekilde, Kontrol (K), Kontrol+Likopen (K+LK), İskemi/Reperfüzyon (İR) ve İskemi/Reperfüzyon+Likopen (İR+LK) grupları olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Böbrek damarları diseksiyonla ayrılmadan 6., 5., 4., 3., 2. 1. günler ile 60 dk önce K ve İR gruplarına mısır yağı, K+LK ve İR+LK gruplarına 10 mg/kg dozunda likopen gavaj yolu ile verildi. İR grubu ve İR+LK grubundaki sıçanlara 60 dk iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulandı. Yirmidört saatlik idrarları toplandıktan sonra anestezi altında kanları ve böbrekleri alınarak sakrifiye edildi.

Çalışmamızda K grubuna göre K+LK grubunda MDA düzeyinde anlamlı yükselme, K grubuna göre İR grubunda serum üre, kreatinin, serum NO düzeyleri, MDA, FeNa atılımında ($p<0,01$), CK aktivitesi, idrar KIM-1 düzeyleri ile böbrek hasarında ve tübüler kast birikiminde anlamlı yükselme ($p<0,05$), kreatinin klirensinde, idrar NO ($p<0,01$), böbrek GSH düzeyinde ($p<0,05$) anlamlı düşüş görüldü. İskemi/reperfüzyon hasarının geliştiği İR grubuna göre İR+LK grubunda oksidatif hasar belirteci olan MDA da istatistiksel olarak anlamlı düşüş görüldü ($p<0,01$).

Likopenin İR hasarında MDA düzeylerini azaltmasına rağmen böbrek fonksiyonları üzerinde koruyucu etkisi görülmedi. İskemi/reperfüzyon hasarına karşı likopenin bu etkilerinin mekanizmasının detaylı çalışmalarla araştırılması gerektiğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Böbrek iskemi/reperfüzyon, likopen, böbrek hasar molekülü-1, lipit peroksidasyonu

THE EFFECTS OF LYCOPENE ON EXPERIMENTAL RENAL ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY

SUMMARY

It has been reported that lycopene has some protective and therapeutic effects in many studies as well as experimental kidney injury model. In this study, we aimed to investigate the protective effects of lycopene on oxidative damage, nitric oxide metabolism, kidney functions and histopathological changes in the experimental IR model.

In this study we have used 32 male Sprague-Dawley rats in 300-350 grams of weights. The rats were divided into 4 groups (n=8) as Control (K), Control+Lycopene (K+LK), Ischemia/Reperfusion (IR) and Ischemia/Reperfusion+Lycopene (IR+LK). The Control and IR groups were just received corn oil and lycopene (10 mg/kg) was given to the K+LK and IR+LK groups just 6, 5, 4, 3, 2, 1 days or 60 minutes before the kidney vessels dissected off through the gavage. For the IR and IR+LK groups, 60 minutes ischemia and 24 hour reperfusion were applied. The rats were sacrificed under anaesthesia after 24 hours urine and blood collection and the kidney tissue was removed.

In this study, we have found a significant increase in MDA levels in the K+LK group when it was compared to the K group. There was also a statistically significant increase in serum urea, creatinine, NO and MDA levels, FeNa release ($p<0.01$), CK activity, urine KIM-1 level, kidney injury and tubular caste accumulation ($p<0.05$) in the K group when it compared to IR group. On the other hand there was a significant decrease in creatinine

clearance ratio, urine NO ($p < 0.01$) and renal GSH levels ($p < 0.05$) in the same groups. As an oxidative damage marker, MDA, was also decreased ($p < 0.01$) in the IR+LK group compared to IR group in which ischemia/reperfusion injury developed.

Although lycopene decreased the MDA levels in IR injury, we have not observed a protective effect of lycopene on renal functions. This mechanism of effect of lycopene against ischemia/reperfusion injury should be investigated with the detailed studies.

Keywords: Renal ischemia/reperfusion, lycopene, kidney injury molecule-1, lipid peroxidation

KAYNAKLAR

1. Lempiäinen J, Finckenberg P, Levijoki J, Mervaala E. AMPK activator AICAR ameliorates ischaemia reperfusion injury in the rat kidney. *Br J Pharmacol* 2012;166:1905-15.
2. Bilgili B, Haliloğlu M, Cinel İ. Sepsis ve akut böbrek hasarı. *Turk J Anaesth Reanim* 2014;42:294-301.
3. Bi W, Wang F, Bi Y, Wang T, Xue P, Zhang Y et al. Renal ischemia/reperfusion injury in rats is attenuated by a synthetic glycine derivative. *Eur J Pharmacol* 2009;616(1-3):256-64.
4. Chatterjee PK, Patel NSA, Kvale EO, Cuzzocrea S, Brown PAJ, Stewart KN et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int* 2002;61:862-71.
5. Korkmaz A, Kolonkaya D. Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Can J Surg* 2013;56(1):6-14.
6. Shimizu S, Saito M, Konishita Y, Ohmasa F, Dimitriadis F, Shomori K et al. Nicorandil ameliorates ischemia-reperfusion injury in the rat kidney. *Br J Pharmacol* 2011;163:272-82.
7. Karahan I, Ateşşahin A, Yılmaz S, Ceribaşı AO, Sakin F. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology* 2015;215:198-204.
8. Hekimoglu A, Kurcer Z, Aral F, Baba F, Sahna E, Atessahin A. Lycopene an antioxidant carotenoid, attenuates testicular injury by ischemia/reperfusion in rats. *Tohoku J Exp Med* 2009;218:141-7.

9. Kaya C, Karabulut R, Turkyilmaz Z, Sonmez K, Kulduk G, Gülbahar Ö et al. Lycopene has reduced renal damage histopathologically and biochemically in experimental renal ischemia-reperfusion injury. *Ren Fail* 2015;37(8):1390-5.
10. Cavusoglu K, Oruc E, Yapar K, Yalcin E. Protective effect of lycopene against mercury-induced cytotoxicity in albino mice: Pathological evaluation. *J Environ Biol* 2009;30(5):807-14.
11. Gou Y, Lui Y, Wang Y. Beneficial effect of lycopene on anti-diabetic nephropathy through diminishing inflammatory response and oxidative stress. *Food Funct* 2015;6:1150-6.
12. Dai C, Tang S, Deng S, Zhang S, Zhou Y, Velkov T et al. Lycopene attenuates colistin-induced nephrotoxicity in mice via Nrf2/HO-1 pathway. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59(1):579-85.
13. Boon SC, Xu Z, Yue X, McClements J, Weiss J, Decker EA. Factors Effecting Lycopene Oxidation in Oil-in Water Emulsions. *J Agric Food Chem* 2008;56:1408-14.
14. Havakhah S, Sadeghnia HR, Hajzadeh MAR, Roshan NM, Shafiee S, Hosseinzadeh H et al. Effect of *Nigella sativa* on ischemia-reperfusion induced rat kidney damage. *Iran J Basic Med Sci* 2014;17:986-92.
15. Ramírez V, Trujillo J, Valdes R, Uribe N, Cruz C, Gamba G et al. Adrenalectomy prevents renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;297:F932-42.
16. Chen YT, Tsai TH, Yang CC, Sun CK, Chang LT, Chen HH et al. Exendin-4 and sitagliptin protect kidney from ischemia-reperfusion injury through suppressing oxidative stress and inflammatory reaction. *J Transl M* 2013;11:270.
17. Soljancic A, Ruiz AL, Chandrashekar K, Maranon R, Luia R, Reckelhoff JF et al. Protective role of testosterone in ischemia-reperfusion-induced acute kidney injury. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2013;304:R951-8.
18. Ögütmen MB. Akut böbrek yetmezliği. *GKDA Derg* 2011;17(2):25-33.
19. Tanrıverdi MH, Karadağ F. Akut böbrek yetmezliği. *Konuralp Tıp Derg* 2010;2(1):46-52.
20. Horoz M, Özgür Ö. Akut böbrek yetmezliği. *Harran Tıp Fak Derg* 2004;1(3):48-63.
21. Kıykım AA. Akut böbrek yetmezliği nedenlerine genel bakış. 2006;15 (Ek/Supplement 1):5-12.

22. <http://www.kidney-international.org> KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. 2012;2(1).
23. Srisawat N, Kellum J. Acute kidney injury: Definition, epidemiology, and outcome. *Curr Opin Crit Care* 2011;17:548-55.
24. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute kidney injury (Seminar). *Lancet* 2012;380:756-66.
25. Özkısacık S, Yazıcı M, Çulhacı N, Serter M, Gürsoy H. Kısa aralıklı kontrollü reperfüzyon periyotları böbreği iskemi-reperfüzyon hasından koruyor mu? *Çocuk Cerrahisi Derg* 2010;24(1):7-11.
26. Teke Z, Kabay B, Özden A. İskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojisi. *Pamukkale Tıp Dergisi* 2008;1:65-72.
27. Önal A, Astarçioğlu H, Örmen M, Atila K, Sarıoğlu S. Sıçanlardaki renal iskemi-reperfüzyon hasarında L-karnitinin koruyucu etksi. *Ulus Travma Derg* 2004;10(3):160-7.
28. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006;160:1–40.
29. Ashtiyani SC, Zohrabi M, Hassanpoor A, Hosseini N, Hejhashemi S. Oral administration of the aqueous extract of *Rosmarinus Officinalis* in rats before renal reperfusion injury. *Iran J Kidney Dis* 2013;7(5):367-75.
30. Sohotnik R, Nativ O, Abbasi A, Awad H, Frajewicki V, Bishara B et al. Phosphodiesterase-5 inhibition attenuates early renal ischemia-reperfusion-induced acute kidney injury: Assessment by quantitative measurement of urinary NGAL and KIM-1. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013;304:F1099-104.
31. Liu T, Zhong S, Liao X, Chen J, He T, Lai S et al. A meta-analysis of oxidative stress markers in depression. *PLoS One* 2015;10(10):e0138904.
32. Psioschi AM, Pop A. The role of the antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* 2015;(97):55-74.
33. Azizi F, Seifi B, Kadkhodae M, Ahghari P. Administration of hydrogen sulfide protects ischemia reperfusion-induced acute kidney injury by reducing the oxidative stress. *Ir J Med Sci* 2015;Baskıda.
34. Guan Z, Gobè G, Willgoss D, Endre ZH. Renal endothelial dysfunction and impaired autoregulation after ischemia-reperfusion injury result from excess nitric oxide. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;291(3):F619-28.

35. Ögüt S, Atay E. Yaşlılık ve oksidatif stres. Süleyman Demirel Üniv Tıp Fak Derg 2012;19(2):68-74.
36. Devasagayam TPA, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. JAPI 2004;52:794-804.
37. Tomanek L. Proteomic responses to environmentally induced oxidative stres. J Exp Biol 2015;(218):1867-79.
38. Seifried HE, Anderson D E, Fisher EI, Milner J A. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. J Nutr Biochem 2007;(18):567-79.
39. Wu K, Lei W, Tian J, Li H. Atorvastatin treatment attenuates renal injury in an experimental model of ischemia–reperfusion in rats. BMC Nephrology 2014;15:14.
40. Toy A. Meme kanserli hastalarda tedavi öncesi ve sonrası total antioksidan kapasite eser elementler ve lipit peroksidasyonu (Tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2012.
41. Doğan Y, Şeneş M, Topkaya BÇ, Zengi O. Kronik kalp yetmezliğinde oksidatif/nitrozatif stres: Eleştirel bir derleme. Turk J Biochem 2006;31(2):86-95.
42. Akkoç H. Miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı. Dicle Univ Tıp Fak Derg 2008;35(3):211-5.
43. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygens pecies: The evolution of a concept. Redox Biol 2015;6: 524-51.
44. Zarkovic K, Larroque-Cardoso P, Pucelle M, Salvayre R, Waeg G, Nègre-Salvayre A et al. Elastin aging and lipid oxidation products in human aorta. Redox Biol 2015;4:109-17.
45. Cure E, Kirbas A, Tumkaya L, Cure MC, Sahin OZ, Kalkan Y et al. Effect of infliximab against cisplatin-induced nephrotoxicity. Saudi Med J 2014;35(9):953-8.
46. Aşıcıoğlu YT. Sıçanlardaki kronik alkolik karaciğer hasarına likopenin etkisi (tez). İstanbul: Şişli Eftal Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2005.
47. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007;39:44–84.

48. Çaylak E. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stresle antioksidanlar. Tıp Arast Derg 2011;9(1):73-83.
49. Kılınç K ve Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Medical Journal 2002;33(2):110-8.
50. Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. Algal antioksidanlar. EgeJFAS 2006;23(1/1):85-9.
51. Korkmaz A, Kolonkaya D. Protective effects of rutin on the ischemia/reperfusion induced damage in rat kidney. J Surg Res 2010;164:309-15.
52. Derviş E. Oral antioksidanlar. Dermatoz 2011;2(1):263-7.
53. Şener G, Yeğen BÇ. İskemi reperfüzyon hasarı. Klin Gelişim 2009;22(3):5-13.
54. Mers SS, Kumar ET, Ganesh V. Gold nanoparticles-immobilized, hierarchically ordered, porous TiO₂ nanotubes for biosensing of glutathione. Int J Nanomedicine 2015;10(1):171-82.
55. Aktaş M, Değirmenci U, Ercan S K, Tamer L, Atik U. Redükte glutatyon ölçümünde HPLC ve spektrofotometrik yöntemlerin karşılaştırılması. Türk Klinik Biyokimya Derg 2005;3(3):95-9.
56. Özgün GS, Eskiocak S, Süt N. Diyabetik sıçanlarda L-karnitinin karaciğer protein oksidasyonu üzerine etkisi. Türk Klinik Biyokimya Derg 2012;10(1):21-8.
57. Aydoğdu N, Kanter M, Erbaş H, Kaymak K. Kadmiyuma bağlı karaciğer hasarında taurin, melatonin ve asetilsisteinin nitrik oksit, lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidanlar üzerindeki etkileri. Erciyes Med J 2007;29(2):089-96.
58. He K, Chen X, Han C, Xu L, Zhang J, Zhang M et al. Lipopolisaccaride-induced cross-tolerance against renal ischemia-reperfusion injury is mediated by hypoxia-inducible factor-2 α -regulated nitric oxide production. Kidney Int 2014;85:276-88.
59. Atakişi O, Atakişi E, Atabay T, Uzun M. L-arjinin ve N ω -nitro-L-arjinin metil esteri uygulamasının beyin, karaciğer, böbrek dokusu nitrik oksit ve malondialdehit düzeylerine etkisi. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2009;15(1):71-5.
60. Aladağ M A, Türköz Y, Özerol İH. Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. T Klin J Med Sci 2000;20(2):107-11.

61. Stichtenoth DO, Frölich JC. Nitric oxide and inflammatory joint diseases. *Br J Rheumatol* 1998;37:246-57.
62. Davis KL, Martin E, Turko IV, Muard F. Novel effect of nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:203-36.
63. Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SW. Vascolar nitric oxide: Beyond eNOS. *J Pharmacol Sci* 2015;129(2):83-94.
64. Fu X, Li S, Jia G, Gou L, Tian X, Sun L et al. Protective effect of the nitric oxide pathway in L-citruline renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Folia Biol (Praha)* 2013;59(6):225-32.
65. Zhu J, Chen X, Yan Q. Catalpol protects mice against renal ischemia/reperfusion injury via suppressing PI3K/Akt-eNOS signaling and inflammation. *Int J Exp Med* 2015;8(2):2038-44.
66. Kaneko Y K, Ishikawa T. Dual role of nitric oxide in pancreatic β -cells. *J Pharmacol Sci* 2013;123:295–300.
67. Küçük A, Yucel M, Erkasap N, Tosun M, Koken T, Ozturk M et al. The effects of PDE5 inhibitory drugs on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Mol Biol Rep* 2012;39:9775-82.
68. Kone BC and Baylis C. Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney. *Am J Physiol* 1997;272(5Pt2):F561-78
69. Viñas JL, Sola A, Genescà M, Alfaro V, Pi F, Hotter G. NO and NOS isoforms in the development of apoptosis in renal ischemia/reperfusion. *Free Radic Biol Med* 2006;40(6):992-1003.
70. Yorulmaz H, Demirci C. Nitrik oksit sentetaz ve renin granülleri arasındaki ilişkinin albino fare (BALB/c) böbreğinde histokimyasal olarak değerlendirilmesi. *Nobel Med* 2013;9(1):42-8.
71. Mount P F, Power DA. Nitric oxide in the kidney: Functions and regulation. *Acta Physiol (Oxf)* 2006;187:433-46.
72. Sharma SP. Nitric oxide and the kidney. *Indian J Nephrol* 2004;14:77-84.
73. Wang P, Zhu Q, Wu N, Siow YL, Aukema H, O K. Tyrosol attenuates ischemia-reperfusion-induced kidney injury via inhibition of inducible nitric oxide synthase. *J Agric Food Chem* 2013;61:3669-75.

74. Waanders F, van Timmerman MM, Stegeman CA, Bakker SJ, van Goor H. Kidney injury molecule-1 in renal disease. *J Pathol* 2010;220:7-16.
75. Ragab D, Abdallah DM, El-Abhar H S. Cilostazol renoprotective effect: modulation of PPAR- γ , NGAL, KIM-1 and IL-18 underlies its novel effect in a model of ischemia-reperfusion. *PloS One* 2014;9(5):e95313.
76. Bonventre VJ, Yang Li. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *J Clin Invest* 2011;121(11):4210-21.
77. Funk JA, Schnellmann RG. Accelerated recovery of mitochondrial and tubule homeostasis with SIRT1/PGC-1 α activation following ischemia-reperfusion injury. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013;273(2):345-54
78. Vaidya VS, Ford GM, Waikar SS, Wang Y, Clement MB, Ramirez V, Glaab WE et al. A rapid urine test for early detection of kidney injury. *Kidney Int* 2009;76(1):108-14.
79. Gammone MA, Riccioni G, D'Orazio N. Carotenoids: Potential allies of cardiovascular health? *Food Nutr Res* 2015;59 doi: 10.3402/fnr.v59.26762.
80. Gajowik A, Dobrzyńska MM. Lycopene-antioksidant with radioprotective and anticancer properties. A review. *Rocz Panstw Zaki Hig* 2014;65(4):263-71.
81. van Breemen RB and Pajkovic N. Multitargeted therapy of cancer by lycopene. *Cancer Lett* 2008;269(2):339-51.
82. Palozza P, Catalano A, Simone R and Cittadini A. Lycopene as a guardian of redox signalling. *Acta Biochem Pol* 2012;29(1):21-5.
83. Kujawska M, Ewertowska M, Adamska T, Sadowski C, Ignatowicz E, Jodynys-Liebert. Antioxidant effect of lycopene-enriched tomato paste on *N*-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress in rats. *J Physiol Biochem* 2014;70:981-90.
84. Evans JA, Johnson EJ. The role of phytonutrients in skin health. *Nutrients* 2010;2:903-28.
85. Ross AB, Vuong LT, Ruckle J, Synal HA, Shulze-König T, Wertz K et al. Lycopene bioavailability and metabolism in humans: An accelerator mass spectrometry study. *Am J Clin Nutr* 2011;93:1263-73.
86. Stahl W, Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Aspects Med* 2003;24:345-51.
87. Wang XD. Lycopene metabolism and its biological significance. *Am J Clin Nutr* 2012;96(suppl):1224S-22.

88. Palozza P, Catalano A, Simone RE, Mele MC, Cittidani A. Effect of lycopene and tomato products on cholesterol metabolism. *Ann Nutr Metab* 2012;61:126-34.
89. Boyacıoğlu M, Kum C, Sekkin S, Yalinkilinç H S, Avcı H, Epikmen E T et al. The effects of lycopene on DNA damage and oxidative stress indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Clin Nutr* 2015;1-8 doi: 10.1016/j.clnu.2015.03.006.
90. Fujita K, Yoshimoto N, Kato T, Imada H, Matsumoto G, Inakuma T et al. Lycopene inhibits ischemia/reperfusion-induced neuronal apoptosis in gerbil hippocampal tissue. *Neurochem Res* 2013;38:461-9.
91. Xu J, Hu H, Chen B, Yue R, Z Zhou, Liu Y et al. Lycopene protects against hypoxia/reoxygenation injury by alleviating ER stress induced apoptosis in neonatal mouse cardiomyocytes. *PLoS One* 2015;10(8):e0136443.
92. Bignotto L, Rocha J, Sepodes B, Eduardo-Figueira M, Pinto R, Chaud M et al. Anti-inflammatory effect of lycopene on carrageenan-induced paw oedema and hepatic ischaemia-reperfusion in the rat. *Br J Nutr* 2009;102:126-33.
93. Koul A, Shubrant, Gupta P. Phytomodulatory potential of lycopene from *Lycopersicon esculentum* against doxorubicin induced nephrotoxicity. *Indian J Exp Biol* 2013;51:635-45.
94. Breinhot V, Larudsen T S, Daneshvar B, Jakobsen J. Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioksidant enzymes in the rat. *Cancer Lett* 2000;154:201-10.
95. Hacı M. Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında baicalinin etkileri (tez). Edirne:Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2012.
96. Aydoğdu N, Kaymak K, Yalçın Ö. Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında N-asetilsiteinin etkileri. *Fırat Tıp Derg* 2005;10(4):151-5.
97. Abdulazeez SS, Thiruvengadam D. Effect of lycopene on oxidative stress induced during D-galactosamine/lipopolysaccharide-sensitized liver injury in rats. *Pharm Biol* 2013;51(12):1592-9.
98. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-8.
99. Devi GS, Prasad MH, Saraswathi I, Raghu D, Rao DN, Reddy PP. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. *Clin Chim Acta* 2000;(293):53-62.
100. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959;82:70-7.

101. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990;36:1440-3.
102. Erdogan H, Fadilloğlu E, Yagmurca M, Uçar M, Irmak M K. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: Protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. *Urol Res* 2006;34:41-6.
103. Legrand M, Mik EG, Johannes T, Payen D, Ince C. Renal hypoxia and dysoxia after reperfusion of the ischemic kidney. *Mol Med* 2008;14(7-8):502-16.
104. Mousavi G. Study on the effect of black cumin (*Nigella sativa* Linn) on experimental renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Acta Cir Bras* 2015;30(18):542-50.
105. El-Gerbed MSA. Protective effect of lycopene on deltamethrin-induced histological and ultrastructural changes in kidney tissue of rats. *Toxicol Ind Health* 2014;30(2):160-73.
106. Shokeir AA, Barkat N, Hussein AM, Awadalla A, Harraz AM, Khater S et al. Activation of Nrf2 by ischemic preconditioning and sulforaphane in renal ischemia/reperfusion injury: A comparative experimental study. *Physiol Res* 2015;64:313-23.
107. Li Y, Zhong D, Lei L, Zhou H, Yang B. Propofol prevents renal ischemia-reperfusion injury via inhibiting the oxidative stress pathways. *Cell Physiol Biochem* 2015;37:14-26.
108. Ozturk H, Ozturk H, Terzi EH, Ozgen U, Duran A, Uygun I. Protective effects of Rosmarinic acid against renal ischemia/reperfusion injury in rats. *J Pak Med Assoc* 2014; 64(3):260-5.
109. Chen H, Xing B, Lui X, Zhan B, Zhou J, Zhu H et al. Ozone oxidative preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury: The role of nitric oxide. *J Surg Res* 2008;149:287-95.
110. Singh D, Chander V, Chopra K. Protective effect of catechin on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats. *Pol J Pharmacol* 2005;57:70-6.
111. Hoffmann D, Bijol V, Krishnamoorthy A, Gonzalez VR, Frenzl G, Zhang Q et al. Fibrinogen excretion in the urine and immunoreactivity in the kidney serves as a translational biomarker for acute kidney injury. *AJP* 2012;181(3):818-28.
112. Efrati S, Berman S, Hamad RA, Siman-Tov Y, Ilgiyaev E, Maslyakov I et al. Effect of captopril treatment on recuperation from ischemia/reperfusion-induced acute renal injury. *Nephrol Dial Transplant* 2011;0:1-10.

113. Srisawat U, Kongrat S, Muanprasat C, Chatsudthipong V. Losartan and sodium nitroprusside effectively protect against renal impairments after ischemia and reperfusion in rats. *Biol Pharm Bull* 2015;38:753-62.
114. Kwon TH, Frokiaer J, Han JS, Knepper MA, Nielsen S. Decreased abundance of major Na(+) transporters in kidneys of rats with ischemia-induced acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000;278(6):F925-39.
115. Todorovic Z, Medic B, Basta-Javanovic G, Skodric SR, Stanovic R, Rovcanin B et al. Acute pretreatment with chloroquine attenuates renal I/R injury in rats. *Plos One* 2014;9(3):e92673.
116. Speir RW, Stallings JD, Andrews JM, Gelnett MS, Brand TC, Salgar SK. Effects of valproic acid and dexamethasone administration on early bio-markers and gene expression profile acute kidney ischemia-reperfusion injury in the rat. *PloS One* 2015;10(5):e0126622.
117. Haibo Y, ZhaoFa X, Wei L, Yu D and Bin X. The protective role of procyanidins and lycopene against mercuric chloride renal damage in rats. *Biomed Environ Sci* 2011;24(5):550-9.
118. Islamian JP, Mehrali H. Lycopene as a carotenoid provides radioprotectant and antioxidant effects by quenching radiation-induced free radical singlet oxygen: An overview. *Cell J* 2015;16(4):386-91.
119. Augusti PR, Conterato GMM, Somacal S, Einsfeld L, Ramos AT, Hosomi FYM et al. Effect of lycopene on nephrotoxicity induced by mercuric chloride in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2007;100:398-402.
120. Chiang SS, Tai CW, Chung CJ, Chen JB, Su CT, Hsueh YM. Micronutrients and lifestyles in Taiwanese patients with stage 3 to 5 chronic kidney disease. *Nutrition* 2010;26(3):276-82.
121. Roehrs M, Valentini J, Paniz C, Moro A, Charão M, Bulcão R et al. The relationships between exogenous and endogenous antioxidants with the lipid profile and oxidative damage in hemodialysis patients. *BMC Nephrology* 2011;12:59 doi: 10.1186/1471-2369-12-59.
122. Pektaş A, Gemalmaz H, Balkaya M, Ünsal C, Yenisey Ç, Kılıçarslan N et al. The short-term protective effects of lycopene on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Turk J Urol* 2014;40(1):46-51.
123. Pierine DT, Navarro M, Minatel IO, Luvizotto RAM, Nascimento AF, Ferreira ALA et al. Lycopene supplementation reduces TNF- α via RAGE in the kidney of obese rats. *Nutr Diabetes* 2014;4: e142 doi:10.1038/nutd.2014.39.

124. Dogukan A, Tuzcu M, Agca C A, Gencoglu H, Sahin N, Onderci M et al. A tomato lycopene complex protects the kidney from cisplatin-induced injury via affecting oxidative stress as well as Bax, Bcl-2, and HSPs expression. *Nutr Cancer* 2011;63(3):427-34.
125. Li W, Wang G, Lu X, Jiang Y, Xu L, Zhao X. Lycopene ameliorates renal function in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Int J Clin Exp Pathol* 2014;7(8):5008-15.
126. Buyuklu M, Kandemir FM, Ozkaraca M, Set T, Bakirci EM, Topal E et al. Beneficial effects of lycopene against contrast medium-induced oxidative stress, inflammation, autophagy, and apoptosis in rat kidney. *Hum Exper Toxicol* 2015;34(5):487-96.
127. Yilmaz S, Atessahin A, Sahna E, Karahan I, Ozer S. Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology* 2006;(218):164-71
128. Rencuzogulları N, Erdogan S. Oral administration of lycopene reverses cadmium-suppressed body weight loss and lipid peroxidation in rats. *Biol Trace Elem Res* 2007;118:175-83.
129. Palabiyik SS, Erkekoglu P, Zeybek ND, Kizilgun M, Ertoy Baydar D, Sahin G et al. Protective effect of lycopene against ochratoxin A induced renal oxidative stress and apoptosis in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2013;65:853-61.
130. Çevik Ö, Oba R, Macit Ç, Çetinel Ş, Çilingir Kaya Ö T, Şener E and et al. Lycopene inhibits caspase-3 activity and reduces oxidative organ damage in a rat model of thermal injury. *Burns* 2012;38:861-71.

RESİMLEMELER LİSTESİ

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Likopenin kimyasal yapısı	18
Şekil 2: Ortalama böbrek MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	36
Şekil 3: Ortalama böbrek GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	37
Şekil 4: Ortalama böbrek NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	37
Şekil 5: Ortalama serum Na düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	38
Şekil 6: Ortalama serum K ⁺ düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	38
Şekil 7: Ortalama serum ALT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	39
Şekil 8: Ortalama serum AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	39
Şekil 9: Ortalama serum üre düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	40
Şekil 10: Ortalama serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	41
Şekil 11: Ortalama serum CK düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	41
Şekil 12: Ortalama serum NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	42
Şekil 13: Ortalama idrar KIM-1 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	43
Şekil 14: Ortalama idrar NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	43

Şekil 15: Ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	44
Şekil 16: Ortalama idrar Na düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	44
Şekil 17: Ortalama kreatinin klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	45
Şekil 18: Ortalama FeNa% düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	46
Şekil 19: K grubunun böbrek kesiti (HEX200)	48
Şekil 20: K+LK grubunun böbrek kesiti (HEX200).....	48
Şekil 21: İR grubunun böbrek kesiti (HEX200)	49
Şekil 22: İR+LK grubunun böbrek kesiti (HEX200).....	49
Şekil 23: Böbrek hasarı derecesinin gruplar arası karşılaştırılması	50
Şekil 24: % kast değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	51
Şekil 25: K grubunun böbrek kesiti (eNOSx200).....	54
Şekil 26: K+LK grubunun böbrek kesiti (eNOSx200)	55
Şekil 27: İR grubunun böbrek kesiti (eNOSx200).....	55
Şekil 28: İR+LK grubunun böbrek kesiti (eNOSx200)	56
Şekil 29: eNOS aktivitesinin gruplar arası karşılaştırılması	57
Şekil 30: K grubunun böbrek kesiti (iNOSx200).....	58
Şekil 31: K+LK grubunun böbrek kesiti (iNOSx200).....	58
Şekil 32: İR grubunun böbrek kesiti (iNOSx200)	59
Şekil 33: İR+LK grubunun böbrek kesiti (iNOSx200).....	59
Şekil 34: iNOS aktivitesinin gruplar arası karşılaştırılması.....	60

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: K grubundaki her bir sıçana ait biyokimyasal veriler	31
Tablo 2: K+LK grubundaki her bir sıçana ait biyokimyasal veriler.....	32
Tablo 3: İR grubundaki her bir sıçana ait biyokimyasal veriler	33
Tablo 4: İR+LK grubundaki her bir sıçana ait biyokimyasal veriler	34
Tablo 5: Tüm grupların değişkenlerine ait Ort±SD verileri	35
Tablo 6: Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçlar	46
Tablo 7: Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçlar	47
Tablo 8: Grupların eNOS immünohistokimyasal boyanma skorları	52
Tablo 9: Grupların iNOS immünohistokimyasal boyanma skorları	53

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Kahramanmaraş'ın Afşin ilçesinde doğdum. Lise eğitimimi 1990 yılında İcel Hacı Sabancı Lisesi'nde tamamladım. Lisans eğitimimi İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü'nde 1998 yılında tamamladım. 2003-2006 yılları arasında Kafkas Üniversitesi Kars Sağlık Yüksekokulu'nda araştırma görevlisi olarak çalıştım. Yüksek lisansımı 2005 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda tamamladım. 2007 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu'nda öğretim görevlisi, 2009 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde öğretim görevlisi olarak çalışmaya başladım. Aynı görevde çalışmaya devam etmekteyim.

2010-2011Eğitim-Öğretim Yılı Bahar yarıyılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora eğitimime başladım.

Yayınlar:

- 1- Güven A, Demircan Poyraz M, Devrim AK, Deveci HA, Kaya İ. The investigation of recombinant human IGF-I (Insulin Like Growth Factor I) injection on rats liver and reduced glutathione levels. Kafkas Üniv Vet Fa. Der. 2006;12(2):159-62.
- 2- Demircan Poyraz M, Aslan Ş. Recombinant human IGF-I (Insulin-Like Growth Factor-I) enjeksiyonunun ratlarda (Wistar albino) musculus gastrocinemius Üzerine Etkileri. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2012;18(1):81-86.

Poster: Dedeoğlu B, abukel S, Erol , Demircan Poyraz M. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi ğrencilerinin Beslenme Durumları ve Etkileyen Faktörlerin Değerlendirilmesi. 9. Uluslar arası Katılımlı-Ulusal Hemşirelik ğrencileri Kongresi, Fethiye 01-03 Nisan 2010, P-033.

Poster: Aydoğdu N, Poyraz MD, Taştekin E, z S, Yavuz Y, ukur Z, Tarhan Aİ, Atagün . Sıçanlarda Böbrek I/R hasarında Aspirinin Etkileri. TFBD 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Trabzon 25-29 Eylül 2012, pp:123.

Poster: N. Aydogdu, E. Tastekin, Z. Cukur, M.D. Poyraz, O.Y. Yavuz, O.Kaya.The effects of Tarantula cubensis extract on renal ischemia/reperfusion injury in the rats. Federation of European Physiological Societies (FEPS) and the Hungarian Physiological Society; 2014 August 27-30; Budapest, Hungary, P4.33.

Poster: Atagun Bana C, Aydogdu N, Tastekin E, Demircan Poyraz M, Yalcinkaya Yavuz O. “The Effects of Erdosteine on Experimental Myoglobinuric Acute Kidney Injury in Rats” Federation of European Physiological Societies (FEPS) & Baltic Physiological Societies-FEPS-26-29 Agust 2015.

Poster: Demircan Poyraz M, Aydoğdu N, Taştekin E, St N. Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Likopenin Etkileri. TFBD 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Çanakkale 9-13 Eyll 2015, P093.

EKLER

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI


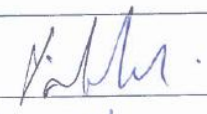
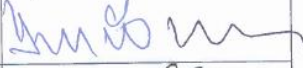

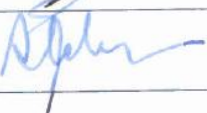

EDİRNE

Oturum Sayısı: 07

Karar Tarihi: 30.10.2013

KARAR NO: 2013.07.01

Yürütücülüğünü, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'nun yaptığı, Meryem POYRAZ'ın Doktora tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2013/60 nolu "Deneysel böbrek iskemisi/reperfüzyon hasarında likopenin etkileri" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvan/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet. Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Tevfik AKTOZ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	