

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

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON
HASARINDA PELARGONIUM SIDOIDESİN
ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Selime ÖZ

EDİRNE-2013


T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

ONAY

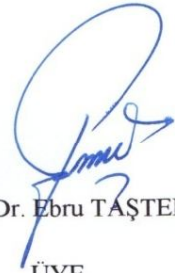
Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi **Selime ÖZ** tarafından tez başlığı "**Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında *Pelargonium sidoides*'in Etkileri**" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 23/01/2013 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "**Yüksek Lisans Tezi**" olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK

JÜRİ BAŞKANI


Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU

ÜYE


Yrd. Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN
ÜYE

Yukarıda imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Tammam SİPAHİ

Enstitü Müdürü V.

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

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON
HASARINDA PELARGONIUM SIDOIDESİN
ETKİLERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Selime ÖZ

Destekleyen Kurum: TÜBAP

Tez No: 2011/76

EDİRNE-2013

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca beni yetiştiren, çalışmam sırasında bilimsel katkıları ile yardımlarını esirgemeyen ve bana yol gösteren tez danışman hocam sayın Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya, yetişmemde emeği olan Emekli Hocamız Prof. Dr. Kadir KAYMAK, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK, Doç. Dr. Arzu VARDAR ve Yrd. Doç. Dr. Mevlüt YAPRAK'a çalışmamda yardımlarıyla yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN, Doç. Dr. Necdet SÜT, Mustafa HACI, Meryem D.POYRAZ, Aziz KARACA, Özlem YALÇINKAYA'ya, Ayşegül İ. TARHAN'a, Deneysel Hayvanları Araştırma Birimi çalışanlarına, diğer tüm anabilim dalımız Lisansüstü öğrenci ve çalışanlarına ve TÜBAP'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ	3
BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ	6
SERBEST RADİKALLER	11
ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	17
PELARGONIUM SIDOIDESİN	19
GEREÇ VE YÖNTEMLER	21
BULGULAR	28
TARTIŞMA	48
SONUÇLAR	55
ÖZET	56
SUMMARY	58
KAYNAKLAR	60
RESİMLEMELER LİSTESİ	70
ÖZGEÇMİŞ	72
EKLER	73

SİMGE VE KISALTMALAR

- ABY:**Akut Böbrek Yetmezliği
ATN:Akut Tübüler Nekroz
ATP:Adenozin Trifosfat
BUN:Kan Üre Azotu
Ca⁺²:Kalsiyum
cGMP:Siklik Guanizin Monofosfat
cNOS:Yapısal Nitrik Oksit Sentaz
eNOS:Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
FAD:Flavin Adenin Dinükleotid
FeNa:Fraksiyonel Sodyum Atılımı
FMN:Flavin Mononükleotid
GFR:Glomerüler Filtrasyon Hızı
GSH:Okside Glutasyon
GSH-Px:Glutasyon Peroksidaz
GST:Glutasyon S Transferaz
H₂O₂:Hidrojen peroksit
iNOS:İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
IL:İnterlökin
I/R:İskemi/Reperfüzyon

MDA:Malondialdehit
MPO:Myeloperoksidaz
Na:Sodyum
NADPH:Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (Redükte)
NO:Nitrik oksit
NO₂:Nitrojen dioksit
nNOS:Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NOS:Nitrik Oksit Sentaz
O₂⁻:Süperoksit Radikali
·OH:Hidroksil Radikali
SOR:Serbest Oksijen Radikalleri
SOD:Süper Oksit Dismutaz
TNF- α :Tümör Nekroz Faktör-alfa

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek yetmezliği (ABY), glomerüler filtrasyon hızının saatler veya günler içinde azalması sonucunda azotlu atıkların atılımının azalması; sıvı ve elektrolit dengesinin bozulması ile karakterize bir sendromdur. Akut böbrek yetmezliği olan hastalar genellikle asemptomatiktir ve bu durum, kan üre azotunda (BUN) ve serum kreatinin düzeylerinde gözlemlenen artış ile teşhis edilir. Hastaneye başvuran hastaların %1'inde, hastaneye yatırılan hastaların %5'inde, yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastaların %25-30'unda akut böbrek yetmezliği görülmektedir. Hastanede gelişen ABY'nin iki önemli nedeni prerenal hastalıklar ve akut tübüler nekroz (ATN)' dur. Bunlar ABY'nin tüm nedenlerinin % 70-75'ini oluşturmaktadır (1,2).

İskemi, arteriyel ya da venöz kan akımındaki azalmayla oluşan yetersiz perfüzyona bağlı olarak organ ve dokunun oksijenden yoksun kalması olarak tanımlanır. İskemi sonrasında dokuda enerji depolarının boşalması ve toksik maddelerin birikimi hücre ölümlerine yol açabilir. İskemik dokuya yeniden kan akımının sağlanmasına reperfüzyon denir. Reperfüzyon döneminde hücre içerisine giren moleküler oksijene bağlı olarak oluşan serbest radikallerin oluşturduğu hasar, iskemi sırasında oluşan hasardan çok daha fazladır. Serbest radikallere en fazla duyarlı olan hücresel yapılar protein, zar lipidleri, nükleik asitler ile deoksiribonükleik asit molekülleridir (3). Reperfüzyon sonrası böbreklerde serbest oksijen radikal (SOR) üretimini azaltmak, iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarını azaltabileceği rapor edilmektedir (4). I/R sırasında indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzim aktivitesi nitrik oksit (NO) sentezi için artış gösterir. NO böbrek I/R hasarının patofizyolojisinde de çeşitli dokularda olduğu gibi önemli rol oynamaktadır. Böbrek I/R hasarı ile ilgili yapılan çalışmalarda iNOS aktivitesinin inhibisyonu ile böbrek fonksiyon bozukluklarının azaltılabileceği bildirilmiştir. İn vitro ve in vivo böbrek çalışmalarında, iNOS yokluğunda, iNOS aktivitesinin inhibisyonunda böbrek I/R hasarının azaltılabileceğini veya düzelebileceği bildirilmiştir (5).

Türkçe adı sardunya olan *Pelargonium sidoides* anavatanı Güney Afrikadır. Bu bitki, Güney Afrika'da uzun bir süredir geleneksel tıp uygulamalarında kullanılmaktadır. Bronşit, sinüzit, anjin (boğaz ağrısı), viral enfeksiyonlara bağlı burun akıntısı ve farenjit olgularında etkili olduğu saptanmıştır. Bağışıklık sistemini güçlendirici antiviral özelliklere sahiptir.

Ayrıca bazı bakterilere karşı antibakteriyel etkisinin yanı sıra antioksidatif özelliklerine sahiptir. Bunun dışında, organizmanın bağışıklık sistemini güçlendirdiği ve solunum epitel hücrelerinin silia vurum sıklığını artırarak balgam söktürücü etkiye sahip olduğu da bildirilmiştir. Pelargonium sidoidesin bazı türlerinde yapılan çalışmalar ile antiinflamatuvar ve oksidatif stres üzerine serbest radikal süpürücü ve antioksidan etkisi olduğu saptanmıştır (6-8). Literatürde yaptığımız araştırmalar sonucu pelargonium sidoidesin böbrek iskemisi reperfüzyon hasarı üzerindeki etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlamadık.

Çalışmamızda deneysel I/R'nin sıçan böbreklerinde yol açtığı oksidatif hasarda; Pelargonium sidoidesin lipid peroksidasyonu, glutatyon, nitrik oksit indikatörü olan nitrat/nitrit düzeyleri, böbrek fonksiyonları ve böbrek hasarı üzerindeki etkilerini, etki mekanizmasını araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

Böbrekler kandaki atık maddeleri süzme, vücuttaki tuz ve su dengesinin korunmasına, kan basıncının düzenlenmesine yardımcı olma gibi işlevleri yerine getiren organlardır. ABY, böbreğin normal fonksiyonlarının çeşitli nedenlerle hızla bozulması, glomerüler filtrasyon hızının (GFR) saatler veya günden güne ani azalması sonucunda azotlu atıkların birikmesi, sıvı ve elektrolit dengesinin bozulması ile karakterize bir klinik sendromdur (1,9). Böbrek fonksiyonları, öncesinde normal olan hastalarda gelişen akut böbrek yetmezliği çoğunlukla etkin tedavi ile geri dönüşümlüdür. Bu ABY'yi kronik böbrek yetmezliğinden ayıran en önemli özelliktir (1).

İdrar miktarı ABY'de değişiklik göstermektedir. Çoğunlukla oligüri (idrar miktarı günde 400 ml'den daha az) ve anüri (idrar miktarı günde 100 ml'den daha az) görülür. Nadiren de olsa nonoligürik ABY görülmektedir. ABY gelişen hastaların %0.05'inde diyaliz gereksinimi bulunmaktadır. Diyaliz ihtiyacı duyulan hastalarda morbidite ve mortalite oranı artmaktadır. Bununla birlikte ABY'de infeksiyöz hadiseler ölümlerin %75'inden sorumludur. İkinci en sık ölüm nedeni de kardiy-respiratuvar hadiselerdir (10,11).

ABY'nin genel olarak en yaygın nedeni iskemik olaylardır. İskemik ABY'nin en sık rastlanan sebepleri böbrek transplantasyonu, kardiyovasküler cerrahi girişimler, hemoraji, sepsis, dehidratasyon ve travmadır. Nakil sonrası I/R hasarını azaltmak için öncesinde ve sonrasında kullanılan koruyucu ilaçların önemi büyüktür (12-14). Örneğin, aorta ameliyatları sonrası gelişen ABY oranı %50 ve koroner baypas sonrası gelişen ABY %4-15 olarak bildirilmiştir (15). ABY hemen her zaman olduğu gibi yatış gerektiren ve sağlık bakım maliyeti oldukça yüksek olan bir hastalık tablosudur. Sağlık hizmetlerindeki gelişmelere

rağmen hala mevcut tedaviler destekleyicidir. Bundan dolayı iskemik hasar ve postiskemik onarımı düzenleyen mekanizmalarla ilgili fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu rapor edilmektedir (16,17).

İskemiye bağlı olarak gelişen ABY tübüler nekroz, GFR'de azalma ve böbrek vasküler direncin artmasıyla karakterizedir (18). Glomerül filtrasyon basıncının azalması; böbrek damar tonüsünün artması, böbrek damarlarının otoregülasyon mekanizmasının kaybı, anormal böbrek damar aktivitesi ve tübüler obstrüksiyonla ilişkilidir. Total böbrek kan akımı iskemiye takiben %30-70 oranında azalır. Bu azalma artmış böbrek damar direnç ile ilişkili olduğu gösterilmiş, ancak bu azalmanın altında yatan mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir (19). Böbrek damarlarındaki nötrofillerin aktivasyonu ile hücre zedelenmesi ABY oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Böbrek hasarının gelişiminde iskemiden çok, reperfüzyon hasarının etkileri daha fazladır. Mikrovasküler disfonksiyon, vazoaaktif maddelerin dengesizliği, reaktif oksijen türleri ile reaktif nitrojen türlerinin artması endotel hücre hasarını artırır (20). İnflamasyon ile bozulmuş mitokondriyal solunum I/R kaynaklı hasarın altında yatan mekanizmalarıdır. Kompleman proteinler, kemokinler, ve adezyon moleküllerinin böbrek I/R hasarının oluşumunda aktif rol aldıkları bilinmektedir. Bu ardışık olaylar sitokin, kemokinler ve adezyon moleküllerini kontrol eden nükleer faktör kappanın aktivasyonunda bulunduğu bilinmektedir. Ayrıca, interlökin (IL)-1, IL-6 ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) gibi pro-inflamatuar sitokinlerin böbreklerdeki üretimini ve salınımının artmış olduğu görülmüştür (21). İskemi ve reperfüzyon ile böbrekte vasküler endotel hücrelerde, tübüler epitel hücrelerde ve immün sistem homeostazında bozukluklara neden olur. Bunun sonucu ödem ve mikrovasküler geçirgenliğin arttığı bildirilmiştir (20,21). Akut iskemik hasar, başlıca proksimal tübülde görülür. Proksimal tübül hücreleri, adenosin trifosfat (ATP) sentezini sadece mitokondriyal oksidatif fosforilasyon yolu ile yaptığından iskemik hasara daha duyarlıdır (1, 22).

ABY nedenlerine bağlı olarak prerenal, intrinsik renal ve postrenal olmak üzere üç kategoriye ayrılır.

Prerenal Akut Böbrek Yetmezliği

Prerenal akut böbrek yetmezliğinin asıl sebebi renal parankim hasarı oluşturmayacak düzeydeki böbrek kan akımında görülen bozulmadır. Bu bozulmanın sebepleri şunlardır:

1) Damar içi volüm kaybı: Kanama, sepsis, kusma, diyare, aşırı diürez, sıvı alım azlığı,

2) Böbreğe gelen akımında azalma: Nefrotik sendrom, siroz veya hepatorenal sendrom, konjestif kalp yetmezliği,

3) Böbrek kan akımında dışarıdan alınan ajanlara bağlı olarak bozulma: Nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlar, anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleridir (23).

Renal fonksiyonlar böbrek perfüzyonunun normalleştirilmesi ile geri kazanılır. Prerenal ABY'de böbrek normal volümü devam ettirebilmek için su geri emilimini arttırıp fazla miktarda sodyum (Na) tutar. Bunun içindir ki, intrinsik renal ABY'den ayıran en önemli tanı indeksi fraksiyonel sodyum ekskresyonu (FeNa) $<1\%$ 'in altındadır. Azalmış böbrek kan akımı sonucunda gelişen iskeminin şiddetli ve uzun olması akut tübüler nekroza neden olur. Bundan dolayı mümkün olduğunca hızlı bir şekilde böbrek kan akımının düzeltilmesi ile böbreğin iskekiye maruz kaldığı süreyi azaltarak oluşacak parankim hasarın önlenmesi sağlanır. Böbrek kan akımı düzeltilirse prerenal ABY'de böbrek fonksiyonlarında 24-48 saatte düzelmeye başlar (23). Arteriel volümün azaldığı durumlarda renin anjiyotensin aldesteron sistemi ve sempatik sinir sistemi aktive olarak endotelin ve vazopressin salgılanır. Anjiyotensin II, norepinefrin, endotelin ve vazopressin vazokonstriksiyona ve renal yolla tuz ve su retansiyonu sağlayarak kardiyak ve serebral perfüzyon korunmaya çalışılır (24).

İntrinsik Renal Akut Böbrek Yetmezliği

Böbrek parankiminde hasar vardır, idrar ozmolaritesi izotoniktir. FeNa 1% 'in üzerindedir. İntrinsik renal akut böbrek yetmezliğinin sebepleri dört ayrı kategoride incelenir (25).

1) Tübüler Hastalıklar: İntrinsik renal akut böbrek yetmezliğinin hastaneye yatan bireylerdeki en sık rastlanan nedeni iskemi ya da toksinlere bağlı olarak gelişen ATN'dir. İskemik ATN prerenal azotemiden farklı olarak böbrek kan akımının düzeltilmesini takiben hemen ortadan kalkmaz. Genellikle geri dönüşümlüdür, ancak iskemi kortikal nekroz oluşturacak düzeyde ise böbrek yetmezliği kalıcı düzeyde olur (25).

2) Glomerüler Hastalıklar: Glomerülonefrit, proteinüri, hematüri ve hipertansiyon ile karakterizedir. Glomerülonefritlerin birçoğu kronik böbrek yetmezliği ile ilişkilidir, özellikle akut proliferatif glomerülonefrit ve hızlı ilerleyen glomerülonefrit ABY'ye neden olmaktadır (25).

3) Vasküler Hastalıklar: ABY'ye neden olan makrovasküler olaylar abdominal aorta hastalığı ve ana renal arterlerin oklüzyonudur. Genellikle mikrovasküler hastalıklar

mikroanjiopatik hemoliz ile birlikte dirler ve tromboza veya glomerüler kapillerde oluşan tıkanmaya bağlı olarak gelişirler (25).

4) İnterstisyel Nefrit: Genellikle akut interstisyel nefrit antibiyotik ve steroid olmayan anti-inflamatuar ilaçlara bağlı olarak gelişir. Ayrıca infeksiyonlar ve otoimmün hastalıklar dan da kaynaklanmaktadır. Böbrek interstisyumundaki primer hasarı vasküler, glomerüler veya tübüler hasarı içerir. Escherichia coli gibi bakteriyel infeksiyonlar da neden olmaktadır (26).

Postrenal Akut Böbrek Yetmezliği

Postrenal ABY, her iki idrar çıkış yolları veya tek böbrek yolu tıkanıklığı ile oluşur. Genito üriner sistemi prostat hipertrofisi, retroperitoneal bozukluklar ve maligniteler yaygın nedenlerdir. Kristallerden kaynaklanan intratübüler tıkanıklığı içeren diğer sebepler ise nörojenik mesane ve kolorektal karsinomdur. Aynı zamanda taş, kan pıhtısı, cerrahi sırasında kaza ile üreter bağlanması veya travması ile de postrenal ABY görülmektedir (27).

BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ

Akut böbrek yetmezliğinin görülen en yaygın nedeni böbrek iskemi reperfüzyon hasarıdır. Aerobik oksidatif solunumu etkileyen hipoksi genel hücre zedelenmesine ve ölüme neden olur. Hipoksinin en önemli nedeni, venöz ya da arteriyel kan akımı azalması sonucunda organ ve dokunun yetersiz perfüzyonuna neden olan iskemidir. Reperfüzyon ise iskemiyeye maruz kalan doku veya organların yeniden kanlanmasına bağlı olarak oksijenlenmesi olayıdır. Reperfüzyon hasarı ise, iskemiden sonraki yeniden kanlanma döneminde meydana gelen doku ya da organlarda ki hasar olarak tanımlanır (28,29).

Böbrek iskemisinin en çok görüldüğü klinik durumlar; böbrek transplantasyonu, kardiyopulmoner bypass, sepsis, kısmi nefrektomi, hidronefrozis ve çeşitli ürolojik girişimlerdir. İskemi sonrasında hücrelerde birçok metabolik ve yapısal değişiklikler oluşmaktadır. Bunlardan bazıları; vasküler endotel hücrelerde, tübüler epitelyum hücrelerde ve böbrek immün sistem hemostazındaki değişikliklerdir. Hücrede oksidatif fosforilasyonu bozarak fosfokreatin ve ATP sentezinde azalmaya yol açmasıdır. Hücre membranında bu durum ATP'ye bağımlı iyonik pompa fonksiyonunun bozulmasına ve hücreye daha fazla Na⁺ ve kalsiyum (Ca⁺²), ile su girmesine neden olur. Adenin nükleotinin yıkımı da iskemi sırasında artmaktadır. Bu durum ise SOR'un prekürsörü olan hipoksantin hücre içerisinde birikimine neden olmaktadır (20,30,31). Ca⁺² iyon konsantrasyonunun hücre içinde artması sitotoksiktir. Hücrede iyon konsantrasyonunun bu dönemde değişimi ile lökosit adezyon

moleküllerin yapımında artış ve antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Reperfüzyon dönemindeki hasara karşı bu durum hücreyi oluşabilecek hasara karşı güçsüz kılar (3). Reperfüzyon ile dokuya oksijen sağlanması böbrek hücrelerindeki koruyucu antioksidatif kapasiteyi aşan SOR'un oluşmasına sebep olur. Dahası, I/R hasarı kemokinler, sitokinler, sitozin reseptörleri ve adezyon molekülleri içeren çoklu proinflatuvar genlerin tamamlayıcı aktivasyonunu ve doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin bileşenlerini uyarır (32). Reperfüzyonun erken döneminde hasar alanlarında masif nötrofil akınları gözlenir. Bu nötrofiller serbest proteaz ve SOR ile I/R'nin patofizyolojisinde çok önemli rolü vardır ve böbrek hasarını arttırmalar. Bu koşullarda tübüler epitel hücreleri nekroz ve apoptozise maruz kalırlar. ATP üretimi iskemi döneminde durmasına rağmen kullanımı devam ettiği için ATP'den adenozin ve adenozin monofosfat (AMP) oluşur. Adenozin hücre dışına hızla difüze olur ve hipoksantine ve inozine parçalanması sonucunda ATP yıkımı ve dokuda hipoksantin ve ksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine neden olarak ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza dönüşümüne yol açar (3,33,34).

Oksidatif Stres

Serbest radikallerin organizmadaki oluşum hızıyla bunların antioksidan sistemler tarafından kaldırılma hızı bir denge içerisinde. Bu duruma oksidatif denge adı verilir. Organizma oksidatif denge sağlandığı sürece serbest radikallerden etkilenmemektedir. Ancak antioksidan savunma bozulur ya da ortadan kalkarsa hücrelerin SOR üretimi artar ve denge bozulur. Sonuç olarak doku hasarı meydana gelir. Bu hasara 'oksidatif stres' adı verilir (35,36).

Nitrik Oksit

Nitrik oksit renksiz yüksek derecede geçirgen vazodilatör bir gazdır. Oksijensiz ortamda yüksek konsantrasyondaki NO stabildir ve suda erime özelliği gösterir (37,38). NO'nun yarılanma ömrü 3-5 saniyedir ve birkaç saniyede nitrit ve nitrate dönüşerek idrarla atılır. Bundan NO üretimini gösteren bir parametre olarak serum total nitrit/nitrat düzeyinin ölçümü kullanılır (39). Bununla birlikte oksijenli ortamda dahi düşük konsantrasyondaki NO stabildir. Kısa sürede havadaki NO, oksijenle oksitlenerek nitrojen dioksite dönüşür. NO'nun oksijene kıyasla hemoglobine afinitesi 3000 kez daha fazladır. Bundan dolayı inhalasyonda hemoglobin ile oksijenden daha önce birleşir. Su ve plazmada nitrite oksitlenerek saatlerce sabit kalabilen nitrik oksit kanda ise hızla nitrate çevrilmektedir. Bu nedenle kandaki nitrat konsantrasyonu nitrit konsantrasyonuna göre 100 kat daha fazladır (38).

L-arginin, nitrik oksit sentezleyen enzimler tarafından katelize edilen bir dizi reaksiyon sonucunda L-sitrulin ve NO'ya dönüşür. Ortamda bu reaksiyon için oksijen ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), kalmodulin ve tetrahidrobiopterin gibi ko-faktörlerin bulunması gerekir (40). Bu reaksiyon sonucu damar düz kas hücrelerine diffüze olan NO guanilat siklaz enziminin hem grubuna bağlanır ve enzimi aktif hale getirir. Guanozin trifosfat, aktifleşen guanilat siklaz enzimi tarafından siklik guanozin monofosfata (cGMP) dönüşür. Oluşan cGMP kas gevşemesine neden olur (41-43).

Dokular için nitrojen dioksit oldukça zararlı bir bileşiktir. Nitrik oksitin çiftlenmemiş elektron bulundurması ve üzerinde yük taşımaması hiçbir bariyerle karşılaşmadan, hücreden hücreye kolaylıkla geçmesini sağlamaktadır. Aynı zamanda taşıdığı çiftlenmemiş elektron nedeniyle NO bir radikal molekülü olarak isimlendirilebilir. Hücreler için her konsantrasyonda diğer serbest radikaller zararlı iken, düşük konsantrasyonlarda NO çok önemli fizyolojik işlevleri vardır. Ancak kontrolsüz ve aşırı sentezlenen NO hücreler için zararlı olmaktadır. Bu özellikleri ile NO çok ideal bir haberci molekül özelliğindedir (44).

Nitrik oksitin biyokimyası onu direk ve indirek olmak üzere 2 sınıfa ayırır. Direk etkileri, biyolojik hedef molekülü ile NO'yu tepkimeye direk sokacak kadar hızlı oluşan kimyasal tepkimelerdir. İndirek etkileri ise süperoksit (O_2^-) veya O_2 ile tepkimeye girmesi sonucu reaktif nitrojen radikalleri oluşturur. Genelde direk etkiler düşük derişimlerde oluşurken, yüksek derişimlerde indirek etkiler gözlenir (45).

Nitrik oksit sentezlenmesini sağlayan enzim nitrik oksit sentaz (NOS) enzimidir. NOS indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve yapısal nitrik oksit sentaz (cNOS) olmak üzere iki ana gruba ayrılır. NOS'ları 3 gen sentezler ve bunların her biri NOS1, NOS2 ve NOS3 olmak üzere NOS izoformunu oluşturur. NOS1 ve NOS3 nöronal ve endotelial NOS, NOS2 de indüklenebilir NOS olarak bilinir (46-48).

1) Yapısal Nitrik Oksit Sentaz İzoenzimleri (cNOS): Bu izoenzimin aktif olabilmesi için Ca^{+2} ya ihtiyacı vardır. Ca^{+2} 'nin hücre içinde artmasını sağlayan olaylar sonucunda Ca^{+2} kalmoduline bağlanarak Ca^{+2} /kalmodulin kompleksi oluşur. cNOS bu kompleks sayesinde aktifleşerek NO oluşur. Ca^{+2} 'nin hücre içine girişini arttıran uyarı kesildiğinde ise cNOS aktivitesi ortadan kalkarak NO sentezi durur. Kalsiyum düzeyi kesilinceye kadar cNOS pasif durumda kalır. Bundan dolayı sentez süresi kısa ve NO üretim miktarı da düşüktür. Çeşitli organ sistemleri için yapısal NOS bazal seviyelerde gereklidir (46, 49,50).

Nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS): Temel olarak nöron hücrelerinde bulunur. Merkezi sinir sisteminde iletilici ve aracı olarak görev yapar. Koku alma, görme, hafıza oluşmasında, ağrıyı algılamada rol alır. Periferik sinir sisteminde; nörotransmitter olarak adrenerjik ve kolinerjik sinir uçlarında rol oynar. Ereksiyonda, sindirim sisteminde, mesane sfinkter işlevinde, solunum fonksiyonları gibi bütün işlevlerdeki kan basıncı ve akış hızının düzenlenmesinde etkili rolleri vardır (49).

Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS): Düz kasların gevşemesini sağlayarak kan akış hızını, kan basıncını ve dolayısıyla kalp kasılmasını düzenler. Trombositlerin adezyon ve agregasyonlarını inhibe eder. Vasküler düz kas hücresi ve endotel hücresinde antiproliferatif etkisi vardır. eNOS böbrek fonksiyonlarının belirlenmesi ve sürdürülmesinde önemli rolü vardır. Örneğin proksimal tübülde Na geri emilimi gibi. Ancak yüksek konsantrasyonlarda proksimal tübül iskemik hasarı gibi böbrek patofizyolojisine katkısı vardır (49, 51).

2) İndüklenebilir (Uyarılabilir) Nitrik Oksit (iNOS): iNOS, endotoksin veya değişik sitokinlere yanıt olarak makrofajlar ve diğer hücre tiplerinin uyarılması sonucunda Ca^{++} 'dan bağımsız olarak salgılanır (47). iNOS kardiyomiyositler, nöronlar, hepatositler, mikroglial hücreler, vasküler endotel hücreler, nötrofiller ve düz kas hücrelerinde bulunur. Ortamdaki Ca^{++} konsantrasyonlarının artışından yapısal NOS enzimleri artarken iNOS etkilenmez (45). (iNOS) aktivitesinin inhibisyonu veya yokluğu iskeminin neden olduğu böbrek hasarını azalttığı gösterilmiştir (51).

NO'in fizyolojik etkileri: İnsanlarda damar endotelinden bazal durumlarda sürekli NO salınarak oluşan vazodilatör etki sonucunda damar rezistansının düzenlenmesine katkıda bulunur. İlâveten endotele lökosit adezyonunun sınırlandırılmasında trombosit aktivasyonunun önlenmesinde, miyokard kontraktilesinin regülasyonunda, ağrı, görme, koklama ve açlık duygusunu algılamada da önemli rolü vardır. Penil ereksiyonunda, pankreasta beta hücrelerinden insülin salgılanmasına, uterusun kasılma ve gevşemesine, organ sistemleriyle ilgili etkilerine ilâveten immün sistemde de önemli fonksiyonların gerçekleşmesine katkıda bulunmaktadır (52,53).

Böbreğin normal işlevini sürdürmesi için; makula densa, böbrek atardamarı, glomerul ve tübüllerde nitrik oksidazların kolaylaştırıcı etkisiyle birlikte L-arjininden oluşan nitrik oksit gereklidir. NO, renin sekresyonu, tübüloglomeruler feedback, renal hemodinami, böbrek oteregülasyonu, basınca bağlı sodyum geri çıkarılması, tübül işlevleri ve böbrek kan

basıncının düzenlenmesine yardımcı olur. Ayrıca afferent arterioller üzerindeki damar genişletici etkisi oldukça güçlüdür. Arteriel basınç üzerindeki artış e(NOS) oluşumunu arttırarak doğrudan tübüleri etkileyip Na geri emilimini durdurur. Nitrik oksidin renin salınımını azaltarak bu etkiyi oluşturduğu tespit edilmiştir (54,55). iNOS aktivitesi İ/R sırasında NO sentezi için artış gösterir. Bu diğer dokularda olduğu gibi böbrek İ/R hasarının patofizyolojisinde önemlidir. I/R hasarında yapılan çalışmalar iNOS aktivitesinin inhibisyonu ile böbrek fonksiyon bozukluklarının azalabileceği bildirilmiştir (5).

Nitrik oksid böbrek ile glomerüler hemodinamiğin önemli düzenleyicisidir. Böbreğin normal kan akımının 1/3'ünün gerçekleşmesinden NO sorumludur. Toplam kan akımını; glomerülüsün temel iç düzenleyici mekanizmasını NOS inhibisyonu engellememesine rağmen, azaltır. Böbrek mikrovasküler sistem üzerindeki NOS inhibisyonunun etkileriyle ilgili hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, NO'nun afferent ve efferent arteriyollerin dirençlerinde önemli rolü olduğunu göstermiştir (56).

Tübüler geri emilim fonksiyonunun bir düzenleyicisi olan nitrik oksit aynı zamanda böbrekteki arteryal basıncın meydana getirdiği natriüretik tepkinin majör düzenleyicisi olarak rol alır ve medulla perfüzyonunun düzenlenmesinde de önemli rol oynar. Deney hayvanlarında, böbreklere lokal olarak iNOS inhibitörlerinin verilmesinin, tuz tutulumunu arttırdığı, medullar kan akımını azalttığı, ve hipertansiyona sebep olduğu bildirilmiştir. Ancak, L-arginin verilip NO düzeyinin arttığı modellerde ise, medullar kan akımını yükselttiği ve hipertansiyonu engellediği rapor edilmiştir. Tuz alımının yüksek olduğunda böbrek medullasında, NOS aktivitesinin arttığı ve buna bağlı olarak NO konsantrasyonu artışıyla sonuçlandığı görülmüştür. Bundan dolayı NO, tuz alımındaki farklılıklarda, arteryal kan basıncının dengelenmesinde, medulladan Na⁺ atılımını düzenleyerek yardım eder (56).

Makula densadaki nNOS ekspresyonu ile aktivasyonunu distal tübüldeki tuz dengesi ve renal perfüzyondaki kronik değişimlerin sebep olduğu renin salınımındaki değişiklikler direkt olarak etkiler. Adenilsiklaza bağlı renin salınım mekanizması NO sentezi inhibe edildiğinde bozulur. Plazma renin aktivitesi akut NO inhibisyonunda azalır. Renin salınımını makula densa tarafından sentezlenen NO uyarır. NO inhibisyonunda sodyum klorür konsantrasyonunun tübüler lümende yükselmesi sonucu olan renin yapımındaki baskılanma oluşmaz. Bazal renin salınımıyla birlikte aynı zamanda makula densa, renal baroreseptörler ve betaadeno reseptör aktivasyonuna renin cevabını da düzenler (57).

Böbrek iskemi reperfüzyon hasarının patofizyolojisinde NO'nun önemli rolü vardır. NO hipoksik hasardan renal kortikal tübüleri, oksidatif hasardan da renal epitelyal hücreleri

korur. Tübüler nekroz iNOS izoformunun inhibisyonu ile azalır ve iskemi sonrasındaki gelişen renal fonksiyonlar korunur. Hasar sonrasında da hücreyel onarım üzerinde önemli rolü vardır. İleri derecede böbrek fonksiyonlarının kaybında NOS aktivitesinde asimetrik dimetil-arginin analogları kompetitif inhibisyon yapar. Endotelial NO yapımının azalması sonucu ateroskleroz ve hipertansiyona yol açar. Sempatoadrenal ve renin anjiotensin sistemin aktivite artışı ile NO inhibisyonunun oluşturduğu renal hasarın artmasına ve kan basıncı yüksekliğine katkıda bulunur (57,58).

SERBEST RADİKALLER

Aerobik organizmalar yaşamak için temel haldeki oksijene ihtiyaç duyarlar. Fakat normal metabolizma sürecinde oksijen kullanımı reaktif oksijen türleri üretir. Bu oksijen türleri hücre ve dokular için son derece zehirli ve zararlı olanlarının reaktif türleridir (59). Elektronlar atom çekirdeğinin etrafında bulunurlar ve ‘orbit’ adı verilen yörüngelerde hareket halindedirler. Orbitinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran atom ya da moleküllere serbest radikaller denir. Kimyasal olarak serbest radikaller kararsız yapılardır. Bundan dolayı elektron alma veya verme eğiliminde oldukları için reaktiviteleri yüksektir. Kısa ömürlüdürler, normal fizyolojik koşullarda üretilen serbest radikaller ve reaktif olmayan oksijen radikalleri biyolojik hücre ve dokularda düşük ancak ölçülebilir konsantrasyonlarda bulunurlar. Onların konsantrasyonları, üretim hızı ve klirens oranı arasındaki denge endojen antioksidanlar tarafından süpürülmektedir (60-63).

Serbest radikallerin pozitif ve negatif etkileri vardır. Sağlık için belirli miktarda serbest radikal üretimi gereklidir. Başta bağışıklık sistemi olmak üzere, enzim aktivasyonlarında, kimyasal reaksiyonların seyrinde, fagositoz, kas kasılmasında, hücrelerin biyogenezinde, hücreyel sinyal iletiminde rol oynarlar. Birçok yararlı etkilerine rağmen fazla üretimi, doku yaralanmasına, hücre zehirlenmesine, fonksiyon bozukluğuna ve iltihaplanmaya yol açar. Serbest radikallerin miyokard enfarktüsü, ateroskleroz ve iskemi gibi kardiyovasküler hastalıklar, kas hastalıkları, şok, nörodejeneratif hastalıklar, gastrik ülser, AIDS, astım, diyabet, romatoid artrit, kanser, katarakt gibi hastalıklarla ve yaşlanma süreciyle de yakından ilişkilidir Oksidatif hasar hücre ölümüyle yani apoptoza yol açabilir (64-66). Reperfüzyon sonrasındaki üretilen serbest radikaller iskemi reperfüzyon patofizyolojisinde önemli rol oynar ve hasarı daha da arttırırlar. Böbrek mikrosirkülasyonunun bozulması ile kan akımı yavaşlar ve vasküler endotel hücreleri koagülasyon basamaklarını aktive eder. Serbest radikallerin üretimini azaltarak oluşan hasar hafifletilir (67-69).

Organik/inorganik kimyasallarla hızlı reaksiyona giren serbest oksijen radikalleri stabil olmayan moleküllerdir. Serbest oksijen radikalleri şu mekanizmalar sonucunda oluşmaktadır (70).

- 1) Radyan enerji absorpsiyonu (ultraviyole, X ışını)
- 2) Normal hücre metabolizması sırasında gerçekleşen oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları (ksantin oksidaz, fenton reaksiyonu, solunum gibi). Hücre için özellikle demir ve bakır metabolizması büyük bir oksidatif hasardır.
- 3) İlaçların ve dış kaynaklı kimyasal maddelerin enzimatik metabolizasyonu.
- 4) Önemli bir kimyasal mediatör olan nitrik oksit serbest radikale dönüşebilir.
- 5) İskemik hasarlı bölgenin reperfüzyonu ile oksijen tedavisi serbest radikal oluşumuna neden olabilir.
- 6) İnflamasyonda polimorf lökositler ve makrofajlar yoluyla oluşur (70).

Serbest radikaller mitokondrial elektron transport sisteminde normal koşullar altında oksijene dört elektron eklenmesi sonucu suya (H₂O) indirgenir.

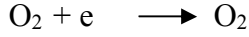


İskemi reperfüzyon hasarı durumunda ancak bir elektron (e) transferi ve tek değerli indirgenme sonucunda reaktif serbest oksijen radikalleri meydana gelir. Bunlar süperoksit radikali, hidrojen perosit, hipoklorik asit ve hidroksil radikalidir. Serbest oksijen radikallerinin yapılan çalışmalarda reperfüzyonun ilk birkaç dakikası içinde daha fazla üretilmesi sonucunda erken dönemde reperfüzyon hasarının daha fazla olduğu gösterilmiştir (71). Bazı moleküller karaciğer metabolizması esnasında ve oksihemoglobin ayrışması sonucunda da oluşturulur. Serbest radikallerin canlı içerisinde hemen hemen her molekül ile (yağ, şeker, aminoasit, nükleotid) reaksiyona girme hızı çok yüksektir. Kanseri, nörodejenerasyon ve otoimmün gibi hastalıklar oluşabilir (59).

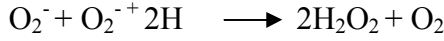
Reaktif Oksijen Türleri

Süperoksit radikali (O₂⁻): Hücrel metabolizma akışında şekillenen en bol SOR süperoksit radikalleridir. Bu radikal, çoğunlukla endoplazmik retikulum ve mitokondride elektron aktarımı sırasında üretilir. Fakat bu radikal aynı zamanda çeşitli enzimatik reaksiyonlarda yan üründür (59).

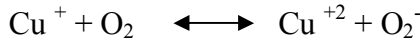
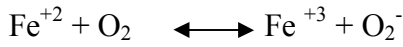
Soluduğumuz oksijen iki tek elektron içeren, çok stabil ve iki radikalli bir moleküldür. Dış enerji kaynağı sayesinde serbest elektronlardan birisini bir elektron kazanmakla negatif yük elde ederek çift konuma getirebilir. Bu molekül süperoksid anyonudur.



Organik moleküllerin çeşitli yıkım reaksiyonlarında reaktif bir radikal olan süperoksit anyonu rol alabilir. Zararlı oksidatif bir faktör olarak bilinen süperoksit anyonu aslında sadece nükleofilik özelliklerine dayanarak direk olarak etki yapar ve proton bulunmayan ortamlarda sadece aktivitesi ortaya çıkar (72). Spontan ya da enzimatik dismutasyonla bu radikalden ikinci bir ara ürün olan hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur.



Bakır (Cu) ve demir (Fe) gibi geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olması nedeniyle de önemlidir:



Fizyolojik bir serbest radikal olan NO'nun süperoksit ile birleşmesi sonucu peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit reaktif bir oksijen türevidir. NO'nun normal etkisi böylece inhibe edilir. Peroksinitritlerin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır. Ayrıca azot dioksit (NO_2), nitronyum iyonu (NO_2^+), hidroksil radikali (OH^\cdot) gibi başka toksik ürünlere dönüşürler (73).

Hidrojen peroksit (H_2O_2): Uzun ömürlü ve membranlardan kolayca geçebilen bir antioksidan olan hidrojen peroksidin asıl üretimi biyolojik sistemlerde süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki proton alarak iki O_2^- molekülü, H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluşturur (73).



Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler olduğundan buna dismutasyon denir. Bu dismutasyon ya süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalizlenir ya da spontandır. 4.8 ph'da minimal düzeyde spontan dismutasyon gerçekleşir. Protonlanmış ve protonlanmamış radikal konsantrasyonları ph'da eşittir. Fakat, hem süperoksitin fazla olduğu alkali ph'da hem de protonlanmış radikalın arttığı asit ph'da bu hız belirgin şekilde düşüktür. Süperoksit dismutaz tarafından süperoksitin dismutasyonun katalizlenmesi ise daha geniş bir ph aralığında olur. Spontan dismutasyonun yavaş olduğu alkali ya da nötral ph'da enzimatik dismutasyon daha belirgindir (74).

Serbest radikal olmadığı halde H_2O_2 , reaktif oksijen türleri içine girerek serbest oksijen radikal biyokimyasında birçok önemli rol oynar. Çünkü O_2^- ile reaksiyona girer ve kolaylıkla yıkılarak en zarar verici ve en reaktif oksijen radikali olan hidroksil radikali

oluşturur. Oluşan reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu denir. Bu reaksiyon katalizör ya da katalizörsüz cereyan edebilir. Ancak katalizörsüz reaksiyon yavaş ilerler. Demirle katalizlenen şekli ise çok hızlıdır. Süperoksit görüldüğü gibi hem geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi hem de hidrojen peroksit kaynağıdır. Okside şekillerine göre demir ve bakır gibi indirgenmiş geçiş metalleri hidrojen peroksitle daha reaktiftirler (74).

Hidroksil radikali (OH): Geçiş metallerinin varlığında H₂O₂'nin indirgenmesiyle OH⁻ meydana gelir. Oluşan bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denir.



Oksijen radikalleri içinde hidroksil radikali en reaktif olanıdır ve reaktivitesinden dolayı da en toksik olanıdır. Her tür molekül ile üretildiği yerde tepkimeye giren hidroksil radikali, radikal tepkimelerini de başlatabilir. Komşu moleküllerle çok hızlı reaksiyona giren hidroksil radikallerinin yarı ömürleri çok kısadır. Bunun sonucunda yarı ömürleri daha uzun, stabil ve daha az reaktif radikaller oluşur. Yüksek aktivitesinden dolayı istenmeyen toksik etkilerinin yanında normal biyolojik fonksiyonlar içinde üretimleri gereklidir. Fagositoz ve birçok enzimatik katalizin zorunlu bir üyesi olarak OH üretilir ve doğrudan kataliz olayına katılır (72,74).

Singlet oksijen: Serbest radikal olmadığı halde çok reaktif olması ve üretimi esnasında bazı radikal tepkimeler oluşması sebebiyle aynı aileden sayılmaktadır. Serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olduğu gibi serbest radikal reaksiyonları sonucunda da meydana gelir.

Oksijenin elektronlarından birinin kendi spininin ters yönünde başka bir orbitalle enerji alarak yer değiştirmesiyle olur. Enerji absorpsiyonu ile uyarılan oksijenin dış elektronları spinlerini değiştirerek aynı ya da ayrı ayrı orbitali işgal edebilir. Bu iki forma singlet oksijeni denir (75).

Nitrik oksit: Renksiz gaz şeklinde bulunan, tek sayıda elektron içeren inorganik bir serbest radikaldir. Lipit ve sulu ortamda çözünür ve hızla sitoplazma ve plazma membranları üzerinden ayrılır. Kararlı bir serbest radikal olan NO fizyolojik şartlarda birçok fonksiyonda rol alır. Nitrik oksit kan basıncının düzenlenmesi, nörotransmisyon, immün regülasyon gibi fizyolojik süreçleri, büyük bir çeşitlilik içinde önemli bir sinyal molekülü olarak görev yaptığı zengin bir reaktif radikaldir. Biyolojik sistemlerde geçiş metalleri, O₂⁻ ve O₂ ile reaksiyona girer. Metal ve tiyol içeren proteinlerle olan reaksiyonlar, enzim aktivitelerinde zayıflamaya

sebepler olur. Demir içeren elektron transport zincirindeki komplekslere nitrik oksit saldırmaları, bozulmuş enerji metabolizmasıyla sonuçlanır. Nitrik oksit artması sinir hücrelerinin tahribatına sebep olur (75,76).

Serbest Radikallerin Etkileri

Oksijen radikalinden etkilenen vücut kimyasal maddeleri arasında nükleik asit ve nörotransmitterler, proteinler ve yağ asitleri sayılabilir (72,77).

Lipid peroksidasyonu: Hücre membranları, SOR hasarına karşı çok duyarlıdır ve radikal kaynaklı hasarların sık görülen hedefleri olduğu tespit edilmiştir. Membrandaki çoklu doymamış yağ asitlerinin çoğunluğu iki çift bağ arasındaki bir metilen grubu içerir oksidasyon ile yağ asitleri daha hassas hale gelir. Yağ asitlerinin oluşturduğu bu oksidasyon sonucunda membran lipid yapısı değişir ve hücrenin yapı ve fonksiyonu bozulur (72,78).

Organizmada meydana gelen güçlü bir radikal etkisiyle, bir hidrojen atomunun membran yapısındaki konjuge olmayan yağ asidi zincirinde bulunan metil gruplarından uzaklaşması ile lipid peroksidasyonu başlar. Yağ asidi zinciri bu olayla radikalleşir. Meydana gelen lipid radikali (L) dayanıksızdır. Lipid peroksit radikali (LOO•) moleküller oksijen ile lipid radikalinin reaksiyona girmesi sonucu oluşur. Yeni lipid radikalleri de membrandaki çok doymamış diğer yağ asitlerinin lipid peroksit radikali tarafından etkilenmeleriyle oluşmaktadır. Açığa çıkan H₂ atomlarını alan lipid peroksit radikali de Lipid Hidroperoksitlere dönüşmektedir. Fenton tipi bir reaksiyonla lipid hidroperoksitlerden aldehit ve alkanlar oluşur. Daha fazla radikal yıkan hidroperoksitler lipid peroksit, pentan ve etan gibi uçucu gazları oluştururlar. En toksik ürünleri de aldehitlerdir. (72,79).

Hidroperoksitler devam eden tepkimeler sonucunda ve bunların parçalanması ile radikal özelliği daha şiddetli olan türlere özellikle de daha kararlı olan malondialdehite (MDA) dönüşürler. MDA seviyesinin dokuda artması serbest radikaller'in de o dokuda arttığını gösterir. MDA olduğu ortamdan hücrenin dış kısmına ya da iç kısmına diffüze olarak hasar oluşturabilir (80).

Bunun yanı sıra membran fonksiyonlarının yavaşlamasına, membran akıcılığının azalmasına, membran geçirgenliğinin artmasına ve membran enzim ve reseptörlerinin inaktive olmasına, esansiyel yağ asitlerinin kaybolmasına neden olur. Dokularda MDA seviyesinin artması akciğer kanseri, akciğer hastalıklarına, koroner arter hastalığına, iltihaplanmalara ve DNA'ya bağlanarak mutasyonlara yol açtığı bildirilmektedir (81,82).

Nükleik asitlerde ve DNA yapısında meydana gelen değişiklikler: Isı, görünür ışık, X ışınları ve ultraviyole gibi her türlü radyasyon hücrelerde iyonların, enerji kazanmış moleküllerin ve serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Oksijen radikallerinin etkilerini gösterdiği bölgeler içinde purin ve pirimidin bazlarının yer aldığı DNA'nın temel yapı taşı olan nükleotidlerdir. Özellikle bu radikaller aracılığı ile guanin bazının hidrosilasyonuna bağlı olarak DNA molekülünün yapısı değişerek mutasyonlar görülmektedir (29,83).

DNA daki deoksiriboz-fosfatlarla ve heterosiklik bazlarla hidrosil radikallerinin reaksiyon vermesi sonucunda DNA bazları modifiye olur ve riboz-fosfat zinciri kırılır. Sulu çözeltilerde invitro olarak yapılan çalışmalarda, deoksi-riboz ve tetrasiklik bazlarla hidrosil radikalinin çok kolay reaksiyon verdiği gözlenmiştir. DNA molekülü kopyalanabilen ancak yeniden sentezlenemeyen bir molekül olduğundan DNA modifikasyonları genetik bozukluklara neden olur. DNA molekülleri kolaylıkla hasara uğratılır ve hasar sonucunda enfeksiyon, kronik inflamasyon, yaşlanma, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar ile karsinogenezis gibi patolojiler görülmektedir. DNA hasarına nitrojen oksit ve peroksinitrit gibi reaktif nitrojen türleri de neden olur. Serbest oksijen radikallerine maruz kalma sonrasında ilginç olarak onarıcı mekanizmaların artması oksidatif stresi takiben birçok onarıcı DNA enzimin ekspresyonunun artmasına bağlıdır (80,83).

Proteinlerde meydana gelen değişiklikler: Biyolojik sistemlerin esas bileşenleri olan proteinlerin mitoz, transport sistemleri, şaperon aktivitesi ve sinyal transdüksiyon gibi çeşitli hücre fonksiyonlarda görev almaları nedeniyle organizma için oksidatif hasara uğramaları çok önemlidir (84). Serbest radikaller aminoasitlerin modifikasyonunda, proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarında ve fragmentasyonunda yapısal değişikliklere neden olurlar. Buna en çok sülfür içeren aminoasitler sebep olurlar. Tirozin, triptofan, histidin, fenilalalin gibi halkalı aminoasitler daha çok oksidasyona maruz kalırlar. Serbest radikallerin modifikasyonuna duyarlı olan membran proteinleri oksidasyonla hücre fonksiyonlarında önemli bozulmalar olmaktadır (85).

ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Vücutta reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Savunma mekanizmasını oluşturan bu bileşiklere "antioksidanlar", bu mekanizmalara da antioksidan savunma sistemleri denir (86).

Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere ikiye ayrılırken endojen antioksidanlar da enzim olan ve enzim olmayan olmak üzere kendi arasında ikiye ayrılırlar. Enzim olan endojen antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-s transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), mitokondriyal sitokram oksidaz sistemi, katalaz ve hidroperoksidazdır. Enzim olmayan endojen antioksidanlar ise melatonin, seruloplazmin, myoglobin, transferin, hemoglobin, ferritin, glutatyon, bilirubin, sistein, ürat, metiyonin, laktoferrin ve albumindir. Eksojen antioksidanlar ise vitamin eksojen antioksidanlar ve ilaç olarak kullanılan antioksidanlar olarak sınıflandırılırlar. Vitamin eksojen antioksidanlar α -tokoferol (vitamin E), askorbik asit (vitamin C), β -karoten ve folik asit (folat). İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar ise NADPH, oksidaz inhibitörleri, ksantin oksidaz inhibitörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri, barbitüratlar, sitokinler olarak adlandırılırlar (3).

Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen iyonu veren antioksidanlar bu radikalleri ya kendilerine bağlayarak ya da daha zayıf bir moleküle çevirerek oluşturdukları hasarı önlerler. Antioksidanlar hücrenin hem membran hem de sıvı kısımlarında bulunabilirler (75).

Antioksidan savunma sistemleri etkilerini dört yolla göstermektedir.

1) Süpürücü Etki: Serbest oksijen radikallerini etkiledikten sonra onları tutup, yok ederler. Küçük moleküller ve antioksidan enzimler bu yolla etki gösterirler.

2) İnaktif şekle dönüştürücü etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileştikten sonra bir hidrojen aktararak onların aktivitelerini azaltırlar ve inaktif şekle dönüştürürler. Flavanoidler ve vitaminler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini bağladıktan sonra zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki gösterirler. Hemoglobin, mineraller ve seruloplazmin bu şekilde etki gösterirler.

4) Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılmasıyla etkilerini gösterirler.

Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanların tanımlanmasında ve etkinliklerinin belirlenmesinde I/R hasarı modellerinin önemli katkısı olmuştur (3). Oksijen radikallerinin oluşumuna karşı birçok hücrenel savunma vardır. Örneğin SOD ve katalaz gibi enzimler süperoksit radikali ve hidrojen peroksidi inaktive etmek için uyum içinde çalışırlar. SOD oksijen radikallerini hidrojen peroksite dönüştürür. Daha sonra oluşan hidrojen peroksit katalaz enziminin etkisiyle suya dönüşür. Serbest radikal zararının önlenmesinde SOD enzimi ilk basamağı oluşturur. Hidroksil radikalının etkisinin nötrülenmesinde diğer besin öğeleri ve

kimyasal antioksidanlar ikinci basamağı oluştururlar. İnsan vücudunda SOD enzimi beşinci büyük proteindir ve azalması plazma proteinlerindeki hasarın arttığını gösterir (87).

Glutasyon

Biyolojik olarak iki önemli yapıyı (g-glutamin bağı ve tiyol grubu) yapısında bulundurur. Yapısındaki sisteinin tiyol grubundan ve konsantrasyonunun yüksek olmasından dolayı hücre içinde glutasyon önemli bir antioksidandır ve %99'dan fazlası indirgenmiş formda bulunur. Bu formda tutulabilmesi için pentoz fosfat metabolik yolu önemlidir (88).

GSH en çok memeli ve birçok prokaryotik hücrelerde bulunan en bol intrasellüler tiyoldür. Hücre içerisinde indirgen formda bulunan GSH endojen üretilen peroksidlere karşı okside olur ve onları indirger. Bu reaksiyonu glutasyon peroksidaz katalizler. GSH'ın hücreyi etkin olarak koruyabilmesi için büyük kısmı redükte halde tutulmalıdır. Bu reaksiyonu da glutasyon redüktaz katalizler. Glutasyon redüktazla GSH'ın indirgenmesi reaksiyonunda NADPH'a ihtiyaç duyulduğu için heksoz monofosfat yoluyla bağlantılıdır (89,90).

Glutasyon homeostazı doku düzeyinde dokular arasındaki GSH akışına ve GSH metabolizması ile ilgili işlemlere bağlı olarak ve hücresel düzeyde biyosentez, import, oksidasyon ve eksport arasındaki dengeyle sağlanır. Homeostatik mekanizmalar için eritrosit hariç tüm hücrelerdeki GSH salınımı önemli bir faktördür. G-glutamil döngüsü, GSH biyosentezinden sorumludur ve metabolik, koruyucu, taşınma ve katalitik işlemlerin bir kısmında, ayrıca sistein aminoasidinin taşınması ve depolanmasında, GSH sentezi ve kullanımının düzenlenmesinde önemlidir (88).

GSH sentezi g-glutamilsistein sentetaz ve GSH sentetaz olmak üzere iki enzimin ardışık eylemiyle gerçekleşir. Glutasyonun derişimi sentezinde görev alan enzimlerin derişimine ve sentezinde kullanılan substratların teminine bağlıdır. Hücreler glisin ve glutamattan zengindir, ancak sistein sınırlı miktarda bulunur. Sistein oluşumu bazı hücrelerde metiyonin tarafından sistatyonin yolunda serin aminoasidinin transsülfürasyonu ile başarılır. Aynı zamanda sistein diyetle alınan proteinlerden ve doku proteinlerinin yıkımından da gelir. Bu şartlarda glutasyon sentezi iki sentetazın substratlarının derişiminin artmasıyla başlar (88,91).

PELARGONIUM SIDOIDES

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre dünyadaki insanların %80'den fazlası bitkisel tıpi kullanmaktadır (84). 91 değişik ülkenin yaptığı çalışmada bitkilerin toplam sayısı yaklaşık

olarak 20.000 dir. Birçok bitkinin antimikrobiyel etkileri 1926'dan beri araştırılmaktadır. Günümüzde teknoloji ve tıptaki gelişmelere rağmen doğal ürünlerin yaygın kullanımı, ekonomik krizler bitkileri daha amaca yönelik ve daha etkili hale getirmiştir (8).

Pelargonium sidoides'in Türkçe adı sardunyadır ve 280 tür içerir. Geraniaceae ailesinin Güney Afrika'nın kıyı bölgelerinde bulunan, dar, koyu kırmızı çiçekleri ve geniş kalp şeklindeki yaprakları ile dikkati çeken, 50 cm yüksekliğinde bir bitkidir. Yakından ilişkili *Pelargonium Reniforme* Curt ile bitkinin kökleri yüzyıllardır Güney Afrika'da geleneksel bitkisel bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Bitkinin kökleri yaşı ilerledikçe siyaha dönüşür ve köklerindeki aktif madde büyümenin 3. yılında optimal konsantrasyona ulaşır (92,93).

Alman ve İngiliz kolonilerin Güney Afrika'yı istilasından sonra Avrupalılar *Pelargonium Sidoides* bitkisini tanımışlardır. 19.yy sonundan itibaren solunum yolu enfeksiyonlarında halkın kullandığını öğrenmişlerdir (92).



Şekil 1. *Pelargonium sidoides* (93).

Tüberküloza yakalanan 1897 yılında Major Stevens adlı bir İngiliz, hekimlerin önerisi ile iklimi ılıman olan Güney Afrika'ya gelmiştir. Hastalığı ile ilgili çalışma yaparken burada Basuto kabilesinden bir şifacıyla tanışır ve onun verdiği *Pelargonium sidoides* bitkisinin köklerinden elde edilen detoksasyonu kullanarak iyileşir. Bu tedavi şekline İngiltere'ye döndüğünde kendi adını (Stevens Yöntemi) verir. Stevensin tedavi metoduna ilk destek veren kişilerden olan Dr. Adrein Sechehay, 1920'den başlayarak *Pelargonium* ekstresini dokuz yıl boyunca 800 hasta üzerinde denemiş ve 1930 yılında elde ettiği çarpıcı sonuçları yayınlamış. 1972'de Alman araştırmacılar *Pelargonium sidoides* köklerinin kimyasal profil kimliğini keşfettiler (EPs 7630). Bu gelişmelerden sonra modern ve sentetik tüberküloz ilaçların keşfine kadar *pelargonium sidoides* kök ekstresi Avrupa'da sıkça kullanılmış (92-94).

EPs 7630 özü temel olarak polifenoller, mineraller, proteinler ve düşük konsantrasyonlarda 7-hydroxycoumarin türevi içerir. Bu 7-hydroxycoumarin türevleri bilinen antikoagülan kumarinlerin yapısından farklıdır (93). Yapılan çalışmalar EPs 7630'un hareket mekanizmasının multifaktöriyel olduğu ileri sürülmüştür. EPs 7630 antibakteriyel, immunomodülatör etkiye sahiptir. Vitro çalışmalarda virüs kaynaklı hücre yıkımına karşı sitopretoktif etki gösterdiği ve nötrofil granülositlerden antimikrobiyel peptitlerin salınımını hızlandırdığı bulunmuştur. Epitel hücrelerde bakteri adezyonunu engellediği ve üst solunum yolları enfeksiyonları sırasında mukolitik etki gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (93-95).

EPs 7630'un bronşit, tonsillofarenjit, sinüzit ve soğuk algınlığı dahil olmak üzere akut üst solunum yolu enfeksiyonlarının süre ve şiddetini azalttığı belirlenmiştir. Güvenlik ve etkinlik bilgileri 1 yaşındaki çocukları da içermektedir (93).

Klasik ders kitaplarında antidiyaretik etkili olduğu da görülmektedir. Ayrıca göğüs ağrılarında, mide bağırsak enfeksiyonlarında da kullanılmaktadır. *Helicobacter pylori*, streptococcus, stafilokokus ve *Bacillus cereuse* karşı etkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (96,97).

EPs 7630 kemotaksisi artırır, fagosit fonksiyonlarını düzenler, makrofajların uyarım ve aktivasyonunu sağlar, NO üretimini ve fagositoz yeteneğini artırarak hücre içi öldürmeyi de artırır. Lökosit elastazı inhibe eder, antioksidatif özelliğindedir. İmmünomodülatör etkisi ile ayrıca tümör nekroz edici faktör (TNF) etkinleştirilmesinde de etkilidir (92,93). *Pelargonium sidoides* kullanılan ticari adı umca solüsyonudur (98).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen 300-350 g ağırlığında erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı. Laboratuvar koşulları standart (22 ± 1 °C ve 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutuldu. Sıçanlara standart sıçan yemi ve musluk suyu verildi. Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Ek-1) çalışma için onay alındı.

Çalışmamızda 4 grup ve her grupta 8'er adet olmak üzere toplam 32 adet sıçan kullanıldı. Sıçanların anestezisi kas içine 10 mg/kg xylazine ve 90 mg/kg ketamin ile sağlandı. Sıçanların karın bölgesi 37 °C' de ısıtılmış deney masası üzerinde traş edildi ve betadin ile antiseptisi sağlandı. Karın organları median hattın insizyon açılarak steril gazlı bez üzerine alındı. Kör diseksiyonla sağ ve sol böbrek damarları açığa çıkarıldı. Nontravmatik mikrovasküler klemple grup 3 ve grup 4'deki sıçanların böbrek damarlarının (arter ve ven) kan akımı kesilerek 60 dk. süreyle iskemi uygulandı. Deney süresince, zorunlu kaybedilen sıvıyı yerine koymak amacıyla batın açıkken batın içine 37 °C' deki steril fizyolojik serum (FS) vücut ağırlığının %5'i oranında verildi. Klempler 60 dk iskemi sonunda alınarak kan akımı sağlandı ve böbreklerdeki renk değişimi 2 dk süreyle gözlemlendi. İnsizyon daha sonra kapatılarak betadin ile sterilizasyon yapıldı. Aynı prosedür grup 1 ve grup 2'deki sıçanlara da uygulandı, fakat insizyon böbrek damarları klemplenmeyerek 60 dk sonunda kapatıldı.

Grup 1: Sıçanlara böbrek damarları diseksiyonla ayrılmadan 72, 48, 24 saat ve 30 dakika önce 2 ml/kg Pelargonium sidoidesin çözücüsü %12 etanol gavajla verildi.

Grup 2: Sıçanlara böbrek damarları diseksiyonla ayrılmadan 72, 48, 24 saat ve 30 dakika önce 200 mg/kg dozunda Pelargonium sidoides gavajla verildi.

Grup 3: Sıçanlara iskemi yapılmadan 72, 48, 24 saat ve 30 dakika önce 2 ml/kg Pelargonium sidoidesin çözücüsü %12 etanol gavajla verildi.

Grup 4: Sıçanlara iskemi yapılmadan 72, 48, 24 saat ve 30 dakika önce 200 mg/kg dozunda Pelargonium sidoides gavajla verildi.

İnsizyon kapatıldıktan hemen sonra tüm gruplardaki sıçanlar metabolik kafese alınarak 24 saatlik idrarları toplandı.

Reperfüzyondan 24 saat sonra tüm gruplardaki sıçanlar 10 mg/kg rompun ve 50 mg/kg kas içi ketamin anestezisi altında kanları ve her iki böbreği alınarak sakrifiye edildi. Daha sonra buz kabı üzerindeki kurutma kâğıtlarının üzerine her iki böbrek çıkarılarak konuldu ve böbrek kapsülü sıyrıldı, bistüri yardımıyla longitudinal kesiyle ikiye ayrıldı. Işık mikroskopisi için sağ böbreğin bir yarısı %10'luk formalin solüsyonuna konuldu, diğer yarısı ve sol böbreğin her iki yarısı fizyolojik serumla yıkandıktan sonra kurutma kâğıdı ile kurutulup alüminyum folyo içinde MDA, GSH ve NO düzeyleri çalışılana kadar -80 °C' de muhafaza edildi.

Hacmi ölçülen idrar ile kan örnekleri +4 °C'de 3000xg'de 10 dk soğutmalı santrifüjde santrifüj edilerek idrar ve serum örnekleri ependorf tüplere alınarak -80 °C' de saklandı.

Kullanılan Cihazlar

Vorteks	: Heidolp, Almanya
Derin Dondurucu	: Thermo Elektron Corporation, USA
pH metre	: InoLab, Level 1, Almanya
Manyetik karıştırıcı	: Remi equipments, Hindistan
Homojenizatör	: Polytron Kinematica AG, İsviçre
Otoanalizör	: Advia 1800, Chemistry System, Almanya
Spektrofotometre	: Spectronic Unicam Helios α, İngiltere
Hassas terazi	: Mettler Toledo, AB204-S, İsviçre
Soğutmalı santrifüj	: MPW 350R, Polonya
Su banyosu	: Nickel Clifton Elektro LTD, İngiltere
Otomatik Pipetler	: Biohit Proline, Finlandiya, Mettler Toledo, İsviçre

Kullanılan Kimyasal Maddeler

Umca Solüsyon	:Abdi İbrahim, İstanbul
Tiyobarbitürik asit	: Sigma, Almanya
Sülfanilamid	: Sigma, Almanya
DTNB	: Sigma, Almanya
NaCl	: Merck, Almanya
NNDA	: Sigma, Almanya
CuSO ₄	: Panreac, İspanya
EDTA	: Merck, Almanya
Piridin	: Merck, Almanya
Sodyum dodesil sülfat	: Merck, Almanya
NaOH	: Merck, Almanya
KH ₂ PO ₄	: Merck, Almanya
Na ₂ HPO ₄	: Merck, Almanya
Glisin	: Merck, Almanya
KCl	: Merck, Almanya
HCl	: Merck, Almanya
Butanol	: Merck, Almanya
Etanol	: Riedel de Haen, Almanya
Asetik asit	: Merck, Almanya
Na ₂ CO ₃	: Riedel de Haen, Almanya

Biyokimyasal Çalışmalar

Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Laboratuvarı'nda, Advia 1800 (Chemistry System, Almanya) otoanalizör kullanılarak serumda; üre, kreatinin, Na, K AST,ve idrarda; kreatinin, Na ölçümleri yapıldı

Histolojik Çalışmalar

Işık mikroskobu incelenmesi için sagittal olarak kesilen ve %10 formalinde fikse edilmiş böbrekler parafin bloklara gömüldü. Bu işlemin ardından 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak, hematoksilin-eozin (HE) ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu altında değerlendirilmiştir.

Böbrek hasarı (tübüler hücre nekrozu, stoplazmik vakuol formasyonu ve tübüler dilatasyon) derecesini belirlemek için semikantitatif bir skala kullanıldı. Bu skalada hasarın yayılımı ve tutulan böbrek alanı yüzdesi derecelendirildi. Skala değerleri 0-4 arası olarak belirlendi (99,100).

0: Normal böbrek

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)

Ayrıca kast izlenen tübüller % olarak belirtildi. Sayım yapılırken toplayıcı kanalların olmadığı, sadece proksimal ve distal tübüllerin bulunduğu alanlarda sayım yapılmasına özen gösterilmiştir.

Böbrek Dokusu Homojenizasyonu

Böbrek dokuları –80 °C’den alındıktan sonra buz çözülmeyen bistürü ile kesilerek tartıldı ve tüplere konuldu. MDA ve GSH düzeyleri için 0.15 M KCl solüsyonu; NO düzeyi için 50 mM fosfat tamponu (pH 7.4) ile %10’luk (w:v) olacak şekilde hazırlandı. Tüpler buz üzerinde tutularak homojenizatör ile homojenize edildi. Hazırlanan homojenatlar 4000xg’de 10 dk +4 °C’de santrifüj edildi ve ardından süpernatant kısmı ayrıldı. Ayrılan süpernatantlar spektrofotometrik MDA, NO, GSH düzeyleri ölçümlerinde kullanıldı.

Malondialdehit Miktar Tayini

Lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA’nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renk spektrofotometrik olarak ölçüldü (101).

Çözeltiler:

1. %8.1’lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)

2. %20’lik Asetik asit (NaOH ile pH 3.5’e 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 95 °C’deki sıcak su banyosunda 1 saat tutuldu. Musluk suyu ile soğutulduktan sonra üzerine 1 ml

distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) eklenerek vorteksle 1 dakika karıştırıldı. Organik faz 4000xg'de 10 dk santrifüj edilerek ayrıldı. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede 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

Doku homojenatlarındaki serbest sülfidril gruplarının Ellman ayırıcı ile oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak saptanması, glutasyon içeriğinin belirtilmesi için kullanıldı (102).

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 (Na₂HPO₄)

3. 1 mM Elman ayırıcı: 4mg 5.5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DNTB), 10 ml %1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözüldü.

Deneyin yapılışı: 0.5 ml doku homojenatı üzerine 1.5 ml 0.15 M KCl ve 3 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi. Bu karışım 3000xg'de 20 dk santrifüj edildikten sonra 0.5 ml süpernatant alınarak üzerine 2 ml M Na₂HPO₄ ve 0.5 ml Ellman ayırıcı eklendi. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 412 nm'de okundu. GSH düzeyleri

ekstinksiyon katsayısı ($\Sigma=1.36 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar $\mu\text{mol GSH/g}$ doku olarak belirtildi.

Nitrat ve Nitrit Tayini

Nitrat ve nitrit tayini Cortas ve Wakid'in tarif ettiği yönteme göre  l ld  (103).

Kullanılan reaktifler:

1. Kadmiyum granülleri: 0.1 mol/L H_2SO_4 içinde saklandığı sürece 9 ay stabildir.
2. Glisin-NaOH buffer: 7.5 g glisin bir miktar distile suda üzüldü. 2 mol/L NaOH  zeltisi ile pH'sı 9.7'ye ayarlandı. Bu  zelti 1 ay 0-8  C'de stabildir.
3. Sülfanilamid: 2.5 g sülfanilamid 250 ml sıcak 3 mol/L HCl içinde üzüldü ve daha sonra soğumaya bırakıldı. 1 yıl oda sıcaklığında stabil kalabilir.
4. N-Naphthylethylene diamine (NNDA): 50 mg NNDA 250 ml distile su içinde üzüldü. 2 ay 0-8  C de stabildir.
5. Çinko Sülfat (ZnSO_4): 75 mmol/L; 10.8 mg alınıp 500 ml'ye tamamlandı.
6. Bakır 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  zeltisi 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 üzülür). KNO_3 standardı; 102 mg potasyum nitrat alınıp 10 mmol'lik 100 ml sodyum tetra borat içinde üzüldü.

Deneyin yapılışı: Deproteinizasyon: Test tüpüne 0.5 ml numune 0,5 ml distile su, 2 ml ZnSO_4 , 2.5 ml NaOH ilave edilip vorteksle karıştırıldı. 10 dk oda ısısında beklettikten sonra 4000 xg'de 10 dk santrifüj edildi.

Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu: Granüller 3 defa distile su ile yıkandı. 1-2 dk içinde CuSO_4 'de çalkalanarak bekletilip, 3 defa da glisin-NaOH ile yıkanıp 10 dk içinde kullanılmak üzere kurutma kâğıdı ile kurutuldu.

KNO_3 standardından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlandı. Ve numunelere uygulanan tüm işlemler standartlara da uygulandı. 1ml glisin-NaOH buffer tüm tüplere konuldu. 1'er ml deproteinize numunelerden ve standartlardan alındı, 2.5 g tartılan ve aktivasyon işleminde geçirilen kadmiyumlardan tüm tüplerin üzerine konuldu ve 90 dk oda ısısında karıştırarak beklendi.

Nitrit Ölçümü

90 dk'lık bekleme süresinden sonra bu tüplerden 2'şer ml alınarak üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA ilave edilmiştir. Karıştırılır ve 45 dk beklendikten sonra 545 nm'de okuma yapılır.

Direkt nitrit ölçümü: NaNO_2 standartlarından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlanır ve deproteinize numunelerden kadmiyum ile reaksiyona sokmadan direkt olarak 2'şer ml alınarak ayrı tüplere aktarılır. Üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA eklenir. 45 dk'lık sürenin ardından 545 nm'de okuma yapılır.

Nitrat Ölçümü

Nitrit değerleri bulunan nitrat 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 hesaplanmış olur.

İstatistiksel Analiz

Bulguların istatistiksel analizleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD'da yapıldı. Bulgular ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Tek Örneklem Kolmogorov-Smirov test ile incelendi. Tek Yönlü Varyans analizi (ANOVA), normal dağılım varsayımı yerine geldiğinde gruplar arasındaki farklılığı belirlemek için kullanıldı, Bonferroni çoklu karşılaştırma testi gruplar arası farklılığı saptamada, normal dağılım göstermeyenler için Kruskal Wallis test kullanıldı, Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi de gruplar arasında fark bulunduğunda bu farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığını tespit etmek için kullanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel bakımdan anlamlı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizlerde Statistica 7.0 (seri no: 31N6YUCV38) paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Sıçanlarda I/R uygulanmasıyla oluşturulan deneysel iskemik ABY modeli her grupta 8 adet sıçan olmak üzere 4 grup ve toplamda 32 adet sıçan üzerinde bu model çalışıldı. Reperfüzyonun başlatılmasından 24 saat sonra sıçanlar anestezide alınıp, sıçanlara ait kan ve doku örnekleri alındı. Deney süresince gruplarda herhangi bir kayıp yaşanmadı.

Tüm gruplardaki sıçanlara ait doku MDA düzeyi nmol/g doku, GSH düzeyleri $\mu\text{mol/g}$ doku, NO düzeyi $\mu\text{mol/mg}$ protein, serum aspartat aminotransferaz (AST) düzeyi U/L, NO (S_{NO}) düzeyi $\mu\text{mol/L}$, üre ($S_{\text{üre}}$) düzeyi mg/dl, kreatinin (S_{krea}) düzeyi mg/dl, sodyum (S_{Na}) düzeyi mmol/L, potasyum (S_{K}) düzeyi mmol/L, idrar NO (I_{NO}) düzeyi $\mu\text{mol/L}$, , kreatinin (I_{krea}) düzeyi mg/dl, sodyum (I_{Na}) düzeyi mmol/L, kreatinin klirensi standart klirens formülüne ((İdrar kreatinin (mg/dl)/Plazma kreatinin) x (idrar hacmi/1440) /vücut ağırlığı) x 100, Fraksiyonel sodyum atılımı; idrar sodyumu/serum sodyumu x serum kreatinin/idrar kreatinin x 100 formülü kullanılarak hesaplandı. Gruplara ait verilere tablolarda yer verilmiştir (Tablo 1-4).

Tablo 1. Grup 1'in biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	İ _{krea}	İ _{Na}	Klirens	FrNa
1	0,411	2,662	9,73	474	57,8	0,36	140	5,2	118,9	43	1,72	0,093
2	0,388	2,793	97,77	315	36,4	0,3	141	6,2	126,09	16	2,189	0,027
3	0,502	2,55	10,78	333	49,2	0,37	136	5,3	107,47	109	2,017	0,276
4	0,801	2,745	10,19	273	36,4	0,23	117	4,8	120,18	12	2,721	0,02
5	0,421	2,515	1,28	408	34,2	0,27	131	4,9	72,64	47	1,121	0,133
6	0,458	2,533	8,2	380	55,6	0,34	138	5,1	118,09	122	1,085	0,255
7	0,34	2,862	5,62	273	42,8	0,3	138	5,8	81,06	48	1,595	0,129
8	0,683	2,4	21,06	619	38,5	0,25	142	5,7	47,34	9	1,775	0,033

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotranferaz; S_{üre}: Serum üre; S_{krea}: Serum kreatinin; S_{Na}: Serum sodyum; S_K: Serum potasyum; S_{NO}: Serum nitrik oksit; İ_{krea}: İdrar kreatinin; İ_{Na}: İdrar sodyum; İ_{NO}: İdrar nitrik oksit

Tablo 2. Grup 2'in biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	İ _{krea}	İ _{Na}	Klirens	FrNa
1	0,968	2,23	13,12	291	34,2	0,3	129	4,7	84,54	9	1,468	0,025
2	0,324	2,589	5,89	357	38,5	0,23	120	4,5	97,66	76	1,327	0,149
3	0,332	2,478	8,61	394	40,7	0,29	137	5,1	123,96	47	2,226	0,08
4	0,5	2,707	7,19	1171	42,8	0,31	140	4,2	103,56	35	1,508	0,075
5	0,331	3,215	7,69	507	38,5	0,26	137	4,8	133,64	43	2,142	0,061
6	0,428	3,131	1,01	413	36,4	0,24	129	4,9	88,3	29	2,555	0,061
7	0,546	3,314	16,54	587	36,4	0,19	119	5,4	122,94	11	2,247	0,014
8	0,675	3,494	12,44	659	40,7	0,32	145	4,8	61,65	28	1,472	0,1

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotranferaz; S_{üre}: Serum üre; S_{krea}: Serum kreatinin; S_{Na}: Serum sodyum; S_K: Serum potasyum; S_{NO}: Serum nitrik oksit; İ_{krea}: İdrar kreatinin; İ_{Na}: İdrar sodyum; İ_{NO}: İdrar nitrik oksit

Tablo 3. Grup 3'in biyokimyasal verileri

SN	MDA	GSH	NO	AST	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	İ _{krea}	İ _{Na}	Klirens
1	1,471	4,041	6,53	667	104,9	0,73	119	4,4	51,84	16	0,74
2	1,375	4,972	6,04	978	109,1	0,67	131	4,1	42,77	24	0,776
3	1,03	1,769	20,59	702	325,3	3,96	127	6,7	106,36	11	0,177
4	2,375	2,796	6,08	470	79,2	0,63	133	4,8	80,29	25	1,151
5	0,459	2,76	7,37	854	263,2	2,27	119	4,2	11,39	21	0,077
6	0,252	2,156	5,7	975	348,8	3,84	140	5,7	8,67	85	0,006
7	2,38	2,646	39,09	673	288,9	2,82	122	4,8	36,1	15	0,053
8	2,09	2,908	15,9	1160	278,2	2,61	123	4,7	11,4	35	0,042

SN: Sıra numarası; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; NO: Böbrek nitrik oksit; AST: Aspartat aminotranferaz; S_{üre}: Serum üre; S_{krea}: Serum kreatinin; S_{Na}: Serum sodyum; S_K: Serum potasyum; S_{NO}: Serum nitrik oksit; İ_{krea}: İdrar kreatinin; İ_{Na}: İdrar sodyum; İ_{NO}: İdrar nitrik oksit

Tablo 4. Grup 4'ün biyokimyasal verileri

	MDA	GSH	NO	AST	S _{üre}	S _{krea}	S _{Na}	S _K	İ _{krea}	İ _{Na}	Klirens	FrNa
1	1,592	3,406	27,78	554	250,4	2,03	113	3,8	37,15	18	0,159	0,87
2	1,808	3,993	17,52	780	100,6	0,54	137	4,5	61,17	9	0,826	0,058
3	3,746	3,131	5,67	1041	119,8	0,68	138	5,2	41,18	16	0,841	0,191
4	0,705	2,376	9,69	842	363,8	4,28	134	6,5	12,77	26	0,013	6,503
5	1,645	2,755	14,71	1002	306	3,6	136	5,7	17,41	14	0,029	2,129
6	0,213	2,687	18,8	910	329,6	2,79	135	5,7	15,48	29	0,066	3,872
7	1,801	2,103	7,38	1171	353,1	3,54	138	5,9	10,71	19	0,03	4,551
8	2,55	3,565	9,47	787	111,3	0,56	117	4,4	31,13	15	0,483	0,231

SN: Sıra numarası; **MDA:** Malondialdehit; **GSH:** Glutasyon; **NO:** Böbrek nitrik oksit; **AST:** Aspartat aminotranferaz; **S_{üre}:** Serum üre; **S_{krea}:** Serum kreatinin; **S_{Na}:** Serum sodyum; **S_K:** Serum potasyum; **S_{NO}:** Serum nitrik oksit; **İ_{krea}:** İdrar kreatinin; **İ_{Na}:** İdrar sodyum; **İ_{NO}:** İdrar nitrik oksit

Tablo 5. Çalışma gruplarının değişkenlere ait istatistiksel verileri

	GRUP 1 (n= 8)	GRUP 2 (n= 8)	GRUP 3 (n= 8)	GRUP 4 (n= 8)
SERUM	Ort. ± SD	Ort. ± SD	Ort. ± SD	Ort. ± SD
Üre (mg/dl)	43.86±9.22	38.53±2.82	224.70±108.81	241.83±114.04
Kreatinin (mg/dl)	0.30±0.05	0.27±0.05	2.19±1.38	2.25±1.52
Sodyum (mmol/L)	135.8±8.18	132.00±9.37	126.75±7.46	131.00±10.03
Potasyum (mmol/L)	5.38±0.48	4.80±0.36	4.93±0.87	5.21±0.90
AST (U/L)	384.38±117.06	547.38±279.83	809.88±222.44	885.88±189.92
BÖBREK				
MDA (nmol/g doku)	0.50±0.16	0.51±0.22	1.43±0.82	1.76±1.08
GSH µmol/ g doku	2.63±0.16	2.89±0.45	3.00±1.03	3.00±0.64
Nitrik Oksit (µmol/mg protein)	20.58±31.70	9.06±4.84	13.41±11.76	13.88±7.35
Böbrek Hasarı Skoru	0,13±0,35	0,14±0,38	3,75±0,46	3,83±0,41
Kast (%)	0.00±0.00	0.00±0.00	79.88±3.69	78.33±3.89
İDRAR				
Kreatinin (mg/dl)	98.97±28.53	102.03±24.09	43.60±35.26	28.38±17.59
Sodyum (mmol/L)	50.75±43.10	34.75±21.46	29.00±23.80	18.25±6.50
Fe Na (%)	0.12±0.10	0.07±0.05	4.85±9.19	2.30±2.42
Kreatinin Klirensi (ml/dk)	0.56±0.18	0.60±0.15	0.12±0.14	0.09±0.11

Ort. ± SD

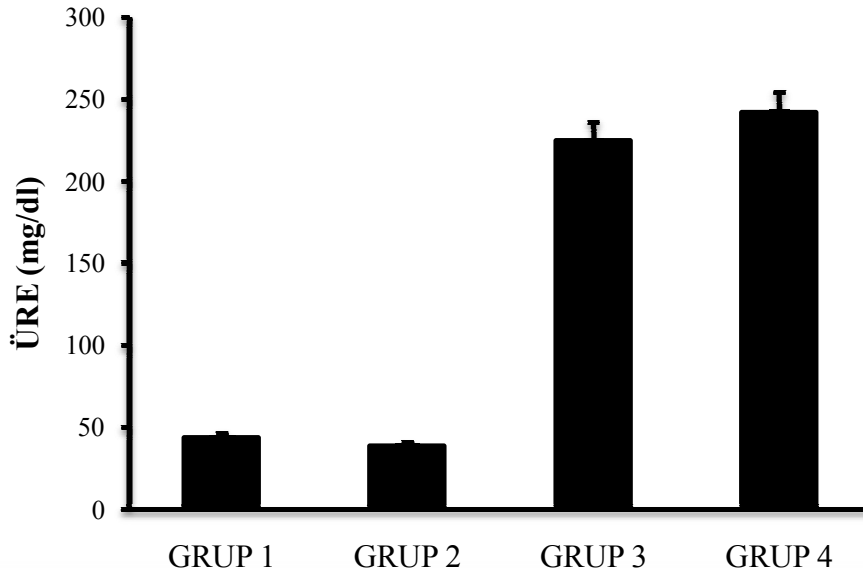
* Kruskal Wallis test

MDA: Malondialdehit; **GSH:** Glutasyon; **AST:** Aspartat aminotranferaz; **FeNa:** Fraksiyone sodyum atılımı.

Gruplar arası serum üre düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0.001$). Gruplar arası serum üre düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Grup 1 ile Grup 2 arasında ve Grup 3 ile Grup 4 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Serum üre düzeyinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 6’ da ve üre düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 2’ de gösterildi.

Tablo 6. Serum Üre düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p>0.05$	
Grup 3	$p<0.001$	
Grup 4		$p>0.05$

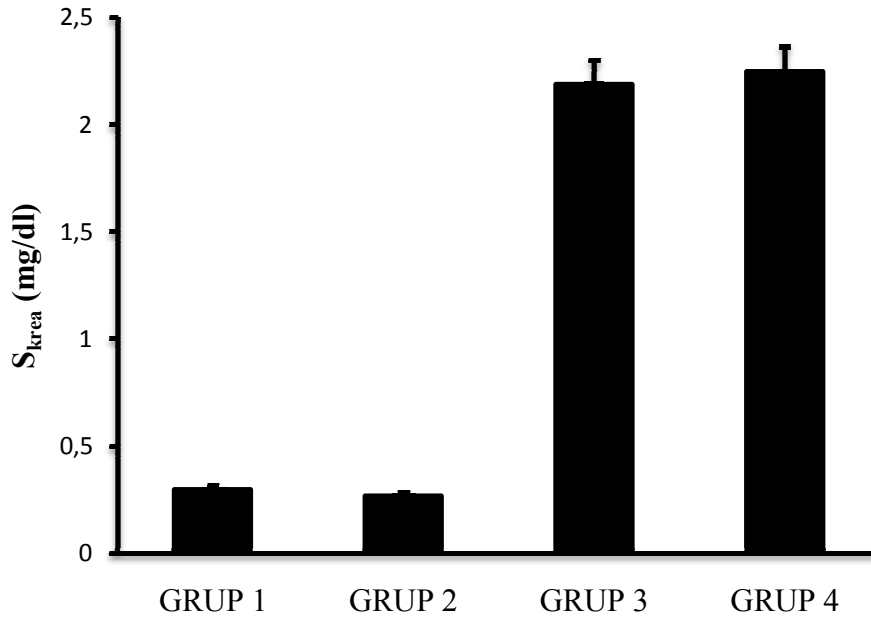


Şekil 2. Ortalama ÜRE düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası serum kreatinin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü. ($p < 0.001$). Gruplar arası serum kreatinin düzeyinde grup 1 ile grup 3 arasında $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Grup 1 ile grup 2 arasında ve grup 3 ile grup 4 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0.05$). Serum kreatinin düzeyinin bonferroni düzeltilmeli mann-whitney u testi sonuçları tablo 7’de ve ortalama serum kreatinin düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması şekil 3’te gösterildi.

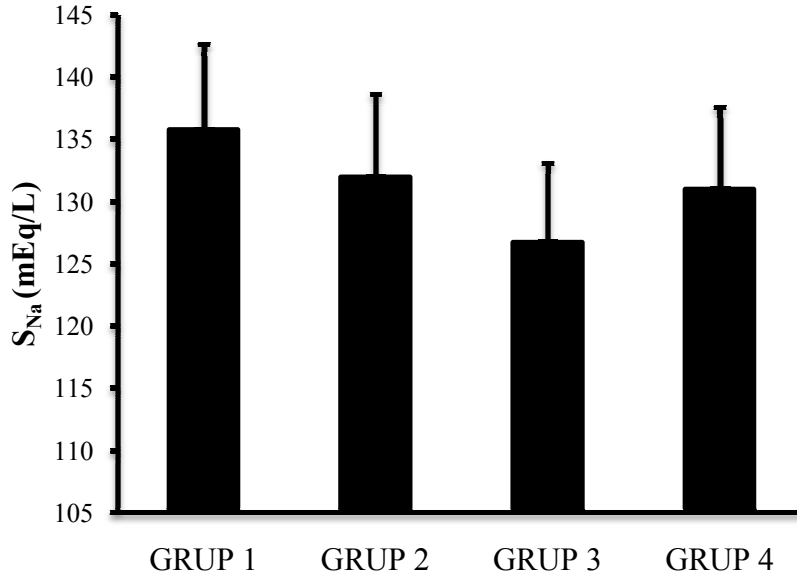
Tablo 7. Serum kreatinin düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p > 0.05$	
Grup 3	$p < 0.001$	
Grup 4		$p > 0.05$



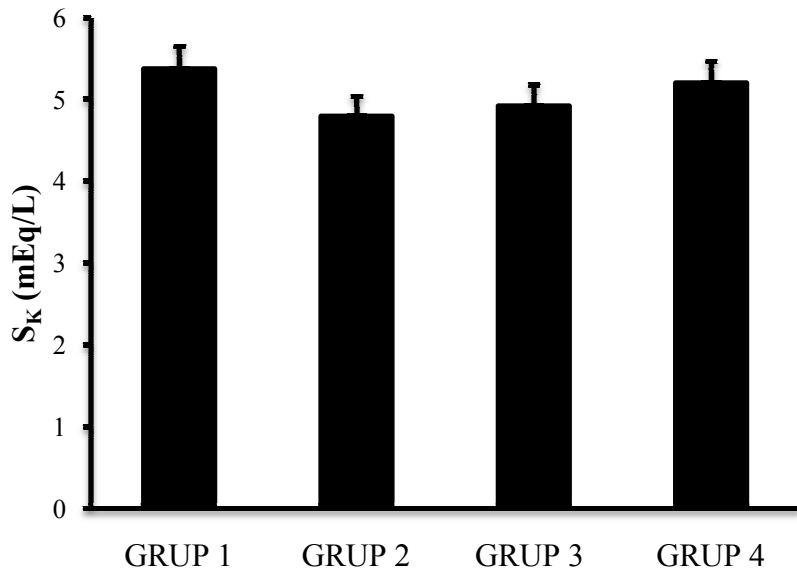
Şekil 3. Ortalama serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası serum Na düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Ortalama serum Na düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 4’de gösterildi.



Şekil 4. Ortalama serum sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası serum potasyum düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Ortalama S_K düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 5’de gösterildi.

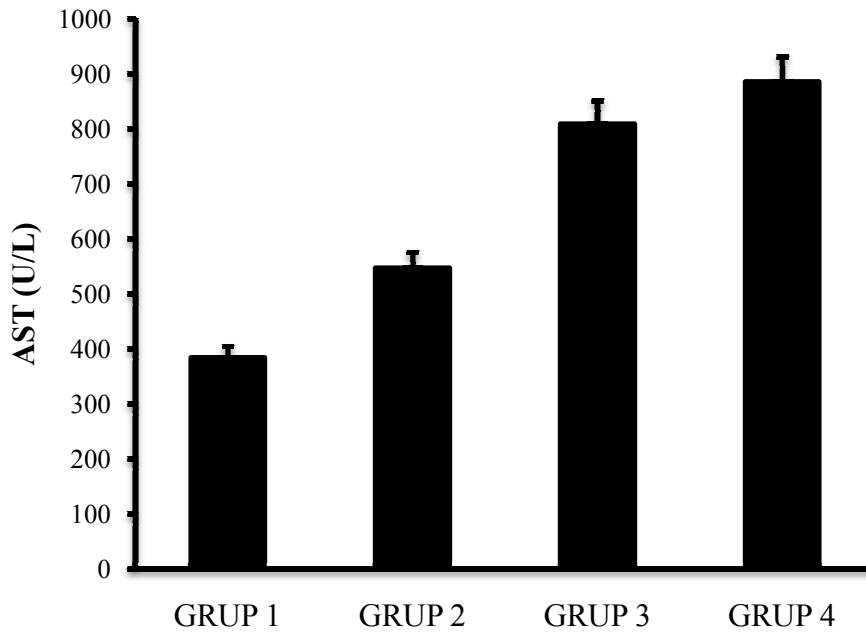


Şekil 5. Ortalama serum potasyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası serum AST düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0.01$). Gruplar arası serum AST düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Serum AST düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 8’de ve ortalama AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 6’da gösterildi.

Tablo 8. Serum AST düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p>0.05$	
Grup 3	$p<0.01$	
Grup 4		$p>0.05$

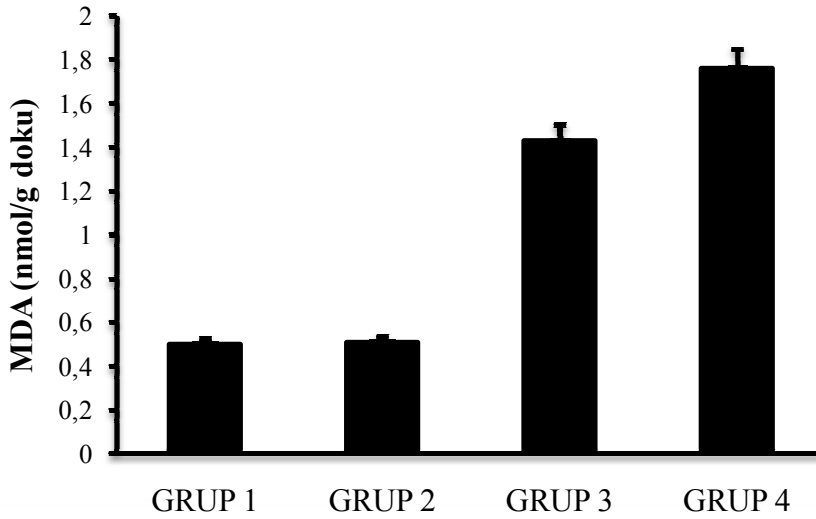


Şekil 6. Ortalama AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0.05$). Gruplar arası MDA düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$). MDA düzeylerinin Bonferroni düzeltilmiş Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 9’da ve ortalama MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 7’de gösterildi.

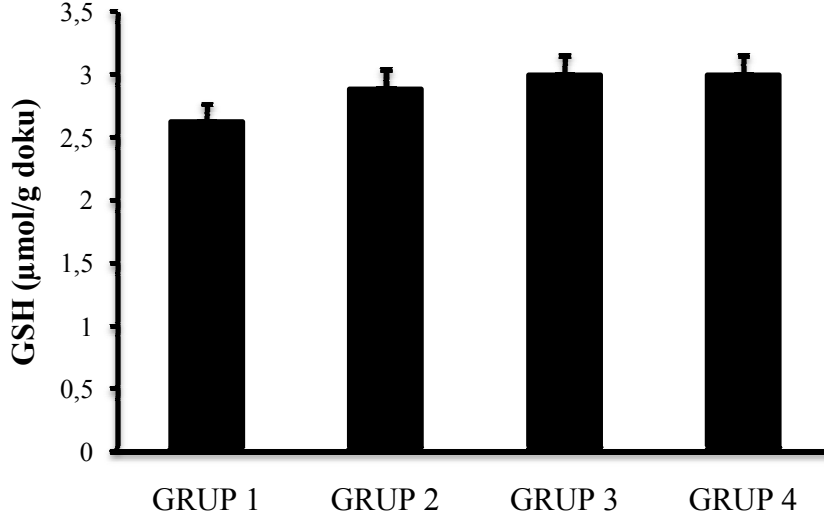
Tablo 9. MDA düzeylerinin Bonferroni düzeltilmiş Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p > 0.05$	
Grup 3	$p < 0.05$	
Grup 4		$p > 0.05$



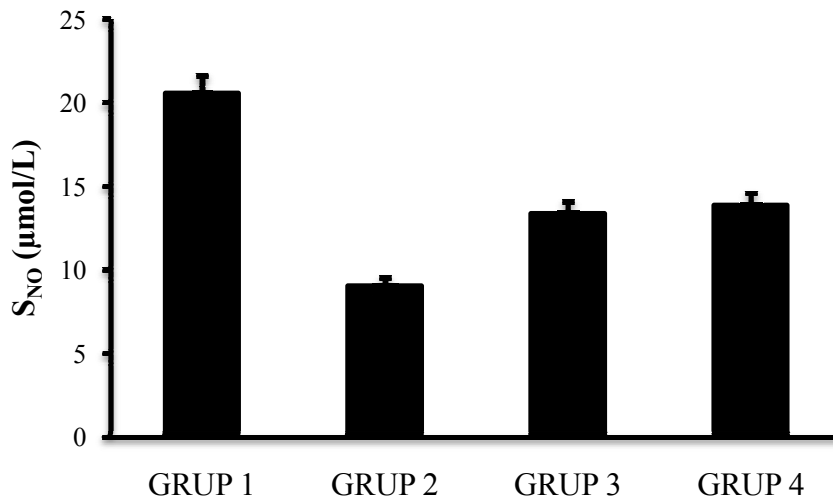
Şekil 7. Ortalama MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Ortalama GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 8’de gösterildi.



Şekil 8. Ortalama GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası böbrek NO düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Ortalama böbrek NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 9’da gösterildi.

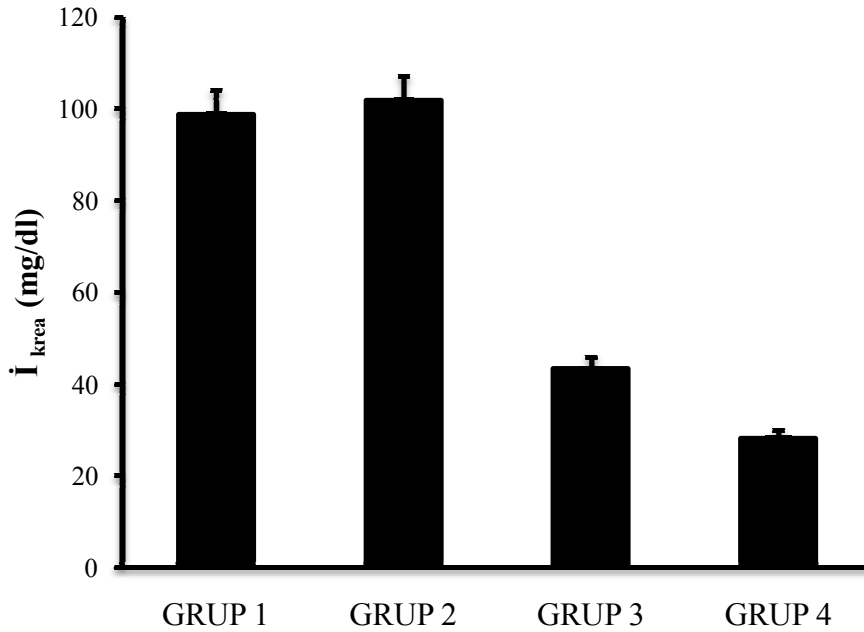


Şekil 9. Ortalama böbrek NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası idrar kreatinin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0.01$). Gruplar arası idrar kreatinin düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0.05$). İdrar kreatinin düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 10’ da ve ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 10’da gösterildi.

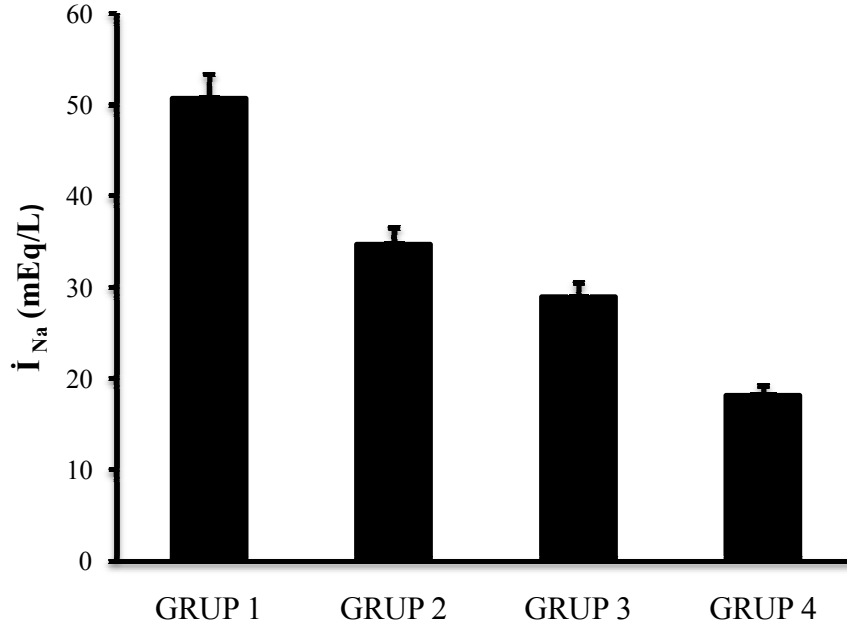
Tablo 10. İdrar kreatinin düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p > 0.05$	
Grup 3	$p < 0.01$	
Grup 4		$p > 0.05$



Şekil 10. Ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası idrar sodyum düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Ortalama idrar sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 11’ de gösterildi.

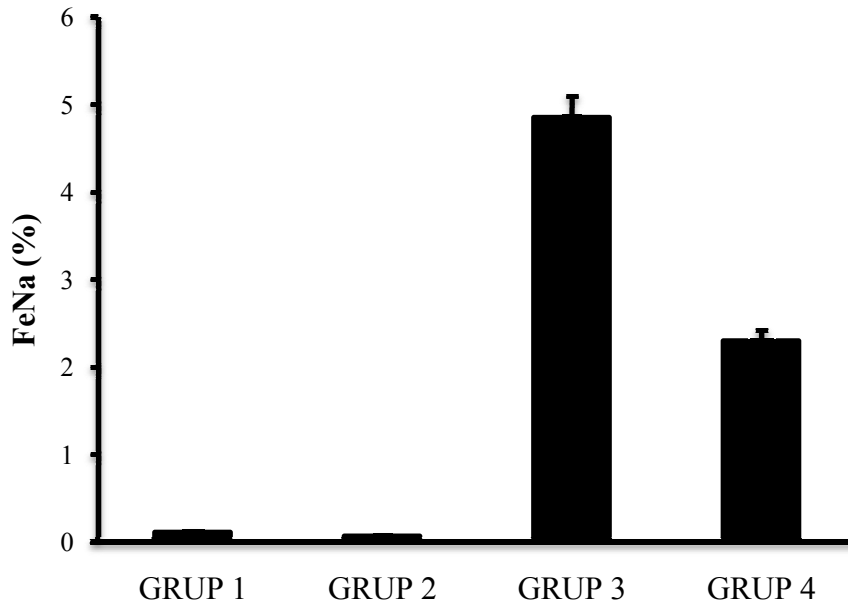


Şekil 11. Ortalama idrar sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası FeNa atılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,01$). Gruplar arası idrar FeNa düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0,05$). FeNa düzeylerinin Bonferroni düzeltilmiş Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 11’de ve ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 12’de gösterildi.

Tablo 11. FeNa düzeylerinin Bonferroni düzeltilmiş Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p > 0,05$	
Grup 3	$p < 0,01$	
Grup 4		$p > 0,05$

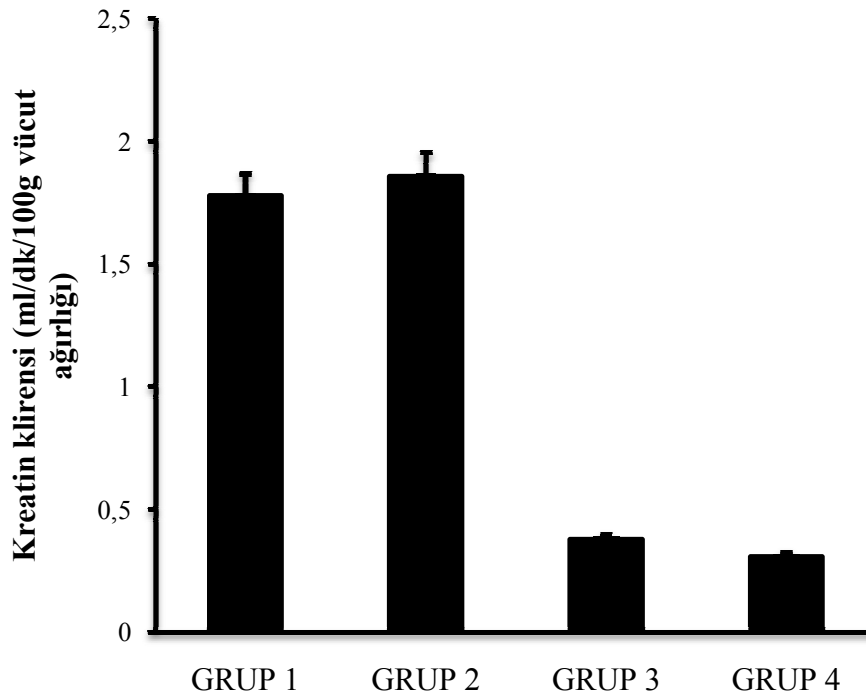


Şekil 12. Ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arası kreatin klirensi düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0.01$). Gruplar arası idrar kreatin klirensi düzeyinde Grup 1 ile Grup 3 arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0.05$). Kreatin klirensi düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 12’de ve ortalama kreatin klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 13’te gösterildi.

Tablo 12. Kreatin klirensi düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları

	Grup 1	Grup 3
Grup 2	$p>0.05$	
Grup 3	$p<0.01$	
Grup 4		$p>0.05$



Şekil 13. Ortalama kreatin klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Histopatolojik Sonuçlar

Çalışmamızda böbrek dokularının histopatolojik incelenmesinde; 100 alanda, 0-4 skalası kullanılarak böbrek hasarı derecesi ve ayrıca % kast değerleri her bir sıçan için hesaplandı. Hesaplanan bu değerler Tablo 13 ve 14’de gösterildi.

Grup 1’deki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; mikroskobik kesitlerde tübül ve glomerüllerin normal görünümde olduğu izlendi. Tübüllerde herhangi bir nekroz veya kast oluşumu gözlenmedi (şekil 14).

Grup 2’deki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; Grup 1’e benzer özelliklerde olduğu, bunların glomerüller ve tübüller yapılarının normal görünümde olduğu izlendi. Glomerüllerde bir değişiklik göze çarpmadı. Tübüllerde herhangi bir nekroz veya kast oluşumu gözlenmedi (şekil 15).

Grup 3’teki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; böbrek kortikal tübüllerde dilatasyon, tübül epitellerinde basıklaşma, vakuolizasyon ve yer yer nekroz izlendi. Tübül lümenlerinde kast oluşumu gözlendi (şekil 16).

Grup 4’teki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; böbrek kortikal tübüllerde Grup 3’e benzer şekilde ve oranda tübüller dilatasyon, tübül epitelinde basıklaşma, vakuolizasyon gözlendi. Tübüllerde nekroz ve yaygın kast varlığı izlendi (şekil 17).

Tablo 13. Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçlar

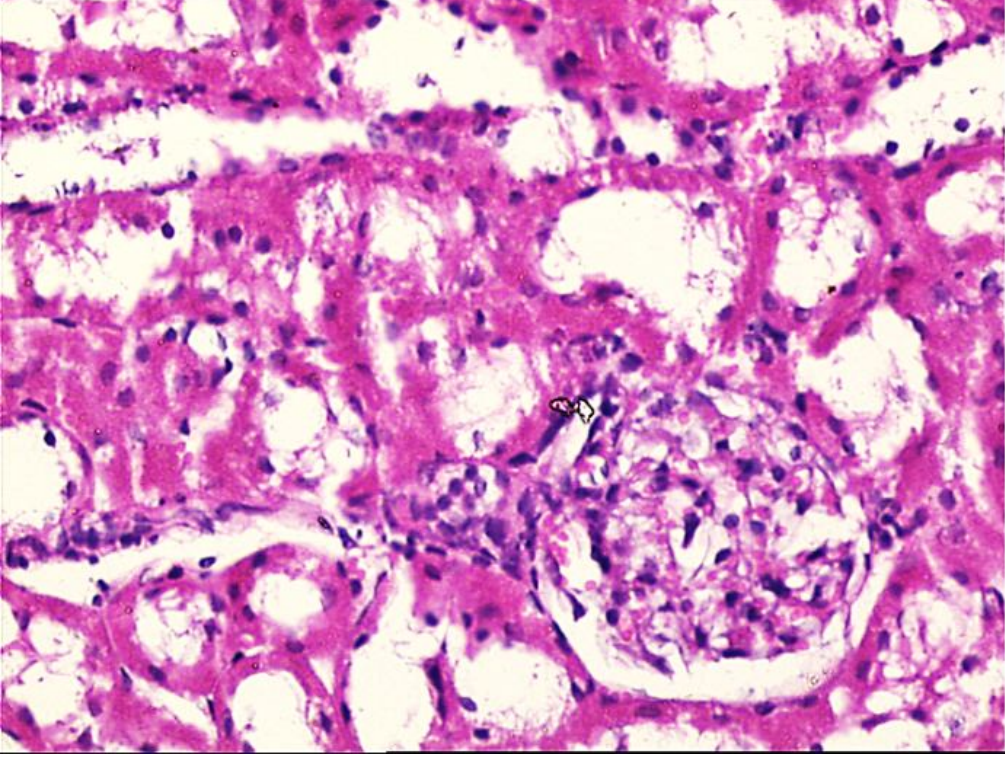
SN	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	0	0	4	4
2	0	0	3	4
3	0	0	4	4
4	0	0	3	4
5	0	0	4	4
6	0	0	4	4
7	0	0	4	3
8	0	0	4	

SN: Sıra numarası

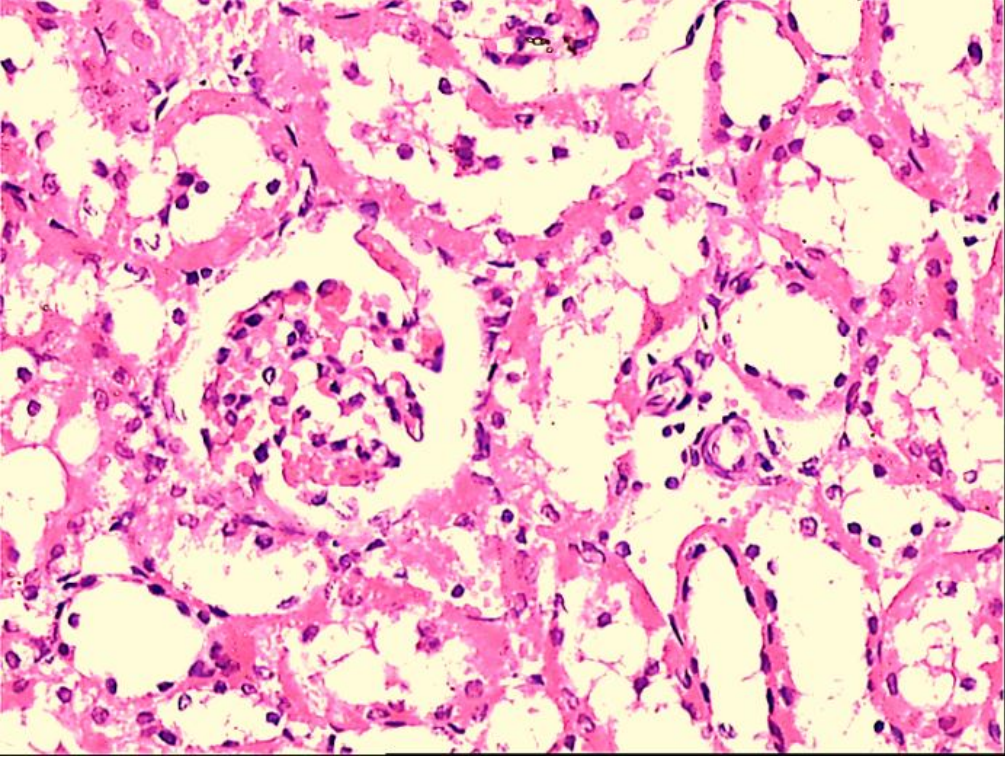
Tablo 14. Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçlar

SN	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	0	0	85	82
2	0	0	78	
3	0	0	80	78
4	0	0	76	80
5	0	0	80	76
6	0	0	85	82
7	0	0	75	72
8	0	0	80	

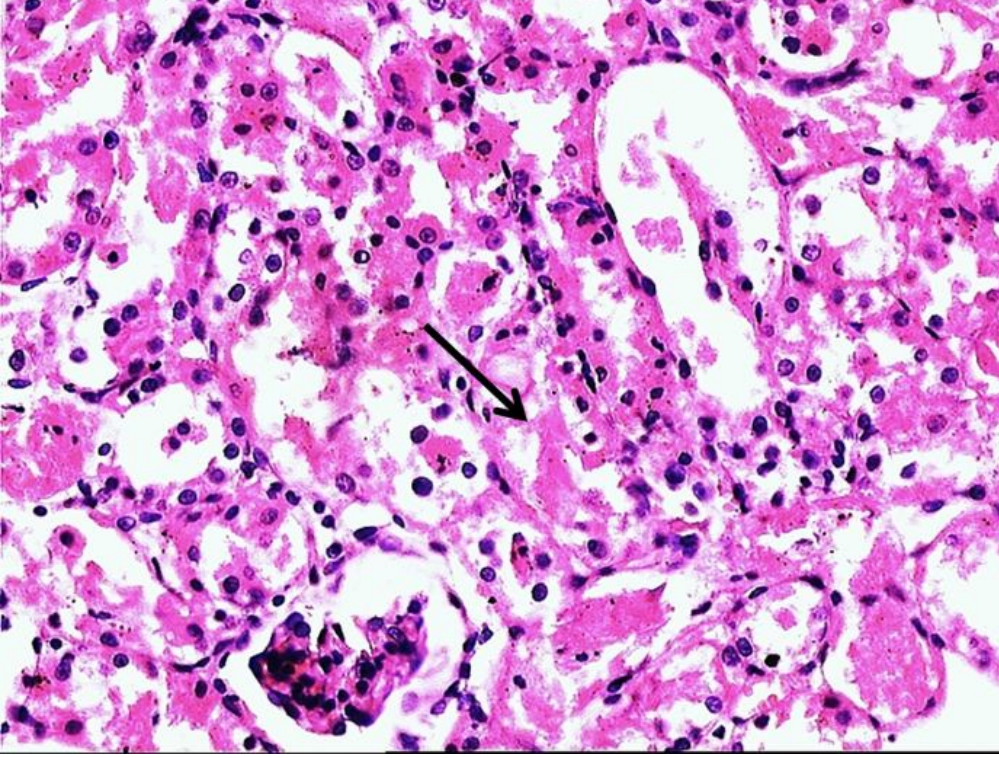
SN: Sıra numarası



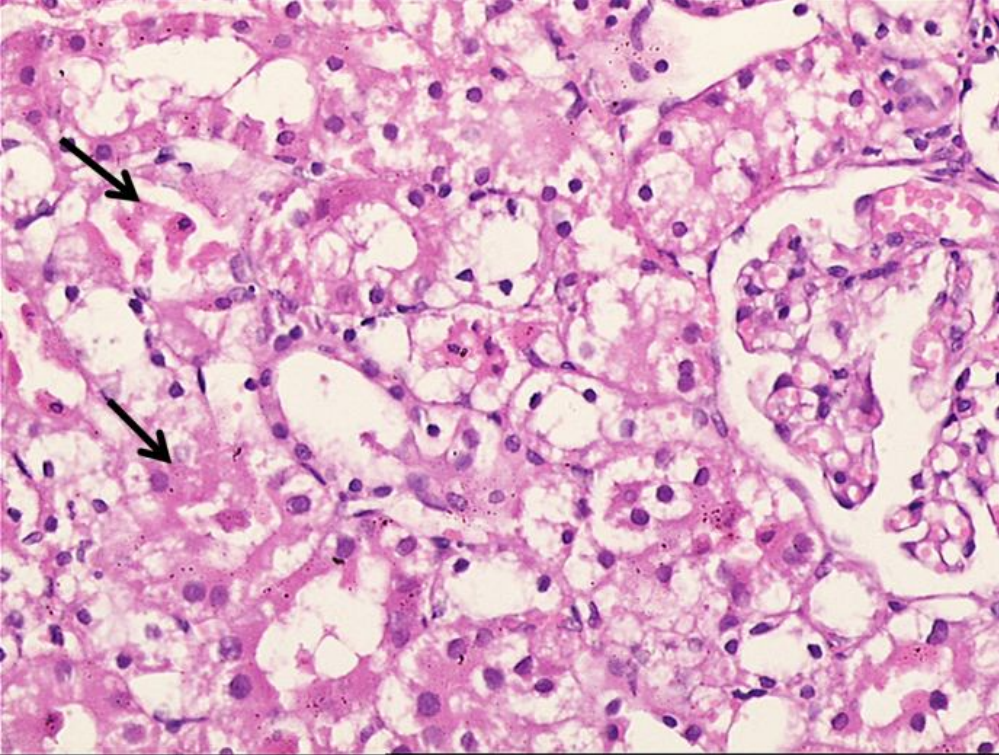
Şekil 14. Grup 1'in böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]



Şekil 15. Grup 2'nin böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]



Şekil 16. Grup 3'ün böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx100)] Ok:Tübül lümeninde kast



Şekil 17. Grup 4'ün böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx100)]

Üstteki Ok: Tübül epitelinde nekroz

Alttaki Ok: Tübül epitelinde nekroz lümeninde kast varlığı

TARTIŞMA

ABY'nin nedenleri ülkeler arasında farklılık gösterir. İshal ile birlikte görülen hipovolemiyle ilişkili sekonder gelişen vakalar daha çok gelişmekte olan ülkelerde görülmesine karşın, açık kalp ameliyatı sonucu gelişen ABY gelişmiş ülkelerde daha sık görülmektedir (104). ABY klinik duruma göre de farklılık göstermektedir. Hastaneye yeni kabul edilen vakalar arasında %1, hastanede yatırılarak izlenen hastalarda %2-5 kardiyopulmoner bypass cerrahi sonrası %4-15 ve yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda %30 oranında olduğu rapor edilmektedir (105). ABY tedavisi hastanede uzun süre kalmayı gerektirir ve maliyeti de oldukça yüksektir. Bu nedenlerden dolayı önce ABY gelişiminin önlenmesi, erken teşhis edilmesi ve yeni tedavi stratejileri ile ajanların geliştirilmesine yönelik araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir (106).

İskemi, ABY'nin en yaygın nedenidir. İskemiye bağlı olarak böbrek dokusunda gelişen hipoksi ABY gelişimindeki tübüler hasarın başlamasında major bir rol oynadığı rapor edilmektedir. ABY gelişen hastalar uzun süre diyaliz tedavisine ihtiyaç duymakta ve yaklaşık %10'unda böbrek transplantasyon tedavisi gerekmektedir. Böbreklerde iskemik hasar; böbrek transplantasyonu, suprarenal anevrizma tedavileri, böbrek arter tedavilerinde, kontrast maddelerin oluşturduğu nefropati, kalp durması ve şok gibi klinik durumlarda görülür (107). Böbreklerde deneysel I/R hasarının etkilerinin ortaya çıkması için 60 dakikalık iskemi süresine gerek olduğu ve bu süreden sonra reperfüzyon hasarının ortaya çıktığı gösterilmiştir

(108). Bu çalışmamızda daha önce laboratuvarımızda çalıştığımız model olan 60 dk her iki böbrek iskemisi ve 24 saatlik reperfüzyon sürelerini tercih ettik (109).

Pelargonium sidoides kökleri Güney Afrikada farklı hastalıkların tedavisinde halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle üst solunum yolunun akut veya kronik enfeksiyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Klinik çalışmaları bu bitkisel ilacın antibakteriyel, antiviral ve immün sistemi düzenleyici özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (110,111). Luna ve arkadaşlarının gönüllü erkek moroton koşucularının üzerinde yaptıkları çift körlü çalışmada, Pelargonium sidoides ekstraktlarının tükrük IgA düzeylerini arttırdığı buna karşın IL-15 ve IL-6 düzeylerini azalttığı gösterilmiştir. Bunun sonucu olarak bu bitkisel tedavinin yoğun fiziksel aktivite yapan atletlerde immün sistemi güçlü bir şekilde düzenlediği rapor edilmiştir (112).

Son yıllarda yapılan in vitro araştırmalarda Pelargonium sidoidesin bağışıklık sistemi üzerinde düzenleyici etkisi olduğu ve TNF- α , interferon ve NO düzeylerini düzenlediği rapor edilmektedir. Mikroorganizmalar üzerinde fagositik aktivitesinin yanı sıra hem bakteri üremesini engelleyerek hem de SOR salınımını arttırarak (oksidative burst) mikroorganizmaların ölümüne neden olduğu rapor edilmiştir. Çeşitli çalışmaların sonuçlarında özellikle üst solunum yolu enfeksiyonları üzerindeki koruyucu etkisi antimikrobiyel, antiviral ve immün düzenleyici etkilerinin yanı sıra Pelargonium sidoidesin farmakolojikal etkilerinin açık olmadığı ve hâlâ araştırılmaya ihtiyaç olduğu bildirilmektedir (111).

Bu çalışmamız araştırmalarımıza göre sıçanlarda böbrek I/R modelinde Pelargonium sidoidesin etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızda iskemi yapılmayan hayvanlarda etkisini göstermek amacıyla; böbrek damarları diseksiyonla ayrılmadan 72, 48, 24. saat ve 30 dk önce 200 mg/kg dozunda Pelargonium sidoides verdiğimiz 2. grup ile böbrek damarları diseksiyonla ayrılmadan 72, 48, 24 saat ve 30 dk önce 2 ml/kg dozunda Pelargonium sidoidesin çözücüsü %12 ethanol gavajla verilen 1. grup verileri arasında MDA, NO, AST, serum üre, kreatinin, kreatin klirensi ile FeNa atılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı görüldü. Serum AST düzeylerinde 2. grupta 1. gruba göre anlamlı olmayan bir yükselme görüldü. Bu veriler Pelargonium sidoidesin sağlıklı sıçanlardaki etkisinin ileri araştırmalarla incelenmesi gerektirdiğini düşündürmektedir.

Her iki böbrek arter ve venleri birlikte klemplenerek 60 dk iskemi, 24 saat reperfüzyon süresi uygulanan 3. grup sıçanlarda elde edilen parametreler ile 1. grup verileri

karşılaştırıldığında serum sodyum, potasyum, böbrek NO ve GSH düzeyi ile idrar sodyum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadığı görüldü. Serum üre, kreatinin, AST aktivitesi ve MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı arttığı görüldü. İdrar kreatinin düzeyinde ise anlamlı azalma tespit edildi. Çalışmamızda ABY'nin bir belirteci olan glomerüler filtrasyon hızının göstergesi olarak kullanılan kreatinin klirensi kontrol grubu olan 1. gruba göre I/R hasarı olan 3. grupta anlamlı azalma meydana geldi. Böbreklerde tübüler fonksiyon bozukluğunun bir göstergesi olarak kabul edilen FeNa atılımında anlamlı bir artma vardı. Grup 3 ile grup 1 sıçanların HE boyalı böbrek kesitlerinin ışık mikroskoplu sonuçlarına göre kortikal tübüllerde dilatasyon, tübül epitellerinde basıklaşma, vakuolizasyon ve yaygın nekroz izlendi. Ayrıca tübül epitellerinde yoğun kast oluşumu gözlemlendi. Bu sonuçlar uyguladığımız modelde I/R hasarının oluştuğunu göstermektedir.

Daha önce sıçan ve farelerde 40 dk iskemi ve farklı reperfüzyon sürelerinin incelendiği bir çalışmada I/R grubu ile sham kontrol grupları karşılaştırıldığında üre, kreatinin düzeyleri ile böbreklerde histopatolojik hasarın anlamlı düzeyde arttığı gösterilmiştir (113). Bu çalışmada elde edilen bulgular bizim çalışma sonucunda elde ettiğimiz bulguların sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Yanarateş ve ark. sıçanlarda 60 dk iskemi ve 6 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında serum üre, kreatinin, AST aktivitesi, MDA ve NO düzeyleri ile histopatolojik olarak böbrek hasarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış olduğu bildirilmiştir (114). Sıçanlarda 45 dk iskemi, 24 saat reperfüzyon uygulanan diğer bir çalışmada da serum üre, AST düzeylerinin ve histopatolojik tübüler hasarın arttığı bildirilmiştir (115). Aydoğdu ve ark. laboratuvarımızda yaptıkları çalışmada 60 dk iskemi, 24 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında üre, kreatinin ve MDA düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (116). I/R'nin oluşturduğu hasarın incelendiği bu çalışmalarda ki böbrek üre, kreatinin ve AST aktivitesi bulguları bizim I/R oluşturduğumuz 3. grup ile uyumluluk göstermektedir. Sıçanlarda 45 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uygulayan Wei ve ark. çalışmasında serum üre, kreatinin düzeylerinde artma, serum ve böbrek düzeyinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir artma görülmüş (115). Efrati ve ark. sol böbrek nefrektomisi yaptıkları çalışmada 1, 24, 48, 168 saat reperfüzyon sürecinde inceledikleri bulgulardan I/R grubundaki 24 saatlik reperfüzyon süresindeki kreatinin düzeylerinde artma, kreatinin klirensinde ise anlamlı azalma olduğunu bildirilmiştir (117). Bizim çalışmamızın verileri ile bu çalışmaların verileri benzerlik göstermektedir.

Camara ve ark. bilateral böbrek arter ve venine klempe koyarak 45 dk iskemi ve 24 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında serum üre, AST düzeyleri ile böbrek tübül hasar skorunun anlamlı düzeyde arttığını bildirmişlerdir. Serum AST düzeyi non-spesifik hücresel hasarın veya nekrozun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. AST böbrek tübül hücrelerinde de bulunan bir enzimdir. Böbrek iskemi reperfüzyon modellerinde AST düzeylerindeki yükselmenin karaciğer hasarı değil böbrek hasarı sonucu olduğu bildirilmektedir (118). Chatterjee ve ark. sıçanlarda böbrek I/R hasarında yaptıkları çalışmada AST düzeyinin arttığı buna karşın, karaciğerdeki hasarın bir göstergesi olarak kullanılan ALT düzeyinin değişmediği bildirilmiştir. Bu nedenle böbrek I/R hasarında yükselmiş AST düzeyleri böbrek tübül hasarının bir göstergesi olarak düşünülmesi gerektiği bildirilmektedir (119). Çalışmamızda serum AST düzeyindeki artmaların böbreklerdeki nekroz düzeyi ile paralel olması bunu desteklemektedir. Glomerüller fonksiyonun göstergesi olan plazma üre ve kreatinin konsantrasyonlarındaki yükselme ile glomerüller fonksiyon hızının belirteci olan kreatinin klirensindeki azalma glomerüller fonksiyonların bozulduğunu bize gösterdi. Ayrıca buna ilaveten tübül hasarının bir indikatörü olan FeNa atılımındaki artma da tübül fonksiyonların azaldığını ve tübül hasarının arttığını göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda histopatolojik sonuçlarda görülen nekroz düzeyindeki artış bu görüşümüzü desteklemektedir. Böbrek I/R hasarı modeli uyguladığımız çalışmamızda lipid peroksidasyonunun artışının bir göstergesi olan MDA düzeylerinin anlamlı düzeyindeki artış oksidatif stresin artışını göstermektedir.

Hagar ve ark. sol böbrekte 45 dakika iskemi 24 saat reperfüzyon ve sağ böbrek nefrektomisi yapılarak uygulanan modelde serum kreatinin ve üre düzeyleri ile MDA düzeylerinin I/R grubunda sham kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı GSH ve serum NO düzeyinin de anlamlı düzeyde azaldığı bildirilmiştir (120). Bu çalışmada serum üre ve kreatinin düzeyleri ile böbrek MDA düzeylerinde görülen artış bizim çalışmamızda I/R uygulanan 3. grubun sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Bizim çalışmamızda böbrek GSH ve böbrek NO düzeyinde azalma anlamlı değildir. Bu sonuç Hagar ve ark. sol böbrekte 45 dakika iskemi 24 saat reperfüzyon ve sağ böbrek nefrektomisi yapılarak uyguladıkları modeldeki farklı iskemi süresinden kaynaklanabilir.

Gürel ve ark. sağ böbrekte 30 dakika iskemi ve 30 dakika reperfüzyon sonucunda böbrekte NO düzeyinin anlamlı düzeyde arttığı gösterilmiştir (121). Korkmaz ve Kolankaya'nın sıçanlarda sağ böbrek nefrektomisi yaptıkları ve sol böbrekte 45 dakika iskemi 3 saat reperfüzyon süresi uyguladıkları modellerinde MDA düzeylerinin arttığı ve

GSH düzeyinin anlamlı azaldığı rapor edilmiştir (122). GSH düzeyinin bu çalışmadaki anlamlı düzeyde azaldığının bizim çalışmamızda görülmemesinin nedeni I/R sürelerindeki farklılık sonucu olabilir.

Çalışmamızda 60 dakika iskemi 24 saat reperfüzyon uygulanan ve iskemiden 72, 48, 24 saat ve 30 dakika önce Pelargonium sidoides çözücüsü %12'lik etanol 2 ml/kg dozunda verilen 3. grup ile aynı sürelerde iskemi ve reperfüzyon uygulanan ve aynı zaman birimlerinde 200 mg/kg dozunda Pelargonium sidoides verilen 4. grubun parametreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak herhangi bir farklılığın olmadığı görüldü.

Bozkurt ve ark. sıçanlarda böbrek I/R hasarına karşı elajik asidin etkisinin araştırıldığı çalışmalarında sol böbrekte 45 dakika iskemi, iskemiye takiben 60 dakika reperfüzyon uyguladıkları gruplarda MDA düzeyinin anlamlı düzeyde arttığı ve elajik asidin serum MDA düzeyleri üzerinde anlamlı düzeyde etkisinin olmadığı rapor edilmiştir (123). Köpeklerde 90 dakika iskemi ve farklı zaman periyodlarında (1, 2, 4, 7, 10, 15 ve 21.günler) reperfüzyon süresi uygulanan gruplarda tedavi amacıyla verilen N-asetil sistein, sodyum nitroprosit ve phosphoramidonun glomerüler fonksiyon göstergesi olarak kabul edilen üre ve kreatinin düzeylerinin 24 saatlik reperfüzyon süreleri sonunda koruyucu etkilerinin olmadığı, ancak reperfüzyonun diğer zaman periyodlarında koruyucu etkileri olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da 24 saatlik reperfüzyon süresinde Pelargonium sidoidesin görülmeyen yararlı etkisinin uzun süreli reperfüzyon periyodlarındaki etkisinin araştırılması gerektiğini düşünüyoruz (124).

Romatoid artrit modeli oluşturulan sıçanlarda 100, 200 ve 500 mg/kg dozlarında Pelargonium sidoides verilen gruplarda plazma MDA, SOD, NO ve GPx düzeylerinde anlamlı değişikliklerin olmadığı bildirilmiştir. GSH düzeyinde ise Pelargonium sidoides verilen gruplarda GSH düzeylerinin anlamlı düzeyde azaldığını göstermişlerdir (92). Bizim çalışmamızda Pelargonium sidoidesin MDA ve NO düzeylerinde anlamlı farklılık oluşturmaması bu çalışmanın sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Diğer taraftan çalışmamızda GSH düzeylerinde Pelargonium sidoidesin anlamlı farklılık oluşturmamasına karşın bu çalışmada GSH düzeyleri üzerinde anlamlı düzeyde azalma görüldüğü bildirilmiştir. Bu çalışmada GSH düzeyleri üzerindeki azaltıcı etkisinin bizim çalışma sonuçlarımızdan farklı olmasının sebebi 10 kez verilmesinin bir sonucu olabilir. Bizim çalışmamızda da hasar gelişiminden önce 4 kez verilmiştir.

Afrika sardunyası olarak bilinen Pelargonium sidoidesin köklerinden elde edilen sıvı ekstresi içeren damlalar soğuk algınlığının tedavisinde Almanya'da yaygın olarak

kullanıldığı ve son yıllarda *Pelargonium sidoides* kökünün sıvı ekstresi içeren ilaçlar Türkiye’de de bulunmaktadır. *Pelargonium sidoides* köklerinin ekstratında esas etken olan kumarinlerin yanında fenolik yapıların da olduğu tespit edilmiştir. Bu fenolik yapılarının içeriğinde flavorit ve kateşin türevlerinin olduğu belirlenmiştir (125). *Pelargonium sidoides* kökünden elde edilen ekstratın solunum sistemine zarar veren virüs ve bakterilere karşı mikrop öldürücü etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (126). *Pelargonium* cinsine ait türlerin içerdiği fenolik bileşiklerden dolayı kuvvetli antioksidan özelliklerinin olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (127,128). Kayser ve ark. *Leishmania* parazitlerin üzerinde yaptıkları in vitro çalışmada *Pelargonium sidoides* ekstratlarının NO üretimini arttırarak makrofajların fagositik aktivitelerini arttırdığı rapor edilmiştir (129).

İnfluenza virüsü ile enfekte edilmiş farelerde in-vivo ve in-vitro çalışmada yaşam süresini uzattığı *Pelargonium sidoides* ekstratının verilmesinin vücut sıcaklığını azalttığı, vücut ağırlığının azalmasını engellediği, hastalık sürecini azalttığı ve antiviral etkisinin olduğu gösterilmiştir (130). Turan ve ark. yaptıkları çalışmada *Pelargonium sidoides* ekstratları ile beslenen kerevitlerin büyüme, yaşama oranı ve vücut kompozisyonu üzerinde olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (131). Koch ve Biber’in iki hafta boyunca oral olarak sıçanlara *Pelargonium sidoides* ekstratının 10, 75 ve 500 mg/kg dozunda verdikleri çalışmalarında iki hafta sonunda *Pelargonium sidoides*in tüm dozlarının vücut ağırlığı ve karaciğer ağırlığı üzerinde etkisinin olmadığı görülmüştür. Bu çalışmada verilen dozların parsiyel tromboplastin ve protrombin gibi koagülasyon parametreleri üzerinde anlamlı etkisinin olmadığı ve bunun sonucu olarak *Pelargonium sidoides* alan hastalarda kanama zamanı üzerinde etkinliğinin olmayacağı bildirilmiştir (98). Teschke ve ark. 3 hafta boyunca günlük 3×30 damla dozunda *Pelargonium sidoides* alan hastalarda karaciğer ALT, AST düzeylerinde artışa sebep olarak toksik etki gösterdiği rapor edilmiştir (132).

Pelargonium sidoides özellikle solunum yolunun viral ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı insanlarda koruyucu rol oynadığı birçok çalışmada bildirilmiştir. Deney hayvanları üzerindeki etkisi ile ilgili yukarıda özetlenen çalışmalarda farklı dozlarının toksik etkiye sebep olmadığı hatta koruyucu rol oynadığı rapor edilmektedir. Ancak son zamanlarda takip edilen klinik çalışmalarda *Pelargonium sidoides*in karaciğer üzerinde toksik etkisinin olduğu vurgulanmaktadır. Bizim uyguladığımız modelde sıçanlarda böbrek I/R hasarında incelenen parametreler üzerinde koruyucu etkisinin olmadığı görüldü. Buna ilaveten *Pelargonium sidoides* verilen kontrol grubu sıçanlarda AST aktivitesinde anlamlı olmayan

bir artışın olduğu görüldü. Bu da Pelargonium sidoidesin karaciğer üzerinde toksik etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Bütün bu bulgular ve gözlemler, deneysel böbrek I/R modelinde Pelargonium sidoides tedavisinin koruyucu etkisinin görülmemesinin mekanizmasını kesin olarak göstermede yetersiz kalmaktadır. Bu konuda Pelargonium sidoidesin dozlarında, verilme zamanında ve verilme sürelerindeki farklı zaman periyotlarında böbrek I/R hasarı üzerindeki etkisini araştıran daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

SONUÇLAR

Deneysel olarak oluşturulan sıçan böbrek I/R modelindeki çalışmamızda Pelargonium sidoidesin; MDA, GSH, NO düzeylerine, AST aktivitesi ve böbrek fonksiyonları ile histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerini inceledik. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda Pelargonium sidoidesin sıçan böbrek I/R hasarında etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

1. ve 2. grup parametreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlı fark olmadığı görüldü.

1. ve 3. grup parametreleri karşılaştırıldığında serum sodyum, potasyum, böbrek NO ve GSH düzeyi ile idrar sodyum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. MDA, serum üre, kreatinin ve AST aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı, idrar kreatinin atılımının ve kreatinin klirensinde anlamlı bir azalma meydana geldiği, FeNa atılımında ise anlamlı bir artma olduğu görüldü.

3. ve 4. grup parametreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Çalışmamızda Pelargonium sidoides ekstratının yararlı etkisi görülmedi. Bulgularımız Pelargonium sidoidesin deneysel böbrek I/R hasarında yararlı etkisinin görülmemesinin mekanizmasını kesin olarak göstermede yetersiz kalmaktadır. Pelargonium sidoidesin Bu modeldeki etkisinin açıklanabilmesi için dozu, veriliş yolu, verilme zamanı ve verilme sürelerinde yapılacak düzenlemeler ile daha kapsamlı ve ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

ÖZET

Türkçe adı sardunya olan *Pelargonium sidoides*; Güney Afrika'da uzun bir süredir geleneksel tıp uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda deneysel iskemi/reperfüzyonun sıçan böbreklerinde yol açtığı oksidatif hasarda; *Pelargonium sidoides*in lipid peroksidasyonu, GSH, NO indikatörü olan nitrat/nitrit düzeyleri, böbrek fonksiyonları ve böbrek hasarı üzerindeki etkilerini, etki mekanizmasını araştırmayı amaçladık

Her grupta 8 adet olmak üzere toplam 32 adet 300-350 gram ağırlığında erkek Sprague Dawley sıçan kullanıldı. 1. ve 3. gruplara *pelargonium sidoides*in çözücüsü olan etanol 2 ml/kg, 2. ve 4. gruplara da 200 mg/kg *pelargonium sidoides* 72, 48, 24 saat ve 30 dakika önce gavajla verildi. 3 ve 4. gruplara 60 dk iskemi uygulandı. İskemiden hemen sonra sıçanlar metabolik kafeslere konarak idrarları toplandı ve 24 saat reperfüzyonun ardından anestezi altında kan ve böbrekleri alınarak sakrifiye edildi. Böbrek dokusunda; GSH, MDA, NO düzeyi, serumda; AST aktivitesi, üre, kreatinin, sodyum ve potasyum düzeyleri, idrarda; kreatinin, sodyum düzeyleri ile böbrekte histopatolojik değişiklikler incelendi.

Çalışmamızda 1. grup ile 3. grup parametreleri karşılaştırıldığında serum AST, üre, kreatinin düzeyleri, FeNa atılımında, histopatolojik olarak böbrek hasarında ve tübüler kast birikiminde anlamlı artma, glomerüler fonksiyonun bir göstergesi olan kreatinin klirensinde anlamlı azalma görüldü. Grup 3 ile *pelargonium sidoides* verilen 4. Grup verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi.

Elde ettiğimiz bulgulara göre; Pelargonium sidoidesin sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında koruyucu etkisinin olmadığı görüldü.

Anahtar kelimeler: Pelargonium sidoides, böbrek iskemi/reperfüzyon hasarı, serbest radikaller, nitrik oksit, antioksidant

EFFECTS OF PELARGONIUM SIDOIDESIN IN THE EXPERIMENTAL RENAL ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY

SUMMARY

Pelargonium sidoides, called geranium in Turkish, is widely used in the traditional medicine for a long time in South Africa. In this study, we aimed to investigate the effects and mechanism of pelargonium sidoidesin on lipid peroxidation and kidney functions and damage, glutathione, nitric oxide levels used as indicator of nitrate/nitrite in the experimental ischemia/reperfusion injury.

Each group consisted of 8, a total of 32 male Sprague Dawley rats weighing 300-350 g were used. 1. and 3 groups were received ethanol (2 ml/kg) which were used to solve pelargonium sidoidesin. 2 and 4 groups were received Pelargonium sidoides orally (200 mg/kg) at 72, 48, 24 hours and 30 minutes before ischemia. 60 min of ischemia were applied to groups 3 and 4. Immediately after ischemia the rats placed in metabolic cages and urine of the rats were collected. After 24 hours of reperfusion, the rats were sacrificed under anesthesia and the blood samples and kidney tissues were removed. Kidney tissue glutathione, malondialdehyde, nitric oxide levels and serum aspartate aminotransferase enzyme activities, urea, creatinine, sodium and potassium levels and urine creatinine, sodium levels and renal histopathological changes were examined.

In our study, when the group 1 and 3 compared, there was a significant increase in the serum AST, urea, creatinine levels, fractional sodium excretion, tubular histopathologic changes and caste accumulation. There was a significant decrease in the creatinine clearance,

an indicator of glomerular function. There was no statistically significant differences in the parameters of group 3 and 4 which received pelargonium sidoides.

According to these findings, we can conclude that pelargonium sidoidesin could not show any protective effects on renal ischemia/reperfusion injury in rats.

Key words: Pelargonium sidoides, renal ischemia / reperfusion injury, free radicals, nitric oxide, antioxidant

KAYNAKLAR

1. Tanrıverdi MH, Karadağ F. Akut Böbrek Yetersizliği. Konuralp Tıp Dergisi 2010; 2(1) 46-52.
2. Atthe BK, Babsky AM, Hopewell PN, Phillips CL, Molitoris BA, Bansal N. Early monitoring of acute tubular necrosis in the rat kidney by ²³Na-MRI. Am J Physiol Renal Physiol 2009; 297:1288-98.
3. Şener G, Yeğen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı. Klinik Gelişim 2009; 22(3): 5-13.
4. Xiaozhou H, Xianlin X, Min F, Xiao C, Xuenjun S, Guanhua L et al. Preconditioning with hyperbaric oxygen induces tolerance against renal ischemia-reperfusion injury via increased expression of heme oxygenase-1. J Surg Res 2011;170:271-7.
5. Kınacı MK. İskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçan böbrek dokusunda quercetinin apoptozis ve real-time PCR ile tayin edilen iNOS gen ekspresyonu üzerine etkisi (tez). Eskişehir: Osman Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.
6. Patiroğlu T, Tunç A, Güngör HE, Unal E. The efficacy of Pelargonium sidoides in the treatment of upper respiratory tract infections in children with transient hypogammaglobulinemia of infancy. Phytomedicine 2012;19: 958– 61.
7. Adewusi EA, Afolayan AJ. Antibakterial, antifungal and antioksidant aktiviyi of the roots and leaves of Pelargonium reniforme Curtis (Geraniaceae). AFR J Biotechnol 2009; 8 (22): 6425-33.
8. Uslu H, Yoruk O, Ayyıldız A, Aktan B. Antibacterial spectrum of umckaloabo (Pelargonium sidoides) on upper airway infection agents. EUR J Gen Med 2009; 6(4): 245-48.
9. Yıldırım MK. Koroner arter bypass greft cerrahisi geçiren diyabetik ve diyabetik olmayan hastalarda sevofluran anestezisinin böbrek fonksiyonları üzerine etkilerinin

sistatin c düzeyleri ile değerlendirilmesi (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2010.

10. Kim T, Harman PK, Lyons R, Gaskins RB, Hobson CE, Evans SM et al. Brain natriuretic peptide is not reno-protective during renal ischemia-reperfusion injury in the rat. *J Surg Res* 2010; 164: 13-9.
11. Horoz M, Özgür Ö. Akut Böbrek Yetmezliği. *Harran Univ Tıp Fak Derg* 2004; 1(3): 48-63.
12. Özkısacık S, Yazıcı M, Gürsoy H, Serter M, Çulhacı N. Dekspantenolün böbreği iskemi-reperfüzyon hasarından koruyucu etkisi var mıdır? *Türk Nefrol Diyal Transplant Derg* 2011; 20 (2): 146-9.
13. Guan X, Dei-Anane G, Bruns H, Chen J, Nickkholgh A, Liang R et al. Danshen protect kidney grafts from ischemia/reperfusion injury after experimental transplantation. *Transplant İnt* 2009; 22: 232-41.
14. Kumar S, Allen DA, Kiesswich JE, Patel NS, Harwood S, Mazzon E et al. Dexamethasone ameliorates renal ischemia- reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 2412-25.
15. Rasoulıan B, Jafari M, Noroozadeh A, Mehrani H, Wahhab-Aghai H. Hashemi-Madani SM et al. Effects of ischemia-reperfusion on rat renal tissue antioksidant systems and lipid peroxidation. *Acta Med Iranica* 2008; 46 (5): 353-60.
16. Stroo I, Stokman G, Teske GJ, Raven A, Butter LM, Florquin S et al. Chemokine expression in renal ischemia/reperfusion injury is most profound during the reparative phase. *Int Immunol* 2010; 22(6): 433-42.
17. Zheng X, Feng B, Chen G, Zhang Li M, Sun H et al. Preventing renal ischemia-reperfusion injury using small interfering RNA by targeting complement 3 gene. *Am J Transplant* 2006; 6: 2099-108.
18. Aydoğdu N, Kaymak K, yalçın Ö. Sıçanlarda Böbrek iskemi reperfüzyon hasarında N-asetilsisteinin etkileri. *Fırat Tıp Derg* 2005;10(4): 151-55.
19. Kwon O, Hong SM, Ramesh G. Diminished NO generation by injured endothelium and loss of macula densa nNOS may contribute to sustained acute kidney injury after ischemia-reperfusion. *Am J Physiol-Renal* 2009; 296: 25-33.
20. Yazihan N, Kavas GO. Protective effect of erythropoietin in renal ischemia-reperfusion injury. *Open Drug Discov J* 2010; 2: 3-7.
21. Senturk H, Kabay S, Bayramoğlu G, Ozden H, Yaylak F, Yucel M. Silymarin attenuates the renal ischemia/reperfusion injury-induced morphological changes in the rat kidney. *World J Urol* 2008; 26: 401-7.
22. Basile DP, Donohoe D, Roethe K, Osborn JL. Renal ischemic injury results in permanent damage to peritubular capillaries. *Am J Physiol-Renal* 2001; 281: 887-99.

23. Aydın OÖ. Kardiyopulmoner baypas sonrası gelişen böbrek hasarının risk faktörleri, hemoliz serum ferritin seviyesi ile ilişkisi (tez). İstanbul: Siyami Ersek Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2006.
24. Bicik Z, Ersan S. Akut renal yetmezlik. Turk Nefrol Diyal Transplant Derg 1999; 3: 113-7.
25. Şahsıvar MO. Renal arterde oluşturulan iskemi-reperfüzyon sonrası böbrekte gelişen fonksiyon bozukluğuna iloprostun etkisi (tez). Konya: Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi; 2007.
26. Praga M, Gonzalez E. Acute interstitial nephritis. Kidney Int 2010; 77: 956-61.
27. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. N Engl J Med 1996;334: 1448-60.
28. Collino M, Benetti E, Miglio G, Castiglia S, Rosa AC, Aragno M et al. Peroxisome proliferator-activated receptor β/δ agonism protects the kidney against ischemia/reperfusion injury in diabetic rats. Free Radical Bio Med 2011; 50: 345-53.
29. Akkoç H. Miyokardiyal İskemi reperfüzyon hasarı. Dicle Tıp Derg 2008; 35(3): 211-5.
30. Salehipour M, Monobbati A, Salahi H, Nikeghbalian S, Bahador A, Marvasti VE et al. Protective effect of parenteral vitamin E on ischemia-reperfusion injury of rabbit kidney. Urology 2010; 75(4): 858-61.
31. Kandilci HB, Gümüşel B. Akciğerlerde iskemi-reperfüzyon hasarı ve iskemik önkoşullanma. Hacettepe Univ Eczacı Fak Derg 2005; 25(1): 35-49.
32. Gueler F, Rong S, Mengel M, Park JK, Kiyani J, Kirsch T et al. Renal urokinase-type plasminogen activator (uPA) receptor but not uPA deficiency strongly attenuates ischemia reperfusion injury and acute kidney allograft rejection. J Immunol 2008; 181: 1179-89.
33. Ragheb A, Attia A, Eldin WS, Elbarbry F, Gazarin S, Shoker A. The protective effect of thymoquinone, an anti-oxidant and anti-inflammatory agent, against renal injury: A Review. Saudi J Kidney Dis Transpl 2009; 20(5): 741-52.
34. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. J Clin Invest 1984; 74: 1156-64.
35. Chauhan SS, Ojha S, Mahmood A. Modulation of lipid peroxidation and antioxidation defense systems in rat intestine by subchronic fluotide and ethanol administration. Alcohol 2011; 45: 663-72.
36. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? Redox Rep 2004; 9(3): 145-52.
37. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. Am J Physiol 1996; 271: 1424-37.

38. Gültekin N, Ersanlı M, Küçükateş E. Güncel ve etkin bir transmitter: Nitrik oksid. Türk Kardiyol Dern Arş 1996; 24: 311-20.
39. Stichtenoth DO, Frölich JC. Nitric oxide and inflammatory joint diseases. Brit J Rheumatol 1998; 37: 246-57.
40. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. FASEB J 1992; 6: 3051-64.
41. Güray Atilla, Samancı N, Ovalı F, Dağoğlu T. Nitrik oksit: Fizyolojisi ve klinik önemi. T Klin Tıp Bilimleri 1997; 17: 115-9.
42. Araujo M, Welch WJ. Oxidative stress and nitric oxide in kidney function. Curr Opin Nephrol Hypertens 2006; 15: 72-7.
43. Kocatürk PA. Nitrik oksitin diabet patogenezi ve komplikasyonlarındaki rolü. Ankara Univ Tıp Fak Mecm 1996; 49(4): 237-42.
44. Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. J Turgut Özal Med Center 1997; 4(4): 453-61.
45. Santos RM, Lourenço CF, Ledo A, Barbosa RM, Laranjinha J. Nitric oxide inactivation mechanisms in the brain: role in bioenergetics and neurodegeneration. Int J Cell B 2012; 391914: 13.
46. Kuyumcu A, Düzgün AP, Özmen MM, Besler HT. Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. Ulus Travma Derg 2004;10(3):149-59.
47. Yüzüak H. Yaşlanma sürecinde pankreas dokusunda NO, MDA, GSH düzeyleri ve melatoninin etkisi (tez). Ankara: Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.
48. 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.
49. Aktar A. Solunum cihazına bağlı pnömoni hastalarda soluk havasındaki nitrik oksit ve hidrojen peroksitin tanısal değerleri (tez). Malatya: İnönü Üniversitesi Tıp Fak; 2006.
50. Harmandar O. Nötrositik asitli siroz hastalarında serum ve asit sıvısı TNF-alfa, interleükin-6, nitrik oksit ve myeloperoksidaz seviyelerinin, asit infeksiyonu açısından tanısal ve prediktif değerleri (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2008.
51. Tripatara P, Patel NS, Webb A, Rathod K, Lecomte FM, Mazzon E et al. Nitrite-derived nitric oxide protects the rat kidney against ischemia/reperfusion injury in vivo: role for xanthine oxidoreductase. J Am Soc Nephrol 2007; 18: 570-80.
52. Atalık KE, Doğan N. Nitrik oksit ve fizyolojik etkileri. Gen Tıp Derg 1997; 7(3): 167-9.
53. Palm F, Teerlink T, Hansell P. Nitric oxide and kidney oxygenation. Curr Opin Nephrol Hy 2009; 18: 68-73.

54. Singh TD, Patial K, Vijayan VK, Ravi K. Role of nitric oxide in the diuresis and natriuresis occurring in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 2011; 53: 11-20.
55. Braam B, Renal endothelial and macula densa NOS: integrated response to changes in extracellular fluid volume. *Am J Physiol* 1999; 276: 1551-61.
56. Gürel EE. Sıçanlarda deneysel miyoglobinürik akut böbrek yetmezliğinde sarımsağın etkileri (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fak; 2008.
57. Elli M, Özkaya O. Böbreğin gelişiminde nitrik oksid'in fizyopatolojik rolü. *T Klin Pediatri* 2003; 12: 252-9.
58. Talab SS, Emami H, Elmi A, Nezami BG, Assa S, Deroee AF et al. Chronic lithium treatment protects the kidney against ischemia/reperfusion injury: The role of nitric oxide and cyclooxygenase pathways. *Eur J Pharmacol* 2010; 647: 171-7.
59. Rodriguez C, Mayo CJ, Sainz RM, Antolin I, Herrera F, Martin V et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res* 2004; 36: 1-9.
60. Filaire E, Toumi H. Reactive oxygen species and exercise on bone metabolism: Friend or enemy? *Joint Bone Spine* 2012; 79: 341-6.
61. Olmez İ, Ozyurt H. Reactive oxygen species and ischemic cerebrovascular disease. *Neurochem Int* 2012; 60: 208-12.
62. Parihar A, Parihar MS, Milner S, Bhat S. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury. *Burns* 2008; 34: 6-17.
63. Cuzzocrea S, Riley Dp, Caputi A, Salvemini D. Antioxidant therapy: A new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 135-59.
64. Revan S. Farklı dayanıklılık antrenmanlarının oksidatif stres oluşumu ve antioksidan düzeyleri üzerine etkisi (tez). Ankara: Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2007.
65. Durackova Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res* 2010; 59: 459-69.
66. Singh BN et al. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1109-16.
67. Nishiki T, Kitada H, Okabe Y, Miura Y, Kurihara K, Kawanami S et al. Effect of milrinone on ischemia-reperfusion injury in the rat kidney. *Transplant P* 2011; 43: 1489-94.
68. Bartosikova L, Necas J, Bartosik T, Pavlik M, Frana P. Effect of pomiferin administration on kidney ischaemia-reperfusion injury in rats. *Interdiscip Toxicol* 2010; 3(2): 76-81.

69. Chaaya R, Alfarano C, Frugier C, Coatrieux C, Kesteman A, Parini A et al. Pargyline reduces renal damage associated with ischemia-reperfusion and cyclosporin. *Nephrol Dial Transpl* 2011; 26: 489-98.
70. Karabiga M. Aprotinin'in deneysel aortik iskemi reperfüzyon modelinde böbrek hasarı üzerine etkisi (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2006.
71. Kaminski K, Bonda T, Musial WJ. Oxidative stress and neutrophil activation-the two keystones of ischemia/reperfusion injury. *Int J Cardiol* 2002; 86 (1): 41-59.
72. Aşıcıoğlu YT. Sıçanlardaki kronik alkolik karaciğer hasarına likopenin etkisi (tez). İstanbul: Şişli Eftal Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2005.
73. Odabaşı D. L-Karnitin'in Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Akciğer ve Endotel Hasarı Üzerine Etkisi (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2006.
74. Taşdemir B. Streptozotocin ile diyabet oluşturulan ratlarda eksojen kaynaklı L-argininin; arginaz, paraoksonaz, nitrik oksit ve antioksidan enzim düzeylerine etkisi (tez). Elazığ: Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2005.
75. Çiçek E. Nükleer tıp uygulamalarının hastalardaki serbest radikaller üzerine etkileri (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2005.
76. Hassanabad ZF, Chan CB, Furman BL. Reactive oxygen species and endothelial function in diabetes. *Eur J Pharmacol* 2010; 636: 8-17.
77. Beytur A, Binbay M, Sarihan ME, Parlakpınar H, Polat A, Gunaydın MO ve ark. Dose-dependent protective effect of ivabradine against ischemia-reperfusion induced renal injury in rats. *Kidney Blood Press Res* 2012; 35: 114-9.
78. Grigorov B. Reactive oxygen species and their relation to carcinogenesis. *Trakia J Sci* 2012; (10)3: 83-92.
79. Cornelli U. Antioksidant use in nutraceuticals. *Clin Dermatol* 2009; 27: 175-94.
80. Cüre E. Ratlarda demir yüklenmesi ile oluşturulan oksidatif stresin önlenmesinde kafeik asit fenetil ester'in etkinliğinin araştırılması (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2007.
81. Kolanjiappan K, Manoharan S, Kayalvizhi M. Measurement of rythrocyte lipids, lipid peroxidation, antioxidants and osmotic fragility in cervical cancer patients. *Clin Chim Acta*; 326: 143-9.
82. Altıntaş S. Kahramanmaraş'ta bazı iş kollarında çalışan boya işçilerinde plazma ve eritrosit membranı sialik asit, glutatyon, plazma nitrik oksit ve lipid peroksidasyonu düzeylerinin değerlendirilmesi (tez). Kahramanmaraş: Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2006.
83. Halliwell B, Aruoma, OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett* 1991;81: 9-19.

- 84.Çakatay U, Kayalı R. Serbest radiksl biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. Cerrahpasa Tıp Derg 2006; 37: 162-7.
- 85.Sarı S. Farelerde ehrlich asit solid tümör modelinde thymus sipyleus ve taurinin, böbrek MDA, Glutasyon, AOPP düzeylerine ve SOD aktivitesine etkileri (tez). Ankara: Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.
- 86.Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. Algal antioksidanlar. EgeJFAS 2006; 23(1/1): 85-9.
- 87.Velioğlu S. Doğal antioksidanların insan sağlığına etkisi. Gıda 2000; 25(3): 167-76.
- 88.Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutasyonun rolü. T Klin J Med Sci 2002; 22: 442-8.
- 89.Anderson ME. Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. Chem Biol Interact. 1998; 111(112): 1–14.
- 90.Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. Düzce Tıp Fak Derg 2005; 3: 30-9.
- 91.Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. Biomed Pharmacother 2003; 57: 145–55.
- 92.Gündüz S. Adjuvant atritli sıçanlarda pelargonium sidoidesin etkisi (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2010.
- 93.Brown D. Pelargonium sidoides Extract (EPs 7630): Alternative treatment of acute upper respiratory tract infections. Nat Med J 2009;1(4):1-6.
- 94.M. Nöldner, K. Schötz. Inhibition of lipopolysaccharid-induced sickness behavior by a dry extract from the roots of Pelargonium sidoides (EPs 7630) in mice. Phytomedicine 2007; 14: 27-31
- 95.Trun W, Kiderlen AF, Kolodziej H. Nitric oxide synthase and cytokines gene expression analyses in leishmania-infected RAW 264.7 cells treated with an extract of Pelargonium sidoides (EPs 7630). Phytomedicine 2006; 13(8: 570-5).
- 96.Ross SM. A proprietary root extrac of Pelargonium sidoides (EPs 7630) is found to be effective in resolving symptoms associated with the common cold in adults. Holist Nurs Pract 2012; 26(2): 106-9.
- 97.Schnitzler P, Schneider S, Stintzing FC, Carle R, Reichling J. Efficacy of an aqueous Pelargonium sidoides extract against herpesvirus. Phytomedicine 2008; 15: 1108-16.
- 98.Koch E, Bilber A. Treatment of rats with the Pelargonium sidoides extract EPs 7630 has no effect on blood coagulation parameters or on the pharmacokinetics of warfarin. Phytomedicine 2007;14: 40-5.

99. Erdoğan H, Fadillioglu E, Yagmurca M, Uçar M, Irmak MK. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. *Urol Res* 2006;34: 41–6.
100. Kusaka J, Koga H, Hagiwara S, Hasegawa A, Kudo K, Noguchi T. Human atrial natriuretic peptide attenuates renal ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2010; 1-6.
101. 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.
102. Zakowski JJ, Tappel AL. A semiautomated system for measurement of glutathione in the assay of glutathione peroxidase. *Anal Biochem* 1978; 89(2): 430-6.
103. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin. Chem* 1990; 36(8): 1440-3.
104. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute kidney injury. *The Lancet* 2012; 3809843: 756-66.
105. Thadhani R; Pascual M; Bonventre JV. Acute renal failure. *New Engl J Med* 1996; 334(22): 1448-60
106. Bagshaw SM, Bellomo R, Devarajan P, Johnson C, Karvellas CJ, Kutsiogiannis DJ, et al. Review article: Acute kidney injury in critical. *Can J Anaesth* 2010; 57 (11): 985-98
107. 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.
108. Paller SM, Hoidal RJ, Ferris FT. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest* 1984; 74: 1156-64.
109. 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): 925-39.
110. Bachert C, Schapowal A, Funk P, Kieser M. Treatment of acute rhinosinusitis with the preparation from *Pelargonium sidoides* EPs 7630: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Rhinology.* 2009; 47(1): 51-8.
111. Conrad A, Hansmann C, Engels I, Daschner FD, Frank U. Extract of *Pelargonium sidoides* (EPs 7630) improves phagocytosis, oxidative burst, and intracellular killing of human peripheral blood phagocytes in vitro. *Phytomedicine* 2007; 14: 46–51.
112. Luna LA Jr, Bachi AL, Novaes Brito RR, Eid RG, V.M. Suquri VM, Oliveira PW et all. Immune responses induced by *Pelargonium sidoides* extract in serum and nasal mucosa of athletes after exhaustive exercise: Modulation of secretory IgA, IL-6 and IL-15. *Phytomedicine* 2011; 18: 303–8.

113. Chiao H, Kohda Y, McLeroy P, Craig L, Housini I, Star RA. α -melanocyte-stimulating hormone protects against renal injury after ischemia in mice and rats. *J Clin Invest* 1997; 99(6): 1165-72.
114. Yanarates O, Guven A, Sizlan A, Uysal B, Akgul O, Atim A et al. Ameliorative effects of proanthocyanidin on renal ischemia/reperfusion injury. *Renal Failure* 2008; 30: 931–8.
115. Wei R, Ding R, Wang Y, Tang L. Grape seed proanthocyanidin extract reduces renal ischemia/reperfusion injuries in rats. *Am J Med Sci* 2011; 1-6.
116. Hacı M. Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında baicalinin etkileri (tez). Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2012.
117. 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 Transpl* 2011;0: 1–10.
118. Camara-Lemarroy CR, Guzman GFJ. Effect of sulfasalazine on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Renal Failure* 2009;31: 822–8.
119. Chatterjee PK, Cuzzocrea S, Brown PA, Zacharowski K, Stewart KN, Mota-Filipe H et al. Tempol, a membrane-permeable radical scavenger, reduces oxidant stress-mediated renal dysfunction and injury in the rat. *Kidney Int* 2000; 58: 658–73.
120. Hagar HH, Abd El Tawab R. Cysteinyl leukotriene receptor antagonism alleviates renal injury induced by ischemia-reperfusion in rats. *J Surg Res* 2012; 178(1): 25-34.
121. Gürel et al. Protective role of α -tocopherol and caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury via nitric oxide and myeloperoxidase in rat kidneys. *Clin Chim Acta* 2004; 339: 33–41.
122. Korkmaz A, Kolankaya D. Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Can J Surg* 2012; 55(6): 4811.
123. Bozkurt Y. The protective effect of ellagic acid against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18(5): 823-28.
124. Sekhon CS, Sekhon BK, Singh I, Orak JK, Singh AK. Attenuation of renal ischemia/reperfusion injury by a triple drug combination therapy. *J Nephrol* 2003; 16(1): 63-74.
125. Selçuk SS, Eyisan S. Türkiye’deki eczanelerde bulunan bitkisel ilaçlar. *Marmara Pharm J* 2012; 16: 164-80.
126. Lis-Balchin, M, Steyrl H, Krenn E. The comparative effect of novel Pelargonium essential oils and their corresponding hydrosols as antimicrobial agents in a model food system. *Phytother Res* 2003; 17: 60-5.
127. Boskou D, Demo A, Petrakis C, Kefalas P. Nutrient antioxidants in some herbs and mediterranean plant leaves. *Food Res Int* 1998; 31: 351-4.

- 128.Namik M. Antioxidants, antimutagens in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1990; 29: 273-300.
- 129.Kayser O, Kolodziej H, Kiderlen AF. Immunomodulatory principles of *Pelargonium sidoides*. *Phytother Res* 2001; 15(2): 122-6.
- 130.Linda L. Theisen, Claude P. Muller. EPs® 7630 (Umckaloabo®), an extract from *Pelargonium sidoides* roots, exerts anti-influenza virus activity in vitro and in vivo. *Antivir Res* 2012; 94(2): 147-56.
- 131.Turan F, Mazlum Y, Yıldırım YB, Gezer A. Use of Dietary *Pelargonium sidoides* extract to improve growth and body composition of narrow-clawed crayfish *astacus leptodactylus eschscholtz*, 1823 Juveniles. *Türk J Fish Aquat Sci.* 2012; 12: 233-8.
- 132.Teschke R. et al. Initially purported hepatotoxicity by *Pelargonium sidoides*: the dilemma of pharmacovigilance and proposals for improvements. *Ann Hematol* 2012; 11(4): 500-12.

RESİMLEMELER LİSTESİ

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Pelargonium sidoides.....	19
Şekil 2: Ortalama serum üre düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	34
Şekil 3: Ortalama serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	35
Şekil 4: Ortalama serum sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	36
Şekil 5: Ortalama serum potasyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	36
Şekil 6: Ortalama serum AST düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	37
Şekil 7: Ortalama MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	38
Şekil 8: Ortalama GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	39
Şekil 9: Ortalama böbrek NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	39
Şekil 10: Ortalama idrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	40
Şekil 11: Ortalama idrar sodyum düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	41
Şekil 12: Ortalama FeNa düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	42
Şekil 13: Ortalama kreatin klirensi düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	43
Şekil 14: Grup 1'in böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX200)].....	46
Şekil 15: Grup 2'nin böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX200)].....	46
Şekil 16: Grup 3'ün böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX100)].....	47
Şekil 17: Grup 4'ün böbrek kesiti [kortikal kısım (HEX100)].....	47

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1: Grup 1'in biyokimyasal verileri.....	29
Tablo 2: Grup 2'nin biyokimyasal verileri.....	30
Tablo 3: Grup 3'ün biyokimyasal verileri.....	31
Tablo 4: Grup 4'ün biyokimyasal verileri.....	32
Tablo 5: Çalışma gruplarının değişkenlere ait istatistiksel verileri.....	33
Tablo 6: Serum üre düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları.....	34
Tablo 7: Serum kreatinin düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları.....	35
Tablo 8: Serum AST düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları.....	37
Tablo 9: Serum MDA düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları.....	38
Tablo 10: İdrar kreatinin düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları	40
Tablo 11: FeNa düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları.....	42
Tablo 12: Kreatin klirensi düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları.....	43
Tablo 13: Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçları.....	45
Tablo 14: Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçları.....	45

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Mersin'in Gülnar ilçesinde doğdum. İlköğrenimimi Cengiz Topel İlköğretim okulunda 1998 yılında bitirdim. 2002 yılında Silifke Sağlık Meslek Lisesi Acil Tıp Teknisyeni bölümünden mezun oldum. Lisans öğrenimimi ise Gazi Üniversitesi Kırşehir Sağlık Yüksek Okulu'nda 2006 yılında tamamladım. 2006 yılında Trakya Üniversitesi Hastanesi acil serviste işe başladım. 2008 yılından itibaren gastroenteroloji servisinde çalışmaktayım.

2010 Güz yarısında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım.

Yayımları:

- 1) **Öz S**, Aydoğdu N, Taştekin E, Süt N. Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Pelargonium sidoidesin Etkileri. TFBD 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Trabzon, 2012, pp:211
- 2) Aydoğdu N, Poyraz MD, Taştekin E, **Öz S**, Yavuz YÖ, Çukur Z, Tarhan Aİ, Atagün Ç. Sıçanlarda Böbrek I/R hasarında Aspirinin Etkileri. TFBD 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Trabzon 2012, pp:123

EKLER

EK-1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ








HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 03

Karar Tarihi: 23.03.2011

KARAR NO: 2011.03.03

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Nurettin AYDOĞDU'nun yaptığı Yüksek Lisans Öğr. Selime ÖZ'ın Yüksek Lisans tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2011/19 protokol nolu "Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Pelargonium Sidoidesin Etkileri" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlgili	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input 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 Sivi Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input 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. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ 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. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	