



**SIÇANLARDA KARBON TETRAKLORÜRÜN (CCl₄)
BÖBREKTE OLUŞTURDUĞU HASARA KARŞI
DEKSPANTENOLÜN (PROVİTAMİN B₅) KORUYUCU
ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL AÇIDAN ARAŞTIRILMASI**

**Tuğba DEMİRALP
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Elif GÜREL
Yüksek Lisans Tezi-2021**

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA KARBON TETRAKLORÜRÜN (CCl₄) BÖBREKTE
OLUŞTURDUĞU HASARA KARŞI DEKSPANTENOLÜN (PROVİTAMİN B₅)
KORUYUCU ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL AÇIDAN ARAŞTIRILMASI**

Tuğba DEMİRALP

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Elif GÜREL

MALATYA

2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Böbrek Anatomisi, Fizyolojisi ve Histolojisi.....	4
2.2. Böbrek Fonksiyonları	5
2.2.1. Böbrek Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi	6
2.3. Böbrek Hasarları	7
2.3.1. Üriner Sistem Bozuklukları	7
2.3.2. Glomerüler Hastalıklar	7
2.3.3. Böbrek Yetmezliği.....	7
2.4. Karbon Tetraklorür(CCl ₄).....	8
2.4.1. Karbon Tetraklorürün Bulaşma Yolları	8
2.4.2. Karbon Tetraklorür Kullanım Alanları	8
2.4.3. Karbon Tetraklorür Metabolizması	9
2.5. Serbest Oksijen Radikalleri ve Oksidatif Stres.....	9
2.6. Pantotenik Asit(Vitamin B ₅)	10
2.6.1. Pantotenik Asitin Kaynakları	11
2.6.2. Pantotenik Asitin Fonksiyonları	11
2.6.3. Pantotenik Asitin Eksikliği	11
3. MATERYAL VE METOT	12
3.1. Deney Hayvanlarının Temini.....	12

3.2. Deney Gruplarının Belirlenmesi	12
3.3. Kan ve Böbrek Dokularının Çıkarılması ve Analizler İçin Hazırlanması	13
3.3.1. Böbrek Doku Homojenizasyonu	14
3.4. Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler	14
3.4.1. Redükte Glutatyon(GSH) Analizi	14
3.4.2. Malondialdehit(MDA) Analizi	15
3.4.3. Total Antioksidan Durum(TAS) Analizi	16
3.4.4. Total Oksidan Durum(TOS) Analizi	17
3.4.5. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)	18
3.5. Böbrek Dokularının Histopatolojik Analizleri	18
3.6. İstatistiksel Analiz	18
4. BULGULAR	20
4.1 Biyokimyasal Bulgular	20
4.1.1 Sıçanların Böbrek Dokusunda GSH Aktivitesi	20
4.1.2 Sıçanların Böbrek Dokusunda MDA Düzeyleri	21
4.1.3 Sıçanların Böbrek Dokusunda TAS Aktivitesi	23
4.1.4 Sıçanların Böbrek Dokusunda TOS Aktivitesi	24
4.1.5 Sıçanların Böbrek Dokusunda OSI Düzeyleri	26
4.2 Sıçanların Böbrek Dokusunda Histopatolojik Bulgular	27
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	35
KAYNAKLAR	36
EKLER	44
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	44
EK-2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONUÇLARI	45
EK-3. ETİK KURUL ONAYI	51

TEŐEKKÜR

Tez çalıőmam boyunca beni bilgilendiren ve yönlendiren danıőman hocam sayın Prof. Dr. Elif GÜREL'e, hem tez hayatım sürecinde bana kattığı değerli bilgiler için hem de çalıőmamın deney kısmında göstermiş olduğu yardımlardan dolayı Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ'e, deney hayvanlarının bakım, kan alımı ve organlarını almamda sonsuz yardımlarından ötürü deney hayvanları üretim ve araştırma merkezinde görevli veteriner teknikeri Onur ÖZKAYA'ya, çalıőmamın biyokimyasal analizinde yardımlarını esirgemeyen Gül OTLU'ya, histolojik değerlendirme için Doç. Dr. Elif TAŐLIDERE'ye, çalıőmamda kullandığım kimyasal maddelerin bulunması konusunda yardımcı olan Prof. Dr. Burhan ATEŐ'e, beni yüksek lisans yapmaya teővik eden, her zaman destekte bulunan ve çalışmanın istatistiksel hesaplama ve değerlendirmesinde yardımlarını esirgemeyen sevgili eőim Ahmet DEMİRALP'e, canım kızlarım Zeynep Derin ve Elif Deren'e ve aileme sonsuz teőekkür ederim.

Tuğba DEMİRALP

ÖZET

Sıçanlarda Karbon Tetraklorürün (CCl₄) Böbrekte Oluşturduğu Hasara Karşı Dekspantenolün (Provitamin B₅) Koruyucu Etkisinin Biyokimyasal Açından Araştırılması

Amaç: Doğada bulunan birçok toksik madde ile kliniklerde kullanılan kimyasal ilaçlar vücudun farklı organlarında ciddi hasarlara sebep olmaktadır. Diğer organlarla kıyaslandığında böbreklerin toksik kimyasal maddelere karşı daha duyarlı olması böbrek hücre hasarının tam olarak anlaşılmasına neden olmaktadır. Çalışmamızda, karbon tetraklorür uygulanan sıçanlarda böbrekte oluşan hasara karşı dekspantenolün koruyucu etkisinin biyokimyasal açıdan incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: 28 adet *Sprague Dawley* erkek sıçanlar kontrol dahil olmak üzere dört gruba ayrıldı. Toksik etki için tek dozluk 0.5mL/kg karbon tetraklorür, koruyucu olarak dekspantenol ise 500 mg/kg/gün iki hafta boyunca her gün intraperitoneal olarak uygulandı. Deney sonunda ketamin/ksilazin anestezisi altında sıçanların toraksı açılarak kalp kanı alındı. Ortaya çıkan oksidatif hasarın biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmesi için böbrekler alınarak -80 °C derin dondurucuda saklanmıştır.

Bulgular: Yapılan biyokimyasal analiz sonuçları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. MDA, TOS ve OSI seviyeleri en yüksek grup CCl₄ grubu olurken GSH ve TAS seviyeleri en yüksek grup kontrol grubunun olduğu gözlemlendi. Histopatolojik olarak, kontrol grubu ile CCl₄ grubu karşılaştırıldığında CCl₄ grubunda hasarın istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi. CCl₄ grubu ile CCl₄+Dekspantenol grubu karşılaştırıldığında bu grupta histopatolojik değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi.

Sonuç: Çalışma sonuçları sıçan böbrek dokusunda karbon tetraklorürün sebep olduğu oksidatif hasara karşı dekspantenolün koruyucu olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Böbrek, dekspantenol, karbon tetraklorür, oksidatif stress, sıçan.

ABSTRACT

Biochemical Investigation of the Protective Effect of Dexpanthenol (Provitamin B5) Against Renal Damage Caused by Carbon Tetrachloride (CCl₄) in Rats

Aim: Many toxic substances found in nature and chemical drugs used in clinics cause serious damage to different organs of the body. Compared with other organs, the kidneys are more sensitive to toxic chemicals, causing kidney cell damage not to be fully understood. In our study, we aimed to investigate the protective effect of dexpanthenol against kidney damage in rats treated with carbon tetrachloride.

Material and Method: 28 Spraque Dawley male rats were divided into four groups including control. Toxic effects of single dose of 0.5 ml / kg of carbon tetrachloride, and 500 mg / kg / day dexpanthenol as a protective was administered every day for two weeks intraperitoneally. At the end of the experiment, the thorax of rats was opened under ketamine/xylazine anesthesia and blood samples were taken by intracardiac puncture. Kidneys were taken and stored in a -80°C deep freezer for biochemical and histopathological examination of the resulting oxidative damage.

Results: A statistically significant difference was found between the groups according to the results of all biochemical analysis. It was observed that the control group had the highest GSH and TAS levels while CCl₄ group had the highest MDA, TOS and OSI levels. Histopathologically, when the control group and CCl₄ group were compared, it was observed that the tissue damage in CCl₄ group increased statistically significantly. When the CCl₄ group and CCl₄+Dexpanthenol group were compared, it was found that the histopathological changes in this group were statistically significantly reduced.

Conclusion: The results of the study show that dexpanthenol may be protective against oxidative damage caused by carbon tetrachloride in rat kidney tissue.

Key Words: Renal, dexpanthenol, carbon tetrachloride, oxidative stress, rat.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A. lividus	:Amaranthus lividus L.
ABY	:Akut böbrek yetmezliği
ANCA	:Antinötrofilik sitoplazmik antikor
AS	:Allium schoenoprasum L.
CCl₄	:Karbon tetraklorür
Cl	:Klor
CYP2E1	:P450 izoenzim
DM	:Diyabetes mellitus
DTNB	:Ditiyobisnitrobenzoik asit
FSGS	:Fokal segmental glomerüloskleroz
GbE	:Ginkgo biloba extract
GFR	:Glomerüler filtrasyon hızı
GSH	:Redükte Glutasyon
HCO₃	:Bikarbonat
H₂O₂	:Hidrojen peroksit
H₃PO₄	:Fosforik asit
i.p.	:İntraperitoneal
K	:Potasyum
KBY	:Kronik böbrek yetmezliği
KCl	:Potasyum klorür
MDA	:Malondialdehit
MDH	:Minimal değişim hastalığı
MIASE	:Magnifero indica
MNP	:Membranoz nefropati

Na	:Sodyum
Na₂HPO₄	:Disodyum fosfat
OSI	:Oksidatif stres indeksi
PA	:Pantotenik asit
PCB	:Poliklorlubifenil
PKBH	:Polikistik böbrek hastalığı
ppm	:Milyonda bir birim
RNS	:Reaktif nitrojen türleri
ROS	:Reaktif oksijen türleri
TAS	:Total antioksidan status
TBA	:Tiyobarbutürik asit
TCA	:Triklorasetik asit
TOS	:Total oksidan status
Provit. B₅	:Dekspantenol

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Böbrek anatomisi.....	4
Şekil 2.2. Karbon tetraklorür(CCl ₄).....	8
Şekil 2.3. Karbon tetkraklorürün metabolizma ürünleri.....	9
Şekil 2.4. Dekspantenol(Provitamin B ₅) ve Pantotenik Asitin(Vitamin B ₅) kimyasal yapıları.....	11
Şekil 3.1. Sıçan böbrek dokusunun çıkartılması.....	13
Şekil 4.1. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu GSH sonuçlarının karşılaştırılması.....	21
Şekil 4.2. GSH ölçümünün gruplara göre ikili karşılaştırması.....	21
Şekil 4.3. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu MDA sonuçlarının karşılaştırılması.....	22
Şekil 4.4. MDA ölçümünün gruplara göre ikili karşılaştırması.....	23
Şekil 4.5. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu TAS sonuçlarının karşılaştırılması.....	24
Şekil 4.6. TAS ölçümünün gruplara göre ikili karşılaştırması.....	24
Şekil 4.7. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu TOS sonuçlarının karşılaştırılması.....	25
Şekil 4.8. TOS ölçümünün gruplara göre ikili karşılaştırması.....	26
Şekil 4.9. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu OSI sonuçlarının karşılaştırılması.....	27
Şekil 4.10. OSI ölçümünün gruplara göre ikili karşılaştırması.....	27
Şekil 4.11. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda glomerül (yıldız) ve tübül yapıları (oklar) normal olarak izlenmekte H-E; X20.....	28
Şekil 4.12. Dekspantenol grubuna ait böbrek dokusunda glomerül (yıldız) ve tübül yapıları (oklar) normal olarak izlenmekte H-E; X20.....	28
Şekil 4.13. CCl ₄ grubuna ait böbrek dokusunda intertübüler hemoraji (yıldız) izlenmekte H-E; X20.....	29
Şekil 4.14. CCl ₄ grubuna ait böbrek dokusunda infiltrasyon alanları (yıldız) izlenmekte	

H-E;X20.....29

Şekil 4.15. CCl₄ grubuna ait böbrek dokusunda bazı tübül epitel hücrelerinde
deskuamasyon (oklar) izlenmekte H-E; X40.....30

Şekil 4.16. CCl₄ + Dekspantenol grubunda böbrek dokusunda inflamasyonun (oklar) ve
hemorajik alanların sınırlandığı (yıldız) izlenmekte H-E; X20.....30



TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1 Redükte Glutasyon(GSH) analiz süreci.....	14
Tablo 3.2. Malondialdehit(MDA) analiz süreci.....	15
Tablo 4.1. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu GSH sonuçları.....	20
Tablo 4.2. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu MDA sonuçları.....	22
Tablo 4.3. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu TAS sonuçları.....	23
Tablo 4.4. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu TOS sonuçları.....	25
Tablo 4.5. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu OSI sonuçları.....	26
Tablo 4.6. Tüm gruplara ait histolojik hasar skorlaması.....	31

1. GİRİŞ

Serbest radikaller, kaynakları ve etkileri, etki mekanizmaları, oluşturdıkları hasar, sonuçları ve önlenmesi gibi konular son zamanlarda üzerinde en fazla durulan ve sıkça çalışılan konular arasındadır (1). Yaşamın sürdürülmesi için gerekli elementlerden biri olan oksijen, enerji oluşumu aşamasında, sadece reaktif oksijen türleri (ROS) değil ayrıca reaktif nitrojen türleri (RNS) ortaya çıkarmaktadır ve organizmada mitokondri tarafından sürekli üretilen serbest oksijen radikaller, proteinler, nükleik asitler ve lipitlerde değişiklik meydana getirebilmektedir (2,3). Böbreğin proksimal tübüleri yapısal olarak toksik maddelere karşı oldukça duyarlıdır (4). Literatür incelendiğinde birçok araştırmacı tarafından renal hasara sebep olan en önemli kimyasal ajanlardan biri karbon tetraklorür (CCl₄)'dür (1).

CCl₄, birçok canlıda olduğu gibi insanlarda da kimyasal madde kaynaklı hasara neden olan bir ksenobiyotik olup hücrel hasar oluşturabilme özelliğine sahiptir ve yaygın olarak kullanılır (5). Yapılan çalışmalarda, böbreğin proksimal tübül hücreleri yüksek sitokrom P450 içeriğinden dolayı karbon tetraklorür toksisitesine bağlı olarak insanlarda böbrek hasarlarının görüldüğü rapor edilmiştir (6-8). CCl₄, doğal olarak oluşmayan, az miktarlarda tespit edilebilen tatlı kokusu olan berrak bir kimyasaldır (6,9,10). Karbon tetraklorürün başta böbrek ve karaciğer olmak üzere, karaciğer, testis, beyin ve kalp gibi birçok organda zarara neden olduğu bildirilmiştir (6,11-17).

Karbon tetraklorür (CCl₄) nedeniyle ortaya çıkan böbrek fonksiyon bozukluğunun patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Böbrek hasarı ya karaciğerin fonksiyonel durumuna bağlı olabilir ya da hepatik olaylardan bağımsız olarak gelişebilir (6,10,18). CCl₄ birçok durumda oksidatif stresi indükler (6,11); bu nedenle nefrotoksisiteye katkıda bulunması beklenebilir. Bir dizi çevresel kirletici ve ilaç dahil olmak üzere çeşitli bileşiklere maruz kalma, bu bileşiklerin oldukça reaktif oksijen türlerine (ROS) metabolik aktivasyonu yoluyla hücrel hasarlara neden olabilir (10).

CCl₄'ün toksisitesine bağlı olarak, renal dokuda histopatolojik değişiklikler ortaya çıkardığı gözlenilmiştir (10,19). CCl₄ ile indüklenen sıçanların böbreğinde glomerüler taban kalınlaşması, interstisyel inflamasyon, tübüler hücre şişmesi, piknotik çekirdekler, medüller vasküler konjesyon, orta ve şiddetli derecede nekroz şeklinde histopatolojik

dejenerasyonların oluştuğu gösterilmiştir (10). Düşük seviyede CCl₄'ün böbrek glomerüllerinde ve proksimal tübül yapılarında ufak değişikliklere sebep olduğu sonucuna varmışlardır (19). Düşük doz CCl₄ uzun süre uyguladığında böbrekte interstitiyel fibrozis ve inflamasyon görüldüğü (20), yüksek doz uygulandığında da böbrek korteksinde glomüler ve tübüler hasar olduğu tespit etmişlerdir (21). Erkek farelerin renal hasara dişilere göre daha hassas olduğu bulunmuştur. Bu durum, erkek farelerde böbreğin sitokrom P izoenzimlerinin uyarılması sonucu daha fazla oksidatif hasara maruz kalmasıyla açıklamışlardır (22).

CCl₄ ile indüklenen böbrek doku hasarı üzerine kuersetinin koruyucu etkisini (23), melatoninin koruyucu etkisini(24), kafeik asit fenetil esterin koruyucu özelliği (25), *Amaranthus lividus* L.(*A. lividus*)'un koruyucu etkisi ve antioksidan özelliğine sahip olduğunu (26) göstermişlerdir.

Smilax excelsa'nın, sıçanlarda CCl₄ ile oluşturulan böbrek hasarından koruduğu ve bu etkisini organizmanın antioksidan savunma sistemlerinin etkinliğini artırarak gösterdiğini ileri sürmüşlerdir (27).

CCl₄ uygulanan sıçanların böbrek ve karaciğer dokularında farklı dozlardaki *Allium schoenoprasum* L.(AS) ekstrelerinin, total antioksidan durum (TAS) ve total oksidan durum (TOS) düzeylerinin değiştirerek, oksidatif stres indeksi (OSI) değerlerini normal değerlere yaklaştırdığını tespit etmişlerdir (3).

Mangifera indica'nın (MIASE) sulu kök kabuğu ekstresinin CCl₄'ün neden olduğu böbrek hasarına karşı reno-modülatör rollerini araştırmışlardır. Buna göre, *Mangifera indica*, etiyojisi olarak lipid peroksidasyonu ile böbrek hastalığının tedavisinde büyük bir ilaç geliştirme beklentisini ortaya koymuştur (28).

CCl₄'ün sıçan böbrek dokusunda ürettiği ana toksik etkiler, muhtemelen antioksidan özellikleri ve CCl₄'ü metabolize eden ana P450 izoenziminin (CYP2E1) inhibisyonunun, *Ginkgo biloba extract* (GbE) tarafından önlendiği sonucuna varmışlardır (29).

Nar suyunun antioksidan savunma sistemini yükselttiği, serbest radikalleri temizlediği, oksidatif hasarları azalttığı ve böbreği CCl₄ kaynaklı toksisiteye karşı koruduğu bildirilerek pomegranate'nin potansiyel bir koruyucu etkiye sahip olduğu önermişlerdir (30).

CCl₄'ün böbrek, karaciğer ve kalp dokularında meydana getirdiği toksik etkilerin mangrov özü ile inhibe edilebildiği bildirilmiştir (31).

CCl_4 'ün güçlü bir nefrotoksik madde olduğunu ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini, inflamatuvar sitokin üretimini azaltarak ve apoptozu uyararak oksidatif strese neden olduğu ve CCl_4 'ün neden olduğu böbrek hasarına karşı Zingerone'nin koruyucu etkisinin olduğu ortaya konulmuştur (32).

Korezinin antioksidan aktiviteyi artırarak sıçan böbrek ve karaciğer dokularında CCl_4 'ün neden olduğu hasarı iyileştirdiği gösterilmiştir (33).

Araştırmacılar, biksinin farelerde, karbon tetraklorür ile indüklenen böbrek iltihabı, fibroz ve oksidatif stresi baskılayarak böbrek hasarını engellediğini ortaya koymuşlardır (34).

Organ ve doku hasarına sebep olan kimyasal ilaçlar ve toksik maddelere karşı koruyucu özelliklere sahip biyolojik bileşiklerin araştırılması gittikçe önem kazanmıştır (35). Koruyucu özelliğe sahip olan dekspantenol, hem oksijensiz radikallerin ürettiği hücre hasarına karşı korur hem de doku hasarını azaltmaya yardımcı olan glutation, ATP ve koenzim A'nın biyosentezini de artırır (36-38). Dekspantenol, oda sıcaklığında kokusuz, hafif acı, yüksek viskoziteli, şeffaf ve renksiz bir sıvıdır (39). Dekspantenol, aynı zamanda provitamin B₅ olarak da bilinen pantotenik asitin (PA) bir alkol analogudur (38,40). Dekspantenol, oral veya parenteral yoldan verildiğinde dokuda PA'ya dönüşür (37). Pantotenik asit, vücut dokularında yaygın olarak bulunan Koenzim A'nın yapısına katılır (41). Oral ya da parenteral yolla verilen dekspantenol, Koenzim A'nın yapısına katılmadan önce kesinlikle enzimatik yolla pantotenik aside okside olması gerekir (42).

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde CCl_4 ile oluşturulmuş organ ve doku hasarına karşı koruyucu etkisi olan birçok bileşik kullanılmıştır. Ancak CCl_4 ile indüklenmiş böbrek hasarına karşı provitamin B₅'in koruyucu etkisinin olup olmadığının çalışılmadığı görülmüştür. Bu çalışmada, karbon tetraklorürün böbrek üzerinde meydana getireceği hasara, dekspantenolün serbest oksijen radikallerine karşı hücreler üzerinde antioksidan, anti-inflamatuvar, hücre onarıcı ve koruyucu etkisinin biyokimyasal ve histopatolojik açıdan araştırılması amaçlanmıştır.

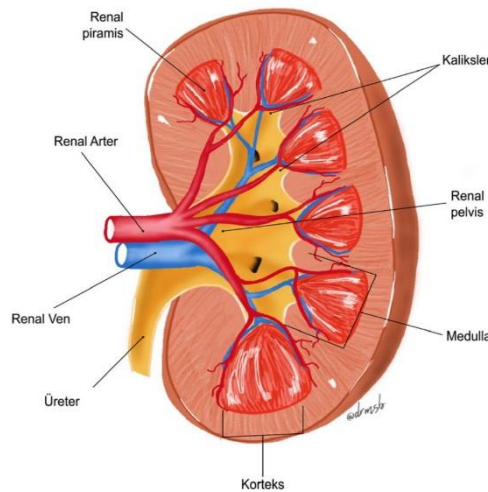
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek Anatomisi, Fizyolojisi ve Histolojisi

Böbrekler retroperitoneal bölgede karın arka duvarına yaslanmış kolumna vertebralisin iki yanında ve psoas kasının lateraline yerleşen kahverengi görünümdeki organlardır. Sağ böbrek sol böbreğe göre karaciğer nedeniyle biraz daha aşağı konumdadır. Hem sağ hem de sol böbrek biraz yatay pozisyonda durmaktadır. Yani üst poliği orta hatta daha yakın konumdadır. Uzunlukları yaklaşık olarak 12-13 cm, enleri 6-7 cm ve ön-arka genişliği ise yaklaşık olarak 3 cm'dir. Sağ böbrek sol böbreğe göre 1 cm kadar daha kısadır ve yetişkin bir erkekte ortalama böbrek ağırlığı 150 gram iken kadınlarda ise bu ortalama 135 gramdır (43,44).

Böbrek yapısal olarak kalın ve dayanıklı bir zar olan böbrek kapsülü ile çevrilidir. Ayrıca böbreklerin etrafı böbrekleri travmalardan koruyan bir yağ dokusu ile sarılmıştır (44).

Böbrek dışta kapsül içte korteks ve medulla bölgelerinden oluşmuştur. Her iki böbrekte yaklaşık olarak 2 milyon adet glomerül bulunmaktadır. Bir medulla da ise 12-18 piramit bulunur. Medulla, aslında tübüllerden oluşmuştur ve bu kısımda glomerül bulunmaz. Medullanın kan dolaşımı zayıf olup iskemik hasara karşı oldukça hassastır (44).



Şekil 2.1. Böbrek anatomisi

Böbrekler, böbreğin en küçük birimi olan nefronlardan oluşur. Böbreklerde ortalama 2 milyon nefron bulunmaktadır. Her bir nefronun idrar yapabilme yeteneği vardır. Bir nefron, kanın filtre edildiği bir glomerül ve filtreli sıvının idrara dönüştüğü uzun ve kıvrımlı bir yapıya sahip olan tübül olmak üzere iki kısımdan oluşur. Böbrekte üç tip nefron vardır: Süperfisiyal, jugstaglomerüler ve midkortikal nefronlardır. Nefronların büyük bir çoğunluğu glomerülü korteksin orta ve dış katmanlarında yer alır ve bunların henle kulpları diğerlerine göre daha kısadır. Nefronların geriye kalan kısmının glomerülü ise korteks-medulla birleşim yerine yakın konumlanmıştır. Bu nefronlar jugstameduller nefronlar adını alır ve bu nefronların henle kulpları diğerlerine kıyasla daha uzundur. Kortekste, distal tübülüsler, glomerüller, proksimal, ve dış korteksteki nefronların henle kulpları bulunur. Medüllada da henle kulpları, toplayıcı kanallar ve vasa rectalar bulunmaktadır. Medüllada yer alan toplayıcı kanallar küçük kaliks, büyük kaliks ve pelvise açılır (43,44).

Nefronların temel görevi istenmeyen maddeleri plazmadan temizlemektir. Bu işlevi yerine getirmek için gerekli olan temel mekanizmalar aşağıdaki gibidir (43):

Glomerüler filtrasyon: Bu kısımda bulunan kan plazmasının ortalama %20 sini glomerüler membrandan tübüler sistem içine filtre eder (43).

Tübüler reabsorpsiyon: Tübüllerdeki filtrelenmiş sıvı(öncelikle su olmak üzere) gerekli maddeler peritübüler kapiller ağdaki plazma içine tekrar emilir ve istenmeyen maddeler reabsorbe edilmez. Bu işlem sayesinde idrar oluşumuna katkı sağlanmış olur (43).

Tübüler sekresyon: İstenmeyen maddelerin plazmadan idrar yoluyla dışarı atılmasını sağlayan önemli mekanizmalardan biridir. Suyun neredeyse tamamının ve solüt içeriğinin farklı miktarları glomerüler filtrat tübüllerden geçerken vasküler sisteme emilir ve az miktardaki bazı maddeler de tübüller içine salgılanır. Bu işlemlerden geriye kalan su ve solütler de idrarı oluşturur ve süreç tamamlanır (43).

2.2. Böbrek Fonksiyonları

Böbrekler, çok sayıda yaşamsal fonksiyonun yürütülmesinde görevlidir. Böbreklerin temel görevi, vücudun normal fizyolojik dengesinin sürekliliğinin sağlanmasıdır. Bu dengeli ortam elektrolitlerin, solitlerin ve suyun selektif tutulumu veya atılımıyla sürdürülür. Bu şekilde idrar oluşumu ile süreç sonlanır (45).

Böbreklerin yaşamsal fonksiyonun yürütülmesinde görevli olduğu mekanizmalar aşağıda verilmiştir:

Vücuttaki Sıvı ve Elektrolit Dengesinin Korunması

Metabolik Artık Ürünlerin Atılımı

İlaçlar, Toksinler ve Metabolitlerinin Atılımı

Ekstrasellüler Sıvı Hacmi ve Kan Basıncının Hormonal Düzenlenmesi

Hormon Üretimi ve Metabolizmasına Katkı

Peptit Hormonların Yıkımı

Küçük Molekül Ağırlıklı Proteinlerin Yıkımı

Metabolik Etki (43).

2.2.1. Böbrek Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

Böbrek plazma ve kan akımlarının ölçülmesi: Kan akım hızı yaklaşık olarak 1.2 lt/dk olan kan böbreğe gelir. Böbrek plazma akımının oluşturduğu glomerüler filtrasyon oranı ise filtrasyon fraksiyonu olup normal ortalama değeri %18-20 aralığındadır (46,47).

Glomerüler filtrasyon hızının belirlenmesi: Böbrekte bulunan kanlar normalde bir litre kanın 125 ml'si Bowman kapsülüne geçer. Bu geçişe glomerüler filtrasyon hızı (GFR) denir. GFR'nin böbrek fonksiyonları içinde önemli bir yeri vardır. Nefron kitlesi ile total GFR arasında doğru bir ilişki vardır. Biri azalırken(artarken) diğeri de azalır(artar). Sağlıklı bir bireyde GFR'nin normal değeri 70-145 ml/dk'dır ve 40'lı yaşlardan sonra her yıl 1 ml/dk azalmaktadır. GFR doğrudan ölçülemediğinden, bunun yerine klirens hesabı(çeşitli maddelerin kandan temizlenme hızı) yardımıyla dolaylı olarak hesaplanır. Böbrek hastalarında böbrek fonksiyonlarının izlenmesinde kullanılan plazma kreatini aynı zamanda GFR ile ters orantılıdır (46,47).

İdrar elektrolitleri: Pratikte kullanımını sınırlı olan idrar elektrolitleri hem diyetten hem de diüretik kullanımdan etkilenmektedir. Özellikle akut böbrek yetmezliğinin tanısında kullanılmaktadır (46,47).

Tübüler işlevlerin belirlenmesi: Böbrekler tübüler fonksiyon yoluyla oluşturulacak idrarın konsantrasyonunu belirlerler. Tübüler işlev bozukluklarının değerlendirilmesinde kullanılan testler konsantrasyon testi, dilüsyon testi, idrar asitleştirme testi (amonyum klorür testi) ve idrarda aminoasit incelemesidir (46,47).

Kan testleri: Böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan testler arasında Na, K, Cl, HCO₃, kreatinin ve üre azotu düzeylerini belirleyen testler vardır (6).

İdrar analizi: İdrar analizi üriner sistemdeki bir hastalığın belirlenmesinde kullanılan basit ama bir o kadar da önemli bir testtir(6). Ayrıca böbrekle ilgili ya da sistemik bir hastalık olup olmadığını ve hastalığın türünü belirlemek de sıklıkla kullanılmaktadır (46,47).

2.3. Böbrek Hasarları

Karmaşık bir yapıya sahip böbreklerin hastalıkları da yapısı gibi çok karmaşıktır (6).

2.3.1. Üriner Sistem Bozuklukları

Üriner sisteme bağlı bakteri merkezli hastalıklar özellikle orta yaş grubunda daha çok görülmektedir. İdrar yolu enfeksiyonlarını üriner sistem bozuklukları, semptomatik ve asemptomatik olarak sınıflanabilir (6,48).

2.3.2. Glomerüler Hastalıklar

Primer glomerüler hastalıklar(lipoid nefroz, membranöz glomerülonefrit(GN), kronik GN, hızlı ilerleyen GN gibi), Glomerüler hastalıklar(diabetes mellitus, amiloidoz, goodpasture sendromu gibi), herediter glomerüler hastalıklar(alport sendromu, fabry hastalığı) ve tübüler ve interstisyel hastalıklar olmak üzere dörde ayrılır (6,49).

2.3.3. Böbrek Yetmezliği

Kronik böbrek yetmezliği

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), glomerüler filtrasyon değerinin azalmasından, böbreğin sıvı dengesini ayarlama ve metabolik-endokrin fonksiyonlarının bozulması sonucu oluşan bir hastalıktır. Kronik böbrek yetmezliğinden etkilenmeyen sistem neredeyse yoktur. Bu sistemlerden bazıları sinir sistemi, gastrointestinal sistem, hematoloji-immünoloji, kardiyovasküler sistem, pulmoner sistemdir (47). KBY'nin ortaya çıkmasında görülen hastalıklar arasında diabetes mellitus, hipertansiyon, herediter, sekonder glomerülonefrit, renal arter darlığı, amiloidoz sayılabilir (50).

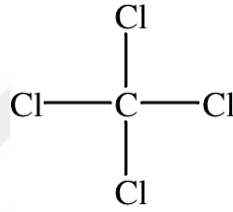
Akut böbrek yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği (ABY), GFR' hızının azalması sonucunda vücutta üre, kreatinin ve başka üremik toksinler gibi ürünlerin birikmesi olarak tanımlanmaktadır. ABY o kadar hızlı gelişir ki günler ile haftalar içinde ortaya çıkabilmektedir. ABY için böbreğin sıvı dengesini ayarlama yeteneğinin aniden kaybolması şeklinde tanımlama da yapılmaktadır. KBY de olduğu gibi ABY'de de birçok sistem ve organ etkilendiği

gözlenmiştir. Diyaliz tedavi yönteminde sağlanan ilerlemeye rağmen ABY'nin ölüm oranı oldukça yüksektir. Doğru zamanda yapılan diyaliz tedavisi birçok hastanın hayatını kurtarmaktadır (6,47).

2.4. Karbon Tetraklorür(CCl₄)

Apolar bir molekül olan karbon tetraklorür genellikle organik bir çözücü olup bir karbon molekülüne bağlı dört Cl atomunun tetrahedral bir şekilde bağlanmasıyla oluşur (8). CCl₄ ilk olarak 1839 yılında klor ile kloroform reaksiyonu sonucu Fransız kimyager Henri Viktor Regnault tarafından sentez edilmiştir. Ama günümüzde esas olarak metandan sentezlenir (51).



Şekil 2.2. Karbon tetraklorür(CCl₄)

2.4.1. Karbon Tetraklorürün Bulaşma Yolları

Karbon tetraklorür, çok kolay buharlaşan berrak bir sıvıdır. Çevreye kaçan çoğu karbon tetraklorür bu nedenle bir gaz olarak bulunur. Karbon tetraklorür kolayca yanmaz. Karbon tetraklorürün tatlı bir kokusu vardır ve çoğu insan, karbon tetraklorür solunum havasında 10 ppm düzeyine ulaştığında onun kokusunu alabilir. CCl₄ solunum dışında deri yoluyla da vücuda alınabilir. İnsanlarda özellikle yağ dokusuna yerleştiği bilinmesine karşın böbrek, karaciğer, beyin ve akciğer dokuların da yerleşebilir (8).

2.4.2. Karbon Tetraklorür Kullanım Alanları

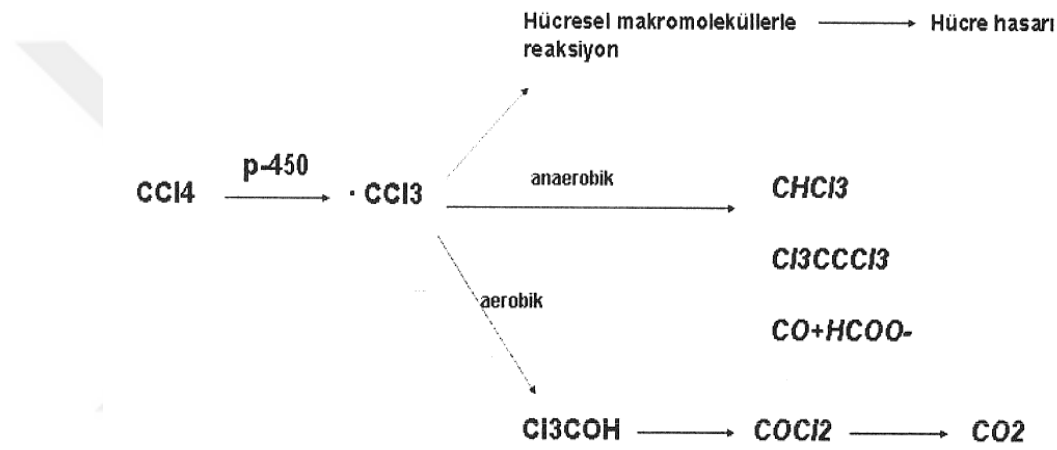
Karbon tetraklorür üretilmiş bir kimyasaldır ve çevrede doğal olarak oluşmaz. Karbon tetraklorür, aerosol kutuları için soğutma sıvısı ve itici gazlar yapmak için büyük miktarlarda üretilmiştir. Pek çok soğutucu ve aerosol itici gazın dünyanın ozon tabakasını etkilediği tespit edildiğinden, bu kimyasalların üretimi aşamalı olarak durdurulmaktadır. Sonuç olarak, karbon tetraklorürün üretimi ve kullanımı büyük ölçüde azalmıştır (8).

Geçmişte, karbon tetraklorür bir temizleme sıvısı olarak yaygın bir şekilde kullanılıyordu (endüstri ve kuru temizleme kuruluşlarında bir yağ giderme maddesi olarak ve evlerde giyim, mobilya ve halı için bir leke çıkarıcı olarak). Karbon tetraklorür

ayrıca yangın söndürücülerde ve tahıldaki böcekleri öldürmek için bir fümigant olarak kullanıldı (8).

2.4.3. Karbon Tetraklorür Metabolizması

Ksenobiyotik olarak adlandırılan ve vücuda yabancı olan birçok kimyasal madde ve ilacın toksik etkisi, onların serbest radikale dönüşümleri veya oksijen kaynaklı metabolitleri oluşturmaları sonucu ortaya çıkar. CCl_4 biyolojik olarak inaktiftir. Aktivasyonu için reaktif toksik metabolitlere dönüşmesi gerekmektedir. Ancak bu dönüşümden sonra hedef hücrelerde rol oynarlar. CCl_4 'ün toksik etkisi onun serbest radikal olan triklorometile ($CCl_3\cdot$) dönüşümü sonrasında görülür.



Şekil 2.3. Karbon tetraklorürün metabolizma ürünleri

Sitokrom P-450 enzim sistemi CCl_4 'ü etkileyerek zararlı bir ara metabolit olan triklorometil radikalinin ($CCl_3\cdot$) oluşmasına, bunun da daha sonra oksijen varlığında triklorometil peroksi ($\cdot OOCCL_3$) radikale dönüşmesine neden olur. CCl_4 'ün bu reaktif serbest radikal metabolitleri, poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonu başlatır ya da kovalent olarak yağlara veya proteinlere bağlanarak hücre zarının bozulmasına neden olur (52).

2.5. Serbest Oksijen Radikalleri ve Oksidatif Stres

Serbest oksijen radikalleri, vücut metabolizmasında ortaya çıkan etkin kimyasallardır (53). Serbest oksijen radikallerin seviyesindeki artışın birçok hastalığın arkasında yatan neden olduğunun ortaya çıkmasından sonra son zamanlarda serbest oksijen radikallerine karşı ilgi artmıştır (3). Yaşamın sürdürülmesi için gerekli elementlerden biri olan oksijen, enerji oluşumu aşamasında, sadece reaktif oksijen türleri

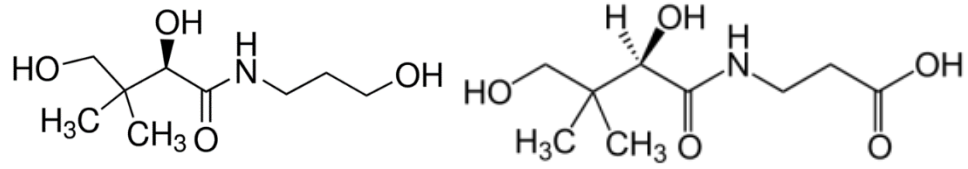
(ROS) değil ayrıca reaktif nitrojen türleri (RNS) ortaya çıkarmaktadır ve organizmada mitokondri tarafından sürekli üretilen serbest oksijen radikalleri, proteinlerin, nükleik asitlerin ve lipitlerde değişiklik meydana getirebilmektedir (2,3). Ortaya çıkan bu değişiklikler oksidatif strese sebep olmaktadır ve bu şekilde lipid membranların ve proteinlerin yapısını bozarak doku hasarının başlamasına ve ilerlemesine neden olarak patolojik mekanizmalar yeniden düzenlenir. Bu şekilde böbrek, karaciğer, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar, kronik akciğer hastalığına ek olarak kanser gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasına katkıda bulunurlar (54-56).

Serbest oksijen radikaller, hücrelerde iç ve dış kaynaklı etmenlere göre oluşurlar. İç etmenler organizmanın kendisinde meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon tepkimeleri ile oluşurlar. Stres, virüs ve enfeksiyon gibi kimyasal faktörler; karbon tetraklorür ve parasetamol gibi ilaç toksikasyonları; radyasyon, hava kirliliğine sebep olan maddeler, sigara dumanı gibi çevresel faktörler; demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom, civa gibi metal iyonları, asbest lifleri, mineral tozlar, ozon, karbon monoksit, silika gibi etmenler dış kaynaklı etmenlere örnek olarak verilebilir (57).

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşturduğu patolojik durumlara karşı vücut için koruma görevi üstlenir. Dolaylı olarak antioksidanlar oksidatif stresin etkilerini azaltmak için de kullanılmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkardığı hasar antioksidanlar sayesinde hafifletilebilmektedir (3). Ancak, çeşitli sebeplerle ROS'un değerinin yükselmesi ve antioksidan mekanizmalarının etkisiz kalması sonucu oksidatif stres adı verilen bir olay meydana gelmektedir. Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanması gibi birçok hasara yol açtığı bilinmektedir (57).

2.6. Pantotenik Asit(Vitamin B5)

Suda çözünen bir vitamindir. Pantotenik asit, insan vücudu için önemli bir besindir. Kan hücreleri yapmak için gereklidir ve yenilen besinlerin enerjiye dönüştürülmesine yardım eder (58). Pantotenik asit, oksijensiz radikallerin ürettiği hücre hasarına karşı korur. Ayrıca, doku hasarını azaltmaya yardımcı olan glutation, ATP ve koenzim A'nın biyosentezini de artırır (20-22). Hepsi hücresel savunmada ve oksidatif strese ve inflamatuvar yanıtı karşı onarım sistemlerinde önemli bir rol oynar (59,60).



Şekil 2.4. Dekspantenol(Provitamin B₅) ve Pantotenik Asitin(Vitamin B₅) kimyasal yapıları

2.6.1. Pantotenik Asitin Kaynakları

Vücut için gerekli olan vitamin B₅ alınmasının en etkili şekli, yeterli ve dengeli beslenmeye sahip olmaktan geçmektedir. Tam tahıllı ürünler, baklagiller, kırmızı et, kümes hayvanları, süt ürünleri, yumurta, mantar gibi besinlerde yeterli miktarda vitamin B₅ bulunmaktadır (61).

2.6.2. Pantotenik Asitin Fonksiyonları

Kan hücrelerinin üretimi ve besinlerden enerji elde edilmesi gibi süreçlerde vitamin B₅ önemli rol üstlenmektedir. Pantotenik asit, büyüme hormonlarının, D vitamininin ve bazı sinir iletimlerinin sentezine ve metabolizmasına yardım eder. Ayrıca pantotenik asit yorgunluk ve halsizlik durumlarının azalmasına katkı sağlar(58,61).

2.6.3. Pantotenik Asitin Eksikliği

Pantotenik asitin eksikliği sık görülen bir durum değildir. Gelişmiş ülkelerde, sadece yetersiz ve dengesiz beslenen bireylerde vitamin B₅ eksikliği görülmektedir. Vitamin B₅ eksikliği, baş ağrısı, yorgunluk, bozulmuş kas koordinasyonu, sindirim sorunları, mide bulantısı, depresyon, yanan ayaklar, üst solunum yolu enfeksiyonları gibi sorunlara neden olmaktadır (58,61).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deneý Hayvanlarının Temini

Çalışmamızda İnönü Üniversitesi Deneý Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen *Sprague Dawley* türü erkek sıçanlar kullanıldı. Çalışmanın tüm aşamalarında, İnönü Üniversitesi Deneý Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınan 25.07.2019 tarih ve 2019/A-35 nolu etik kurul kararına uygun çalışıldı. Gerçekleştirilen hayvan deneyleri İnönü Üniversitesi Deneý Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi laboratuvarlarında yapıldı. Çalışmada kullanılan 200±20 gr ağırlığındaki erkek sıçanlar deneýin yapılacağı güne kadar standart kafeslerde tutuldu. Günlük olarak içme suları değiştirildi ve gün aşırı kafes temizliği yapıldı. Sıçanlar oda sıcaklığı 22±2 °C arasında, nemi %45-50, havalandırması sağlanmış, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanan odalarda barındırıldılar. Ayrıca sıçanlar çalışma boyunca standart pellet yemle beslendi. Sıçanlar kontrol grubu dahil 4 gruba ayrıldı. Deneý sonuçlarının istatistiksel olarak anlamlı elde edilmesi için en az sayıda sıçan kullanılarak her gruba 6 sıçan alındı. Ancak CCl₄ gruplarında toksik etkiden dolayı kayıp olabileceği varsayımı altında bu gruplara 2 adet fazla sıçan ayrıldı. 1. grup kontrol grubu; 6 adet sıçan, 2. grup CCl₄ grubu; 8 adet sıçan, 3. grup Dekspantenol grubu; 6 adet sıçan, 4. grup CCl₄+Dekspantenol grubu; 8 adet sıçan olacak şekilde toplam 28 adet sıçan kullanıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara ise hiçbir işlem uygulanmadan diğer gruptaki sıçanlar ile eşit koşullarda tutuldu.

3.2. Deneý Gruplarının Belirlenmesi

1. Kontrol Grubu(n=6):

Bu gruptaki sıçanlar, diğer gruplardaki sıçanlar gibi aynı süre ve aynı laboratuvar koşullarında tutularak 14. günde böbrek dokuları ve kanları alınarak sakrifiye edildi.

2. CCl₄ Grubu(n=8):

Bu gruptaki sıçanlara sadece 1.gün tek doz 0.5mL/kg CCl₄ intraperitoneal(i.p.) olarak enjekte edildi. 14.günde böbrek dokuları ve kanları alınarak sakrifiye edildi. Çalışma 7 adet sıçanla sonlandırıldı.

3. 500 mg/kg/gün Dekspantenol Grubu(n=6):

Bu gruptaki sıçanlara 14 gün boyunca her gün aynı saatte (10:00-11:00) 500 mg/kg/gün dekspantenol olacak şekilde intraperitoneal olarak enjekte edildi.

14.günde böbrek dokuları ve kanları alınarak sakrifiye edildi. Çalışma 6 adet sıçanla sonlandırıldı.

4. CCL₄+Dekspantenol Grubu(n=8):

Bu gruptaki sıçanlara 1.gün ilk olarak tek doz 0.5mL/kg CCL₄ intraperitoneal olarak enjekte edildi. Daha sonra 500 mg/kg/gün dekspantenol enjekte edildi ve 14 gün boyunca her gün aynı saatte (10:00-11:00) bu işlem devam ettirildi. 14.günde böbrek dokuları ve kanları alınarak sakrifiye edildi. Çalışma 5 adet sıçanla sonlandırıldı.

3.3. Kan ve Böbrek Dokularının Çıkartılması ve Analizler İçin Hazırlanması

Çalışmamızda 14. günde 5 mg/kg xylazine ile 50 mg/kg ketamin kokteyli i.p. uygulanarak genel anestezi altında sıçanların karın derisi bistüri yardımıyla açıldı. Kalpten alınabilecek tüm kan alınarak sıçanlar sakrifiye edildi. Alınan kanlar biyokimya tüplerine boşaltıldı. Tüpler daha sonra yapılabilecek çalışmalarda kullanılmak üzere soğutmalı santrifüjde 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar küçük parçalara ayrılıp tüplere aktarıldı. Sonra tüm numuneler -80°C dereceye ayarlı derin dondurucuda biyokimyasal testlerin yapılacağı güne kadar saklandı. Sonrasında sıçanların böbrek dokuları çıkarıldı. Çıkarılan böbrek dokusunun bir kısmı histopatolojik incelemeler için saklandı. Diğer parçalar ise ikiye ayrılarak daha önce grup numaraları yazıldığı alüminyum folyolara sarılarak plastik kaplar içerisine konuldu. Elde edilen dokular -80°C derin dondurucuda biyokimyasal ve histolojik analizler yapılana kadar muhafaza edildi.



Şekil 3.1. Sıçan böbrek dokusunun çıkartılması

3.3.1. Böbrek Doku Homojenizasyonu

Homojenizasyon işlemine başlamadan önce derin dondurucuda muhafaza edilen böbrek dokuları bir gün önceden çıkarılarak +4°C’de buzlarının çözülmesi sağlanmıştır. Ardından her bir örneğin yaş doku ağırlıkları tartılarak kayıt edildi ve içi buz dolu taşıma kaplarına yerleştirilmiş cam tüplere koyularak soğuklukları muhafaza edilmiştir. Böbrek doku örneklerine soğuk Tris-HCl tamponu(pH 7.4) eklenerek 16000devir/dk hızda 3 dk homojenize edilmiştir. Homojenantlar soğutmalı santrifüjde +4°C’de 15 dk süreyle 3500 rpm’de santrifüj edilerek süpernatantlar elde edilmiştir. Bu süpernatantlar tüplere koyularak -80°C derin dondurucuda saklanmıştır.

3.4. Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler

3.4.1. Redükte Glutatyon(GSH) Analizi

Ölçüm Prensipleri: Redükte glutatyon analizi Fairbanks ve Klee’nin metoduna göre yapıldı (62). GSH yöntemin çalışması için, Ellmann’s solüsyonu ile sülfidril gruplarının reaksiyonu ile sarı renk oluşturması ilkesine dayanmaktadır.

Reaktifler: %10’luk triklorasetik asit (TCA) çözeltisi, 0.3M sodyum hidrojen fosfat çözeltisi, %1’lik trisodyum sitrat çözeltisi, ditiyobisnitrobenzoik asit (DTNB) reagent çözeltisi ve 1000µmol GSH stok çözeltisi(standart).

Deneyin Yapılışı: 0.9 ml triklorasetikasit(TCA) çözeltisi, 0.5 ml örnek içerisine eklenerek 10 dakika boyunca 4000rpm’de santrifüj edildi ve ortaya çıkan süpernatantlar yeni tüplere alındı. Akabinde yapılan glutatyon analizinin süreci aşağıdaki Tablo 3.1’de gösterildiği gibidir.

Tablo 3.1. Redükte Glutatyon(GSH) analiz süreci

	KÖR	STANDART	NUMUNE
Distile su	0.5ml	-	-
Numune(Süpernatant)	-	-	0.5ml
Standart	-	0.5ml	-
0.3M Na ₂ HPO ₄	4ml	4ml	4ml
DTNB	0.5ml	0.5ml	0.5ml

Tüplerin karıştırılma işlemi tamamlandıktan sonra 10 dk boyunca ağzı kapalı olarak karanlıkta bekletildi ve numunelerin absorbansları 410 nm de köre karşı spektrofotometrik olarak yapıldı.

Ölçümün Hesaplanması: Örnek absorbansları hazırlanan standart GSH solüsyonlarının değişim grafiğinden elde edilen faktörle çarpılarak hesaplanır ve GSH aktivite seviyesi $\mu\text{mol/L}$ cinsinden hesaplanır.

3.4.2. Malondialdehit (MDA) Analizi

Ölçümün Prensibi: Malondialdehit analizi Uchiyama ve Mihara'nın methodu ile bakılmıştır (63). En çok kullanılan tayin yöntemlerinden biridir. Yöntemin çalışması, örneklerde bulunan malondialdehit (MDA)'in tiyobarbitürik asit(TBA) ile 95°C de reaksiyonundan oluşan pembe renkli kromojen oluşması prensibine dayanır. 15 dk boyunca kaynatıldıktan sonra hızlıca soğutulan örneklerin absorbansları spektrofotometrik olarak okundu. Reaksiyon sonucunda ortaya çıkan rengin şiddeti ortamdaki MDA miktarı ile orantılı olarak artmaktadır.

Reaktifler: 29 $\mu\text{mol/L}$ tiyobarbitürik asit(TBA) çözeltisi, %1.5'lik potasyum klorür(KCl) çözeltisi, %1'lik H_3PO_4 çözeltisi, 20 $\mu\text{mol/L}$ stok standart solüsyonu.

Deneyin Yapılışı: Malondialdehit analizinin süreci aşağıdaki Tablo 3.2'de gösterildiği gibidir.

Tablo 3.2. Malondialdehit(MDA) analiz süreci

	NUMUNE	STANDART	KÖR
Distile su	-	-	500 μl
Numune(homojenat)	250 μl	-	-
Standart	-	500 μl	-
KCl	250 μl	-	-
H_3PO_4	3ml	3ml	3ml
TBA solüsyonu	1ml	1ml	1ml

Tüpler vorteksle karıştırılıp 5 sn bekletilir. 45 dk boyunca 100°C 'de su banyosunda bekletilmesinden sonra buz banyosunda soğutulmaya bırakılmıştır. Örneklerin her birine 4ml n-bütanol ilave edilerek yüksek devirde yaklaşık 5 dk vorteks

yapılmış daha sonra tüpler 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek 532 nm de spektrofotometrik olarak okunmuştur.

Ölçümün Hesaplanması: 20 µmol/L stok standart çözeltisinden değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar, numunelerle aynı şartlarda çalışıldı ve elde edilen sonuçlar ile standart grafiği çizildi. Numune absorbanları sulandırma faktörü 10 ile çarpıldıktan sonra standart grafiğinden elde edilen faktörle de çarpılarak MDA hesaplanmıştır ve MDA miktarı nmol/L olarak alınmıştır.

3.4.3. Total Antioksidan Durum(TAS) Analizi

Serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan durumunu ölçen ve otomatize edilen yöntem Erel tarafından geliştirilmiştir (64). Böbrek dokusu total antioksidan durum (TAS) analiz ölçümü, ticari TAS kiti (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanılarak yapıldı.

Ölçümün Prensibi: Bu kit ile asidik bir ortamda sadece hidrojen peroksidi kullanarak toplam antioksidan moleküllerin renkli ABTS radikalini redüklemesi sonucu radikalın renginin giderilmesi esasına dayanır. Analiz yapılan numunedeki mevcut antioksidanlar konsantrasyonları ile doğru orantılıdır. Deney sonuçları TAS ölçüm testleri için kullanılan standart olarak kit içerisinde bulunan antioksidan ve E vitamininin analogu olan trolox solüsyonu ile kalibre edilir. Sonuçlar, mmol Trolox Equivalent/L biriminde ifade edilir.

Reaktifler: 1×50 ml Buffer Solüsyonu(ayraç1), 1×10 ml ABTS Radikal Solüsyonu(ayraç2), Standart 1 (Blank): Kitte mevcut değildir. Deiyonize su kullanılır. Standart 2 (1.0 mmol Trolox E Equiv./L) Solüsyon 1×5 ml.

Deneyin Yapılışı: 250 µl Buffer solüsyonu kuyucukların tamamına eklendi. Standart kuyucuklara 15 µl standart, numune kuyucuklara ise 15 µl numune eklendi. Bu işlemlerin ilk okuması 660 nm de yapıldı. İkinci okuma için de kuyucukların tamamına 37 µl ABTS radikal solüsyonu eklendi ve 10 dakika boyunca oda sıcaklığında çalkalanarak inkübasyonu yapıldı. Bu işlem sonunda ikinci okuma da 660 nm de yapıldı sonuçlar hesaplandı.

Ölçümün Hesaplanması:

Sonuç = [(ΔAbsorbans Standart 1) - ΔAbsorbans Numune)] / [(ΔAbsorbans Standart 1) - (ΔAbsorbans Standart 2)].

ΔAbsorbans Standart 1: (Standart 1'in ikinci absorbansı - Standart 1'in birinci absorbansı).

ΔAbsorbans Standart 2: (Standart 2'nin ikinci absorbansı - Standart 2'nin birinci absorbansı).

ΔNumune Absorbans = (Numunenin ikinci absorbansı - Numunenin birinci absorbansı).

3.4.4. Total Oksidan Durum(TOS) Analizi

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir (65). Böbrek dokusu total oksidan durum (TOS) analizi, ticari TOS kiti (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanılarak yapıldı.

Ölçümün Prensipleri: Örneklerde bulunan oksidanlar ferröz iyon şelatör komplekslerini ferrik iyon oksitler. Asidik ortamda ferik iyonlar xylenele orange ile renkli bir kompleks oluşturur ve 530 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülebilen, renk yoğunluğu bu kompleks örneklerdeki toplam oksidan miktarıyla doğru orantılıdır. Ölçüm için üretilmiş kitte standart olarak bulunan H₂O₂ Equiv./L kullanıldı ve sonuçlar µmol H₂O₂ Equiv./L cinsinden ifade edildi.

Reaktifler: 50 ml tampon solüsyonu(ayraç 1), 10ml substrat solüsyonu(ayraç 2), 5ml stabilize standart solüsyon.

Deneyin Yapılışı: 250 µl tampon solüsyonu kuyucukların hepsine eklendi. Standart kuyucuklara 37 µl standart, numune kuyucuklara ise 37 µl numune eklendi. Bu işlemlerin ilk okuması 530 nm de yapıldı. İkinci okuma için de yine bütün kuyucuklara 12 µl substrat solüsyonu eklendi ve 10 dakika boyunca oda sıcaklığında çalkalanarak inkübasyonu yapıldı. Bu işlem sonunda ikinci okuma da 530 nm de yapıldı ve sonuçlar hesaplandı.

Ölçümün Hesaplanması:

Sonuç= (Δ Absorbans Numune / Δ Absorbans Standart 2) * Standart 2'nin Konsatrasyonu

Δ Numune Absorbans: (Numunenin ikinci absorbansı- Numunenin birinci absorbansı)

Δ Standart 2 Absorbans: (Standart 2' nin ikinci absorbansı - Standart 2' nin birinci absorbansı)

Standart 2 değeri: 20 μ mol H₂O₂ Equiv./L.

3.4.5. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

Total Oksidan Durum(TOS) ve Total Antioksidan Durum(TAS) değerleri kullanılarak Oksidatif Stres İndeksi hesaplandı. OSI hesaplamak için aşağıdaki formül kullanıldı (66).

$$OSI=TOS/(TAS*100).$$

3.5. Böbrek Dokularının Histopatolojik Analizleri

Histopatolojik değerlendirme için sıçanların böbrek dokuları 3-4 mm'lik küçük parçalara ayrıldı. Daha sonra plastik doku takip kasetlerine konularak %10'luk formaldehit içerisinde 24 saat süre ile fikse edildi. Fiksasyon işlemi takiben dokular 1 gün boyunca akan musluk suyunda yıkandılar. Dereceli alkollerde dehidrate edilerek, ksilende şeffaflaştırılıp parafine gömüldüler. Parafin bloklardan Leica RM2145 marka mikrotom yardımıyla 5'er mikron'luk kesitler alındı. Kesitlere genel histolojik yapıyı gözlemlemek amacıyla Hematoksilen ve eozin boyama yöntemi uygulandı. Renal hasar; intertubuler hemoraji, infiltrasyon alanları ve tübül epitel hücrelerinde deskuamasyon yönünden değerlendirildi. Her kesitten X20' lik büyütmede 10 alan incelendi ve histopatolojik skorlama renal hasarın derecesi ve yaygınlığına göre belirlendi. Hasarın şiddetine göre; 0 (değişiklik yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (ağır) olarak değerlendirildi. Preparatlar Leica DFC280 ışık mikroskobu ve Leica Q (Leica Micros Imaging solution Ltd, Cambrige, UK) görüntü analiz sistemi ile incelenerek skorlandı ve fotoğrafları çekildi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmada kullanılacak minimum sayıda deney hayvan sayısını belirlemek için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı tarafından geliştirilen Örneklem Büyüklüğü ve Güç Analizi yazılımı (<http://biostatapps.inonu.edu.tr/WSSPAS/>) kullanılarak teorik güç analizi yapılmıştır.

Buna göre, I.tip hata(α) 0.05, testin gücü ($1-\beta$) 0.8 ve etki büyüklüğü 0.88 iken gruplar arasında anlamlı bir fark bulunabilmesi için gerekli olan minimum örneklem büyüklüğü her bir grup için en az 5 olması gerektiği hesaplanmıştır.

Çalışmamızdaki sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum olarak ifade edilmiştir. Çalışmadaki ölçümlerin normal dağılıp dağılmadığına Shapiro-Wilk ($n<50$) testi ile bakılmış ve her bir ölçüm için ayrı ayrı grupların normal dağılıp dağılmadığı incelenmiş ve ölçümlerin normal dağılmadığı gözlenmiştir(Ek-2). Dolayısıyla yapılacak analizler için parametrik olmayan testler uygulanmıştır. Ölçümlerin Gruplara göre karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis H testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testini takiben gruplar arası anlamlı fark olduğu için, bu farklı grupları belirlemede ise “Bonferroni Düzeltmeli Post-Hoc İkili Karşılaştırma Testi” kullanılmıştır(Ek-2). Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi (α) %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS (IBM SPSS for Windows, Ver.22) istatistik paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Biyokimyasal Bulgular

4.1.1 Sıçanların Böbrek Dokusunda GSH Aktivitesi

Sıçanların böbrek dokusu GSH sonuçları Tablo 4.1, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Tablo 4.1.deki Kruskal Wallis Testinin anlamlılık düzeyi *p değerine baktığımızda $\alpha(0.05)$ anlamlılık düzeyinden küçük olduğunu dolayısıyla GSH ölçümünde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu söyleyebiliriz.

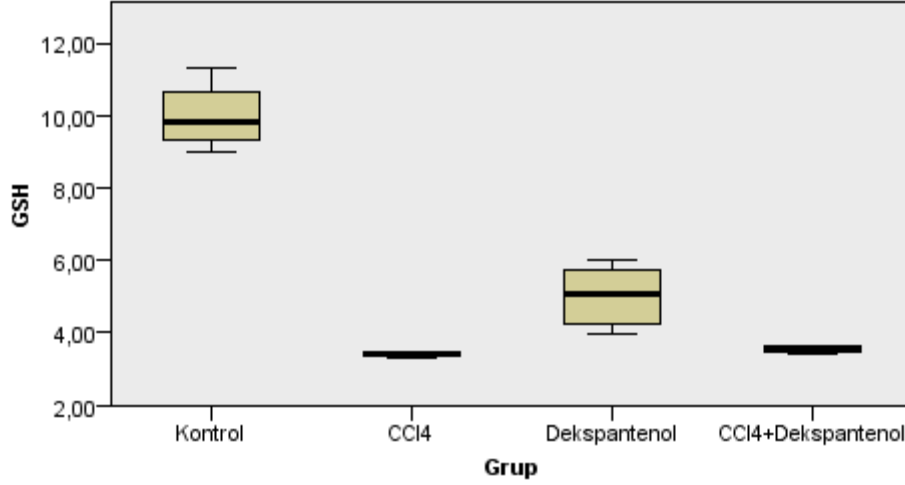
Burada Tablo 4.1 ve Şekil 4.1’i incelediğimizde, GSH değerlerinin, Kontrol grubunun ortalamasının diğer grupların ortalamasından daha yüksek, CCl₄ ile CCl₄+Dekspantenol gruplarının ortalamalarının diğer gruplara göre daha düşük olduğunu söyleyebiliriz. Bu bilgiden fark yaratan grupların Kontrol grubu ile CCl₄ grubu olduğu varsayımını çıkarabiliriz.

Tablo 4.1. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu GSH sonuçları

	Grup	Ort.	Std. Sap.	Medyan	Min.	Max.	*p.
GSH	Kontrol	9.999	.910	9.834	9.009	11.319	.000
	CCl ₄	3.408 ^a	.059	3.399	3.333	3.498	
	Dekspantenol	5.010 ^b	.827	5.049	3.993	6.039	
	CCl ₄ +Dekspantenol	3.524 ^a	.059	3.564	3.432	3.564	

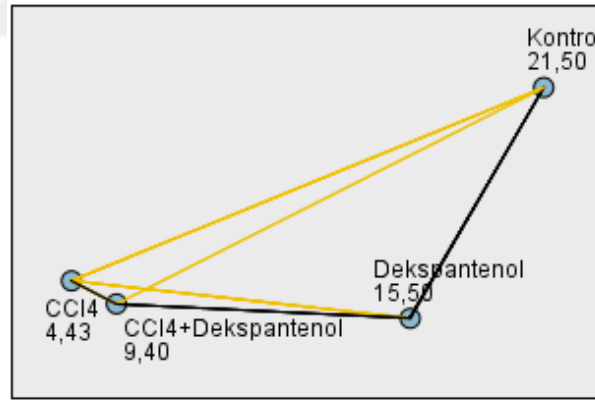
* Kruskal-Wallis Testi sonuçlarına göre anlamlılık düzeyi

^aKontrol grubu ile anlamlı fark, ^bCCl₄ grubu ile anlamlı fark



Şekil 4.1. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu GSH sonuçlarının karşılaştırılması

Ancak kesin olarak hangi gruplar arasında fark olduğunu söyleyebilmemiz için Şekil 4.2 de verilen post-hoc test sonuçlarına göre elde ettiğimiz ikili karşılaştırma grafiğini incelememiz gerekmektedir. Buna grafiğe göre, Kontrol grubu ile hem CCl₄ hem de CCl₄+Dekspantenol grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur. Ayrıca, CCl₄ grubu ile Dekspantenol grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur. Bu genel sonuçlar neticesinde farklı oluşturan grupların CCl₄ grubu ile Kontrol grubu olduğunu söyleyebiliriz.



Şekil 4.2. GSH ölçümünün gruplara göre ikili karşılaştırması

4.1.2 Sıçanların Böbrek Dokusunda MDA Düzeyleri

Sıçanların böbrek dokusu MDA sonuçları Tablo 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Tablo 4.2.deki Kruskal Wallis Testinin anlamlılık düzeyi *p değerine baktığımızda $\alpha(0.05)$ anlamlılık düzeyinden küçük olduğunu dolayısıyla MDA ölçümünde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu söyleyebiliriz.

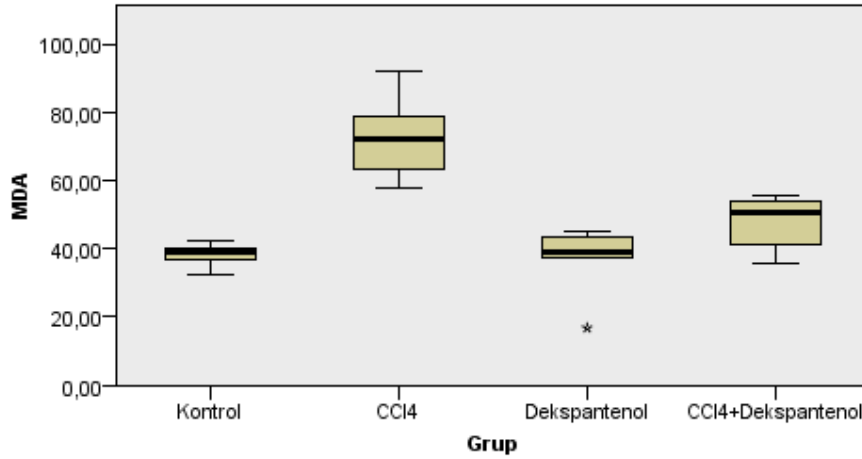
Burada Tablo 4.2 ve Şekil 4.3'ü incelediğimizde, ortalama ve medyan değerlerine baktığımızda CCl₄ grubunun diğer gruplara göre daha yüksek MDA değerleri aldığını ve Kontrol grubu ile Dekspantenol grubunun ise daha düşük MDA değerleri aldığı görülmektedir. Bu bilgiler ışığında ise gruplar arasında anlamlı farklılık yaratan grubun CCl₄ grubu olduğunu söyleyebiliriz.

Tablo 4.2. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu MDA sonuçları

	Grup	Ort.	Std. Sap.	Medyan	Min.	Max.	*p.
MDA	Kontrol	38.335 ^a	3.445	38.940	32.670	42.570	.001
	CCl ₄	72.270	12.553	72.270	57.750	92.070	
	Dekspantenol	36.850 ^a	10.232	39.105	16.830	45.210	
	CCl ₄ +Dekspantenol	47.454	8.450	50.820	35.970	55.440	

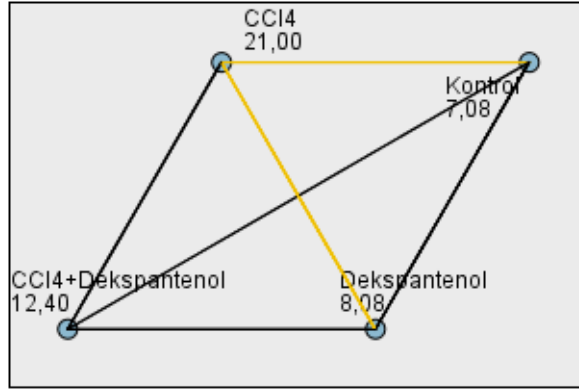
* Kruskal-Wallis Testi sonuçlarına göre anlamlılık düzeyleri

^aCCl₄ grubu ile anlamlı fark



Şekil 4.3. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu MDA sonuçlarının karşılaştırılması

Ancak kesin olarak Şekil 4.4 deki post-hoc analizi ile elde ettiğimiz ikili karşılaştırma grafiği sayesinde hangi gruplar arasında fark olduğunu söyleyebilmekteyiz. Grafiğe göre, CCl₄ grubu ile hem Kontrol grubu arasında hem de Dekspantenol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.



Şekil 4.4. MDA ölçümünün gruplara göre ikili karşılaştırması

4.1.3 Sıçanların Böbrek Dokusunda TAS Aktivitesi

Sıçanların böbrek dokusu TAS sonuçları Tablo 4.3, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'de gösterilmiştir. Tablo 4.3 deki Kruskal Wallis Testinin anlamlılık düzeyi *p değerine baktığımızda $\alpha(0.05)$ anlamlılık düzeyinden küçük olduğunu dolayısıyla TAS ölçümünde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu söyleyebiliriz.

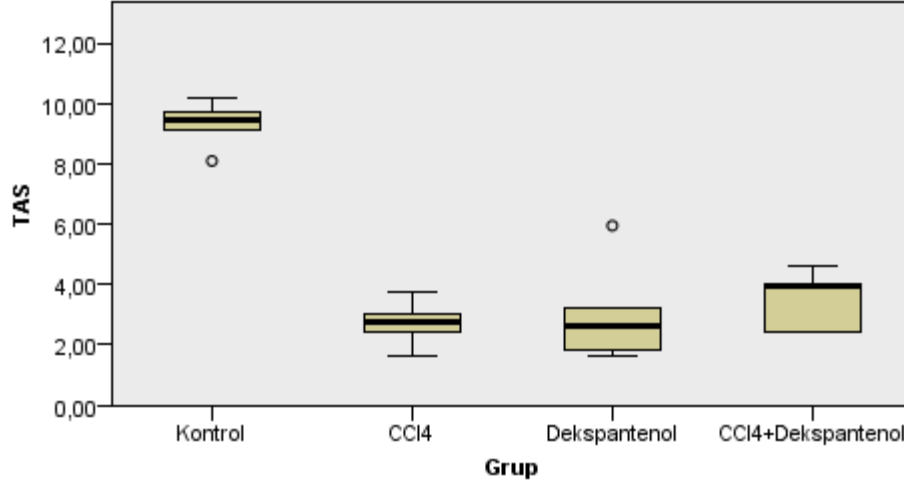
Burada Tablo 4.3 ve Şekil 4.5'i incelediğimizde, Kontrol grubunun diğer gruplardan daha yüksek TAS değerleri aldığını, CCl₄ ve Dekspantenol gruplarının ise birbirlerine yakın olarak daha düşük TAS değerler aldığını söyleyebiliriz.

Tablo 4.3. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu TAS sonuçları

	Grup	Ort.	Std. Sap.	Medyan	Min.	Max.	*p.
TAS	Kontrol	9.325	.707	9.435	8.095	10.179	.003
	CCl ₄	2.704 ^a	.681	2.738	1.607	3.750	
	Dekspantenol	2.976 ^a	1.570	2.619	1.607	5.952	
	CCl ₄ +Dekspantenol	3.476	.989	3.929	2.440	4.643	

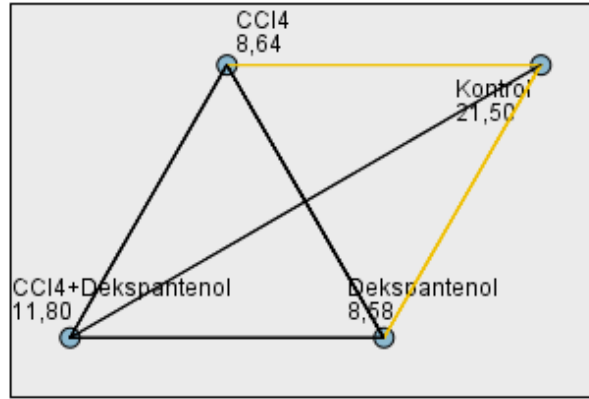
* Kruskal-Wallis Testi sonuçlarına göre anlamlılık düzeyleri

^aKontrol grubu ile anlamlı fark



Şekil 4.5. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu TAS sonuçlarının karşılaştırılması

Ancak Şekil 4.6 daki post-hoc testleri sayesinde elde ettiğimiz ikili karşılaştırma grafiği sayesinde hangi grupların arasında fark bulunduğunu görebilmekteyiz. Buna göre, Kontrol grubu ile hem CCl₄ grubu hem de Dekspantenol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Dolayısıyla gruplar arasında anlamlı fark yaratan grup Kontrol grubudur.



Şekil 4.6. TAS ölçümünün gruplara göre ikili karşılaştırması

4.1.4 Sıçanların Böbrek Dokusunda TOS Aktivitesi

Sıçanların böbrek dokusu TAS sonuçları Tablo 4.4, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Tablo 4.4 deki Kruskal Wallis Testinin anlamlılık düzeyi *p değerine baktığımızda $\alpha(0.05)$ anlamlılık düzeyinden küçük olduğunu dolayısıyla TOS ölçümünde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu söyleyebiliriz.

Burada Tablo 4.4 ve Şekil 4.7’i incelediğimizde, CCl₄ grubunun diğer gruplardan daha yüksek TOS değeri aldığı, Kontrol grubu ile CCl₄+Dekspantenol gruplarının

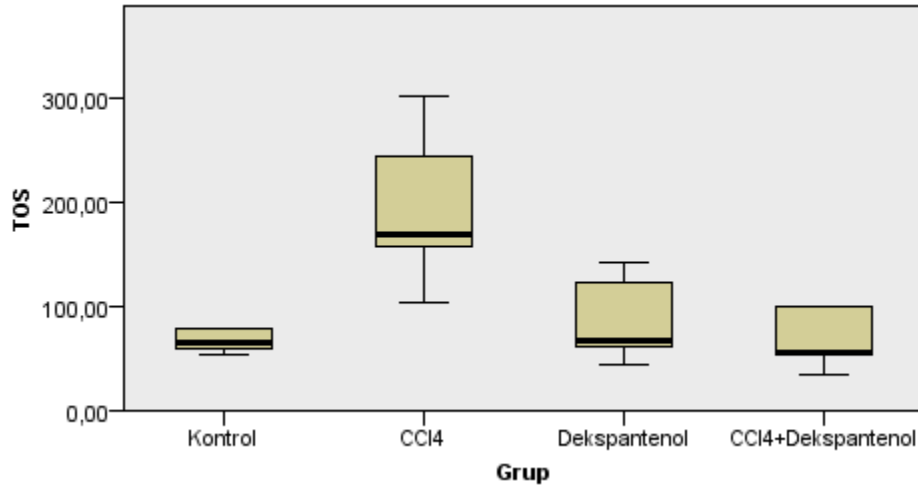
ortalamalarının ise birbirlerine yakın olduğu sonucuna varılarak daha düşük TOS değerleri aldığını söyleyebiliriz.

Tablo 4.4. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu TOS sonuçları

	Grup	Ort.	Std. Sap.	Medyan	Min.	Max.	*p.
TOS	Kontrol	66.500 ^a	10.213	64.500	53.000	79.000	.003
	CCl ₄	197.143	72.646	169.000	103.000	302.000	
	Dekspantenol	84.333	39.185	67.500	43.000	142.000	
	CCl ₄ +Dekspantenol	68.800 ^a	29.201	56.000	35.000	100.000	

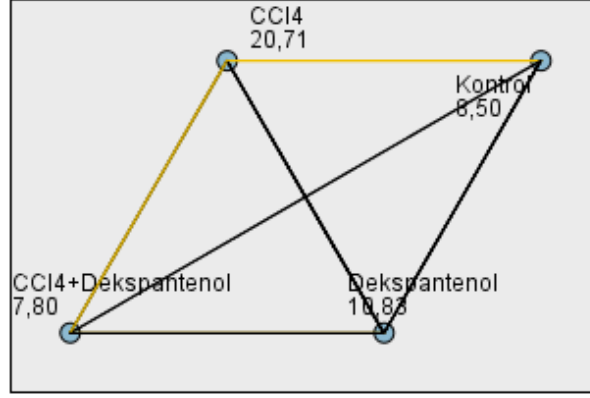
* Kruskal-Wallis Testi sonuçlarına göre anlamlılık düzeyleri

^aCCl₄ grubu ile anlamlı fark



Şekil 4.7. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu TOS sonuçlarının karşılaştırılması

Ancak Şekil 4.8 deki post-hoc karşılaştırma testi ile edilen ikili karşılaştırma grafiği sayesinde hangi grupların arasında fark bulunduğunu görebilmekteyiz. Buna göre, CCl₄ grubu ile hem Kontrol grubu hem de CCl₄+Dekspantenol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmuş olup bu farkı oluşturan grup CCl₄ grubudur.



Şekil 4.8. TOS ölçümünün gruplara göre ikili karşılaştırması

4.1.5 Sıçanların Böbrek Dokusunda OSI Düzeyleri

Sıçanların böbrek dokusu OSI sonuçları Tablo 4.5, Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Tablo 4.5 deki Kruskal Wallis Testinin anlamlılık düzeyi *p değerine baktığımızda $\alpha(0.05)$ anlamlılık düzeyinden küçük olduğunu dolayısıyla OSI ölçümünde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu söyleyebiliriz.

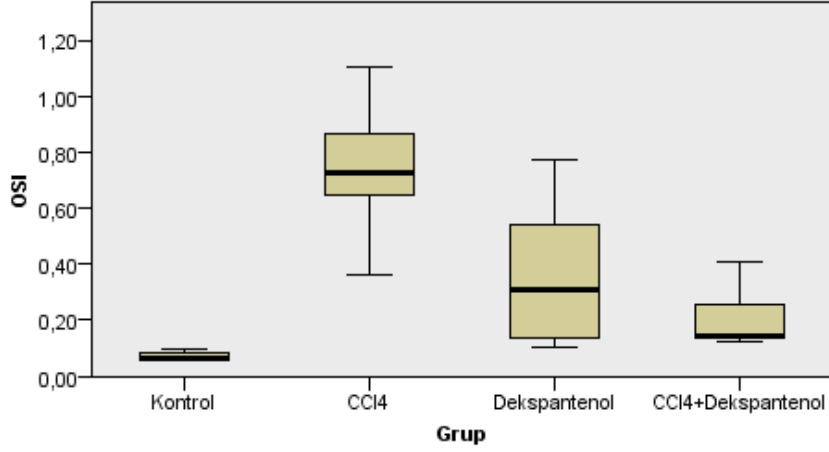
Burada Tablo 4.5 ve Şekil 4.9'u incelediğimizde, CCl₄ grubunun diğer gruplardan daha yüksek OSI değeri olarak diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur.

Tablo 4.5. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu OSI sonuçları

	Grup	Ort.	Std. Sap.	Medyan	Min.	Max.	*p.
OSI	Kontrol	.072 ^a	.016	.065	.057	.096	.000
	CCl ₄	.745	.241	.726	.361	1.103	
	Dekspantenol	.362	.256	.311	.104	.772	
	CCl ₄ +Dekspantenol	.212	.120	.143	.121	.406	

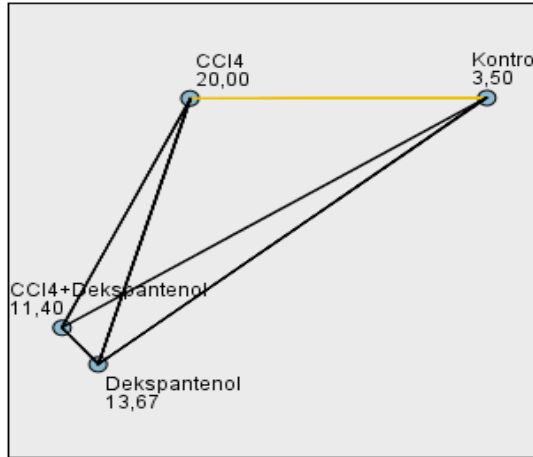
* Kruskal-Wallis Testi sonuçlarına göre anlamlılık düzeyleri

^aCCl₄ grubu ile anlamlı fark



Şekil 4.9. Gruplara göre sıçan böbrek dokusu OSI sonuçlarının karşılaştırılması

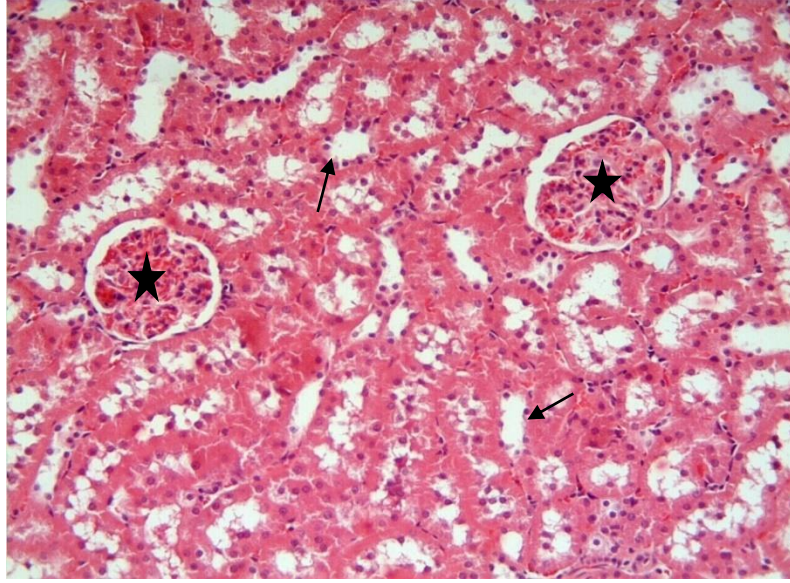
Ancak Şekil 4.10 daki post-hoc karşılaştırma testi ile edilen ikili karşılaştırma grafiği sayesinde hangi grupların arasında fark bulunduğunu görebilmekteyiz. Buna göre, sadece CCl₄ grubu ile Kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuş olup bu farkı ortaya çıkaran grup CCl₄ grubudur.



Şekil 4.10. OSI ölçümünün gruplara göre ikili karşılaştırması

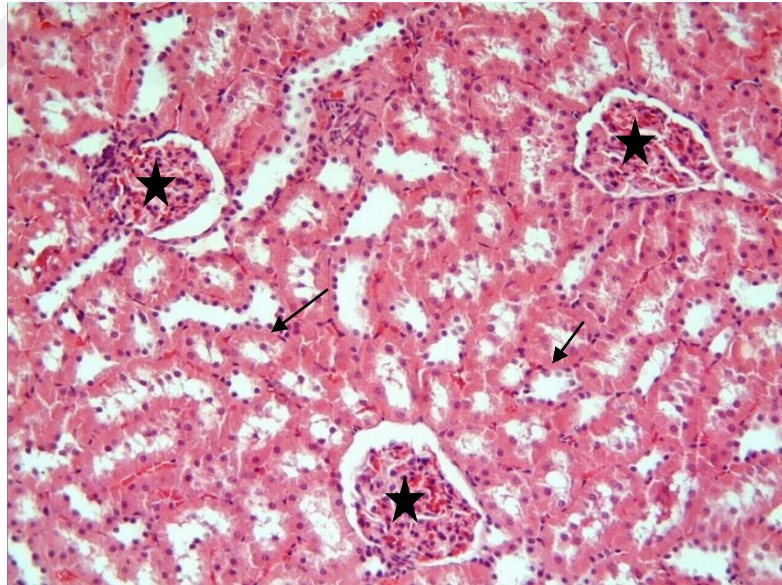
4.2 Sıçanların Böbrek Dokusunda Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait hematoksilen-eozin boyama metodu uygulanan böbrek kesitlerinde kortekste yer alan glomerül ve tübül yapıları normal histolojik yapıda izlendi(Şekil 4.11).



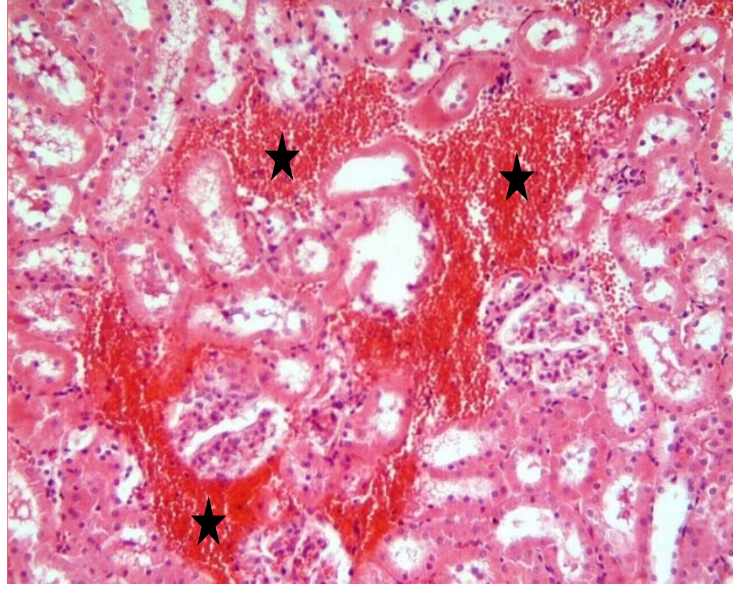
Şekil 4.11. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda glomerül (yıldız) ve tübül yapıları (oklar) normal olarak izlenmekte H-E; X20.

Dekspantenol grubuna ait hematoksilen-eozin boyama metodu uygulanmış kesitlerde böbrek korteksi içerisinde yer alan glomerüllerin ve tübüllerin histolojik görünümü kontrol grubuna benzer şekildeydi (Şekil 4.12).

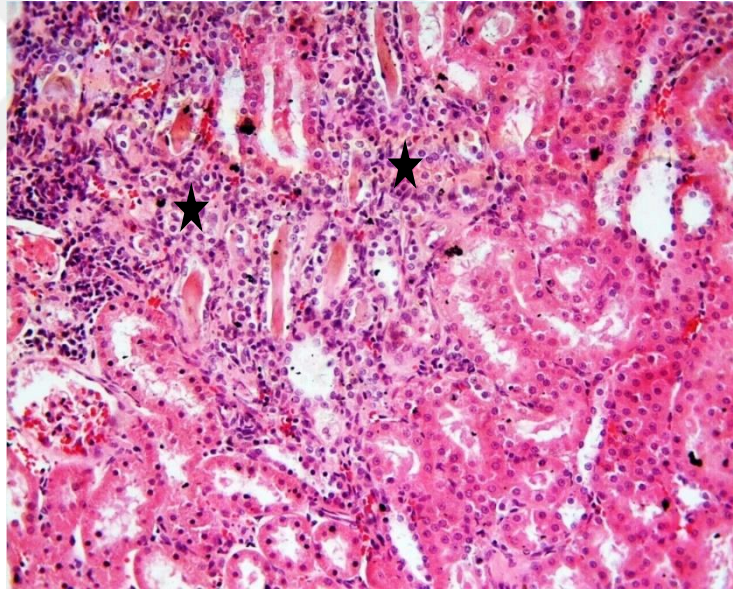


Şekil 4.12. Dekspantenol grubuna ait böbrek dokusunda glomerül (yıldız) ve tübül yapıları (oklar) normal olarak izlenmekte H-E; X20.

CCl_4 grubuna ait hematoksilen-eozin boyama metoduyla incelenen preparatlarda, kortekste intertübüler alanda belirgin hemoraji (Şekil 4.13) ve infiltrasyon alanları (Şekil 4.14) izlendi.

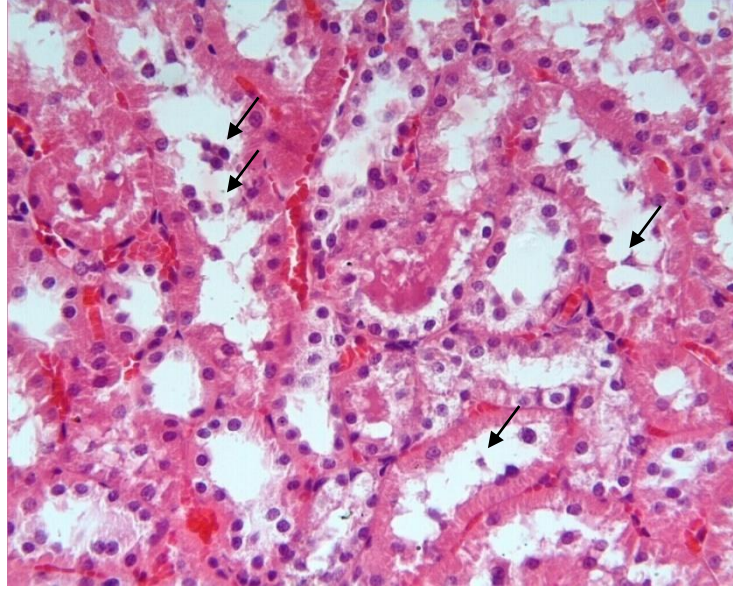


Şekil 4.13. CCl₄ grubuna ait böbrek dokusunda intertübüler hemoraji (yıldız) izlenmekte H-E; X20



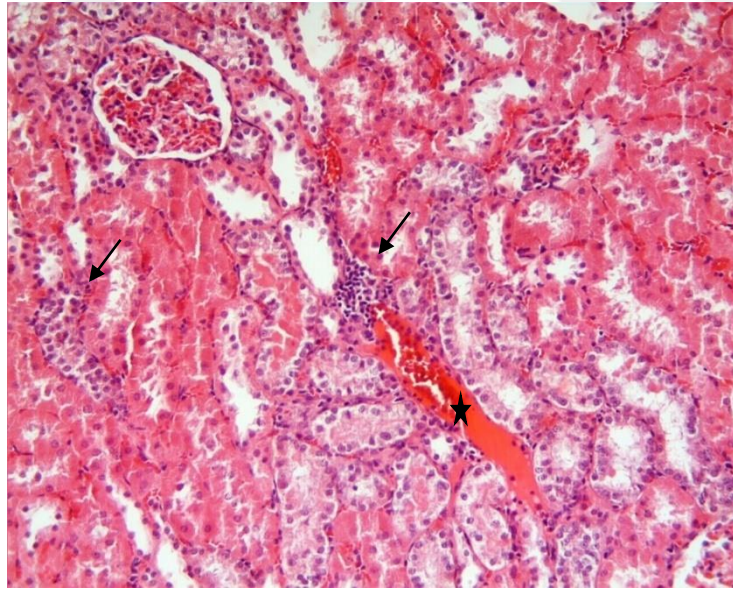
Şekil 4.14. CCl₄ grubuna ait böbrek dokusunda infiltrasyon alanları (yıldız) izlenmekte H-E; X20

Ayrıca bazı tübüllerin epitel hücrelerinde deskuamasyon gözlemlendi (Şekil 4.15). Bu grupta histopatolojik hasar skoru 2.10 ± 0.13 olarak tespit edildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta hasarın istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi ($p < 0.05$) (Tablo 4.6).



Şekil 4.15. CCl₄ grubuna ait böbrek dokusunda bazı tübül epitel hücrelerinde deskuamasyon (oklar) izlenmekte H-E; X40.

CCl₄+Dekspantenol grubuna ait H-E boyama metodu uygulanan kesitlerde böbrek dokusunda lokal infiltrasyon ve hemorajik alanların azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.16). CCl₄ grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta (0.52 ± 0.08) histopatolojik değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p < 0.05$).



Şekil 4.16. CCl₄+Dekspantenol grubunda böbrek dokusunda inflamasyonun (oklar) ve hemorajik alanların sınırlandığı (yıldız) izlenmekte H-E; X20

Çalışılan tüm deney gruplarının histolojik hasar skorlaması Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Tüm gruplara ait histolojik hasar skorlaması

Gruplar	Histolojik hasar
Kontrol	0.08±0.03
CCI₄	2.10±0.13 ^a
Dekspantenol	0.04±0.02
CCI₄ +Dekspantenol	0.52±0.08 ^{a,b}

^aKontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark (p<0.05)

^bCCI₄ grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark (p<0.05)

5. TARTIŞMA

İlaç ve kimyasal maddelerin sebep olduğu böbrek hücre hasarının mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. Böbrek diğer organlarla kıyasladığında iskemik veya toksik kimyasal maddelere karşı daha duyarlıdır. Çünkü böbreğin kimyasal maddelerin toksik reaktiflere dönüşmesinde önemli rolü vardır. Oluşan toksik maddeler hücre makro moleküllerine bağlanarak veya serbest radikalleri oluşturarak oksidatif hasara yol açmaktadır (6,67).

Serbest radikallerin düzeylerindeki artışın birçok hastalığın etiolojisinde rol almaktadır. Yaşamın sürdürülmesi için vazgeçilmez bir element olan oksijen, enerji oluşumu için kullanıldığında, hem reaktif oksijen türlerinin (ROS) hem de reaktif nitrojen türlerinin (RNS) oluşumuna sebep olmaktadır ve organizmada mitokondri tarafından sürekli üretilen serbest radikaller, lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısında değişiklik meydana getirebilmektedir (2,3). Meydana gelen ROS miktarı aşırı derecede artış gösterdiğinde vücutta yer alan ve antioksidan savunma mekanizmasında rol oynayan ajanlar aktive edilir. Birçok patolojik durumlar sonucunda serbest radikal oluşumu ve sonlanması arasında bir denge bulunur. Bu dengenin bozulması nedeniyle oksidatif stres ortaya çıkar (6).

Karbon tetraklorür(CCl_4) hayvanlarda ve insanlarda hepatotoksiteye neden olan bir ksenobiyotik olup serbest radikal üretimi ile hücre hasar oluşturabilme özelliğine sahiptir ve toksisite modeli oluşturmak için yaygın olarak kullanılır (5). Karbon tetraklorür başta böbrek ve karaciğer olmak üzere, karaciğer, testis, beyin ve kalp gibi birçok organda hasara neden olduğu bildirilmiştir (6,11,17). Karbon tetraklorür sıçan, fare, kaz ve insan böbrek dokularında hasar oluşturduğu için çoğunlukla deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır (6,10,22,25,68-72). CCl_4 ile oluşturulan renal toksisite cinsiyet farklılığına bağlı olarak değişebilmektedir. Erkek farelerin renal hasara dişilere göre daha hassas olduğu bulmuşlardır (22). Bu sonuçtan yola çıkarak yaptığımız bu çalışmada böbrek hasarı oluşturmak için erkek sıçanların kullanılması tercih edilmiştir.

Karbon tetraklorürün doz miktarı, uygulama şekli ve süresine bağlı olarak oksidatif hasara sebep olduğu gösterilmiştir. Kazlarla yapılan bir çalışmada, haftada 3 kez 1 ve 1.5 ml/kg dozlarında CCl_4 verildikten sonra böbrek dokularında oksidatif hasar tespit

edilmiştir (6,68). Diğer çalışmalarda farelere 10ml/kg, 0.02ml/kg, 1ml/kg ve 1.5 ml/kg CCl₄ intraperitoneal olarak farklı sürelerde verilmiştir. Çıkarılan böbrek dokularında oksidatif stres oluşumu saptanmıştır (6,22,69,72). Bizim çalışmada ise sıçanlara sadece tek doz 0.5 ml/kg CCl₄ verilmiştir. CCl₄ grubundan alınan böbrek dokusunda oksidatif hasar tespit edilmiştir.

Yüksek seviyede bulunan serbest radikaller vücutta çeşitli bozukluklara yol açmaktadır. İlk başta, serbest radikaller tarafından oluşan lipid peroksidasyonu, hücre membranındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açmaktadır. Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucundan oluşan üç karbonlu düşük molekül ağırlıklı bir aldehit MDA, lipid peroksidasyonun en önemli son ürünüdür. MDA belirlenmesi lipid peroksidasyonunun değerlendirilmek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir (74). Yapılan pek çok çalışmada CCl₄'ün lipid peroksidasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (6,11). Sıçanlarla yapılan birçok çalışmada CCl₄ verilen böbrek dokularında MDA seviyesinde kontrol gruplarına göre anlamlı bir şekilde artış olduğu gözlenmiştir (6,10,12,16,25,68,69,74-76). Bizim çalışmamızda da MDA değerleri kontrol grubuna kıyasla CCl₄ grubunda daha yüksek değerler alırken CCl₄+Dekspantenol grubunda MDA değerlerinin CCl₄ grubundan daha düşük değerler aldığı saptanmıştır.

CCl₄'ün tek başına böbrek dokusunda belirgin histopatolojik hasara yol açtığı bildirilmiştir (6,10). CCl₄'e bağlı böbrek doku hasarının daha çok korteks bölgesinde görüldüğünü medulla bölgesinin ise daha az etkilendiğini bildirmişlerdir (6,19,25). CCl₄ toksikasyonu ile oluşan böbrek doku hasarı incelendiğinde belirgin glomerüller ve tübüler hasar tespit etmişlerdir (75). Glomerül kapillerinde genişleme, proksimal tübül hücrelerinin bazal kısımlarında vakuolizasyon ayırt etmişlerdir (19). Glomerüller ve tübüler hücrelerin hidropik dejenerasyonu ile karakterize edilen şiddetli glomerüller ve tübülo-interstisyel nekroz saptamışlardır (77). Ayrıca, böbrek dokusunda epitel hidropik değişikliği, dejeneratif değişiklikler, yoğun kortikal hasar, fokal glomerüller nekroz, glomerüllerde hiposellülerite ve küçülme, tübüler dilatasyon, epitel hücre vakuolizasyonu ve nekrotik alanlar, glomerüller bazal membran kalınlaşması, interstisyel hücre infiltrasyonu ve bazı tübüllerde intraluminal kast gösterilmiştir (6,10,21,76,78,79). Çalışmamızda ise CCl₄ grubuna ait incelenen örneklerde kortekste intertübüler anlamda belirgin hemoraji ve infiltrasyon alanları izlenmiştir. Ayrıca bazı tübüllerin epitel hücrelerinde deskuamasyon gözlenmiştir.

Dekspantenol, periferik dokularda pantotenik asite okside olan bir pantotenik asit (PA) analogudur. PA ve türevlerinin, indirgenmiş glutatyon (GSH) ve koenzim A (CoA) seviyelerini ve ATP sentezini arttırdığı bilinmektedir. Tüm bu işlevler, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtı karşı hücrel koruma için önemli bir rol oynar. Bu nedenle, oksidatif stres mekanizması yoluyla toksik yan etkiler gösteren antineoplastik ajanlar üzerine yapılan çalışmalarda yaygın olarak dekspantenol kullanılmıştır (80).

Dekspantenol, hem oksidatif strese karşı hücrel savunmada hem de inflamatuvar yanıtta önemli bir rol oynar. Ayrıca, Dekspantenol'ün oksidatif stresi ve inflamasyonu azaltarak yüksek doz gentamisininin neden olduğu böbrek hasarını iyileştirdiğini gösterilmiştir (81). Çalışmamızda, CCl₄ ile indüklenen nefrotoksitede oksidan ve antioksidan durumunu değerlendirmek için TAS, TOS ve OSI seviyelerini ölçtük. TOS ve OSI değeri, kontrol grubuna kıyasla CCl₄ grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ve bu artış, dekspantenol'ün CCl₄ ile aynı anda uygulanmasıyla tersine çevrildi. Bu sonuçlar, dekspantenol'ün CCl₄'ün neden olduğu oksidatif stres seviyesini azalttığını göstermektedir. Sonuç olarak, dekspantenol uygulamasının TOS ve OSI değerini ve MDA seviyesini düşürdüğünü gösterdi. Histopatolojik olarak ise, Dekspantenol grubuna ait kesitlerde böbrek korteksi içerisinde yer alan glomerüllerin ve tübüllerin histolojik görünümü kontrol grubuna benzer şekilde olduğu gözlemlendi. CCl₄ ile birlikte dekspantonolün uygulanmasıyla böbrek dokusunda lokal infiltrasyon ve hemorajik alanların azaldığı gözlemlendi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan analizlerden elde edilen bulgular ışığında sıçan böbrek dokusunda CCl₄'ün neden olduğu oksidatif strese karşı dekspantenolün koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir. Bu bilgilere dayanarak böbrek dokusunda bazı oksidatif stres parametrelerini inceledik.

Böbrek doku antioksidan parametreleri olarak ölçmek için GSH ve TAS seviyelerini inceledik. Buna göre, GSH ve TAS seviyelerinin, CCl₄+Dekspantenol grubunda CCl₄ grubuna kıyasla önemli ölçüde yüksek çıktığı gözlenmiştir.

Aksine, MDA, TOS ve OSI oksidatif stres parametre seviyeleri, CCl₄ grubunda, CCl₄+Dekspantenol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha yüksek çıkmıştır.

Bu sonuçlar, dekspantenolün antioksidan mekanizmayı uyararak CCl₄'ün toksik etkisini en aza indirmeye çalıştığını göstermektedir.

Literatür incelendiğinde CCl₄ ile oluşturulan renal hasarın etkisini azaltmak için birçok antioksidan kullanılmıştır. Ama dekspantenol kullanılmamıştır. Yapılan bu çalışma sayesinde literatürdeki eksiklik kapatılmaya çalışılmıştır.

Bu çalışmanın devamı olarak antioksidan parametrelerinin ölçümü için katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve nitrik oksit (NO) gibi diğer böbrek fonksiyon analizleri yapılarak çalışma daha da detaylandırılabilir.

Ayrıca kullanılan CCl₄'ün dozu ve uygulanma sıklığı artırılarak dokuda meydana getirdiği hasarın boyutunu görme açısından daha derin bilgiler sunabilir.

Son olarak, böbrek dokusunun hasarının azaltılmasına yönelik bu çalışmada kullanılan kimyasal ajan ve antioksidan farklı dokular üzerinde uygulanarak diğer dokular üzerindeki etkileri de incelenebilir.

KAYNAKLAR

1. Çetin E, Çetin N. Sıçanlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Oksidatif Beyin ve Böbrek Hasarına Karşı Grelinin Koruyucu Etkisi. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg* 2011, 6(3): 195-200.
2. Shinde AGJ, Naik P. Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress. A review. *J Dent Allied Sci* 2012,1(2): 63-6.
3. Koçak Y, Oto G, Yücel UM, Yaşar S, Arihan O. Karbon tetraklorür ile oluşturulan doku hasarında *Allium schoenoprasum* L. uygulamasının karaciğer ve böbrek dokusunda total antioksidan ve total oksidan düzeylerine etkisi. *Van Sag Bil Derg* 2019,12(3): 1-10.
4. Isaka Y, Kimura T, Takabatake Y. The protective role of autophagy against aging and acute ischemic injury in kidney proximal tubular cells. *Autophagy* 2011, 7(9): 1085-7.
5. Tekeli H, Bildik A. Karbon tetraklorür ile oluşturulan karaciğer hasarında Glutasyon (GSH) ve glutasyon s-transferaz (GST) aktivitesi üzerine n-asetil sisteinin etkisi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi* 2013, 5(2): 83-7.
6. Elmubarak SMEO. Sıçan Böbrek Dokusunda Karbon Tetraklorür(CC14) Toksisitesine Karşı Melatonin ve D Vitamininin Koruyucu Etkisi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, 2015.
7. El-Maddawy ZK, Gad SB. Hepato-renal protection of silymarin in comparison with vitamin E in rats. *Glob J Pharmacol* 2012, 6(3): 236-44.
8. Faroon O. *Toxicological profile for carbon tetrachloride*, 1st ed. Atlanta, ATSDR 2005: 1-328.
9. Doherty RE. A history of the production and use of carbon tetrachloride, tetrachloroethylene, trichloroethylene and 1, 1, 1-trichloroethane in the United States:part 1—historical background; carbon tetrachloride and tetrachloroethylene. *Environmental forensics* 2000, 1(2): 69-81.
10. Adewole S, Salako A, Doherty O, Naicker T. Effect of melatonin on carbon tetrachloride-induced kidney injury in Wistar rats. *AJBR* 2007, 10(2): 153-64.

11. Abraham P, Wilfred G. Oxidative damage to the lipids and proteins of the lungs, testis and kidney of rats during carbon tetrachloride intoxication. *Clin Chim Acta* 1999, 289(1-2): 177-9.
12. Cetin E, Cetin N. Protective effect of ghrelin against the oxidative brain and kidney injuries induced by carbon tetrachloride in rats. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg* 2011, 6(3): 195-200.
13. Karadeniz A, Yildirim A, Çelebi F. Protective effect of panax ginseng against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced oxidative brain injury in rats. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg* 2007, 2(3): 117-21.
14. Karadeniz A, Yıldırım A, Karakoc A, Kalkan Y, Celebi F. Protective effect of Panax ginseng on carbon tetrachloride induced liver, heart and kidney injury in rats. *Rev Med Vet* 2009, 160(5): 237-43.
15. Szymonik-Lesiuk S, Czechowska G, Stryjecka-Zimmer M, Słomka M, Małdro A, Celiński K, Wielosz M. Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. *JHBPS* 2003, 10(4): 309-15.
16. Tirkey N, Pilkhwal S, Kuhad A, Chopra K. Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. *BMC pharmacology* 2005, 5(1):2.
17. Ruprah M, Mant TGK, Flanagan RJ. Acute carbon tetrachloride poisoning in 19 patients: implications for diagnosis and treatment. *The Lancet* 1985, 325(8436): 1027-9.
18. Rincón AR, Covarrubias A, Pedraza-Chaverrí J, Poo JL, Armendáriz-Borunda J, Panduro A. Differential effect of CCl₄ on renal function in cirrhotic and non-cirrhotic rats. *Exp Toxic Pathol* 1999, 51(3): 199-205.
19. Kükner A, Ergür BU, Töre F, Fırat T. The effect of low molecular weight heparin on kidney tissue of rats exposed to carbon tetrachloride. *Erciyes Med J* 2009, 31(4): 299-304.
20. Doğukan A, Akpolat N, Çeliker H, İlhan N, Bahçecioğlu H, Günal AI. Protective effect of interferon-alpha on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity. *J Nephrol* 2003, 16(1): 81-4.
21. Ozturk F, Ucar M, Ozturk IC, Vardi N, Batcioglu K. Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity and protective effect of betaine in Sprague-Dawley rats. *Urology* 2003, 62(2): 353-6.

22. Kim YC, Yim HK, Jung YS, Park JH, Kim SY. Hepatic injury induces contrasting response in liver and kidney to chemicals that are metabolically activated: role of male sex hormone. *TAAP* 2007, 223(1): 56-65.
23. Akkoyun HT. Karbontetraklorür'ün Neden Olduğu Sıçan Böbrek Dokusu Hasarlarına Karşı Kuersetin'in Koruyucu Etkisi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2019, 9(2): 708-16.
24. Ogeturk M, Kus I, Kavakli A, Oner J, Kukner A, Sarsilmaz M. Reduction of carbon tetrachloride-induced nephropathy by melatonin administration. *Cell Biochem Funct* 2005, 23(2): 85-92.
25. Ogeturk M, Kus I, Colakoglu N, Zararsiz I, Ilhan N, Sarsilmaz M. Caffeic acid phenethyl ester protects kidneys against carbon tetrachloride toxicity in rats. *J Ethnopharmacol* 2005, 97(2): 273-80.
26. Yilmaz-Ozden T, Can A, Karatug A, Pala-Kara Z, Okyar A, Bolkent S. Carbon tetrachloride-induced kidney damage and protective effect of *Amaranthus lividus* L. in rats. *Toxicol Ind Health* 2016, 32(6): 1143-52.
27. Özsoy N, Okyar A, Arda-Pirinççi P, Can A, Bolkent Ş, Akev N. Evaluation of *Smilax excelsa* L. use in experimentally induced nephrotoxicity. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2013,19(5): 807-14.
28. Awodele O, Adeneye AA, Aiyeola SA, Benebo AS. Modulatory effect of *Mangifera indica* against carbon tetrachloride induced kidney damage in rats. *Interdiscip Toxicol* 2015, 8(4): 175-83.
29. Chávez-Morales RM, Jaramillo-Juárez F, Rodríguez-Vázquez ML, Martínez-Saldaña MC, del Río FP, Garfias-López JA. The Ginkgo biloba extract (GbE) protects the kidney from damage produced by a single and low dose of carbon tetrachloride in adult male rats. *Exp Toxic Pathol* 2017, 69(7): 430-4.
30. Moneim AEA, El-Khadragy MF. The potential effects of pomegranate (*Punica granatum*) juice on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in rats. *J Physiol Biochem* 2013, 69(3), 359-70.
31. Mirazi N, Movassagh SN, Rafieian-Kopaei M. The protective effect of hydro-alcoholic extract of mangrove (*Avicennia marina* L.) leaves on kidney injury induced by carbon tetrachloride in male rats. *J Nephropathol* 2016, 5(4): 118-22.
32. Safhi MM. Nephroprotective effect of Zingerone against CCl₄-induced renal toxicity in Swiss albino mice: molecular mechanism. *Oxidative Med Cell Longev*, 2018, 1-7

33. Baykalir BG, Arslan AS, Mutlu SI, Ak TP, Seven I, Seven PT, Gul HF. The protective effect of chrysin against carbon tetrachloride-induced kidney and liver tissue damage in rats. *Int J Vitam Nutr Res*, 2020, 1-12.
34. Ma JQ, Sun YZ, Ming QL, Tian ZK, Zhang YJ, Liu CM. Effects of gastrodin against carbon tetrachloride induced kidney inflammation and fibrosis in mice associated with the AMPK/Nrf2/HMGB1 pathway. *Food & Function* 2020, 11(5): 4615-24.
35. De Mejía EG, Ramírez-Mares MV. Leaf extract from *Ardisia compressa* protects against 1-nitropyrene-induced cytotoxicity and its antioxidant defense disruption in cultured rat hepatocytes. *Toxicology* 2002, 179(1-2): 151-62.
36. Slyshenkov VS, Omelyanchik SN, Moiseenok AG, Trebukhina RV, Wojtczak L. Pantothenol protects rats against some deleterious effects of gamma radiation. *Free Radic Biol Med.*, 1998, 24:894–9.
37. Slyshenkov VS, Dymkowska D, Wojtczak L. Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. *FEBS Lett.* 2004, 569:169-72.
38. Ermis H, Parlakpınar H, Gulbas G, Vardi N, Polat A, Cetin A, Kilic T, Aytemur ZA. Protective effect of dexpanthenol on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2013, 386(12): 1103-10.
39. <https://en.wikipedia.org/wiki/Panthenol>(Erişim Tarihi: 24.12.2020).
40. Akdeniz Y, Tarhan OR, Barut İ. Can dexpanthenol prevent peritoneal adhesion formation? An experimental study. *TJTES* 2007, 13(2): 94-100.
41. Ebner F, Heller A, Rippke F, Tausch I. Topical use of dexpanthenol in skin disorders. *Am J Clin Dermatol.* 2002, 3: 427-33.
42. Loftus EV, Tremaine WJ, Nelson RA, Shoemaker JD, Sandborn WJ, Phillips SF, Yasmineen H. Dexpanthenol enemas in ulcerative colitis: a pilot study. *Mayo Clin Proc* 1997, 72(7): 616–20.
43. Sungur İC, Akpolat T. Böbreklerin Temel Fonksiyonları ve Düzenlenmesi, http://www.nefroloji.org.tr/folders/file/bobreklerin_temel_fonksiyonlari.pdf 20.12.2020
44. Altunören O, Aydın G, Güngör Ö. Böbrek Anatomisi. İçinde: Arınsoy T, Güngör Ö, Koçyiğit İ. (editörler). *Böbrek Fizyopatolojisi*. İstanbul, Reaktif, 2017: 1-7.
45. Koçak MG, Bakırdöğen S, Altun B. Renal Fizyoloji. İçinde: Arınsoy T, Güngör Ö, Koçyiğit İ. (editörler). *Böbrek Fizyopatolojisi*. İstanbul, Reaktif, 2017: 7-25.

46. Ok ES, Altun B. Böbrek Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi. İçinde: Arınsoy T, Güngör Ö, Koçyiğit İ. (editörler). *Böbrek Fizyopatolojisi*. İstanbul Reaktif, 2017: 25-37.
47. Akpolat T, Yetmezliği UCB. Genel Bilgiler. *Hemodiyaliz Hekimi El Kitabı*. Akpolat T, Utaş C (eds). Erciyes, Kayseri, 1997: 1-14.
48. Saltoğlu N. Toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonlarına yaklaşım. *Sürekli Tıp Eğitim Etkinlikleri 2008*, 61:139-50.
49. İnan Y, Karataş E. *Patoloji. TUS-DATA*. Türkiye 2007, 11-26, 279-301.
50. Akpolat T, Utaş C, Süleymanlar G. *Nefroloji El Kitabı*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1997, 1-23.
51. Emek, H. Erişkin Erkek Sıçanlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Testis Hasarı Üzerine Kuersetinin Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, 2014.
52. Kurt H. Karbon Tetrakloritinin (CCl₄) Toksikitesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 2007, 7(1): 205-14.
53. Gülbahar Ö. Protein Oksidasyonunun Mekanizması, Önemi ve Yaşlılıkla İlişkisi. *TJG* 2007, 10(1): 43-8
54. Kalantari H, Foruozandeh H, Khodayar MJ, Siahpoosh A, Saki N, Kheradmand P. Antioxidant and hepatoprotective effects of Capparis spinosa L. fractions and Quercetin on tertbutyl hydroperoxide- induced acute liver damage in mice. *J Tradit Complement Med*. 2018, 8: 201-7.
55. Li AL, Li GH, Li YR, Wu XY, Ren DM, Lou HX, Wang XN, Shen T. Lignan and flavonoid support the prevention of cinnamon against oxidative stress related diseases. *Phytomedicine*, 2019, 53: 143–53.
56. Koçak Y. Sıçanlarda Karbon Tetraklorür İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında *Allium schoenoprasum* L. (Sirmo) Bitkisi Etanol Ekstresinin Antioksidan ve Sitoprotektif Etkilerinin İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2019.
57. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. *YYU Vet Fak Derg* 2009, 20(2): 79-83.
58. <https://www.vitaminler.com/bilgi-bankasi/b5-vitamini-pantotenik-asit-nedir> (Erişim Tarihi: 24.12.2020).

59. Slyshenkov VS, Rakowska M, Moiseenok AG, Wojtczak L. Pantothenic acid and its derivatives protect Ehrlich ascites tumor cells against lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med.* 1995, 19:767–72.
60. Slyshenkov VS, Rakowska M, Wojtczak L. Protective effect of pantothenic acid and related compounds against permeabilization of Ehrlich ascites tumour cells by digitonin. *Acta Biochim Pol.* 1996, 43:407-10.
61. <https://www.coskumutlu.com/b5-vitamini-hakkinda-bilinmesi-gereken-sey/> (Erişim Tarihi: 24.12.2020).
62. Fairbanks V, Klee GG. Biochemical aspects of hematology. In: Burtis CA, Ashwood ER (eds). *Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, Saunders Press, 1994, 2026–7.
63. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978, 34: 271-8.
64. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*, 2004, 2: 112-9.
65. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 2005, 12: 1103-11.
66. Otlu Ö. Farklı Miktarlarda Kükürt İçeren Ve Gün Kurusu Kayısıyla Beslenen Ratların Serum Ve Karaciğer Oksidatif Stres Parametrelerinin Karşılaştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2016.
67. Pfaller W, Gstraunthaler G. Nephrotoxicity testing in vitro- what we know and what we need to know. *Environ Health Perspec* 1998, 106 (2): 559-69.
68. Güven A, Yılmaz S. The effect of carbon tetrachloride (CCl₄) and ethanol (C₂H₅OH) on the determination of levels glutathione peroxidase, catalase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and lipid peroxidation liver and kidney in goose. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2005, 11(2):113-7.
69. Manna P, Sinha M, Sil PC. Aqueous extract of Terminalia arjuna prevents carbon tetrachloride induced hepatic and renal disorder. *BMC Complement Altern Med* 2006, 6(33): 1-10.
70. Mydlik M, Derzsiova K. Liver and kidney damage in acute poisonings. *Bantao Journal* 2006, 4(1): 30-3.

71. Balahoroğlu R, Dülger H, Özbek, H, Bayram I, Şekeroğlu MR. Protective effects of antioxidants on the experimental liver and kidney toxicity in mice. *Eur J Gen Med* 2008, 5:157-64.
72. Hermenean A, Ardelean A, Stan M, Herman H, Mihali CV, Costache M, Dinischiotu A. Protective effects of naringenin on carbon tetrachloride-induced acute nephrotoxicity in mouse kidney. *Chem Biol Interact* 2013, 205: 138-47.
73. Tüközkan N, Erdamar H, Seven I. Measurement of Total Malondialdehyde in Plasma and Tissues by High-Performance Liquid Chromatography and Thiobarbituric Acid Assay. *Firat Tıp Dergisi* 2006, 11(2): 88-92.
74. Manjrekar AP, Jisha V, Bag PP, Adhikary B, Pai MM, Hegde A, Nandini M. Effect of *phyllanthus niruri* Linn treatment on liver kidney and testes in CCl4 induced hepatotoxic rats. *Indian J Exp Biol* 2008, 46: 514-20.
75. Makni M, Chtourou Y, Garoui EM, Boudawara T, Fetoui H. Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity and DNA damage in rats: Protective role of vanillin. *Hum Exp Toxicol* 2012, 31: 844-52.
76. Ramarajan L, Somasundaram ST, Subramanian S, Pandian V. Nephroprotective effects of *Colpomenia sinuosa* (Derbes & Solier) against carbon tetrachloride induced kidney injury in Wistar rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2012, 2(1): 435-41.
77. Olagunjua JA, Adeneyeb AA, Fagbohunkac BS, Bisugac, NA, Ketikuc AO, Benezod AS, Olufowobic OM, Adeoyec AG, Alimic MA, Adelekec AG. Nephroprotective activities of the aqueous seed extract of *Carica papaya* Linn. in carbon tetrachloride induced renal injured Wistar rats: a dose- and time-dependent study. *Biology and Medicine* 2009, 1: 11-9.
78. Jaramillo-Juarez, F, Rodriguez-Vazquez ML, Rincon-Sanchez AR, Martinez MC, Ortiz GG, Llamas J, Posadas FA, Reyes JL. Acute renal failure induced by carbon tetrachloride in rats with hepatic cirrhosis. *Annals of hepatology* 2008, 7(4): 331-8.
79. Morakinyo AO, Oludare GO, Anifowose AA, Adegoke OA. Protective effects of alpha lipoic acid on carbon tetrachloride-induced liver and kidney damage in rats. *Br J Pharmacol Toxic* 2012, 3: 21-8.
80. Bilgic Y, Akbulut S, Aksungur Z, Erdemli ME, Ozhan O, Parlakpınar H, Vardı N, Turkoz Y. Protective effect of dexpanthenol against cisplatin-induced hepatotoxicity. *Exp Ther Med* 2018, 16(5): 4049-57.

81. Pınar N, Özcan O, Doğan E, Çakırca G. Protective effect of dexpanthenol on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Annals of Medical Research* 2019, 26(9): 1878-91.



EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

29.08.1986 Malatya doğumluyum. İlk, orta ve lise eğitimimi Malatya'da tamamladım. 2006 yılında İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Fakültesi'nde çalışmaya başladım. 2009 yılında kazandığım İnönü Üniversitesi Kimya Bölümünden 2013 yılında mezun oldum. 2017 yılında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans yapmaya başladım. Halen aynı iş yerimde çalışmaya devam etmekteyim. Evli ve iki kız çocuk annesiyim.



EK-2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONUÇLARI

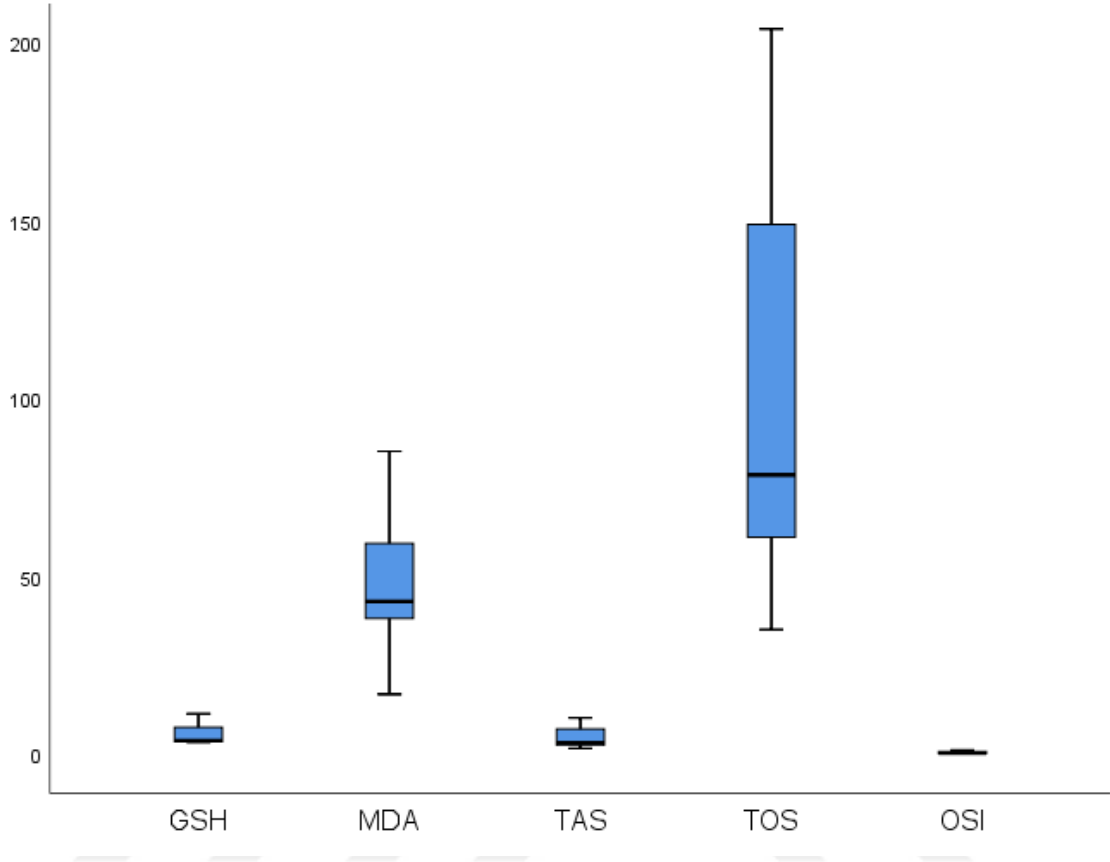
Tests of Normality (Normallik testi sonucu)

	Grup	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GSH	Kontrol	,266	6	,200 [*]	,912	6	,453
	CCI4	,191	7	,200 [*]	,955	7	,772
	Dekspantenol	,172	6	,200 [*]	,937	6	,639
	CCI4+Dekspantenol	,349	5	,046	,771	5	,046
MDA	Kontrol	,178	6	,200 [*]	,963	6	,843
	CCI4	,214	7	,200 [*]	,934	7	,585
	Dekspantenol	,363	6	,013	,762	6	,026
	CCI4+Dekspantenol	,255	5	,200 [*]	,893	5	,370
TAS	Kontrol	,212	6	,200 [*]	,940	6	,661
	CCI4	,165	7	,200 [*]	,987	7	,986
	Dekspantenol	,273	6	,183	,820	6	,088
	CCI4+Dekspantenol	,276	5	,200 [*]	,849	5	,190
TOS	Kontrol	,225	6	,200 [*]	,916	6	,478
	CCI4	,222	7	,200 [*]	,908	7	,385
	Dekspantenol	,319	6	,056	,861	6	,194
	CCI4+Dekspantenol	,269	5	,200 [*]	,857	5	,217
OSI	Kontrol	,300	6	,099	,859	6	,186
	CCI4	,196	7	,200 [*]	,961	7	,827
	Dekspantenol	,174	6	,200 [*]	,928	6	,563
	CCI4+Dekspantenol	,317	5	,113	,818	5	,113

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Ölçümlerin Normallik dağılım grafiği



Yukarıdaki normallik testi sonuçları ile normallik dağılım grafikleri incelendiğinde, Shapiro-Wilk ($n < 50$) testi sonuçlarına göre, ölçümlerin herbirinin grup sig. değerlerini incelediğimizde ayrı ayrı normal dağılmadığı görülmektedir ($p < 0,05$). Bu nedenle Nonparametrik testlerin kullanılması uygun görülmüştür.

Nonparametrik Test

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
GSH	24	5,4807500	2,80222049	3,33300	11,31900
MDA	24	49,7612500	17,65690512	16,83000	92,07000
TAS	24	4,5882937	2,96934599	1,60714	10,17857
TOS	24	109,5416667	72,29768122	35,00000	302,00000
OSI	24	,3700977	,32143931	,05708	1,10296
Grup	24	2,4166667	1,10006587	1,00000	4,00000

Kruskal Wallis Test

Ranks

	Grup	N	Mean Rank
GSH	Kontrol	6	21,50
	CCI4	7	4,43
	Dekspantenol	6	15,50
	CCI4+Dekspantenol	5	9,40
	Total	24	
MDA	Kontrol	6	7,08
	CCI4	7	21,00
	Dekspantenol	6	8,08
	CCI4+Dekspantenol	5	12,40
	Total	24	
TAS	Kontrol	6	21,50
	CCI4	7	8,64
	Dekspantenol	6	8,58
	CCI4+Dekspantenol	5	11,80
	Total	24	
TOS	Kontrol	6	8,50
	CCI4	7	20,71
	Dekspantenol	6	10,83
	CCI4+Dekspantenol	5	7,80
	Total	24	
OSI	Kontrol	6	3,50
	CCI4	7	20,00
	Dekspantenol	6	13,67
	CCI4+Dekspantenol	5	11,40
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	GSH	MDA	TAS	TOS	OSI
Chi-Square	20,955	15,992	13,734	13,909	17,879
df	3	3	3	3	3
Asymp. Sig.	,000	,001	,003	,003	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Grup

Post- Hoc İkili Karşılaştırma Testi

Bonferroni düzeltmeli p-değeri (Adj.Sig.) olarak ikili karşılaştırmalar aşağıdaki tablolarda yer almaktadır.

GSH Aktivitesi:

Sample1-Sample2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
CCI4-CCI4+Dekspantenol	-4,971	4,133	-1,203	,229	1,000
CCI4-Dekspantenol	-11,071	3,927	-2,819	,005	,029
CCI4-Kontrol	17,071	3,927	4,347	,000	,000
CCI4+Dekspantenol-Dekspantenol	6,100	4,274	1,427	,154	,921
CCI4+Dekspantenol-Kontrol	12,100	4,274	2,831	,005	,028
Dekspantenol-Kontrol	6,000	4,075	1,472	,141	,846

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.
Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is ,05.

MDA Aktivitesi:

Sample1-Sample2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
Kontrol-Dekspantenol	-1,000	4,081	-,245	,806	1,000
Kontrol-CCI4+Dekspantenol	-5,317	4,280	-1,242	,214	1,000
Kontrol-CCI4	-13,917	3,932	-3,539	,000	,002
Dekspantenol-CCI4+Dekspantenol	-4,317	4,280	-1,009	,313	1,000
Dekspantenol-CCI4	12,917	3,932	3,285	,001	,006
CCI4+Dekspantenol-CCI4	8,600	4,139	2,078	,038	,226

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.
Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is ,05.

TAS Aktivitesi:

Sample1-Sample2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
Dekspantenol-CCI4	,060	3,928	,015	,988	1,000
Dekspantenol-CCI4+Dekspantenol	-3,217	4,275	-,752	,452	1,000
Dekspantenol-Kontrol	12,917	4,076	3,169	,002	,009
CCI4-CCI4+Dekspantenol	-3,157	4,134	-,764	,445	1,000
CCI4-Kontrol	12,857	3,928	3,273	,001	,006
CCI4+Dekspantenol-Kontrol	9,700	4,275	2,269	,023	,140

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.
Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is ,05.

TOS Aktivitesi:

Sample1-Sample2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
CCI4+Dekspantenol-Kontrol	,700	4,282	,163	,870	1,000
CCI4+Dekspantenol-Dekspantenol	3,033	4,282	,708	,479	1,000
CCI4+Dekspantenol-CCI4	12,914	4,140	3,119	,002	,011
Kontrol-Dekspantenol	-2,333	4,082	-,572	,568	1,000
Kontrol-CCI4	-12,214	3,934	-3,105	,002	,011
Dekspantenol-CCI4	9,881	3,934	2,512	,012	,072

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.
Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is ,05.

OSI Aktivitesi:

Sample1-Sample2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
Kontrol-CCI4+Dekspantenol	-7,900	4,282	-1,845	,065	,390
Kontrol-Dekspantenol	-10,167	4,082	-2,490	,013	,077
Kontrol-CCI4	-16,500	3,934	-4,194	,000	,000
CCI4+Dekspantenol-Dekspantenol	2,267	4,282	,529	,597	1,000
CCI4+Dekspantenol-CCI4	8,600	4,140	2,077	,038	,227
Dekspantenol-CCI4	6,333	3,934	1,610	,107	,645

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.

Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is ,05.

