



T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARININ ÖNLENMESİ
VE TEDAVİSİNDE VİNPOSETİN'İN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

Uzmanlık Tezi
Dr. Levent ŞAHİN

Proje Yürütücüsü:
Yrd. Doç. Dr. M.Ediz SARIHAN

Malatya-2015

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARININ ÖNLENMESİ
VE TEDAVİSİNDE VİNPOSETİN'İN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

Uzmanlık Tezi

Dr. Levent ŞAHİN

Proje Yürütücüsü:

Yrd. Doç. Dr. M.Ediz SARIHAN

Bu tez, T.C. İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından
2013/96 proje numarası ile desteklenmiştir.

Malatya-2015

TEŞEKKÜRLER

Asistanlık eğitimimde emeği geçen, yardım ve desteklerini üzerimde eksik etmeyen değerli hocalarım Doç. Dr. M. Gökhan TURTAY, Doç. Dr. Hakan OĞUZTÜRK, Doç. Dr. Neslihan YÜCEL ve Yrd. Doç. Dr. Şükrü GÜRBÜZ'e, tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. M. Ediz SARIHAN'a, tez çalışmam boyunca emeği ve katkısı bulunan Doç. Dr. Hakan PARLAKPINAR, Doç. Dr. Cemil ÇOLAK ve Prof. Dr. Nigar VARDI hocalarıma, deney aşamasında ve sonrasında yardımlarından ve katkılarından dolayı tüm personele çok teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmam süresince her türlü sıkıntımı paylaşan, bana destek olan aileme ve eşime teşekkür ederim.

Dr. Levent ŞAHİN

ÖZET

RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARININ ÖNLENMESİNDE VE TEDAVİSİNDE VİNPOSETİN'İN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Böbrekler iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarından en fazla etkilenen organlardır. İskemi bir dokuya gelen kan akımının azalması veya kesilmesi olarak tanımlanır. Reperfüzyon ise kan akımının yeniden başlamasıdır. Deneysel İ/R modeli üzerinde antioksidanların, antienflamatuarların etkileri ile ilgili çalışmalar son yıllarda artmıştır.

Çalışmamızda; ratlarda renal İ/R hasarı sonrası vinpocetine (vinposetin)'in böbrekler üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Vinposetin ile ilgili çalışmalar tüm dünyada yakından takip edilmekte olup, konu oldukça günceldir. Böbrek İ/R hasarında sorumlu tutulan mekanizmalardan biri olan oksidatif hasar ve enflamasyona karşı güçlü bir antioksidan ve antienflamatuar olan vinposetin'nin etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik parametreler yönünden ortaya konulması amaçlandı.

Ratlarda deneysel böbrek İ/R hasarı oluşturularak vinposetin'in etkisinin incelenmesi amacı ile serumda BUN ve kreatinin, böbrek dokusundan total antioksidan ve oksidan kapasite (TAS/TOS), SOD, CAT, GPx, MDA, GSH, MPO çalışıldı. Ayrıca histopatolojik incelemelerde böbrek dokusundan hematoksilin eozin ve immunohistokimyasal boyamalarla böbrek dokusu ışık mikroskopisi altında incelendi. Deney protokolün tamamlanmasından sonra, kan örnekleri ve böbrek dokusu alındı.

Özellikle tek böbrekli kişilerde diyaliz bağımlılığına yol açması hasta ve hasta yakınları açısından çok sıkıntı oluşturur. Dolayısıyla tek böbrekli insanlarda herhangi bir sebeple (cerrahi, travma, iyatrojenik ya da tromboz) İ/R durumunu taklit edeceğimiz bu çalışmada; bu alanda ilk defa yapılacak bir çalışma ile vinposetin isimli ajanı test ederek; yapılacak ileri çalışmalara öncülük etmeyi amaçladık.

Bu çalışmada tahmini ağırlıkları 250-300 g olan 40 adet dişi Sprague Dawley ırkı rat kullanılmıştır. Her biri 8 adet olan 5 gruba ayrılmıştır. Tüm gruplara sağ nefrektomi yapıldı. **Sham (Grup 1)**'da; Sağ nefrektomisi yapıldı ama herhangi bir ilaç

uygulanmadı. **Sham+ vinposetin (Grup 2)**'de; Sağ nefrektomisi yapıp ratlara 10 mg/kg dozunda intraperitoneal (i.p.) yolla vinposetin uygulandı. **İ/R (Grup 3)**'de; Sağ nefrektomisini takiben, sol böbreğe 60 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uygulandı. **İ/R öncesi vinposetin (Grup 4)**'de; Sağ nefrektomisi yapıp 10 mg/kg vinposetin uygulandı, sol böbrek 60 dk iskemiye bırakıldı. **İ/R sonrası vinposetin (Grup 5)** 'de; Sağ böbreğe nefrektomi uygulandıktan sonra 10 mg/kg vinposetin verildi, sol böbrek 60 dk iskemi sonrası 24 saat reperfüzyona bırakıldı.

Örneklere serum BUN, kreatinin değerleri, böbrek histopatolojisi incelendi. Vinposetin böbrek fonsiyonları üzerinde olumlu etki göstermiştir. Tüm bunlarla birlikte daha net sonuçlara varmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Reperfüzyon hasarı, Vinposetin, Rat, Böbrek.

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE PREVENTIVE AND TREATMENT EFFECTS OF VINPOCETINE IN RAT RENAL ISCHAEMIA REPERFUSION INJURY

Renals are the organs affected mostly by ischemia reperfusion (I/R) injury. Ischemia is defined by reduction or interruption of blood stream coming to a tissue. Reperfusion is restart of the blood stream. The studies about the effects of antioxidants and antiinflammatory on the experimental I/R have been increased in recent years.

We aimed in our study planned in our department and performed in İnönü University Experimental Animal Studies Laboratory is to investigate whether vinpocetine has protective effect on kidneys after renal I/R injury in rats, which have never been studied before. Studies on vinpocetine are closely followed by all over the world and this topic is very current. It is aimed to reveal the effects of vinpocetine which is a powerful antioxidant and antiinflammatory against inflammation and oxidative injury which is responsible for one of the mechanism of renal I/R injury biochemically and histopathologically.

BUN in serum, creatinin, total antioxidant and oxidant capacity (TAS/TOS), SOD, CAT, GPx, MDA, GSH, MPO were performed to investigate the effects of vinpocetine by creating experimental renal I/R injury on rats. Moreover, in histopathological examinations kidney tissue was examined under light microscopy by hematoxylin, eosin and immunohistochemical staining. After the completion of the experimental protocol, blood samples and kidney tissues were taken.

It causes trouble such as dialysis dependency for patient and patient's relative who especially have only one kidney. Because of it, in this study that we imitate the condition of I/R on people with one kidney for any reason (surgery, trauma, iatrogenic or thrombosis) by testing the first vinpocetine agents, we aimed to be the leader of further studies.

Fourty Sprague Dawley female rats approximately weighted 250-300 g were used in this study. Each one is divided into 5 groups containing 8 rats. Right nephrectomy was

performed in all groups. **Sham (group 1):** right nephrectomy was performed but not any medicine.

Sham + Vinpocetine (group 2): right nephrectomy was performed and 10 mg/kg vinpocetine was intraperitoneally used. **I/R (group 3):** 60 min ischemia and 24 hour reperfusion was performed following right nephrectomy. **Vinpocetin before I/R (group 4):** right nephrectomy was performed and 10 mg/kg vinpocetin was used. Then ischemia was implemented to left renal for 60 mins. **Vinpocetin after I/R (group 5):** 10 mg/kg vinpocetin were performed after the implementation of nephrectomy to the right renal. Left renal were left to 24 hour reperfusion after 60 min ischemia.

In the samples; serum BUN, the levels of creatin and renal histopathology were examined. Vinpocetine showed a positive effect on renal function. However, further studies are needed to get a more definite consequences.

Key Words: Reperfusion Injury, Vinpocetine, Rat, Kidney.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER	i
ÖZET	ii
SUMMARY	iv
İÇİNDEKİLER	vi
3. TABLO - RESİM – GRAFİK ve ŞEKİL DİZİNLERİ	viii
KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
1.1. Vinpocetin Hakkında.....	2
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. İSKEMİ.....	6
2.2. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ	7
2.2.1. Oksijen Radikallerinin Kaynakları	7
2.2.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri	11
2.3. HASAR MEKANİZMASI	13
2.4. SAVUNMA MEKANİZMASI	14
2.5. ANTİOKSİDANLAR	16
2.5.1. Enzimatik Endojen Antioksidanlar	17
2.5.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar	18
2.5.3. Ekzojen Antioksidanlar	18
2.6. REPERFÜZYON.....	19
2.7. BÖBREĞİN ANATOMİSİ	20
2.8. BÖBREK HİSTOLOJİSİ.....	23
2.9. BÖBREK FİZYOLOJİSİ.....	25
3. ARAÇ GEREÇ YÖNTEM	26
3.1. Anestezi Uygulaması	26
3.2. Deney Grupları	26
3.3. Cerrahi İşlem.....	27

4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	30
5. BULGULAR.....	31
5.1 SERUM BUN ve KREATİNİN DEĞERLERİ.....	32
5.2. DOKU DEĞİŞKENLERİ.....	33
5.2.1. Doku Total Oksidan Seviyesi (TOS) ölçümü.....	35
5.2.2. Doku Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Ölçümü.....	36
5.2.3. Doku SOD Değerleri.....	36
5.2.4. Doku CAT Değerleri.....	36
5.2.5. Doku MDA Değerleri.....	37
5.2.6 Doku Redükte Glutasyon (GSH) Değerleri.....	37
5.2.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ).....	38
5.3. HİSTOPATOLOJİK SONUÇLAR.....	39
6. TARTIŞMA.....	43
7. SONUÇLAR.....	47
13. KAYNAKLAR.....	48

3. TABLO - RESİM – GRAFİK ve ŞEKİL DİZİNLERİ

TABLO DİZİNİ

Tablo 5.1: Gruplardaki BUN ve Kreatinin Median Değerleri.....	33
Tablo 5.2: Gruplardaki Doku Değişkenlerin Median (min-mx) Değeri ve p değeri..	34
Tablo 5.3: Grupların Tübüler Hasar Histolojik Değerlendirmesi.....	39

RESİM DİZİNİ

Resim 1.2: Lesser Periwinkle (Küçük Cezayir Menekşesi).....	4
Resim 1.3: Voacanga Africana Meyvesi.....	4
Resim 2.6: Böbreğin Anatomik Yapısı.....	21
Resim 2.7: Böbreğin Vasküler Anatomisi.....	22
Resim 2.8: Nefronun Anatomik Yapısı.....	24
Resim 5.1: Renal Histoloji Normal ve Caspase 3 ile Boyanması.....	40
Resim 5.2: İ/R Grubundaki Tubullerin Boyanması.....	41
Resim 5.3: İ/R+Vinposetin ve Vinposetin+ İ/R Grubundaki Tubullerin Boyanması.	42

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1.1: Vinpocetine'nin Moleküler Yapısı.....	2
Şekil 2.1: Antioksidan Serbest Radikal İlişkisi.....	7
Şekil 2.2: İ/R hasarında Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu	8
Şekil 2.3: Reaktif Oksijen Türevlerinin Oluşumu.....	10
Şekil 2.4: Doymamış Yağ Asitlerinin Peroksidasyonu	10
Şekil 2.6: Reaktif Oksijen Hasarına Karşı Savunma Mekanizmaları	15

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 5.1: Deney Öncesi Ratların Ortalama Ağırlıkları.....	31
Grafik 5.2: Deney Sonrası Ratların Ortalama Ağırlıkları.....	32
Grafik 5.3: Tüm Gruplardaki Serum BUN ve Kreatinin Ortalamaları.....	32
Grafik 5.4: Tüm Gruplardaki Doku Değişkenlerinin Ortalamaları	35
Grafik 5.5: Gruplardaki TOS'un Median Değeri.....	35
Grafik 5.6: Gruplardaki SOD'un Median Değeri.....	36
Grafik 5.7: Gruplardaki MDA'nın Median Değeri.....	37
Grafik 5.8: Gruplardaki GSH'nin Median Değeri.....	38
Grafik 5.9: Gruplardaki OSİ'nin Median Değeri.....	38

KISALTMALAR

ABY	: Akut böbrek yetmezliği
ADP	: Adenozin difosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
AT	: Anjiyotensin
ATN	: Akut tübüler nekroz
ATP	: Adenozin trifosfat
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
BUN	: Kan Üre Azotu
CAT	: Katalaz
Cr	: Kreatinin
DHA	: Dihidroaskorbik asid
ETZ	: Elektron Transport Zinciri
FADH₂	: Flavinamid adenin dinükleotid
Fe	: Demir
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
GTP	: Guanozin trifosfat
GST	: Glutasyon S-transferaz
GSHPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Redükte glutasyon
HDA	: Hidroksi alkenal
HE	: Hemotoksilen eozin
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HOCl	: Hipoklorit asit
HOONO	: Hidroksinitrit

Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin
İ/R	: İskemi reperfüzyon
İ.p.	: İnteraperitoneal
İ.v.	: İntervenöz
MDA	: Malondialdehit
MMSE	: Mini mental state examination
MPO	: Myeloperoksidaz
MCP-1	: Monocyte chemo-attractant protein -1
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfohidrogenaz
NO	: Nitrik oksit
NIRS	: Yakın kızılötesi spektroskopisi
NBT	: Nitroblue tetrazoliumu
O₂⁻	: Süperoksit radikali
OH[·]	: Hidroksil radikali
ONOO-	: Peroksinitrit
Ox	: Oksidan
OS	: Oksidatif stres
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PDE	: Fosfodiesteraz
PAS	: Periodic Asit Schiff
PAYA	: Poliansatüre yağ asidi
PMNL	: Polimorf nüveli lökositler
PBS	: Phosphate Buffered Saline
Red	: Redüktan
ROR	: Reaktif oksijen radikalleri
ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
ROO	: Peroksit radikal

S.c.	: Subcüttenoz
SPSS	: Statistical Package of Science
SIRS	: Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOD	: Süperoksid dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TAS	: Total antioksidan
TOS	: Total oksidan kapasite
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör-alfa
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TCD	: Trans kraniyal doppler
UV	: Ultraviole
Vin	: Vinposetin

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Böbrek iskemisi; böbrek nakli, parsiyel nefrektomi, kardiyopulmoner bypass, sepsis, renal arter revaskülarizasyonu, travma, hidronefroz gibi çeşitli nedenlerden dolayı meydana gelebilir. Bu durum hipertansiyon, akut ve kronik böbrek yetmezliği gibi çeşitli istenmeyen sonuçlar doğurabilir(1,2). Ayrıca böbrekte sistemik hipotansiyon, hipovolemik şok, kardiyak arrest, renovasküler cerrahi ve aortun klempajı gibi durumlarda da iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı oluşabilmektedir(3, 4).

İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği (ABY), glomerüler filtrasyon hızında (GFR) azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışıyla karakterizedir(5). Renal İ/R hasarı akut renal yetmezliğin major bir nedenidir. Yapılan histopatolojik çalışmalarda İ/R hasarı sonucu böbreklerde mikrovasküler permeabilitede artış interstisyel ödem, vazoregülasyonda bozulma, enflamatuvar hücre infiltrasyonu, parankimal hücre disfonksiyonu ve iskemi sırasında ya da sonrasında akut tübüler nekroz geliştiği gösterilmiştir(6,7). Sonuç olarak prerenal azotemiden, tübüler veya kortikal nekroza bağlı ciddi ABY'ye kadar klinik tablolar karşımıza çıkabilir(8). Mevcut problemin günümüzdeki en kabul gören tedavisi; diyaliz veya böbrek nakli olmakla beraber halen birçok hasta diyalizin zorluklarını yaşamakta ya da nakil için sıra beklemektedir. Serbest radikaller, hücre hasarını gösteren mediatörler, reperfüzyonla hücreye tekrar kan akışı sağlanması sonucunda oluşur(9).

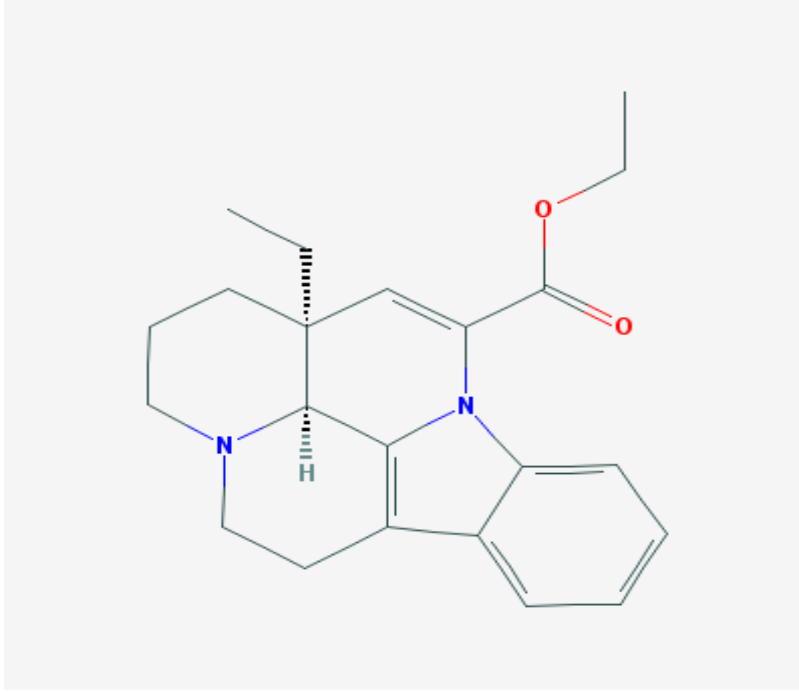
Serbest radikaller nükleik asitler, serbest amino grup asitler, proteinler, lipitler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu makromolekülleri de dâhil olmak üzere, canlı organizmaların yapısındaki tüm biyomoleküllerle reaksiyona girerek geriye dönüşlü veya dönüşsüz etkiler meydana getirebilmektedirler(10,11). İskemi sırasında oluşan serbest radikal miktarı; reperfüzyon döneminde dokunun yeniden oksijenlenmesinin ardından çok daha büyük miktarda serbest radikaller oluşmakta ve bunlar da lipit peroksidasyona yol açarak hücrel hasarı arttırmaktadırlar(12).

Serbest radikal hasarına karşı hücrel savunma enzimatik veya non enzimatik olarak sağlanır. Bunlardan bazıları katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve redükte glutatyonudur (13). Oluşan reaktif oksijen molekülleri lipid

peroksidasyonuna aracılık ederek hücre membranına zararlı etkiler oluşturmaktadır. Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyon radikallerinin yıkımı sonucu ortaya çıkar ve oksidatif stresin ana göstergesidir(14).

1.1. Vinposetin Hakkında

Vinposetin, *lesser periwinkle* (küçük cezayir menekşesi) bitkisinden elde edilen güçlü bir antioksidan alkaloid olup, antienflamatuar özelliğe sahip, serebral kan akışını artıran ve nöronal fonksiyonları koruyucu etkisi de olan yarı sentetik bir maddedir. Kimyasal adı; etil apovincaminat'dır. Vinka alkaloid vincaminenin yarı sentetik türevidir(15). Vinposetin tabersolinden elde edilebilir, bir alkaloid olan Voacanga tohumlarının ekstresi olarak Batı Afrikada sıklıkla bulunur. İlk olarak Macar kimyager Csaba Szontay tarafından 1975 yılında Cezayir menekşesi bitkisinden izole edilmiştir.



Şekil 1.1: Vinposetin'in Moleküler Yapısı (16).

Moleküler formülü: $C_{22}H_{26}N_2O_2$

Vinposetin, bir fosfodiesteraz (PDE) tip-1 inhibitörüdür.

Vazodilatör, antiinflamatuvar, antikonvülzan, antioksidan etkileri vardır(17,18).

Klinik Çalışmalar: Nörolojik semptomlarda, bellekteki gelişmelerde ve diğer bilişsel işlevlerde olumlu sonuçlar doğurduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar; kapiller kan akımının ve hücrel metabolizma artışının meydana geldiğini göstermiştir. Bu veriler aynı zamanda Yakın Kızılötesi Spektroskopisi (NIRS), Trans kranial Doppler (TCD) ve Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) yöntemleri kullanılarak, nöropsikolojik testlerle teyit edilerek serebral perfüzyon ve parankimal oksijeni ölçmek için yapılmıştır(19,20). Vinposetin; serebrovasküler hastalığın tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Vinposetin infüzyonu, kronik serebrovasküler yetmezliği ve arteriyel hipertansiyon hastası 4865 hastayı içeren çok merkezli klinik epidemiyoloji programında değerlendirilmiştir. Veri analizinde hastaların nörolojik semptomlarının şiddetinde anlamlı bir azalma ve ($p < 0.05$) Mini mental state examination (MMSE) skorlarında iyi düzelme ($p < 0.001$) gözlemlenmiştir(21).

Son klinik çalışmada, vinposetin ile tedavi edilen dolaşım bozukluğu ensefalopatisinde, etkilenen hasta grubunun tüm nörolojik sendromlarının iyileştirildiği bildirildi. 12 ay sonrasında, vinposetin kullanımı dolaşım bozukluğu ensefalopatisinde önemli bir düzelme göstermiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tedavi edilen hastalarda geçici iskemik ataklar geliştirme ve inme riskinde önemli bir azalmaya neden olmuştur(22). Kronik serebral hipoperfüzyon klinik özellikleri arasında bilişsel bozukluk ve çeşitli kökenlerden (subkortikal arteriosklerotik lökoensefalopatisi, vasküler demans, Alzheimer hastalığı, vb) organik psikiyatrik bozuklukların belirtileri vardır.



Resim 1.2: Lesser Periwinkle (Küçük Cezayir Menekşesi) (23).



Resim 1.3: Voacanga Africana meyvesi(24).

Birçok hücre çalışmasında TNF- α 'yı inhibe ettiği gösterilmiştir. TNF- α 'yı indükleyen IL- 1 beta, Monocyte chemo-attractant protein-1(MCP-1) ve düz kas adezyon molekül gibi reaktanlarının yazılımını inhibe ettiği gösterilen vinposetinin özellikle antiinflamatuvar ve antioksidan özelliği üzerinde durulmaktadır(25).

İskemi reperfüzyon hasarı tedavisi için birçok ilaç ve antioksidan maddeler denenmiş olup, halen üzerinde çalışılmaktadır. Bu çalışmamızda; antiinflamatuvar, antioksidan bir madde olan *vinposetinin* iskemik böbrek reperfüzyon hasarında böbrek dokusundaki enflamasyon ve oksidatif hasara karşı koruyucu ve tedavi edici etkileri araştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İSKEMİ

İskemi, organ veya doku kan akımındaki yetersizliğe bağlı olarak gelişen geri dönüşümlü ya da bazı durumlarda geri dönüşümsüz hücre ve doku hasarıdır. İskemi sonrasında dokuda hücresel fonksiyon bozukluklarına neden olacak bir dizi kimyasal olay başlar. Bu olay, organı perfüze eden kan akımındaki azalmaya bağlı olarak gelişip, hücre zedelenmesine yol açar. İskemik hasarın derecesi; hipoksinin derinliğine ve şiddetine bağlıdır. İskemi, kardiyak enfarktüs ve inmede akut olduğu gibi; kladikasyo da kronik olabilir. Yeniden kanlanma ile dokudaki hasar miktarı giderek artar. Geri dönüşümsüz hücre hasarını önleyebilmek için dokuya yeniden kan akımının sağlanması (reperfüzyon) gerekmektedir. Ancak reperfüzyonun gerçekleşmesi, iskemik dokularda paradoksal olarak iskeminin dokuda oluşturduğu hasardan daha fazla hasara yol açmaktadır. Bir dokuda iskemi sonucu oluşan hasar, dokunun aynı toplam sürede sadece iskemiye maruz kalması sonucu oluşan hasardan daha fazladır. Çeşitli nedenlerden oluşan iskemi reperfüzyona bağlı gelişen akut iskemi, ABY sebep olmaktadır. İskemik ABY, prerenal nedenlere ya da intrarenal mikrovasküler patolojilere bağlı olarak renal kan akımındaki bozulma nedeniyle ortaya çıkar ve tedavi edilmediğinde kronik böbrek yetmezliğine kadar ilerleyebilir (26- 29).

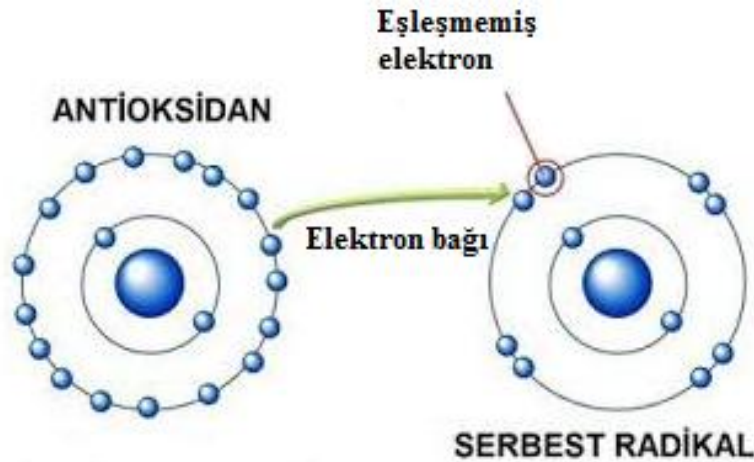
İskemik periyot süresince dokuda; Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) üretilir. Reperfüzyon sırasında SOR ve süperoksit radikalleri endotelial hasar, artmış mikrovasküler permeabilite ve doku ödemeine neden olmaktadır. Ayrıca aktive olan adezyon kuvvet molekülleri ve sitokinler SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) gelişimini başlatabilir. Bu yanıtlar İ/R hasarı olarak tanımlanır. Total oksijen tüketimimizin %90'dan fazlasından Elektron Transport Zinciri (ETZ), % 5-10'undan da diğer oksijen gerektiren reaksiyonlar sorumludur. Elektron transport zincirinde moleküler oksijen; glukoz, yağ asidi ve amino grup asitlerin karbon iskeletinden türeyen NADH ve FADH₂'den elektronları alarak suya indirgenir. Bu yolda; oksijen molekülünün kuvvetli oksitleyici gücü, ATP'nin yüksek enerjili fosfat bağı haline dönüştürülür. Moleküler oksijen gerektiren fakat

ATP'nin oluşumu reaksiyonuyla eşleşmeyen diğer reaksiyonlar, amino grup asitlerin katabolizması, ilaçların detoksifikasyonu ve steroid hormonların sentezi gibi spesifik metabolik yollar için önemlidirler. Bu reaksiyonlarda diğer oksidazlar (oksijeni suya veya hidrojen peroksida indirgeyen enzimler) ve oksijenazlar (oksijeni okside olan moleküle bağlayan enzimler) görev alırlar (30).

2.2. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

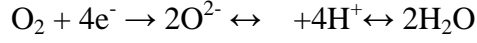
2.2.1. Oksijen Radikallerinin Kaynakları

Serbest radikal, tanım olarak en dış yörüngelerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış e^- (elektron) içeren atom ya da moleküllere verilen isimdir. Moleküler oksijen, dış yörüngesinde 2 paylaşılmamış e^- içermesinden dolayı bir biradikaldir. Bu iki paylaşılmamış elektronların birbirlerine paralel yörüngeleri mevcuttur. Bundan dolayı moleküler oksijenin katıldığı tüm reaksiyonlarda yörünge kısıtlıdır, bu nedenle reaksiyon hızları daha yavaş olmaktadır.

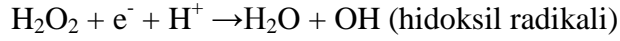
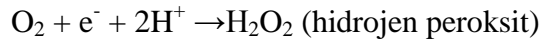
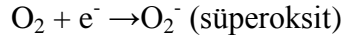


Şekil 2.1: Antioksidan -Serbest Radikal ilişkisi (31).

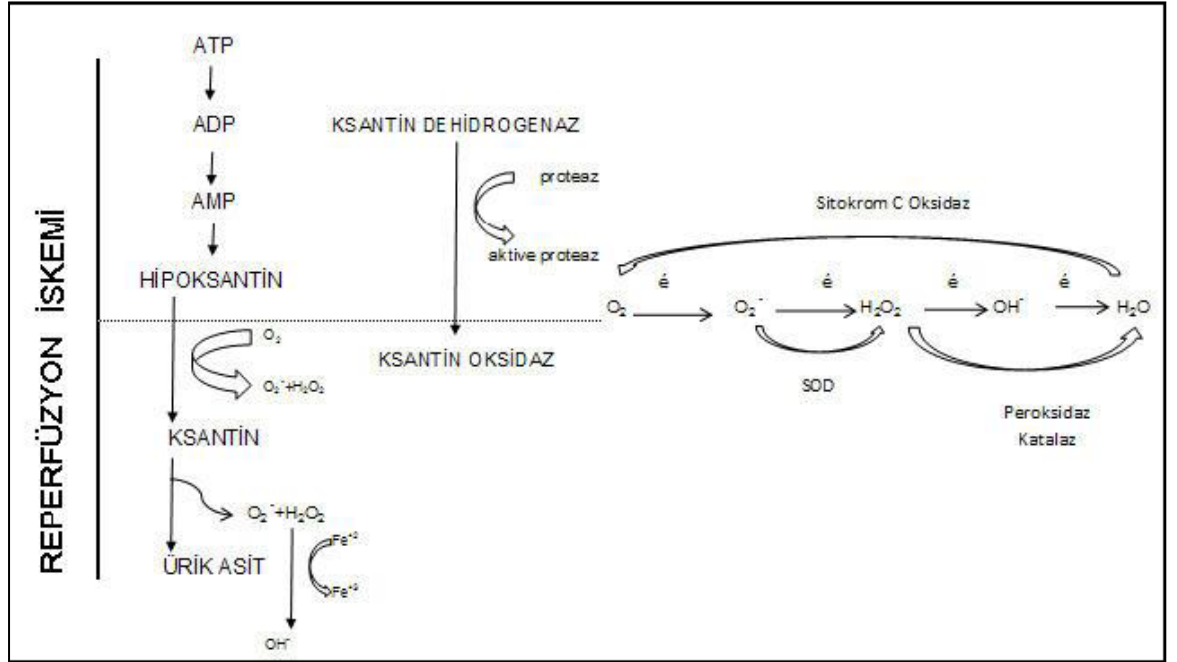
Hücreler enerjilerini aerobik olarak, moleküler oksijen (O₂) ve suya (H₂O) indirgeme yoluyla elde ederler. Sitokrom C oksidaz enzimi ile katalize edilen ve oksijene 4 e⁻ transferi ile başlayan tetravalan reaksiyon su oluşumu ile sonuçlanır.



Bunun yanında hücre tarafından O₂ tüketiminin % 1'inde O₂ tetravalan olarak indirgenmez ve univalan basamaklarda indirgenir. Bu da 3 tip reaktif ara ürünlerin oluşmasına neden olur. Bunlar:

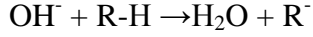


Oksijene 1 e⁻ transfer olursa süperoksit anyon radikali (O₂⁻) üzerinden çok sayıda reaktif oksijen türevi ortaya çıkar. Süperoksit, hidrojen perokside dismutazlanır (H₂O₂+ O₂⁻).



Şekil 2.2: İ/R hasarında serbest oksijen radikallerinin oluşumu (6).

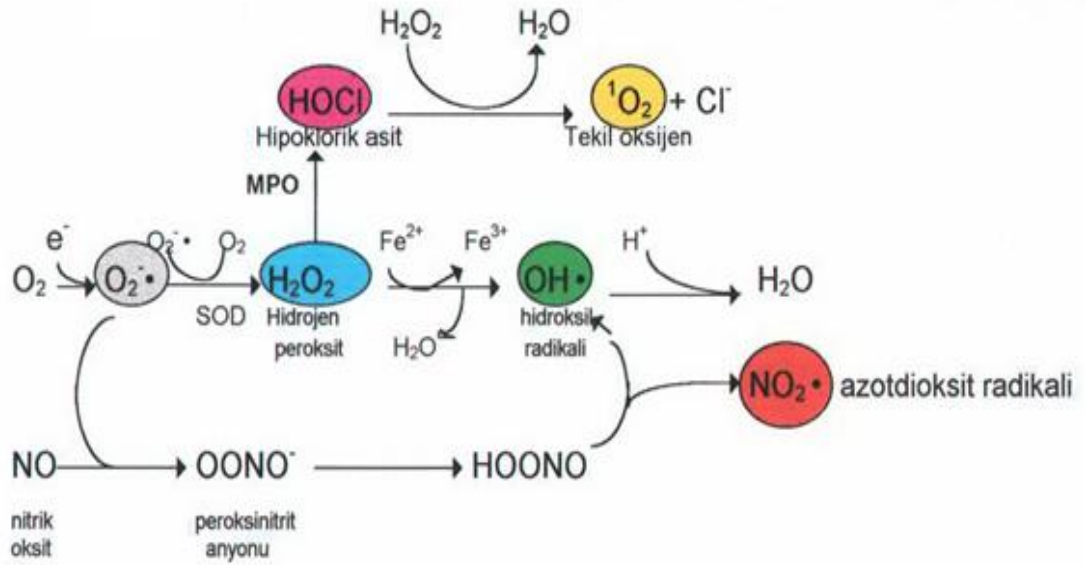
Daha fazla elektron eklenmesi için demir (Fe^{++}) ile katalizlenen bir reaksiyon ile oksijen atomları arasında bağların kurulması gerekir ve bu reaksiyon sonucunda yüksek derecede reaktif olan hidroksil radikali (OH^+) ortaya çıkar(32).



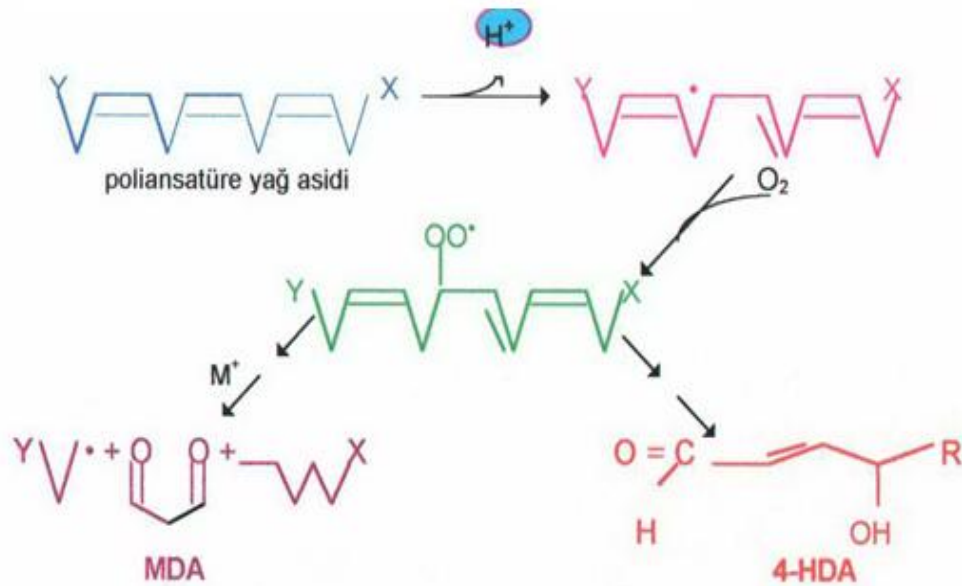
Oluşan OH^+ birden fazla hidrojen atomunu paylaşabileceği herhangi bir molekül ile reaksiyona girer. Aerobik metabolizma esnasında sürekli bir O_2^- ve H_2O_2 üretimi vardır. Bunlar biyosentez, intraselüler sinyalizasyon ve hatta mikroorganizmaların yok edilmesinde kullanılır(33,34).

Fizyolojik olarak bakterisid, patolojik olarak enflamasyon yapıcı bir ajan olan hipoklorik asit ($HOCl$) nötrofillerde myeloperoksidaz ile enzimatik olarak oluşturulur. Hipoklorik asidin hidrojen peroksid ile reaksiyonu sonucu “singlet oksijen” (O_2+H_2O) oluşur.

Singlet Oksijen: Ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur. Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileşime girdiğinde içerdiği enerjiyi ya transfer eder ya da bağlı tepkimelere girer. Karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Reaktif oksijen türevlerinin diğer kaynakları arasında radyasyon (Ultraviyole(UV) ışını), toksik kimyasallar (Parakuat) ve ilaçlar (Bleomisin, Adriamisin) yer alır(35).



Şekil 2.3: Reaktif Oksijen Türevlerinin Oluşumu (36)



Şekil 2.4: Doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu (36).

2.2.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri

Böbrek iskemisi ve sonradan oluşan reperfüzyon ile birlikte çeşitli derecelerde doku hasarı oluşturmaktadır. Böbrek İ/R hasarında, iskemi sonrası böbrek fonksiyon bozukluklarında SOR önemli rolü bulunmaktadır(37).

İskemik böbrek hasarında, renal perfüzyonun bozulması sonucu oluşan ve böbrek fonksiyonlarının bozulmasında temel patoloji olan tubuler hasarın yanı sıra, yeniden perfüzyon sağlandıktan sonra üretilen serbest radikaller de önemli bir yere sahiptir(38).

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır:

- a) Nükleotid yapılı koenzimlerin yıkımı,
- b) DNA' nın tahrip olması,
- c) Steroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi,
- d) Lipid peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
- e) Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler,
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
- g) Protein ve lipitlerle kovalan bağlantılar yapması,
- h) Mukopolisakkaritlerin yıkımı,
- i) Proteinlerin tahrip olması ve protein döngüsünün artması,
- j) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması,
- k) Kollojen ve elastin gibi proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşmasıdır(39).

A. Membran Lipidlerine Etkileri

Lipid peroksidasyonunda, hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidi (PAYA) ile oksijen radikali, lipit hidroperoksitlerini oluşturmak için reaksiyona girer. PAYA'ların oksitlenmesi ile yağ asidi radikali oluşur. Buna oksijenin eklenmesi ile lipid peroksi radikali oluşur. Peroksi radikali zincir reaksiyonunun taşıyıcısıdır. Eğer E vitamini gibi bir antioksidan tarafından önlenmezse komşu PAYA moleküllerini okside eder(39,40).

Yeni radikallerin ve toksik aldehitlerin oluşmasına neden olan lipid hidroperoksitleri meydana gelir. Lipid peroksidasyonu membran yapısına zarar verir. Membran geçirgenliği ve membran akışkanlığı ciddi şekilde etkilenir. Lipid peroksitlerinin yıkımından oluşan ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). Bu, protein ve fosfolipidlerle çapraz bağ ve polimerizasyon yaparak özelliklerinin kaybolmasını sağlar. Hücrenin her tarafına dağılarak, özellikle sülfidril içeren enzimleri inaktive eder. Sonuç olarak iyon transport bozuklukları, enzim aktivite değişiklikleri, hücre bileşenlerinin agregasyonu gibi değişiklikler ortaya çıkabilir(41,42).

Membranda lipid peroksidasyonu sonucu:

- 1- Membran transport sistemleri bozulur.
- 2- Hücre içi ve hücre dışı iyon dengeleri bozulur.
- 3- Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve proteazlar aktive olur.
- 4- Hücre içi organellerde oluşan lipid peroksidasyonu ve litik enzimlerin salgılanmasına bağlı hücre hasarı gelişir.

B. Proteinlere Etkileri

Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme derecesi, aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, sistein gibi aminoasitler kolaylıkla etkilenirler. Çünkü doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksektir. Etkileşim proteinlerin spesifik bölgeleri üzerinde yoğunlaşmışsa hücrenin canlılığını olumsuz yönde etkileyebilir(43).

C. Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar. DNA serbest radikallerden kolayca etkilenir. Çünkü hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlar ile kolayca reaksiyona girebilir. Nötrofillerden kaynaklanan H₂O₂, membranlardan kolayca geçip hücre nükleusuna ulaşarak DNA hasarı,

hücre disfonksiyonu ve ölüme yol açabilir(44).

D. Karbonhidratlara Etki

Özellikle monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bir okzoaldehit olan glikozil, DNA ve RNA arasında çapraz bağ oluşturma özelliğinden dolayı antimitotik etki gösterir. Yine süperoksit ve hidrojen peroksitin in vitro olarak hyaluronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir (45).

2.3. HASAR MEKANİZMASI

Reaktif oksijen radikalleri; lipidler, proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlarla reaksiyona girebilir. Başlangıç reaksiyonunda ikinci bir radikal ortaya çıkar ve diğer bir makromolekülle reaksiyona girerek zincir reaksiyonunu devam ettirir. Hidrojen atomunun ortamdan ayrılması ile lipid peroksidasyonu süreci başlar (Şekil 6). Burada çeşitli son ürünler oluşur. Bu ürünler; MDA, 4-hidroksialkenaller (4-HDA), konjuge dienler ve hidrokarbonlardır. Bu ürünler lipid peroksidasyonunun ölçülebilir ürünleridir. Aldehitlerin ölçümü için tiobarbütirik asit reaksiyonu spesifik olmayan bir reaksiyon olmamasına karşın konjuge dienlerin ölçümü için UV absorpsiyonu daha spesifik fakat az duyarlı ve hidroksi yağ asitlerinin ölçümü için kütle spektral analizler son derece duyarlıdır. Bununla birlikte MDA ve 4-HDA'nın kalorimetrik assay ile ölçümü duyarlı ve spesifik metotlar olması yönünden daha kullanışlıdır(46).

Malondialdehit

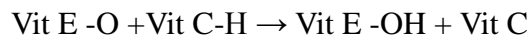
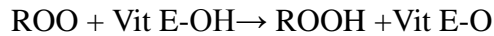
Malondialdehit formülü: $\text{CH}_2 (\text{CHO})_2$ olan bir organik bileşiktir. Bu reaktif bileşik doğal olarak oluşur ve oksidatif stresin bir belirtecidir. MDA genelde enol formunda bulunur. Reaktif oksijen türleri, poliansatüre lipidleri indirgeyerek MDA'yı oluşturur(47). Bu bileşik reaktif bir aldehiddir ve hücrelerde toksik strese neden olan birçok reaktif elektrofil

türlerinden bir tanesidir. Gelişmiş lipit peroksidasyonunun son ürünü olarak adlandırılan bir kovalent protein eklentileri oluşturur. Bu aldehid oluşumu, bir organizmadaki oksidatif stres seviyesinin ölçülmesinde biyomarker olarak kullanılır(48,49).

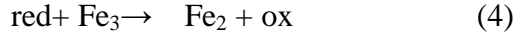
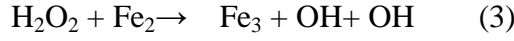
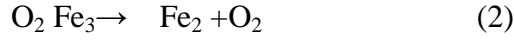
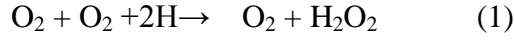
2.4. SAVUNMA MEKANİZMASI

Memeli hücreleri radikalleri metabolize (detoksifiye) edebilecek, radikal hasarı önleyebilecek enzimatik ve nonenzimatik mekanizmalara sahiptir(46). Süperoksid dismutaz (SOD), O_2 'nin $H_2O_2 + O_2$ 'ye dönüşümünü katalize eder. H_2O_2 katalaz yoluyla $O_2 + H_2O$ 'ya dönüşür. Fizyolojik olarak daha büyük önem taşıyan glutatyon peroksidaz enzimi indirgenmiş glutatyon (GSH) yoluyla H_2O_2 'yi ortamdan uzaklaştırır. Bu enzim aynı zamanda benzer bir reaksiyon ile lipid hidroperoksidleri detoksifiye edebilse de fosfolipidler içindeki lipid hidroperoksidlere etkisiz kalmaktadır. Fosfolipidler içindeki lipid hidroksiperoksidler glutatyon peroksidazın membrana bağlı olan türevi ile detoksifiye edilirler(50-51).

Non enzimatik savunma mekanizmaları arasında; α -tokoferol (Vit E) ve askorbat (Vit C) doğrudan radikal giderici ve zincir kırıcı olarak görev yaparlar. Oluşan ürün de kendi başına bir radikal olsa da daha az aktiftir. E vitamini radikali C vitamini ile reaksiyona girerek dihidroaskorbik asidi oluşturur. Bu reaksiyonlar mebranları su lipid düzeyleri üzerinde gerçekleşmek zorundadırlar.

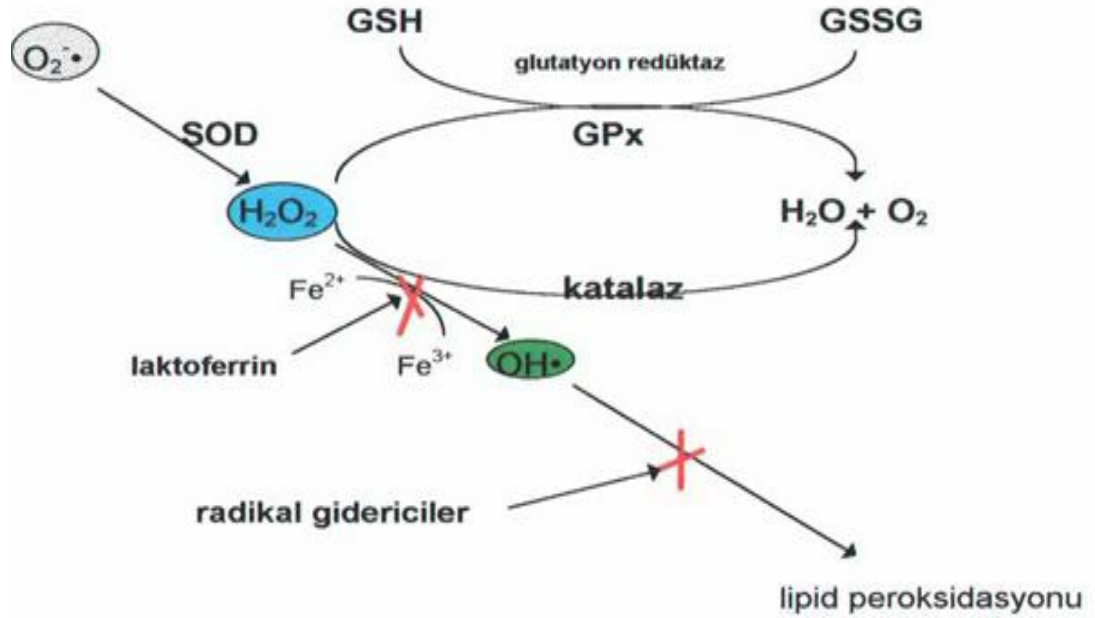


Süperoksid ve hidrojen peroksid aslında suçlandıkları kadar toksik değillerdir. Yüksek derecede toksik olan hidroksil radikalının oluşumu sırasında yapılarına katılan serbest geçiş metallerinin varlığı nedeniyle bu kadar toksik davranmaktadırlar(52).



1. reaksiyon SOD tarafından katalizlenir.

2.ve 3. reaksiyonlar Haber-Weiss reaksiyonu olarak bilinmektedir. Bu reaksiyonlar aslından demir bağlayarak gerçekleşiyor olsa da bakır bağlayarak da oluşabilir. Ferritin, transferrin ve laktoferrin radikal giderici olarak ifade edilseler de bu özellikleri aslında şelasyon yapıcı olarak OH^- oluşumunu önlemelerine dayanmaktadır (Şekil 6).



Şekil 2.5: Reaktif Oksijen Hasarına Karşı Savunma Mekanizmaları.

2.5. ANTIOKSİDANLAR

Serbest radikaller, organizmada normal metabolik yolların işleyişleri sırasında sürekli oluşan ve endojen antioksidanlar adı verilen moleküller tarafından etkisizleştirilen maddelerdir. Ancak belirli bir düzeyin üzerinde oluştuklarında veya antioksidan sistemin yetersizliğinden serbest radikal molekülleri, organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler ve enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar(53-55).

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri olarak bilinirler.

Başlıca antioksidan etki çeşitleri şunlardır:

1) Süpürücü etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma ve yok etme etkisine denir. Antioksidan enzimler ve küçük moleküller bu yolla etki gösterirler.

2) İnaktif şekle dönüştürücü etki: SOR ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir.

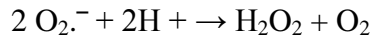
3) Zincir kırıcı etki: SOR'u bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

4) Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir (56).

Ekzojen ve endojen olmak üzere çeşitli tipte antioksidan maddeler mevcuttur. Bunlardan Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz, katalaz, mitokondriyal sitokrom oksidaz, hidroperoksidaz enzimatik endojen antioksidanlardır. Melatonin, seruloplazmin, transferin, myoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, sistein, albumin enzimatik olmayan antioksidanlardır. Ekzojen antioksidanlara ise vitamin C, askorbik asit, α -tokoferol örnek olarak verilebilir(57).

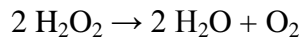
2.5.1. Enzimatik Endojen Antioksidanlar

1) Süperoksid Dismutaz: Serbest oksijen radikallerine karşı majör korunma sistemi antioksidan enzim sistemidir. Bu enzim sisteminde yer alanlarından en önemlisi süperoksit radikalini moleküler oksijen ve hidrojen peroksit'e dönüştüren reaksiyonu katalizleyen SOD'dur. SOD enzimi süperoksidin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Selüler bölmelerdeki süperoksid düzeylerini kontrol etmede önemli bir rol oynar(53,58-59).



SOD'un katalize ettiği reaksiyonun hızı spontan reaksiyonun yaklaşık 4000 katıdır. Fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksid serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı koruyup; lipid peroksidasyonunu inhibe etmektir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO₂ artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksid olmasına rağmen bu enzim sayesinde intraselüler süperoksid düzeyleri düşük tutulur. SOD'un ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür.

2) Katalaz: Her biri bir prostetik grup olan ve yapısında Fe⁺³ bulduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir(60). Katalaz (CAT)'ın görevi, H₂O₂'yi oksijen ve suya parçalamaktır ve 4 tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak, bu enzim bir H₂O₂'i elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir(61).



Katalazın indirgeyici aktivitesi, H₂O₂ ve metil-etil hidroperoksidleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksidlerine etki etmez.

3) Glutasyon Peroksidaz: Özellikle fagositik hücrelerde önemlidirler. Selenyum bağımlı ve selenyum bağımsız iki farklı tipi vardır. Hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir (62).

4) Glutasyon Transferaz: Dimerik yapıda olup sitozolde bulunmaktadır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda rolleri olan GST'ler çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin konjugasyonunu katalize eder (57).

2.5.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar

GSH, melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, sistein, metiyonin, urat, laktoferrin, albümin bu grupta yer alan endojen antioksidanlardır.

2.5.3. Ekzojen Antioksidanlar

1) Vitamin ekzojen antioksidanlar

α - tokoferol (vitamin E), β -karoten, Askorbik asit (vitamin C) ve Folik asit.

2) İlaç olarak kullanılan ekzojen antioksidanlar

- Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, tungsten)
- NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, Ca kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar)
- Rekombinant süperoksit dismutaz
- Trolox-C (vitamin E analogu)
- Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (ebselen ve asetilsistein)
- Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
- Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
- Nötrofil adezyon inhibitörleri
- Sitokinler (TNF ve IL-1)
- Barbitüratlar
- Demir şelatörleri(63).

2.6. REPERFÜZYON

İskemik dokudaki kan dolaşımının ilaçlarla ya da girişimsel yöntemlerle yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir. Klinik olarak İ/R hasarı sıklıkla organ nakli, iskemik serebrovasküler olay, miyokard enfarktüsü, şok, resüsitasyon ve turnike uygulamaları sonrasında görülmektedir(64). İskemi sonrası kan akımının tekrar başlaması paradoksal olarak iskeminin oluşturduğu hasarı artırır ve iskemik dokularda iskeminin oluşturduğu hasardan daha fazla hasara yol açabilir. İ/R süreçlerinden oluşan bu zararlı etkilerin tümü İ/R hasarı olarak adlandırılır(65).

İ/R hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar;

- 1) Serbest oksijen radikalleri,
- 2) Polimorf nüveli lökositler (PMNL),
- 3) Kompleman sistemi,
- 4) Endotel hücreleri olmak üzere başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında yer almaktadır(45).

Reperfüzyon hasarının oluşmasında iki mekanizma etkilidir. Bu mekanizmalardan biri hidrolitik bir enzim olan fosfolipaz A2' nin iskemik dönemde Ca etkisiyle aktive olarak membranlardaki yağ asitlerini parçalaması, diğer mekanizma ise SOR açığa çıkmasıdır(66-67).

İskemik periyot süresince dokuda üretilen toksik SOR ve O₂- radikalleri reperfüzyon sırasında endotelyal hasar, artmış mikrovasküler permeabilite ve doku ödemeine sebep olmaktadır(68,69). Ayrıca aktive olan adezyon molekülleri ve sitokinler sistemik enflamatuvar yanıtı başlatabilir. Dolaşım tekrar başladığında fazla miktardaki nikotin amid dinükleotid (NADH) oksijen ile reaksiyona girerek süperoksit oluşturur. Nötrofillerin membranlarında bulunan nikotinamid dinükleotid fosfat (NADPH)'ya bağlı oksidaz enzim sistemleri serbest oksijen radikali oluşumunun en önemli kaynağıdır. Araşidonik asitten oluşan lökotrienler trombosit ve lökositlerin, süperoksit ise lökositlerin damar duvarına adezyonunu artırır(6,31).

İnflamatuvar olaylarda salınan TNF- α , İ/R hasarında önemli yeri olan mikrovasküler disfonksiyona neden olur. Permeabilitedeki artış proteinlerin interstisyuma ekstravaze olmasına neden olmakta ve bu da ödemle sonuçlanmaktadır(72). Şekil bozukluğu olan, adezyona ve migrasyona uğrayan lökosit sayısında, İ/R sonrası çok büyük artışlar olduğu gözlenmiştir. Ayrıca fonksiyonel kapiller damar sayısında da azalma olduğu saptanmıştır(69-71).

İ/R hasarında lökositlerin, özellikle PMNL'in önemli rolleri vardır. PMNL aktivasyonu, organ hasarı ile sonuçlanan çoğu hastalığın patofizyolojisinde rol alır. Artan SOR'un başlattığı lipid peroksidasyonu ve protein hasarı sonucu hücre fonksiyonları bozulur ve doku nekrozu meydana gelir. SOR hem dokuya doğrudan zarar vermekte hem de PMNL' in hasarlı dokuda birikmesine yol açmaktadır. Dokuya gelen aktive PMNL'ler, myeloperoksidaz (MPO), elastaz, proteaz, kollajenaz, laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Bu enzimler dokudaki hasarı arttırırken daha fazla SOR oluşmasına neden olurlar(55).

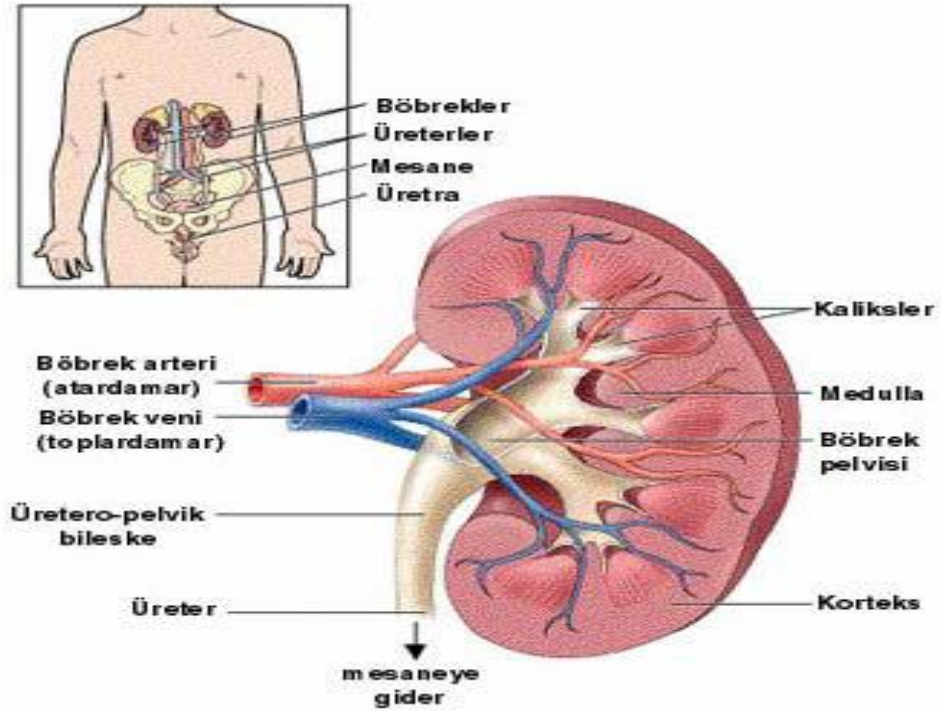
2.7. BÖBREĞİN ANATOMİSİ

Böbrekler karın arka duvarı retroperitoneal bölgede her iki yanda bulunurlar. Sağ böbrek, üstündeki karaciğerden dolayı sol böbreğe göre biraz aşağıdadır. Her biri yaklaşık 150-200 gr ağırlığında, 12-13 cm uzunluğunda, 6-7 cm eninde ve 3 cm derinliğindedir. Medial yüzü paraspinal kaslar tarafından desteklenir. Üst kutuplarının arka kesimleri alt kostalarla komşudur. Kubbesindeki adrenal bezle birlikte ince bir bağ dokusu perirenal veya *gerota fasiyası* tarafından sarmalanmıştır. Bu fasiya bir bariyer görevi görür. Gerota fasiyasının iç ve dış yüzü yağ dokusuyla doludur. Bir böbreğin normal uzunluğunun 2,5 vertebral korpusa denk gelmesi kuraldır(73-75).

Sağ böbrek karaciğerin arkasında uzanır. Kolonun hepatik fleksurası sağ böbreğin alt kutbunu çaprazlayarak devam eder. Solda böbrek hilusu ve üst 2/3 bölümü retroperitoneal pankreas kuyruğu ve dalak damarıyla komşudur. Yukarıda mide arka duvarıyla komşuluk yapar. Pankreas kuyruğunun alt medialinde peritoneal kese içinde jejunum ile komşudur(76).

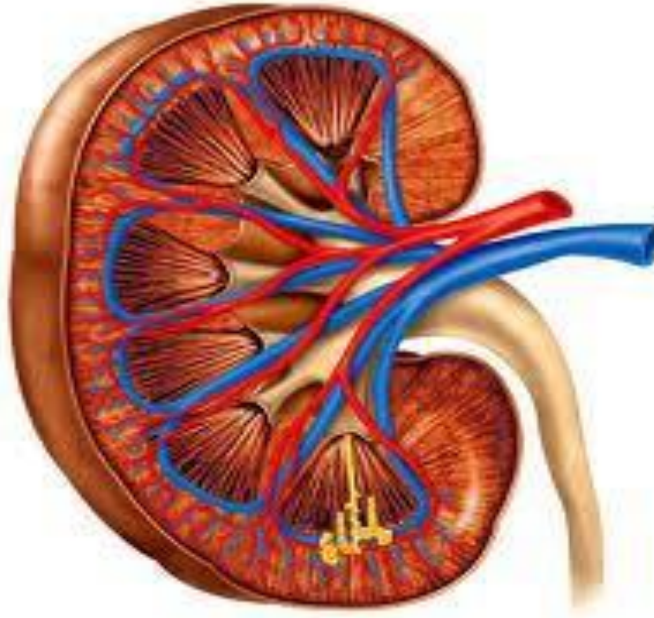
Böbreğin tüm yüzeyi kalın fibröz bir kapsülle örtülüdür. Kapsülün hemen altında yer alan böbrek parankiminin en dışına *korteks*, korteksle toplayıcı boşluklar arasında kalan

kesimine de *medulla* denir. Korteks bölgesinde glomeruller, proksimal ve distal kıvrıntılı tübüller ve toplayıcı kanallar bulunur. Böbrek parankiminin daha derin bölgeleri medulladır(Resim 3). Medullanın kortekse yakın kesimlerinde *henle kulpu*, vaza rekta ve toplayıcı kanalların terminal uçları bulunur. Medullada en önemli yapılar, geniş tabanlı kortikomedullar birleşim hattında, sivri ucu renal pelvise bakan *renal piramidler*dir. Piramidin pelvise bakan sivri ucuna *papilla* denir. Üreterin hilusta genişleyerek oluşturduğu huni biçimli yapıya *renal pelvis* denir. Renal pelvis dallanarak kaliksleri oluşturur. Pelvisin en dışında majör kaliksler ve onların bölmeleri olan minör kaliksler yer alır. Her iki böbrekte de iki majör kaliks, 10-12 minör kaliks bulunmaktadır. Papillalar minör kalikslere açılırlar. Renal arter, ven, lenfatikler, sinirler ve üreterin böbreğe giriş çıkış yaptığı mediale bakan yüzüne *hilus (hilum)* denir. Hiler yapılar; en önde ven, arada arter ve en arkada pelvis olacak şekilde sıralanmışlardır(73,74).



Resim 2.6: Böbreğin anatomik yapısı(77).

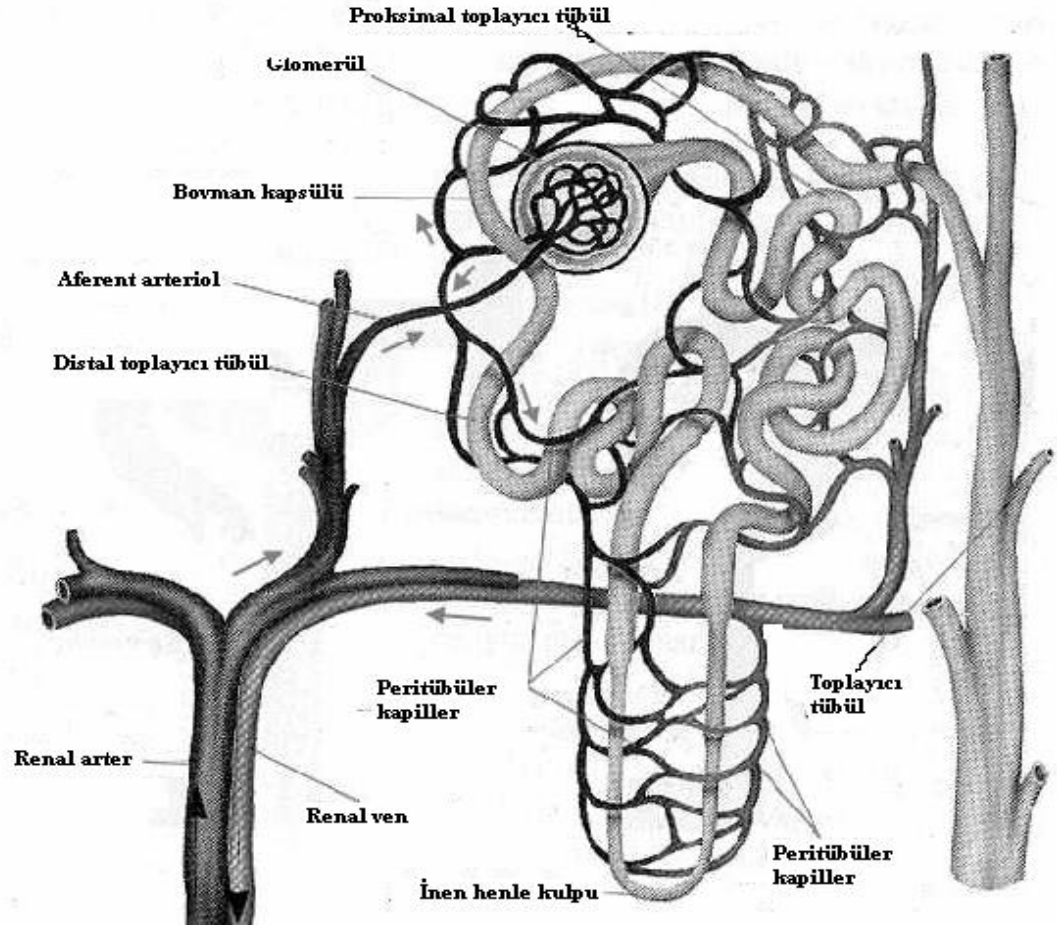
Kan, böbreklere aortanın her iki yanından süperior mezenterik arterin çıktığı yerin altından ayrılan renal arterler yoluyla gelir. Bu arterler böbrek hilusuna tek bir dal halinde ulaşırlar. Arter tam hilusta ön ve arka segmenter dallarına ayrılır. Arkaya giden dal böbreğin kutupları dışında kalan bölgelerine kan taşır. Ön dal ise genellikle kanı üst ve alt kutuplara ve gövdeye taşıyacak 4 dala bölünür. Bu iki segmenter arter gerçek anlamda birer uç arterdir ve aralarında kollateral ilişki yoktur. Bu nedenle varyasyonlar hariç böbreğin ön ve arka yarılarının birleştiği çizginin (*Brodell hattı*) avasküler olduğu kabul edilir ve parankim açılacaksa bu hat boyunca açılması önerilir. Böbreğin venöz kanı; asendan vazo rektadan sonra arterlerin yanında seyreden interlobüler, interlobar ve segmenter venlerle renal vene dökülür. Komşu arterde olduğu gibi sol renal venlerle ilgili varyasyonlar da siktir. Sol renal ven sağdakinden boyca da uzundur(73).



Resim 2.7: Böbreğin Vasküler Anatomisi (78).

2.8. BÖBREK HİSTOLOJİSİ

Her böbrek ortalama 2 milyon adet *nefron* içerir. Böbreğin yapısal ve fonksiyonel birimi olan nefron birbiri ile bağlantılı bölümlerden oluşur. Nefronun ilk parçası olan *malpighi*'nin renal korpüskülleri, korteks dokusu içerisinde yer alır. Her bir nefron; renal cisimcik, proksimal tübül, henle ve distal tübülden oluşmaktadır. Her renal cisimcik *glomerül*den oluşmuştur. Glomerül iki tabakalı epitelyal bir kapsül olan *bowman kapsülü* ile sarılmıştır. Kapsülün iç tabakası(visseral tabaka) glomerülün kapillerlerini örter. Dıştaki tabaka pariyetal tabakadır. Bowman kapsülünün pariyetal tabakası ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. Glomerülün üzerini saran visseral yaprağın hücreleri ise yıldız şekilli uzantılı hücrelerdir, bunlara *podosit* denilmektedir. Glomerül kapillerlerinde, iki ya da daha fazla saydaki kapilleri ortak olarak saran kapiller duvarına tutunan *mezangiyal hücreler* yer alır. Hücreler kendilerini saran ve kapiller duvarına destek olan amorf matriksi sentezler(79).



Resim 2.8: Nefronun anatomik yapısı (79).

Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epiteli proksimal kıvrımlı tübüllerde prizmatik epitel şeklinde devam eder. Hücre apeksinde fırçamsı kenarı oluşturan çok sayıda mikrovilluslar bulunur. Nefronun en uzun ve en geniş parçası olan proksimal tübülün kıvrımlı parçası kortekste seyrederken, düz parçası medullaya doğru inerek henle kulpunun kalın inen parçasını oluşturur. Henle kulbu; kalın ve ince inen kol ile kalın ve ince çıkan koldan oluşan yapıdır. Distal kıvrımlı tübül tek katlı kübik epitelle döşelidir. Distal tübül hücrelerinde fırçamsı kenarlar bulunmaz. Glomerülün afferent arteriolüne yakın konumda bulunan tübülün yoğunlaşmış epitel hücrelerine *macula densa* denilir. Renal cisimciğin hemen bitişiğinde afferent arteriyolün tunika mediyasında modifiye düz kas hücreleri bulunmaktadır. Bu hücrelere *jukstaglomerüler hücreler* adı verilir(80).

2.9. BÖBREK FİZYOLOJİSİ

Böbreğin idrar oluşturma fonksiyonu her biri ayrı bir ünite olan nefronlar tarafından sağlanır. Her nefron, kandan büyük miktarda sıvının filtre olduğu glomerül ve böbrek pelvisi içindeki yolu boyunca, filtre edilen sıvının idrara dönüştüğü uzun bir tübül içerir. Glomerül, diğer kapiller ağlar ile kıyaslandığında daha yüksek hidrostatik basınca sahip, dallanan ve anastomoz yapan kapiller bir ağdan oluşmuştur. Tüm glomerül *bowman kapsülü* ile sarılmıştır. Glomerül kapillerlerinden filtre olan sıvı, bowman kapsülü içine ve sonra böbrek korteksindeki proksimal tübül içine akar. Sıvı, proksimal tübülden böbrek medullasına doğru inen henle kıvrımına akar. İnen kolun ve çıkan kolun alt ucunun duvarları incedir, bu nedenle henle kıvrımının ince kısmı olarak isimlendirilir. Henle kıvrımının inen kolu, kortekse doğru dönüş yaptıktan sonra, tübül sistemin diğer kısımlarında olduğu gibi duvarı kalınlaşır; bu yüzden çıkan kolun kalın kısmı olarak adlandırılır. Makula densa, nefron fonksiyonunun kontrolünde önemli rol oynar. Makula densadan sonra sıvı proksimal tübül gibi böbreğin korteksinde yerleşmiş olan distal tübüle ulaşır. Distal tübülü, birleştirici tübül ve kortikal toplayıcı tübül izler. Sıvı, buradan kortikal toplayıcı kanala ulaşır. Yaklaşık 8-10 adet kortikal toplayıcı kanalın başlangıç kısımları birleşerek medullada seyreder ve meduller toplayıcı kanal denilen daha geniş bir toplayıcı kanal yaparlar. Toplayıcı kanallar birleşerek giderek daha genişleyen kanalları oluştururlar ve sonunda renal papillanın tepesi aracılığı ile böbrek pelvisine boşalırlar(81).

Normal bir erişkin günde 1000-1500 ml idrar çıkartır. Bu son idrar, glomerüler filtrasyon, tübüler filtrasyon ve sekresyon şeklinde özetlenen ve her bir nefronda ayrı ayrı meydana gelen fonksiyonların sonucudur. Bu son idrarın başlıca özellikleri; normal koşullarda 0°C de idrar dansitesi 1015-1025 arasındadır, yani plazmaya göre hipertondiktir. İdrar dansitesi genellikle idrar miktarı ile ters orantılıdır. Böbrekler fizyolojik koşullarda, organizmanın hidrasyon durumuna göre idrarı dilüe (1001-1002'ye kadar) ve konsantre (1035-1036'ya kadar) etme yeteneğine sahiptir. İdrar dansitesi 1008-1010 civarında ise izosmotiktir. İdrar pH'sı sabit olmayıp belirli sınırlar içinde değişir. Böylece asit baz dengesinin regülasyonunda rol oynar. Normal beslenen bir insanın idrar pH'sı ortalama 6,2'dir ve 4,8'e inemediği gibi 8,2'e kadar da çıkabilir(82).

3. ARAÇ GEREÇ YÖNTEM

3.1. Anestezi Uygulaması

Çalışmamız İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi 14.03.2014 tarih ve 2014/A-26 Protokol no'lu Etik Kurulu onayı ile izin alındıktan sonra gerçekleştirildi. Çalışmamız ayrıca İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından desteklendi (Proje No: BAP-2013/93).

Bu çalışmamızda, İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilmiş ve standart laboratuvar koşullarında (22 ± 1 $^{\circ}\text{C}$, % 60 nem ortamında, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusunda) tutulmuş, ad-libitum olarak beslenen, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip rastgele seçilen sekizerli 5 gruptan oluşan toplam 40 adet Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Hayvan atıklarının uzaklaştırılması, su ve yemlerinin sağlanması, kafeslerin temizlenmesi ve kontrolü merkezin veteriner hekimi ve personelleri tarafından yapıldı.

Sağlık Araştırmaları Ulusal Topluluğunun "Laboratuvar hayvanları bakım prensipleri" ve Laboratuvar Hayvan Kaynakları Enstitüsü ile Ulusal Sağlık Enstitüsünün yayınladığı, "Laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanım kılavuzu" doğrultusunda deney hayvanları çalışması yapıldı. Çalışma, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi, Turgut Özal Tıp Merkezi Merkez Laboratuvarı, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı ve İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

3.2. Deney Grupları

Grup 1) Sham grubu; (n=8) : Laparotomi yapıldı. Sağ nefrektomi yapıldı ama herhangi bir ilaç uygulanmadı. Cilt suture edildi.

Grup 2) Sham + vinporetin grubu; (n=8) (10 mg/kg/ip) : Sağ nefrektomi yapılan ratlara i.p. yolla 10 mg/kg vinporetin uygulandı.

Grup 3) İ/R grubu; (n=8) Sağ nefrektomiyi takiben, sol renal arter klemplendi, 60 dk iskemiye maruz bırakıldı, klemp açılıp 24 saat reperfüzyon uygulandı.

Grup 4) İ/R öncesi vinposetin grubu; (n=8) (10 mg/kg/ip)

Sağ nefrektomi yapıp i.p. yolla 10 mg/kg vinposetin uygulandı ve sol böbrek 60 dk iskemiye bırakıldı, klemp açılıp 24 saat reperfüzyon uygulandı.

Grup 5) İ/R sonrası vinposetin grubu; (n=8) (10 mg/kg/ip)

Sağ nefrektomi uygulandıktan sonra, i.p. yolla 10 mg/kg vinposetin uygulandı. Sol böbrek 60 dk iskemiye maruz bırakıldı, klemp açılıp 24 saat reperfüzyon uygulandı.

3.3. Cerrahi İşlem

Operasyondan önce ratlara, anestezi için % 2'lik ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer) 10 mg/kg ve ketamin hidroklorür (Ketalar, Phizer) 50 mg/kg i.p. yolla uygulandı. Karın bölgeleri tıraş edildikten sonra alttan ısıtmalı ameliyat masasına supin pozisyonunda yatırıldı. Ardından % 10 povidon-iyot ve steril gazlı bez ile operasyon alanı temizlendi. Sonra karın üst kısımlarına yapılan 3 cm'lik median insizyonla cilt, ciltaltı, fascia ve periton açıldı. Barsakların ıslak gazlı bezle yardımıyla uzaklaştırılmasından sonra böbreklere ulaşıldı. Renovasküler yatak görünür hale geldikten sonra, sağ böbrek bulunarak üreteropelvik bileşke diseke edildi ve renal pediküle ulaşıldı. Kontrol grubundan sağ nefrektomi sonrası böbrek dokusu alındı. İ/R, İ/R sonrası vinposetin ve İ/R öncesi vinposetin verilen gruplarda sol böbrek pedikülü dokuya zarar vermeyen 0,4-1,0 mm uzunluğundaki damarlarda kullanılan sutur ipi kullanılarak klemlendi. 60 dk sonrasında klemler kaldırıldı, klemp uygulama sonrası böbreklerde renk değişikliği gözlemlendi.

Biyokimyasal analiz için tüm gruplardan intrakardiyak ponksiyonla kan örneği alındı. Alınan 4-5 cc kan, santrüfüj edilip serum elde edildikten sonra, biokimyasal ölçüm zamanına kadar -30 °C'de muhafaza edildi. Abdominal insizyon 3-0 ipek suturla kapatıldı. Protokol uygulandıktan sonra sıvı kaybı için batın içerisine 2 cc sıvı replasmanı gerçekleştirildi ve işlem sonrası sağ nefrektomi yapıldı. Çıkarılan böbrekler transvers olarak ikiye ayrıldı, anterior parçalar % 10 formol içeren flakonlara alınarak +4 °C'de saklandı. Posterior parçalar alimünyum folyolara sarılarak -85 °C'de saklandı. . Tüm denekler işlem sonunda sakrifiye edildi.

Biyokimyasal Değerlendirme

Deneklerden alınan 5 cc kan örnekleri vakumlu jelli tüplere (BD Vacutainer SST, UK) konularak 4000 rpm devirde 15 dk santrifüj edildi. Elde edilen serumlar İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi-Merkez Laboratuvarındaki cihazlarda; üre (Referans Aralığı: 17-43 mg/dl) ve kreatinin (Referans Aralığı: 0,7-1,2 mg/dl) Beckmann LX20 otomatik analizser (Beckmann, Brea, CA, USA) sistemiyle çalışıldı.

Histopatolojik Değerlendirme

Dokular soğuk zincir kurallarına uyularak laboratuvar ortamına taşındı ve çalışma gerçekleştirildi. Renal dokular % 10 formalin içine fikse edilip, parafin bloklar içine gömüldü. Dokulardan 5 µm kalınlığında kesitler alınıp sürgü üzerine yapıştırıldı, hemotoksilen eozin (HE) ve Periodic Asit Schiff (PAS) ile boyandı. Kesitler, Leica DFC ışık mikroskopunda incelendi. 66 kat büyütmede rastgele 10 alanda seçildi. Renal tubuler hasar, yarı kantitatif analiz ile değerlendirilip kademeli olarak takip edildi; tubuler epitel hücre dökülmesi, tubuler dilatasyon, yassı epitel hücreler, hasarlanmış tubulde çekirdeği boyanmamış epitel hücreler (şiddetli ATN'da görülür), intertisyel tıkanıklık ve kanama oluşumu yönünden incelendi(83). Renal değişiklikler 0'dan 3'e kadar skorlandı (Skor 0: hasar yok, Skor 1:hasar total alanın % 25'nden az, Skor 2: hasar total alanın % 25-50'si, Skor 3: hasar total alanın 50'nden fazla).

Her rat tüm örnekler için 100 tubul, 10 mikroskobik alanda 20 kat büyütme altında analiz edildi. İmmünohistokimyasal analizler için, kalın kesitler polylyine kaplı dilimler üzerine alındı. Örnekler sulandırılarak sitrat tampona nakledildi ve 20 dk boyunca mikrodalgada ısıtıldı. Sonra oda sıcaklığında 20 dk soğutulup, kesitler PBS ile yıkandı. Daha sonra kesitler % 3 lük H₂O₂'de 7 dk tutulup, PBS ile yıkandı. Kesitler ilkin tavşan poliklonal kaspaz ile inkübe edildi, sonra PBS ile yıkandı. 10 dk boyunca oda sıcaklığında keçiye karşı oluşturulmuş polivalent ve streptavidin peroksidaz ile boyandı. Boyama işlemi 15 dk kromojen + substrat ile tamamlandı ve dilimler 1 dk Mayers hemotoksilen ile boyandı. Kaspaz 3, minör düzeltme dışında üretim talimatlarına göre kullanıldı. Kaspaz 3

ile boyanmış kortikal renal túbüller için Leica Q Win Image Analysis System (Leica Micros Imaging Solution Ltd, Cambridge, UK) kullanıldı.

4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

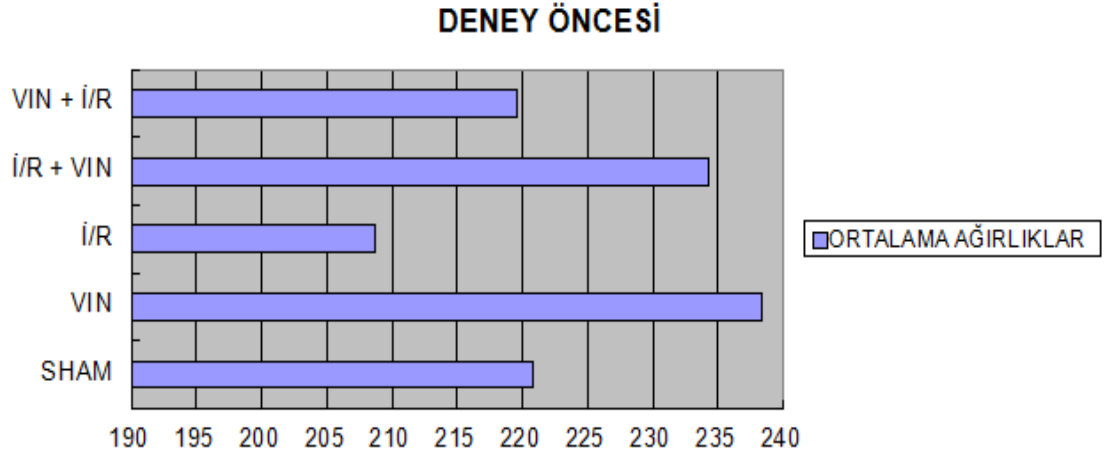
Biyokimyasal değerlendirmede: Veriler, ortanca (en kk- en büyük) olarak özetlendi. Gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis H Testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalar Banferroni düzeltmeli Mann Whitney U Testi ile yapıldı. Serum BUN ve kreatinin için $p < 0.001$, böbrek doku değişkenleri için $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

Histopatolojik değerlendirmede: İstatiksel analiz Statistical Package of Science 13.0 (SPSS Inc.,Chicago, III., USA) Windows versiyonundaki istatistik programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.. Gruplardaki değişimlerin devamlılığı Shapiro Wilk testi ile belirlendi. Değişimler normal dağılım göstermedi ($p < 0.05$). Çalışma gruplarında ki büyük değişimlerde Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testlerinin karşılaştırılması kullanıldı. $p < 0.05$ önemli kabul edildi. Sonuçlar ortalama olarak ifade edildi.

5. BULGULAR

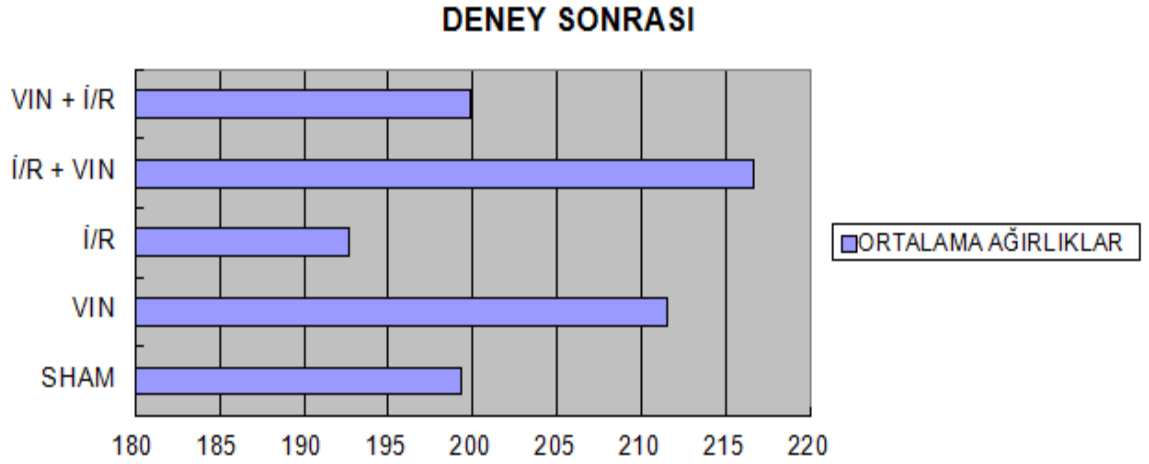
Deney öncesi ortalama rat ağırlıkları: Grup 1 (Sham) için $220,75 \pm 25,3$ gr, Grup 2 (Vin) için $238,37 \pm 18$ gr, Grup 3 (İ/R) için $208,75 \pm 13,4$ gr, Grup 4 (İ/R + Vin) için $234,25 \pm 24,3$ gr ve Grup 5 (Vin + İ/R) için $219,62 \pm 14,7$ gr olarak ölçüldü.

Grafik 5.1: Deney öncesi ratların ortalama ağırlıkları.



Deney sonrası ortalama rat ağırlıkları: Grup 1 için $199,28 \pm 8,5$ gr, Grup 2 için $211,50 \pm 19,5$ gr, Grup 3 için $192,71 \pm 11,5$ gr, Grup 4 için $216,62 \pm 23$ gr ve Grup 5 için $199,87 \pm 15$ gr olarak ölçüldü.

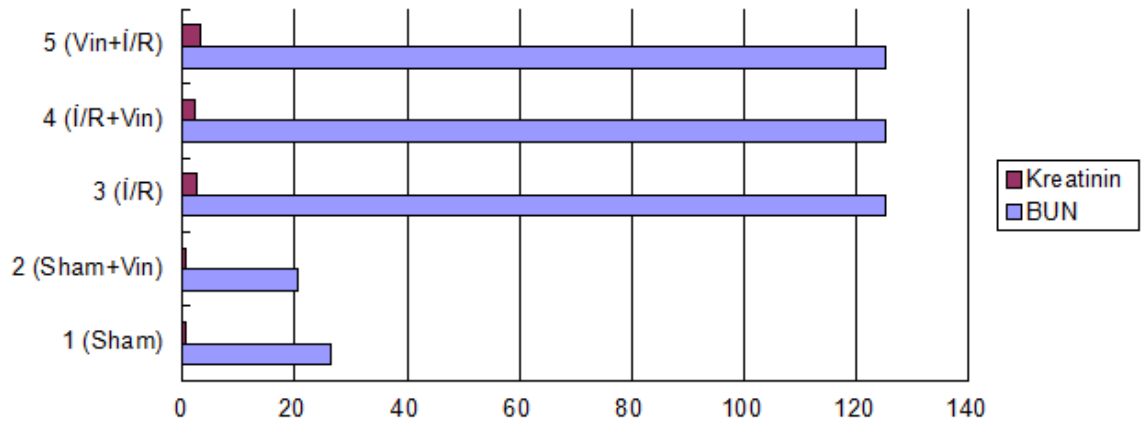
Grafik 5.2: Deney sonrası ratların ortalama ağırlıkları.



5.1 SERUM BUN ve KREATİNİN DEĞERLERİ

Sham grubunda (kontrol grubu), serum ortalama BUN değeri: 26.50, kreatinin: 0.67 idi. Sağ nefrektomi sonrası vinposetin verilen grupta serum ortalama BUN değeri:20.50, kreatinin: 0.64 bulundu. Aralarında anlamlı bir fark yoktu ($p=1$). İ/R grubunda serum ortalama BUN değeri 125> ve kreatinin değeri 2.59 bulundu. İ/R sonrası vinposetin verilen grupta serum ortalama BUN değeri 125>, kreatinin değeri 3.20 iken; İ/R öncesi vinposetin verilen grupta serum ortalama BUN değeri 125> ve kreatinin değeri ise 2.23 idi.

Grafik 5.3: Tüm gruplardaki serum BUN ve Kreatinin Ortalamaları.



Tablo 5.1: Serum Bun ve Kreatinin Değerleri (median, min- max).

Gruplar	BUN	Kreatinin
1 (Sham)	26.50 (23-35) ^{e,d}	0.67 (0.60-0.71) ^{e,d}
2 (Sham+Vin)	20.50 (18-24) ^{a,b,c}	0.64 (0.60-0.68) ^{a,b,c}
3 (İ/R)	125 (125-125)	2.59 (2.03-3.41)
4 (İ/R+Vin)	125 (75-125)	2.23 (0.81-3.20)
5 (Vin+İ/R)	125 (125-125)	3.20 (2.83-3.35)

^{a:} Grup 4'e göre anlamlı p=0.001; ^{b:} Grup 3'e göre anlamlı p<0.001; ^{c:} Grup 5'e göre anlamlı p<0.001;

^{e:} Grup 3'e göre anlamlı p=0.009; ^{d:} Grup 5'e göre anlamlı p=0.009;

5.2. DOKU DEĞİŞKENLERİ

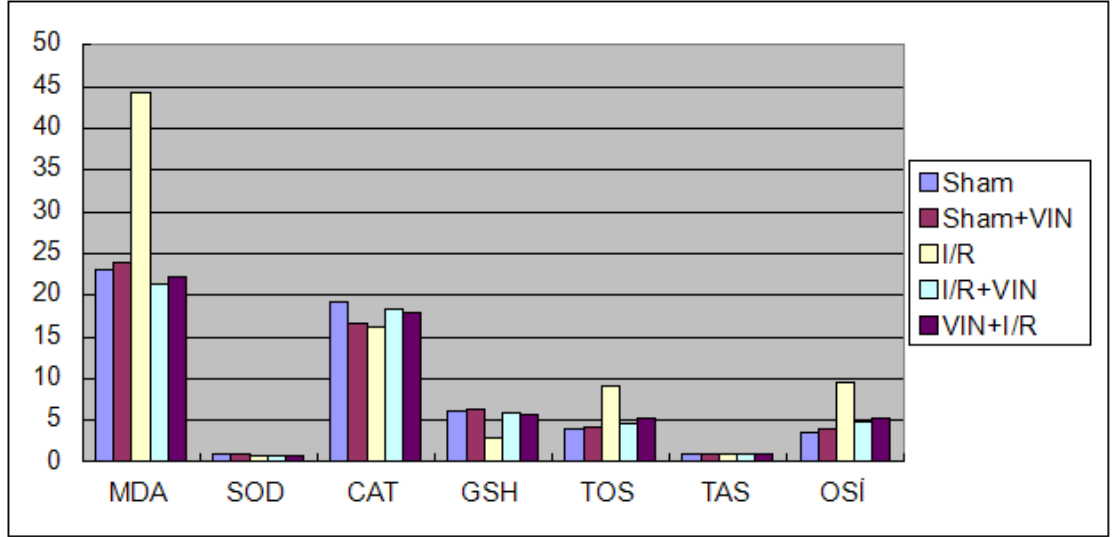
Böbrek dokusunda MDA, TAS, TOS, GSH, SOD, CAT ve OSİ değerleri biyokimyasal olarak incelendi. CAT ve TAS değerlerinde 5 grup arasında anlamlı fark yoktu. CAT (p=0.401) ve TAS (p=0.201). MDA (p=0.05) ,SOD (p=0.0001), GSH (p=0.01), TOS (p=0.00) ve OSİ (p=0.0001) değerleriyle p<0.05 olduğundan anlamlı değişkenler olarak kabul edildi.

Tablo 5.2: Gruplardaki doku değişkenlerin median (min-mx) değeri ve p değeri.

Değişkenler	1 (Sham)	2 (Sham+Vin)	3 (İ/R)	4 (İ/R+Vin)	5 (Vin+İ/R)	p
MDA (nmol/g doku)	22.94(12.21-34.06) ^m	23.97(12.23-36.14)	44.17(23.28-58.09)	21.40(15.40-26.55) ^f	22.26(15.00-28.59) ^k	0.005
SOD (U/mg protein)	0.93(0.82-1.25)	0.92(0.83-1.19)	0.64(0.45-0.66) ^h	0.74(0.68-0.86)	0.83(0.68-1.48)	<0.05
CAT (k/mg protein)	19.14(15.74-27.24)	16.62(15.39-20.45)	16.25(12.77-21.71)	18.41(11.11-23.56)	17.91(16.81-22.30)	0.401
GSH (µmol/g doku)	6.03(3.97-7.85) ^m	6.34(4.02-6.93) ^g	2.99(1.25-3.96)	5.81(5.15-8.06) ^f	5.71(5.31-6.98)	0.001
TOS (µmol H2O2Eqv / L)	3.98(2.99-4.64) ^m	4.18(3.67-4.85) ^g	9.15(6.43-13.74)	4.69(2.65-5.55) ^f	5.33(3.59-6.07)	<0.05
TAS (Trolox equivalent/L)	1.03(0.98-1.32)	1.06(0.84-1.17)	0.94(0.84-1.05)	0.98(0.86-1.13)	0.97(0.83-1.24)	0.201
OSi (AU)	3.63(2.25-4.65) ^m	3.87(3.40-5.72) ^g	9.48(6.54-16.30)	4.81(2.51-6.02) ^f	5.26(4.09-6.01)	<0.05

p<0.05 ise anlamlı (gruplar arası fark var) kabul edildi. **k:** İ/R grubuna göre anlamlı p=0.016, **f:** İ/R grubuna göre anlamlı p<0.005, **m:** İ/R grubuna göre anlamlı p<0.005, **h:** İ/R +Vin, Sham ve Sham +Vin gruplarına göre anlamlı p<0.005, **g:**İ/R grubuna göre anlamlı p=0.001

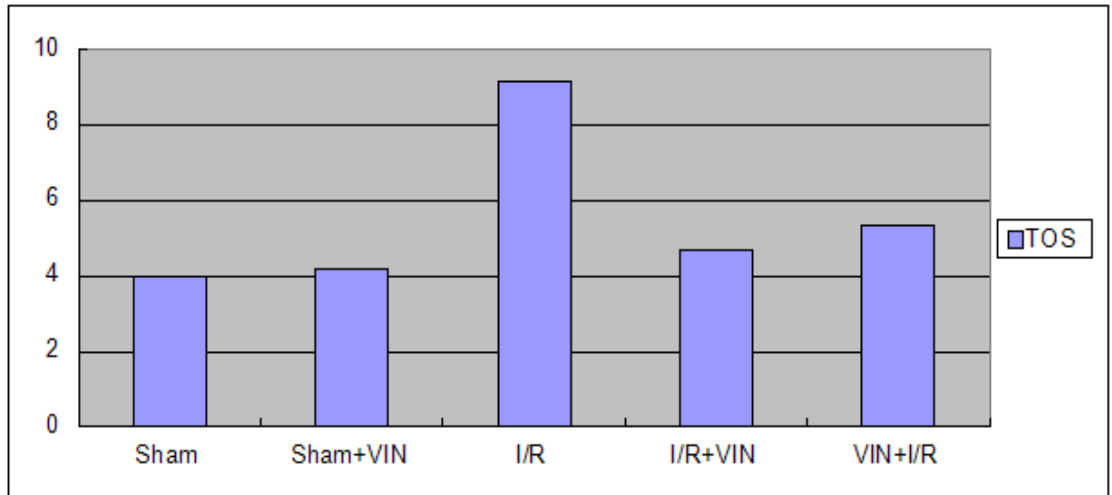
Grafik5. 4: Tüm Gruplardaki Doku Değişkenlerinin Ortalamaları.



5.2.1. Doku Total Oksidan Seviyesi (TOS) ölçümü

Hidrojen peroksit ile kalibre edilen sonuçlar nmol H₂O₂ Eq/mg protein olarak belirtildi, spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Grafik 5.5: Gruplardaki TOS'un median değeri (mol TroloxEq/L).



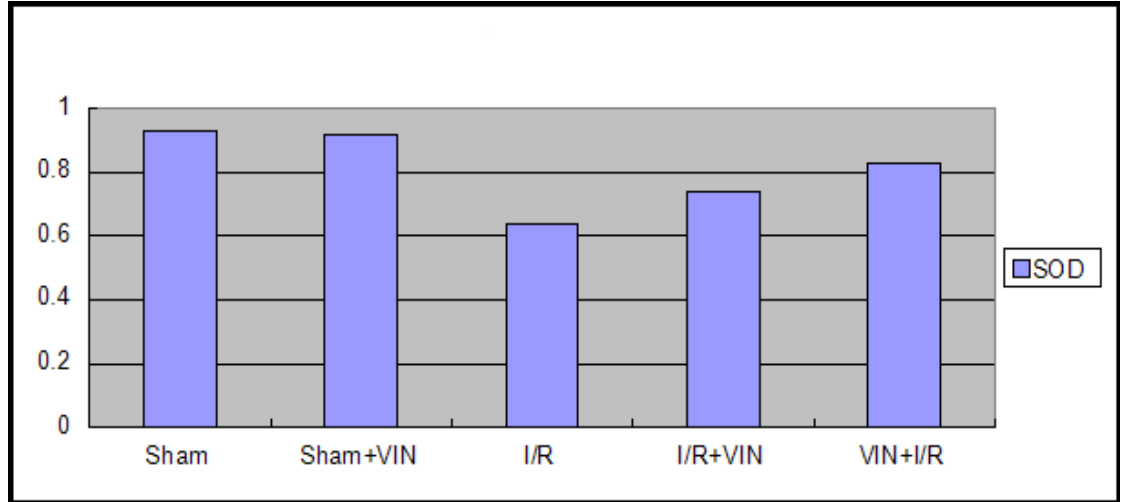
5.2.2. Doku Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Ölçümü

Spektrofotometrik yöntemle ölçüldü ve Trolox Equiv./L olarak ifade edildi. Çalışmamızdaki tüm gruplar arasında TAS değeri açısından anlamlı bir fark yoktu.

5.2.3. Doku SOD Değerleri

Dokulardaki SOD enzim aktivitesi Sun ve arkadaşları(84) tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı. Bu yöntemde SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Oluşan süperoksit radikallerinin NBT'yi indirgemesi ile oluşan renkli formazon spektrofotometrik olarak ölçülür.

Grafik 5.6: Gruplardaki SOD'un median değeri (U/mg protein).



5.2.4. Doku CAT Değerleri

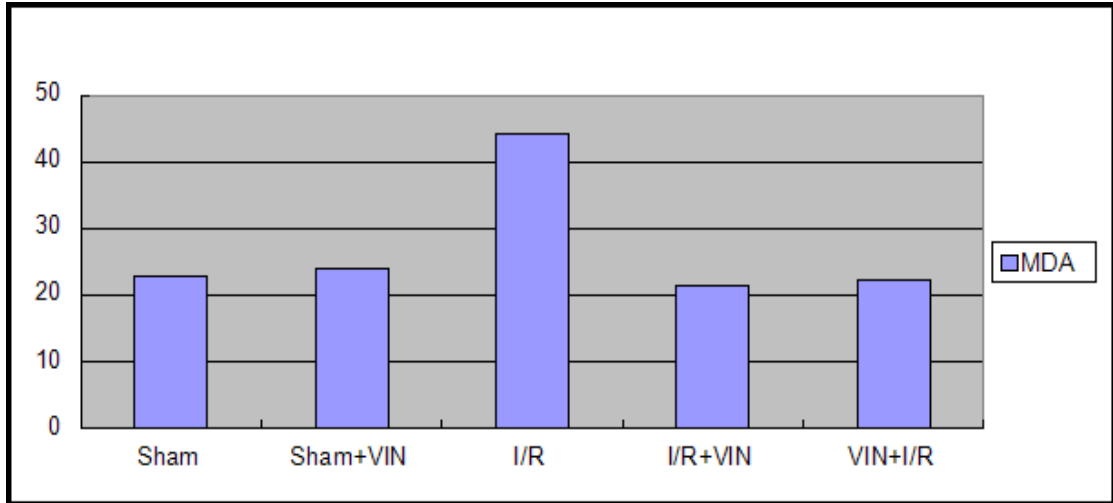
Dokulardaki CAT enzim aktivitelerinin tayini Aebi(85) tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı. Hidrojen peroksit, 240 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermektedir. Deney ortamına ilave edilen H₂O₂'nin CAT enzimi tarafından

parçalanması, UV spektrumunda bir absorbans azalması olarak takip edilir. Çalışmamızdaki tüm gruplar arasında CAT değeri açısından anlamlı bir fark yoktu.

5.2.5. Doku MDA Değerleri

Doku MDA düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Ohkawa ve arkadaşları tarafından önerilen metoda göre yapıldı(86). Doku MDA tayini; aerobik şartlar altında ve pH:3,5'te, doku homojenatının kaynar su banyosunda 1 saat inkubasyonu sonucu, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçüldü.

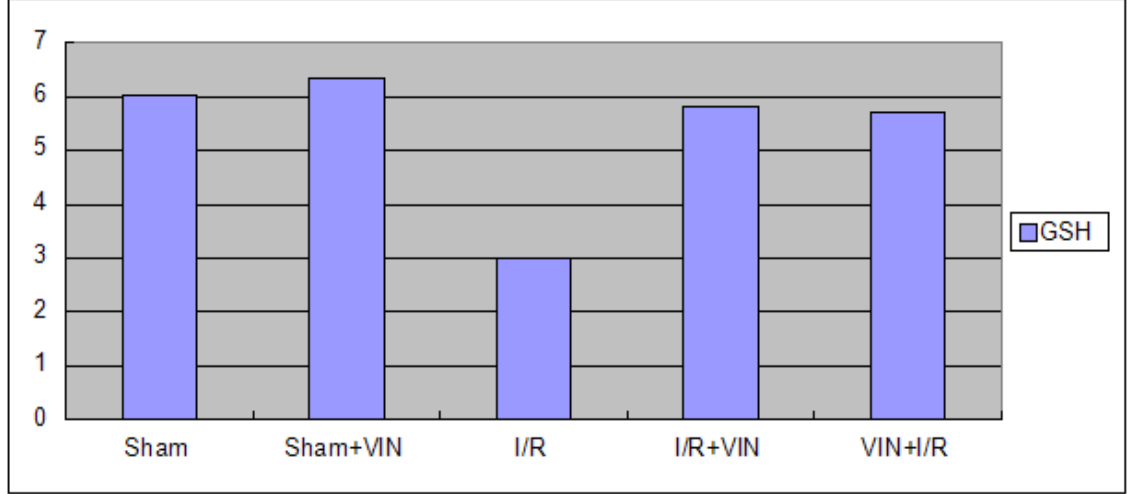
Grafik 5.7: Gruplardaki MDA'nın median değeri (nmol/g doku).



5.2.6 Doku Redükte Glutasyon (GSH) Değerleri

Dokulardaki GSH aktiviteleri Ellman(87) tarafından ditiyonitrobenzoik asit geri çevirim metodu olarak tanımlanan yöntemle göre tayin edildi. 5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB), sülfidril bileşikler tarafından redükte edilerek bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks oluşturur. Bu sarı renkli bileşiğin optik dansitesi 412 nm dalga boyunda ölçülerek GSH aktivitesi saptanır.

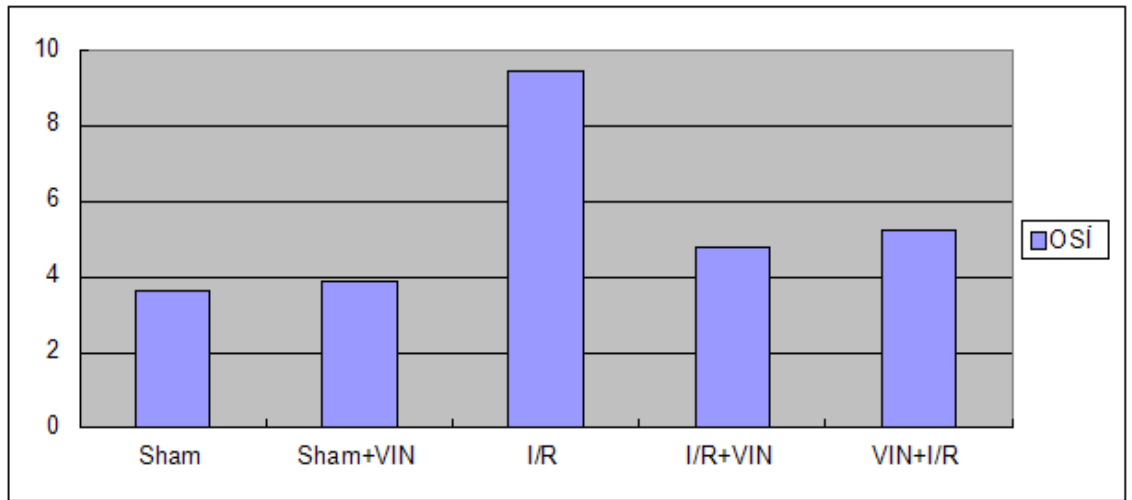
Grafik 5.8: Gruplardaki GSH'nın median değeri (μg doku).



5.2.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

TOS'un TAS kapasitesine bölünmesiyle hesaplandı ve $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mmol Trolox}$ olarak ifade edildi.

Grafik5. 9: Gruplardaki OSİ'nin median değeri (Arbitrary unite).



5.3. HİSTOPATOLOJİK SONUÇLAR

Sham ve vinposetin grupları dışındaki tubuler değişimler; böbrek histolojisi değişimlerinden tubuler dilatasyon ve dökülme kadar önemsendi (Resim 6 A -B). Diğer taraftan İ/R grubunda bazı renal kortikal alanlardaki proksimal tubullerde sık bulunan geniş nekroz alanları ortaya çıktı (Resim 7 A).

Tubuler hasar İ/R+vinposetin ve vinposetin+İ/R gruplarında daha azdı ve nekrotik tubuller İ/R'daki gibi geniş değildi. Bununla birlikte İ/R ve diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı. İ/R öncesi vinposetin veya İ/R sonrası vinposetin olan gruplar arasındaki tubuler yapıyı koruma dönemleri birbirine benzer ($p>0.05$). İntertsiyel konjesyon ve kanama tüm deney gruplarında vardı. Glomerül tüm İ/R grupları içinde hemen hemen normal göründü. Sham ve vinposetin grupları, kaspaz 3 ile sınanınca tubuller biraz apopitotik göründü. Bununla beraber İ/R grubundaki tubullerde kaspaz 3 pozitifliği kontrol grubuyla kıyaslandığında önemli bir yükseklik vardı (Resim 8B).

Vinposetin sonrası İ/R, apopitozis dönemini önlemede vinposetin öncesi İ/R'a göre daha efektifti (Resim 8C-B). Yarı kantitatif histolojik değerlendirmede tanımlanmış ve kaspaz 3 ile boyanmış numaralanmış tubuller tablo 3'de özetlendi.

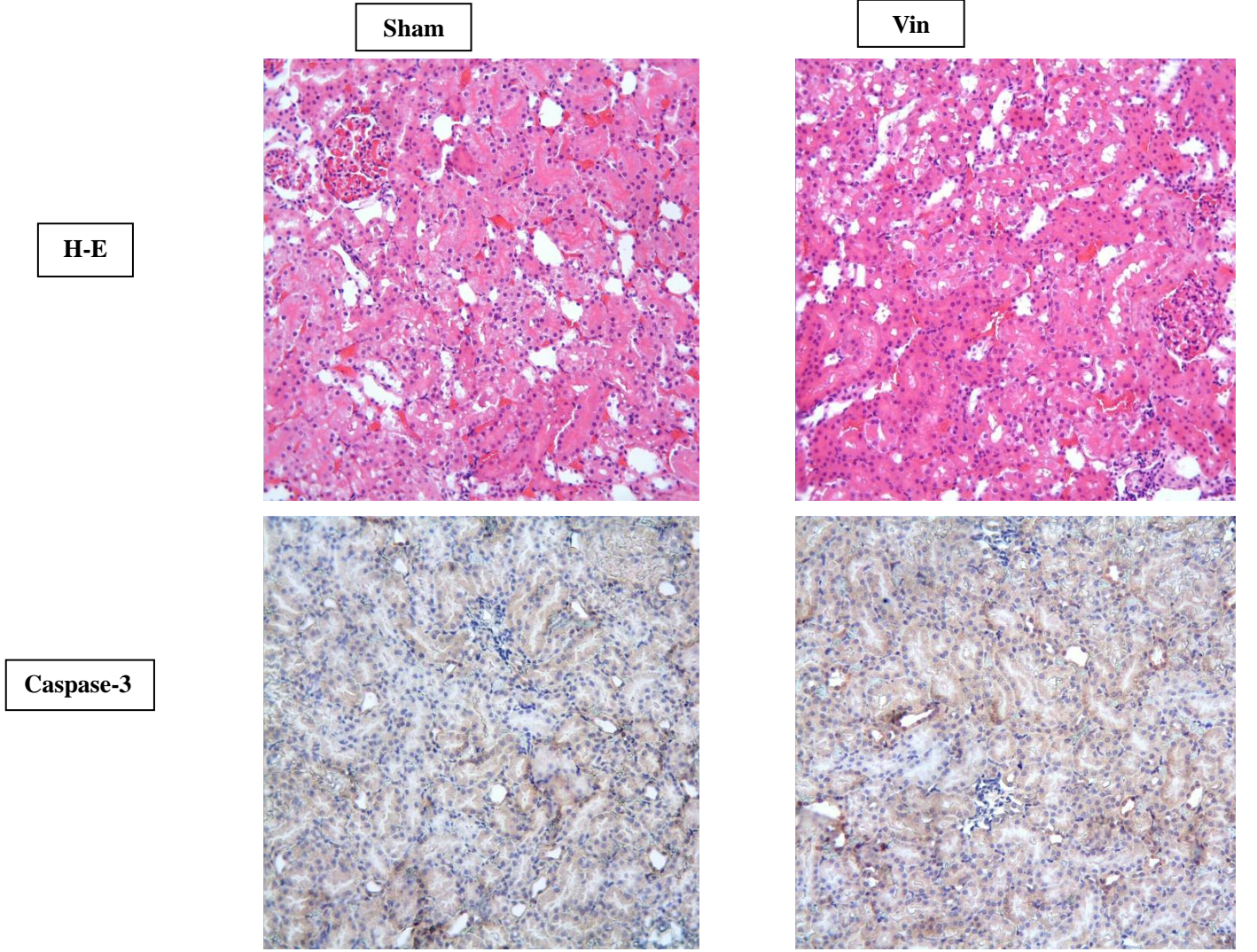
Tablo 5.3: Grupların Tübüler Hasar Histolojik Değerlendirmesi.

Gruplar	Histolojik Skor	Caspase-3 boyanmış tübüller
1 (Sham)	0 (0-1)	2 (0-9)
2 (Sham + Vin)	0.5 (0-1)	0 (0-12)
3 (İ/R)	1 (0-3) ^a	44(30-62) ^a
4 (İ/R+Vin)	1 (0-3) ^b	30 (8-55) ^{d,e}
5 (Vin+İ/R)	1 (0-3) ^{b,c}	48 (15-64) ^b

^aAnlamli yükseklik ($P = 0.001$), vs. Sham grup, ^dAnlamli düşüklik ($P = 0.001$), vs. İ/R grup

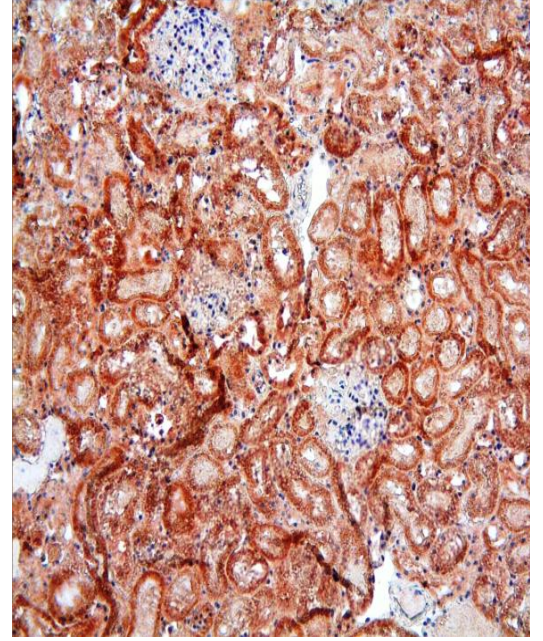
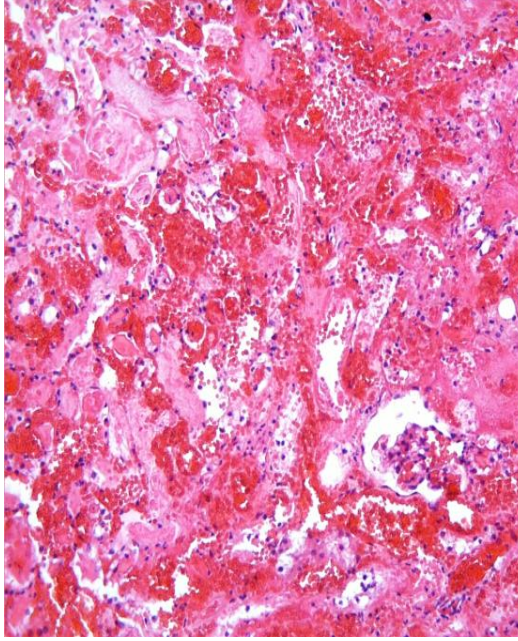
^bAnlamli değil ($P > 0.05$), vs. İ/R grup, ^eAnlamli düşüklik ($P = 0.01$), vs. Vin+İ/R grup;

^cAnlamli değil ($P > 0.05$), vs. İ/R+Vin grup.

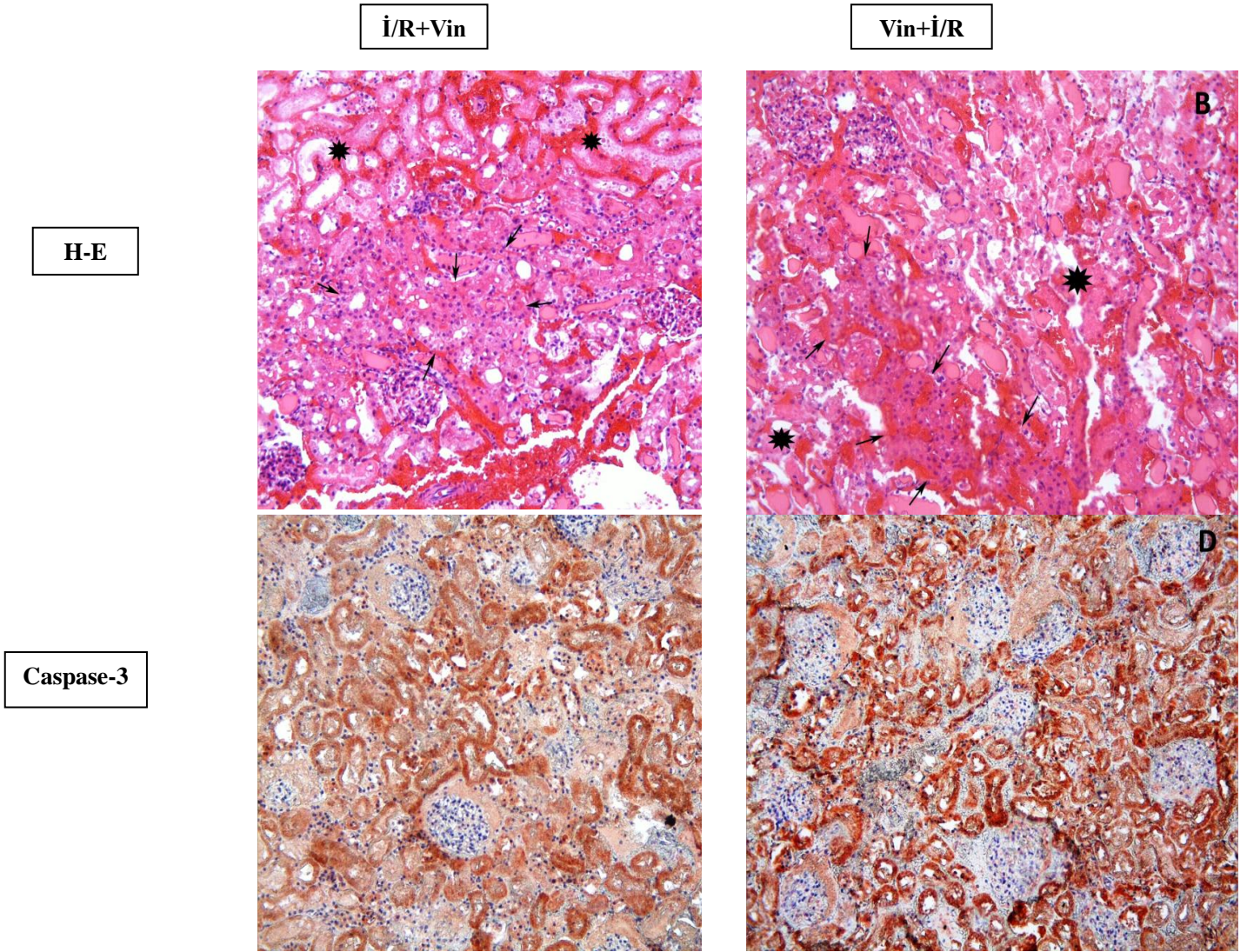


Resim 5.1: A ve B; renal histoloji normal görünümü.

C ve D; sadece birkaç tubul Caspase- ile boyanmış. X66.



Resim 5.2: A; İ/R grupta görülen yaygın tubuler nekroz.
B; Caspase-3 ile pozitif belirgin boyanmış görülen tubuller X66.



Resim 5.3: A ve B; Sağlam tubuller arasındaki nekrotik alanlar(yıldızlı). C; tubuller de İ/R grubuna göre Caspase -3 ile çok daha az pozitif boyandığı ortaya çıktı. D; İ/R grubundaki ile benzer Caspase-3 ile boyanmış görüntü, X66.

6. TARTIŞMA

Böbreğin hipoperfüzyonuna bağlı olarak oluşan prerenal ABY toplum kaynaklı ABY'nin % 70'ini, hastane kaynaklı ABY'nin ise % 40'ını oluşturur (88). Prerenal ABY'nin bu kadar sık görülmesi İ/R hasarının patofizyolojisinin önlenmesi için birçok çalışma yapılmasına neden olmuştur. Bu konu ile ilgili çalışmalar ise çoğunlukla hayvan modelleri üzerinde yapılmıştır. Prerenal ABY ile ilgili koruyucu tedaviye yönelik düşük doz dopamin infüzyonu, diüretikler, kalsiyum kanal blokörleri, allopurinol, N-asetilsistein, eritropoetin, teofilin, atrial natriüretik peptid, adezyon moleküllerine karşı oluşturulan antikorlar, SOR tutucuları, prostaglandinler, aminoasit infüzyonu gibi birçok molekülün üzerinde çalışılmıştır(89).

Böbrek İ/R hasarı, böbrek naklinde, parsiyel nefrektomilerde ve suprarenal aortik anevrizmaların cerrahi tedavisi sırasında karşımıza çıkabilmektedir. Son yıllarda böbrek nakli, son dönem böbrek yetmezliği olan hastaların tedavisinde geçerli bir tedavi yöntemi olarak kabul edilmektedir. Böbrek naklinde İ/R hasarına bağlı gelişebilecek problemler günümüzde hâlâ tam olarak açıklanabilmiş sorunlar olmadığından araştırmalar devam etmektedir. Renal iskemi reperfüzyon hasarı, ABY'nin esas sebebidir. Hasarın derecesi iskeminin şiddetine ve süresine bağlı olarak değişebilmektedir. İ/R hasarına karşı halen geliştirilmiş bir strateji yoktur(90,91).

İskeminin oluşturduğu hasar, hücrel iskeminin erken dönemlerinde tamamen geri dönüşümlü iken, ilerleyen dönemlerde hücre ve organellerinin iskeletini bozarak hücrel ölüme yol açar. Kanlanmanın yeniden sağlanması çoğu zaman kurtarıcı olmamakla birlikte hücrel hasarın daha da büyümesine neden olabilir. Bu durum İ/R hasar olarak tanımlanmaktadır(92).

Günümüze kadar yapılan çalışmaların çoğu, İ/R hasarının sadece bir etkene bağlı olmayıp, birbirini aktive eden ve birbiriyle etkileşen, birçok etkenin rol aldığı bir dizi olayın sonucu olarak ortaya çıkan non-immünolojik bir durum olduğu sonucuna varmaktadır(93,94). Hücre içi Ca^{2+} artışı, yüksek enerjili bileşiklerin tüketilmesi ve yenilenememesi, adezyon moleküllerinin ve enflamatuar sitokinlerin artması, enflamatuar

hücrelerin infiltrasyonu ve degranülasyonu, endotel aktivasyonu ve disfonksiyonu, hücre membran hasar ve fosfolipaz aktivasyonu İ/R hasarının patogeneğinde yer alan faktörlerdir. Ancak; birçok çalışma sonucunda gösterilen ve günümüzde de kabul edilen görüş, İ/R hasarını oluşturan en önemli faktörün SOR ve artmış OS olduğudur (44,95).

Bizim çalışmamız, antiinflamatuvar ve antioksidan etkili PDE tip-1 inhibitörü olan vinposetin renal iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkinliğini araştıran ilk çalışmadır. Çalışmamızdaki deneysel modelde 40 adet dişi ratta 60 dakika iskemi sonrası 24 saat reperfüzyon uygulandı. Çalışma sonunda böbrek fonksiyonlarının göstergesi olan BUN ve kreatinin değerleri ölçüldü. Böbrek dokusunda SOD, CAT, TAS, TOS, GSH, MDA ve OSI değerleri ölçüldü. Tubuler hasar histopatolojik olarak incelendi.

Çalışmamızda, serum BUN değeri İ/R uygulanan gruplarda kontrol ve sadece vinposetin verilen gruplara göre anlamlı ölçüde yüksekti. Kontrol grubunda BUN değeri 26,50 (23-5) iken, sadece vinposetin verilen grupta 20,50 (18-24) olarak ölçüldü. Vinposetin verilen grupta kontrol grubuna göre BUN değerinde azalma görülürken; İ/R'a maruz kalan tüm gruplarda BUN değeri oldukça yüksekti (125 ve üzeri). Bu da vinposetin İ/R bağımsız serum BUN değerinde azalma yaptığını gösterdi. Serum kreatinin değeri kontrol ve vinposetin verilen gruplarda (sırasıyla 0,67 (0,60-0,71) ve 0,64 (0,60-0,68)),İ/R 'nun olduğu diğer 3 gruba göre anlamlı düzeyde düşüktü. İ/R sonrası vinposetin verilen grupta serum kreatinin değeri (2,23 (0,81-3,20)),vinposetin verildikten sonra İ/R 'a maruz bırakılan gruba göre (3,20 (2,85-3,35)) anlamlı düzeyde düşüktü. Bu durum serum kreatinin baz alındığında vinposetin böbrek yetmezliğinde tedavi edici özelliğinin olduğunu; ancak koruyucu özelliği etkisinin olmadığını gösteriyor.

Deneysel böbrek İ/R hasar modeli oluşturmak için farklı iskemi ve reperfüzyon süreleri kullanılmıştır. Williams ve arkadaşlarının renal arter ve veni 45 dk. klempleyerek iskemi oluşturdukları çalışmalarında, reperfüzyondan sonraki 0. 0,5. 1. 2. 4. 6. 9. 24. saatlerde ve 1 hafta sonra kan ve doku örneklerini almışlardır. Renal hasarın en erken 45 dakikalık iskemi takiben 4. saatte başladığını bildirmişlerdir(96). Bozkurt ve arkadaşlarının çalışmalarında 45 dakika iskemi sonrası 60 dakika reperfüzyon uygulanmış ve 60 dakika sonunda ratlar sakrifiye edilmiştir(97). Williams B. ile Cochran J. ve ark. reperfüzyon sonrası renal hasarın en erken 4. saatte görüldüğünü belirtmişlerdir(98).

Petrozza V ve arkadaşlarının deneysel olarak akut renal iskemide defibrotid vererek bunun koruyuculuğunu incelemişlerdir. Defibrotid, vasküler endotelden prostosiklinlerin(PGI₂) salınımına neden olarak profibrinolitik, antitrombotik ve trombolitik aktivitelerinden dolayı iskemide sitoprotektif özellik göstermiştir(99).

Literatürde karaciğer, kalp, beyin ve böbrek gibi farklı dokulardaki İ/R hasarına karşı antioksidan kullanılarak yapılan birçok çalışma mevcuttur(100).

Yıldız ve arkadaşları(101) deneysel böbrek İ/R modelinde eksojen antioksidan olarak *Nigella sativa* ekstresi (çörek otu) kullanmışlardır ve çalışmanın sonuçlarını bizim çalışmamızdaki gibi TAS ve TOS değerleri üzerinden yapmışlardır. Bu çalışmada *Nigella sativa* ekstresi verildikten sonra yapılan deneysel böbrek İ/R hasarında TOS seviyelerinde anlamlı bir azalma, TAS seviyelerinde ise anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Özkan ve arkadaşlarının(102) *proantosiyandin* ekstresinin (üzüm çekirdeği) kontrast nefropatisinde böbrek koruyucu etkisi üzerinde yaptıkları çalışmada TAS ve TOS düzeylerini karşılaştırmışlar. Kontrol grubuna göre kontrol + ilaç grubunda TOS düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise tüm gruplar arasında TAS değerinde anlamlı bir fark yok iken TOS seviyesi İ/R grubunda 9,15 (6,43-13,74)nmol/g doku ile anlamlı ölçüde yüksekti. Vinposetin İ/R öncesi verilmesi TOS seviyesini azaltmazken (5,33 (3,59-6,07)); İ/R sonrası verilmesi azaltmıştır (4,69 (2,65-5,55)).

Lipid peroksidlerinin yıkımıyla oluşan MDA daha dayanıklı ve ölçümü daha kolay olan bir üründür. Yun ve arkadaşları ratlarda renal İ/R hasarında oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu sebebi ile oluşan MDA düzeyinin arttığını göstermişlerdir(103). Yine başka bir çalışmada, Singh ve arkadaşlarının böbrek İ/R hasarı oluşturdukları gruplarda MDA düzeyinde artış tespit etmişlerdir(104). Sakamoto ve arkadaşları İ/R hasarında organ fonksiyonunun değerlendirilmesinde MDA'nın spesifitesi ve sensivitesinin olmadığını belirtmişlerdir(105). Bizim çalışmamızda da kontrol grubu, sadece vinposetin verilen grup, İ/R öncesi ve sonrası vinposetin verilen gruplar arasında anlamlı bir fark yok iken İ/R grubunda 44,17 (23,28-58,09) nmol/g doku seviyesi ile anlamlı fark vardı.

Çalışmamızda İ/R hasarının değerlendirilmek için doku biyokimyasal incelemelerinden SOD düzeyleri ölçüldü. Sonuçlara baktığımızda kontrol ve sadece vinposetin verilen gruplar arasında fark görülmez iken; İ/R sonrası vinposetin verilen grup

0,74 (0,68-0,86) U/mg protein düzeyi ile vinposetin sonrası İ/R 'a bırakılan gruba 0,83 (0,68-1,48) göre anlamlı ölçüde düşüktü.

Jose'I Sotelo-Fe'lix ve arkadaşları (106) sıçanlarda, karbon tetraklorürün karaciğerde oluşturduğu hasara karşı carnosolun koruyucu etkinliğini araştırılmıştır. Bu çalışmada, carnosol uygulanan grupta İ/R sonrası karaciğer fonksiyonlarının korunduğu, antioksidan olan serum GSH düzeylerinin arttığı rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda GSH düzeyi İ/R grubu hariç diğer tüm gruplarda yakın değerlerde çıkmıştır. İ/R grubunda GSH seviyesi anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur (2,99 (1,25-3,96) nmol/g doku) .

Singh ve arkadaşları (107) yaptıkları çalışmada, *naringin* ekstresi (narenciye) verilen grupta böbrek tübül hasarın, naringin ekstresi verilmeyen gruba göre anlamlı olarak daha az olduğu, benzer şekilde Maghsoudi ve arkadaşlarının (108) çalışmasında ise *Zingiber officinale* ekstresi (zencefil) verilen grupta böbrek tübül hasarın, *Zingiber officinale* ekstresi verilmeyen gruba göre anlamlı olarak daha az olduğu tespit edilmiştir. Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada, *Urtica dioica* ekstresinin (ısırgan otu tohumu) özellikle proksimal ve distal tübül hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü inhibe ederek böbrek tübül hasar üzerinde koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir(109).

Çalışmamızda histopatolojik incelemeler sonucunda İ/R grubunda proksimal tubullerde geniş nekroz alanları ortaya çıktı. Tubuler hasar İ/R sonrası vinposetin verilen grup ve vinposetin sonrası İ/R grubunda azdı ve nekrotik tubuller İ/R'daki gibi geniş değildi. İ/R öncesi vinposetin veya İ/R sonrası vinposetin verilen gruplar arasındaki tubuler yapıyı koruma birbirine benzerdi. Kontrol ve vinposetin gruplarında apoptozis görüldü. Vinposetin sonrası İ/R, apoptozisi önlemede vinposetin öncesi İ/R'a göre daha etkili.

Vinposetin beyin hasarında nöral koruyucu ve tedavi etkisini araştıran ve konu alan yayınlar mevcuttur(110). Vinposetin ile farklı sürelerde ve farklı metotlar ile İ/R hasarı üzerine çalışmalar yapılması bu ilacın tedavi alanında önünü açabilir. Yaptığımız deneysel çalışmada vinposetin böbrek üzerine koruyucu etkilerinin klinik deneylerle desteklenmesi gerekir. Vinposetin uygulamasının etki mekanizmaları ve etkinlikleri açısından farklarının ortaya konacağı, insandaki doz ve sürelerinin belirleneceği daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. SONUÇLAR

1. Vinposetin'in böbrek fonksiyonlarını düzeltmede fayda sağladığı görüldü.
2. Kontrol grubu (Sham) serum BUN ve kreatinin ölçümleri ile vinposetin verilen gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu.
3. İ/R sonrası vinposetin verilen grupta serum üre ve kreatinin düzeylerini düşürdüğü görülürken; İ/R öncesi verilen grupta koruyucu etkisi olmadığı görüldü.
4. İ/R sonrası Vinposetin ile Vinposetin sonrası İ/R gruplarında tubuler hasar daha azdı.
5. İntertsiyel konjesyon ve kanama tüm deney gruplarında vardı.
6. Sham ve vinposetin grupları, kaspaz 3 ile sınıncınca tubuller apoptotik görüldü.
7. İ/R öncesi ve sonrası vinposetin verilen grupta, İ/R grubuna göre SOD ve GSH düzeyleri anlamlı ölçüde yüksekti.
8. İ/R grubunda vinposetin verilen gruplara göre OSİ düzeyi yüksek bulundu.
9. Kontrol grubu ile vinposetin verilen grup arasında MDA düzeylerinde anlamlı fark yoktu.
10. CAT ve TAS değerlerinde tüm gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi.

13. KAYNAKLAR

- 1- Kalman S. Cytokines and growth factors in renal injury. *J Turk SocNephrol* 2002; 140-143.
- 2- Yamamoto S, Hagiwara S, Hidaka S, ShinguC, Goto K, Kashima K, Noguchi: The antioxidant, EPC-K1 attenuates renal ischemia reperfusion injury in a rat model. *Am J Nephrol* 2011; 33: 485–490.
- 3- Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83: 162 70.
- 4- Kandilci HB, Gümüşel B. Akciğerlerde İskemi Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 2005; 25: 35.
- 5- Conesa LE, Valero F, Nadal JC ve ark. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol* 2001; 281: R730-R737.
- 6- Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000; 190: 255-66.
- 7- Koçoğlu H, Öztürk H, Öztürk H, Yılmaz F ve ark. Effect of Deksmetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney a histopathologic study. *Ren Fail* 2009; 31: 70- 74.
- 8- Dosluoğlu HH, Aktan AO, Yeğen C, Okboy N, Yalcm AS, Yahn R, et al. The cytoprotective effects of verapamil and iloprost (ZK 36374) on ischemia/reperfusion injury of kidneys. *Transpl Int* 1993; 6.138-42.
- 9- Karaman A, Turkmen E, Gursul C, Tas E, Fadillioglu E. Prevention of renal ischemia/reperfusion induced injury in rats by leflunomide. *Int J Urol.* 2006;13(11):1434–41.
- 10- Laurent B, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251: F765-F776.
- 11- Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. *J Clin invest* 1984; 74: 1156-4.

- 12- Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Invest Med* 1994; 42: 632-639.
- 13- Korkmaz A, Kolankaya D. The Protective Effects of Ascorbic Acid against Renal Ischemia Reperfusion Injury in Male Rats.
- 14- İhtiyar E, Yaşar NF, Erkasap N, Köken T, Tosun M, Öner S, Erkasap S. Effects of Doxycycline on Renal Ischemia Reperfusion Injury Induced by Abdominal Compartment Syndrome.
- 15- “Neuroprotective effects of vinpocetine and its major metabolite cis-apovincaminic acid on NMDA-induced neurotoxicity in a rat entorhinal cortex lesion model”. Nyakas C, Felszeghy K, Szabó R, Keijser JN, Luiten PG, Szombathelyi Z, Tihanyi K. 2009 Summer; 15(2):89-99. doi: 10.1111/j.1755-5949.2009.00078.x.
- 16- <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/image/fl.html cid=443955> adresinden 25 Eylül 2013 tarihinde alınmıştır.
- 17- Hagiwara M, Endo T, Hidaka H (1984). "Effects of vinpocetine on cyclic nucleotide metabolism in vascular smooth muscle". *Biochemical Pharmacology* (3):453–7. doi:10.1016/0006-2952(84)90240-5. PMID 6322804.
- 18- Truss MC, Uckert S, Stief CG, Forssmann WG, Jonas U (1996). "Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) isoenzymes in the human detrusor smooth muscle. II. Effect of various PDE inhibitors on smooth muscle tone and cyclic nucleotide levels invitro". *Urological Research* 24 (3):129-34. doi:10.1007/BF0030475. PMID 8839479.
- 19- Clinical and non-clinical investigations using positron emission tomography, near infrared spectroscopy and transcranial Doppler methods on the neuroprotective drug vinpocetine: a summary of evidences. *J Neurol Sci.* 203- 204:259-62 (2002).
- 20- Effect of parenteral or oral vinpocetine on the hemorheological parameters of patients with chronic cerebrovascular diseases. *Phytomedicine* 16, 111–117 (2009).
- 21- Efficacy of cavinton in the treatment of patients with chronic blood flow insufficiency. Russian multicenter clinical epidemiological program “CALIPSO”. - *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 110(12):49-52 (2010). Chukanova E.
- 22- Cavinton in the complex treatment of patients with chronic serebrovascular insufficiency. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S. Korsakova.* 109(9):35-9 (2009). Chukanova E.

- 23- http://tr.wikipedia.org/wiki/Küçük_Cezayir_menekşesi adresinden 20 Aralık 2014'de alınmıştır.
- 24- <http://www.linnea-worldwide.com/vincamine.html> adresinden 17 Aralık 2014'de alınmıştır.
- 25- Medina, AE (2010). "Vinpocetine as a potent antiinflammatory agent." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 107 (22): 9921–2.
- 26- Bonventre JV, Zuk A: Ischemic acute renal failure: An inflammatory disease. *Kidney Int* 66: 480-485, 2004.
- 27- Sheridan AM, Bonventre JV: Pathophysiology of Ischemic Acute Renal Failure. *Contrib Nephrol* 132: 7-21, 2001.
- 28- Brady HR, Brenner BM: Acute Renal Failure: Harrison's Principles of Internal Medicine. 14. baskı. Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. The McGraw-Hill Companies USA 1998, S. 1504-1513.
- 29- Brady HR, Singer GG: Acute renal failure. *Lancet* 346: 1533-1540, 1995.
- 30- McMichael M, Moore MRM. Ischemia–reperfusion injury pathophysiology, part I. *J Vet Emerg Crit Care* 2004; 14: 231-41.
- 31- Antioxidants and Free Radicals Eugene Fung www.ginsengcare.com adresinden 18 Ekim 2014 tarihinde alınmıştır.
- 32- Koster JF, Sluiter W: Physiological relevance of free radicals and their relation to iron. In: Nohl H, Esterbauer H, Rice-Evans C(eds), *Free Radicals Series Vol VIII*. London: Richel-ieu Press, 409-427-1994.
- 33- Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994;74: 139-162.
- 34- Barja G: Oxygen radicals, a failure or a success of evolution. *Free Rad Res Commun* 18: 63-70,1993.
- 35- Kılınç A. Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2002;33(2):110-8.
- 36- Free radicals and oxydative stress: The cytokine bulletin, Microsoft Internet.

- 37-** Woolfson RG, Millar CG, Neild GH. Ischaemia and reperfusion injury in the kidney: current status and future direction. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9; 1529-1531.
- 38-** Baud L, Ardaillou R: Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *Br Med J* 1993; 49 (3): 621- 629.
- 39-** Cotran R: Hücre Zedelenmesi Adaptasyon. *Basic Pathology*. Cotran R, Kumar V, Robbins S. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri. 1994;1: 3 -11.
- 40-** Vannucchi H, Araujo WF, Bemardes MM et. Effect of different vitamin E levels on lipid peroxidation in streptozotocin-diabetic rats. *Int J Vitam Nutr Res*. 1999 Jul;69(4):250 -254.
- 41-** Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest*. 1982, 47(5): 412 -426.
- 42-** Green CJ, Healing G, Simpkin S et. Increased Susceptibility to Lipid Peroxidation in Rabbit Kidneys: A Consequence of Warm Ischemia and Subsequent Reperfusion. *Comp. Biochem. Physiol*. 1986, 83(3): 603 -606.
- 43-** Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*. 1993, 49(3): 481 -493.
- 44-** Cotran R: Hücre Zedelenmesi Adaptasyon. *Basic Pathology*. Cotran R, Kumar V, Robbins S. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri. 1994;1: 3 -11.
- 45-** Göksel Şener, Berrak Ç. Yeğen. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim* 5-13.
- 46-** Sies H: Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am J Med* 91: 31S-38S, 1991.
- 47-** Pryor WA, Stanley JP. Letter: A suggested mechanism for the production of malonaldehyde during the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Nonenzymatic production of prostaglandin endoperoxides during autoxidation. *The Journal of organic chemistry* 1975;40,3615-7.
- 48-** Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases: NMCD* 2005;15: 316-28.
- 49-** Moore K, Roberts LJ, 2nd. Measurement of lipid peroxidation. *Free radical research* 1998;28: 659-71.

- 50-** Rangan U, Bulkley GB. Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. Br Med Bull 1993;49: 700-718.
- 51-** Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK. Kidney ischemia-reperfusion: Modulation of antioxidant defenses. Mol Cell Biochem 2000; 205: 1-11.
- 52-** Dawn BM, Allan DM, Colleen MS. Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.(1996).
- 53-** Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull 49: 481-493, 1993.
- 54-** Seven A, İnci F, Civelek S, Burçak G, İnci E, Korkut N. Larenks Kanserli Olgularda Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Statü Göstergelerinin Dokuda İncelenmesi. Türk ORL Arşivi 1998; 36: 33 36.
- 55-** Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB: Pharmacological Approach to Tissue Injury Mediated by Free Radicals and Other Reactive Oxygen Metabolites. Am J Surg 161: 488-503, 1991.
- 56-** Nordberg J, Arner E. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and The Mammalian Thioredoxin System. Free Radic Biol Med. 2001; 31: 1287– 1312.
- 57-** Şener G, Yeğen B. İskemi Reperfüzyon hasarı. Klinik Değişim Dergisi 2008;11: 6-13.
- 58-** Aksoy Y. Antioksidan Mekanizmada Glutatyonun Rolü. Türkiye Klinik Tıp Bilimleri.2002; 22: 442-8.
- 59-** Greene EL, Paller MS: Oxygen Free Radicals in Acute Renal Failure. Miner Electrolyte Metab 17: 124-132, 1991.
- 60-** Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. Endocrin. Rev. 2004; 25: 612-28.
- 61-** Pratic`o D. Antioxidants and endothelium protection. Atherosclerosis, 2005;181:215-24.
- 62-** Slater TF. Free-Radical Mechanisms in Tissue Injury. Biochemical Journal. 1984; 222(1): 1-15.
- 63-** Akkuş İ, 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1.Baskı, Mimoza Yayınları, s.1-60.

- 64-** Howell JG, Zibari GB, Brown MF, Burney DL et al. Both ischemic and pharmacological preconditioning decrease hepatic leukocyte/endothelial cell interactions. *Transplantation* 2000;69: 300–6.
- 65-** Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, Clinical manifestations and preventations of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94: 1133-38.
- 66-** Arai K, Lee F, Miyajima A, et al. Cytokines: Coordinators of Immune and Inflammatory Responses. *Annual Review of Biochemistry*. 1990; 59(1): 783-836.
- 67-** Udassin R, Vromen A, Haskel Y. The time sequence of injury and recovery following transient reversible intestinal ischemia. *J Surg Res* 1994; 56: 221-25.
- 68-** Olguner C, Koca U, Kar A, Karci A. Ischemic preconditioning attenuates the lipidperoxidation and remote lung injury in the rat model of unilateral lower limb ischemia reperfusion. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50: 150-5.
- 69-** Huang SS, Wei FC, Hung LM. Ischemic preconditioning attenuates postischemic leukocyte – endothelial cell interactions role of nitric oxide and protein kinase C. *Circ J* 2006;70: 1070-5.
- 70-** Heinzelmann M, Mercer –Jones MA, Passmore JC. Neutrophils and Renal failure. *AMJ Kidney Dis* 1999;34: 384-99.
- 71-** Caremelo C, Alvarez AM. Polymorphonuclear neutrophils in acute renal failure: *Newinsight Nephrol Dial Transplant* 1998;13:2185-88.
- 72-** Peralta C, Prats N, Xaus C, Gelpi E ve ark. Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology* 1999;30: 1481-89.
- 73-** Başaklar AC. Böbrek ve üreterin konjenital malformasyonları. *Bebek ve çocukların cerrahi ve ürolojik hastalıkları II. cilt, I.baskı: Palme Yayınları* 2007;1205-1215.
- 74-** Şimşek E. Böbrek anatomisi. *Anatomi Fizyoloji: Hacettepe T.A.Ş Kitapçılık LTD. ŞKT.* 1996;109-112.
- 75-** Guyton AC, Hall JE: *The kidneys and body fluids. Textbook of Medical Physiology*, WB Saunders Company, Philadelphia, 1996:315-365.
- 76-** Kabalin JN. *The surgical anatomy of the retroperitoneum, kidney and ureter. Campels urology* 2002:3-15.

- 77-** Abdominal Ultrasonografi, Kuray P. 2000.
- 78-** Kabalin JN. Retroperiton, böbrek ve üreterlerin cerrahi anatomisi (Çeviri: Dr. M. Sevik) Anafarta MK, Yaman MÖ (Editörler), Campbell Üroloji”de, Sekizinci baskı, İstanbul: Güneş Kitapevi; 2005: s.3-40.
- 79-** Biocarampangue-Recursos De Biologia 2007.
- 80-** Eşrefoğlu M, Özel Histoloji, Üriner Sistem, Birinci baskı, Ankara: Medipres Matbaacılık, 2009: s.157-77.
- 81-** Öner G, Böbreklerde İdrar Oluşumu: I. Glomerüler Filtrasyon, Böbrek Kan Akımı ve Bunların Kontrolü, Arthur C, Guyton MD, John E, Hall PhD, Tıbbi Fizyoloji, 11.basım, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2007: s.364-79.
- 82-** Müftüoğlu Y, Böbrek Fizyolojisi, Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N. Temel Üroloji Üçüncü baskı İstanbul: Güneş Tıp Kitapevleri, 2007: s. 27-30.
- 83-** Heyman SN, Lieberthal W, Rogiers P, Bonventre JV: Animal models of acute tubular necrosis. Curr Opin Crit Care. 8: 526-534, 2002.
- 84-** Sun Y, Oberley LW, Li Y, (1988). A simple method for clinical assay of superoxidedismutase. Clin Chem 34: 497-500.
- 85-** Aebi H. (1984). Catalase in vitro assay methods. Methods Enzymol 105: 121-126.
- 86-** Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues bythiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 95: 351-358.
- 87-** Ellman G. (1959). Tissue sulphydryl groups. Arch Biochem Biophys 82: 70-77. **92-** Journal of Surgical Research 186 (2014); 390-97).
- 88-** Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV: Acute renal failure. N Engl J Med 334: 1448-1460, 1996.
- 89-** Lameire N, Biesen WV, Vanholder R: Acute renal failure. The Lancet 365: 417-430, 2005.
- 90-** Çavdar C, Sifil A, Çamsar T. Hastalıkların patogenez ve tedavisinde reaktif oksijen partikülleri ve antioksidanlar. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 1997; 3(4): 96-101.
- 91-** Çakar N, entürk E. Akut Böbrek Hasarında Yeni Sınıflama Sistemleri ve Erken Tanı Göstergeleri (RIFLE ve AKI). Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi, 2010;8:Sup1:1-6.

- 92-** Önal A, Astarçioğlu H, Örmen M, Atila K, Sarıoğlu S. S çandaki renal iskemi reperfüzyon hasarında L-karnitinin koruyucu etkisi. *Ulusal Travma Dergisi*.
- 93-** Walker LM, York JL, Imam SZ, Muldrew KL, Mayeux PR. Oxidative stress and reactive nitrogen species generation during ischemia. *Toxicological Science* 2001; 63;143-148.
- 94-** Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991;78: 651-655 2004; 10(3) :160-167.
- 95-** McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine*, 1985;312 (3), 159-163.
- 96-** Williams P, Lopez H., Britt D., Chan C. Characterization of Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 1997;37:1-7.
- 97-** Bozkurt Y, Firat U, Murat A ve ark. The Protective Effect of Ellagic Acid Against Renal Ischemia –Reperfusion Injury in Male Rats. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*2012 18 (5) : 823- 828.
- 98-** Cochrane J, Williams B. T. , Banerjee A. ve ark. Ischemic Preconditioning Attenuates Functional, Metabolic, and Morphologic Injury from Ischemic Acute Renal Failure in the Rat *Renal Failure* 1999, 21(2), 135-45.
- 99-** Petrozza V, Porta R, Franchitto A, Leuzzi G, Correr S, Carpino F. Renal ischemia and pharmacological prevention: experimental structural and ultrastructural observations. *Ital J Anat Embryol* 1994;99: 189-199.
- 100-** Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition*, 1996;16; 33-50.
- 101-** Fahrettin Yildiz, Sacit Coban, Alpaslan Terzi, Murat Savas, Muharrem Bitiren, Hakim Celik, and Nurten Aksoy. Protective Effects of *Nigella sativa* against Ischemia-Reperfusion Injury of kidney. *Informa Healthcare Catalogue*2010;32(1):126-131.
- 102-** Özkan G, Ulusoy S, Orem A, Ersoz S, Alkanat M, Balaban F et al. Protective Effect of the Grape Seed Proanthocyanidin Extract in a Rat Model of Contrast-Induced Nephropathy. *Kidney Blood Press Res* 2012;35: 445–53.

- 103-** Yun Y, Duan W, Chen P, et al. Ischemic Postconditioning Modified Renal Oxidative Stres and Lipid Peroxidation Caused by Ischemic Reperfusion Injur in Rats. Transplantation Proceeding. 2009; 41: 3597-602.
- 104-** Singh D, Chopra K. Effect of Trimetazidine on Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rat. Pharmacol Res 2004; 50: 623 -9.
- 105-** Salman AE, Dal D, Salman MA, ve ark. The Effect of Ketamine on Acute Muscular Ischaemia Reperfusion in Rats. European Journal of Anaesthesiology. 2005; 22: 712-6.
- 106-** Jose´I. Sotelo-Fe´lix, Daniel Martinez-Fong and Pablo Muriel De la Torre. Protective effect of carnosol on CCl4-induced acute liver damage in rats. European Journal of Gastroenterology & Hepatology 2002;14: 1001–6.
- 107-** Singh D, Chander V, Chopra K. Protective effect of naringin, a bioflavonoid on glycerol-induced acute renal failure in rat kidney. Toxicology 2004;201(1-3):143-51.
- 108-** Maghsoudi S, Gol A, Dabiri S, Javadi A. Preventive effect of ginger (Zingiberofficinale) pretreatment on renal ischemia-reperfusion in rats. Eur Surg Res2011;46(1):45-51.
- 109-** Sayhan MB, Kanter M, Oguz S, Erboga M. Protective effect of Urticadioica L. on renal ischemia/reperfusion injury in rat. J Mol Hist 2012;43(6):691-8.
- 110-** Hadjiev D. Asymptomatic ischemic cerebrovasculer disorders and neuroprotection with vinpocetine. Ideggyogy Sz. May 20,2003;56 (5-6):166-72.