

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Prof.Dr.Adnan ABASIYANIK
ANABİLİM DALI BAŞKANI

RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA GRAPE SEED
PROANTHOCYANİDİN(ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ PROANTOSİYANİDİN)
EKSTRESİNİN ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr.Mustafa Yaşar ÖZDAMAR

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.Engin GÜNEL

KONYA-2008

KISALTMALAR

ABY: Akut böbrek yetmezliği.
AST: Aspartoaminotransferaz.
AT: Anjiyotensin.
ATN: Akut tübüler nekroz.
ATP: Adenozin trifosfat.
ACTH: Adrenokortikotropik hormon.
ADH: Antidiüretik hormon.
Cr: Kreatinin.
FADH₂: Flavinamid adenindinükleotid.
GFR: Glomerüler Filtrasyon Hızı.
GSH: Glutasyon.
GTP: Guanozin trifosfat.
GST: Glutasyon S-transferaz.
GSHPx: Glutasyon peroksidaz.
GR: Glutasyon redüktaz.
GSPE: Grape seed proanthocyanidin extract; üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstreşi.
H₂O₂: Hidrojen peroksit.
ICAM-1: İnterselüler adhezyon molekül-1.
IL: İnterlökin
İ/R: İskemi-reperfüzyon.
KAT : Katalaz.
LOOH: Lipid hidroperoksitlerinin.
MDA: Malondialdehit.
NADH: Nikotinamid adenindinükleotid.
NO•: Nitrik oksit radikali.
O₂•⁻: Süperoksit radikali
OH•: Hidroksil radikali.
PMNL: Polimorf nüveli lökositler.
PG: Prostaglandin.
ROR: Reaktif oksijen radikalleri.
ROO•: Peroksit radikali.
SOD: Superoksit dismutaz.
TNF-α: Tümör Nekrozis Faktör-alfa.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

1.GİRİŞ	4
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1.BÖBREĞİN ANATOMİSİ.....	5
2.2.BÖBREĞİN FONKSİYONEL FİZYOLOJİSİ.....	7
2.3.İSKEMİ- REPERFÜZYON (İ/R) HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ.....	16
2.3.1.SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN ROLÜ.....	17
2.3.1.1.HÜCREDE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİNİN KAYNAĞI.....	21
2.3.1.2.SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN ETKİLERİ.....	25
2.3.1.3.ENDOJEN VE EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR.....	29
2.3.2.İ/R HASARINDA KOMPLEMAN,ENDOTEL VE LÖKOSİTLERİN ROLÜ...36	
2.4.AKUT TÜBÜLER NEKROZ VE RENAL İSKEMİ- REPERFÜZYON.....	38
2.5.PROANTOSİYANİDİNLER.....	41
2.5.1. PROANTOSİYANİDİNLERİN ANTİOKSİDAN VE DİĞER ÖZELLİKLERİ.....	43
2.5.2. PROANTHOCYANİDİNLERİN FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLERİ.....	46
3.MATERYAL VE METOD.....	48
3.1.DENEYSEL ÇALIŞMA	48
3.2.İSKEMİ REPERFÜZYON OLUŞTURMA MODELİ.....	48
3.3.ÇALIŞMA GRUPLARI.....	49
3.4.BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	50
3.4.1.BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME.....	50
3.4.1.1.SERUM ÜRE, KREATİNİN VE ASPARTOAMİNOTRANSFERAZ SEVİYELERİNİN TESPİTİ.....	50
3.4.1.2.SERUM TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFA SEVİYESİNİN TESPİTİ....	50
3.4.1.3.DOKU MALONDİALDEHİT VE GLUTATYON REDÜKTAZ SEVİYESİNİN TESPİTİ.....	50
3.4.2.HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	51
3.4.3.İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	51

4.SONUÇLAR	52
4.1.BİYOKİMYASAL SONUÇLAR	52
4.1.1. SERUM ÜRE,KREATİNİN ASPARTOAMİNOTRANSFERAZ SONUÇLARI.....	52
4.1.2. SERUM TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFA SONUÇLARI.....	54
4.1.3. DOKU MALONDİALDEHİT VE GLUTATYON REDÜKTAZ SONUÇLARI.....	55
4.2.HİSTOPATOLOJİK SONUÇLAR	57
5.TARTIŞMA	61
6.ÖZET	66
7.SUMMARY	67
9.KAYNAKLAR	68
TEŞEKKÜR	73

1. GİRİŞ

Bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle (özellikle vasküler cerrahi işlemler ve organ transplantasyonu esnasında) yetersiz hale gelmesine veya durmasına iskemi denir. İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskeminin uzun sürmesi sonucunda hücrelerin bütünlüğü kaybolur hatta hücrel ölüm meydana gelir. Reperfüzyon ise dokunun kanlanması yeniden başlamasıdır. İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda (reperfüzyon), özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan reaktif oksijen radikalleri (ROR) dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Bu olaya reperfüzyona bağlı doku hasarı denir ¹⁻⁵.

Reaktif oksijen radikallerinin potansiyel zararlarına karşılık çok sayıda hücre koruyucu enzimler ile karşı koyulur ve antioksidan maddeler ile radikal hasarı sınırlandırılmaya çalışılır. Vücuttaki hücrel antioksidan enzimler, antioksidan maddeler ve serbest radikallerin birbirleri arasındaki ilişki bir denge oluşturmaktadır ^{4,5}. Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde, antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve spesifik (enzimatik) olarak çalışırlar. Antioksidan savunmada öncelikle etkili olanlar enzimatik antioksidanlardır. Bunlar superoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimlerdir ^{3,4,5}.

Böbrek iskemisi; böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi, kardiyopulmoner bypass, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler ve hidronefrozis gibi çeşitli klinik durumlarda görülür. İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışıyla karakterizedir. Reperfüzyon sonrası ortama gelen nötrofiller ve bunlardan açığa çıkan mediatörlerin etkileri de eklenince organ veya doku ölümü kaçınılmaz olmaktadır ^{2,3,4}.

Tüm organ ameliyatlarında olduğu gibi renal cerrahi girişimlerde de iskemi-reperfüzyon (İ/R) kaçınılmazdır. Son zamanlarda yapılan çeşitli deneysel İ/R modellerinde, özellikle endojen antioksidan maddelerin İ/R hasarında koruyucu veya önleyici etkileri gösterilmeye çalışılmıştır. Ancak; bu hasarın engellenmesinde, eksojen antioksidan maddeler daha da ilgi çekici hale gelmektedir. Bu çalışmada, renal İ/R hasarında güçlü eksojen serbest radikal süpürücü ve antioksidan olan GSPE (Grape seed proanthocyanidin extract; üzüm çekirdeği proantosyanidin ekstresi) 'nin muhtemel koruyucu etkilerini incelemek amaçlandı.

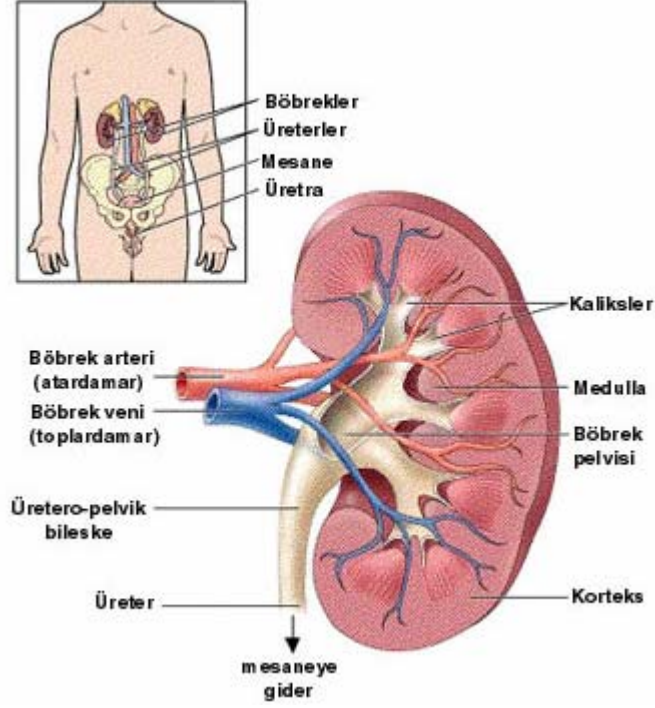
2. GENEL BİLGİLER

2.1. BÖBREĞİN ANATOMİSİ

Böbrekler karın arka duvarında her iki yanda retroperitoneal bölgede bulunurlar. Sağ böbrek, üstündeki karaciğer nedeniyle sola göre biraz daha aşağıdadır. Organın medial yüzü paraspinal kaslar tarafından desteklenir. Üst kutuplarının arka kesimleri alt kaburgalarla komşudur. Kubbesindeki adrenal bezle birlikte ince bir bağ dokusu –perirenal veya Gerota fasiyası- tarafından sarmalanmıştır. Bu fasiya bir bariyer gibidir. Gerota fasiyasının iç ve dış yüzü erişkinlerde daha çok çocuklarda daha az olmak üzere hatırı sayılır miktarda yağ dokusuyla doludur. Küçük çocuklarda böbreklerin boyutu vucuda göre göreceli olarak büyüktür. Çocuklarda yaşa göre olması gereken böbrek boyutunu gösteren nomogramlar olmasına rağmen, bir böbreğin normal uzunluğunun 2,5 vertebral korpusa karşılık gelmesi kuraldır ^{6,7,8}.

Böbreklerin komşulukları farklılık gösterir. Sağ böbrek karaciğerin arkasında uzanır. Duodenum medialden hiler yapıları örter. 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 altında medialde büyükçe bir peritoneal kese içinde jejunum ile komşudur ⁹.

Böbreğin bütün 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. Medullanın kortekse yakın kesimlerinde de Henle kulpu, vaza rekta ve toplayıcı kanalların terminal uçları bulunur. Medullada dikkati çeken en önemli yapılar, geniş tabanlı kortikomedullar birleşim hattında, sivri ucu da renal pelvise bakan renal piramidlerdir. Piramidin pelvise bakan sivri ucuna papilla denir. Üreterin hilusta genişleyerek oluşturduğu huni biçimli yapıya pelvis denir. Pelvisin en dışında majör kaliksler ve onların bölmeleri olan minör kaliksler yer alır. Papillalar minör kalikslere açılırlar. Renal arter, ven, lenfatikler, sinirler ve üreterin böbreğe giriş çıkış yaptığı mediale bakan yüzüne hilus denir. Hiler yapılar; en önde ven, arada arter ve en arkada pelvis olacak şekilde sıralanmışlardır (Şekil-1) ^{6,7}.



Şekil-1: Böbreğin anatomik yapısı (Abdominal Ultrasonoğrafi , Kuray P. 2000’den alındı).

Kan, böbreklere aortanın her iki yanından süperior mezenterik arterin çıktığı yerin biraz altından ayrılan renal arterler vasıtasıyla gelir. Normalde ve çoğunlukla bu arterler böbrek hilusuna tek bir dal halinde ulaşırlar. Arter tam hilusta ön ve arka segmenter dallarına ayrılır. Arkaya giden segmenter 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 –Brodel hattı- avasküler bir plan olduğu kabul edilir ve parankim açılacaksa bu hat boyunca açılması önerilir. Böbrek damarlarında değişik varyasyonlarının olması da sık rastlanan bir durumdur. Özellikle sol böbrekte doğrudan aortadan, adrenalenden veya gonadal arterden ayrılan arterlerin alt ve üst kutuplarına yöneldikleri görülür. Böbreğin venöz kanı da 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 sıktır. Sol renal ven sağdakinden boyca da uzundur ⁶.

5-Toplayıcı tübül: İki veya daha fazla distal tübülden oluşmuştur. Korteks ve medülladan geçerek idrarı drene ederler.

Renal fizyolojide 3 temel işlev vardır. Bunlar; glomeruler filtrasyon, tübüler reabsorbsiyon ve tübüler sekresyondur ⁸⁻¹⁰.

Glomeruler Fonksiyonlar: Nefronun bir bölümü olan glomerulün fonksiyonu, afferent arteriolla gelmekte olan kanı filtre etmektir. Hücreler ve büyük moleküller hariç her türlü madde nefronun daha ileri bölümlerine doğru ilerler. Bazı faktörler filtrasyonu kolaylaştırır. Bunlardan birincisi, iki arteriol arasındaki pozisyonundan dolayı oluşan kapillerlerindeki yüksek basınçtır. Diğer bir faktör yarı geçirgen glomerüler membrandır. Bu membranın eşik değeri yaklaşık olarak 66000 daltondur (Albuminin molekül büyüklüğüyle aynı). Bu nedenle su, elektrolitler ve glukoz, üre, kreatinin gibi küçük moleküller serbestçe geçerler. Ancak albumin, bazı plazma proteinleri, selüler elementler, lipid-bilirubin gibi proteine bağlı moleküller geçemezler. Bir diğer faktör bazal membranın negatif şarj olmuş olmasıdır. Böylece, örneğin protein gibi negatif yüklü moleküller filtrata geçemezler. Böbreklere dakikada 1200-15000 ml kan akımı gelir ki bu miktar total kardiyak outputun yaklaşık 1/4'üdür. Glomerüller ise 125-130 ml filtrat oluştururlar ve bu filtrat proteinleri ve hücreleri içermez. Dakikada filtre edilen kan volümü Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFR) olarak bilinir ^{6,8,9}.

Tübüler Fonksiyonlar

Proksimal Tübül: Proksimal tübül, hücreden arınmış ve özellikle protein- kan filtratının ulaştığı nefronun diğer bir bölümüdür. Bu süzüntü hem belli bir konsantrasyonun üzerindeki vücut için zehirli olan artık ürünleri hem de vücut için gerekli maddeleri içerir. Proksimal tübülün bir fonksiyonu da bu değerli maddelerin her birinin çoğunluğunu kan dolaşımına tekrar geri döndürmesidir. Böylece suyun üçte ikisi, sodyum ve klorla, glukozun tümü (renal eşik kadar), proteinlerin, vitaminlerin ve amino asitlerin hemen hemen tümü, ve değişik miktarlarda magnezyum, kalsiyum, potasyum ve bikarbonat gibi iyonlar yeniden emilirler. Maddelerin tübüler lumenden peritübüler kapillerle plazmaya hareketine ve bu sürece tübüler reabsorbsiyon adı verilir. Su ve klor iyonları istisna olmak üzere ki bu süreç aktif olarak yürür, tübüler epitel hücreleri bu maddeleri plazma membranlarından kana taşımaları için enerji kullanırlar. Taşınma sürecine katılanların normal olarak etkili reabsorbsiyon için yeterli rezervleri vardır. Ancak bunlar çözünebilirlerdir. Bundan dolayı filtrasyondaki her bir maddenin konsantrasyonu bunun üzerindeyse, ilgili transport sisteminin bunları bağlayacak

derecede hızlı işlev göremez ve bundan ötürü filtrattan maddeleri uzaklaştırır. Bu maddeler idrara atılır. Atılan maddelerin idrarda görüldüğü plazma konsantrasyonu renal eşik olarak bilinir ve onun saptanması hem tübüler fonksiyonların hemde renal olamayan hastalık durumlarını değerlendirmek için uygundur. Su için renal eşik yoktur çünkü su her zaman pasif taşınma ile diffüzyon yolu ile düşük konsantrasyonlu ortama taşınır. Klor iyonları da bu durumda sodyum iyonlarının ardından diffüze olur⁸⁻¹⁰.

Proksimal tübülün diğer bir fonksiyonu da, penisilin gibi ilaçları ve hidrojen iyonu gibi böbreğin tübüler hücre metabolit ürünlerini sekrete etmektir. Tübüler sekresyon terimi iki değişik yolda kullanılır. Birincisi maddelerin peritübüler kapiler plazmadan tübüler lümene hareketini tarif eder. Buna ek olarak, tübüler hücreler aynı zamanda da kendi hücre metabolizmalarının bazı ürünlerini tübüler lümendeki filtrata salarlar ve bu tübüler sekresyon olarak adlandırılır. Burada da hücre zarlarından transport hem aktif hem de pasif olur^{6,9,10}.

Artık ürün olan ürik asitin hemen hemen (% 98-100) tümü aktif olarak reabsorbe olur, sadece proksimal tübülün distal ucunda sekrete olur. Diğer artık ürün üre, yüksek derecede diffüze olabilen bir moleküldür ve renal tübülden pasif olarak interstitiuma geçer, medullada bulunan osmalite gradyentine katkıda bulunur^{6,8,9,10}.

Henle lupu: Ters akıntı üreten sistemdir. Nefronun bu bölümünde medüllada osmolalite kortikomedüller bileşkeden içeriye doğru devamlı artar. Suyun, sodyumun ve klorun reabsorbsiyonu uyarılır. Hiperosmolalite gelişir. Henle lupu proksimal tübül ile distal tübül arasındadır. Henlenin inen kolunda akım aşağıya doğrudur ve çıkan kolunda akım yukarıya doğrudur ve ters eğimli akım diye adlandırılır. Çıkan kol boyunca sodyum ve klor aktif ve pasif olarak medüller interstisyel sıvı içerisine absorbe olur. Çıkan kol rölatif olarak suya geçirgen olmadığı için hiperosmalalite gelişir. İnen kol ise suya çok geçirgendir, sodyum ve kloru reabsorbe etmez. İnterstisyel hiperosmalitenin nedeni, çıkan kolda klor ve sodyum iyonlarının içeriye pompalanmasıdır⁹.

İnen lupu terkeden suyla, çıkan lupu terkeden sodyum ve klor arasındaki etkileşim yüksek osmolaliteyi sağlar ve böbrek medüllasında hipoosmolar idrarın lupu terketmesine neden olur. Bu süreç ters akım toplayıcı sistem olarak adlandırılır⁹.

Distal tübül: Filtrat nefronun bu bölümünde son şeklini almıştır. Sodyum ve klorun %95 i ve suyun %90'ı reabsorbe edilmiş durumdadır. Distal tübülün fonksiyonu elektrolit ve asit baz homeostazında küçük ayarlamalar yapmaktadır. Aldosteronun hormonal kontrolü altındadır. Bu hormon adrenal korteksten salgılanır ve afferent renal arterde kan akımının azalmasıyla tetiklenir. Aldosteron renin-anjiotensin mekanizmasıyla, daha az oranda da adrenokortikotropik hormon (ACTH) ile regüle edilir. Aldosteron distal tübülde sodyum reabsorbsiyonunu ve potasyum ile hidrojen iyonlarının sekresyonunu stimule eder. Hidrojen iyon sekresyonu bikarbonat oluşumuna ve amonyak sekresyonuna bağlıdır. İlâveten burada çok az miktarda klor reabsorbe olur ⁹.

Toplayıcı tübül: Üst bölümlerinde aldosteronun etkisiyle sodyum reabsorbsiyonu gerçekleşir. Klor ve üre de burada reabsorbe edilir. İlâveten toplayıcı tübül antidiüretik hormon (ADH)'nın kontrolü altındadır. Bu peptid hormon, posterior hipofizden salgılanır ve salınımını kan osmolalitesinin artması veya intravasküler volüm azalması tetikler. Yarı ömrü kısadır. ADH su reabsorbsiyonunu stimule eder. Toplayıcı kanal normalde suya geçirgen değildir (Çıkan henle gibi). Ancak ADH varlığında toplayıcı kanalın lumeninden medullaya pasif difüzyonla su geçişi olur ve idrar daha konsantre edilmiş olur ^{6,8-10}.

Nonprotein nitrojenlerin(NPN) metabolit eliminasyonları: Nükleik asitler, aminoasitler ve proteinlerin yıkım metabolizmaları sonucunda vücutta NPN atıklar üretilir. Bu ürünlerin atılımı böbreğin önemli fonksiyonlarından biridir. Üç önemli madde üre, kreatinin ve ürik asittir ⁸.

Üre: Üre proteinlerin oksidatif katabolizması sonucunda günlük olarak atılan NPN atıklarının büyük bir bölümünü (%75'den fazlasını) oluşturur. Proteinler nitrojen atomlarının uzaklaşmasıyla detoksifiye olarak aminoasitlere yıkılırlar. Amonyak oluşur ve üreye dönüşür ve böylece toksisitesi kaybolur. Böbrek ürenin atılımı için tek önemli yoldur. Moleküler ağırlığı 60 daltondur ve böylece glomerüller tarafından filtre edilir. Tamamının atılımının haricinde %40 ile %60'ı toplayıcı kanaldan reabsorbe edilir. Absorbe edilen üre, medulladaki yüksek osmolaliteyi meydana getirir. Bu reabsorbsiyon miktarı GFR hızına, plazma renal akımına ve idrar akım hızına bağlıdır ⁸⁻¹⁰.

Kreatinin: Kaslar kreatin fosfat içerirler. Bu da kreatin kinaz tarafından katalize edilen ATP'nin hızlı formasyonu için yüksek enerjili fosforil grubudur. Bu kasların ilk önce kullandığı

metabolik yakıttır. Şöyle oluşur: Hergün kas kreatininin %20'ye kadarı (ve onun fosfatı) spontan olarak dehidrate olur ve dolaşıma girer ve kreatinin atık ürünü oluşur. Bundan dolayı kreatinin düzeyleri kas kütlesinin fonksiyonudur ve kas kütlesinde değişiklik oluncaya kadar yaklaşık olarak daima aynı düzeyde kalır. Kreatinin düzeyi sabittir ve moleküler ağırlığı 113 daltondur. Bundan dolayı glomerüllerden filtre edilir ve tübüllerden reabsorbsiyonu yoktur. Bundan başka yüksek serum konsantrasyonlarında böbrek tübülleri tarafından küçük miktarlarda sekrete edilir⁹.

Ürik asit: Pürin metabolizmasının temel atık ürünüdür. Adenin ve Guanin, ATP ve GTP (Guanozintrifosfat)'nin prokürsörüdür. Ürik asitin molekül ağırlığı 168 daltondur. Bundan dolayı glomerulden filtre edilir, ancak daha sonra karmaşık reabsorbsiyon ve sekresyon siklusuna girerek nefronlar yoluyla atılır. Orijinal filtratın sadece %6 ile %12'si sonuçta atılır. Ürik asit iyonize ve daha çok çözünebilir formda bulunur. 5.75'in üzerindeki üriner PH değerlerinde genellikle sodyum urat şeklindedir. 5.75'in altındaki PH'larda ayrışabilir değildir⁸.

Sıvı, elektrolit ve asit-baz dengesi

Su Dengesi: Böbreğin vücuttaki su dengesine katkısı su kaybı yoluyla olur. Su atımı hormonal ADH kontrolü altındadır. ADH temel olarak osmolite ve intravasküler hacim değişikliklerine cevap verir. Osmolitedeki artış ADH salınımını stimüle eder. Bu da toplayıcı kanalların suya karşı permeabilitesini artırır. Bu da suyun resorbsiyonuyla sonuçlanır ve daha konsantre idrar atılımına sebep olur. İntravasküler volüm azalması da benzer etkiye neden olur. Buna karşın su alımının major regülasyonu susamayladır ki bu aynı stimülatör yani ADH ile tetiklenir⁸.

Dehidratasyon durumunda renal tübüller maksimum oranda su reabsorbe eder, çok az miktarda ve maksimum konsantrasyonda idrar üretilir. Su fazlalığı durumunda tübüllerin su absorpsiyonu minimal düzeydedir, fazla miktarda ve oldukça dilüe idrar üretilir. Bu iki ekstrem durum arasındaki ince ayar vücutta sıvı dengesinin tam kontrolünde olur^{8,10}.

Sodyum: Sodyum vücutta primer ekstrasellüler katyondur ve başlıca böbrekler yoluyla atılır. Vücutta sodyum dengesi atılım yoluyla kontrol edilir. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron hormonal sistemi, sodyum dengesinin kontrolünün major mekanizmasıdır⁸.

Potasyum: Potasyum vücutta intrasellüler ana katyondur. Potasyum konsantrasyonunun tam regülasyonu hücre metabolizması için herşeyden daha önemlidir ve böbrekler vasıtasıyla gerçekleştirilir. Sodyum gibi glomerülden serbestçe filtre edilir ve aktif olarak nefronun her tarafından reabsorbe edilir (Henlenin inen kolu hariç). Distal tübül ve toplayıcı kanal her ikisi de potasyumu hem reabsorbe ve hem de ekskrete edebilirler ve salınım aldosteron tarafından kontrol edilir. Potasyum iyonları sodyumla değişim yapmada hidrojen iyonları ile yarışır (proksimal tübülde) ve bu olay vücut tarafından hidrojen iyonlarının korunmasında ve böylece metabolik alkaloz durumunda kompensasyonda kullanılır ^{8,10}.

Klor: Ekstrasellüler sıvının başlıca anyonudur. Glomerülden filtre edilir ve proksimal tübülde sodyum reabsorbe edildiğinde karşıt iyon olarak pasif olarak reabsorbe edilir. Henlenin çıkan kolunda potasyum klor pompası ile aktif olarak reabsorbe edilir, keza sodyum da böyledir. Bu pompa furosemid gibi loop diüretikleri tarafından inhibe edilebilir. Klor regülasyonunun kontrolü sodyumla aynıdır ⁸.

Fosfat: Ekstrasellüler ve intrasellüler sıvı içeriğinin her ikisinde de yaklaşık olarak dengede olur. Ya proteine bağlı veya proteine bağlı olmayan formda bulunur. Homeostazi paratroid hormonun kontrolü altında proksimal tübülden reabsorbsiyonu ile ayarlanır ⁸.

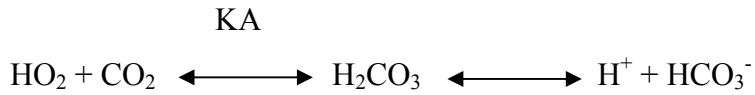
Kalsiyum: İkinci önemli intrasellüler katyondur. Hücrede en önemli inorganik haberci maddedir. Kalsiyum da proteine bağlı ve proteine bağlı olmayan formda bulunur. Proteine bağlı olmayan formda kalsiyum ya iyonizedir ve fizyolojik olarak aktiftir ya da fosfat, bikarbonat gibi maddelerle çözünebilir bağlarla küçük kompleksler yapmıştır. İyonize formdaki kalsiyum glomerülden serbestçe filtre olur ve parathormon (PTH)'nun kontrolü altında proksimal tübülden reabsorbe edilir. Buna karşın, kalsiyum konsantrasyonunun renal kontrolü kalsiyum regülasyonun temel komponenti değildir. Barsaktan ve kemik depolarından kalsiyum absorbsiyonunu PTH ve kalsitonin kontrolü altındaki regülasyonu renal sekresyondan daha önemlidir ⁸.

Magnezyum: İntrasellüler major katyondur ve enzimatik kofaktör olarak önemlidir. Fosfat ve kalsiyum gibi proteine bağlı ve proteine bağlı olmayan iki durumda bulunur. Proteine bağlı olmayan fraksiyonu glomerülden kolayca filtre olur ve PTH etkisi altında proksimal tübülden resorbe olur ^{6,8}.

Asit Baz Dengesi: Normal vücut metabolizmasıyla bir çok uçucu olmayan asidik artık ürünler oluşturulur. Karbonik asit, laktik asit, keto asitler ve diğerleri fizyolojik PH'da büyük değişikliklere neden olmadan plazmada taşınmalı ve vücuttan atılmalıdır. Vücut PH'sının kontrolünün yapılmasında renal sistem 3 mekanizmadan birisini oluşturur. Diğer iki regülasyon mekanizması respiratuar sistem ve asit-baz tamponlama sistemidir.

Böbrekler vücut PH'sının kontrolündeki görevini iki yolla gerçekleştirir: Bikarbonat iyonlarının tutulması ve metabolik asitlerin atılması^{6,8}.

Bikarbonat iyonlarının rejenerasyonu: Komplike bir mekanizmayla bikarbonat iyonları öncelikle glomerülden plazma dışına filtre edilir. Renal tübüle geldiğinde bu bikarbonat hidrojen iyonları ile birleşerek karbonik asiti oluşturur ve bu molekül daha sonra CO₂ ve suya ayrışır. Bu karbondioksit proksimal tübül hücrelerinin fırçamsı kenarlarına diffüze olur ve orada karbonik anhidraz (KA) tarafından karbonik asite çevrilir. Sonra hidrojen ve bikarbonat iyonlarına ayrışır. Bu reaksiyon aşağıda gösterilmiştir ^{6,8,10}:

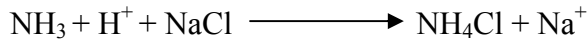
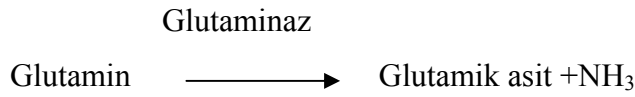


Bu yeni oluşan bikarbonat metabolizma tarafından kullanılanın tekrar yerine konulması için kana verilir. Bikarbonata eşlik eden hidrojen iyonları, tübüler lumene sekrete edilirler ve oradan idrara geçerler. Böylece filtre edilmiş bikarbonat sirkülasyona reabsorbe edilir. Orada kan PH'sını optimal düzeylere dönmesine yardım eder ve diğer tampon sistemleri gibi etkinlik gösterir ⁸.

Metabolik asitlerin atılımı: Hidrojen iyonları, bikarbonatın yeniden oluşma mekanizmasının bir bölümü olarak renal tübüllerde oluşurlar. Bu hidrojen iyonları uçucu olmayan organik asitlerden ayrılan diğerleri ile birlikte tampon bazlarının bir çok farklı reaksiyonları ile atılırlar ⁸.

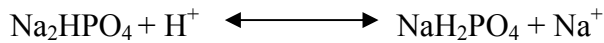
Amonyum (NH₃) reaksiyonu: Glomeruller amonyumu filtre etmez. Ancak glutamin amino asiti amonyağı nontoksik olarak kandan böbreğe taşır. Böbrekte glutaminaz tarafından deamine edilir ve renal tübülde amonyum teşekkül etmiş olur. Daha sonra bu amonyak

sekrete edilen H^+ iyonlarıyla amonyumu meydana getirir. Amonyum lümen dışına diffüze olamaz ve idrarla atılır. Reaksiyon şöyledir:



Asit atılımının bu şekli, metabolik asidozun böbrek yoluyla kompensasyonunda en önemli mekanizmadır ⁸.

Monohidrojen fosfat reaksiyonu (HPO_4^{2-}): Glomerüller tarafından filtre edilmiş fosfat iyonları disodyum hidrojen fosfat olarak tübüler sıvı içinde bulunabilir. Bu molekül dihidrojen fosfat elde etmek için atılan hidrojen iyonlarıyla reaksiyona girer. Bu molekül daha sonra idrarla atılır ve idrarın ölçülebilir asiditesinden sorumludur. Reaksiyon ise şöyledir:



Salınan sodyum, sodyum bikarbonat oluşturmak üzere bikarbonatla birleşir ve reabsorbe edilir. Bu mekanizmalarla, metabolik asitlerin artan miktarları maksimum idrar PH'sı olan yaklaşık 4,4 oluncaya kadar atılırlar. Bu noktadan sonra renal kompensasyon mekanizması asidozu daha fazla düzeltmeye yeteli değildir ve metabolik asidoz kaçınılmazdır. Çok az serbest hidrojen iyonları direkt olarak atılabilir ^{8,10}.

Endokrin fonksiyon: Böbreklerin birçok atılım ve regülasyon fonksiyonlarına ilaveten endokrin fonksiyonları da vardır. Böbrekler hem kendi hormonunu üreten primer endokrin organdır hem de diğer endokrin organlardan gelen hormonların hedef organıdır ^{8,10}.

Primer endokrin fonksiyon: Böbrekler, renin, prostaglandinler ve eritropoietin sentez ederler ⁸.

Renin: Renin, anjiotensin-aldesteron feed back sisteminin başlangıç komponentidir. Plazmadaki anjiotensinojenden anjiotensin oluşumunu katalize eder. Ekstrasellüler sıvı volümü azaldığında renal medüllerin jukstaglomerüler hücreleri tarafından üretilir. Reninin,

kan basıncını arttırıcı vazokonstriktör görevi vardır. Ayrıca sodyum ve potasyum seviyelerindeki değişikliklere de cevap verir^{6,8,10}.

Prostaglandinler: Prostaglandinler, esansiyel yağ asitlerinden (öncelikle doymamış araşidonik asitten) oluşmuş halkalı yağ asitleridir. Tüm dokularda yapırlar ve etkileri çeşitlidir. Hormonlar gibi davranırlar fakat prostaglandinler etki ettikleri bölgede sentezlenirler. Etkilerini çok kısa sürede gösterirler ve hızla katabolize olurlar. Ya PG_1 (Prostoglandin₁) ya da PG_2 olabilirler. PG_2 daha sıktır. PGA_2 , PGE_2 ve PGI_2 gibi böbreklerden salınan prostaglandinler, renal kan akımını, sodyum ve su atılımını ve renin salınımını artırırlar. Onların etkileri anjiotensin ve norepinefrinden dolayı renal vazokonstriksiyona karşıdır. Anjiotensin II'nin PGE_2 'yi stimule ettiğine inanılır. Prostaglandinler antihipertansif tedavide kullanılırlar. Araşidonik asitten, lökotrienler ve tromboksanlar da oluşabilir. Bunların inflamasyon ve bronkokonstruksiyon gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri vardır^{6,8,10}.

Eritropoietin: Tek zincirli bir polipeptiddir. Proksimal tübül hücreleri tarafından üretilir ve üretimi kan oksijen seviyesi ile regüle edilir. Hipoksida 2 saat içinde serum konsantrasyonu artırılır. Eritropoetin kemik iliğinde eritroid kök hücrelerde etkisini gösterir, onların maturasyonuna neden olur ve kırmızı kan hücrelerinin sayılarını artırır. Kronik renal yetmezlikte eritropoetin üretimi belirgin olarak azalır^{6,8,10}.

Sekonder endokrin fonksiyon: Böbrekler aldosteronun etkileri için hedef organdırlar. Bu da insülin, glukagon ve aldosteronun katabolizması için ve Vit D'nin aktivasyonun içindir. Vit D insan vücudundaki kemiklerin kalsifikasyonu ve fosfat ve kalsiyumun dengesini sağlayan üç temel hormondan birisidir. Bundan ötürü kronik renal yetmezlik osteomalazi ile birlikte dir. Buda normal Vit D metabolizmasının bozulmasından oluşur^{6,8,10}.

2.3. İSKEMİ- REPERFÜZYON HASARININ FİZYOPATOLOJİSİ

İskemi, hücrede enerji düzeyinin düşmesine ve toksik metabolitlerin dokuda birikmesine yol açarak hücre disfonksiyonu ve sonrasında hücre ölümüne kadar gidebilen bir dizi biyokimyasal reaksiyonu başlatır. İskemik ortamda doku ATP düzeyi azalmakta, asidoz oluşmakta ve uzun iskemi sürelerinin ardından gelen reperfüzyon sonrası boşalan ATP depoları organ canlılığını sürdürmek için yeterli miktarda doldurulamamaktadır. Reperfüzyon sonrası ortama gelen nötrofiller ve bunlardan açığa çıkan mediatörlerin zararlı etkileri de eklenince organ veya doku ölümü kaçınılmaz olmaktadır ³.

İ/R sonrası dokularda mikrovasküler fonksiyon bozukluğu gelişir. Arteriyollerde endotele bağımlı dilatasyon bozulur. Kapillerlerde lokosit tıkaçları oluşur, sıvı filtrasyonu artar. Postkapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına çıkması ve lokositlerin hareketliliği başlar. Mikrosirkülasyonun bütün segmentlerinde aktive olan endotel hücreleri daha fazla reaktif oksijen radikalleri (ROR) ve daha az nitrik oksit (NO) üretir. Endotel hücrelerinde süperoksit radikali ve nitrik oksit arasındaki dengesizlik inflamatuvar mediyatörlerin üretim ve salınımına öncülük ederken, adhezyon moleküllerinin biyosentezini de artırır ^{11,12}.

Hipoksi sonucu geri dönüşümsüz değişikliklerin gelişmesi için geçen süre değişkendir. İskelet kaslarının saatlerce hipoksiyi tolere edebilmesine karşın beyin için bu süre çok kısadır; kalp için ise yaklaşık 60 dakika kadardır. Sonuç olarak iskemi, hücreleri hasara uğratar ve öldürür. Bu nedenle iskemi durumunda kan akımı en kısa zamanda tekrar sağlanmalıdır. Fakat dokularda oksijenizasyonun tekrar sağlanması hasarlı bölgede ROR'ların artmasına ve geçici olarak hasarın ağırlaşmasına sebep olabilmektedir. İskemi nedeniyle ortamın asitleşmesi, hasarlı hücrelerden demir iyonlarının salınımı, mitokondrial solunum zincirlerindeki aksamalar ile dokularda ROR'ların sentezi uyarılır. Kan akımı tekrar sağlandığında ortama oksijenin ulaşmasıyla hasar daha da artar ¹³.

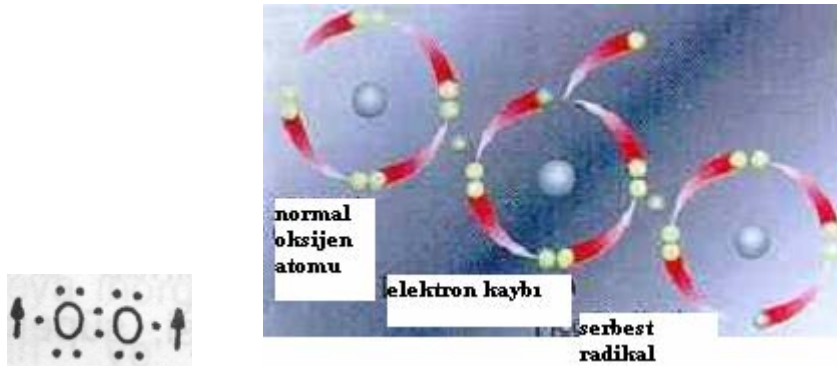
İ/R hasarının fizyopatolojisi tam olarak açığa kavuşmamış, birbiriyle ilişkileri net olarak ortaya konulamasa da hücresel ve humoral olaylar dizisidir. ROR'lar, kompleman, endotel ve polimorf nüveli lökositler (PMNL) olmak üzere başlıca dört komponent bu olaylar dizisinde etkilidir ^{5,13}.

2.3.1. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN ROLÜ

Total oksijen tüketimimizin %90'dan fazlasından elektron transport zinciri (solunum zinciri), %5-10'undan da diğer oksijen gerektiren reaksiyonlar sorumludur. Elektron transport zincirinde moleküler oksijen, yakıtlardan (glukoz, yağ asidi ve amino asitlerin karbon iskeleti) türeyen NADH (Nikotinamid adenindinükleotid) ve FADH_2 (Flavinamid adenindinükleotid)'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 asitlerin katabolizması, ilaçların detoksifikasyonu ve steroid hormonların sentezi gibi spesifik metabolik yollar için önemlidirler. Bu reaksiyonlarda diğer oksidazlar (oksijeni suya veya hidrojen perokside indirgeyen enzimler) ve oksijenazlar (oksijeni okside olan moleküle bağlayan enzimler) görev alırlar (5).

Moleküler oksijenin özellikleri

Moleküler oksijen (O_2), paralel spin durumlu iki ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektrona sahiptir (Şekil 3).



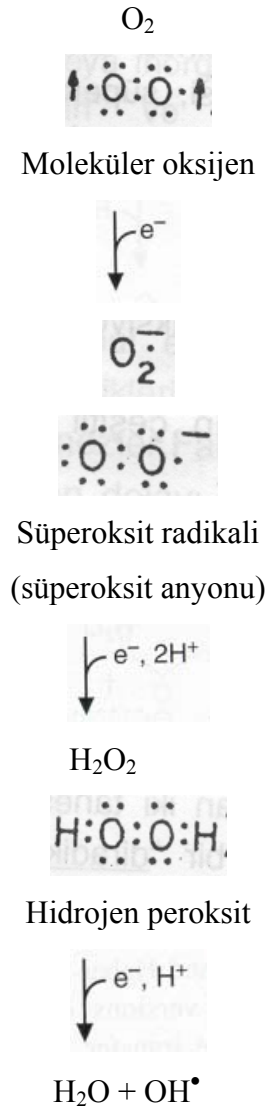
Şekil- 3: Moleküler oksijenden serbest radikal oluşumu (Green fast glossary, 2007'den alındı)

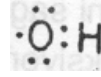
Ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller **serbest radikal** olarak tanımlanırlar. Ancak Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} ve Mo^{5+} gibi geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmezler, fakat serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Serbest radikal tanımına göre moleküler oksijen, bir biradikal (diradikal) olarak değerlendirilir. Biradikal oksijen, radikal olmayan maddelerle yavaş reaksiyona girdiği halde diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer^{5,13}.

Biradikal oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle singlet oksijen oluşur. Singlet oksijen, eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür, delta ve sigma olmak üzere iki şekli vardır. Organizmada geçiş metallerini (Fe^{2+} ve Cu^+ gibi metaller) içeren enzimler vasıtasıyla moleküler oksijene tek elektronların transferi suretiyle oksidasyon reaksiyonları meydana gelir. Moleküler oksijen, biradikal doğasının bir sonucu olarak yüksek derecede **ROR** oluşturma eğilimindedir ⁵.

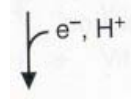
Reaktif oksijen türleri

Reaktif oksijen radikalleri; normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan **süperoksit radikali (O_2^-)**, **hidrojen peroksit (H_2O_2)** ve **hidroksil radikali ($\text{OH}^\bullet$)**'dir (Şekil 4).





Hidroksil radikali



Su

Şekil- 4:Serbest radikal oluşumu (Free radical. Halliway and Gutteridge, 1992’den alındı)

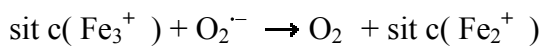
Reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin olduğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller (R[•]), peroksit radikalleri (ROO[•]), alkoksi radikalleri (RO[•]), tiyil radikalleri (RS[•]), sülfenil radikalleri (RSO[•]), tiyil peroksit radikalleri (RSO₂[•]) gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar ^{4,5,13,16}.

Süperoksit radikali (O₂^{•-})

Süperoksit radikali (O₂^{•-}) hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O₂) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu, süperoksit radikali oluşumuna neden olur⁵. Süperoksit radikalının kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali (HO₂[•]) oluşturmak üzere aşağıdaki gibi protonlanır ^{4,5,12,13,14,15}.



Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin ferrisitokrom c ya da nitroblue tetrazolium ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur. Kimyasal reaksiyon şöyledir ;

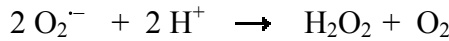


Süperoksit radikali epinefrinin oksidasyonunda oksidan olarak davranarak bir elektron alır ve hidrojen perokside (H₂O₂) indirgenir. Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest

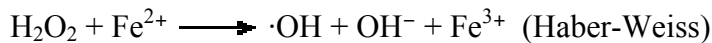
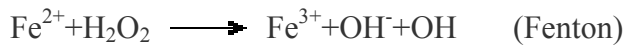
radikal olan nitrik oksit ($\text{NO}^\bullet$) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit (ONOO^-) meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit ($\text{NO}_2^\bullet$), hidroksil radikali ($\text{OH}^\bullet$), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin ($\text{NO}^\bullet$) zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur^{4,5,14,15,16}.

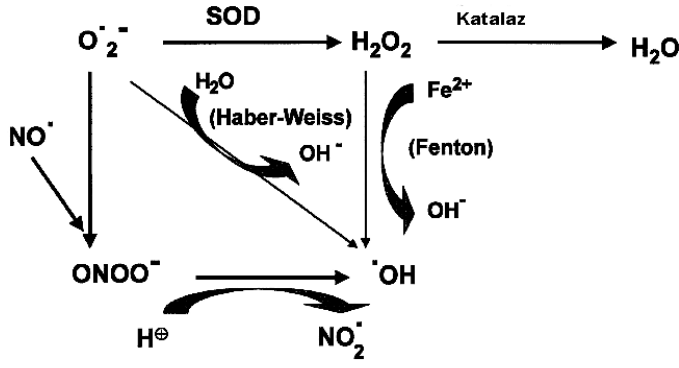
Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin ($\text{O}_2^{\cdot-}$) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni şöyle oluştururlar:



Bu reaksiyon; radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden, dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir, ya spontan gerçekleşir ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Spontan dismutasyon pH 4,8'de en hızlıdır, enzimatik dismutasyon ise spontan dismutasyonun nispeten yavaş olduğu nötral ya da alkali pH'da daha belirgindir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen radikali (ROR) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe^{2+} veya diğer geçiş metallerinin varlığında **Fenton reaksiyonu** sonucu, süperoksit radikalinin ($\text{O}_2^{\cdot-}$) varlığında **Haber-Weiss reaksiyonu** sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ($\text{OH}^\bullet$) oluşturur. Bu reaksiyonlar şöyledir (Şekil-5):





Şekil-5: Fenton ve Haber-Weiss Reaksiyonu (Galle,J.Nephrol.Dial.Transplan.2001'den alındı)

Süperoksit radikalının lipid solubilitesi (yağda çözünürlüğü) sınırlı olduğu halde hidrojen peroksit lipid solubldur. Bu nedenle hidrojen peroksit kendisinin olduğu yerden uzakta olan fakat Fe^{2+} içeren membranlarda hasar oluşturabilir¹³⁻¹⁶.

Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)

Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. **Hidroksil radikali olasılıkla reaktif oksijen radikallerinin (ROR) en güçlüsüdür.** Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri ($RS^{\cdot}$), karbon merkezli organik radikaller ($R^{\cdot}$), organik peroksitler ($RCOO^{\cdot}$) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur¹³⁻¹⁶.

2.3.1.1. HÜCREDE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİNİN KAYNAĞI

Hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif yerinde ara ürünler olarak devamlı şekilde serbest radikaller oluşabilir. Bazen bu serbest radikal ara ürünler enzimlerin aktif yerinden sızarlar, moleküler oksijenle kazara etkileşirler ve sonuçta reaktif oksijen radikalleri oluşur^{4,5,17}.

Normalde hücrelerde en büyük serbest oksijen radikali kaynağı mitokondriyal elektron transport zincirinden sızıntıdır. Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondriyal süperoksit radikal üretimi artar.

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda serbest radikal üretimi, membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. Birçok enzimin katalitik döngüsü sırasında da serbest radikaller ortaya çıkar. Bu enzimlerden biri ksantin oksidazdır. Ksantin oksidaz hasarlanmamış dokularda bir dehidrojenaz olarak vardır, pürinlerin yıkılım yolunda hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu basamaklarında elektron alıcısı olarak moleküler oksijenden daha çok NAD^+ kullanır. Oksijensizliğe bağlı olarak ADP'nin ATP'ye fosforilasyonunun azaldığı durumlarda (iskemi durumlarında) ADP yıkılır ve pürin bazı, ksantin oksidazın bir oksidaz olarak etkili olmasıyla hipoksantine dönüştürülür. Ksantin oksidazın oksidaz olarak aktivite göstermesi durumunda, hipoksantin ksantine ve ksantin ürik aside dönüşürken moleküler oksijen kullanılmakta, moleküler oksijen hidrojen perokside indirgenmektedir. İskemi durumlarında oksijen seviyesi düşük olduğundan önemli hasar olmaz. Ancak oksijen seviyesi reperfüzyon sırasında normale dönünce iskemi yerinde ksantin oksidaz etkisiyle fazla miktarda hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit radikali (O_2^-) oluşur, bunların etkisiyle de iskemi/reperfüzyon hasarı denen durum ortaya çıkar. Ksantin oksidazın özellikle intestinal mukoza hücrelerinde görülen iskemi/reperfüzyon hasarında önemli faktör olduğu düşünülmektedir ^{4,5,13,14,15,17}.

Aldehit oksidaz yapı itibariyle ksantin oksidaza benzer, substratlarının (enzimin etki ettiği bileşikler) çoğu aynıdır ve süperoksit radikali (O_2^-) üretir. Dihidroorotat dehidrojenaz, flavoprotein dehidrojenaz, amino asit oksidaz ve triptofan dioksijenaz gibi enzimler de serbest radikal oluşmasına neden olurlar. Peroksizomlar çok önemli hücre içi hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağıdır. Peroksizomlardaki D-amino asit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksil asit oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar, süperoksit üretmeden bol miktarda hidrojen peroksit (H_2O_2) üretimine neden olurlar. Ancak peroksizomlarda, hidrojen peroksidin suya ayrışmasını katalizleyen katalaz (KAT) enziminin aktivitesi de çok yüksek olduğundan peroksizomlardan sitozole ne kadar hidrojen peroksit (H_2O_2) geçtiği bilinmemektedir. Organizma hücrelerinde askorbik asit, tiyoller, adrenalin ve flavin koenzimleri gibi bazı bileşiklerin otooksidasyonu da süperoksit radikalının bir başka kaynağıdır. Araşidonik asit metabolizması da reaktif oksijen metabolitlerinin önemli bir kaynağıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonuna ve plazma membranından araşidonik asidin serbestleşmesine yol açar. Araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu da çeşitli serbest radikal ara ürünleri meydana gelirler. Araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine "**enzimatik lipid peroksidasyonu**" denir ⁵.

Serbest radikallerle prostaglandin metabolizması birbiriyle yakından ilişkilidir. Reaktif oksijen metabolitleri, fosfolipaz aktivasyonu yoluyla prostaglandin (PG) E₂, PGF₂, 6-keto PGF_{1α} ve tromboksan (TX) B₂ sentezini sağlarlar. PGE₂ ve I₂ (prostasiklin) de adenilat siklazı aktive ederek cAMP (Siklik adenozin monofosfat) sentezini arttırırlar. PGA, PGE₁ ve PGE₂'nin burun mukozası damarlarında vazokonstriksiyona neden olduğu bilinmektedir ^{4,5,13,14,15,17}.

Özellikle demir ve bakır olmak üzere geçiş metalleri, fizyolojik şartlarda elektron alış veriş şeklinde gerçekleşen oksidoredüksiyon reaksiyonlarında görev alırlar. Geçiş metalleri bu özellikleri nedeniyle serbest radikal reaksiyonlarını hızlandıran katalizör vazifesi görürler. Demir ve bakır, tiyollerden tiyil sentezini H₂O₂ ve O₂⁻ den OH[•] sentezini katalizlerler. Mn²⁺ nın O₂⁻ tarafından oksidasyonu Mn³⁺ veya Mn-Oksijen kompleksinin oluşumunu sağlar, bunlar da O₂⁻ den daha çok oksitleyicidirler. Metal iyonlarının serbest radikal reaksiyonlarındaki asıl önemi lipid peroksidasyonundaki etkileriyle ilgilidir. Geçiş metalleri lipid peroksidasyonunu başlatmaktan çok, sentezlenmiş olan lipid hidroperoksitlerinin (LOOH) parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonlarını katalize ederler. Böylece daha az zararlı olan radikalleri daha zararlı hale getirirler. Bu zincir reaksiyon şöyledir:



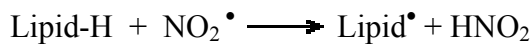
Aktive olmuş makrofajlar, nötrofiller ve eozinofillerde fagositik solunumsal patlama sırasında da çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Fagositik lökositler opsonize mikroorganizmalar, C5a kompleman fragmanı, lökotrien B₄, bakteriyel orijinli N-formil oligopeptitler gibi partiküler ya da çözünebilir bir uyarıcıyla uyarıldıklarında lizozomal komponentleri dışarıya vermeye başlarlar ve reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumuyla birlikte mitokondri dışında oksijen tüketiminde bir patlama (solunumsal patlama) gösterirler. Fagosit edilmiş bakteri, solunumsal patlama ürünlerinin etkisiyle öldürülür. Ancak bu oksidan ürünler hücrelerin antioksidan savunma güçlerini aştığında normal konak hücrelere zarar verirler ve çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol oynarlar ^{4,5,17}.

Fagositlerin uyarılması, heksoz monofosfat şantı yoluyla glukozun oksidasyonunda artışa yol açar. Solunumsal patlama sırasında elektron vericisi olarak NADPH kullanılır ve moleküler oksijenin (O_2) süperoksit radikaline ($O_2^{\cdot-}$) indirgenmesi sonucu $NADP^+$ üretimi artar ve heksoz monofosfat yolu aktive olur. Heksoz monofosfat yolunun aktivasyonuna neden olan $NADP^+$ 'nin diğer kaynağı hidrojen peroksidin (H_2O_2) detoksifikasyonundan sorumlu olan glutatyon peroksidaz-glutatyon redüktaz sistemidir. Nötrofiller ve monositlerin primer lizozomal granüllerinde Fe-hem içeren miyeloperoksidaz enzimi bulunur. Çeşitli uyarıcıların etkisiyle fagositler miyeloperoksidaz içeren granüllerini ekstrasellüler aralıktaki fagositik vakuol içine boşaltırlar. Miyeloperoksidaz, hidrojen peroksit (H_2O_2) varlığında klorür, iyodür ve bromürün oksidasyonunu katalizleyerek hipoklorik asit (HOCl), hipoiyodik asit (HOI) ve hipobromik asit (HOBr) oluşturur. Bu bileşikler ve bunların tuzları güçlü oksidanlardır, biyolojik olarak önemli moleküllerle reaksiyona girerek mikroorganizmayı etkileyen toksik ajanlar meydana getirirler^{4,5,13,14,15,17}.

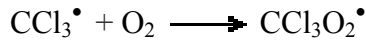
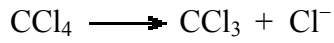
Fagositin kendisi de reaktif oksidanların zarar vermelerine karşı hassastır. Bununla birlikte kendilerini oksidanlarına karşı koruyabilirler. Fagositlerin antioksidan sistemleri, süperoksidi hidrojen perokside dönüştüren süperoksit dismutaz (SOD), hidrojen peroksidi suya indirgeyen katalaz (KAT), hidrojen peroksidi detoksifiye edici glutatyon peroksidaz-glutatyon redüktaz sistemi, antioksidan vitaminlerden α -tokoferol (vitamin E) ve askorbik asit (vitamin C) gibi antioksidanlardır^{5,17}.

Nötrofillerden toksik ajanların sızıntısı veya sekresyonu, yakın hücrelere ve çözünebilir sistemlere zarar verir. Fagosit kaynaklı oksidanlar ototoksik, immünosupresif ve mutajenik etkiler gösterirler. Örneğin romatoid artritli hastaların diz eklemlerinde fazla miktarda nötrofil birikir ve bu nötrofillerden ortama salıverilen serbest radikaller eklem hasarını hızlandırırlar. Bazı yabancı toksik maddeler hücrede serbest radikal üretimini artırırırlar. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler ya da serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını sağlayan antioksidan aktiviteyi düşürürler. Bu tip maddeler dört grupta toplanabilirler:

1) Toksinin kendisi bir serbest radikaldir. Örneğin kirli havanın koyu rengini veren azot dioksit gazı ($NO_2^{\cdot}$) böyle bir maddedir. Azot dioksit ($NO_2^{\cdot}$) etkili bir lipid peroksidasyonu başlatıcısıdır:



2) Toksin bir serbest radikale metabolize olur. Örneğin kuru temizlemede kullanılan toksik bir madde olan karbon tetraklorür (CCl_4), karaciğerde sitokrom p450 tarafından triklorometil serbest radikaline ($\text{CCl}_3^\bullet$) dönüştürülür. Triklorometil serbest radikali de moleküler oksijenle (O_2) etkileşerek peroksil serbest radikali ($\text{CCl}_3\text{O}_2^\bullet$) oluşturur:



Triklorometil serbest radikali ($\text{CCl}_3^\bullet$) ve peroksil serbest radikali ($\text{CCl}_3\text{O}_2^\bullet$) kuvvetli lipid peroksidasyonu başlatıcılarıdır. Böylece reaktif serbest radikal üretimi karaciğerde antioksidan savunmaları aşar, sellüler membranlarda oksidatif yıkım ve ciddi doku hasarı meydana gelir^{4,5,13,14,15}.

3) Toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali meydana gelir. Örneğin özellikle karaciğerde biriken paraquat bir serbest radikale indirgendikten sonra tekrar yükseltgenerek rejenere edilirken, oksijen indirgenir ve böylece bol miktarda süperoksit radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$) üretilmiş olur. Diyabetik bir ajan olan alloksan da paraquat gibi etki eder^{4,5,13,14,15}.

Antikanserojen bir madde olan doxorubicin de DNA replikasyonunu inhibe ederken olasılıkla önemli miktarda süperoksit radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikali ($\text{OH}^\bullet$) üretimine neden olur. Birçok endojen bileşiğin ve ksenobiyotiğin hidroksilasyonunu, endoplazmik retikulum membranında yerleşmiş iki üniteden oluşmuş bir hem proteini olan sitokrom P450 katalize eder. Bu reaksiyonlarda oksijen kaynağı olarak moleküler oksijen kullanıldığı gibi peroksitler (ROOH) de kullanılabilir. Ancak, alkol ve asetonla indüksiyonunda olduğu gibi bazı hallerde sitokrom P450 aşırı miktarda süperoksit radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$) üreten bir izoenzime dönüşür^{4,5,13,14,15,17}.

4) Toksin antioksidan aktiviteyi düşürür. Örneğin parasetamolün karaciğerde sitokrom P450 tarafından metabolizması antioksidan aktivitede önemli yeri olan glutatyonla reaksiyona giren bir ürün oluşturarak sonuçta glutatyonun miktarını azaltır^{4,5,13,14,15,17}.

2.3.1.2. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN ETKİLERİ

Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Yani

sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli düzeyin üzerine çıkar veya antioksidanlar yetersiz olursa yani denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimlerini bozarak zararlı etkilere yol açarlar. Çoğu hastalıklarda artmış reaktif oksijen radikalleri (ROR) hastalığın sebebi değildir, primer bozukluğa ikincil olarak oluşurlar ve ardından patogeneze yer alırlar. Tablo-1 'de ROR' ların ilgili olduğu klinik durumlar özetlenmiştir ¹³.

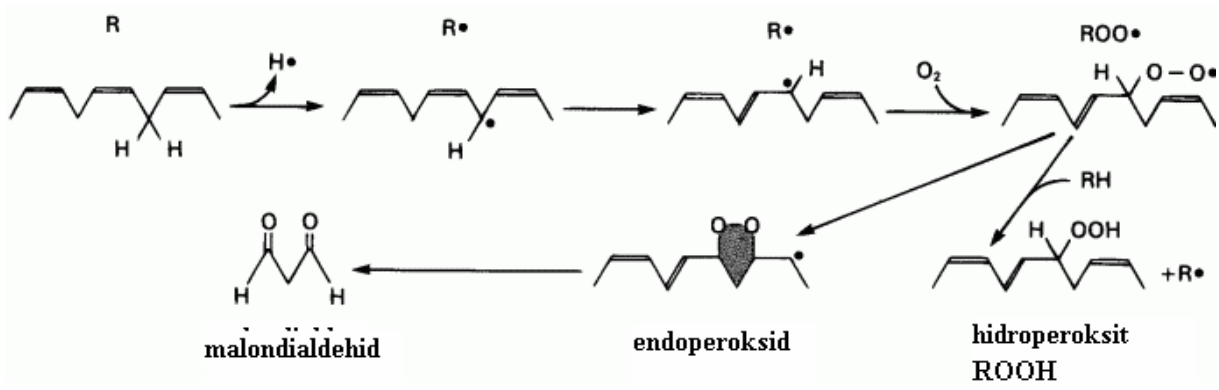
Tablo-1 : ROR' ların ilgili olduğu klinik durumlar

1- Multi-organ Tutulumu:
İnflamatuvar - İmmün hasar: Glomerulonefrit, vaskülitler, sepsis.
İskemi - reperfüzyon hasarı.
İlaç ve toksinlerle oluşan hasarlanma.
Demir depolanması: Hemokromatoz, Talassemi.
Nutrisyonel faktörler: Kwashiorkor, E vitamini eksikliği.
Alkol
Radyasyon hasarı
Kanser
Amiloidoz
2- Tek Organ Tutulumu:
Eritrositler: Fenilhidrazin, primakin, kurşun zehirlenmesi, orak hücreli anemi,
Akciğer: Sigara içilmesi, amfizem, hiperoksi, bronkopulmoner displazi, erişkin tip solunumsal yetmezlik sendromu, bleomisin toksisitesi,
Kardiyovasküler sistem: Ateroskleroz, doksorubisin toksisitesi, alkol kardiyomyopatisi
Böbrek: Antiglomeruler bazal membran hastalığı, aminoglikozid nefrotoksitesisi, renal greft rejeksiyonu
Gastrointestinal sistem: Endotoksin ve karbontetraklorür ile karaciğer hasarı, pankreatit, stres ülseri, inflamatuvar barsak hastalıkları
Eklemler: Romatoid artrit
Beyin: Hiperbarik oksijen, nörotoksinler, senil demans, parkinson, serebral travma, demyelinizan hastalıklar, alüminyum birikimi
Göz: Katarakt, hemorajiler, dejeneratif retinal hasar
Deri: Solar radyasyon, termal hasar, porfiri, kontakt dermatit, fotosensitivite

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran permeabilitesi artar. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer amino asit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Reaktif oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. İskemi sonrasında reperfüzyon da reaktif oksijen türlerinin artışına bağlı olarak iskeminin oluşturduğu hücre hasarını artırır ^{4,5,13}.

Serbest radikallerin lipidlere etkileri

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri ($R^{\cdot}$) ve lipid peroksit radikallerinin ($ROO^{\cdot}$) oluşması, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna "**nonenzimatik lipid peroksidasyonu**" denir. Hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri poliansatüre (çoklu doymamış) yağ asitleridir. Lipid peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipid radikali niteliği kazanmasıyla başlar. Lipid radikali ($R^{\cdot}$) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipid radikallerinin ($R^{\cdot}$) moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikalleri($ROO^{\cdot}$) oluşur. Lipid peroksit radikalleri ($ROO^{\cdot}$), membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipidperoksitlerine ($ROOH$) dönüşürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder (Şekil-6) ^{4,5,13}.



Şekil-6 : Lipid peroksidasyonu sonucu MDA oluşumu (Mechanisms of Aging, 2006'dan alındı)

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksitlerinin (ROOH) yıkılımı geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Plazma membranı ve subsellüler organel lipid peroksidasyonu serbest radikal kaynaklarının hepsiyle uyarılabilir ve geçiş metallerinin varlığında artar. Lokal olarak hidrojen peroksitten (H₂O₂) Fenton reaksiyonu sonucu hidroksil radikali (OH•) oluşması zincir reaksiyonunu başlatabilir ^{4,5,13}.

Lipid peroksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehytler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir. MDA kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır. Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehytlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur ^{4,5,13}.

Serbest radikallerin proteinlere etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G

(IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin reaktif oksijen türleri üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) veya hidrojen peroksitle (H_2O_2) reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur^{4,5,13}.

Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA'ya etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H_2O_2) membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterirler ki bu oldukça önemli bir etkidir; örneğin, otoimmün bir hastalık olan sistemik lupus eritematozusta (SLE) ve romatoid artritte dolaşımda anti-DNA antikorlar bulunur^{4,5,13}.

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle çeşitli ürünler meydana gelir ve bunlar, çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psöriyazis, romatoid artrit, Behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir. Ancak bu hallerde serbest radikal artışının sebep mi yoksa sonuç mu olduğu tam olarak bilinmemektedir⁵.

2.3.1.3. ENDOJEN VE EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

- 1) Reaktif oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme **toplayıcı etkidir**. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler,
- 2) Reaktif oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme **bastırıcı etkidir**. Vitaminler, **flavanoidler** bu tarz bir etkiye sahiptirler,

- 3) Reaktif oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki **zincir kırıcı etkidir**. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
- 4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması **onarıcı etkidir** ⁴.

Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler. Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler:

Vitamin eksojen antioksidanlar şunlardır ^{4,5,13}:

- 1) α - tokoferol (vitamin E),
- 2) β -karoten(vitamin A),
- 3) Askorbik asit (vitamin C),
- 4) Folik asit (folat).

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar şunlardır ^{4,5,13}:

- 1) Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten),
- 2) NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar, diphenylene iodonium),
- 3) Rekombinant süperoksit dismutaz,
- 4) Trolox-C (vitamin E analogu),
- 5) Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein),
- 6) Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin),
- 7) Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin),
- 8) Nötrofil adezyon inhibitörleri,
- 9) Sitokinler (TNF ve IL-1),
- 10) Barbitüratlar,
- 11) Demir şelatörleri.

Gıdalardaki eksojen antioksidanlar şunlardır ^{4,5,13}:

- 1) Butylated hydroxytoluene (BHT),
- 2) Butylated hydroxyanisole (BHA),
- 3) Sodium benzoate,
- 4) Ethoxyquin,
- 5) Propylgalate,
- 6) Fe-superoxyde dismutase.

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar:

Enzim olan endojen antioksidanlar şunlardır ^{4,5,13}:

- 1) Süperoksit dismutaz (SOD),
- 2) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px),
- 3) Glutasyon S-Transferazlar (GST),
- 4) Katalaz (CAT),
- 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi,
- 6) Hidroperoksidaz.

Enzim olmayan endojen antioksidanlar şunlardır ^{4,5,13}:

- 1) Melatonin,
- 2) Seruloplazmin,
- 3) Transferin,
- 4) Miyogloblin,
- 5) Hemogloblin,
- 6) Ferritin,
- 7) Bilirubin,
- 8) Glutasyon,
- 9) Sistein,
- 10) Metiyonin,
- 11) Ürat,
- 12) Laktoferrin,
- 13) Albümin.

Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, süperoksit serbest radikalının($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit(H_2O_2) ve moleküler oksijene(O_2) dönüşümünü aşağıdaki reaksiyonla katalizleyen antioksidan enzimdir:



İnsanda süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. Mn SOD mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidle inhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dır. SOD'ın fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar.

SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışıyla artar. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür. Cu-Zn SOD'nin spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelerin ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur⁵.

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz(GSH-Px) sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. Glutasyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) adı verilen bir enzim monomerik yapıdadır ve esas olarak membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirger. Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E yetersiz olduğunda membranı peroksidasyona karşı korur. GSH-Px'ın fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Eritrosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve Down sendromlu hastalarda yüksek, prematürelerde düşük bulunmuştur. Lökosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve hipertansiyonlu hastalarda yüksek bulunmuştur⁵.

Glutasyon redüktaz

Glutasyon redüktaz, GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüşümünü aşağıdaki gibi katalize eder⁵ (Şekil- 7):



Şekil-7 : İskemide glutasyon peroksidaz ve redüktazın rolü (Cerrahpaşa J Med 1998; 29'dan alındı).

Glutasyon S-Transferazlar (GST)

Glutasyon S-transferazlar (GST), her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim ailesidir. GST, başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması gösterir. GST'ler katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Bunlar hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. GST'ler, karaciğerde sitokrom P450 enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizlerler ⁵.

Katalaz (KAT)

Katalaz ($H_2O_2:H_2O_2$ oksidoredüktaz) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya ve oksijene parçalar. Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi (H_2O_2) hidroksil serbest radikali ($OH^\bullet$) oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır ⁵.

Mitokondriyal sitokrom oksidaz

Mitokondriyal sitokrom oksidaz solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi ($O_2^{\cdot-}$) detoksifiye eder. Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyondur, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin ($O_2^{\cdot-}$) zararlı etkilerine engel olurlar⁵.

Vitamin C (askorbik asit)

Vitamin C (askorbik asit) organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Tirozinden epinefrin sentezinin dopamin β -hidroksilaz basamağında görev alır. Tirozin yıkılımında p-hidroksi fenil pirüvatın homogenizata oksidasyonunda rol alır. Safra asitlerinin sentezindeki 7- α -hidroksilaz başlangıç basamağında rol alır. Lizinden karnitin sentezinde rol alır. Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici olarak rol oynar, midede ferri demiri ferro demire indirger. İmmünite ve yara iyileşmesinde etkilidir⁵.

Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) ile reaksiyona girerek onları ortamdaki temizler. Askorbik asit antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) oluşturmaya uygun ferro demire dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir. Vitamin C'nin fagositoz için de önemli olduğu gösterilmiştir⁵.

Vitamin E (α -tokoferol)

Vitamin E (α -tokoferol) çok güçlü bir antioksidandır, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Vitamin E zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu, vitamin E vasıtasıyla şu şekilde sonlandırılabilir: Vitamin E okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir. Vitamin E ve C verilmesinin, yaşlı kişilerde ortalama kan lipid peroksit konsantrasyonlarında bir azalma sağladığı saptanmıştır. Glutatyon peroksidaz ile vitamin E, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Glutatyon peroksidaz oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken vitamin E peroksitlerin sentezini engeller¹⁴.

Karotenoidler

Vitamin A'nın ön maddesi olan β -karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikallerini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü saptanmıştır⁵.

Melatonin (MLT)

Melatonin en zararlı serbest radikal olan hidroksil serbest radikallerini ($OH^{\cdot}$) ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Melatonin hidroksil serbest radikali ($OH^{\cdot}$) ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür ki bunun da ortamdaki süperoksit radikallerini ($O_2^{\cdot-}$)

tutarak antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Melatoninin antioksidan olarak diğer bir özelliği lipofilik olmasıdır, hücrenin hemen bütün organallerine ve hücre çekirdeğine ulaşabilir ve böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir⁵.

Reaktif oksijen radikalleri oluşturmak suretiyle kansere sebep olan safrolün DNA üzerine hasar oluşturunca etkisinin, melatonin tarafından çok etkili şekilde inhibe edildiği gösterilmiştir. Melatonin kanserin ilerleme ve gelişme safhalarını geciktirir⁵.

Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH) karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. GSH çok önemli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksidlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH; yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar. GSH; eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir¹⁴.

Ürat, Bilirubin, Albümin

Normal plazma konsantrasyonunda ürat, hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijeni temizler. Fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca vitamin C oksidasyonunu engelleyici etkisi vardır. Bilirubin süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır. Albümin lipid hidroksiperoksidleri ve HOCl toplayıcısıdır⁵.

Seruloplazmin

Seruloplazmin olasılıkla SOD'a benzer mekanizmayla etki gösterir. Ferro demiri (Fe^{2+}) ferri demire (Fe^{3+}) yükseltgeyerek Fenton reaksiyonunu ve böylece hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder⁵.

Transferrin ve Laktoferrin, Ferritin, Sistein

Transferrin ve laktoferrin dolaşımdaki serbest demiri bağlarlar. Ferritin dokudaki demiri bağlar. Sistein süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır⁵.

2.3.2. İ/R HASARINDA KOMPLEMAN, ENDOTEL VE LÖKOSİTLERİN ROLÜ

Sitokinler, doğal ve spesifik immunüenin bir protein mediyatör grubudur. Genelde sitokinler bir inflamatuvar veya antijenik etkileşime yanıt olarak sentezlenir. Sitokinler lenfositlerin olgunlaşıp diferansiye olmalarını sağlarlar. Dokuya zarar verebilirler, hatta ölüme kadar (dokunun ölümü) götürebilirler. Travma veya enflamasyonlu bölgede makrofaj ve monositlerden salınan bir sitokin olan interlökin-1 (IL-1) isimli polipeptid cerrahiden sonra gelişen bir çok değişiklikten sorumlu bulunmuştur. Bu maddenin başta immün yanıt ve doku tamiri üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. IL-1 ve Tümör Nekrozis Faktör-alfa (TNF- α), akut ve kronik inflamasyonun birçok lokal ve sistemik özelliklerinin oluşumunda rol oynamaktadır. Düşük dozlarda lokal inflamasyonun mediatörleri iken, yüksek miktarlarda salgılandıklarında dolaşıma geçerek endokrin etkiler oluştururlar. İskemi/reperfüzyon kompleman sistemini aktive eder. Kompleman aktivasyonunun başlangıç dönemi ve mekanizması halen tartışmalıdır ve tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Kompleman aktivasyonu sonucu oluşan, proinflamatuvar komponentler bir yandan lokositleri aktive ederken, diğer yandan TNF- α , IL-1 ve IL-6 oluşumunu uyarak inflamatuvar cevabı güçlendirir¹⁸.

TNF- α , ciddi bir ameliyata bağlı doku travması veya enfeksiyonlar sonucu oluşan inflamatuvar kompleks, bir proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. Bu sitokinler arasında TNF- α , konakçı cevabının oluşumuna yol açan ilk ve en güçlü mediyatörlerden biridir. TNF- α sentezinin kaynağı, periton ve splanknik dokularda çok bulunan monositler, makrofajlar ve T hücreleridir. İç organlardaki cerrahi veya travmatik yaralanmalar, inflamatuvar mediatörlerin oluşumu ve akut faz proteinlerinin yapımı gibi homeostatik cevapların oluşumunda belirgin etkiye sahiptir. Akut travmaya cevap olarak TNF- α salınımı hızlı ve kısa sürelidir. Endotoksin uyarısı ile akut inflamatuvar cevap gelişimini taklit eden deneylerde tümör nekroz faktörünün monofazik bir eğri izlediği, 90 dakikada pik yapıp 4 saat içinde ölçülmeyecek düzeye indiği saptanmıştır. Yarı ömrü 15 -18 dk. olmasına rağmen, TNF'nin kısa süreli ortamda bulunması bile önemli metabolik ve hemodinamik değişikliklerin gelişmesine ve döngünün ileri kısmındaki sitokinlerin aktive olmasına neden olur. TNF üretiminin kısa sürmesi, ortamda regüle edilemeyecek kadar çok TNF- α aktivitesinin oluşmasını engelleyen efektif endojen mediatörlerin olduğuna işaret eder. TNF yapımı ve aktivasyonunu engelleyen birçok doğal mekanizma bulunduğu gösterilmiştir. Dolaşımda transmembranöz TNF reseptörlerinin (solubl TNF reseptörleri = sTNFR) endojen inhibitörleri saptanmıştır. Bu reseptörlerin kompotatif olarak dolaşımda bulunan fazla TNF'yi

sekestrize ederek koruyucu rol aldıkları sanılmaktadır. TNF- α 'nın diğer fonksiyonları arasında; koagülasyonun aktivasyonu, prostaglandin E2, platelet aktive edici faktör (PAF), glukokortikoidler ve eikozanoidlerin salınımının arttırılması sayılabilir^{18,19,20,21}.

İyon ve organik moleküllere geçirgenlikte bariyer oluşturması, prostoglandinlerin dolaşımdan kısmen uzaklaştırılması, akciğerlerde Anjiotensin I'ın Anjiotensin II'ye dönüştürülmesi ve koagülasyondaki rolü, endotel hücresinin bilinen klasik görevlerindendir. Endotel hücresinin yukarda sayılan işlevlerine ek olarak, vazomotor etkinlikleri düzenlemesi ve hasara cevap olarak salgıladığı mediyatörler nedeniyle giderek daha fazla ilgi çekmeye başlamıştır. Endotel hücrelerin oksidatif stresi sonucu kompleman aktive edilir, lökosit adhezyon moleküllerinin üretimi artar. ROR etkisi ile endotelden salınan trombosit aktive edici faktör lökositleri aktive eder. Lökosit endotel hücre etkileşimi sonucu lökositler endotele yapışır ve göç gerçekleşir^{11,14,20}.

İskemi/reperfüzyon lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonuna yol açar. Polimorf nüveli lökositler (PMNL) de, endotel hücreleri gibi ROR üretme kapasitesine sahiptir. İ/R hasarında PMNL'in rolü ile ilgili bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunlar;

1. Mikrovasküler oklüzyon; 2. ROR salınması; 3. Sitotoksik enzim salınması; 4. Vasküler permeablite artışı ve 5. Sitokin salınımında artıştır.

Polimorf nüveli lökositlerin başlangıçtaki biokimyasal reaksiyonları endotel hücreleri ve ksantin oksidaz aracılığı ile olur. Aktivasyon ve migrasyonları ise endotel hücrelerde ve lökositlerde bulunan adhezyon molekülleri aracılığı ile olur. Lökosit adhezyon molekülleri (LAM) lökositlerde ve diğer başka hücrelerde de bulunan ve gelişme, haberleşme, inflamasyon ve apoptosis (programlı hücre ölümü) gibi pek çok biyolojik olaylarda rol alan yapılardır. Selektin grubu adhezyon molekülleri, doku hasarı olan bölgede aktive olmuş endotele, PMNL'lerin başlangıçtaki adhezyonunda rol alırlar. L, P ve E selektin olmak üzere bilinen üç üyesi vardır. İ/R, endotelde P-selektin ekspresyonunu arttırır. Bu molekül, PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein 1(PSGL-1) adlı reseptörü ile etkileşerek düşük afiniteli lökosit endotel bağlantısını oluşturur. İkinci aşamada lökosit Beta-2 integrinler ile endotelyal intersellüler adhezyon molekülü 1(ICAM-1) arasında etkileşim ile lökosit adhezyon ve agregasyonu gelişir. Üçüncü aşamada platelet endotelyal hücre adhezyon molekül 1 ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile lökosit transmigrasyonu gelişir. Aktive lökositler ekstrasvasküler kompartmana ulaşınca hasar bölgesine doğru göç etmeye başlarlar (kemotaksis). Burada aktive lökosit cevabı şu mekanizmalarca gerçekleştirilir:

1. Fosfolipaz A2 aktivasyonu sonucu araşidonik asit metabolitleri (prostoglandin ve lökotrienler) üretilir, 2. Degranülasyon sonucu lizozomal enzimler salınır, 3. ROR üretimi gerçekleşir^{11,19,21,22}.

Bu ürünler endotel hasarı ve doku zedelenmesinin güçlü mediyatörleridir ve başlangıçtaki inflammatuar uyarının etkisini güçlendirir. Bazı durumlarda lizozomal enzimler hücre dışına salınabilir. Hasar yapıcı etkeni ortadan kaldırmaya veya dilue etmeye yönelik bu inflammatuar cevap sonucu mikrovasküler permeablite artışı, ödem, tromboz ve parankim hücre ölümü de gerçekleşir. Görevini tamamlayan lökositler apoptotik hücre ölümüne uğrarlar ve lenfatik dolaşım ile ortamdan uzaklaştırılırlar^{11,19,21,23}.

2.4. AKUT TÜBÜLER NEKROZ VE RENAL İSKEMİ- REPERFÜZYON

İskemik hasar akut böbrek yetmezliği (ABY)'nin oluşmasında ve devam etmesindeki tek faktör değildir. Çoğu zaman iskemik hasar kısa süreli olsa bile ABY tablosu gelişmekte ve uzunca bir süre de devam edebilmektedir. Akut tübüler nekroz (ATN) gelişen hastaların böbrek dokuları morfolojik olarak incelendiğinde, nekrozun çoğunlukla olmadığı ya da fokal olduğu belirtilmiştir. Patolojik kesitlerde tübül epitel hücrelerinin döküldüğü ve bu dökülmelerden dolayı tübül bazal membranlarında yer yer boş alanların olduğu rapor edilmiştir. Nekroz olmaksızın da ölümcül olmayan hasara bağlı ATN tablosu gelişebilir. İskemik hasar sırasında gelişen hücre içi bir dizi metabolik olay çeşitli şekillerde hücre ölümüne sebep olur. Bu değişiklikler arasında ATP eksikliği, hücre içi pH değişiklikleri, intraselüler kalsiyum miktarının artması, serbest radikallerin artması, apoptozis gibi değişiklikler yer alır. ABY vakalarının önemli bir kısmında prerenal ABY söz konusudur. Prerenal faktörlere kısa sürede müdahale edilirse ölümcül olmayan hasarın, apoptozisin veya nekrozun gelişmesi önlenabilir²⁴.

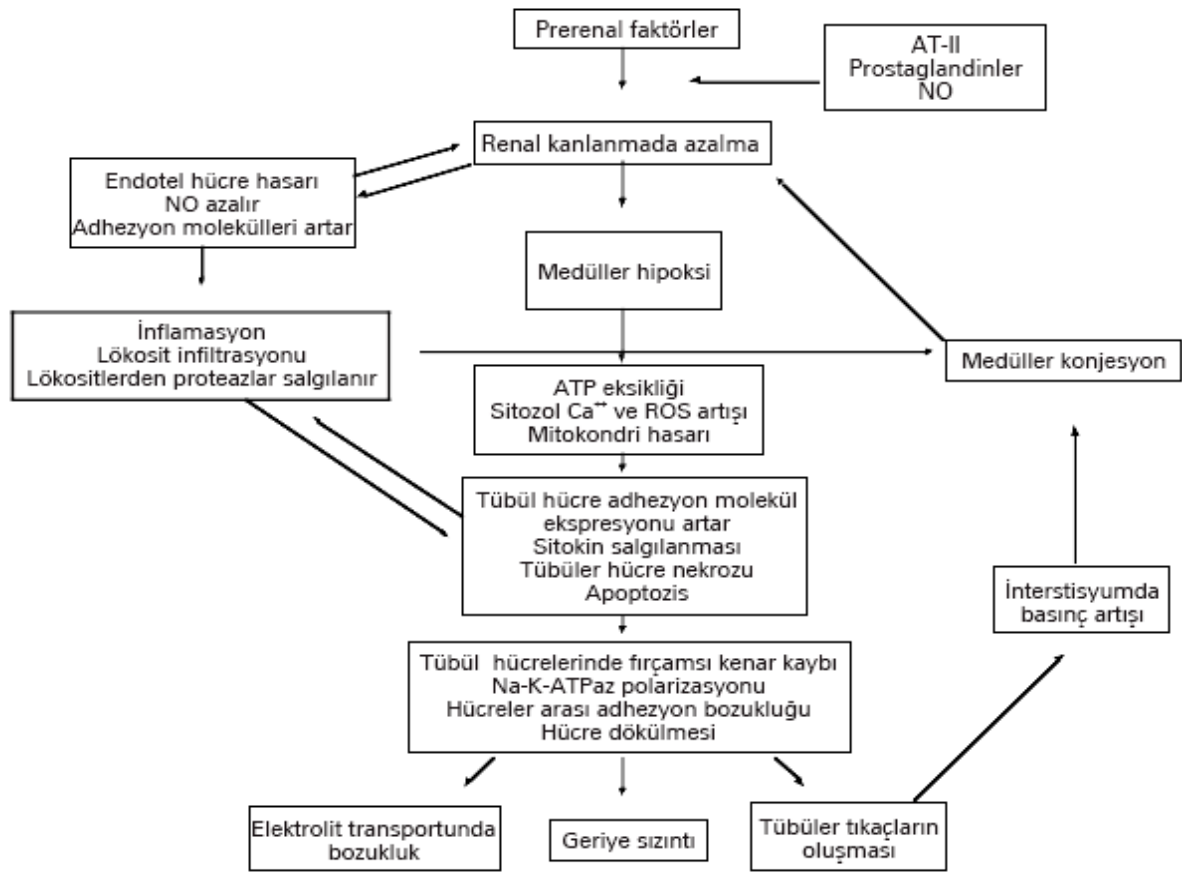
Tübüler hasarın boyutları çoğu zaman nekrozdan çok subletal hasar şeklindedir. Preglomerüler vazokonstriksiyon GFR'nin azalmasındaki en önemli sebep olarak gözükmektedir. Nörohormonal cevabın uyarılması ile renin anjiyotensin aldosteron sistemi (RAS) aktive olur. Sempatik sinir sistemi de aktive olur ve vazopresin salgılanması artar. Afferent ve efferent arteriyollerde vasküler rezistans artar. Glomerüler plazma akımı %30-50 oranında azalır. Katekolaminlerin, anjiyotensin II (AT II) 'nin ve endotelinin seviyeleri artar. Bunun sonucunda vazokonstriksiyon gelişir. Vazokonstriksiyonun erken döneminde kompensatuar mekanizmalar da aktive olur. Başlangıçta, lokal miyenterik refleksi, AT-II ve

prostaglandin sentezi ile renal kan akımı kompanse edilir. Nitrik oksidin (NO) vazodilatör etkisinin yanı sıra endotelinin etkilerini azaltıcı etkisi de vardır²⁴.

İskemik böbrekte vazokonstriktör maddelerin etkisine karşı aşırı bir hassasiyet ve vazodilatör maddelerin etkisine karşı da bir direnç söz konusudur. Oksijenlenmenin bozulması ile artan intraselüler kalsiyum birikimi afferent arteriyollerdeki direnç artışı ile ilişkilidir. Kalsiyum kanal blokerlerinin kaybolan otonöregülasyonu düzeltmesi ve renal sinir inervasyonuna olan sensitiviteyi azaltması bir kanıt olarak sunulmaktadır. Ayrıca intraselüler kalsiyum intraselüler proteazları ve fosfolipazları da aktive ederek hücre nekrozuna sebep olur²⁴.

Hipoksinin devam etmesi ve inflamatuvar cevap, ABY'nin uzama fazında rol oynamaktadır. Her iki olay da medullanın dış kısmında yer almaktadır. Normal fizyolojik şartlarda oksijen basıncı korteksten medullaya doğru inildikçe azalmaktadır. Akut tübüler nekrozun başlangıcındaki iskemik olay düzelse bile kan akımı bozuklukları ATN geliştikten sonra da devam etmektedir. Reperfüzyon sırasında kan akımında %40-50 oranında azalma devam eder. Kan akımındaki bu azalma tam açıklanamamakla birlikte endojen vazokonstriktörlere karşı antagonistler kullanıldığı zaman kan akımının düzeldiğine dair bulgular rapor edilmiştir. Hayvan modellerinde endotel geçirgenliğinin iskemik ABY sonrasında arttığı bilinmektedir. Gelişen interstisyel ödem kan akımını, medulladaki damarlara bası uygulayarak daha da bozabilmektedir. Plazmanın damar dışına kaçışı sonrası hemokonsantrasyon gelişir ve dolaşım daha da bozulur. Bu durum lökositlerin endotel hücreleri ile karşılaşması olasılığını arttırmaktadır. Eritrositler ve lökositlerin medullada biriktikleri deney hayvanlarında gösterilmiştir. Endotel hücrelerinde P ve E selektin ekspresyonu arttığından, lökositlerin endotel hücrelerine adhezyonu artar. Aynı şekilde interselüler adhezyon molekül-1 (ICAM-1) ekspresyonu da artmaktadır^{11,14,24}.

ICAM-1'e karşı antikorların kullanılması ile iskemiden korunulması, adhezyon moleküllerinin ATN gelişimindeki rolünü göstermektedir¹⁸. Hasarlı endotel hücrelerinin nitrik oksit salgılamaları da bozulmaktadır. Bu olayları takiben lökosit adhezyonu ve infiltrasyonu ile vazokonstriksiyon ve lokal kan akımındaki azalma (konjesyon) bir kısır döngü halinde devam eder. Sonuçta GFR'de azalma ile birlikte subletal hasardan apoptozise ve nekroza kadar gidebilen bir tablo gelişir²⁴ (Şekil-8).



Şekil -8 : İskemik ve tübüler ATN patogenezinde rol oynayan faktörlerin şematik görünümü. (Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 2006:15'den alındı).

Hücrelerde aktin hücre iskeleti yapısında da bozulma izlenir. Bu bozulma kan akımındaki değişikliklerde de rol oynamaktadır. Hipoksi sırasında intraselüler kalsiyum konsantrasyonu artışına bağlı kalpain (Ca^{+2} bağımlı nötral sistein proteaz) aktivitesi artış gösterir. İskemik renal hasar sırasında da spektrin ve ankirin gibi aktin bağlayıcı proteinlerin bazolateral membrandan sitoplazmaya yöneldiği ve sonra da bu proteinlerin yıkımının arttığı tespit edilmiştir. Tübüler hücrelerde izlenen bu değişiklikler proksimal tübül hücrelerinin fırçası kenarlarının ve hücrelerin bazal membrandan koparak tübül lümenine dökülmesine ve tübül lümeninde tıkanmaya sebep olur²⁴.

Tübüler hasar gelişimindeki bir diğer mekanizma da oksidatif strestir. Özellikle proksimal tübül hücrelerinin metabolik açıdan yoğun olmaları, ATN sırasında mitokondriyal hasar ve intrasitoplazmik kalsiyum artışı nedeniyle, oksidatif moleküller fazla miktarlarda oluşur. Hücre hasarı sırasında oluşan süperoksitten yoğun miktarlarda hidrojen peroksit oluşur. Hidrojen peroksit normalde su molekülüne çevrilebildiği halde hasarlı hücrelerde

hidroksil radikallerine de dönüşebilir. Oluşan hidroksi radikalleri gibi reaktif oksijen radikalleri (ROR) lipid peroksidasyonuna sebep olarak, hücre proteinlerini okside ederek, plazma ve mitokondri membranını bozarak ve DNA'ya hasar vererek hücre zedelenmesine sebep olur^{4,24}.

İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) da tübüler hasarın gelişmesine katkıda bulunabilmektedir. Hipoksiyle iNOS protein düzeyleri ve NO seviyeleri artmaktadır. Salgılanan NO'nun oksijen radikalleri ile uzaklaştırılması sırasında oluşan peroksinitrit tübül hasarına yol açmaktadır. iNOS blokajı sağlandığında ise lökosit infiltrasyonu ve iskemi-reperfüzyon hasarı engellenebilmektedir. Hemodinamik etkilerinin yanı sıra NO reaktif nitrojen türevlerinin de oluşmasına katkıda bulunarak sitotoksik etki gösterebilir²⁴.

AST (Aspartat amino transferaz) sadece karaciğere özgü bir enzim olmayıp böbrek ve düz kas gibi diğer organlarda da bulunur. Bu enzimin ratlarda ,özellikle renal tübüler hasar sonrası yükseldiği, Feilleux ve arkadaşları tarafındanda gösterilmiştir²⁵.

2.5. PROANTOSİYANİDİNLER

1534 yılında, bir Fransız araştırmacı Jacques Cartier, New York'ta St.Lawrance nehrinde keşif yolculuğu esnasında, devamlı tuzlu et ve bisküvi yiyen tayfalarda skorbit benzeri şikayetlerden bahsettiği kitabında bunu önce çevresel değişikliklere bağladı. Ama karaya çıktıklarında, tayfaların çam ağacı iğneleri ve kabuğundan imal edilmiş ev yapımı çayları içmeye başladıktan sonra iyileştiğini yazmıştı²⁶.

Fransa Bordo Üniversitesi'nden Profesör Jacques Masquelier, bu kitabı okuduğunda bu iyileşmenin ancak vitamin C içeren çam ağacı iğneleri ve kabuğundan imal edilmiş ev yapımı çayın Flavonoidlerde olduğu gibi askorbat benzeri etkisiyle olabileceği fikrini önesürmüştü. İleri çalışmalar sonrası Masquelier bu etkiyi yapan içeriğe pycnogenoller ismini vermiştir. Bugün, oligomeric proanthocyanidin kompleks (OPCs) olarak bilinen bu içeriğin 1951'de çam ağacı kabuğundan elde ederek , 1971'de üzüm çekirdeğinden elde ederek; yapısı, etkisi ve toksik olmadığı hakkındaki çalışmaları ilk olarak Masquelier yapmıştı²⁶.

Proantosiyanidinler; kuruyemişler, tohumlar, sebzeler, meyveler ve ağaç kabuğunda doğal olarak bulunan birleşimlerdir. Üzüm çekirdeği, özellikle proantosiyanidinler için hem

nicelik ve hem de nitelik açısından zengin bir kaynaktır. 20. yüzyılın sonlarında ilk defa 1979'da Lancet dergisinde, St. Leger ve arkadaşları daha sonra da 1992'de yine aynı dergide S. Renaud ve arkadaşları "Fransız paradoksu"nu tanımlamışlardır. Fransızların diyetlerinde tereyağı gibi yüksek oranda doymuş yağdan zengin besinleri kullanmaları, sigara tüketiminin fazla olması, yeterli egzersiz yapmamalarına rağmen kardiyovasküler hastalıklardan ölüm risklerinin diğer ülkelerle karşılaştırıldığında daha az olduğu gözlenmiştir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ortaya çıkan paradoksun nedeni olarak Fransızların içinde yüksek konsantrasyonda proantosiyanidinleri bulunduran kırmızı şarabı fazla tüketmeleri olduğu gösterilmiştir. Proantosiyanidinlerin ise alkolde değil üzüm çekirdeğinden kaynaklandığı bulunmuştur. Proantosiyanidinler aynı zamanda bitkilerdeki mavi-mor ve kırmızı pigmentlerin ana maddesi olarak da bilinir^{26,27}.

Proantosiyanidinler, polifenolik birleşikler olan Flavonoidler'in spesifik bir grubudur. Flavonoidler, subgruplara göre katagorize edilirler. Proantosiyanidinler kondanse taninler grubundadırlar. Tanin'ler hidroksile yapılardır, karbonhidratlar ve proteinler ile çözünmez kompleksler oluştururlar ve bu özellikleri ile bağ dokusu korunmasında önemli görevler üstlenirler. Dimer, trimer ve tetramerik proantosiyanidinler düşük molekül ağırlıklı olup, su ve etanolde çözünürler, barsaklardan emilerek tüm dokulara ve plazmaya dağılırlar, bunun ötesinde diğer suda eriyen antioksidan moleküllerden farklı olarak plazma ve dokuda 7-10 gün boyunca mevcudiyetlerini devam ettirerek güçlü antioksidan özelliklerinin ortaya çıkmasını sağlarlar^{26,28}.

Prosiyanidin dimerleri, B1 - B4 ve B5 - B8 (gallik asidin C3 hidroksil grubuyla beraber esterleşmiş veya serbest form içinde) ve trimerleri (aralarında trimer C1 en yaygın olanıdır) bulunur. Bu tanımlanan proantosiyanidin bileşikleri içerisinde farklı polifenolik bileşikler olan fenoldienonlar, epikateşin, epigallokateşin galat, ferulik asit, kaffeik asit, P – kumarik asit, kaempferol, kuersetin ve mirisetinde bulunmaktadır. Yiyeceklerde bulunan Flavonoidlerin sınıflandırılması ve biyokimyasal yapıları Tablo-2'de gösterilmiştir²⁶.

1990 yılında Londra'da yapılan "Sağlık ve Bioteknolojide serbest radikaller" sempozyumunda prosiyanidinlerde gallat esterifikasyonu arttıkça serbest radikal toplayıcı özelliğinin de arttığı rapor edildi. Oligomerik proantosiyanidinler bu özelliğinden dolayı polimer olanlara göre vucutta proteinlere daha az bağlanır, serumda daha çok çözünür ve vucutta daha çok dağılım gösterir²⁶.

2.5.1. PROANTOSİYANİDİNLERİN ANTİOKSİDAN VE DİĞER ÖZELLİKLERİ

Proantosiyanidinlerin antioksidatif özelliği, oksidatif stresle karakterize hastalıklardaki tedavi edici etkinliğiyle ölçülmüştür. Serbest radikal toplayıcı özelliği ise doza bağımlı olarak değişir²⁹. Farelerde yapılan çalışmalarda oligomerik proantosiyanidinlerin kimyasal olarak indüklenmiş lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği, oksidatif hasarla oluşturulmuş beyin ve karaciğerdeki apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir³⁰.

Halliwell ve ark³¹ serbest radikallerle ilgili yaptıkları bir araştırmada güvenli bir antioksidan maddede şu özelliklerin önemli olduğunu söylemişlerdir:

- 1.Absorbsiyon ve vucuda uyumu,
- 2.Efektif doz, kullanım kolaylığı ve toksisite,
- 3.Hücreler, dokular ve ekstraselüler dokuya dağılımı,
- 4.Serbest radikal toplama kabiliyeti,
- 5.Metalle şelasyon aktivitesi,
- 6.Gen ekspresyonu üzerine etkisi,
- 7.Hücrel antioksidanlar ve antioksidan enzimlerle etkileşim,
- 8.Karsinojenik metabolitlerin detoksifikasyonu.

Proantosiyanidinler serbest radikal toplayıcı ve antioksidan etkinliğini; vazodilatör, antikarsinojenik, antiallerjik, antiinflamatuvar, antibakteriyel, kardioprotektif, immünoestimulan, antiviral, östrojenik etki ve siklooksijenaz, fosfolipaz A2 ile lipooksijenaz inhibisyonu yaparak gösterirler³².

İn vitro deneylerde serbest radikal (süperoksit anyonu ve hidroksil iyonu) toplama (SRT) açısından GSPE (Grape seed proanthocyanidin extract=Üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstresi) ile vitamin C ve E çeşitli konsantrasyonlarda karşılaştırılmıştır. Bunu ölçmek içinde sitokrom c redüksiyon sonucu oluşan kimyasal değerler kullanılmıştır. GSPE ile vitamin E karşılaştırıldığında; süperoksit anyonu için **%84**, hidroksil iyonu için **%98** GSPE'nin daha fazla SRT etkinliğinin olduğu saptanmıştır. GSPE ile vitamin C karşılaştırıldığında; süperoksit anyonu için **% 439**, hidroksil iyonu için **% 575** GSPE 'nin

Tablo- 2 : Flavanoidlerin sınıflandırılması ve biyokimyasal yapıları

Flavonoidler	Temel Yapı
Antosiyanidinler	
Auronlar	
Biflavonoidler	
Kalkonlar	
Dihidrokalonlar	
Dihidroflavanol	
Lökoantosiyainidin	
Flavanol	
Flavononlar	
Flavavonlar	
Flavonoller	
İzoflavonoidler	
Proantosiyainidinler yada kondanse Taninler	

(Tablo Bravo L.Polyphenols.Nutrition Reviews 1998;56:317'den alınmıştır)

daha fazla SRT etkinliğinin olduğu saptanmıştır. Sato ve arkadaşları, benzer bir çalışmayla; peroksil iyonu için GSPE'nin kardioprotektif etkisini gösterirken, GSPE'nin bu etkisini özellikle vurgulamışlardır^{28,33}.

1998'de Bagchi ve ark³⁴ tarafından yapılan in vivo bir çalışmada, hücre içi oksitlenmiş makrofaj ve nöroaktif PC-12 feokromasitoma hücrelerinden hücre kültürü oluşturulmuştur. Bu kültürler, Hidrojen peroksit (H₂O₂) ve GSPE ile beraber ve yalnızca H₂O₂ ile ekilmiştir. Laser tarama mikroskop ile yapılan değerlendirmede GSPE olan kültürde, H₂O₂ ile indüklenmiş oksidatif hasarın %70'lere varan oranlarda daha az olduğu grlmştir.

Sitotoksitite açısından yapılan bir çalışmada; MCF-7 meme kanseri, CRL 1739 mide adenokarsinomu, A427 akciğer kanser hücreleri ile normal mide mukozal ve J774.1 mürin makrofaj hücrelerinden in vivo kültürler oluşturulmuştur. 25 ve 50 mg/l konsantrasyonlarında GSPE kültürlere ilave edildiğinde kanser hücreli kültürlerde belirgin sitotoksik etki görülürken diğer iki normal insan hücrelerinde normal büyüme ve gelişmenin devam ettiği grlmřtir³⁵.

Ray ve ark³⁶'nın gen ekspresyonu zerine GSPE'nin etkisi araştırılmıştır. Farelere 3-7 gün GSPE oral olarak 100 mg/kg'dan verildikten sonra, aşırı doz (500 mg/kg ,intraperitoneal) asetoaminofen verilen farelerde karaciğer toksisitesi meydana getirilip serum alaninaminotransferaz (ALT) seviyelerindeki değerikliğe ve hepatik hücre DNA hasarına bakılmıştır. Ayrıca histopatolojik olarak apopitotik ve nekrotik değeriklikler incelenmiştir. Asetoaminofen; bcl gen ailesine ait pozitif düzenleyici, hücre ölümü ve apopitozisi engelleyici rolü olan bcl- XL geninin fosforillenmesiyle tam tersi etki yapmış, yani apopitozisi indüklemiştir. Oysa, GSPE alan deneklerde bcl- XL gen ekspresyonu bariz artmış ve apopitozis dramatik olarak azalmıştı. Aynı zamanda, ALT seviyelerinin ykselmeyişi ve DNA hasarının azalması da GSPE'nin asetoaminofen verilen farelerde karaciğer toksisitesine karşı koruyucu etkisini destekliyordu.

Avrupa'da, proantosiyanidinler daha çok venöz yetmezlik, variköz venler ve retinopati, kapiller frajilite gibi mikrovasküler problemleri içeren vasküler hastalıklarda kullanılmaktadır. Fransa'da (Endotelon ticari ismiyle) primer olarak mikrovasküler hastalıklarında kullanılmaktadır. Deneyisel olarak ta, mikrovasküler hastalıklarla ilgili yapılan araştırmaların sonucunda proantosiyanidinlerin şu özellikleri gsterilmiřtir²⁶:

1. Hidroksil serbest radikallerine karşı spesifiktir,
2. Lipid peroksit ürünleri ve serbest radikalleri toplayabilmektedir,
3. Örneğin, demirle indüklenmiş lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gibi, serbest demire karşı şelasyon (birleşip toplama) görevi yapar,
4. Serbest radikal oluşumuna neden olan ksantine oksidaz enzimini nonkompetatif inhibe eder,
5. Hiyaluronidaz, elastaz ve kollajenaz enzimlerini inhibe ederek; yumuşak doku yapısının bozulması ve permeabilite artışını engellerler.

Balu ve ark³⁷,nın, yaşlanmaya bağlı oksidatif stresin oluşturduğu nöronal hasarla ilgili ratlarla yapılan bir çalışmada GSPE'nin etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, spinal kord ve beyin; örneğin; hipokampus, korpus striatum ve serebral korteksinde yaşlanmaya bağlı oksidatif DNA hasarının birikimini inhibe ettiği gösterilmiştir.

Bu anlatılanlara paralel olarak, proantosiyanidinlerin biyolojik aktivitelerinden faydalanarak kullanılan alanlar; ödemin azaltılması, periferel dolaşımın artırılması, görme keskinliğinin artırılması, kardiovasküler hastalıklardan koruma, hiperkolestrolemi tedavisi, yumuşak dokunun stabilizasyonu, allerjik ve inflmatuvar cevabın azaltılması ile immün sistemin düzenli çalışması ve son olarak sağlıklı yaşamın devamıdır²⁶.

GSPE ayrıca; sistemik lupusda antioksidan olarak ³⁸, pankreatitte antiemetik olarak ³⁹, insülin rezistansında niasin ve çinko-metioninle kombine olarak ⁴⁰, dikkat defisit bozukluğu gibi kognitif hastalıklarda⁴¹ da başarılı klinik sonuçlar alınarak kullanılmıştır.

2.5.2. PROANTHOCYANİDİNLERİN FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLERİ

IH636 GSPE (ActiVin, InterHealth Nutraceuticals Incorporated, Benicia, Kanada) su-alkol karışımı ile standartize edilerek kırmızı üzüm çekirdeklerinden elde edilmiştir. Bu ekstrenin **%89,3'ü proantosiyanidinlerden** oluşup; bunun da %66'sı dimer, % 5'i trimer, %2.9'u tetramer **(toplam%74.8' i oligomer)** ve polimer (pentamer ve üzeri)'lerden oluşmaktadır. Geriye kalan %6.6 monomerik flavanoidlerden (bunun %2.5'u +- katesin, %2.2' si –ekatesin, %1.4'ü epigalektikatesin ve %0.5'i –epigallokatesinden oluşur), %2.24'ü su, %1.26'sı proteinden meydana gelmektedir²⁸.

Oral alınabilen flavonoidler ve GSPE barsak hücrelerinde glukronid ile bağlanıp serumda karaciğere kadar albümin ile taşınır. Midenin asidik ortamında tam parçalanamadığından üst gastrointestinal sistemden emilimi daha azdır. Vucuda dağılımı alkol ve suda çözülüp oral alındığı zaman daha iyidir. Oligoproantosiyanidinler, polimerlere göre vucutta glikolizasyonu daha fazla olduğu için 7-10 gün plazmada kalabilir. Diğer suda çözünen antioksidan vitaminlere göre de bu belirgin bir avantajdır. Proantosiyanidinler karaciğerde metilasyon, dehidroksilasyon, oksidasyon, glukronik asitle veya sülfatla konjugasyon gibi biyotransformasyon reaksiyonları ile metabolitlerine ayrılırlar. Maksimum konsantrasyona ulaşma 45 dakikadır ve yarılanma ömrü 5 saattir^{28,42}.

Bilinen bir ilaç reaksiyonu yoktur. Yapılan in vitro çalışmalarda platelet agregasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Bu nedenle antiagregan ilaçlarla alınacaksa dikkatli olunmalıdır⁴³. Rat çalışmalarında, proantosiyanidinlerin yüksek dozlarda (1400-1500 mg/kg/gün) bile toksik ve mutajenik etkisine rastlanmamıştır⁴⁴.

Önerilen oral alım dozu 50-150 mg /gün yada 1 mg/kg/gün olup günlük 300 mg önerenler de vardır. Doz aralığı geniş ve güvenlidir. Metabolitler temel olarak idrar ve feçes ile az oranda CO₂ ile elimine edilirler. GSPE bileşikleri tek doz oral uygulama sonrasında hızlı şekilde plazmada görülürler. Oral uygulamadan sonra; uygulanan dozun %70'i ilk 24 saat içinde idrar ve %45'i feçes ile atılır. Temel idrar metabolitleri; hippürik asit, etikkatekol ve m-hidroksifenilpropionik asittir. Gayta metaboliti, etikkatekol'dür^{28,43,44}.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. DENEYSEL ÇALIŞMA

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nin 27/4/2007 tarihli etik kurul izniyle, aynı merkezde; Çocuk Cerrahisi, Biokimya ve Patoloji Anabilim Dalları'nın ortaklaşa çalışmasıyla gerçekleşti. Çalışma, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nce (07102017 nolu proje) desteklendi.

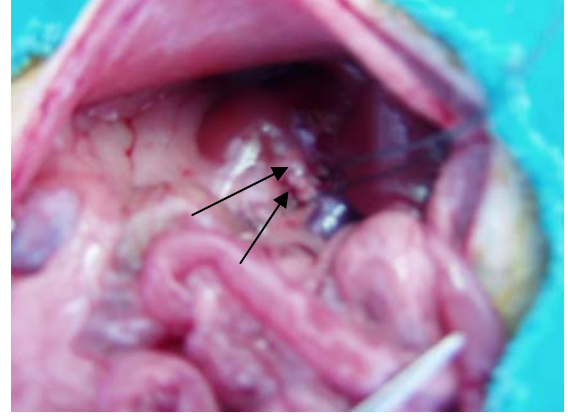
3.2. İ/R OLUŞTURMA MODELİ

Çalışmada 40 adet Sprague Dawley cinsi, ağırlıkları 200-250 gr arasında, erkek ve sağlıklı ratlar kullanıldı. Denekler; 24 °C oda sıcaklığı, havalandırılmalı oda, %70-80 nemli ortamı olan şartlarda, polikarbon kafeslerde su ve standart rat yemi ile beslenerek 1 hafta gözlemlenip çalışmaya başlandı. Eksternal muayenelerinde patoloji saptanmadı. Çalışmaya kadar su ve yiyecek kısıtlaması yapılmadı. Ratlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda tutuldu. Çalışmada 10 rat, diğerlerinden ayrı bir kafese konularak, 15 gün süreyle GSPE (IH636 GSPE ActiVin, InterHealth Nutraceuticals Incorporated, Benicia, Kanada) oral yoldan (orogastrik gavajla) 100 mg/kg/gün dozunda verildi.

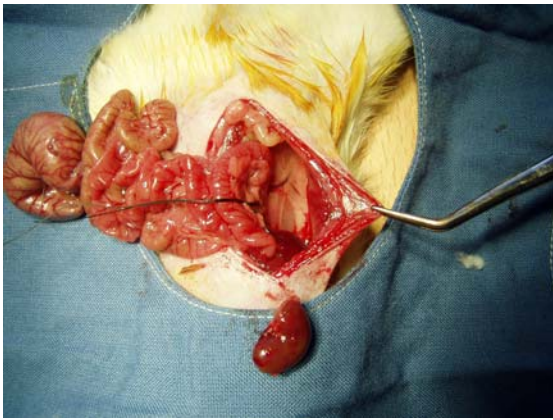
Yapılan deneyde; anestezi için, ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer İlaç) 50mg/kg ve 2 mg/kg xylazine hidroklorid (Rompun, Bayer İlaç) intramüsküler uygulandı. Steril şartlarda, hayvanın vucut ısısı korunarak karın bölgesi traş edildi ve steril delikli örtüyle kapatıldı (Resim-1). Orta hat kesiyle karın içine ulaşıldı ve eksplorasyonda sağ ve sol renal arter ve ven bulundu ve askıya alındı (Resim-2). Sağ nefrektomi yapıldı (Resim-3). Ardından sol renal pedikül, mikrovasküler klemple oklüze edildi ve pulsasyon olmayışı ile arteriel kan akımının durduğu teyid edildi (Resim-4). İşlemler sonlanıncaya kadar sıvı kaybını önlemek için intraperitoneal izotonik verildi. 45 dakikalık iskemi sonrası mikrovasküler klemp açılarak arteriovenöz akımın tekrar başladığı, böbreğin renginin açılması ve pulsasyonun başlaması ile teyid edildi. 60 dakikalık reperfüzyon sonunda sol nefrektomiyle biokimyasal ve histopatolojik inceleme için doku örneği ile intrakardiyak ponksiyonla biokimyasal inceleme için 6 cc kan örneği alındı ve deney sakrifikasyonla sonlandırıldı.



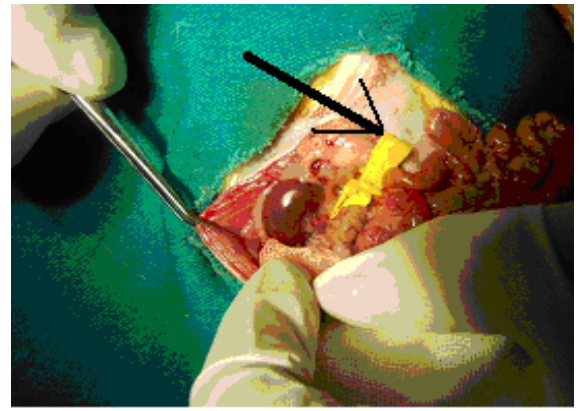
Resim-1:Ratın preoperatif karın duvarı hazırlığı



Resim-2:Renal pedikül (siyah oklar)



Resim-3:Sağ nefrektomi sonrası çıkarılan böbrek ve boş sağ böbrek loju.



Resim-4:Sol renal pedikülün klemplenmesi (siyah ok mikrovasküler klempli gösteriyor)

3.3. ÇALIŞMA GRUPLARI

Ratlar her biri 10'arlı 4 gruba ayrıldı ve şu yöntem izlendi:

Grup 1 (Kontrol grubu): Sadece laparotomi yapıldı ve her iki böbrek pedikülü eksplere edildi.

Grup 2 (Sham grubu): Sol renal pedikül eksplasyonu ve sağ nefrektomi yapıldı. Toplam İ/R süresi olan, 105 dakika sonra sol nefrektomi yapıldı.

Grup 3 (İskemi/Reperfüzyon grubu): Sağ nefrektomi, sol böbreğe 45 dakika iskemi ve ardından 60 dakika reperfüzyon uygulandı ve sonrasında sol nefrektomi yapıldı.

Grup 4 (İskemi/Reperfüzyon+GSPE grubu): Deneklere; 100 mg/kg/gün dozunda 15 gün süreyle oral (orogastrik gavajla) GSPE verildi. 15.gün sağ nefrektomi, sol böbreğe 45 dakika iskemi ve ardından 60 dakika reperfüzyon uygulanarak sol nefrektomi yapıldı. 4. gruptan 2 rat gavajla ilaç verilirken pulmoner aspirasyon nedeniyle 3. gün öldü ve bu grupta çalışma 8 ratla tamamlandı.

Bu işlemler sonunda; kontrol grubundan, biyokimyasal analiz için sadece intrakardiyak ponksiyonla kan örneği alınırken; diğer gruplarda, hem biyokimyasal analiz için intrakardiyak ponksiyonla kan örneği alındı, hem de sol nefrektomi yapılarak böbrekler biyokimyasal ve histopatolojik incelemede kullanıldı. Sham grubunda nefrektomi ile doku örneği almaktan başka bir işlem yapılmadığından, kontrol grubundanda nefrektomi ile aynı işlemin tekrarı olacağından doku örneği alınmadı ve doku değerlendirmesi yapılmadı. Örneklerde alındıktan sonra, alınan 6 cc kan, santrifüj edilip serum elde edildikten sonra, biokimyasal ölçüm zamanına kadar -30 °C’de muhafaza edildi. Alınan renal dokunun yarısı doku biyokimya ölçümü için -70 °C’de muhafaza edilirken, yarısı histopatolojik inceleme için %10’luk formolde muhafaza edildi.

3.4. BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

3.4.1. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

3.4.1.1. SERUM ÜRE, KREATİNİN(Cr) VE ASPARTOAMİNOTRANSFERAZ (AST) SEVİYELERİNİN TESPİTİ

Serum Üre, Cr ve AST seviyeleri; Spinreact marka kitler kullanılarak, Tokyo Boeki marka Prestige 24İ model analizörde ölçüldü. Üre ve Cr, renal fonksiyon tespiti ve AST ise renal tübüler hasarın tespiti için kullanıldı.

3.4.1.2. SERUM TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFA (TNF- α) SEVİYESİNİN TESPİTİ

Serum TNF- α seviyeleri; Biosource TNF- α -rat marka kitler kullanılarak, Bio-Tek marka Micro Quant model analizörde ölçüldü. Güçlü proinflatuvar sitokinlerden olan TNF- α , inflamasyonun ve tübüler hasarın şiddetini belirlemek amacıyla kullanıldı.

3.4.1.3. DOKU MALONDİALDEHİT (MDA) VE GLUTATYON REDÜKTAZ (GR) SEVİYESİNİN TESPİTİ

Doku MDA ve GR seviyeleri; Biosource marka kitler kullanılarak, Bio-Tek marka Micro Quant model ELISA spektrofotometresinde ölçüldü. Doku MDA oksidatif hasarın neden olduğu lipid peroksidasyonunun şiddetini belirlemede ve GR ise antioksidan enzim aktivitesinin etkinliğinin tespiti için kullanıldı.

3.4.2. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Alınan böbrek dokusu %10'luk formolde tespit edilip, rutin işlemler sonrası parafin bloklara gömüldü. 5 mikrometre kalınlığında kesitler alındı, deparafinize ve hidrate edilip H&E (Hemotoksilen eozin) ile boyandı. Işık mikroskopunda incelendi.

Değerlendirmede, histopatolojik inceleme için; “vasküler yapılarda dilatasyon – konjesyon”, “tübüler vakoulizasyon”, “mononükleer hücre artışı” ve “tübüler nekroz” olarak 4 parametre belirlendi. Her parametre için “0(yok)”, “1(az)”, “2(orta)” ve “3(şiddetli)” şeklinde 0’dan 3’e kadar skor verildi.

3.4.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Grupların hepsinde biokimyasal parametrelerin ortalama değerleri tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak karşılaştırıldı. ANOVA testinin anlamlı olduğu durumlarda ikincil (post hoc) test olarak Tukey HSD testi kullanıldı. Tüm veriler ortalama değer $\pm$ standart sapma (SD) şeklinde belirlendi, p değerleri 0,05’ ten küçük çıktığı zaman anlamlı kabul edildi.

Grup 2, 3 ve 4’ün histopatolojik parametrelerinin analizinde, üç grup ortalamaları önce Kruskal-Wallis non-parametrik varyans analizi ile karşılaştırıldı. Kruskal-Wallis testinin anlamlı olduğu durumlarda Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı, $p<0,17$ olduğunda aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm istatistiksel hesaplamalar SPSS (Version 13.0) istatistik paket programı ile yapıldı.

4. SONUÇLAR:

4.1. BİYOKİMYASAL SONUÇLAR

4.1.1. SERUM ÜRE, Cr, AST SONUÇLARI

Yapılan biyokimyasal değerlendirme sonucu serum üre ortalama değerleri ($\pm$ SD); Kontrol grubunda 44.30 ± 2.26 , Sham grubunda 46.20 ± 1.03 , İ/R grubunda 76.20 ± 3.79 ve İ/R+GSPE grubunda 64.75 ± 3.84 mg/dl idi. Serum Cr ortalama değerleri ise; Kontrol grubunda 0.55 ± 0.05 , Sham grubunda 0.59 ± 0.05 , İ/R grubunda 0.89 ± 0.05 ve İ/R+GSPE grubunda 0.78 ± 0.06 mg/dl olarak bulundu. (Tablo-3) Renal glomeruler disfonksiyonun göstergelerinden Üre ve Cr değerleri; İ/R grubu; Sham ve Kontrol grupları ile karşılaştırıldığı zaman, anlamlı olarak arttığı görüldü ($p < 0.05$). İ/R+GSPE grubunda ise bu değerlerin İ/R grubundaki değerlerden anlamlı düşük olduğu saptandı ($p < 0.05$) (Şekil-9 ve 10).

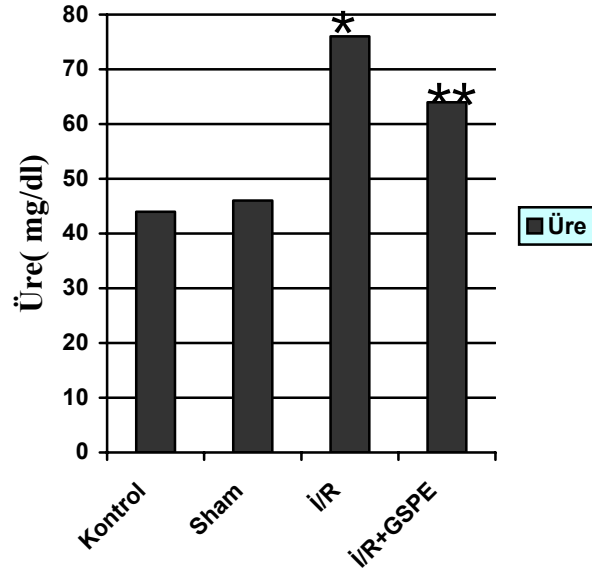
Renal tübüler hasarın şiddetini belirlemek için kullanılan AST'nin serum ortalama değerleri; Kontrol grubunda 140.30 ± 13.51 , Sham grubunda 151.90 ± 13.27 , İ/R grubunda 460.10 ± 92.64 ve İ/R+GSPE grubunda 283.13 ± 82.44 U/L idi. (Tablo-3) İ/R grubundaki serum AST seviyesinin Sham ve Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak arttığı görülürken ($p < 0.05$), İ/R+GSPE grubunda ise İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu bulundu ($p < 0.05$) (Şekil-11).

Tablo-3 : Grupların Serum Üre, Cr ve AST ortalama değerleri ($\pm$ SD)

Gruplar	Üre	Cr	AST
Kontrol (n=10)	44.30 ± 2.26	0.55 ± 0.05	140.30 ± 13.51
Sham (n=10)	46.20 ± 1.03	0.59 ± 0.05	151.90 ± 13.27
İ/R (n=10)	$76.20 \pm 3.79^*$	$0.89 \pm 0.05^*$	$460.10 \pm 92.64^*$
İ/R+GSPE (n= 8)	$64.75 \pm 3.84^{**}$	$0.78 \pm 0.06^{**}$	$283.13 \pm 82.44^{**}$

* $p < 0.05$, İ/R grubu Sham ve Kontrol grupları ile karşılaştırıldığı zaman

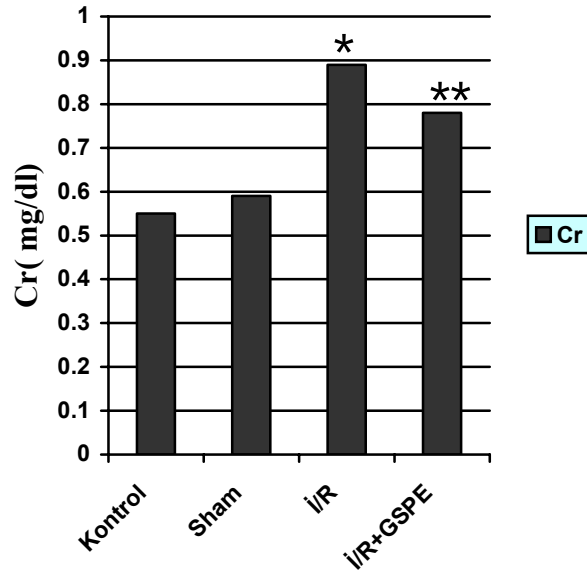
** $p < 0.05$, İ/R+GSPE grubu İ/R grubu ile karşılaştırıldığı zaman



Şekil-9 :Grupların ortalama serum Üre değerleri

* $p < 0.05$, İ/R grubu Sham ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığı zaman

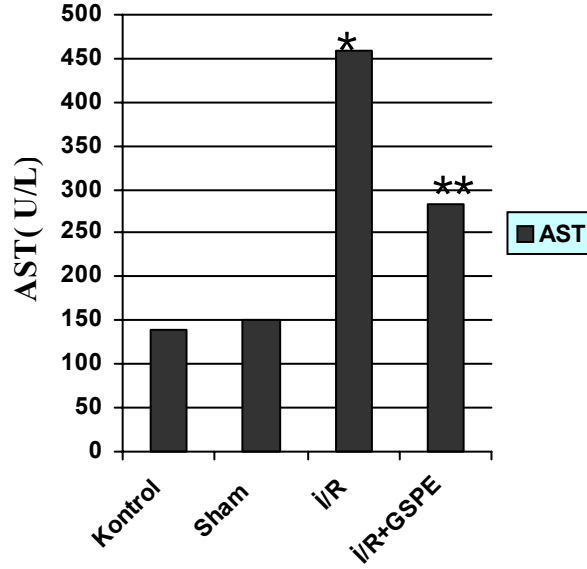
** $p < 0.05$, İ/R+GSPE grubu İ/R grubu ile karşılaştırıldığı zaman



Şekil-10 : Grupların ortalama serum Cr değerleri

* $p < 0.05$, İ/R grubu Sham ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığı zaman

** $p < 0.05$, İ/R+GSPE grubu İ/R grubu ile karşılaştırıldığı zaman



Şekil-11 : Grupların ortalama serum AST değerleri

* $p < 0.05$, İ/R grubu Sham ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığı zaman

** $p < 0.05$, İ/R+GSPE grubu İ/R grubu ile karşılaştırıldığı zaman

4.1.2. SERUM TNF- α SONUÇLARI

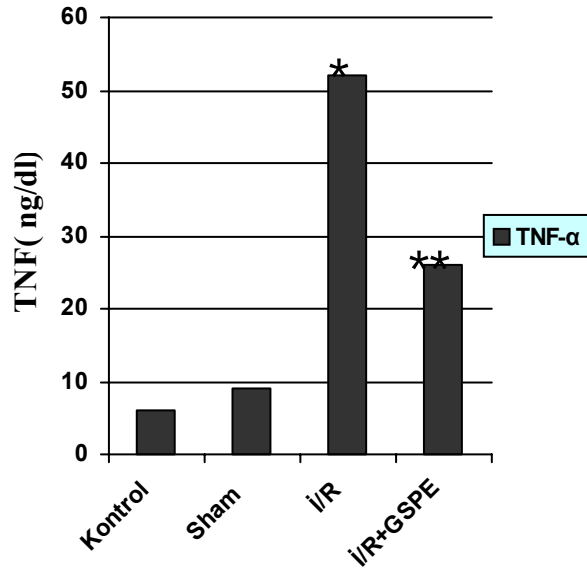
Reperfüzyon hasarında başlangıçta salınan ve kritik önemi olan TNF- α mediatörü, dokuda biriken mononükleer hücrelerin serumda göstergesi olarak ölçüldüğünde; serum TNF- α ortalama değerleri ; Kontrol grubunda 5.80 ± 1.54 , Sham grubunda 9.00 ± 2.40 , İ/R grubunda 52.30 ± 7.97 ve İ/R+GSPE grubunda 26.25 ± 4.26 ng/dl idi. (Tablo-4) İ/R grubunda serum TNF- α seviyeleri belirgin şekilde diğer gruplardan yüksek bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca; İ/R+GSPE grubunda serum TNF- α seviyeleri, İ/R grubundan anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.05$) (Şekil-12).

Tablo- 4 : Serum TNF- α ortalama değerleri ($\pm$ SD)

Gruplar	TNF- α
Kontrol (n=10)	5.80 ± 1.54
Sham (n=10)	9.00 ± 2.40
İ/R (n=10)	$52.30 \pm 7.97^*$
İ/R+GSPE (n= 8)	$26.25 \pm 4.26^{**}$

* $p < 0.05$, İ/R grubu Sham ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığı zaman

** $p < 0.05$, İ/R+GSPE grubu İ/R grubu ile karşılaştırıldığı zaman



Şekil-12: Grupların serum TNF- α değerleri

* $p < 0.05$, İ/R grubu Sham ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığı zaman

** $p < 0.05$, İ/R+GSPE grubu İ/R grubu ile karşılaştırıldığı zaman

4.1.3. DOKU MDA VE GR SONUÇLARI

Hücre içinde oksidatif hasara bağlı lipid peroksidasyon ürünü olan MDA doku ortalama değerleri; Sham grubunda $35,10 \pm 6,11$, İ/R grubunda $153,60 \pm 12,98$ ve İ/R+GSPE grubunda $112,75 \pm 8,01$ nmol/gr yaş doku olarak belirlendi (Tablo-5). İ/R grubunda, Sham ve İ/R+GSPE grubuna göre doku MDA seviyesi anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.05$). Yine İ/R+GSPE grubunda doku MDA seviyesi Sham grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$) (Şekil-13).

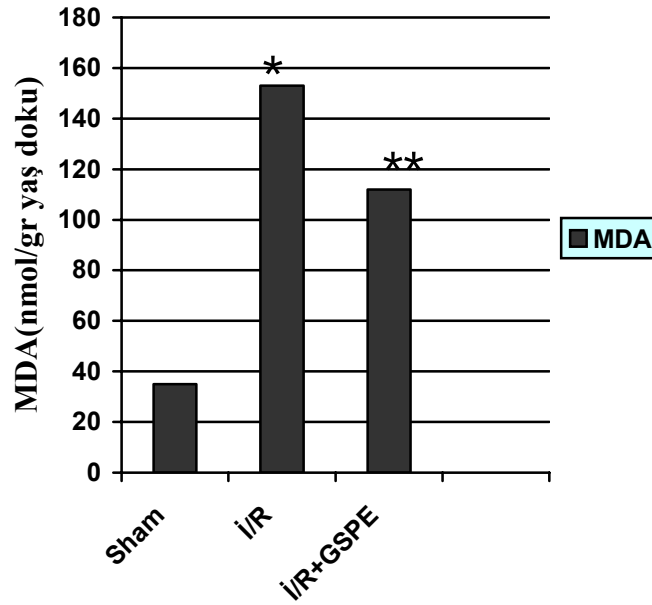
Hücre içi antioksidan havuzunda zararlı peroksit radikallerinin glutatyon peroksidaz tarafından toplanmasıyla oluşan redükte glutatyonun tekrar GSH'ye çevrilmesini sağlayan, kilit bir enzim olan GR doku ortalama değerleri; Sham grubunda $1158,20 \pm 95,24$, İ/R grubunda $358,60 \pm 46,19$ ve İ/R+GSPE grubunda $732,50 \pm 76,26$ U/L olarak belirlendi (Tablo-5). İ/R grubunda, Sham ve İ/R+GSPE grubuna göre anlamlı olarak düşük GR doku değerleri tespit edildi, yani antioksidan aktivite İ/R grubunda belirgin düşüktü ($p < 0.05$). Yine İ/R+GSPE grubunda GR seviyesi Sham grubundan anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.05$) (Şekil-14).

Tablo- 5 : Gruplarda böbrek dokusu ortalama MDA ve GR değerleri ($\pm$ SD)

Gruplar	MDA	GR
Sham (n=10)	35,10 $\pm$ 6.11	1158.20 $\pm$ 95.24
İ/R (n=10)	153.60 $\pm$ 12.98*	358.60 $\pm$ 46.19*
İ/R+GSPE (n= 8)	112.75 $\pm$ 8.01**	732.50 $\pm$ 76.26**

* $p < 0.05$, İ/R grubu Sham grubu ile karşılaştırıldığı zaman

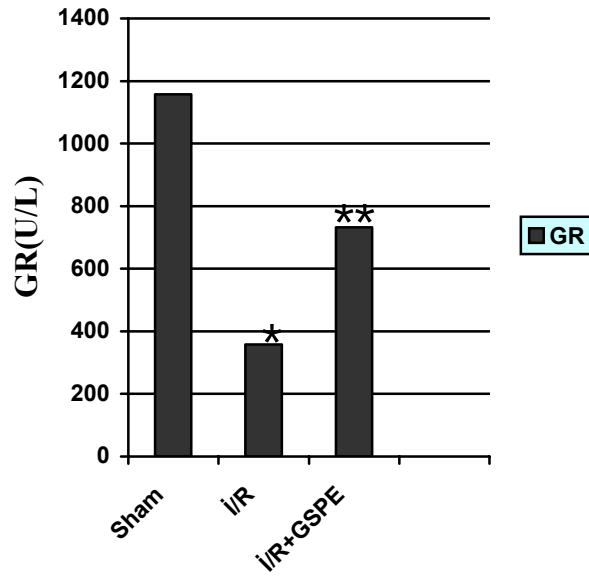
** $p < 0.05$, İ/R+GSPE grubu İ/R grubuyla karşılaştırıldığı zaman



Şekil-13 : Grupların doku MDA değerleri

* $p < 0.05$, İ/R grubu Sham grubuyla karşılaştırıldığı zaman

** $p < 0.05$, İ/R+GSPE grubu İ/R grubu ile karşılaştırıldığı zaman



Şekil-14 : Grupların doku GR değerleri

* $p < 0.05$, İ/R grubu Sham grubuyla karşılaştırıldığı zaman

** $p < 0.05$, İ/R+GSPE grubu İ/R grubu ile karşılaştırıldığı zaman

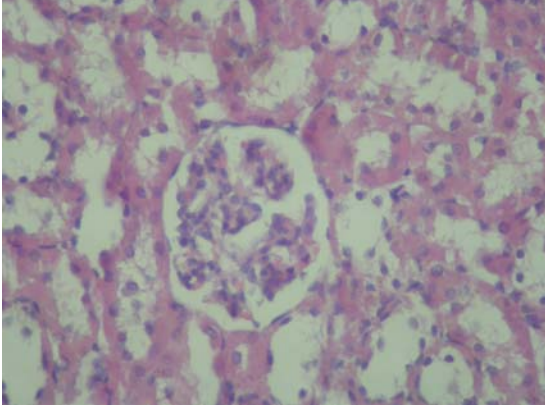
4.2. HİSTOPATOLOJİK SONUÇLAR

Histopatolojik ıcelemede tespit edilen histopatolojik ortalama skorlar ($\pm$ SD) değerleri Sham grubunda; “vasküler yapılar da dilatasyon- konjesyon” için 0.40 ± 0.51 , “tübüler vakuolizasyon” için 0.00 ± 0.00 , “mononükleer hücre artışı” için 0.00 ± 0.00 , “tübüler nekroz” için 0.00 ± 0.00 olup histopatolojisi normal görünümdeydi (Tablo-6) (Resim-5).

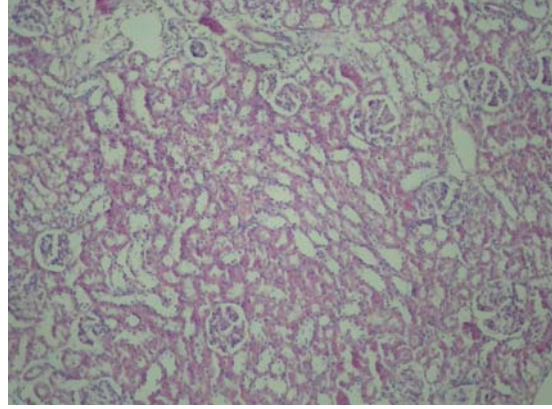
İ/R grubunda; “vasküler yapılar da dilatasyon- konjesyon” için 2.60 ± 0.51 , “tübüler vakuolizasyon” için 2.80 ± 0.42 , “mononükleer hücre artışı” için 0.80 ± 0.63 , “tübüler nekroz” için 0.60 ± 0.63 olup (Tablo-6), bariz şekilde vasküler yapılar da dilatasyon ve konjesyon, tübüler vakuolizasyon ve orta derecede mononükleer hücre artışı olup, azda olsa tübüler nekroz mevcuttu (Resim-6).

İ/R+GSPE grubunda; “vasküler yapılar da dilatasyon- konjesyon” için 1.13 ± 0.35 , “tübüler vakuolizasyon” için 1.13 ± 0.35 , “mononükleer hücre artışı” için 0.38 ± 0.51 , “tübüler nekroz” için 0.25 ± 0.46 olarak bulundu (Tablo-6). Vasküler yapılar da dilatasyon ve konjesyon İ/R grubuna göre çok az, tübüler vakuolizasyon daha da az ve mononükleer hücre artışı yok denecek kadar azdı, tübüler nekroz ise yoktu (Resim 7).

İ/R grubunun skorları, Sham ve İ/R+GSPE gruplarının skorlarından daha yüksekti ($p<0.05$) (Tablo-6). Sham ve İ/R+GSPE grubunun histopatolojik bulguları birbirine yakın olmasına rağmen İ/R+GSPE grubunun histopatolojik skorları Sham grubundan daha yüksekti ($p<0.05$) (Tablo-6).

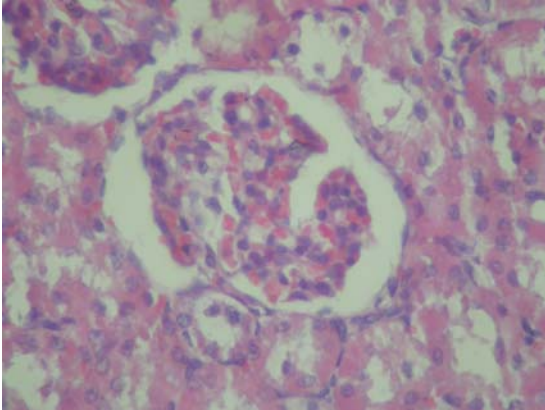


A

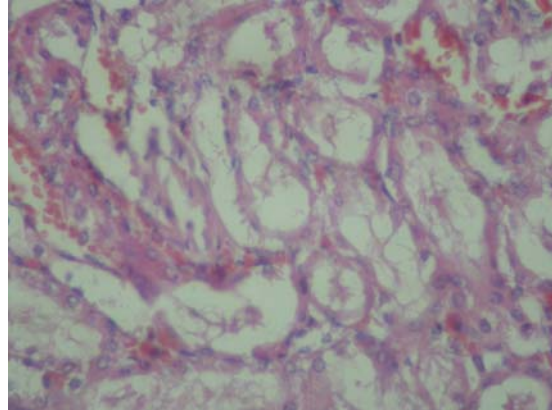


B

Resim- 5 : Sham grubunda x40(A) ve x10(B) büyütmede normal morfoloji.

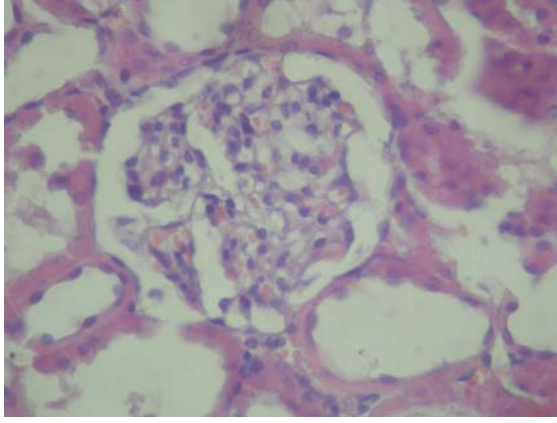


A

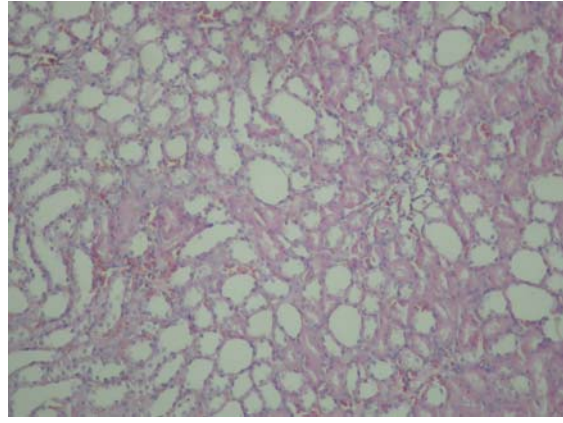


B

Resim-6 : İ/R grubunda x40 büyütmede; tübüllerde belirgin vakuolizasyon(B), vasküler yapılarda dilatasyon - konjesyon ve orta derecede mononükleer hücre artışı(A)



A



B

Resim- 7 : İ/R+GSPE grubunda x40(A) ve x10(B) büyütmede minimal konjesyon dışında sham grubuyla benzer normal histopatolojik görünüm.

Tablo-6: Grupların ortalama histopatolojik skor ($\pm$ SD) değerleri

Gruplar	Vasküler yapılarda Dilatasyon-konjesyon	Tübüler vakuolizasyon	Mononükleer hücre artışı	Tübüler nekroz
Sham (n=10)	0.40 $\pm$ 0.51	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
İ/R (n=10)	2.60 $\pm$ 0.51	2.80 $\pm$ 0.42	0.80 $\pm$ 0.63	0.60 $\pm$ 0.63
İ/R+GSPE (n=8)	1.13 $\pm$ 0.35	1.13 $\pm$ 0.35	0.38 $\pm$ 0.51	0.25 $\pm$ 0.46

Kruskal-Wallis testine göre tüm gruplar arasında anlamlı fark olduğundan ikincil (post hoc) test (Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi) sonrası, İ/R grubuyla İ/R+GSPE grubu 4 parametreden her biri için karşılaştırıldığı zaman; “vasküler yapılarda dilatasyon – konjesyon” ve “tübüler vakuolizasyon” açısından anlamlı farklılık varken ($p<0.17$), “mononükleer hücre artışı” ve “tübüler nekroz” açısından anlamlı bir fark yoktu ($p>0.17$). Sham grubuyla İ/R grubu 4 parametreden her biri için ayrı ayrı karşılaştırıldığı zaman; hepside anlamlı olarak farklıydı ($p<0.17$). İ/R+GSPE grubuyla Sham grubu karşılaştırıldığında; “mononükleer hücre artışı” ve “tübüler nekroz” açısından anlamlı bir fark yokken ($p>0.17$), “vasküler yapılarda dilatasyon –konjesyon” ve “tübüler vakuolizasyon” açısından anlamlı farklılık vardı ($p<0.17$) (Tablo-7).

Tablo-7: Grupların Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonrası *p* değerleri.

	<i>P</i> (Sham ve İ/R)	<i>P</i> (Sham ve İ/R+GSPE)	<i>P</i> (İ/R ve İ/R+GSPE)
Vasküler yapılarda dilatasyon,konjesyon	0,000*	0,021*	0,000*
Tübüler vakuolizasyon	0,000*	0,000*	0,000*
Mononükleer hücre artışı	0,070*	0,203	0,203
Tübüler nekroz	0,023*	0,408	0,237

p (Sham- İ/R): Sham grubuyla İ/R grubu karşılaştırıldığında *p* değerleri.

P (Sham- İ/R+GSPE): İ/R+GSPE grubuyla Sham grubu karşılaştırıldığında *p* değerleri.

P (İ/R - İ/R+GSPE): İ/R grubuyla İ/R+GSPE grubu karşılaştırıldığında *p* değerleri.

* : $p < 0,05$ olup karşılaştırılan iki grup arasında anlamlı fark olan parametre.

5. TARTIŞMA

Renal kan akımındaki ciddi azalma, yüksek enerjili fosfat tüketilmesi ve bunu izleyen hücre membranının ana fizyolojik iyonlara geçirgenliğinin bozulması, renal hücre hasarına neden olmaktadır. Bu hasarın derecesi iskeminin süresine ve uygun kollateral dolaşımın varlığına göre değişiklik göstermektedir. Çelişki gibi görünse de, kan akımının tekrar başlaması, daha fazla hücre hasarına neden olmaktadır; bu da reperfüzyon hasarı olarak bilinmektedir. Böbrek kanlanmasıyla, akım iskemiye metabolik olarak daha hassas olan renal medullada yoğunlaşır. Bunun sonucunda, değişik oranlarda kortikal nekroz ve glomerüler filtrasyonda azalma meydana gelir. İskemi; renal tübüllerde genişleme, vazokonstriksiyon, ödem, endotel aktivasyonu ve tübüler hücre dökülmesine neden olur. Endotel adezyon molekülünün ekspresyonu ve lökositin endotele göçü ya da kemotaksisi artar^{3,45,46}.

Renal iskemi sonrası oksijenlenmiş kan ile reperfüzyon uygulanması, serbest radikallerin oluşmasına, lipid peroksidasyonuna, polisakkarit depolimerasyonuna ve DNA yapısının bozulup, yıkılmasına neden olur. Hasarlanmış endotelde vazodilatasyon olmaz; vasküler düz kaslar etkili vazokonstriktörler salgılar ve şişer. Bunun sonucunda da vasküler geçirgenlik artar. Renal distal nefronlarda, hücreler arası birleşim yerleri bozulur. Bu da sodyumun Emilimini bozar hücre polaritesinin kaybına ve proksimal tübüllerde Na-K-ATPaz pompasının bozulmasına yol açar. Vazokonstriksiyon, hücre şişmesi, ekstraselüler ödem oluşur. Sonrasında, lökosit ve trombositlerin endotele yapışmasıyla doku perfüzyonu daha da bozulur^{20,46,47}. Renal kan akımında oluşan aksamalardan sonra tekrar akımın sağlanmasıyla oluşan reperfüzyon sonucu doku hasarı oluşur. Bu olaylar nonimmünolojiktir⁴⁸.

Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Yani sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli düzeyin üzerine çıkar veya antioksidanlar yetersiz olursa yani denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimlerini bozarak zararlı etkilere yol açarlar. Çoğu hastalıklarda artmış reaktif oksijen radikalleri (ROR) hastalığın ana sebebi değildir. Ancak primer bozukluğa ikincil olarak oluşurlar ve ardından patogeneizde yer alırlar¹³.

Normal bir insan böbreğinde, bir saatten kısa süren sıcak iskei, geçici disfonksiyondan başka hasar yapmazken, üç saat ve daha uzun süren sıcak iskei ise geriye dönüşü olmayan hasara neden olmaktadır ⁴⁶. Bu çalışmada da iskei süresi 1 saatten daha kısa 45 dakika olarak uygulandı. Renal cerrahi operasyonlarda, operasyonun gereği olarak, böbreğin anatomik pozisyonunun bozulup farklı yönler e yer değıştirtilmesi durumunda renal vasküler hilüsün etkil enerek kan akımının azalması ya da böbreğin bazı bölgelerinin basıya bağı olarak iskemide kalması kaçınılmazdır. Operasyonlardaki bu iskei süresi 5-10 dakika gibi kısa bir zaman olabileceğı gibi, 1 saate kadar da uzayabilir. Kan akımının tekrar sağlanmasıyla, belirtilen İ/R hasarı meydana gelmektedir. Bizim çalışmamızda ise 45 dakika iskei ardından 60 dakika reperfüzyon uygulandı.

Postiskemik böbrekte makrofaj infiltrasyonu sitokinlerin (özellikle IL-1 ve TNF- α) uyarılıp böbrek dokusunda inflamasyonun artışına neden olur^{3,12,20,46}. Ithaar⁴⁹ tarafından TNF- α 'nın renal İ/R hasarındaki rolü araştırılırken; ne kadar etkin olduğunu göstermek için deneklere TNF- α bağlayıcı protein verildiğinde, iskei sonrası yapılan incelemede nötrofil infiltrasyonunun azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada da aynı amaçla TNF- α inflamasyonun şiddetini ölçmek için kullanılmıştır. Meldrum ve ark.⁵⁰ renal İ/R hasarında TNF- α 'nın etkinliğini araştırırken, çeşitli zaman dilimlerinde TNF- α 'nın reperfüzyon hasarının göstergesi olarak serum değerlerine bakmışlar ve reperfüzyonun birinci saatinde TNF- α 'nın en yüksek seviyeye ulaştığını belirlemişlerdir. Aynı zamanda renal TNF- α 'nın, tübüler hücrelerden salgılandığını da immünohistokimyasal yöntemler kullanarak gösterdiler. Bu çalışmada da, reperfüzyon süresi 1 saat olarak uygulandı ve reperfüzyonun tübüler hasara ait göstergelerinden biri olan TNF- α 'nın serum seviyelerinin anlamlı olarak yükseldiğı belirlendi.

Renal İ/R hasarı, glomerüler fonksiyon bozukluğuna ve tübüler hücre hasarına neden olmaktadır. Serum Üre ve Cr seviyelerinin yükselmesi hasarlı böbreklerde fonksiyon bozukluğunun en iyi göstergelerindendir ⁵¹. Çalışmamızda, İ/R grubunda serum Üre ve Cr değerlerinin Sham ve İ/R+GSPE grubundan belirgin olarak yüksek olması deneklerde böbrek fonksiyonlarının ileri derecede bozulduğunu ortaya koymaktadır.

Feilleux ve ark.²⁵ rat böbreğinde tübüler hasar sonrası AST artışı olduğunu, AST'nin karaciğere özgü olmayıp renal tübüllerde de oluşan hasarı gösteren nonspesifik bir enzim olduğunu göstermişlerdir. Avlan ve ark.⁵¹ ise AST'yi renal İ/R çalışmalarında, renal tübül hasarında artan bir enzim olarak, hasarın derecesini belirlemede kullanmışlardır. Bu

çalışmada da TNF- α ile birlikte AST de renal tübül hasarının göstergesi olarak kullanıldı. İ/R grubunda serum AST seviyelerinin diğer gruplara göre anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir.

Mark ve ark.⁵² ratlarda yaptıkları bir çalışmada renal iskemide MDA artışının, reperfüzyonla daha da arttığını göstermişlerdir. Reaktif oksijen radikalleri; iskemiyile hücrel hasar oluştuğu zaman, hücre membranındaki poliansatüre lipidlerin peroksidasyonu sonucu membrandaki geçirgenliği bozar. Aynı şekilde hücre içindeki mitokondri ve lizozomal membranlarında oksidatif hasar oluşup mitokondrial membranda onarımı olmayan fosforilasyon ve lizozomal membranda geçirgenlik artışına bağlı hidrolitik enzimlerle hücre yıkımı meydana getirir. Tübül hücrelerde aynı olaylar olurken, tübül transportta bozulur^{4,52}. 1980'li yıllardan beri oksidatif doku hasarının göstergesi olarak, serum ve doku MDA değerlerine bakılmakta olduğunu belirten Singh ve Chopra⁵³ ratlarda yaptıkları renal İ/R'de renal oksidatif doku hasarının göstergesi olarak doku MDA düzeylerine bakmışlardır. Bu çalışmada da doku hasarının göstergesi olarak renal doku MDA değerlerine bakılmış olup ve İ/R grubunda MDA değerlerinin diğer gruplara oranla belirgin olarak arttığı gösterilmiştir.

İ/R'ye bağlı reaktif oksijen radikallerinin verdiği doku hasarı sonrası; antioksidan enzim olarak salınan glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimler koruyucu görev üstlenirler. Glutatyon redüktaz (GR) peroksit radikallerini toplayan ve glutatyon peroksidaz reaksiyonunu takiben oluşan redükte glutatyonu, tekrar GSH (glutatyon)'ye çeviren bir enzimdir^{5,54}. Singh⁵³ yaptığı çalışmada, ratlarda renal İ/R hasarı sonrası GR seviyelerinin arttığını, ama İ/R yapılmayan ratlarda daha yüksek seviyede olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, İ/R hasarı sonrası renal dokuda GR ye bakılarak, İ/R+GSPE grubunda doku GR seviyelerinin İ/R grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır.

Renal transplantasyon, renal arter cerrahisi, renal tümör cerrahisi, parsiyel nefrektomi ve suprarenal aortik anevrizma tedavisinde değişik oranlarda renal İ/R hasarı olduğu bilinmektedir. Görüntüleme tekniklerinin de ilerlemesiyle, özellikle renal tümör cerrahisi ve diğer renal cerrahi prosedürlerde nefron koruyucu cerrahi popüler hale gelmiştir. Bu tür ameliyatlarda, özellikle 30 dakikadan uzun sıcak iskemilerde, hücrel hasarı en aza indirmek ve oksidatif hasara engel olmak için antioksidan ajanlardan faydalanmak gerekebilir^{20,55}. Üreteropelvik obstrüksiyon cerrahisi gibi elektif bir amelyatta; böreğin bası ya da elevasyona bağlı kısa süreli İ/R hasarına maruz kalması kaçınılmazdır. Sürenin 30 dakikadan fazla olması durumunda, ameliyat sonrası oluşan fonksiyon kaybı veya renal skar oluşumunda ameliyatta

oluşan İ/R hasarı da ihmal edilmemelidir. Böyle bir durumda ameliyat öncesi antioksidan ajan kullanma gerekliliği düşünülebilir. Cerrahi olmayan renal hastalıklarda nefron koruyucu ve olası oksidan hasardan korumak amacıyla mevcut medikal tedaviye ek olarak antioksidan ajan kullanılması da değerlendirmeye alınabilir.

Daha önce yapılan çalışmalarda GSPE'nin kardiovasküler hastalıklarda (iskemik kalp hastalığı, kardiomiopati, aterosklerozis, kojestif kalp yetmezliği ve aritmi) tedavi edici etkinliği gösterilmiştir⁵⁶. Sato ve ark.³³ bu çalışmalar ışığında, iskemik rat kalbinde çalışarak, GSPE'nin oluşan hasarı peroksil radikali toplayıcı etkisiyle azalttığını göstermişlerdir. Proantosiyandinlerin; serbest radikal toplayıcı etkisi, antioksidan aktivitesi ile vazodilatatör, antikarsinojenik, antiallerjik, antiinflamatuvar, antibakteriyel, immünoestimulan, antiviral etkileri olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Ayrıca; fosfolipaz A2, siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzim inhibitör özelliği olduğu da benzer çalışmalarda ortaya konulmuştur^{28,32}. Ancak; GSPE'nin, renal İ/R hasarında dokuyu koruyucu etkisi araştırılmamıştır. Bu çalışmamızda GSPE'nin oluşabilecek renal İ/R hasarını önleyici veya azaltıcı etkisini araştırdık. Bulguların değerlendirilmesinde; GSPE'nin histopatolojik olarak vasküler yapılarda dilatasyon ve konjesyonu belirgin azaltması, tübüler vakuolizasyonu minime düşürmesi, mononükleer hücre artışını yok denecek kadar az seviyeye indirmesi ve inflamasyonun şiddetini azaltması ile renal İ/R hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yapılan histopatolojik skorlamada da İ/R grubuna oranla İR+GSPE grubundaki düşük hasar skorlarının ortaya konması bunu desteklemiştir.

Yapılan deneysel renal İ/R'de, GSPE'nin serum Üre ve Cr değerlerini belirgin oranda düşürerek böbrek fonksiyonlarını koruduğu tespit edilmiştir. Ayrıca renal tübül hasarının serumdaki göstergesi olan AST seviyeleri, GSPE verilen grupta İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Serum TNF- α seviyeleri, İ/R sonrası oluşan inflamasyonun şiddetiyle beraber tübül hasarını da göstermektedir. TNF- α seviyeleri, İ/R öncesi GSPE verilen grupta yine İ/R grubundan önemli ölçüde düşük olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda, iske miyle hücre ve organellerinin membranlarında lipit peroksidasyonu sonucu oluşan ve reperfüzyonla daha da artan renal doku MDA seviyeleri GSPE verilen grupta İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu düşüşün diğer bir göstergesi de antioksidan aktiviteyi gösteren renal doku GR seviyeleri olmuştur. İ/R +GSPE grubunda antioksidan aktivite yani doku GR seviyeleri İ/R grubundan daha yüksekti.

İ/R hasarından etkilenen renal dokunun mümkün olduğu kadar korunması için en önemli etken organizmanın kendi antioksidan aktivitesi veya dışardan verilebilecek antioksidan ajandır. Bu amaçla kullanılacak antioksidanın farmakolojik ve kimyasal özellikleri de önemlidir. Daha önce de vurgulandığı gibi absorpsiyon ve vucuda uyumu, efektif dozu, kullanım kolaylığı ve toksisitesi, hücreler, dokular ve ekstraselüler dokuya dağılımı, serbest radikal toplama kabiliyeti, metalle şelasyon aktivitesi, gen ekspresyonu üzerine etkisi, hücresel antioksidanlar ve antioksidan enzimlerle etkileşimi, karsinogenik metabolitlerin detoksifikasyonu, antioksidan ajanda aranan özelliklerdendir³¹. GSPE'nin doz aralığının geniş olması ve toksisitesinin olmayışı, oral alınan son doz sonrası 7-10 gün süreyle belirli bir serum düzeyini devam ettirmesi ve en önemlisi, güçlü antioksidan özelliğiyle bir çok antioksidan arasında iddialı bir konuma gelmiştir^{28,31,42}.

Sonuç olarak; GSPE, renal İ/R hasarına yol açabilecek cerrahi girişimlerden önce kullanılarak, oluşabilecek oksidatif renal doku hasarı azaltılabilir ve renal fonksiyonun ileri derecede bozulması engellenebilir kanısındayız.

6. ÖZET

Çoğu organın iskemi reperfüzyon hasarını içeren bir çok hastalıktan reaktif oksijen radikalleri sorumludur. Antioksidanlar; serbest radikallerin potansiyel toplayıcısıdır ve oksidatif organ hasarını azaltır ya da engellerler. Çok sayıda sentetik ve doğal antioksidanın insanları hastalıktan korumada faydalı etkileri deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Antioksidanların kimyasal yapıları, biyolojik uyumları ve tedavideki antioksidan etkileri çok farklıdır. Yaygın olarak ulaşılabilinen, meyve, sebze, fındık ve meyve çekirdekleri içerisinde bulunabilen oligomerik proantosiyanidinlerin; serbest radikaller ve oksidatif strese karşı, geniş bir spektrumda, biyolojik, farmakolojik ve tedavi edici etkileri bir çok çalışmada rapor edilmiştir.

Bu çalışma; ratlarda renal iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarında, GSPE (grape seed proanthocyanidin extract:üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstresi)'nin etkisini araştırmak için yapıldı. Çalışmada, hayvanlar her biri 10'arlı rastgele 4 gruba ayrıldı. Laparotomi ve sağ nefrektomi sonrası, İ/R; sol renal pedikülün 45 dakika oklüzyonunu takiben 60 dakika reperfüzyonuyla yapıldı.

GSPE verilmesiyle, ratlarda renal İ/R hasarı belirgin azaldı. Oksidatif hasarda serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunun stabil metaboliti olan malondialdehid (MDA) seviyeleri; İ/R grubunda (153.60 ± 12.98 nmol/gr renal doku) İ/R+GSPE grubundan (112.75 ± 8.01 nmol/gr renal doku) belirgin olarak daha yüksekti. Renal fonksiyonu değerlendirmek için serum üre ve kreatinin konsantrasyonu ölçüldü. İ/R grubunda; renal fonksiyon renal morfoloji ve belirgin bir oksidatif renal hasar gösterildi. GSPE, glutatyon redüktazın (GR) antioksidan enzimatik aktivitesini belirgin artırdı. Bu çalışmada reperfüzyon hasarının belirteci olarak serum aspartoaminotransferazı (AST) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) kullandık. GSPE, serum AST ve TNF- α 'yı seviyelerini belirgin azalttı. GSPE tedavisi; serum biokimyasal parametreleri olan serum üre, kreatinin, AST ve TNF- α seviyelerini belirgin azalttı. Ayrıca; GSPE tedavisiyle renal doku hasarı, bariz bir şekilde azaltıldı. Bu sonuçlar, İ/R ile oluşan renal doku hasarına reaktif oksijen radikallerinin neden olduğunu ve GSPE'nin oksidatif renal hasara karşı koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: İskemi-reperfüzyon hasarı, böbrek, eksojen antioksidan, üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstresi.

7. SUMMARY

Reactive oxygen radicals are responsible in many disease conditions, including ischemia reperfusion injury of many organs. Antioxidants are potent scavengers of free radicals and reduce or prevent oxidative damage of organs. A large number of synthetic and natural antioxidants have been demonstrated with experimental study to induce beneficial effects on human health and disease prevention. The chemical structure, bioavailability, and therapeutic efficacy of the antioxidants differ extensively. Oligomeric proanthocyanidins, naturally occurring antioxidants widely available in fruits, vegetables, nuts, seeds have been reported in many studies to possess a broad spectrum of biological, pharmacological and therapeutic activities against free radicals and oxidative stress.

This study was designed to investigate the effects of GSPE (grape seed proanthocyanidin extract) on the renal I/R injury in rats. Animals were randomly divided into 4 groups, each consisting of 10 animals. After laparotomy and right nephrectomy, I/R was induced by occlusion of the left renal pedicle for 45 minutes, followed 60 minutes reperfusion.

The administration of GSPE significantly attenuated renal I/R injury in rats. Malondialdehyde (MDA) levels, a stable metabolite of the free-radical-mediated lipid peroxidation cascade, were found to be significantly higher in the I/R group (153.60 ± 12.98 nmol/gr renal tissue) than in the I/R+GSPE group (112.75 ± 8.01 nmol/gr renal tissue). Serum creatinine and blood urea nitrogen concentrations were measured for the evaluation of renal function. Severe deterioration of renal function, renal morphology and a significant renal oxidative stress were demonstrated in the I/R group. GSPE significantly increased the antioxidant enzymatic activity of glutathione reductase (GR). In this study, we have used serum aspartoaminotransferase (AST) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) as markers of reperfusion injury. GSPE significantly decreased levels of serum AST and TNF- α . GSPE treatment significantly reduced biochemical parameters, such as serum urea, AST, and TNF- α levels. Furthermore, renal tissue injury was markedly attenuated with GSPE treatment. These results suggest that reactive oxygen radicals play a causal role in I/R-induced renal tissue, and GSPE has a protective effect against oxidative renal damage.

Keywords: Ischemia reperfusion injury, kidney, exogen antioxidant, grape seed proanthocyanidin extract.

8. KAYNAKLAR

1. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Temel patoloji. Çevikbaş U (Çeviren) 5. Baskı. İstanbul: Nobel ve Yüce, 1995.
2. 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: 730-737.
3. Önal A, Astarçioğlu H, Örmən M, Atila K, Sarioğlu S. Sıçandaki renal iskemi reperfüzyon hasarında L-karnitinin koruyucu etkisi. Ulus Travma Derg 2004; 10(3) : 161 .
4. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. J Biochem 1984; 222:1-15.
5. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı Konya:Mimoza Yayınları. 1995:3-95.
6. Başaklar AC. Böbrek ve üreterin konjenital malformasyonları. İçinde:Bebek ve çocukların cerrahi ve ürolojik hastalıkları II.cilt, I.baskı:Palme Yayınları 2007;1205-1215.
7. Şimşek E. Böbrek anatomisi. İçinde:Anatomi Fizyoloji: Hacettepe T.A.Ş Kitapçılık LTD. ŞKT. 1996;109-112.
8. Guyton AC, Hall JE:The kidneys and body fluids. Textbook of Medical Physiology, WB Saunders Company, Philadelphia,1996:315-365.
9. Kabalin JN. The surgical anatomy of the retroperitoneum, kidney and ureter. Campels urology 2002:3-15.
10. Kelalis PP, King LR, Belman AB: Renal physiology and function: Clinical pediatric urology, W.B Saunders Company, Philadelphia, volume two, third edicion(25) 1992:1106-1117.
11. Chamoun F, Burne M, O' Donnel M., Rabb H: Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. Front. Biosci. 2000(5): 103-109.
12. Furuichi K, Wada K, Iwata Y, Kitagawa K, Kobayashi K, Hashimoto H et al. CCR2 Signaling Contributes to Ischemia-Reperfusion Injury in Kidney. JAm Soc Nephrol 2003;14:2503-2515.
13. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Hastalıkların patogenezi ve tedavisinde reaktif oksijen partikülleri ve antioksidanlar. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Association 1997; 3-4: 96-101.
14. Wall J. Antioxidants In Prevention Of Reperfusion Damage Of Vascular Endothelium. TSMJ May 2000;1:67-70.

15. Hamulu AR, Buket S, Alayunt A, Mutaf I, Durmaz İ, Özbaran M. Allopurinol ve deferoksaminin kardiyopulmoner bypass sırasında oksijen serbest radikali oluşumu üzerine etkileri. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi* 1994 ;2:95-100.
16. Armstrong D. Oxygen Consumption Methods. Free Radical and Antioxidant Protocols, Humana press, Totova, New Jersey, 1998:1-5.
17. Evans CAR, Diplock A.T, Symons M.C.R. Introduction to free radicals and Mechanisms of radical production .Techniques in free radical research volume 22, Elsevier, London, New York, Tokyo, 1991:1-49.
18. Kılıç R, Yaşar M.A, Avcıl, Demirel İ, Yaşar D. Alt Batın Cerrahisi Olgularında Genel Anesteziye Eklenen Epidural Anestezinin Plazma Sitokinleri Ve Kortizol Seviyelerine Etkisi. *Fırat Tıp Dergisi* 2005;10(2): 59-63.
19. Blackwell T.S, Chirstman JW. Sepsis and cytokines: current status. *British Journal of Anesthesia* 1996;77:110-117.
20. Derwesh IH, Novick AC. Mechanism of renal ischaemic injury and their clinical impact. *BJU International* 2005;95:948-950.
21. Cobb JP, Hotchkiss HS, Karl IE, Buchman TG. Mechanism of cell injury and death. *British Journal of Anesthesia* 1996;77:3-10.
22. Desborough JP. The stres response to trauma and surgery. *Br J Anaesth* 2000;85:109-117.
23. Hoffman JN, Vollmar B, Laschke MW, Fertmann JM, Jauch KW, Menger MD. Microcirculatory alterations in ischemia-reperfusion injury and sepsis of activated protein C and thrombin inhibition. *Critical Care* 2005;9 :33-37.
24. Noiri E, Gailit J, Sheth D. Cyclic RGD peptides ameliorate ischemic acute renal failure in rats. *Kidney Int* 1994; 46:1050-1058.
25. Feilleux-Duche S, Garlatti M, Aggerbeck M, Poyard M, Bouguet J, Hanoune J. Cell-specific regulation of cytosolic aspartate aminotransferase by glucocorticoids in the rat kidney. *AJP - Cell Physiology* 2003; 265:1298-1305.
26. Fine MA. Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: History, Structure, and Phytopharmaceutical Applications. *Altern Med Rev* 2000;5(2):144-151.
27. Leigh MJ. Health Benefits of Grape Seed Proanthocyanidin Extract (GSPE). *Nutrition Noteworthy* 2003; 6(1):1-5.
28. Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuzynski CA, Joshi SS, Pruess HG. Free radicals and grape seed and proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention . *Toxicology* 2000;128:187-197.

29. Bagchi D, Garg A, Krohn RL. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997;95:179-189.
30. Bagchi D, Garg A, Krohn RL. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *Gen Pharmacol* 1998;30:771-776.
31. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *Lab Clin Med* 1992; 99:598–620.
32. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganda G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med* 1996;20:933-956.
33. Sato M, Maulik G, Ray PS, Bagshi D, Das DK. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:1289–1297.
34. Bagchi D, Kuszynski, CA, Balmoori, J, Bagchi, M, Stohs SJ. Hydrogen peroxide-induced modulation of intracellular oxidized states in cultured macrophage J774.1 and neuroactive PC-12 cells, and protection by a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. *Phytother Res* 1998;12:568-571.
35. Ye X, Krohn RL, Liu W, Joshi SS, Kuszynski CA, McGinn TR, Bagchi M, Preuss HG, Stohs SJ. The cytotoxic effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells. *Mol Cell Biochem* 1999;196:99-108.
36. Ray SD, Patel D, Wong V, Rinkovsky A, Fu K, Bagchi D. Effect of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on acetaminophen-induced nephrotoxicity. *J Am Coll Nutr* 1998; 17:508.
37. Balu M, Sangeetha P, Murali G, Panneerselvam C. Modulatory role of grape seed extract on age-related oxidative DNA damage in central nervous system of rats. *Brain Research Bulletin* 2005;68:469-473.
38. Stefanescu M, Matache C, Onu A. Pycnogenol efficacy in the treatment of systemic lupus erythematosus patients. *Phytother Res* 2001;15:698-704.
39. Banerjee B, Bagchi D. Beneficial effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract in the treatment of chronic pancreatitis. *Digestion* 2001;63:203-206.

40. Preuss HG, Bagchi D, Bagchi M. Protective effects of a novel niacin-bound chromium complex and a grape seed proanthocyanidin extract on advancing age and various aspects of syndrome X. *Ann N Y Acad Sci* 2002;957:250-259.
41. Liu FJ, Zhang YX, Lau BH. Pycnogenol enhances immune and haemopoietic functions in senescence-accelerated mice. *Cell Mol Life Sci* 1998;54:1168-1172.
42. Nijveldt RJ. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001;74:418–25.
43. Putter M, Grotemeyer KH, Wurthwein G et al. Inhibition of smoking-induced platelet aggregation by aspirin and pycnogenol. *Thromb Res* 1999;95:155-161.
44. Chang WC, Hsu FL. Inhibition of platelet aggregation and arachidonate metabolism in platelets by procyanidins. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1989;38:181-188.
45. Woolfson RG, Millar CG, Neild GH. Ischaemia and reperfusion injury in the kidney: current status and future direction. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:1529-31.
46. Singbartl K, Ley K. Protection from ischemia-reperfusion induced severe acute renal failure by blocking E-selectin. *Crit Care Med* 2000 ; 28(7):2507-2514.
47. Ozcan AV, Sacar M, Aybek H, Bir F, Demir S, Onem G. The Effects of Iloprost and Vitamin C on Kidney as a Remote Organ After Ischemia/Reperfusion of Lower Extremities. *Jour of Surg Res* 2007;140:20–26.
48. 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;78:651-5.
49. Bonventre JV, Weinberg JM. Recent Advances in the Pathophysiology of Ischemic Acute Renal Failure. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2199–210
50. Meldrum KK, Meldrum DR, Meng X, Lihua AO, Harken AH. TNF- α dependent bilateral renal injury is induced by unilateral renal ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282: 540–546.
51. Avlan D, Tamer L, Ayaz L, Polat A, Öztürk C, Özturhan H. Effects of trapidil on renal ischemia-reperfusion injury. *Journal of Pediatric Surgery* 2006;41:1686– 1693.
52. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen Free Radicals in Ischemic Acute Renal Failure in the Rat. *J. Clin. Invest* 1984;1156-1164.
53. Singh D, Chopra K. Effect of trimetazidine on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Pharmacological Research* 2004;50 :623–629.

54. Senga S, Onituka A, Hirose H, Yamamoto K, Niwa K. Protective effect of liposomal encapsulated superoxide dismutase on ischemically injured liver in the rat. *Transplant Proc* 1990;22.
55. Deniz E, Colagoglu N, Sari A, Sonmez MF, Tugrul I, Oktar S. Melatonin attenuates renal ischemia–reperfusion injury in nitric oxide synthase inhibited rats. *Acta histochemica* 2006;108:303-309.
56. Das DK, Maulik. Protection against free radical injury in the heart and cardiac performance. In: Sen CK, Packer L and Hanninen O. *Exercise and Oxygen Toxicity*. Amsterdam 1995: Elsevier Science.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen tez danışmanım Prof.Dr.Engin Günel ,bölüm başkanımız Sayın Prof.Dr.Adnan Abasıyanık , Sayın Yrd.Doç.Dr.Müslim Yurtçu ve asistan arkadaşlarımla tüm hemşire ve personelimize teşekkür eder, her zaman manevi desteğini esirgemeyen eşim ve çocuklarıma da teşekkürü bir borç bilirim.

Uzmanlık tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç.Dr.Mehmet Aköz, Sayın Yrd.Doç.Dr.Hatice Toy ve SÜDAM çalışanlarına teşekkür ederim.

Dr.Mustafa Yaşar Özdamar