

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜŐÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA HEPATİK İSKEMİ/REPERFÜZYON KAYNAKLI
OKSİDATİF STRES HASARINA KARŞI
GALLİK ASİT'İN OLASI KORUYUCU ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gökhan BAYRAMOĞLU






DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Hülyam KURT

OCAK 2010

KABUL VE ONAY SAYFASI

Gökhan BAYRAMOĞLU'nun Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak hazırladığı "SIÇANLARDA HEPATİK İSKEMİ/REPERFÜZYON KAYNAKLI OKSİDATİF STRES HASARINA KARŞI GALLİK ASİT'İN OLASI KORUYUCU ETKİLERİ" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

	Tarih
Üye: Prof. Dr. Harun Veyssi Çoşar 	19.02.2010
Üye: Prof. Dr. İrfan DEĞİRMENCI 	19.02.2010
Üye: Yrd. Doç. Dr. Hülyan KURT (DANIŞMAN) 	19.02.2010
Üye: Yrd. Doç. Dr. Mediha Corbek 	19.02.2010
Üye: Yrd. Doç. Dr. M. Cengiz ÜSTÜNER 	19.02.2010

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 24/02/2010 tarih ve 819/3806 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Ferruh YÜCEL

ÖZET

Bu çalışma; sıçan karaciğerinde, iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarına karşı antioksidan özellikleri bilinen gallik asitin, olası koruyucu etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır

Çalışmada; 40 adet, 3-4 aylık, *Sprague-Dawley* cinsi, dişi sıçan kullanıldı. Eşit sayıda tutulan 5 gruptan 1. Gruba (kontrol) herhangi bir cerrahi işlem ya da madde uygulaması yapılmadı. 2. Gruba serum fizyolojik (2 ml/kg hacimde), 3. Gruba gallik asit 50 mg/kg dozu, 4. Gruba gallik asit 100 mg/kg dozu ve 5. Gruba gallik asit 200 mg/kg dozu, iskemi gerçekleştirilmeden 15 dakika önce, periton altına tek seferde uygulandı. Grup 2, 3, 4 ve 5 için iskemi süresi 45 dakika, reperfüzyon süresi ise 60 dakika olarak belirlendi. Deney; sonunda deney hayvanlarına ait kan serumunda Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat aminotransferaz (AST), Laktat dehidrogenaz (LDH) aktivitesi, karaciğer doku homojenatında Malondialdehid (MDA) düzeyi, Katalaz (KAT) ve Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesi tayin edildi. Histolojik incelemeler için rutin takip yöntemiyle hazırlanan kesitler Hematoksilen&Eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

Çalışma sonunda (I/R) hasarının, oluşan serbest radikallerin sonucu olarak lipit peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA düzeyini artırdığı, böylece oksidatif hasarın olduğu tespit edildi. Hasarın, gallik asit tarafından aktiviteleri artırılan KAT ve GPx tarafından düzeltilerek kontrol değere yaklaştığı görüldü. Burada 100 mg/kg gallik asit ve 200 mg/kg gallik asitin etki derecesi birbirine oldukça yakındı. Ancak 100 mg/kg gallik asitin daha etkili doz olduğu düşünüldü. Histolojik bulgularımızda diğer sonuçlarımızı destekler nitelikte bulundu.

Sonuç olarak; karaciğerde gallik asit uygulamasının, özellikle organ nakilleri sırasında uygulanan I/R olayları sonucu ortaya çıkabilecek, serbest radikal aracılı organ hasarını ve fonksiyon bozukluklarını önleme veya önemli ölçüde azaltma yönünde etkisi olabileceği düşünüldü.

Anahtar kelimeler: Gallik Asit, Karaciğer, İskemi/reperfüzyon, Serbest Radikal, Sıçan

SUMMARY

The aim of this present study was to investigate the possible protective effects of gallic acid with antioxidant properties against ischemia/ reperfusion (I/R) injury in rat liver.

Forty 3-4 months old female *Sprague - Dawley* rats were used in the study. The rats were assigned to the 5 groups in equal numbers. Group 1 (control) do not received any surgical application or injection. Group 2 received saline (2 ml/kg volume), Group 3 received gallic acid 50 mg/kg, Group 4 received gallic acid 100 mg/kg, Group 5 received gallic acid 200 mg/kg, and the four groups doses were administered 15 minutes prior to ischemia operation as a single dose (i.p). For group 2, 3, 4, and 5 animals were subjected to 45 minute ischemia and 60 min reperfusion. At the end of experimental period; blood and liver tissue samples were collected. ALT, AST and LDH activity in blood serum, MDA level, CAT and GPx activity in liver tissue homogenate were determined. For histological examines, slices were prepared by routine method and stained with H&E then examined under a light microscope.

At the end of the study, due to I/R a significant increase were determined in lipid peroxidation (MDA) level, so that oxidative damage occurred. Damages were improved to control value approach by CAT and GPx whose activities are increased by gallic acid. 100 mg / kg gallic acid and 200 mg / kg gallic acid degree of effects were very close to each other. However; 100 mg / kg gallic acid more effective dose was thought to be. Histological findings were in harmony with our other findings.

As a result, application of gallic acid in the liver, I/R event can be seen during especially organ transplantation that may arise free radical-mediated prevention of organ damage and dysfunction or significant reduction in the direction of influence appears were thought.

Key words: Gallic Acid, Liver, Ischemia/reperfusion, Free Radical, Rat.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Serbest Radikaller	4
2.1.1. Serbest Radikallerin Oluşması.....	4
2.1.2. Serbest Radikal Kaynakları	8
2.1.3.Serbest Radikallerin Etkileri.....	10
2.1.4. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Antioksidan Savunma.....	10
2.1.5. Antioksidan Moleküller	12
2.1.5.1. Doğal (Endojen) Antioksidanlar	12
2.1.5.2. Farmakolojik (eksojen) Antioksidanlar	16
2.1.6. Serbest Radikallere Bağlı Hastalıklar	19
2.2. Antioksidan Maddeler:	20
2.2.1. Flavonoidler	21
2.2.1.1. Flavonoidlerin Genel Özellikleri	23
2.2.2. Fenolikler	24
2.2.2.1. Gallik Asit.....	24
2.3. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı.....	26
2.3.1.Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı Oluşum Mekanizmaları.....	27
2.3.1.1. pH Paradoksu	27
2.3.1.2.Oksidatif Stres.....	28
2.3.1.3. Nitrik Oksit ve Endotelin.....	29
2.3.1.4. Sitokinler.....	29

2.3.1.5. Kemokinler	29
2.3.1.6. Lipid Mediyatörler	29
2.3.1.7. Hücresel Adezyon Molekülleri, Nötrofil Lökositler.....	29

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

2.3.1.8. Kupffer ve Sinuzoidal Endotel Hücreleri	30
2.3.2. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı ve Apoptoz	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Gereç.....	32
3.1.1. Deney Hayvanları	32
3.1.2. Kimyasal Maddeler.....	32
3.1.3. Aygıtlar	33
3.2. Yöntem.....	35
3.2.1. Deney Grupları ve Doz Miktarları	35
3.2.2. Cerrahi İşlemler	37
3.2.2.1. İskemi/Reperfüzyon işlemleri.....	37
3.2.3. Deney Hayvanlarından Çalışılacak Örneklerin Alınması.....	37
3.2.4. Serum Eldesi	38
3.2.5. Aspartat amino transferaz (AST).....	38
3.2.6. Alanin amino transferaz (ALT)	39
3.2.7. Laktat dehidrogenaz (LDH).....	40
3.2.8. Total Protein Ölçümü.....	40
3.2.9. Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü.....	41
3.2.10. Katalaz (KAT) Aktivitesi Ölçümü.....	44
3.2.11. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivitesi Ölçümü	47
3.2.12. Karaciğer Örneklerinden Histolojik Preparatların Hazırlanması.....	50
3.2.12. İstatistiksel Değerlendirmeler	53
4. BULGULAR.....	54
4.1. Serum Alanin Amino Transferaz (ALT) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme.....	54
4.2. Serum Aspartat Amino Transferaz (AST) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme.....	58

4.3.Serum Laktat Dehidrojenaz (LDH) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme.....	59
4.4. Karaciğere Homojenatına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	61

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

4.4.1.Karaciğer Homojenatında Malondialdehit (MDA) Düzeyine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	61
4.4.2.Karaciğer Homojenatında Katalaz (KAT) Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	63
4.4.3. Karaciğer Homojenatında Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	65
5. TARTIŞMA	73
5.1. Serum Enzim Aktivitelerine Etkileri	73
5.2. MDA düzeyi ile KAT ve GPx Enzim Aktivitelerine Etkileri.....	75
5.3. Karaciğer Histolojisi Üzerine Etkileri	77
6. SONUÇ	79
KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	90

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Reaktif oksijen partikülleri	8
Tablo 2.2. Serbest radikal kaynakları.....	9
Tablo 2.3. Hücrel serbest radikallerin etkilediği moleküller	10
Tablo 2.4. Bilinen doğal (endojen) antioksidanlar.....	17
Tablo 2.5. Bilinen farmakolojik (eksojen) antioksidanlar	18
Tablo 2.6. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu düşünölen bazı klinik durumlar	19
Tablo 4.1. Kontrol (Grup I) ve Grup II, III,IV,V gruplarına ait ALT, AST, LDH, MDA, KAT ve GPx düzeyleri ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi. ..	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Flavonoidlerin Basit Monomerik Yapısı.....	21
Şekil 2.2. Flavonoidlerin moleküler yapıları	23
Şekil 2.3. Gallik asitin kimyasal yapısı	25
Şekil 3.1. MDA standart eğrisi	44
Şekil 4.1. Serum Alanin amino transferaz (ALT) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.	57
Şekil 4.2. Serum Aspartat amino transferaz (AST) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.	59
Şekil 4.3. Serum Laktat dehidrojenaz (LDH) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.	61
Şekil 4.4. Karaciğer homojenatında Malondialdehit (MDA) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri	63
Şekil 4.5. Karaciğer homojenatında Katalaz (KAT) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri	65
Şekil 4.6. Karaciğer homojenatında Glutasyon Peroksidaz (GPx) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.	67
Şekil 4.7 Kontrol grubu (Grup I) hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena sentralis (V) ve çevresinde remark plaklarını oluşturan düzgün görümlü hepatositlerin görünümü.....	69
Şekil 4.8 İskemi/Reperfüzyon grubu (Grup II) hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena sentralis (V) ve çevresindeki hepatositlerde yaygın vakuolizasyon.....	69
Şekil 4.9 İskemi/Reperfüzyon grubu (Grup II) hayvanlarının karaciğer parankimi hepatositlerinde vakuolizasyon ve sinuzoidlerde yaygın hiperemi.....	70
Şekil 4.10.İskemi/Reperfüzyon grubu (Grup II) hayvanlarının karaciğer parankimi hepatositlerinde vakuolizasyonun ayrıntılı görünümü	70
Şekil 4.11.İskemi/Reperfüzyon + 50 mg/kg gallik asit grubu (Grup III) hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena sentralis (V) çevresinde vakuolizasyonu kısmen azalmış hepatositlerin görünümü.	71

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

- Şekil 4.12** İskemi/Reperfüzyon + 100 mg/kg gallik asit grubu (Grup IV) hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena sentralis (V) çevresinde düzgün görünümlü hepatositlerin görünümü. 71
- Şekil 4.13** İskemi/Reperfüzyon + 200 mg/kg gallik asit grubu (Grup V) hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena sentralis (V) çevresinde düzgün görünümlü hepatositlerin görünümü. 72

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
A	Absorbans
B	Blank
CBC	Cell Blood Count
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
Hb	Hemoglobin
H&E	Hematoksilen-Eosin
kg	Kilogram
NBT	Nitro blue tetrazolium
KAT	Katalaz
Std	Standart
TBA	Tiyobarbitürik asit
i.p	İntraperitoneal
KCl	Potasyum klorür
GPx	Glutasyon peroksidaz
SF	Serum fizyolojik
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
GSSG	Okside glutasyon
GSH	Redükte glutasyon

GR	Glutatyon redüktaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
ALT	Alanin amino transferaz
AST	Aspartat amino transferaz
ROP	Reaktif oksijen partikülleri
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
g	Gram
U	Ünite
mg	Miligram
dk	Dakika
SOD	Superoksit dismutaz
SH	Tiyol
NL	Nötrofil lökosit
SEH	Sinuzoidal endotel hücreler
MDA	Malondialdehit

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle (özellikle vasküler cerrahi işlemler ve organ transplantasyonu esnasında) yetersiz hale gelmesine veya durmasına **iskemi** (lokal anemi) denir. **Reperfüzyon** ise dokuya kan akımının yeniden gelmesidir (56).

İskemi sonucunda, dokunun oksijensiz kalması ile hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskeminin uzun sürmesi halinde, hücrelerin bütünlüğü kaybolabilir. Bu durum hücre ölümüne kadar da gidebilmektedir.

Karaciğerde hasara neden olan en önemli etkenlerden biri de **anoksidir**. İskemiye maruz kalmış dokularda meydana gelebilecek hasarlanma karaciğer için de geçerlidir. Birçok cerrahi girişimlerde olduğu gibi hepatik cerrahi uygulamalarda ve özellikle hepatektomide oluşturulacak iskemi (**Pringle**'nin manevrasında en az 60 dk.) sürecinin ciddi düzeylerde doku hasarlarına neden olduğu bildirilmiştir (9). Bu iskemi sürecinden sonra dokunun iyileşmesi için hemen sonrasında gelen reperfüzyon ise iskemi sırasında oluşan toksik ürünlerin sistemik dolaşıma geçmesinde önemli bir faktör olarak görülmektedir. Bu fizyolojik durum, organ hasarını daha da artırmaktadır (35). Ayrıca vücutta herhangi başka bir organın iskemi/reperfüzyonu (I/R) sonucu oluşan toksinlerin uzak doku ve organlara özellikle akciğer ile karaciğer üzerine olumsuz etkilerinin olduğu belirtilmektedir (35,72). I/R sonrası, doku hasarına sebep olan serbest oksijen radikallerinin (SOR) arttığını bildiren deneysel çalışmalar da mevcuttur (57, 68).

Bunların yanı sıra, reperfüzyon sırasında özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan SOR dokudaki yıkımı artırıcı etki yaparak reperfüzyona bağlı doku hasarı denilen olayları meydana getirir (67).

Organizmadaki serbest oksijen radikallerinin miktarları oldukça hassas bir dengededir (11, 66). Vücutta normal değerlerinden üst seviyeye çıktıklarında potansiyel

tehlike oluşturan serbest oksijen radikallerinin etkisiz forma dönüştürülmeleri, kararlı bileşikler olarak bulundurulmaları ya da dışarı atılmaları ve buna paralel olarak doku-organ hasarının önlenmesi vücudun kendi oluşturduğu **antioksidan sistemi** adı verilen bir savunma mekanizmasıyla sağlanabilmektedir (11,13). Vücuttaki serbest oksijen radikalleri ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması **oksidatif stres** olarak nitelendirilmiştir (47). Normal koşullarda bu dengenin sağlanmasında antioksidan moleküllerin serbest oksijen radikalleri ile bağlar kurarak, vücutta gerekli yapısal moleküllerin zarar görmesini engelleyerek oksidatif strese bağlı hasarları azalttığını gösteren araştırmalar vardır (66,72).

Serbest radikallerin zararlı etkileri, bazı maddeler tarafından azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır. Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde, antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve özellikli olarak çalışırlar. Antioksidan savunmada öncelikle etkili olanlar enzimatik antioksidanlardır. Bunlar superoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimlerdir (54).

Meyve ve sebze tüketiminin pek çok kanser türü ve kalp hastalıkları üzerinde iyileştirici etkisinin olduğu bilinmektedir (86). Bu besinlerde bulunan; C ve E vitamini, karotenoidler, antioksidan polifenoller ve antioksidan enzimlerin kofaktörleri olarak işlev gören iz elementler gibi antioksidan maddelerin serbest radikallerin tutulmasında anahtar bir rol oynadığı düşünülmektedir (5).

Günümüzde yapılan birçok çalışma, kalp, karaciğer, beyin, bağırsak ve böbreklerde I/R hasarının bazı antioksidanlar ile belli ölçülerde önlenebildiğini göstermektedir (41,75). I/R hasarını önlemek için bazı biyoflavonoidlerin de kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır (1). Birçoğu kuvvetli antioksidan özellik gösteren flavonoidler, bitkisel kaynaklı polifenolik bileşikler olup hayvanlar tarafından sentezlenememektedir. Şimdiye kadar yapılan birçok çalışmada flavonoidlerin serbest radikal tutucu özellikleri sayesinde antiallerjik, antikanserojen ve antiinflamatuvar etki göstererek insan sağlığı açısından yararlı olduğu vurgulanmıştır (69).

Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik komponentlerdir. En yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar flavonoidler, sinamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitlerdir. Bunların besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir (27).

Bitki kökenli antioksidanlar (örneğin; fenolik asit, kateşin, flavonoidler vs.) redoks özellikleri sayesinde serbest oksijen radikallerinin yakalanmasında ve etkisiz hale getirilmesinde önemli rol oynar (34). Antioksidan ve tıbbi özelliği oldukça iyi bilinen doğal bir bitki fenölü olan gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzenik asit) genellikle konjuge halde birçok bitkinin yapısında bulunur (1).

Bizde bu çalışmada; deneysel olarak sıçan karaciğerinde iskemi/reperfüzyonun (I/R) neden olduğu hasarın, bazı biyokimyasal parametreler ile histolojik yönden değerlendirilmesi ve antioksidan özellikleri bilinen gallik asit uygulamasının bu parametreler ile histolojik yapıda oluşabilecek değişikliklere karşı ne derecede koruyucu etkisi olduğunu araştırmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

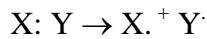
2.1. Serbest Radikaller

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir (4). Bunların elektron ve proton sayısı eşit olmadığından dayanıksız moleküllerdir. Radikaller tek elektronunu bir başka moleküle verebilir (redükler) ve bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon) (2).

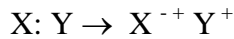
2.1.1. Serbest Radikallerin Oluşması

Atomlardaki elektronlar yörünge olarak bilinen boşluklarda hareket ederler. Her yörüngede birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron bulunur. Bir serbest radikal 3 yolla ortaya çıkabilir (2,4):

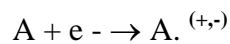
1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar (Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır).



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.



Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar (4).

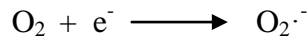
Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (4).

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki edererek yapılarının bozulmalarına neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen partikülleri (ROP), süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (HO^\cdot), nitrik oksit (NO^\cdot), peroksil radikali (ROO^\cdot), ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenlerinden birini oluştururlar (4).

En önemli serbest radikaller oksijen kaynaklı olup (2,60). Bunların bazılarını şöyle sıralayabiliriz:

1⁰- Süperoksit Radikali (O_2^-)

Süperoksit radikali hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir.

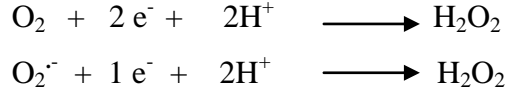


Süperoksit, başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine girebilen bir serbest radikal olmakla birlikte, kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (2,60).

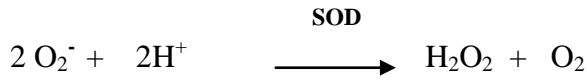
2⁰-Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit (H₂O₂), oksijen çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H⁺) ile birleşmesi sonucu meydana gelir.

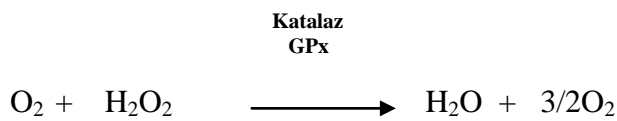
Peroksit molekülü, 2 hidrojen atomu ile birleşecek olursa hidrojen peroksit (H₂O₂) molekülü oluşur.



Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin (O₂⁻) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir, ya spontan gerçekleşir ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir (2, 24, 60).

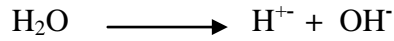


Radikal oluşumuna neden olduğu için, biyolojik sistemlerde oluşan H₂O₂'in derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan GPx ve katalaz katalizörlüğünde ki aynı reaksiyonla indirgenir (20).

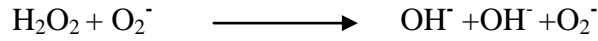


3⁰-Hidroksil Radikali (OH[·])

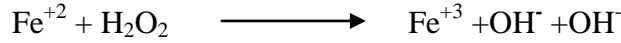
Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucu hidroksil radikali oluşur (2). Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali reaktif oksijen partiküllerinin en güçlüsüdür.



Yine süperoksit, Cu^{+2} gibi geçiş metalleri ve radikal türleri ile kolayca reaksiyona girerek H_2O_2 ile **Haber-Weiss** tepkimesi vererek oldukça toksik hidroksil radikalini oluşturur (24).



Ayrıca demir iyonu varlığında **Fenton** tepkimesi ile de oluşur (24, 59).



Singlet oksijen ortaklaşmış elektronu olmadığından radikal olmayıp serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olabilir (70).

Bu açıklamalara göre reaktif oksijen partikülleri Tablo 2,1.' de gösterildiği gibi radikaller ve radikal olmayanlar olarak iki grup altında toplanır.

Tablo 2.1. Reaktif oksijen partikülleri (21, 60).

1 - RADİKALLER:
Süperoksit radikal (O_2^-)
Hidroksil radikal (OH^-)
Alkoksil radikal (LO^-)
Peroksil radikal (LOO^-)
2 - RADİKAL OLMAYANLAR:
Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Lipid hidroperoksit ($LOOH$)
Hipoklorik asit ($HOCl$)

2.1.2. Serbest Radikal Kaynakları

Mitokondrilerdeki oksijenli solunumda olduğu gibi birçok anabolik ve katabolik işlemler sırasındaki reaksiyonlarda moleküler düzeyde elektron kaçışları olur ve bu sırada ROP oluşur. Tablo 2. 2'de Serbest radikallerin in vivo ortamda kaynakları görülmektedir (21).

Tablo 2.2. Serbest radikal kaynakları (21)

I- NORMAL BİYOLOJİK İŞLEMLER	<i>1- Oksijenli Solunum</i> <i>2- Katabolik ve anabolik işlemler</i>
II - OKSİDATİF STRES YAPICI DURUMLAR	<i>1- İskemi, hemoraji, travma, radyoaktivite, intoksikasyon</i> <i>2- Ksenobiotik maddelerin etkisi</i> <i>a) İnhale edilenler</i> <i>b) Alışkanlık yapan maddeler</i> <i>c) İlaçlar</i> <i>3- Oksidan enzimler</i> <i>a) Ksantin oksidaz</i> <i>b) İndolamin dioksigenaz</i> <i>c) Triptofan dioksigenaz</i> <i>d) Galaktoz oksidaz</i> <i>e) Siklooksigenaz</i> <i>f) Lipooksigenaz</i> <i>g) Monoamino oksidaz</i> <i>4- Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu</i> <i>5- Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma (nötrofil, monosit, makrofaj, eosinofil, endotelial hücreler)</i> <i>6- Uzun süreli metabolik hastalıklar</i> <i>7- Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara</i>
III - YAŞLANMA SÜRECİ	

İskemi, hemoraji, travma ve radyoaktivite gibi durumlarda mitokondrilerdeki aerobik oksidatif fosforilasyon dengesi etkilenir ve elektron taşıma sisteminden elektron kaçaqları daha fazla olur ve reaktif oksijen partikül düzeyi artar. ROP düzeyi, yaşlanma süreci ile paralel bir artış gösterir. Yaşlanma ile protein karboksilasyonunun artışı ve katalize edici tüm enzimlerin azalmasının bu dengesizlikte önemli rolleri vardır (21).

2.1.3.Serbest Radikallerin Etkileri

Hücrel serbest radikallerin etkilediği moleküller Tablo 2.3.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.3. Hücrel serbest radikallerin etkilediği moleküller (3).

ETKİLENEN BİLEŞİK	SONUÇLAR
Doymamış aminoasitler ve kükürt içeren aminoasitler	Protein denaturasyonu Çapraz bağlanma Enzim inhibasyonu Organ ve hücre geçirgenliğinde
Nükleik asit bazları	Hücre gelişiminde değişimler Mutasyon
Karbohidratlar	Hücre yüzey reseptörlerinde değişim
Doymamış lipitler	Kolesterol ve yağ asitlerinin oksidasyonu
Kofaktörler	Nikotinamid ve flavin içeren kofaktörlerin aktifliğinde azalma Askorbat ve porfirin oksidasyonu
Antioksidanlar	α -tokoferol ve β -karoten gibi antioksidanların aktifliğinin azalması
Proteinler	Denaturasyon Peptit zincirinde kırılmalar
DNA	Baz modifikasyonları Zincirde kırılmalar

2.1.4. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Antioksidan Savunma

İnsanoğlu hayatı boyunca, yaşamın beraberinde getirdiği stres gibi zorlukları aşmak, hastalıklardan korunmak için takviye kuvvetler almak durumundadır. Bu tür

koruyucu, engelleyici maddelerin son zamanlarda önemi gittikçe artmaktadır (4). Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere **antioksidan maddeler** ve bu olaya **antioksidan savunma** denir (21).

Memeli hücrelerinde oksidan ürünlere karşı korunma bazı prensipler içinde gerçekleşmektedir. Oksidanların organizmadaki düzeylerini arttırıcı etkenlerin ve risk faktörlerinin iyi belirlenmesi ve bunlardan uzak durulması ilk yapılması gereken girişim olmalıdır. İkinci girişim ise ROP ile tetiklenen biyokimyasal reaksiyonları bir ya da birkaç basamağında kırmaktır. Üçüncü mücadele yolu, oluşan mediyatörlerle aktive olan inflamatuvar hücrelerin lezyon yerine hücumunu ve orada aşırı birikimini önlemektir. Oksidan moleküllerle mücadelede üzerinde durulacak esas girişim ise belirli düzeyi aşmış oksidanlara direkt olarak etki edip onları inaktif hale getiren antioksidanlardır (21).

Antioksidan savunma elemanları hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdırlar. İnsanda belli başlı hücre içi antioksidanlar SOD, CAT ve GPx enzimleridir. SOD'un yapısında bakır, çinko ve manganez, GPx'de ise selenyum iyonu bulunduğundan bu enzimler metaloenzim olarak da adlandırılırlar. Hücre içi ortamın aksine hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, bilirubin, β -karoten ve α -1 antitripsin sorumludur (21, 33).

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

1-Toplayıcı (Scavenging) Etki

Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme **toplayıcı etki** dir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2- Bastırıcı (Quencher) Etki

Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme **bastırıcı** etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3- Onarıcı (Repair) Etki

Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması **onarıcı** etkidir.

4- Zincir Kırıcı (Chain Breaking) Etki

Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye **zincir kırıcı etki** denir. Hemoglobinin, seruloplazmin ve ağır mineraller zincir kırıcı etki gösterir (2, 60, 78).

2.1.5. Antioksidan Moleküller

Antioksidan moleküller **doğal** (endojen) (Tablo 2.4.) ve **farmakolojik** (eksojen) (Tablo 2.5.) kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirilirler.

Hücre dışı savunma, albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler SOD, Glutasyon-S-transferaz, GPx, GR, KAT ve Sitokrom oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir (4).

2.1.5.1. Doğal (Endojen) Antioksidanlar

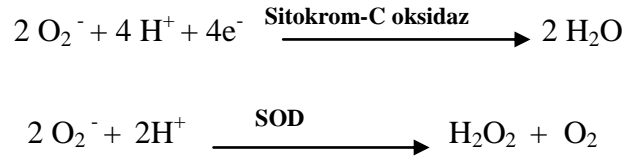
Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki gruba ayrılabilir (Tablo 2.4.) (59).

1- Enzimatik Antioksidanlar

Vücutta çok önemli görevleri olan birkaç tip enzimatik antioksidan mekanizma mevcuttur (Çizelge 2.4.) bunlar;

a- Süperoksit Dismütaz [(SOD), (süperoksit oksidoredüktaz, EC 1.15.1.1)]

Süperoksit dismutaz süperoksit serbest radikalinin (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir (4, 21, 22, 26).



Yukarıdaki denklemde görüldüğü gibi 2 süperoksit, 4 hidrojen ve 4 elektron ile birleşip 2 molekül suya veya 2 hidrojen ile birleşip daha zayıf bir oksidan olan hidrojen peroksite dönüştürülür. Bu reaksiyonda SOD ve sitokrom-C oksidaz enzimleri katalizördür. Normal koşullarda mitokondrilerde bulunan sitokrom sistemi, hücre içi sitoplazmik yapıları sürekli olarak oksidanların zararlı etkilerinden korur. Bunun yetersiz kaldığı durumlarda SOD ve diğer doğal enzimler devreye girer. Böylece SOD ve diğer enzimler, organizmada oksidatif stresin arttığı durumlarda aktivitelerini artırarak koruyucu etkinliklerini sürdürürler (17, 51, 59,60).

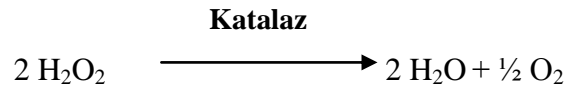
Ökaryotik hücrelerde süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır:

1° – Cu/Zn-SOD: Sitozolde bulunur. Bakır ve çinko içerir, dimerik yapıdadır. Çinkonun dayanıklılığı sağladığı ve bakırın ise aktiviteden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Genelde hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu/Zn-SOD'dur. 21. kromozomda konumlanmıştır. Genellikle radikal hasarın önlenmesinde kullanılır. Cu/Zn-SOD siyanür ile inhibe edilir.

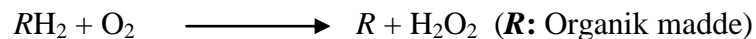
2°- Mn-SOD: Mitokondride bulunan tetramerik Mn ihtiva eden izomerdir. Mitokondriyal Mn-SOD siyanürle inhibe olmaz. Cu/Zn-SOD ve Mn-SOD'un her ikisinin de katalizlediği reaksiyon aynıdır. Bunlara ek olarak *Esherichia coli*'de periplazmik aralıkta yer alan Fe-SOD'da tanımlanmıştır (10, 59, 60).

b- Katalaz (H₂O₂: H₂O₂ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6)

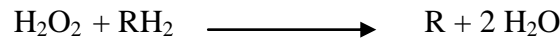
Katalaz (H₂O₂: H₂O₂ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda, daha az olarak sitozolde ve mikrozomal kısımda bulunur. Katalazın görevi hidrojen peroksidi (H₂O₂) suya ve oksijene parçalar.



Peroksizomlar, özel organik maddelerden hidrojen atomlarını uzaklaştırmak için moleküler oksijeni kullanan bazı enzimler (D-aminoasit oksidaz, ürat oksidaz, katalaz) ihtiva ederler. Bu reaksiyonlardan birisi hidrojen peroksit (H₂O₂) oluşumunu sağlamaktadır.



Katalaz enzimi de metabolizma sırasında glukoz molekülünün glukoz oksidaz enzimi tarafından glukuronik asite okside edilirken oluşan H₂O₂'i kullanarak fenol, formaldehit, alkol gibi organik bileşikleri oksitler:



Katalazın indirgeyici aktivitesi, hidrojen peroksit, metil ve etil hidroperoksitler gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine ise etki etmez (10, 32, 59).

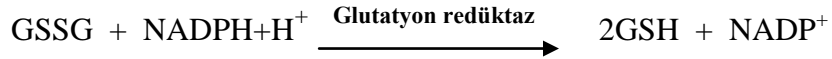
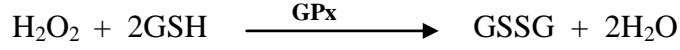
c- Glutasyon Peroksidaz (GPx (GSH-Px): Glutasyon: H₂O₂ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9)

GPx sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. GPx (Glutasyon: H₂O₂ oksidoredüktaz), hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir (21,22).

GSH (Glutasyon) bağımlı enzimler tiyol (SH) grubu içerirler. SH grupları reaktif oksijen partiküllerinin kötü etkilerine karşı korumada gereklidirler. Ayrıca SH grubu çoğu protein fonksiyonu için gereklidir. Örneğin Ca⁺²-ATPaz'lar önemli bir tiyol grubu içerir. Bu tiyol grubunun bozulması hücre içi Ca⁺² seviyesinin artmasına neden olarak hücreyi nekroza götürür. Proteinlerin -SH gruplarının korunmasında indirgenmiş GSH'ın yüksek derişimleri gereklidir. Genellikle antioksidan olarak kabul edilen GSH belirli şartlar altında prooksidan aktiviteye sahip olabilir (10).

Hidrojen peroksit (H₂O₂) ve lipid hidroperoksitlerin (LOOH) yıkılımını katalizleyerek membran lipitlerini ve hemoglobini oksidatif stese karşı koruyan

glutasyon peroksidaz, bu etkisini glutasyonun yükseltgenmesi ile gerçekleştirir. Bir tripeptid olan GSH'nin (γ -Glu-Cys-Gly) normal koşullarda %98,9 kadarı indirgenmiş GSH, %0,2 kadarı ise yükseltgenmiş GSSG şeklinde bulunur.



GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (2, 10, 17,59).

2- Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Oksidatif stres faktörlerinin giderilerek fizyolojik işlevlerin devamında önemli olan bu gruba ait endojen antioksidanlar ve özellikleri Tablo 2.4.'de gösterilmiştir (8).

2.1.5.2. Farmakolojik (eksojen) Antioksidanlar

Akut fiziksel aktiviteler ve gebelik gibi fizyolojik durumlar ile pek çok patolojik durumda antioksidan kapasite aşılabilmekte ve antioksidan savunma sistemi yetersiz kalmaktadır. Bu gibi durumlara karşı eksojen antioksidan maddelerin alınımı gerekli olur (Tablo 2.5) (8).

Tablo 2.4. Bilinen doğal (endojen) antioksidanlar (8).

Antioksidanlar	Yapısı	Yerleşimi	İşlevi
Sitokrom oksidaz	Tetramerik protein	Plazma	Süperoksit nötralizamı
SOD	CuZn, Mn SOD	Mitokondri, serum	Süperoksiti H ₂ O ₂ 'ye çevirir.
Katalaz	Hemoprotein	Peroksizomlar	Peroksit nötralizamı
GPx	Selonoprotein	Sitosol, mitokondri	Lipit peroksidasyon ürünlerini indirger
GSH-redüktaz	Dimerik protein	Sitosol, mitokondri	Disülfidleri indirger
α -tokoferol	Yağda çözünen vitamin.	Membranlar, ekstrasellüler ortam	Peroksidasyonu azaltır
β -karoten	Vit-A prekürsörü	Hücre membranları	Peroksil temizleyicisi
Glutatyon	Tripeptit	İntrasellüler ortam, alveoller	GSH redoks substratı
Ürik asit	Okside pürin bazı	Geniş bir dağılım gösterir	Hidroksil toplar, Vit C'yi korur
Sistein	Aminoasit	Geniş bir dağılım gösterir	Organik bileşikleri indirger
Albumin	Protein	Plazma, serum	Serbest radikal giderici
Bilirubin	Hemoprotein ürün	Dolaşım kanı, dokular	Zincir kırıcı antioksidan
Seruloplazmin	Protein	Dolaşım kanı, dokular	Süperoksiti H ₂ O ₂ 'ye çevirir
Transferrin	Glikoprotein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Laktoferrin	Protein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Ferritin	Glikoprotein	Dolaşım kanı, dokular	Doku demiri bağlayıcısı
Askorbik asit	Suda çöz. vitamin	Hücre içi ve dışı sıvıları	Vit E'yi rejenere eder

Tablo 2.5. Bilinen farmakolojik (eksojen) antioksidanlar (8).

Antioksidan Sınıfı	Spesifik tipi	İşlevi
Ksantin oksidaz İnhibitörleri	Allopurinol	Ksantin oksidaz reak. Süperoksit üretimini inhibe eder
	Oksipurinol	“
	Pterin aldehit	“
	Tungsten	“
Proteaz İnhibitörleri	Soya tripsin inhibitör	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
	Serin proteaz inhibitör	“
	Fenilmetilsülfonil	“
NADPH oksidaz inhibitörleri	Adenozin	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit inhibisyonu
	Lokal anestezikler	“
	Kalsiyum kanal blokerleri	“
	Nonsteroid antienflammatuar	“
Süperoksit Dismütaz	Cetiedil	“
	Doğal SOD	Süperoksitten hidrojen peroksit dismütasyonunu katalizler
	IgA bağımlı SOD	“
	Polietilen glikol SOD	“
Katalazlar	Ginko Biloba (Egb 761)	SOD ile benzer fonksiyon
	Doğal katalaz	H ₂ O ₂ 'nin oksijen ve suya indirgenmesi
	Polietilen glikol Katalaz	“
Nonenzimatik toplayıcılar	Lipozom kapsüllü katalaz	“
	Mannitol	Hidroksil radikal giderici
	Albumin	Geniş çaplı oksidan toplayıcı
	Dimetil sülfoksit	Fe, Süperoksit ve hidroksil toplayıcı
	17-aminosteroid lazoroitler	H ₂ O ₂ ve hidroksil giderici
	Glutatyon	Süperoksit giderici
	Ürik asit	Süperoksit ve hidroksil giderici
	Spin tuzakları	Tüm radikalleri toplar
Demir redoks zinciri inhibitör	Bilirubin	Peroksidasyon zincirini bozar
	Desferoksamin	Serbest Fe ⁺³ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler.
	Apotransferrin	“
Endojen savunma artırıcı ajan	Seruloplazmin	“
	Antinötrofil serumu	Hücrel glutatyon peroksidaz enzim aktivitesini artırır
	Monoklonal antibodiler	Nötrofillerin endotele adezyonunu inhibe eder
	Platelet aktive edici faktör	Nötrofillerin adezyonunu inhibe eder

2.1.6. Serbest Radikallere Bağlı Hastalıklar

Serbest radikaller vücudun hastalıklara karşı direncini, vücudu saran organizmaları yok ederek artırır. Ancak fazla üretildiği zaman vücutta bazı yerlerde hasara neden olarak hastalıklara yol açar o nedenle serbest radikal nedenli hastalıklarda giderek bir artış olmaktadır (Tablo 2.6.) (8).

Tablo 2.6. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu düşünülen bazı klinik durumlar (8).

Olgu Grubu	Olgu Adı
Yaşlanma	Prematür yaşlanma hastalıkları
İyonize edici radyasyon	Nükleer patlamalar Radyoterapi seansları Hipoksik hücre aktivatörleri Solar radyasyon hasarı
Alkolizm	Alkol indüksiyonuna ilişkin aşırı demir yüklenmesi Alkolik miyopati
Kan elemanları patolojileri	Fenilhidrazin primakin vb. ilaç toksikasyonları Kurşun zehirlenmesi, favizm Protoporfirin fotooksidasyonu Malarya, Orak hücre anemisi, Fanconi anemisi
İnflamatuvar-immun hasar	İdiyopatik ve membranöz glomerulonefrit Vaskülüt, hepatit (B) Otoimmün hastalıklar, romatoid artrit
İskemi-reperfüzyon hasarı	Felç, miyokard enfarktüsü, aritmiler Transplantasyonlar, donma
Akciğer patolojileri	Sigara ve organik yanık dumanı inhalasyonu Amfizem, bronkopulmoner displazi Fotokimyasal kirler, Oksidan kirleticiler(O ₃ , NO ₂) Asbestoz karsinojenitesi
Kardiyovasküler patolojiler	Ateroskleroz Adriyamin toksisitesi Keshan hastalığı

Ürogenital patolojiler	Otoimmün nefrotik olgular ve metal nefrotoksitesisi
Sinir sistemi bozuklukları	Hiperbarik oksijen, nörotoksinler, Vit. E yetmezliği Alzheimer, Parkinson, steroid lipofusinozis Allerjik ensefalomyelit ve demiyelizan hastalıklar Multipl skleroz, musküler distrofi
Gastrointestinal patolojiler	Endotoksik karaciğer hasarı Diabetes mellitus, pankreatit Oral demir zehirlenmesi Ülserler, Gastrointestinal kanserler, inflammatuar barsak hastalıkları
Diğer patolojiler	Sistemik kanserler, malnütrisyonlar, Kontakt dermatit, porfiria, termal haraplanma Katarakt, oküler kanamalar, retrolental fibroplazi Multipl kan transfüzyonları gerektiren anemiler

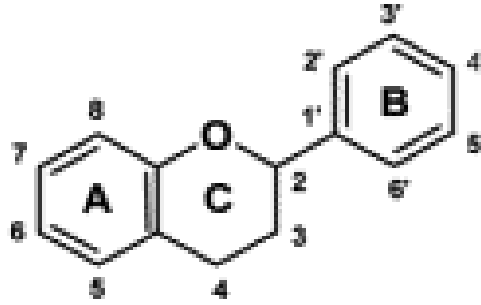
2.2. Antioksidan Maddeler:

Çoğunlukla polifenolik yapıda olan antioksidan maddeler neredeyse tüm bitkilerde, meyvelerde, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hayvansal dokularda bulunmaktadır. Bu antioksidan maddelerin en önemlileri; tokoferoller, flavonoidler, karotenoidler ve askorbik asit dir. Bitkilere renklerini veren de büyük ölçüde bu polifenolik yapıli flavonoidlerdir (2, 85).

Antioksidanların insan sağlığındaki başlıca etkisi serbest radikal süpürücü ve zincir kırıcı mekanizmalarla ortaya çıkar. Oksijen canlı sistemler için oldukça güçlü bir toksik maddedir. Zira, metabolik işlemler esnasında çok daha reaktif şekilleri olan süperoksit, hidrojen peroksit, tekli (singlet) oksijen ve hidroksil radikallerine çevrilebilir. Bu şekillerin tümüne kısaca **aktif oksijen** denir. Antioksidanlar hidrojen atomu vericisi olarak etki gösterirler ve zincir oluşturan radikalleri daha az reaktif türlere döndürürler. Bu şekilde oluşan antioksidan radikali, oksijen atomu ile aromatik halka üzerindeki çiftleşmemiş elektronun yer değiştirmesiyle stabilize olur. Bu nedenle; antioksidan moleküller yapılarında genellikle fenolik fonksiyon taşırlar (11).

2.2.1. Flavonoidler

Serbest radikaller ve antioksidan denge insan sağlığı açısından büyük öneme sahiptir. Dışarıdan besinlerle çeşitli antioksidanlar alınmakta olup bunların başlıcaları antioksidan vitaminler ve flavonoidler adı verilen bileşiklerdir. Son yıllarda çok sayıda önemli antioksidan flavonoid keşfedilmiş ve kaynakları incelenmiştir (Şekil 2.1.), (11). Flavonoidlerin antiinflamatuvar, antimutajenik ve antiallerjik özellikleri de ortaya konmuştur (52). Flavonoidlerin en önemli kaynağı da başta çay olmak üzere baharatlar ve çeşitli meyve ve sebzelerdir (11).

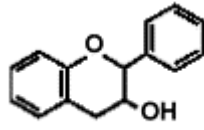


Şekil 2.1. Flavonoidlerin Basit Monomerik Yapısı (91).

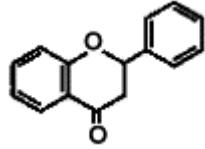
Genel olarak flavonoidler kimyasal yapılarından dolayı fenolikler (Bir hidroksil grubunu içeren aromatik bir halkaya sahip geniş bir madde gurubuna fenolik bileşikler denilmektedir) veya polifenoller olarak sınıflandırılırlar (Şekil 2.2), (7).

Bitkilere renklerini veren de büyük ölçüde polifenolik yapılı flavonoidlerdir ve 4000 civarında flavonoid bileşiğinin kimyasal yapısı aydınlatılmıştır (2). Flavonoidler 3 malonil-CoA grubu ile sinnamik asitin kondansasyonundan türeyen, bitkilerin ikincil metabolitlerinin bir sınıfı olarak tanımlanabilir. Flavonoidler Şekil 2. 2 'de gösterildiği gibi C halkasındaki değişimlere göre altı ana alt gruba ayrılabilir (7, 90):

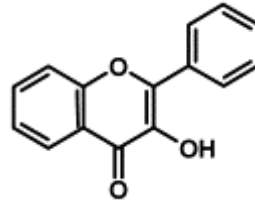
1. Flavanol
2. Flavonon
3. Flavonol
4. Flavon
5. İsoflavonoid
6. Antosiyanidinler şeklinde gruplara ayrılırlar.



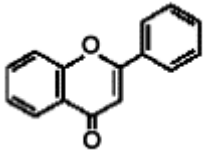
Flavanol



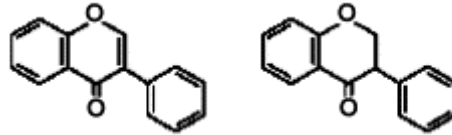
Flavonon



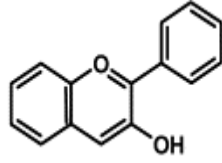
Flavonol



Flavon



İsoflavonoid

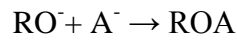
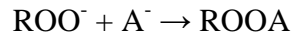
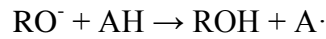
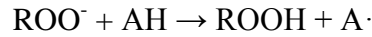


Antosiyanidin

Şekil 2.2. Flavonoidlerin moleküler yapıları (7).

2.2.1.1. Flavonoidlerin Genel Özellikleri

Flavonoidler, glikozitler gibi canlı hücrelerde ortaya çıkarlar, sıcak asit ve enzimlerle sırasıyla aglikon ve şekere parçalanabilirler (2). Fenolik antioksidan, lipid radikallere, hızla H^+ vermesi şeklinde lipid oksidasyonu ile etkileşir. Görevi lipid peroksi (ROO^\cdot) ve alkoksil (RO^\cdot) radikalini parçalamak ve böylece lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu sonlandırmaktır.



Sonuçta oluşan fenoksi radikali yeni bir serbest radikal oluşumunu başlatmamalı veya zincir reaksiyonu ile hızlı bir oksidasyona maruz kalmamalıdır. Bu yönden fenolik antioksidanlar mükemmel H^+ ve e^- donörleridir. Oluşan fenoksi radikali aromatik halka etrafında çiftlenmemiş elektronların lokalizasyon değişiklikleri ile dengelenir. Bir fenolün orto veya para pozisyonundaki 2. OH grubu onun antioksidan aktivitesini artırır. 1-2 dihidroksibenzen türevlerinin etkinliği fenoksi radikalinin molekül içi hidrojen bağ dengesi ile artırılır (19).

2.2.2. Fenolikler

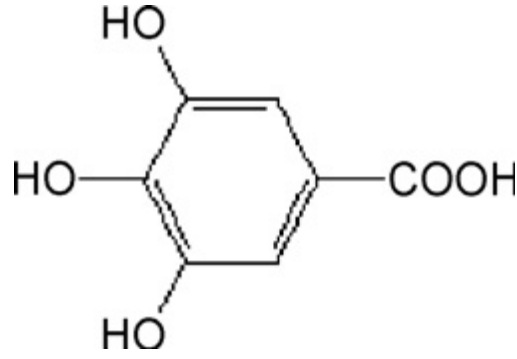
Doğal antioksidanların en önemli gruplarını fenolik maddeler oluştururlar. Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik komponentlerdir. Bunların besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir (77,79).

Fenoliklerin kökü karbohidratlardır. Fosfenol piruvik asit, glikolitik yolla D-eritros fosfat ile birleşerek pentos fosfat yolu ile 5-dehidroquinik asite dönüşür. Bunu klorojenik asit vasıtasıyla sağlar. 5- dehidroquinik asit, 5-dehidroşikimik asit şekline dönüşürken **protokateşuik asit** ve **gallik asit** oluşur.

2.2.2.1. Gallik Asit

Doğal bir fenolik antioksidan olan gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit) (Şekil 2.3) bitkilerde şikimik asit yolu ile üretilen biyolojik olarak aktif bir bileşiktir (62). En önemli uygulama alanlarından biri farmasotik sanayinde sülfonamidlerle beraber kullanılan antibakteriyel bir ajan olan trimetoprim üretiminde kullanılmaktadır. Bunun yanında antioksidan bir ajan olarak kullanılan propil gallat gibi gallik asit esterlerinin üretiminde, deri, kozmetik ve fotoğraf boyalarında kullanılan pirogallol bileşiklerinin oluşturulmasında kullanılmaktadır (67).

Gallik asit ayrıca ülkemizde pek tüketilmeyen ancak diğer ülkelerde oldukça rağbet gören içime hazır çayların, kahvelerin aromalarının artırılmasında ve şarap üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (67).



Şekil 2.3. Gallik asitin kimyasal yapısı (62).

Scheele 1786 yılında meşe palamudunda gallik asit varlığını göstermiştir. Robiquet ise meşe palamudunun fermente edilebileceğini bildirmiştir. Laroque adlı araştırmacı tanenden mayalanma ya da oksidasyon yolu ile gallik asit üretimini araştırmış ancak fermantasyonun meşe palamudundan salınan pektaz enzimi ile olduğunu ileri sürmüştür. Wittstein ise bira mayasının şeker ve diğer bileşiklerle tanen fermentasyonu yaptığını ileri sürmüştür. Ancak ilk kez Van Tieghem gallik asit oluşumunda mayalanma süresince küflerin etki ettiğini belirtmiştir. Yaptığı deneyler sonunda kullandığı küflerin *Penicillium glaucum* ve yeni isimlendirilmiş olan *Aspergillus niger* olduğunu belirtmiştir. Eğer mayalanma derin kültür metodu ile gerçekleşirse tannik asitin gallik asit ve şekerle dönüşeceğini şekerin kullanılarak ortamda geriye gallik asitin kalacağını ileri sürmüştür. Katı yüzey mayalanmasında ise hidrolizin daha yavaş olduğunu ve şekerinde ortamda kalacağını belirtmiştir. Fernbach bugün hala kullanılan raulin çözeltilisinde bulunan şekerin yerine tannik asit koymuş ve mikroorganizmaların bu değişiklikten sonra tannaz ürettiğini bildirmiştir (67).

Gallik asit, genellikle çay, yeşil çay, üzüm, patlıcan, kuşkonmaz, brokoli ve meyvelerin yapısında bol miktarda bulunur (39). Yaygın olarak gıda, ilaç ve kozmetik sanayinde lipid peroksidasyon sonucu oluşan bayatlamayı engellemek için kullanılır (62). Gallik asitin antikarsinojenik, antioksidatif, antimutajenik, antialerjik ve antiinflamatuvar etkileri vardır (91).

Tang ve arkadaşları sıçanlarda CCl₄ 'ün sebep olduğu kronik karaciğer hasarına karşı gallik asitin koruyucunu etkisini araştırmışlar ve güçlü bir koruyucu olduğunu bildirmişlerdir (75). Feique ve arkadaşları da sıçanlarda sarızambak bitkisinden ekstrakte edilen gallik asitin sıçan karaciğerinde ve kanında lipid peroksidasyonunu azalttığını bildirmişlerdir (28). Bunun yanı sıra, Jadon ve arkadaşları ise albino sıçanlarda CCl₄ 'ün sebep olduğu karaciğer ve böbrek hasarına karşı gallik asitin koruyucunu etkisini araştırmışlar ve oldukça etkili bir koruyucu olduğunu bildirmişlerdir (36).

2.3. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı

İskemi, hücre enerji düzeyinin düşmesine ve toksik metabolitlerin dokuda birikimine yol açarak, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve sonrasında hücre ölümüne kadar gidebilen bir dizi biyokimyasal reaksiyonu başlatır. İskemi reperfüzyon (I/R) hasarı, hipoksiye maruz kalan organın tekrar oksijenlenmesi ardından ortaya çıkan hücresel zedelenmedir. Karaciğerde ilk kez 1975'de Toledo ve arkadaşlarının deneysel olarak gerçekleştirdikleri karaciğer naklinde gözlenmiştir. Transplante edilmiş karaciğerde konjesyon, ilerleyici tromboz, organ yetmezliği ile sonuçlanan greft nekrozu gelişmiştir. Ayrıca dissemine intravasküler koagülasyon, cerrahi olmaksızın hemodinamik veya kardiyojenik şok sırasında da görülmektedir. I/R hasarı karaciğer rezeksiyonu ya da nakli sonrasında görülen fonksiyon kaybı ya da fonksiyonun bozulmasının başlıca nedenidir (14).

Karaciğere gelen kanın %70–80 portal venden, geri kalan kısmı ise hepatik arterden gelmektedir (14,40). İkili kan desteği ve glikojen depolarının yüksek anaerobik metabolizma kapasitesine rağmen karaciğerde hipoksik hasarlanma meydana gelebilmektedir. Porta hepatisin çapraz klemplenmesi ile hepatik arter ve portal venin oklüzyonu *Pringle manevrası* olarak adlandırılır. Bu manevra, karaciğerin geniş yaralanmalarında yapılan onarımlarda, karaciğer nakli ve hepatik rezeksiyon sırasında kanama kontrolü için yararlı bir girişimdir. Ancak klempleme süresi uzun tutulduğunda karaciğer I/R hasarına neden olabilir (14,43).

Sıcak I/R hasarında iki evre söz konusudur. Başlangıç evresi (reperfüzyon ardından iki saatten daha kısa süre içerisinde gözlenen) oksidan stresle karakterizedir. ROP üretimi ve salınımı doğrudan hepatositlerde hasarlanmaya neden olur. Geç evre ise hepatik reperfüzyondan 6–48 saat sonraki dönemdir. İnflamatuvar yanıt toplanan santral nötrofil lökosit (NL) aracılığıyla gerçekleşir (14,49).

İskemi/reperfüzyon patofizyolojisinde birçok mekanizma rol oynar. Erken dönemde endotel hücre şişmesi, vazokonstriksiyon, NL birikimi, sinuzoidlerde platelet agregasyonu olur ve mikrodolaşım bozulur. İntraselüler ödem nedeniyle, sinuzoidal endotel hücreler (SEH) ve Kupffer hücresinde şişme meydana gelir. (14,43).

Vazokonstriksiyon, nitrik oksit (NO) ve endotelin (ET) dengesindeki bozulma sonucu ortaya çıkar. Sinuzoidal lümen daralır, bunu takiben NL'nin dolaşım hızı yavaşlar. NL endotel temas süreci artar ve böylece lökostazis gerçekleşir. Bu durumda sinuzoidal ağ dolaşımı engellenir. Bu durum hipoksiyi uzatır. Ardından Kupffer hücreleri ve NL'ler aktive olur, inflamatuvar sitokinler ve oksijen kökenli serbest radikaller ortaya çıkar ve hepatik hasar daha da şiddetlenir (14).

2.3.1.Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı Oluşum Mekanizmaları

2.3.1.1. pH paradoksu

İskemi sırasında, anaerobik glikoliz ve adenozin trifosfat (ATP) hidrolizi nedeniyle pH düşer. Bu oluşan metabolik asidoz hepatositlerde nekrotik hücre ölümünün başlamasına karşı koruyucu işlev görür. Ancak iskemik hücrelerde reperfüzyonla birlikte pH'nın normale dönmesi latent pH bağımlı proteazları ve fosfolipazları aktive ederek hücre ölümüne neden olur. Bu durum **pH paradoksu** olarak adlandırılır. İskemik hücreler asidotik pH'da reperfüze edildiklerinde hücre

ölümü durmaktadır. Benzer biçimde reperfüzyondan sonra intrasellüler pH artımı durdurulduğunda I/R hasarına bağlı hepatoselüler nekroz engellenmektedir (14).

2.3.1.2.Oksidatif Stres

Reaktif oksijen partiküllerinin normal hücre fonksiyonları sonucunda endojen olarak ortaya çıkan moleküllerdir. Normal koşullar altında, moleküler oksijenin büyük bir kısmı hücre içi sitokrom oksidaz sistemi ile dört değerlikli indirgenmeye uğrayarak suya dönüşür. Ancak I/R durumunda sadece bir elektron (e^-) transferi ile tek değerli indirgenme olur ve oldukça reaktif serbest radikaller meydana gelir. Reperfüzyon ile birlikte, I/R hasarı gelişiminde önemli rol oynayan superoksit anyonu (O_2^-), hipoklorik asit (HOCl) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen partikülleri oluşur (14, 50).

Geçici olarak reaktif oksijen partiküllerinin artışı, çeşitli düzenleyici fonksiyonlar açısından önemlidir. Ancak bu artış yüksek ve/veya uzun süreli olduğunda DNA, lipid ve proteinlerde çok ciddi hasara neden olabilmektedirler. ROP birikimine karşı bir takım savunma sistemleri bulunmaktadır. Bunlar enzim olmayan moleküller (örneğin; Vitamin A, C, E ve flavonoidler) ve enzimatik ROP yakalayıcılarıdır (örneğin; Katalaz, Glutasyon peroksidaz). Ancak her zaman bu savunma mekanizmaları ROP üretimine karşı yeterli olmaz ve oksidatif stres durumu ortaya çıkar (14, 50, 84).

En genel ROP kaynağı mitokondridir. Mikrozomal sitokrom P450 özellikle de karaciğerde belli miktarda ROP üretebilir ve eksojen substratlarla en çok burada etkileşirler. Bilinen diğer reaktif oksijen partikül kaynakları fagositik hücreler, NL ve monositlerdir. Bu hücreler fagositoz için uyarıldıklarında yüksek miktarda ekstrasellüler reaktif oksijen partikülü üretmektedirler (14).

2.3.1.3. Nitrik Oksit ve Endotelin

Nitrik oksit (NO) karaciğerde önemli sinyal molekül işlevi gören pluripotent gaz formunda bir serbest radikaldir. Karaciğerde Nitrik Oksit Sentazın (NOS) 3 izoformu bulunmaktadır. Bunların içinde uyarılabilen inflamatuvar NOS (iNOS, NOS-2) ve endotelial yapısal NOS (eNOS, NOS-3) en önemli olanlarıdır (14, 18, 63).

2.3.1.4. Sitokinler

Sitokinler inflamatuvar yanıtı başlatır ve sürdürürler. Kupffer hücrelerinin aktivasyonu sonucunda proinflamatuvar sitokinler üretilir ve salınır. TNF- α ve IL-1B artar. Bunlar sitokin ve kemokinlerin üretimini indükler (14).

2.3.1.5. Kemokinler

Kemokinler, güçlü NL kemotaktan özellikleri olan düşük moleküler ağırlıklı proteinlerdir. Sitokinler, Kupffer hücrelerinde ve hepatositlerde kemokin oluşumunu indüklerler (14).

2.3.1.6. Lipid Mediyatörler

Çeşitli lipid kökenli inflamatuvar mediyatörler reperfüzyon hasarı patofizyolojisinde rol almaktadır (14).

2.3.1.7. Hücresel Adezyon kuvvet Molekülleri, Nötrofil Lökositler

Erken reperfüzyon hasarında, NL'ler karaciğer damar yatağında toplanır, aktive olurlar. Sonuçta reperfüzyon hasarını şiddetlendirirler. Aktive NL'lerden salgılanan oksidanlar ve proteazlar, endotelial ve hepatoselüler hücrelere hasar verir. Ayrıca

Elastaz, Katepsin-G, Heparanaz, Kollajenaz ve diğler çeşitli hidrolitik enzimler, doğrudan hepatositlere sitotoksik etkilidirler. Birinci NL oksidan üretim yolu NADPH oksidazdır. NADPH yetersiz farelerde yapılan çalışmada hepatik I/R hasarına karşı korundukları gözlenmiştir (14, 25, 89).

Hüresel adezyon kuvvet molekülleri, selektin, integrin ve immunglobulin süper ailesi olmak üzere ayrılırlar (14).

Selektin, molekülün hücre dışı kısmında çeşitli kompleman bağlama tekrarları olan lektin-bağlı glikoproteindir. Endotelyal hücrelerde (E-selektin), plateletlerde (P-selektin) ve NL'lerde (L-selektin) eksprese edilir. Selektinler, fizyolojik stres altında NL'lerin SEH'e tutunmasına aracılık ederler (14, 58).

İntegrinler, NL yüzeyinden salgılanır. Damar endotel hücrelerinden salınan immunglobulin benzeri adezyon kuvvet moleküllerine (örn; ICAM-1) bağlanır. Bu etkileşmeler İskemi reperfüzyondan sonra karaciğere NL göçü, yapışma ve birikimi için gereklidir (14).

2.3.1.8. Kupffer ve Sinuzoidal Endotel Hücreleri

Kupffer hücreleri, endotelyal hücrelerin lümene bakan yüzünde bulunur. Tipik makrofajlardır. Asıl görevleri yaşlı eritrositleri metabolize etmek ve sindirmektir (42). IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinler ve TNF- α , karaciğer hasarı gelişmesinde erken mediatör olarak Kupffer hücrelerinden üretilir. Kupffer hücrelerinin aktivasyonu sadece iskemik lobda değil iskemik olmayan lobda da artar. Bu da parsiyel hepatik cerrahiden sonraki karaciğer fonksiyon bozukluğunu açıklamada önemli olabilir (14).

Sinuzoidal endotel hücreleri (SEH), kan damarlarının en iç yüzeyini döşeyen tek sıralı hücreler olup, vasküler homeostaz için temel yapılardır. Bu hücreler hem iskemiden hem de reperfüzyondan kolaylıkla hasar görür. Uzamış iskemik membran

potansiyelini değiştirir. Bu da iyon dengesizliğine, intraselüler yoğunluk artmasına, membran akışkanlığının azalmasına, hücre iskeletinin bozulmasına neden olur (14, 29).

2.3.2. Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı ve Apoptoz

Apoptoz, organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlanmış hücrelerin, zararsız bir biçimde ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı hücre ölümüdür (14,61).

Apoptoz, nekrozdan tamamen farklıdır. Nekrozda hücre membran bütünlüğü belirgin biçimde bozulur. Hücre şişmesi ve lizis olur. Sıklıkla nekroz bir grup hücre veya dokuda bir bölgeyi tutarken, apoptoz tek hücre düzeyinde gerçekleşir. Apoptoz sırasında hücre aktif olarak hücre ölüm sürecine girer (46).

Karaciğer I/R hasarında her iki hücre ölüm formu bir arada bulunur. Ancak hasarlanmada apoptoz merkezi rol oynar (64). I/R'de yüksek yoğunlukta oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonunu tetikler bu da membran fonksiyon bozukluğuna ve hücre ölümüne yol açar (85). Yüksek reaktif radikallerin TNF- α ile birleşimi iskemi sonrası apoptotik hücre ölümünün başlaması için kritik rol oynar (64). Apoptoz mekanizmalarının erken engellenmesi, hayvan modellerinde reperfüzyon sonrası parankimal hasarı azaltır (30). Yapılan çalışmalarda hepatik I/R'de apoptotik hücre ölümünün kanıtları bulunmuştur. Bu çalışmaların sonuçlarına göre, reperfüzyon sırasında SEH'lerin %50-70'i, hepatositlerin de %40-60'ı apoptoza uğrar. İnsan karaciğer allograftlarında da yüksek oranda apoptotik hepatositlere rastlanmıştır (20,30, 44).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deney Hayvanları

Deneysel çalışmamız; Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 121/2009 kayıt numaralı izni ile yapılmıştır.

Deneysel çalışmamızda; Uludağ Üniversitesi Veterinerlik Fakültesinden temin edilen, 200-220 gram ağırlıkta, sağlıklı, 3-4 aylık, *Sprague-Dawley* cinsi, 40 adet dişi albino sıçan kullanıldı. Deney hayvanları deney süresince 12;12 (aydınlık; karanlık) ışıklandırması olan, ısı (22 ± 2 °C) ve nemi (%45- 50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldı. Deney sürecinde tüm sıçanlar polikarbonat şeffaf kafeslerde standart sıçan yemi ile beslendi ve her gün taze çeşme suyu verildi.

3.1.2. Kimyasal Maddeler

- KCl (Merck)
- KH_2PO_4 (Merck)
- TBA (tiyobarbitürik asit) (Merck)
- n-Bütanol (Sigma)
- 1.1.3.3 Tetraetoksipropane (Sigma)
- Absolü ethanol
- Absolü kloroform
- % 10 Nötral formalin
- Absolü Alkol
- % 70-80-90-96 alkol serileri

- Ksilol (Merck)
- Heparin
- Parafin
- Hematoksilen
- Eozin
- Entellan
- Gallik Asit (Katalog No: G7384-100G, Sigma)
- NH₃ (Laborsan)
- HCl (Merck)
- 2- Merkapt ethanol (Sigma)
- Amonyum molibdat (Sigma)
- Distile su
- Aspartat aminotransferaz (AST) (Biolabo Reagents) (Katalog No: Ref 80025)
- Alanin aminotransferaz (ALT) (Biolabo Reagents) (Katalog No: Ref 80027)
- Laktat dehidrogenaz (LDH) (Biolabo Reagents) (Katalog No: Ref 92111)
- Glutasyon Peroksidaz Kiti (GPx) (Calbiochem®) (Katalog No: 354104)
- Total Protein Kiti (Bio-Clinica)
- Sodyum karbonat (Na₂CO₃) (Merck)
- Serum fizyolojik
- %30 H₂O₂ (Sigma)
- Fosforik asit (H₂PO₄) (Merck)
- Na₂HPO₄ (Merck)

3.1.3. Aygıtlar

- Yatay ve dikey şale
- Tüp
- Tüplük
- Bistüri ucu

- Enjektör (10 ml)
- Lam
- Lamel
- Derin dondurucu (-80)
- Buz makinesi
- Distile su cihazı
- Lam taşıma sepeti
- Plastik doku takip kaseti
- Beher (500 ml, 1000 ml)
- Parafilm
- Pastör pipeti (Cam ve Plastik)
- pH metre
- Pipet (10 ml)
- Pipet uçları (1000 ve 100 µl)
- Soğutmalı santrifüj (Heraeus Biofuge Stratos)
- Spektrofotometre (Shimadzu UV-1601)
- Su banyosu (Nüve)
- Şişe (350 ml, 500 ml, 1000 ml)
- Vial (2 ml)
- Vorteks çirpıcı (Restch)
- Buzdolabı (+4 °C)
- Cam fanus
- Cam kalemi
- Çeker ocak
- Derin dondurucu (-20 °C, -80 °C)
- Etüv (Paraplast plus Sigma P3683)
- Dijital kamera (Olympus marka, CH40 model compact)
- Gazlı bez
- Dijital kamera (Spot Insight marka, 3.2.0. model)
- Erlenmayer (500 ml, 1000 ml)
- Hassas terazi (Precisa-125A)
- Plastik idrar kabı

- Hemoglobin pipeti (20 µl)
- Mikroskop (Olympus marka CH40 model)
- Spektrofotometre tüpleri (1 ml, 2 ml)
- Hayvan kafesi
- Kronometre
- Labaratuvar saati
- Manyetik karıştırıcı (Nüve)
- Mezür (50 ml, 100 ml, 500 ml, 1000 ml)
- Balon joje (100ml, 500ml)
- Mikrotom (Leica RM 2025)
- Homojenizatör (IKA-Ultra –Turrax T25)
- Homojenizatör ucu (IKA-T25, S25N 10G)
- Operasyon takımı
- Otomatik pipetler
- Pamuk
- Eldiven

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney Grupları ve Doz Miktarları

Deney hayvanları arasından rasgele seçimle her birinde $n=8$ sıçan olmak üzere toplam 5 grup oluşturuldu. Bu gruplar;

Grup 1: Bu grup deney hayvanlarına herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadan deney hayvanlarının diseksiyonu gerçekleştirildi

Grup 2: Bu grup deney hayvanlarına iskemi işlemi gerçekleştirilmeden 15 dakika önce serum fizyolojik intraperitoneal (i.p) olarak verildi ve 45 dakikalık iskeminin ardından 1 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonun

bitiminde; eter anestezisi altında, deney hayvanlarının diseksiyon gerçekleştirildi.

Grup 3: Bu grup deney hayvanlarına iskemi işlemi gerçekleştirilmeden 15 dakika önce 50 mg/kg gallik asit (i.p) olarak verildi ve 45 dakikalık iskeminin ardından 1 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonun bitiminde; eter anestezisi altında, deney hayvanlarının diseksiyon gerçekleştirildi.

Grup 4: Bu grup deney hayvanlarına iskemi işlemi gerçekleştirilmeden 15 dakika önce 100 mg/kg gallik asit (i.p) olarak verildi ve 45 dakikalık iskeminin ardından 1 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonun bitiminde; eter anestezisi altında, deney hayvanlarının diseksiyon gerçekleştirildi.

Grup 5: Bu grup deney hayvanlarına iskemi işlemi gerçekleştirilmeden 15 dakika önce 200 mg/kg gallik asit (i.p) olarak verildi ve 45 dakikalık iskeminin ardından 1 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonun bitiminde; eter anestezisi altında, deney hayvanlarının diseksiyon gerçekleştirildi.

Deneyimizde; Gallik asitin (Sigma, St. Louis,. Missouri, USA) 3 farklı dozu (50, 100 ve 200 mg/kg) uygulandı (36). Gallik asit dozları; 4 ml/kg volümde %0,9 steril serum fizyolojik ile çözülerek enjeksiyona hazır duruma getirildi. Kimyasal madde enjeksiyonları, çözeltilerin taze olarak hazırlanmasından sonra, steril tek kullanımlık enjektörler ile cerrahi girişimlerden 15 dakika önce, tek doz olarak periton içine (i.p) uygulandı.

3.2.2. Cerrahi İşlemler

3.2.2.1. İskemi/Reperfüzyon işlemleri

Tüm cerrahi işlemler; steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirildi. Diurnal hormonal değişimlerin sıçanlar üzerine olası etkileri dikkate alınarak tüm cerrahi işlemler 09⁰⁰ ile 12⁰⁰ saatleri arasında yapıldı. Deney hayvanlarına intramüsküler (i.m.) yol ile 10 mg/kg ksilazin (Rompun, Bayer, Türkiye) ve 70 mg/kg ketamin (Ketalar, Eczacıbası, Türkiye) anestezisi uygulandı.

I/R işlemi uygulanacak deney hayvanı, sırt üstü pozisyonda, sıcaklığı ılık ve sabit olan diseksiyon tablasına tespit edildi. Cerrahi uygulama bölgesinin %70'lik etil alkol ile temizliği yapıldı ve deney hayvanının karın bölgesinde vücuda paralel 3-4 cm.'lik bir orta hat kesisi ile laparotomi gerçekleştirildi.

İzole edilen hepatik arterde antitravmatik vaskular klemp yardımıyla 45 dakika süre ile kan akışı durdurularak total iskemi gerçekleştirildi. 45 dakika süren iskeminin hemen ardından antitravmatik vaskular klemp hepatik arterden uzaklaştırılarak dokuya tekrar kan akışının sağlanması yani reperfüzyon işlemi gerçekleştirildi.

Reperfüzyon süresince kas ve deri kesileri ayrı ayrı fakat devamlı olarak 3/0 ipek sütürle dikilerek kesi bölgesi kapatıldı (16). Bir saatlik (60 dakika) reperfüzyon işleminin ardından; deney hayvanları intrakardiyak yolla kanları alındıktan sonra yaşamları sonlandırıldı.

3.2.3. Deney Hayvanlarından Çalışılacak Örneklerin Alınması

Hepatik I/R sitotoksitenin aydınlatılması için deney gruplarımızdaki sıçanlardan anestezisi altında uygun teknikler kullanılarak kalpten kan ve karaciğer doku örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinin serumlarında Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat

aminotranferaz (AST) ve Laktat dehidrogenaz (LDH) enzim değerleri ticari kit (Biolabo, Maizy, France) kullanılarak CRONY AIRONE 200 RA otoanalizatör ile belirlendi. Alınan karaciğer doku örneklerinden hazırlanan homojenatta lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan Malondialdehid (MDA) düzeyi Uchiama ve Mihara (87) nın yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak, Glutasyon peroksidaz (GPx) ticari kit (CALBİOCHEM® Darmstadt, Germany) kullanılarak ve Katalaz (KAT) düzeyi Goth L., (31) un yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü.

3.2.4. Serum Eldesi

İntrakardiyak yolla kalpten alınan kan örnekleri; +4 °C, 10 dakika 3000 rpm devirde santrifüjlenerek (Eppendorf, 5804 R) serumlar elde edildi. Polietilen tüplere aktarılan serum örnekleri biyokimyasal analizler için -80 °C derin dondurucuda saklandı.

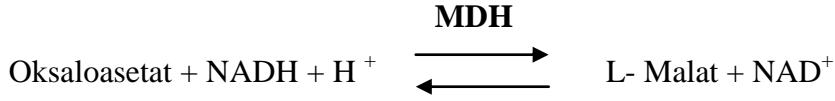
3.2.5. Aspartat aminotransferaz (AST)

Serumda AST düzeyi ticari kit (Biolabo, Maizy, France) kullanılarak *CRONY AIRONE 200 RA* otoanalizatör ile belirlendi.

Ölçüm Prensibi:

Metod *Karmen* ve *Al* tarafından geliştirilmiş daha sonra *Henry* ve *Al* tarafından optimize edilmiştir. Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir:





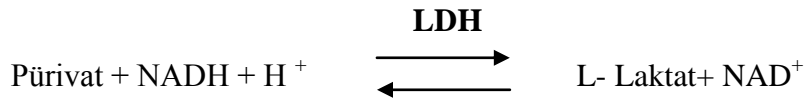
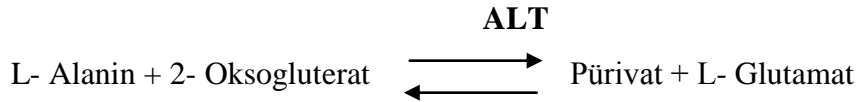
Örnekteki AST Aktivite oranı ve NADH 'ın NAD⁺ a dönüşmesinden dolayı oluşan absorbanstaki azalma 340 nm'de ölçülür.

3.2.6. Alanin aminotransferaz (ALT)

Serumda ALT düzeyi ticari kit (Biolabo, Maizy, France) kullanılarak *CRONY AIRONE 200 RA* otoanalizator ile belirlendi.

Ölçüm Prensipleri:

Metod *Wroblewski* ve *LaDue* tarafından geliştirilmiş daha sonra *Henry* ve *Bergmeyer* tarafından optimize edilmiştir. Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir:



Örnekteki ALT aktivite oranı ve NADH 'ın NAD⁺ 'a dönüşmesinden dolayı oluşan absorbanstaki azalma 340 nm'de ölçülür.

3.2.7. Laktat dehidrogenaz (LDH)

Serumda LDH düzeyi ticari kit (Biolabo, Maizy, France) kullanılarak *CRONY AIRONE 200 RA* otoanalizatör ile belirlendi.

Ölçüm Prensipleri:

Metod *Henry* ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Reaksiyon şeması aşağıdaki gibidir:



Örnekteki LDH aktivite oranı ve NADH 'ın NAD⁺'a dönüşmesinden dolayı oluşan absorbanstaki azalma 340 nm'de ölçülür.

3.2.8. Total Protein Ölçümü

Dokuların total protein miktarı Biüret yöntemine göre hazırlanmış total protein kiti (Bio-Clinica, İstanbul, Türkiye) kullanılarak spektrofotometre kullanılarak ölçüldü

Ölçüm Prensipleri:

Peptid, polipeptid ve proteinler için Biüret reaksiyonu spesifiktir. İki değerlikli bakır iyonu, alkali ortamda peptid bağları ile mor renkli bir kompleks oluşturur. Örnekler spektrofotometrede reaktif körüne karşı okundu. Ölçüm için;

- 1) Bir kör tüpü, bir standart tüpü ve örnek sayısı kadar da test tüpü hazırlandı ve numaralandırıldı.

- 2) K r tüpüne; 1000  l reaktif. Standart tüpüne; 20  l standart ve 1000  l reaktif. Test tüpüne; 20  l örnek ve 1000  l reaktif ilave edildi.
- 3) Tüpler karıştırıldı ve 20–25  C’de 5 dakika beklendi.
- 4) 546 nm’de absorbans değerleri  l ld .
- 5)  rneklerin total protein konsantrasyonu aşağıdaki formüle göre hesaplandı.
- 6)

$$C \text{ örnek} = \frac{A \text{  rnek}}{A \text{ standart}} \times C \text{ standart (g/dl)}$$

C= Konsantrasyon

Bu  l m değerleri homojenatta, KAT aktivitesi ile MDA düzeyi hesaplanmasında kullanıldı.

3.2.9. Malondialdehit (MDA) Düzeyi  l m 

Yöntemin amacı; lipit peroksidasyonu son ürünlerinden bir tanesi olan MDA’nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır (87).

Homojenat Hazırlanması:

- 1)  rnek sayısı kadar t p alınarak numaralandı.
- 2) Yaklaşık 0,4 g ağırlığında karaciğer doku örnekleri alındı.

- 3) Alınan örnekler SF ile yıkandı.
- 4) Buz dolu bir kap içinde tüpe geçirildi.
- 5) Tüp içindeki örnekler daha sonra %1 KCl çözeltisi kullanılarak homojenize edildi.
- 6) Buz dolu bir kap içindeki tüpte bulunan örnek, homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuru da homojenize edildi.
- 7) Daha sonra soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
- 8) Üstte toplanan süpernatant kısmı ayrı bir vial e alınarak ölçümde kullanıldı. Aynı gün içinde ölçüm yapılacaksa +4 °C'de, daha sonra ölçüm yapılacaksa -80 °C derin dondurucuda saklandı.

Çözeltiler:

% 1 Fosforik asit çözeltisi: 1 ml fosforik asit, distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

% 0.6 TBA çözeltisi: 6 g TBA 1000 ml suda çözündürüldü.

Ölçüm Prensibi:

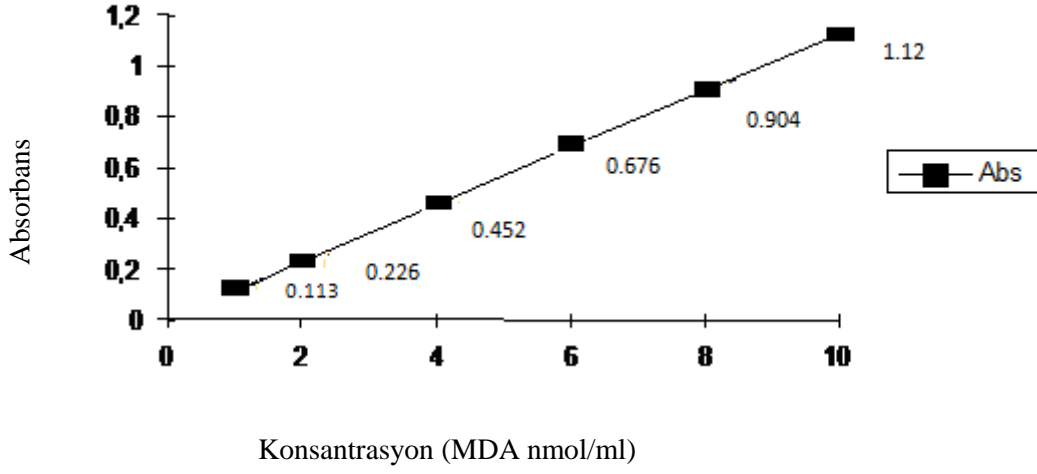
- 1) Her ölçümde bir blank ve örnek tüpleri hazırlandı.
- 2) Blank tüpüne; 0,5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi, örnek tüpüne; 0,5 ml hemolizat, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi.

- 3) Blank ve örnek tüpleri bir beherde su içinde 45 dk kaynatıldı.
- 4) Tüpler soğuduktan sonra içlerine 4 ml butanol ilave edildi.
- 5) 3500 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.
- 6) Ölçüm için süpernatant alındı.
- 7) Spektrofotometre 532 nm'ye getirildikten sonra, distile su ile sıfırlanarak, blank ve örnek tüplerinin absorbansları okundu.

Sonucun Hesaplanması:

- 1) Konsantrasyonların belirlenebilmesi için; lipit peroksit standard (1.1.3.3. tetraetoksipropan) 1, 2, 4, 6, 8, 10 nmol/ml de hazırlandı (Şekil 3.1.).
- 2) Standart eğrisinin hazırlanması:
 - Blank tüpüne; 0,5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi konuldu.
 - Standart tüplerine; 0,5 ml farklı konsantrasyonlarda standart, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi ve 532 nm'de absorbanslar okundu. Okunan absorbanslarla, konsantrasyon değerleri milimetrik kağıt üzerinde yerleştirilerek standart eğrisi çizildi. Standart eğrisinde, spektrofotometreden okunan absorbans değerine karşılık gelen konsantrasyon değerleri okundu (Şekil 3.1.).

Birimi nmol/ml olan MDA konsantrasyonu, homojenatta nmol/g yaş doku olarak verildi.



Şekil 0.1. MDA standart eğrisi

3.2.10. Katalaz (KAT) Aktivitesi Ölçümü

KAT aktivitesi, amonyum molibdatla istikrarlı bir kompleks oluşturan hidrojen peroksitin spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi temeline dayanan ölçümler sonucu belirlendi (31).

Homojenat Hazırlanması:

- 1) Örnek sayısı kadar tüp alınarak numaralandı.
- 2) Yaklaşık 0,4 g ağırlığında karaciğer doku örnekleri alındı.
- 3) Alınan örnekler SF ile yıkandı.
- 4) Buz dolu bir kap içinde tüpe geçirildi.
- 5) Daha sonra tüp içindeki örnekler, sodyum-potasyum-fosfat tamponu ile homojenize edildi.

Sodyum-Potasyum-Fosfat Tamponu:

1. KH_2PO_4 'den 9,08 g alındı ve 1 litre distile su içinde çözüldü (A).
2. Na_2HPO_4 'den 11.88 g alındı ve 1 litre distile su içinde çözüldü (B).
3. Daha sonra 3,3 ml A çözeltisinden alınarak B çözeltisi ile 100 ml'ye tamamlandı ve $\text{pH} = 8$ olacak şekilde pH metrede ayarlandı.
- 6) Buz dolu bir kap içindeki tüpte bulunan örnek, homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuru da homojenize edildi.
- 7) Daha sonra soğutmalı santrifüjde $+4^\circ\text{C}$ 'de 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
- 8) Üstte toplanan süpernatant ayrı bir vial e alınarak ölçümde kullanıldı. Aynı gün içinde ölçüm yapılacaksa $+4^\circ\text{C}$ 'de, daha sonra ölçüm yapılacaksa -80°C derin dondurucuda saklandı.

Çözeltiler:

- 1) Substrat çözeltisi: %30 H_2O_2 den 8.11 ml alınıp, fosfat tamponu ile 1000 ml ye tamamlanıp pH : 7,4 ayarlandı.
- 2) 32,4 mmol/l amonyum molibdat ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi: Bunun için, 8 g amonyum molibdat 200 ml distile suda çözülerek hazırlandı. Her zaman taze olarak kullanıldı ve kısa süreli beklemelerde çökelti oluşmuşsa ölçüm yapılmadan önce çözelti vortekslendi.
- 3) Tampon çözeltisi:
 - A) 4,08 g KH_2PO_4 alınarak 500 ml distile suda çözüldü.

B) 8,04 g Na_2HPO_4 alınarak 500 ml distile suda çözüldü.

Daha sonra (A) çözeltilisinden 3,3 ml alınarak (B) çözeltisi ile 100 ml ye tamamlandı ve $\text{pH}=7,4'$ e ayarlandı.

Ölçüm Prensipleri:

- 1) Her bir örnek tüpü için bir blank tüpü (blank 1, B1) hazırlandı ve tüpler numaralandı.
- 2) Blank (B1) tüplerine; 37 °C de su banyosu içinde 1 ml substrat ve 0,2 ml hemolizat ilave edilerek başlatılan reaksiyon, anında 1 ml amonyum molibdat çözeltisi ilavesiyle reaksiyon durduruldu.
- 3) Örnek tüplerine ise; 1 ml substrat ve 0,2 ml hemolizat konarak, 37 °C de 60 saniyelik inkübasyon süresince devam eden reaksiyon yine 1 ml amonyum molibdat çözeltisi ilavesiyle durduruldu.
- 4) Örnek tüplerinin inkübasyonu için 60 saniyelik bekleme süresi içinde blank 2 (B2) ve blank 3 (B3) tüpleri hazırlandı.
- 5) Blank 2 tüpüne; 1 ml substrat, 1 ml molibdat ve 0,2 ml tampon ilave edildi.
- 6) Blank 3 tüpüne; 1 ml tampon, 1 ml molibdat ve 0,2 ml tampon, ilave edildi.
- 7) Spektrofotometre 405 nm de distile suyla sıfırlandıktan sonra B2 ve B3 tüplerindeki çözeltilerin absorbans değerleri okundu, sonra blank (B1) tüpleri ve arkasından örnek tüplerinin absorbansları okundu.

Sonucun Hesaplanması:

Spektrofotometrede okunan değerler, aşağıdaki formüle uygulandı ve sonuçlar; homojenatta KU/g protein olarak bulundu.

$$\text{Katalaz aktivitesi} = \frac{\text{Örnek} - \text{Blank}(B_1)}{\text{Blank 2}(B_2) - \text{Blank 3}(B_3)} \times 271$$

3.2.11. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivitesi Ölçümü

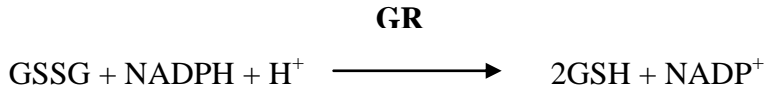
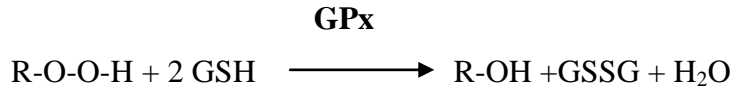
Hücrenel glutasyon peroksidaz aktivite ölçümü için (CALBİOCHEM® Darmstadt, Germany) ticari kiti kullanılarak spektrofotometre ile ölçüldü.

Homojenat Hazırlanması:

- 1) Örnek sayısı kadar tüp alındı ve numaralandı.
- 2) Her hayvandan ortalama 1 g kadar karaciğer dokusu alındı.
- 3) Alınan doku parçası 0.16 mg/ml heparin içeren % 0,9 NaCl solüsyonunda yıkanarak kırmızı kan hücreleri ve pıhtıdan uzaklaştırıldı.
- 4) 4-8 ml'lik soğuk buffer ilave edilen tüp içindeki doku buz dolu bir kap içinde, homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuru da homojenize edildi.
- 5) Homojenizasyon sonrası 3000xg'de 10 dakika santrifüj edildi.
- 6) +4 °C'de 10000xg'de 20 dakika santrifüj edildi.
- 7) Toplanan süpernatant kısmı ölçümde kullanıldı.
- 8) Aynı gün içinde ölçüm yapılacaksa +4 °C'de, daha sonra ölçüm yapılacaksa -80 °C derin dondurucuda saklandı.

Ölçüm Prensipleri:

Kit indirek olarak GPx aktivitesini ölçer. GPx ortamdaki organik peroksit varlığında redükte glutatyon GSH'ı okside glutatyona (GSSG) dönüştürür. Daha sonra dışarıdan ortama eklenen NADPH ve GR ile okside glutatyon tekrar redükte glutatyona dönüşmekte, böylece GSH derişimi sabit tutulmaktadır. Oluşan kimyasal tepkimede NADPH'ın NADP'ye dönüşmesi esnasında spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda absorbanstaki azalma izlenerek okside glutatyon oluşum hızı ölçülmüş ve GPx enzim aktivitesi hesaplanmıştır.



Ölçüm için;

- 1) Günlük kullanılacak buffer miktarı belirlendi.
- 2) Her biri 20 testlik NADPH reagent şişesi 7,5 ml buffer ile sulandırıldı.
- 3) Tert-butil hidroperoksit substratı deiyonize su ile dilue edildi (% 0,007).

Bu üç solüsyon 23-25 °C arasındaki sıcaklığa getirildi. Artan solüsyon kesinlikle tekrar kullanılmadı.

- 4) Spektrofotometre 340 nm'ye ayarlanıp distile su ile sıfırlandı.
- 5) Örnekler ölçümden hemen önce buffer ile 1–10 şeklinde sulandırıldı.
- 6) Bir blank tüpü ve herbir örnek için ayrı test tüpleri hazırlanarak numaralandı.

- 7) Blank tüpüne konan 350 µl buffer üzerine 70 µl distile su ve 350 µl NADPH reagent ilave edildi.
- 8) Herbir örnek tüpüne tek tek ölçülecek şekilde 350 µl buffer, 350 µl NADPH reagent ve 70 µl dilue edilmiş örnek ilave edildi.
- 9) Ölçüm küvetine alınan örnek spektrofotometreye yerleştirildi.
- 10) 350 µl dilue edilmiş tert-butil hidroperoksit substratı otomatik pipetle çekilip bırakılarak eklendi. Hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edildi.
- 11) 340 nm'de her 30 sn'de bir absorbans ölçümü otomatik olarak spektrofotometrenin kayıt sistemi kullanılarak 3 dakikanın üzerinde kaydedildi.

A340 nm'de t=0 zamanda absorbans < 0,8 olup olmadığına bakıldı. Böyle bir durum görüldüğünde NADPH reagent vialinin yeniden hazırlanmasına dikkat edildi.

Sonucun Hesaplanması:

Her 30 saniyede bir A340 da örnek ve blankın azalan oranı hesaplandı. A340'da eğim hesaplanıp örnek oranından blank oranının farkı alınıp net oran (A340/dk) hesaplandı.

$$1\text{mU/ml} = 1\text{nmol NADPH/dk/ml} = (\text{A340/dk}) / 0,00622$$

$$= \text{Bulunan değer} \times 16$$

$$= \text{mU/ml}$$

Homojenat için bu değer mU/ml olarak verildi.

3.2.12. Karaciğer Örneklerinden Histolojik Preparatların Hazırlanması

a. Doku Tespiti

Hayvanlardan alınan doku örneklerinden her biri tespit için % 10 tamponlanmış nötral formalin solüsyonunda 24-48 saat tespit edildi. Aşağıdaki gibi doku takibi yapılarak mikroskopta incelenmek üzere preparatlar hazırlandı.

b. Doku Takibi

1) **Yıkama:** Dokular 4 saat akan çeşme suyunda yıkanarak formalin kalıntılarında arındırıldı.

2) **Dehidratasyon (dokuların suyunun alınması):** Dokular yıkama işleminden sonra artan derecelerdeki alkol serilerinden geçirilerek sertleşmeleri sağlandı.

70 ° alkol – 60 dk.

80 ° alkol – 60 dk.

90 ° alkol (I) – 60 dk.

90 ° alkol (II) – 60 dk.

96 ° alkol (I) – 30 dk.

96 ° alkol (II) – 30 dk.

Absolü alkol (I) – 30 dk

Absolü alkol (II) – 30 dk.

3) **Seffaflaştırma:**

Ksilol (I) – 15 dk.

Ksilol (II) – 30 dk.

Ksilol (III) – 30 dk.

4) Parafin infiltrasyonu:

- Parafin (I) – 60 dk.
- Parafin (II) – 60 dk.
- Parafin (III) – 60 dk. bekletildi.

5) Gömme: Dokular parafin içine gömülerek, blok haline getirildi.

c. Kesitlerin Alınması

- 1) Mikrotom yardımı ile bloklanmış dokulardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı.
- 2) Kesitler sıcak su banyosuna alınarak (37 °C) açılmaları sağlandı.
- 3) Daha sonra kesitler poly-L-lysinli lamlara alındı.
- 4) Kesitler lam taşıma sepetleri içinde 60°C'lik etüvde 2 saat bekletilerek parafinin erimesi sağlandı.
- 5) Daha sonra kesitler ksilol serilerinden geçirilerek deparafinize edildi.
 - Ksilol (I) - 30 dk.
 - Ksilol (II) - 30 dk.
 - Ksilol (III) - 30 dk.

Deparafinize işlemi tamamlanmış kesitlere, genel histolojik yapının gözlenebilmesi için hematoksilin ve eozin boyama yöntemi uygulandı.

d. Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi:

1) Kesitler azalan dereceli alkol serisinden geçirilerek hidrasyon islemi yapıldı.

Absolü alkol -1 dk.

Absolü alkol -1 dk.

96° alkol (I) -1 dk.

96° alkol (II) -1 dk.

90° alkol -1 dk.

80° alkol -1 dk.

70° alkol -1 dk.

2) Kesitler akan cesme suyunda 2 dk. yıkandı.

3) Kesitler hematoksilen solüsyonunda 3 dk. boyandı.

4) Kesitler akan cesme suyunda 2 dk. yıkandı.

5) Kesitler Eozin solüsyonunda 2 dk. boyandı.

6) Kesitler artan dereceli alkol serisinden geçirildi (dehidrasyon islemi)

60 ° alkol - 1 dk.

80 ° alkol - 1 dk.

90 ° alkol - 1 dk.

96 ° alkol (I) - 1 dk.

96 ° alkol (II) - 1 dk.

Absolü alkol (I) - 5dk.

Absolü alkol (II) - 5 dk.

7) Şeffaflastırma islemi: Kesitler ksilolde şeffaflastırıldı

Ksilol (I) - 5 dk.

Ksilol (II) – 5 dk.

Ksilol (III) – 5 dk.

- 8) Kesitler entellan ile kapatıldı. Böylece hazırlanan preparatlarda, dokunun lam ve lamel arasında hava almadan uzun bir süre saklanabilmesi sağlandı (48).

e. Doku İnceleme ve Görüntüleme

Kesitlerin tümü Olympus CX31 marka fotomikroskop ile incelenerek görüntülendi.

3.2.12. İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışmalarımız sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde “SPSS 11,0 for Windows” versiyonu bilgisayar paket programı kullanıldı. Kan serumlarında analizi yapılmış olan ALT, AST ve LDH, karaciğer homojenatına ait MDA, KAT ve GPx ölçümünden elde edilen veriler arasındaki farklılık durumları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi, gruplar arası karşılaştırmalarda ise Tukey testi kullanıldı. Tüm istatistik uygulamalar sonucunda sayısal değer (P) olarak ortaya çıkan deney grupları arasındaki farklar, $P < 0.05$ olduğunda anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Yapılan bu çalışma sonunda elde edilen bulgular birkaç bölümde sunulacaktır.

4.1. Serum Alanin Amino Transferaz (ALT) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme

Kontrol (Grup 1) ve Grup 2, 3,4, 5 gruplarına ait serum Alanin amino transferaz (ALT) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Tablo 4.1. ve Şekil 4.1' de özet olarak verilmiştir. Buna göre;

Serum ALT düzeyi, Grup 1'de (kontrol) $66,26 \pm 5,90$ U/L, Grup 2'de $821,10 \pm 99,76$ U/L, Grup 3'de $745,80 \pm 64,22$ U/L, Grup 4'de $455,60 \pm 47,64$ U/L ve Grup 5'de $528,56 \pm 72,48$ U/L bulunmuş olup, kontrol grubuna göre diğer gruplarda Serum ALT düzeyinde artış gözlemlendi. Bu artış istatistiksel açıdan kontrole göre farklı bulundu ($P < 0.05$).

Serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ile kontrol, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P < 0,05$) . Ancak 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P > 0.05$).

50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 ile kontrol, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P < 0,05$) . Ancak serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P > 0.05$).

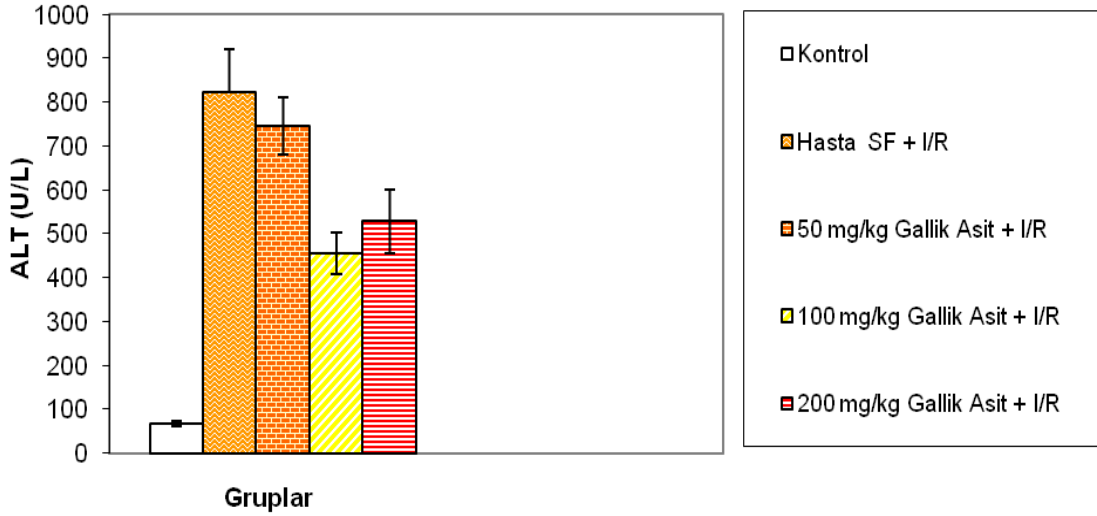
Tablo 4.1. Kontrol (Grup 1) ve Grup 2, 3, 4, 5 gruplarına ait ALT, AST, LDH, MDA, KAT ve GP_x düzeyleri ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi.

GRUPLAR	ALT (U/L) (Ort ± St. Hata) n=8	AST (U/L) (Ort ± St. Hata) n=8	LDH (U/L) (Ort ± St. Hata) n=8	MDA (nmol/g protein) (Ort ± St. Hata) n=8	KAT (KU/g) (Ort ± St. Hata) n=8	GP _x (mU/ml) (Ort ± St. Hata) n=8
Grup:1 (Kontrol grubu)	66,26±5,90 ^{2,3,4,5}	95,62±3,50 ^{2,3,4,5}	227,03±27,44 ^{2,3,4,5}	16,93±3,43 ^{2,3,4,5}	7,61±1,08 ^{2,3,4}	32,81±4,33 ^{2,3}
Grup:2 (SF + I/R)	821,10±99,76 ^{1,4,5}	492,55±53,96 ^{1,4,5}	2825,25±204,95 ^{1,3,4,5}	37,53±2,92 ^{1,4,5}	3,38±1,19 ^{1,4,5}	17,99±6,25 ^{1,4,5}
Grup:3 (50mg/kg gallik asit + I/R)	745,80±64,22 ^{1,4,5}	440,90±28,09 ^{1,4,5}	2440,62±352,64 ^{1,2,4,5}	35,71±3,35 ^{1,4,5}	4,67±1,03 ^{1,4,5}	24,64±3,47 ^{1,4,5}
Grup:4 (100mg/kg gallik asit + I/R)	455,60±47,64 ^{1,2,3}	252,87±61,51 ^{1,2,3}	1591,50±280,43 ^{1,2,3}	24,54±2,13 ^{1,2,3}	9,76±1,15 ^{1,2,3}	39,16±3,83 ^{2,3}
Grup:5 (200mg/kg gallik asit + I/R)	528,56±72,48 ^{1,2,3}	299,86±51,92 ^{1,2,3}	1933,50±306,35 ^{1,2,3}	27,39±3,48 ^{1,2,3}	8,05±1,85 ^{2,3}	35,05±6,21 ^{2,3}

- ¹: Grup 1 ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında önemli derecede fark (P<0,05) var.
²: Grup 2 ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında önemli derecede fark (P<0,05) var.
³: Grup 3 ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında önemli derecede fark (P<0,05) var.
⁴: Grup 4 ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında önemli derecede fark (P<0,05) var.
⁵: Grup 5 ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında önemli derecede fark (P<0,05) var.

100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile kontrol, serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$) . Ancak; 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0.05$).

200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile kontrol, serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$) . Ancak; 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0.05$).



Şekil 4.1. Serum Alanin amino transferaz (ALT) düzeyleri

4.2. Serum Aspartat Amino Transferaz (AST) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme

Kontrol (Grup 1), Grup 2, 3, 4, 5 gruplarına ait serum AST düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Tablo 4.1 ve Şekil 4.2’de özet olarak verilmiştir. Buna göre;

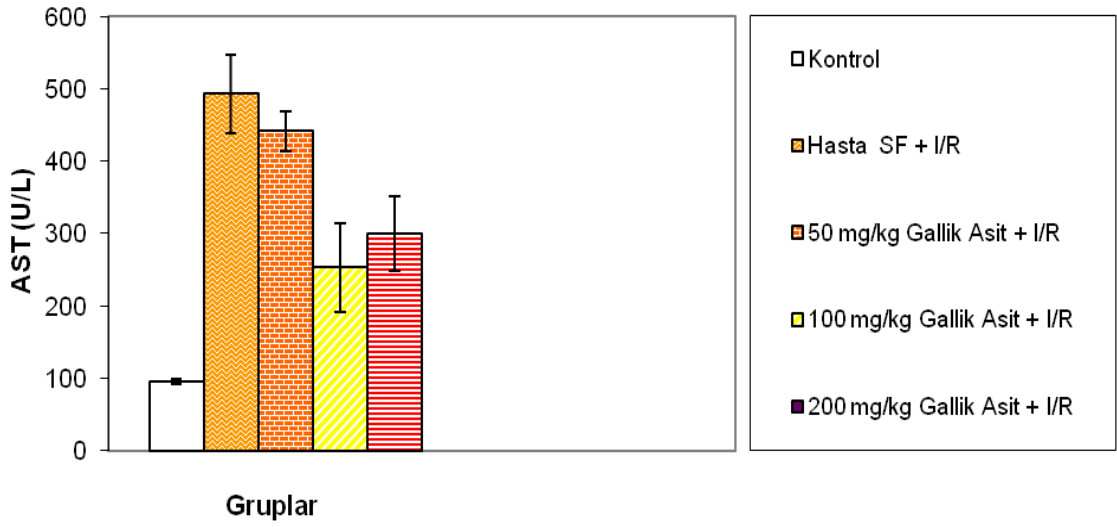
Serum AST düzeyi, Grup 1’de (kontrol) $95,62 \pm 3,50$ U/L, Grup 2’de $492,55 \pm 53,96$ U/L, Grup 3’de $440,90 \pm 28,09$ U/L, Grup 4’de $252,87 \pm 61,51$ U/L ve Grup 5’de $299,86 \pm 51,92$ U/L bulunmuş olup, kontrol grubuna göre diğer gruplarda Serum AST düzeyinde artış gözlemlendi. Bu artış istatistiksel açıdan kontrole göre farklı bulundu ($P < 0,05$).

Serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ile kontrol, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında serum Aspartat amino transferaz düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P < 0,05$). Ancak 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P > 0,05$).

50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 ile kontrol, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında serum Aspartat amino transferaz düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P < 0,05$). Ancak serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P > 0,05$).

100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile kontrol, serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında serum Aspartat amino transferaz düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P < 0,05$). Ancak 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P > 0,05$).

200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile kontrol, serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında serum Aspartat amino transferaz düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$). Ancak 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0,05$).



Şekil 4.2. Serum Aspartat amino transferaz (AST) düzeyleri

4.3. Serum Laktat Dehidrojenaz (LDH) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme

Kontrol (Grup 1), Grup 2, 3, 4, 5 gruplarına ait serum LDH düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Tablo 4.1. ve Şekil 4.3' da özet olarak verilmiştir. Buna göre;

Serum LDH düzeyi, Grup 1 'de (kontrol) $227,03\pm 27,44$ U/L, Grup 2'de $2825,25\pm 204,95$ U/L, Grup 3'de $2440,62\pm 352,64$ U/L, Grup 4'de $1591,50\pm 280,43$ U/L

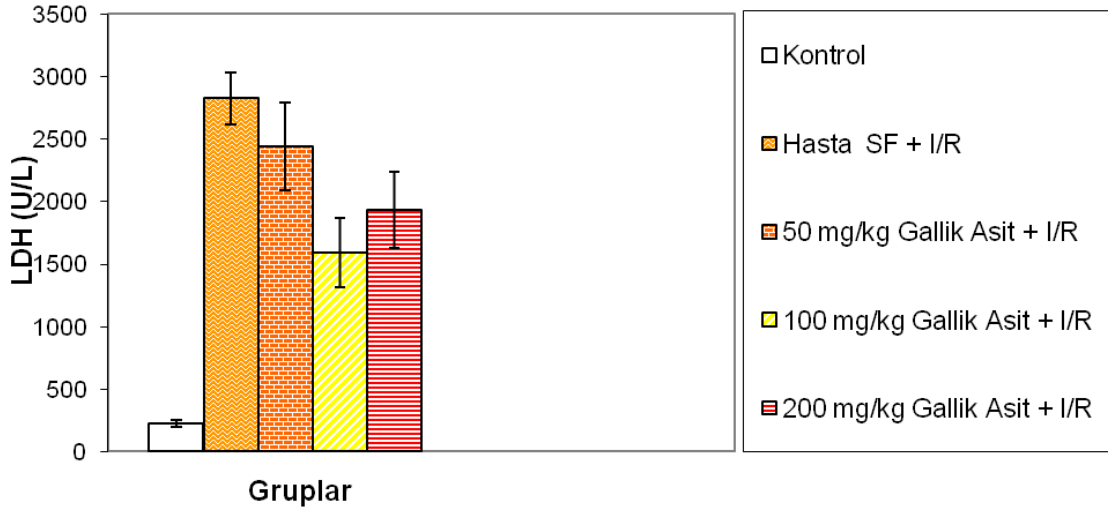
ve Grup 5'de $1933,50 \pm 306,35$ U/L bulunmuş olup, kontrol grubuna göre diğer gruplarda Serum LDH düzeyinde artış gözlemlendi. Bu artış istatistiksel açıdan kontrole göre farklı bulundu ($P < 0,05$).

Serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ile kontrol, 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında serum LDH düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P < 0,05$).

50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 ile kontrol, serum fizyolojik verilmiş Grup 2, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında serum LDH düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P < 0,05$).

100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile kontrol, serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında serum LDH düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P < 0,05$). Ancak; 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P > 0,05$).

200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile kontrol, serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında serum LDH düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P < 0,05$). Ancak; 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P > 0,05$).



Şekil 4.3. Serum Laktat dehidrojenaz (LDH) düzeyleri

4.4. Karaciğere Homojenatına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

4.4.1. Karaciğer Homojenatında Malondialdehit (MDA) Düzeyine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

Kontrol (Grup 1), Grup 2, 3, 4, 5 gruplarına ait karaciğer homojenatında MDA düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Tablo 4.1 ve Şekil 4.4' de özet olarak verilmiştir. Buna göre;

MDA düzeyi, Grup 1 'de (kontrol) $16,93 \pm 3,43$ nmol/g yaş doku, Grup 2 'de $37,53 \pm 2,92$ nmol/g yaş doku, Grup 3'de $35,71 \pm 3,35$ nmol/g yaş doku, Grup 4'de $24,54 \pm 2,13$ nmol/g yaş doku ve Grup 5'de $27,39 \pm 3,48$ nmol/g yaş doku bulunmuş olup,

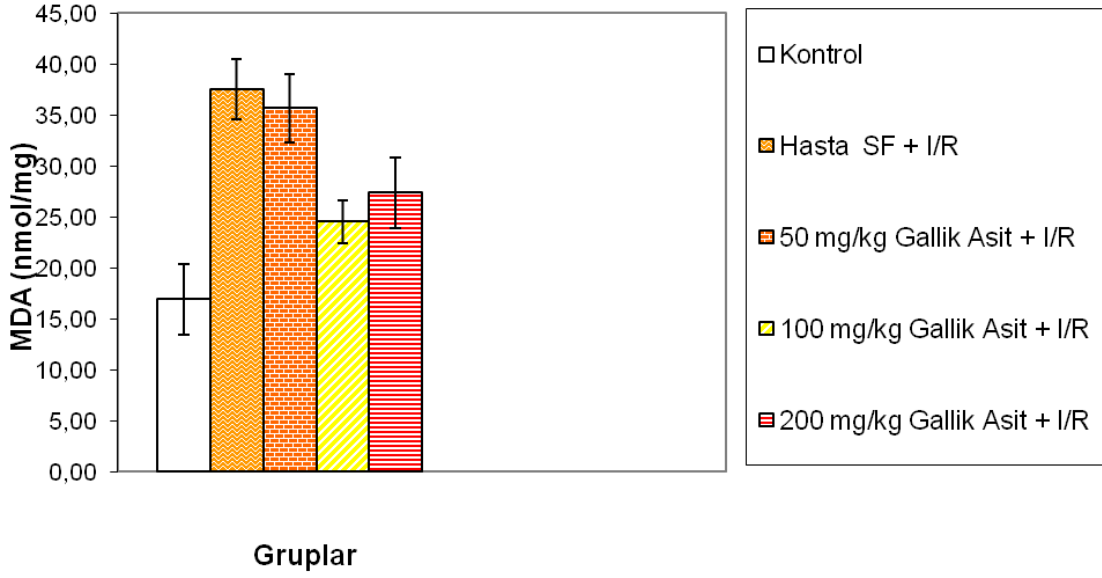
kontrol grubuna göre diğer gruplarda MDA düzeyinde artış gözlemlendi. Bu artış istatistiksel açıdan kontrole göre farklı bulundu ($P<0.05$).

Serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ile kontrol, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında MDA düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$) . Ancak; 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0.05$).

50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 ile kontrol, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında MDA düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$) . Ancak; serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0.05$).

100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile kontrol, serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında MDA düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$) . Ancak; 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0.05$).

200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile kontrol, serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında MDA düzeyinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$) . Ancak; 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0.05$).



Şekil 4.4. Karaciğer homojenatında Malondialdehit (MDA) düzeyleri

4.4.2. Karaciğer Homojenatında Katalaz (KAT) Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

Kontrol (Grup 1), Grup 2, 3, 4, ve 5 gruplarına ait karaciğer homojenatında KAT düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Tablo 4.1 ve Şekil 4.5’ de özet olarak verilmiştir. Buna göre;

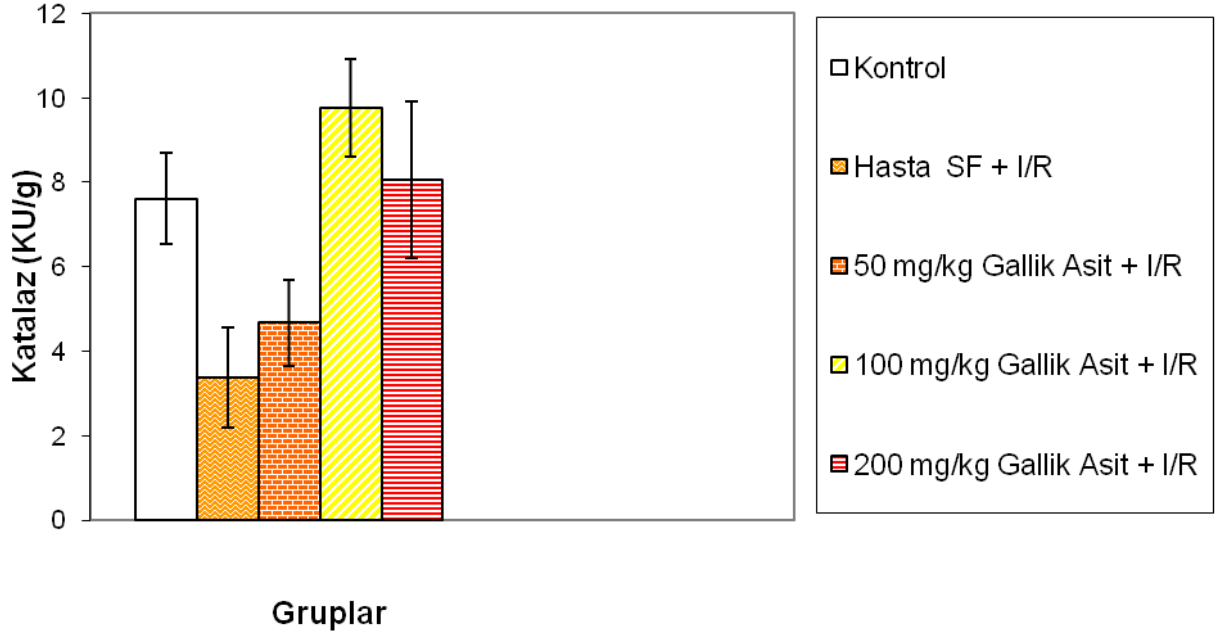
KAT aktivitesi, Grup 1’de 1 (kontrol) $7,61 \pm 1,08$ KU/g protein, Grup 2’de $3,38 \pm 1,19$ KU/ g protein, Grup 3’de $4,67 \pm 1,03$ KU/ g protein, Grup 4’de $9,76 \pm 1,15$ KU/g protein ve Grup 5’de $8,05 \pm 1,85$ KU/ g protein bulunmuş olup, kontrol grubuna göre Grup 2 ve Grup 3’de KAT aktivitesinde azalma Grup 4 ve Grup 5 ‘de ise artış gözlemlendi. Grup 2, Grup 3 ve Grup 4’de istatistiksel açıdan kontrole göre farklılık bulunurken ($P < 0,05$), Grup 5’de istatistiksel açıdan kontrole göre farklılık bulunmadı ($P > 0,05$).

Serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ile kontrol, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında KAT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$). Ancak 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0,05$).

50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 ile kontrol, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında KAT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$). Ancak serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0,05$).

100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile kontrol, serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında KAT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$). Ancak 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0,05$).

200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında KAT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$). Ancak kontrol ve 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0,05$).



Şekil 4.5. Karaciğer homojenatında Katalaz (KAT) düzeyleri

4.4.3. Karaciğer Homojenatında Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

Kontrol (Grup 1), Grup 2, 3, 4, 5 gruplarına ait karaciğer homojenatında GPx düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Tablo 4.1 ve Şekil 4.6' da özet olarak verilmiştir. Buna göre;

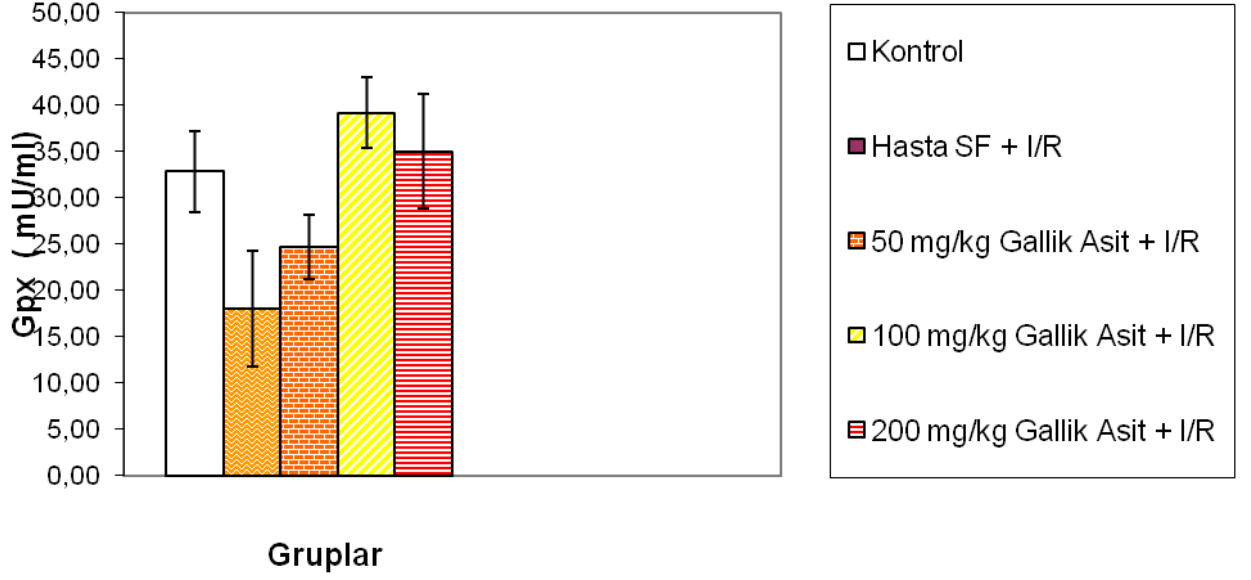
GPx aktivitesi, Grup 'de 1 (kontrol) $32,81 \pm 4,33$ mU/ml, Grup 2'de $17,99 \pm 6,25$ mU/ml, Grup 3'de $24,64 \pm 3,47$ mU/ml, Grup 4'de $39,16 \pm 3,83$ mU/ml ve Grup 5'de $35,05 \pm 6,21$ mU/ml bulunmuş olup, kontrol grubuna göre Grup 2 ve Grup 3'de GPx aktivitesinde azalma Grup 4 ve Grup 5'de ise artış gözlemlendi. Grup 2 ve Grup 3 istatistiksel açıdan kontrole göre farklılık bulunurken ($P < 0.05$), Grup 4 ve Grup 5'de istatistiksel açıdan kontrole göre farklılık bulunmadı ($P > 0.05$).

Serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ile kontrol, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında GPx aktivitesinde, istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$). Ancak; 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0,05$).

50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 ile kontrol, 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 karşılaştırıldığında GPx aktivitesinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$). Ancak; serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0,05$).

100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında GPx aktivitesinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$). Ancak; kontrol ve 200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0,05$).

200 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 5 ile serum fizyolojik verilmiş Grup 2 ve 50 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 3 karşılaştırıldığında GPx aktivitesinde istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık bulundu ($P<0,05$). Ancak; kontrol ve 100 mg/kg gallik asit verilmiş Grup 4 ile istatistiksel olarak fark bulunmadı ($P>0,05$).



Şekil 4.6. Karaciğer homojenatında Glutasyon Peroksidaz (GPx) düzeyleri

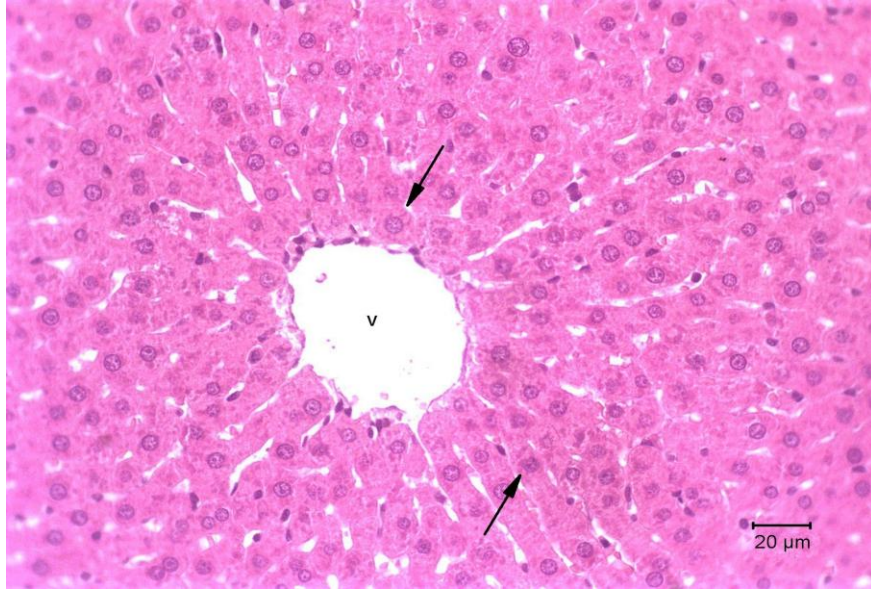
4.5. Karaciğer Örneklerine Ait Histolojik Bulgular

Çalışmada kullanılmış olan gallik asitin karaciğer total I/R sonucu oluşan oksidatif hasarı ne derecede önleyebildiğini ortaya koyabilmek anlamında karaciğer kesitlerinde yapılan histolojik kesitlerde detaylı incelemeler yapıldı. Mikroskopik incelemelerde kontrol grubu olan Grup 1' e ait deney hayvanlarının karaciğer histolojik kesitleri (Şekil 4.7) ile I/R grubu (Grup 2) hayvanlarına ait karaciğer kesiti (Şekil 4.8) karşılaştırıldığında vena sentralis çevresindeki hepatositler de Grup 2' nin I/R' dan oldukça etkilendiği dikkat çekici bulundu. Grup 2' nin vena sentralis çevresinde bulunan remark plaklarının düzeninde bozulma olmadığı ancak plakları oluşturan hepatositlerde sitoplazmik vakuollerin yoğun olduğu gözlemlendi (Şekil 4.9 ve 4.10). Grup 2 karaciğer kesitlerinde vakuolizasyonun yanısıra karaciğer parankimi sinozoidlerinde yaygın hiperemi hakimdi (Şekil 4.9). Ancak vena sentralis ve karaciğer portal alanları çevresinde hiperemi durumunun bu kadar baskın olmadığı görüldü.

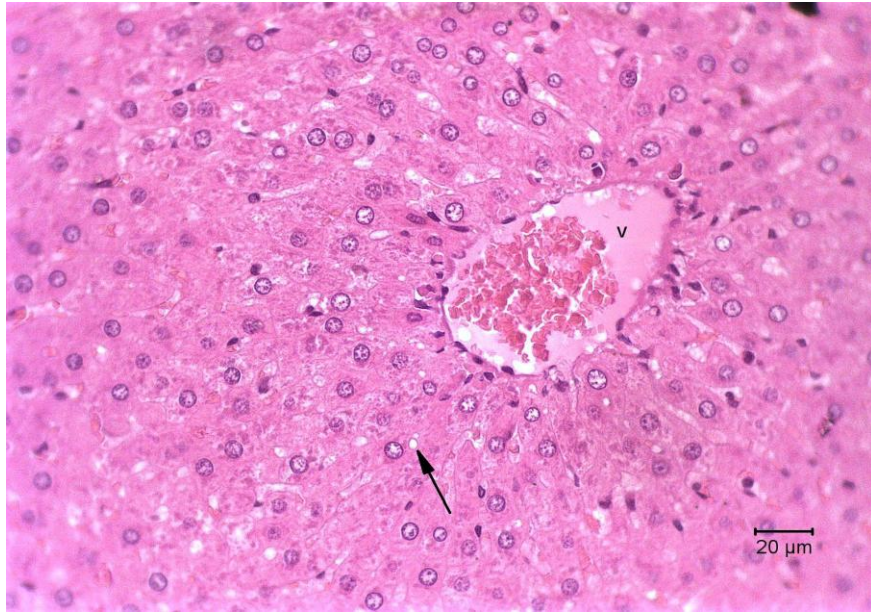
I/R + 50 mg/kg gallik asit uygulanmış deney grubu (Grup 3) hayvanlarına ait karaciğer kesitlerinde vena sentralis çevresinde vakuolizasyonu Grup 2' ye göre kısmen azalmış hepatositler mevcut idi (Şekil 4.11). Ayrıca sinüzoidlerde hiperemi yaygınlığının fazla değişmediği saptandı. Rastgele fakat farklı kesit alanı incelemelerine göre Grup 3 hayvanları için uygulanan 50 mg/kg gallik asit dozunun karaciğerde meydana gelmiş olan I/R hasarına karşı tam olarak koruma sağlamadığı düşünüldü.

I/R + 100 mg/kg gallik asit grubu (Grup 4) hayvanlarına ait karaciğer kesitinde hem vena sentralis çevresinde hem de buradan daha uzakda yani karaciğer klasik lobülü çevresinde ve portal alanlarda bulunan hepatositlerde vakuolizasyonun oldukça azaldığı dikkat çekici bulundu (Şekil 4.12). Yapılan mikroskopik incelemelerde kesitlerin benzer bölgelerinde Grup 2' de tespit edilen vakuolleşme, hiperemi ya da sinusoidal kojesyonların neredeyse hiç oluşmadığı dolayısıyla gallik asitin 100 mg/kg uygulanan dozunun total karaciğer I/R hasarına karşı koruyucu olabileceği düşünüldü.

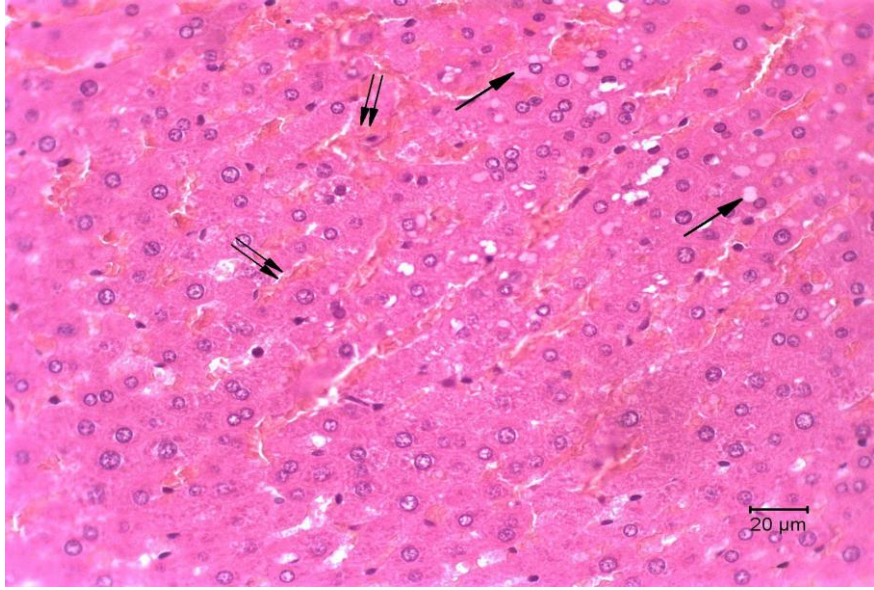
I/R + 200 mg/kg gallik asit grubu (Grup 5) hayvanlarına ait karaciğer kesitlerinde yapılan detaylı incelemelerde Grup 5' in Grup 1 ve Grup 4 ile benzer görünümlere sahip olduğu tespit edildi (Şekil 4.13). Grup 5' de de vena sentralis çevresinde düzgün görümlü hepatositler alanlara hakim durumdaydı. Hiperemi ve vakuolizasyon gibi histopatolojik görünümlerin son derece azalmış olduğu saptandı.



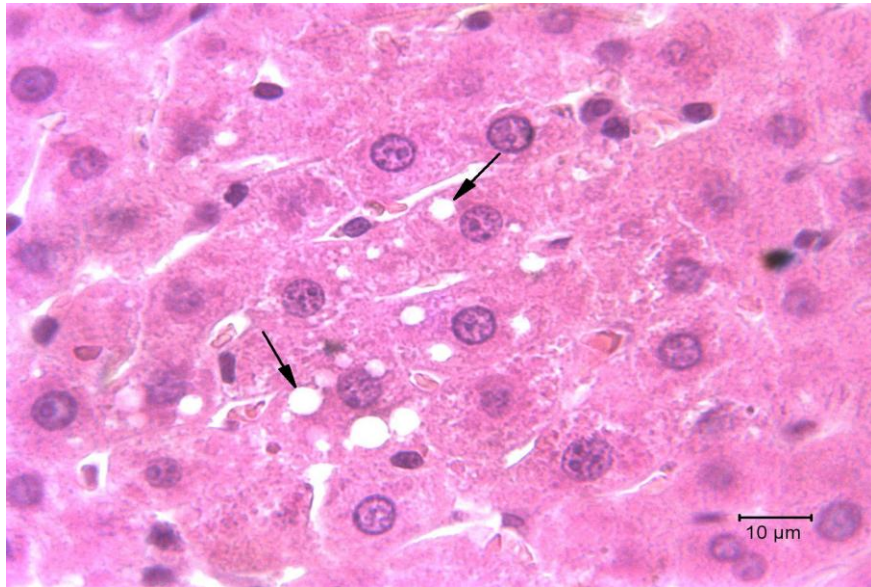
Şekil 4.7 Kontrol grubu (Grup I) hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena sentralis (V) ve çevresinde remark plaklarını oluşturan düzgün görümlü hepatositlerin görünümü (↗), H&E.



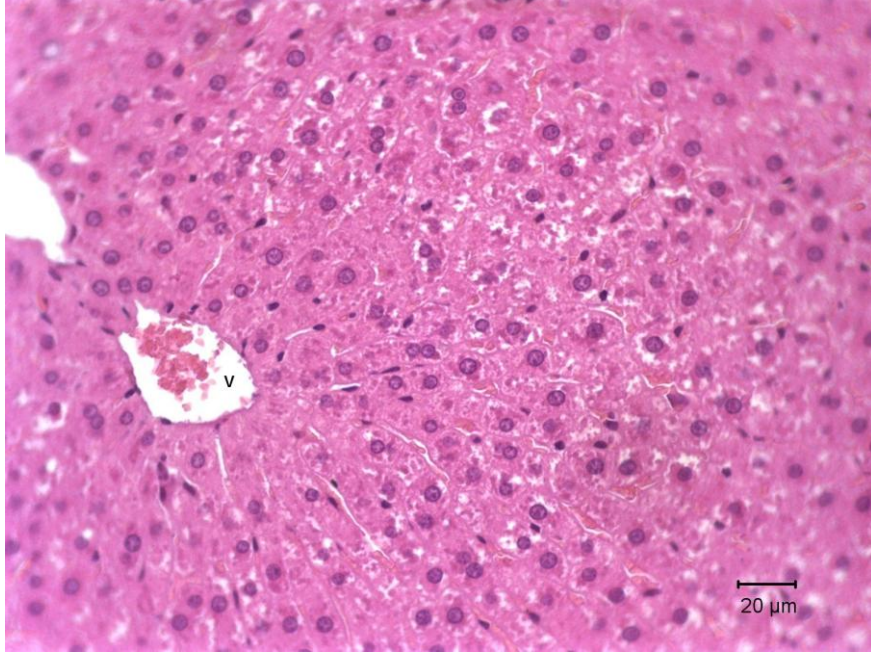
Şekil 4.8 I/R grubu (Grup 2) hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena sentralis (V) ve çevresindeki hepatositlerde yaygın vakuolizasyon (↗), H&E.



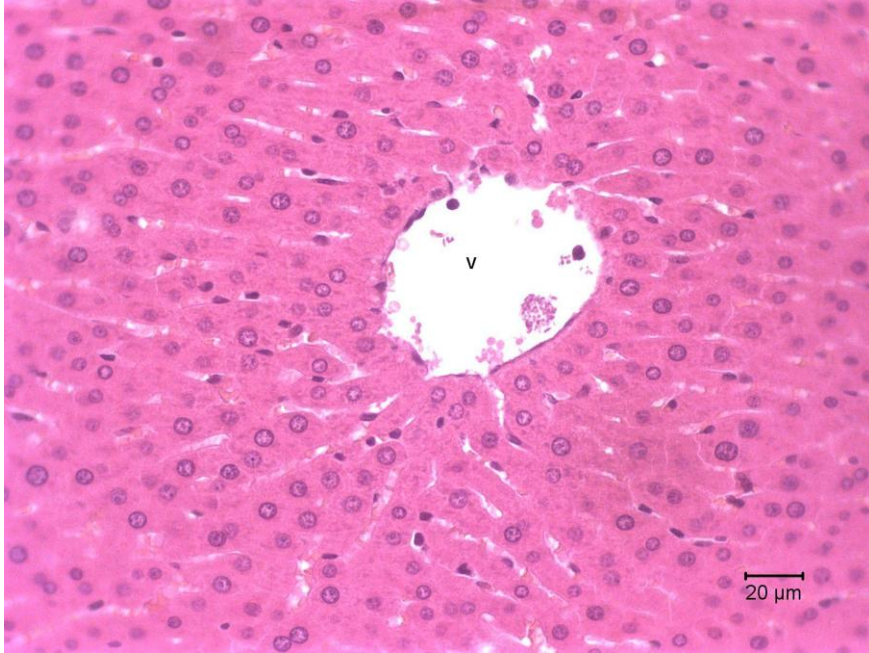
Şekil 4.9 I/R grubu (Grup 2) hayvanlarının karaciğer parankimi hepatositlerinde vakuolizasyon (↗) ve sinuzoidlerde yaygın hiperemi (↗),H&E.



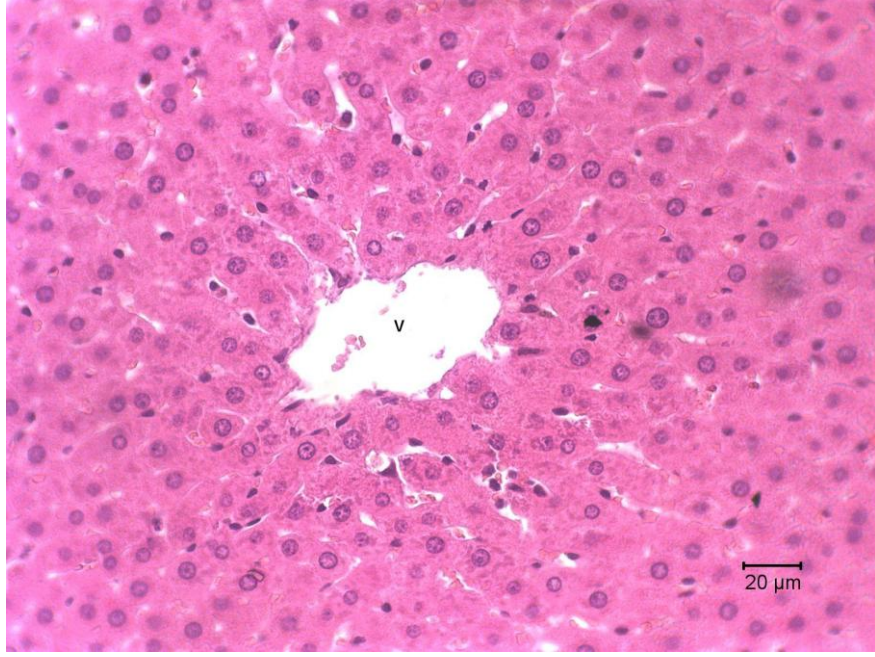
Şekil 4.10. I/R grubu (Grup 2) hayvanlarının karaciğer parankimi hepatositlerinde vakuolizasyonun ayrıntılı görünümü (↗),H&E.



Şekil 4.11 I/R+ 50 mg/kg gallik asit grubu (Grup 3) hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena sentralis (V) çevresinde vakuolizasyonu kısmen azalmış hepatositlerin görünümü. H&E.



Şekil 4.12 I/R + 100 mg/kg gallik asit grubu (Grup 4) hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena sentralis (V) çevresinde düzgün görümlü hepatositlerin görünümü. H&E.



Şekil 4.13. I/R + 200 mg/kg gallik asit grubu (Grup 5) hayvanlarına ait karaciğer kesitinde vena sentralis (V) çevresinde düzgün görümlü hepatositlerin görünümü. H&E.

5. TARTIŞMA

İskemi bir organ veya dokuya kan akımının kesilmesi durumudur. Bu durum hücre enerji düzeyinin düşmesi ve toksik metabolitlerin birikimine yol açar daha sonraki süreç hipoksiye maruz kalan organın tekrar oksijenlenmesi olan reperfüzyondur. Reperfüzyon hücrenin ölümü ve organ fonksiyon bozukluklarına yol açan bir dizi reaksiyonu başlatır (14). Bu hasarlanmada en önemli rolü reperfüzyon süreci oynamaktadır. Reperfüzyon hasarı sonucu oluşan organ fonksiyon bozuklukları organdan organa değişebilmekle beraber hasardan serbest oksijen radikallerinin sorumlu olduğu belirlenmiştir. Yapılan bazı çalışmalara göre I/R'ye bağlı karaciğer hasarında serbest oksijen radikallerinin birincil derecede etkin olduğu düşünülmektedir (23).

Bu bölümde, sıçanlar üzerinde uyguladığımız I/R işlemi sonrasında oluşan hasara karşı bir çok farmakolojik ve biyokimyasal olaylarda etkin aktiviteye sahip doğal fenolik bir antioksidan olan gallik asit'in (3,4,5-trihidroksibenzenik asit) olası koruyucu etkisi, serum ALT, AST ve LDH enzim aktiviteleri ile karaciğer doku homojenat örneklerinde, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA düzeyi, hücre içi (endojen) antioksidan enzimlerden KAT ve GPx aktiviteleri ve histolojik olarak karaciğere olan etkileri yönünden bulgular da göz önünde bulundurularak tartışılacaktır.

5.1. Serum Enzim Aktivitelerine Etkileri

I/R hasarı sonrasında, karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için farklı yöntemler kullanılabilir. Ancak; bugün için bunların en çok kullanılanı ALT, AST ve LDH aktivitesi tayinidir. Karaciğer hasarı sonucu bu enzim aktivitelerinin arttığı bilinmektedir. Karaciğerde; I/R hasarı sonrasında, ALT ve AST düzeylerinin artışının I/R sonrası oluşan serbest radikal kaynaklı doku hasarına bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (90).

Çalışmamızda alınan kan örneklerinin serumlarında; karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek amacı ile ölçülen karaciğer enzimlerinden ALT düzeyi için kontrol ile

diğer gruplar karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı bulundu ancak görülen bu artış 2. ve 3. Gruplarda 1., 4. ve 5. Gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Tedavi gruplarından 100 mg/kg gallik asit verilen 4. Grup ve 200 mg/kg gallik asit verilen 5. Gruptaki ALT düzeyi 2. ve 3. Gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha düşük bulunması gallik asitin koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir.

AST düzeyi bakımından kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan farklı bulundu. AST düzeyinde görülen artış 2. ve 3. Gruplarda 1., 4. ve 5. Gruba göre daha yüksek bulundu. Tedavi grubu olan 4. ve 5. Gruplarda görülen AST düzeyinin 2. ve 3. Gruba göre anlamlı derecede düşük bulunması yine doku hasarının bu gruplarda daha az olduğunu göstermektedir.

LDH düzeyi kontrol ile diğer gruplar arasında anlamlı derecede farklı bulundu. 2. Gruptaki artış kontrol ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulundu. Aynı şekilde 3. Gruptaki artış kontrol ve diğer gruplar karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklılık gösterdi. 4. ve 5. Gruplardaki LDH düzeyi 2. ve 3. Gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük bulunması yine doku hasarının 100 ve 200 mg/kg gallik asit uygulanan gruplarda daha az olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda ALT, AST ve LDH düzeyleri bakımından I/R grubu olan 2. Grupta gözlenen artış, Topaloğlu ve ark yaptığı 30 dakikalık iskemi sonrası %70 hepatoktemi uygulanan I/R grubunda serum ALT, AST ve LDH düzeyinde gözlenen artış ile uyumlu bulundu (82). Karaciğer I/R hasarına karşı karvakrol'un etkisine bakılan bir çalışmada I/R grubuna ait ALT ve AST düzeylerindeki artış çalışmamızla uyumlu bulundu (16). Hepatotoksik bir bileşik olan karbon tetraklorit'in (CCl₄) sıçanlarda 1.5 ml/kg (i.p) tek doz uygulaması sonucu gelişen karaciğer hasarına karşı gallik asitin 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarının ALT ve AST düzeylerinde CCl₄ uygulanan gruba göre düşük bulunması bizim de çalışmamızda tedavi edici doz olarak uyguladığımız 50, 100 ve 200 mg/kg dozların uygulandığı gruplarımızın sonuçları ile uyumlu bulundu (36). Yine aynı çalışmada 200 mg/kg gallik asit daha etkin bulunurken, bizim çalışmamızda da 100 ve 200 mg/kg gallik asit dozları ALT ve AST düzeyine etkisi yönünden karşılaştırıldığında aralarında belirgin farklılık görülmedi (36).

5.2. MDA düzeyi ile KAT ve GPx Enzim Aktivitelerine Etkileri

I/R işleminin sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkilediği yapılarından biri de lipidlerdir. Serbest oksijen radikalleri üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinden bir hidrojen atomu alarak lipid peroksidasyonuna ve sonuçta hidroperoksitlerin oluşumuna neden olur. Bu reaksiyonlar membran bütünlüğünün bozulmasına, iyon geçirgenliği ve enzim aktivitesinin değişimine ve kaçınılmaz bir şekilde hücre ölümüne sebep olur. Aynı zamanda inflamatuvar olaylar başlar ve hasarın şiddeti oldukça artar (38, 42,78).

Çalışmamızda tüm deney gruplarında lipid peroksidasyon artışının bir göstergesi olan MDA düzeyi belirlendi. Kontrol grubuna göre, 2. Grup, 3. Grup, 4. Grup ve 5. Grupta MDA düzeyinde artış gözlemlendi. Bu artış istatistiksel açıdan kontrole göre anlamlı bulundu. 2. Gruptaki ve 3. Gruptaki artış kontrol ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulundu. 4. ve 5. Grup MDA düzeyi 2. ve 3. Gruba göre anlamlı derecede düşük bulundu. Bu durum tedavi edici 100 ve 200 mg/kg gallik asitin lipid peroksidasyon artışını azaltıcı yönde etki ettiğini göstermektedir. Oue MB ve arkadaşları sıçanlarda sarızambak bitkisinden ekstrakte edilen gallik asitin sıçan karaciğerinde ve kanında lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (28). Yapılan bir diğer çalışmada gallik asitin 100 ve 200 mg/kg dozlarının CCl₄'in neden olduğu MDA düzey artışını azaltıcı yöndeki etkisi ve 50 mg/kg dozun etkinliğinin düşük olduğu sonucu bulgularımızla uyumlu bulundu (36). Sıçan karaciğer I/R uygulaması bakımından bizim çalışmamıza benzer bir çalışmada I/R sonrası belirlenen MDA düzeyindeki artış bulgularımızla uyumlu bulundu (23).

Oksijenli solunum yapan tüm canlı gruplar normal metabolizmaları sırasında vücutta oluşan serbest oksijen radikalleri kaynaklı toksik metabolitlere maruz kalırlar. Bunlar da özellikle DNA, lipid ve proteinlere saldırarak normal hücresel işlevi bozarlar. Oluşan bu oksidan moleküllerle mücadelede üzerinde durulacak esas girişim ise belirli düzeyi aşmış oksidanlara direkt olarak etki edip onları inaktif hale getiren

antioksidanlardır (21). İnsanda belli başlı hücre içi antioksidanlar SOD, KAT ve GPx enzimleridir. Hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan ise en bilinen E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, bilirubin, β -karoten gibi maddeler sorumludur (21,33). Bu antioksidan maddelere yapılan bilimsel araştırmalar sayesinde her geçen gün artan yenileri katılmaktadır. Biz de bu amaçla hücre içi antioksidan kapasiteye hücre dışı antioksidan etkinliğini değerlendirmek için üzerinde halen çalışmaların devam ettiği gallik asit'in olası koruyucu etkisini belirlemeye yönelik çalıştık.

Çalışmamızda kontrol grubuna göre KAT aktivitesi 2. Grup ve 3. Grupta azalma, 4. Grup ve 5. Grupta ise artış şeklinde gözlendi. 2. Grup, 3. Grup ve 4. Grupta istatistiksel açıdan kontrole göre farklılık bulunurken, 5. Grupta istatistiksel açıdan kontrole göre farklılık bulunmadı. 2. Grup ve 3. Grupta görülen azalma I/R hasarına bağlı olarak hücre içi antioksidan savunmanın zayıfladığını buna karşılık 4. Grup ve özellikle 5. Grupta görülen artış özellikle 2. Gruptaki azalma ile karşılaştırıldığında I/R hasarına karşı gallik asitin antioksidan etkinliğini göstermesi açısından önemli bulundu. Karaciğer I/R hasarına karşı karvakrol'un etkisine bakılan bir çalışmada I/R grubuna ait KAT aktivitesindeki azalma çalışmamızla uyumlu bulundu (16). Yine başka bir çalışmada CCl₄ hepatoksisiteye karşı birlikte kullanılan gallik asitin KAT aktivitesinde gösterdiği artış bizim bulgularımızı destekler niteliktedir (76).

GPx mekanizması çok önemli antioksidan savunma mekanizmalarından biridir (23). GPx karaciğerde en yüksek olmak üzere; kalp, akciğer ve beyinde daha az, kasta ise en az olacak şekilde aktivite gösterir. GPx aktivitesindeki azalma H₂O₂ düzeylerinin yükselmesine ve dolayısı ile hücre hasarına neden olmaktadır (83).

Çalışmamızda kontrol grubuna göre 2. Grup ve 3. Grupta GPx aktivitesinde azalma 4. Grup ve 5. Grupta ise artış gözlendi. Grup 2 ve Grup 3 istatistiksel açıdan kontrole göre anlamlı derecede farklı bulunurken, Grup 4 ve Grup 5 'de istatistiksel açıdan kontrole göre karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Kimyasal hepatotoksositeye karşı *Acacia confusa* Merr (Leguminaceae) bark ekstraktı ve bunun etken bileşeni olan gallik asit'in koruyucu etkisinin bakıldığı bir çalışmada (76) gallik asitin tedavi edici gruptaki artan GPx aktivitesi bizim çalışmamızda da özellikle başta 100 mg/kg gallik asitin kullanıldığı 4. Grup olmak üzere 5. Grupta da artmış aktivite bulgularımızla uyumlu bulundu. Ancak 50 mg/kg gallik asit uygulanan 3. Grubun tedavi edici etkinlikte bir aktivitesi bulunmadı.

5.3. Karaciğer Histolojisi Üzerine Etkileri

Karaciğer I/R; travma, karaciğer ameliyatı, organ nakli (transplantasyon) ve karaciğer hepatektomisi sonucu meydana gelir (53). Tüm bu işlemler sonucunda dokuda iskemi ve bunu takiben reperfüzyon gerçekleşir. Çalışmamızda I/R sonucu oluşan karaciğer hasarına; güçlü serbest radikal süpürücü ve antioksidant olan gallik asitin koruyucu etkileri incelendi. Buna göre; kontrol olarak tutulan 1. Grupta hepatosit hücreleri vena sentralis çevresinde düzgün parankimal bir yapıda gözlemlendi. I/R uygulanan 2. Grupta yaygın vakuolizasyon ve sinüzoidal kanama görüldü. Yapılan bir çalışmada karaciğer hepatositlerinde I/R sonrası vakuol oluşumu bildirilmiştir (16). Başka bir çalışmada karaciğer de iskemi sonrası vakuolizasyon ve hiperemi görüldüğü belirtilmiştir (6). Şener ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (68) bizim de uyguladığımız I/R süresi olan 45 dakika iskemi 60 dakika reperfüzyon sonrası sinüzoidlerde bozulma ve hepatositlerde vakuolizasyon olduğu bildirilmiştir. Bütün bu sonuçlar bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir. Çalışmamız sonunda 4. ve 5. Gruplarda vakuolizasyonun ve hipereminin görülmemesi gallik asitin 100-200 mg/kg bu dozların koruyucu olduğunu göstermektedir. 3. Grupta hepatositlerde kısmi vakuolizasyon azalmasını gallik asitin 50 mg/kg dozunun da kısmen etkili olduğunu söyleyebiliriz. Bir polifenol olan gallik asitin serbest radikal süpürücü, antimutajenik, antikansorejenik etkili olduğu bildirilmiştir (45). Serbest radikallerin karaciğer hasarını arttırdığı bilinmektedir. Hücre ve dokularda artan lipid peroksidasyon ise oksidatif stresin bir belirtisi olarak bilinir. Araştırmacılar lipid peroksidasyonun artmasını karaciğer patolojisiyle ilişkilendirmektedirler. Çalışmamızda gallik asitin I/R sonucu oluşturulmuş

hasarı lipid peroksidasyonu azaltarak önlediğini söyleyebiliriz (36). Yaptıkları çalışmalarda gallik asitin CCl₄ ile indüklenmiş böbrek ve karaciğerdeki hasara karşı koruyuculuğunun 200 mg/kg (p.o) olduğunu rapor etmişlerdir bu da bizim sonuçlarımızla paralellik göstermektedir. Sonuç olarak gallik asitin karaciğer I/R sonucu karaciğerde oluşan hasarı önlemede 100-200 arası dozun etkili olduğunu söyleyebiliriz.

6. SONUÇ

Çalışma sonucunda, yapılan birçok bilimsel araştırmanında bildirdiği gibi travma, karaciğer ameliyatı, organ nakli ve karaciğer hepatektomisi sonucu meydana gelen I/R olayının bir sonucu olan hasar verici etki, karaciğer fonksiyon bozukluklarını gösteren serum ALT, AST ve LDH enzim aktiviteleri ve karaciğer homojenatında ölçülen MDA düzeyi, KAT ve GPx enzim aktiviteleri ile histolojik bulgularımız yönünden değerlendirilerek tekrar doğrulandı.

I/R olayının bir sonucu olarak ortaya çıkan serbest radikallerin karaciğer hasarını arttırdığı bilinmektedir. Hücre ve dokularda artan MDA lipid peroksidasyonun, lipid peroksidasyonda oksidatif stresin bir belirteci olarak bilinir. I/R, kontrole göre, karaciğer fonksiyon bozukluklarını gösteren serum enzim aktivitelerini ve MDA düzeyini belirgin şekilde yükseltti, KAT ve GPx enzim aktivitelerini ise düşürdü. Lipid peroksidasyonundaki artışı da karaciğer patolojisiyle ilişkilendirmekteyiz. Çalışmamızda gallik asitin I/R sonucu artan lipid peroksidasyonunu azaltarak enzim düzeylerini ise dengeleyerek oluşan hasarı önleme veya önemli ölçüde azaltma yönünde etkisi olabileceğini söyleyebiliriz.

Tüm bulgularımızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre gallik asitin karaciğer I/R sonucu karaciğerde oluşan hasarı önlemede 100-200 mg/kg arası dozun etkili olduğunu söyleyebiliriz. Bu bulguların ışığında, gallik asitin daha üst düzeyde iyileştirici antioksidan etkisini ortaya koyabilmek için, verilen dozun ve pre ve post operatif kullanım süresi ile ilgili ileride yapılacak yeni çalışmaların, fenolik bir antioksidan olan bu maddenin daha da iyi anlaşılmasına olanak sağlayacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Abdo, E.E., Machado M.C., Cunha J.E., Bacchella T., Deluca F., Gama-Rodrigues J.J. Protective Effect Of N2-Mercaptopropionylglycine, On Liver During Ischemia/Reperfusion Process. Journal Of Gastrointestinal Surgery.
2. Akkuş, İ., 1995, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
3. Akpoyraz, M., Durak, İ., 1995, Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri , Ankara Tıp Mecmuası (The Journal Of The Faculty Of Medicine) Vol. 48: 253-262, s.
4. Altan, N., Sepici Dinçel, A., Koca, C., 2006, Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres, Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem] , 31 (2); 51-56 s.
5. Altun S., Özalpan A., 1998, Hepatektomi Oranı İle Rejenerasyon Arasındaki İlişki, İst.Tıp Fak. Mecmuası 61:4, s.
6. Araya, J., Tsuruma, T., Hirata, K., Yagihashi, A., Meguro, M., Kawakami, M., Yanai, Y., Watanabe, N., 2003, The regulation of HGF and TGF-beta by an angiotensin II type 1 receptor antagonist in hepatic ischemia-reperfusion injury. Transplant Proc. 35(1):107-110, p.
7. Arct, J., Oborska, A., Mojski, M., et al., 2003, Common Cosmetic Hydrophilic Ingredients As Penetration Modifiers Of Flavonoids, T Klin J Cosmetol, 4:25-35,p.
8. Aslan, R., 1999, Homeostatik Mekanizmanın Korunması ve Sağaltımda Antioksidanlar. İlaç ve Tedavi Dergisi, Cilt:12, Sayı:8, 475-480, s.
9. Atıcı A.E. , 2002, Parsiyel Karaciğer Rezeksiyonu Yapılan Sıçanlarda İntestinal İskemi Ve Reperfüzyonun Karaciğer İnterlökin-6 İçeriğine Etkileri. Uzmanlık Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Manisa
10. Bast, A., Haenen, G.R.M.M., Doelman, C.J.A., 1991, Oxidants and Antioxidants: State of the Art. AM. J. Medicine, 91(3), 2-13, p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

11. Başer, C., 2002, Fonksiyonel Gıdalar Ve Nutrasötikler, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs,31-44, s.
12. Başer, K.H.C., 2001, Her Derde Deva Bir Bitki, Bilim Ve Teknik, 74-77, s.
13. Baydar, H. , Sağdıç, O., Özkan, G., Karadoğan, T., 2003, Antibacterial Activity And Composition Of Essential Oils From Origanum, Thymbra And Satureja Species With Commercial İmportance İn Turkey.
14. Baykara, B., Tekmen, I., 2005, Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dergisi Cilt 19, Sayı 3, 185 – 194,s.
15. Cadenas, E., and Packer, L., 1996, Handbook of Antioxidants, New York: Marcel & Dekker.
16. Canbek, M., Uyanoglu, M., Bayramoglu, G., et al.,2008, Effects Of Carvacrol On Deffects Of İschemia-Reperfusion İn The Liver, Phytomedicine, 15(6-7): 447-452, p.
17. Christine, C., Winterbourn-Rosemary, E., Hawkins-Maureen, B., Carrell, R.W., 1975, The Estimation of Red Cell Superoxide Dismutase Activity. J.Lab. Clin Med, 85, 337-341, p.
18. Clemens, M.G., 1999, Nitric oxide in liver injury, Hepatology, 30:1–5,p.
19. Coşkun, T., 2005, Fonksiyonel Besinlerin Sağlığımız Üzerine Etkileri Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Dergisi 48: 69-84, s.
20. Cursio, R., Gugenheim, J., Ricci, J.E., Crenesse, D., Rostagno, P., Maulon, L., 1999, A caspase inhibitor fully protects rats against lethal normothermic liver ischemia by inhibition of liver apoptosis, FASEB J , 13: 253- 261, p.
21. Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., 1997, Reaktif Oksijen Partikülleri Ve Antioksidan Savunmatürk Nefroloji Diyaliz Ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal Of The Turkish Nephrology, Association 3-4: 92-95, s.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

22. Delibaş, N., Özçankaya, R., 1995, Serbest Radikaller, SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi, 2 (3): 11-17, s.
23. Demir, S., , Erden- inal , M., 1998, Pentoxifylline and *N*-acetylcysteine in hepatic ischemia / reperfusion injury, Clinica Chimica Acta, 275 , 127–135, p.
24. Dündar, Y., Aslan, R., 1999, Hücre Moleküler Statüsünün Anşılmasında ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller Antioksidanlar, Cerrahi Tıp Bilimleri Derg. İnsizyon, 2(2): 134-142, s.
25. El-Wahsh M, Seifalian AM, Fuller BJ et al. 2004, Induction of adhesion molecule expression in liver ischemiareperfusion injury is associated with impaired hepatic parenchymal microcirculation, British Journal of Surgery 91:1034–1039, p.
26. Erden, M., 1992, Serbest Radikaller, *T Klin Tıp Bilimleri*, 12, 201-207, s.
27. Fausto, N., 2000, Liver Regeneration. Journal Of Hepatology, 32 (Suppl. 1): 19-31, p.
28. Fei Que, M.B., Mao, L., Zheng, X., 2007, In Vitro And Vivo Antioxidant Activities Of Daylily Flowers And The İnvolve ment Of Phenolic Compounds, *Asia Pac J Clin Nutr* 16 ; 196-203, p.
29. Fisher, M.A., Eversole, R.R., Beuving, L.J., et al., 1997, Sinusoidal endothelial cell and parenchymal cell injury endotoxemia and hepatic ischemia-reperfusion: protection by the 21-aminosteroid tirilazad mesylate, International Hepatology Communications, 6:121-129, p.
30. Gao, W., Bentley, R.C., Madden, J.F., Clavien, P.A., 1998, Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of prevention of injury in rat liver transplantation, Hepatology, 27: 1652–1660, p.
31. Goth, L., 1991, A Simple Method For Determination Of Serum Catalase Activity And Revision Of Reference Range. Clinica Chimica Acta, 196, 143-152, p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

32. Güneş, H.V., 2006, Moleküler Hücre Biyolojisi, Kaan Kitabevi, 2. Baskı, Eskişehir, 493 s.
33. Halliwell, B., 1991, Drug antioxidant effects, *Drugs* , 42(4): 569 - 605.p.
34. Hou, Z., Yanaga, K., Kamohara, Y., Eguchi, S., Tsutsumi, R., Furui, J., Kanematsu, T. A., 2003, New Suppressive Agent Against Interleukin-1b And Tumor Necrosis Factor-A Enhances Liver Regeneration After Partial Hepatectomy In rats, *Hepatology Research* 1- 7, p.
35. Iijima, S., Sbou, J., Naama, H., Calvano, S.E., Daly J.M., 1997, Beneficial Effect Of Enteral Glycine In Intestinal Ischemia/Reperfusion Injury, *J.Gastrointest Surg*, 1:61-68, p.
36. Jadon, A., Bhadauria, M., Shukla, S., 2007, Protective effect of *Terminalia bellerica* Roxb. and Gallic acid against carbon tetrachloride induced damage in albino rats, *Journal of Ethnopharmacology* 109: 214–218, p.
37. Jaeschke, H., 2000, Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 15:718-724, p.
38. Jaeschke, H., Smith, C.W., Clemens, M.G., Ganey, P.A., Et Al., 1996, Mechanism Of Inflammatory Liver Injury: Adhesion Molecules And Cytotoxicity Of Neutrophils, *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 139; 213- 226, p.
39. Jang, A., Srinivasan, P., Lee, N.E., et al., 2008, Comparison of hypolipidemic activity of synthetic Gallic acid–linoleic acid ester with mixture of Gallic acid and linoleic acid, Gallic acid, and linoleic acid on high-fat diet induced obesity in C57BL/6 Cr Slc mice, *Chemico-Biological Interactions* 174 : 109–117 p.
40. Junqueira, L.C., Carneiro, J., 2003, *Basic Histology Text & Atlas*, Tenth Edition, USA: McGraw-Hill Companies, 332, p.
41. Kaibori, M., Sakakura, Y., Oda, M, Okumura, T., Kwon, A-H., and Kamiyama, Y., 2000, Role Of Hepatocyte Growth Factor In Hepatic Ischemia And Reperfusion Injury, *Transplantation Proceedings* 32, 2285–2286, p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

42. Kalender S, Kalender Y, Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Durak D, Açıkgöz F, 2002, Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology*, 202: 227-235, p.
43. Kaplowitz, N., 2000, Mechanisms of liver injury, *Journal of Hepatology*, 32:39–47,p.
44. Kohli, V., Selzner, M., Madden, J.F., Bentley, R.C., Clavien, P.A., 1999, Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver, *Transplantation* , 67: 1099–1105, p.
45. Krajka-Kuz'Niak, V., Baer-Dubowska, W.,2003, The Effects Of Tannic Acid On Cytochrome P450 And Phase Enzymes İn Mouse Liver And Kidney. *Toxicology Letters*, 143; 209 - 216, p.
46. Krishnaswamy, K., Sushil, K., 2000, Oxidative stres and apoptosis, *Pathophysiology* 27: 153-163,p.
47. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milosa, M., 2003, Use Of Different Methods For Testing Antioxidative Activity Of Oregano Essential Oil. *Food Chemistry*, Received
48. Kurt, H., 2003, Sıçanlarda Karbon Tetrakloritin Oluşturduğu Oksidatif Stresin Likopen İle Önlenmesi, Doktora Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 98 s.
49. Lentsch, A. B., Atsushi, K., Yoshidome, H., et al., 2000, Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ishemia/reperfusion injury, *Hepatology*, 32:169–173, p.
50. Martindale, J.L., Holbrook, N.J., 2002, Cellular response to oxidative stres: signaling for suicide and survival, *Journal of Cellular Physiology*, 192:1–15, p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

51. Mehmet, N., Tefvik, M., Akyo, Ö., 2000, Ülser ve Atrofik Gastritli Hastaların Mide Sularında Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutatyon Peroksidaz Aktiviteleri ve Malondialdehit Seviyesinin Tayini. Osmangazi Ü. Tıp Fak. Dergisi, Cilt: XXII, Sayı: 1, 9-26, s.
52. Mehmetoğlu, İ., Muhteşem Ünlü, C., Ökçe, R., Ark, 2005, Çay, Baharat Ve Bitki Kaynaklı Bazı Gıda Maddelerinin Flavonoid İçerikleri Ve Antioksidan Özellikleri, Türkiye Klinikleri J. Med. Sci, 25: 407- 411, s.
53. Montalvo-Jave, E.E., Escalante-Tattersfield ,T., Ortega-Salgado, J.A., Piña, E., Geller, D.A., 2008, Factors In The Pathophysiology Of The Liver Ischemia-Reperfusion Injury. J Surg Res, 147; 153-159, p.
54. Morisue, A., Wakabayashi, G., Shimazu, M., Tanabe, M., Mukai, M., Matsumoto, K., Kawachi, S., Yoshida, M., Yamamoto, S., and Kitajima, M., 2003, The Role Of Nitric Oxide After A Short Period Of Liver Ischemia–Reperfusion, Journal Of Surgical Research 109, 101–109, p.
55. Nadig, N. S., Periyasamy, B., Shafizadeh , S.F., et al., 2004, Hepatocellular ultrastructure after ischemia/ reperfusion injury in human orthotopic liver transplantation, Journal of Gastrointestinal Surgery ,8: 695–700, p.
56. Nakano, H., Yamaguchi, M., Kaneshiro, Y., Yoshida, K., Kigawa, G., Nagasaki, H., Fujiwara , Y., Matsumoto, F., Kitamura, N., Sasaki, J., Kuzume, M., Takeuchi, S., and Kumada, K., 1998, S-Adenosyl-L-Methionine Attenuates Ischemia–Reperfusion Injury Of Steatotic Livers, Transplantation Proceedings. 30, 3735–3736 p.
57. Okatani, Y., Wakatsuki, A., Reiter , J.R., Enzan, H., Miyahara, Y., 2003, Protective effect of melatonin against mitochondrial injury induced by ischemia and reperfusion of rat liver, European Journal of Pharmacology, 469:145–152, p.
58. Okaya, T., Lentsch, A., 2003, Cytokine cascades and the hepatic inflammatory response to ischemia and reperfusion, Journal of Investigative Surgery ,16:141–147, p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

59. Onat, T., Emerk, K., 1996, Temel Biyokimya. Saray Medikal Yayıncılık, 1.Baskı, 2.Cilt, Bornova/İzmir.
60. Özdemir, G., 1993, Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP) (Oksidan Moleküller, Serbest Radikaller). Roche Bilimsel Eserler Serisi, 20-26, İstanbul.
61. Öztürk, F., 2002, Apoptoz, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9: 143-148,s.
62. Priscilla, H.D., Prince, S.M., 2009, Cardioprotective effect of Gallic acid on cardiac troponin-T, cardiac marker enzymes, lipid peroxidation products and antioxidants in experimentally induced myocardial infarction in Wistar rats, Chemico-Biological Interactions .
63. Raghavan, S.A.V., Dikshit, M., 2004, Vascular regulation by the L-arginine metabolites, nitric oxide and agmatine. Pharmacological Research ,49:397–414, p.
64. Rudiger, H., Clavien, P.A.,2002, Tumor necrosis factor-alpha, but not Fas, mediates hepatocellular apoptosis in the murine ischemic liver. Gastroenterology,122:202– 210, p.
65. Rudiger, H.A., Graf, R., Clavien, P.A., 2003, Liver ischemia: Apoptosis as a central mechanism of injury. Journal of Investigative Surgery ,16:149–159, p.
66. Sahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Agar, G., Özer, H., 2003, Biological Activities Of The Essential Oils And Methanol Extract Of Origanum Vulgare Ssp. Vulgare İn The Eastern Anatolia Region Of Turkey. Food Control.
67. Sarıkaya, O., 2005, Funguslar İle Gallik Asit Üretiminde Çeşitli Bitkisel Atıkların Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,Biyoloji Anabilim Dalı, 120 Sayfa.
68. Sener, G., Tosun, T., Şehirli, A.Ö., Kacmaz, A., Arbak, S., Y., Ersoy, Ayanoglu-Dulger, 2003, G. Melatonin And N-Acetylcysteine Have Beneficial Effects During Hepatic İschemia And Reperfusion, Life Sciences, 72 2707–2718, p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 69.** Seo, M.Y., Lee S.M., 2002, Protective Effect Of Low Dose Of Ascorbic Acid On Hepatobiliary Function İn Hepatic İschemia/Reperfusion İn rats. *Journal Of Hepatology* 36, 72–77, p.
- 70.** Shah, P.C., Brolin, R.E., Amenta, P.S., Deshmukh, D.R., 1999, Effect Of Aging On İntestinal İschemia And Reperfusion İnjury. *Mechanisms Of Ageing And Development* 107, 37–50, p.
- 71.** Shinoda, M., Shimazu, M., Wakabayashi, G., Tanabe, M., Hoshino, K., Kitajima, M., 2002, Microcirculation, tumor necrosis factor, and ischemic/reperfusion injury of the liver. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 17,1211–1219, p.
- 72.** Slavikova, H., Lojek, A., Hamar, J., Duskova, M., Kubala, L., Vondracek, J. And Milan C., 1998, Total Antioxidant Capacity Of Serum Increased In Early But Not Late Period After İntestinal İschemia İn rats. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 25, No. 1, 9–18, p.
- 73.** Sökmen, A., Güllüce, M., Akpulat, H.A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sökmen, M., Şahin , F., 2003, The İn Vitro Antimicrobial And Antioxidant Activities Of The Essential Oils And Methanol Extracts Of Endemic Thymus Spathulifolius.
- 74.** Şener, G., Tosun, O., Şehirli, Ö., et al, 2003, Melatonin and Nacetylcysteine have beneficial effects during hepatic ischemia and reperfusion. *Life Sciences*, 72: 2707-2718, p.
- 75.** Tang Tung, Y., Wu, J.H., Huang, C., Et Al., 2009, Protective Effect Of Acacia Confusa Bark Extract And İts Active Compound Gallic Acid Against Carbon Tetrachloride-İnduced Chronic Liver İnjury İn rats, *Food And Chemical Toxicology* 47 ; 1385–1392, p.
- 76.** Tang, T.X., Hashimoto, T., Chao, L.Y., Itoh, K., and Manabe, T., 1997, Effects Of Partial Pancreatectomy On Liver Regeneration İn rats. *Journal Of Surgical Research* 72, 8–14, p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

77. Tappel, A. L., 1973, Lipid Peroxidation Damage To Cell Components, 32; 1870-1874, p.
78. Tekeli, Y., Sezgin , M., 2007, Centaurea carduiformis (Peygamber Çiçeği)'İN Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi, SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi, Fen Dergisi (E-Dergi). 2(2), 204-209, s.
79. Tekeli, Y., Sezgin, M., Sanda, A., 2008, Konya'da Yetişen Centaurea pterocaula truatv. 'in Fenolik Yapısı Ve Antioksidan Etkisi, SDU Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi (E-Dergi), 3(1), 35-41, s.
80. Tomatır, A.G., 1998, Diflunisalin Değişik Dozlarının, Sıçan karaciğer, Böbrek ve Kanında; Katalaz Aktivitesi ve Malondialdehit Düzeylerine Etkisi. Doktora Tezi, T.C. O.G.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
81. Topaloğlu, S., Abbasoğlu, O., Ayhan, A., Sökmensuer, C., Kılınç, K.,2003, Antiapoptotic and protective effects of roscovitine on ischemia- reperfusion injury of the rat liver. Liver International, 23: 300-307, p.
82. Topaloğlu, U., Odabaşo, M., Güran, M., Özcan, A., Ark., 1999, Karaciğer Rezeksiyonu Esnasında Sürekli İskemi- Reperfüzyon Hasarı Ve Prostaglandin E₂ 'Nin Rolü, Ulusal Travma Dergisi, 5; 67-73, s.
83. Toros, D. U., 2005, Kronik Hemodiyaliz Hastalarında Raloksifen Kullanımının Serbest Radikal Formasyonu Ve Lipid Profili Üzerine Etkisi , 2005, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı, 95 s.
84. Toyokuni, S., 1999, Reactive oxygen species- induced molecular damage and its application in pathology. Pathology International, 49- 91,p.
85. Tsuchiya, T., Abe, T., Saito, T., et al, 1998,Induction of immediate early genes and apoptosis after ischemia/reperfusion in fatty liver rats. Transplantation Proceedings, 30: 2919–2922, p.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 86.** Tunalıer, Z., Öztürk, N., Koşar, M., ark., 2002, Bazı *Sideritis* Türlerinin Antioksidan Etki Ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs, 130- 138, s.
- 87.** Uchiyama, M., Mihara, M., 1978, Determination Of Malonaldehyde Precursor İn Tissues By Thiobarbituric Acid Test. Analytical Biochem, 86, 279-286, p.
- 88.** Watanabe, M., Yamaguchi, K., Chijiwa, K., and Tanaka, M., 2001, Fr167653 Improves Survival And Pulmonary Injury After Partial Hepatectomy Under Ischemia/Reperfusion İn rats, Journal Of Surgical Research 101, 146–151, p.
- 89.** Wilhelm, M.J., Pratschke, J., Laskowski, I., et al, 2003, Ischemia and reperfusion injury transplantation Reviews ,17: 140–157,p.
- 90.** Yabe, Y., Kobayashi, N ., Nishihashi, T., Takahashi, R., Nishikawa, M., Tkakura, Y., Et Al., 2001, Prevention Of Neutrofil- Mediated Hepatic İschemia – Reperfusion İnjury By Superoxide Dismutase And Catalase Derivates,J. Pharmacol. Exp.Ther., 298; 894- 899, p.
- 91.** Yilmaz, Y., Toledo, R.T., 2004, Health aspects of functional grape seed constituents, Trends in Food Science & Technology, 15: 422-433 p.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı soyadı : Gökhan BAYRAMOĞLU
Doğum Tarihi ve yeri : 15.06.1973 MALATYA
Uyruğu : T.C
Medeni Durumu : Evli
İletişim adresleri : gokhanb@ogu.edu.tr, gbayramoglu@artvin.edu.tr

Eğitim Durumu

İlkokul : Mustafa Urcan İlköğretim Okulu İZMİR
Ortaokul : Atatürk Orta Okulu ESKİŞEHİR
Lise : Atatürk Lisesi ESKİŞEHİR
Üniversite : Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü ESKİŞEHİR
Yüksek Lisans : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR
Doktora : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR
Yabancı Dil : İngilizce

Üye olunan Bilimsel Kuruluşlar

Türkiye Biyoloji Derneği

Yayımlar

Poster : YAMAÇ, M., KANBAK, G., TAŞKIN, H.Y., SENTURK, H. and **BAYRAMOĞLU, G.**, Antidiabetic Effects of *Lentinus strigosus* (Schwein.)

Fr. (Polyporaceae) Crude Exopolysaccharide in Streptozotocin (STZ)-induced Diabetic rats, XV. Congress of European Mycologists, 16-21 September 2007, Saint Petersburg, Russia, 2007.

CANBEK M., DEMİR T.A., UYANOGLU M., **BAYRAMOĞLU G.**, EMİROĞLU O., ARSLAN N., KOYUNCU O. : Porsuk Çayı (Eskişehir) ve Cyprinidae Türlerinde Ağır Metal Düzeylerinin Belirlenmesine Yönelik Ön Araştırmalar, XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu 04-07 Eylül 2007, 17, Muğla Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Muğla.

BAYRAMOĞLU, G ., ÖZDEN, H.,KABAY, Ş., OLGUN, E.G., ÖZTÜRK, N., ŞENTÜRK, H., KUTLU, A., BİLGİ, G., ÖZKAL, B.: *Hypericum montbretii*'nin Sıçanlarda Deneysel Renal İskemi/Reperfüzyon Hasarı Modelinde Koruyucu Etkisi, 19. Ulusal Biyoloji Kongresi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon, 23-27 Haziran, 2008.

CANBEK, M., ŞENTÜRK, H., KOLONKAYA , D., **BAYRAMOĞLU, G .**, SORKUN, K., ÖZKÖK TÜYLÜ, A.: Besinlerle Birlikte Alınan Polenin Albino Sıçanlar Üzerine Olası Etkileri, 19. Ulusal Biyoloji Kongresi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon, 23-27 Haziran, 2008.

Sözlü Bildiri :

YAMAÇ, M., ZEYTİNOĞLU, M., KANBAK, G., **BAYRAMOĞLU, G.** and SENTURK, H., Antidiabetic Activities of Crude Exopolysaccharides Produced by Three Mushroom Isolates in Streptozotocin (STZ)-induced Diabetic rats, XV. Congress of European Mycologists, 16-21 September 2007, Saint Petersburg, Russia, 2007.

ÖZKAL, B., AYHANCI, A., ÖZDEN, H., ŞENTÜRK, H., **BAYRAMOĞLU, G.:** Silymarin'in Sıçanlarda Deneysel Renal İskemi/Reperfüzyon Hasarı Modelinde Koruyucu Etkisi, 19. Ulusal Biyoloji Kongresi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon, 23-27 Haziran, 2008.

Makale :

YAMAC, M., ZEYTINOGLU, M., KANBAK, G., **BAYRAMOĞLU, G.,** SENTURK, H., Hypoglycemic Effect of Crude Exopolysaccharides Produced by *Cerrena unicolor* (Bull.) Murrill (Polyporaceae), *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers. (Agaricaceae), and *Lenzites betulina* (L.) Fr. (Polyporaceae) Strains in Streptozotocin-Induced Diabetic rats, *Pharmaceutical Biology*, 2009; 47(2): 168–174.

YAMAC, M., KANBAK, G., ZEYTINOGLU, M., **BAYRAMOĞLU, G.,** SENTURK, H., UYANOGLU, M., Hypoglycaemic effect of *Lentinus strigosus* (schwein.) Fr. crude exopolysaccharide in streptozotocin induced diabetic rats, *Journal of Medicinal Food, J Med Food*. 2008, 11(3) 513-517.

CANBEK M., UYANOGLU M., **BAYRAMOGLU G.**, SENTURK H., ERKASAP N., KOKEN T., USLU S., ARAL E., DEMIRUSTU C., BASER KHC. : Effects of carvacrol on deffects of ischemia-reperfusion in the liver, Phytomedicine, 2008, 15(6-7): 447-452.

SENTURK H, KABAY S, **BAYRAMOGLU G**, OZDEN H, YAYLAK F, YUCEL M, OLGUN EG, KUTLU A.: Silymarin attenuates the renal ischemia/reperfusion injury-induced morphological changes in the rat kidney. World J Urol. 2008. 26(4): 401-407.

Bilimsel Etkinlikler

Bilimsel Toplantı (Kongre)

Düzenleme Kurulu Üyeliği : .

Katılan kurslar

ve eğitim

: ESOGÜ Tıp Fakültesi Tıbbi-Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TICAM) 29 Eylül-1Ekim 2003 tarihleri arasında düzenlenen “II. Deneysel Hayvan Çalışmaları Temel Eğitim Günleri” teorik ve pratik uygulama kursu.