

**Renal İskemi-Reperfüzyonu Sırasında Sıçan Böbreğinde Oluşan Oksidatif Stres  
Hasarına Silimarin ve Likopen Etkisi**

Hakan Şentürk

**DOKTORA TEZİ**

Biyoloji Anabilim Dalı

NİSAN 2008

**The Effect of Silymarin and Lycopene During İschemia Reperfusion- İnduced  
Oxidative Stress in The Rat Kidney**

Hakan Şentürk

**DOCTORAL DISSERTATION**

Department of Biology

April 2008

**Renal İskemi-Reperfüzyonu Sırasında Sıçan Böbreğinde Oluşan Oksidatif Stres  
Hasarına Silimarin ve Likopen Etkisi**

Hakan Şentürk

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Genel Biyoloji Bilim Dalında  
DOKTORA TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Yalçın Şahin

Nisan 2008

Hakan ŞENTÜRK' ün DOKTORA tezi olarak hazırladığı “**Renal-İskemi Reperfüzyonu Sırasında Sıçan Böbreğinde Oluşan Oksidatif Stres Hasarına Silimarin ve Likopen Etkisi**” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Üye : Prof. Dr. Yalçın ŞAHİN

Üye : Prof. Dr. Dürdane KOLANKAYA

Üye : Prof. Dr. Őehnaz BOLKENT

Üye : Doç. Dr. Güldeniz SELMANOĞLU

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mediha CANBEK

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Abdurrahman KARAMANCIOĞLU

Enstitü Müdürü

## ÖZET

İskemi reperfüzyon hasarı birçok patofizyolojik süreçten meydana gelen karmaşık olaylar dizisidir. Serbest radikaller, tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküllerle kolayca elektron alışverişi yapabilir veya onlarla birleşebilirler. Böylece diğer moleküllerin yapı ve fonksiyonlarını değiştirebilir, hatta pek çok dokuda hücre hasarı meydana getirebilirler.

Antioksidanlar hem direkt hem de dolaylı olarak hücre içerisinde meydana gelen toksik radikal reaksiyonların oluşturduğu oksidatif hasarın olumsuz etkilerine karşı hücreleri koruyan moleküllerdir. İskemi sırasında meydana gelen serbest radikallerin etkisinden korunmak için antioksidan maddeler kullanılabilir. Silimarin ve likopen gibi antioksidan özelliğe sahip maddeler hücre koruyucu özelliğe sahiptirler. Bu çalışmada deney hayvanlarına 45 dakika sıcak iskemiye takip eden 6 saatlik reperfüzyon süresinde oluşan oksidatif stres kaynaklı hücresel hasarın likopen (2.5, 5 ve 10 mg/kg dozlarda) ve silimarin (50 ve 100 mg/kg dozlarda) ile olası koruyucu rolü araştırıldı.

Bu çalışmada;

- Kan; nötrofil, lenfosit, toplam lökosit ve eritrosit değerleri,
- Serum; kreatinin, üre ve ürik asit değerleri ile alanin amino transferaz, aspartat amino transferaz ve laktat dehidrogenaz enzimleri,
- Böbrek malondialdehit miktarı ile hücresel antioksidan enzimler olan katalaz, glutatyon ve süperoksit dismutaz enzimlerindeki önemli değişiklikler araştırıldı.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar, böbrek iskemi reperfüzyonu sırasında likopen uygulamasının özellikle 2,5 mg/kg'lık dozunda, meydana gelen hücresel hasarı azaltabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: İskemi reperfüzyon, böbrek, likopen, silimarin sıçan.

## SUMMARY

Ischemia-reperfusion injury is a complex chain of events consisting of many pathophysiological processes. Free radicals, due to a missing electron, can easily transfer electrons to other molecules or combine with them. As a result, they can modify the structure and functions of other molecules; moreover, they may cause cell damage on many tissues.

Antioxidants are molecules that protect the cells, both directly and indirectly, against the harmful effects of the oxidative injury caused by toxic radical reactions occurring inside the cell. Antioxidants can be used to protect the cells against the effects of free radicals forming during Ischemia. Antioxidants such as silymarin and lycopene have cell-protection characteristic. This study assessed the potential protective role of lycopene (2.5, 5 and, 10 mg/kg doses) and silymarin (50 and 100 mg/kg doses) on oxidative stress based cell damage occurred as a result of 6-hour reperfusion following 45-minute warm ischemia in test animals.

In this study

- Blood values (neutrophil, lymphocyte, total leukocyte and erythrocyte),
- Serum; creatinin, ure and uric acid values and, alanin aminotransferase, aspartat aminotransferase and lactate dehydrogenase enzymes,
- Renal malondialdehyde value and significant changes in the amount of katalase, glutattion and superoxide dismutase enzymes which are cellular antioxidant enzymes were assessed.

The results of the study have pointed out that lycopene administration (especially on 2,5 mg/kg dose) can reduce cellular damage occurred during renal ischemia-reperfusion.

Keywords: Ischemia-reperfusion, kidney, lycopene, silymarin, rat.

## TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarında, gerek derslerimde ve gerekse tez çalışmalarında, bana danışmanlık ederek, beni yönlendiren ve her türlü olanağı sağlayan ve bilimsel olarak ilerlememde çok büyük emekleri bulunan danışmanım Sayın Prof. Dr. Yalçın ŞAHİN ve ikinci danışmanım Sayın Prof. Dr. Dürdane KOLANKAYA hocalarıma teşekkür ederim. Bununla birlikte yapmış olduğum çalışmanın başından son aşamasına kadar olgunlaşmasında emeklerini esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Mediha CANBEK, Prof. Dr. M. Turan AKAY, ve Doç. Dr. Güldeniz SELMANOĞLU'na da sonsuz teşekkürler ederim.

Bu tezin ortaya çıkmasında hem çalışma ortamı hem de laboratuvarın uygun bir şekilde düzenlenerek gerekli tüm teknik ve kimyasal malzeme desteğini esirgemeyen Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Rektörlüğü ile ilgili tüm birimlerine teşekkür ederim.

Doktora tezimin tüm aşamalarında bana zaman, emek, anlayış ve sabır konusunda desteklerini esirgemeyen, bugünlere gelmemde çok önemli katkıları bulunan değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Gökhan BAYRAMOĞLU, Öğr. Gör. Dr. Onur KOYUNCU, Arş. Gör. Özgür EMİROĞLU ile öğrencilerim, Ali KUTLU ile Gökçe BİLGİ'ye minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu vesile ile varlığımı kendilerine borçlu olduğum, dünyaya geldiğim ilk günden bu tezin yazıldığı güne kadar geçen süre içerisinde her zaman beni destekleyen başta canım annem Müfide ŞENTÜRK olmak üzere değerli aileme ve eşim Derya ŞENTÜRK'e de sonsuz teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

<b>ÖZET.....</b>	<b>v</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>vi</b>
<b>TEŞEKKÜR.....</b>	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ.....</b>	<b>xi</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ.....</b>	<b>xiv</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>	<b>xv</b>
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. Serbest Radikaller.....	3
2.1.1. Serbest radikallerin biyolojik önemi.....	4
2.2. Antioksidanlar.....	8
2.2.1. Likopen'in genel özellikleri.....	11
2.2.2. Silimarinin genel özellikleri.....	13
2.3. İskemi/Reperfüzyon (IR) hasarı.....	14
<b>3. MATERYAL VE METOD.....</b>	<b>16</b>
3.1. Deneysel Hayvanları.....	16
3.2. Deneysel Grupları.....	16



## İÇİNDEKİLER (devam)

### Sayfa

3.3. Likopen ve Silimarin Uygulaması.....	18
3.4. Cerrahi İşlemler.....	18
3.4.1. Nefrotektomi işlemleri.....	19
3.4.2. İskemi/Reperfüzyon işlemleri.....	20
3.5. Kan- Serum biyokimya analizleri.....	22
3.6. Böbrek Doku Enzim Analizleri.....	22
3.6.1. Böbrek dokularında lipid peroksidasyonunun tayini.....	23
3.6.2. Böbrek dokularında glutasyon aktivitesinin tayini.....	23
3.6.3. Böbrek dokularında protein miktar tayini.....	23
3.6.4. Böbrek dokularında katalaz (CAT) miktar tayini.....	24
3.6.5. Böbrek dokularında süperoksit dismutaz (SOD) miktar tayini.....	24
3.7. Böbrek Histolojik Preparatlarının Hazırlanması.....	25
3.8. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	25
<b>4. SONUÇLAR.....</b>	<b>26</b>
4.1. Böbrek Dokularına Ait Histopatolojik Sonuçlar.....	26
4.2. Biyokimyasal Sonuçlar.....	36
4.2.1. Üre (BUN) değerleri.....	37
4.2.2. Kreatinin değerleri.....	38
4.2.3. GOT (AST) değerleri.....	39
4.2.4. GPT (ALT) değerleri.....	40
4.2.5. LDH değerleri.....	41

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<b><u>Sayfa</u></b>
4.2.6. Ürik asit değerleri.....	42
4.3. Kan Sayımı Sonuçları.....	43
4.3.1. Kan WBC değerleri.....	44
4.3.2. Kan Nötrofil değerleri.....	45
4.3.3. Kan Lenfosit değerleri.....	46
4.3.4. Kan RBC değerleri.....	47
4.4. Böbrek Doku Enzim Analizi Sonuçları.....	48
4.4.1. Doku GSH değerleri.....	49
4.4.2. Doku MDA değerleri.....	50
4.4.3. Doku SOD değerleri.....	51
4.4.4. Doku Katalaz değerleri.....	52
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>53</b>
<b>6. KAYNAKLAR DİZİNİ.....</b>	<b>60</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>78</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b><u>Şekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1. Hücrede SOR oluşum yolları.....	5
2.2. Likopen, kimyasal formül.....	12
2.3. Silimarin, kimyasal formül.....	13
3.1. Nefroktami işlemi.....	19
3.2. İskemi/ reperfüzyon işlemleri.....	21
4.1. Kontrol grubu: Korteks-medulla geçişi genel görünümü.....	26
4.2. Kontrol grubu: Böbrek tübül hücreleri ve lümeninde normal görünüm.....	27
4.3. Sham grubu: Korteks-medulla geçişi genel görünümü.....	27
4.4. Sham grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü.....	28
4.5. IR grubu: Korteks-medulla geçişi genel görünümü.....	29
4.6. IR grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü.....	29
4.7. IR-Tween80 grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü.....	30
4.8. IR-Tween80 grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü.....	30
4.9. IR- 2,5 mg/kg Likopen grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü.....	31
4.10. IR- 2,5 mg/kg Likopen grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü.....	31
4.11. IR- 5 mg/kg Likopen grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü.....	32
4.12. IR- 5 mg/kg Likopen grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü.....	32

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.13. IR- 10 mg/kg Likopen grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü.....	33
4.14. IR- 10 mg/kg Likopen grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü.....	33
4.15. IR- 50 mg/kg Silimarin grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü.....	34
4.16. IR- 50 mg/kg Silimarin grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü.....	34
4.17. IR- 100 mg/kg Silimarin grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü.....	35
4.18. IR- 100 mg/kg Silimarin grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü.....	35
4.19. Kontrol ve deney gruplarına ait serum Üre (BUN) Değerleri.....	37
4.20. Kontrol ve deney gruplarına ait serum Kreatinin Değerleri.....	38
4.21. Kontrol ve deney gruplarına ait serum GOT (AST) Değerleri.....	39
4.22. Kontrol ve deney gruplarına ait serum GPT (ALT) Değerleri.....	40
4.23. Kontrol ve deney gruplarına ait serum LDH Değerleri.....	41
4.24. Kontrol ve deney gruplarına ait serum Ürik Asit Değerleri.....	42
4.25. Kontrol ve uygulama gruplarına ait kan WBC değerleri.....	44
4.26. Kontrol ve uygulama gruplarına ait kan Nötrofil değerleri.....	45
4.27. Kontrol ve uygulama gruplarına ait kan Lenfosit değerleri.....	46
4.28. Kontrol ve uygulama gruplarına ait kan RBC değerleri.....	47
4.29. Kontrol ve uygulama gruplarına ait doku GSH değerleri.....	49

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<b><u>Şekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
4.30. Kontrol ve uygulama gruplarına ait doku MDA değerleri.....	50
4.31. Kontrol ve uygulama gruplarına ait doku SOD değerleri.....	51
4.32. Kontrol ve uygulama gruplarına ait doku CAT değerleri.....	52

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b><u>Çizelge</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1. Oksidatif stres ile meydana gelen Serbest Oksijen Radikalleri.....	7
4.1. Kontrol ve deney gruplarına ait serum değerleri.....	36
4.2. Kontrol ve deney gruplarına ait kan değerleri.....	43
4.3. Böbrek dokularına ait enzim değerleri.....	48

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<b><u>Simgeler</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
mL	mililitre
mg	miligram
kg	1/kilogram
n	denek sayısı
rpm	revolution per minute (devir/dakika)
L	litre
U	Unit
μ	mikrometre= mikron= 10 <sup>-6</sup> metre

<b><u>Kısaltmalar</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
SOR	Serbest oksijen radikalleri
ALT	Alanin amino transferaz
AST	Aspartat amino transferaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
MDA	Malondialdehit
SOD	Süperoksit dismutaz
CAT	Katalaz
GSH	Redükte glutatyon

## 1. GİRİŞ

Canlıların büyüme, gelişme, hareket ve üreme gibi yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmesi için gerekli olan fizyolojik olayların tümü enerji tarafından gerçekleştirilir. Tüm aerobik canlılar enerji gereksinimini oksidatif metabolizma ile karşılarlar. Aerobik metabolizma karbon ve hidrojen içeren metabolitlerin karbonhidrat ve suya tamamen yükseltgenmesini kapsar (Montgomery, et al., 1996). Oksijen, oksidatif metabolizma sırasında enerji eldesi için suya indirgenirken çok az bir kısmı da “serbest radikaller” adı verilen, elektronlarını kaybetmiş zararlı maddelere dönüşür.

Serbest radikaller, tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküllerle kolayca elektron alışverişi yapabilir veya onlarla birleşebilirler. Böylece diğer moleküllerin yapı ve fonksiyonlarını değiştirebilir, hatta pek çok dokuda hücre hasarı meydana getirebilirler. Serbest radikaller, organizmada, diğer metabolik yolların işleyişi sırasında da oluşabilmekte veya çeşitli dış etkenlerin vasıtasıyla da meydana gelebilmektedir. Birçok hastalığın oluşması ve patolojik durumun ortaya çıkmasında serbest radikallerin önemli rolü vardır (Auroma, et al., 1991; Porter, 1984; Southorn and Powis, 1988).

İskemi reperfüzyon hasarı ise birçok patofizyolojik süreçten meydana gelen karmaşık olaylar dizisidir. Bu olaylar; nötrofillerin, platletlerin, sitokinlerin, serbest oksijen radikallerinin, koagülasyon sisteminin, endotelyumun ve ksantin osido-redüktaz enzim sisteminin aktivasyonunu içermektedir (McMichael and Moore, 2004, a). Bu sistemlerin aktivasyonu sonucunda, hücre hasarı, hücre ölümü, damarlarda geçirgenliğin artması, doku nekrozu ve birçok organda fonksiyon bozuklukları meydana gelebilir (Korthuis, et al., 1985).

Nekroz ve apoptoz kaynaklı hücre ölümünü, iskemi reperfüzyon hasarı sırasında salınan maddeler tetikler (Sakon, et al., 2002). Neoplazi, ateroskleroz ve nörodejeneratif hastalıklarda etkin olduğu düşünülen serbest oksijen radikalleri, iskemi reperfüzyon hasarının meydana gelmesinde de önemli rol oynar (McMichael and Moore, 2004, b).

Serbest radikallerin oluşum hızı, organizmanın bunları etkisiz hale getiren veya azaltan katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi endojen antioksidan



enzimlerden oluşan savunma sistemlerinin hızı ile dengede olduğu sürece, organizma serbest radikallerden etkilenmez. Fakat radikal oluşum hızı savunma sisteminin hızını aşarsa, serbest radikaller zararlı olmaya başlar ve organizmada oksidatif stres olarak ortaya çıkar (Özdemir, 1993).

Serbest radikallerin zararlı etkileri bazı maddeler tarafından azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır. Bu tip maddeler antioksidan maddeler olarak adlandırılır. Flavonoidler de bitkilerde yaygın olarak görülen ve antioksidan özellik taşıyan polifenolik bileşiklerdir. Tüm flavonoidlerin antioksidan etkileri, kimyasal yapılarında bulunan fenolik hidrojenler ile ilgilidir. Fenolik hidrojenlerin kaybı bunların antioksidan etkilerini azaltır (Da Silva, et al., 1998).

Antioksidan özelliği bilinen ve özellikle domateste bol bulunan likopen bir karotenoid üyesidir (Cadenas and Packer 1996). Likopen ile yapılan bazı çalışmalarda likopenin MDA düzeyini düşürdüğü SOD, GPx gibi endojen antioksidanların aktivitelerini artırdığı gösterilmiştir (Mortensen, et al., 2001; Breinholt, et al., 2000; Jain, et al., 1999; Rao and Agarwal, 1998).

İçerdiği flavano-lignanlar ve diğer polifenolik bileşikler ile antioksidan özellik gösteren ve buna bağlı olarak serbest radikal tutucu işlevi bulunan (De Groot and Rauen, 1998) bir başka madde de silimarindir. Bu özelliğinden dolayı silimarin ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Silimarinin hücre GSH seviyesinde artışa neden olduğu (Valenzuela, et al., 1989), SOD aktivitesini arttırdığı (Zhao, et al., 2000) ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini (Bosisio, et al., 1992) ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, deneysel olarak sıçan böbreğinde oluşturulmuş iskemi reperfüzyon hasarının, antioksidan özelliği bilinen likopen ve silimarin ile ne derece önlenebileceğinin araştırılmasıdır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Serbest Radikaller

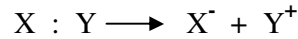
Dış orbitallerinde bir ya da daha fazla paylaşılmamış elektron içeren, aşırı derecede etkin ve kısa ömürlü moleküller serbest radikaller olarak adlandırılırlar. Serbest radikaller bu özelliklerinden dolayı tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliğine sahiptir (Uysal, 1998). Serbest radikaller canlılarda metabolizma yan ürünü olarak veya ilaçlar ve diğer zararlı kimyasal maddeler ile çevresel etkilerle meydana gelebilirler (Cross, et al., 1987).

Serbest radikaller 3 farklı yol ile meydana gelebilirler (Akkuş, 1995):

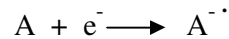
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birinin kalarak homolitik bölünmesi;



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı;



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.



Serbest radikallerin oluşum hızı ile inaktivasyon hızı denge halinde olduğu sürece

serbest radikallerin canlı üzerinde herhangi bir etkisi olmamaktadır. Bu denge halindeki durum herhangi bir sebeple bozulur ya da bu bileşiklerin oluşum hızı inaktivasyon hızından yüksek olursa oksidatif stres meydana gelmekte ve serbest radikallere bağlı hücre hasarı ortaya çıkmaktadır (Uysal, 1998).

### 2.1.1. Serbest radikallerin biyolojik önemi

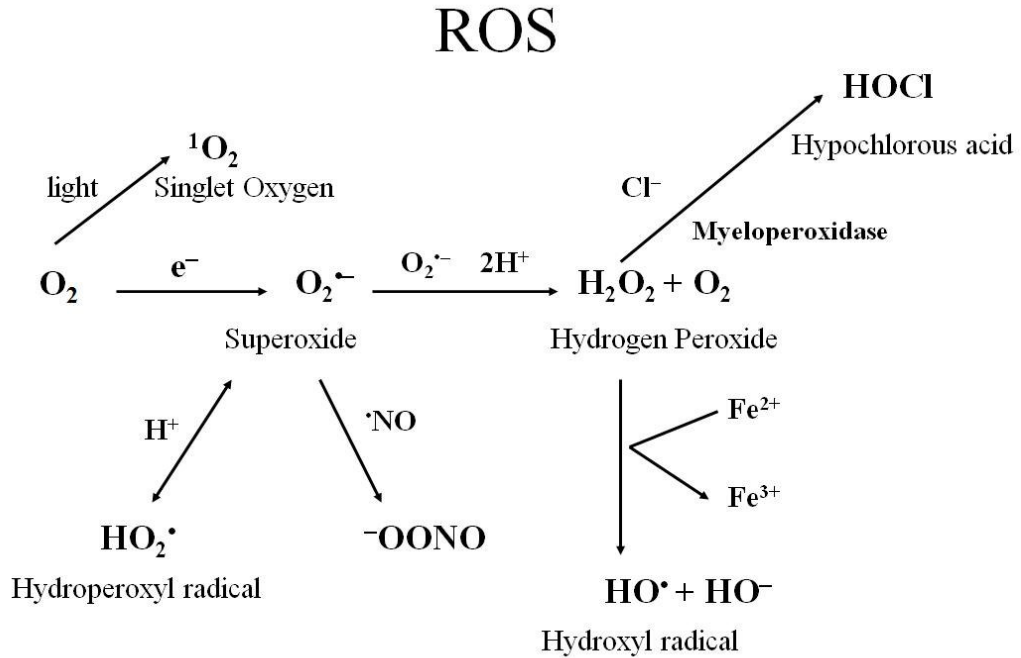
Dünya üzerindeki yaşamın oksijen molekülüne bağlı aerobik yaşam olması çelişkili bir durumdur. Çünkü oksijen, enerji metabolizması ve solunum için çok önemli bir molekül olmasının yanında birçok hastalıkta ve dejeneratif bozuklukta önemli rol oynamaktadır

Serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir (Batrelli, et al., 1972). Canlı içerisinde oluşan Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) sadece hücre içerisinde substrat ile birleşerek hasara neden olmaz, aynı zamanda bağlandıkları moleküllerin hücre içerisinde çeşitli yan metabolit oluşumuna sebep olarak da hasara neden olabilirler. Örneğin; oksijenin redüksiyonu ile negatif yüklü bir ara ürün olan süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ) radikali oluşur. Süperoksit radikalinden ise spontan ya da enzimatik dismutasyon ile ikinci bir ara ürün olan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ortaya çıkar. Hidrojen peroksitin bir dizi reaksiyonu sonucunda ise hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) oluşur (Fridovich, 1983).

SOR; nükleik asitler, proteinler, karbohidratlar ve lipitleri de kapsayan birçok biyolojik molekül ile reaksiyona girme özelliğindedir (McMichael, et al., 2004, a). Normalde hücrelerde oluşan SOR formlarının temel kaynağı elektron taşıma zincirinden sızan elektronlardır. Mitokondrilerde kullanılan oksijenin yaklaşık %90-95'i son ürün olarak su ve moleküler oksijene dönüştürülürken, kalan %5-10'u SOR meydana getirir (Esterbauer, 1996). SOR üretimi; elektron transferindeki yüksek verimlilik ve Metal iyonlarının SOR yakalama kabiliyetleri sayesinde minimum düzeyde tutulur. Hücre içerisindeki diğer SOR kaynakları arasında, endoplazmik retikulumlardaki sitokrom

P450, lipoksijenaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz sayılabilir (Curtin, et al., 2002).

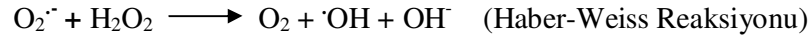
Canlıların yapıtaşlarını oluşturan tüm moleküller SOR hasarına yatkın olsalar da bu hasardan en çok etkilenen moleküller lipitlerdir. Bu durumun sebebinin, lipitlerin çift bağ yapma eğiliminde olmaları ve lipitlerin hücre zarının her yerinde bulunmaları olduğu düşünülmektedir (Kelly, 2001). Memeli hücreleri, oksidatif strese oldukça elverişli olan çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) miktarı açısından oldukça zengindir. Bu PUFA'lar trigliserit ve fosfolipitlerin yapı taşlarını oluşturan diğer yağ asitleri formu ile birlikte, linoleik ve araşidonik asiti de kapsar (Acworth, et al., 1997).



**Şekil 2.1.** Hücrede SOR oluşum yolları.

Başlangıç olarak SOR, ya diğer bir radikal ile reaksiyona girerek kovalent bir bağ kurar, ya da daha yaygın olarak, radikal olmayan bir başka molekülle reaksiyona girer (Şekil 2.1.) (Pratico, 2001). Serbest radikaller radikal olmayan bir başka molekül ile

reaksiyona girdiklerinde, radikal olmayan molekül bir elektron kaybederek serbest radikale dönüşür. Bu mekanizma hücre zarlarında meydana gelen yüksek miktardaki hasarı tetikleyen zincirleme reaksiyonların başlangıcı ya da temelidir. Bir radikal bir başka radikal ile birleştiğinde oluşan yeni ürün bir önceki radikalden daha fazla yıkıcı etkiye sahip olabilir. Örneğin; nitrik oksit (NO) süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ) ile birleştiğinde meydana gelen peroksinitrit radikali ( $OONO^{\cdot}$ ) hidrojen peroksitten ( $H_2O_2$ ) 2000 kat daha fazla hasara neden olmaktadır. Bir başka deyiş ile iki radikalın birleşmesi zincirleme reaksiyonların başlamasına sebep olur. Lipitler ile SOR etkileşimi serbest demir atomu varlığında lipit peroksidasyonu ile sonuçlanır (Halliwell, 1994; Brown and Goldstein, 1979). Serbest haldeki  $Fe^{+2}$   $H_2O_2$  ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşturur (Fenton reaksiyonu). Hidroksil radikali bir başka şekilde,  $H_2O_2$ 'nin,  $O_2^{\cdot-}$  radikali ile birleşmesi ile meydana gelir ki bu reaksiyon da Haber-Weiss reaksiyonu olarak adlandırılır (Valko, et al., 2007).



Lipit peroksidasyonunu başlatan iki temel serbest radikal, hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ) ve peroksinitrit radikalidir ( $OONO^{\cdot}$ ). Hidrojen peroksitin metallerle birleşmesi ile  $OH^{\cdot}$ ,  $O_2^{\cdot-}$ 'nin NO ile birleşmesi ile de  $OONO^{\cdot}$  oluşur. Peroksi radikal ( $RO_2^{\cdot}$ ) formlarının oluşumu ile sonlanan lipit peroksidasyonu,  $OH^{\cdot}$  ve  $OONO^{\cdot}$ 'in PUFA'lardan bir proton çıkarılması ile başlatılır.  $RO_2^{\cdot}$ , hücre zarındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerine saldırarak lipit peroksidasyonundaki zincirleme reaksiyonları tetikler. Bu zincirleme reaksiyonlar, substrat tükeninceye (ör; hücre zarındaki lipitler) ya da  $RO_2^{\cdot}$ 'nin bu zincirleme reaksiyonlarını kırabilecek (E vitamini gibi) bir antioksidan molekül ile karşılaşınca kadar devam eder (Radi, et al., 1991).

Lipit peroksidasyonu, hücrelerdeki enzim sistemleri ve reseptörlerinin değişimine, iyon kanallarındaki değişimlere ve kalsiyum ile diğer iyonların zardan geçişinde artışa neden olarak, hücre zarlarında şiddetli hasara neden olur (Acworth, et al., 1997). Buna ek olarak lipit peroksidasyonu son ürünlerinin, inflamasyon ve apoptozu başlattığı, tiol içeren bileşikleri inaktive ettiği de düşünülmektedir (Poli and Parola, 1997; Uchida and Stadtman, 1993).

**Çizelge 2.1.** Oksidatif stres ile meydana gelen Serbest Oksijen Radikalleri (Tokol Tunalı, 2007)

BİLEŞİK	ADI	ÖZELLİKLERİ	YARI ÖMRÜ (37°C)
$O_2^{\cdot-}$	Süperoksit anyonu	Bir elektron indirgenmiş form, birçok otooksidasyon reaksiyonunda oluşur (flavoproteinler, redoks siklusu gibi).	Spontan ve enzimatik dismutasyon
$HO_2^{\cdot}$	Perhidroksi radikali	$O_2^{\cdot-}$ 'nin protonlanmış formu, lipitte çözünür.	
$H_2O_2$	Hidrojen peroksit	İki elektron indirgenmiş form $O_2^{\cdot-}$ , $HO_2^{\cdot}$ 'den dismutasyonla veya direkt $O_2^{\cdot-}$ 'den oluşur.	Stabil; enzimatik redüksiyon
$HO^{\cdot}$	Hidroksil radikali	Üç elektron indirgenmiş form, Fenton reaksiyonu, Haber- Weiss reaksiyonu ile oluşur, çok reaktiftir.	$10^{-9}$ sn.
$RO^{\cdot}$	Alkoksil radikali	Oksijen merkezli organik radikal, lipit alkoksi radikali	$10^{-6}$ sn.
$ROO^{\cdot}$	Peroksil radikali	Organik (ör; lipit) hidroperoksitlerden; hidrojen ayrılmasından $ROOH$ 'dan oluşur.	7 sn.
$ROOH$	Organik hidroperoksit	Lipit hidroperoksit, timin hidroperoksit gibi.	
$O_2 (O_2^1)$	Singlet oksijen	İlk uyarılmış form	$10^{-6}$ sn.
$RO (RO^*)$	Uyarılmış karbonil	Uyarılmış karbonil, mavi- yeşil fotoemiyon sırasında oluşur.	

Hücre zarı, mitokondri, lizozom ve peroksizom gibi hücre organellerinin her birinde SOR meydana getiren sistemlerle bir arada yer alan antioksidan savunma mekanizmaları bulunur (Rangan and Bukley, 1993).

## 2.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar hem direkt hem de dolaylı olarak hücre içerisinde meydana gelen toksik radikal reaksiyonların oluşturduğu oksidatif hasarın, ksenobiyotiklerin ve karsinojenlerin, olumsuz etkilerine karşı hücreleri koruyan moleküllerdir. Antioksidanlar, lipitler, DNA ya da proteinlerin oksidasyonunu önleyen ya da geciktiren moleküller olarak tanımlanırlar (Halliwell, et al., 1995). Vitamin C, E, A, beta karoten, metallothionin, NADPH, adenzin, koenzim Q-10, resveratrol, glutatyon, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksid dismutaz, polifenoller, flavanoidler vb. maddeler bu grupta yer alırlar (Akkuş, 1995; Mates, 2000). Bu moleküllerden, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz hücre içi enzimatik işleve sahip antioksidanlardır (Halliwell, 1999). Hücrede SOR üretimini engelleyen bu enzimler, pek çok memeli hücresinden izole edilmişlerdir. Küçük molekül ağırlığına sahip olan antioksidanlar, suda ve yağda çözülebilenler olmak üzere iki grupta toplanırlar;

Suda çözünen antioksidanlar;

- Askorbik asit (C vitamini),
- Ürik asit,
- Biluribin,
- Glutatyon,
- Çinko ve
- Selenyum'dur.

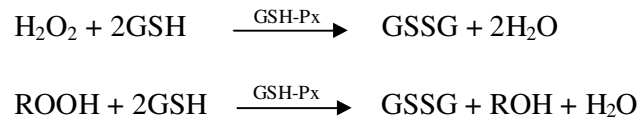
Yağda çözülen antioksidanlar ise;

- Tokoferoller (E vitamini),
- $\beta$ -karoten,
- Ubikinol-10 (Koenzim Q-10) ve,
- Likopen'dir (Oranje and Wollfenbuttel, 1999).

Hücre zarlarının lipit tabakalarında yer alan tokoferol ve  $\beta$ -karoten, lipit peroksidasyonunda meydana gelen zincirleme reaksiyonları baskılar ya da durdururlar (Pratico, 2001). Vücutta hücreler arası sıvı içerisinde ise askorbik asit, bilirubin,

transferin, haptoglobin, albumin, ürat ve seruloplazmin gibi sayısız antioksidan karakterli molekül bulunmaktadır (Halliwell, 1999).

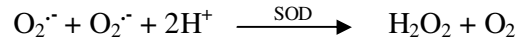
Memeli hücrelerinde sentezlenen ve hücre içi antioksidan enzim olan glutatyon peroksidazın (GSH-P<sub>x</sub>), SOR formlarına karşı ilk savunma mekanizması olduğu düşünülmektedir. GSH-P<sub>x</sub>, substrat olarak glutatyonu (GSH) kullanarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i suya ve oksijen molekülüne dönüştüren sülfürlü bir tripeptittir (glysin, sistein, glutamin) (Flohe, 1980). GSH-P<sub>x</sub>'ın hücre içerisinde, kofaktör olarak selenyumu kullanarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve RO<sub>2</sub>'i dönüştüren ve kofaktör olarak selenyumu kullanmadan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in redüklenmesini katalizleyen iki formu bulunmaktadır. Doku içerisindeki GSH'ın azalması ile oksidatif hasar belirlenebilir (Van Den Dobbelen, et al., 1996). Bu durum oksidatif hasara maruz kalan sıçan hepatositlerinde meydana gelen GSH seviyesindeki azalma ile gösterilmiştir (Kurose, et al., 1997).



Hücrelerde meydana gelebilecek SOR hasarına karşı ikinci savunma hattını oluşturan, E vitaminin de dahil olduğu tokoferol ve trienoller,  $\alpha$ -tokoferoller, hücre zarının yapısını oluşturan lipitler içerisinde bol miktarda bulunurlar. E vitamini, hücre zarının iç kısmında, PUFA'ların bol bulunduğu lipofilik bölgede yer alarak lipit peroksidasyonu sırasında meydana gelen zincirleme reaksiyonları durduran bir serbest radikal tutucu olarak görev yapar (Meydani, 1995). Bir lipit peroksidasyon dalgası hücre zarı üzerinde konumlanmış olan E vitaminine ulaştığında, E vitamini serbest radikali oksitleyerek etkisiz hale getirir ve böylece PUFA'ları lipit peroksidasyonundan korur. Bu durumda daha az reaktif olan E vitamini, C vitamini ile H<sub>2</sub>O varlığında birleşerek E vitamini tekrar eski haline dönüşür. Suda çözünebilen bir antioksidan olan C vitamini, ya direk olarak SOR'ni yakalayarak ya da E vitamininin eski halini almasını sağlayarak iki farklı şekilde antioksidan savunmada görev alır (Marino, 1998).

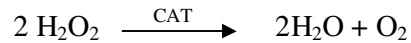


Bir diğ er hücre iç i antioksidan olan SOD ise aktif bölgesinde kofaktör olarak magnezyum, ç inko ya da bakır iç eren bir oksidoredüktazdır. SOD,  $O_2^{\cdot -}$ 'i  $O_2$  ve  $H_2O_2$ 'ye dönüştürür.



Canlı iç erisinde bulunduğ u yerler, sitozol (kofaktör olarak bakır ve ç inkoyu kullanır), mitokondri (kofaktörü magnezyumdur) ve hücre dışındaki yüzeylerdir (kofaktörü ç inko ve bakırdır) (Baskın and Salem, 1997). Mitokondrial SOD'un antioksidan savunma sisteminde temel rol oynadığı düşünölmektedir (Hamet et al., 1996; Chen, et al., 1997).

Katalaz peroksizomlarda yer alan,  $H_2O_2$ 'yi  $O_2$  ve  $H_2O$ 'ya ayırıştıran bir proteindir (Akkuş, 1995).



SOD,  $O_2^{\cdot -}$ 'i  $H_2O_2$ 'e, katalaz enzimi de  $H_2O_2$ 'yi  $O_2$  ve  $H_2O$ 'ya ayırıştıran birlikt e iş görürler. Katalaz, düşük  $H_2O_2$  konsantrasyonlarında alkol ve askorbatı kullanarak peroksidaz aktivitesi gösterebilir (Chaudiere and Ferrari, 1999). Katalazın indirgeyici aktivitesi,  $H_2O_2$ , metil ve etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü hidroperoksitlere etki etmez (Karabulut, et al., 2002).

### 2.2.1. Likopen'in genel özellikleri

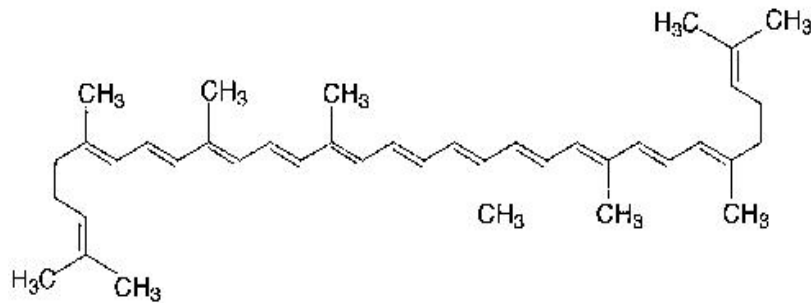
Meyve ve sebze tüketiminin bilinen pek çok kanser türü ve kalp hastalıkları üzerin de iyileştirici etkisinin olduğu yaygın bir şekilde bilinmektedir (V'ant Veer, et al., 2000). Bu besinlerde bulunan; C ve E vitamini, karotenoidler, antioksidan polifenoller ve antioksidan enzimlerin kofaktörleri olarak işlev gören iz elementler vb. antioksidant maddelerin serbest radikallerin tutulmasında anahtar bir rol oynadığı düşünülmektedir (Halliwell and Gutteridge, 1990).

*Lycopersicum esculentum* (domates), dünya çapında yaygın olarak tüketilen bir sebzedir. Son zamanlarda yapılan çalışmaların, içeriğinde domates bulunan besin maddelerinin tüketiminin, sindirimi kolaylaştırdığı ve prostat kanseri riskini azalttığı sonucunu ortaya koyması bilim adamlarının dikkatlerini bu sebze üzerinde yoğunlaştırmıştır (De Stefani, et al., 2000). Domates ürünleri Akdeniz diyetinin önemli bir parçasıdır ve Akdeniz diyeti yapan kişilerde kalp hastalıklarından ölüm oranı oldukça düşüktür. Bunun nedeni domatesin oldukça fazla miktarda antioksidan madde içeriğine sahip olmasıdır (Lavelli, et al., 2000).

Domates; kayda değer miktarda likopen ve  $\beta$ -karoten içerir, iyi bir C vitamini kaynağıdır ve kafeik asit, klorogenik asit, rutin ve naringeninden oluşan birçok polifenolü içermektedir. Bunların yanında domates E vitamini ve iz elementlerden, selenyum, bakır, manganez ve çinko gibi antioksidan enzimlerin kofaktörlerini de içermektedir (Pellegrini, et al., 2000).

Önemli bir karotenoid olan likopen ise en fazla domates (*Lycopersicum esculentum*)'de olmak üzere; karpuz, pembe greyfurt gibi meyve ve sebzelerde bulunur ve onlara kırmızı rengini verir (Giovanelli, et al., 2002; Yaping, et al., 2002). Karotenoidlerin antioksidan özellik ve fonksiyonları onların kimyasal yapılarından kaynaklanır. Çünkü bu yapıda tekli ve konjuge çift bağlı bir sistemde 40 C üniti (C=C) kuyruk kuyruğa bağlanarak tetraterpen yapıda uzar (Şekil 2.2.). Bu özellik de onların singlet oksijen ( $O_2^{\cdot}$ ) toplamalarına izin verir (Kurt, 2003). Bu radikal toplama özellikleri sayesinde kanser, kalp rahatsızlıkları ve dejeneratif göz hastalıkları gibi ciddi rahatsızlıklara karşı koruyucu etkilerinin olduğu birçok epidemiyolojik çalışmada

gösterilmiştir (Kozuki, et al., 2000; Young and Lowe, 2001). Bununla birlikte likopenin biyolojik sistemlerdeki serbest oksijenin ( $O_2^-$ ) en önemli önleyicilerinden biri olduğu gösterilmiştir. Benzer epidemiyolojik sonuçlar domates tüketimi ile mide, barsak sistemi, pankreas, mesane, serviks ve akciğer kanserlerine yakalanma riskinin de azaldığını göstermektedir (Hasler, 2000).



**Şekil 2.2.** Likopen, kimyasal formül.

İnsanlar tarafından bitkisel besinlerle alınan karotenoidler, A-Vitamini prekürsörü olarak görev yaparlar, bunların başlıcaları  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten ve  $\beta$ -kriptoksantindir. En fazla bulunan ve en etkili olanı  $\beta$ -karotendir (Aşıcıoğlu, 2005).  $\beta$ -karoten A vitamin prekürsörü olma özelliği yanında biyolojik önemi lipit antioksidanı olması ve özellikle singlet oksijen olmak üzere serbest radikalleri nötralize etmesidir (Şekil 2.3.) (Handelman, 2001).

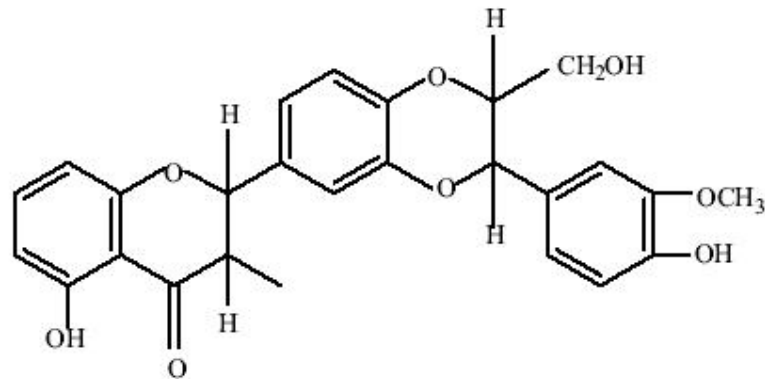
Likopen pro-vitamin A aktivitesine sahip değildir, insan serumunda da bulunur. Likopen  $\beta$ -karotene göre in-vitro sistemlerde antioksidan olarak daha büyük radikal toplama aktivitesine sahiptir (Stahl and Sies, 1992).

Likopeni de kapsayan diyetle bağlı antioksidanların reaktif oksijen türlerini inaktive ettiği ve oksidatif hasara karşı koruma sağlayarak, prostat kanserinin önlenmesinde potansiyel moleküller olabilecekleri düşünülmektedir (Rao, et al., 1999). Bunun yanında domates ve domates ürünlerinin, bazı kanser tiplerinin ve plazma lipit

peroksidasyonun gelişimi ile ters bir ilişki göstermesi de likopenin antioksidan özelliklerine bağlanmıştır (Stahl and Sies, 1996; Pellegrini, et al., 2000)

### 2.2.2. Silimarinin genel özellikleri

*Silybum marianum* L. Gaertn (devedikeni), *Asteraceae* familyasına ait bir bitkidir. *Silybum marianum* L. tohumları, karaciğer ve safra kesesi hastalıkları ile toksin zehirlenmelerine karşı karaciğeri korumada; aynı zamanda mantar zehirlenmeleri, yılan sokması, böcek ısırıkları gibi durumların tedavisinde de 2000 yıldan beri kullanılmaktadır. *S. marianum* L. tohumlarından elde edilen ekstreleri bol miktarda silimarin içermektedir. Kimyasal olarak silimarin (Şekil 2.2.); silibin (silibinin), izosilibin, silikristin, silidianin ve dehidrosilibinin adı verilen izomer flavanolignanlardan oluşmaktadır (Ding, et al., 2001). Silimarinin biyolojik aktivitesinden sorumlu olduğu düşünülen temel bileşeni silibin'dir ancak yapısında bulunan diğer flavano-lignanların da bu biyolojik aktivitede rolü olabileceği düşünülmektedir (Nencini, et al., 2007).



Şekil 2.3. Silimarin kimyasal formül.

Silimarin 30 yılı aşkın bir süredir klinik olarak alkole bağlı karaciğer hastalıklarının tedavisinde ve anti-hepatotoksik ajan olarak kullanılmaktadır (Saller et al., 2001). Fakat silimarinin asıl aktivitesi; içerdiği flavano-lignanlar ve diğer polifenolik bileşikler ile antioksidan özellik göstermesi ve buna bağlı olarak serbest radikal tutucu işlevinin bulunmasıdır (De Groot and Rauen, 1998). Bu özelliğinden dolayı silimarin ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Silimarinin hücre GSH seviyesinde artışa neden olduğu (Valenzuela, et al., 1989), SOD aktivitesini arttırdığı (Zhao, et al., 2000) ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini (Bosisio, et al., 1992) ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır.

Nefropatolojik durumlarda silimarin kullanımı diğer organlar ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Böbrek nakillerinde kullanılan soğuk iskemi/reperfüzyon işlemi sırasında serbest radikaller oluşmakta ve bu serbest radikaller böbrek tübüler hücrelerde hasara neden olmaktadır (Křen and Walterová, 2005). Sonnenbichler ve ark. 1999'da yapmış oldukları çalışmada deney hayvanlarında parasetamol, cisplatin ve vincristin ile kimyasal hasar oluşturulmuş, silimarin ve silistrinin böbrek üzerinde koruyucu etkisi olup olmadığını incelemişlerdir. Sonuçta hücrelerde, protein-DNA biyosentezinde ve laktat dehidrogenaz aktivitesinde bir artış gözlenmiş ve buna bağlı olarak oluşturulan kimyasal hasarın etkisi azaltılmış ya da tamamen ortadan kaldırılmıştır.

### **2.3. İskemi/Reperfüzyon (IR) hasarı**

Bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle (özellikle vasküler cerrahi işlemler ve organ transplantasyonu esnasında) yetersiz hale gelmesine veya durmasına iskemi (ya da lokal anemi), herhangi bir organın vücuttan ayrılması olayına ise tektomi denir. İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar.

Dokularda meydana gelen iskemik hasar dokunun iskemide kaldığı duruma göre sıcak ve soğuk iskemi olarak genel anlamda 2 alt başlıkta toplanabilir. Soğuk iskemi, Bir organın vücut dışında iken organa kan akımının olmadığı durumları (ör: organ nakli), ifade eder. Sıcak iskemi ise, bir organın kan akımından belli bir süre mahrum kaldığı durumlarda kullanılır. Sıcak ve soğuk iskemi hasarı karşılaştırıldığında her iki durumda etkilenen hücre tiplerinin farklı olması ilginç bir durumdur. Karaciğerde soğuk IR iskemi sırasında endotel ve Kupffer hücreleri ilkin olarak hasar görünürken, sıcak iskemide ilk olarak hasar gören hücreler hepatositlerdir (Sakon, et al., 2002). İskemik hasarın şiddeti, doku ya da organa giden kan akımındaki azalmanın miktarı ile doku ya da organın iskemiye maruz kaldığı süre ile ilgilidir (Park, et al., 1982).

İskemi sırasında meydana gelen birçok olay aşırı miktarda SOR oluşumuna neden olur. Hücreler yeterince ATP sentezi yapamadığı zaman, bu durumu telafi etmek için, hücre içerisinde var olan ATP kaynaklarını kullanarak, ATP'yi adenezine, adenezini inozine ve son olarak da inozini hipoksantine dönüştürür. İskeminin devam etmesi ile, hücre içerisinde hipoksantin birikimi olur. Laktat ve hidrojen iyonu gibi anaerobik metabolizma ürünlerinin birikmesinden dolayı hücre içi pH düşer. Bu durum hücre içi enzimler ve düzenleyici proteinlerin fonksiyonlarını kaybetmesine neden olarak, daha ileri derecede hücresel bozukluğa neden olur (Zelenock, 1990).

Azalan ATP miktarının, ATP bağımlı hücre zarı pompalarını inaktive etmesi sonucunda, kontrolsüz olarak, potasyumun hücre dışına, sodyum, kalsiyum ve klor iyonlarının hücre içine geçişi ile hücrelerde şişme meydana gelir. Hücre içerisindeki kalsiyumun miktarındaki artışın sebebi sadece hücre dışından hücre içerisine kalsiyum geçişi ile değil, aynı zamanda hücre içi organellerden salınan kalsiyumdan da kaynaklanmaktadır (Murata, et al., 1994; Hatanaka, et al., 1995). Kalsiyum miktarındaki bu artış IR hasarında ilk olarak göze çarpan olaylardan biridir ve iskeminin süresi ile yakından ilişkilidir (Sakon, et al., 2002).

### 3. MATERYAL VE METOD

Deneysel çalışmamızın tamamı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarında, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 2007/149 sayılı izni ile yapılmıştır.

#### 3.1. Deney Hayvanları

Deneysel çalışmamızda 200-250 gram ağırlıkta sağlıklı, 3-4 aylık, *Sprague Dawley* cinsi, albino sıçanlar kullanıldı. Tüm deney hayvanları Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Deney Hayvanları Üretim Laboratuvarından temin edildi. Deney hayvanları deney süresince 12; 12 aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı ( $22 \pm 2$  °C) ve nemi (%45- 50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldı. Deney sürecinde tüm sıçanlar polikarbonat şeffaf kafeslerde standart sıçan yemi ile beslenmiş ve çeşme suyu verilmiştir.

#### 3.2. Deney Grupları

Deney hayvanları arasından rastgele seçimle her birinde n=8 sıçan olmak üzere toplam 9 grup oluşturuldu. Bu gruplar;

**Grup 1:** Bu grup deney hayvanları, herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadan diseksiyon yapılan kontrol grubudur.

**Grup 2:** Bu grup, deney hayvanlarına sadece nefrotektomi işlemi uygulanarak 15. gün sonunda eter anestezisi altında diseksiyon gerçekleştirilen kontrol grubudur.

**Grup 3:** Bu grup, deney hayvanlarına nefrotektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklenildi. İskemi işlemi gerçekleştirilmeden 1 saat önce serum

fizyolojik intraperitoneal olarak verilerek 45 dakikalık iskeminin ardından 6 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyon süresinin bitiminde eter anestezisi altında diseksiyon gerçekleştirildi.

**Grup 4:** Bu grup, deney hayvanlarına nefrotektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklenildi. İskemi işlemi gerçekleştirilmeden likopen çözücüsü olarak kullanılan Tween80 1 saat önce intraperitoneal olarak verilerek 45 dakikalık iskeminin ardından 6 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyon süresinin bitiminde eter anestezisi altında diseksiyon gerçekleştirildi.

**Grup 5:** Bu grup, deney hayvanlarına nefrotektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklenildi. İskemi işlemi gerçekleştirilmeden 1 saat önce 50 mg/kg silimarin intraperitoneal yol ile verilerek 45 dakikalık iskeminin ardından 6 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyon süresinin bitiminde eter anestezisi altında diseksiyon gerçekleştirildi.

**Grup 6:** Bu grup, deney hayvanlarına nefrotektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklenildi. İskemi işlemi gerçekleştirilmeden 1 saat önce 100 mg/kg silimarin intraperitoneal yol ile verilerek 45 dakikalık iskeminin ardından 6 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonun bitiminde eter anestezisi altında diseksiyon gerçekleştirildi.

**Grup 7:** Bu grup, deney hayvanlarına nefrotektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklenildi. İskemi işlemi gerçekleştirilmeden 1 saat önce 2,5 mg/kg likopen intraperitoneal yol ile verilerek 45 dakikalık iskeminin ardından 6 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonun bitiminde eter anestezisi altında diseksiyon gerçekleştirildi.

**Grup 8:** Bu grup, deney hayvanlarına nefrotektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklenildi. İskemi işlemi gerçekleştirilmeden 1 saat önce 5 mg/kg likopen intraperitoneal yol ile verilerek 45 dakikalık iskeminin ardından 6 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonun bitiminde eter anestezisi altında diseksiyon gerçekleştirildi.

**Grup 9:** Bu grup, deney hayvanlarına nefrotektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklenildi. İskemi işlemi gerçekleştirilmeden 1 saat önce 10 mg/kg



likopen intraperitoneal yol ile verilerek 45 dakikalık iskeminin ardından 6 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonun bitiminde eter anestezisi altında diseksiyon gerçekleştirildi.

### 3.3. Likopen ve Silimarin Uygulaması

Deneyde 5. ve 6. gruplara periton içine uygulanan Silimarin Sigma'dan temin edildi (**Katalog no:** S0292). Silimarin, uygulanacak doza göre her bir deney hayvanı için 0,5 mililitre (mL) %0,9'luk steril serum fizyolojik içerisinde çözülerek enjeksiyona hazır duruma getirildi.

Deneyde 7., 8. ve 9. gruplara periton içine uygulanan Likopen Sigma' dan temin edildi (**Katalog no:** L9879). Likopen, uygulanacak doza göre her bir deney hayvanı için %20'lik tween80- %0,9'luk steril serum fizyolojik karışımının 0,5 mL'si içinde çözülerek enjeksiyona hazır duruma getirildi.

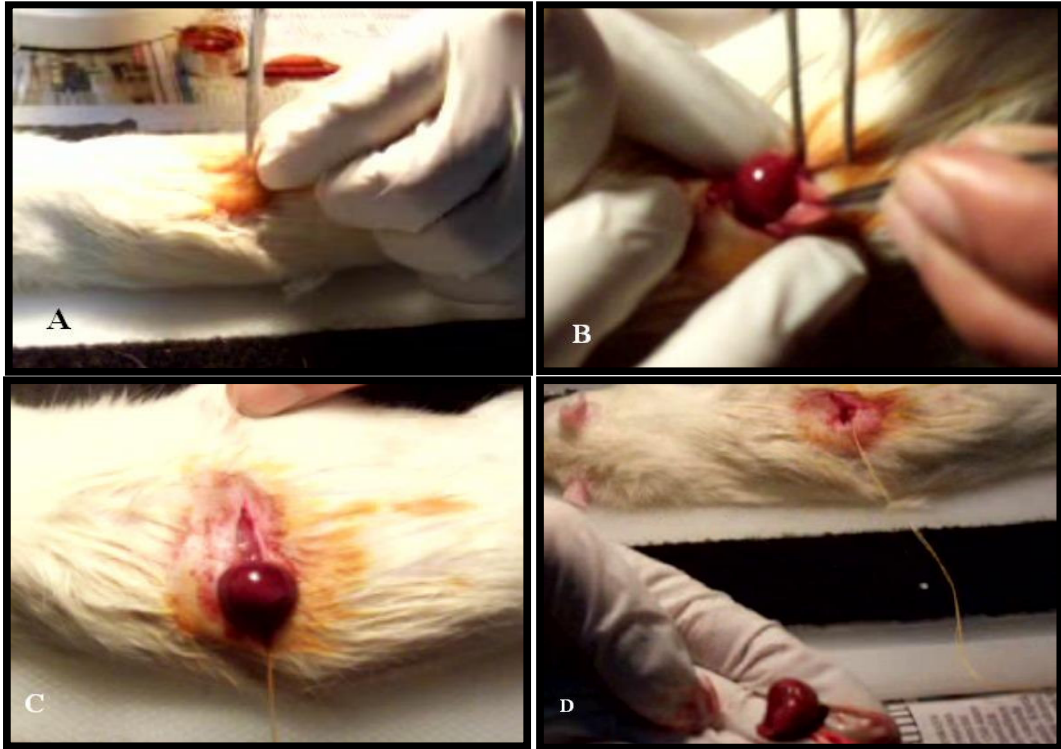
Kimyasal madde enjeksiyonları, çözeltilerin taze olarak hazırlanmasından sonra, steril tek kullanımlık enjektörler ile cerrahi girişimlerden 60 dakika önce, tek doz olarak periton altına uygulandı.

### 3.4. Cerrahi İşlemler

Tüm cerrahi işlemler steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirildi. Diurnal hormonal değişimlerin sıçanlar üzerine olası etkileri dikkate alınarak tüm cerrahi işlemler 09.00 ile 12.00 saatleri arasında yapıldı (Assy, et al., 1998; Karabelyos, et al., 1999; Kaya, et al., 2002; Akino, et al., 2005). Deney hayvanlarına intramüsküler yol ile 10 mg.kg<sup>-1</sup> ksilazin (Rompun, Bayer, Türkiye) ve 70 mg.kg<sup>-1</sup> ketamin (Ketalor, Eczacıbaşı, Türkiye) anestezisi uygulandı (Aydoğdu ve ark., 2005).

### 3.4.1. Nefroktami işlemleri

Nefroktami uygulanacak deney hayvanları Ketalar+Rompun anestezisi altında, sıcaklığı ılık ve sabit olan diseksiyon tablasına tespit edilip rektal ısı kontrolü yapıldı. Cerrahi uygulama bölgesinin %70' lik etanol ile temizliği yapıp sağ böbrek nefroktami (Şekil 3.1.) gerçekleştirildi (Waynforth and Flecknell, 1994) ve 15 gün süre ile iyileşmeleri beklenildi (Şener ve ark., 2005). Her bir sıçana yapılan cerrahiden sonra kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olunması için karın boşluğuna steril serum fizyolojik verildi (Kaya ve ark., 2002).



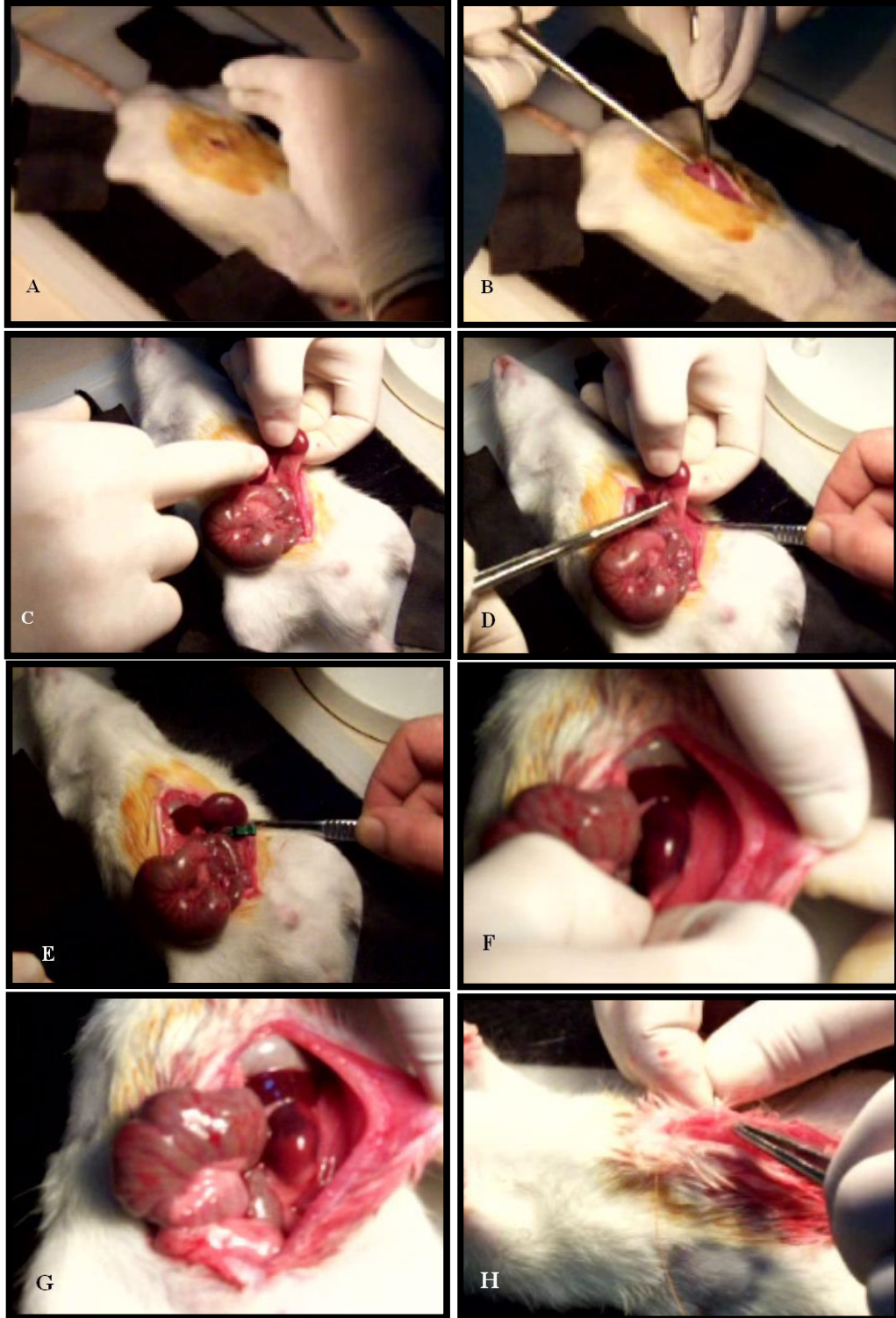
**Şekil 3.1.** Nefroktami işlemi. Diseksiyon (A), sağ böbreğin çıkarılması (B), böbreğin cerrahi kat-küt ile boğumlanması (C), sağ böbreğin sıçandan alınması (D).

Bu işlemi takiben, kas ve deri kesileri ayrı ayrı fakat devamlı olarak 3/0 ipek sütünle dikilerek kapatıldı ve poviodeks antiseptik solusyon ile laparoktomi bölgesi temizlendi. Cerrahi işlem görmüş her bir deney hayvanı kimyasal sterilizasyonu yapılmış, tek bireylik, polikarbonat bileşimli ve şeffaf nitelikteki kafeslere ayrı ayrı koyularak diyet değişikliği yapılmaksızın 15 gün boyunca yaşatıldı.

### **3.4.2. İskemi/Reperfüzyon işlemleri**

İskemi/reperfüzyon yapılacak deney hayvanlarına Ketalar+Rompun anestezisi altında, midline laparoktomi gerçekleştirildi (Şekil 3.2. A-B). Sol renal arter izole edilerek (Şekil 3.2. C-D), antitravmatik vaskular klemp yardımıyla 45 dakika süre ile sol renal arterden kan akışı durduruldu (Şekil 3.2. E). 45 dakika iskeminin hemen ardından 6 saat reperfüzyon (Şekil 3.2. F-G) uygulandı (Şener, et al., 2005, Waynforth and Flecknell, 1994).

Reperfüzyon süresince her bir deney hayvanına yapılan cerrahiden sonra kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olunması için karın boşluğuna steril serum fizyolojik verildi (Kaya ve ark., 2002). Bu işlemi takiben, kas ve deri kesileri ayrı ayrı fakat devamlı olarak 3/0 ipek sütünle dikilerek kesi bölgesi kapatıldı ve poviodeks antiseptik solusyon ile laparoktomi bölgesi temizlendi. Her bir deney hayvanı kimyasal sterilizasyonu yapılmış, tek bireylik, polikarbonat bileşimli ve şeffaf nitelikteki kafeslere ayrı ayrı koyularak 6 saat boyunca yaşatıldı.



**Şekil 3.2.** İskemi/ reperfüzyon işlemleri. Midline laparotomi (A-B), sol renal arterin izolasyonu (C-D), renal artere klemp takılması (E), reperfüzyon işlemi (F-G), cerrahi bölgesinin kapatılması (H).

### **3.5. Kan- Serum biyokimya analizleri**

Kan sayımı için, deney hayvanlarının diseksiyonu sırasında kalpten yeterli miktarda kan EDTA'lı tüplere alındı. Tüm kan parametrelerinin ölçümü Hemavet 850 marka ve model kan sayım cihazında sıçan kalibrasyonunda sayım yapıldı. Kalpten alınan kanın kalan kısmı ise biyokimyasal analizlerin yapılması için jelli tüplere aktarıldı. MSE Mistral 2000 marka ve model santrifüjde 3000 rpm.'de 10 dakika santrifüj yapılarak serumlar elde edildi (Sanz, et al., 1998; Aktay, et al., 2000). Elde edilen serumlar polietilen tüplere aktarılarak analizleri yapılana kadar -80 °C'de derin dondurucuda bekletildi (Fruta, et al., 2000).

Karaciğer hücrelerinin olası fonksiyon bozukluklarını tespit etmek amacı ile biyokimyasal olarak serum örneklerinde aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzim seviyeleri, böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi için de üre (BUN) ve kreatinin düzeyleri belirlendi (Kaya, et al., 2002). Tüm serum analizleri HITACHI-917 marka oto analizatörde, Human (Human Gessellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Wiesbaden Germany) marka ticari kitler kullanılarak yapıldı.

### **3.6. Böbrek Doku Enzim Analizleri**

Tüm deney hayvanlarının diseksiyonlarının hemen sonrasında alınan böbrek doku örnekleri doku enzim analizlerinin yapılacağı zamana kadar doku enzim seviyesinde bir değişime neden vermemek için -80 °C'de derin dondurucuda saklandı.

### **3.6.1. Böbrek dokularında lipid peroksidasyonunun tayini**

Uygulama ve kontrol gruplarına ait böbrek dokularındaki lipid peroksidasyonunun indikatörü olarak MDA ölçümü yapılmıştır. Yöntem için esas olarak Okhawa et al. (1979) temel alınmıştır. Barbitürat-MDA konjugatının 532 nm’ de oluşturacağı pembe rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi bu yöntemin referans noktasıdır. Elde edilen absorbans değerler, ekstinksiyon katsayısı kullanılarak nmol MDA g<sup>-1</sup> doku olarak ifade edilmiştir.

### **3.6.2. Böbrek dokularında glutatyon aktivitesinin tayini**

Analiz için Sedlack and Lindsay (1968)’ in doku homojenatlarında geliştirdikleri yöntem esas alınmıştır. Bu spektrofotometrik yöntemin temeli, Ellman’s reaktifi olarak da bilinen 5-5’-dithiobis-2-nitrobenzoik asitin (DTNB), ortamda var olan SH grupları ile redüklenerek sarı renkli bir ürün olan 2-nitro-5-merkaptobenzoik asite dönüşmesine ve bu bileşiğin 412 nm’de verdiği absorbansın ölçülmesine dayanmaktadır. Elde edilen değerler, ekstinksiyon katsayısı kullanılarak µmol GSH g<sup>-1</sup> doku olarak ifade edilmiştir.

### **3.6.3. Böbrek dokularında protein miktar tayini**

Tüm gruplara ait böbreklerdeki protein miktarları Lowry ve arkadaşlarının (1951) geliştirdiği yönteme dayanarak hazırlanmış ticari Bio-Rad ölçüm kiti ile yapılmıştır. Böbrek dokuları %1,15’lik KCl ile homojenize edildikten sonra 1000 g’ de santrifüj

edilerek partiküller çöktürülmüştür. Elde edilen süpernatantın bir miktarı kitin reaktifleri ile reaksiyon ortamına konularak 15 dakika sonunda 750 nm de kör tüpe karşı okunmuştur. Standartlar kitin içinde mevcut olan BSA ile hazırlanmış ve Curve Expert 1.3. programı ile standart grafik çizilmiştir. Tüm gruplara ait örneklerin absorbans değerleri standart grafikte yerine konarak mg/ml cinsinden sonuçlar elde edilmiştir.

#### **3.6.4. Böbrek dokularında katalaz (CAT) miktar tayini**

Kontrol ve uygulama gruplarına ait böbrek dokularında CAT aktivitesi ölçümü Beutler'in, (1985) geliştirdiği metoda göre yapılmıştır. Bu yöntemde göre; dokular 1/10 oranında %15'lik KCl tamponuna alınarak Ultra Turrax homogenizatör ile homogenize edildi. Elde edilen homojenat soğutmalı santrifüj yardımı ile 2000 rpm'de 10 dakika +4 °C'de santrifüj yapılarak, süpernatant fraksiyonu enzim aktivite tayini için ayrıldı. Katalaz enzimi (CAT), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yıkımını katalizleme özelliğine sahip bir enzimdir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin CAT tarafından yıkım hızı, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin 230 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçümler yapıldı. Doku CAT aktivitesi K/mg olarak ifade edildi.

#### **3.6.5. Böbrek dokularında süperoksit dismutaz (SOD) miktar tayini**

Süperoksit dismutaz aktivitesi, Winterborn ve arkadaşlarının (1975) geliştirdiği yöntem referans alınarak çalışıldı. Bu yöntemin temeli ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan süperoksit radikalinin SOD enzimi ile ortadan kaldırılamadığında reaksiyon ortamında bulunan nitroblue tetrazolium (NBT) bileşiğinin indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Absorbans 560 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Doku SOD aktivitesi U/mg protein olarak ifade edildi.

### 3.7. Böbrek Histolojik Preparatlarının Hazırlanması

Deney hayvanlarının diseksiyonu sırasında histolojik incelemeler için yeterli boyutta alınan böbrek dokularının her biri tespit için %10 tamponlanmış formaldehit solüsyonunda 24-48 saat süre ile bekletildi. Tespit işlemi sonrasında rutin histolojik takip metodu kullanılarak parafin içine gömülen doku örneklerinden mikrotom yardımı ile 5µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler hematoksilin-eozin boyama metodu kullanılarak boyandı ve preparatlar entellan ile kapatılarak daimi hale getirildi. Hazırlanan preparatlar mikroskopta incelenerek fotoğrafları çekildi.

### 3.8. İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışmalarımız sonucunda elde edilen verilerin değerlendirmesinde SPSS 9.0 for Windows paket programı yardımı ile One Way Anova-Tukey testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel uygulamalar sonucunda sayısal değer (P) olarak ortaya çıkan deney grupları arasındaki farklar ( $P<0,05$ ) oluşturulan tablolarda, <sup>a</sup>: kontrol grubuna göre  $P<0.05$  seviyesinde önemli; <sup>b</sup>: sham grubuna göre  $P<0.05$  seviyesinde önemli; <sup>c</sup>: IR grubuna göre  $P<0.05$  seviyesinde önemli; <sup>d</sup>: Tween80-IR grubuna göre  $P<0.05$  seviyesinde önemli olarak belirtildi.



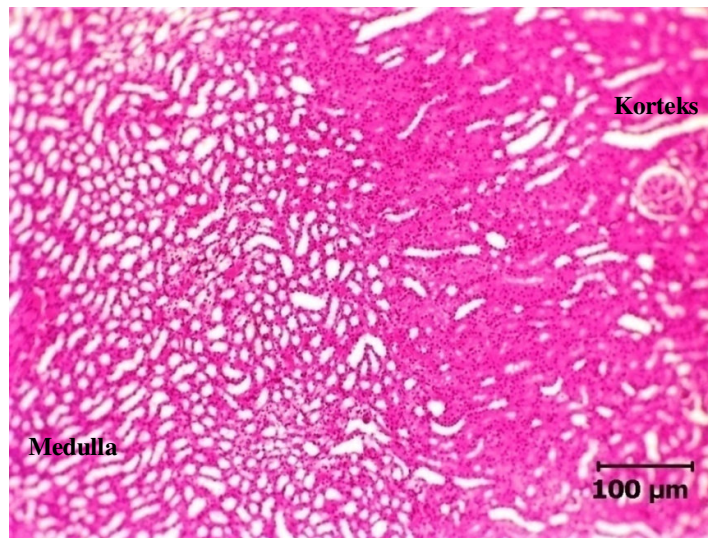
#### 4. SONUÇLAR

Yapılan deneysel çalışmada elde edilen sonuçlar; histopatolojik sonuçlar, serum biyokimya sonuçları, kan sayım sonuçları ve doku enzim seviyesi sonuçları olmak üzere 4 ana başlık altında toplanmıştır.

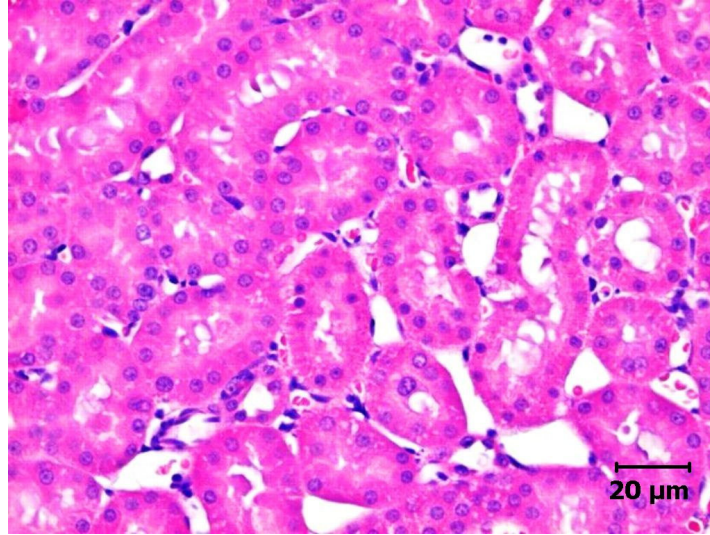
##### 4.1. Böbrek Dokularına Ait Histopatolojik Sonuçlar

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen histopatolojik sonuçlar Şekil 4.1.-18'de görülmektedir.

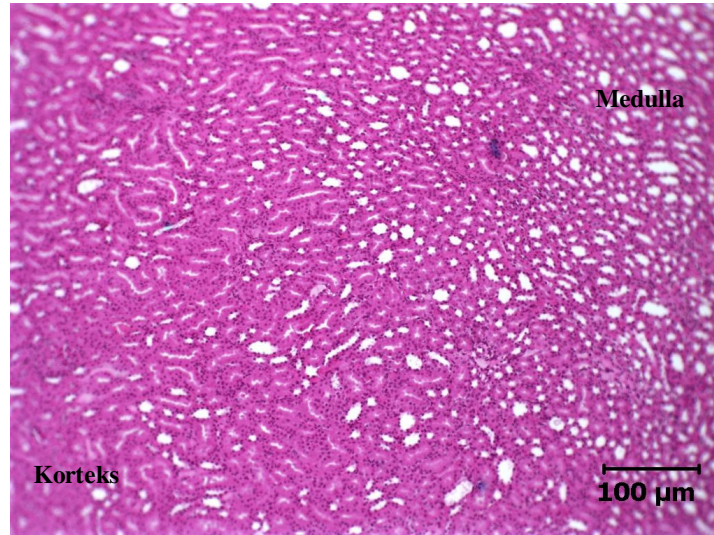
Kontrol grubu (grup 1) sıçanlarına ait preparatlardan yapılan inceleme sonucunda, böbrek korteks-medulla geçişindeki tübül hücrelerinin görünümünün normal olduğu, böbrek tübüllerinde nekrotik hücrelerin bulunmadığı, tübül hücreleri arasında kanlanmanın olmadığı, dolayısıyla patolojik olarak değerlendirilebilecek herhangi bir durumun bulunmadığı görüldü (Şekil 4.1., Şekil 4.2.).



Şekil 4.1. Kontrol grubu: Korteks-medulla geçişi genel görünümü H&E X100.

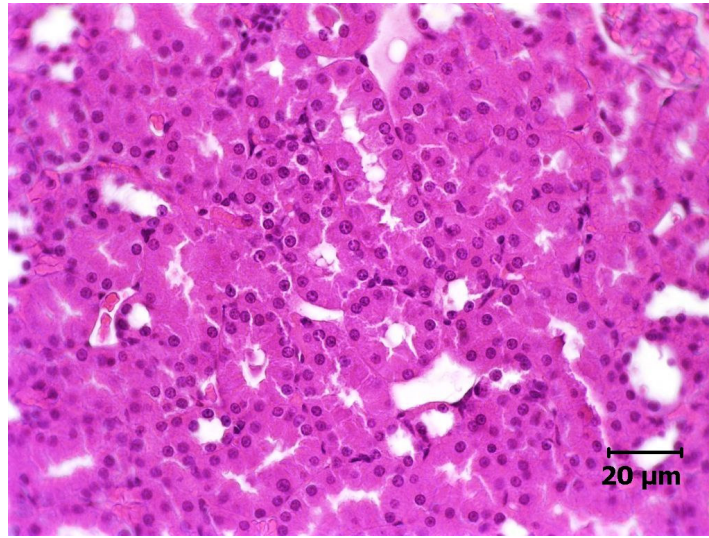


Şekil 4.2. Kontrol grubu: Böbrek tübül hücreleri ve lümeninde normal görünüm H&E X400.



Şekil 4.3. Sham grubu: Korteks-medulla geçişi genel görünümü H&E X100.

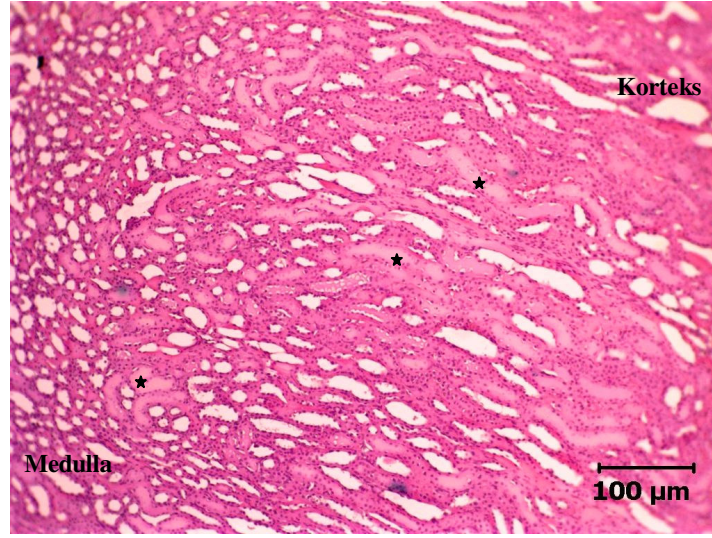
Kontrol grubu ile benzer olmakla birlikte, sham grubu (grup 2) histolojik kesitleri korteks-medulla geçişinde, tübül yapılarında minimum deformasyonlar tespit edildi (Şekil 4.3., Şekil 4.4.).



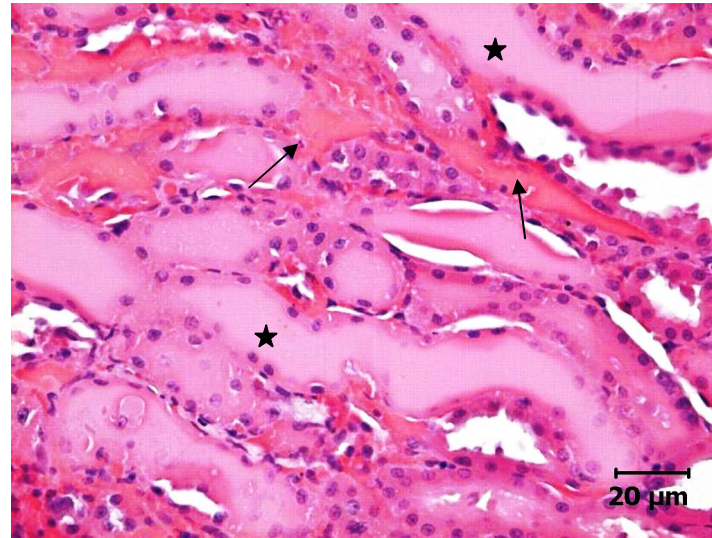
**Şekil 4.4.** Sham grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü H&E X400.

IR grubunda (grup 3), IR hasarına bağlı olarak tübül hücrelerinde şişme ve buna bağlı olarak tübüller içerisinde sıvı birikimi ve hücre döküntülerinin oluşturduğu hücelere bağlı tübüller deformasyon vardı. Bununla birlikte yoğun olarak tübüller arasında kanlanma olduğu görüldü (Şekil 4.5.-6.).



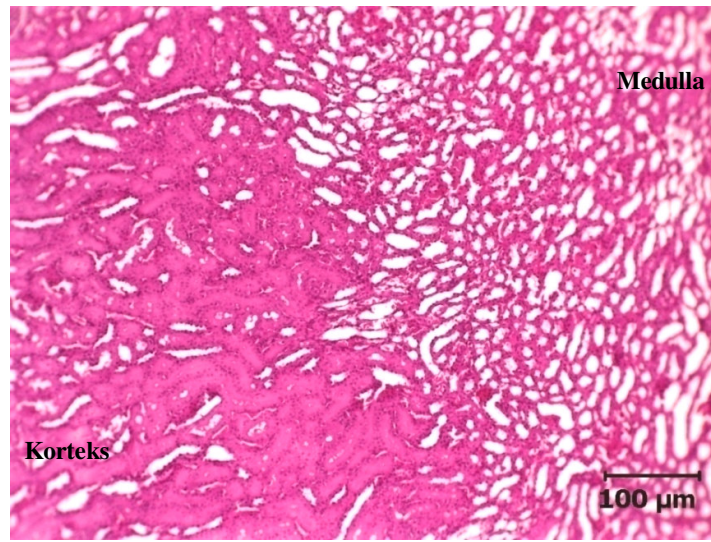


**Şekil 4.5.** IR grubu: Korteks-medulla geçişi genel görünümü. Tübül hücrelerinde şişmeye bağlı lümen içerisinde sıvı birikimi ( \* ) H&E X100.

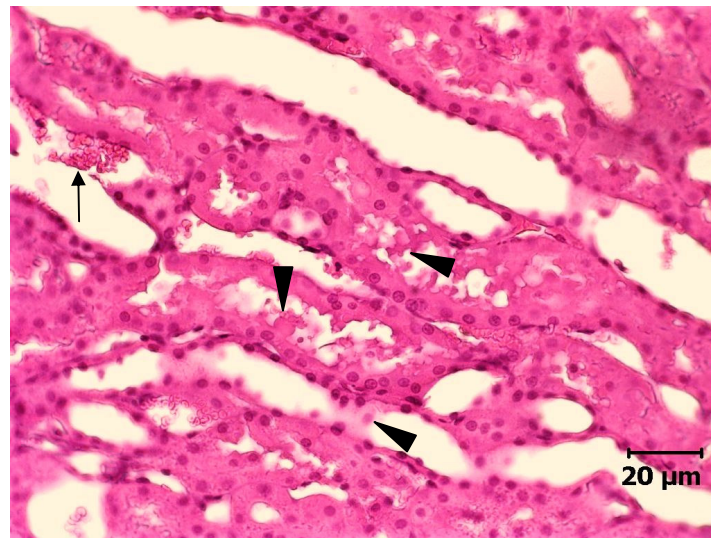


**Şekil 4.6.** IR grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü. Tübül hücrelerinde şişmeye bağlı lümen içerisinde sıvı birikimi ( \* ), ve tübüller arasında kanamalı bölgeler ( → ) H&E X400.

Tween80-IR grubu (grup 4) preparatlarında korteks-medulla geçişinde bulunan tübül hücrelerinde IR grubu ile benzer şekilde şişme ve bununla beraber hücre apikallerinde sitoplazma kaybı vardı. Aynı zamanda tübül içerisinde hücre döküntülerine rastlandı. Tübüller arasında da kısmi kanlanmalar bulundu (Şekil 4.7.-8.).



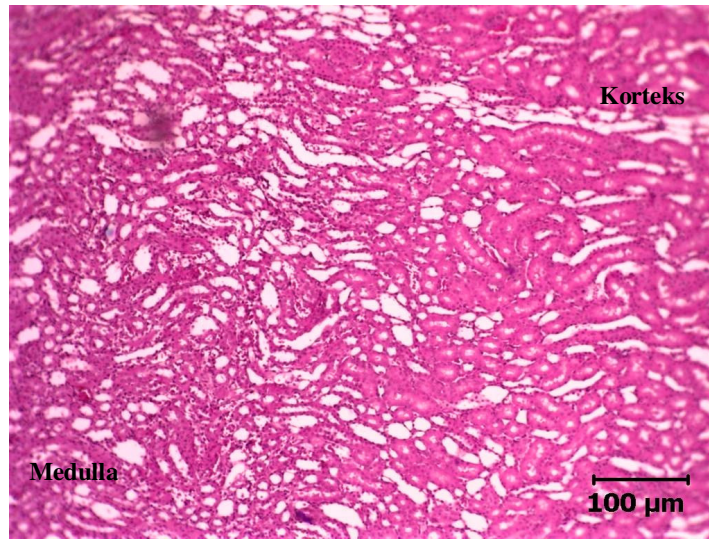
Şekil 4.7. IR-Tween80 grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü H&E X100.



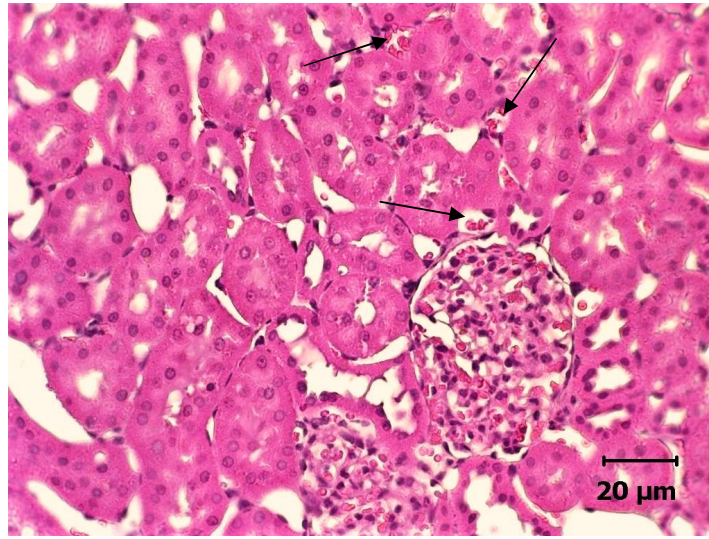
Şekil 4.8. IR-Tween80 grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü. Tübüller arasında kısmi kanlanmalar (→) ve tübül lümeninde hücre döküntüleri (▶) H&E X400.



2,5 mg/kg likopen uygulanan gruba (grup 5) ait histolojik preparatlar incelendiğinde IR ve Tween80-IR uygulama gruplarına göre tübül hücrelerindeki hasarın büyük ölçüde azaldığı görüldü. Tübüller arasında IR ve Tween80-IR gruplarında yoğun olarak gözlenen kanamaların minimum düzeyde olduğu, aynı zamanda tübül hücrelerinde meydana gelen IR hasarına bağlı şişme ve bunun sonucunda meydana gelen nekrotik hücrelerin miktarının azaldığı görüldü (Şekil 4.9.-10.).

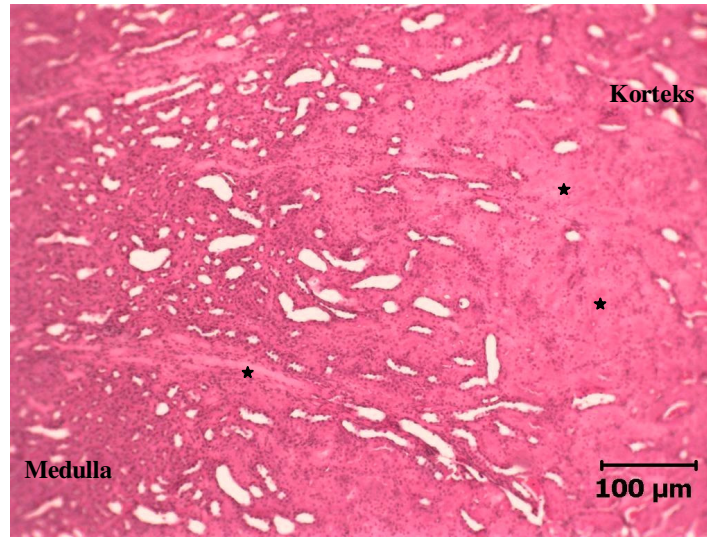


Şekil 4.9. IR- 2,5 mg/kg Likopen grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü X100.

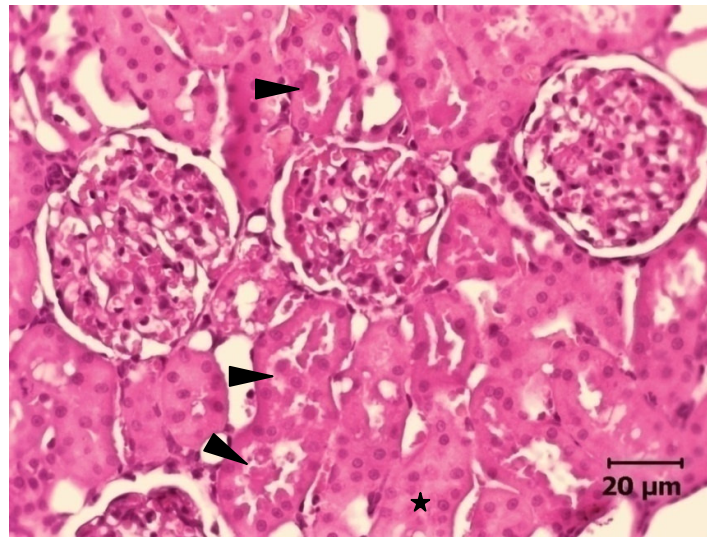


Şekil 4.10. IR- 2,5 mg/kg Likopen grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü. Tübüller normal, tübüller arasında kısmen kanlanmalar görülmekte ( → H&E X400.

5 mg/kg likopen uygulanan grubun (grup 6) böbrek kesitlerinde ise IR ve Tween80-IR gruplarında gözlenen hasar kadar yüksek bir deformasyona rastlanılmasa da 2,5 mg/kg likopen verilen grup ile karşılaştırıldığında hasarın daha yüksek olduğu, tübüllerdeki deformasyonun arttığı görüldü. Aynı zamanda bazı alanlarda Tween80-IR grubunda gözlenen hücre döküntülerine rastlandı (Şekil 4.11.-12.).



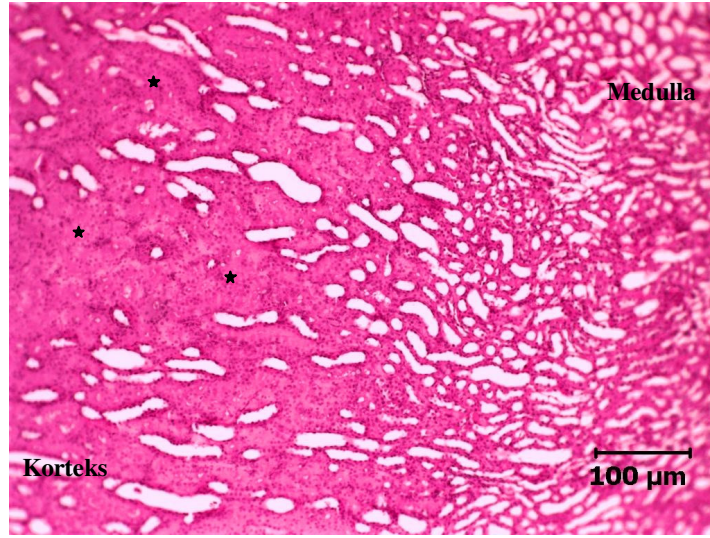
**Şekil 4.11.** IR- 5 mg/kg Likopen grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü. Tübül lümeni içerisinde sıvı birikimi (★) H&E X100.



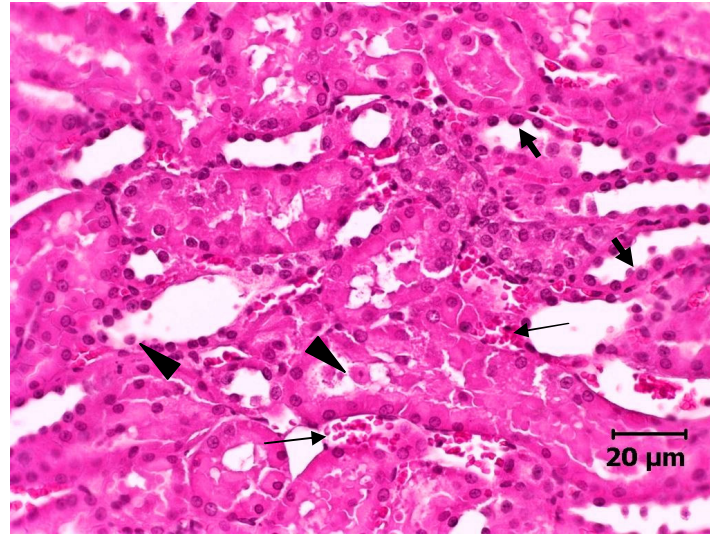
**Şekil 4.12.** IR- 5 mg/kg Likopen grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü. Tübül hücrelerinde sıvı birikimi (★), epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde sitoplazma kaybı ve tübül lümeninde hücre döküntüleri (▶) H&E X400.



10 mg/kg likopen grubunda (grup 7) ise doz ile bağlantılı olacak şekilde hücresel hasarın 5 mg/kg uygulama grubundan daha da fazla olduğu görüldü. Tübül içerisindeki hücre döküntülerinin Tween80-IR grubuna benzer şekilde artış bulundu. Tübüller arasındaki kanamalı bölgelerin miktarı da 5 mg/kg likopen grubuna göre daha yüksek ve Tween80-IR grubuna yakındı (Şekil 4.13.-14.).



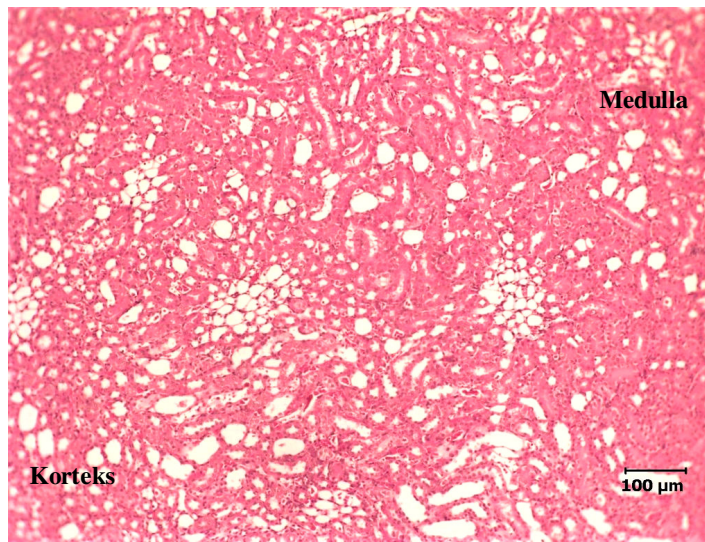
**Şekil 4.13.** IR- 10 mg/kg Likopen grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü. Tübül hücrelerinde şişmeye bağlı deformasyonlar (★) görülmektedir H&E X100.



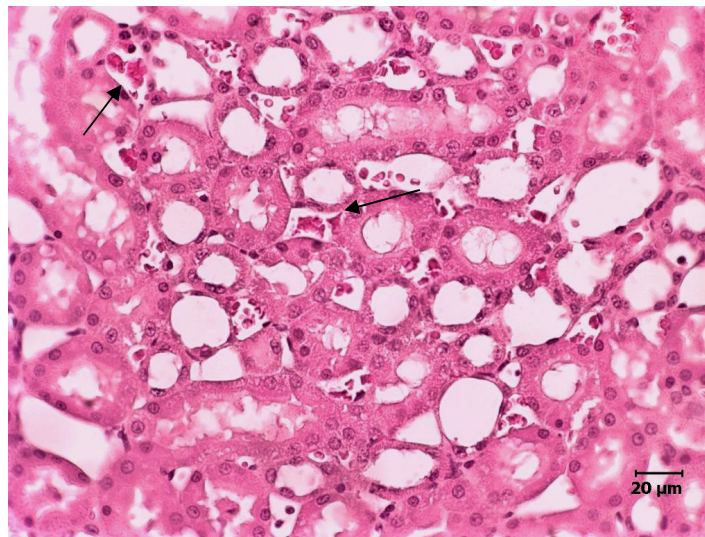
**Şekil 4.14.** IR- 10 mg/kg Likopen grubu: Böbrek tübül hücrelerinin görünümü. Tübüller arasında kanlanmalar (→) ve tübül epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde sitoplazma kaybı (▶) ile birlikte lümen içerisinde epitel hücreleri (▶) görülmekte X400.



50 mg/kg silimarin uygulama grubu (grup 8) preparatlarında, IR grubunda gözlenen tübül hücrelerinde şişmeler sonucu meydana gelen tübül deformasyonunun büyük miktarda azaldığı, tübül lümen içerisinde oluşan nekrotik hücrelerin ve tübüller arasında meydana gelen kanamalı bölgelerin azaldığı saptandı. Tübül hücrelerinin apikallerinde de meydana gelen sitoplazma kayıplarının da çok aza indirgenmiş olduğu görüldü (Şekil 4.15.-16.).

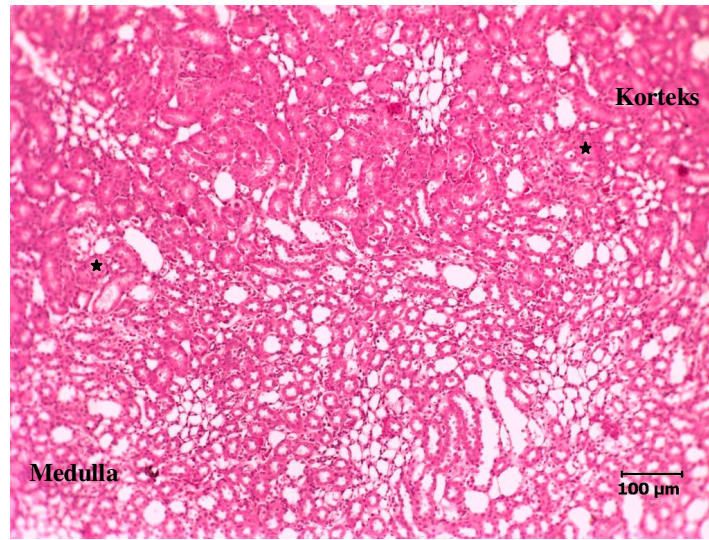


Şekil 4.15. IR- 50 mg/kg Silimarin grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü X100.

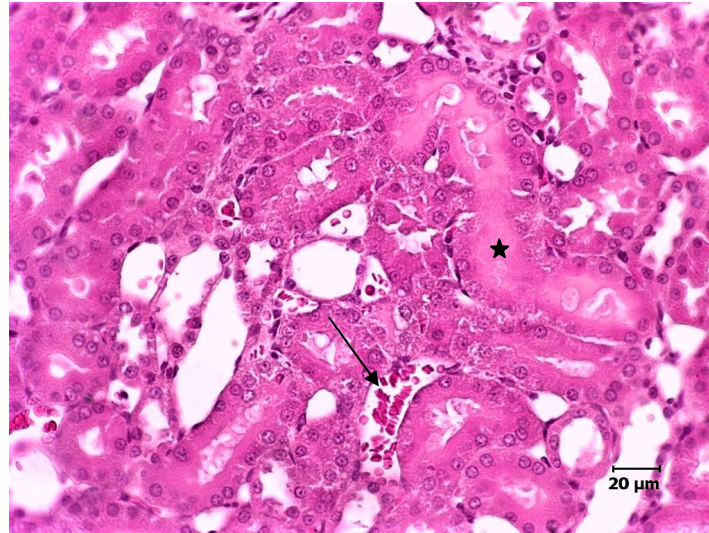


Şekil 4.16. IR- 50 mg/kg Silimarin grubu: Tübül hücrelerinin görünümü Tübüller arasında kanamalı bölgeler (→) H&E X400.

Silimarinin 100 mg/kg uygulanan dozunda (grup 9) IR grubuna göre histopatolojik hasarın azaldığı, tübüler deformasyon ve şişmeye bağlı tübüller içerisinde sıvı birikiminin oldukça az olduğu ve tübül hücrelerinin apikallerinde meydana gelen sitoplazma kaybının azaldığı görüldü (Şekil 4.17.-18.).



**Şekil 4.17.** IR- 100 mg/kg Silimarin grubu: Korteks-medulla geçişi görünümü. Tübül lümenleri içerisinde kısmi sıvı birikimi (★) H&E X100.



**Şekil 4.18.** IR- 100 mg/kg Silimarin grubu: Tübül hücrelerinin görünümü. Tübüller arasında kısmi kanamalı bölgeler (→) ve tübül lümenlerinde çok nadir de olsa sıvı birikimi (★) H&E X400.

## 4.2. Biyokimyasal Sonuçlar

Yapılan çalışmalar sonucunda kontrol ve uygulama gruplarına ait serum biyokimyasal analiz değerleri Çizelge 4.1. ve Şekil 4.19-24'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Kontrol ve deney gruplarına ait serum değerleri.

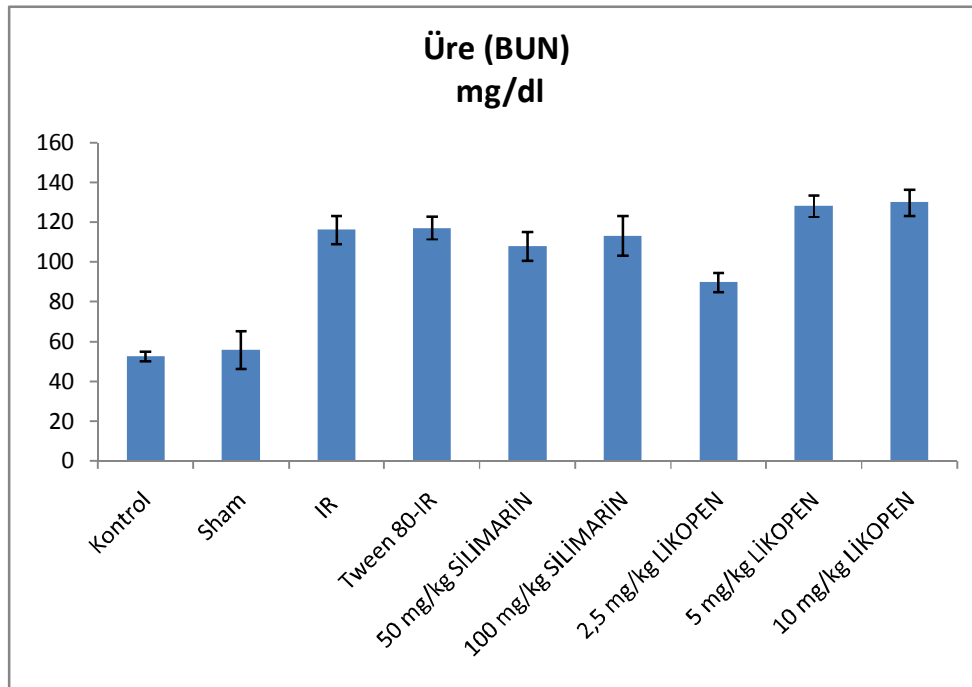
	Üre (BUN) mg/dl	KREATİNİN mg/dl	GOT (AST) U/L	GPT (ALT) U/L	LDH U/L	ÜRİK ASİT mg/dl
<b>Kontrol</b>	52,66±2,4 <sup>c,d</sup>	0,4±0,05 <sup>c,d</sup>	120,43±20,7 <sup>b,c</sup> ,d	90,63±10,58 <sup>b,c</sup>	296,3±72,72 <sup>c,d</sup>	1,8±0,2 <sup>b,c,d</sup>
<b>Sham</b>	55,8±9,59 <sup>c,d</sup>	0,53±0,11 <sup>c,d</sup>	213,2±29,56 <sup>a,c</sup> ,d	111,35±6,31 <sup>c,d</sup>	344,8±81,01 <sup>c,d</sup>	2,35±0,05 <sup>a,c,d</sup>
<b>IR</b>	116,13±6,96 <sup>a,b</sup>	0,9±0,17 <sup>a,b</sup>	289±11,9 <sup>a,b</sup>	130,4±1,85 <sup>a,b</sup>	443,86±72,59 <sup>a</sup> ,b	2,75±0,21 <sup>a,b</sup>
<b>Tween80/ IR</b>	117,17±5,68 <sup>a,b</sup>	1,2±0,18 <sup>a,b</sup>	289,58±36,87 <sup>a</sup> ,b	135,74±8,45 <sup>a,b</sup>	471,87±80,13 <sup>a</sup> ,b	2,8±0,18 <sup>a,b</sup>
<b>50 mg/kg Silimarin</b>	107,96±7,32 <sup>a,b</sup>	0,83±0,12 <sup>a,c,d</sup>	203,11±54,3 <sup>a,c</sup> ,d	54,18±7,94 <sup>a,b,c</sup> ,d	620,81±66,44 <sup>a</sup> ,b,c,d	1,8±0,17 <sup>b,c,d</sup>
<b>100 mg/kg Silimarin</b>	113,25±9,88 <sup>a,b</sup>	0,96±0,15 <sup>a,b,c</sup>	274,82±53,56 <sup>a</sup> ,b	71,41±7,75 <sup>a,b,c</sup> ,d	573,78±71,82 <sup>a</sup> ,b	1,9±0,12 <sup>b,c,d</sup>
<b>2,5 mg/kg Likopen</b>	89,74±4,73 <sup>a,b,c</sup> ,d	0,68±0,1 <sup>a,b,c,d</sup>	368,22±33,08 <sup>a</sup> ,b,c,d	77,22±10,58 <sup>a,b</sup> ,c,d	480,34±53,8 <sup>a,b</sup>	1,24±0,13 <sup>a,b,c,d</sup>
<b>5 mg/kg Likopen</b>	128,1±5,34 <sup>a,b</sup>	1,24±0,18 <sup>a,b</sup>	342,47±46,64 <sup>a</sup> ,b,c,d	110,04±11,21 <sup>c</sup> ,d	585,74±109,3 <sup>a</sup> ,b	1,71±0,14 <sup>b,c,d</sup>
<b>10 mg/kg Likopen</b>	129,92±6,61 <sup>a,b</sup> ,c,d	1,3±0,12 <sup>a,b,c</sup>	324,56±43,26 <sup>a</sup> ,b,c,d	104,3±10,49 <sup>c,d</sup>	537,1±84,73 <sup>a,b</sup>	2±0,07 <sup>b,c,d</sup>

<sup>a</sup>: kontrol grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli; <sup>b</sup>: sham grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli;

<sup>c</sup>: IR grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli; <sup>d</sup>: Tween80-IR grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli.

#### 4.2.1. Üre (BUN) değerleri

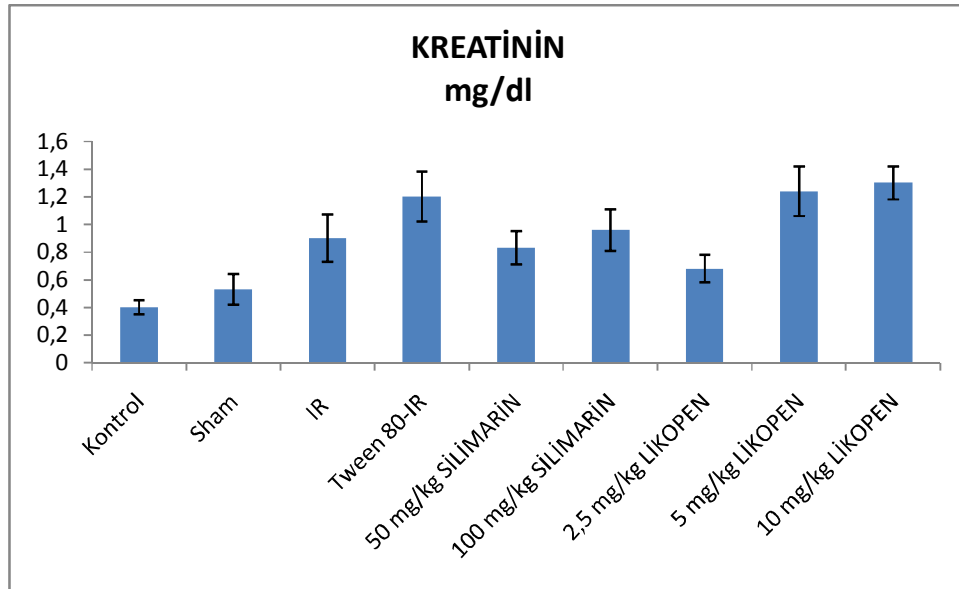
IR (116,13±6,96) ve Tween80-IR (117,17±5,68) gruplarında üre değerleri, kontrol (52,66±2,4)ve sham grubu (55,8±9,59) değerlerinden anlamlı olarak farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Üre değerleri 2,5 mg/kg likopen grubunda (89,74±4,73), IR ve Tween80-IR grubundan anlamlı olarak düşüktür ( $p<0,05$ ). 5 mg/kg likopen grubu üre değerleri (128,1±5,34) kontrol ve sham grubuna göre anlamlı olarak yüksektir ( $p<0,05$ ). 10 mg/kg likopen grubunda ölçülen üre değerleri (129,92±6,61), kontrol ve sham gruplarından anlamlı olarak yüksek bulunurken, IR ve Tween 80/IR grubu ile arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). 50 mg/kg (107,96±7,32) ve 100 mg/kg (113,25±9,88) silimarin uygulanan gruplarda IR grubu ile anlamlı bir fark bulunmamış ( $p>0,05$ ) fakat kontrol ve sham grupları ile anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).



Şekil 4.19. Kontrol ve deney gruplarına ait serum Üre (BUN) Değerleri.

#### 4.2.2. Kreatinin değerleri

Serum Kreatinin değerleri IR ( $0,9 \pm 0,17$ ) ve Tween80-IR ( $0,53 \pm 0,11$ ) gruplarında kontrol ( $0,4 \pm 0,05$ ) ve sham ( $0,53 \pm 0,11$ ) gruplarına göre anlamlı derece yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). 2,5 mg/kg uygulanan gruptan elde edilen kreatinin değerleri ( $0,68 \pm 0,1$ ) IR ve Tween80-IR grubuna göre anlamlı derecede düşük, kontrol grubuna göre ise anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p < 0,05$ ). 5 mg/kg ( $1,24 \pm 0,18$ ) ve 10 mg/kg ( $1,3 \pm 0,12$ ) uygulanan gruplardaki kreatinin değerleri ile IR ve Tween80-IR grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). 5 ve 10 mg/kg likopen gruplarının kreatinin değerleri, kontrol ve sham gruplarından anlamlı derecede yüksektir ( $p < 0,05$ ). 50 mg/kg ( $0,83 \pm 0,12$ ) ve 100 mg/kg ( $0,96 \pm 0,15$ ) silimarin uygulanan gruplar ile IR grubu arasında anlamlı bir fark yoktur ( $p > 0,05$ ). 50 mg/kg silimarin uygulanan grubun kreatinin değeri, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da IR grubundan düşük bulunmuştur (Şekil 4.20).

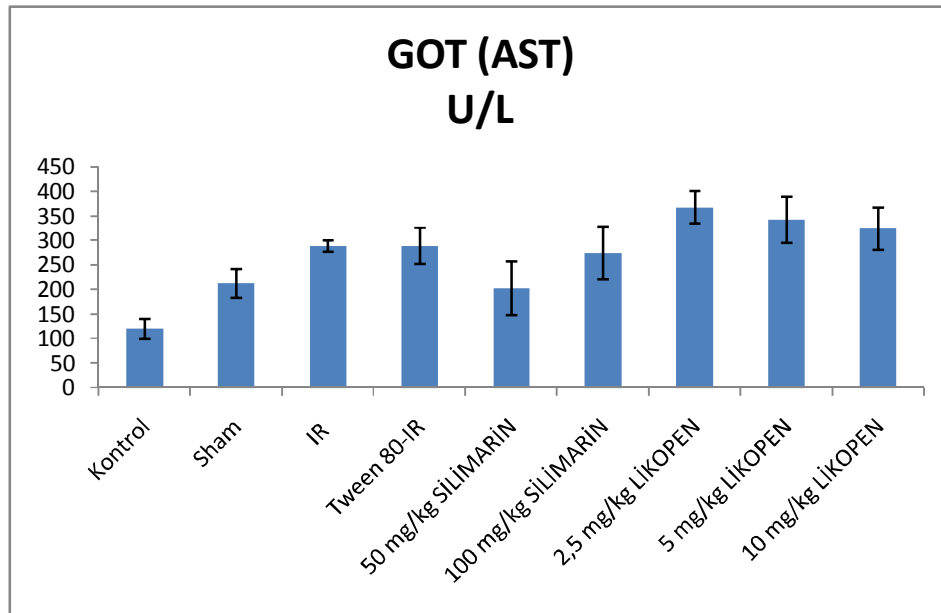


Şekil 4.20. Kontrol ve deney gruplarına ait serum Kreatinin Değerleri.



### 4.2.3. GOT (AST) değerleri

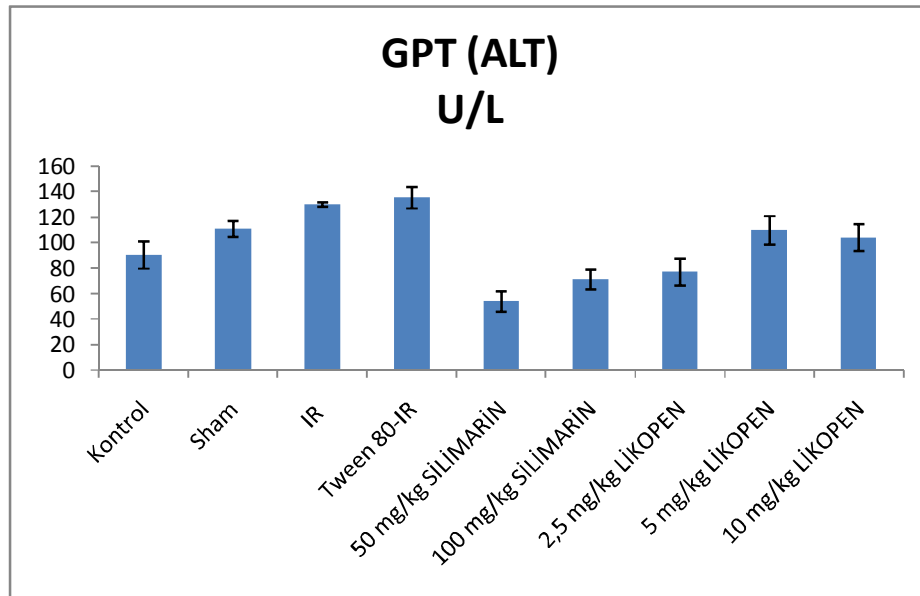
Serum GOT değerleri (Şekil 4.21), IR ( $289 \pm 11,9$ ) ve Tween80-IR ( $289,58 \pm 36,87$ ) gruplarında kontrol ( $120,43 \pm 20,7$ ) ve sham ( $213,2 \pm 29,56$ ) gruplarına göre anlamlı derece yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Likopenin 2,5 mg/kg ( $368,22 \pm 33,08$ ), 5 mg/kg ( $342,47 \pm 46,64$ ) ve 10 mg/kg ( $324,56 \pm 43,26$ ) uygulama dozlarında, IR, Tween80-IR, kontrol ve sham grubu ile karşılaştırıldığında GOT değerlerinin anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). 50 mg/kg silimarin grubu ile ( $203,11 \pm 54,3$ ) kontrol grubu arasında istatistikse olarak anlamlı bir artış, IR grubuna göre ise anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). 100 mg/kg silimarin uygulanan grupta ise IR grubuna göre anlamlı bir azalma yoktur ( $p > 0,05$ ).



Şekil 4.21. Kontrol ve deney gruplarına ait serum GOT (AST) Değerleri.

#### 4.2.4. GPT (ALT) değerleri

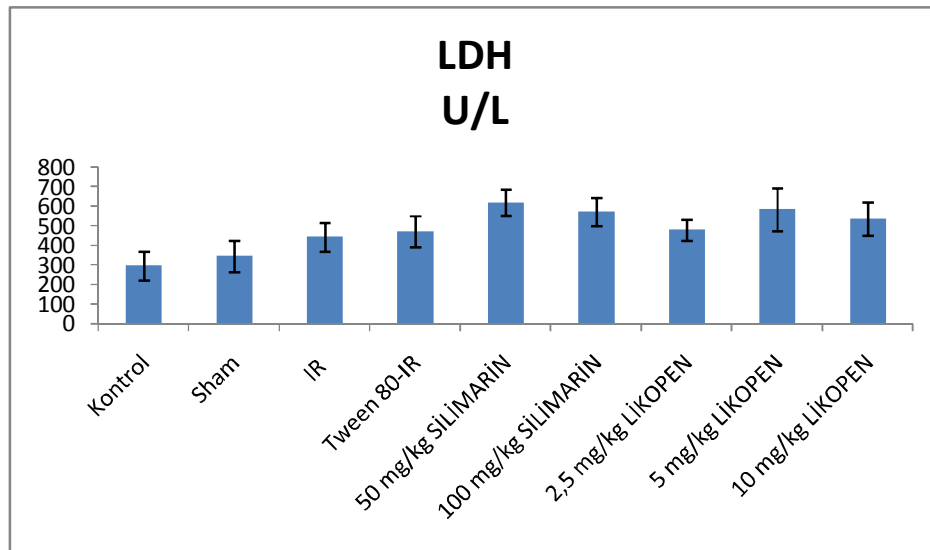
Serum GPT değerleri (Şekil 4.22), IR (130,4±1,85) grubunda, kontrol (90,63±10,58) ve sham (111,35±6,31) gruplarına göre anlamlı derece yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Tween80-IR (135,74±8,45) grubu GPT değerleri ise kontrol ve sham grubundan anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). 2,5 mg/kg likopen uygulama grubunda (77,22±10,58) saptanan değerler; kontrol, sham, IR ve Tween80-IR grubuna göre anlamlı bir azalma gösterdi ( $p<0,05$ ). 5 mg/kg (110,04±11,21) ve 10 mg/kg likopen uygulanan gruplar ile IR ve Tween80-IR grupları anlamlı fark bulundu ( $p<0,05$ ). Kontrol ve sham gruplarında ise anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ). Silimarinin 50 mg/kg (54,18±7,94) ve 100 mg/kg (71,41±7,75) uygulanan grupları ile kontrol, sham, IR ve Tween80-IR grupları arasında anlamlı fark bulundu ( $p<0,05$ ).



Şekil 4.22. Kontrol ve deney gruplarına ait serum GPT (ALT) Değerleri.

#### 4.2.5. LDH değerleri

Serum LDH değerleri IR ( $443,86 \pm 72,59$ ) ve Tween80-IR ( $471,87 \pm 80,13$ ) gruplarında kontrol ( $296,3 \pm 72,72$ ) ve sham ( $344,8 \pm 81,01$ ) gruplarına göre anlamlı derece yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Likopen gruplarından, 2,5 mg/kg likopen uygulanan grupta ( $480,34 \pm 53,8$ ) anlamlı fark oluşturacak bir azalma olmasa da diğer silimarin ve likopen uygulama gruplarına göre azalma olduğu saptanmıştır ( $p > 0,05$ ). 5mg/kg likopen ( $585,74 \pm 109,3$ ) ve 10 mg/kg likopen ( $537,1 \pm 84,73$ ) uygulanan gruplarda, kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı bir artış görülürken ( $p < 0,05$ ), IR ve Tween80-IR gruplarına göre anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ). Aynı durum silimarin uygulanan 50 mg/kg ( $620,81 \pm 66,44$ ) ve 100 mg/kg'lık ( $573,78 \pm 71,82$ ) gruplarda da saptanmıştır. Bu gruplarda LDH değerleri IR ve Tween80-IR grubunda anlamlı yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (şekil 4.23).

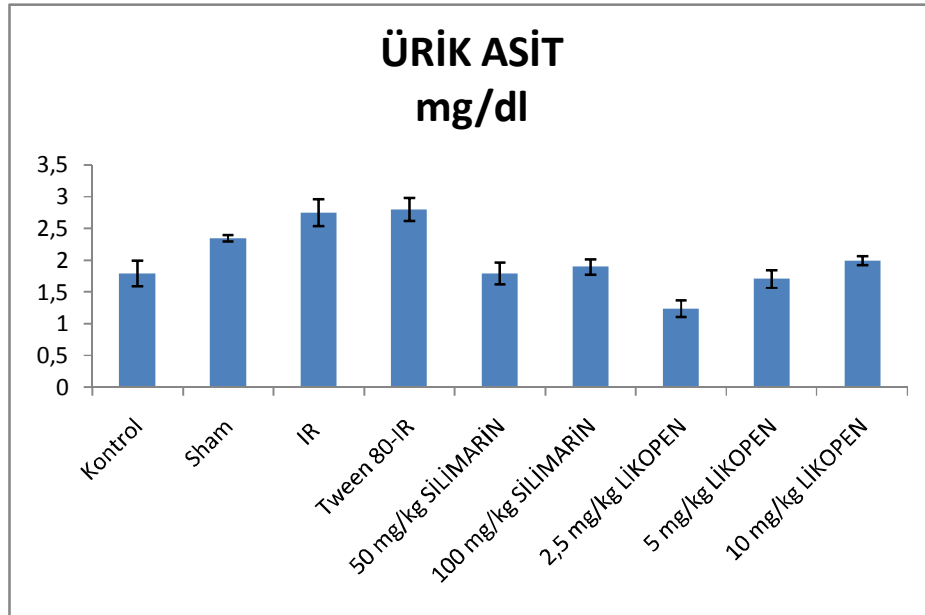


şekil 4.23. Kontrol ve deney gruplarına ait serum LDH Değerleri.



#### 4.2.6. Ürik asit değerleri

Serum ürik asit değerleri IR ( $2,75 \pm 0,21$ ) ve Tween80-IR ( $2,8 \pm 0,18$ ) gruplarında kontrol ( $2,35 \pm 0,05$ ) ve sham ( $1,8 \pm 0,2$ ) gruplarına göre anlamlı derece yüksektir ( $p < 0,05$ ). 2,5 mg/kg ( $1,24 \pm 0,13$ ), 5 mg/kg ( $1,71 \pm 0,14$ ) ve 10 mg/kg ( $2 \pm 0,07$ ) likopen uygulama gruplarından elde edilen değerler, IR ve Tween80-IR gruplarından anlamlı derecede farklı olduğu bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Bununla birlikte 2,5 mg/kg likopen uygulama grubundaki ürik asit değerlerinde de kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma vardı ( $p < 0,05$ ). 50 mg/kg ( $1,8 \pm 0,17$ ) ve 100 mg/kg ( $1,9 \pm 0,12$ ) silimarin uygulanan gruplarda da kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yokken, IR grubu ile anlamlı bir azalma olduğu saptandı (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Kontrol ve deney gruplarına ait serum Ürik Asit Değerleri.

### 4.3. Kan Sayımı Sonuçları

Yapılan çalışmalar sonucunda kontrol ve uygulama gruplarına ait kan sayım değerleri Tablo 4.2. ve Şekil 4.25.-28’de verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** Kontrol ve deney gruplarına ait kan değerleri.

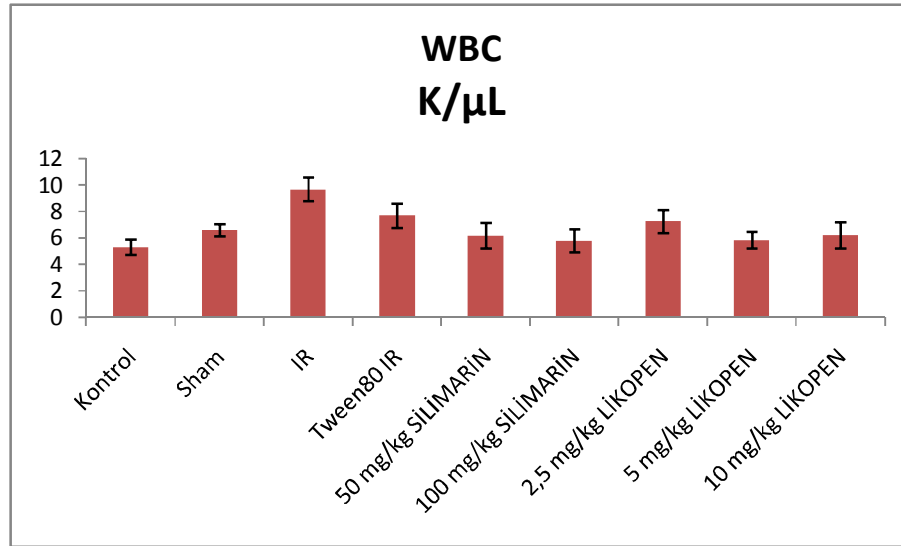
	WBC (K/ $\mu$ L)	NÖTROFİL (K/ $\mu$ L)	LENFOSİT (K/ $\mu$ L)	RBC (M/ $\mu$ L)
<b>Kontrol</b>	5,33 $\pm$ 0,58 <sup>c,d</sup>	1,38 $\pm$ 0,17 <sup>b,c,d</sup>	3,73 $\pm$ 0,57 <sup>b,c,d</sup>	8,41 $\pm$ 0,97
<b>Sham</b>	6,62 $\pm$ 0,45 <sup>c</sup>	4,89 $\pm$ 0,48 <sup>a,c</sup>	1,43 $\pm$ 0,1 <sup>a,c</sup>	8,51 $\pm$ 0,35
<b>IR</b>	9,7 $\pm$ 0,90 <sup>a,b</sup>	7,15 $\pm$ 0,38 <sup>a,b</sup>	2,01 $\pm$ 0,21 <sup>a,b</sup>	8,62 $\pm$ 0,53
<b>Tween 80 IR</b>	7,71 $\pm$ 0,91 <sup>a</sup>	6,03 $\pm$ 0,45 <sup>a,c</sup>	1,72 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	10,14 $\pm$ 0,72
<b>50 mg/kg Silimarin</b>	6,2 $\pm$ 0,95 <sup>c</sup>	5,12 $\pm$ 0,43 <sup>a,c</sup>	1,45 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	8,56 $\pm$ 0,48
<b>100 mg/kg Silimarin</b>	5,82 $\pm$ 0,86 <sup>c</sup>	4,35 $\pm$ 0,95 <sup>a,c</sup>	1,1 $\pm$ 0,15 <sup>a,c,d</sup>	8,93 $\pm$ 0,35
<b>2,5 mg/kg likopen</b>	7,25 $\pm$ 0,87	5,15 $\pm$ 0,88 <sup>a,c</sup>	1,79 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	9,14 $\pm$ 0,35
<b>5 mg/kg likopen</b>	5,85 $\pm$ 0,62 <sup>c</sup>	4,35 $\pm$ 0,71 <sup>a,c</sup>	1,42 $\pm$ 0,35 <sup>a,c</sup>	10,55 $\pm$ 0,37
<b>10 mg/kg likopen</b>	6,24 $\pm$ 0,99 <sup>c</sup>	4,55 $\pm$ 1,35 <sup>a,b</sup>	1,28 $\pm$ 0,17 <sup>a,c,d</sup>	10,64 $\pm$ 0,72

<sup>a</sup>: kontrol grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli; <sup>b</sup>: sham grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli;

<sup>c</sup>: IR grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli; <sup>d</sup>: Tween80-IR grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli.

### 4.3.1. Kan WBC değerleri

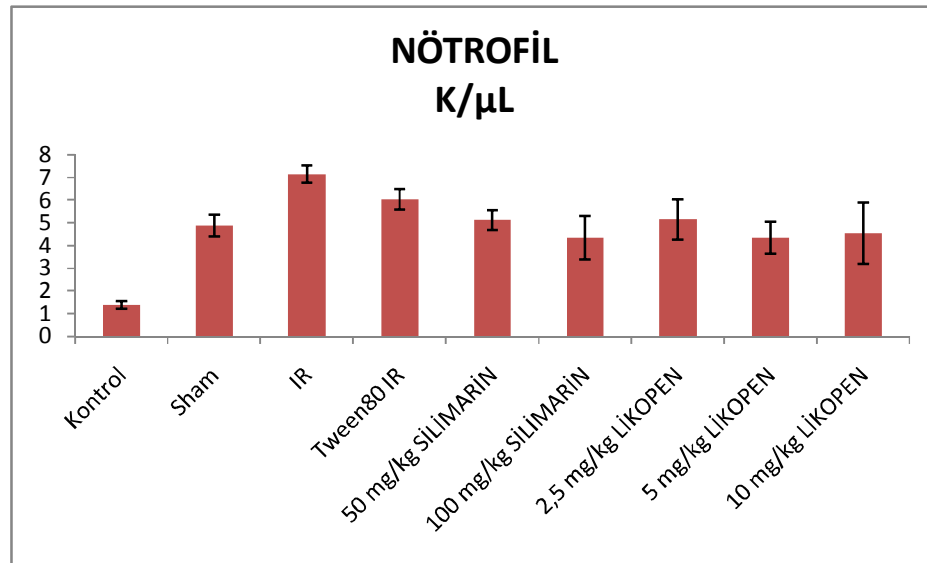
Kan WBC değerleri IR ( $9,7\pm 0,90$ ) grubunda, kontrol ( $5,33\pm 0,58$ ) ve sham ( $6,62\pm 0,45$ ) gruplarına göre anlamlı derece artığı saptandı ( $p<0,05$ ). 2,5 mg/kg grubunda ( $7,25\pm 0,87$ ), IR grubuna göre bir azalma görölmüş olsa da bu değerlerde anlamlı bir fark oluşturmamıştır ( $p>0,05$ ). 5 mg/kg ( $5,85\pm 0,62$ ) ve 10 mg/kg ( $6,24\pm 0,99$ ) likopen uygulanan gruplarda kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı bir fark yokken ( $p>0,05$ ), IR grubuna göre anlamlı bir düşüş olduğu saptandı ( $p<0,05$ ). 50 mg/kg ( $6,2\pm 0,95$ ) ve 100 mg/kg ( $5,82\pm 0,86$ ) silimarin uygulanan gruplarda da kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı bir fark bulunamazken ( $p>0,05$ ), IR grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. Kontrol ve uygulama gruplarına ait kan WBC değerleri.

### 4.3.2. Kan Nötrofil değerleri

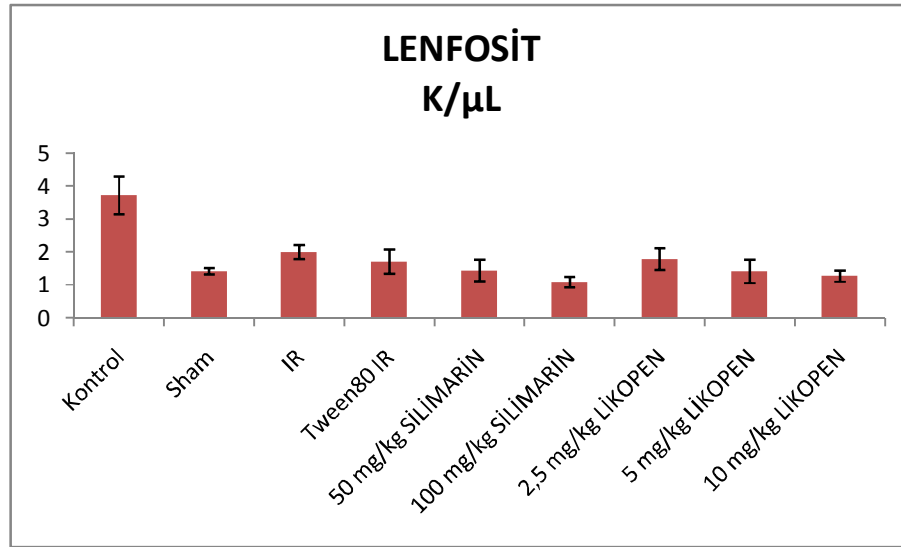
Kan nötrofil lökosit değerleri IR ( $7,15 \pm 0,38$ ) ve Twen80-IR ( $6,03 \pm 0,45$ ) ve sham gruplarında ( $4,89 \pm 0,48$ ), kontrol grubuna ( $1,38 \pm 0,17$ ) göre anlamlı derece yükseldiği bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). 2,5 mg/kg ( $5,15 \pm 0,88$ ) ve 5 mg/kg ( $4,35 \pm 0,71$ ) likopen uygulanan gruplar ile 50 mg/kg ( $5,12 \pm 0,83$ ) ve 100 mg/kg ( $4,35 \pm 0,95$ ) silimarin uygulanan gruplardan elde edilen sonuçların, kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek, IR grubundan ise anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). 10 mg/kg likopen uygulanan grup ( $4,55 \pm 1,35$ ) ise IR grubuna göre anlamlı bir düşüş gösterse de kontrol grubuna göre ( $p < 0,05$ ) nötrofil değerleri anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Kontrol ve uygulama gruplarına ait kan Nötrofil değerleri.

### 4.3.3. Kan Lenfosit değerleri

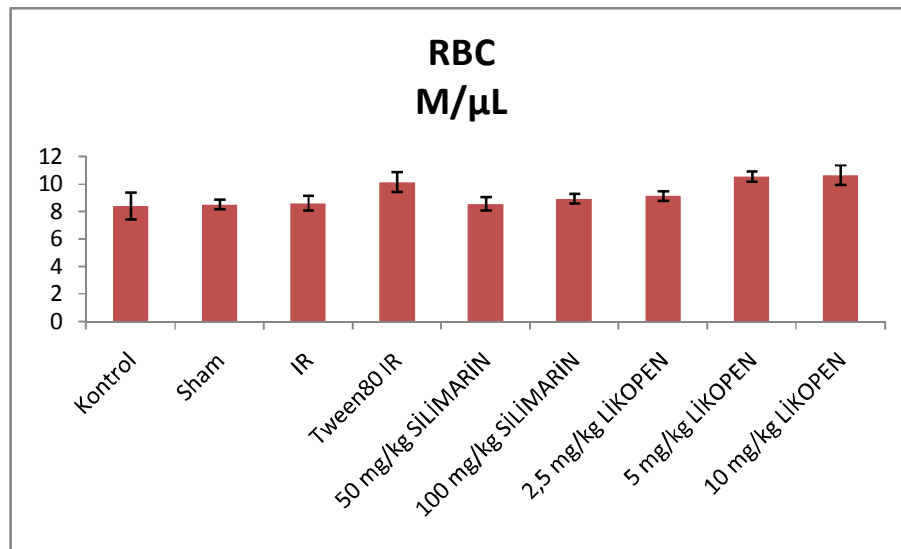
Kan Lenfosit değerleri kontrol grubunda ( $3,73\pm0,57$ ) diğer tüm gruplardan ( $p<0,05$ ) seviyesinde anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Sham grubu ( $1,43\pm0,1$ ) ile IR grubu ( $2,01\pm0,21$ ) arasında da ( $p<0,05$ ) düzeyinde fark anlamlıdır. 5 mg/kg ( $1,42\pm0,35$ ), 10 mg/kg ( $1,28\pm0,17$ ) likopen ve 100 mg/kg silimarin ( $1,1\pm0,15$ ) uygulanan gruplarda elde edilen lenfosit değerleri IR ve kontrol grubuna göre anlamlı ( $p<0,05$ ) derecede düştüğü, 50 mg/kg silimarin ( $1,45\pm0,33$ ) uygulanan grupta ise sham, IR ve Tween-80 IR grubu arasında istatistiksel olarak  $p<0,05$  düzeyinde anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 4.27.).



Şekil 4.27. Kontrol ve uygulama gruplarına ait kan Lenfosit değerleri.

#### 4.3.4. Kan RBC değerleri

Kan RBC değerleri incelendiğinde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0,05$ ) olabilecek bir fark bulunamamıştır. Likopen uygulanan gruplarda kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı olmasa da doz ile doğru orantılı olacak şekilde RBC değerlerinde kısmi artış bulunmuştur. Bu durum silimarin uygulanan gruplarda yoktur (Şekil 4.28).



Şekil 4.28. Kontrol ve uygulama gruplarına ait kan RBC değerleri.

#### 4.4. Böbrek Doku Enzim Analizi Sonuçları

Yapılan çalışmalar sonucunda kontrol ve uygulama gruplarına ait böbrek dokusunda GSH, MDA, SOD ve CAT değerleri Çizelge 4.3. ve Şekil 4.29.-32.'de verilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Böbrek dokularına ait enzim değerleri.

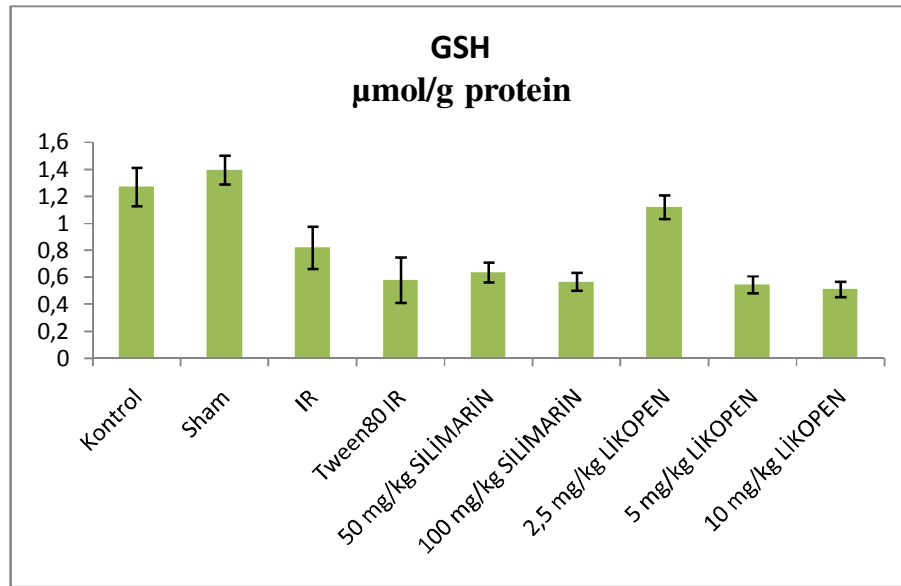
	<b>GSH</b> <b>µmol/g protein</b>	<b>MDA</b> <b>nmol/g protein</b>	<b>SOD</b> <b>U/mg protein</b>	<b>KATALAZ</b> <b>K/mg</b>
<b>Kontrol</b>	1,268±0,142 <sup>c,d</sup>	16,423±1,221 <sup>b,c,d</sup>	3,61±0,42 <sup>b,c,d</sup>	8,85±1,23 <sup>b,c,d</sup>
<b>Sham</b>	1,396±0,106 <sup>c,d</sup>	46,97±7,191 <sup>a,c,d</sup>	5,34±0,5 <sup>a,c,d</sup>	11,99±0,8 <sup>a,c,d</sup>
<b>IR</b>	0,82±0,157 <sup>a,b</sup>	116,618±7,029 <sup>a,b</sup>	8±0,51 <sup>a,b</sup>	16,59±0,95 <sup>a,b</sup>
<b>Tween80-IR</b>	0,58±0,167 <sup>a,b</sup>	117,837±5,439 <sup>a,b</sup>	7,32±0,96 <sup>a,b</sup>	17,03±0,81 <sup>a,b</sup>
<b>50 mg/kg Silimarin</b>	0,636±0,074 <sup>a,b</sup>	102,744±8,981 <sup>a,b</sup>	3,71±0,64 <sup>b,c,d</sup>	14,35±1,38 <sup>a,b,c,d</sup>
<b>100 mg/kg Silimarin</b>	0,566±0,066 <sup>a,b</sup>	134,896±7,903 <sup>a,b</sup>	4,76±0,84 <sup>c,d</sup>	16,89±1,35 <sup>a,b</sup>
<b>2,5 mg/kg likopen</b>	1,12±0,086 <sup>c,d</sup>	41,685±9,566 <sup>a,c,d</sup>	6,2±0,71 <sup>a,c,d</sup>	10,79±1,75 <sup>a,c,d</sup>
<b>5 mg/kg likopen</b>	0,545±0,063 <sup>a,b</sup>	130,412±8,009 <sup>a,b</sup>	6,94±0,67 <sup>a,b</sup>	12,56±0,71 <sup>a,c,d</sup>
<b>10 mg/kg likopen</b>	0,512±0,056 <sup>a,b</sup>	149,643±4,072 <sup>a,b</sup>	6,8±0,77 <sup>a</sup>	13,22±0,73 <sup>a,c,d</sup>

<sup>a</sup>: kontrol grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli; <sup>b</sup>: sham grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli;

<sup>c</sup>: IR grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli; <sup>d</sup>: Tween80-IR grubuna göre P<0.05 seviyesinde önemli.

#### 4.4.1. Doku GSH değerleri

Kontrol ( $1,268 \pm 0,142$ ) ve sham ( $1,396 \pm 0,106$ ) gruplarına ait doku GSH değerleri, uygulama grupları ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. IR ( $0,82 \pm 0,157$ ), Tween80-IR ( $0,58 \pm 0,167$ ), 5 mg/kg likopen ( $0,545 \pm 0,063$ ), 10 mg/kg likopen ( $0,512 \pm 0,056$ ), 50 mg/kg silimarin ( $0,636 \pm 0,074$ ) ve 100 mg/kg silimarin ( $0,566 \pm 0,066$ ) uygulama gruplarında azalma anlamlı düzeyde ( $p < 0,05$ ) bulunmuştur. 2,5 mg/kg likopen ( $1,12 \pm 0,086$ ) uygulanan grup ile kontrol ve sham grubu arasında fark ( $p > 0,05$ ) düzeyde anlamlı bulunmamıştır. IR ve Tween80-IR grubuna göre anlamlı ( $p < 0,05$ ) bir artış saptanmıştır (Şekil 4.29.).

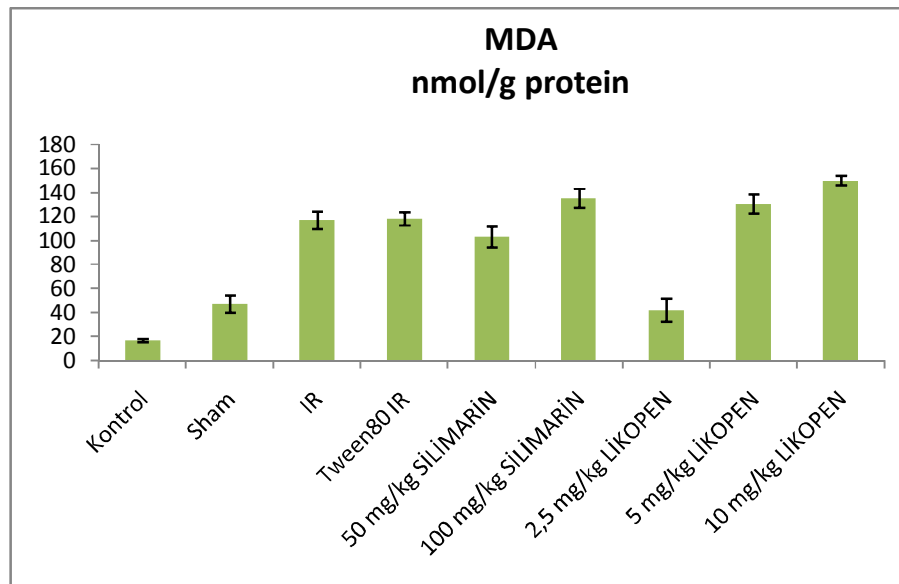


Şekil 4.29. Kontrol ve uygulama gruplarına ait doku GSH değerleri.



#### 4.4.2. Doku MDA değerleri

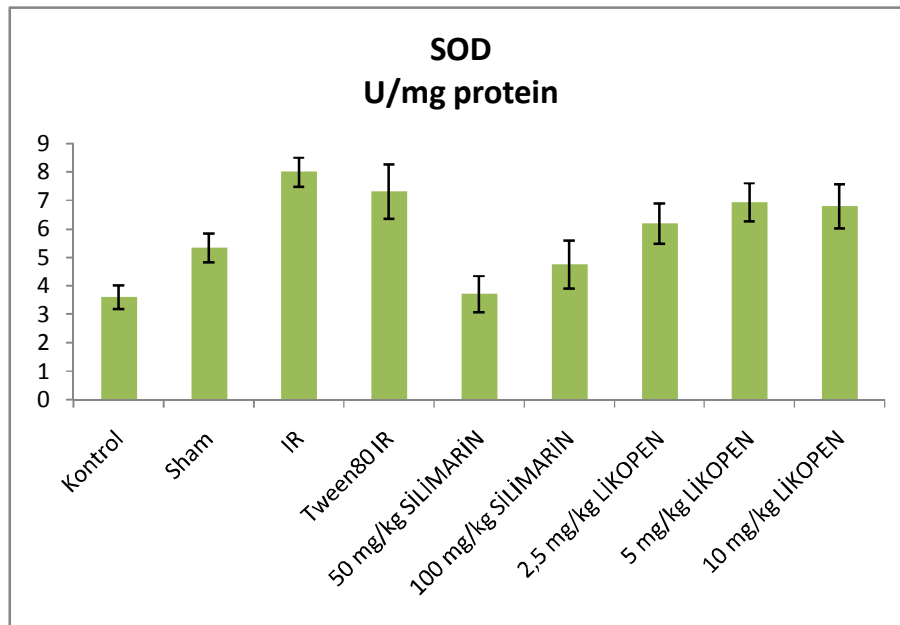
Böbrek dokusu MDA değerlerinin kontrol ( $16,423 \pm 1,221$ ) grubunda, sham ( $46,97 \pm 7,191$ ) grubu, IR ( $116,618 \pm 7,029$ ) ve Tween80-IR ( $117,837 \pm 5,439$ ) grubuna göre anlamlı derecede ( $p < 0,05$ ) düştüğü saptanmıştır. Ancak bu fark sham grubu ile karşılaştırılan, IR ve Tween80-IR gruplarında yoktur. 2,5 mg/kg likopen uygulanan grupta ( $41,685 \pm 9,566$ ) elde edilen değerler, IR ve Tween80-IR gruplarına göre anlamlı bir azalma, kontrol grubuna göre de anlamlı bir artış ( $p < 0,05$ ) göstermesine rağmen, sham grubu MDA seviyeleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ( $p > 0,05$ ) bir fark bulunamamıştır. 5 mg/kg ( $130,412 \pm 8,009$ ) ve 10 mg/kg ( $149,643 \pm 4,072$ ) likopen uygulanan gruplar ile 50 mg/kg ( $102,744 \pm 8,981$ ) ve 100 mg/kg ( $134,896 \pm 7,903$ ) silimarin uygulanan gruplar, kontrol ve IR grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0,05$ ) bir artış saptanmıştır (şekil 4.30.).



şekil 4.30. Kontrol ve uygulama gruplarına ait doku MDA değerleri.

#### 4.4.3. Doku SOD değerleri

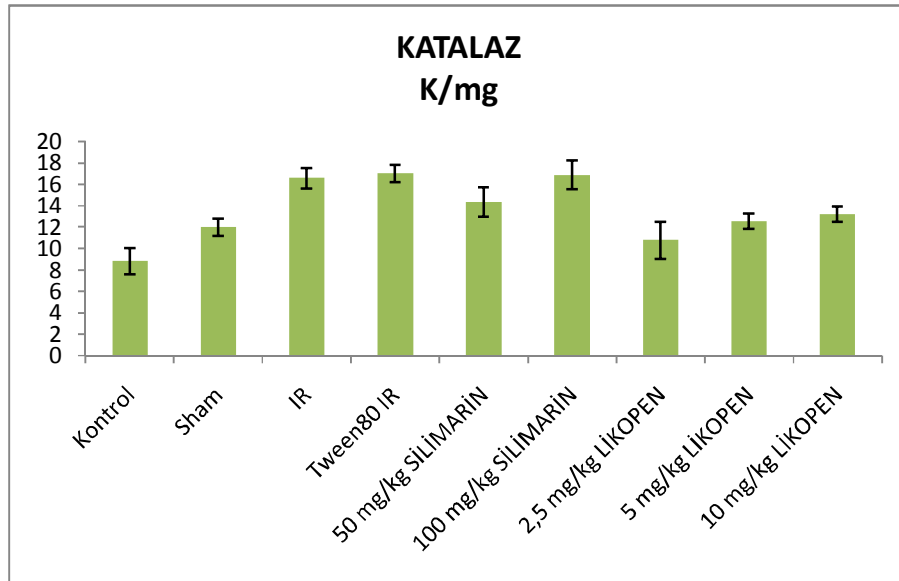
Doku SOD enzim değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında, sham ( $5,34\pm 0,5$ ), IR ( $8\pm 0,51$ ) ve Tween80-IR ( $7,32\pm 0,96$ ) gruplarının enzim değerlerinin, kontrol ( $3,61\pm 0,42$ ) grubuna gore anlamlı derecede ( $p<0,05$ ) yükseldiği saptanmıştır. 2,5 mg/kg ( $6,2\pm 0,71$ ) likopen uygulama grubu ile sham grubu SOD değerleri arasında anlamlı bir fark yokken ( $p>0,05$ ), kontrol grubuna gore anlamlı bir artış, IR ve Tween80-IR gruplarına gore de anlamlı ( $p<0,05$ ) bir azalma saptanmıştır. 5mg/kg ( $6,94\pm 0,67$ ) likopen grubunda IR ve Tween80-IR grubuna gore anlamlı azalma olduğu gorulmüştür ( $p<0,05$ ). 10 mg/kg ( $6,8\pm 0,77$ ) likopen grubunda ise kontrol grubuna gore anlamlı olarak artarken ( $p<0,05$ ), bu fark sham, IR ve Tween80-IR grupları ile arasında yoktur ( $p>0,05$ ). Silimarinin 50 mg/kg ( $3,71\pm 0,64$ )ve 100 mg/kg ( $4,76\pm 0,84$ ) uygulama dozlarından 50 mg/kg uygulama dozunda kontrol ile anlamlı bir fark yokken IR ve Tween80-IR grubu arasında  $p<0,05$  düzeyinde fark anlamlı bulunmuştur (şekil 4.31.).



şekil 4.31. Kontrol ve uygulama gruplarına ait doku SOD değerleri.

#### 4.4.4. Doku Katalaz değerleri

Katalaz enzim değerleri Şekil 4.32.'de verilmiştir. Grafik incelendiğinde; IR grubu ( $16,59 \pm 0,95$ ), Tween80-IR grubu ( $17,03 \pm 0,81$ ) ve 100 mg/kg silimarin uygulama grubu ( $16,89 \pm 1,35$ ) değerlerinin, kontrol ( $8,85 \pm 1,23$ ) ve sham grubu ( $11,99 \pm 0,8$ ) değerlerinden anlamlı ( $p < 0,05$ ) derecede yksek olduğu bulunmuştur. 2,5 mg/kg ( $10,79 \pm 1,75$ ), 5mg/kg ( $12,56 \pm 0,71$ ) ve 10 mg/kg ( $13,22 \pm 0,73$ ) likopen uygulama gruplarında, sham grubu ile istatistiksel bir fark bulunamamıştır ( $p > 0,05$ ). Ancak değerlerde kontrol grubuna gkre anlamlı bir artış, IR ve Tween80-IR grubu değerlerine gkre de anlamlı bir azalıŐ ortaya çıkmıştır ( $p < 0,05$ ). 50 mg/kg silimarin grubu katalaz enzim değerlerinde ise kontrol ve sham grubuna gkre anlamlı bir yksselme, IR ve Tween80-IR gruplarına gkre anlamlı ( $p < 0,05$ ) bir dıŐme olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.32. Kontrol ve uygulama gruplarına ait doku CAT değerleri.

## 5. TARTIŞMA

Renal IR hasarı, hücre içi haberleşme sisteminin, çeşitli aracı maddelerin ve hücrelerde meydana gelen zincirleme reaksiyonlar sonucu meydana gelen, hipoksi kaynaklı akut böbrek yetmezliğinin temel sebebinin oluşturduğu karmaşık bir durumdur (Thurman, 2007). İskemik bir organın reperfüzyonu ise genellikle şiddetli doku hasarı ile sonuçlanmakta olup, bu durum iskemik dönemin kendisinden çok yeniden oksijenlenmesinin bir sonucudur (Başay ve ark., 2003). Hayvan deneyleri, hücre ve doku kültürü ile biyokimyasal alanda yapılmış olan birçok çalışma, yeniden oksijenlenmenin zararlı etkileri sonucunda meydana gelen SOR miktarının aşırı derecede artış gösterdiğini, bu durum karşısında da vücutta yer alan SOR tutucu antioksidan savunma mekanizmasının yetersiz kaldığını ve sadece reperfüze olan dokunun yanında tüm vücut organlarını da etkileyebileceğini göstermiştir (Das and Maulik, 1994; Mayumi et al., 1993; Mark and Weglicki, 1994).

Serbest radikallerin zararlı etkileri eksojen kaynaklı antioksidan özelliği olan bazı maddeler tarafından azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır. Flavanoidler de bitkilerde yaygın olarak görülen ve antioksidan özellik taşıyan polifenolik bileşiklerdir (Da Silva, 1998). Antioksidan özelliği bilinen ve özellikle domateste bol bulunan likopen bir karotenoid üyesidir (Cadenas and Packer 1996). Likopen ile yapılan bazı çalışmalarda likopenin serbest oksijen radikallerini tutucu özelliği hücre zarı lipidlerinin peroksidasyonunu önleyerek peroksidasyon sonucu oluşan malondialdehit (MDA) düzeyini düşürdüğü, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi endojen antioksidanların aktivitelerini artırdığı gösterilmiştir (Mortensen, et al., 2001; Breinholt, et al., 2000; Jain, et al., 1999; Rao and Agarwal, 1998).

İçerdiği flavano-lignanlar ve diğer polifenolik bileşikler ile antioksidan özellik gösteren ve buna bağlı olarak serbest radikal tutucu işlevi bulunan (De Groot and Rauen, 1998) bir başka madde de silimarindir. Bu özelliğinden dolayı silimarini ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Silimarinin hücre redükte glutatyon (GSH) seviyesinde artışa neden olduğu (Valenzuela, et al., 1989), SOD aktivitesini artırdığı (Zhao, et al.,

2000) ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini (Bosisio, et al., 1992) ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır.

Böbrek iskemi/reperfüzyonunun neden olduğu oksidatif stres hasarına karşı eksojen antioksidan etkili likopen ile silimarinin, iskemi reperfüzyon ile birlikte uygulanmasının; histolojik olarak, serum biyokimya, kan ve böbrek homojenat örneklerinde lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA ve GSH düzeyine etkileri ile endojen antioksidan enzimler olarak bilinen katalaz ve SOD aktiviteleri ölçülerek açıklanmaya çalışılmıştır.

Dokuda meydana gelen iskemi, yüksek miktarda SOR oluşumuna neden olmasının yanında, lokal ve sistemik böbrek yetmezliğine de neden olur. İskemi sonrasında dokuda nötrofil göçünün artması ve aktive olan nötrofillerin, dokuda oluşan SOR'un temel kaynağı olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (Granger and Korthuis, 1995; Zimmerman, et al., 1990).

Likopen ve silimarin kullanarak yapılan bu çalışmada böbrek dokusu histopatolojik açıdan incelendiğinde, kontrol grubu sıçanlarına ait doku örneklerinde böbrek tübül hücrelerinin normal görünümde olduğu, tübüller içerisinde ve tübüller arasında herhangi bir hasarın olmadığı görülmektedir.. IR ve Tween80-IR gruplarında %60 oranında çok önemli düzeyde tübüler hasar meydana gelmiştir. Bu hasarda tübüler dejenerasyon hücreler arası kanlanma ve tübüllerde hücre kaybı ile tübül içerisinde sıvı birikimi olarak gözlenmiştir. Likopenin 2,5 mg/kg uygulanan dozunda ve silimarinin 50 ve 100 mg/kg uygulanan dozlarında da kontrol grubuna yakın sonuçlar elde edilmesi bu iki bileşiğin ROS etkisini önleyebileceğinin göstergesidir. Silimarinin renal-IR öncesi 7 günlük 50 ve 100 mg/kg oral dozu kullanılarak yapılan bir çalışmada, elde edilen bulgular IR ile meydana gelen hasarın silimarinin uygulanan dozları ile önemli ölçüde azalmış olması bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir (Şentürk ve ark., 2008). Karahan ve arkadaşlarının (2005) yapmış oldukları bir çalışmada, sıçanlarda deneysel olarak 6 gün boyunca 100mg/kg gentamisin intraperitoneal uygulanması sonrasında böbreklerde meydana gelen oksidatif stres sonucu oluşan nefrotoksisitenin ve böbreklerde meydana gelen hasarın etkisi likopenin 10 gün boyunca gavaj yoluyla 4 mg/kg uygulanması sonucu histolojik olarak azaltılmış olduğu belirtilmektedir.

Bunun yanında 5 ve 10 mg/kg likopen uygulama gruplarında ise meydana gelen hasar diğer guruplara göre daha yüksek oranda meydana gelmiştir. Bu hasar IR ve Tween80-IR guruplarındaki hasara göre daha az belirgin olarak ortaya çıkmıştır. Bu durum likopenin dozunun ROS tutumunda önemli olacağını göstermektedir. Bu bulguyu destekleyen karaciğer hücreleri ile yapılan bir çalışmadır. Karaciğerde hepatositler arasındaki hücrelerarası bağlantı üzerinde likopen ve  $\beta$ -karotenin etkisini göstermek amacı ile kullanılmıştır. Ağız yolu ile 0,5 mg/kg likopenin uygulanan çok düşük dozunda herhangi bir olumlu etki gözlenemezken, 5 mg/kg likopen uygulamasının hücreler arası bağlantıyı kuvvetlendirdiği, 50 mg/kg yüksek doz uygulamasının ise bu bağlantı noktalarını inhibe ettiği gösterilmiştir (Krutovskikh, et al., 1997). Bu çalışmada elde edilen bulgular bizim bulgularımıza paralel niteliktedir.

Renal fonksiyon bozukluğu sonucunda meydana gelen plazma kreatinin, üre seviyelerindeki ve serum AST aktivitesindeki artış, böbrek IR hasarının biyokimyasal sonuçlarından birkaçıdır. Serum üre ve kreatinin seviyesindeki artış tübül nekroz gelişmeden önceki aşamada yükselme gösterir ve glomerüler filtrasyon oranının bir göstergesidir. Tam olarak açıklığa kavuşmamış olsa da serumda üre ve kreatinin seviyelerindeki artışın sebebinin tübül engellenme ya da tübüllerde geriye sızdırmadan kaynaklandığı düşünülmektedir (Karimi, et al., 2005). Çalışmamızda elde ettiğimiz IR ve Tween80-IR guruplarındaki üre miktarında artış saptanmıştır. Bu durum böbrek işlevinde bir düzensizliğin oluştuğunu göstermektedir.

Karimi ve arkadaşlarının (2005) yapmış olduğu, sisplatin ile meydana getirilen nefrotoksisite üzerine silimarinin etkilerinin incelendiği bir çalışmada, silimarinin 50 mg/kg'lık metanol ve saf ekstraktlarının sisplatin enjeksiyonundan 2 saat önce ve iki saat sonra intraperitoneal enjeksiyon sonrasındaki etkileri 5 gün sonrasında incelenmiştir. Bunun sonucunda, silimarin uygulanan tüm guruplarda serum üre ve kreatinin değerlerinde olumlu yönde bir azalma olduğu belirtilmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz silimarin uygulama guruplarındaki IR ile artan üre değerlerindeki azalma bu çalışma ile uyumluluk göstermektedir. Likopen ve silimarin guruplarını kendi aralarında karşılaştırdığında ise üre miktarı açısından 2,5 mg/kg likopen uygulama grubunda silimarin guruplarından daha yüksek bir etkinliğe sahip olduğu ortaya çıkmaktadır.

Serum kreatinin seviyesi renal (glomerular) fonksiyonun bir belirleyicisidir. IR hasarı sonrasında serum kreatinin seviyesinde gözlenen yükselme, böbrek proksimal tübül hücrelerinde meydana gelen fonksiyon bozukluğunu işaret eden bir durumdur (Thiemerman, et al., 2003). Çalışmamızdan elde ettiğimiz serum kreatinin değerlerinin IR ve Tween80-IR gruplarında artış göstermesi IR ve Tween80 oluşturduğu etkiden kaynaklanmaktadır ve burum incelenen kaynaklarla uyumludur. Serum kreatinin değerleri 2,5 mg/kg likopen uygulanan grupta kontrol ve sham grubuna yakın değerlerde saptanmış ve 2,5 mg/kg likopen uygulamasının IR ile oluşan olumsuz etkinin önenebileceğini göstermektedir. Çalışmamızdaki elde ettiğimiz kreatinin değerleri 50 mg/kg silimarin uygulanan grupta bir miktar düşüş gösterse de 100 mg/kg silimarin ile 5 mg/kg ve 10 mg/kg likopen gruplarında IR ve Tween80-IR gruplarından farklılık göstermemesi de her iki molekülün yüksek dozlarının IR hasarında etkilili bir koruma sağlayamayacağını göstermektedir.

Serum ya da plazmada yükselen Aspartat amino transferaz enzim (AST) aktivitesi genel olarak canlıda karaciğer dokusunda meydana gelen hasarı işaret etse de, bu enzim sadece karaciğer için spesifik bir enzim değildir, aynı zamanda düz kas ve böbrek gibi diğer organlarda da bulunmaktadır (Thiemermann, et al., 2003). Aspartat amino transferaz enzimi (AST) böbrek proksimal tübül hücrelerinde lokalize olan bir enzimdir. Böbrek IR hasarı sonrasında serum AST aktivitesinin artışı bildirilmektedir (Chatterjee, et al., 2000). Her ne kadar insanlar üzerinde yapılan akut böbrek yetmezliği çalışmaları sonucunda serum AST aktivitesinde bir değişim gözlenemese de sıçanlar üzerine yapılan böbrek IR çalışmalarında miktarının arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Feilleux-Duche, et al., 1993).

Çalışmamızda IR ve Tween80-IR gruplarında serum AST aktivitesinde meydana gelen artış mevcut çalışmalarla da uyumluluk göstermektedir. Silimarinin 50 ve 100 mg/kg uygulandığı gruplarda AST aktivitesinin kontrol grubu değerlerine yakın bulunması silimarinin likopene göre AST düzenleyici etkinliğinin daha fazla olduğunu göstermektedir.

Laktat dehidroenaz (LDH) enzimi, tüm hücrelerde bulunan ve hipoksik hücresel hasar kaynaklı hastalıkların tespitinde kullanılan güvenilir sitoplazmik bir enzimdir.

Yapılan deneysel çalışmalarda, serum ve idrarda LDH aktivitesinde meydana gelen yükselme, renal doku uyuşmazlığı sırasında görülen akut renal bozukluk, hematori ve toksik kaynaklı renal hasar durumlarında ortaya çıkmaktadır (Kwon, et al., 2003). Çalışmamızda IR ve Tween80-IR gruplarından elde ettiğimiz bulgular da mevcut bu bilgileri destekler nitelikte sonuçlardır. Uygulama grupları ile IR ve Tween80-IR grupları arasında ise LDH aktivitesi açısından kayda değer bir azalma gözlenememiştir.

IR hasarı sonrasında serumda miktarı yükselen bir diğer parametre de ürik asittir. Değişik nedenlerden böbreklerde meydana gelen hasardan birinin de, tübüller içerisinde kalsiyum, ksantin ve ürik asit birikimi olduğu dşnlmektedir. Serum rik asit miktarındaki artışın akut böbrek yetmezliğine sebep olduğunu destekleyen pek çok çalışma bulunmaktadır (Roncal, et al., 2006). Bununla birlikte, ürik asidin bağışıklık sisteminde yer alan hücreleri aktive ettiği (monositlerin kimyasal uyarıcılarını stimüle ederek) ve vasküler hücrelerde pro-oksidan olarak işlev gördüğüne ilişkin çalışmalar da bulunmaktadır (Kanellis, et al., 2003). Ürik asit miktarı bizim çalışmamızda da mevcut epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar ile uyumlu olacak şekilde IR ile Tween80-IR gruplarında kontrole göre anlamlı bir artış göstermiştir. Uygulama gruplarından elde edilen sonuçlar ise meydan gelen hasarın hem likopen hem de silimarin ile kontrol gruplarında ölçülen değerlere yaklaştığını göstermiştir. Bu bulgularında IR ile oluşan akut böbrek yetmezliğini önleyebileceğini göstermektedir.

Nötrofillerin IR hasarının şiddetinin artmasında önemli bir rolü vardır. Reperfüzyon sırasında lökositlerin aktivasyonu (zellikle de nötrofiller) ile vaskular endotelden doku içerisine sitotoksik bileşikler sentezlenerek salınır (Signbartl and Ley, 2000). Reperfüzyonda doku içerisinde bulunan ya da dokuya göç eden nötrofillerin yaptıkları fagositasyon sonucu oluşturduğu oksijen radikalleri ile meydana gelen hasarın şiddetini artırırılar. Yapmış olduğumuz çalışmada IR sırasında dokuda artan total kan lökosit değerleri, 100 mg/kg silimarin ve 5 mg/kg likopen uygulama gruplarında IR ve Tween80-IR gruplarına göre anlamlı derecede azaldığı bulunmuştur. Diğer likopen dozu ve uygulama gruplarında da IR grupları ile kıyaslandığında ortaya çıkan azalma anlamlı bulunmamıştır. IR sırasında doku en fazla artacak olan nötrofil lkositlerdir. Hem hem silimarin hem de likopen uygulama gruplarında ölçtüğümüz nötrofil değerlerinin IR gruplarına göre belirgin olarak azaldığı gözlenmiştir. Bu bulguda



uygulanan antioksidan moleküllerin dokuya nötrofil geçişinin azalmasını yansıtmaktadır. Doza bağlı olarak Likopen ve silimarin uygulamasının kandan dokuya nötrofil göçünün bloke edilmesinin oluşan hasarın ortadan kaldırılması ya da şiddetinin azaltılmasında etkili olabileceği düşünülmektedir.

Lenfosit ve eritrosit değerlerinde ise herhangi bir değişiklik saptanamamıştır. Elde ettiğimiz bu bulgular ile ilgili kan değerlerini tartışacak bir kaynak bulunamamıştır, ancak bulgularımız ışığında silimarin ve likopenin serbest radikal tutucu özelliği nedeni dokuda fagosite edici hücre kalıntılarının olmaması nedeni ile hem iskemi sırasında hem de reperfüzyon boyunca lökosit infiltrasyonunu engellediğini düşünmekteyiz. Lökositlerin ve adhezyon moleküllerinin blokajı ile dokuda meydana gelen hasarın azaltıldığına ilişkin pek çok çalışma bulunmaktadır (McMichael, 2004) bu çalışmadan elde edilen sonuçlar onları desteklemektedir.

Süperoksit radikallerinin yol açtığı oksidatif hasara karşı antioksidan savunmada görev alan ilk enzim, süperoksit dismutazdır (SOD). SOD enzimi, süperoksit radikallerini hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürür. Katalaz ya da glutatyon peroksidaz ise hidrojen peroksidi zararsız yan ürünlere dönüştürür. Bu yüzden hücre hasarın şiddetinde önemli rol oynarlar. Hidrojen peroksidin zararsız hale getirilmesinde, glutatyon, glutatyon peroksidaz ile okside glutatyona dönüştürülür. Glutatyon okside glutatyona katalizlenirken glutatyon reduktaz kullanılarak NADPH üretilir (Bayramoğlu, 2007). Katalaz bir hemoproteindir ve aktif formda olabilmesi için NADPH' ye ihtiyaç duyar. Bu yüzden NADPH SOD ve katalazın iş görebilmesinde önemli bir role sahiptir. NADPH seviyesi, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesine bağlıdır. Glutatyon reduktaz/glutatyon peroksidaz hücre sitoplazmasında aktifken, katalaz enzimi başlıca peroksizomlarda aktiftir. Glutatyon ve katalazın üretimi için gerekli olan NADPH pentoz fosfat yolunda üretilmektedir (Ramakrishnan, et al., 2006). Bizim çalışmamızda 2,5 mg/kg likopen uygulama grubunda GSH seviyesinde bir artışa neden olarak NADPH üretimine dolaylı olarak katkıda bulunmaktadır. Diğer uygulama gruplarının GSH düzeylerinde ise IR sonrasında herhangi bir değişiklik saptanamamakla birlikte IR ve Tween80-IR grubu böbrek dokularının homojenatından elde ettiğimiz katalaz ve SOD aktivitelerinin, kontrol ve sham grubuna göre yüksek tespit edilmesi mevcut çalışmalar ile uyumluluk göstermemektedir. Bu durumun IR sırasında katalaz

ve SOD enzimlerinin indüklenmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz ancak konu ile ilgili detaylı bir çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Lipitler, oksidasyon belirleyicisi olarak en çok çalışılan ve SOR'ların reksiyona girebildiği ortak bir substrattır. Oksidasyon sonrası özellikle hücre zarlarının lipitlerinde meydana peroksidasyon sonucunda son ürün olarak malondialdehit (MDA), konjuge dienler, kısa zincirli aklenler ve lipid hidroperoksitleri meydana gelir. Endoperoksitler doymamış yağ asitleri ve serbest demir atomları ile birleştiğinde MDA meydana gelir. Tiobarbütarik asit reaktif bileşenleri (TBARS) testi, MDA miktarını belirlemede yaygın olarak kullanılan bir testtir. Renal iskemi reperfüzyon sonrasında oluşan son ürün olan MDA miktarı doymamış yağ asitlerinin oksidasyonundan dolayı artar (Şener ve ark., 2005).

Ginko biloba ekstratı kullanılarak yapılmış olan bir çalışmada, 45 dakika iskemiye takiben 6 saat reperfüzyon sonrasında böbrek homojenatlarından elde edilen MDA bulguları incelendiğinde, IR grubunda kontrol grubuna göre MDA miktarı artmıştır, IR ile birlikte ginko biloba ekstratının 50 mg/kg lık dozu iskemiden 15 dakika önce verilerek aynı sürelerde IR hasarı oluşturulan grupta ise MDA miktarının düştüğü saptanmıştır (Şener ve ark., 2005).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada doku homojenatından elde edilen lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA değerleri, IR ve Tween80-IR gruplarında mevcut çalışmalara uygun bir şekilde yükseldiği saptanmıştır. Buna karşın likopenin 2,5 mg/kg uygulama dozunda kontrol ve sham grubuna yakın bulunan MDA değeri likopenin 2,5 mg/kg dozunun iskemi reperfüzyon sırasında hücre lipitlerinde meydana gelen peroksidasyonu aynı oranda düzeltildiğini göstermiştir. Ancak likopenin diğer uygulama grupları ve silimarin uygulama gruplarından elde edilen değerler, kontrol ve sham gruplarından oldukça yüksek bulunması lipid peroksidasyonu önlemede daha yüksek dozda saf likopenin olumsuz etkisi olacağını düşündürmektedir. Ayrıca çözücü olarak kullanılan Tween80'inde benzer etkiye sahip olabileceği ve Tween80 çözücü olarak kullanılmasının uygun olmadığını göstermektedir.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmadan elde edilen veriler değerlendirildiğinde eksojen kaynaklı antioksidan bileşiklerin olumlu etkilerinin görülmesi için özellikle likopen gibi yağda çözünen bileşiklerde etkili dozun uygulama yolu ve dozunun saf ya da doğal hali ile kullanılmasının son derece önemli olduğu anlaşılmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR DİZİNİ

Acworth, I., McCabe, D., Mather, T., 1997, The analysis of free radicals, their reaction products, and antioxidants, *Oxidants, Antioxidants, and Free Radicals*, Taylor & Francis Washington, DC., 23–77.

Akino, K., Akita, S., Mizuguchi, T., Takumi, I., Yu, R., Wang, X., Rozga, J., Demetriou, A.A., Melmed, S., Ohtsuru, A. and Yamashita, S., 2005, A novel molecular marker of pituitary tumor transforming gene involves in a rat liver regeneration, *Journal of Surgical Research*, 129 (1), 142-146.

Akkuş İ., 1995, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Konya, Mimoza Yayınları, Kuzucular Ofset.

Aktay, G., Deliorman, D., Ergun, E., Ergun, F., Yeşilada, E., and Çevik, C., 2000, Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury, *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 121- 129.

Aruoma, O., Kaur, H., Halliwell, B., 1991, Oxygen free radicals and human diseases, *The Journal of the Royal Society for the Promotion of Health*, 111(5), 172-177.

Assy, N., Gong, Y., Zhang, M., Pettigrew, N.M., Pashniak, D. and Minuk, G.Y., 1998, Use of proliferating cell nuclear antigen as a marker of liver regeneration after partial hepatectomy in rats, *J. Lab. Clin. Med.*, 131, 251-256.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Aşıcıoğlu, Y.T., 2005, Sıçanlardaki kronik alkolik karaciğer hasarına likopenin etkisi, Uzmanlık Tezi, İstanbul.

Aydoğdu, N., Kaymak, K., Yalçın, Ö., 2005, Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında N-Asetilsisteinin Etkileri, Fırat Tıp Dergisi, 10(4), 151-155.

Baskın, S., Salem, H., 1997, Oxidants, Antioxidants, and Free Radicals, Tylor&Francis, Washington, DC.

Başay, S., Adsan, Ö., İnal, G., Çetinkaya, M., 2003, Verapamil ve alfa-tokoferolün rat böbreğindeki deneysel reperfüzyon hasarı üzerine karşılaştırmalı etkileri, Türk Üroloji Dergisi, 29(1), 11-15.

Batrelli, M.G., Corte, E.D., and Stirpe, F., 1972, Xanthine oxidase type D (dehydrogenase) in the intestine and other organs of the rat, Biochem. J., 126, 747-749.

Bayramoğlu, G., 2007, Sıçanlarda siklofosamid ile oluşturulmuş oksidatif strese karşı silimarinin olası koruyucu etkileri, Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Beutler, E., 1985, Red cell metabolism, A Manual of Biochemical Methods. 3<sup>rd</sup> ed., New York Grune-Stratton, 105.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Bosisio, E., Benelli, C., Pirola, O., 1992, Effect of flavanoligans of *Silybum marianum* L. on lipid peroxidation in rat liver microsomes and freshly isolated hepatocytes, *Pharmacol. Res.* ,25, 147-154.

Brown, M.S., Goldstein, J.L., 1979, Receptor mediated endocytosis: insights from the lipoprotein receptor system, *Proc. Natl. Acad.*, 76, 3330-3337.

Breinholt, V., Lauridsen, S.T., Daneshvar, B., Jakobsen, J., 2000, Dose-Response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat, *Cancer Letters*, 154, 201-210.

Cadenas, E., Packer, L., 1996, *Handbook of antioksidants*, Marcel Dekker. Inc., New York.1996

Chatterjee, P.K., Cuzzocrea, S., Brown, P.A.J., Zacharowski, K., Stewart, K.N., Mota-Filipe, H., Thiernemann, C., 2000, Tempol, a membrane-permeable radical scavenger, reduces oxidant stress-mediated renal dysfunction and injury in the rat, *Kidney Int.*, 58, 658–673.

Chaudiere, J., Ferrari, I., 1999, Intracellular antioksidants: from chemical to biochemical mechanisms, *Food Chem. Toxicol.*, 37, 949-962.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Chen, C., Ma, L., Linfert, D.R., Lai, T., Fallon, J.T., Gillam, L.D., Waters, D.D., Tsongalis, G.J., 1997, Myocardial cell death and apoptosis in hibernating myocardium, *Journal of the American College of Cardiology*, 30, 1407-1412.

Cross, C.E., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.L., McCord, J.M., Harman, D., 1987, Oxygen radicals and human disease, *Annals Internal Medicine*, 107, 526-545.

Curtin, J.F., Donovan, M., Cotter, T.G., 2002, Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis, *J. Immunol Methods*, 265, 49-72.

Das, D.K., Maulik, N., 1994, Antioxidant effectiveness in ischemia-reperfusion tissue injury, *Methods in Enzymology*, 233, 601-611.

Da Silva, E.L., Piskula, M., Terao, J., 1998, Enhancement of antioxidative ability of rat plasma by oral administration of (-)- epicatechin, *Free Radical Biology & Medicine*, 24 (7/8), 1209-1216.

De Groot, H., Rauen, U., 1998, Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effect of flavanoids, *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 12 (3), 249-255.

De Stefani, E., Oreggia, F., Boffetta, P., Daneo-Pellegrini H., Ronca A., Mendilaharsu M., 2000 Tomatoes, Tomato-rich foods, lycopene and cancer of the upper aerodigestive tract: a case-control in Uruguay, *Oral Oncol.*, 36, 47-53.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Ding, T., Tian, S., Zhang, Z., Gu, D., Chen, Y., Shi, Y., Sun, Z., 2001, Determination of active component in silymarin by RP-LC and LC/MS, *J. Pharmacol. Biomed. Anal.*, 26 (1), 155-161.

Esterbauer, H., 1996, Estimation of peroxidative damage, a critical review, *Pathol. Biol. (Paris)*, 44, 25-28.

Feilleux-Duche, S., Garlatti, M., Aggerbeck, M., Poyard, M., Bouguet, J., Hanoune, J., Barouki, R., 1993, Cell specific regulation of cytosolic aspartate aminotransferase by glucocorticoids in the rat kidney., *Am. J. Physiol.*, 265, C1298-C1305.

Flohe, L., 1980, Glutathione peroxidase brought into focus, *Free Radicals in Biology*, 223-254.

Fridovich, I., 1983, Superoxide radical: an endogenous toxicant, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 23, 239-257.

Fruta, K., Kakita, A., Takahashi, T., Tomiya, T. And Fujiwara, K., 2000, Experimental study on liver regeneration after simltenous partial hepatectomy and pancreatectomy, *Hepatology Research*, 17, 223- 236.

Giovanelli, G., Zanoni, B., Lavelli, V., Nani, R., 2002, Water sorption, drying and antioxidant properties of dried tomato products.,*J. Food Engineering*, 52, 135-141.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Granger, D.N., Korthuis, R.J., 1995, Physiological mechanisms of postischemic tissue injury, *Annu Rev Physiol*, 57, 311–332.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1990, Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.

Halliwell, B., 1994, Free radicals and antioxidants: a personal view, *Nutr. Rev.*, 52, 253-265.

Halliwell, B., Aeschbach R., Loliger, J., Aruoma, O.I., 1995, The characterization of antioxidants, *Food and Chemical Toxicology*, 33, 601-617.

Halliwell, B., 1999, Antioxidant defence mechanism: from the beginning to the end (of the beginning), *Free Radical Research*, 31, 261-272.

Hamet, P., Moreau, P., Dam, T.V., Orlov, S.N., Tea, B.S., deBlois, D., and Tremblay J., 1996, The time window of apoptosis: a new component in the therapeutic strategy for cardiovascular remodeling, *The Journal of Hypertension*, 14, 65-70.

Handelman, G.J., 2001, The evolving role of carotenoids in human biochemistry, *Nutrition*, 17(10), 18-22.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Hasler, C.M., 2000, Plants as medicine: The role of phytochemicals in optimal health, Phytochemicals and Phytopharmaceuticals, Champaign, Illinois: AOAC Pres 1-12.

Hatanaka, N., Kamike, W., Shimizu, S., et al., 1995, Ca<sup>2+</sup> release from mitokondria induces cytosolic enzyme leakage in anoxic liver, Journal of surgery research, 58, 485-490.

Jain, C.K., Agarwal, S., Rao, A.V., 1999, The effect of dietary lycopene on bioavailability, tissue distribution, in vivo antioxidant properties and colonic preneoplasia in rats, Nutrition Research, 19(9), 1383-1391.

Kanellis, J., Watanabe, S., Li, J.H., Kang, D.H., Li. P., Nakagawa, T., Wamsley, A., Sheikh-Hamad, D., Lan, H.Y., Feng, L., Johnson, R.J., 2003, Uric acid stimulates monocyte chemoattractant protein-1 production in vascular smooth muscle cells via mitogen-activated protein kinase and cyclooxygenase- 2, Hypertension, 41, 1287–1293.

Karabelyos, C., Dobozy, O., Slazai, C., Klenjanzki, K., Vargu, K., Hadhazy, A., Kiss, A., Fülöp, K.A., Madarasz, B., Falus, A., 1999, Elevated hepatic glucocorticoid receptor expression during liver regeneration in rats, Pathology Oncology Research, 5, 2, 107-109.

Karabulut, A.B., Özerol, E., Temel, İ., Gözükar, E.M., Akyol, Ö., 2002, Yaş ve sigara içiminin eritrosit katalaz aktivitesi ve bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi, İnönü Tıp Fakültesi Dergisi, 9, 85-88.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Karahan, İ., Ateşşahin, A., Yılmaz, S., Çeribaşı, A.O., Sakin, F., 2005, Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats, *Toxicology*, 215, 198–204.

Karimi, G., Ramezani, M., Tahoonian, Z., 2005, Cisplatin nephrotoxicity and protection by milk thistle extract in rats, *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2(3), 383-386.

Kaya, Y., Aral, E., Coşkun, T., Erkasap, N., Var, A., 2002, Increased intraabdominal pressure impairs liver regeneration after partial hepatectomy in rats, *Journal of Surgical Research*, 108, 250-257.

Kelly, F.J., 2001, UrinaryF2-isoprostane metabolite analysis: a step closer to obtaining a reliable mesure of oxidative stres?, *Clin. Exp. Allergy*, 31, 355-356.

Korthuis , R.J., Granger, DN., Townsley, MI., et all., 1985, The role of oxigen-derived free radicals in ischemia-induced increases in canine skeletal muscle vascular permeability, *Circ. Res.*, 57, 599-609.

Kozuki, Y., Miura, Y., Yagasaki, K., 2000, İnhibitory effects of carotenoids on the invasion of rat ascites hepatoma cells in culture, *Cancer Lett.*, 151, 111-115.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Křen, V., Walterová, D., 2005, Silybin and silymarin-new effects and new applications, Biomedical, 149 (1), 29-41.

Kurose, I., Higuchi, H., Miura, S., Saito, H., Watanabe, N., Hokari, R., Hirokawa, M., Takaishi, M., Zeki, S., Nakamura, T., Ebinuma, H., Kato, S., Ishii, H., 1997, Oxidative stress mediated apoptosis of hepatocytes exposed to acute ethanol intoxication, Hepatology., 25, 368-378.

Kurt, H., 2003, Sıçanlarda karbon tetraklorit'in (CCl<sub>4</sub>) oluşturduğu oksidatif stresin kateşin ve likopen ile önlenmesi, Doktora tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

Krutovskikh, V., Asamoto, M., Takasuka, N., Murakoshi, M., Nishino, H., Tsuda, H., 1997, Differential dose dependent effects of  $\alpha$ -,  $\beta$ -carotenes and lycopene on gap junctional intercellular communication in rat liver in vivo, Jpn. J. Cancer Res., 88, 1121-1124.

Kwon, O., Molitoris, B.A., Pescovits, M., Kelly, J.K., 2003, Urinary actin, interleukin-6, and interleukin-8 may predict sustained arf after ischemic injury in renal allografts, American Journal of Kidney Diseases, 41(5), 1074-1087.

Lavelli, P., Peri, C., Rizzola, A., 2000 Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using xantine oxidase, myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation., J. Agr. Food Chem., 48, 1442- 1448.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J.,1951, Protein Measurementwith the Folin Phenol Reagent, Journal of Biological Chemistry, 193, 265-275.

Marino, P., 1998, The threat of oxidant injury, The ICU book, Williams&Wilkins, Baltimore, , 32-50.

Mark, I.T., Weglicki, W.B., 1994, Antioksidan activity of calcium channel blocking drugs, Methods in Enzymology, 234, 620-630.

Mates, J.M., 2000, Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology, Toxicology, 153, 83-104.

Mayumi, T., Schiler, H.j., Bulkley, G.B., 1993, Pharmaceutical intervention fort he prevention of pest ischemic reperfusion injury, Free radicals: from Basic Science to Medicine, Birkhauser Verlag Basel/Switzerland, 438- 457.

McMichael, M., D., Moore, R.M., 2004 a, İschemia-reperfusion injury pathophysiology, part I, Journal of Veterinaty and Critical Care, 14 (4), 231-241.

McMichael, M., D., Moore, R.M., 2004 b, İschemia-reperfusion injury: assessment and treatment Part II, 14 (4), 242-252.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Meydani, M., 1995, Vitamin E, Lancet, 345, 170-175.

Montgomery R., Conway T., Spector A., Chappell D., 1996, Biochemistry a Case-Oriented Approach, 6<sup>th</sup> edition, Mosby, 5, 140.

Mortensen, A., Skibsted, L.H., Truscott, T.G., 2001, The interaction of dietary carotenoids with radical species, Archives of Biochemistry and Biophysics, 385 (1), 13-19.

Murata, M., Monden, M., Umeshita, K., Nakano, H., Kanai, T., Gotoh, M., 1994, Role of intercellular calcium in superoxide-induced hepatocyte injury, Hepatology, 19, 1223-1228.

Nencini, C., Giorgi, G., Micheli, L., 2007, Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain, Phytomedicine, 14 (2-3), 129-135.

Okhawa, H., Ohishi, N., Yagi K., 1979, Assay for lipid peroxides by thiobarbituric acid reaction, Anal. Biochem., 95, 351-358.

Oranje, W.A., Wollfenbuttel, B.H., 1999, Lipid peroxidation and atherosclerosis in type II diabetes, The Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 134, 19-32.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Özdemir, G., 1993 Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP) (Oksidan Moleküller, Serbest Radikaller), Roche Bilimsel Eserler Serisi, İstanbul, 20-26.

Park, D.A., Groggaard, B., Granger, D.N., 1982, Comparison, of partial and complete arterial occlusion models for studying intestinal ischemia, *Surgery*, 92, 896-901.

Pellegrini, N., Riso, P., Porrini, M., 2000, Tomato consumption does not affect the total antioxidant capacity of plasma, *Nutrition*, 16(4), 268-271.

Pratico, D., 2001, *In vivo* measurement of the redox state, *Lipids*, 36, 45-47.

Poli, G., Parola, M., 1997, Oxidative damage and fibrogenesis, *Free Radical Biology and Medicine*, 22, 287-305.

Porter, N.A., 1984, Chemistry of lipid peroxidation, *Methods in Enzymology*, 105, 273-282.

Radi, R., Beckman, J.S., Bush, K.M., Freeman B.A., 1991, Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide, *Archive of Biochemistry and biophysics*, 288, 481-487.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Ramakrishnan, G., Raghevendran, H.R.B., Vinodhkumar, R., Devaki, T., 2006, Suppression of N-nitrodiethylamine induced hepatocarcinogenesis by silymarin in rats, *Chemico-Biological Interactions*, 161, 104-114.

Rangan, U., Bulkley, G.B., 1993, Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury, *British Medical Bulletin*, 49, 700-718.

Rao, A.V., Agarwal, S., 1998, Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer, *Nutrition and Cancer*, 31(3), 199-203.

Rao, AV., Fleshner, N., Agarwal, S., 1999 Serum and tissue lycopene and biomarkers of oxidation in prostate cancer patients: a case-control study, *Nutr. Cancer*, 33(2), 159-164.

Roncal, C.A., Mu, W., Croker, B., Reungjui, S., Ouyang, X., Tabah-Fisch, I., Johnson, J.R., Ejaz, A.A., 2006, Effect of elevated serum uric acid on cisplatin-induced acute renal failure, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 292, 116–122.

Sakon, M., Ariyoshi, H., Umeshita, K., Monden, M., 2002, Ischemia-reperfusion injury of the liver with special reference to calcium-depended mechanism, *Surgery Today*, 32, 1-12.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Saller, R., Meier, R., Brignoli, R., 2001, The use of silymarin in the treatment of liver diseases, *Drugs*, 61 (14), 2035-2063.

Sanz, N., Fernandez, C.D., Simon, L.F., Alvez, A. and Cascalez, M., 1998, Necrogenic and regenerative responses of liver of newly weaned rats against a subnetal dose of thioacetamid, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1384, 66- 78.

Sedlack, J., Lindsay, H.R., 1968, Estimation of total, Protein- Bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent, *Anal. Biochem.*, 25, 192-205.

Signbartl, K., Ley, K., 2000, Protection from ischemia-reperfusion induced severe acute renal failure by blocking E-selectin, *Crit. Care Med.*, 28(7), 2507-2514.

Sonnenbichler, J., Sacelera, F., Sonnenbichler, I., Weyhenmeyer, R., 1999, Stimulatory effects of silibinin and silicristin from the milk thistle *Silybum marianum* on kidney cells, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 290 (3), 1375-1383.

Southorn, P.A., Powis, G., 1988, Free radicals in medicine. I, Chemical nature and biologic reactions, *Mayo Clin. Proc.*, 63(4), 381-389.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Stahl, W., Sies, H., 1992, Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heatprocessed than from unprocessed tomato juice in humans. *Journal of Nutrition*, 122(11), 2161-2166.

Stahl, W., Sies, H., 1996, Lycopene: a biologically important carotenoid for humans, Review, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 336(1), 1-9.

Şener, G., Şener, E., Şehirli, Ö., Ögünç, A.V., Çetinel, Ş., Gedik, N., Sakarcan, A., 2005, Ginkgo biloba extract ameliorates ischemia-reperfusion-induced injury in rats, *Pharmacological Research*, 52 (3), 216-222.

Şentürk, H., Kabay, Ş., Bayramoğlu, G., Özden, H., Yücel, M., Yaylak, F., Gürlek Olgun, E., Kutlu, A., 2008, Silymarin Attenuates the Renal Ischemia/Reperfusion Injury Induced Morphological Changes in the Rat Kidney, *World Journal of Urology*, article in press.

Tokol Tunalı, N., 2007, Jinekolojik Kanserli hastalarda CoQ<sub>10</sub>'un tedavi edici etkinliğinin araştırılması, *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Eskişehir.

Thiemermann, C., Patel, S.A., Kvale, E.O., Cockerill, G.W., Brown, A.J., Stewart, K.N., Cuzzocrea, S., Britti, D., Mota-Filipe, H., Chatterjee, P.K., 2003, High Density Lipoprotein (HDL) reduces renal ischemia/reperfusion injury, *J. Am. Soc. Nephrol.*, 14, 1833–1843.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Thurman, J.M., 2007, Triggers of inflammation after renal ischemia/reperfusion, *Clinical Immunology*, 123, 7-13

Uchida, K., Stadtman, E.R., 1993, Covalent attachment of 4-hydroxynonenal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. A possible involvement of intra- and inter-molecular cross-linking reaction, *Journal of Biological Chemistry*, 268, 6388-6393.

Uysal, M., 1998, Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengesi etkileyen koşullar, *Klinik Gelişim*, 11, 336- 341.

Van den Dobbels, D.J., Nobel, C.S., Schlegel, J., Cotgreave, I.A., Orrenius, S., Slater, F.G., 1996, Rapid and specific efflux of reduced glutathione during apoptosis induced by anti-Fas/APO-1 antibody, *The Journal of Biological Chemistry*, 271, 15420-15427.

V'ant Veer, P., Jansen, M.C., Klerk, M., Kok, F.J., 2000, Fruits and vegetables in the prevention of cancer and cardiovascular disease, *Public Health Nutr.*, 3, 103-107.

Valenzuela, A., Aspillaga, M., Vial, S., Guerra, R., 1989, Selectivity of silymarin on the increase of the glutathione content in different tissues of the rat, *Planta Med.*, 55, 420-422.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39 (1), 44-84.

Waynforth, H.B., Flecknell, P.A., 1994, *Experimental and surgical technique in the rat*, 2<sup>nd</sup> ed., Chapter 29, 174-175.

Winterborn, C.C., Hawkins, R.E., Brain, M., Carrell, R.W., 1975, The estimation of red cell superoxide dismutase activity, *J. Lab. Clin. Med.*, 85, 337-341.

Yaping, Z., Suping, Q., Wenli, Y., Zheng, X., Hong, S., Side, Y., Dapu, W., 2002, Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical  $CCl_3O_2$ , *Food Chem.*; 77, 209-212.

Young, A.J., Lowe, G.M., 2001, Antioxidant properties of carotenoids, *Arch. Biochem. Biophys.*, 385, 20-27.

Zelenock, G., 1990, *Clinical ischemic syndromes: mechanism and consequence of tissue injury*, Mosby Co., St. Louis, 47-62.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Zhao, J., Lahiri-Chatterjee, M., Sharma, Y., Agarwal, R., 2000, Inhibitory effect of a flavonoid antioxidant silymarin on benzoyl peroxide-induced tumor promotion, oxidative stress and inflammatory responses in SENCAR Mouse skin, *Carcinogenesis*, 21, 811-816.

Zimmerman, B.J., Grisham, M.B., Granger, D.N., 1990, Role of oxidants in ischemia/reperfusion-induced granulocyte infiltration, *Am J Physiol*, 258 185–190.

## ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı** : Hakan Şentürk
- Doğum Yeri-Tarihi** : Ankara, 11. 09. 1973
- Görevi** : Araştırma görevlisi
- Görev Yeri** : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,  
Biyoloji Bölümü, Meşelik 26480 Eskişehir.
- Yabancı Dil** : İngilizce
- Eğitimi;**
- 1993–1997** : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen–Edebiyat Fakültesi,  
Biyoloji Bölümünden mezun oldu.
- 1999** : Eskişehir Osmangazi Ünivesitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,  
Biyoloji Bölümü’nde Genel Biyoloji ABD’ da Araştırma  
Görevlisi olarak göreve başladı.
- 2000** : “Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Meşelik Kampusunde Doğal  
Yayılış Gösteren Bazı Bitkiler Üzerine Sitotaksonomik  
Çalışmalar” isimli Yüksek Lisans Tezini tamamladı.
- 2000** : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,  
Genel Biyoloji anabilim dalında doktora öğrenimine başladı.