

Sıçanlarda Renal İskemi/Reperfüzyon Sırasında oluşan Oksidatif stres hasarına karşı
karvakrol'ün olası Koruyucu etkilerinin incelenmesi

Özlem Gündüz

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Mart 2010

The Examination of Protective Effects of Carvacrol Against Damage of Oxidative Stress During Induced Experimental renal Ischemia/Reperfusion in rats.

Özlem Gündüz

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Biology

March 2010

Sıçanlarda Renal İskemi/Reperfüzyon Sırasında Oluşan Oksidatif Stres Hasarına Karşı
Karvakrol'un Olası Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi

Özlem Gündüz

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Moleküler Biyoloji Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Yrd. Doç. Dr Mediha Canbek

Mart 2010

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Özlem Gündüz'ün YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “ Sıçanlarda Renal İskemi/Reperfüzyon Sırasında oluşan Oksidatif stres hasarına karşı karvakrol'ün olası Koruyucu etkilerinin incelenmesi” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Mediha Canbek

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye : Prof. Dr. Ahmet ÖZATA

Üye : Prof. Dr. Muhsin KONUK

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mediha CANBEK

Üye : Yrd. Doç. Dr. A. Pınar ÖZTOPÇU VATAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mustafa UYANOĞLU

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

Prof. Dr. Nimetullah BURNAK

Enstitü Müdürü

ÖZET

Bu tez çalışmasında sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan böbrek İskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarında karvakrol'un olası koruyucu etkileri araştırıldı.

35 adet erkek *Sprague dawley* sıçan rasgele seçimle 5 gruba ayrıldı (n=7). Grup I (Kontrol grubu), Grup II (İ/R+serum fizyolojik), Grup III (İ/R+Zeytinyağı), Grup IV (İ/R+Zeytinyağı+25 mg/kg Karvakrol) ve Grup V (İ/R+Zeytinyağı+50 mg/kg Karvakrol) olmak üzere 5 grup düzenlendi. Ksilazin (10 mg/kg) ve ketamin (70 mg/kg) anestezisi altında Grup I dışındaki sıçanlara sağ böbrek nefrektomisi uygulandı. Sıçanlara oral (gavaj) olarak 1 hafta boyunca günde bir kez olmak üzere serum fizyolojik (Grup II), zeytinyağı (Grup III) ve karvakrol (Grup IV,V) verildi ve ardından bu gruptaki sıçanlarda 45 dakika iskemi / 24 saat reperfüzyon işlemi gerçekleştirildi. Deney sonunda kan örnekleri ve böbrek dokuları hızla bütün gruplarda alındı. Grup II' de BUN (Blood urea nitrogen), kreatinin, malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO) seviyelerinin ve miyeloperoksidaz (MPO) enzim aktivitesinin arttığı görüldü ve bu böbrek dokularına ait süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (Gpx) enzim aktivitelerinde de Grup I' e göre artış tespit edildi. Histopatolojik incelemede ise Grup II' de tübüller arasındaki yapıda genişlemeler ve hücre parçalanmaları görüldü. İmmunhistokimyasal değerlendirmelerinde Grup II' de Nitrik oksit sentetaz (iNOS) çok yoğun iken, Grup V' de bu yoğunluğun neredeyse hiç oluşmadığı saptandı. Grup V' deki histolojik ve biyokimyasal değişimler bu grupta İ/R hasarının büyük ölçüde önlendiğini gösterdi.

Çalışmanın sonucu, karvakrol'un oral uyulanan 50 mg/kg dozunun İ/R hasarında koruyucu etkili olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: İskemi/reperfüzyon, karvakrol, böbrek, antioksidan, serbest radikal.

SUMMARY

The possible protective effects of carvacrol in experimental renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in rats were investigated in this thesis.

A total of 35 male *Sprague dawley* rats were divided into 5 groups by randomized selection (n=7). Five groups were designed that Group I (Control), Group II (I/R+saline solution), Group III (I/R+olive oil), Group IV (I/R+olive oil+carvacrol) and Group V (I/R+ olive oil +carvacrol). Right nephrectomies were performed under xylazine (10 mg/kg) and ketamine (70 mg/kg) anesthesia in all groups rat except Group I. Saline (Grup II), olive oil (Grup III) and carvacrol (Grup IV,V) were given orally (gavage) in this groups rats every day along a week and after that 45 minutes of Ischemia and 24 hours of Reperfusion were applied to these rats groups. At the end of the experiment, blood samples and kidney tissues were quickly taken from rats belonging to all of the groups. Blood urea nitrogen (BUN), creatinine, Malondialdehyde (MDA), Nitric oxide (NO) levels and Myeloperoxidase (MPO) enzyme activity were increased in Group II and belonging to the kidney tissue Superoxide dismutases (SOD), Catalase (CAT), Glutathione peroxidase (Gpx) enzyme activity were increased compared to Group I. Histopathological examination in Group II were observed that expansion in the structure between the tubules and cell fragments. Although immunohistochemical evaluation in Group II at iNOS (Nitric oxide synthases) was determined very density, this density was not found in Group V. Histopathological and biochemical changes in Group V show that I/R injures were prevented.

The results of this study have demonstrated that carvacrol (50 mg/kg per os) prevents renal I/R injury.

Keywords: Ischemia/reperfusion, carvacrol, kidney, antioxidant, free radical.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim sürecinde bana danışmanlık ederek, beni yönlendiren ve her türlü olanağı sağlayan danışmanım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Mediha CANBEK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yaptığım çalışmalarda benden bilgilerini, deneyimlerini, yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Mustafa UYANOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Gökhan BAYRAMOĞLU, Arş. Gör. Dr. Hakan ŞENTÜRK ve Arş. Gör. Emre CEYHAN hocalarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvarda birlikte çalıştığım, çalışmalarımnda destek veren arkadaşlarım F. Özgül ÖZALP, Ahmet ÖZEN, Başak DURMUŞ, Özge TURGAK, Ayşe ÖZMEN, Sevil ARABACI, Ali KUTLU, Burak GÖL, Selin ENGÜR, Ayşe KARABEK, Dilek MALAY ve Betül MÜJDECİ'ye teşekkür etmeyi kendime görev bilirim.

Yaşamım boyunca benden desteklerini eksiltmeyen her zaman yanımda olduklarını bildiğim aileme sevgi dolu teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇLAR.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Böbrekler.....	3
2.1.1 Böbrek anatomisi.....	3
2.1.2 Böbrek fizyolojisi	5
2.1.3 Böbrek kan akımı	5
2.2 İskemi/Reperfüzyon (İ/R) Hasarı	5
2.2.1 İskemi	6
2.2.1.1 Geri dönüşümlü iskemik hasar:	6
2.2.1.2 Geri dönüşümsüz iskemik hasar:	7
2.2.2 Reperfüzyon	8
2.3 Serbest Radikaller ve Serbest Radikallerin Reperfüzyon Hasarındaki Rollerini...9	
2.4 Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Antioksidan Savunma.....	11
2.4.1 Endojen antioksidanlar	11

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

2.4.1.1 Enzim olan endojen antioksidanlar	11
2.4.1.2 Enzim olmayan endojen antioksidanlar	12
2.4.2 Eksojen antioksidanlar.....	12
2.4.2.1 Vitamin eksojen antioksidanlar	12
2.4.2.2 İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar.....	12
2.4.3 Gıdalardaki eksojen antioksidanlar	13
2.5 Karvakrol.....	13
2.5.1 Karvakrol'ün kimyasal özellikleri ve açık formülü.....	14
3. MATERYAL VE METOD	16
3.1 Deney Hayvanları.....	16
3.2 Karvakrol Uygulaması	16
3.3 Deney Grupları.....	17
3.4 Anestezi ve Cerrahi Uygulamalar	18
3.5 Doku Örneklerinin Alınması ve Değerlendirilmesi	20
3.5.1 Serum örnekleri	20
3.5.2 Böbrek doku örnekleri.....	20
3.5.2.1 Böbrek doku örneklerinin biyokimyasal analizleri.....	20
3.5.2.2 Böbrek doku örneklerinin histolojik analizleri	24
3.6 İstatistiksel Değerlendirmeler	25

İÇİNDEKİLER (devam)**Sayfa**

4. SONUÇLAR.....	26
4.1 Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....	26
4.1.1 Serum örneklerinde biyokimyasal analizler	26
4.1.2 Böbrek doku örneklerinde biyokimyasal ve elektroforetik analizler	28
4.2 Böbrek Doku Örneklerinde Histolojik Analizler	41
5. TARTIŞMA.....	49
KAYNAKLAR DİZİNİ	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Böbrek (A) ve Nefronun (B) yapısı (Tunçel vd., 2006).....	4
2.2. Karvakrol'ün açık kimyasal formülü (Baser, 2008).....	15
4.1. Grup I, II, III, IV ve V'e ait serum BUN seviyelerinin Ortalama ve Standart hata grafiği.	27
4.2. Grup I, II, III, IV ve V'e ait serum kreatinin seviyelerinin Ortalama ve Standart hata grafiği (mg/dL/100).....	28
4.3. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu MDA seviyelerinin Ortalama ve Standart sapma grafiği.	29
4.4. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu NO seviyelerinin Ortalama ve Standart Sapma Grafiği.	30
4.5. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu MPO seviyelerinin Ortalama ve Standart Sapma Grafiği.	30
4.6. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan band alanlarının ortalama değerleri (mm ²)... ..	32
4.7. Grup I, ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.	33
4.8. Grup II'ye ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.	33
4.9. Grup III'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.	34
4.10. Grup IV'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.	34
4.11. Grup V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.	35

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.12. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan band alanlarının ortalama değerleri (mm ²). ...35	
4.13. Grup I'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.36	
4.14. Grup II'ye ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.36	
4.15. Grup III'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.37	
4.16. Grup IV'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.37	
4.17. Grup V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.38	
4.18. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan band alanlarının ortalama değerleri (mm ²). ...38	
4.19. Grup I'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.39	
4.20. Grup II'ye ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.39	
4.21. Grup III'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.40	
4.22. Grup IV 'de ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.40	
4.23. Grup V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.41	

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa</u>
4.24.	Grup I' e ait böbrek doku kesitlerinde normal görünümlü glomerül yapıları, bowman kapsülü ve aralığı ile tübüller (H&E).	43
4.25.	Grup II' ye ait böbrek doku kesitlerinde tübüler deformasyon. Glomerulus ve bowman kapsülünde değişim (H&E).	43
4.26.	Grup II' ye ait böbrek doku kesitlerinde yaygın kanama alanları, tübüller içerisinde sıvı birikimi ve hücre döküntüleri (H&E).	44
4.27.	Grup II' ye ait böbrek doku kesitlerinde tübüler şişme, bazal vakuolizasyon ve tübüller içerisinde sıvı birikimi (H&E).	44
4.28.	Grup III' e ait böbrek doku kesitlerinde tübüler dejenerasyonu ve fırçasmsı kenar kaybında gerileme (H&E).	45
4.29.	Grup IV' e ait böbrek doku kesitlerinde tübüler içi sıvı birikiminde ve tübüller arasında kanamalı bölgelerde kısmi azalma (H&E).	45
4.30.	Grup V' e ait böbrek doku kesitlerinde kontrole yakın tübül hücreler ve glomerular yapı (H&E).	46
4.31.	Grup I' e ait böbrek doku kesitlerinde normal görünümlü iNOS negatif tübül hücreleri.	47
4.32.	Grup II' ye ait böbrek doku kesitlerinde iNOS pozitif tübül hücreleri.	47
4.33.	Grup V' e ait böbrek doku kesitlerinde normale yakın görünümlü iNOS negatif tübül hücreleri.	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Gavaj olarak uygulanan serum fizyolojik, zeytinyağı ve karvakrol'ün; cerrahi gruplara göre dağılımı.	18
4.1. Deney gruplarına ait hayvanların kan serum örneklerinde belirlenen BUN ve Kreatinin miktarlarının Ortalama değerleri \pm Standart hata değerleri (n=7)....	27
4.2. Deney gruplarına ait hayvanların böbrek doku örneklerinde belirlenen MDA, NO ve MPO miktarlarının Ortalama değerleri \pm Standart sapma değerleri (n=7).	29
4.3. Deney gruplarına ait hayvanların böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT, SOD ve Gpx enzim aktiviteleri sonucu oluşan band alanlarının ortalama değerleri.	32

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
n	Denek sayısı (adet)
rpm	Devir/dakika (Revolution per minute)
mg/kg	miligram/kilogram
U	Ünite
mL	Mililitre (10^{-3} litre)
μ L	Mikrolitre (10^{-6} litre)
μ m	Mikrometre (mikron = 10^{-6} metre)
nmol	Nanomol (10^{-9} mol)
mM	Milimolar (10^{-3} molar)
mg	Miligram (10^{-3} gram)
μ g	Mikrogram (10^{-6} gram)
$^{\circ}$ C	Santigrad derece

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
H&E	Hematoksilin ve Eosin
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
Bkz.	Bakınız
PMNL	Polimorfo Nükleer Lökosit
CAT	Katalaz
SOD	Süperoksit Dismutaz
Gpx	Glutatyon Peroksidaz
iNOS	Nitrik Oksit Sentetaz
MDA	Malondialdehit
MPO	Miyeloperoksidaz
NO	Nitrik Oksit
İ/R	İskemi/Reperfüzyon

1. GİRİŞ VE AMAÇLAR

Böbrekler, vücut homeostazisinin sağlamlasında büyük öneme sahip, hayati organlardan birisidir. Çeşitli nedenlerle böbreklerde hasar oluşabilmekte ve tüm vücut bundan etkilenebilmektedir.

Renal iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarı çoğu klinik uygulamada (böbrek nakli, şok ve vasküler cerrahi) karşılaşılan ve akut renal kaybın asıl nedenini oluşturan durumdur (Yoon, et al., 2008; Seth, et al., 2000; Xue, et al., 2007). İskemi dokuya gelen kan akımının azalması veya durmasıdır. İskemiye uğrayan doku hipoksida kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskemi uzun sürerse hücrelerin bütünlüğü kaybolur ve hücre ölüm meydana gelir. Reperfüzyon ise iskemik dokuda kan akımının yeniden başlamasıdır. Reperfüzyonda, özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri (SOR) dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar (Ozan vd., 2004; Sener, et al., 2006; Gueler, et al., 2004).

Vücuttaki hücresel antioksidan enzimler, antioksidan maddeler ve serbest radikaller arasında bir denge bulunmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin potansiyel zararlarına karşılık, hücre koruyucu enzimleri ile karşı koyulur ve antioksidan maddeler ile serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu hasar sınırlandırılmaya çalışılır (Ozan vd., 2004). Böbrekte İ/R sırasında oluşan serbest radikaller endojen antioksidan kaynaklarının hızla tükenmesine yol açmaktadır (Gurel, et al., 2004). Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkileri, eksojen antioksidan maddeler tarafından da azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır (Granger and Korthuis, 1995). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, diyetlerde antioksidan içeren besinlere yer verilmesi serbest oksijen ve nitrojen radikallerinden kaynaklanan hasarı engellemektedir (Çakan vd, 2007).

Üzerinde en fazla araştırma yapılan aromatik bitkilerden birisi de kekiktir (Öneç ve Açıkgöz, 2005). Kekikten elde edilen esansiyel yağda karvakrol bulunur. Karvakrol

monoterpenik bir fenoldür. Kekiğin biyolojik aktivitesinden karvakrol'un sorumlu olduğu bildirilmiştir. Kekiğin antimikrobiyal, antitümör, antimitojenik, antigenotoksik, analjezik, antispazmodik, antiparazitik vb. aktiviteleri yanında antioksidan özelliği de bulunmaktadır (Baser, 2008). Kekikten elde edilen karvakrol'un karaciğerde rejenerasyonu hızlandırıcı özelliğinin de olduğu ortaya koyulmuştur (Uyanoglu, et al., 2008).

Bu çalışmada, renal İ/R sonucunda oluşan oksidatif stres hasarına karşı antioksidan özelliği bilinen karvakrol'un; muhtemel koruyucu etkisi biyokimyasal, histopatolojik ve doğal jel elektroforezi yöntemiyle araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Hücrelerde metabolik aktivitenin devam etmesi ile birlikte atık madde üretimi de devam eder. Eğer bu metabolik atık maddelerin hücrede birikmesine izin verilirse, toksik yoğunlaşma artar ve homeostazis bozulur. Boşaltım sistemi, homeostazise katılan en önemli organ sistemlerinden biridir (Aydın, 2006). İşlevleri arasında asit-baz dengesini sağlamak, kanın ve vücuttaki sıvıların elektrolit derişimlerini düzenlemek, kan basıncını ayarlamak, kan hacmini düzenlemek sayılabilir.

Omurgalılarda boşaltım organları böbreklerdir. Boşaltım sistemi iki böbrek, iki üreter, mesane ve üretradan oluşmaktadır (Aydın, 2006).

2.1. Böbrekler

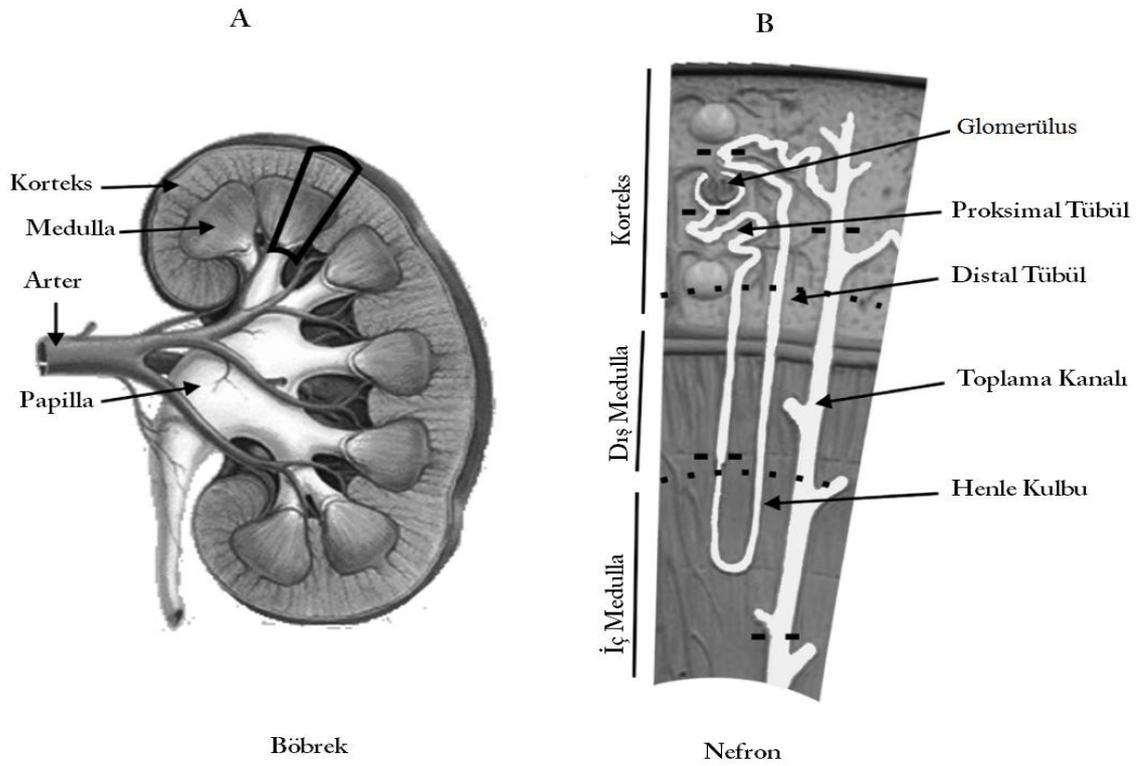
Vücutta önemli görevlere sahip olan böbrekleri; Böbrek anatomisi, böbrek fizyoloji ve böbrek kan akımı başlıkları altında incelemekte yarar vardır.

2.1.1. Böbrek anatomisi

Böbrekler çift organlardır. Çoğu insanda tek böbrek bulunabilmektedir ve insanlar bunun farkına varmadan sağlıklı bir yaşam sürdürebilirler. Böbreklerin üstünde böbreküstü bezleri bulunur. Böbrekler konumları bakımından bakışımsızdır. Bunun nedeni karın boşluğunda büyük bir yer kaplayan karaciğerin, sağda bulunan böbreğin soldakine göre 1-2 santimetre (cm) daha aşağı bir konumda bulunmasına yol açmasıdır.

Böbrekler yaklaşık 12. göğüs omuru ile 3. bel omurlarının düzeyleri arasında yer almaktadırlar. Böbreklerin üst bölgeleri 11. ve 12. kaburgalarca korunmaktadır. Böbrekler karın boşluğunda, periton arkasında, omurganın iki yanında karın arka duvarına yaslanmış olarak bulunan, fasulye şeklinde renkleri kırmızı-kahverengi olan organlardır (Tunçel vd., 2006). Bir böbrek 11x6x2,5 cm boyutlarında ve 100-200 gram (gr) ağırlığındadır (Uslu, 1987).

Böbrekler uzun ekseninden ikiye kesilecek olursa dış kısmında korteks, iç kısmında medulla denilen iki ana bölge ayrılır. Böbreğin medullasında böbrek piramidleri denen koni biçimli çok sayıda doku kitleleri bulunur (Şekil 2.1). Piramidlerin tabanı korteks ile medulla sınırından başlar ve üreterin huni biçimli üst ucunun devamından oluşan böbrek pelvisinin devamına doğru uzanan papillada son bulur (Cebeci, 2007).



Şekil 2.1. Böbrek (A) ve Nefronun (B) yapısı (Tunçel vd., 2006).

2.1.2. Böbrek fizyolojisi

Böbreğin en küçük yapısal birimi nefrondur (Bkz. Şekil 2.1). Nefron böbrekte idrarın oluşturulduğu yerdir. İnsanda her böbrek bir milyon kadar nefrondan oluşur. Nefronlarda gerçekleşen süzme (filtrasyon), salgılama (sekresyon) ve geri emilme (reabsorpsiyon) aşamalarından sonra idrar şeklinde atılan miktar günde 1,5 Litre (L) kadardır. Ayrıca içindeki süzücü kanallar kanı temizlemekte yardımcıdır (Aydın, 2006; Cebeci, 2007).

Azot içeren artıkların en önemli boşaltım yeri böbreklerdir. Böbreklerin sürekli çalışmasıyla nitrojen atıkları, plazmadan toksik düzeylere erişmeden yok edilmektedir. Proteinlerin yıkımı ile oluşan ürün amonyaktır (NH_3). NH_3 , hücreler için çok toksik bir maddedir, bu nedenle karaciğerde üre haline dönüştürülür ve üre böbrek tarafından atılır (Tunçel vd., 2006). İnsan idrarında üre, ürik asit, amonyaktan başka; Kreatinin, sodyum, potasyum, kalsiyum, klorür, fosfat, sülfat vb. bulunmaktadır.

2.1.3. Böbrek kan akımı

Yürek çıktısının (yürekten birim zamanda pompalanan kan miktarı) yaklaşık %25'i böbreklere gelmektedir. Böbrekte yüksek oranda kan akışı olması, böbreklerin insan vücudundaki önemi göz önüne alındığında şaşırtıcı değildir.

2.2. İskemi/Reperfüzyon (İ/R) Hasarı

İ/R hasarı kalp, adale, karaciğer, akciğer, böbrek ve barsaklarda sık rastlanan ve ciddi patolojilere yol açabilen olaylar dizisidir (Saba vd., 2000). İ/R sonrası akut renal hasardan dolayı mortalite ve morbidite oranı artabilmektedir (Sentürk, et al., 2008) Birçok farklı dokuda çeşitli şartlarda meydana gelebilen bu durumu fizyopatolojik olarak iskemik hasar ve İ/R hasarı şeklinde ayırt etmekte fayda vardır.

2.2.1. İskemi

İskemi, dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının dolaşım tarafından sağlanamaması ve oluşan atık ürünlerin yine dolaşım tarafından uzaklaştırılmaması olarak tanımlanır (Özel, 2006). İskemi, organı veya dokuyu perfüze eden kan akımındaki yetersizliğe bağlı olarak gelişir ve geriye dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre/doku zedelenmesine neden olabilmektedir (Kandilci ve Gümüşel, 2005). İskemiye eşlik eden hücrenel ve yapısal değişiklikler ilk olarak mitokondride başlar, daha sonra hücre çekirdeği, endoplazmik retikulum, lizozom ve hücre membranı etkilenir (Avatgil, 1997).

Dokuların iskemiye dayanıklılığı birbirinden farklıdır. İskelet kasları iskemiye uzun süre dayanabildiği halde nöronlarda dakikalar içinde geri dönüşümsüz yıkım ortaya çıkabilir. Ayrıca iskemiye maruz kalmayan bölgelerde de hasar oluşabilir. Kan akımının kesildiği bölgede lokal doku hasarı, bu alan dışındaki bölgelerde de uzak organ hasarı meydana gelebilir (Basım, 2005; Karabiga vd., 2007; Şener ve Yeğen, 2008).

2.2.1.1. Geri dönüşümlü iskemik hasar

Hücrenel fonksiyonların gerçekleşebilmesi için gerekli temel yakıt oksijendir. Aerobik metabolizma ile normal hücre fonksiyonları için gerekli olan yüksek enerji sağlanmaktadır. Anaerobik metabolizma oksijen yetersizliği durumunda devreye girer. Bu da laktik asit ve toksik metabolitlerin birikimi ile sonuçlanır. Ortaya çıkan asidoz nedeniyle iskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. İskeminin ilk zarar verdiği yer, hücrenin aerobik solunumudur. İskemiyle birlikte hızla gelişen hipoksiye bağlı olarak hücrenin aerobik solunumu (mitokondrial oksidatif fosforilasyon) felç olur ve hücrenin enerji kaynağı olan ATP'nin düzeyi azalır, hücrede ATP'ye bağımlı birçok fonksiyonda azalma ve bunlarla paralel çeşitli yapısal bozukluklar meydana gelir. Bu durumda hücre kendi homeostazı için gerekli olan

enerjiden yoksun kalır. Hücrel homeostaz için gerekli olan enerji kaynaklarının, tüketimi, hücre membranında iyon dengesizliğine yol açar. $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ pompasının yavaşlamasına bağlı olarak intrasellüler ortamda Na^+ ve Ca^{++} birikirken K^+ azalır. Solid materyalin birikimine izoozmotik su birikimi eşlik ederek akut hücrel şişme oluşur (Basım, 2005; Ergün, 2006; Cebeci, 2007; Şener ve Yeğen, 2008).

İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde kullanımı devam eder ATP'den AMP ve adenozin oluşur. Adenozin, hücre dışına difüze olur, inozin ve hipoksantine dönüşür. İskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar. Normal şartlarda hipoksantin ürik asite metabolize olur ve elektron alıcı NAD^+ (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu) dır. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle KDH'nın KO'ya dönüştüğünden, hipoksantin ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır (Şener ve Yeğen, 2008).

Biyokimyasal ve patolojik bozukluklar kan akımı tekrar sağlanırsa geriye dönüşlüdür; fakat iskemi devam ederse oluşan hasar geriye dönüşümsüz hale gelir.

2.2.1.2. Geri dönüşümsüz iskemik hasar

Geri dönüşsüz zedelenmede, yapısal olarak mitokondri ve kristalarında aşırı vakuolizasyon, plazma zarında aşırı zedelenme ve lizozomlarda ise şişme gerçekleşir (Cebeci, 2007).

Geri dönüşümsüz hasarın ortaya çıkmasıyla ilişkilendirilen en önemli morfolojik değişiklik hücre membranı hasarıdır ve bununla ilgili bazı mekanizmalardır. Proteinler, temel koenzimler, ribonükleik asitler aşırı geçirgen zarlardan sürekli kaybedilir. Hücreler, hücre içi yüksek enerjili fosfatın yapımında kullanılacak ATP'nin yeniden oluşumu için yaşamsal önemi olan metabolitlerini de kaybederler. pH'ın düşmesi ile

lizozom zarları zedelenir ve enzimlerinin sitoplazmaya geçerek, sitoplazmik ve çekirdek yapıların sindirimine neden olur. Hücre organelleri devamlı parçalanır ve hücrenel enzimler hücre dışına sızarlar. Sonuçta ölü hücreler, miyelin oluşumlar ve fosfolipitden oluşan büyük kitlelere dönüşürler. Daha sonra ise diğer hücreler tarafından fagosite edilirler veya yağ asitlerine parçalanırlar (Ergün, 2006).

2.2.2. Reperfüzyon

Reperfüzyon, iskemiye neden olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuya kan akımının yeniden sağlanmasıdır (Paller, 1994). Reperfüzyon ile, iskemik dokuda enerji ihtiyacı sağlanır ve toksik metabolitler uzaklaştırılır. Yani reperfüzyon iskemik hasarın düzeltilebilmesi için gerekli bir süreçtir. Ancak oksijenlenmiş kanın iskemik dokuya dönüşü dokuyu daha fazla zedeleyen bir reaksiyon sürecini başlatır (Basım, 2005). Dokuda İ/R sonucu oluşan hasar, dokunun aynı toplam sürede sadece iskemiye maruz kalması sonucu oluşan hasardan daha fazladır (Özel, 2006).

Reperfüzyon ile özellikle dokuya gelip yerleşen PMNL tarafından salınan SOR'lar dokudaki yıkımı artırıcı etki yapmaktadır (Ozan vd, 2004). PMNL hücreler, adezyon moleküllerine tutunarak iskemik dokuya yerleşirler. Bu hücreler, iskemik dokuyu hem oksidatif (oksijen radikalleri ile) hem de nonoksidatif yolla tahrip ederler. Nötrofil granülleri, vasküler yaralanmaya neden olabilen bir çok hidrolitik enzim ve antimikrobiyal polipeptid içerirler. İskemik dokudaki PMNL hücre bağımlı yıkımda ayrıca fosfolipaz ürünleri tromboksan-A2, prostoglandin E2, lökotrien C4, D4, B4 ve platelet agrege edici faktör (PAF) üretilir. Bunlar da çeşitli yollardan doku hasarını artırır (Cebeci, 2007).

İ/R hasarının fizyopatolojisi tam olarak açığa kavuşmamıştır, İ/R fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücrel ve humoral olaylar serisidir ve şöyle sıralanabilir.

1. Serbest oksijen radikalleri
2. Kompleman sistemi
3. Endotel hücreler
4. PMNL, olmak üzere başlıca dört komponentten söz edilebilir (Özel, 2006).

Reperfüzyon hasarına doğrudan veya dolaylı olarak katılan pek çok madde ve biyokimyasal reaksiyon tanımlanmıştır. Bu maddelerin birbiriyle etkileşimi sonucunda İ/R hasarının reperfüzyon kısmının mediatörleri olan serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar (Basım, 2005).

2.3. Serbest Radikaller ve Serbest Radikallerin Reperfüzyon Hasarındaki Roller

Reperfüzyon hasarından sorumlu ana etkenlerden biri de serbest radikallerdir. Bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, kimyasal reaktiviteleri yüksek molekül veya atomlar “serbest radikal” olarak adlandırılır (Alper, 1993; Aşıcıoğlu, 2005; Valko, et al., 2007).

Kimyasal olarak kararsız yapıda olan serbest radikaller, molekül veya atomlar ile etkileşime girerek, dış yörüngesindeki elektronu eşleme ve kararlı duruma gelme eğilimindedirler (Akkoç, 2008).

Hücre zarları serbest radikallerin yarattığı hasardan en çok etkilenen yapılardır. Serbest radikaller hücre zarlarından elektron çalarak eşlenir, hücre zarı ve hücre yapısını bozar (Gökpınar vd., 2006).

İ/R hasarından, son zamanlarda yapılan çalışmalar, süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH), hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi SOR'ların ve nitrik oksit (NO) ya da peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi reaktif nitrojen türlerinin etkili olduğunu düşündürmektedir (Noiri, et al., 2001). Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir (Aşıcıoğlu, 2005). SOR kaynakları: Mitokondriyal elektrol transport zinciri (SOR formlarının temel kaynağı), endoplazmik retikulum sitokrom P450, lipoksijenaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz sayılabilir (Curtin, et al., 2002).

Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler en hassas olanlarıdır (Akkuş, 1995). 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). Membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip lipit peroksidasyona neden olabilir. İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipit radikalini oluşturur. Lipit radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipit peroksit (LOO) radikalini oluşturur. LOO radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Ayrıca LOO ortamdaki H atomları ile de reaksiyona girerek lipit hidroperoksidleri (LOOH) de oluştururlar. LOO daha sonra lipit peroksidasyonunun indikatörü olan malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler (Memişoğulları, 2005).

İ/R hasarlanmasını inhibe eden pek çok endojen antioksidan mekanizması bulunmakla beraber, ekzojen antioksidanların da hasarlanmayı engellediği belirtilmiştir (Basım, 2005).

2.4. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Antioksidan Savunma

SOR oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinirler. Antioksidanlar endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı olabilirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya SOR toplayarak lipit peroksidasyonunu durdururlar (Akkuş, 1995).

Sağlıklı bireylerde normal metabolizma sonucunda oluşan SOR'lar vücudun savunma mekanizması olan antioksidan sistemle uzaklaştırılır. Sağlıklı vücutta, oksijen radikalleri ile antioksidan savunma mekanizması tam bir denge halinde çalışır. Bu dengenin radikallerin lehine bozulmasıyla ortaya çıkan duruma ise oksidatif stres denir (Karaca ve Güder., 2009).

Böylece oksidatif hasara bağlı olarak ortaya çıkan doku hasarı azaltılır. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki hassas denge korunmadığı takdirde, hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkabilir (Aşıcıoğlu, 2005). Serbest radikallerin zararlı etkilerini gidermek için besinlerle birlikte antioksidan alınmasında yarar vardır.

2.4.1. Endojen antioksidanlar

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

2.4.1.1. Enzim olan endojen antioksidanlar

Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (Gpx), katalaz (CAT), hidroperoksidaz bu grupta bulunur.

2.4.1.2. Enzim olmayan endojen antioksidanlar

Melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyogloblin, hemogloblin, ferritin, bilirubin vb. yer alır (Basım, 2005).

2.4.2. Eksojen antioksidanlar

Vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere bu grupta sınıflandırılabilirler.

2.4.2.1. Vitamin eksojen antioksidanlar

α -tokoferol (vitamin E), β -karoten, Askorbik asit (vitamin C), Folik asit (folat) bu grupta yer alır.

2.4.2.2. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar

Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, diphenylene iodonium), rekombinant süperoksit dismutaz, trolox-C (vitamin E analogu), endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (glutatyon peroksidaz aktivitesini artıranlar, ebselen, asetilsistein), nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler, barbitüratlar, demir şelatörleri ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlardır.

2.4.3. Gıdalardaki eksojen antioksidanlar

Butylated hydroxytoluene (BHT), Butylated hydroxyanisole (BHA), Sodium benzoate, Ethoxyquin, Propylgalate, Fe-superoxyde dismutase olarak sayılabilir.

Antioksidan savunmada öncelikle etkili olanlar endojen olan enzimatik antioksidanlardır (Ozan vd., 2004). Hastalıkların tedavisi üzerine yapılan çalışmalarda, insan diyetindeki antioksidan etkili bileşiklerin oksidatif strese sebebiyet veren SOR'ların ve reaktif azot türlerinin insan vücuduna verdiği zararları önemli ölçüde engelleyebildiği belirtilmiştir (Çakan vd, 2007).

2.5. Karvakrol

Karvakrol, Ballıbabagiller (*Labiata=Laminaceae*) ailesine ait bitki türlerinin (*Origanum, Satujera, Tyhmbra, Thymus* ve *Corydothymus*) uçucu yağlarında bulunan fenolik ve bir oksijenli monoterpindir (Başer, 2001; Baytop, 1999). Karvakrol doğada özellikle kekik adıyla bilinen çeşitli bitkilerde bulunur. Bu bitkilerin ortak özellikleri timol ve karvakrol gibi karakteristik tat ve koku veren bileşenlere sahip olmasıdır.

Kekikten elde edilen uçucu yağda karvakrol bulunur ve kekiğin biyolojik aktivitesinden karvakrol'un sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Baser, et al, 2008; Fadiloğlu vd., 2001). Uçucu yağında karvakrol'den başka thymol, p-simen, terpineol, borneol, cymol, linalol gibi bileşenler de mevcuttur (Altundağ ve Aslım, 2005). Karvakrolle yapılan çalışmalarda çok farklı aktivitelerinin olduğu gösterilmiştir. Karvakrol'un kimyasal yapısında hidroksil (OH⁻) bulunmasından dolayı ise antioksidan olarak değerlendirilebilir (Kulısic, et al., 2004; Sökmen, et al., 2004). Kekiğin sahip olduğu çeşitli aktivitelere örnekler şunlardır; antimikrobiyal, antitümör, antimitojenik, antigenotoksik, analjezik, antispazmodik, antiinflamatory, angiyojenik, antiparazitik, antiplatelet, ağrı kesici, insektisidal, antihepatoksik ayrıca besin katkı maddesi, bal

arılarını üretmek ve gastrointestinal ağrılarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Baser, et al., 2008). Kekikten elde edilen karvakrol'un çok sayıda yararlı etkilerinin yanında rejenerasyonu tetikleyici özelliğinin de olduğu ortaya koyulmuştur (Uyanoglu, et al., 2008).

Prieto ve arkadaşları (2007) karvakrol'un antioksidan özeliğini; *in vitro* yaptıkları çalışmayla SOR'un zararlı etkilerine karşı koruyucu olduğunu göstermiştir. Yapılan bir çalışmada *Sideretis congesta*, *Satureja cuneifolia* ve *Origanum onites* türleri iki farklı bölgeden toplanmış ve esansiyal yağları elde edilmiştir. *Origanum onites*'in spesifik analjezik etkilerinin olduğu bildirilmiştir *Origanum onites*'in analjezik etkilerinin yetiştiği bölgeye bağlı olduğu belirtilmiştir. Analjezik etkinin esansiyal yağın bir bileşeni olan karvakrol ile bağlantılı olduğu çalışmada rapor edilmiştir (Aydın, et al., 1998).

Kekiğın antioksidan özellikleri ile kimyasal bileşikleri arasındaki ilişki araştırıldığında, antioksidan konsantrasyonu ve antioksidan gücü arasında ilişki saptanmıştır (Kulisic, et al., 2004).

Karvakrol'un antioksidan özelliğinin ortaya konulduğu pek çok çalışma bulunmaktadır (Tepe, et al., 2005; Aeschbach, et al., 1994). Ipek ve arkadaşları (2005) karvakrol'un genotoksik maddelere karşı insan sağlığını koruyabileceğini bildirmiştir.

2.5.1. Karvakrol'un kimyasal özellikleri ve açık formülü

Bilinen Adları : 2-methyl-5-(1-methylethyl) phenol

CAS kayıt no : 499-75-2

Kapalı Formülü : C₁₀H₁₄O

Molekül Ağırlığı : 150.22 g/mol

Erime Sıcaklığı : 0°C

Kaynama Sıcaklığı : 236-237 °C

Yoğunluğu : 0.976 g/cm³

Suda Çözünürlüğü : 1.25 g/L (25°C)

Fiziksel Durumu : Sıvı

Renk : Açık sarı

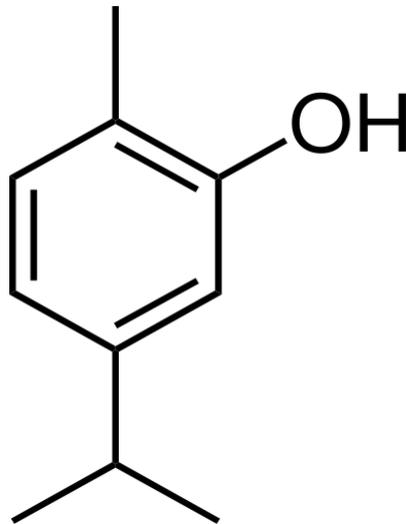
Sıçan oral LD₅₀ : 810 mg/kg

Sıçan intraperitoneal (i.p). LD₅₀ : 73 mg/kg

Sıçan subkutan (s.c). LD₅₀ : 680 mg/kg

Sıçan intravenöz (i.v). LD₅₀ : 80 mg/kg

Çözücüleri: etanol, dietil eter, karbon tetraklorid, aseton (Azırak, 2007)



Şekil 2.2. Karvakrol'un açık kimyasal formülü (Baser, 2008).

3. MATERYAL VE METOD

Deneysel çalışmamızın tamamı; Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü; Deney Hayvanları, Moleküler Biyoloji ve Toksikoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Etik Kurulunun 104/2009 sayılı izni ile yapılmıştır.

3.1. Deney Hayvanları

Deneysel çalışmamızda sağlıklı, erkek, 230 ± 30 gr ağırlıkta, 3 aylık, *Sprague dawley* cinsi, albino sıçanlar kullanılmıştır. Tüm deney hayvanları T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı, Deney Hayvanları Üretim Laboratuvarı'ndan temin edilerek deney süresince 12:12 saat aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı (22 ± 2 °C) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatılmıştır. Deneye başlanmadan önce hayvanların bir hafta süre ile ortam koşullarına adaptasyonu sağlanmıştır. Bu adaptasyon sürecinde tüm sıçanlar polikarbonat şeffaf kafeslerde standart sıçan yemi ile beslenmiş ve çeşme suyu verilmiştir.

3.2. Karvakrol Uygulaması

Origanum onites L. bitkisinden buhar distilasyonu (fraksiyonel distilasyon) ünitesi kullanılarak elde edilen uçucu yağın gaz kromatografisi/kütle spektrometresi ile analizi yapılarak karvakrol bakımından zengin olan fraksiyonu ayrılmıştır (Ipek, et al., 2005). Deneysel çalışmalarımızda bu yolla elde edilmiş olan ve Prof. Dr. K.H.C. Başer tarafından sağlanan %99 saflıktaki karvakrol kullanılmıştır.

DeneYlerimizde sıçanlara gavaj yoluyla verilen karvakrol'un 2 farklı dozu (25, 50 mg/kg), 7 gün boyunca günde 1 kez olmak üzere, günlük ve taze olarak 2 mL zeytinyağı ile birlikte verilmiştir.

3.3. Deney Grupları

Toplam 35 adet deney hayvanı arasından rastgele seçimle her birinde n=7 sıçan olmak üzere toplam 5 grup oluşturuldu (Çizelge 3.1).

Grup I (Kontrol grubu): Bu grup hayvanlara cerrahi ya da madde uygulaması yapılmadan diseksiyon yapıldı.

Grup II (Nefrektomi+Serum Fizyolojik+İ/R): İ/R grubu olup, her hayvana 2 mL serum fizyolojik gavaj yoluyla verildi.

Grup III (Nefrektomi+Zeytinyağı+İ/R): Her hayvana 2 mL zeytinyağı gavaj yoluyla verildi.

Grup IV (Nefrektomi+Zeytinyağı+25 mg/kg Karvakrol+İ/R): 2 mL zeytinyağı, 25 mg/kg karvakrol ile birlikte gavaj yoluyla verildi.

Grup V (Nefrektomi+Zeytinyağı+50 mg/kg Karvakrol+İ/R): 2 mL zeytinyağı, 50 mg/kg karvakrol ile birlikte gavaj yoluyla verildi.

Grup I'de bulunan deney hayvanlarına hiç bir ön işlem gerçekleştirilmeden, anestezi edilerek sol böbrekleri alındı. Grup II, III, IV ve V'teki deney hayvanlarına sağ böbrek nefrektomi işlemi uygulandı ve 15 gün iyileşmenin olması beklendi. Süre sonunda maddeler (serum fizyolojik, zeytinyağı, karvakrol) gavaj yoluyla günde bir kez olmak üzere, bir hafta boyunca verildi daha sonra bu gruptaki sıçanlara 45 dakikalık iskemi, ardından 24 saat reperfüzyon gerçekleştirildi. Reperfüzyonun bitiminde eter anestezisi altında diseksiyon yapıldı.

Çizelge 3.1. Gavaj olarak uygulanan serum fizyolojik, zeytinyağı ve karvakrol'ün; cerrahi gruplara göre dağılımı.

Gruplar	Nefrektomi	İskemi/ Reperfüzyon (İ/R)	Serum Fizyolojik (2 mL)	Zeytinyağı (2 mL)	Karvakrol (25 mg/kg)	Karvakrol (50 mg/kg)
I						
II	√	√	√			
III	√	√		√		
IV	√	√		√	√	
V	√	√		√		√

3.4. Anestezi ve Cerrahi Uygulamalar

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).

Nefrektomi yapılacak sıçanlara anestezisi 10 mg/kg ksilazin ve 70 mg/kg ketamin karışımının kas içine enjeksiyonu ile sağlandı (Aydoğdu vd., 2005). Her bir deney hayvanı, ılık ve sabit sıcaklıkta olan diseksiyon tablasına tespit edildi ve rektal ısı kontrolü yapıldı. Cerrahi uygulama bölgesi %70' lik etilalkol ile temizliği sağlandıktan

sonra sağ böbrek alındı (Waynforth, et al., 1994) ve 15 gün süre ile iyileşmeleri beklendi (Sener, et al., 2005).

Her bir hayvana yapılan cerrahi işlemden sonra kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olunması için karın boşluğuna steril serum fizyolojik verildi (Kaya, et al., 2002). Bu işlemi takiben, kas ve deri kesileri ayrı ayrı fakat devamlı olarak 3/0 ipek suturele dikilerek kapatıldı ve poviodeks antiseptik solüsyon ile kesi bölgesi temizlendi. Cerrahi işlem görmüş her bir deney hayvanı kimyasal sterilizasyonu yapılmış, tek bireylik, polikarbonat bileşimli ve şeffaf nitelikteki kafeslere ayrı ayrı koyuldu. Diyet değişikliği yapılmaksızın 15 gün boyunca iyileşmeleri beklendi.

Böbrek alınması sırasında ve sonrasındaki iyileşme süresi boyunca sağlık problemi gözlenmeyen hayvanlara İ/R yapılmak üzere 10 mg/kg ksilazin ve 70 mg/kg ketamin anestezisi uygulanarak (Aydoğdu vd., 2005) karın bölgesinin solundan orta hat kesisi gerçekleştirildi. Sol böbreğe giren atardamar izole edilerek antitravmatik vaskular klemp yardımıyla 45 dakika süre ile sol renal arterden kan akışı durduruldu. 45 dakika iskeminin hemen ardından klempler çıkarılarak 24 saat reperfüzyon uygulandı (Irazu, et al., 1989).

Reperfüzyon süresince her bir hayvana yapılan cerrahiden sonra kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olunması için karın boşluğuna önceki cerrahi uygulamada olduğu gibi steril serum fizyolojik verildi (Kaya, et al., 2002). Bu işlemi takiben, kas ve deri kesileri ayrı ayrı fakat devamlı olarak 3/0 ipek suturele dikilerek kesi bölgesi kapatıldı ve poviodeks antiseptik solüsyon ile kesi bölgesi temizlendi. Cerrahi işlem görmüş her bir deney hayvanı kimyasal sterilizasyonu yapılmış, tek bireylik, polikarbonat bileşimli ve şeffaf nitelikteki kafeslere ayrı ayrı koyularak reperfüzyon süresi boyunca yaşatıldı.

3.5. Doku Örneklerinin Alınması ve Değerlendirilmesi

Deney gruplarına ait hayvanlar hafif eter anestezisi altında, intrakardiyak olarak kalpten bütün kanın alınması yoluyla öldürüldü.

3.5.1. Serum örnekleri

Eppendorf marka ve 5804 R model cihaz ile 10 dk 3000 rpm devirde santrifüjlenerek serumları ayrıldı. Polietilen tüplere aktarılan serum örnekleri biyokimyasal olarak BUN (Blood Urea Nitrogen) ve kreatinin miktar analizleri için -80 °C derin dondurucuda korundu (Kaya, et al., 2002)

3.5.2. Böbrek doku örnekleri

Tüm hayvanların intrakardiyak kanlarının alınmasını takiben, böbrekleri çıkarılıp serum fizyolojik ile hızlı bir şekilde yıkandı. Böbrek örnekleri iki kısma ayrıldıktan sonra bunlardan birinci kısım histopatolojik teşhisler için %10' luk nötral formalin tespit çözeltisine, ikinci kısmı ise biyokimyasal analizler için -80 °C derin dondurucuda koruma altına alındı.

3.5.2.1. Böbrek doku örneklerinin biyokimyasal analizleri

Böbrek İ/R sitotoksitesinin aydınlatılması için deney gruplarımızdaki sıçanlardan alınan böbrek doku örneklerindeki MDA (Ohokawa, et al., 1979), NO (Cortas and Wakid, 1990) ve MPO (Desser, et al., 1972) düzeylerine bakıldı.

MDA ölçümü için böbrek doku örneklerinin her biri hassas terazi ile tartılarak 0.15 M potasyum klorür (KCl) solüsyonu içinde 1:10 homojenize edildi. Homojenatlar 4000 rpm'de, 10 dk, +4 °C'de santrifüj edilerek, supernatantlarda MDA ölçümü gerçekleştirildi (Bayır, et al., 2006). 0.4 mL supernatant başına 1.5 mL TBA (Tiyobarbitürik asit), 1.5 mL asetik asit (pH= 3.5) ve 0.2 mL sodyum dodesil sülfat eklenerek karıştırıldı. MDA standartları stok MDA standardından taze olarak hazırlandı. Tüm örnekler ve standartlar karıştırıldıktan sonra 100 °C'de 1 saat kaynatıldı. Süre sonunda örnekler ve standartlar soğuk su yardımıyla soğutuldu, her birine 5 mL n-butanol ilave edildi. Her bir tüp 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek aköz ve organik fazlar birbirinden ayrıştırıldı. Üzerlerindeki berrak sıvı alınıp örnek ve standartların absorbanları 532 nm'de kendi körüne karşı spektrofotometrede (Schimadzu UV-1601) okutuldu. Sonuçlar konsantrasyon cinsine çevrilip değerler nmol/mg doku olarak alındı (Ohkawa, et al., 1979).

Böbrek doku örneklerinde NO düzeylerinin belirlenmesi için örnekler 1/5 hacimde, Tris HCl tamponunda (2mM EDTA (Etilen diamin tetra asetik asit) içeren 5 mM Tris HCl, pH:7,4) homojenize edildi. 2000 G de 5 dk santrifüj edildikten sonra supernatant NO ölçümü için kullanıldı (Futter, 2001). NO ölçümü, bu molekülün yarı ömrünün çok kısa olması nedeni ile zor olduğundan NO düzeyi göstergesi olan nitrit (NO₂) ve nitrat (NO₃) düzeylerinin saptanmasıyla hesaplandı. Bu amaçla Griess metodu kullanıldı. Griess reaksiyonunun prensibi, naftiletildiamin ve sülfonamid karışımı ile NO₂ reaksiyon vermesidir. Total NO miktarı, aktifleştirilmiş kadmiyum granüllerinin NO₃'ü NO₂'ye dönüştürmesinden sonra spektrofotometrede (Schimadzu UV-1601) 545 nm dalga boyunda ölçülerek bulundu. Sodyum NO₃'ün seri sulandırılmaları ile standart eğri çizildi ve örnek konsantrasyonları grafikten elde edilen denklemlerle hesaplandı. Elde edilen veriler µmol/mg protein cinsinden verildi (Cortas and Wakid,1990).

MPO ölçümü için 300 mg doku, 5 mL 0,02 M EDTA tamponu içerisinde homojenize edilerek 20000 g'de 15 dakika santrifüj edildi. Supernatant atıldıktan sonra kalan pellet, eş hacimdeki %0,5 hexadecyltrimethyl ammonium bromide içerisinde resüspanse edildi ve aynı devirde tekrar santrifüj edildi. Supernatant MPO ölçümü için

kullanıldı. 1,6 µL Guaiacol ve %0,0005 H₂O₂ içeren 1 mL 0,1 M sodyum fosfat tamponu (pH;7,0) içerisine 25 µL supernatant eklendi. 470 nm' de 1 dakika boyunca oluşan absorban değişimi spektrofotometrede gözlemlendi (Werner, et al., 2002). Sonuçlar aşağıda gösterildiği gibi hesaplanarak U/mg protein olarak ifade edildi.

$$\text{Ünite/mL enzim} = \frac{A_{470\text{nm}} \times \text{Analiz Solusyonu} - A_{470\text{nm}} \times \text{Kör}}{1 \text{ dk} \times (1.0) \times (0.025)} (\text{df}) \quad (3.1)$$

df= Dilüsyon faktörü

1.0 = Her enzim ünitesi için 470 nm absorbansta olan artış

0,25 = Kullanılan enzim hacmi (mL)

$$\text{Ünite/mg Protein} = \frac{\text{Ünite/mL Enzim}}{\text{mg Protein/mL Enzim}} \quad (3.2)$$

MDA, NO ve MPO parametreleri yanında böbrek doku örneklerinden elde edilen homojenatlarda biüret yöntemi ile protein miktarları ölçüldü (Weichselbaum, 1949).

Böbrek doku örneği homojenatlarında Doğal (Native) Jel Elektrophorez tekniğiyle Scie-Plas marka mini vertical Electrophoresis ünitesi kullanılarak CAT, SOD ve Gpx

izoenzimlerinin jelde yürümesi sağlandı ve substrat ile tepkimelerine göre aktivitesi belirlendi (Jayakumar, et al., 2007).

CAT aktivitesinin belirlenmesi Woodbury ve arkadaşlarının (1971) metoduna göre yapıldı. Proteini yürüttüğümüz %8'lik jel 5 mM H₂O₂ solusyonun da 10 dk bekletip yıkadıktan sonra %1'lik potasyum ferriksiyanid ve %1'lik ferikloridten oluşan reaksiyon karışımına koyuldu, jel boyanana kadar beklendi. Koyu yeşil zeminde CAT aktivitesi gösteren protein bandları beyaz renkte boyandı.

SOD aktivitesinin belirlenmesi Beauchamp ve Fridovich (1971) metoduna göre yapıldı. Proteinleri yürüttüğümüz jel, içerisinde 10 mg Nitro blue tetrazolium (NTB), 1 mg EDTA ve 2 mg riboflavin olan 50 mM Tris-HCl'de (pH:8) karanlık ortamda 30 dk bekletildi. Daha sonra jel beyaz ışıkla incelendiğinde mavi-menekşe zemin içerisinde SOD aktivitesi gösteren bandlar şeffaf olarak gözlenmeye çalışıldı.

Gpx izoenzim aktivitesini ölçmek için Lin ve arkadaşlarının (2002) metodu kullanıldı. Proteinleri yürüttüğümüz jel, içinde 200 mg glutatyon ve %30 H₂O₂ 50 mL 50 mM Tris-HCl buffer (pH;8,0) karışımlı çözeltide 30 dk bekletildikten sonra, içerisinde 25 mg NTB, ve 25 mg Phenazin methosulphate (PMS) bulunan 50 mL 50 mM Tris-HCl buffer (pH;8,0) bulunan çözeltiye aktarıldı. Gpx izoenzim aktivitesinin olduğunu gösteren beyaz renkte bandlar gözlenmeye çalışıldı.

Tüm deney grubu hayvanlarının böbrek dokularına ait olan ve CAT, SOD, Gpx enzim aktiviteleri sonucu jelde ortaya çıkan bandlar Kodak Gel Logic 1500 Imaging System Jel görüntüleme sisteminde Kodak Molecular Imaging Software paket programı kullanılarak fotoğraflandırıldı. Jel üzerinde enzim aktiviteleri sonucu oluşan bölgelerin alanları deney grupları arasında karşılaştırmalar yapılmak üzere sayısal olarak ölçüldü.

Doğal jel Elektroforezi kullanılarak aktiviteleri belirlenen CAT, SOD ve Gpx izoenzimlerinin total protein miktarları ayrıca belirlendi. Çalışmamızda kullandığımız Lowry yöntemi fosfomolibdotungstik asit çözeltisinin (folin-ciocalteau belirteci) tirozin bakiyeleri ile reaksiyona girerek mavi bir renk oluşturması esasına dayanır. Reaksiyon

bakır ile protein arasında kompleks oluşumuyla başlar; alkali çözeltide, oda sıcaklığında 5-10 dk içinde tamamlanır. Folin belirtecindeki molibden ve tungsten ile birleşerek yeni bir kompleks ortaya koyan bakır ile yöntemin duyarlılığı 3-15 kat artırıldı. Bu yöntemin uygulanabilmesi için, 6 mL reaksiyon karışımında 10-100 µg protein bulundu. Bu sınırlara göre, 6 mL reaksiyon ortamına katılacak olan 0,5 mL örneğin 10-200 µg protein içermesi sağlandı.

3.5.2.2. Böbrek doku örneklerinin histolojik analizleri

Böbrek doku örnekleri hızlı bir şekilde %10'luk nötral formalin tespit çözeltisine alınarak 24 saat süre ile fiksasyonu sağlandı. Tüm gruplarda kimyasal fiksasyonu tamamlanan böbrek dokularına histolojik takip işlemleri uygulandı ve parafin blokları hazırlandı. Etil alkol serisinde sırasıyla 1'er saat %70, %80, %90₁, %90₂, %96₁, %96₂ ve 30 dk absöü etil alkolden geçirilerek dehidratasyon sağlandı. 30'ar dk 2 kez ksilol uygulamasıyla dokuların şeffaflaşması sağlandı. Dokular parafinizasyon için 57 °C etüvdeki 3 ayrı parafinde (paraplast plus Sigma P3683) sırasıyla 30, 60, 60 dakika sürelerle bekletilerek bloklandı. Bu bloklardan standart H&E boyama ve immunhistokimya uygulaması yapılmak üzere mikrotom (Leica RM 2025) kullanılarak 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak Poly-L-Lysine kaplı lamlar üzerine tespit edildi. Kesitlerin bir kısmı 37 °C etüvde 1 gece bekletildi ve daha sonra ksilolde deparafinize edildi. Derecesi azalan etil alkol serilerinde hidratasyonu sağlanarak H&E boyamaları yapıldı.

H&E boyanmış böbrek kesitlerinde ışık mikroskop düzeyde histopatolojik incelemeler yapıldı. İmmunhistokimyasal boyama uygulanmış böbrek doku kesitlerinde de tüm kesit alanları mikroskopik olarak incelenerek iNOS içeriği belirlendi.

Hazırlanan tüm doku kesitleri Olympus marka, CH40 model ışık mikroskopunda incelenerek Spot Insight marka, 3.2.0. model dijital kamera ve Spot advanced, 4.0.6. version program yardımıyla fotoğraflandırıldı.

3.6. İstatistiksel Değerlendirmeler

Elde ettiğimiz verilerin değerlendirilmesinde ‘‘SPSS 12 for Windows’’ paket program ile ‘‘One Way Annova-Tukey’’ testi kullanıldı. Tüm istatistik uygulamalar sonucunda sayısal değer (P) olarak ortaya çıkan deney grupları arasındaki farklar, $P < 0.05$ olduğunda anlamlı olarak kabul edildi.

Böbrek dokusuna ait MDA sonuçları One Way Analysis of Variance’a göre yapıldı. Çoklu karşılaştırmada ise ‘‘Fisher LSD Method’’ kullanıldı. NO sonuçları Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks’a göre yapıldı ve çoklu karşılaştırmada ‘‘Dunn’s Method’’ kullanıldı. MPO sonuçları Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks’a göre yapıldı.

4. SONUÇLAR

4.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Biyokimyasal analiz sonuçları; Serum örneklerinde biyokimyasal analizler ve böbrek doku örneklerinde biyokimyasal ve elektroforetik analizler başlıkları altında değerlendirilmiştir.

4.1.1. Serum örneklerinde biyokimyasal analizler

Grup I, II, III, IV ve V' deki deney hayvanlarına ait kan serumlarının biyokimyasal analizlerinden elde edilen BUN ve kreatinin miktarları bu gruplar arasında karşılaştırmalı olarak değerlendirildi (Çizelge 4.1).

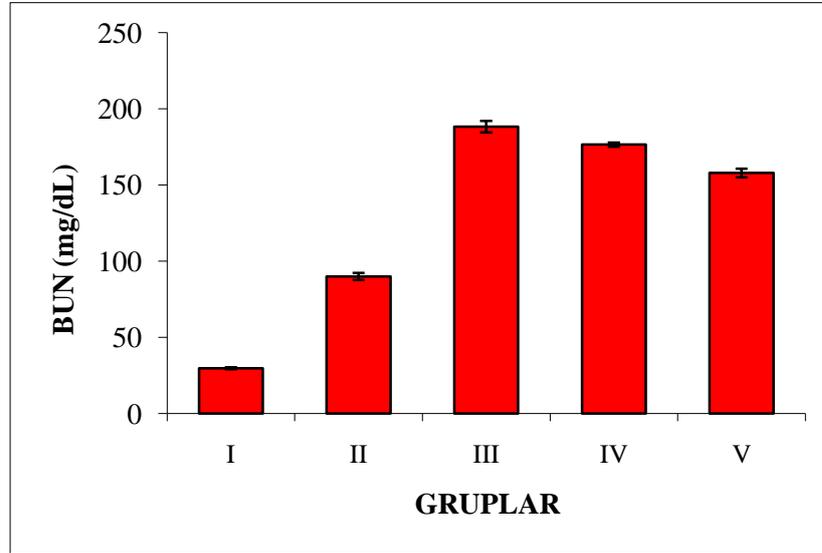
Tüm gruptaki hayvanlara ait serum örneklerinin biyokimyasal analizlerinde BUN miktarları açısından aralarında istatistiksel anlamda fark bulundu. Grup III ve IV arasında nispeten daha az anlamlı ($P < 0.05$) fark tespit edildi. Grup I, II, V arasında ise istatistiksel açıdan oldukça anlamlı fark görüldü ($P < 0.001$) (Şekil 4.1).

Kan serumlarında belirlenen kreatinin seviyeleri bakımından Grup I, II ve III arasında dikkate değer fark görüldü ($P < 0.001$). Bunun yanında Grup IV ile V arasında da fark tespit edildi ($P < 0.05$) (Şekil 4.2).

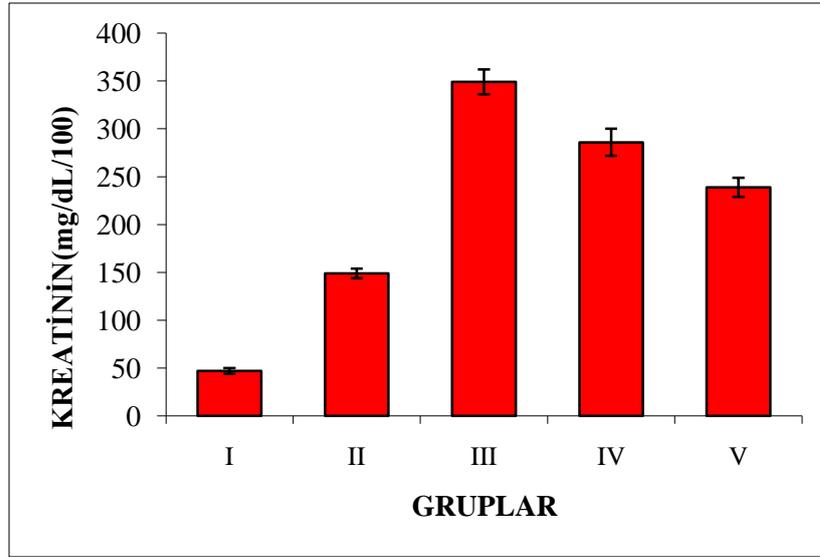
Çizelge 4.1. Deneş gruplarına ait hayvanların kan serum örneklerinde belirlenen BUN ve Kreatinin miktarlarının Ortalama değeri \pm Standart hata değeri (n=7).

Gruplar	BUN (mg/dL)	KREATİNİN (mg/dL)
I	29,67 \pm 0,55	0,47 \pm 0,03
II	89,90 \pm 2,30 ^a	1,49 \pm 0,05 ^a
III	188,26 \pm 3,78 ^{ab}	3,49 \pm 0,13 ^{ab}
IV	176,57 \pm 1,36 ^{ab}	2,86 \pm 0,14 ^{ab}
V	157,87 \pm 2,77 ^{ab}	2,39 \pm 0,10 ^{ab}

P < 0.05 a: Grup I' den; b: Grup II' den anlamlı fark vardır.



Şekil 4.1. Grup I, II, III, IV ve V'e ait serum BUN seviyelerinin Ortalama ve Standart hata grafiği.



Şekil 4.2. Grup I, II, III, IV ve V'e ait serum kreatinin seviyelerinin Ortalama ve Standart hata grafiği (mg/dL/100).

4.1.2. Böbrek doku örneklerinde biyokimyasal ve elektroforetik analizler

Böbrek doku örneklerinde biyokimyasal olarak tespit edilen tüm deney gruplarına ait MDA, NO ve MPO parametre değerleri Çizelge 4.2' de verildi.

MDA açısından Grup II'nin; Grup I, III ve V ile arasında anlamlı derecede fark gözlemlendi ($P < 0.001$), ayrıca bu grubun Grup IV ile arasındaki farklılık daha az olarak görüldü ($P < 0.01$). (Şekil 4.3).

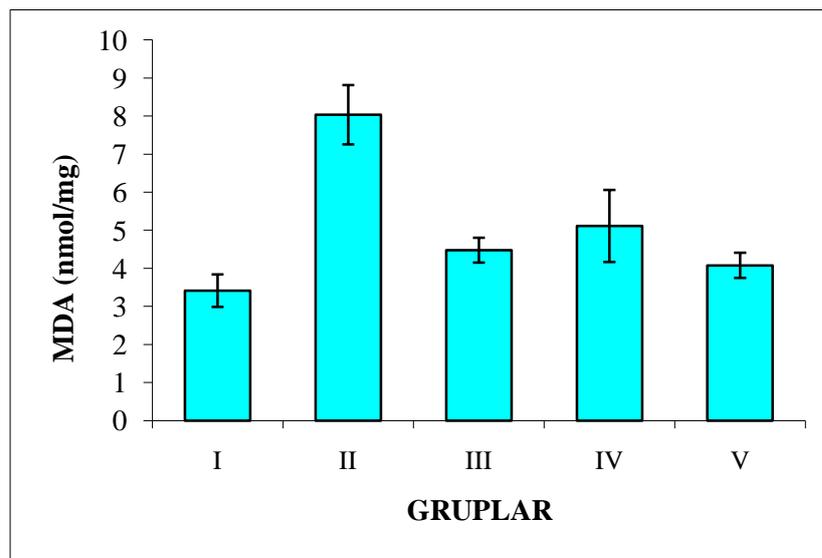
Doku NO seviyeleri açısından Grup I ile Grup III ve IV arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi ($P < 0.01$). Grup II ile Grup III ve IV arasında da istatistiksel olarak fark olduğu görüldü ($P < 0.05$). (Şekil 4.4).

MPO açısından Grup I'in Grup II, III, IV ve V' den istatistiksel olarak fark göstermediği tespit edildi. Grup II ile Grup III ve V arasında ise fark gözlemlendi ($P < 0.05$). (Şekil 4.5).

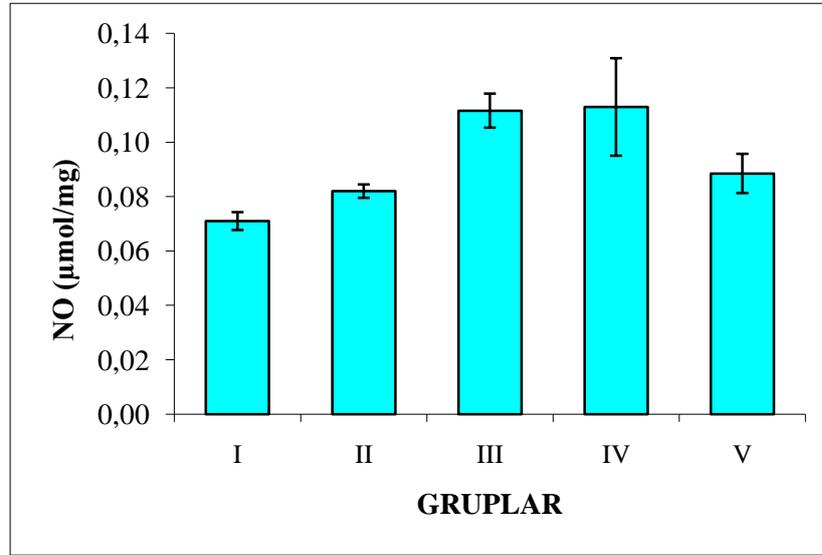
Çizelge 4.2. Deney gruplarına ait hayvanların böbrek doku örneklerinde belirlenen MDA, NO ve MPO miktarlarının Ortalama değerleri \pm Standart sapma değerleri (n=7).

Gruplar	MDA (nmol/mg protein)	NO (μ mol/mg protein)	MPO (U/mg protein)
I	3,414 \pm 0,424	0,0710 \pm 0,00333	0,00448 \pm 0,00078
II	8,037 \pm 0,778 ^a	0,0820 \pm 0,00248	0,01392 \pm 0,00762
III	4,479 \pm 0,328 ^b	0,1115 \pm 0,00628 ^{ab}	0,00401 \pm 0,00067 ^b
IV	5,112 \pm 0,942	0,1130 \pm 0,01791 ^{ab}	0,00479 \pm 0,00110
V	4,079 \pm 0,330 ^b	0,0885 \pm 0,00719	0,00391 \pm 0,00094 ^b

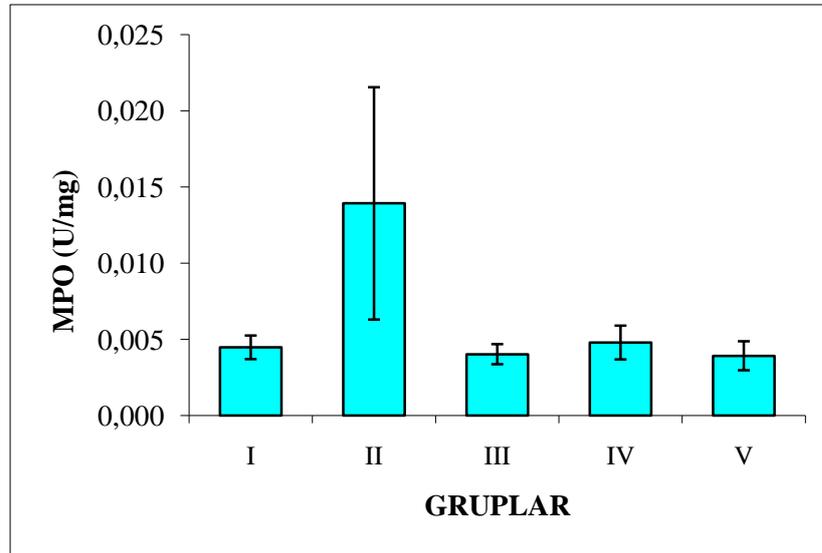
$P < 0.05$ a: Grup I' den; b: Grup II' den anlamlı fark vardır.



Şekil 4.3. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu MDA seviyelerinin Ortalama ve Standart sapma grafiği.



Şekil 4.4. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu NO seviyelerinin Ortalama ve Standart Sapma Grafiği.



Şekil 4.5. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu MPO seviyelerinin Ortalama ve Standart Sapma Grafiği.

Tüm deney gruplarına ait böbrek doku örneklerinde Doğal (Native) Jel Elektrophorez tekniğiyle tespit edilen CAT, SOD ve Gpx enzim aktiviteleri sonucu ortaya çıkan ve jel üzerinde görüntülenerek ölçülen sayısal alan değerleri Çizelge 4.3' de görüldüğü gibidir.

CAT enziminin elektroforetik analiz sonuçlarında tüm gruplarda tek bir band ortaya çıktı (Şekil 4.6). Grup I'e ait böbrek örneğinde band alanı ($19,43713 \text{ mm}^2$) düşük yoğunlukta iken (Şekil 4.7) Grup II'de band alanı yüksek yoğunlukta bulundu ($62,36910 \text{ mm}^2$) (Şekil 4.8). Diğer gruplarında ise Şekil 4.9 ile Şekil 4.10'de görüldüğü gibi Grup III ve IV'de birbirine yakın band alanı ölçüldü ($58,40621 \text{ mm}^2$ - $52,40039 \text{ mm}^2$). Grup V'de ise band alanlarında kontrole yakın düşüş görüldü ($48,86971 \text{ mm}^2$) (Şekil 4.11).

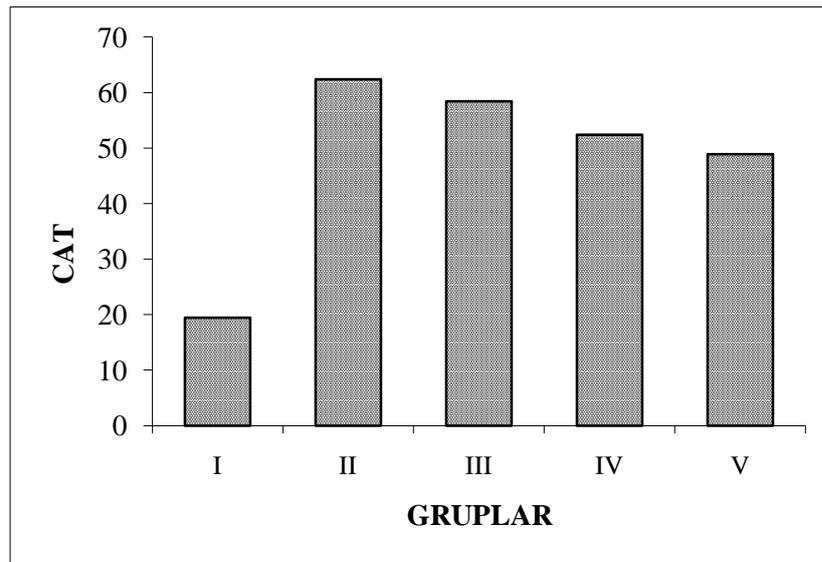
Böbrek dokusu SOD izoenzimine bakıldığında iki izoformu görüldü (SOD1 ve SOD2) (Şekil 4.12). Ancak tüm gruplarda band alanları çok silik gözlemlendi. Grup I'de band alanı düşük yoğunlukta idi ($6,397003 \text{ mm}^2$) (Şekil 4.13). Grup II band alanında ise yükselme ($42,142200 \text{ mm}^2$) gözlemlendi (Şekil 4.14). Grup III ve IV, benzer band alanı sergilediler ($35,273298 \text{ mm}^2$ - $31,768320 \text{ mm}^2$) (Şekil 4.15; Şekil 4.16). Grup V'de ise band yoğunluğunda düşüş kaydedildi ($24,413960 \text{ mm}^2$) (Şekil 4.17). SOD2 açısından değerlendirdiğimizde ise Grup I'de düşük band yoğunluğu gözlemlendi ($5,469937 \text{ mm}^2$). Grup II'de yüksek band yoğunluğu ($40,281800 \text{ mm}^2$) görüldü. Grup III'de band yoğunluğunda az bir düşme tespit edildi ($32,630164 \text{ mm}^2$). Grup IV ve V'de birbirine yakın sonuçlar elde edildi ($21,518624 \text{ mm}^2$ - $19,941696 \text{ mm}^2$).

Gpx enziminin böbrek dokusunda dört izoformu tespit edildi (Gpx1, Gpx2, Gpx3, Gpx4) (Şekil 4.18). Şekil 4.19 da gösterildiği gibi tüm izoformlarda Grup I de oldukça düşük band alanı gözlemlendi ($5,468969 \text{ mm}^2$ - $2,993433 \text{ mm}^2$ - $2,64066 \text{ mm}^2$ - $2,521442 \text{ mm}^2$) Grup II de ise yüksek band alanları görüldü ($32,3264 \text{ mm}^2$ - $27,854 \text{ mm}^2$ - $20,91121 \text{ mm}^2$ - $18,32452 \text{ mm}^2$) (Şekil 4.20). Grup III'e baktığımızda grup II'ye göre düşüş görüldü ($17,16123 \text{ mm}^2$ - $16,69059 \text{ mm}^2$ - $13,84828 \text{ mm}^2$ - $13,88878 \text{ mm}^2$) (Şekil 4.21). Grup IV'de ise Grup II'ye göre az band yoğunluğu tespit edildi ($15,10823 \text{ mm}^2$ - $13,04535 \text{ mm}^2$ - $12,67494 \text{ mm}^2$ - $11,94538 \text{ mm}^2$) (Şekil 4.22). Grup V, Grup II ile

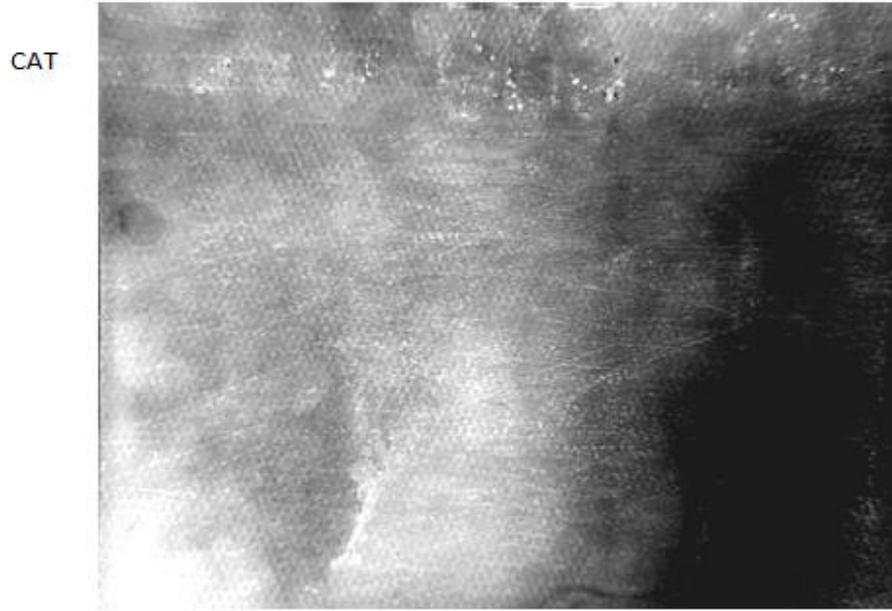
kıyaslandığında diğer tedavi gruplarına oranla bu grupta oldukça düşük band yoğunluğu gözlemlendi ($10,77926 \text{ mm}^2$ - $9,427753 \text{ mm}^2$ - $9,679773 \text{ mm}^2$ - $10,24683 \text{ mm}^2$) (Şekil 4.23).

Çizelge 4.3. Deney gruplarına ait hayvanların böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT, SOD ve Gpx enzim aktiviteleri sonucu oluşan band alanlarının ortalama değerleri.

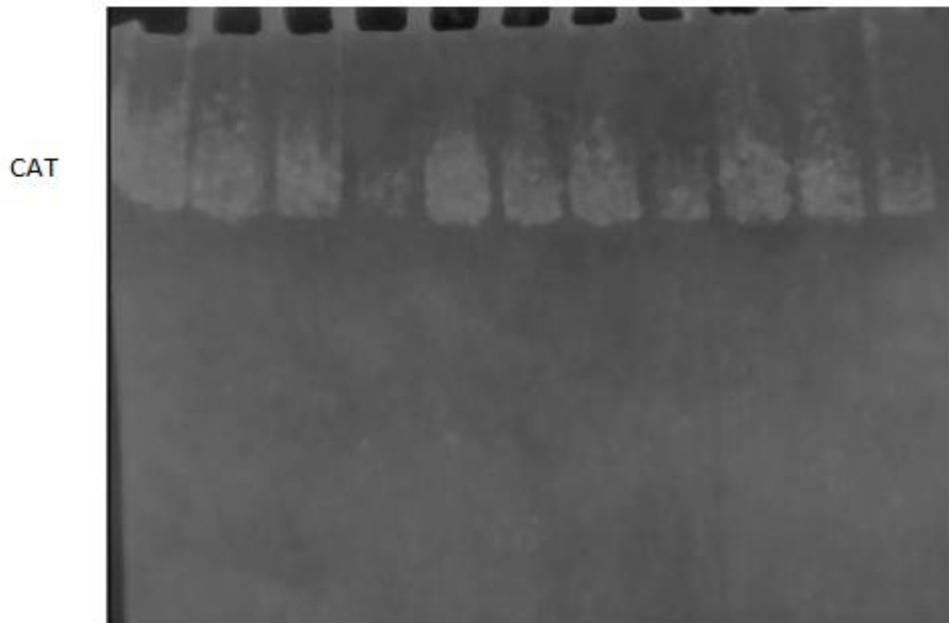
Gruplar	CAT mm ²	SOD mm ²		Gpx mm ²			
		1	2	1	2	3	4
I	19,43713	6,397003	5,469937	5,468969	2,993433	2,640663	2,521442
II	62,36910	42,142200	40,28180	32,32640	27,85400	20,91121	18,3245
III	58,40621	35,273229	32,630164	17,16123	16,69059	13,84828	13,88878
IV	52,40039	31,768320	21,518624	15,10823	13,04535	12,67494	11,94538
V	48,86971	24,413960	19,941696	10,77926	9,427753	9,679773	10,24683



Şekil 4.6. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan band alanlarının ortalama değerleri (mm²).



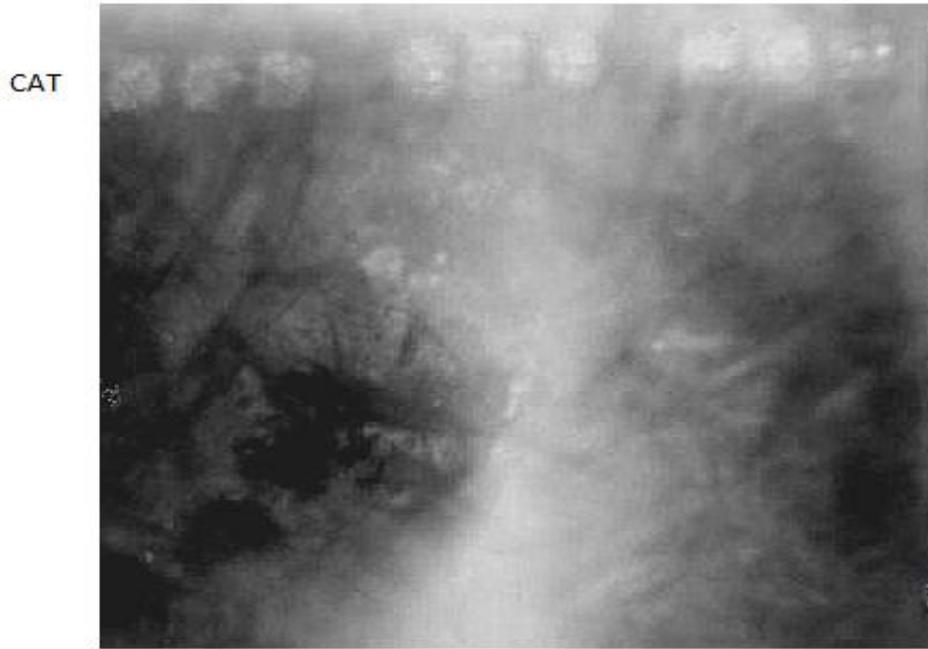
Şekil 4.7. Grup I, ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



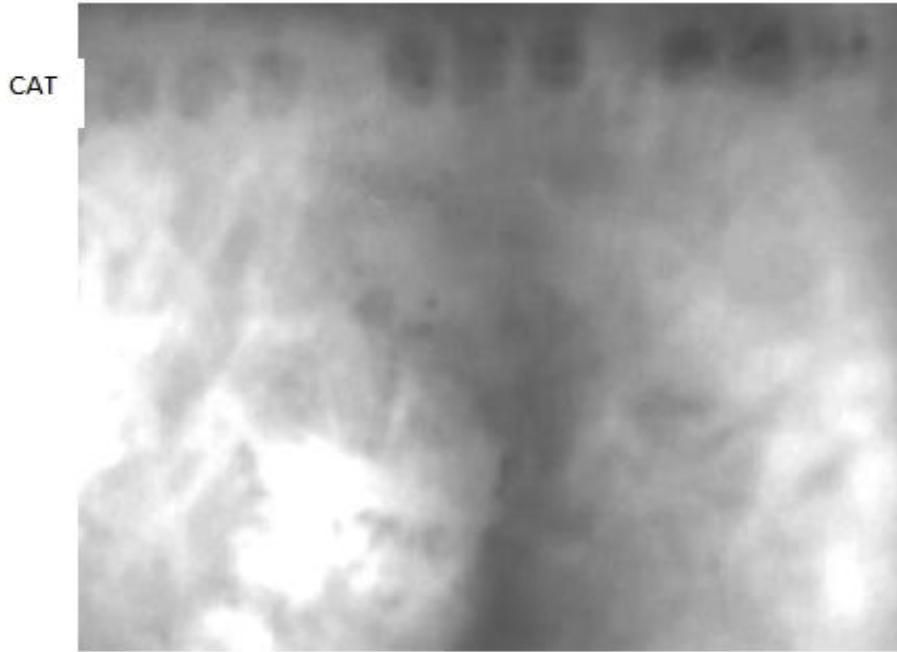
Şekil 4.8. Grup II'ye ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



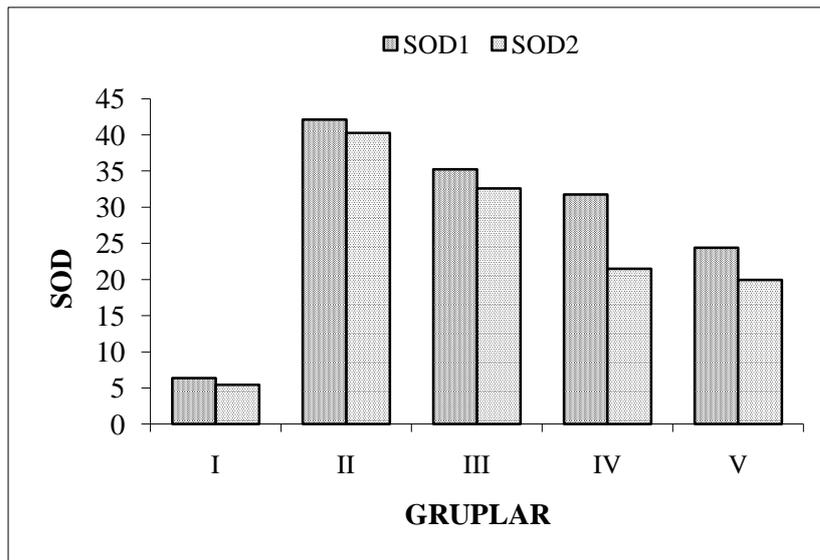
Şekil 4.9. Grup III'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



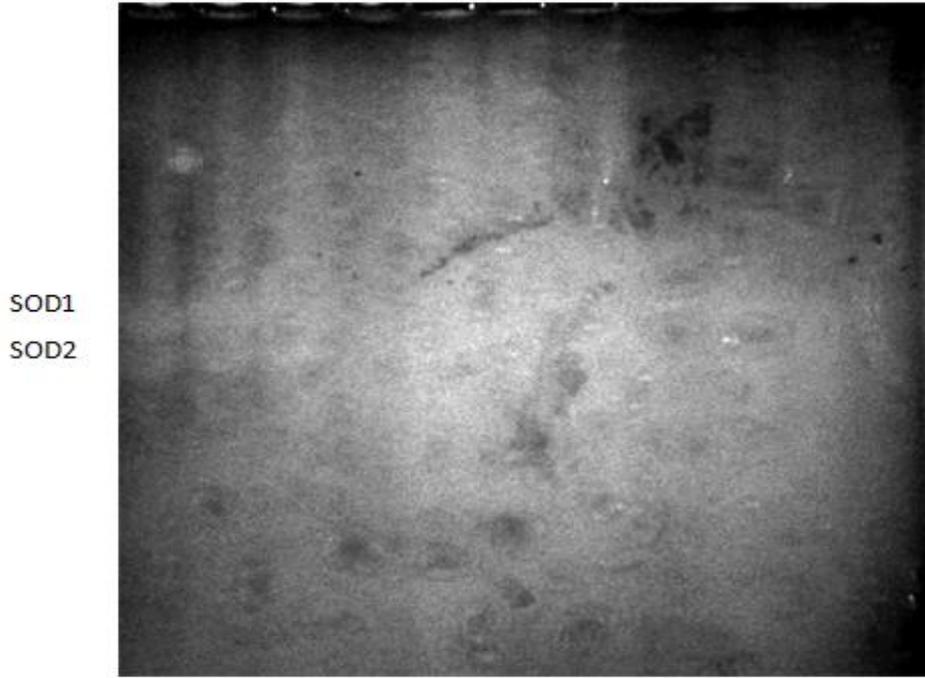
Şekil 4.10. Grup IV'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



Şekil 4.11. Grup V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



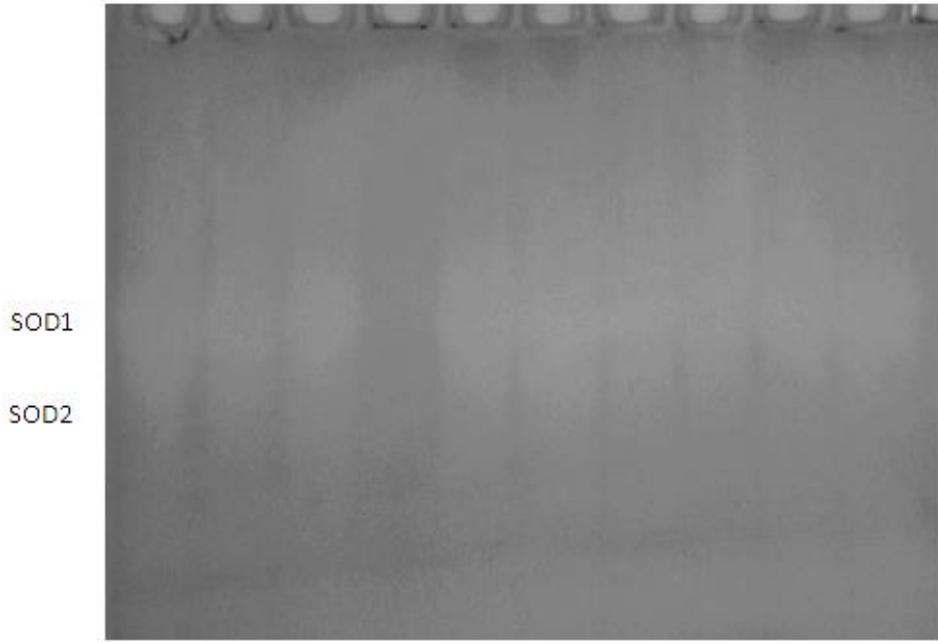
Şekil 4.12. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan band alanlarının ortalama değerleri (mm²).



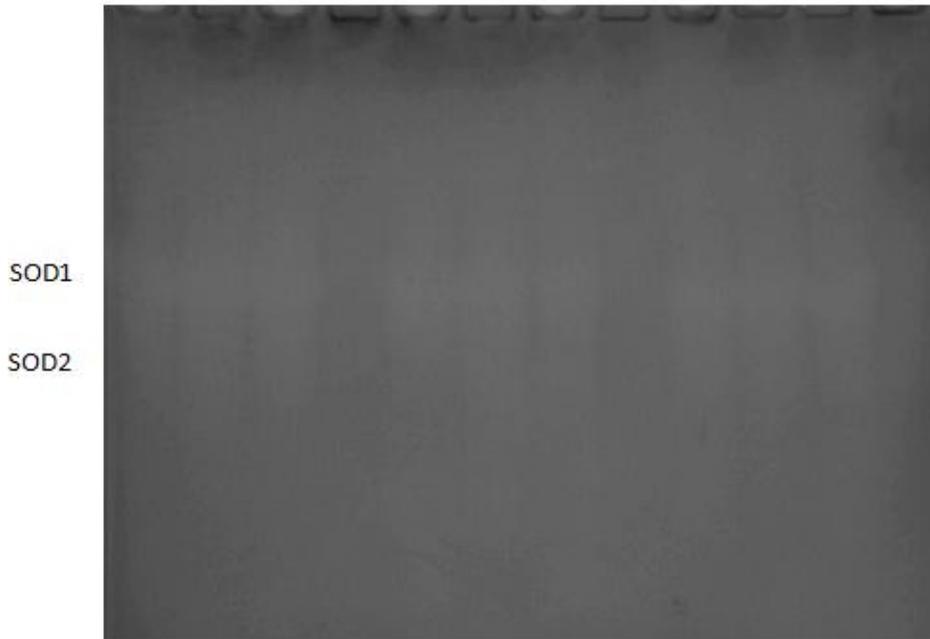
Şekil 4.13. Grup I'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



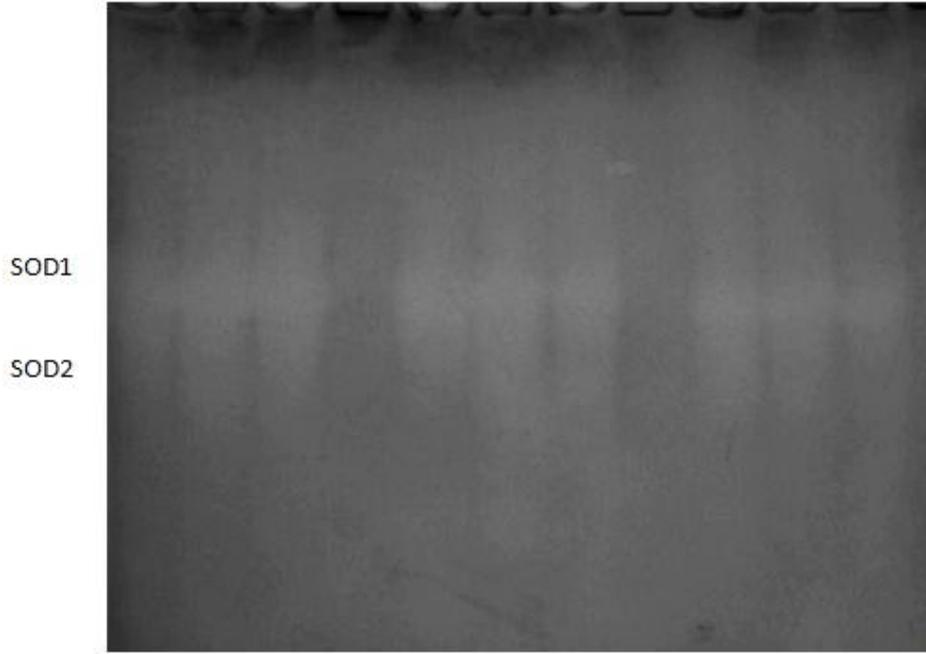
Şekil 4.14. Grup II'ye ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



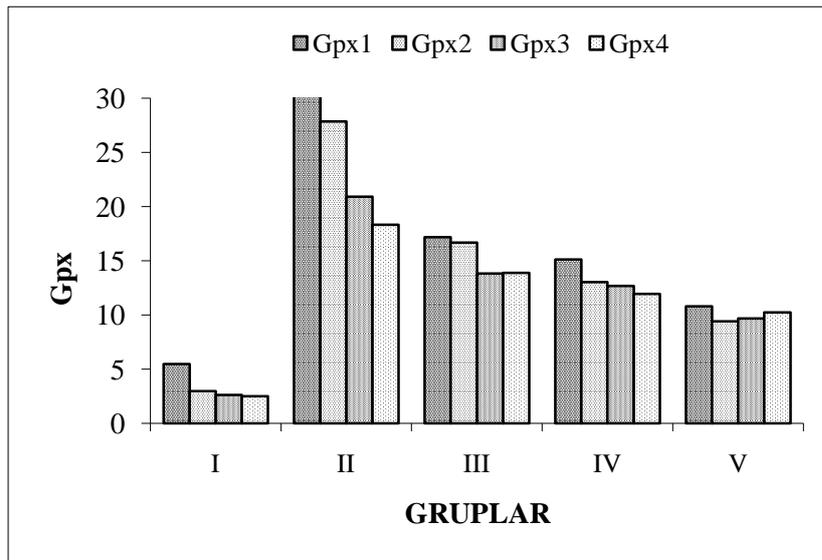
Şekil 4.15. Grup III'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



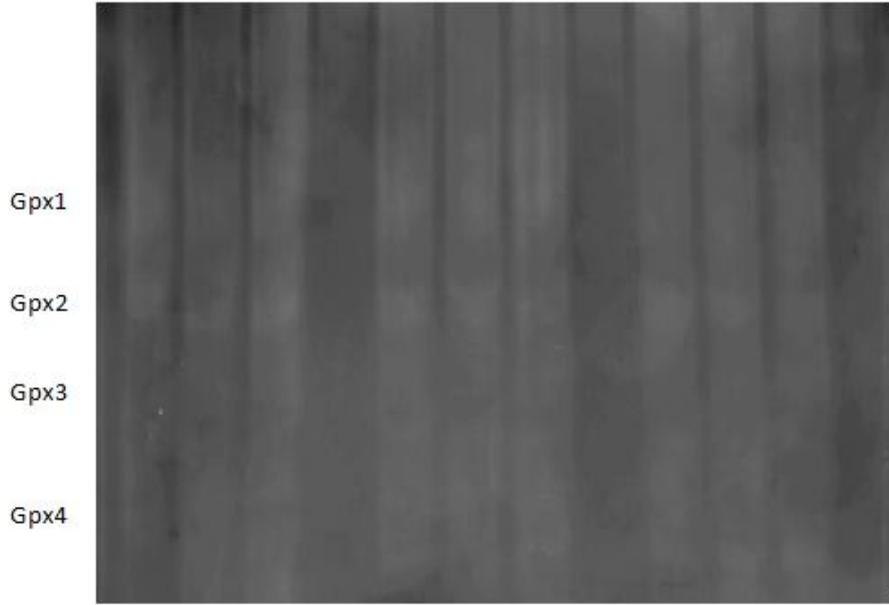
Şekil 4.16. Grup IV'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



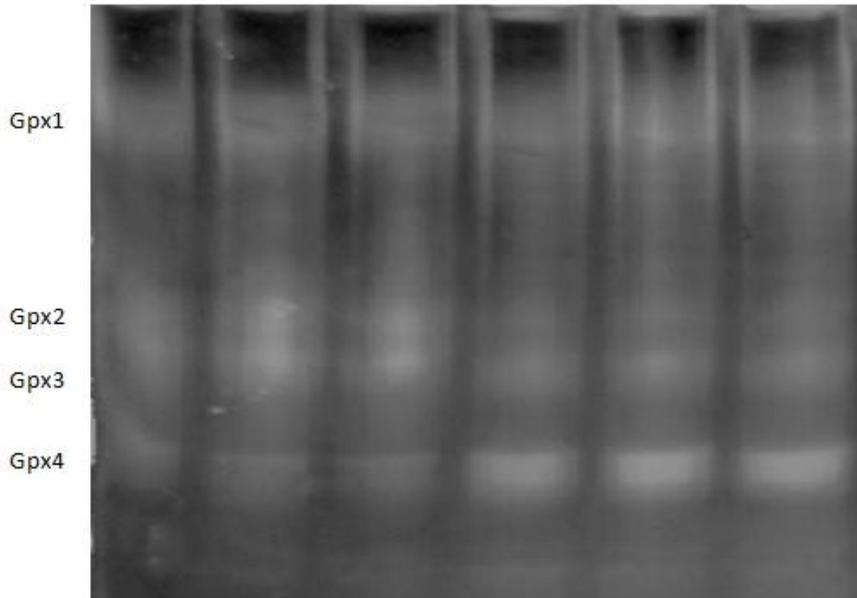
Şekil 4.17. Grup V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



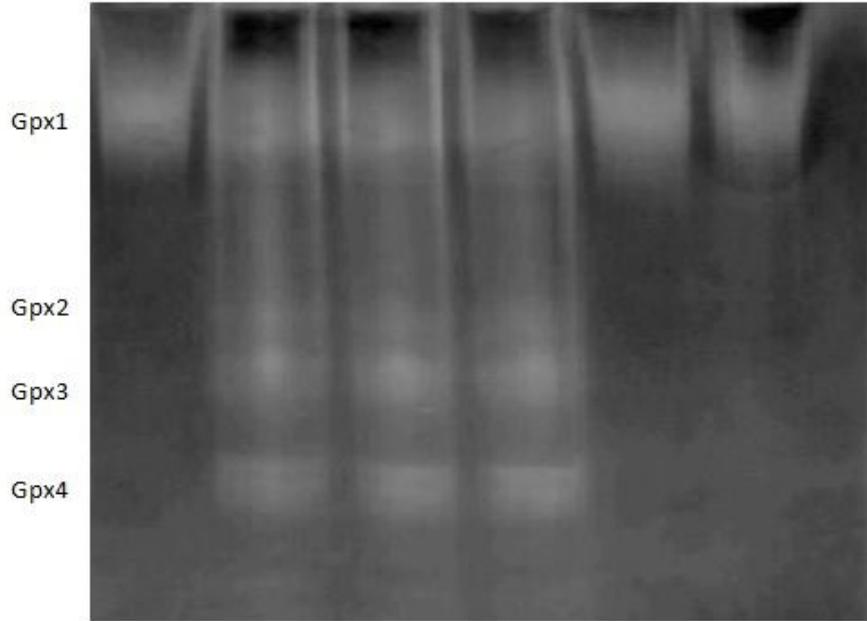
Şekil 4.18. Grup I, II, III, IV ve V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan band alanlarının ortalama değerleri (mm^2).



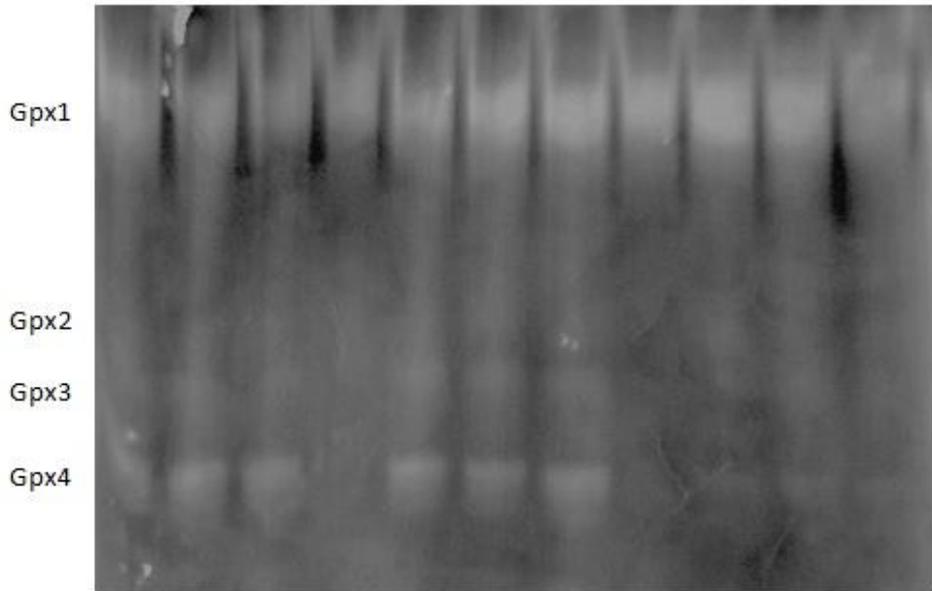
Şekil 4.19. Grup I'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



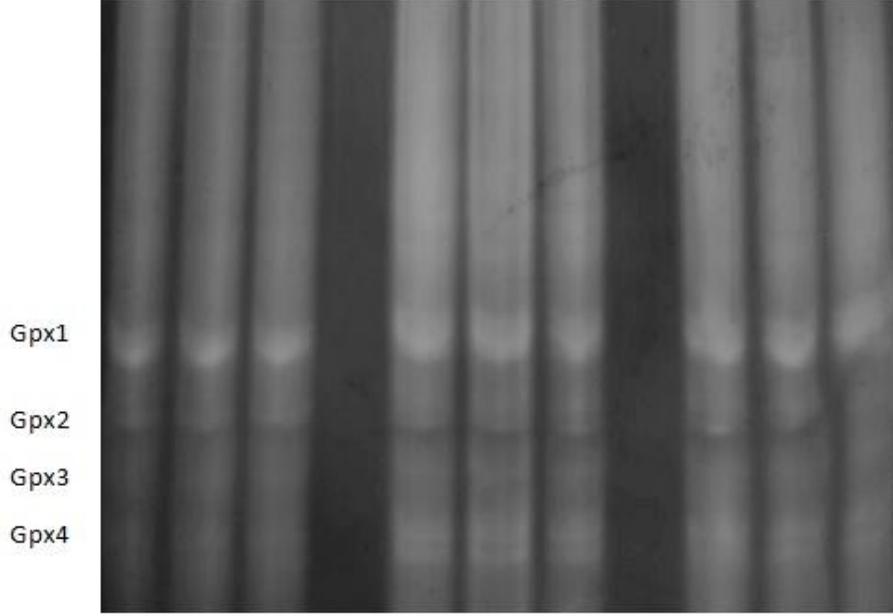
Şekil 4.20. Grup II'ye ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



Şekil 4.21. Grup III'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



Şekil 4.22. Grup IV 'de ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.



Şekil 4.23. Grup V'e ait böbrek dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan elektroforetik bandlar.

4.2. Böbrek Doku Örneklerinde Histolojik Analizler

Deneysel çalışmamızın kontrol grubu olan Grup I sıçanlarına ait preparatlar incelendiğinde, böbrek dokusuna ait glomerül, glomerül (bowman) kapsülü ve tübüllerde normal yapı görüldü (Şekil 4.24).

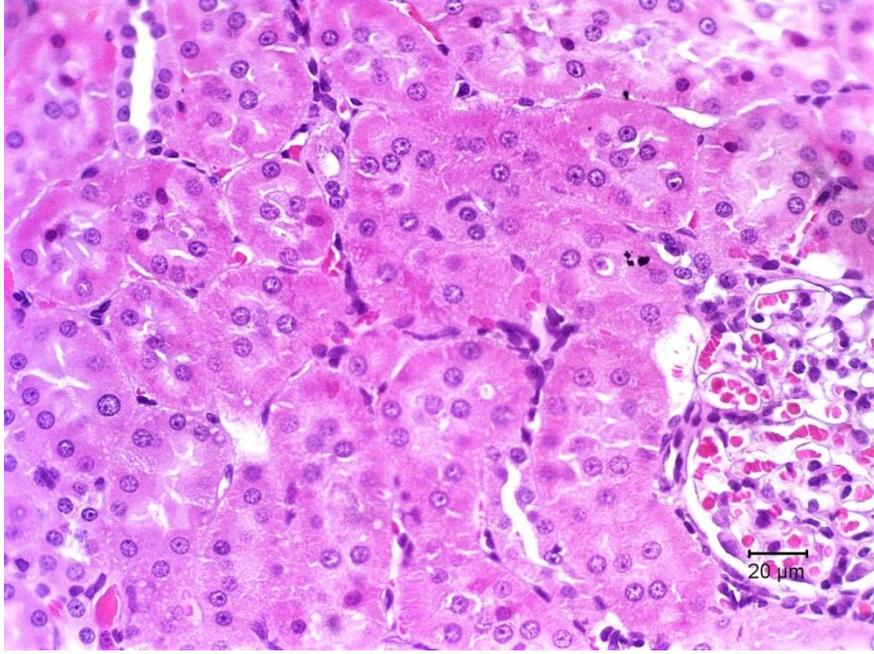
Grup II'ye ait hayvanların böbrek kesitlerinde glomerulus ve bowman kapsülünde değişim, glomerulus ve bowman kapsülü aralığında genişleme görüldü. Grup II'de ayrıca tübüller de dejenerasyon ve hücre parçalanmaları ve fırçamsı kenar kaybı tespit edildi (Şekil 4.25).

Grup II'de tübül hücrelerinde Şişme ve buna bağlı olarak tübüller içerisinde sıvı birikimi ve tübüller arasında kanama (Şekil 4.26) ve vakuolizasyon (Şekil 4.27) gözlendi.

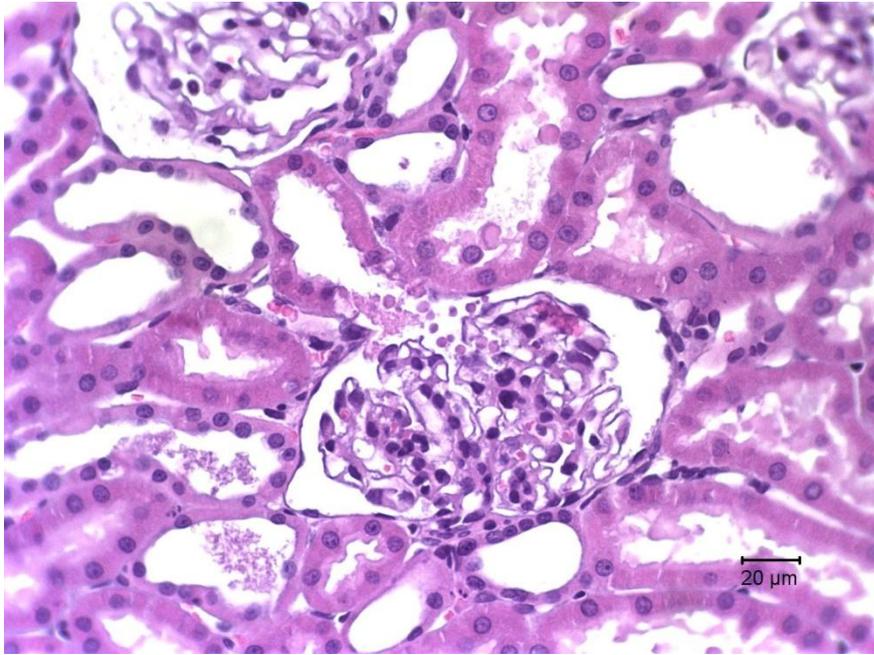
Grup III'deki sıçanlarına gavaj yoluyla uygulanan zeytinyağının böbrek dokusunu İ/R hasarına karşı az da olsa koruduğunu düşündürdü. Tübüler nekroz ve fırçamsı kenar kaybında belirgin gerileme görüldü (Şekil 4.28).

Grup IV'e ait sıçanların böbrek kesitlerinde; Kısmi bir iyileşme, tübüller içi sıvı birikiminin az olduğu ve kanamalı bölgelerin daha az göründüğü tespit edildi (Şekil 4.29).

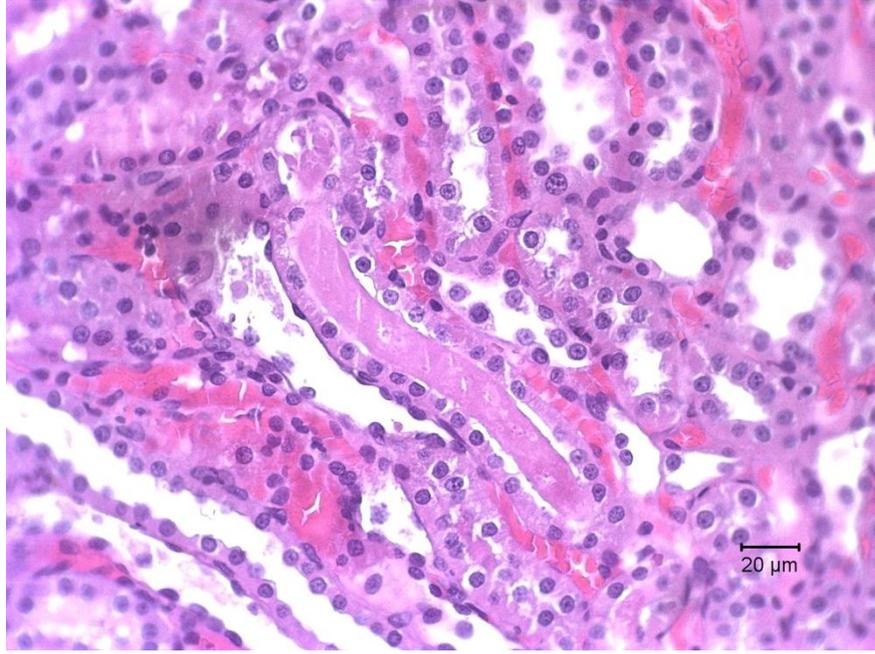
Grup V sıçanlarına ait örneklerde diğer gruplara göre hasarın büyük ölçüde azaldığı tespit edildi. Kontrole yakın tübül hücreler ve glomerlar yapı gözlendi. Tübüler hücre hasarında büyük ölçüde azalma, kanamaların minimum düzeyde olduğu İ/R sonrasında Şişme ve hücre ölümünün azaldığı görüldü. Grup V böbrek histolojisi sonuçları diğer gruplara göre bu dozun böbrek hasarını büyük ölçüde önleyebildiğini gösterir nitelikteydi (Şekil 4.30).



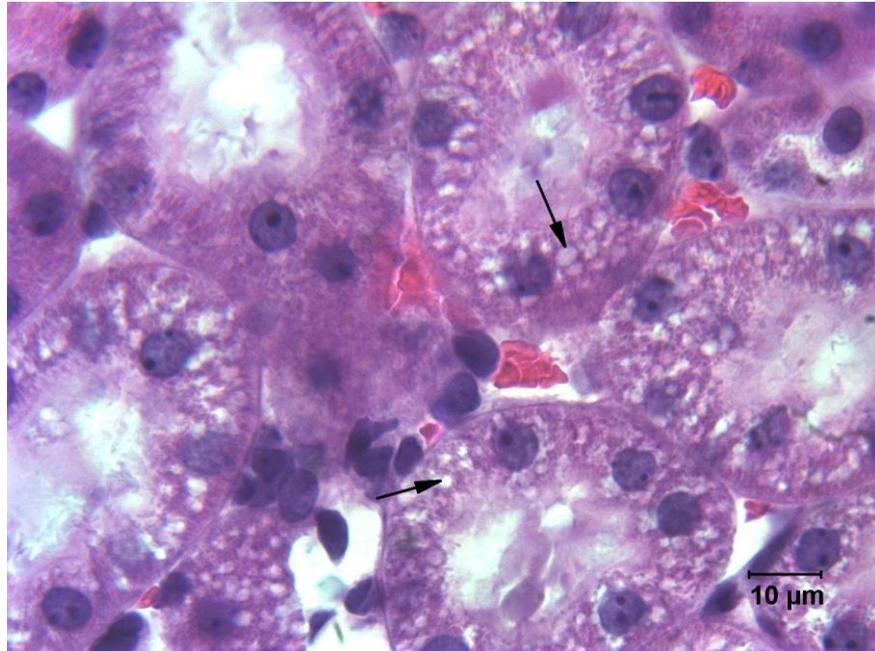
Şekil 4.24. Grup I'e ait böbrek doku kesitlerinde normal görünümlü glomerül yapıları, bowman kapsülü ve aralığı ile tübüller (H&E).



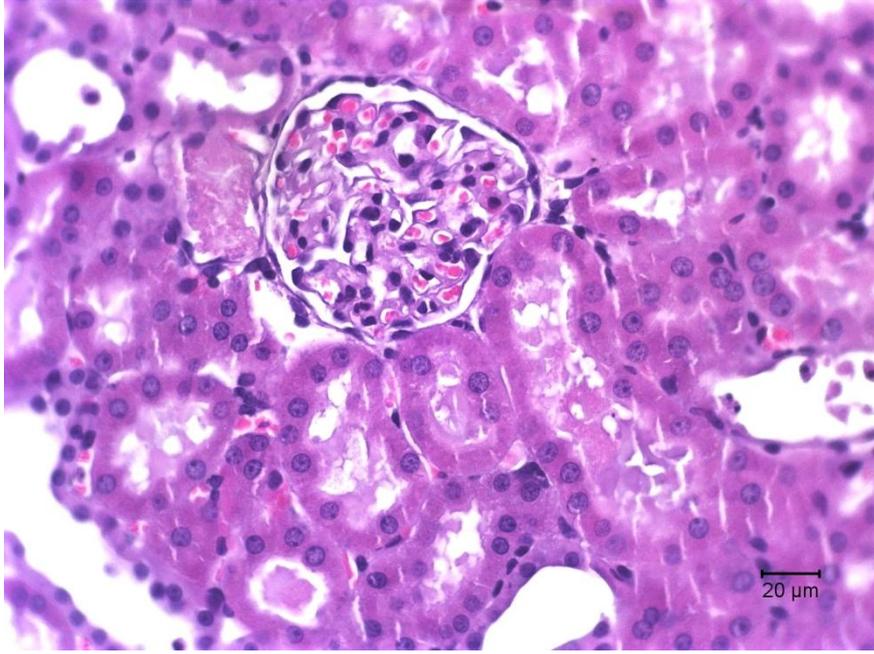
Şekil 4.25. Grup II' ye ait böbrek doku kesitlerinde tübüller deformasyon. Glomerülüs ve bowman kapsülünde değişim (H&E).



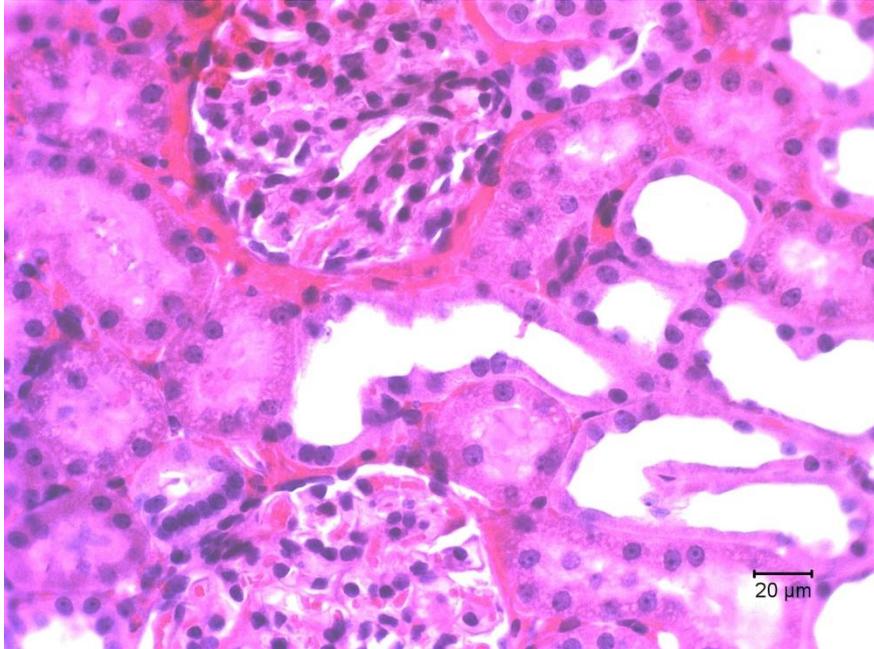
Şekil 4.26. Grup II' ye ait böbrek doku kesitlerinde yaygın kanama alanları, tübüller içerisinde sıvı birikimi ve hücre döküntüleri (H&E).



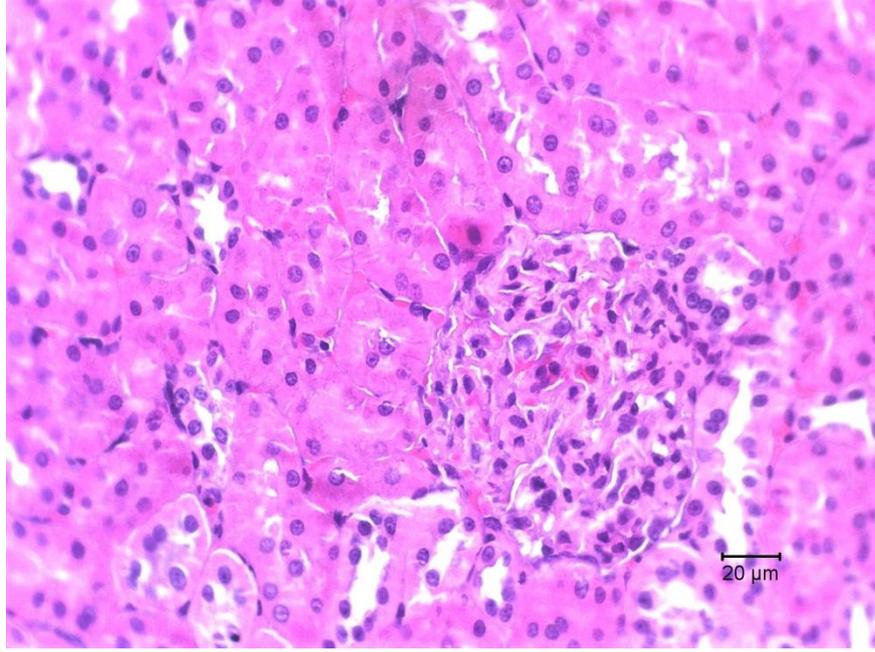
Şekil 4.27. Grup II'ye ait böbrek doku kesitlerinde tübüller şişme, bazal vakuolizasyon (↗) ve tübüller içerisinde sıvı birikimi (H&E).



Şekil 4.28. Grup III'e ait böbrek doku kesitlerinde tübüler dejenerasyonu ve fırçasmsı kenar kaybında gerileme (H&E).

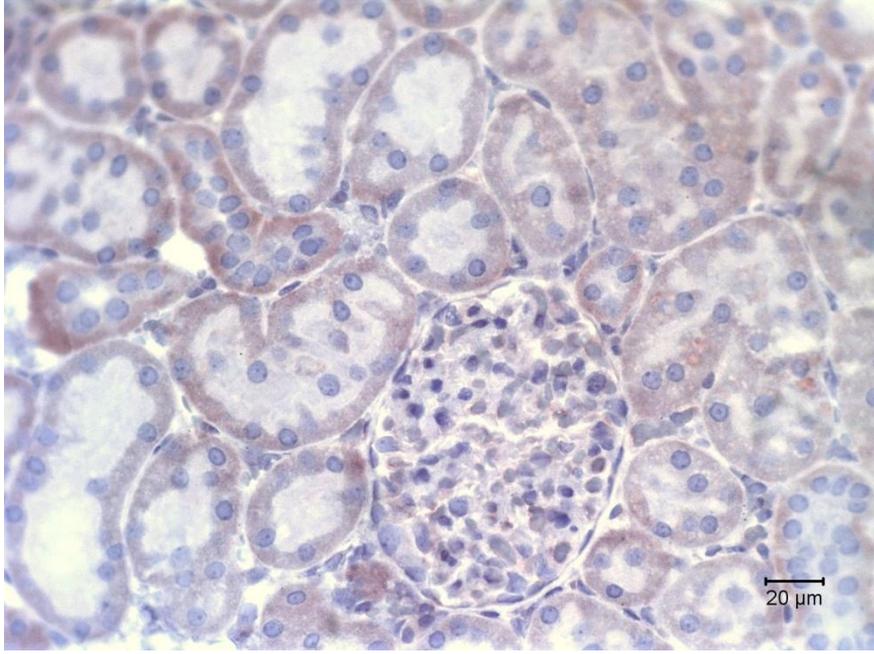


Şekil 4.29. Grup IV'e ait böbrek doku kesitlerinde tübüler içi sıvı birikiminde ve tübüller arasında kanamalı bölgelerde kısmi azalma (H&E).

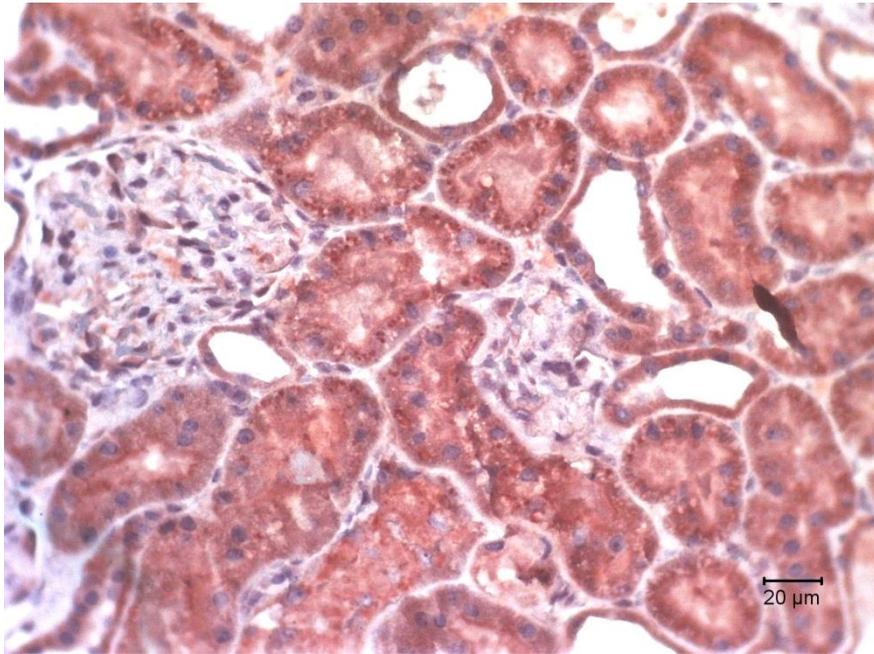


Şekil 4.30. Grup V'e ait böbrek doku kesitlerinde kontrole yakın tübül hücreler ve glomerüler yapı (H&E).

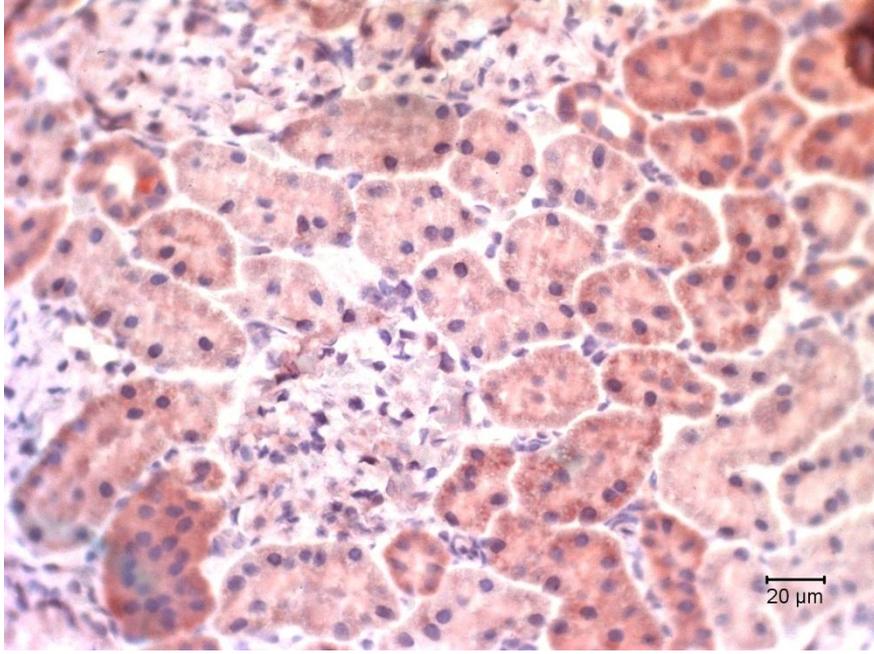
İmmunhistokimyasal boyama uygulanmış böbrek doku kesitlerinde tüm kesit alanları mikroskopik olarak incelenerek iNOS içeriği belirlendi. Deney hayvanlarının her birine ait kesitlerde iNOS pozitif olan hücrelerde kırmızı kahverengi boyalı görünüm dikkat çekici bulundu. Bu anlamda Grup I hayvanlarının böbrek kesitlerindeki normal görünümlü tübül hücrelerinde iNOS negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.31). Grup II'ye ait böbrek kesitlerinde ise tübül hücrelerinin hemen hemen tamamının iNOS pozitif bir görünümde olduğu saptandı (Şekil 4.32). H&E boyanmış böbrek kesitlerinde yapılan incelemeler sonunda Grup V'e ait dokuların İ/R hasarından korunmuş olması, dikkate alınarak, Grup V'in immonohistokimyasal boyamada iNOS negatif oluşu önemli bulundu (Şekil 4.33). Ancak, Grup III ve IV iNOS değerlendirmelerinin sonucu Grup V' de olduğu kadar iNOS negatif bulunamadı.



Şekil 4.31. Grup I' e ait böbrek doku kesitlerinde normal görünümlü iNOS negatif tübül hücreleri.



Şekil 4.32. Grup II' ye ait böbrek doku kesitlerinde iNOS pozitif tübül hücreleri.



Şekil 4.33. Grup V' e ait böbrek doku kesitlerinde normale yakın görünümlü iNOS negatif tübül hücreleri.

5. TARTIŞMA

İskemi, bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle yetersiz hale gelmesi veya durmasıdır. Reperfüzyon ise iskemiye neden olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuya kan akımının yeniden sağlanmasıdır (Montalvo-Jave, et al., 2008; Serracino, et al., 2001; Bilzer and Gerbes, 2000).

Renal iskemisi; Böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler gibi klinik durumlarda görülür. İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışı meydana gelebilmektedir (Aydoğdu vd., 2005).

İskemik dokuda kan akımının yeniden başlamasıyla, özellikle dokuya gelip yerleşen PMNL tarafından salınan SOR dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. İ/R hasarı bir çok patofizyolojik süreci içeren karmaşık olaylar dizisidir. Çeşitli çalışmalar SOR'un İ/R hasarında lipit peroksidasyonunu başlatarak hasar oluşumunda önemli rolü olduğunu ortaya koymuştur (Korthuis, et al., 1985; Rhoden, et al., 2002). Ayrıca SOR canlı yapıdaki biyomoleküllerle reaksiyona girerek dokudaki hasarı artırır (Korkmaz and Kolonkaya, 2009; Aydoğdu vd., 2005). SOR oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bir çok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar "Antioksidan savunma sistemleri" olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya SOR toplayarak lipit peroksidasyonunu inhibe ederler (Akkuş, 1995).

Tüm organizmalarda savunma mekanizmasında etkili olan antioksidan enzimlere; SOD, CAT, Gpx ve kimyasal bileşiklere; α -tokoferol, askorbik asit, karatenoid örnek verilebilir. Antioksidan savunmada öncelikle etkili olan enzimatik antioksidanlardır (Ozan, vd., 2004). SOD, CAT, Gpx çok önemli antioksidan savunma mekanizmalarıdır. Bu enzimler düzenli hücre metabolizmasının kontrolünde oldukça önemlidir (Kim, et al., 2005).

Enzimatik antioksidanlar kadar olmasa da bitkisel kaynaklı antioksidanlarında oksidatif hasara karşı koruyucu etkili olduğu bilinmektedir (Wu and Ng, 2008). Günümüzde yapılan birçok çalışma, kalp, karaciğer, beyin, barsak ve böbreklerde İ/R hasarının bazı antioksidanlar ile belli ölçülerde önlenbildiğini göstermektedir (Kahraman, et al., 2003; Singh, et al., 2004). Hipoksiye bağlı böbrek hasarlarının patogeneğinde serbest radikal ve antioksidan enzimlerin rolünün belirlenmesi antioksidan tedavi denemelerini gündeme getirmiştir (Özer vd., 2005). Antioksidan maddeler, aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan aktif oksijenleri tutarak, oksidasyonun neden olduğu zararları hücre bazda engellemekte ve dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmaktadır. İnsan sağlığı bakımından antioksidan fonksiyonları ile ön plana çıkan maddeler E ve C vitaminleri, karotenoidler ve fenolik maddelerdir. Fenolik maddeler, meyve, sebze, baharat, tahıl ve içecekler gibi bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır (Tosun ve Karadeniz, 2005). Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. Bunların besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir (Aybek vd, 2005).

Protein yıkımının son ürünü olarak karaciğerde sentezlenen ürenin plazma değeri böbrek fonksiyonlarının incelenmesinde kullanılır (Altıntaş ve Bilgili., 1992). İ/R sonrasında serum BUN miktarındaki artış akut böbrek yetmezliğinin göstergesi olabilmektedir. Çalışmamızda İ/R sonrası serum BUN düzeyi incelendiğinde tüm gruplarda Grup I'e oranla anlamlı derecede yükselme görüldü. Bu durum İ/R'nin böbrek fonksiyonlarını olumsuz etkilediğini düşündürdü. Grup V'de diğer test parametrelerinde belirgin iyileşme olmakla birlikte BUN değerinin Grup I'e oranla yüksek kaldığı saptandı.

Kreatinin değeri böbrek yetersizliğinin tanısında ve gelişmesinin izlenmesinde çok iyi bir göstergedir. Kreatinin glomerüler filtrasyondan etkilenir ve glomerüler filtrasyonu doğrudan gösteren en pratik parametredir (Altıntaş ve Bilgili., 1992). İ/R sonrasında serum kreatinin seviyesinde gözlenen yükselme, böbrek proksimal tübül hücrelerinde meydana gelen fonksiyon bozukluğunu gösteren bir durumdur. Kreatinin açısından tüm gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi. Grup V'in sahip

olduğu fark düzeyinin olumlu yönde olduğu tespit edildi. Yapılan benzer çalışmaların da bulgularımızla paralellik gösterdiği tespit edildi (Şener, et al., 2005; Korkmaz ve Kolonkaya, 2009; Otçu, et al., 2000).

Çalışmamızda lipit peroksidasyonunun son ürünü olan ve lipit peroksidasyonun derecesini gösteren MDA konsantrasyonu ölçülerek reperfüzyon hasarı değerlendirildi. MDA değerlerinde Grup II'de önemli derece yükselme görülürken Grup V'de anlamlı düşme kaydedildi (Şener, et al., 2005; Korkmaz ve Kolonkaya, 2009). Grup I ile Grup V arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ve Grup V'de kontrole yakın bir değer saptandı. Ayrıca Grup III MDA sonuçlarındaki anlamlı düşüş zeytinyağının da koruyucu etkili olduğunu düşündürdü.

Çalışmamızda nötrofil infiltrasyon ve aktivasyon parametresi olan MPO verilerine bakıldı. Post-iskemik durumda PMNL'de içerdikleri MPO enzimi ile İ/R hasarında rolü olan SOR'un oluşumuna neden olmaktadır (Grisham, et al., 1986). Çalışmamızdaki böbrek dokusu MPO sonucu Grup II'de artma gösterdi ve bu değer istatistiksel olarak Grup III ve V'den farklı olduğu görüldü. Bu parametre açısından Grup III ve Grup V'de kullanılan maddelerin koruyucu etkili olduğu kanaatine varıldı.

Otokrin ve parakrin bir hücre sel ajan olan NO normal fizyolojik koşullar ile bir çok patofizyolojik koşulda homeostazın sürdürülmesinde önemli bir etkidir. Septik şok, reperfüzyon hasarı gibi hastalıklarda NO aktivitesinin arttığı bilinmektedir (Kuyumcu vd., 2004). NO, oluşan SOR'lar ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan ONOOH oluşturmakta ve sonuçta HO• radikali oluşumuna yol açmaktadır (Aşıcıoğlu, 2005). NO bazı durumlarda da bir antioksidan gibi davranarak hücreleri lipit peroksidasyonundan korumaktadır (Memişoğulları, 2005). Yapılan birçok araştırmada ise İ/R'ye bağlı olarak yüksek miktarda meydana gelen NO ve ONOO⁻ oluşumu azaltılarak hasarın önlenebileceği ileri sürülmüştür (Özer vd., 2005). Çalışmamızda Grup II'de NO seviyesinde artış görüldü. Grup I ile Grup III ve IV arasında istatistiksel olarak fark tespit edilemedi. Grup III ve IV ile Grup II arasında ise az da olsa istatistiksel açıdan fark tespit edildi.

Fizyolojik ve patolojik olaylarda NO hücrel toksisiteyi gösteren biyomoleküldür. Nitrik oksit sentaz enzimleri, yapısal nitrik oksit sentaz (cNOS) ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) olmak üzere iki gruba ayrılır. cNOS normal fizyolojik süreç için gereklidir. Doku hasarı ve zedelenmesinde ise iNOS ile aşırı miktarda NO üretilir. Akut inflamatuvar olaylarda iNOS ile üretilen miktarlar hem koruyucu hem de zarar verici olabilir (Kuyumcu vd., 2004).

Glomerüler kapiller kan basıncının, glomerüler plazma akışının ve glomerüler filtrasyon hızının fizyolojik düzenlenmesinde NO önemli role sahiptir (Raij and Baylis, 1995).

Çalışmamızda İ/R yapılmış sıçan böbrek dokusunda immunhistokimyasal boyama ile iNOS ekspresyonu değerlendirildi. Grup II'de Grup I'e göre çok yoğun boyanma görürken, Grup V'de oldukça azaldığı görüldü ve bu grubunun görünümünde Grup I'deki görünüme yaklaşan bir durum tespit edildi. Çalışmamızda, Grup V'de iNOS aktivasyonunun Grup I'e benzer olması, iNOS sentezinin durdurulduğu ve İ/R'nin neden olacağı patofizyolojik olayların kısmen engellenebileceğine işaret etmektedir. Bu durum İ/R'nin iNOS üretimindeki önemini bir kez daha göstermektedir.

Böbrek dokusunda tek bir band olarak gözlenen CAT enziminin elektroforetik analiz sonuçları değerlendirildiğinde, Grup II CAT izoenziminin band alanında yoğun bir artış görüldü ve Grup V'de ise band alanında anlamlı azalma kaydedildi. Grup III ve IV de birbirine yakın band alanları tespit edildi. SOD enzimi değerlendirildiğinde SOD1 izoformunda Grup II'de Grup I'e göre anlamlı derecede yoğun band alanının olduğu görüldü. SOD1 izoformunda Grup V'de oldukça düşük band yoğunluğu görüldü. Ayrıca SOD1 izoformunda Grup III ve IV'de ise Grup II'ye göre band yoğunluğunda düşüş görüldü. SOD2'de SOD1'e benzer sonuçlar elde edildi. Gpx'in tüm formlarında izoenzim band alanları Grup II'de yoğun gözlendi. Grup V'de ise Grup II'ye göre düşük yoğunlukta band alanı kaydedildi.

Antioksidan enzim aktivasyon alanlarının Grup II'de yoğun bir şekilde artması ve Grup IV ve V kontrole yakın bulmamız karvakrol'ün oksidatif stresi azalttığını

düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda Kapan ve arkadaşları (2009) aortik İ/R hasarında 30 dk iskemi 60 dk reperfüzyon sonucunda, İ/R grubu MDA, SOD, CAT değerlerinin anlamlı derece yüksek olduğunu ve tedavi grubu olan eritropoetin uygulanan sıçanlarda ise düşüş kaydedildiğini rapor etmişlerdir. Erdosteinin tavşan spinal kord İ/R hasarına etkisi üzerine yapılan bir başka araştırmada İ/R grubunda SOD aktivitesinde anlamlı artış saptanmıştır (Ege vd., 2004). Bu konuyla ilgili benzer çalışmalarda ise İ/R grubunda enzim aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu rapor edilmiştir (Kiriş vd., 2005 ; Erten, et al., 2003; Mezzetti, et al., 1993). Fakat başka çalışmalarda İ/R sonucunda antioksidan enzim miktarlarında düşüş olduğu vurgulanmıştır. Dobashi ve arkadaşları (2000) 60 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uyguladıkları grupta, SOD, CAT ve Gpx aktivitelerinde anlamlı azalma olduğunu bildirmişleridir. Bir başka çalışmada ise renal SOD aktivitesi 45 dk iskemi ve 24 saat reperfüzyon sonucunda azalma göstermiştir (Singh, et al., 2005). Sonuçlardaki bu farklılık muhtemelen kullanılan; deney hayvanı türünün, metodun ve modelin farklılığından kaynaklı olduğunu düşündürmektedir. Bizim sonuçlarımızdaki enzim aktivitesindeki artışın nedeni; artan SOR'a karşı antioksidan savunma sisteminin tepkisi olarak yorumlanabilir.

Böbrek dokusu histopatolojik olarak incelendiğinde Grup I'e ait doku örneklerinde, böbrek tübül ve glomerül yapısının normal görünümde olduğu ve herhangi bir hasarın olmadığı görüldü. Grup II'de önemli derecede glomerulus ve bowman kapsülünde değişim ve kapsül aralığında genişleme ayrıca tübüllerde fırçamsı kenar kaybı, tübüller arası kanamalar tespit edildi. Tübül hücrelerinde şişme ve buna bağlı olarak tübüller içerisinde sıvı birikimi ve hücre döküntülerinin oluşturduğu tübüler deformasyon görüldü. Renal İ/R hasarı ile ilgili çalışmalardaki histolojik değerlendirmeler İ/R'den sonra böbrek tübül hücrelerinde vakuolizasyon, tübüler dilatasyon, nekroz alanları, hücreler arası kanama gibi bulgular rapor edilmiştir (Ozan, et al., 2004; Korkmaz and kolonkaya, 2009; Senturk, et al., 2008). Bu da bizim histolojik verilerimizle uyumludur. Grup III ve IV'de ise histolojik incelemede kısmi iyileşme görüldü. Grup V incelendiğinde Grup I'e paralel sonuçlar elde edildi. Bu sonuçlar karvakrol'un Grup V'de uygulanan dozunun SOR etkisiyle meydana gelen hasarı önleyebildiğini gösterdi.

Hastalıkların tedavisi üzerine yapılan çalışmalarda, insan diyetinde antioksidan etkili bileşiklere yer verilmesinin oksidatif strese sebebiyet veren SOR'ların ve reaktif azot türlerinin zararlarına karşılık, koruyucu etkili olduğu bildirilmiştir (Çakan vd., 2007).

Antioksidanlar düşük konsantrasyonlarda bile oksidatif zararları engeleyebilen yada azaltabilen maddelerdir. Son zamanlarda antioksidanların, özellikle farmakolojik çalışmalarda oldukça önem kazandığı bildirilmiştir. Resveratrolle yapılan bir çalışmada 45 dk renal iskemi takiben 6 saatlik reperfüzyon sonrası, resveratrolün serbest radikalleri süpürücü etki yaptığı ve dokuya nötrofil infiltrasyonunu önleyerek hasarı azalttığı belirtilmiştir (Sener, et al., 2006).

İ/R çalışmalarında flavonoid olan *Ginkgo biloba* (Sener vd., 2005) ve silmarinin (Senturk, et al., 2008), böbrekte serbest radikallerin etkisini azaltarak antioksidan savunmada koruyucu etkili olduğu ortaya koyulmuştur.

Canbek ve arkadaşları (2008) total karaciğer İ/R'si uygulanan sıçanlarda (45 dk iskemi/60 dk reperfüzyon) karvakrol'ün koruyucu etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmada, Wistar albino türü sıçanlarda karvakrol'ün 73 mg/kg (i.p.) dozunun serum AST, ALT, GSH, MDA, CAT değerini önemli derecede düşürdüğü ve karaciğer dokusunu koruduğu bildirilmiştir. Karvakrolle yapılan *in vitro* çalışmalarda antitümör ve antimutajenik aktivitesinin olduğu belirtilmiştir (Ipek, et al., 2003). Aynı araştırmacılar ayrıca karvakrol'ün antikanserojenik özelliğini ortaya koymuşlardır. Shah ve arkadaşları ise (1999) oksidatif hasarın DNA da mutasyona neden olduğunu ortaya koymuştur. Bundan dolayı karvakrol'ün İ/R hasarına karşı kullanılması genetik yapıyı koruması açısından son derece önemlidir. Karvakrol'ün İ/R hasarı üzerindeki etkisi ile ilgili *in vivo* çalışmalar sınırlıdır. Karvakrol'ün böbrek İ/R hasarının önlenmesinde serbest radikal temizleyici bir ajan olarak kullanıldığına ilişkin bilimsel kayıtlara rastlanılamamıştır.

Doğal fenollerin diyetle alınması (meyva, sebze vb.) antioksidan enzimlerin tetiklenmesi açısından oldukça önemlidir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara gore karvakrol'un renal İ/R sonucu oluşan hasarı doza bağlı olarak dikkate değer şekilde azalttığını soyleyebiliriz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Acworth, I.N., McCabe, D.R., Mather, T.J., 1997, The analysis of free radicals, their reaction products and antioxidants, Oxidants, Antioxidants and Free Radicals, Taylor & Francis Washington, DC., 10, 23-77.
- Aeschbach, R., Löliger, J., Scott, B.C., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B., Aruoma, O.I., 1994, Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol, Food Chem Toxicol, 32, 31-6.
- Akino, K., Akita, S., Mizuguchi, T., Takumi, I., Yu, R., Wang, X., Rozga, J., Demetriou, A.A., Melmed, S., Ohtsuru, A., Yamashita, S., 2005, A novel molecular marker of pituitary tumor transforming gene involves in a rat liver regeneration, The Journal of Surgical Research, 129, 142-146.
- Akkoç, H., 2008, Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı, Dicle Tıp Dergisi, 3, 211-215.
- Akkuş, İ., 1995, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza yayınları, 42 s
- Alper, M., 1993, İnvital Mikroskopide Modifiye Bir Model: İzole Kremaster Kas Ada Flebinde Değişik perfüzyon Solüsyonlarının İskemi/Reperfüzyon Hasarına etkisi, Uzmanlık Tezi. T.C Ege üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı, 61 s.
- Altıntaş, A., Bilgili, A., 1992, Melez köpeklerde kan ve idrarda üre, Kreatinin, Na ve K normal düzeyleri ile yaş, cinsiyet ve ağırlığın etkisi. 100.Yıl Üniv.Vet.Fak.Derg, 3, 1-2.
- Altundağ, Ş., B, Aslım., 2005., Kekiğin Bazı Bitki Patojeni Bakteriler Üzerine Antimikrobiyal Etkisi, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 7, 12-14.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Assy, N., Gong, Y., Zhang, M., Pettigrew, N.M., Pashniak, D., 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.
- Aşıcıoğlu, Y.T., 2005, Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi, uzmanlık tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, 64.
- Avatgil, R., 1997, Deneysel rat iskemi - reperfüzyon böbrek hasarında nitrik oksid' in rolü, Uzmanlık tezi, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 83 s.
- Aybek, H., Demir, S., Sert, S., Alataş, E., 2005, Overektomili Sıçanlarda İskemi Reperfüzyon Sonrası Olufian Uzak Doku Hasarının Göstergesi Olarak Karaciğer Malondialdehid Düzeyi. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı. XVI 1, 32- 35.
- Aydın, S., Öztürk, Y., Beis, R., Başer, K.H.C., 1998, Investigation of Origanum onites, Sideritis congesta, Satureja cuneifolia Essenital oils for Analgesic activity, Phytotherapy Research, 10, 342-344 p.
- Aydın, O.Ö., 2006, Kardiyopulmoner Baypas Sonrası Gelişen Böbrek Hasarının Risk Faktörleri, Hemoliz Ve Serum Ferritin Seviyesi İle İlişkisi, Uzmanlık Tezi,. T.C. Sağlık Bakanlığı Siyami Ersek Göğüs,Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, 47 p.
- Aydoğdu, N., Kaymak, K., Yalcin, Ö., 2005, Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında N-asetilsisteinin Etkileri, Fırat Tıp Dergisi, 10, 151-155.
- Azırac, S., 2007, Thymol ve Carvacrol'un *In Vivo* Genotoksik Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 95 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Basım, S., 2005, Alt Ekstremitede İskemi-Reperfüzyon oluşturulan Ratlarda Ginkgo Biloba EGB 761'İnbarsak Anastomoz İyileşmesi Üzerine Etkisi, uzmanlık Tezi, T.C.Sağlık BakanlığıTaksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği, 50.
- Baser, K. H. C., 2008, Biological and Pharmacological Activities of Carvacrol and Carvacrol Bearing Essential Oils Anadolu University, Faculty of Pharmacy Department of Pharmacognosy, Turkey Current Pharmaceutical Design, 14, 3106-3120.
- Başer, K. H. C., 2001, Her Derde Deva Kekik, Bilim Ve Teknik Dergisi, 74-77.
- Bayır, S., Eskiocak, S., Altaner, S., Cakır, E., 2006, The Anti-oxidant/Pro-oxidant Effects of N-Acetylcysteine in Rats Fed with Cholesterol-rich Diet, Turk Klinik Biyokimya Derg, 4, 15-23.
- Baytop, T.,1999, Türkiye' de bitkiler ile tedavi, Nobel Tıp Kitabevi, 455 s.
- Beauchamp, C., Fridovich, I., 1971, Superoxide Dismutas: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels. Anal. Biochem, 44, 276-287.
- Bilzer, M., Gerbes, A.L., 2000, Preservation injury of the liver: mechanisms and novel therapeutic strategies, J Hepatol, 32,508-15.
- Canbek, M., Uyanoglu, M., Bayramoglu, G., Senturk, H., Erkasap, N., Kokenc, T., Uslud, S., Demirustu, C., Aral, E., Baser, K. H. C., 2008, Effects Of Carvacrol On Defects Of İschemia-Reperfusion İn The Rat Liver, Phytomedicine, 15, 447–452.
- Cebeci, O. Ö., 2007, Ratlarda Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarının Erken Döneminde Sildenafil Sitratin Etkinliği, Uzamanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, 51 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cortas, N.K., Wakıd, N.W., 1990, Determination of Inorganic Nitrate in Serum and Urine by a Kinetic Cadmium Reduction Method. *Clin Chem*, 36, 1440-1443.
- Curtin, J.F., Donovan, M., Cotter, T.G., 2002, Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis, *J. Immunol Methods*, 265, 49-72.
- Çakan, M., Çakan T., Aydos T., Yılmaz D., Ögüş E., Kılıç, A. S., 2007, Sıçan Testisindeki İskemi-Reperfüzyon Hasarı Sonucu Oluşan Oksidatif Stres Ve Histopatolojik Değişiklikler Üzerine Ketoprofenin Koruyucu Etkisi, *Türkey Türk Üroloji Dergisi*, 33, 50-55.
- Desser RK, Himmelhoch SR, Evans WH, Januska M, Mage M, Shelton E (1972) Guinea pig heterophil and eosinophil peroxidase. *Arch Biochem Biophys* 148:452-465.
- Dobashi, K., Ghosh, B., Orak, J.K., Singh, I., Singh, A.K., 2000, Kidney ischemia-reperfusion: Modulation of antioxidant defenses. *Mol Cell Biochem*, 205, 1-11.
- Ege, E., İlhan, A, G., Akyol, O., Özen, S., 2004, Erdosteine ameliorates neurological outcome and oxidative stress due to ischemia/reperfusion injury in rabbit spinal cord, *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 28, 379-86.
- Ergün, Y., 2006, Çizgili Kas İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve Nitrik Oksit İle İlişkisi, 15,133.
- Erten, S.F., Koçak, A., Özdemir, İ., Aydemir, S., Çolak, A., Reeder, B.S., 2003, Protective effect of melatonin on experimental spinal cord ischemia. *Spinal Cord*, 41, 533-8.
- Fadıloğlu, E., Özyurt, H., Erdoğan, H., Emre, M. H., 2001, L-Name İle Hipertansif Yapılan Sıçanlarda Kalpte İskemi-Reperfüzyon Sonrası Kalp Dokusu Ksantin Oksidaz Aktivitesi ve Malondialdehit Düzeyleri, *Ege Tıp Dergisi*, 40, 75 -81.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Futter, L. E., AL-Swayeh, O. A., Moore, P. K., 2001, Comparison of the Effect of Nitroparacetamol and Paracetamol on Liver Injury. *Br J Pharmacol*, 132, 10–12.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006, Algal Antioksidanlar, *EÜ. Su ürünleri Dergisi*, 23, 85-89.
- Granger, D.N., Korthuis, R.J., 1995, Physiological mechanisms of postischemic tissue injury, *Annu Rev Physiol*, 57, 311–32.
- Grisham, M.B., Hernandez, C.A., Granger N., 1986, Xanthine Oxidase and Neutrophil Infiltration in Intestinal Ischemia. *Am J Physiol*, 251, 567–574.
- Gueler, F., Gwinner, W., Schwarz, A., Haller, H., 2004, Long-term effects of acute ischemia and reperfusion injury, *Kidney Int*, 66, 523-527.
- Gurel, A., Armutcu, F., Sahin, S., Sogut, S., Ozyurt, H., Gulec, M., Kutlu., N.O., Akyol, O., 2004, Protective role of tocopherol and caffeic acid phenethyl ester on ischemia- reperfusion injury via nitric oxide and myeloperoxidase in rat kidneys, *Clinica Chimica Acta*, 339, 33-41.
- Ipek, E., Tuylu, B.A., Zeytinoglu, H., 2003, Effects of carvacrol on sister chromatid exchanges in human lymphocyte cultures, *Cytotechnology*, 43, 145–148.
- Ipek, E., Zeytinoglu, H., Okay, S., Tuylu, B.A., Kurkcuoglu, M., Baser, K.H.C., 2005, Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test, *Food Chemistry*, 93, 551-556.
- Irazu, C. E., Ruidera, E., Singh, I., Orak, J.K., Fitts, C.T., 1989, Rajagopalan PR. Effect of ischemia and 24 hour reperfusion on ATP synthesis in the rat kidney, *J Exp Pathol*, 4, 29-36.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Jayakumar, T., Aloysius, P.T., Geraldine, P., 2007, Protective Effect of an Extract of the Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus* on Antioxidants of Major Organs of Aged Rats, *Experimental Gerontology*, 42, 183-191.
- Kahraman, A., Erkasap, N., Serteser, M., Koken, T., 2003, Protective effect of quercetin on renal ischemia/reperfusion injury in rats, *J Nephrol*, 16, 219-224.
- Kandilci, H. B., Gümüşel, B., 2005, Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi, 25, 35-49.
- Kapan, Ş., Kiriş, İ., Kılbaş, A., Altuntaş, İ., Karahan, N., Okutan, H., 2009, Eritropoietinin sıçan aortik iskemi-reperfüzyonunda akciğer hasarı üzerine etkisi, *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg*, 17, 110-116.
- Karabélyos, C., Dobozy, O., Szalai, C., Klenjánszki, K., Varjú, K., Hadházy, Á., Kiss, Á., Fulop, K. A., Madarász, B., Falus, A., 1999, Elevated Hepatic Glucocorticoid Receptor Expression During Liver Regeneration in Rats, *Cell- and Immunobiology Nagyvárad*, 5, 107-9.
- Karabiga, M., Kiriş, İ., Yılmaz, N., Altuntaş, İ., Karahan, N., Okutan, H., 2007, Aprotinin Deneysel Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Böbrek Hasarına Etkisi, 16, 9-18.
- Karaca, Ş., Güder, H., 2009, Dermatolojide Antioksidan Sistem, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Dermatoloji Anabilim Dalı Dergisi, 3, 32-39.
- 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.
- Kim S.Y., Lim J.H., Park M.R., Kim, Y.J., Park, T.I., Seo, Y.W., Choi, K.G., Yun, S.J., 2005 Enhanced Antioxidant Enzymes Are Associated with Reduced Hydrogen Peroxide in Barley Roots Under Saline Stress, *J Biochem Mol Biol*, 38, 218-24.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kiriş, İ., Okutan, H., Savaş, Ç., Yönden, Z., Delibaş, N., 2005, Deneysel aortik iskemi-reperfüzyon modelinde renal hasara gadolinyum klorürün etkisi, *Damar Cerrahisi Dergisi*, 14, 13-8.
- Korkmaz, A., Kolankaya, D., 2009, Protective Effect of Rutin on the Ischemia/Reperfusion Induced Damage in Rat Kidney, *J Surg Res*, doi:10.1016/j.jss.2009.03.022.
- Korthuis, R.J., Granger, D.N., Townsley, M.I., Taylo, A.E., 1985, The role of oxygen-derived free radicals in ischemia-induced increases in canine skeletal muscle vascular permeability, *Circ Res*, 57, 599-609.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic V., Milos, M., 2004, Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil *Analytical, Nutritional and Clinical Methods, Food Chemistry*, 85, 633–640
- Kuyumcu, A., Duzgun, P.A., Ozmen, M.M., Besler, H.T., 2004, Travma ve Enfeksiyonda Nitrik Oksidin Rolü, *Ulus Travma Derg*, 10, 149-159.
- Lin H.C., Chen H.J., Hou W.C., 2002, Activity Staining of Gluttathione Peroxidase After Electrophoresis on Native and Sodium Dedocylsulfate Polyacrylamide Gels. *Electrophoresis*, 23, 513-516
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J Biol Chem*, 193, 265-275.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Memişoğulları, R., 2005, Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi, Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, 3, 30-39.
- Mezzetti, A., Lapenna, D., Pierdomenico, S.D., Giammarco, G., Bosco, G., Ilio, C., 1993, Myocardial antioxidant defenses during cardiopulmonary bypass, J Card Surg, 8, 167-71.
- Montalvo-Jave, EE., Escalante-Tattersfield, T., Ortega-Salgado, J.A., Piña, E., Geller, D.A., 2008, Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury, J Surg Res, 147, 153-159.
- Noiri, E., Nacao, A., Uchida, K., Tsukahara, H., Ohno, M., Fujita, T., Brodsky, S., Gligorsky, S. M., 2001, Oxidative And Nitrosative Stress In Acute Renal Ischemia, Am. J. Physiol Renal Physiol, 281, 948-957.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979, Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, Anal Biochem, 95, 351-358.
- Otcu, S., Ozturk, H., Dokucu, A.I., 2000, Deneysel Böbrek Sıcak İskemi-Reperfüzyon Hasarı Üzerine Allopurinol'un Etkileri. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Diyarbakır.
- Ozan, E., Koyutürk, L., Sapmaz, T., 2004, Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Prostaglandin E1 (PGE1) Kullanımının İncelenmesi: Deneysel Çalışma, Fırat Tıp Dergisi, 9, 67-71.
- Önenç, S. S., Açıkgöz, Z., 2005, Aromatik Bitkilerin Hayvansal Ürünlerde Antioksidan Etkileri, Hayvansal Üretim, 46, 50-55.
- Özel, Y., 2006, Ratlarda Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Hasarında Grape Seed Proanthocyanidin'in Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5. Genel Cerrahi Kliniği, 23s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Özer, M. K., Çiçek, E., Gökalp, O., Koyu, A., Parlakpınar H., Acet, A., 2005, Myokardiyal iskemi reperfüzyon sonrası böbrek hasarında nitrik oksitin rolü ve caffeic acid phenethyl ester (cape)'in etkisi, S.D.Ü. Tıp Fak. Derg, 12, 23-27.
- Paller, M. S., 1994, The Cell Biology of Reperfusion Injury in the Kidney, J Invest Med, 42, 632-639.
- Prieto, J.M., Jacopini, P., Cioni, P., Chericoni, S., 2007, *In vitro* activity of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes, Food Chem, 104, 889-95.
- Rhoden, E.L., Rhoden, C.R., Lucas, M.L., Pereira-Lima, L., Zettler, C., Belló-Klein, A., 2002, The role of nitric oxide pathway in the renal ischemia-reperfusion injury in rats, Transpl Immunol, 10, 277-84.
- Saba, D., Yavuz, H., Şenkaya, I., Ağrıç, M., M, Dirican., Serdar, Z., Öztürk, H., Özer, Z., Özkan, H., 2000, Kalsiyum Dobesilatın İskelet Kası İskemi – Reperfüzyon Hasarındaki Rolü, Turkish J Thorac and Cardiovasc Surg, 8, 797-801.
- Shah, P.C., Brolin, R.E., Amenta, P.S., Deshmukh, D.R., 1999, Effect of aging on intestinal ischemia and reperfusion injury, Mech. Ageing Dev, 107, 37-50.
- Sener, S., Sener, E., Sehirli, O., Ogunca, V., Cetinel, S., Gedik, N., Sakarcı, A., 2005, Ginkgo Biloba Extract Ameliorates Ischemia-Reperfusion-Induced Renal Injury in Rats, Pharmacological Research, 52, 216-222.
- Sener, G., Tuğtepe, H., Yüksel, M., Cetinel, S., Gedik, N., Yeğen B.C., 2006, Resveratrol improves ischemia/reperfusion-induced oxidative renal injury in rats, Arch Med Res, 37, 822-829.
- Senturk, H., Kabay, S., Bayramoglu, G., Ozden, H., Yaylak, F., Yucel, M., Olgun, E.G., Kutlu, A., 2008, Silymarin attenuates the renal ischemia/reperfusion injury-induced morphological changes in the rat kidney, World J Urol, 26, 401-7.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Serracino-Inglott, F., Habib, N.A., Mathie, R.T., 2001, Hepatic ischemia-reperfusion injury, *Am J Surg.*, 181, 160-166.
- Seth, P., Kumari, R., Madhavan, S., Singh, A.K., Mani, H., Banaudha, K.K., Sharma, S.C., Kulshreshtha, D.K., Maheshwari, R.K., 2000, Prevention of renal ischemia-reperfusion induced injury in rats by picroliv, *Biochem Pharmacol*, 59, 1315-1322.
- Singh, D., Chander, V., Chopra, K., 2004, The Effect Of Quercetine, A Bioflavonoid On Ischemia/Reperfusion Induced Renal Injury In Rats. *Archives Of Medical Resarch*, 35, 484-494.
- Singh, D., Chander, V., Chopra, K., 2005, Protective effect of catechin on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats, *Pharmacol Rep.*, 57, 70- 76.
- Sökmen, A., Güllüce, M., Akpulat, H.A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sökmen, M. and Şahin, F., 2004, The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*, *Food Control*, 15, 627-634.
- Şener, G., Yeğen, B.Ç., 2008, İskemi Reperfüzyon Hasarı, Klinik Gelişim. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı.
- Tepe, B., Sökmen, M., Akpulat, H.A., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., 2005, Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *Sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*, *Journal of Food Engineering*, 66, 447-454 .
- Tosun, İ., Karadeniz B., 2005, Çay Ve Çay Fenoliklerinin Antioksidan Aktivitesi, O.M.Ü. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Samsun Omü Zir. Fak. Dergisi, 20, 78-83.
- Tunçel, N., Aydın, S., Zeytinoğlu, M., 2006, İnsan anatomisi ve fizyolojisi. Açıköğretim Fakültesi, 50s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Uslu, İ., 1987, Renogramın normallerde ve çeşitli böbrek hastalarında semikantitatif olarak değerlendirilmesi, Uzmanlık tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrah Paşa Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Ana Bilim Dalı, 49s.
- Uyanoglu, M., Canbek, M., Ara, E., Başer, K. H. C., 2008, Effects of carvacrol upon the liver of rats undergoing partial hepatectomy, *Phytomedicine*, 15, 226-9.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, MT., Mazur, M., Telser, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int. J. Biochem Cell Biol.*, 39, 44-84.
- Waynforth, H.B., Flecknell, P.A., 1994, Experimental and surgical technique in the rat, Chapter, 29,174-175.
- Weichselbaum, T.E., 1949, An accurate and rapid method for the determination of protein in small amounts of blood serum and plasma, *Am J Clin Path*, 10, 40-49.
- Werner, J., Saghır, M., Warshaw, A. L., Lewandrowski, K. B., Laposata, M., Lozzo, R. V., Carter, E. A., Schatz, R. J., Fern Ndez-Del Castillo, C., 2002, Alcoholic Pancreatitis in Rats: Injury from Nonoxidative Metabolites of Ethanol, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 283, 65–73.
- Woodbury, W., Spencer, A.K., Stahmann, M.A., 1971, Improved Procedure Using Ferricyanide for Deceting Catalasa Isozyme, *Anal, Biochem*, 44, 301-305.
- Wu, S.J., Ng, L.T. 2008, Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan, *LWT*, 41, 323–330.
- Xue, F., Isaka Y, Takahara,T., Imamura, R., Suzuki, C., Ichimaru, N., Michieli, P., Takahara, S., 2007 HGF-MSP chimera protects kidneys from ischemia-reperfusion injury. *Biochem Biophys Res Commun*, 363, 451-456.
- Yoon, HY., Kang, NI., Lee, HK., Jang, KY., Park, JW., Park, BH., 2008, Sulforaphane protects kidneys against ischemia-reperfusion injury through induction of the Nrf2-dependent phase 2 enzyme. *Biochem Pharmacol*, 75, 2214-2223.