

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

NEFREKTOMİLİ RATLARDA, MELATONİN VE PİROLİDİN UYGULAMASININ
İSKEMİ/REPERFÜZYON'DA ANTİOKSİDANT SİSTEM VE HİSTOLOJİK YAPI
ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

SEMİH ÖZ

DANIŞMAN: PROF. DR. HİLMİ ÖZDEN

ARALIK – 2012

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

NEFREKTOMİLİ RATLARDA, MELATONİN VE PİROLİDİN UYGULAMASININ
İSKEMİ/REPERFÜZYON'DA ANTİOKSİDANT SİSTEM VE HİSTOLOJİK YAPI
ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

SEMİH ÖZ

DANIŞMAN : PROF.DR.HİLMİ ÖZDEN

KABUL VE ONAY SAYFASI

Semih ÖZ' ün Doktora Tezi olarak hazırladığı "Nefrektomili ratlarda, melatonin ve pirolidin uygulamasının iskemi/reperfüzyon'da antioxidant sistem ve histolojik yapı üzerine etkileri" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

Tarih

27.12.2012

Üye: Prof.Dr.Hilmi ÖZDEN

Üye: Prof.Dr.Ferruh YÜCEL

Üye: Prof.Dr.Cengiz BAYÇU

Üye: Doç.Dr.Şahin KABAY

Üye: Doç.Dr.Gül GÜVEN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~28.12.2012~~ tarih ve ~~939/4362~~ sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

ÖZET

Nefrektomili ratlarda, melatonin ve pirolidin uygulamasının iskemi/reperfüzyon'da antioksidant sistem ve histolojik yapı üzerine etkileri

İskemi/Reperfüzyon (I/R), serbest oksijen radikalleri artışı nedeniyle oksidatif strese ve doku hasarına neden olur. Bu durum, böbrek nakli ve aort anevrizması gibi bazı cerrahi girişimlerde sık görülmesi ve yüksek mortalite oranına sahip olması açısından klinik öneme sahiptir. Yapılan birçok çalışmada Melatonin ve Pirolidin gibi bazı antioksidan maddelerin dokudaki oksidatif hasarı azalttığı saptanmıştır. Nefrektomi de, oksidatif stresi artıran bir durumdur. Bu çalışmada nefrektomize sıçanlarda böbrek I/R sonrası antioksidant özelliği bulunan Melatonin ve Pirolidin'nin etkilerinin karşılaştırmalı olarak ortaya konulması amaçlandı. Çalışmada 40 Sprague Dawley sıçan her birinde 8 sıçan bulunan 5 gruba ayrıldı. Tüm gruplara sağ nefrektomi yapıldı. 1. Grup: Kontrol, 2. Grup: SF+I/R, 3. Grup: Melatonin+I/R, 4. Grup: Pirolidin+I/R, 5. Grup: Melatonin+Pirolidin+I/R. Melatonin (10 mg/kg/gün) ve Pirolidin (100 mg/kg/gün) 15 günlük iyileşme dönemi sonrası 7 gün günde tek doz intraperitoneal olarak verildi. Kontrol grubu hariç tüm gruplara 45 dakikalık iskemi, 24 saat reperfüzyon uygulandı. İntrakardiyak kan örneği alındı, Malondialdehit (MDA), Superoksit dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksit Dismutaz (GPx), Catalaz (CAT) düzeyleri tespit edildi. Değerler istatistiksel olarak SPSS 18.0 for Windows paket programda one way ANOVA, Tukey testleriyle değerlendirildi. Böbrek dokuları ışık mikroskopta 100-500 µm kesitte Hematoksilen-Eozin yöntemiyle incelendi. I/R grubu ile karşılaştırıldığında; MDA, tek başına Melatonin ve Pirolidin verilen gruplarda azalmış ($p=0,002$, $p=0,01$) SOD, Melatonin+Pirolidin verilen grupta azalmıştır ($p=0,02$). Tek başına Pirolidin ve Melatonin+Pirolidin GPx seviyesini artırmıştır ($p=0,02$, $p=0,005$). Histolojik incelemelerde; antioksidanların dejeneratif değişiklikleri azalttığı, tek başına verilen Pirolidin'in Melatonin'den daha olduğu; en iyi koruyucu etkinin Melatonin+Pirolidine ortaya çıktığı gözlemlendi. Sonuç olarak Melatonin ve Pirolidin böbrek I/R hasarında antioksidan etkiye sahiptir.

Anahtar kelimeler: İskemi/Reperfüzyon, nefrektomi, rat, antioksidant.

SUMMARY

The effects of melatonin and pyrrolidine on the antioxidant system and histological structure of nephrectomized rats after ischemia-reperfusion

Ischemia-reperfusion causes oxidative stress and tissue damage because of increase in free radicals. It has clinical importance because of its frequent occurrence and mortality in some surgical conditions such as renal transplantation, aort aneurysm. Therefore, experimental studies showed that antioxidants such as Melatonin and Pyrrolidine decreased this oxidative damage. Nephrectomy also increases oxidative stress. The aim of this study was to evaluate and compare the effects of melatonin and Pyrrolidine on nephrectomized rats after renal I/R. Forty Sprague Dawley rats were divided into 5 groups (n=8). Right nephrectomy was performed to all groups. Group 1: control; group 2: I/R; group 3: Melatonin+I/R; group 4: Pyrrolidine+I/R; group 5: Melatonin+Pyrrolidine+I/R. After recovery period of 15 days solutions were administered intraperitoneally for 7 days as a single dose a kg/day. 45 minutes ischemia, 24 hours reperfusion were applied to groups except control. Intracardiac blood samples were taken, Superoxide dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (GPx), Catalase (CAT) and Malondialdehyde (MDA) levels were detected. Mean values were evaluated by statistical analysis. The renal tissues were examined under light microscopy. Melatonin and Pyrrolidine alone decreased MDA levels compared with I/R group (p=0,002, p=0,01). In addition; SOD activity was decreased in Melatonin+Pyrrolidine+I/R group (p=0,02). Pyrrolidine alone, and Melatonin+Pyrrolidine increased GPx levels (p=0,02, p=0,005). It was observed in histological examinations that antioxidants decreased degenerative changes, Pyrrolidine alone was more effective compared to melatonin, the best protective effect appeared in Melatonin+Pyrrolidine group. In conclusion, Melatonin and Pyrrolidine have antioxidant effects on renal I/R damage.

Keywords: ischemia-reperfusion, antioxidant, nephrectomy, rat

İÇİNDEKİLER	Sayfa
KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Böbrek Anatomisi	3
2.1.1. Böbreğin yapısı	3
2.1.2. Böbreği saran kılıflar	5
2.1.3. Böbrekleri yerinde tutan yapılar	7
2.1.4. Böbreklerin fonksiyonel yapısı	7
2.1.4.1. Medulla renalis	8
2.1.4.2. Cortex renalis	8
2.1.4.3. Sinus renalis	10
2.1.4.4. Böbreğin kanal sistemi (tubulus renalis)	10
2.1.4.5. Böbreğin segmentleri	11
2.1.5. Varyasyonları	11
2.1.6. Böbreğin damarları, lenf drenajı ve innervasyonu	12
2.1.6.1. Böbreğin damarları	12
2.1.6.2. Lenf drenajı	14
2.1.6.3. Sinirleri	14
2.2. Böbrek Histolojisi	15
2.2.1. Böbreğin nefron'ları	16

2.2.2. Böbrek Tubul'leri	17
2.2.3. Jukstaglomerular Aparatus	18
2.2.4. Vasa recta	19
2.2.5. Lop ve lopçuk arasındaki fark	19
2.2.6. Podositler	20
2.2.7. Mezanjiyum	21
2.3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	22
2.3.1. İskemi/Reperfüzyon hakkında genel bilgi	23
2.3.2. Antioksidanlar	25
2.3.3. Malondialdehit (MDA)	26
2.3.4. Melatonin'in genel özellikleri	27
2.3.5. Piroolidin'in genel özellikleri	30
3.GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları	33
3.2. Deney Grupları	33
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltilerin Hazırlanması	35
3.3.1. Melatonin	35
3.3.2. Piroolidin	35
3.3.3. Serum fizyolojik	35
3.3.4. Anestezikler	36
3.3.4.1. Ketamin	36
3.3.4.2. Xylazin	36
3.4.Cerrahi İşlemler	36
3.4.1.Nefrektomi	36
3.4.2.İskemi/Reperfüzyon	37
3.5. Kan Alımı ve Biyokimyasal Analiz	39
3.5.1. Örneklerin hazırlanması	39
3.5.1.1. Eritrosit hemolizatların hazırlanması	39

3.5.2. Superoksitdismutaz (SOD) Aktivitesini ölçümü	40
3.5.2.1. Ölçüm yöntemi	40
3.5.3. Malondialdehit (MDA) düzeyinin ölçümü	41
3.5.3.1. Çözeltiler	41
3.5.3.2. Spektrofotometrede okuma	42
3.5.3.3. Sonucun hesaplanması	42
3.5.4. Katalaz (CAT) aktivitesinin ölçümü	43
3.5.4.1. Çözeltiler	44
3.5.4.2. Spektrofotometrede okuma	44
3.5.4.3. Sonucun hesaplanması	45
3.5.5. Glutasyon peroksidaz (Gpx) aktivitesi ölçümü	46
3.5.5.1. Ölçüm Yöntemi	46
3.5.5.2. Hesaplama	47
3.6. Doku Alımı ve Histolojik İnceleme	47
3.6.1. Böbrek için histolojik doku takibi	47
3.6.2. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi	48
3.7. İstatistiksel Analiz	49
4.BULGULAR	51
4.1. Biyokimyasal Analiz Bulgular	51
4.1.1. Her bir hayvana ait biyokimyasal analiz değerleri	54
4.2. Histolojik Bulgular	59
5.TARTIŞMA	70
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	77
KAYNAKLAR DİZİNİ	78
ÖZGEÇMİŞ	87

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1: Kanda MDA, SOD, GPx, CAT düzeyleri (ortalama±standart sapma).....	51
Tablo 2: Kontrol grubundaki herbir hayvana ait olan kan biyokimyasal analiz değerleri.....	54
Tablo 3: SF+I/R grubundaki herbir hayvana ait olan kan biyokimyasal analiz değerleri.....	55
Tablo 4: M+I/R grubundaki herbir hayvana ait olan kan biyokimyasal analiz değerleri.....	56
Tablo 5: P+I/R grubundaki herbir hayvana ait olan kan biyokimyasal analiz değerleri.....	57
Tablo 6: MP+I/R grubundaki herbir hayvana ait olan kan biyokimyasal analiz değerleri.....	58
Tablo 7: Böbrek Histolojik Skorlama tablosu.....	68
Tablo 8: I/R hasar yoğunluğunun hayvan sayısına (n) göre grup içinde ve gruplar arasındaki dağılımı.....	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Böbreğin Anatomik yapısı	4
Şekil 2: Glomerulus, Bowman kapsülü, henle kulbu fonksiyonel ve histolojik yapısı.....	9
Şekil 3: Böbrek damarlanması	15
Şekil 4: Pyramis renalisler arasında lob ve lobcuklar ile birlikte arteria arcuata,vasa recta,a.interlobaris, a.interlobularis.....	20
Şekil 5: İskemi'nin şematik olarak tarif edilmesi.....	24
Şekil 6: Memelilerde Melatonin'in beyinde cerebral yarımküreler arasındaki pineal bezden ve ayrıca over, lens ve kemik iliği hücreleri ile safra ve gastrointestinal sistemden sentezlenip salgılanması ve gece gündüz döngüsü.....	28
Şekil 7: Anestezi altında supin pozisyonda,lomber bölgeden kesilerek böbreğin bulunması ve Nefrektomi yapılıp kapatılması.....	37
Şekil 8: Anestezi altında median insizyon ile abdominal kaviteye girilip böbrek bulunduktan sonra 45 dk. İskemi yapılması.....	38
Şekil.9: Anestezi 45 dk. İskeminin ardından klemp'in alınması ve 24 saatlik reperfüzyonun başlaması. Cilt altı ve cilt'in kapatılması.....	38
Şekil 10: Gruplara ait MDA düzeylerinin dağılımı.....	52
Şekil 11: Gruplara ait SOD düzeylerinin dağılımı.....	52
Şekil 12: Gruplara ait GPx düzeylerinin dağılımı.....	53
Şekil 13: Gruplara ait CAT düzeylerinin dağılımı.....	53
Şekil 14: MDA standart eğrisi.....	43

Şekil 15: Kontrol grubuna ait Sıçan böbreklerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. (H&E).....	61
Şekil 16: SF+I/R grubuna ait Sıçan böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsü. (H&E).....	62
Şekil 17: Melatonin + I/R grubuna ait Sıçan böbreklerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. (HE).....	63
Şekil 18: Melatonin +I/R grubuna ait Sıçan böbreklerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. (HE).....	64
Şekil 19: Pirolidin +I/R grubuna ait Sıçan böbreklerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. (HE).....	65
Şekil 20: Pirolidin +I/R grubuna ait Sıçan böbreklerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. (HE).....	66
Şekil 21: Melatonin+Pirolidin +I/R grubuna ait Sıçan böbreklerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. (HE).....	67
Şekil 21: Böbrek histolojik skorlama tablosuna göre ortalama değerler ve grafikleri.....	69

SİMGELER VE KISALTMALAR

a.	Arteria
AIDS	Acquired Immuno Deficiency Syndrome
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTC	Dithiokarbamatlar
ggl.	GANGLION
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
H&E	Hematoksilen-Eozin Yöntemi
HIOMT	Hidroksiindol-o-metiltransferaz
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HOCl	Hipokloröz Radikali
IL-1	İnterlökin-1
I/R	İskemi/Reperfüzyon
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
i.p	İntraperitoneal
KAT	Katalaz
kg	kilogram

L	litre
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehit
mg	miligram
mL	mililitre
n	denek sayısı
NAC	N-asetilsistein
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NAT	N-asetiltransferaz
NF-k β	Nükleer faktör kappa B
NO	Nitrik Oksit
PDTC	Pirolidin Ditiyokarbamat
Ph	Power of Hydrogen" Hidrojenin Gücü
PMA	Forbol Myristat Asetat
PVN	periventriküler nukleus
ROS	Reaktif oksijen türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
rpm	revolution per minute (devir/dakika)
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
SCN	suprachiasmatic nukleus

SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
U	Unit
v.	vena
M	mikrometre= mikron= 10^{-6} metre

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yoğun bakım tıbbında önemli gelişmeler olmasına rağmen, akut böbrek yetmezliği son 50 yıldır azalmayan önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmayı sürdürmektedir (39). Akut böbrek yetmezliğini önlemek için yapılan denemeler genellikle olumsuz sonuçlanmıştır ve dializ hâlâ tek etkili tedavidir (79). Bu yüzden, akut böbrek yetmezliği için yeni tedavi edici yöntemlerin geliştirilmesi hâlen araştırmalarda yoğun bir ilgi alanıdır (39,79). Renal iskemi, karmaşık ve birbirleri ile ilişkili bir olaylar dizisi başlatır. Sonucunda böbrek hücreleri hasarlanır ve ölür (43, 90). İskemik böbrek dokusunun hayatta kalması için reperfüzyon gereklidir. Fakat bu durumda reperfüzyon hasarı ek hasarlara neden olur (59,90,97,).

Böbrek iskemisi; nefrektomi, böbrek transplantasyonu, kardiyopulmoner by-pas, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler ve hidronefroz gibi çeşitli klinik durumlarda görülür. İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışı ile karakterizedir (1,77).

Oksijen canlılar için hayati önemi olan bir moleküldür ve hücrede enerji üretim süreçlerinde kullanılır. Serbest oksijen radikalleri enerji üretim süreçlerinin doğal bir yan ürünü olup yüksek düzeyde Oksidatif ve potansiyel olarak zararlı maddelerdir. Serbest radikaller hücrelerimizde DNA'ya, proteinlere ve lipidlere zarar verir. Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler bunları nötralize eden antioksidanlar üretmektedir. Serbest radikallerin oluşum hızı ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilme hızı arasında bir dengenin olması beklenir. Böylece hücre serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korunur. Eğer bu denge serbest radikaller lehine bozulursa, yani yapımdan daha yavaş nötralize edilirse, hücrede serbest radikaller artar. Serbest oksijen radikallerin hücrede artış ve hücre fonksiyonları üzerinde yaptıkları olumsuz etkiye (oksidatif hasara) 'oksidatif stres' denir. Dejeneratif hastalıkların gelişiminde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Nöronlar, yani sinir/ beyin hücrelerindeki oksidatif stres kendini nöro-dejeneratif hastalıklar olarak göstermektedir (Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı vb.)(85). Damar iç yüzeyindeki hücrelerdeki (endotelde) oksidatif hasar damar sertliği

(ateroskleroz) gelişiminde rol oynamakta, dolayısıyla kalp-damar, beyin-damar ve diğer damar hastalıklarına neden olmaktadır. Hücre DNA'sına gelen oksidatif hasar kanser gelişimine yol açabilmektedir (85).

Hücresel yaşamın sürekliliği karmaşık biyokimyasal tepkimelerin denge içinde yürütmesine bağlıdır. Bu dengeyi bozacak yönde ortaya çıkan endojen ve/veya eksojen kaynaklı faktörler hücre hasarına yol açarlar. Bunlar içinde oksidatif stres farklı patolojik durumların ortaya çıkması nedeniyle gittikçe önem kazanmakta ve araştırmacıları bu yönde araştırma yapmaya yöneltmektedir. Radikal reaksiyonları hücre homeostazis'nin bir parçasıdır. Hücreler, serbest oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı antioksidan savunma sistemleri ile korunurlar. Dokulardaki savunma sistemleri; enzimatik (Methemoglobin redüktaz, Süperoksit dismutaz, Katalaz, Glutasyon peroksidaz, Glutasyon redüktaz, Glutasyon S-transferaz) ve nonenzimatik (Glutasyon, vitamin E, vitamin C, redükte nikotinamid adenin dinükleotit NADH, redükte nikotinamid adenin dinükleotit fosfat NADPH) olmak üzere iki grupta toplanabilirler (4).

Ratlarda nefrektomi sonrası oluşan hasara karşın, melatonin ve pyrrolidine'nin koruyucu etkisinin ne derecede olduğu üzerine çalışmalar az sayıdadır. Her iki maddenin birlikte kullanıldığı çalışma bulunamamıştır. Bu nedenle çalışmamızda melatonin ve pyrrolidine'nin böbrek dokusu üzerine tek başına ve birlikte kullanıldığında koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek Anatomisi

2.1.1. Böbreğin yapısı

Normal insanda idrar üretme ve boşaltma sistemi; iki böbrek, iki üreter, bir mesane ve bir urethra dan oluşur. Böbrekler kanı süzerek idrar yapımını sağlarken iki fibromüsküler tüp olan üreterler, oluşan idrarı mesaneye taşır. Mesanede belli bir müddet biriktirilerek bekletilen idrar üretra aracılığıyla boşaltılır. Böbrekler kanın getirdiği besinleri ve kimyasal maddeleri tekrar kana verir, fazla suyu, tuzları ve protein metabolizması artıklarını ise süzerek idrarı oluşturur. Bu yol vücudun elektrolit ve su dengesini sağlar. Kan basıncı üzerine de dolaylı etkileri vardır (18,53).

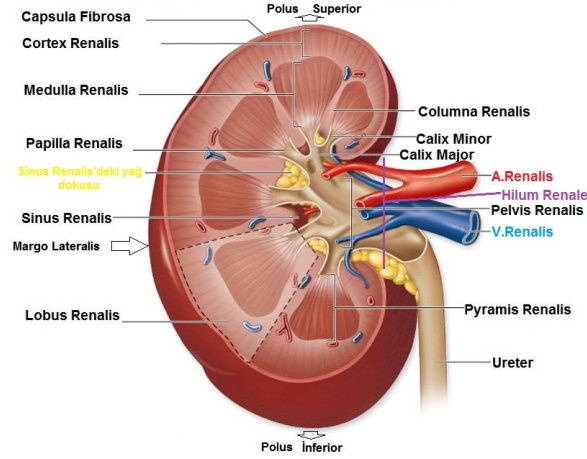
Böbrekler karın arka bölgesinde retroperitoneal alandadır. Bunlar columna vertebralisin hemen lateralinde ekstraperitoneal bağ dokusu içinde uzanırlar. Sırtüstü pozisyonda, böbrekler üstten T12 vertebra, alttan L3 vertebra arasında bulunurlar, sağ böbrek karaciğerle ilişkisinden dolayı solda daha aşağıdadır. Böbreklerin seviyeleri solunum sırasında ve postür değişikliği ile değişir, her bir böbrek derin inspirasyonda vertikal olarak yaklaşık 3 cm. hareket eder. Böbrekler şekil ve hacim olarak benzer olmalarına rağmen sol böbrek sağ böbreğe göre daha uzun incedir ve orta hatta daha yakındır. Canlı vücudunda yaklaşık 10 cm uzunluğunda 5 cm. genişliğinde 2.5 cm. kalınlığındadır (53,99).

Böbreklerin, facies anterior ve facies posterior olmak üzere iki yüzü, margo medialis ve margo lateralis olmak üzere iki kenarı, extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere iki ucu vardır (Şekil 1).

Facies anterior: Böbreklerin ön yüzleri konveks olup, öne ve biraz da dışa doğru bakarlar. Komşulukları sağ ve sol tarafta farklıdır. Sağ böbreğin ön yüzünün yukarıda kalan küçük bir sahası sağ böbreküstü bezi ile bunun aşağısında kalan geniş saha karaciğerin sağ lobu ile alt uçta ki küçük bir saha flexura coli dextra ile ve iç kenarına yakın şerit şeklindeki dar bir saha da duodenum'un ikinci bölümü ile komşuluk yapar. Genellikle alt ucun medial bölümü, ince bağırsak kıvrımlarıyla komşuluk yapar.

Karaciğer ve ince bağırsaklar periton aracılığıyla komşuluk yaparken, diğer yapılar doğrudan böbrek ile temas halindedir. Sol böbreğin ön yüzünün medial kenara yakın olan bölümünün üst kısmı gl. suprarenalis sinistra ile dış kenara yakın geniş bir saha dalak ile böbrek hilusunun yukarısında ve bu iki saha arasında kalan bölüm mide ile böbrek hilusuna komşu bölüm pankreas ile alt ucun lateral yarısı flexura coli sinistra ile medial yarısı da jejunum kıvrımları ile komşuluk yapar. Bu komşularından sadece dalak ve jejunum periton aracılığı ile komşuluk yapar.

Facies posterior: Böbreklerin, arkaya ve biraz da iç tarafa bakan arka yüzleri, gevşek yağ ve bağ dokusundan oluşan bir yastık içerisinde oturmuş durumdadır. Her iki böbrek, arka yüzlerinde periton bulunmadığından doğrudan diaphragma, m. psoas major, m. quadratus lumborum ve m. transversus abdominis'in üzerine oturur. Bu kaslar ile böbrek arasında a. subcostalis, ilk bir veya iki a. lumbalis, n. subcostalis, n. iliohypogastricus ve n. ilioinguinalis bulunur. Sağ böbreğin üst ucu 12. kaburga ile sol böbreğin üst ucu ise 11. ve 12. kaburgalar ile komşuluk yapar. Bu yüzden pleura çıkmazları özellikle recessus costodiaphragmaticus böbreklerin arkasında bulunurlar (6,99).



Şekil 1: Böbreğin Anatomik yapısı (99).

Margo lateralis: Karın duvarının arka dış kısmına yönelmiş olup dışa, biraz da arkaya ve yukarı bakar. Sol böbreğin dış kenarının üst kısmı dalak ile komşudur.

Margo medialis: Böbreğin iç kenarının orta kısmı konkav, her iki ucu ise konvektir. Bu kenar mediale, biraz da öne ve aşağıya bakar. Konkav olan orta kısmında vertikal yönde bulunan yarığa hilum renale denilir. Margo medialis, böbrek hilus'unun yukarısında gl. suprarenalis ile aşağısında ise üreter ile komşuluk yapar.

Hilum renale, böbreğin içinde sinus renalis denen boşluğun girişidir. A. renalis hilum renale'den sinus renalis'e girerken v. renalis ve pelvis renalis çıkar. Hilum renale'de bulunan yapıların pozisyonları önemlidir. Bunlar önden arkaya doğru v. renalis, a. renalis'in 2-3 dalı, üreter ve a. renalis'in (VAUA) bir dalı olarak yerleşirler. Bazen üreter'in arkasında a. renalis'in bir dalı ile birlikte v. renalis'in bir dalı da bulunabilir. Perirenal yağ dokusu, böbrek hilus'undan geçerek sinus renalis'e girer ve buradaki yapıların arasında kalan boşlukları doldurur.

Extremitas superior; alt ucuna oranla daha kalın, daha künt ve birbirine daha yakındır. Gl. suprarenalis, üst uca ve biraz da ön yüze doğru oturur. Extremitas inferior ise, crista iliaca'dan yaklaşık 5 cm yukarıda bulunur (6,53,99).

2.1.2. Böbreği saran kılıflar

Böbreği içten dışa doğru capsula fibrosa, capsula adiposa ve fascia renalis olmak üzere üç kılıf sarar.

Capsula fibrosa: Böbreği dıştan saran, ince sağlam fibröz bir kılıftır. Böbrek hilus'una geldiğinde iki yaprağa ayrılır. Bu yapraklardan birisi, böbrek hilus'unda bulunan yapıların üzerine geçerek, onların adventitia'sı olarak devam eder. Diğer yaprak ise hilum renale'den içeri girer ve papilla'lar hariç olmak üzere, sinus renalis'in

iç yüzünü döşer. Capsula fibrosa, sağlam kollagen liflerden yapıldığı için uzama kabiliyeti çok sınırlıdır. Böbreğin bazı hastalıklarında genişleyemez ve bu nedenle de çıkarılması gerekebilir. Capsula fibrosa ile böbrek dokusu arasında tunica subfibrosa denilen ince bir tabaka bulunur. Düz kas lifleri de içeren tunica subfibrosa, sinus renalis'in iç yüzünü de döşer. Sinus renalis'i döşeyen bu bölümde düz kas lifleri daha fazla oranda bulunur ve özellikle papilla'lar etrafında yoğunlaşarak kas halkaları oluşturur. Tunica subfibrosa böbrek dokusuna sıkıca yapışmasına karşılık, capsula fibrosa'ya gevşek olarak tutunur. Bu nedenle capsula fibrosa, bir kesi yapılarak kolayca böbrekten uzaklaştırılabilir. Ancak, böbrek hilus'undaki yapılara yapışık olması nedeniyle, bu bölgede capsula fibrosa'yı kesmek gerekir. Tunica subfibrosa'daki düz kas lifleri, kontraksiyon yaptıklarında böbreği küçültecek kadar kuvvetli değildirler. Ancak herhangi bir nedenle böbrekte basıncın artması durumunda kasılarak, capsula fibrosa'nın gerilmesini bir dereceye kadar önleyebilir.

Capsula adiposa (perirenal yağ tabakası): Capsula fibrosa'yı dıştan saran bir yağ tabakasıdır. Kalınlığı kişinin kilo durumuna bağlı olarak değişir. Ancak, böbreğin ön yüzünde, diğer yüz ve kenarlarına oranla daha az miktarda bulunur.

Fascia renalis (Gerota fasiası): Karın duvarındaki fascia subserosa'nın capsula adiposa'yı dıştan saran bölümüdür. Peritoneum ile fascia endoabdominalis arasında bulunan fascia subserosa, böbreğin dış kenarı yakınında iki yaprağa ayrılır. Bu yaprakların birisi böbreğin ön, diğeri ise arka tarafından geçerek mediale doğru uzanır. Fascia prerenalis de denilen ön yaprak, medialde böbrek damarları, v. cava inferior ve aorta'nın önünden geçerek karşı tarafın aynı yaprağı ile birleşir. Fascia retrorenalis de denilen arka yaprak, ön yapraktan daha kalındır, m. psoas major'un fasciası ve fascia prevertebralis ile kaynaşır. Fascia renalis'in iki yaprağı yukarıda kaynaşarak diafragma'nın fasiasına, lateralde fascia transversalis'e tutunur. Aşağıda, daha gevşek olarak kaynaşan bu yapraklar, fascia iliaca ile devam ederler. Fascia renalis'den çıkan bir kısım fibröz lifler, corpus adiposum'dan geçerek capsula fibrosa'ya tutunur. Fascia renalis'in arkasında da bir miktar yağ tabakası bulunur. Buna da corpus adiposum

pararenale denilir. Gl. suprarenalis'ler de fascia renalis'den ayrılan ince bir yapıyla böbreklerden ayrılmış olarak bu fascia ile sarılıdır (6,53,99).

2.1.3. Böbrekleri yerinde tutan yapılar

Karın arka duvarında retroperitoneal olarak bulunan böbrekler, bazı durumlarda biraz aşağı yukarı yönde hareket edebilirler. Böbrekleri yerinde tutan en önemli oluşumlar, damarları ve fascia renalis'tir. Ayrıca capsula adiposa ve pararenal yağ tabakası da yardımcı olur (6,53,99).

2.1.4. Böbreklerin fonksiyonel yapısı

Taze bir böbrek kenarlarından geçen bir kesitle ikiye ayrılarak kesit yüzeyi incelendiğinde, renk ve fonksiyon bakımından farklı iki bölümden oluştuğu görülür. Daha açık renkli olan dış kısmına cortex renalis, daha koyu renkli ve çizgili görünümlü olan iç kısmına ise medulla renalis denilir. Orta kısmında bulunan böbrek şeklindeki boşluğa da, sinus renalis denilir. Cortex renalis, menşeyini nefrogen dokudan alır ve idrar süzen yapıları içerir. Medulla renalis ise menşeyini üreter tomurcuğundan alır ve toplayıcı kanallardan oluşur (6,53,99) (Şekil 2).

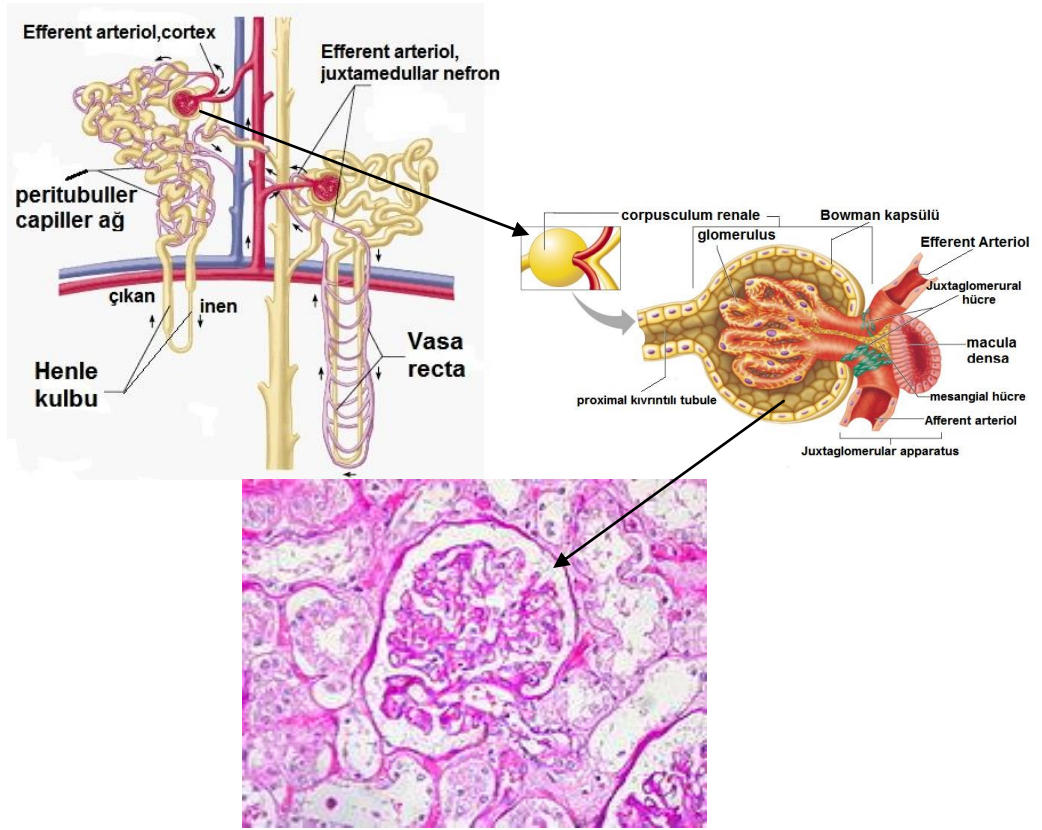
2.1.4.1. Medulla renalis

Pyramis renalis (Malpighi piramitleri) denilen 8-10 adet (bazen 18-20) koni şeklindeki yapılardan oluşur. Bu piramitlerin basis pyramidis denilen taban kısımları böbreğin dış yüzüne, papilla renalis denilen tepe kısımları ise sinus renalis'e yönelmiştir. Pyramis renalisler, columna renalis (Bertin sütunları) denilen kortikal cevher uzantıları ile birbirinden ayrılırlar. Üç boyutlu olarak düşünüldüklerinde, bir pyramis renalis'in sadece papilla renalis kısmı hariç olmak üzere, diğer yüzleri tamamen kortikal cevherle sarılıdır. Bir pyramis renalis ve etrafını saran kortikal cevher bölümü bir lobus renalis'i oluşturur. Buna göre, pyramis renalis sayısı kadar böbrek lobu bulunur. Yeni doğanlarda böbreğin dış yüzünde bu lobların sınırlarını belirleyen sığ oluklar görülür. Daha sonra bu oluklar kaybolarak böbreğin dış yüzü, düz bir görünüm alır (6,53,99).

2.1.4.2. Cortex renalis

Papillaları hariç olmak üzere, pyramis renalis'lerin her tarafını saran böbrek dokusudur. Kortikal cevherin iki bölümü vardır. Birinci bölüm 6 mm kalınlığındadır ve capsula fibrosa ile pyramis renalis'lerin taban kısımları arasında bulunur ve böbreği dıştan sarar. İkinci bölüm ise böbrek piramitleri arasında bulunur. sinus renalis'e kadar uzanan bu ikinci bölüm, kesitlerde pyramis renalis'ler arasında bir sütun şeklinde görüldüğünden bunlara columna renalis (Bertin sütunları) denilir. Taze preparatlarda kortikal cevherin kabuk şeklindeki birinci bölümü bir lupla incelendiğinde, medullar cevhere ait olan pars radiata ve kortikal cevhere ait olan pars convoluta olmak üzere, farklı iki bölümden oluştuğu görülür. Pars radiata (stria medullaris=Ferrein uzantıları), daha koyu renkli sahalar olup, medullar cevherin kortikal cevher içerisine gönderdiği uzantılardır. Pars convoluta ise, iki pars radiata arasında kalan daha açık renkli kortikal

sahalarıdır. Burada kandan idrarı süzen corpusculum renale'ler ve idrar kanalcıklarının bir kısmı bulunur. Corpusculum renaleler (Malpighi cisimcikleri) küçük kırmızı nokta şeklinde yapılar olarak görülürler. Kandan idrarı süzen glomerülüs ve idrar kanalcıklarının başlangıcında yer alan ve Bowman kapsülünden oluşan bu yapılar, ölümden bir süre sonra renklerinin değişmesi nedeniyle görülmez olurlar. Pars radiata ile pars convoluta birlikte, bir böbrek lobcuğunu (lobuli corticalis) oluştururlar (6,53,99).



Şekil 2: Glomerulus, Bowman kapsülü, henle kulbu fonksiyonel ve histolojik yapısı (6,99).

2.1.4.3. Sinus renalis

Hilum renaleden böbrek içinde devam eden boşluğa sinus renalis denilir. Sinus renalis'de pelvis renalis'in üst bölümü, calix renalis'ler, böbrek damarları ve bir miktar da yağ dokusu bulunur. Capsula fibrosa, hilum renale'den girerek sinus renalis'in iç yüzünü döşer ve pelvis renalis'in dış yüzünde devam eder. Sayıları 4 ile 14 adet olan calix renalis minorların her biri, 1-3 papilla renalis'i içine alır. Calix renalis minor'ların 2-3 tanesi birleşerek calix renalis major'u, bunlar da kendi aralarında birleşerek pelvis renalis'i oluştururlar. Kalikslerin duvarında bulunan spiral şekilli kas liflerinin kontraksiyonu sonucunda idrar aşağı doğru iletilir. Pelvis renalis, böbrekten çıkarken huni şeklinde daralarak üreter'i oluşturur (6,53,99) (Şekil 1).

2.1.4.4. Böbreğin kanal sistemi (tubulus renalis)

Glomerulus'tan Bowman kapsülüne süzülen idrar, bir takım kanal sisteminden geçerek, sonunda papilla renalis'deki foramina papillare denilen deliklerden kalikslere dökülür. Süzülmenin başladığı yerden sonlanma yerine kadar olan kanal sistemine tubulus renalis denilir. Tubulus renalis hem menşei, hem de fonksiyon bakımından farklı iki bölümden oluşur.

Birinci bölüm (idrar kanalcıkları), idrarın kandan süzülerek hazırlanması ile ilgili olup, menşei nefrogen dokudan alır. Bu kanal sistemi capsula glomerularis (Bowman kapsülü) ile başlar. Bowman kapsülünün içinde glomerulus denilen damar yumağı bulunur. Glomerulus ve bunu saran Bowman kapsülüne birlikte corpusculum renale denilir. Corpusculum renale'nin damarların girip çıktığı kutbuna polus vascularis, süzülen idrarın çıktığı kutbuna ise polus tubularis denilir. Her bir Bowman kapsülünden bir adet idrar kanalcığı başlar. Bu kanallar böbrek dokusunun muhtelif kısımlarında birçok kıvrımlar yaparak uzanır ve sonunda toplayıcı kanallara açılırlar. Seyri esnasında

bir takım genişleme ve daralmalar gösteren idrar kanalcıkları, birbirleriyle anastomoz yapmazlar. Bu bölüme ait kanalcıklarda suyun geri emilimi ve kan dolaşımına geçişi gerçekleşir. Her bir corpusculum renale ve buna ait idrar kanalcığı, kandan idrarı süzen ve nefron denilen bir birim oluşturur. Her bir böbrekte yaklaşık 1.250.000 adet nefron bulunur (Şekil 2).

İkinci bölüm (toplayıcı kanallar), menşeyini ureter tomurcuğundan alır. Bu kanallar sadece idrarın nakli ile ilgilidirler ve idrar burada herhangi bir değişikliğe uğramaz. İdrar kanalcıkları toplayıcı kanallara açılırlar. Toplayıcı kanallar da birleşerek daha kalın toplayıcı kanalları oluşturup, papilla renalis'de bulunan ve sayılan 10 ile 25 arasında değişen for. papillare'ler aracılığıyla calix renalis minor'lara açılırlar. Toplayıcı kanallar, böbreğin medullar cevherinde (pyramis renalis ve pars radiata) bulunur (53).

2.1.4.5. Böbreğin segmentleri

Böbrek, kan damarlarının dağılım sahasına göre 5 segmente ayrılır. Bunlardan birisi üst kutupta (segmentum superius), birisi alt kutupta (segmentum inferius), ikisi ön yüzün orta kısmında (segmentum anterius superius, segmentum anterius inferius), birisi de arka yüzün orta kısmında (segmentum posterius) bulunur (6).

2.1.5. Varyasyonları

Böbrek taslakları pelvis'de oluşur ve intrauterin dönemin 9. ayında normal yerine çıkar. Bu yükseliş sırasında aşağıdaki arterleri rudimenter olur ve yukarıda yeni arterler

oluşur. Bazen aşağıdaki arterler de kalabilir ve birden fazla arterli böbrekler olur. Böbrekler pelvis'te iken alt uçları birbirine yakın olup kaynaşabilir. Böylece at nalı böbrek oluşur. Yukarı çıkarken de a. mesenterica inferior'a takılır. Bazen böbrek ilk oluştuğu yerde kalır ve ektopik pelvik böbrekler oluşur. Bu gibi durumlarda doğum esnasında zedelenebilir. Bazen iki böbrek de aynı tarafta bulunabilir. Birden fazla veni olan böbrek de vardır. Çatallı (bifid) pelvis renalis de sık görülen bir durumdur (6,53,99).

2.1.6. Böbreğin damarları, lenf drenajı ve innervasyonu

2.1.6.1. Böbreğin damarları

A. renalis'ler her iki tarafta 1. ve 2. lumbal omurlar arasındaki discus intervertebralis hizasında dik açı ile aorta'dan ayrılır. Ancak böbreklerin pozisyonundan dolayı, sol arter sağ arterden biraz daha yukarıda bulunur, buna karşılık sağ arter daha uzundur ve v.cava inferior'un arkasından geçer. A. renalis'ler böbreğin hacmine göre kalın damarlardır. Bu da, kısa zamanda böbrekten fazla miktarda kanın geçmesini sağlar. Bu damarlar böbreğin hem fonksiyonel hem de besleyici damarlarıdır. A. renalis'ler hilum renalis'e gelince böbrek segmenti sayısınca (genellikle 5) dala ayrılırlar. A. segmentalis denilen bu dalların çoğu pelvis renalis'in ön tarafından geçer. Fakat bazen 1 veya 2 tanesi en arkadan geçebilir. A. segmentalis'ler sinus renalis'de tekrar dallarına ayrılarak calix renalis minor'ların çevresinde columna renalis'lere girerler. Böbrek lobları arasında uzanan bu dallara a. interlobaris denilir. A. interlobaris'ler kortikal ve medullar cevher hizasında yan tarafa kıvrılarak iki cevher arasında bir kavis şeklinde uzanırlar. A. arcuata denilen bu arterler, birbirleriyle anastomoz yapmazlar. A. arcuata'lardan dik olarak çıkan ince dallara, böbrek lobcukları

arasında uzanmaları nedeniyle, a. interlobularis adı verilir. A. interlobularis'lerden yan taraflara uzanan ince dallara ise arteriola glomerularis afferens denilir. Bunlar capsula glomerularis'in (Bowman kapsülü) damar kutbundan girerek içeride rete capillare glomerulare glomerulus denilen kılcal damar yumağını oluştururlar. Bu kılcal damar yumağı, tekrar birleşerek arteriola glomerularis efferens'i oluşturur. Bu da, arterin girdiği kutuptan çıkarak v. interlobularis'e açılır. V. interlobularis de arterleri takip ederek sırasıyla v. arcuata, v. interlobularis, v. segmentalis ve sonuçta v. renalis olarak v. cava inferior'a açılır. Her iki tarafta a.renalis'in önünde olan venlerden daha uzun olan sol v.renalis aorta abdominalis'in önünden, a.mesenterica superior'un ise arkasından geçer (6,53,99) (Şekil 3).

Arteriola glomerularis efferens, kortikal cevhere gelince tekrar kılcal dallara ayrılır. Bu kılcal damarlar menşecini nefrogen dokudan alan idrar kanalcıklarının etrafında rete capillare peritubulare corticale denilen bir ağ oluştururlar. Bu ağdaki kan konsantre olup yavaş seyrederek, idrar kanalcığındaki idrar ise fazla dilüedir. Suyun büyük bir kısmı ve bazı maddeler, bu ağ vasıtasıyla geri emilir.

Böbreğin medullar cevherini besleyen damarlar (vasa recta), kısmen arteriola glomerularis efferens'ten, kısmen de a. arcuata'dan çıkar. Bunlar pyramis renalis'in tepesine doğru uzanırlar. Medullar cevheri besleyen bu damarlar venula recta denilen venler aracılığı ile tekrar dönerek v. arcuata'ya açılırlar. A. interlobularis'lerin uç kısmından ayrılan ince dallar (Rr. capsulares) böbreğin dış yüzüne doğru uzanarak dışarı çıkar ve capsula fibrosa içinde bir ağ oluştururlar. Capsula fibrosa, böbrekten sıyrıldığı zaman bu damarlar kopar. Capsula fibrosa ve capsula adiposa'yı besleyen bu dalcıklar, a. suprarenalis, a. lumbalis ve a. testicularis'den gelen dalcıklarla anastomoz yaparlar. Bu dalcıkların getirdiği kanı drene eden venlere, v. capsularis denilir. Bu venler venula stellata'lara, bunlar da v. interlobularis'e açılırlar.

Böbrek hilusunda a. renalis'den ayrılan bir kısım dallar pelvis renalis, calix renalis ve capsula adiposa'yı besler. Bu dallar capsula adiposa'ya gelen dallarla anastomoz yapar.

Böbrekte arteriovenöz anastomozlar vardır. Bu tür anastomozlar calix renalis'ler civarında, a. ve v. interlobularis'ler arasında, kortikal cevherin ince damarları arasında tesbit edilmiştir. Bu anastomozlar sayesinde, herhangi bir nedenle glomerulustan geçemeyen kanın bir kısmı veya tamamı, süzülmezsizin doğrudan venöz sisteme geçebilir.

Kalbin attığı kanın yaklaşık 1/4'ü böbrekten geçer, diğer bir deyişle her bir böbrekten dakikada 1200 ml kan geçer. 24 saatte kandan 180 litre filtrat süzülür. Bunun %99'u geri emilir, geri kalanı da idrar olarak dışarı atılır (6).

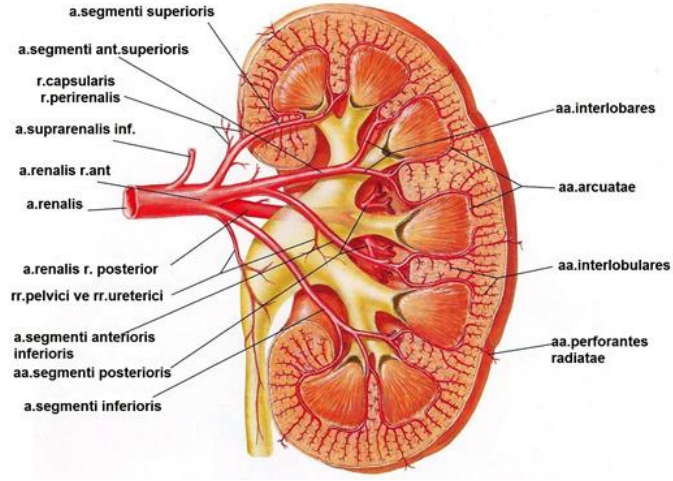
2.1.6.2. Lenf drenajı

Lenf damarları 3 pleksus oluşturur. Bunlardan birincisi tubulus renalis'lerin çevresinde, İkincisi fascia renalis'in altında, üçüncüsü de corpus adiposum pararenale'de bulunur. Birinci pleksustaki damarlar birleşerek 3-4 ana dal oluşturur. Hilum renale'den çıkarken diğer iki pleksus'un damarları ile birleşirler. Böbrekten çıkan lenf damarları v. renalis'i takip ederek aorta'nın yan tarafındaki nodi lymphatici lumbales (aortici laterales)'e açılırlar (6,53).

2.1.6.3. Sinirleri

Simpatik lifler n.splanchnicus minor, n. splanchnicus imus ve truncus sympathicus'un lumbal bölümünden, parasimpatik lifleri ise n. vagus'tan gelir. Bu lifler önce plexus coeliacus, daha sonra a. renalis etrafındaki plexus renalis aracılığı ile

böbreğe gelir. Bu plexus içinde birçok ganglion bulunur. Bunlardan en büyüğü a. renalis'in başlangıç kısmının ön tarafında bulunan, ggl. aorticorenale'dir. Bu lifler kan damarları ile tubulus renalis'in hücrelerine gider. Simpatikler damarları daraltarak, damardan geçen kanın miktarını azaltır, böylece kandan süzülen idrarın miktarını azaltmış olur. Ağrısı tüm bel bölgesinde duyulur. Kolik tarzda keskin ve batıcı bir ağrı şeklindedir (6,53,99).



Şekil 3: Böbrek damarlanması (95).

2.2. Böbrek Histolojisi

Böbrek yapısı çıplak gözle de görülebilen korteks ve medulla olmak üzere iki kısımdan oluşur. Korteks, kırmızımsı kahve renkte tanecikli görünümündedir. Daha düzgün gözlenen medulla, 8-20 arasında değişen sayıda medulla piramitleri denen koni şeklindeki yapılardan ibarettir. Medulla dokusu piramitlerin bu taban kısmından korteks

içine doğru ışınal uzantılar yapar. Medulla piramitleride korteks dokusunun medullaya yaptığı uzantılarla birbirinden ayrılmıştır (89) (Şekil 1).

Korteks ve medulla'ların düzenlenişi, böbreğin lop ve lopçuklar gibi daha küçük birimlere bölünebileceği şeklindedir. İnsan böbreği çok lobludur. Bazı türlerde (sıçan, tavşan) tek loblu (bir medulla piramidli) böbrek gözlenir.

Böbreğin yapısını, kılcal damarlardan kanı süzerek oluşturdukları idrar ile kandan zararlı metabolizma ürünlerini uzaklaştıran, idrarın yoğunluk ve yapısını değiştirmek suretiyle de organizmanın su ve elektrolit metabolizmasını, asit-baz dengesini ayarlayan birleşik tubuler bezler olarak kabul edebiliriz. İdrar tüpcükleri (uriniferöz tubul) denen bu tüpcükler böbreğin parankimasını oluşturur. İdrar tüpcükleri idrarı oluşturan nefron'lar ve nefron'un yaptığı idrarı pelvis renalis'e taşıyan toplayıcı kanallar olmak üzere iki kısımda incelenir (89).

2.2.1. Böbreğin nefron'ları

Böbreğin fonksiyonel birimi, nefron'dan ve nefron'un süzdüğü maddelerin boşalttığı toplayıcı kanaldan oluşan urinifer tubul'dur. Nefron sırasıyla iki bileşene ayrılır, böbrek cisimciği ve böbrek tubul'dür. Böbrek cisimciği, glomerular (Bowman) kapsül adı verilen epitelyal hücrelerin bir çift tabakası ile sarılı olan ve glomerulus olarak adlandırılan kapiller yumağından oluşur. Kapsülün iç visceral yaprağı, glomerular kapillerle komşu ve onu tamamen çevreleyen, ileri derecede farklılaşmış, dallanmış epitel hücreleri olan podositlerden oluşur. Kapsülün dış tabakası parietal tabakadır ve basit yassı epitel hücrelerinden oluşmuştur (95).

Böbrekte iki tip nefron vardır. Kortikal nefronlar böbreğin korteksine yerleşiktir. Jukstamedullar nefronlar böbreğin korteks-medulla sınırında yer alırlar. Tüm nefronlar idrar oluşum sürecine katılırlar. Jukstamedullar nefronlar böbrek medulla ara dokusunda

hipertonik bir çevre oluşturlar ve bu da konsantre (hipertonik) idrar yapımı için gereklidir (38).

Böbrek cisimciği her nefron'un ilk parçasıdır. Burada, kan glomerul kapillerleri boyunca süzülür ve oluşan filtrat glomerular kapsülün visceral ve parietal hücre tabakaları arasında yer alan kapsül boşluğu (idrar boşluğu) içine akar. Her böbrek cisimciği, glomerülün arteryel kan damarlarının girdiği ve çıktığı bir damar kutbuna sahiptir. Karşı sonlanma ise, proksimal kıvrıntı tubul'ün idrar kutbudur. Kanın süzülmesi glomerular endotel tarafından gerçekleştirilir. Bu endotel deliklidir (pencerelidir), kanda yer alan şekilli elemanlar ve plazma proteinleri dışındaki pek çok maddeye ileri derecede geçirgendir. Böylece kapsül boşluğuna giren glomerular filtrat, proteinlerin yokluğu dışında plazmaya benzerlik gösterir (95).

2.2.2. Böbrek tubul'leri

Glomerular filtrat böbrek cisimciğini terk eder ve toplayıcı tubul'lere ulaşmadan önce nefron'un farklı kısımları boyunca akar. Glomerular kapsülden başlayarak filtrat, ilk olarak glomerular kapsülden toplayıcı tubul'e uzanan böbrek tubul'üne girer. Böbrek tubul'u birkaç tane farklı histolojik ve fonksiyonel bölgeye sahiptir. Böbrek cisimciğinden başlayan böbrek tubul'ü ileri derecede kıvrımlı proksimal kıvrıntılı tubul'dür. Bu tubul kortekse yerleşiktir ve daha sonra medulla renalis'e inerek Henle kulpu ile devam eder. Henle kulpu proksimal kıvrıntılı tubul'ün kalın inen kısmını, ince bir inen ve ince bir çıkan parça ve distal kıvrıntılı tubul'ün kalın çıkan kısmını içerir. Distal kıvrıntılı tubul, proksimal kıvrıntılı tubul'den daha kısa ve daha az kıvrıntılıdır. Glomerular filtrat distal kıvrıntılı tubul'den toplayıcı tubul'e doğru akar. Toplayıcı tubul nefronun bir parçası değildir. Çok sayıda toplayıcı tubul birleşerek daha geniş, düz toplayıcı kanalları oluşturur, bunlar da içeriklerini foreman papillare'ler aracılığıyla

küçük kalikse boşaltır. Jukstamedullar nefron'larda Henle kulpu uzundur, böbrek korteksinden medullanın derinlerine iner ve tekrar kıvrılarak korteks içine yükselir (95).

2.2.3. Jukstaglomerular Aparatus

Böbrek cisimciği ve ve distal kıvrıntılı tubul komşuluğunda jukstaglomerular aygıt (aparat) olarak adlandırılan özel bir hücre grubu yer alır. Bu aparat jukstaglomerular hücrelerden ve macula densa'dan oluşmuştur. Jukstaglomerular hücreler, glomerul'ü oluşturmak üzere glomerular kapsüle girmeden hemen önce afferent arteriol'ün duvarında yerleşmiş bir grup farklılaşmış düz kas hücreleridir. Macula densa, jukstaglomerular hücrelere sahip olan afferent arteriol'e komşu distal kıvrıntılı tubul'ün değişime uğramış bir grup hücreleridir. Jukstaglomerular hücreler ve macula densa'lar tam bir böbrek fonksiyonu için fonksiyonel olarak bütünleşmişlerdir (95).

Medulla çok sayıda pyramis renalis içerir. Aynı zamanda medulla Henle Kulpunu (düz veya inen proksimal tubul'ler ince parçalar düz veya çıkan distal tubul'ler) ve toplayıcı tubul'leri içerir. Toplayıcı tubul'ler medulla'da birleşerek geniş papiller kanalları oluştururlar. Papilla genellikle basit prizmatik epitel ile örtülüdür. Bu epitel kaliks'in dış duvarında değişici epitel haline dönüşür. Epitelin altında ince bir bağ dokusu tabakası ve düz kas tabakası bulunur, daha sonra bu tabaka sinüs renalis'in bağ dokusu tabakası ile birleşir (95).

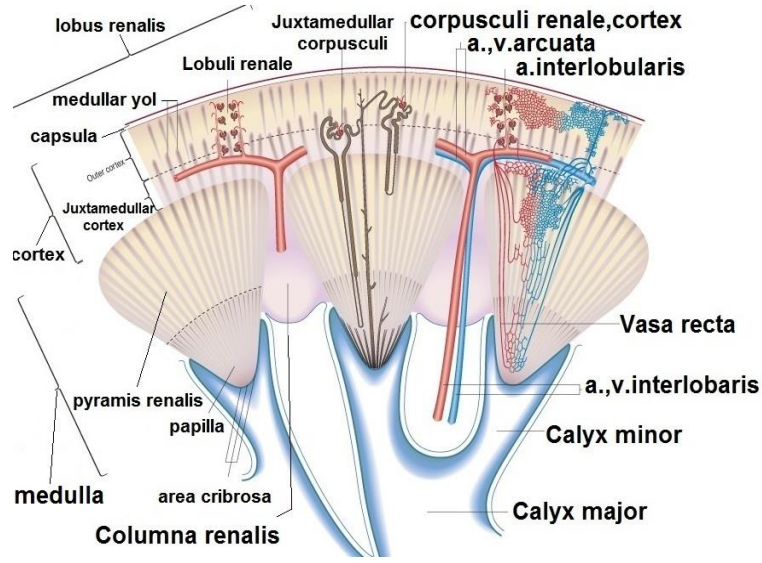
2.2.4. Vasa recta

Böbrek medulla'sının damarsal kaynağı büyük ölçüde artriola glomerularis efferens'ten köken alır. İnen vasa recta Henle kulpu'nun çıkan ve inen kollar ve toplayıcı kanalların kenarları boyunca böbrek medullasının değişen derinliklerine girer. Yan dallar, geri dönen çıkan vasa recta'yı v.interlobularis ve v.arcuata'lara bağlar (89).

2.2.5. Lop ve lopçuk arasındaki fark

Bir böbrek medulla piramiti, kenarlarından loplarası (interlobar) arterlerle sınırlandırılmış medullar bir yapıdır. Korteks-medulla kavşağı taban papilla ise pyramid'in tepesidir.

Bir böbrek lopçuğu, iki farklı yolla tanımlanabilen kortikal bir yapıdır. Böbrek lobçuğu, iki komşu çıkan a. interlobularis yan yana gelmiş korteks bölümüdür. Her interlobular arter, bir afferent glomeruler arteriol, bir kapiller ağ ve efferent glomeruler arteriol'den oluşan glomerul serileri oluşturur. Böbrek lobçuğu, tek bir toplayıcı kanal (Bellini kanalı) ve ona boşalan çevredeki nefronlardan oluşur. Nefronların düz parçalı, tek bir toplayıcı kanalla birlikte bir medulla uzantıları (Ferrein uzantısı) olarak adlandırılır. Bir medulla uzantısı lopçuğun eksenidir. Korteksin birçok lopçuk içerdiğine ve her lopçuğun bir tek medulla uzantısına sahip olduğuna dikkat etmek gerekir (16) (Şekil 4).



Şekil 4: Pyramis renalisler arasında lob ve lobcuklar ile birlikte a.,v. arcuata, vasa recta, a.interlobaris, a.interlobularis (16).

2.2.6. Podositler

Podositler, glomerular kapiller yüzeyini tümüyle çevreleyen uzun ve dallanan hücre uzantılarına sahiptir. Podositler ve pencereci endotel hücrelerin her ikisi ve bunların ilişkili olduğu bazal lamina glomerular süzme bariyerini oluşturur.

Aynı podosit'ten veya komşu podosit'lerden hücre uzantılarının sonlanmaları olan pedisel'ler, bazal laminayı kaplamak için birbirlerinin içine geçerler ve süzme yarıkları (filtration slits) olan boşluklar ile ayrılırlar. Süzme yarıkları, membranöz materyal olan filtrasyon yarığı diyaframı ile birbirlerine bağlanırlar. Pediseller, bazal laminaya integrin ile tutunurlar (16)

Süzme yarığı diyaframı, aktin filamentlerine (pedisel içinden) CD2AP proteini ile tutunan nefrin proteininden oluşur. Nefrin'in endotel pencerelerinden ve bazal laminadan moleküllerin geçişini geciktirdiği sanılmaktadır.

Glomerular süzme bariyerinin bileşenlerine ek olarak, plazma ultrafiltratındaki moleküllerin geçişini kontrol eden diğer sınırlayıcı faktör ise ebat ve elektrik yüküdür. 3.5nm den daha küçük ve pozitif yüklü veya nötr moleküller daha kolay süzülürler. Albumin (3.6 nm ve anyonik) zor süzülür (16).

2.2.7. Mezanjiyum

Mezanjiyum, glomerular kapillerler arasında bulunan mezanjiyal hücreler ve mezanjiyal matriksten oluşan glomerul içi (intraglomerul) bir yapıdır (Şekil 2).

Mezanjiyal hücreler, macula densa ile afferent ve efferent glomerular arteriol'lerle sınırlandırılan bir boşlukta glomerul dışında da toplanırlar (ekstraglomerular mezenjiyal hücreler intraglomerular mezenjiyal hücreler, ekstraglomerular mezenjiyal hücrelerle devam edebilir. Mezenjiyal hücreler, düz kas hücreleri ve makrofajların özelliklerine sahip özelleşmiş perisitlerdir. Mezenjiyal hücreler, (1) kasılabilen, (2) fagositik, (3) çoğalabilme yeteneğinde, (4) matriks ve kollagen sentezleyen ve (5) biyolojik olarak aktif maddeleri (prostoglandinlar ve endotelinler) salgılayan hücrelerdir. Endotelinler, afferent ve efferent glomerul arteriol'lerin kasılması ile uyarırlar. Mezenjiyal hücreler, glomerular süzme sürecine aşağıdaki şekillerde katılır (16).

1. Glomerular kapillerler için mekanik destek sağlayarak,
2. Fagositik aktiviteleri ile glomerular bazal lamina materyallerinin dönüşümünü kontrol ederek,
3. Kasılabilme aktiviteleri ile kan akışını düzenleyerek,
4. Prostaglandinleri ve endotelinleri salgılayarak,
5. Anjiotensin II'ye yanıt vererek.

Glomerular süzücüsü membran tamamen kapillerle çevrenmez. Süzen bariyerini geçemeyen immunoglobulinler ve komplement moleküller, mezanjiyal matrikse girebilirler. Matrikste immunoglobulin bileşiklerinin birikimi, glomerulus'un sonuçta tıkanmasına yol açan immün yanıtın tetikleyicisi olan sitokinlerin mezanjiyal hücrelerce üretimini artırır (16).

2.3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Hücrel yaşamın sürekliliği karmaşık biyokimyasal reaksiyonların denge içinde yürütmesi ile sağlanır. Özellikle oksijenin kullanımı sonrası endojen serbest oksijen türler meydana gelir. Eksojen kaynaklı faktörlere de bağlı olarak oluşabilen bu maddelere serbest Oksijen Radikalleri (SOR) denir.

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. 'Oksidatif stres' olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (22).

Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir. En önemlileri oksijenden oluşan serbest oksijen radikalleridir (SOR). Oksijen, süperoksit grubuna (O_2) bazı demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle indirgenir. Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit grubu, bakırlı bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığında hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene çevrilir. Süperoksit grubundan daha zayıf etkili olan H_2O_2 , dokularda bulunan katalaz, peroksidaz ve

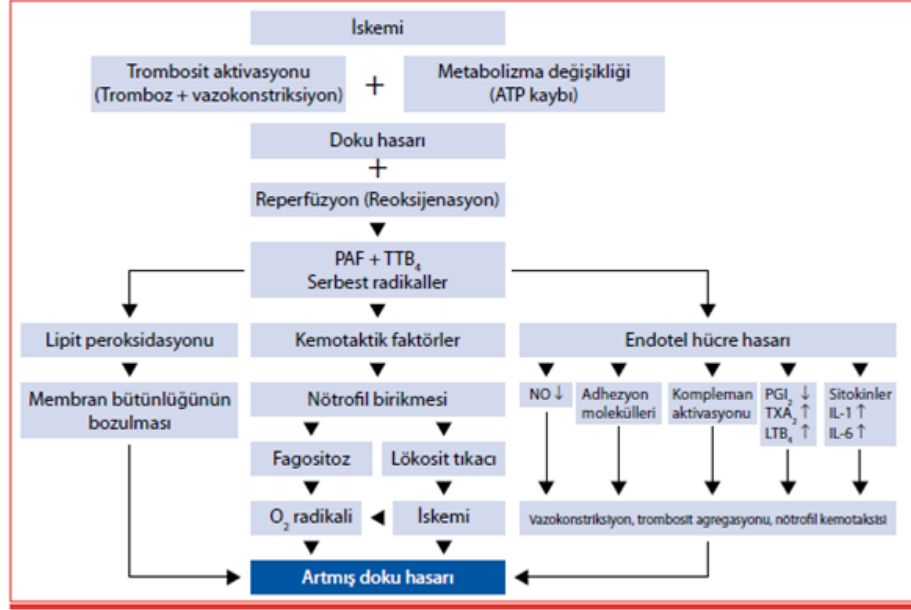
glutadyon peroksidaz (GPx) gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz kılınır. Dietilditiyokarbamat gibi süperoksit dismutazın etkinliğini engelleyen maddeler, süperoksit gruplarının zararsız hale getirilmesini sınırlandırırken, lipid peroksidasyonu hızlandırırlar. Ayrıca katalazın etkinliğini engelleyen maddeler (aminotriazol gibi herbisidler) de etkin oksijen gruplarına veya bu grupları oluşturan maddelere duyarlılığı artırır (4).

2.3.1. İskemi/Reperfüzyon hakkında genel bilgi

Bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle (özellikle vasküler cerrahi işlemler ve organ transplantasyonu esnasında) yetersiz hale gelmesine veya durmasına iskemi (yada lokal anemi) denir. İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskeminin uzun sürmesi sonucunda hücrelerin bütünlüğünün kaybolması söz konusudur. Bu durum hücresele ölüme kadar da gidebilmektedir. Reperfüzyon ise dokunun kanlanması yeniden başlamasıdır. Reperfüzyon, iskemik dokuda normal fonksiyonların eski haline gelmesine neden olmakta ancak bu durumla çelişkili bir şekilde bu sefer de reperfüzyon hasarını ortaya çıkarmaktadır (4,85) (Şekil 5).

İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda, özellikle dokuya gelip yerleşen polimorf nükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan SOR'lar dokudaki yıkımı artırıcı etki yapar. Bu olaya reperfüzyona bağlı doku hasarı denir. Serbest oksijen radikallerinin potansiyel zararlarına karşılık çok sayıda hücre bu duruma koruyucu enzimleri ile karşı koymaya ve antioksidan maddeler ile radikal hasarı sınırlandırmaya çalışır. I/R hasarının moleküler mekanizması tam olarak açıklığa kavuşmasa da, son zamanlarda yapılan çalışmalar, süperoksit (O⁻²), hidroksil ([•]OH), hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi Oksidatif oksijen türlerinin ve nitrik oksit (NO) ya da peroksinitrit (ONOO⁻) gibi Oksidatif nitrojen türlerinin hasar oluşumunda rol

oyunadığını düşündürmektedir (55). Bu radikal ürünler büyük ölçüde mitokondrionlardaki elektron taşıma zincirinden sızmakta ya da polimorf nükleer lökositler tarafından oluşturulmaktadır (4,84).



Şekil 5: İskemi'nin şematik olarak tarif edilmesi (84).

Her organda olduğu gibi böbrekler de enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemine sahiptir. Böbrek dokusunda I/R sırasında oluşan radikal ürünler endojen antioksidan kaynakların hızla tükenmesine yol açmaktadır. (SOD), (CAT) ve (GPx) böbrekte bulunan endojen enzimatik antioksidanlardır. Glutasyon (GSH), askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini), karotenler ve ubiquinol ise enzimatik olmayan antioksidanlardır (36). Bu enzimlerin yanı sıra manganez-SOD (Mn-SOD) enzimi de mitokondrilerdeki bulunan major antioksidan enzimlerden biridir. Bu enzim elektron taşıma zincirinden ortaya çıkabilecek O₂ radikallerinin dismutasyonunu katalizlemektedir. MnSOD'ın fazla eksprese edilmesinin kalp ve nöral (sinir) dokularında I/R hasarını önlediği gösterilmiştir.

Böbrekteki iskemik süreç proksimal tübül hücrelerinde hasara ve kortikal nekroz sonucunda böbrek yetmezliğine neden olmaktadır. Postiskemik reperfüzyonu takiben oluşan oksijen serbest radikallerinin akut böbrek yetmezliği patojenezinde ve transplantasyondan sonra gecikmiş graft fonksiyonunda önemli rolleri vardır. Reperfüzyonda hipoksantin, ksantin oksidaz tarafından ksantine çevrilir ve bu sırada moleküler oksijenin yıkım ürünü olarak superoksit radikali oluşur (17). Superoksit radikali ve onun yıkım ürünleri olan hidroksil radikali ile hidrojen peroksit mitokondrion, lizozom ve hücre zarı üzerinde lipid peroksidasyonu sonucu hücresel hasar meydana getirir. Hücre zarında lipid peroksidasyonu yoluyla meydana gelen hücre hasarı, permeabilite artışından hücre lizisine kadar değişebilir.

Serbest radikallerin zararlı etkileri, bazı maddeler tarafından azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır. Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde, antioksidanlar, oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve spesifik (enzimatik) olarak çalışırlar. Antioksidan savunmada öncelikle etkili olanlar enzimatik antioksidanlardır.

Günümüzde yapılan birçok çalışma, kalp, karaciğer, beyin, bağırsak ve böbreklerde I/R hasarının bazı antioksidanlar ile belli ölçülerde önlenebildiğini göstermektedir. Bu çalışmalarda, I/R hasarını önlemek için farklı antioksidanların serbest radikal tutucu özelliklerinden yararlanılmaktadır (4,20,29,37,68,69,78,94,)

2.3.2. Antioksidanlar

Organizmanın antioksidan savunma sisteminin dengede olması sağlıklı bir yaşam için çok önemlidir. SOR'ların oluşturduğu hasarı önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere görev yapan endojen veya eksojen kaynaklı enzim veya enzim olmayan ajanlara antioksidan madde denir. Organizmayı koruyan antioksidan savunma sistemi;

süpürücü etki, inaktif şekle dönüştürücü etki, zincir kırıcı etki ve onarıcı etki olmak üzere dört yolla etki gösterir. Glutasyonun (GSH) hücre, doku ve organ sistemlerinin bütünlüğünün yapısal ve fonksiyonel olarak korunmasında antioksidan bir molekül olarak önemi büyüktür. Aşırı oksidatif stres veya antioksidan potansiyelin yetersizliğinde gözlenen oksidatif hasar sonucu, GSH düzeyi azalmakta ve serbest radikal harabiyetine bağlı olarak, patolojik durumlar ortaya çıkmaktadır. GSH, kanser, yaşlanma, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde yer alması açısından önem taşımaktadır (22).

Dokularda, antioksidan enzim sistemleri; iki süperoksit dismutaz (CuZnSOD ve MnSOD), katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GPx) enzimleridir (85).

Antioksidanların tanımlanmasında ve etkilerinin ortaya konmasında I/R modelleri önemli katkı sağlamaktadır. Antioksidan özelliği öne sürülmüş maddelerden ikisi de melatonin ve pyrrolidine'dir.

2.3.3 Malondialdehit (MDA)

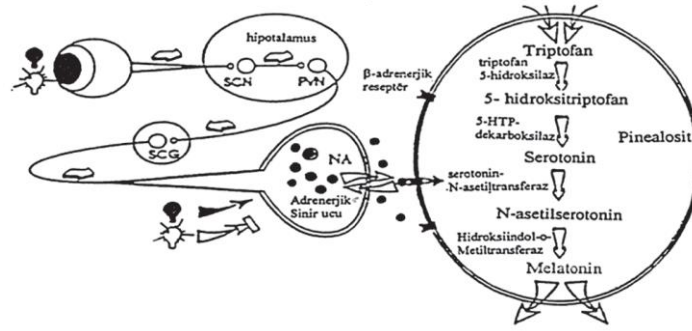
Serbest radikal hasarının sonuçlarından biri de lipid peroksidasyonudur. Biyolojik sistemlerde, poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu olarak bilinir ve bu olay birbirini izleyen zincirleme reaksiyonlar dizisidir. Üç aşamadan oluşur: Başlangıç (initiation), ilerleme (propagation) ve sonlanma (termination). Lipit peroksidasyonunun başlangıcı, Oksidatif bir bileşik tarafından poliansatüre yağ asitinin metilen grubundaki (-CH₂-) H atomunun koparılmasıdır. Hidrojen atomu koparılabilen Oksidatif bileşikler; hidroksil radikali (OH), alkoksil radikali (RO), peroksil radikali (ROO) ve hidroperoksit radikalleridir (HO₂). Hidrojen peroksit veya süperoksit radikalleri bu koparma işlemi gerçekleştiremezler. Yağ asitinde çift bağın varlığı, bitişiğindeki C-H bağı zayıflattığından buradan H. atomunun koparılması daha kolaydır. Bundan dolayı poliansatüre yağ asitlerine sahip membran lipitleri peroksidasyonuna özellikle

duyarlıdır. Oksidatif radikallerin bu saldırısı sonucu, yağ asit zincirinde bir çiftleşmemiş elektron yani lipit radikali oluşur. Karbon merkezli lipit radikali daha sonra moleküler düzenlemeyle konjuge dien oluşturur. Bunlarda oksijenle hızlıca reaksiyona girerek peroksil radikali oluşturur. Peroksil radikali, yalnız başına bitişik yağ asitinden H.kopararak karbon merkezli lipit radikali oluşturma kabiliyetindedir. Bu yüzden peroksil radikali oluştuktan sonra zincirleme reaksiyon başlar (chain propagation). Prensip olarak lipit peroksidasyonu, oksijen veya lipit substratların tüketilmesiyle sonlanır. Zincir sonlanma reaksiyonlarından bazıları şunlardır: Lipit radikali (L), alkoksil radikali (LO) ve peroksil radikalleri (LOO) arasında çapraz reaksiyonlarda mümkündür. Membranlarda meydana gelen lipit peroksidasyonu membran organizasyonunu bozarak hücrenin yaşamını tehdit eder. Biyolojik membranlarda meydana gelecek lipit peroksidasyonu; membran akışkanlığının kaybına, membran potansiyelinin düşmesine, iyonlara karşı geçirgenliğinin artmasına ve sonunda hücrenin bütünlüğünün bozularak ölümüne yol açar. Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olup, lipidlere ait peroksidasyonun belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir (56,25,100).

2.3.4. Melatonin'in genel özellikleri

Sağlıklı bir yaşam için vücudumuzun endojen savunma mekanizmalarını destekleyici bir yaşam şekli sürdürmemiz gerekmektedir. Bunun için akşamları çok geç olmadan yatmak ve tam karanlıkta uyumak oldukça önemlidir. Güneş batımından sonra ya da güneş doğmadan önce organizmanın ışıkla teması diğer bir deyişle karanlık periyotta yapay ışık uygulama memeli fizyolojisinde olumsuz etkiler doğurmuştur. Pineal bezin keşfi ile birlikte bu organın biyokimyasal ve sekretuar aktivitesinin aydınlık/karanlık çevre ile bağlantısı belirlenmiştir (Şekil 6). Dolayısıyla organizma günlük ve mevsimsel değişiklikleri oldukça düzenli bir ritim içinde (endojen sirkadiyen ve sirkanyen ritim) kontrol etmiştir (58,97).

Melatonin, memelilerin başlıca beyinde cerebral yarımküreler arasındaki pineal bezden ve ayrıca over, lens ve kemik iliği hücreleri ile safra ve gastrointestinal sistemden sentezlenip salgılanan bir hormondur. Retinada sentezlenen melatonin retinal pigment epitelyum fonksiyonunun ve fotoreseptörlerdeki gece-gündüz varyasyonuna karşı retinanın vereceği yanıtın düzenlenmesinde rol oynamaktadır (84).



Şekil 6: Memelilerde Melatonin'in beyinde cerebral yarımküreler arasındaki pineal bezden ve ayrıca over, lens ve kemik iliği hücreleri ile safra ve gastrointestinal sistemden sentezlenip salgılanması ve gece gündüz döngüsü (84).

Deride; pigment granüllerinin değişiminden ve derin dokuların güneşin zararlı radyasyonuna karşı korunmasından sorumlu olan melatonin, gastrointestinal kanalda enterokromofin hücrelerde sentezlenmekte ve postprandial olarak dolaşıma salıverilmektedir. Nitekim melatoninin postprandiyal plazma düzeyindeki artışlar öğün sonrası hipnotik etkisiyle ilişkisi doğrulamaktadır. Safrada sentezlenen melatonin ise okside kolesterol türevlerine ve safra asidine karşı safra yollarının mukozasını ve epiteli oksidatif hasara karşı korumaktadır (84).

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) sentezinde birinci basamak triptofanın pinealositler içine alınması ve orada pineal bir enzim olan N-asetiltransferaz (NAT) tarafından N-asetil serotoninine dönüştürülmesidir. N-asetil serotoninin melatonin dönüşümü diğer bir pineal enzim olan hidroksiindol-o-metiltransferaz (HIOMT) aracılığı ile olur. Sentezin düzenlenmesi primer olarak geceye, diğer bir deyişle karanlığa bağlıdır. Sentezlenen melatonin pineal bezin endokrin hücreleri olan pinealositlerden hızla salgılanmaktadır.

Salgılanma hızı 29 mg/gün dür. Sentezden sorumlu N-asetiltransferaz'ın aktivitesi dolayısıyla melatonin sentezi spesifik c-AMP bağımlı transkripsiyon faktörleri ve fotoperiyodik şartlar tarafından düzenlenir. Işık altında, retinadan başlayan nöronal impulslar, hipotalamusta suprachiasmatic nukleus (SCN) ve diğer hipotalamik yapılara aktarılır. Uyarı SCN ve periventriküler nukleus (PVN) aracılığı ile ggl. cervicale superiora geçer. İnsanda karanlığın başlaması ile postganglionik sempatik liflerden salıverilen noradrenalin esas olarak β_1 reseptörlere bağlanarak, depolardaki serotonin ve NAT'nin intrasellüler salıverilmesine neden olur. Nöronlarda ve pineal bezdeki biyokimyasal sinyallerin bu döngüsü insanda melatonin anabolizmasını hızlandırır ve aynı zamanda melatoninin gün içi ritme bağlı olarak sentez ve salıverilmesini oluşturur.

Bazı çalışmalarda ise melatoninin antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkisinin reseptör aracılı olmadığı ve bu etkilerin fizyolojik konsantrasyonların üzerinde olduğu bildirilmektedir (84). $\cdot\text{OH}$ radikalini nötralize edici etkisi glutatyondan 5 kat ve $\text{ROO}\cdot$ inaktivasyonunda ise E vitamininden 2 kat fazla etkilidir. Ancak melatoninin peroksil radikali üzerine olan etkisi tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar melatoninin, peroksil radikale karşı süpürücü etkisinin E vitamininden daha düşük olduğunu dolayısı ile lipoperoksil radikale karşı daha az nötralize edici etkisinin bulunduğunu belirtmişlerdir (2). Melatonin ayrıca inflamasyon reaksiyonları sırasında makrofajların aktivasyonu ile oluşan ve toksik bir oksijen türevi olan Hipokloröz Radikale karşı da süpürücü etki göstermektedir (84). Ancak melatoninin H_2O_2 ve $\cdot\text{O}_2$ radikalleri üzerine direkt süpürücü etkisi zayıftır. Melatoninin H_2O_2 ile reaksiyonu sonucu N1-asetil-N2-formil-5-metoksi knüramin (AFMK) olduğu, AFMK'nın ise katalazla N1-asetil-5-metoksi knüramin'e dönüştürüldüğü ve antioksidan etkiye sahip bu metabolitlerin melatoninin süpürücü etkisini artırdığı bildirilmiştir (2).

Melatoninin serbest radikaller üzerinde dolaylı etkileri de vardır. Melatonin, hidroperoksitleri metabolize eden GSH-Px enzimini aktive ederek, O_2 radikalini H_2O_2 'ye kataliz eden SOD aktivitesini artırarak, oksidatif stres esnasında katalaz aktivitesindeki azalmayı önleyerek ve NO oluşumundan sorumlu nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe ederek, antioksidan etki göstermektedir. Melatonin fizyolojik

konsantrasyonlarda serebellumda NOS aktivitesini baskılayarak nöral ve kardiyovasküler fonksiyonların fizyolojik düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Bu etkide melatoninin serbest radikal oluşumunu önleyici etkisine aracılık etmektedir. NO tek başına bir serbest radikaldir ve O₂ varlığında ONOO- oluşumunu artırır. Melatonin ile NOS aktivitesinin baskılanması NO oluşumunu azaltarak bu yolak üzerinden oksidatif hasarı azaltmaktadır. Melatoninin serbest radikaller üzerindeki süpürücü etkisi onun aynı zamanda güçlü bir antiinflamatuvar ajan olduğunu da açıklamaktadır (84).

2.3.5. Pyrrolidine'nin genel özellikleri

Kimyasal olarak (R1) (R2) N-C(S)-SR₃ fonksiyonel grupları ile bilinen ditiyokarbamatlar bazı sanayi kollarında ve tarımda pestisit olarak oldukça yaygın kullanılan maddelerdir. Bu kimyasal yapıya sahip olan maddelerden, dietilditiyokarbamat ve disülfiram halen tıpta kronik alkolizmin ve akut metal zehirlenmelerinin tedavisinde kullanılmaktadır (61). Ditiokarbamatlar, (pyrrolidine) antioksidan sınıfıdır. Ditiokarbamatın dietil derivelerinin (dietilditiokarbamat) metal şelasyonu özellikleri insanlardaki metal zehirlenmesinin tedavisi amacıyla yıllarca incelenmiştir. Dietilditiokarbamat insan immünyetmezlik virusü (HIV) ile enfekte olan bireylerde NF- κ B aktivasyon inhibisyonu yaparak edinilmiş immün yetmezlik sendromunun (AIDS) başlangıcını geciktirmek için kullanılmıştır (63,70). Bilinen ditiokarbamatlar arasında, en etkili NF- κ B inhibitörü ditiokarbamatların pyrrolidine türevleridir (pyrrolidine ditiokarbamat). Bu özelliği hücre membranlarından geçmesine ve fizyolojik pH'taki solüsyonlarda uzun stabilitesine bağlıdır. Ditiokarbamatlar tarafından NF- κ B aktivasyonunun düzenlenmesi ihtimali, bu ajanların I/R hasarı veya inflamasyon dahil olmak üzere böbrek hastalıklarında tedavi edici faydaları olduğunu düşündürmektedir. Pyrrolidine ditiokarbamat'nin (PDTC) zimosan ile indüklenen çoklu organ yetmezliği sıçan modellerinde, kronik inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir.

Kronik böbrek yetmezliği modellerinde, pyrrolidine ditiokarbamat ile NF- κ B aktivasyonunun inhibisyonu, adriamisin ile tetiklenen nefropati ve Heymann nefriti de dahil olmak üzere faydalı etkiler göstermektedir. Pyrrolidine ditiokarbamat aynı zamanda, anjiotensin II ile oluşan renal inflamasyonu ve proteinürik sıçanlardaki kortikal tubulointerstisyel hasarda NF- κ B aktivasyonu inhibisyonu ile düzelmeye sağlamaktadır. Son zamanlarda, farelerde zimosan ile tetiklenen çoklu organ yetmezliğinde pyrrolidine ditiokarbamatın in vivo modellerde böbrek yetmezliği gelişimini azalttığı gösterilmiştir. Son zamanlarda, NF- κ B aktivasyonunun pyrrolidine ditiokarbamat ile inhibisyonunun sıçanlarda kronik takrolimus (FK506) uygulanmasına bağlı nefropatiyi (tübül hasarı ve interstisyel fibrozis dahil) azalttığı gösterilmiştir. Pyrrolidine ditiokarbamatın; kronik ve akut inflamasyonda, kalp, akciğer ve kaslardaki I/R hasarını azalttığı bilinmektedir (5,33,61.)

PDTC'nin, NF κ B'nin inhibisyonuna neden olmasını açıklayan başka bir mekanizma ise onun NF κ B yolağında bir proteozom inhibitörü olarak davrandığının gösterilmiş olmasıdır (61). Günümüzde proteozom inhibitörleri apoptoza karşı koruyucu etkileriyle kanser tedavisi için ümit verici hedef haline gelmişlerdir. Diğer taraftan karaciğer hastalıkları da dahil olmak üzere immün ya da enflamatuar pek çok hastalığın patogenezinde rolü olduğu bilinen NF κ B aktivasyonu ile iNOS transkripsiyonu ilişkisini gösteren araştırmalar PDTC'nin başka bir özelliğine de dikkat çekmektedir (61). Bu, PDTC'nin patolojik süreçlerde aşırı artan NO üretimini iNOS ekspresyonunu engelleyerek azaltmasıdır (61).

Hücrelere kolaylıkla penetre olmasından dolayı hücre kültürü çalışmalarında oldukça yaygın kullanılan PDTC aynı zamanda NF- κ B için spesifik bir inhibitör olarak kabul edilmektedir. Çünkü PDTC'nin, insan lenfositik hücrelerinde ve fare fibroblastlarında IL-1, TNF, PMA, H₂O₂, LPS tarafından indüklenen NF- κ B aktivasyonunu inhibe ettiği deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (28). Yapılan araştırmalarda PDTC'nin NF κ B inhibisyonuna neden olması genellikle onun antioksidan özellikleriyle açıklanmaya çalışılmaktadır (54). Oysa bu etkide PDTC'nin prooksidan özelliklerinin de payı olabileceğini hatırlamak gerekir. Bu etki

ditiyokarbamatların ROT'lar ve nitrojen ile reaksiyonları sonucu oluşan tiüram disülfitlere bağlanmaktadır. Tiuram disülfiterinse GSH ve protein tiyollerin oksidasyonuna neden olduğu bilinmektedir. Bu bilgilere dayanarak PDTC'nin bazı transkripsiyon faktörlerinin kritik tiyol gruplarını okside ederek NF- κ B inhibisyonu oluşturabileceği sonucuna da varılabilir (61).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulunun 2011/227 Sayılı izni ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim dalı laboratuvarında deneysel aşaması tamamlanıp, doku ve kan alımı, yapıldıktan sonra. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi Biyoloji laboratuvarında biyokimyasal analizleri, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında böbrek dokularının histolojik takipleri yapıldı.

3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları

Çalışmada 250-300 gr. ağırlığında sprague Dawley cinsi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık döngü içerisinde su ve yem alımlarına dikkat edilen sıcaklığı sabit tutulan ($21^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$) hayvan saklama odasında 4-5 sıçan alabilen kafeslerde barındırıldı. Deney sürecinde tüm sıçanlar polikarbon şeffaf kafeslerde tek tek, standart sıçan yemi ile beslenerek çeşme suyu verildi.

3.2. Deney Grupları

Deneye tabi tutulacak sıçanlar rastgele seçimle her grupta n=8 olacak şekilde 5 grup oluşturuldu.

Grup 1 (Kontrol): Sağ nefrektomi yapıldı, 15 günlük iyileşme döneminin bitiminde 7 gün günde tek doz intraperitoneal olarak serum fizyolojik (SF) verildi. Anestezi altında kan ve dokuları alındı. Yüksek doz anestezi verilerek tenazi uygulandı.

Grup 2 (SF+I/R): Sağ nefrektomi yapıldı, 15 günlük iyileşme döneminin bitiminde 7 gün günde tek doz intraperitoneal olarak SF verildi. 45 dk. iskemi yapılıp 24 saatlik reperfüzyon sresinin bitiminde, anestezi altında doku ve kan alındı. Yüksek doz anestezi madde verilerek tenazi uygulandı.

Grup 3 (M+I/R): Sağ nefrektomi yapıldı, 15 günlük iyileşme döneminin bitiminde 7 gün günde tek doz intraperitoneal olarak Melatonin verildi. 45 dk. iskemi yapılıp 24 saatlik reperfüzyon sresinin bitiminde, anestezi altında doku ve kan alındı. Yüksek doz anestezi madde verilerek tenazi uygulandı.

Grup 4 (P+I/R): Sağ nefrektomi yapıldı, 15 günlük iyileşme döneminin bitiminde 7 gün günde tek doz intraperitoneal olarak Pyrrolidine verildi. 45 dk. iskemi yapılıp 24 saatlik reperfüzyon sresinin bitiminde, anestezi altında doku ve kan alındı. Yüksek doz anestezi madde verilerek tenazi uygulandı.

Grup 5 (MP+I/R): Sağ nefrektomi yapıldı, 15 günlük iyileşme döneminin bitiminde 7 gün günde tek doz intraperitoneal olarak Melatonin ve Pyrrolidine birlikte verildi. 45 dk. iskemi yapılıp 24 saatlik reperfüzyon sresinin bitiminde, anestezi altında doku ve kan alındı. Yüksek doz anestezi madde verilerek tenazi uygulandı.

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1. Melatonin

Sigma-Aldrich firmasından toz Melatonin (Sigma ALDRICH®) temin edildi. Etanol içinde çözdürüldü, % 1 etanol olacak şekilde SF eklendi (10 mg/ml). 10 mg/kg 7 gün/ günde tek doz intraperitoneal enjeksiyon ile verildi.

3.3.2. Pyrrolidine

Pyrrolidine ditiokarbamat (PDTC) (Sigma-Aldrich®; İsviçre) SF içerisinde çözdürülerek (100mg/ml) 100 mg/kg 7 gün/günde tek doz intraperitoneal enjeksiyon ile verildi.

3.3.3. Serum fizyolojik (SF)

Çözeltilerin hazırlanmasında, grup 1 ve grup 2 de % 0.09 NaCl İzotonik sodyum klorür (Eczacıbaşı-Baxter®) kullanıldı.

3.3.4. Anestezikler

Tüm cerrahi işlemler ve ötenazi anestezi altında gerçekleştirildi.

3.3.4.1. Ketamin

50 mg/kg intraperitoneal (Ketalar®) olarak verildi

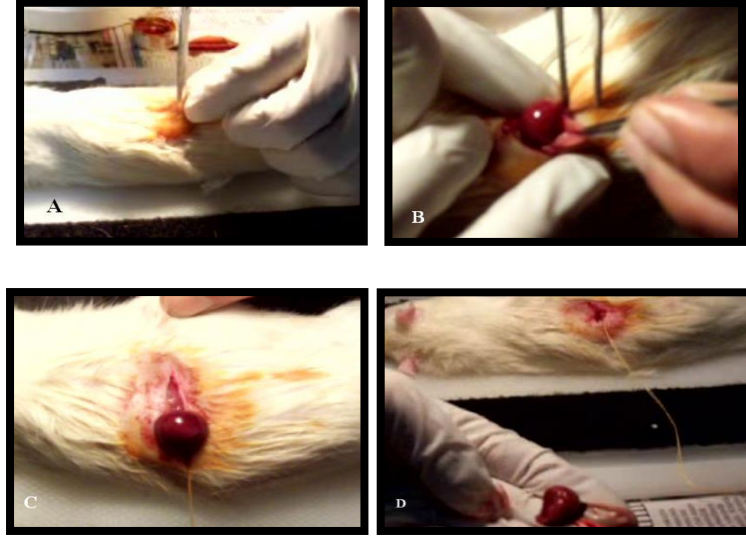
3.3.4.2. Xylazine

10 mg/kg İntraperitoneal Xylazine (Rhompun ®) olarak verildi

3.4. Cerrahi İşlemler

3.4.1. Nefrektomi

Cerrahi işlem Anatomi laboratuvarında mevcut olan Zeiss mikroskop ile gerçekleştirildi (Şekil 7). Anestezi altında ratlar supin pozisyonda tesbit edilerek lomber bölgeden transvers istikamette kesilerek açıldı.

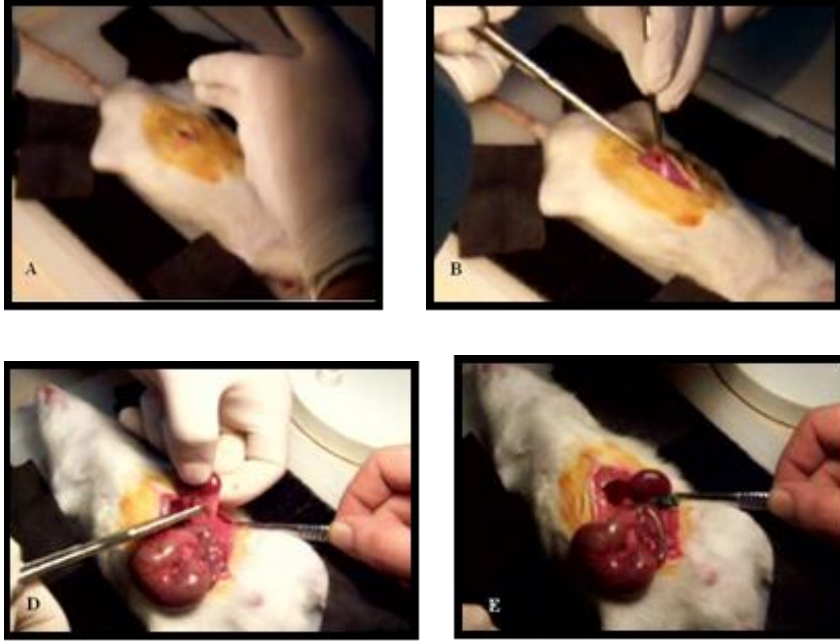


Şekil 7: Anestezi altında supin pozisyonda, lomber bölgeden kesilerek böbreğin bulunması ve Nefrektomi yapılıp kapatılması

Eksizyon sırasında meydana gelen kanamaların stazı sağlanarak, intraperitoneal organlar steril bir spancın üzerine yatırıldı ve işlem boyunca nemli kalması sağlandı. Daha sonra retroperitoneal olarak sağ böbreğe ulaşılarak; a.v. subrenalis, a.v. renalisler, üreter çift taraflı 9/0 ipek iplikle proximal ve distalden arada mesafe konularak bağlandı. Anatomik yapıları bağlama sırasında mikroforsepsler kullanıldı. Sonra mikromakasla arada kalan damar ve üreter kesilerek böbrek serbestleştirildikten sonra nefrektomi işlemi gerçekleştirildi. Nefrektomiden sonra organlar tekrar abdomen içine yerleştirilerek kanama kontrolü yapılarak cilt altı ve cilt 3/0 katkutte kapatıldı.

3.4.2. İskemi / Reperfüzyon

Anestezi altında median insizyon ile abdominal kaviteye girildi (Şekil 8). I/R oluşturmak üzere sol böbreğe ulaşıldı, sol arteria renalis'in klempilmesi ile 45 dakikalık iskemi



Şekil 8: Anestezi altında median insizyon ile abdominal kaviteye girilip böbrek bulunduktan sonra 45 dk. İskemi yapılması

oluşturuldu. Sürenin dolması ile klemp açıldı 24 saat reperfüzyon sağlandı (Şekil 9). Cilt altı doku ve cilt kapatıldı. Sıçan tek olarak kafese yan yatırıldı, başının altı ve sırt bölgesi talaş ile desteklenerek ayılması beklendi.



Şekil 9: Anestezi 45 dk. İskeminin ardından klemp'in alınması ve 24 saatlik reperfüzyonun başlaması. Cilt altı ve cildin kapatılması.

3.5. Kan Alımı ve Biyokimyasal Analiz

Anestezi altında karın ön duvarı ve diaphragma açılarak kalbe ulaşıldı, apeks'ten 3-4 ml kan, EDTA lı tüplere (BD Vacutainer K3E 7,5% 0.040 ml) alınıp 6000 rPm 10 dakika santrifüj edildi.

3.5.1. Örneklerin hazırlanması

Kanlar 2 ml'lik EDTA'lı tüplerde + 4⁰ C da saklandı.

3.5.1.1. Eritrosit hemolizatlarının hazırlanması

Eritrosit hemolizati hazırlanması için Sun ve arkadaşlarının 1988'de tariflediği metot kullanıldı (80).

- 1) 2 ml lik EDTA'lı CBC tüpüne 2 ml kan alındı.
- 2) +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 3) Plazma ve lökosit ayrıldı. Tüpte eritrosit peleti bırakıldı.
- 4) Eritrosit peleti kadar serum fizyolojik eklendi.
- 5) +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 6) Supernatant atıldı.
- 7) Geride kalan pelet hacmi kadar serum fizyolojik eklendi.
- 8) +4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 9) Supernatant atıldı.

- 10)Geride kalan pelet hacmi kadar serum fizyolojik eklendi.
- 11)+4°C de 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 12)Supernatant atıldı.
- 13)Geride kalan pelet hacmi kadar distile su eklendi.
- 14)+4°C de 5000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi.
- 15)Supernatant alındı ve SOD, MDA, katalaz ölçümü yapılarına kadar -85°C de muhafaza edildi.

3.5.2. Superoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ölçümü

SOD aktivitesi WST (water-soluble tetrazolium salt) reaksiyonuna dayanan "Sigma SOD Determination Kit (Cat. No:19160)" ile belirlendi.

3.5.2.1. Ölçüm yöntemi

- 1) 20 µl örnek, tüm örnek ve blank 2 kuyucuklarına eklendi ve 20 µl ddH₂O blank 1 ve blank 3 kuyucuklarına eklendi.
- 2) 200 µl WST solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi ve karıştırıldı.
- 3) 20 µl Dilüsyon Buffer tüm blank 2 ve blank 3'lere eklendi.

- 4) 20 µl Enzim Çalışma Solüsyonu tüm blank 1'lere eklendi ve karıştırıldı.
- 5) 37 °C'de 20 dk. inkübe edildi.
- 6) 450nm'de Elisa okuyucu ile absorbans değerleri okundu.
- 7) SOD aktivitesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı.

SOD aktivitesi; (% inhibisyon oranı) = $\frac{[(A_{\text{blank 1}} - A_{\text{blank 3}}) - (A_{\text{örnek}} - A_{\text{blank 2}})]}{(A_{\text{blank 1}} - A_{\text{blank 3}})}$ formüle göre hesaplandı.

3.5.3. Malondialdehit (MDA) düzeyi ölçümü

Lipit peroksidasyonu son ürünlerinden bir tanesi olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna dayanılarak ölçülmüştür (93).

3.5.3.1. Çözeltiler

- 1) % 1 Fosforik asit çözeltisi: 1 ml fosforik asit, distile su ile 100 ml ye tamamlandı.
- 2) % 0.6 TBA (Tiyobarbitürik Asit) çözeltisi: 6 g TBA 1000 ml suda çözüldürüldü.

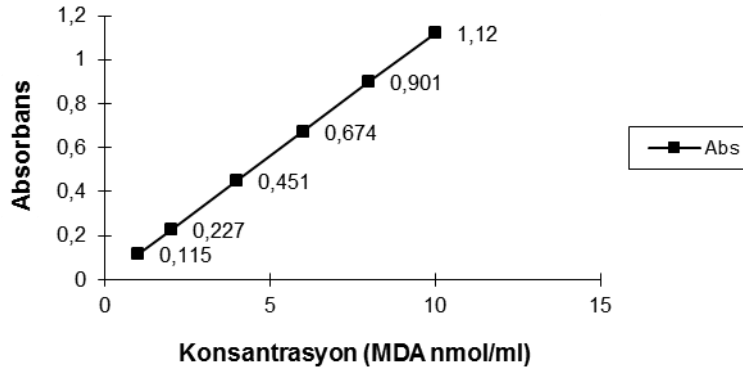
3.5.3.2. Spektrofotometrede okuma

- 1) Her ölçümde bir kör ve örnek tüpleri hazırlandı.
- 2) Kör tüpüne; 0.5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi, örnek tüpüne; 0.5 ml hemolizat, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi.
- 3) Kör ve örnek tüpleri bir beherde su içinde 45 dakika kaynatıldı.
- 4) Tüpler soğuduktan sonra içlerine 4 ml butanol ilave edildi.
- 5) 3500 rpm'de 10 dak santrifüj edildi.
- 6) Ölçüm için süpernatant alındı
- 7) Spektrofotometre 532 nm'de distile su ile sıfırlandıktan sonra kör ve örnek tüplerinin absorbansları okundu.

3.5.3.3. Sonucun hesaplanması

- 1- Konsantrasyonların belirlenebilmesi için; lipit peroksit standard (1.1.3.3. tetraetoksipropan) 1, 2, 4, 6, 8, 10 nmol/ml de hazırlandı.
- 2- Standart eğrisinin hazırlanması:
 - Kör tüpüne; 0.5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi konuldu.

-Standart tüplerine; 0.5 ml farklı konsantrasyonlarda standart, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi ve absorbanslar okundu. Okunan absorbanslarla, konsantrasyon değerleri milimetrik kağıt üzerinde karşılaştırılarak standart eğrisi çizildi (Şekil 14). Standart eğrisinde, spektrofotometreden okunan absorbans değerine karşılık gelen konsantrasyon değerleri okundu.



Şekil 14: MDA standart eğrisi

3.5.4. Katalaz (KAT) aktivitesi ölçümü

Katalaz aktivitesi, amonyum molibdatla stabil bir kompleks oluşturan hidrojen peroksidin spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi temeline dayanılarak ölçümler gerçekleştirildi (23).

3.5.4.1. Çözeltiler

- 1) Substrat solüsyonu: %30 H₂O₂ den 8.11 ml alınıp, fosfat tamponu ile 1000 ml ye tamamlanıp pH 7.4 ayarlandı.
- 2) 32.4 mmol/l amonyum molibdat ((NH₄)₆Mo₇O₂₄ 4H₂O) çözeltisi: Bunun için, 8 g amonyum molibdat 200 ml distile suda çözülerek hazırlandı. Her zaman taze olarak kullanıldı ve kısa süreli beklemelelerde çökelti oluşmuşsa vorteksten geçirildi.
- 3) Tampon çözeltisi:
 - A) 4.08 g KH₂PO₄ alınarak 500 ml distile suda çözüldü.
 - B) 8.04 g Na₂HPO₄ alınarak 500 ml distile suda çözüldü.

Daha sonra (A) çözeltisinden 3.3 ml alınarak (B) çözeltisi ile 100 ml ye tamamlandı ve pH=7.4'e ayarlandı.

3.5.4.2. Spektrofotometrede okuma

- 1) Her bir örnek tüpü için bir kör tüpü (blank 1, B1) hazırlandı ve tüpler numaralandırıldı.
- 2) Kör (B1) tüplerine; 37 °C de su banyosu için 1 ml substrat ve 0.2 ml hemolizat ilave edilerek başlatılan reaksiyon, anında 1 ml amonyum molibdat çözeltisi ilavesiyle reaksiyon durduruldu.

- 3) Örnek tüplerine ise; 1 ml substrat ve 0.2 ml hemolizat konarak, 37 °C de 60 saniyelik inkübasyon süresince devam eden reaksiyon yine 1 ml amonyum molibdat çözeltisi ilavesiyle durduruldu.
- 4) Örnek tüplerinin inkübasyonu için 60 saniyelik bekleme süresi içinde blank 2 (B2) ve blank 3 (B3) tüpleri hazırlandı.
- 5) Blank 2 tüpüne; 1 ml substrat, 1 ml molibdat ve 0.2 ml tampon ilave edildi.
- 6) Blank 3 tüpüne; 1 ml tampon, 1 ml molibdat ve 0.2 ml tampon, ilave edildi.
- 7) Spektrofotometrede 405 nm de distile suya karşı B2 ve B3 tüplerindeki solüsyonun değerleri okundu, sonra kör (B1) tüpleri ve arkasından örnek tüpleri okundu.

3.5.4.3. Sonucun hesaplanması

Spektrofotometrede okunan değerler, aşağıdaki formüle uygulandı ve sonuçlar;

$$\text{Katalaz aktivitesi} = \frac{\text{Örnek} - \text{Blank 1 (B}_1\text{)}}{\text{Blank 2 (B}_2\text{)} - \text{Blank 3 (B}_3\text{)}} \times 271 = \text{KÜ/l olarak}$$

bulundu.

3.5.5. Glutasyon peroksidaz (Gpx) aktivitesi ölçümü

Gpx aktivitesi Cayman Chemical, 703102 katalog numaralı Glutathione Peroxidase Assay Kit ile ölçüldü.

3.5.5.1. Ölçüm yöntemi

- 1) Non-enzimatik kuyucuklar: 120 µl Assay buffer ve 50 µl co-substrat karışımı eklendi.
- 2) Pozitif kontrol kuyucuğu: 120 µl Assay buffer, 50 µl co-substrat karışımı ve 20 µl dilüe Gpx kontrol eklendi.
- 3) Örnek kuyucuğu: 120 µl Assay buffer, 50 µl co-substrat karışımı ve 20 µl örnek eklendi.
- 4) Tüm kuyucuklara 20 µl Cumene hydroperoxide eklenerek reaksiyon başlatıldı.
- 5) Plate birkaç saniye dikkatli bir şekilde çalkalandı ve karıştırıldı.
- 6) 340 nm'de 5 dk boyunca her dakikada 1 kere okundu.

3.5.5.2. Hesaplama

1) 340nm'deki ortalama absorbans hesaplandı.

$$\Delta A_{340}/\text{min.} = \frac{*| A_{340} (\text{Time 2}) - A_{340} (\text{Time 1}) |}{\text{Time 2 (min.)} - \text{Time 1 (min.)}}$$

2) Gpx aktivitesi hesaplandı.

$$\text{GPx activity} = \frac{\Delta A_{340}/\text{min.}}{0.00373 \mu\text{M}^{-1}} \times \frac{0.19 \text{ ml}}{0.02 \text{ ml}} \times \text{Sample dilution} = \text{nmol/min/ml}$$

3.6. Doku Alımı ve Histolojik İnceleme

Karın açıldıktan sonra alınan sol böbrek, serum fizyolojik bulunan kaplara alınarak yıkandı. Longitudinal olarak ikiye ayrılan dokular histolojik inceleme yapılmak üzere %10 'luk tamponlanmış formaldehit solüsyonlu kaplara alındı ve ağzı sıkıca kapatıldı.

3.6.1. Böbrek için histolojik doku takibi

Sırasıyla aşağıdaki protokole göre takip yapıldı.

- %10'luk formaldehit solüsyonda : 48 saat
- 70° lik Alkol : 1 saat
- 80° lik Alkol : 1 saat
- 90° lik Alkol : 1 saat
- 96° lik Alkol I : 30 dakika
- 96° lik Alkol II : 30 dakika
- Ksilol I : 15 dakika
- Ksilol II : 15 dakika
- Parafin I : 45 dakika
- Parafin II : 1 saat
- Parafin III : 1 saat

3.6.2.Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi (H&E)

Parafin bloklardan alınan 5 µm'lik kesitler Hematoksilen-Eozin yöntem ile boyandı.

- Ksilol I : 20 dakika
- Ksilol II : 20 dakika
- 96° lik Alkol I : 5 dakika

- 96° lik Alkol II : 5 dakika
- 90° lik Alkol : 5 dakika
- 80° lik Alkol : 5 dakika
- 70° lik Alkol : 5 dakika
- Distile su : 5 dakika
- Hematoksilen : 2 dakika
- Yıkama (akar suda) : 5 dakika
- Eozin : 5 dakika
- 70° lik Alkol : 3 dakika
- 80° lik Alkol : 3 dakika
- 90° lik Alkol : 3 dakika

3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızın sonucunda elde edilen verilerin değerlendirmesinde “SPSS 18.0 for Windows” paket programı yardımı ile one way ANOVA, Tukey testi kullanıldı. Grupların arasındaki farklılıklar değerlendirildi.

Tüm analizlerde $p < 0,05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

Tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA), birden fazla grubun olduğu durumlarda bir değişkenle yöntemler arasında etkililik yönünden bir fark olup olmadığını belirlemek için tek yönlü varyans analizi kullanıldı. İki den çok bağımsız

grup verilerinin değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Buradaki tek yön ifadesi, grupları birbirinden ayıran tek özellik olduğu, ya da grupların tek değişkeninin değerleri ile ayrıldığı anlamına gelir.

Güvenilirlik analizi olarak ölçeğin toplanabilir ölçek tipinde hazırlanıp hazırlanmadığını test etmek için kullanılan yönteme Tukey testi denir.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Analiz Bulguları

Kanda MDA, SOD, GPx, CAT değerleri (ortalama±standart sapma) Tablo 1’de verildi.

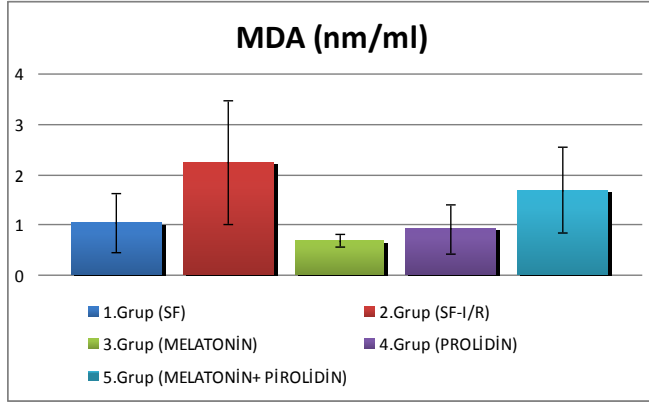
Tablo 1: Kanda MDA, SOD, GPx, CAT düzeyleri (ortalama±standart sapma)

Grup	MDA (nm/ml)	SOD (% inhibisyon)	GPx (nm/min/ml)	CAT (KU/ml)
KONTROL	1,08±0,60	80,94± 10,90	17,90±6,04	9,56±4,00
SF+I/R	2,24 ±1,23 [∞]	94,06±4,04 [∞]	7,20±4,91	8,58±1,80
M+I/R	0,67±0,13 ^{**}	89,61±7,89	14,85±6,10	7,77±2,50
P+I/R	0,91±0,49 [*]	94,13±4,86	19,34±9,80 [*]	10,68±2,70
MP+I/R	1,69±0,86	80,43±11,40 [*]	21,41±9,12 ^{**}	10,89±2,30

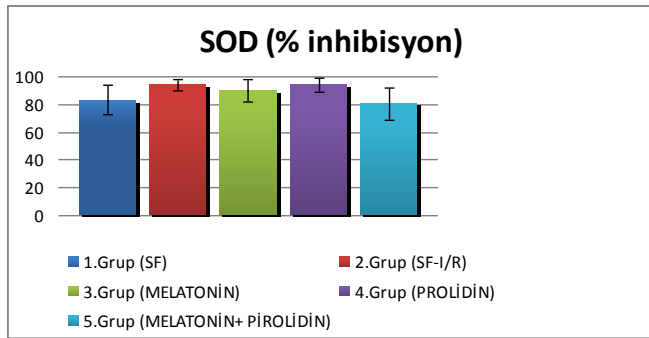
*p<0,05 , ** p<0,01 (I/R ile karşılaştırıldığında)

∞ p<0,05 (kontrol ile karşılaştırıldığında)

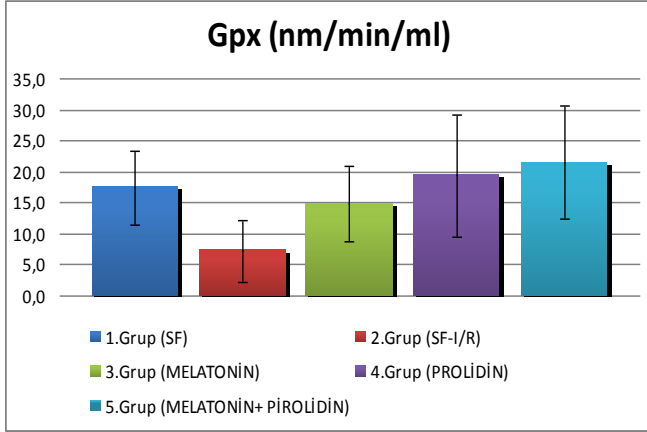
MDA ve antioksidan enzim düzeylerinin dağılım grafikleri şekil 10-13'te verildi.



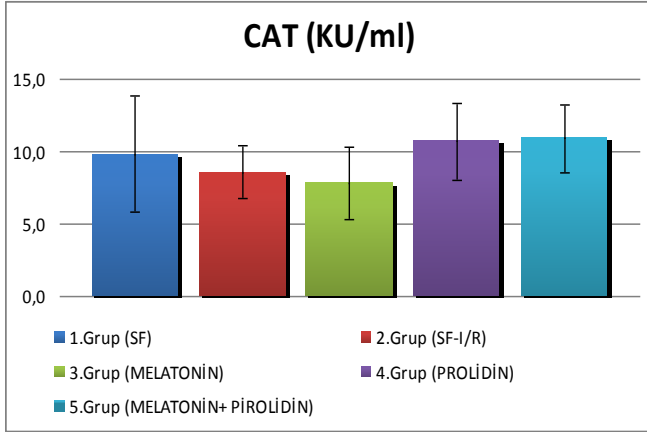
Şekil 10: Gruplara ait MDA düzeylerinin dağılımı



Şekil 11: Gruplara ait SOD düzeylerinin dağılımı



Şekil 12: Gruplara ait GPx düzeylerinin dağılımı



Şekil 13: Gruplara ait CAT düzeylerinin dağılımı

İstatistiksel olarak kan biyokimyasal analiz bulguları değerlendirildiğinde (Şekil 10-13);

MDA DÜZEYİ: I/R'de artmış ($p=0,02$), Melatonin ve Pyrrolidine verilen gruplarda I/R grubu ile karşılaştırıldığında azalmıştır ($p=0,002$, $p=0,01$).

SOD DÜZEYİ: I/R'de artmış ($p=0,02$), Melatonin+Pyrrolidine verilen grupta azalmıştır ($p=0,02$).

GPx DÜZEYİ: Pyrrolidine verilen ve Melatonin+Pyrrolidine verilen gruplarda artmıştır ($p=0,02$, $p=0,005$).

4.1.1. Herbir hayvana ait biyokimyasal analiz değerleri

Herbir hayvana ait biyokimyasal analiz değerleri Tablo 2-6'da verildi.

Tablo 2: Kontrol grubundaki herbir hayvana ait olan kan biyokimyasal analiz değerleri

KOD	MDA	SOD	GPx	KATALAZ
	(nm/ml)	(%inhibisyon)	(nm/min/ml)	(kū/ml)
S 37	0,5964	81,9346	12,5469	7,7393
S 38	1,0807	77,1160	15,0938	13,5744
S 39	1,5579	71,0031	28,0161	5,5542
S 40	1,2772	61,91223	24,9955	12,4025
S 41	0,4772	68,9655	17,8284	4,8951
S 42	0,0912	90,4389	15,2815	15,7595
S 43	1,8561	99,2163	10,8490	7,2755
S 44	1,3333	83,0721	14,4325	11,5480
ORT	1,0780	80,9429	17,9019	9,5555
Std(±)	0,5736	12,4572	5,8655	3,8447

Tablo 3: SF+I/R grubundaki herbir hayvana ait olan kan biyokimyasal analiz değerleri

KOD	MDA	SOD	GPx	KATALAZ
	(nm/ml)	(%inhibisyon)	(nm/min/ml)	(kū/ml)
S27	1,6421	98,4326	17,8284	7,7882
S 28	2,9263	93,9812	10,1877	9,4606
S 29	2,7158	96,5517	5,0938	10,2052
S 32	1,0105	86,3636	5,0938	6,5797
S 33	1,0246	95,9247	3,3959	6,8971
S 34	3,7719	93,7304	2,5469	8,4840
S 35	0,9544	97,3354	7,5424	7,5685
S 36	3,8561	90,1254	5,9428	11,6700
ORT	2,2377	94,0556	7,2040	8,5817
Std(±)	1,2338	4,0420	4,9075	1,7508

Tablo 4: M+I/R grubundaki herbir hayvana ait olan kan biyokimyasal analiz değerleri

KOD	MDA	SOD	GPx	KATALAZ
	(nm/ml)	(%inhibisyon)	(nm/min/ml)	(kū/ml)
S 1	0,8281	92,4765	11,0366	8,1544
S 2	0,6797	89,6059	14,8500	7,7741
S 3	0,5895	94,6709	7,6408	8,6183
S 4	0,6316	96,2382	16,8811	7,9957
S 5	0,9123	84,9530	17,6408	8,5450
S 6	0,7018	73,0094	9,3387	3,1128
S 7	0,5614	97,3354	27,1671	11,9630
S 8	0,5333	88,5579	14,2448	6,0303
ORT	0,6797	89,6059	14,8500	7,7742
Std(±)	0,1429	7,8905	6,1048	2,5019

Tablo 5: P+I/R grubundaki herbir hayvana ait olan kan biyokimyasal analiz değerleri

KOD	MDA	SOD	GPx	KATALAZ
	(nm/ml)	(%inhibisyon)	(nm/min/ml)	(kū/ml)
S 9	0,5895	97,6489	13,5836	14,2336
S 10	0,5614	94,6709	9,3387	10,5104
S 11	0,5754	91,3793	29,7140	8,2521
S 12	0,6877	94,6709	22,6363	6,6163
S 13	0,7158	97,0219	12,5469	10,5958
S 14	0,8280	97,0219	16,7918	11,7555
S 15	1,9368	83,2602	37,3547	9,1798
S 16	1,3860	97,33542	12,7346	14,2824
ORT	0,9101	94,1262	19,3375	10,6783
Std(±)	0,4944	4,8652	9,8013	2,7112

Tablo 6: MP+I/R grubundaki herbir hayvana ait olan kan biyokimyasal analiz değerleri

KOD	MDA	SOD	GPx	KATALAZ
	(nm/ml)	(%inhibisyon)	(nm/min/ml)	(k/ml)
S 18	0,9263	96,5517	17,8284	11,9264
S 19	3,1579	69,9060	35,9428	11,9875
S 20	1,3333	68,6520	32,1627	8,6061
S 21	2,5544	74,4514	15,2815	14,3557
S 22	0,9263	83,5423	20,3753	8,8868
S 23	0,8982	95,7680	12,7346	11,8898
S 25	1,4877	69,9060	11,0366	7,5318
S 26	2,2035	84,6395	25,9428	11,9508
ORT	1,6860	80,4271	21,4130	10,8919
Std(±)	0,8558	11,4551	9,1159	2,2966

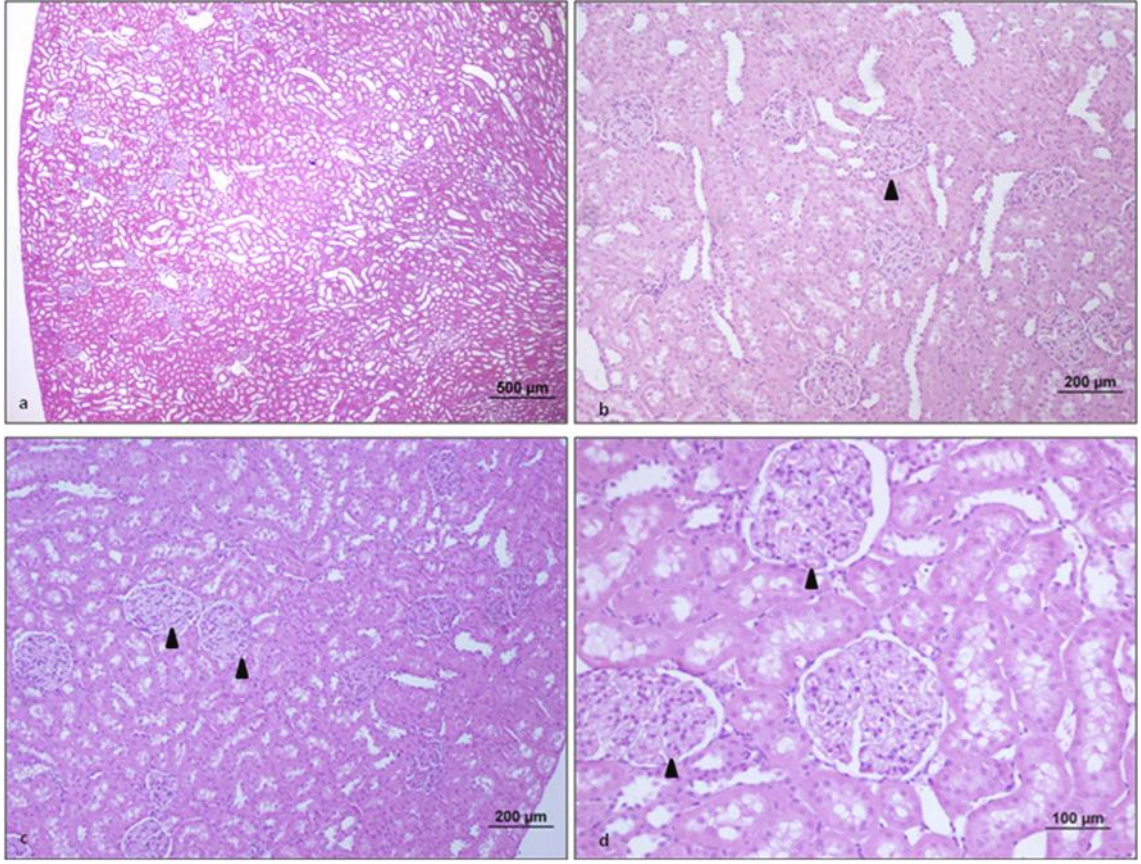
4.2. Histolojik Bulgular

Işık mikroskopik olarak kontrol ve deney gruplarını oluşturan sıçan böbreklerinde görünümü belirlemek için Hematoksilen-Eozin (H-E) boyası kullanılmıştır. Gruplara ait böbrek kesitleri ışık mikroskopta incelendiğinde, I/R hasar yoğunluğunun hayvan sayısına göre dağılımı tablo 7’de verilmiştir.

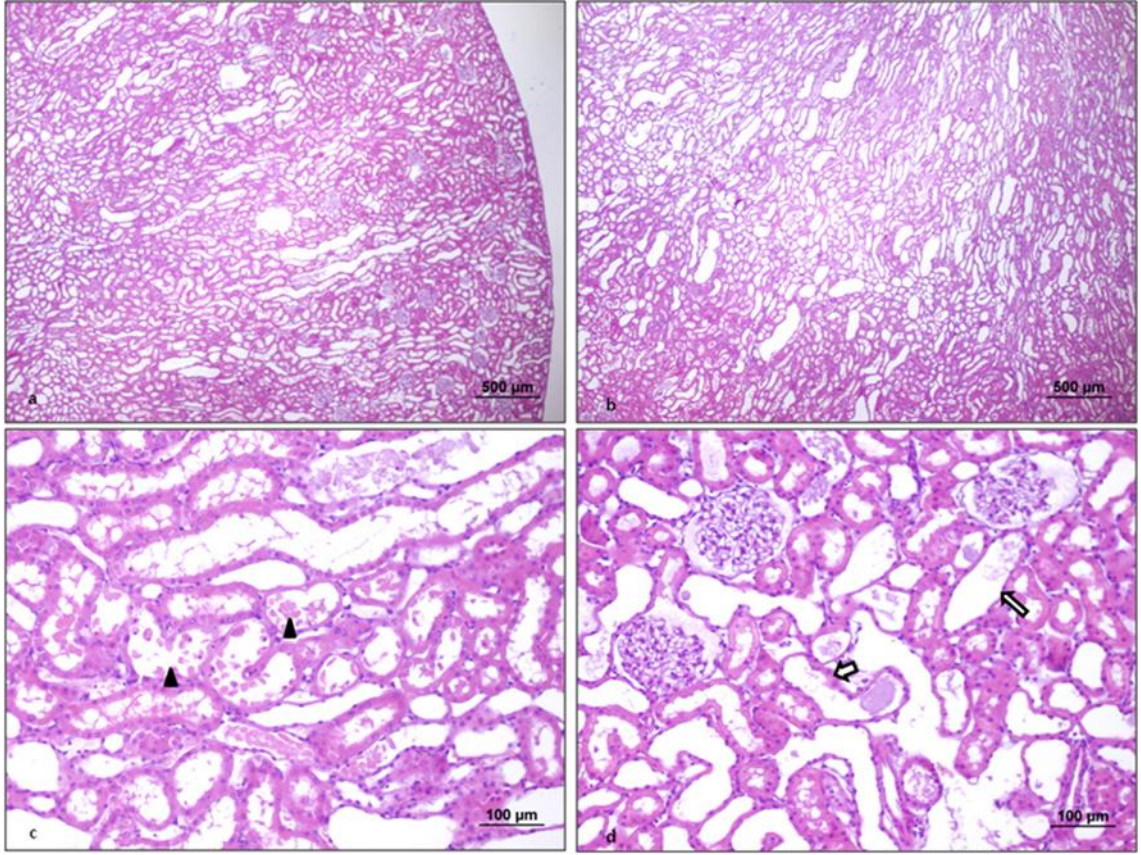
Tabloda pirolidine’nin tek başına verildiğinde, melatonin’e göre daha etkili olduğu görülmektedir. En güçlü etki ise, her iki maddenin birlikte verilmesiyle ortaya çıktığı dikkati çekmektedir.

- 1) Kontrol grubu: Kontrol grubuna ait sıçan böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsünde böbrek tübül yapıları ve Malpighi cisimcikleri ile birlikte böbrek medullası ve korteksi normal yapıda görüldü (Şekil 15 a-d).
- 2) 2)SF+I/R grubu: SF+I/R grubuna ait sıçan böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsünde her alanda yoğun olmak üzere; tübüler dejenerasyon ve tübüler dilatasyon ve tübül epitelyal hücrelerinde dökülmeler gözlemlendi (Şekil 16 a- c- d).
- 3) 3)Melatonin + I/R grubu: Melatonin + I/R grubuna ait sıçan böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsünde yoğun tübüler dejenerasyon ve tübül epitelyal hücrelerinde dökülmeler, damar içi kongesyon , interstisyel alanda kısmi hücrel infiltrasyon ,malpighi cisimciğinde glomerül kapillerlerinde dilatasyon tesbit edildi (Şekil 17 a- b- c- d). Bazı alanlarda malpighi cisimciklerinde glomerülün böbrek cisimciğini tamamen kapladığı ve Bowman aralığının neredeyse kaybolduğu görüldü (Şekil 18 a-d).

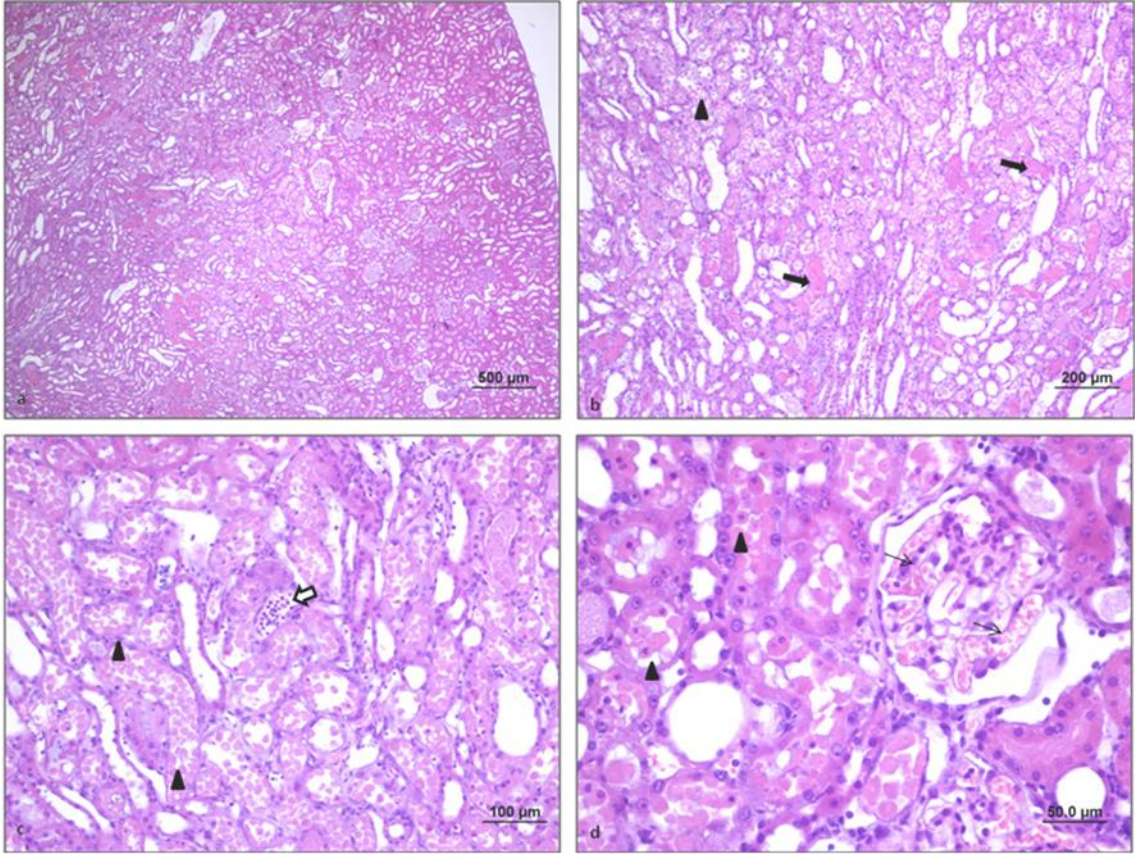
- 4) 4) Pyrrolidine+I/R grubu: Pyrrolidine+I/R grubuna ait sıçan böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsünde böbrek tübül yapıları ve Malpighi cisimcikleri ile birlikte normale yakın böbrek korteksi görüldü (Şekil 19 a-b). Bazı alanlarda ise tübüler dejenerasyon ve tübüler dilatasyon ve tübül epitelyal hücrelerinde dökülme bulgularına rastlanıldı (Şekil 20 a-b).
- 5) 5) Melatonin+pyrrolidine +I/R: Melatonin+pyrrolidine +I/R grubuna ait Sıçan böbreklerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsünde böbrek tübül yapıları ve Malpighi cisimcikleri ile birlikte normale yakın böbrek medullası ve korteksi görüldü (Şekil 21 a-b- c-d).



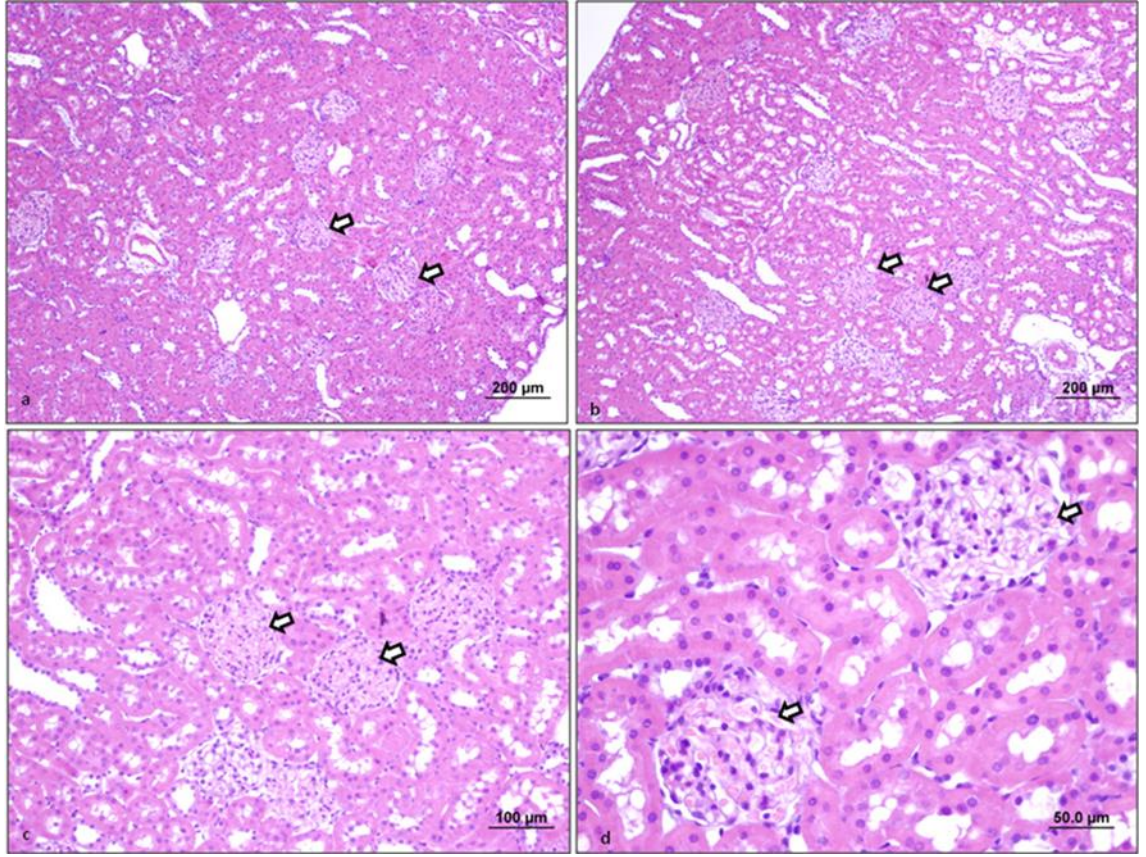
Şekil 15: Kontrol grubuna ait sıçan böbreklerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsünde böbrek tübül yapıları ve Malpighi cisimcikleri ile birlikte (ok başı) normal böbrek medullası ve korteksi (a-d) görülmektedir. (H&E)



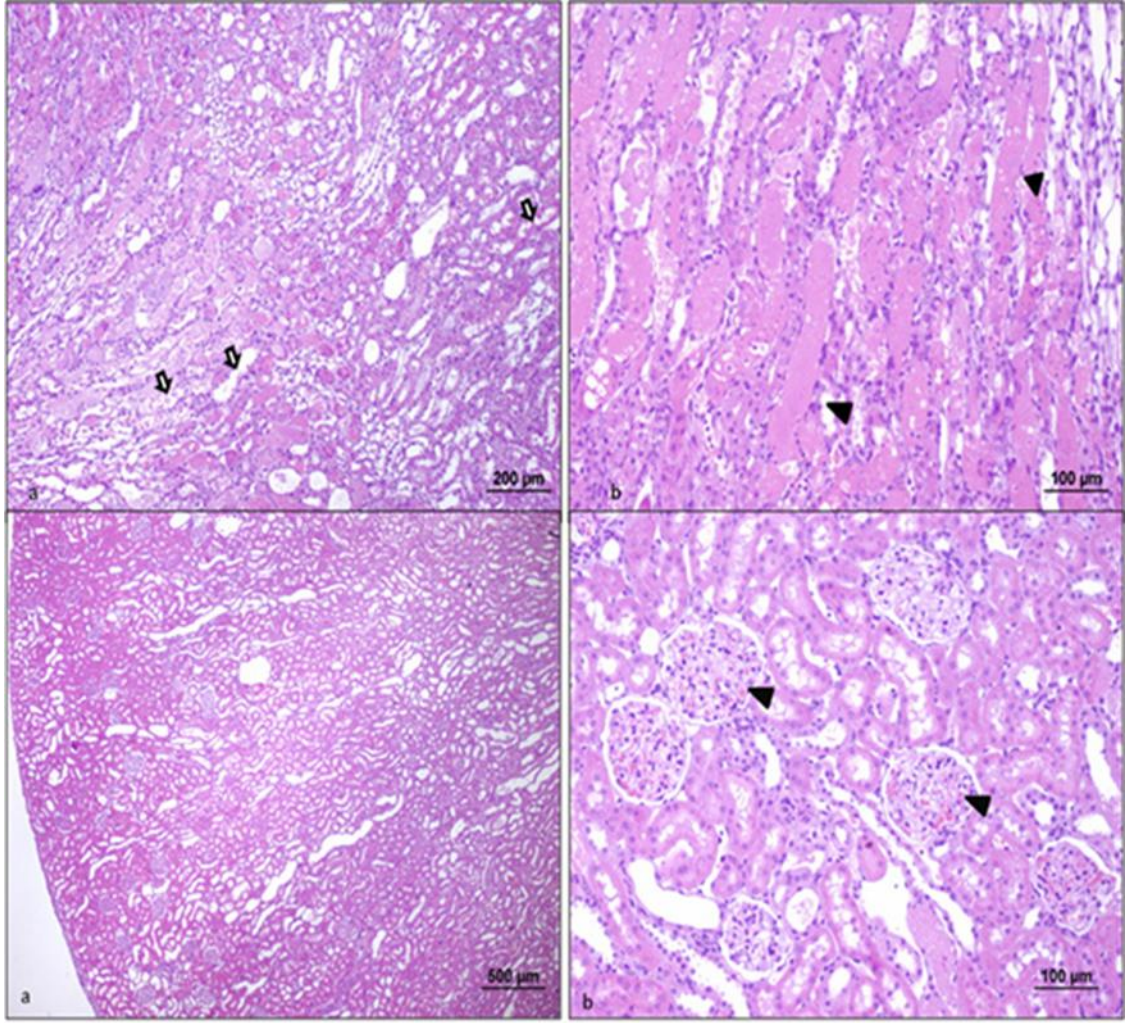
Şekil 16: SF+I/R grubuna ait sıçan böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsünde her alanda yoğun olmak üzere; tübül dejenerasyon ve tübül dilatasyon (ok) (a-d) ve tübül epitelyal hücrelerinde dökülmeler (ok başı) (c) görülmektedir. (H&E)



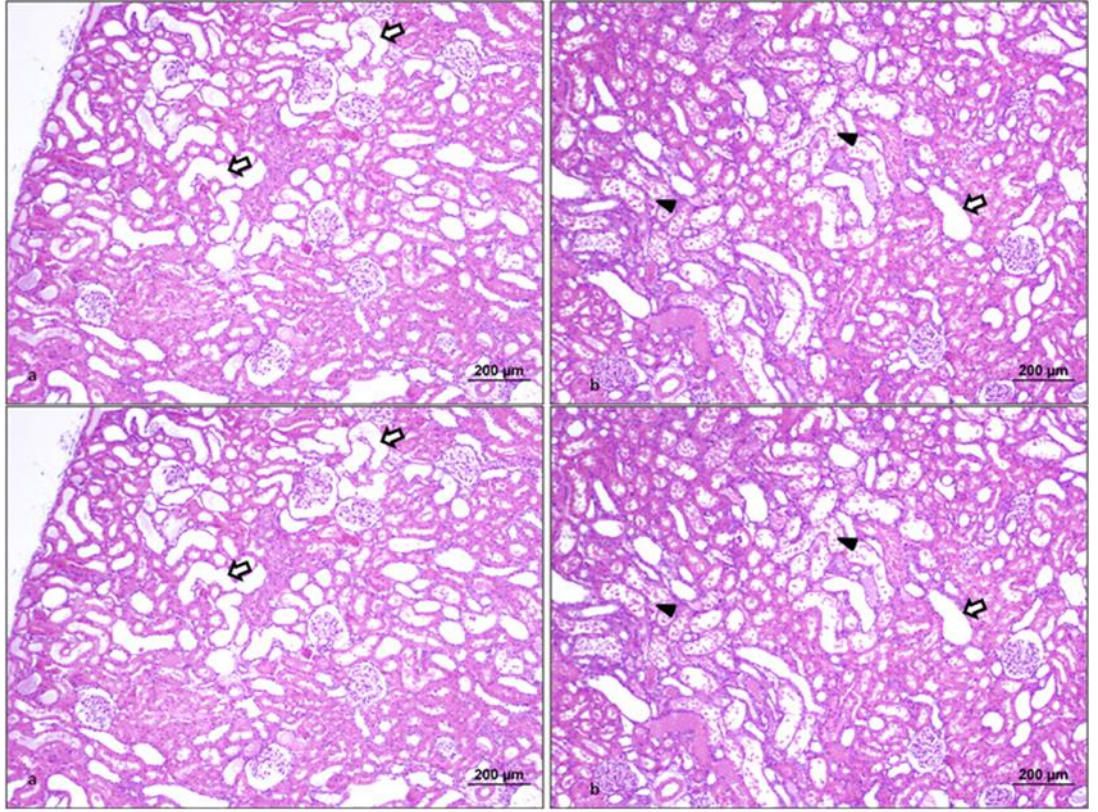
Şekil 17: Melatonin + I/R grubuna ait sıçan böbreklerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsünde yoğun tübüler dejenerasyon ve tübül epitelyal hücrelerinde dökülmeler (ok başı) (a-d), damar içi kongesyon (siyah ok) (b), interstisyel alanda kısmi hücresel infiltrasyon (beyaz ok) (c), Malpighi cisimciğinde glomerül kapillerlerinde dilatasyon (ok) (d) görülmektedir (HE).



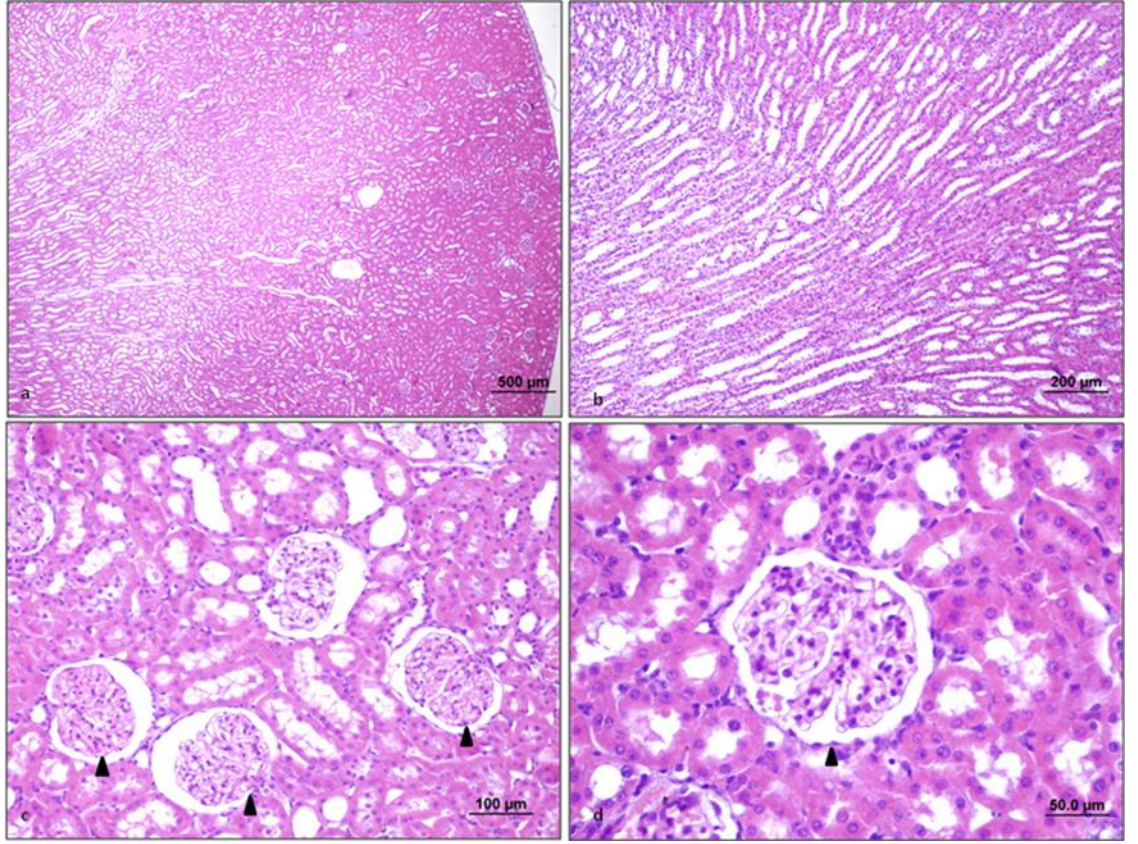
Şekil 18: Melatonin+I/R grubuna ait sıçan böbreklerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsünde, bazı alanlarda tübüler yapılar da değişiklik gözlemlendi. Kortekste yerleşmiş Malpighi cisimciklerinde glomerülün böbrek cisimciğini tamamen kapladığı ve Bowman aralığının neredeyse kaybolduğu görülmektedir (ok) (a-d)(HE).



Şekil 19: Pyrrolidine+I/R grubuna ait Sıçan böbreklerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsünde böbrek tübül yapıları ve Malpighi cisimcikleri ile birlikte (ok başı) normale yakın böbrek korteksi görülmektedir (a,b) (HE).



Şekil 20: Pyrrolidine +I/R grubuna ait Sıçan böbreklerinin ışık mikroskopik incelemesinde bazı alanlarda tübül dejenerasyon ve tübül dilatasyon (ok) (a,b) ve tübül epitelyal hücrelerinde dökülmeler (ok başı) (b) görülmektedir. (HE)



Şekil 21: Melatonin+pyrrolidine +I/R grubuna ait Sıçan böbreklerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsünde böbrek tübül yapıları ve Malpighi cisimcikleri ile birlikte (ok başı) normale yakın böbrek medullası (a,b) ve korteksi (a,c,d) görülmektedir (HE).

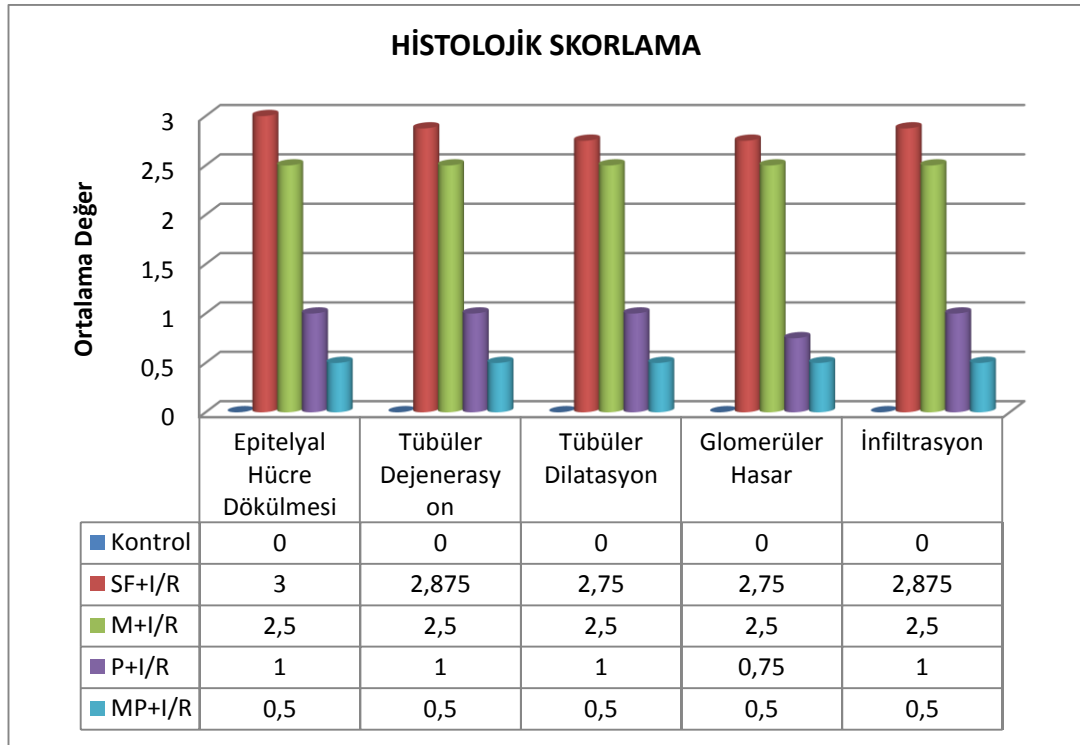
Tablo 7: Gruplara göre Böbrek histolojik skorum tablosu.

BÖBREK		Epitelyal hücre dökülmesi	Tübüler Dejenerasyon	Tübüler Dilatasyon	Glomerüler Hasar	İnfiltrasyon
Kontrol	S 37	0	0	0	0	0
	S 38	0	0	0	0	0
	S 39	0	0	0	0	0
	S 40	0	0	0	0	0
	S 41	0	0	0	0	0
	S 42	0	0	0	0	0
	S 43	0	0	0	0	0
	S 44	0	0	0	0	0
SF+I/R	S27	3	3	3	3	3
	S 28	3	3	3	3	2
	S 29	3	2	3	1	3
	S 32	3	3	2	3	3
	S 33	3	3	3	3	3
	S 34	3	3	3	3	3
	S 35	3	3	3	3	3
	S 36	3	3	2	3	3
M+I/R	S 1	1	1	1	1	1
	S 2	3	3	3	3	3
	S 3	3	3	3	3	3
	S 4	3	3	3	3	3
	S 5	3	3	3	3	3
	S 6	1	1	1	1	1
	S 7	3	3	3	3	3
	S 8	3	3	3	3	3
P+I/R	S 9	3	3	3	1	1
	S 10	1	1	1	1	1
	S 11	1	1	1	1	1
	S 12	1	1	1	1	1
	S 13	0	0	0	0	0
	S 14	0	0	0	0	0
	S 15	1	1	1	1	1
	S 16	1	1	1	1	1
MP+I/R	S 18	0	0	0	0	0
	S 19	1	1	1	1	1
	S 20	0	0	0	0	0
	S 21	0	0	0	0	0
	S 22	0	0	0	0	0
	S 23	1	1	1	1	1
	S 25	1	1	1	1	1
	S 26	1	1	1	1	1

Tablo 8: I/R hasar yoğunluğunun hayvan sayısına (n) göre grup içinde ve gruplar arasındaki dağılımı.

Grup	Yoğun hasar (3)	Az hasar (1)	Normal (0)
KONTROL	n=0	n=0	n=8
SF+I/R	n=8	n=0	n=0
M+I/R	n=6	n=2	n=0
P+I/R	n=1	n=5	n=2
MP+I/R	n=0	n=4	n=4

Histolojik skorlama ve preparatlara göre dağılım. (0):hasar yok, (1): az hasar, (2): orta hasar, (3): şiddetli hasar olarak değerlendirilmiştir. n=denek sayısı.



Şekil 22: Böbrek histolojik skorlama tablosuna göre ortalama değerler ve grafikleri.

5.TARTIŞMA

Böbrek iskemii-reperfüzyon hasarı parsiyel nefrektomi, renal arter angioplasti, renal travma, şok, sepsis ve transplantasyon gibi birçok klinik durumlarda oluşabilmektedir. Bu durum oluşan akut renal yetmezlik sonucu mortalite ve morbiditeyi artırmaktadır (8,49,86,90,).

İskemik dokuda oluşan reperfüzyon serbest oksijen radikallerinin üretimini artmasına neden olarak dokuda zararlı etkilerin oluşmasına yol açar bu etkiler mikrovasküler geçirgenliğin artması, intertisyel ödem, vasoregölasyonun bozulması, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve hücre nekrozu olarak sıralanabilir (26).

Böbrek naklinde iskemii-reperfüzyon hasarına bağılı gelişebilecek problemler ise günümüzde hala tam olarak açıklanabilmiş sorunlar olmadığından araştırmalar devam etmektedir. Oksidatif stres böbrek iskemisinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu yüzden böbrek antioksidan kapasitesi artırılarak umut verici bir tedavi yaklaşımları uygulama alanları bulabilir. Organ koruma ve cerrahi tekniklerdeki gelişmelere rağmen, I/R hasarı önemli bir klinik problem olmaya devam etmektedir ve önlenmesi açısından büyük bir ilgi alanı olmaya devam etmektedir. Çeşitli çalışmalarda, farklı organ ve renal I/R hasarında antioksidan maddelerin koruyucu etkisi rapor edilmiştir (30,71,72,74).

Böbreklerde deneysel iskemii reperfüzyon hasarının etkilerinin ortaya çıkması için belli bir iskemii süresine gerek vardır. Singh ve Chopra rat böbreğinde yaptığı çalışmada 45 dakikalık iskemii süresinden sonra reperfüzyon hasarının ortaya çıktığını göstermişlerdir. Ancak başka bir çalışmada 60 dakikalık renal iskemii süresi tercih edilmiştir (60,78).

Bizim çalışmamızda 45 dakikalık iskemii süresi ve 24 saatlik reperfüzyon süresi kullanılmıştır. (SOR) salınımı doku reperfüzyonu esnasında, kandaki oksijen konsantrasyonunun hızla artmasıyla oluşmaktadır. Bunun sonucunda oluşan SOR hücre membran lipidleri ile etkileşerek, doymamış yağ asitlerinin deaçilasyonunu hızlandırarak araşidonik asit açığa çıkarırlar. Araşidonik asitten siklooksijenaz ve

lipooksijenaz etkisi ile oluşan prostoglandinler, lökotrien gibi maddeler membran permeabilitesini bozup hücreyi fonksiyonel olarak yıkarlar. Ayrıca SOR'lar proteinlerle etkileşip yapısında sülfidril bulunan enzimleri inaktif hale getirirler, protein ve nükleik asit sentezini inhibe ederler. Bu metabolik olaylar hücre ölümü ile sonuçlanırlar (15).

Organizmada SOR'ların oluşum hızı ile etkisizleştirme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşı savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı artarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır. Oluşan SOR'lar çeşitli hücrel savunma mekanizmalarıyla enzimatik, (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi) veya nonenzimatik yol ile (melatonin, E vitamini gibi) zararsız duruma getirilirler (10,19).

Antioksidan vitaminler (α - tokoferol, askorbik asit), tiyol grubu taşıyan bileşikler (N-asetilsistein, L-sistein, Glutatyon) bu amaçla sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada melatonin antioksidan olarak kullanılmış ve böbrekteki I/R hasarını önemli ölçüde önlediği saptanmıştır (73). Ayrıca antioksidan vitaminlerden α -tokoferol'un I/R hasarını azalttığı belirlenmiştir. Bunların yanı sıra I/R hasarını önlemek için bazı biyoflavonoidlerin de kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır (73). Birçoğu kuvvetli antioksidan özellik gösteren flavonoidler, bitkisel kaynaklı polifenolik bileşikler olup hayvanlar tarafından sentezlenememektedir. Şimdiye kadar yapılan birçok çalışmada flavonoidlerin serbest radikal tutucu özellikleri sayesinde antiallerjik, antikanserojen ve antiinflamatuvar etki göstererek insan sağlığı açısından yararlı olduğu vurgulanmıştır (73). Flavonoidlerin yapısal karakteristikleri heterosiklik oksijen halkaları taşımalarıdır. Bu halkasal yapı farklılıkları nedeniyle bazı flavonoidler diğerlerine göre daha fazla antioksidan aktivite göstermektedir. Yapılan bir çalışmada quercetin ve askorbik asitin sıçan karaciğerindeki I/R hasarını önlemede başarılı olduğu gösterilmiştir. Bir başka çalışmada sıçan böbreğindeki I/R hasarına karşı Ginkgo biloba ekstraktı kullanmışlardır (73). I/R oluşumu öncesinde, yoğun olarak flavonoid glikozitleri ve terpenoidler içeren bu ekstraktın uygulandığı gruba ait sıçanların böbreklerinde, sadece I/R hasarı yaratılmış gruba oranla lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA

seviyesinde düşme gözlenirken GSH miktarlarının ise kontrol grubuna çok yakın olduğu belirtilmiştir (73). Histolojik verilerle de desteklenen bu çalışma ile Ginkgo biloba ekstraktının flavonoid içeriği nedeni ile I/R hasarını önlediği gösterilmiştir. Ancak bu ekstraktın tam olarak hangi flavonoidleri içerdiği belirtilmemiş, genel olarak değerlendirilmiştir (73).

Bizim çalışmamızda kullandığımız antioksidanlardan biri melatonindir. Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda melatoninin toksik hidroksil radikallerinin ve diğer oksijen kökenli radikallerin güçlü bir tutucusu olduğu gösterilmiştir. Melatonin metaboliti olan indol katyon türevi süperoksiti tutarak antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Melatonin, SOD enziminin mRNA'sını arttırmakta ve süperoksit radikalının dismutasyonuna bu şekilde de katkıda bulunmaktadır. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi melatonin ile uyarılmaktadır. Bu nedenle melatonin intrasellüler hidrojen peroksit seviyesini azaltmaktadır. Melatonin ile uyanan glutatyon redüktazın (GSH-Red) aktivitesinde bir kofaktör olarak görev yapan NADPH, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz etkisi ile oluşturulur. G6-PD aktivitesinin de melatonin ile uyarıldığı bilinmektedir. Bazı çalışmalarda, melatoninin H2O2'in uzaklaştırılmasında etkisi olan katalaz aktivitesini de uyardığı bildirilmiştir. Ayrıca melatonin bir metabolitinin, H2O2'i direkt tutucu etki gösterdiği rapor edilmiştir (64,65,66,87).

I/R hasarına karşı melatoninin koruyucu etkinliğini sıçan böbreğinde araştıran Şener ve ark. iskemi-reperfüzyon uygulanan tüm grupların üre ve kreatinin düzeylerinde artış saptamıştır. I/R grubunda GSH düzeylerinde azalma, MDA, MPO aktivitelerinde artma olduğunu bildirmişlerdir. Melatonin uygulanması renal fonksiyonları düzeltmiş ve oksidan yanıtları tersine çevirmiştir. Histopatolojik incelemeler sonucu melatoninin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu saptanmıştır (82,83).

Rodriguez ve ark. tarafından sıçanlarda, iskemi-reperfüzyon hasarına karşı melatoninin koruyucu etkinliği çalışılmış, melatonin uygulanan grupta iskemi-reperfüzyon sonrası renal fonksiyonun korunduğu, glutatyon düzeylerinin artmış olduğu, lipid peroksidasyonunun azaldığı ve nitrit düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Aynı zamanda melatoninin histolojik olarak böbrek hasarını azalttığı bildirilmiştir (67).

Şener ve ark. tarafından sıçanlarda, asetaminofenin oluşturduğu toksisiteye karşı melatoninin, E vitamininin ve N-asetilsisteinin (NAC) oluşturduğu koruyucu etkiler araştırılmış ve asetaminofen verildikten sonra serum üre ve kreatinin değerleri belirgin olarak arttığı bildirilmiştir. Bu değerlerin melatonin, E vitamini ve NAC tedavisi alan gruplarda belirgin olarak azaldığı bildirilmiştir. Asetaminofenin oluşturduğu toksisiteyi tersine çevirmede en fazla melatoninin etkili olduğu, E vitamininin en az etkili olduğu görülmüştür (81).

Shin ve ark. tarafından sıçanlarda, siklosporinin oluşturduğu nefrotoksik etki çalışılmış, sadece siklosporin A uygulanan grupta doku MDA düzeylerinin belirgin olarak arttığı, melatonin verilen grupta ise doku MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğunu saptamışlar. Melatoninin belirgin olarak siklosporin A'nın serbest radikallere bağlı olarak oluşan böbrek hasarını engellediğini bildirmişlerdir (76).

Siklosporin A'nın oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı melatoninin koruyucu etkisi Mim ve Suh tarafından sıçanlarda araştırılmıştır. Üre ve kreatinin değerleri siklosporin verilen grupta istatistiksel olarak belirgin yüksek saptanmıştır. Melatoninle birlikte siklosporin verilen grupta sadece siklosporin verilen gruba göre istatistiksel olarak belirgin yüksek MDA düzeyleri saptanmıştır. Bu çalışmada, melatoninin siklosporin A'nın oluşturduğu nefrotoksik etkinin önlendiği bildirilmiştir (51).

Montilla ve ark. tarafından, adriyamisin oluşturduğu hiperlipidemik nefropatiye karşı melatoninin koruyucu olup olmadığı araştırılmıştır. Bu çalışmada melatonin verilen grupta serum üre, kreatinin ve idrar protein düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. Aynı zamanda böbrek MDA düzeyinde anlamlı azalma, GSH düzeyinde anlamlı artma, böbrek CAT aktivitesinde anlamlı artma saptanmış, melatoninin adriyamisin oluşturduğu hiperlipidemik nefropatiye karşı koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir. Yapılan benzer bir çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur (2,52).

Özbek ve ark. tarafından, gentamisin oluşturduğu nefrotoksik etkiye karşı melatoninin koruyucu etkisi araştırılmış ve gentamisin ile birlikte melatonin verilen

grupta MDA düzeyinin anlamlı derecede azaldığı, CAT, SOD, GSH-Px aktivitelerinin anlamlı düzeyde arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada gentamisin ile birlikte melatonin verilen grupta, histolojik bulgularda belirgin derecede tübüler nekrozun azaldığı saptanmış ve melatoninin gentamisinin oluşturduğu toksik etkiyi önlediği gösterilmiştir (57).

Şener ve ark. tarafından sıçanlarda böbrekteki ısı hasarı sonucu oluşan etkilere karşı melatoninin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Isı hasarında hayvan modellerinde oluşan oksijen radikallerinin lokal ve uzak organ zedelenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir. Melatonin tedavisinin azalmış olan GSH düzeylerini belirgin artırdığı, MDA, protein oksidasyon ve myeloperoksidaz aktivitelerinde ise azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (82).

Diyabetin ve zorlu yüzme egzersizinin sıçan beyin dokusunda yol açtığı oksidan hasar üzerine melatoninin koruyucu etkisi araştırılmış ve oluşan hasarın melatonin uygulanmasıyla önlenebileceği bildirilmiştir (11).

Serebral iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine bağlı hasarın melatonin ve amlodipinin koruyucu etkileri Toklu ve ark tarafından araştırılmış nörolojik bozuklukların melatonin ve amlodipin gruplarında düzeldiği bildirilmiştir. İskemi-reperfüzyon beyinde GSH ve Na⁺K⁺ATPaz aktivitesinde azalma ve bununla birlikte MDA, MPO düzeylerinde artışa neden olduğu buna karşılık melatonin ve amlodipin tedavileri tüm incelenen biyokimyasal parametrelerdeki değişimi ve I/R nin neden olduğu beyin ödemi geri çevirdiği bildirilmiştir (83).

Li ve ark. deneysel böbrek transplantasyonunda iskemi-reperfüzyon hasarında melatoninin antioksidatif, anti-apoptotik ve NF-kB'yi inhibe edici kapasitesiyle önlediği bildirilmiştir (42).

Bizim çalışmamızda sadece Melatonin verilen grupta MDA düzeylerinin I/R grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı görüldü (p=0,002). Antioksidan enzimlerden ise sadece GPx seviyeleri artmıştır. Histopatolojik incelemede melatoninin, verilen grupta

böbrek hasarını orta derece düzelttiği görülmüştür. Bu bulgularımız literatürde ki bulgularla da uyumlu bulunmuştur.

DTC biyolojik sistemlerde geniş çeşitlilikte etkileri düzenleyen antioksidan sınıfın üyeleridir. DTC'nin dietil deriveleri metal zehirlenmesi, endotoksik şok, diyabetik retinopati ve kazanılmış immün yetmezlik sendromu (AIDS) gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. DTC'ler NF-kB'nin efektif inhibitörleri olan düşük molekül ağırlıklı thiol bileşikleridir. Bu grup içinde pirrolidin derivesi, PDTC en potent NF-k β inhibitörüdür. Serbest radikallerin toksik etkilerine karşı antioksidan bileşik olarak ve pro-inflmatuar sitokinlerin üretimiyle etkileşime girmesi için kullanılmıştır, PDTC'nin NF-k β inhibisyon özelliği antioksidan özelliğinden bağımsızdır (9,14,98). Yapılan deneysel çalışmalarda PDTC'nin kolorektal kanser tedavisinde kullanılan 5-florourasilin sitotoksitesini arttırdığı, prostat kanseri, T-hücreli lösemi, lenfoma, miyeloid lösemi ve gastrik kanser hücrelerinde pro-apoptotik ve anti-proliferatif etkileri uyardığı gösterilmiştir (7,13,41,45,48,50,75).

Yapılan başka bir çalışma da PDTC'nin, gentamisine ve etilen glikole bağlı nefrotoksitesinin önlenmesinde oksidatif stres ürünü olan iNOS ekspresyonunu ve NF-kappa β /p65 aktivitesini immunohistokimyasal olarak azalttığı gösterilmiştir NF-kB'yi inhibe etmesinin yanısıra, PDTC'nin NF-k β 'nin etkilerinden bağımsız olarak, süperoksid dismutaz gibi endojen antioksidanların gen ekspresyonunu aktive etme potansiyeline sahiptir (21,27,96).

Chatterjee ve ark sıçan böbreğinin iskemi-reperfüzyonu ile oluşan renal hasardaki PDTC nin etkilerini araştırdıkları çalışmada böbrek hasarının biyokimyasal ve histolojik bulgularını belirgin şekilde azalttığını iNOS protein ekspresyonunu azalttığını ve serum NO düzeylerini belirgin oranda azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca PDTC, NF-k β 'nin böbrek hücrelerinin sitoplasmasından nukleusuna taşınmasını inhibe ederek NF-k β aktivasyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir (12).

Chan-Ho Lee ve ark. sıçanlar da hepatik iskemi-reperüzyon hasarında PTDC'nin karaciğer serum enzimlerini ve lipid peroksidaz'ların yükselmesini ve glutatyon içeriğinin azalmasını önleyerek hepatoprotektif etkisi gösterdiğini bildirmişlerdir (40).

Kabay ve ark sıçanlarda oluşturulan mesenterik iskemi-reperfüzyonun neden olduğu akciğer hasarının önlenmesinde PDTC'nin etkinliğini göstermişlerdir (33).

Liu ve ark. multiple organ yaralanmalarına bağlı oluşan sepsis oluşumunda lipopolisakkaritlerle aktive olan NF- κ B aktivasyonunun önemli olduğunu ve bunun PDTC verilmesi ile önlenebildiğini bildirmişlerdir (44).

Bizim çalışmamızda sadece PDTC verilen grupta MDA seviyesinin I/R grubuna göre azaldığı görüldü ($p=0,01$). İ/R grubuna göre PDTC verilen grupta SOD seviyesi hariç CAT, GPx seviyelerinin arttığı gözlemlendi. GPx düzeyindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,02$). Histopatolojik incelemede ise PTDC uygulanan gruplarda oluşan böbrek hasarında iyi düzeyde düzelme görüldü. Bu bulgularımız literatürle uyumlu olduğu bulunmuştur.

Melatonin ve PDTC nin tek tek verilmesiyle elde edilen MDA nın azalmış seviyesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak her ikisinin birlikte kullanımı I/R grubuna göre daha az azalmaya neden olmuştur. SOD hariç CAT, GPx seviyeleri de anlamlı olarak artmıştır. Histopatolojik incelemede ise her ikisinin ayrı ayrı verildiğinde oluşan böbrek hasarının düzelmesinden daha iyi olduğu görülmüştür.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Yoğun bakım tıbbında önemli gelişmeler olmasına rağmen, akut böbrek yetmezliği son yıllarda hala önemini korumsaktadır. Akut böbrek yetmezliğini önlemek için yapılan denemeler genellikle olumsuz sonuçlanmıştır ve dializ hâlâ tek etkili tedavidir. Fakat diyaliz hem pahalı hemde zor bir yöntemdir. Bu yüzden, akut böbrek yetmezliği için yeni tedavi edici yöntemlerin geliştirilmesi hâlen araştırmalarda yoğun bir ilgi alanıdır.

Yapılan çalışmalarda ratlarda iskemi/reperüzyon hasarına karşı antioksidan madde olarak PDTC 'ın pek kullanılmadığı görüldü.

Histolojik bulguların değerlendirilmesinde preparatlarda, tesbit edilen değişimlerin gruplandırılmasının yanında, daha objektif sonuçlara ulaşmak için kantitatif değerlendirmeler yapılacaktır.

Bu deneysel çalışmada nefrektomili ratlarda renal iskemi reperfüzyon modelinde melatonin ve PDTC uygulamasının iskemik hasarı azalttığı belirlenmiştir. İki antioksidan ajanın tek tek ve birlikte verilmesiyle biyokimyasal ve histopatolojik bulguların farklı olduğu saptanmıştır.

Bu iki maddenin etkinliklerinin farklı dozlarda sürdürülecek çalışmalarla daha da aydınlatılacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Acuña G, Latrille E, Béal C, Corrieu G, Chéruey A. On-line estimation of biological variables during pH controlled lactic acid fermentations. *Biotechnol Bioeng.* 1994 Nov 20;44(10):1168-76.
2. Agapito MT, Antolin Y, Brio MT, Lopes-Burillo S, Pablos MI. Protective effect of melatonin against adriamycin toxicity in the rat. *J Pineal Res* 2001; 31:23-30.
3. Akkuş i. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınlan; 1995:1-129.
4. Aksoy, Y., The Role of Glutathione in antioxidant mechanism, *T Klin J Med Sci* 2002, 22:442-448.
5. Aras B., Tuğcu, V., Eren, G., Mutlu, B., Uhri, M., Özbek, E., Taşçı, A., İ., Protective effect of pyrrolidine dithiocarbamate on kidney tissue in streptozotocin-induced diabetic rats, *Türk Üroloji Dergisi - Turkish Journal of Urology* 2010;36(2):167-175,
6. Arıncı, K. ve Elhan, A., 1997, *Anatomi, Güneş Kitapevi, Ankara*, 392-398 s.
7. Arima, N., Arimura K., Tokito Y et al. HTLV-I Tax protein inhibits apoptosis induction but not G1 arrest by pyrrolidinedithiocarbamate, an anti-oxidant, in adult T cell leukemia cells. *Exp Hematol.* 2004, 32:195-201.
8. Avlan, D., Tamer L, Ayaz L, Polat A, Oztürk C, Ozturhan H, Camdeviren H, Aksöyek S (2006). Effects of trapidil on renal ischemia-reperfusion injury. *J. Pediatric. Surg.* 41: 1686-1693.
9. Bach, SP, Chinery R, O'Dwyer ST, ve ark. Pyrrolidinedithiocarbamate increases the therapeutic index of 5-fluorouracil in a mouse model. *Gastroenterology.* 2002, 118: 81-89.
10. Barber, DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm* 1994; 34:26-35.)
11. Bicer, M, Akil M, Avunduk MC, Kilic M, Mogulkoc R, Baltaci AK. Interactive effects of melatonin, exercise and diabetes on liver glycogen levels. *Endokrynol Pol.* 2011;62(3):252-6
12. Chatterjee PK, di Villa Bianca RD, Sivarajah A, McDonald MC, Cuzzocrea S, Thiemeermann C. Pyrrolidine dithiocarbamate reduces renal dysfunction and injury caused by ischemia/reperfusion of the rat kidney. *Eur J Pharmacol.* 2003 Dec 15;482(1-3):271-80

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

13. Chen D, Peng F, Cui QC ve ark. Inhibition of prostate cancer cellular proteasome activity by a pyrrolidine dithiocarbamate-copper complex is associated with suppression of proliferation and induction of apoptosis. *Front Biosci.* 2005,10: 2932-2939.
14. Chinery, R, Brockman JA, Peeler MO, ve ark. Antioxidants enhance the cytotoxicity of chemotherapeutic agents in colorectal cancer: a p53-independent induction of p21WAF1/CIP1 via C/EBPbeta. *Nat Med.*1997,3:1233-1241.
15. Çıkrıkçıoğlu, M, Duran E. Koroner dolaşım, iskemi ve reperfüzyon. *İnsizyon* 2001; 4:119-26.
16. Demir,R.,2006,Histoloji ve Hücre Biyolojisi,Patolojiye Giriş,Palme Yayıncılık,Ankara,365-380 s
17. Dikmen,N.,Özgüven,T., 2004 Harper Biyokimya
18. Doğan, T., fonksiyonel anatomi sayda 261
19. Dündar, Y, Aslan R. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. *İnsizyon* 1999; 2:134-42.
20. Eltzschig, HK, Collard CD Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br Med Bull.* 2004 Oct 19;70:71-86. Print 2004.
21. Esmaili, MA, Yazdanparast R. Hypoglycaemic effect of Teucrium polium: studies with rat pancreatic islets. *J Ethnopharm.* 2004,95: 27-30.
22. Eşrefoğlu, M., Cell Injury and Death: Oxidative Stress and Antioxidant Defense System: Review ,2009 *Türkiye Klinikleri J.Med.Sci.*,2009,29(6),1660-76
23. Goth, L., A Simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *1991Clinica Chimica Acta* 196: 143-152.
24. Göksel, Ş.,Yeğen,Ç.,B.,İskemi Reperfüzyon Hasarı,Klinik Gelişim,5-13s
25. Grandjean, P.,Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem* 1997;43:1209-14.)
26. Granger, DN, Korthuis RJ (1995). Physiological mechanisms of postischemic tissue injury. *Ann. Rev. Physiol.* 57:311-332.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

27. Hilaly,J and Lyoussi B. Hypoglycaemic effect of the lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharm.* 2002, 80:109-113.
28. Hosni, M., Meskini, N., Prigent, A,F., Anker, G., Joulain, C., el Habib R, et al.,1992,Diethyldithiocarbamate (ditiocarb sodium) effect on arachidonic acid metabolism in human mononuclear cells. Glutathione peroxidase-like activity. *Biochem Pharmacol* ;43:1319-29.
29. Hosseini, F., Naseri MK, Badavi M, Ghaffari MA, Shahbazian H, Rashidi I. Effect of beta carotene on lipid peroxidation and antioxidant status following renal ischemia/reperfusion injury in rat. *Scand J Clin Lab Invest.* 2010 Jul;70(4):259-63.
30. Huang, W., Lee SL, Sjöquist M (1995). Natriuretic role of endogenous oxytocin in male rats infused with hypertonic NaCl. *Am. J. Physiol.* 268:634-640.
31. Huk, I, Brovkovich V, Nanobash Vili J, Weigel G, Neumayer C, Partyka L, Patton S, Malinski T. Bioflavonoid quercetin scavenges superoxide and increases nitric oxide concentration in ischaemia–reperfusion injury: an experimental study *British Journal of Surgery* 1998, 85, 1080–1085
32. Jouad, H, Maghrani M, Eddouks M. Hypoglycaemic effect of *Rubus fruticosus* L. and *Globularia alypum* L. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacology.* 2002,81:351-356.
33. Kabay, B., Teke Z, Aytakin FO, Yenisey C, Bir F, Sacar M, Erdem E, Ozden A. Pyrrolidine dithiocarbamate reduces lung injury caused by mesenteric ischemia/reperfusion in a rat model. *World J Surg.* 2007 Aug;31(8):1707-15.
34. Kabay B, Teke Z, Aytakin FO, Yenisey C, Bir F, Sacar M, Erdem E, Ozden A. Pyrrolidine dithiocarbamate reduces lung injury caused by mesenteric ischemia/reperfusion in a rat model. *World J Surg.* 2007 Aug;31(8):1707-15.
35. Kaplan,A.,Elhan,A.,1985,Anatomi Terimleri Klavuzu,6.baskı,Ankara.
36. Koca, R., Armutcu, F., Altinyazar, H. C. and Gürel, A. (2004), Oxidant-antioxidant enzymes and lipid peroxidation in generalized vitiligo. *Clinical and Experimental Dermatology*, 29: 406–409.
37. Koti, RS., Seifalian AM, Davidson BR. Protection of the liver by ischemic preconditioning: a review of mechanisms and clinical applications. *Dig Surg.* 2003;20(5):383-96. Epub 2003 Jul 2. Review

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

38. L.,Carlos Junqueira, Jose Carneiro, Robert O.Kelley Temel Histoloji çeviri editörü Prof.Dr.Yener Aytekin barış kitapevi İstanbul 1993
39. Lameire, N, Vanholder R.Pathophysiologic features and prevention of human and experimental acute tubular necrosis. J Am Soc Nephrol. 2001 Feb;12 Suppl 17:S20-32. Review
40. Lee, CH, Kim SH, Lee SM. Effect of pyrrolidine dithiocarbamate on hepatic vascular stress gene expression during ischemia and reperfusion. Eur J Pharmacol. 2008 Oct 24;595(1-3):100-7. Epub 2008 Aug 9
41. Li, Q, Yu YY, Zhu ZG et al. Effect of NF-kappa B constitutive activation on
42. Li, Z, Nickkholgh A, Yi X, Bruns H, Gross ML, Hoffmann K, Mohr E, Zorn M, Büchler MW, Schemmer P. Melatonin protects kidney grafts from ischemia/reperfusion injury through inhibition of NF-kB and apoptosis after experimental kidney transplantation. J Pineal Res. 2009 May;46(4):365-72. Epub 2009 Apr 9.
43. Lieberthal, W, Levine JS. Mechanisms of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury. Am J Physiol. 1996 Sep;271(3 Pt 2):F477-88. Review
44. Liu, SF, Ye X, Malik AB. Pyrrolidine dithiocarbamate prevents I-kappaB degradation and reduces microvascular injury induced by lipopolysaccharide in multiple organs. Mol Pharmacol. 1999 Apr;55(4):658-67
45. MacKenzie, CJ, Paul A, Wilson S, ve ark. Enhancement of lipopolysaccharide-stimulated JNK activity in rat aortic smooth muscle cells by pharmacological and adenovirus-mediated inhibition of inhibitory kappa B kinase signalling. Br J Pharmacol. 2003;139:1041-1049.
46. Maghrani, M, Zeggwagh NA, Lemhadri A ve ark. Study of the hypoglycaemic activity of Fraxinus excelsior and Silybum marianum in an animal model of type 1 diabetes mellitus. J Ethnopharm. 2004, 91: 309-316.
47. Maiti, R, Janav D, Das UK. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of Tamarindus indica in streptozotocin-induced diabetic rats. J Ethnopharm. 2004,92:85-91.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

48. Malaguarnera, L, Pilastro MR, DiMarco R ve ark. Cell death in human acute myelogenous leukemic cells induced by pyrrolidinedithiocarbamate. *Apoptosis*. 2003,8:539-545.
49. Matin, SF, Novick AC (2001). Renal dysfunction associated with staged bilateral partial nephrectomy. The importance of operative positioning. *J. Urol*. 165:880-881.
50. Meli, M, D'Alessandro N, Tolomeo M, Rausa L, Notarbartolo M, Dusonchet L. NF-kappaB inhibition restores sensitivity to Fas-mediated apoptosis in lymphoma cell lines. *Ann N Y Acad Sci*. 2003,1010: 232-236.
51. Mim, KC, Suh SI. Effect of melatonin on renal function in cyclosporin nephrotoxicity. *Transplant Proc* 2000; 32:1919-20.
52. Montilla,P, Tunez J, Munoz MC, Lopez A, Soria JV. Hyperlipidemic nephropathy induced by adriamycin: effect of melatonin administration. *Nephron* 1997; 76:345-50.
53. Moore,D.,Baltimore,2007,Clinically Oriented Anatomy, Bobel Lippincott Williams & Wilkins,Baltimore USA, sayfa 279-349
54. Nobel, C,I., Kimland, M., Lind, B., Orrenius, S., Slater, A,F.,1995 Dithiocarbamates induce apoptosis in thymocytes by raising the intracellular level of redox-active copper. *J Biol Chem* ;270:26202-208.
55. Noiri,E., Nakao, A., Uchida,K., Tsukahara,H., Ohno,M., Fujita,T., Brodsky,S., & Goligorsky,M,S., , 2001, Oxidative and nitrosative stress in acute renal ischemia, *Am J Physiol Renal Physiol* 281:F948-F957.
56. Okutan, H, Savas C, Delibas N., 2004, The antioxidant effect of melatonin in lung injury after aortic occlusion-reperfusion. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2004;3:519-99)-
57. Özbek, E, Turkoz Y, Sahna E, Özugurlu F, Mızrak M, Özbek M. Melatonin administration prevents the nephrotoxicity induced by gentamicin. *BJU International* 2000; 85:742-6.
58. Özgüner, F.,Özcankaya R.,DelibaşN.,Koyu,A.,Çalışkan,S.,1995,Melatonin'in Klinik Önemi *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2(4),1-6
59. Paller, MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Investig Med*. 1994 Dec;42(4):632-9. Review

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

60. Paller ,SM, Hoidal RJ, Ferris FT. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. J Clin Invest 1984; 74:1156-64.
61. Parlak, N. Pirolizidin alkaloidinin neden olduğu hepatotoksisitede nükleer faktör kappa b inhibitörü pirolidin ditiyokarbomat'ın koruyucu etkinliğinin değerlendirilmesi-,uzmanlık tezi, bolu 2009
62. proliferation and apoptosis of gastric cancer cell lines. Eur Surg Res. 2005,37:105-110.
63. Reisinger, EC, Kern P, Ernst M, Bock P, Flad HD, Dietrich M. Inhibition of HIV progression by dithiocarb. German DTC Study Group. Lancet. 1990 Mar 24;335(8691):679-82.
64. Reiter, RJ, Regina C, Carneiro C. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. Horm Metab Res 1997; 29:363-72.
65. Reiter ,RJ. Melatonin: lowering the high price of free radicals. News Physiol Sci 2000; 15:246-50.
66. Reiter, RJ. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. Prog Neurobiol 1998; 56:359-84.
67. Rodriguez,-Reynoso S, Leal C, PortiUa-de Buen E, CastiUo JC, Ramos-Solano F. Melatonin ameliorates renal ischemia/reperfusion injury. J Surg Res 2004; 116:242-7.
68. Sahna, E, Deniz E, Aksulu HE. [Myocardial ischemia-reperfusion injury and melatonin]. Anadolu Kardiyol Derg. 2006 Jun;6(2):163-8.
69. Santos, CH, Gomes OM, Pontes JC, Miji LN, Bispo MA. The ischemic preconditioning and postconditioning effect on the intestinal mucosa of rats undergoing mesenteric ischemia/reperfusion procedure. Acta Cir Bras. 2008 Jan-Feb;23(1):22-8.
70. Schreck, R, Rieber P, Baeuerle PA. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. EMBO J. 1991 Aug;10(8):2247-58
71. Sehirli, AO, Sener G, Satiroglu H, Ayanoglu-Dulger G (2003). Protective effect of Nacetylcysteine on the renal ischemia/reperfusion injury in the rat. J. Nephrol. 16:75-80.

72. Sener, G, Sehirli O, Erkanli G, Cetinel S, Gedik N, Yegen BC (2004). 2-Mercaptoethane sulfonate (MESNA) protects against burn-induced renal injury in rats. *Burns* 30:557-564.
73. Sener, G, Sener E, Sehirli O, Oğünç AV, Cetinel S, Gedik N, Sakarcan A. Ginkgo biloba extract ameliorates ischemia reperfusion-induced renal injury in rats. *Pharmacol Res.* 2005 Sep;52(3):216-22
74. Sener, G, Tugtepe H, Yuksel M, Cetinel S, Gedik N, Yegen BC (2006). Resveratrol improves ischemia/reperfusion-induced oxidative renal injury in rats. *Arch. Med. Res.* 37:822-829.)
75. Shen, WH, Zhang CY, Zhang GY. Modulation of I kappaB kinase autophosphorylation and activity following brain ischemia. *Acta Pharmacol Sin.* 2003;24: 311-315.
76. Shin,YH, Lee SH, Mun KC. Effect of melatonin on the antioxidant enzymes in the kidneys of cyclosporine-treated rats. *Transplant Proc* 2002; 34:2650-1.
77. Sies, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.* 1997 Mar;82(2):291-5. Review
78. Singh,D and Chopra K. The effect of naringin, a bioflavonoid on ischemia-reperfusion induced renal injury in rats *Pharmacological Research* Volume 50, Issue 2 , August 2004, Pages 187-193
79. Star, RA. Treatment of acute renal failure. *Kidney Int.* 1998 Dec;54(6):1817-31. Review
80. Sun, Y, Oberley LW, Li Y (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem.* 3413: 497-500.
81. Şener, G, Şehirli AÖ, Dülger GA. Protective effects of melatonin, vitamin E and N-acetylcysteine against acetaminofen toxicity in mice: a comparative study. *J Pineal Res* 2003; 35:61-8.
82. Şener, G, Şehirli AÖ, Şatıroğlu H, Keyer Uysal M, Yeğen BÇ. Melatonin prevents oxidative kidney damage in a rat model of thermal injury. *Life Sci* 2002; 70:2977-85.
83. Şener G, Şehirli AÖ, Uysal MK, Arbak S, Ersoy Y, Yeğen BÇ. The protective effect of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in the rat. *J Pineal Res* 2002; 32:1-7.
84. Şener, G. Karanlığın hormonu: Melatonin *Marmara Eczacılık Dergisi* 14: 112-120, 2010
85. Şener,G., ve Yeğen,Ç,B., 2009,İskemi Reperfüzyon Hasarı,Klinik Gelişim,5-13
86. Takada,M, Nadeau KC, Shaw GD, Marquette KA, Tilney NL (1997) Prevention of late renal changes after initial ischemia/reperfusion injury by blocking early selectin binding. *Transplantation* 64:1520-1525.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

87. Tan, DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J* 1993; 1:57-60.
88. Teke,Z.,Aytekin,O.,F.,Kabay,B.,Yenisey,C.,Aydin,C.,Tekin,K.,Sacar,M.,Ozden,A.,Pyrrolidine Dithiocarbamate Prevents Deleterious Effects of remote Ischemia/reperfusion Injury on healing of colonic Anastomoses in Rats,*World J Surg*,2007,31:1835-1842.
89. Tekelioğlu,M.,1998,Genel Tıp Histolojisi,Beta Basım Yayım,İstanbul,250 Yayınevi,Ankara syf 251-259
90. Thadhani,R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med.* 1996 May 30;334(22):1448-60. Review
91. Toklu, H, Deniz M, Yüksel M, Keyer-Uysal M, Şener G. The protective effect of melatonin and amlodipine against cerebral ischemia/reperfusion-induced oxidative brain injury in rats *Marmara Medical Journal* 2009;22(1);034-044
92. Toprak,M.,Akkın,M,S.,1993,Genel Anatomi Terminolojisi ve Kullanım Özellikleri,İstanbul
93. Uchiyama, M, Mihara M (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochem.* 86: 279-286.
94. Valdivielso,JM, Pérez-Barriocanal F, García-Estañ J, López-Novoa JM. Role of nitric oxide in the early renal hemodynamic response after unilateral nephrectomy. *Am J Physiol.* 1999 Jun;276(6 Pt 2):R1718-23
95. Victor, p. Eroschenko syf 251-259
96. Virdi J, Sivakami S, Shahani S, Suthar AC. Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. *J Ethnopharm.*2004, 88: 107-111.
97. Weight, SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia--reperfusion injury. *Br J Surg.* 1996 Feb;83(2):162-70. Review
98. Woods, JS, Ellis ME, Dieguez-Acuna FJ, Corral JS. Activation of NF-kappaB in normal rat kidney epithelial (NRK52E) cells is mediated via a redox-insensitive, calcium-dependent pathway. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1999, 154: 219-227.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

99. Yıldırım ,M.,2011,Tıp fakültesi Öğrencileri için Gray's Anatomi,Ankara, Elsevier Limited, syf 355-359 s
100. Yılmaz,M.,Bazı Pestisitlerin sıçan dokularındaki Asetilkolinesteraz ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri ile Malondialdehit Düzeyine Etkileri,2010,Dokotra tezi,Adana.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı –Soyadı : Semih ÖZ

Doğum Tarihi ve Yeri : 16.06.1971 Almanya-KÖLN

Uyruğu : T.C.

Medeni Durumu : Bekar

İletişim adresi : oz_semih@hotmail.com

Eğitim Durumu

1995-1997 : ESOĞÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı Yüksek Lisans

1991-1995 : Selçuk Üniversitesi beden Eğitim ve Spor Yüksek Okulu

Yabancı Dil : İngilizce, Almanca

Mesleki Deneyim

Halen Milli Eğitim Bakanlığında öğretmen olarak görev yapmakta

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar

Yayımlar

Bilimsel Etkinlikler

ESOGÜ Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 2008,Eskişehir

Mikro Cerrahi kursu,2012,Ankara

Uluslararası Anatomi Kongresi,2012,Ankara