

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DENEYSEL RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
CATALPOL'UN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hilal KURNAZ OĞUZ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Bilge AYGİN

ELAZIĞ – 2015

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DENEYSEL RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
CATALPOL'UN ETKİLERİ**

Dr. Hilal KURNAZ OĞUZ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Bilge AYGEN**

Bu tez, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından 2014-67 proje numarası ile desteklenmiştir.

ELAĞIĞ – 2015

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad Atmaca

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Bilge AYGEN

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşan, tez yazım aşamalarında yardımını hiçbir zaman esirgememiş olan, kapısını her çalışımda daima anlayışla ve gülyüzüyle karşılayıp, kendisinden asistanlığım boyunca çok şey öğrendiğim çok değerli danışman hocam Nefroloji B.D. Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bilge AYGEN Hocam'a,

Eğitimimin her aşamasında katkıda bulunan, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen değerli bölüm hocalarım Prof. Dr. Emir DÖNDER, Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN, Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER, Prof. Dr. İ. Halil BAHÇECİOĞLU, Prof. Dr. Yusuf ÖZKAN, Prof. Dr. Mehmet YALNIZ, Prof. Dr. Dr. Süleyman Serdar KOCA, Doç. Dr. Ulvi DEMİREL, Doç. Dr. Orhan K. POYRAZOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Leyla KILIÇ, Yrd. Doç. Dr. Asude AKSOY, Yrd. Doç. Dr. Ramazan ULU, Yrd. Doç. Dr. Nevzat GÖZEL, Yrd. Doç. Dr. Kader UĞUR, Yrd. Doç. Dr. Abdurrahman ŞAHİN' e,

Biyokimyasal analizleri yapan Biyokimya Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Dilara KAMAN' a ve histopatolojik incelemeleri yapan Patoloji Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. A. Ferda DAĞLI' ya,

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım dostluğunu ve yardımını esirgemeyen Dr. Zeynep KILINÇ'a,

Bu günlere gelmemde en büyük emeği olan, sevgi ve desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen, hayat öğretmenlerim canım annem Perihan KURNAZ, babam İbrahim KURNAZ ve kardeşlerime,

Sadece tezimin hazırlanmasında değil, elele verdiğimiz günden itibaren hayatımın her aşamasında büyük fedakarlığını ve desteğini gördüğüm, aşılmaz engelleri beraber aştığımız sevgili eşim, hayat arkadaşım, hocam Fatih OĞUZ' a ve yaşam sevincim oğluma TEŞEKKÜR EDERİM.

ÖZET

DENEYSEL RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA CATALPOL'UN ETKİLERİ

Bu çalışmada, böbrek iskemi-reperfüzyon (IR) hasarı oluşturulan ratlarda catalpolun böbrek üzerindeki koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı.

Kırk Wistar albino sıçan rastgele olarak 4 gruba ayrıldı. Gruplardaki tüm ratlara sağ nefrektomi uygulandı. Kontrol grubuna IR hasarı oluşturulmadı (Grup 1). IR grubuna sol böbrek vasküler pediküle 60 dakika süreyle vasküler klemp yerleştirildi ve sonra 24 saat reperfüzyonda bırakıldı (Grup 2). Catalpol+IR grubuna iskemik süreçten 24 saat ve 1 saat önce 20 mg/kg catalpol intraperitoneal (ip) olarak enjekte edildi (Grup 3). IR+Catalpol grubuna iskemik süreçten 24 saat ve 1 saat sonra 20 mg/kg catalpol ip olarak enjekte edildi (Grup 4). Tüm ratlardan elde edilen böbrek dokusu örnekleri histopatolojik olarak incelendi. Serum üre, kreatinin ve böbrek dokusunda malondialdehid (MDA), glutatyon (GSH), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri ölçüldü.

Renal doku örneklerinin ışık mikroskopik incelemesinde kontrol grubuna göre IR uygulanan gruplarda böbrekte anlamlı düzeyde histopatolojik hasar tespit edildi. En şiddetli hasar Grup 2'de gözlemlendi. Catalpol tedavisi IR ile oluşan histopatolojik hasarı azalttı ($P>0,05$). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında serum üre seviyesi Grup 2, 3 ve 4'te istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti. Grup 2, 3 ve 4'te kreatinin düzeyinin, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü. İskemi-reperfüzyon hasarı istatistiksel olarak böbrek dokusu MDA düzeylerini yükseltirken, GSH, CAT, GPx and SOD düzeylerini düşürdü. Bunun aksine Grup 3 ve Grup 4, Grup 2 ile karşılaştırıldığında catalpol, GSH, CAT, GPx and SOD düzeylerini yükseltip, MDA düzeyini azaltarak böbrekteki koruyucu etkisini gösterdi. Bunun yanı sıra Grup 3 ile Grup 4 karşılaştırıldığında Grup 3'te GSH, CAT, GPx and SOD düzeyleri istatistiksel olarak daha yüksek, MDA düzeyi istatistiksel olarak daha düşüktü.

Bulgularımız, IR hasarının böbrek dokusunda istatistiksel olarak oksidatif ve inflamatuvar hasara yol açtığını göstermektedir. Bununla birlikte catalpol tedavisi IR

hasarının oluşturduğu negatif etkiyi azaltmaktadır. Bu nedenle catalpol, IR hasarının tedavisinde kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı, catalpol, oksidatif stres, inflamasyon



ABSTRACT

THE EFFECTS OF CATALPOL ON ISCHEMIA-REPERFUSION INDUCED EXPERIMENTAL RENAL DAMAGE

In this study, it was aimed to investigate the protective effects of catalpol against renal ischemia reperfusion (IR) induced renal damage in rats.

The forty Wistar Albino rats were randomly divided into four groups. Right nephrectomy was performed in all groups. In the control group; IR injury was not performed (Group 1). In the IR group; left renal pedicle was clamped for 60 minutes with vascular clamp and then underwent 24 hours of reperfusion (Group 2). In the Catalpol+IR group; 20 mg/kg catalpol was given intraperitoneally (ip) before 1 hours and 24 hours of ischemic process (Group 3). IR+Catalpol group; 20 mg/kg catalpol was given ip after 1 hours and 24 hours of ischemic process (Group 4).

The kidney and serum samples were taken from all rats for the histological examination with light microscopy and the determination of urea, creatinin, malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) level.

Light microscopic investigations showed that IR leads to significant histological damage in kidney tissue in the Group 2 when compared to the control group as histologically. But the most extensive damage occurred at only ischemia-reperfusion group when compared to other groups. Catalpol treatment reduced histopathological damages that occur with the IR ($p>0,05$). Serum urea levels were found to be significantly higher in the Group 2, 3 and 4 when compared to control groups. Creatinin levels were found to be significantly higher in the Group 2, 3 and 4 when compared to control groups. Ischemia reperfusion injury significantly increased the formation of MDA, it caused a significant decline in the levels of GSH, CAT, GPx and SOD in rats. In contrast, In the Group 3 and Group 4, catalpol significantly prevented effects of IR injury via increased GSH, CAT, GPx and SOD levels but decreased MDA when compared to Group 2. On the other hands, in the Group 3, catalpol significantly increased GSH, CAT, GPx and SOD levels and decreased MDA when compared to Group 4.

Our findings indicated that IR injury lead to significant oxidative and inflammatory damage in renal tissue. However catalpol treatment reduced these

negative effects induced by IR injury. For this reason, we suggested that catalpol may be used in the treatment of IR injury.

Key words: Ischemia reperfusion injury, catalpol, oxidative stress, inflammation



İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Böbrek Embriyolojisi	3
1.1.1. Böbreklerin Gelişimi	3
1.2. Böbrek Anatomisi	5
1.3. Böbrek Fizyolojisi	9
1.3.1. İdrar Oluşum Mekanizması	10
1.3.2. İdrarın Kimyasal Özellikleri	14
1.4. Böbreklerde İskemi ve Reperfüzyon Hasarının Patofizyolojik Etkileri	15
1.4.1. Antioksidan Savunma Sistemi	18
1.5. Catalpol'un Moleküler Yapısı Ve Özellikleri	19
2. GEREÇ VE YÖNTEM	22
2.1. Deney Grupları	22

2.2. Cerrahi İşlem	22
2.3. Biyokimyasal Analiz	25
2.3.1. Doku MDA Düzeylerinin Ölçümü	25
2.3.2. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü	25
2.3.3. Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivite Ölçümü	25
2.3.4. Doku Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Ölçümü	26
2.3.5. Doku Redükte Glutasyon (GSH) Ölçümü	26
2.3.6. Doku Protein Ölçümü	26
2.3.7. Serum Üre, Kreatinin ve Albumin Düzeyi Ölçümü	26
2.4. Histopatolojik Analiz	26
2.5. İstatistiksel Analiz	27
3. BULGULAR	28
3.1. Biyokimyasal Analiz	28
3.2. Histopatolojik Bulgular	34
4. TARTIŞMA	41
5. KAYNAKLAR	48
6. ÖZGEÇMİŞ	57

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Antioksidan yapıdaki bileşikler	19
Tablo 2. Serum biyokimya değerleri ve böbrek ağırlıkları	28
Tablo 3. Tüm grupların histopatolojik değerlendirmesi	34
Tablo 4. Grupların histopatolojik değerlerlerin istatistiksel karşılaştırılması ve p değerleri	35



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Dört haftalık embriyonun transvers kesiti	3
Şekil 2. Beşinci haftada üç boşaltım sisteminin görünümü	4
Şekil 3. Kalıcı böbrek metanefrozun gelişimi	5
Şekil 4. Renal hilus içerisinde yer alan yapılar ve böbreğin kesitsel olarak görünümü	6
Şekil 5. Her iki böbreğin komşulukları	7
Şekil 6. Böbrek arteriyel ve venöz sistemi oluşturan damarlar ve dalları	8
Şekil 7. Nefron yapısı ve her bir nefronu oluşturan birimler	9
Şekil 8. Rehmannia glutinosa Liboschitz bitkisi	20
Şekil 9. Catalpol'un moleküler yapısı	20
Şekil 10. Sol renal iskemi	24
Şekil 11. Reperfüzyon	24
Şekil 12. Doku MDA düzeyleri	29
Şekil 13. Doku SOD düzeyleri	30
Şekil 14. Doku CAT düzeyleri	31
Şekil 15. Doku GPx düzeyleri	32
Şekil 16. Doku GSH düzeyleri	33
Şekil 17. Normal böbrek histolojisi glomerül ve tübül yapıları	36
Şekil 18. Yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu (IR Grubu, G2)	36
Şekil 19. Yaygın tübüler nekroz (IR Grubu, G2)	37
Şekil 20. Yoğun tübüler atrofi (IR Grubu, G2)	37
Şekil 21. IR grubuna (IR Grubu, G2) göre tübüler nekroz yaygınlığında azalma (IR+Catgrubu, G4)	38
Şekil 22. IR grubuna (IR Grubu, G2) göre inflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma (IR+Cat grubu, G4)	38
Şekil 23. IR grubuna (IR Grubu, G2) göre tübüler atrofide azalma (IR+Cat grubu, G4)	39
Şekil 24. IR+Cat grubuna (IR+Cat grubu, G4) göre tübüler nekroz yaygınlığında azalma (Cat+IR grubu, G3)	39

Şekil 25. IR+Cat grubuna (IR+Cat grubu, G4) göre inflamatuvar hücre infiltrasyonunda belirgin azalma (Cat+IR grubu, G3)	40
Şekil 26. IR+Cat grubuna (IR+Cat grubu, G4) göre tübüler atrofide azalma (Cat+IR grubu, G3)	40



KISALTMALAR LİSTESİ

102: Singlet oksijen

ADH: Antidiüretik hormon

C: Karbon atomu

Ca⁺²: Kalsiyum

Cat: Catalpol

CAT: Katalaz

Cl: Klor

e⁻: Elektron

EFB: Efektif filtrasyon basıncı

Eq/L: Equivalent / litre

G1: Grup 1

G2: Grup 2

G3: Grup 3

G4: Grup 4

GB: Glomerüler basınç

GFR: Glomerüler filtrasyon hızı

GPx: Glutasyon peroksidaz

GSH: Redükte glutasyon

GSSG: Glutasyon disülfid

H: Hidrojen atomu

H₂O₂: Hidrojen peroksit

H-E: Hematoksilen eozin

IR: İskemi-reperfüzyon

İKB: Kapsül içi hidrostatik basınç

IL-1: İnterlökin-1

IL-3: İnterlökin-3

iNOS: Nitrik oksit sentaz

İV: İntra venöz

K⁺: Potasyum

KCl: Potasyum klorür

LPO: Lipid peroksidasyonu
MA: Molekül ağırlığı
N: Nitrojen
Na⁺: Sodyum
NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
nmol: Nanomol
NO: Nitrik oksit
NOS: Nitrik oksit sentetaz
O₂⁻: Süperoksit iyonu
OB: Onkotik basınç
OH: Hidroksil radikali
ONOO⁻: Peroksinitrit
pH: Potansiyel hidrojen
ROB: Reaktif oksijen bileşikleri
ROS: Reaktif oksijen radikalleri
SF: Serum fizyolojik
SOD: Süperoksit dismutaz
SOR: Serbest oksijen radikalleri
TBA: Tiyobarbitürik asit
TCA: Triklorasetik asit
TGF-B: Transforming growth factor – B
UV: Ultraviyole
XD: Ksantin dehidrojenaz
XO: Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ

İskemi, herhangi bir canlı dokuya gelen kan akımının azalması veya tamamen kesilmesi olarak tanımlanmaktadır (1). Böbrek iskemisi, böbrek transplantasyonu, böbrek kitlelerinde uygulanan parsiyel nefrektomi, kardiyopulmoner bypass, sepsis, şok ve çeşitli ürolojik girişimler gibi klinik durumlarda görülebilir (2, 3).

İskemiye maruz kalan dokunun oksijenden yoksun kalması, hücrelerde enerji kaybının artmasına, toksik metabolitlerin birikmesine, hücre fonksiyon bozukluğuna ve hücre ölümüne neden olmaktadır. İskemi süresi arttıkça iskemiye maruz kalan dokuda hasarın şiddeti buna paralel olarak artmaktadır (2, 4).

İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve buna bağlı olarak dokularda hipoksik hasar gelişir. Uzun süreli iskemilerde hücrelerin bütünlüğü kaybolur hatta hücre ölüm meydana gelir. Reperfüzyon ise dokunun kanlanmasıyla yeniden başlamasıdır. İskemi ile beraber reperfüzyonda iskemili dokuya, arteriyel kanla bol miktarda sunulan moleküler oksijen (O_2), aşırı serbest oksijen radikallerinin oluşmasına ve antioksidan savunma mekanizmalarının azalmasına yol açmaktadır (5).

İskemili dokunun yeniden kanlanmasıyla artan böbrek hasarı, iskemi-reperfüzyon (IR) hasarı olarak tanımlanmaktadır (6). İskemi-reperfüzyon olayında artan serbest oksijen radikallerine en duyarlı yapıların membran lipidleri olduğu bilinmektedir. Membran lipidlerinin serbest radikallerle oksidasyonu sonucu malondialdehit (MDA) gibi daha toksik oksidan ürünler açığa çıkmaktadır. Bilindiği gibi, MDA ölçümü ile lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi yapılabilmektedir (7). Yine IR hasarının oluşmasında, devam etmesinde ve şiddetinin belirlenmesinde serbest oksijen radikallerinin yanı sıra inflamasyonun da önemi gösterilmektedir (8, 9).

İskemi-reperfüzyon hasarı ile gerçekleşen inflamasyon “aseptik inflamasyon” olarak kabul görmektedir. Aseptik inflamasyon, septik inflamasyona benzer şekilde nötrofil ve makrofajların birikimi ve proinflamatuvar mediyatörlerin artmasıyla seyreder (10, 11). Yükselen kalsiyum, hücrelerde fosfolipaz A2 aktivitesini indükler ve fosfolipidlerden araşidonik asit sentezini artırır. Sitozolik kalsiyum ayrıca, siklooksijenaz (COX) aktivitesini de indükleyerek araşidonik asitten prostaglandin üretimini hızlandırır (12).

İskemi ve reperfüzyon sırasında; mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun değişmesi, ATP'nin azalması, hücre içi Ca^{+2} artışı ve hücre iskeleti ile membran fosfolipitlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfatazların aktive olması sonucu aşırı miktarda serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşarak, oksidatif strese neden olur. İskemi-reperfüzyon hasarının fizyopatolojisinde, SOR'nin önemli bir rol oynadıkları bildirilmektedir (13-15).

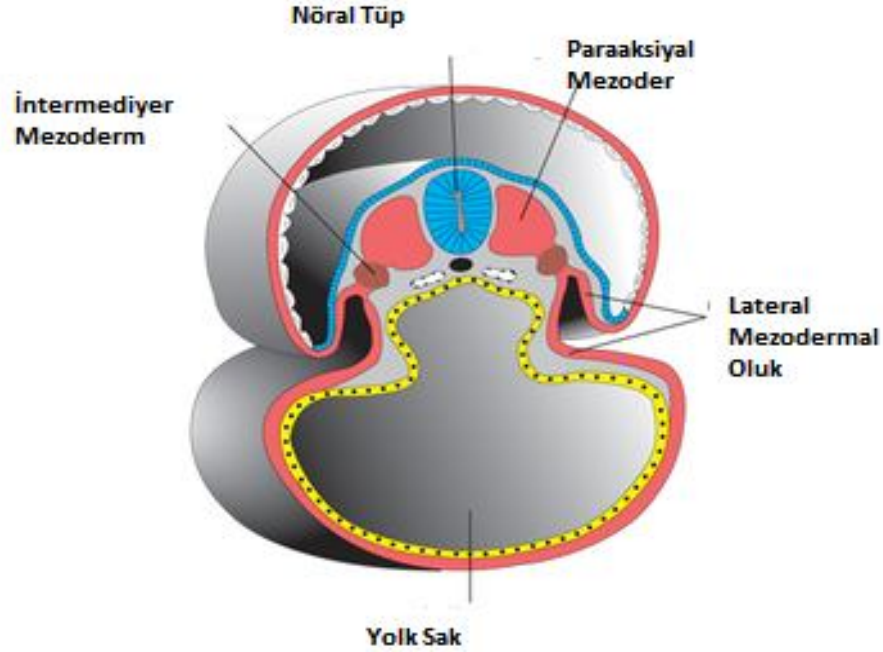
Serbest radikaller nükleik asitler, serbest aminoasitler, proteinler, lipitler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağdokusu makro molekülleri de dahil olmak üzere, canlı organizmaların yapısındaki hemen hemen tüm biyomoleküllerle reaksiyona girerek bunlar üzerinde geriye dönüşlü veya dönüşsüz etkiler meydana getirebilmektedir (13-15).

İskemi sırasında küçük oranda serbest radikal oluşmaktaysa da, reperfüzyon döneminde dokunun yeniden oksijenlenmesinin ardından çok daha büyük miktarda serbest radikal oluşmakta ve bunlar da lipit peroksidasyonuna yol açarak hasarı arttırmaktadırlar. Gelişen bu oksidatif stres, akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışıyla kendini göstermektedir. İskemi-reperfüzyon hasarının geriye dönebilmesi, böbrek tübüler hücrelerinin nefron boyunca hasarlı epitel hücrelerinin yerini alma ve yenilenme yeteneğine bağlıdır (15).

Bu bilgiler ışığında IR' ye bağlı böbrek hasarının oksidatif strese ve inflamatuvar yanıtı bağlı olarak geliştiği görülmektedir. Bu çalışmada deneysel renal IR uygulanan ratlarda antikanser, diüretik, antiinflamatuvar, antioksidan, nöroprotektif, hipoglisemik ve anti-hepatit virüs etkilerine sahip olan, Rehmannia glutinosa adlı bitkinin kökünden elde edilen bir iridiod glukozit olan catalpolun böbrek üzerindeki koruyucu etkisini araştırmayı amaçlandı (16).

1.1. Böbrek Embriyolojisi

İnsan anatomisinin ve çeşitli doğumsal hastalıkların daha iyi anlaşılabilmesinde ve değerlendirilmesinde embriyolojinin önemli bir yeri vardır. Ürogenital sistem embriyolojisini değerlendirecek olursak; fonksiyonel olarak üriner sistem ve genital sistem olarak ayırabiliriz. Ürogenital sistem embriyonun dorsal vücut duvarı boyunca yerleşen, intermediyer mezodermden gelişir (Şekil 1), (17).

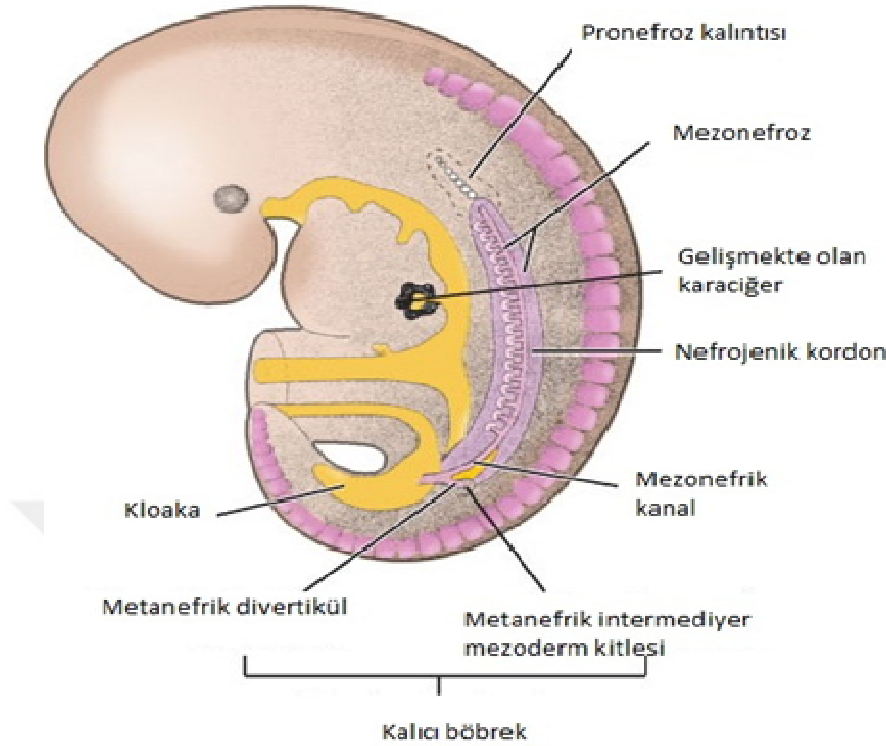


Şekil 1. Dört haftalık Embriyonun transvers kesiti.
(<http://www.ultratwistersgym.com/Resources/Urogenital/Urinary.html>)

1.1.1. Böbreklerin Gelişimi

Embriyolojik olarak üriner sistem; genital sistemden önce gelişir. Fetal dönemde üç tip böbrek sistemi ardı ardına gelişmektedir (Şekil 2).

- Pronefroz
- Mezonefroz
- Metanefroz



Şekil 2. Beşinci haftada üç boşaltım sisteminin görünümü (<http://renalsystem.weebly.com/collecting-system.html>)

İlk oluşan pronefrozlar fonksiyonel olarak aktif değildir ve kısa sürede kaybolur. İkinci oluşan mezonefrozlar ise kısa bir süre fonksiyon gösterir fakat bunlar da kalıcı değildir, kaybolur. Üçüncü olarak oluşan metanefrozlar ise kalıcıdır ve esas fonksiyonları gösteren böbrek haline gelirler (18).

Pronefroz:

İlk olarak 3. haftanın sonunda, 4. haftanın başında ortaya çıkarlar. Pronefrozlar embriyonun boyun bölgesinde az sayıda hücre kümesi ve kıvrılmış tübüler yapılardan oluşurlar. Pronefrozlara ait yapılar kısa bir süre içinde dejenerasyona uğrar (5. haftanın başlangıcında) ancak pronefrik duktuslar belirli bir süre kalır ve bir sonraki böbrek sisteminde bunlardan yararlanılır (Şekil 2).

Mezonefroz:

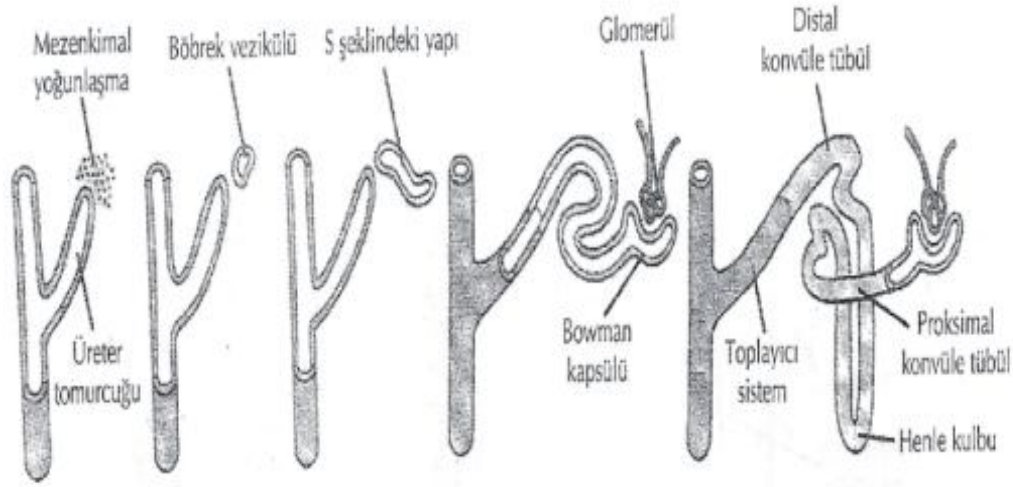
İkinci böbrek olan mezonefroz da geçicidir ancak memelilerde gerçek böbrek gelişimi (metanefroz) başlayana kadar embriyonun boşaltıcı organı olarak birinci trimesterin sonuna kadar çalışır. Dördüncü aya kadar insan mezonefrozları tamamen ortadan kalkar ve sadece olgunlaşabilecek birkaç unsur kalır (18).

Metanefroz:

Metanefroz ya da kalıcı böbrek, sakral bölgede beşinci haftanın başında gelişmeye başlar ve yaklaşık 4 hafta sonrada fonksiyonel hale gelir. İdrar oluşumu intrauterin dönem boyunca devam eder. Kalıcı böbrekler iki farklı kökenden oluşurlar:

-Metanefrik divertikül (üreterik tomurcuk) mezonefrik kanalın kloakaya giriş yerine yakın bir lokalizasyonda dışa doğru oluşan bir divertiküldür.

-İntermediyer mezodermin metanefrik kitlesi (metanefrik blastem) ise nefrojenik kordonun kaudal kısmından köken alır (Şekil 3). Üreter tomurcuğu yoğunlaşan metanefrik mezenkimi deler ve ikiye ayrılarak bölünür. Üreter tomurcuğu ve metanefrik mezenkim birbirlerine karşı karşılıklı indüksiyon yaparlar. Nefron (glomerül, proksimal tübül, Henle kulbu ve distal tübül) metanefrik mezenkimden oluşurken; toplayıcı sistem ise (toplayıcı kanallar, kaliksler, pelvis ve üreter) üreter tomurcuğundan gelişmektedir (Şekil 3). (18,19).



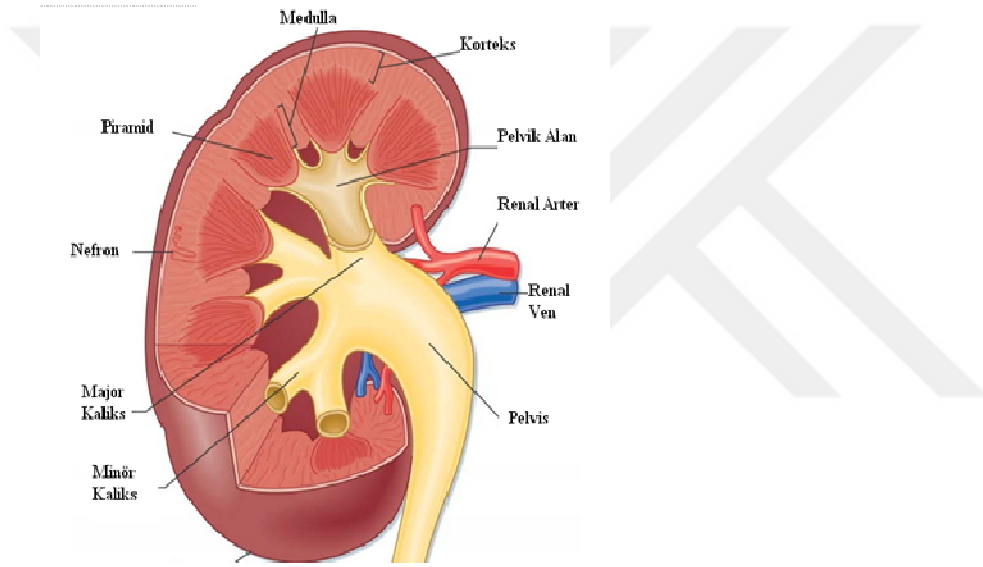
Şekil 3. Kalıcı böbrek metanefrozun gelişimi (17)

1.2. Böbrek Anatomisi

Böbrekler, retroperitonda sağda ve solda birer tane olmak üzere vertebral kolonun yanlarında, 12. torakal ve 3. lumbal vertebralar seviyesinde Gerato fasiasının içinde iki adet kırmızı-kahverengi renkli solid organlardır. Erişkin erkekte normal böbrek ağırlığı yaklaşık 160 gr, kadında ise yaklaşık 125 gr kadardır. Böbreklerin uzunluğu 10-12 cm, eni 5-7 cm ve kalınlığı yaklaşık 3 cm'dir. Tüm kardiyak output'un % 20'si böbreklere gelmektedir. Böbreğin hilusunda önde renal

ven, arkada renal arter ve en arkada renal pelvis bulunur. Lenf damarları renal pelvisin, sinirler ise renal arterin etrafında bulunurlar (20).

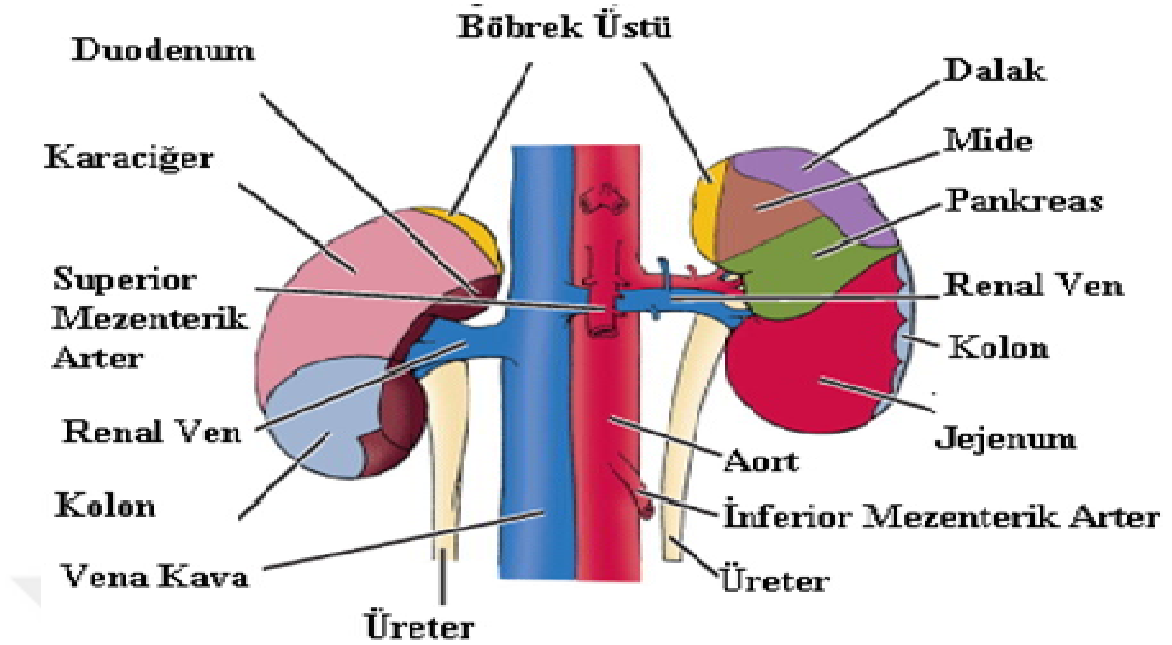
Böbrekler uzun ekseninden ikiye kesildiğinde dış kısmında korteks, iç kısmında medulla ayırdedilir. Daha açık renkli olan korteks, koyu renkli medulladan çıplak göz ile bile ayırt edilebilir. Böbreğin medullasında koni biçimli böbrek piramidleri bulunur. Piramidlerin tabanı korteks ile medulla sınırından başlar ve renal papillada son bulur. Pelvisin dış sınırı majör kaliks denilen açık ceplerle aşağı doğru uzanır ve her papilla da tüplerden idrar toplayan minör kalikslere ayrılır. Kalikslerin, pelvisin ve üreterlerin duvarları peristaltizm ile çalışarak idrarı mesaneye iletebilecek yapıdadır (Şekil 4) (21).



Şekil 4. Renal hilus içerisinde yer alan yapılar ve böbreğin kesitsel olarak görünümü. (STUDYBLUE | Find and share online flashcards and notes from. Retrieved October 11, 2014)

Böbrekler arka yüzleri ile karın arka duvarını oluşturan kaslardan M.psoas major, M.quadratus lumborum ve M. Transversus abdominis ile komşudur. Üst uçları diyafragma ile temas halindedir. Diyafragma aracılığıyla sağda 12. solda 11 ve 12. kostalarla komşudurlar.

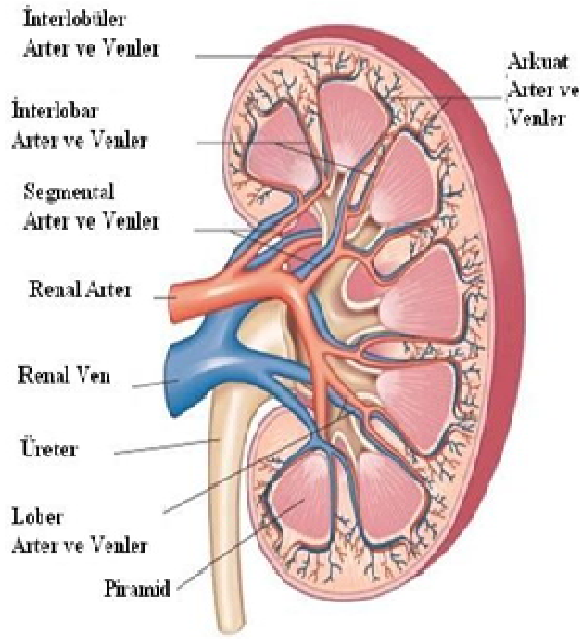
Sağda önde üstten alta doğru böbrek üstü bezi, karaciğer, duodenum pars descendens, fleksura coli dextra ve ince barsak kıvrımları ile komşu iken, solda böbrek üstü bezi, dalak, mide, pankreas, fleksura coli sinistra ve jejunumun oluşturduğu ince barsak kıvrımları ile komşuluk gösterir (Şekil 5) (22).



Şekil 5. Her iki böbreğin komşulukları.
(Uni-plovdiv.bg- Home. Retrieved October 11, 2014)

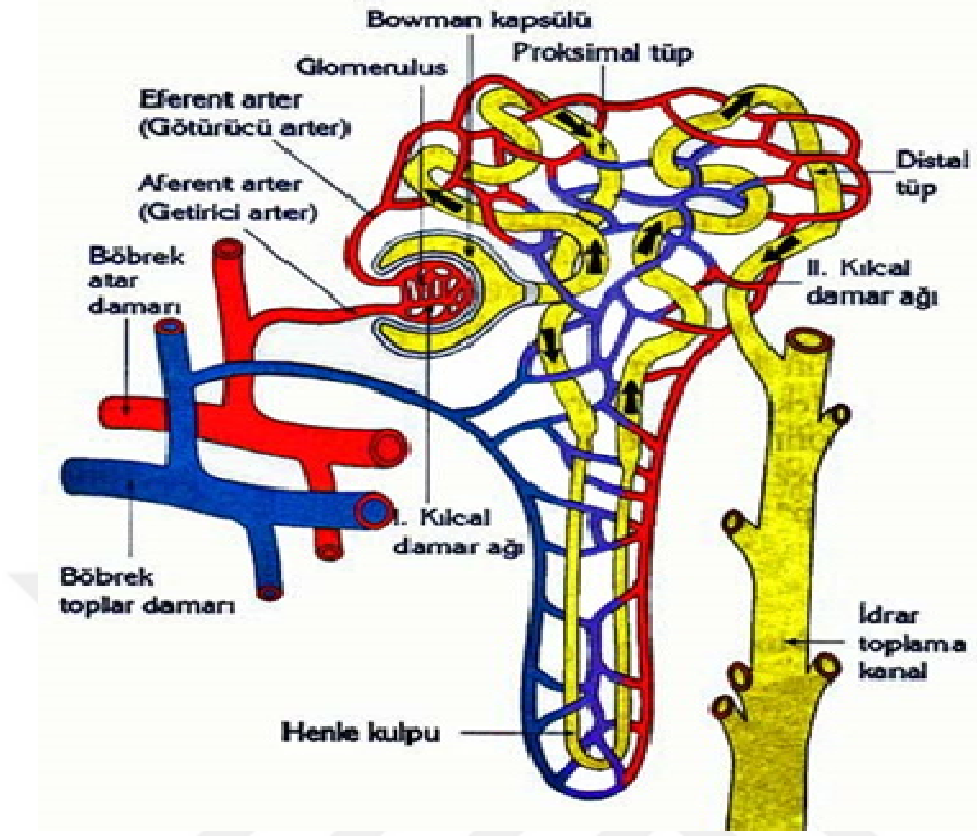
Genellikle her bir böbreği aortadan çıkan tek bir renal arter besler. Renal arter, anteriorda yer alan renal ven ve posteriorda yer alan renal pelvis arasından hilusa girer. Böbreğe girmeden önce iki veya daha fazla dala ayrılabilir. Renal arter anterior ve posterior dallara ayrılır.

Anterior dal üst ve alt polleri ve ön yüzü beslerken posterior dal arka yüzün orta segmentini besler. Renal arterlerin tamamı end arterlerdir. Bu dallar Bertini kolumnalarından yukarıya çıkan interlobar arterlere bölünürler. Bunlar da piramitlerin tabanında ark yaparak arkuat arterlere dönüşürler. Arkuat arterlerden itibaren anastomozlar yoktur. Arkuatlardan interlobüler arterler çıkar (Şekil 6). Bunlardan çıkan afferent dallar ise glomerüllere girerler. Glomerüler yumaktan efferent arteriol çıkar. Kanın dönüş yolu nefrondan vas efferens denilen venüllerle başlar, arterlerle aynı isimleri alarak sonuçta V.renalis ile V.cava inferiora açılırlar (Şekil 6).



Şekil 6. Böbrek arteriyel ve venöz sistemi oluşturan damarlar ve dalları (STUDYBLUE | Find and share online flashcards and notes from. Retrieved October 11, 2014)

Böbreğin en küçük yapısal birimi nefronlardır (Şekil 7). Nefron böbrekte idrarın yapıldığı morfolojik üniteyi oluşturur. Bir böbrek 1-3 milyon arasında nefron sayısına sahiptir. Her bir nefron idrar yapan bağımsız bir ünedir. Damarsal yapı (glomerül) ve tübüler yapılardan oluşmuştur. Nefron kandaki su ve suda çözünen maddeleri süzer (filtrasyon), daha sonra onların bir bölümünü vücudun ihtiyaçları doğrultusunda geri emer (reabsorbsiyon), kalanların da idrar olarak vücuttan atılmasını sağlar. Nefronlar ortak açılma kanalları ile böbrek papillalarına açılırlar. Böylece oluşan idrar ilk olarak kalikslerde ve dolayısıyla pelviste biriktirilmiş olur (20, 21).



Şekil 7. Nefron yapısı ve her bir nefronu oluşturan birimler (SEN, H. İnsanda Boşaltım Sisteminin Sağlığı. Retrieved October 11, 2014.)

Böbrekler otonom sinir sisteminin etkisi altındadır. Sinirleri plexus renalis adı verilen ağdan (T10-T12) hilum renalise girer. Sempatik etki böbrek damarlarında kasılma etkisi yaparak idrar oluşumunu azaltır. Parasempatik liflerin etkisi ise bilinmemektedir.

Proksimal üreter, kaliksler ve pelvis renalisin lenf drenajı lumbar lenf nodlarına olurken, orta üreterin lenfatik drenajı internal iliak ve common iliak lenf nodlarına, distal üreterin lenfatik drenajı ise vezikal ve hipogastrik lenf nodlarına olmaktadır (22).

1.3. Böbrek Fizyolojisi

Böbreklerin başlıca iki fizyolojik görevi vardır; Bunlar idrar oluşturma ve endokrin fonksiyonudur. İdrar oluşumu ile birlikte böbreklerde metabolik olarak özellikle protein metabolizması sonrası oluşan üre, kreatin, kreatinin, ürik asit, fosfatlar, sülfatlar gibi atık ve toksik maddeler vücuttan uzaklaştırılmaktadır. Vücuttaki su ve elektrolit dengesi, asit-baz dengesi sağlanmaktadır. Organizma için gereksiz yabancı maddelerin (çeşitli ilaçlar, boya maddeleri gibi) atılması metabolik

olarak böbreklerin yerine getirdiği görevlerdendir (9). Böbreklerin bilinen başlıca endokrin fonksiyonları arasında eritropoietin salgılanması, renin salgılanması, prostoglandinlerin salgılanması ve kallikrein-kinin sisteminin regülasyonu sayılabilir (23).

Böbrek fonksiyonlarını anlamak için bir nefronun fonksiyonunu incelemek yeterlidir. Nefron, sıvının filtre edildiği glomerül ve idrar haline dönüştüğü tübülüslerden (proksimal tübül, Henle kulpu, distal tübül, toplayıcı kanallar) meydana gelir (18, 23).

Böbrek bütün vücut kitlesinin % 1'inden azını oluşturmaya rağmen kalp debisinin % 20'sini almaktadır. Bu da 70 kg ağırlığındaki bir insan için 1200 ml/dk demektir. Böbreğe gelen kanın basıncı renal arterde 100 mmHg kadardır. Bu basınç glomerüle doğru giderek azalmaktadır (24).

Afferent arteriolden glomerülün kapiller yatağına akan kan, efferent arteriolla terk ederken burada bir dirençle karşılaşır. Çapı afferent arteriole göre daha ince olan efferent arteriolün bu kan akımına gösterdiği direnç glomerül kapiller ağını yüksek bir basınç yatağı haline dönüştürür. Bu da glomerüler filtrasyonda önemli rol oynamaktadır. Peritübüler kapiller yataktaki basınç süratle azalarak 10-13 mmHg'ya kadar iner. Bunun sonucu peritübüler kapiller ağ düşük basınç yatağını meydana getirir. Sonuçta; glomerüller ortalama 70 mmHg basınç altında görev yaparak sıvının hızlı filtre edilmesini, peritübüler kapiller sistem ise düşük basınç altında fonksiyon görerek plazmanın yüksek ozmotik basıncı nedeniyle sıvının hızla reabsorbsiyonunu sağlamaktadır. Genel anlamıyla kan basıncı değişiklikleri karşısında böbreklerin bir otoregülasyon mekanizması mevcuttur. Kan basıncının değişmesinde bile renal kan akımı ve glomerüler filtrasyon değişiklikleri % 10'un altında kalır (24).

1.3.1. İdrar Oluşum Mekanizması

Böbreğin en önemli fonksiyonu idrarın oluşumudur. İdrar glomerüler filtrasyon, tübüler reabsorbsiyon ve tübüler sekresyon sonucu meydana gelmektedir (23).

a) Glomerüler Filtrasyon:

Glomerüler filtrasyonu sağlayan esas faktör glomerüler kapiller yumak içindeki hidrostatik basıncın varlığıdır. Bu da 70 mmHg'dir. Plazmadaki şekilli elemanlar ve 70.000 kD'nun üzerinde molekül ağırlığı olan proteinler dışındaki tüm

maddeler bu basıncın etkisiyle Bowman kapsülüne geçmeye çalışır. Fakat buna karşı koyan güçler arasında plazmada bulunan proteinlerin onkotik basıncı (25-30 mmHg) ile Bowman kapsülü içindeki hidrostatik basınç vardır (10-15 mmHg). Aradaki yaklaşık 30 mmHg'lik basınç farkı efektif filtasyon basıncını oluşturur (23).

Glomerülden Bowman kapsülüne geçen sıvı içinde proteinler bulunmadığından bu sıvının onkotik basıncı sıfır olarak kabul edilir. Sistemik basınç 70 mmHg'nin altına inerse filtrasyon basıncı sıfıra düşer. Glomerüler filtrasyon oluşmaz. Diğer taraftan intrakapsüler basınç 45-50 mmHg'nin üstüne çıkarsa da efektif filtrasyon sıfıra düşerek glomerüler filtrasyon durur. Üreter obstrüksiyonunun meydana geldiği durumlarda da intrakapsüler basınç artmakta ve bir süre sonra glomerüler filtrasyon durmaktadır (25).

Glomerüler Bowmandan filtre olan sıvıya glomerüler filtrat denilir. Glomerül membranı çok büyük geçirgenliğine rağmen geçirdiği moleküllerin büyüklüğü yönünden aşırı bir seçiciliğe sahiptir. Molekül ağırlığı 70.000 kD üzerindeki maddelerin geçişi mümkün değildir. Glomerül porları çok kuvvetli ve elektriksel negatif yükleri olan bir glukoz ve protein kompleksi ile döşelidir. Plazma proteinleri de kuvvetli elektriksel negatif yüklere sahiptir. Böylece protein moleküllerinin porların çeperleri tarafından elektrostatik olarak itilmesi ile moleküllerin porlardan geçmesi engellenir (25).

Glomerüler filtrasyonu belirleyen başlıca durumlardan birisi glomerüler filtrasyon hızıdır (GFR). Her iki böbreğin nefronlarının tümünden bir dakikada oluşan glomerüler filtratın miktarına GFR denir. Glomerülden filtre edilip reabsorbsiyon veya sekresyona uğramayan maddelerin klirensi glomerüler filtrasyon hızına eşittir.

Klirens: Bir maddenin bir dakikada temizlendiği plazma miktarıdır.

Klirens (x): $U(x) \cdot V / P(x)$

$U(x)$: X maddesinin idrardaki konsantrasyonu

V: 24 saatlik idrar volümü

$P(x)$: X maddesinin plazma konsantrasyonu

Normal şartlarda bu 120 ml/dk'dır. Yani 24 saatte 180 litredir. Bu filtratın % 99'u tübüllerden reabsorbe edilir ve geri kalan 1200-1500 ml idrar olarak çıkarılır.

Bir karbonhidrat polimeri olan inülin sadece glomerülden filtrata geçer. Tübüllerde reabsorbsiyona ve/veya sekresyona uğramadan idrarla atıldığından, inülin klirensi GFR'yi gösterir (23, 25).

Endojen kreatinin klirensi gerek dışarıdan bir enjeksiyon gerektirmemesi gerekse uygulama kolaylığı olması nedeniyle GFR ölçümünde en sık kullanılan yöntemdir. Kreatinin plazma düzeyi sabittir. Akım hızı ile değişiklik göstermez. Glomerüler filtrasyona uğrayan kreatinin tübüler reabsorbsiyona uğramaz. Fakat bir miktar sekresyona uğramaktadır. Kreatinin klirensi, inülin klirensi gibi hesaplanır. Ortalama değeri, 120 ml/dk'dır.

b) Tübüler Reabsorbsiyon ve Sekresyon:

Glomerüler filtrat tubuliye girdikten sonra, önce proksimal tübülde, sonra Henle kulpunda, distal tübül ve toplayıcı kanallarda çok büyük değişikliklere uğrayarak idrar haline gelir. İdrarın oluşumunda reabsorbsiyon, sekresyondan daha çok rol oynar. Genellikle glomerül filtratındaki suyun % 90'ı tubüllerden geçerken reabsorbe olur. Tübüler sekresyon ve reabsorbsiyon, aktif transport ve pasif transport adı verilen iki temel mekanizma ile olur:

Tübülleri örten epitelyum tabakasının lümene bakan yüzeyi adeta bir fırçası kenar oluşturur. Binlerce küçük villustan oluşan bu fırça kenar, hücrenin lümene bakan kısmının alanını 20 kat genişletmektedir. Böylece tübüler reabsorbsiyon kolaylaşmaktadır. Tübüllerden sodyum, potasyum, klor, kalsiyum, demir, hidrojen, bikarbonat, ürat, fosfat iyonları, su, glukoz, protein ve aminoasitler gibi maddeler enerji harcanarak aktif transporta uğrayan maddelerdir.

Aktif transport, hücre membranlarında bulunan proteinlerle madde taşınması esasına dayanır. Burada kullanılan enerji ATP'den sağlanır. Vücutta en yaygın aktif transport mekanizmalarından biri de sodyum-potasyum pompası denilen mekanizmadır. Bu yolla Na^+ iyonları hücre dışına, K^+ iyonları hücre içine taşınır. Diğer taraftan tübülde hidrojen iyonları, potasyum iyonları ve ürat iyonları gibi bazı maddeler ise aktif sekresyona uğrarlar. Aktif sekresyon da aktif transport gibidir. Ancak burada hücre membranı maddeyi aksi yönde taşımaktadır.

Pasif transportta ise herhangi bir enerji harcaması yoktur. Su ozmoz ile reabsorbe edilirken, tübüler sıvıdaki ürenin yaklaşık yarısı geride kalır. Tübüler sıvıda üre konsantrasyonu artar ve böylece interstisiyel sıvıda üre konsantrasyonu

düşük olduğundan tübül sıvısından intertisyuma ürenin difüzyonuna yol açar. Tübüler membranın kreatinin, inülin, mannitol ve sakaroza geçirgenliği sıfırdır. Bu maddeler glomerülden filtre edildikten sonra % 100 oranında idrara geçer. Tübül segmentlerinin absorpsiyon yeteneklerine bakacak olursak (9, 11);

1. Proksimal Tübül:

Proksimal tübül hücreleri çok hızlı bir aktif transportu sağlayacak şekilde ileri derecede metabolik aktif hücreler görünümündedirler. Tübüler sistemdeki tüm reabsorpsiyonun yaklaşık % 65'ini gerçekleştirir. Proksimal tübül hücrelerini birbirine bağlayan bağlantı çok sıkı değildir. Böylece bu bağlantılardan hem su hem de birçok küçük moleküllerin sızması kolaydır.

2. Henle Kulpu İnce Segmenti:

Bu kısımda epitel çok incedir. Bu segment suya çok geçirgen olduğu halde sodyum ve diğer iyonların çoğuna orta derecede bir geçirgenlik gösterir. Henle kulpunun ince segmentinin çıkan kolu ise suya çok daha az geçirgen, üreye çok geçirgindir.

3. Henle Kulpunun Kalın Segmenti:

Bu segmentin epitel hücreleri proksimal tübülünkine benzese de fırçası kenarı rudimenter, bazal kanalların sayısı az ve hücreler arası bağlantılar daha sıktır. Bu özellikle Na^+ , K^+ ve Cl^- iyonlarının aktif transportunda rol oynar. Buna karşın bu kısmın su ve üreye karşı geçirgenliği hemen hemen hiç yoktur. Bu nedenle Henle kulpunun kalın segmentinde iyonların yaklaşık $\frac{3}{4}$ ' ü intertisyuma taşınırken su ve üre tübüli lümeninde kalır. Böylece çıkan kolda tübül sıvısı çok seyrelmiş olduğu halde üre konsantrasyonu yüksektir. Esasen bu kalın segment böbrekte oluşan son idrarın konsantrasyon ve dilüsyon derecesinin düzenlenmesinde son derece önemli rol oynar.

4. Distal Tübül:

Distal tübülün iki fonksiyonel bölümü vardır. Bunlar sulandırıcı-dilüe edici segment ve distal bölümün son bölümü ile kortikal toplayıcı tübüldür.

Sulandırıcı segment kısmı distal tübülün ilk yarısı ile Henle kulpunun çıkan kolunun kalın segmentidir ve aynı niteliklere sahiptir. İyonların çoğunu absorbe ettiği halde üre ve suya hemen hiç geçirgen değildir. Bu nedenle, sulandırıcı segmentte tübül sıvısının sulandırılmasında rol oynar.

Distal tübülün son bölümü ve kortikal toplayıcı tübülün epiteli de distal tübülün sulandırıcı segmenti gibi üreyi hemen hiç geçirmez. Böylece idrarla çıkarılacak olan ürenin hepsi toplayıcı tübüle geçer. Bu iki segment Na iyonlarını kolayca reabsorbe eder ve kontrolü büyük ölçüde aldosteronla sağlanır. Sodyum iyonlarının tübül lümeninden peritübüler intertisyuma pompalanması sırasında, K iyonları da ters yönde tübül lümenine taşınır. Burada da aldosteron ile birlikte vücut sıvılarındaki K iyon konsantrasyonu gibi faktörler rol oynar. Böylece K iyonları bu tübüler segmentte aktif olarak sekresyona uğramakta ve vücutta ekstraselüler K iyon konsantrasyonu büyük ölçüde bu yoldan denetlenmektedir.

Distal tübülün son bölümü ve kortikal toplayıcı tübül, farklı ve önemli bir görev yaparlar. Bu bölüm antidiüretik hormon (ADH) varlığında suya geçirgendir. Bu hormon yoksa suyu geçirmez. Bu fonksiyon idrarın dilüe edilme derecesini kontrol eder.

5. Toplayıcı Kanal Epiteli:

Buradaki epitelyum hücreleri ADH varlığında suya geçirgendir. Antidiüretik hormon fazla ise suyun medüller intertisyuma büyük miktarda geri Emilimi ile idrar hacmi azalırken, idrarda çözünmüş maddelerin konsantrasyonları artar. Toplayıcı kanal epiteli hidrojen iyonlarını çok yüksek bir hidrojen iyon gradyanına karşı sekresyon yeteneğine sahiptirler. Bu özelliği ile vücut sıvılarında asit-baz dengesinin kontrolünde önemli rol oynar.

1.3.2. İdrarın Kimyasal Özellikleri

Normal bir erişkin günde 1000-1500 ml idrar çıkartır. İdrar dansitesi ortalama olarak 1015-1025 arasındadır ve genellikle idrar miktarı ile ters orantılıdır. Böbrek fizyolojik koşullarda, organizmanın hidrasyon durumuna göre idrarı dilüe (1001-1002'ye kadar) ve konsantre (1035-1036'ya kadar) etme yeteneğine sahiptir. İdrar dansitesi 1008-1010 civarında ise izoozmotiktir.

İdrar pH'sı sabit olmayıp belli sınırlar içinde değişiklik göstermektedir. Böylece asit-baz dengesinin regülasyonunda rol oynar. Normal beslenen bir insanın idrar pH'sı 6,2 civarındadır. Bu değer 4,8- 8,2 arasında olabilmektedir.

İdrarın içinde su ve suda eriyen maddeler vardır. İdrarın % 96'sını su oluşturur. Günlük idrar miktarı 1500 ml kabul edilirse bunun 60-65 gramı sabit

maddelerdir. İdrarın suda eriyen maddeleri organik ve inorganik olmak üzere ikiye ayrılır. Yaklaşık olarak organikler 35 gr, inorganikler ise 25-30 gr kadardır.

İdrarda bulunan organik maddelerin en önemlisi üredir. Protein metabolizmasının son ürünü olan bu madde günlük idrarda 25-35 gr kadar atılır.

Üreden başka idrarda; ürik asit, kreatinin, hippurik asit, indikan ve idrar pigmentleri gibi diğer bazı organik eriyikler de bulunur. İdrarda bulunan en önemli inorganik madde kloridlerdir. Yaklaşık 8-15 gr kadar atılırlar. Bunun dışında; sülfatlar, fosfatlar, sodyum, potasyum, karbonat, amonyum, kalsiyum ve magnezyum gibi inorganik maddeler bulunur (20, 23, 25).

1.4. Böbreklerde İskemi ve Reperfüzyon Hasarının Patofizyolojik Etkileri

Böbrek iskemisinin oluşmasındaki asıl etken böbreğe giden kan akımının kesilmesidir. Bu durum pre-renal sebeplere bağlı olarak (şiddetli dehidratasyon, şok, yanık, sepsisemi) gelişebildiği gibi renal arter trombozu veya embolisi, böbrek transplantasyonu, parsiyel nefrektomi esnasında süreye dikkat edilmeksizin renal arterin klemplenmesine bağlı olarak gelişebilir. Bu da iskemik erken dönem böbrek yetmezliği oluşmasına neden olan postoperatif komplikasyonlara yol açabilmektedir (26-29).

Hem kan akımının kesilmesine (iskemi), hem de kan akımının yeniden başlamasına (reperfüzyon) maruz kalan dokularda ciddi hasar gelişebilmektedir. İskemi-reperfüzyon birbirleriyle olan ilişkileri tam olarak aydınlatılamamış hem hücresel, hem de humoral olaylar zinciridir. İskemi ile beraber dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacı tam olarak karşılanamamakta ve iskemik dokularda biriken atık metabolitler uzaklaştırılamamaktadır. Oksidatif fosforilasyon azaldığı için, bu yoldan üretilen ATP sentezi durur (30).

Adenozin trifosfat sentezinin durmasıyla beraber $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz pompa bozukluğuna sebep olarak hücre içi sodyum birikimi ve hücreden potasyumun dışarı atılmasına yol açar. Solid materyalin birikimine izoozmotik su birikimi eşlik ederek akut hücresel şişmeye neden olur (31).

Oksidatif fosforilasyonun bozulmasıyla hücresel anaerobik glikolitik yol üzerinden ATP üretilmeye başlanır. Anaerobik glikoliz sırasında ortaya çıkan laktat ve pirüvat, glikolizin sonraki evrelerine iletilmediğinde hücre içinde birikir. Glikozun yıkılımı tam olmaz, buna bağlı olarak üretilen ATP oranı azalır. Aerobik glikoliz

yolu tıkanığında hücre büyük oranda ATP kaybeder, çünkü glikoz pirüvat düzeyine kadar yıkılabilmiş, böylece 36-38 ATP yerine yalnız 2 ATP üretilmiştir. Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinden hidroliz sonucu oluşan inorganik fosfat birikimine neden olur. Sonuçta hücre içi pH düşer ve hücre içi asidoz gelişir (31).

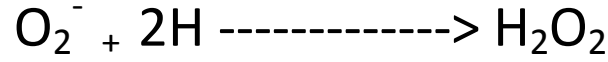
İskemi ve belirli toksinler erken dönemde sitozolik Ca^{++} konsantrasyonunda artmaya neden olur, bu artış mitokondri ve endoplazmik retikulumdan Ca^{++} salınımı ve plazma membranını geçen net Ca^{++} akışı nedeniyledir. Hücrede Ca^{++} yükselişi için daha sonra membran permeabilitesinde nonspesifik artışla destek verilir. Artmış Ca^{++} çok sayıda enzimin aktivasyonunu sağlar. Bunlar; fosfolipaz (membran hasarını başlatır), proteaz (membran ve sitoiskelatal proteinleri parçalar), ATPaz (ATP'nin azalmasını hızlandırır) ve endonükleaz (kromatin bağlarını parçalar)'dır.

İskemi süresi uzadıkça ATP yıkımı başlar, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitleri birikir. Hipoksi ve hücre içi kalsiyum artması ksantin dehidrojenazın (XD) ksantin oksidaza (XO) Ca^{++} bağımlı proteazlar aracılığı ile dönüşümüne yol açar. Bu proteazların aktivasyonu; iskemi esnasında, tümör nekrozis faktör (TNF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-3 (IL-3), nötrofillerden salıverilen elastaz ve kompleman aktivasyonu tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu arada endotelde bazı proinflamatuvar ürünlerin (lökosit adhezyon molekülleri, sitokinler) ve biyoaktif ajanların (endotelin, tromboksan A2) yapımı artarken, diğer bazı koruyucu ürünlerin (yapısal nitrik oksit sentetaz, trombomodulin) ve biyoaktif ajanların (prostosiklin, NO) yapımı baskılanır. Böylece iskemi, daha sonraki reperfüzyon döneminde doku zedelenebilirliğini arttıran proinflamatuvar bir durum başlatır (31).

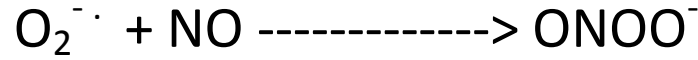
İskemik dokudaki kan dolaşımının yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir. İskemiye maruz kalan dokunun reperfüzyonu sırasında dokunun oksijen ve diğer metabolik ihtiyaçlarını karşılarken aynı anda ortaya çıkan reaksiyonlar zinciri sonrasında doku hasarı daha da artar. İskemik hasara oksijen yokluğu (hipoksi) sebep olurken reperfüzyon hasarına ise oksijenin geri dönmesi sebep olmaktadır (32).

Reperfüzyon ile kanın yani oksijenin hızla dokuya ulaşması, purinlerin ksantin oksidaz ile oksidasyonuna ve böylece süperoksit (O^{2-}) radikalleri ve urat oluşumuna neden olur. Süperoksit radikali süperoksit dismutaz ile normalde toksik olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülüne dönüştürülür. İskemi nedeniyle

hücresel antioksidan savunma sistemlerinin de zayıflaması ile H₂O₂ demirin katalize ettiği bir reaksiyon ile daha toksik olan hidroksil radikali (OH) meydana getirir.



Nitrik oksit (NO), iskemi reperfüzyon hasarına karşı oldukça iyi bilinen mediatör ve koruyucudur. Nitrik oksit, L-Arginin'in guanidyum grubundan, NO sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile sentezlenen diatomik serbest radikaldir. Nitrik oksitin en önemli kaynağı endoteldir. İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşması ve sıvı filtrasyonunun artmasına, postkapiler venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur. Reperfüzyonla beraber aktive olmuş endotel hücrelerinden fazla miktarda oluşan süperoksit radikalleri (O₂^{· -}) NO ile reaksiyona girerek peroksinitrite (ONOO⁻) dönüşümü ortamdaki NO seviyesini azaltıp doku hasarını arttırmakta olduğu gösterilmiştir. Peroksinitritin kendisi protein hasarı yaratabilir ve ayrıca toksik ürünlere dönüşebilir (33-35).



İskemi sonrası reperfüzyonla birlikte dokuda inflamatuvar cevap oluşur. Reperfüzyonla başlıca dokuda bulunan makrofajların, nötrofilleri ve lenfositleri inflamasyon bölgesine çekebilmesi için çeşitli mediatörler salgılanır. Bu pro-inflamatuvar sitokinlerin en önemlileri TNF α ve IL-1β'dır. Hasarlı hücreler veya bozulmuş doku matrisi bu inflamatuvar cevabı başlatabilir. Nötrofillerin endotel hücrelerine adezyonu mikrovasküler permeabilitenin artışından başlıca sorumlu olduğu gösterilmiştir. Dokuda oluşan hasarda sadece SOR değil inflamasyonun kendisi de yer almaktadır. Hem endotel hücresi, hem de nötrofil kaynaklı oksijen radikallerinin etkisiyle NO, SOD, CAT ve diğer antiproteazlar inaktive olmakta böylece proteolitik aktivite güçlenerek doku hasarı oluşmaktadır (36-39).

Kısaca temel patofizyolojiyi özetleyecek olursak; IR hasarında, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun bozulması, ATP'nin azalması, hücre içi Ca⁺² artışı ve hücre

iskeleti ile membran fosfolipitlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfatazların aktive olması sonucu aşırı miktarda serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşarak, oksidatif strese neden olur. Burada en önemli rolü SOR sağlamaktadır. Serbest oksijen radikalleri nükleik asitleri, serbest aminoasitleri, proteinleri, lipitleri, lipoproteinleri, karbonhidratlar ve bağdokusu makromolekülleri de dahil olmak üzere, canlı organizmaların yapısındaki hemen tüm biyomoleküllerle reaksiyona girerek bunlar üzerinde reversible veya irreversible etkiler meydana getirebilmektedirler. Serbest oksijen radikalleri, nükleer ve mitokondrial DNA'da timin ile reaksiyona girerek tek zincir kırılmaları oluşturur. Sonuçta hücrelerin enerji kaybetmeleriyle nekrotik tipte hücre ölümü olur. İskemi sırasında küçük oranda serbest radikal oluşmaktaysa da, reperfüzyon döneminde dokunun yeniden oksijenlenmesinin ardından çok daha büyük miktarda serbest radikal oluşmakta ve bunlar da lipit peroksidasyona yol açarak hasarı arttırmaktadırlar (40-43).

1.4.1. Antioksidan Savunma Sistemi

Sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için organizmadaki oksidan/antioksidan sisteminin dengeli bir şekilde işlemesi hayati öneme sahiptir. Serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonunu antioksidan savunma sistemi ile sağlanmaktadır (44-46).

Antioksidan Savunma Sistemi;

- Süpürücü etki ile küçük moleküllü serbest oksijen radikallerini tutarak ve yok ederek etki,
- Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak inaktif şekle dönüştürücü etki,
- Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki,
- Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde etki gösterirler (47-49).

Tablo 1. Antioksidan Yapıdaki Bileşikler

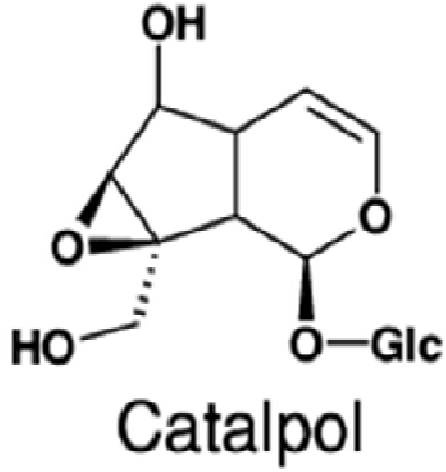
Endojen Antioksidanlar		Eksojen Antioksidanlar	
Enzim olan endojen antioksidanlar	Enzim olmayan endojen antioksidanlar	Vitamin eksojen antioksidanlar	İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar
Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S-transferaz (GST), katalaz, mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, hidroperoksidaz	Melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, ürat, laktoferrin, albümin.	α -tokoferol (vitamin E), β -karoten, askorbik asit (vitamin C), folik asit (folat)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), NADPH oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz, N-asetilsistein, trolox-C (vitamin E analogu), demir şelatörleri, sitokinler (TNF ve IL-1)

1.5. Catalpol'un moleküler yapısı ve özellikleri

İridoitler monoterpenlerin siklopentapiran halkasından oluşan özellikle Apocynaceae, Scrophulariaceae, Diervillaceae, Lamiaceae, Loganiaceae ve Rubiaceae gibi bitki familyalarında doğal olarak sentezlenen sekonder bileşiklerdir (50). İridoit glikozitler birçok hastalığın tedavisinde kullanıldığından tıbbi açıdan öneme sahip bileşiklerdir. İridoit glikozitlerin, hipoglisemik, diüretik, antiinflamatuvar, antioksidan, antikanser, nöroprotektif, analjezik, antibakteriyel, antiviral ve laksatif etkilerinin olduğu gösterilmiştir (51-55). Catalpol Çin yüksek otu kökünden (*Rehmannia glutinosa* Liboschitz) elde edilen iridoid bir glikoziddir (Şekil 8). Molekül ağırlığı 362.33 g/mol, kimyasal formülü $C_{15}H_{22}O_{10}$ ' dir (Şekil 9) (56).



Şekil 8. *Rehmannia glutinosa* Liboschitz bitkisi
(<http://www.mdidea.com/products/new/new08611.html>)



Şekil 9. Catalpolun moleküler yapısı
([http://wildflowerfinder.org.uk/Flowers/P/Plantain\(Ribwort\)/Plantain\(Ribwort\).htm](http://wildflowerfinder.org.uk/Flowers/P/Plantain(Ribwort)/Plantain(Ribwort).htm))

Eski Çin kaynaklarında yüksük otu kökü üç hastalık için kullanılmış ve antidiabetik, antibakteriyel ve antiinflamatuvar özelliklerinden faydalanılmıştır (57, 58).

Günümüzde yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda da nörodejeneratif hastalıklarda (Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı) antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptotik özellikleriyle hipoksi ve iskemiye bağlı hasarlarda nöroprotektif etkileri gösterilmiştir (59).

In vitro serebral iskemi reperfüzyon çalışmasında catalpol serbest radikalleri baskılayıp, antioksidan kapasiteyi artırarak astrositlerdeki hasarı önlediği gösterilmiştir (60). Deneysel diabetik nefropati modelinde catalpol, anjiotensin 2, TGF- β 1, konnektif doku growth faktor, fibronektin, kollejen tip 4 seviyesini düşürerek erken dönem diabetik nefropatide antiinflamatuvar ve antioksidan özelliğiyle koruyucu etkileri gösterilmiştir (61).

Yapılan bir diğer çalışmada kardiyak IR yapılan ratlarda catalpol nitrik oksit sentaz aktivitesini artırıp, NO üretimini artırarak oksidatif stresde güçlü bir oksijen radikali olan peroksinitrit (ONOO^-) seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. Bu şekilde antioksidan etkiyle kardioprotektif etki göstermiştir (62).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (FÜHADEK) onayı (Proje no: 2014-67. Tarih: 19.11.2014, Toplantı: 2014/23, Karar No: 218) alındıktan sonra, çalışma deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yürütüldü. Çalışmamız Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2014-67 proje numarası ile desteklendi. Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM)’inden temin edilen ve ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen ~ 4 aylık 40 adet Wistar Albino cinsi erişkin dişi rat kullanıldı. Deney süresince 22 ± 2 °C sıcaklıkta, özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde tutulan ratlar 12 saat gece ve 12 saat gündüz ortamında takip edildi. Ratlara standart yem ve çeşme suyu ad libitum olarak verildi. Deney gruplarının her biri 10 rattan oluşturuldu.

2.1. Deney Grupları

1. **Grup:** Kontrol Grubu
2. **Grup:** İskemi-reperfüzyon uygulanan grup (IR)
3. **Grup:** İskemi-reperfüzyondan önce 24 ve 1. saatlerde catalpol (20 mg/kg) uygulanan grup (Catalpol+IR)
4. **Grup:** İskemi-reperfüzyondan sonra 1 ve 24. saatlerde catalpol (20 mg/kg) uygulanan grup (IR+Catalpol)

2.2. Cerrahi işlem

Ratların tümüne operasyon öncesi cerrahi profilaksi için 100 mg/kg dozda sefazolin sodyum, ip yolla verildi. Denekler cerrahi işlemden önce 12 saat aç bırakıldı ancak su alımı kısıtlanmadı. Anestezi oluşturmak amacıyla 75 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, İstanbul) ve 8 mg/kg xylazin (Rompun, Bayer Ag, Leverkusen, Germany) karışımı ile ip enjeksiyon yolu ile uygulandı ve insizyon bölgesi % 10 povidon iyodin ile dezenfeksiyonu sağlandı.

Grup 1’deki ratlara sadece sağ lateral subkostal insizyon ile karın içi organlar kenarlara doğru çekilerek retroperitona ulaşıldı ve sonra sağ nefrektomi uygulandı.

Grup 2’deki ratlara sağ ve sol lateral subkostal insizyonla sağ taraf böbreğe nefrektomi yapıldı. Sol böbrek hiler bölgeye renal arter ve veni içine alacak şekilde vasküler klemp yerleştirildi. Altmış dakika süreyle kan akımı kesildi (Şekil 10). İşlem sonrasında klemp alınarak tekrar kan akımı sağlandı (Şekil 11). Böbrek

renginin normale döndüğü izlendikten sonra insizyon hattı 4/0 ipek sütürler ile tek tek kapatıldı. Ratlar ayıldıktan sonra denekler metabolik kafese konuldu.

Grup 3'te ratlara cerrahi işlemden 24 ve 1 saat önce catalpol (Tekgenomik Biyoteknoloji Medikal) 20 mg/kg olacak şekilde % 0,1 Karboksimetil selüloz çözeltisinde çözündürülerek i.p. olarak uygulandı ve grup 2'de bahsedilen cerrahi teknikle sağ böbreğe nefrektomi, sol böbreğe IR uygulandı.

Grup 4'te cerrahi işlemden sonra 1. ve 24. saatlerde ip olarak catalpol 20 mg/kg uygulandı.

Tüm ratlar ayıldıktan sonra denekler metabolik kafese konuldu. 24 saatlik bekleme süresi sonrası tekrar anestezi uygulandı ve batın orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı. Sol böbreğe nefrektomi uygulandı ve kalp sağ karıncığa ponksiyon yapılarak kan örnekleri biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Denekler tamamen kansızlaştırılarak sakrifiye edildi.

Deney sonunda alınan kan örnekleri 3000 devir/dak da 3 dakika santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Biyokimyasal değerlendirmeler (üre, kreatinin, albumin) için -40°C de derin dondurucuda muhafaza edildi.

Sol böbrekler dikey olarak uzun eksende ikiye bölündü ve bir yarısı histopatolojik çalışmalar için %10 formaldehit ile fiksasyon uygulanarak muhafaza edildi. Diğer yarısı biyokimyasal değerlendirmeler (CAT, MDA, SOD, GPx, GSH) için -80°C'de derin dondurucuya konuldu.

Düz biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri, en fazla bir saat içinde 20 dk 2500 devirde santrifüj edildi ve serumları porsiyonlar halinde -20 °C'lik derin dondurucuda çalışma gününe kadar saklandı.



Şekil 10. Sol renal iskemi



Şekil 11. Reperfüzyon

2.3. Biyokimyasal Analiz

2.3.1. Doku MDA Düzeylerinin Ölçümü

Doku MDA düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Ohkawa ve ark. (63) tarafından önerilen metoda göre yapıldı.

Prensip: Doku MDA tayini; aerobik şartlar altında ve pH: 3,5'te, doku homojenatinin kaynar su banyosunda bir saat inkubasyonu sonucu, lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA (malondialdehit)'nin TBA (tiyobarbitürik asit) ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.

2.3.2. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü

Süperoksit dismutaz, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin (O_2) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Dokulardaki SOD enzim aktivitesi Sun ve ark. (64) tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı.

Prensip: Bu yöntemde SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitroblue tetrazolium (NBT) indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Oluşan süperoksit radikallerinin NBT'yi indirgemesi ile oluşan renkli formazon spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Enzimin olmadığı ortamlarda indirgenme meydana gelerek mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD bulunduğunda ise indirgenme olmayıp mavi-mor renk oluşmaz ve enzim aktivitesine bağlı olarak daha açık bir renk oluşur.

2.3.3. Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivite Ölçümü

Glutasyon peroksidaz, redükte glutasyonu kullanarak H_2O_2 'nin suya dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Dokulardaki GPx aktivitelerinin tayini Beutler (65) tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı.

Prensip: Glutasyon peroksidaz, H_2O_2 varlığında GSH'yi okside glutasyon (GSSG)'a dönüşmesini katalize eder. Hidrojen peroksitin bulunduğu ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımıyla tekrar GSH'a dönüştürülür. Glutasyon peroksidaz aktivitesi, deney ortamındaki NADPH'nin $NADP^{+}$ 'ya çevrilmesi ile optik dansitede meydana gelen absorbans farkının 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile hesaplanır.

2.3.4. Doku Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Katalaz, katalitik aktivitesiyle H_2O_2 'yi dekompoze ederek su ve oksijene dönüştürmektedir. Dokulardaki CAT enzim aktivitelerinin tayini Aebi (66) tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı.

Prensip: Hidrojen peroksit, 240 nm dalga boyunda maksimum absorbanş göstermektedir. Deney ortamına ilave edilen H_2O_2 'nin CAT enzimi tarafından parçalanması, ultraviyole spektrumunda bir absorbanş azalması olarak takip edilir. Absorbansta görülen bu azalma enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır.

2.3.5. Doku Redükte Glutasyon (GSH) Ölçümü

Dokulardaki GSH aktiviteleri Ellman (67) tarafından ditiyonitrobenzoik asit geri çevirim metodu olarak tanımlanan yöntemle göre tayin edildi.

Prensip: 5,5'-ditiyo-bis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB), sülfhidril bileşikler tarafından redükte edilerek bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks oluşturur. Bu sarı renkli bileşiğin optik dansitesi 412 nm dalga boyunda ölçülerek GSH aktivitesi saptanır.

2.3.6. Doku Protein Ölçümü

Homojenat ve süpernatantlardaki protein miktarı tayinleri Lowry ve ark. (68) tarafından tarif edilen yöntemle göre ölçüldü.

Prensip: Alkali bakır ayırıcındaki Cu^{++} peptid bağları ile kompleks yapmaktadır. Her 7 veya 8 aminoasit artığı 1 atom bakır bağlamaktadır. Folin- Fenol ayıracı, bakır ile muamele edilmiş karışıma ilave edildiğinde mor-mavi bir renk şekillenir. Oluşan bu renk 700 nm'de okunur.

2.3.7. Serum Üre, Kreatinin ve Albumin Düzeyi Ölçümü

Serum kreatinin, üre ve albümin düzeyleri Siemens 2400 (Siemens Healthcare Diagnostics, Germany) otoanalizöründe Siemens marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü.

2.4. Histopatolojik Analiz

Böbrek örnekleri % 10'luk formaldehit içerisinde fikse edildi. Rutin doku takip işleminden sonra parafine gömülen dokulardan 5 μ m kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen-eozin (H-E) ile boyanan kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Kesit yüzeyinin tamamı incelenmiş olup, tübüler nekroz, tübüler fırçamsı kenar kaybı, tübüler hücre vakuolizasyonu/hidropik dejenerasyon, tübüler

dilatasyon, intratübüler silendir/proteinöz cast, interstisyel inflamasyon, tübüler atrofi ve interstisyel fibrozis değerlendirildi. Değerlendirme semikantitatif yapılmış olup 0 ile 4 arasında skorlanmıştır. Buna göre;

0. Normal böbrek histolojisi,
1. % 0-25
2. % 26-45
3. % 46-75
4. % 76-100

2.5. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel değerlendirmelerde IBM SPSS statistics 22.0 programı kullanıldı. Yapılan Kolmogorov Smirnov testinde verilerin dağılıma uygun olduğu görüldü ($P>0,05$). Gruplar arası karşılaştırmada One-Way Anova testi yapıldı. Post-Hoc test olarak Bonferroni analizi yapıldı. Tüm değerlendirmelerde $P<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. Histopatolojik verilerin değerlendirilmesi, SPSS yazılım programı (SPSS for Windows version 17) ile yapıldı. Bütün veriler median (Min-Max) olarak ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. $P<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Analiz

Bu çalışmada ratlar üzerinde oluşturulan deneysel renal IR çalışmasında iskemi öncesi ve sonrası i.p. 20 mg/kg catalpolun böbrek üzerindeki koruyucu etkisinin değerlendirilmesinde böbrek doku MDA, SOD, CAT, GPx, GSH düzeyi, serumda üre, albumin, kreatinin düzeyleri ve histopatolojik inceleme yapıldı. Serum üre, kreatinin, albümin değerleri tablo 2’de ve histopatolojik bulgular tablo 3 ve 4’te gösterilmiştir.

Tablo 2. Serum Biyokimya Değerleri ve Böbrek Ağırlıkları

	Grup 1 (Kontrol) AO±SS	Grup 2 (IR) AO±SS	Grup 3 (Cat+IR) AO±SS	Grup 4 (IR+ Cat) AO±SS	P Değeri
ALBUMİN	3,35±0,29	3,18±0,17	3,08 ±0,25	3,27 ± 0,40	0,103
Üre (mg/dl)	62,66±9,86 ^a	215,75±70,41 ^b	209,37±43,67 ^b	207,00±87,00 ^b	< 0,001
KREATİNİN (mg/dl)	0,47 ±0,10 ^a	2,37±1,33 ^b	1,58±0,69 ^b	1,83±0,95 ^b	< 0,001
Böbrek Ağırlığı (mg)	1,26± 0,28 ^a	1,70± 0,09 ^b	1,40± 0,44 ^a	1,54± 0,23 ^a	0,023

(a-b) : Gruplar karşılaştırıldığında farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan anlamlıdır (P< 0,05).

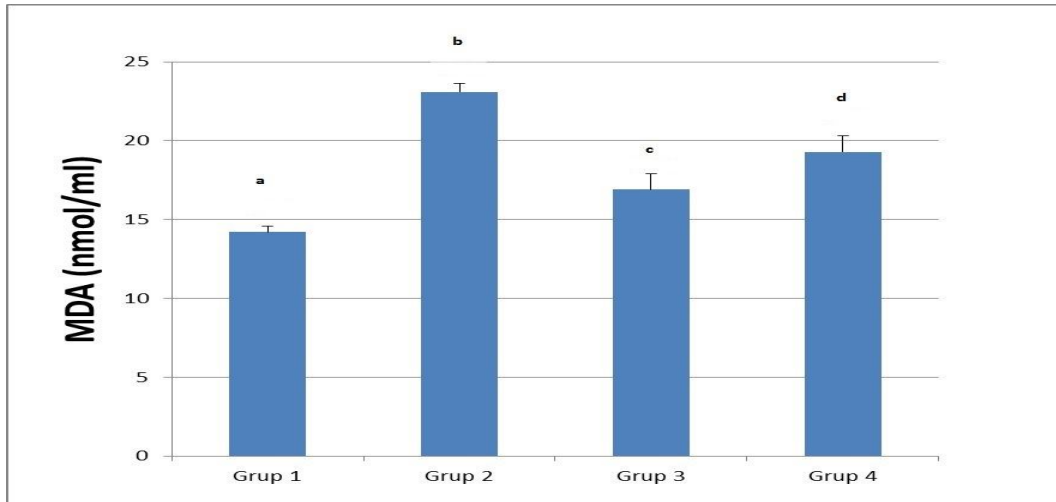
Serum albümin düzeyi gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmadı. Serum üre düzeyi kontrol grubunda 62,66±9,86 mg/dl iken grup 1, 2 ve 3’te sırasıyla 215,75±70,41 mg/dl, 209,37±43,67 mg/dl ve 207,00±87,00 mg/dl olarak tespit edildi. Kontrol grubuyla diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu (P<0,05). Renal IR grubunda ölçülen yüksek üre değerlerinin tedavi gruplarında azaldığı fakat azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı (p>0,05).

Serum kreatinin düzeyleri kontrol grubunda $0,47 \pm 0,10$ mg/dl, IR grubunda $2,37 \pm 1,33$ mg/dl, grup 3'te $1,58 \pm 0,69$ mg/dl, grup 4'te ise $1,83 \pm 0,95$ mg/dl olarak bulundu ($p=0,001$). Serum kreatinin düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubu ile grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,05$). Gruplar arasında kreatinin değeri en yüksek düzeyde IR grubunda saptanmış olup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Tedavi gruplarında kreatinin düzeyleri kontrol grubu kreatinin düzeylerine göre anlamlı olarak daha yüksek saptandı.

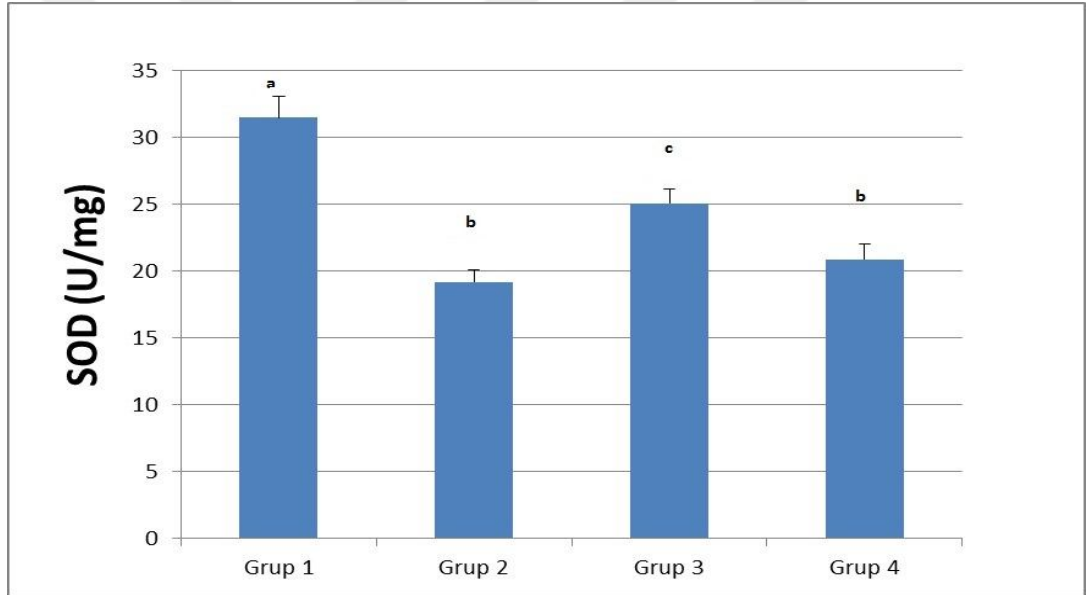
Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IR öncesi catalpol verilen grup 3'te serum kreatinin düzeyleri IR sonrası catalpol verilen grup 4'e göre daha düşük düzeylerde saptandı ama bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Serum MDA düzeyleri kontrol grubunda $14,2 \pm 0,36$ nmol/g, IR grubunda $23,1 \pm 0,55$ nmol/g, grup 3'te $16,9 \pm 0,98$ nmol/g, grup 4'te ise $19,3 \pm 1,02$ nmol/g olarak bulundu. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında böbrek dokusu MDA düzeyi grup 2, 3 ve 4'de istatistiksel olarak daha yüksek düzeyde bulundu ($p<0,05$). Catalpol uygulanan grup 3 ve 4, sadece IR uygulanan grup 2 ile karşılaştırıldığında MDA düzeyinin grup 2'de istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görüldü ($P<0,05$). Grup 3 ile 4 karşılaştırıldığında IR öncesi catalpol uygulanan Grup 3'te MDA düzeyi, IR sonrası catalpol uygulanan grup 4'ten istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulundu (Şekil 12) ($P<0,05$).



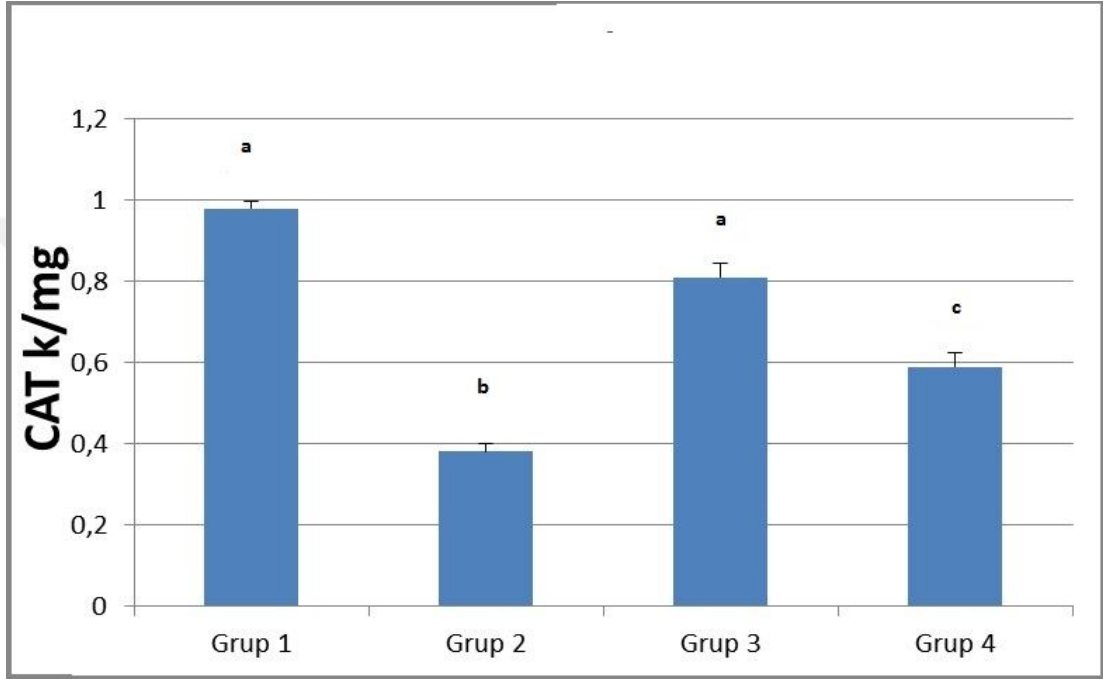
Şekil 12. Doku MDA düzeyleri, (a-d): Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan anlamlıdır ($P<0,05$).

Serum SOD düzeyleri kontrol grubunda $31,5 \pm 1,61$ U/mg, IR grubunda $19,2 \pm 0,88$ U/mg, grup 3'te $25,1 \pm 1,08$ U/mg, grup 4'te ise $20,9 \pm 1,16$ U/mg olarak bulundu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında grup 2, 3 ve 4'de böbrek dokusu SOD düzeyleri istatistiksel olarak daha düşük düzeyde saptandı ($P < 0,05$). Renal IR grubunda (Grup 2) ölçülen düşük SOD değerleri ile karşılaştırıldığında tedavi gruplarında SOD değerlerinin arttığı ve bu artışın özellikle grup 3'te istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.001$). Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında IR öncesi catalpol verilen grup 3'te renal doku SOD düzeyleri, IR sonrası catalpol verilen grup 4 böbrek dokusu SOD düzeylerine göre daha yüksek değerlerde saptandı ($p < 0.001$). Grup 2 ile 4 arasında ise anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 13) ($P > 0,05$).



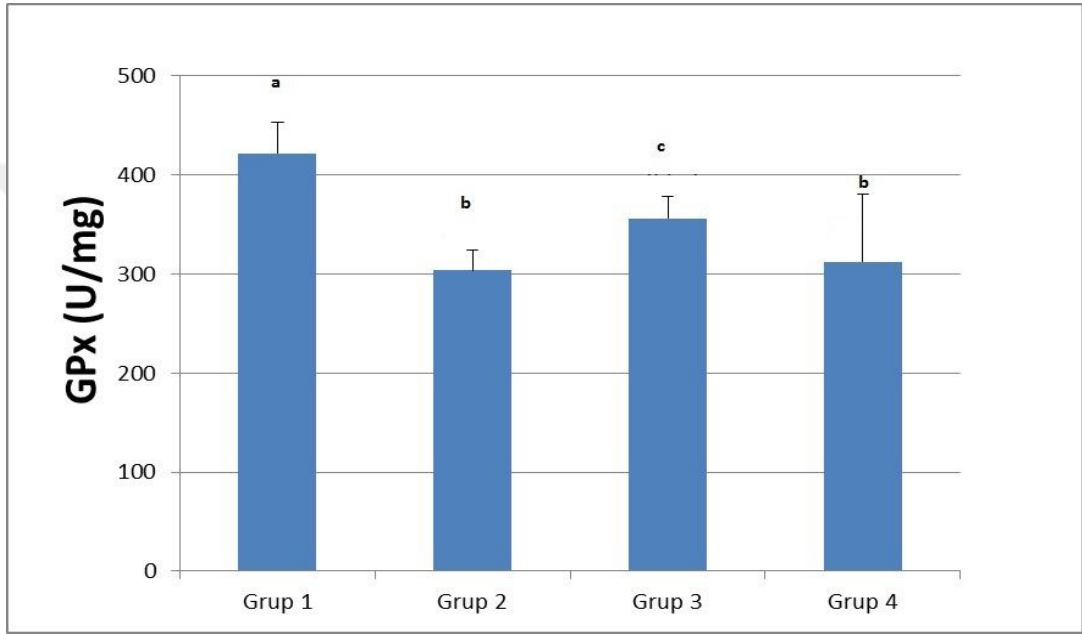
Şekil 13. Doku SOD düzeyleri, (a-c): Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan anlamlıdır ($P < 0,05$).

Serum CAT düzeyleri kontrol grubunda $0,98 \pm 0,016$ k/mg, IR grubunda $0,38 \pm 0,021$ k/mg, grup 3'te $0,81 \pm 0,033$ k/mg, grup 4'te ise $0,59 \pm 0,044$ k/mg olarak bulundu. Böbrek dokusu CAT düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubu ile grup 3 arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0,05$). Fakat kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hem grup 2 hem de grup 4'te böbrek dokusu CAT düzeyleri anlamlı olarak daha düşük değerlerde saptandı (Şekil 14) ($P < 0,001$).



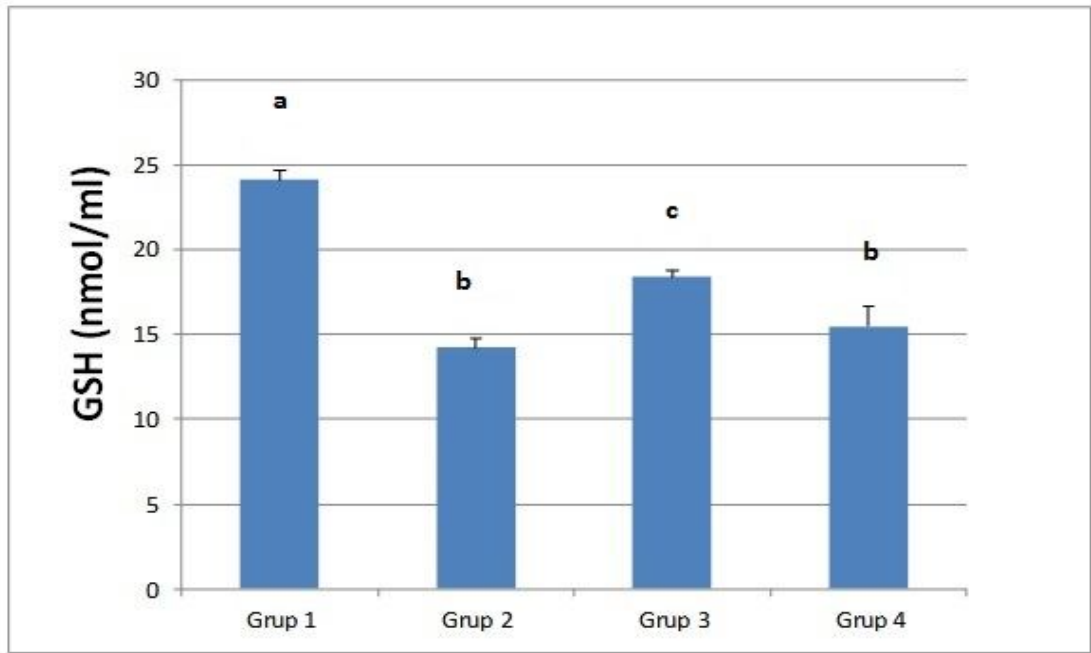
Şekil 14. Doku CAT düzeyleri, (a-c): Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan anlamlıdır ($P < 0,05$).

Serum GPx düzeyleri kontrol grubunda $421,8 \pm 31,1$ U/mg, IR grubunda $303,9 \pm 19,8$ U/mg, grup 3'te $356,2 \pm 21,7$ U/mg, grup 4'te ise $312,6 \pm 68,1$ U/mg olarak bulundu. Böbrek dokusu GPx düzeyleri karşılaştırıldığında, IR yapılan grubun GPx düzeyleri kontrol grubu GPx düzeylerine göre daha düşük saptandı ($p < 0.05$). Grup 2 ve 4 doku GPx düzeyleri ile karşılaştırıldığında Grup 3'te GPx düzeyleri anlamlı şekilde daha yüksek saptandı ($P < 0,001$). Grup 2 ile 4 arasında ise anlamlı farklılık gözlenmedi (Şekil 15).



Şekil 15. Doku GPx düzeyleri, (a-c): Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan anlamlıdır ($P < 0,05$).

Serum GSH düzeyleri kontrol grubunda $24,1 \pm 0,56$ nmol/ml, IR grubunda $14,2 \pm 0,54$ nmol/ml, grup 3'te $18,4 \pm 0,39$ nmol/ml, grup 4'te ise $15,5 \pm 1,12$ nmol/ml olarak bulundu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IR grubunda böbrek doku GSH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük saptandı ($P < 0,001$). İskemi-reperfüzyon grubuyla karşılaştırıldığında tedavi gruplarında böbrek doku GSH düzeyleri daha yüksekte saptandı. Bu yükseklik IR öncesi catalpol verilen grup 3'te istatistiksel olarak anlamlıydı. (Şekil 16).



Şekil 16. Doku GSH düzeyleri, (a-c): Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan anlamlıdır ($P < 0,05$).

3.2. Histopatolojik Bulgular

Böbreğin histopatolojik değerlendirmesinde (Tablo 3), böbrekte interstisyel inflamasyon, intratübüler silendir ve proteinöz cast, tübüler atrofi, tübüler nekroz, tübüler fırçamsı kenar kaybı, tübüler hücre vakuolizasyonu ve hidropik dejenerasyon açısından gruplar karşılaştırıldığında kontrol grubu ile IR grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı patolojik değişiklikler gözlemlendi (Şekil 18, 19, 20) ($P<0,05$).

İskemi-reperfüzyon grubuyla, IR oluşturulmadan önce ve sonra catalpol verilen gruplar tübüler atrofi varlığı açısından karşılaştırıldığında tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da belirgin azalma gözlemlendi.

Tübüler dilatasyon varlığına bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir değişiklik saptanmadı. İnterstisyel inflamasyon açısından IR grubu ile IR oluşturulmadan önce ve sonra catalpol verilen grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da tedavi grubunda interstisyel inflamasyonda gözle görülür azalma saptandı (Şekil 21, 22, 23). Kontrol grubuyla IR oluşturulmadan önce catalpol verilen grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P>0,05$). Cat+IR ile IR+Cat grubu karşılaştırıldığında Cat+IR grubunda inflamasyonda azalma görülse de istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Tablo 3. Tüm grupların histopatolojik değerlendirmesi

	Grup 1 Kontrol Grubu	Grup 2 IR	Grup 3 Cat+IR	Grup 4 IR+Cat
Tübüler Atrofi	0.0 (0.0-1.0)	1.0 (0.0-2.0) ^a	0.5 (0.0-1.0)	1.0 (0.0-1.0)
Tübüler Nekroz	0.0 (0.0-1.0)	2.0 (1.0-4.0) ^a	1.5 (1.0-4.0) ^a	2.0 (1.0-4.0) ^a
Tübüler fırçamsı kenar kaybı	0.0 (0.0-1.0)	2.0 (2.0-4.0) ^a	2.0 (2.0-4.0) ^a	2.0 (1.0-4.0) ^a
Tübüler hücre vakuolizasyonu/hidropik dejenerasyon	0.0 (0.0-1.0)	2.0 (1.0-3.0) ^a	2.0 (1.0-3.0) ^{a,c}	1.0 (1.0-2.0) ^{a,b}
Tübüler dilatasyon	0.0 (0.0-0.0)	0.0 (0.0-1.0)	1.0 (0.0-1.0) ^a	1.0 (0.0-1.0)
İnatratübüler silendir/proteinöz cast	1.0 (0.0-1.0)	2.0 (1.0-3.0) ^a	1.0 (0.0-3.0)	2.0 (1.0-3.0) ^a
İnterstisyel inflamasyon	0.0 (0.0-0.0)	1.0 (0.0-2.0) ^a	0.0 (0.0-1.0)	1.0 (0.0-1.0) ^a

^a Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış ($P<0.05$).

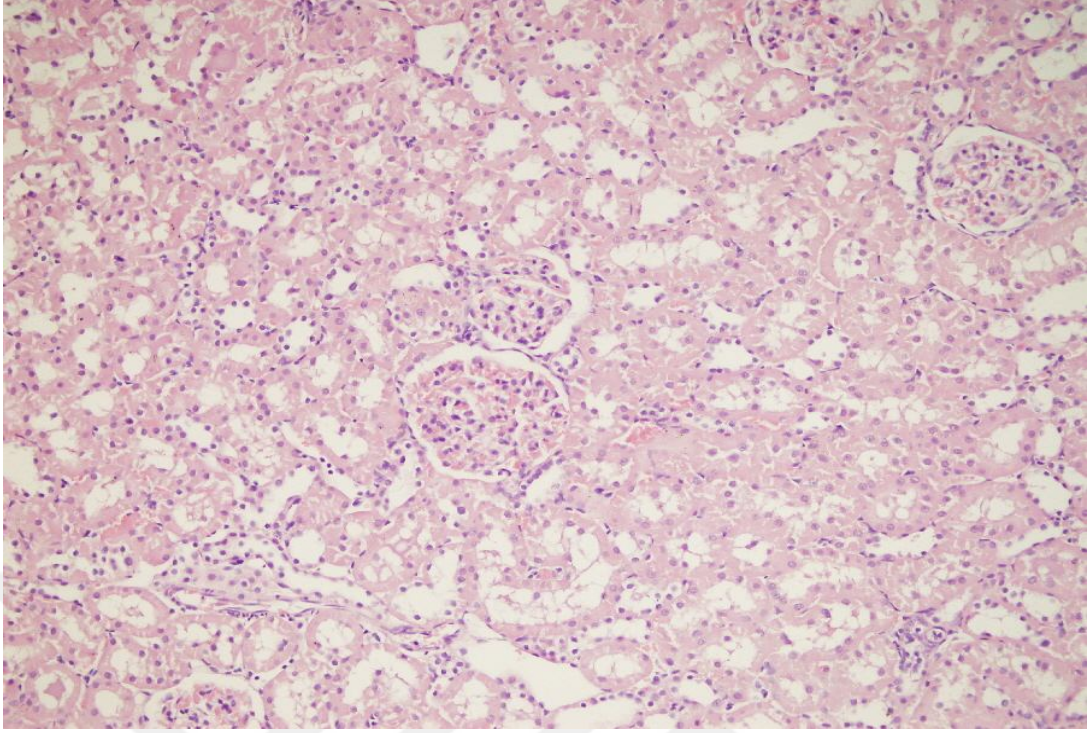
^b IR grubu ile grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalış ($P<0.05$).

^c IR+CAT grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı istatistiksel olarak anlamlı artış ($P<0.05$).

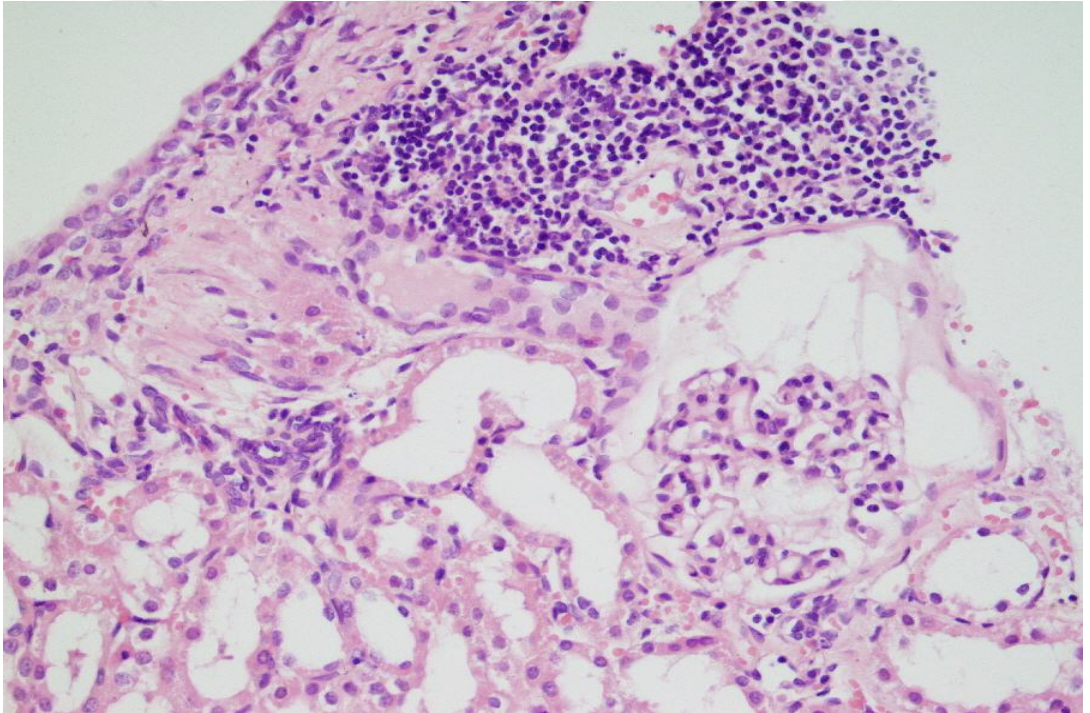
İskemi-reperfüzyon öncesi catalpol uygulanan grup (grup 3) ile IR sonrası catalpol uygulanan grup (Grup 4) karşılaştırıldığında interstisyel inflamasyon, intratübüler silendir ve proteinöz cast, tübüler atrofi, tübüler nekroz ve tübüler fırçamsı kenar kaybında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da IR öncesi catalpol verilen grup 3’te belirgin azalma saptandı (Şekil 24, 25, 26). Gruplar arası istatistiksel değerlendirme Tablo 4’ te özetlenmiştir.

Tablo 4. Grupların histopatolojik değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması ve p değerleri (p<0,05)

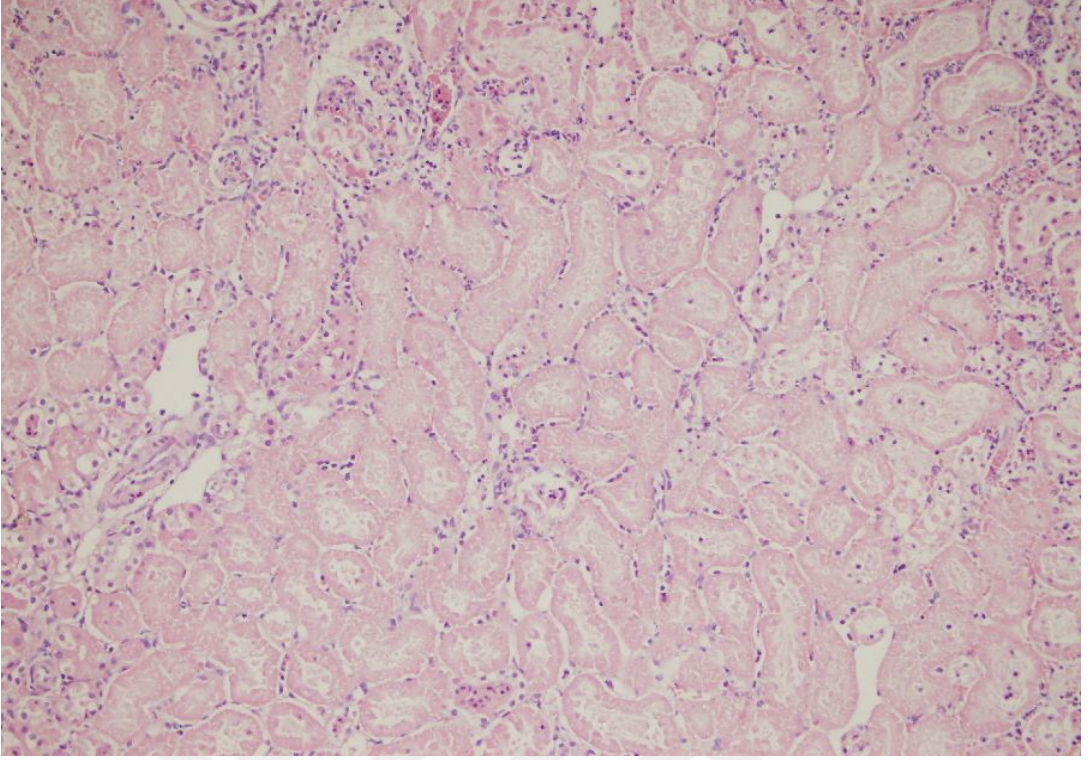
P değerleri	Kontrol Grubu/IR	IR/ IR+Cat	IR/ Cat+IR	IR+Cat/ Cat+IR	Kontrol Grubu/ Cat+IR	Kontrol Grubu/ IR+Cat
Tübüler Atrofi	0.008	0.113	0.093	0.888	0.370	0.258
Tübüler Nekroz	0.000	0.546	0.114	0.277	0.002	0.000
Tübüler fırçamsı kenar kaybı	0.000	0.489	0.321	0.815	0.000	0.000
Tübüler hücre vakuolizasyonu/hidropik dejenerasyon	0.000	0.024	0.743	0.015	0.000	0.006
Tübüler dilatasyon	0.113	0.730	0.541	0.815	0.027	0.050
İnatratübüler silendir/proteinöz cast	0.001	0.258	0.114	0.481	0.074	0.006
İnterstisyel inflamasyon	0.004	0.546	0.059	0.167	0.423	0.014



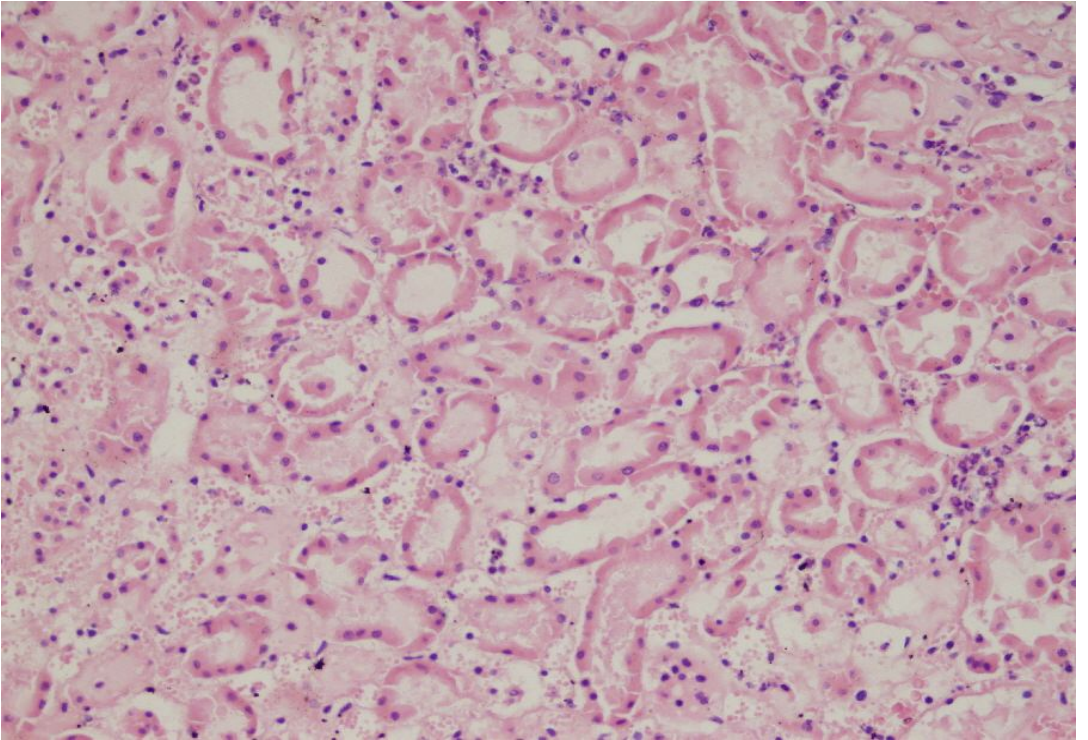
Şekil 17. Normal böbrek histolojisi glomerül ve tübül yapıları (Kontrol Grubu). (HEX100)



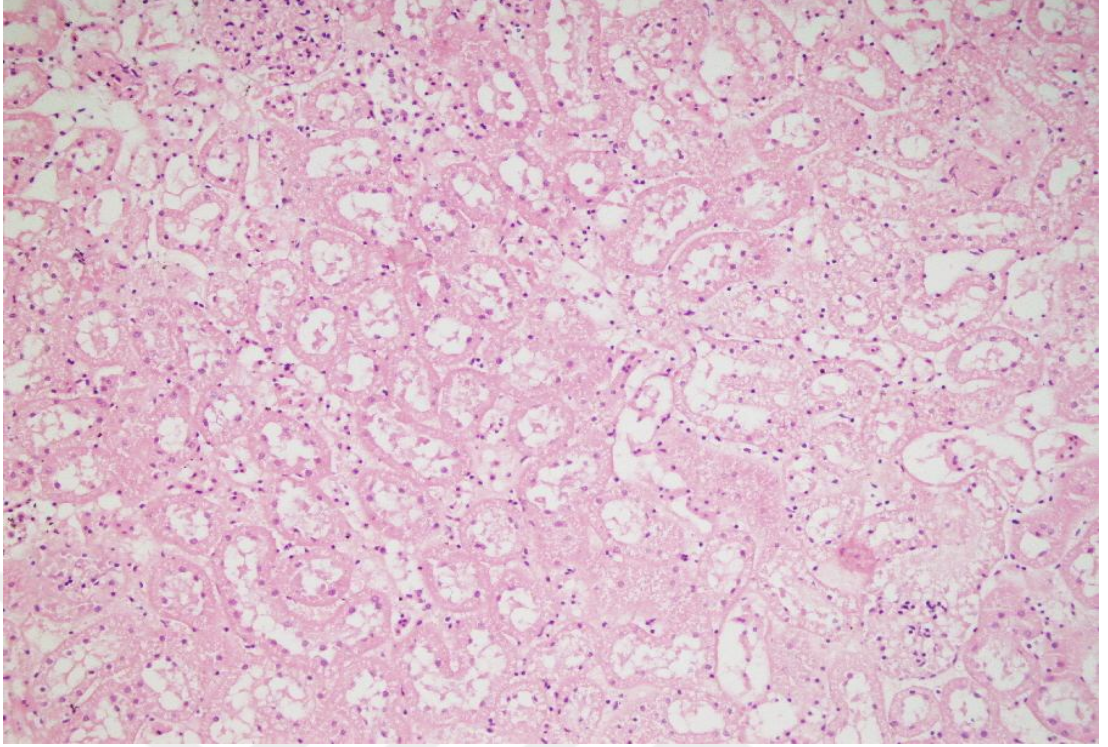
Şekil 18. Yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu (IR Grubu, G2) (HEX400)



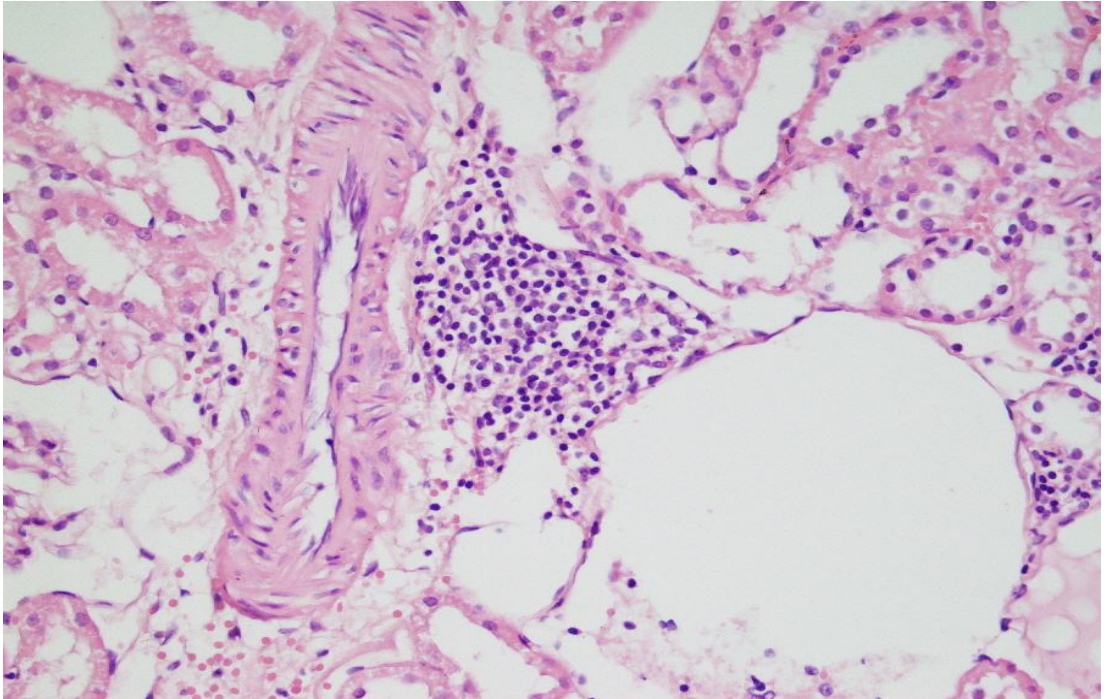
Şekil 19. Yaygın tübüler nekroz (IR Grubu, G2) (HEX200)



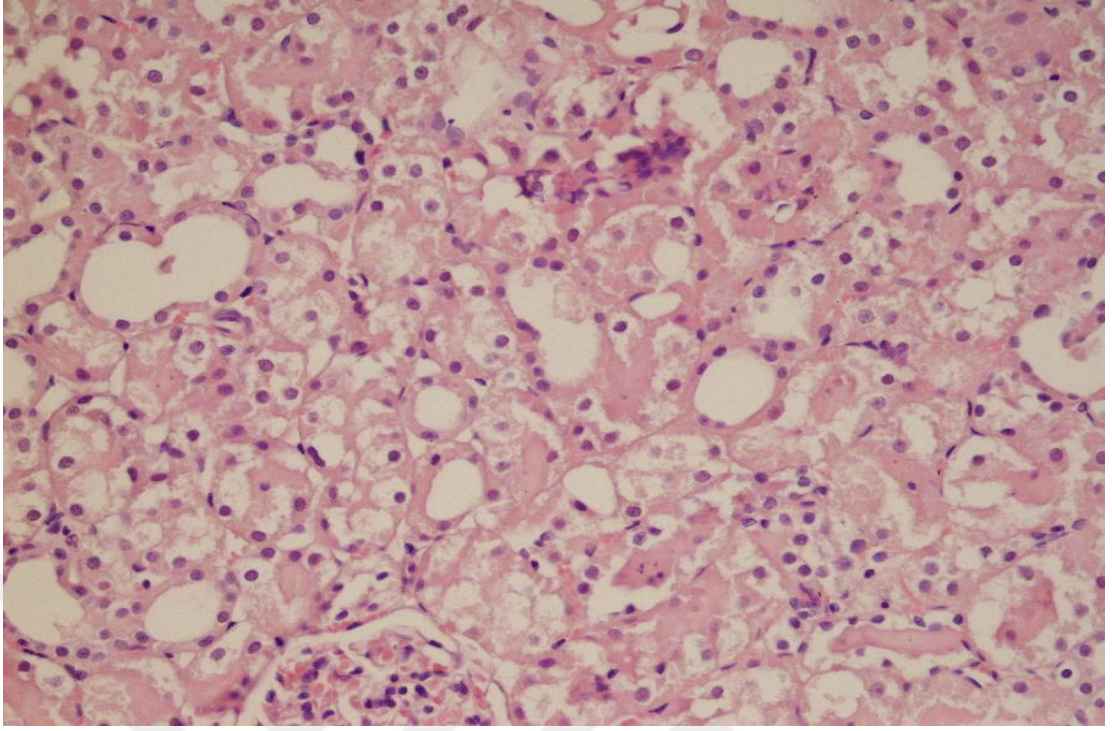
Şekil 20. Yoğun tübüler atrofi (IR Grubu, G2) (HEX400)



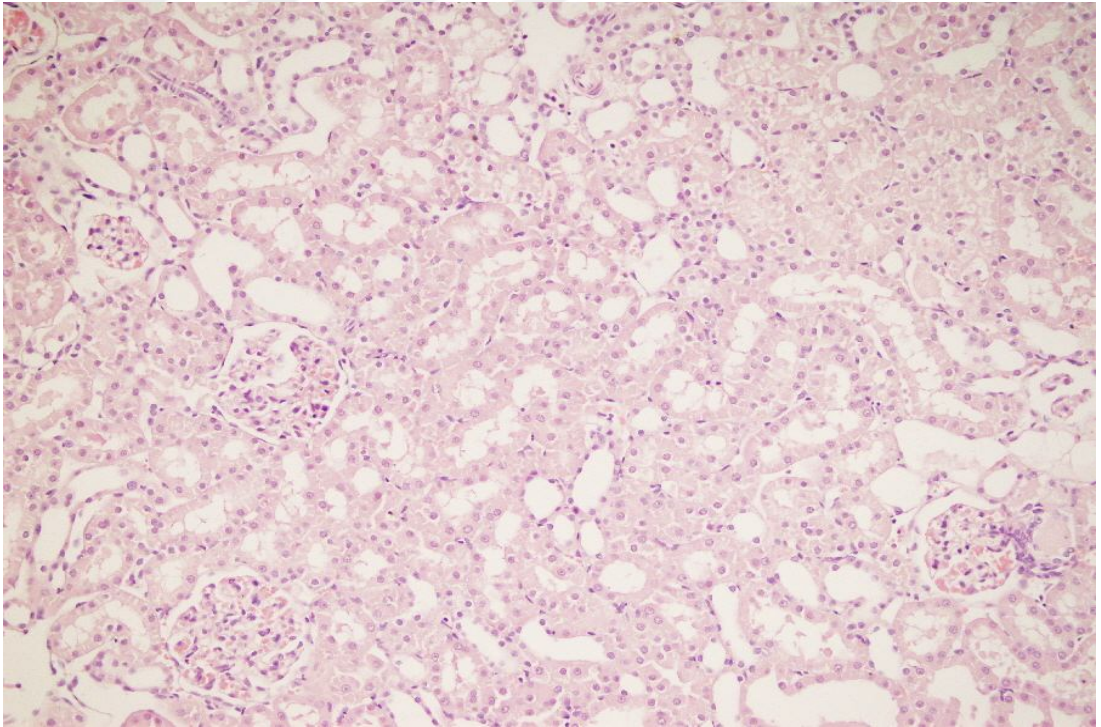
Şekil 21. IR grubuna (IR Grubu, G2) göre tübüler nekroz yaygınlığında azalma (IR+Cat grubu, G4) (HEX200).



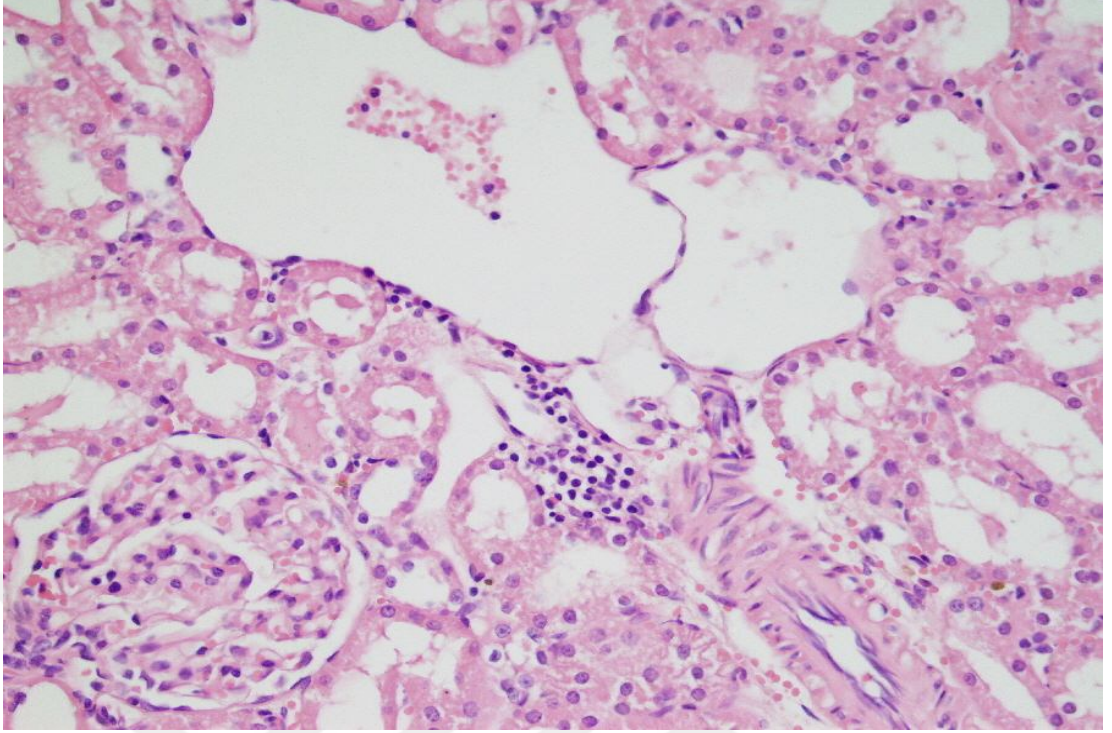
Şekil 22. IR grubuna (IR Grubu, G2) göre inflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma (IR+Cat grubu, G4) (HEX400)



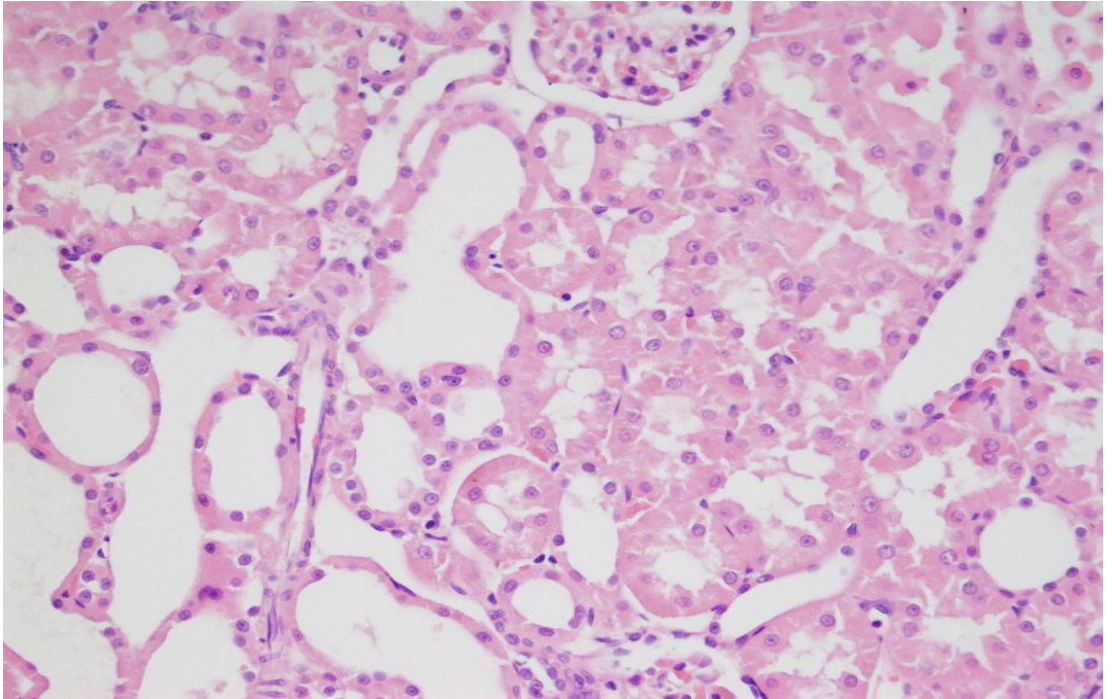
Şekil 23. IR grubuna (IR Grubu, G2) göre tübüler atrofide azalma (IR+ Cat grubu, G4) (HEX400)



Şekil 24. IR+ Cat grubuna (IR+ Cat grubu, G4) göre tübüler nekroz yaygınlığında azalma (Cat +IR grubu, G3) (HEX200)



Şekil 25. IR+ Cat grubuna (IR+ Cat grubu, G4) göre inflamatuvar hücre infiltrasyonunda belirgin azalma (Cat+IR grubu, G3) (HEX200)



Şekil 26. IR+ Cat grubuna (IR+Cat grubu, G4) göre tübüler atrofide azalma (Cat+IR grubu, G3) (HEX200)

4. TARTIŞMA

Organ ve dokularda metabolik sürecin devam etmesi ve işlenmesi için oksijen hayati önem taşımaktadır. Oksijenin dokulara taşınması ve işlenmesi perfüzyon ile sağlanmaktadır. Perfüzyonun bozulması veya aksaması organlarda geri dönüşümsüz hasarlar bırakabilmekte ve organ işlevinin yitirmesine sebep olmaktadır. Bir dokuda kan akımının tamamen kesilmesi veya azalmasına iskemi denilmektedir. İskemi ile organ ve dokuların yaşaması ve normal fizyolojik işlevlerini devam ettirmesi için gerekli olan oksijenin alınması engellenir. Her organın iskemiyeye karşı dayanabileceği belli bir süre vardır. Normal böbreğin iskemi süresinin 20-30 dakikayı geçmemesi önerilir. İskemi süresince oluşacak hasar belli bir seviyeye ulaşmadıysa reperfüzyonla tekrar düzelmeye başlar (69). İskemi süresi uzadıkça dokuda özellikle O₂ düzeyi azalır ve oksidatif mekanizmalar bozulmaya başlar. Hücresel düzeyde bakıldığında proksimal tübüllerden su, iyon ve makromoleküllerin taşınmasından sorumlu enerji kaynağı olan ATP'nin azalmasına ve Na⁺K⁺ATPaz pompasının bozulmasına neden olur. Hücre içinde sodyum iyonlarının artmasıyla beraber ve hücre içi aşırı su birikimi ile hücrenin şişmesi ve ölümüne sebep olmaktadır (70).

Reperfüzyonda tekrar kan akımıyla beraber özellikle SOR ve inflamatuvar hücreler dokuda artmaya başlar. Süperoksit ve hidroksil benzeri reaktif oksijen radikallerinin oluşması ve antioksidan savunma mekanizmalarındaki yetersizlik oksidatif strese neden olmaktadır. Oksidatif stres böbrek iskemi reperfüzyon hasarının oluşmasında önemli bir yer tutmaktadır. Serbest oksijen radikallerindeki bu artış dokuda iskemik hasara ek olarak reperfüzyon hasarı da oluşturmaktadır. İskemik hasara oksijen yokluğu (hipoksi) sebep olurken reperfüzyon hasarına ise oksijenin geri dönmesi sebep olmaktadır. Hatta reperfüzyonla oluşan hasarın iskemik hasardan daha şiddetli olabileceği gösterilmiştir (41, 71-73). Yapılan birçok çalışmada da IR hasarı sırasında ortamda serbest oksijen radikallerinin yoğunluğunun belirgin bir şekilde arttığı immünohistokimyasal ve biyokimyasal olarak gösterilmiştir (15, 73, 74).

Böbrekte iskemi gelişmesinin nedeni böbreğe gelen kan akımının ileri derecede azalmasıdır. Buna sebep olan etken, böbrek cerrahilerinde (parsiyel nefrektomi, büyük vasküler cerrahiler), prerenal veya renal böbrek yetmezliği olabileceği gibi sistemik hastalıklara (kardiyopulmoner bypass cerrahisi, sepsis, şok,

travma ve renal arterde tromboz ve emboli geliřtirebilecek vasküler hastalıklar) sekonder olarak da böbrek iskemide maruz kalabilir (26, 29, 69).

Böbrek fonksiyonlarının önemi gözönüne alındığında iskei ve sonrası reperfüzyona bağıli gelişen renal toksisiteyi engellemek veya önlemek hem morbidite ve mortalite oranlarını hem de ileri tedavi maliyetlerini azaltmak açısından çok önemlidir. Bu nedenle antioksidan veya antiinflatuar özellikleri olan birçok maddenin bu hasarın azaltılması için kullanılması konusunda çalışmalar yapılmıştır. Renal IR hasarının önlenmesine yönelik olarak antioksidan veya antiinflatuar özellikleri olan statinler, E vitamini, Ca²⁺ kanal blokörleri, ksantin oksidaz inhibitörleri, nitrik oksit, fosfodiesteraz inhibitörleri, melatonin, adenozi, eritropoietin, n-asetil sistein gibi birçok ajanın etkisi araştırılmıştır. Yapılan çeşitli çalışmalarda antioksidan, antiinflatuar özelliğı olan maddelerin böbrek üzerinde koruyucu etkileri olduğı gösterilmiştir (75-78). Choi ve ark. (79) yaptığı çalışmada renal IR uygulanan ratlarda allopurinol ve apocyninin antioksidan özelliğıyle böbrek üzerinde koruyucu etkileri olduğı gösterilmiştir. Yine bir başka çalışmada Li ve ark. (80) propofolün IR uygulanan ratlarda oksidatif stresi azaltarak böbrek üzerinde koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir.

İridoit bir monoterpen olan catalpol eski Çin literatüründe antidiyabetik antiinflatuar ve antibakteriyel olarak kullanılmıştır (58). Yapılan deneysel çalışmalarda da antioksidan, antiinflatuar, antiapoptotik özellikleriyle hipoksi ve iskemide bağıli hasarlarda nöroprotektif etkileri gösterilmiştir (59). Antiinflatuar etkiyi, akut inflamasyonda zincir reaksiyonu başlatan nükleer faktör kappa B aktivasyonunu azaltarak akut sistemik inflamasyonun indüklediğı lipopolisakkaritlere karşı koruyucu etkisi ile yaptığı gösterilmiştir (81). Antioksidan etkiyi mitokondriyal nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesini inhibe ederek sağlamaktadır (82).

Deneysel diabetik nefropati modelinde catalpolun, erken dönem diabetik nefropatide antiinflatuar ve antioksidan özelliğıyle koruyucu etkileri olduğı gösterilmiştir (61).

Bu çalışmada antiinflatuar ve antioksidan özellikleriyle bilinen catalpolun IR uygulanan ratlarda böbrek koruyucu etkinliğı ve tedavi edici özelliğı araştırılmıştır.

Çalışma planı oluştururken rat modelinde böbrekte IR süresi ilgili literatür bilgilerinden istifade edilmiştir. Her ne kadar insan böbreği için iskemi süresi 20-30 dk ile sınırlandırılrsa da hayvan deneylerinde bu süre 45 ile 60 dk arasında değişmektedir. Reperfüzyon süresi olarak literatürde değişken süreler olsa da reperfüzyon hasarının 20 dk sonra başladığı görülmekte ve reperfüzyon süresi için 60 dk' lık süre ile akut hasar, 24 saat reperfüzyon ile erken iyileşme dönemindeki hasar oluşturulmaya ve değerlendirilmeye çalışılmıştır (83). Bu çalışmada iskemi süresi 60 dk reperfüzyon süresi 24 saat olarak belirlenmiştir. Böbrek fonksiyonlarının değerlendirildiği çalışmalarda da kreatinin ve üre seviyelerinin araştırıldığı görülmektedir. Böbreklerde iskemi ve reperfüzyonun farklı sürelerinde yapıldığı çalışmalarda; üre ve kreatinin düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (84-85). Bu çalışmada da böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için serumda kreatinin ve üre seviyeleri araştırıldı.

Bu çalışmada kreatinin değeri IR grubunda en yüksek seviyede idi ve kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. İskemi-reperfüzyon öncesi catalpol verilen grup ile IR grubu ve IR sonrası catalpol verilen grup karşılaştırıldığında kreatinin değeri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da IR öncesi catalpol verilen grupta daha düşüktü. Bu sonuca göre IR öncesi catalpol verilmesinin böbrek üzerinde koruyucu etkisi olduğu söylenebilir. İskemi-reperfüzyon grubu ile IR sonrası catalpol uygulanan grup karşılaştırıldığında kreatinin değerlerinin IR sonrası catalpol uygulanan grupta istatistiksel anlamlı bir fark olmasa da daha düşük olarak saptandı. Üre değerleri karşılaştırıldığında catalpol uygulanan grupta, sadece IR grubuna göre daha düşük üre değerleri saptanmakla birlikte fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Zhu ve ark. (86) yaptığı bir çalışmada IR uygulanan sıçanlara IR'den 1 saat önce 25, 50 ve 100 mg/kg catalpol uygulanmış ve doza bağımlı catalpolün IR hasarına karşı koruyucu etkileri araştırılmıştır. Sadece IR hasarı oluşturulan grupla karşılaştırıldığında üre ve kreatinin değerinde istatistiksel olarak belirgin düşüş saptanmıştır. Fakat farklı doz grupları arasında üre ve kreatinin değerleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Catalpolün böbrek üzerine koruyucu etkisi bizim çalışmamızda benzer şekilde sonuçlanmıştır.

Yapılan bir diğer çalışmada Dong ve ark. (61) diabetik nefropati modelinde catalpolün BUN ve kreatinin değerini çalışmamıza benzer şekilde anlamlı olarak

düşürdüğü ve böbrek üzerine koruyucu etkisi gösterilmiştir. Dokularda oluşabilecek serbest radikaller ve diğer ROS (reaktif oksijen türleri) ürünleri, SOD, CAT, GPx, GSH gibi antioksidan savunma sistemleri tarafından etkili bir biçimde temizlenebilmektedir (87). Oksidatif stres, lipit peroksidasyonunun belirteci olan MDA ile SOD, CAT, GPx (enzimatik) ve GSH (enzimatik olmayan) enzimlerinden oluşan antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizlik durumudur (88). Yani oksidan ve antioksidan denge arasındaki değişiklikler sonucunda meydana gelmekte ve reaktif oksijen radikalleri lehindeki artışlar oksidatif hasar olarak görülebilmektedir (89). Oksidatif stres dönüşümsüz hücre hasarı ve birçok enzimin inaktivasyonuna neden olabilmektedir (90).

Serbest radikaller yüksek reaktivitelerinden dolayı hücre zarında bulunan doymamış yağ asitleri ile etkileşerek lipit peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Oluşan lipit peroksidasyonu doku hasarı ile ilişkilidir ve kolaylıkla yıkımlanarak başta MDA olmak üzere birçok sekonder ürünler meydana getirebilmektedir (91).

Bizim çalışmamızda lipit peroksidasyonunun iyi bir göstergesi olarak MDA düzeyleri böbrek doku örneklerinde analiz edildi.

Çalışmamızda renal dokudaki MDA düzeyi IR grubunda kontrol grubuna göre 1,6 kat yüksek olarak saptandı. Bu sonuçlara göre IR sonrası serbest oksijen radikallerine bağlı olarak lipit peroksidasyonu sonucu anlamlı hasar olduğu söylenebilir. Catalpol uygulanan hem Grup 3 ve hem de Grup 4'te kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde anlamlı bir artış olduğu görülse de, catalpol tedavisi alan grupla IR grubu karşılaştırıldığında catalpol'un MDA düzeyini anlamlı şekilde düşürdüğünü görmekteyiz. Lipid peroksidasyonunda azalma açısından hem IR öncesi, hem de IR sonrası catalpol uygulaması böbrek üzerinde anlamlı şekilde hem koruyucu ve hem de tedavi edici etki göstermiştir. İskemi-reperfüzyon öncesi ve sonrası catalpol uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, IR öncesi catalpol uygulanan grupta MDA seviyesi anlamlı olarak daha düşüktü, yani IR öncesi catalpol uygulamasının, IR sonrası catalpole göre IR hasarını önlemede böbrek üzerine koruyucu etkinliğinin daha fazla olduğu söylenebilir.

Normal fizyolojik durumda enzimatik ve non enzimatik antioksidan savunma mekanizmalarından SOD, CAT, GPx ve GSH oksidatif hasara karşı koruyucu görevleri vardır. Süperoksit radikalının, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene

dönüşümünü sağlayan SOD, süperoksit radikallerinin en önemli temizleyicisidir. Hidrojen peroksit bir radikal olarak kabul edilmese de hidroksil radikalının organizmadaki en önemli kaynağıdır. Glutasyon peroksidaz ve CAT hidrojen peroksitin katalizinde önemli olan enzimlerdir. Lipid peroksidasyonundaki artışla beraber oluşan oksidatif stres, antioksidan savunma mekanizmalarını da tüketmekte ve dokudaki düzeyleri azaltmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda da böbrekte IR hasarında oksidatif strese bağlı olarak dokuda SOD, CAT, GPx ve GSH düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düştüğü gösterilmiştir (92-94).

Çalışmamızda antioksidan mekanizmadaki bozulmayı değerlendirmek için SOD, CAT, GPx ve GSH düzeyleri böbrek dokusunda analiz edildi. İskemi-reperfüzyon grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında SOD, CAT, GPx ve GSH değerlerinde anlamlı düşüş tespit edildi. Bu sonuçlar IR grubunda böbrek üzerinde belirgin oksidatif stres maruziyeti ve antioksidan savunma mekanizmasında azalma olduğunu desteklemektedir. İskemi-reperfüzyon öncesi catalpol uygulanan grupta SOD, CAT, GPx ve GSH değerleri IR grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. İskemi-reperfüzyon sonrası catalpol uygulanan grupla IR grubu karşılaştırıldığında CAT değeri dışında diğer SOD, GPx ve GSH değerleri arasında anlamlı bir fark görülmedi. İskemi-reperfüzyon öncesi uygulanan catalpolun IR sonrası catalpole göre böbrek üzerindeki oksidatif strese karşı daha etkili cevap verdiğini söyleyebiliriz.

Yapılan serebral iskemi deneysel modelinde karotid oklüzyonu öncesi 3 gün süresince i.p. olarak uygulanan 10 ve 20 mg/kg dozlarında catalpolun SOD aktivitesinde anlamlı artış ve beyin MDA içeriğinde anlamlı azalmaya neden olduğu saptanmıştır. İskemi-reperfüzyon hasarı öncesi catalpol tedavisinin serbest radikallerin azaltılması ve lipid peroksidasyonunun engellenmesi ile ilişkili olabileceği ifade edilmiştir (95).

İskemi reperfüzyon modelinde primer kültüre astrositler üzerinde catalpolun etkilerinin araştırıldığı çalışmada catalpol mitokondriyal membran potansiyelindeki azalmayı önlemiş, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu inhibe etmiş, lipid peroksit seviyesinde azalma ve SOD, GPx ve GSH'de artışa neden olmuştur. Catalpolun SOR üretimini baskılayarak ve antioksidan kapasiteyi artırarak astrositler üzerinde hücre koruyucu etki gösterdiği ileri sürülmüştür (60).

Zhou ve ark. (96) yaptıkları çalışmada deneysel diabetik ensefalopati modelinde catalpolun oksidatif stresi azaltarak nöroprotektif etki oluşturduğu gösterilmiştir. Histopatolojik incelemelerde IR yapılan grupta interstisyel inflamasyon, intratübüler silendir ve proteinöz cast, tübüler atrofi, tübüler nekroz, tübüler fırçamsı kenar kaybı, tübüler hücre vakuolizasyonu ve hidropik dejenerasyonun kontrol grubuna göre anlamlı olarak artması iskemi reperfüzyonun böbrek üzerinde belirgin bir şekilde hasar yaptığını göstermektedir. Üre, kreatinin ve diğer biyokimyasal verilerdeki patolojik artış IR sonrası böbrekte oluşan histopatolojik bulguları desteklemektedir. Daha önce yapılan deneysel IR çalışmalarında da benzer sonuçlar elde edilmiştir (83-86).

İnterstisyel inflamasyon açısından IR grubu ile iskemi öncesi ve sonrası catalpol uygulanan gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da inflamasyonun azaldığı görülmekte ve bunun da catalpolun antiinflamatuvar özelliğine bağlı geliştiği söylenebilir. Daha önce yapılan çalışmalarda da catalpolun antiinflamatuvar etkinliği gösterilmiştir (81, 97, 98).

Catalpolun iskemi öncesi verilmesi interstisyel inflamasyonda, tübüler atrofi, tübüler nekroz, intratübüler silendir/proteinöz cast ve tübüler fırçamsı kenar kaybında istatistiksel anlamlı olmasa da iskemi sonrası catalpol tedavisinden daha etkili olduğu görülmektedir.

Böbrekte oluşan hasarı ve verilen tedaviyi değerlendirmede doku biyokimyası daha erken güvenilir sonuç verebilmesine rağmen, böbrek üzerinde oluşan patolojik hasarın oluşması ve histopatolojik olarak gösterilmesi reperfüzyon süresi ile ilişkilidir ve erken dönem histopatolojik değerlendirme anlamsız sonuçlar verebilmektedir.

Sonuç olarak;

Renal IR hasarı oluşturulan ratlarda catalpolun hasarı önleyici ve tedavi edici etkinliğinin araştırıldığı bu çalışmada;

İskemi ve reperfüzyonun böbrekte hem biyokimyasal hem de histopatolojik olarak istatistiksel olarak anlamlı şekilde belirgin hasar oluşturduğu gösterilmiştir.

Catalpolun böbrekte iskemi sonrası oluşan hasarı, biyokimyasal verilere dayanarak, antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliğiyle belirgin olarak azalttığı gösterilmiştir.

Catalpolun tedavi edici özelliğinden ziyade böbrekte oluşan hasarı önlemeye yönelik etkinliğinin daha çok olduğu biyokimyasal verilerin ışığında gösterilmiştir, histopatolojik olarak bu etki istatistiksel olarak anlamlı olmasa da özellikle hasarı önleyici etkinliği göze çarpmaktadır.



5. KAYNAKLAR

1. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surgical Clinics of North America* 1992; 72: 65-83.
2. Conesa EL, Valero F, Nadal JC, Fenoy FJ, Lopez B, Arregui B, Salom MG. N acetyl-l-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 2001; 281: 730-737.
3. Sheridan AM, Bonventre JV. Pathophysiology of ischemic acute renal failure. *Contributions to Nephrology* 2001: 7-21.
4. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: Central role of the neutrophil. *British Journal of Surgery* 1991; 78(4): 651-655.
5. Lindsay TF, Liauw S, Romaschin AD, Walker PM. The effect of ischemia/reperfusion on adenine nucleotide metabolism and xanthine oxidase production in skeletal muscle. *Journal of Vascular Surgery* 1990; 12: 8-15.
6. Lien YH, Lai LW, Silva AL. Pathogenesis of renal ischemia/reperfusion injury: Lessons From Knockout Mice. *Life Sciences* 2003; 74: 543-552.
7. Baud L, Ardaillou R. Involvement of Reactive Oxygen Species in Kidney Damage. *British Medical Bulletin* 1993; 49: 621-629.
8. Chamoun F, Burne M, O'Donnell M, Rabb H. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *Frontiers in Bioscience* 2000; 1: 103-109.
9. Strieter RM, Kunkel SL, Bone RC. Role of tumor necrosis factor-alpha in disease states and inflammation. *Critical Care Medicine* 1993; 21: 447-463.
10. Cruz CM, Rinna A, Forman HJ, Ventura AL, Persechini PM, Ojcius DM. ATP activates a reactive oxygen species-dependent oxidative stress response and secretion of proinflammatory cytokines in macrophages. *The Journal of Biological Chemistry* 2007; 282: 2871-2879.

11. Beutler B. Neo-Ligands for innate immune receptors and the etiology of sterile inflammatory disease. *Immunological Reviews* 2007; 220: 113-128.
12. Hamada T, Tsuchihashi S, Avanesyan A, Duarte S, Moore C, Busuttil RW, Coito AJ. Cyclooxygenase-2 deficiency enhances th2 immune responses and impairs neutrophil recruitment in hepatic ischemia/reperfusion injury. *The Journal of Immunology* 2008; 180: 1843-1853.
13. Laurent B, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251: 765-776.
14. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109: 655-678.
15. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. *J Clin Invest* 1984; 74: 1156-1164.
16. Li DQ, Bao YM, Zhao JJ, Liu CP, Liu Y, An LJ. Neuroprotective properties of catalpol in transient global cerebral ischemia in gerbils: Dose-response, therapeutic time-window and long-term efficacy. *Brain Res* 2004; 1029, 179–185.
17. Redman JF. Anatomy of genitouriner system. In: Gillenwater JY (eds). *Adult and Pediatric Urology*. Mosby Year Book Inc, 1991; 1-631.
18. Kabalin JN, Surgical Anatomy of the retroperitoneum, Kidneys, and Üreters. In: Walsh RC, Retik AB, Vaughan AB, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, et al (eds). *Campbell's Urology*, 8th ed. Philadelphia, 2002: 1-70.
19. Tanagho EA, McAninch JW. *Smith's General Urology*. 16th Ed, San Francisco: McGraw-Hill, 2004; 1: 1-17.
20. Hinman FJ. Development of the kidney, ureter and adrenal gland. In: Hinman FJ (eds). *Atlas of Urosurgical Anatomy*. Phiadelphia: WB Saunders Company, 1996; 235-254.
21. Guyton AC. The kidneys and body fluids. In: Guyton AC (eds). *Textbook of Medical Physiology*. Phiadelphia: WB Saunders Company, 1991; 273-353.

22. Klahr S, Purkerson ML. The pathophysiology of obstructive nephropathy: the role of vasoactive compounds in the hemodynamic and structural abnormalities of the obstructed kidney. *Am J Kidney Dis* 1994; 23(2): 219-223.
23. Guyton CA. *Tıbbi Fizyoloji*. 7. B, İstanbul: Merk Yayıncılık 1987; 2: 649-664.
24. Artur CG, John EH, *Tıbbi Fizyoloji* 9. Baskı 1996: 317.
25. Redman JF. Anatomy of genitouriner system. in: Gillenwater JY (eds). *Adult and Pediatric Urology*. Mosby Year Book Inc. St.Louis, 1991: 1-631.
26. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Early renal failure. *N Engl J Med* 1996; 334: 1448-1460.
27. Gilbert RE, Kelly DJ, Atkins RC. Novel approaches to the treatment of progressive renal disease. *Curr Opin Pharmacol* 2001; 1: 183-189.
28. McCombs PR, Roberts B. Early renal failure following resection of abdominal aortic aneurysm. *Surg Gynecol Obstet* 1979; 148: 175-178.
29. Zanardo G, Michielon P, Paccagnella A. Early renal failure in the patient undergoing cardiac operation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107: 1489-1495.
30. Majino G, Jorris I. Apoptosis, oncosis and necrosis. An overview of the cell death. *Am J Pathol* 1995; 146: 3-9.
31. Kumar V, Cotran R, Robbins SL. *Basic Pathology*. 6th edition 2000: 30-36.
32. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72(1): 65-83.
33. McCall TB, Boughton-Smith NK., Palmer RMJ, Whittle JR, Moncada S. Synthesis of nitric oxide from L-arginine by neutrophils. *Biochem J* 1989; 261: 293-296.
34. Weight SC, Bell PRF, Nicholson ML. Renal ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83: 162-170.
35. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2002; 105 (2): 248-258.
36. Ng CS, Wan S, Yim AP. Pulmonary ischaemia-reperfusion injury: role of apoptosis. *The European Respiratory Journal* 2005; 25: 356-363.

37. Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol* 1982; 78: 206-209.
38. Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res* 1996; 32(4): 743-751.
39. Ohmori M, Kitoh Y, Harada K, Sugimoto K, Fujimura A. Polymorphonuclear leukocytes (PMNs) functions in SHR, L-NAME and DOCA/salt-induced hypertensive rats. *J Hypertens* 2000; 18: 703-707.
40. Laurent B, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251: 765-776.
41. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109: 655-678.
42. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004; 37(2): 112-119.
43. Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Invest Med* 1994; 42: 632-639.
44. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38(12): 1103-1111.
45. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 342-346.
46. Benzie IFF. Evolution of dietary antioxidants. *Comp Biochem Physiol Part A* 2003; 136: 113-126.
47. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine* 1985; 312:159-163.
48. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen-derived free radicals. *Arch Surg* 1991; 126: 104-105.
49. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical Biochemistry* 1993; 26: 351-357.

50. Crişan G, Vlase L, Balica G, Muntean D, Ştefanescu C, Paltinean R, Tamaş M, Leucuta S. LC/MS analysis of aucubin and catalpol of some veronica species. *Farmacia* 2010; 58: 237- 247.
51. Skim F, Kaaya A, Jaouhari JT, Lazrek HB, Jana M, El Amri H. Hypoglycaemic activity of globularia alypum leaves in rats. *Fitoterapia* 1999; 70: 382-389.
52. Skim F, Lazrek HB, Kaaya A, El Amri H, Jana M. Pharmacological studies of two antidiabetic plants: globularia alypum and zygophyllum gaetulum. *Therapie* 1999; 54(6): 711-715.
53. Jouad H, Maghrani M, Eddouks M. Hypoglycaemic effect of rubus fruticosus l. and globularia alypum l. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2002; 81: 351-356.
54. Bello R, Moreno L, Primo-Yúfera E, Esplugues J. Globularia alypum L. extracts reduced histamine and serotonin contraction in vitro. *Phytotherapy Research* 2002; 16: 389–392.
55. Kırmızıbekmez H. Globularia Trichosantha Fisch. ve Mey: Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 1999.
56. Damtoft S. Biosynthesis of catalpol. *Phytochemistry* 1994; 35 (5): 1187–1189.
57. Takeatsu K, Paul PHB, Guo JX, Chung KS, Han BH. International Collection of Traditional and Folk Medicine, Vol 1. World Scientific, Singapore, 1996: 148-150.
58. Zhu UP. Tonifying herbs, In Chinese Materia Medica. Harwood Academic Pub, Groningen, 1998: 583-384.
59. Jiang B, Shen RF, Bi J, Tian XS, Hinchliffe T, Xia Y. Catalpol: a potential therapeutic for neurodegenerative diseases. *Curr Med Chem* 2015; 22 (10): 1278-1291.
60. Li Y, Bao Y, Jiang B, Wang Z, Liu Y, Zhang C, An L Catalpol protects primary cultured astrocytes from in vitro ischemia-induced damage. *Int J Dev Neurosci* 2008; 26: 309–317.

61. Dong Z, Xun Chen C. Effect of catalpol on diabetic nephropathy in rats. *Phytomedicine* 2013; 20: 1023–1029.
62. Huang C, Cui Y, Ji L, Zhang W, Li R, Ma L, et al. Catalpol decreases peroxynitrite formation and consequently exerts cardioprotective effects against ischemia/reperfusion insult. *Pharm Biol.* 2013; 51(4): 463-473.
63. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979; 95(2): 351-358.
64. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34 (3): 497-500.
65. Beutler E. Red cell metabolism. In: *A Manual of Biochemical Methods*. Int J Mol Sci 1975; 13(2): 1790–1803.
66. Aebi H. Catalase in vitro assay methods. *Methods Enzymol* 1984; 105:121-126.
67. Ellman G. Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82 (1): 70-77.
68. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with pholin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-275.
69. Secin FP. Importance and limits of ischemia in renal partial surgery: experimental and clinical research. *Advances in Urology* 2008: 102461.
70. Sheridan AM and Bonventre JV. Cell biology and molecular mechanisms of injury in ischemic acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000; 9(4): 427-34.
71. Orvieto MA, Zorn KC, Mendiola FP, Gong EM, Lucioni A, Mikhail AA, et al. Ischemia preconditioning does not confer resilience to warm ischemia in a solitary porcine kidney model. *Urology* 2007; 69: 984-987.
72. Pasupathy S, Homer-Vanniasinkam S. Ischaemic preconditioning protects against ischaemia/reperfusion injury: emerging concepts. *European journal of vascular and endovascular surgery: Journal of the European Society for Vascular Surgery* 2005; 29: 106-115.
73. Chatterjee PK. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: A comprehensive review. *Naunyn-schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2007; 376: 1-43.

74. Greene EL, Paller MS. Oxygen free radicals in early renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 1991; 17: 124-132.
75. Zhang W, Wang YL, Wang HJ, Miao ZH, Xia XH. The effect of vitamin E on renal ischemia/reperfusion injury in young and aged rats. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi* 2010; 26(2): 159-163.
76. Dusmez D, Cengiz B, Yumrutas O, Demir T, Oztuzcu S, Demiryurek S, et al. Effect of verapamil and lidocaine on TRPM and NaV1.9 gene expressions in renal ischemia-reperfusion. *Transplant Proc* 2014; 46(1): 33-39.
77. Chen H, Xing B, Liu X, Zhan B, Zhou J, Zhu H, et al. Ozone oxidative preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury: the role of nitric oxide. *J Surg Res* 2008; 149(2): 287-295.
78. Chatterjee PK. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2007; 376(1-2): 1-43.
79. Choi EK, Jung H, Kwak KH, Yeo J, Yi SJ, Park CY, et al. Effects of allopurinol and apocynin on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Transplant Proc* 2015; 47(6): 1633-1638.
80. Li Y, Zhong D, Lei L, Jia Y, Zhou H, Yang B. Propofol prevents renal ischemia-reperfusion injury via inhibiting the oxidative stress pathways. *Cell Physiol Biochem* 2015; 12;37(1): 14-26.
81. Zhang A, Hao S, Bi J, Bao Y, Zhang X, An L, et al. Effects of catalpol on mitochondrial function and working memory in mice after lipopolysaccharide-induced acute systemic inflammation. *Exp Toxicol Pathol* 2009; 61: 461-469.
82. Zhang X, Liu W, Niu X, An L. Systemic administration of catalpol prevents D-galactose induced mitochondrial dysfunction in mice. *Neurosci Lett* 2010; 473: 224-228.
83. Meyer F, Silva DS, Bombonato GM, Lizana JN, Dziedricki LF, Krieger ML. Histological analysis and the blood flux in kidneys submitted to different periods of ischemia/reperfusion. *Acta Cirurgica Brasileira/Sociedade Brasileira Para Desenvolvimento Pesquisa Em Cirurgia* 2011; 26: 451-455.

84. Aydoğdu, N. Kaymak, K. Yalçın, Ö. Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında n-asetilsisteinin etkileri. *Fırat Tıp Dergisi* 2005; 10: 151-155.
85. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioksidant defenses. *Mol Cell Biochem* 2000; 205: 1-11.
86. Zhu J, Chen X, Wang H, Yan Q. Catalpol protects mice against renal ischemia/reperfusion injury via suppressing PI3K/Akt-eNOS signaling and inflammation. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 15;8(2): 2038-2044.
87. Hayes JD, McLellan LI. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res* 1999; 31(4): 273-300.
88. Schiller HJ, Reilly PM, Bulkley GB. Tissue perfusion in critical illnesses. Antioxidant therapy. *Crit Care Med* 1993; 21: 92-102.
89. Alsharif NZ1, Hassoun EA. Protective effects of vitamin A and vitamin E succinate against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-induced body wasting, hepatomegaly, thymic atrophy, production of reactive oxygen species and DNA damage in C57BL/6J mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2004; 95(3): 131-138.
90. Skaper SD, Fabris M, Ferrari V, Dalle Carbonare M, Leon A. Quercetin protects cutaneous tissue-associated cell types including sensory neurons from oxidative stress induced by glutathione depletion: cooperative effects of ascorbic acid. *Free Radic Biol Med* 1997; 22(4): 669-678.
91. Montjean D, Menezo Y, Benkhalifa M, Cohen M, Belloc S, Cohen-Bacrie P, et al. Malonaldehyde formation and DNA fragmentation: two independent sperm decays linked to reactive oxygen species. *Zygote* 2010; 18: 265–268.
92. Oğuz F, Ciftci O, Aydın M, Timurkaan N, Beytur A, Altıntaş R, Parlakpınar H. Aminoguanidine prevents testicular damage–induced-2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in male rats. *Andrologia* 2013; 45(4): 225-231.
93. Ciftci O, Oğuz F, Beytur A, Polat A, Altıntaş R, Oguzturk H. Lycopene prevents experimental priapism against oxidative and nitrosative damage. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014; 18(21): 3320-3325.

94. Beytur A, Ciftci O, Oguz F, Oguzturk H, Yilmaz F. Montelukast attenuates side effects of cisplatin including testicular, spermatological, and hormonal damage in male rats. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2012; 69(1): 207-213.
95. Catalpol provides protective effects against cerebral ischaemia/reperfusion injury in gerbils. *J Pharm Pharmacol*. 2014; 66(9): 1265-1270.
96. Zhou H, Liu J, Ren L, Liu W, Xing Q, Men L, et al. Relationship between spatial memory in diabetic rats and protein kinase C γ , caveolin-1 in the hippocampus and neuroprotective effect of catalpol. *Chin Med J (Engl)* 2014; 127(5): 916-923.
97. Prabal K. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. Chatterjee. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2007; 376: 1–43.
98. Zhang X, Zhang A, Jiang B, Bao Y, Wang J, An L. Further pharmacological evidence of the neuroprotective effect of catalpol from *Rehmannia glutinosa*. *Phytomedicine* 2008; 15(6-7): 484-490.

6. ÖZGEÇMİŞ

07.01.1980 yılında Malatya’ da doğdum. İlk orta ve lise öğrenimimi Malatya’ da tamamladım. 1997 yılında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım ve 2004 yılında mezun oldum. 2010 yılında Tıpta Uzmanlık sınavını kazanarak F.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD.’ da uzmanlık eğitimime başladım. Halen eğitimime devam etmekteyim. İngilizce bilmekteyim.

