



**RAT İNCE BAĞIRSAĞINDA OLUŞTURULAN DENEYSEL İSKEMİK
REPERFÜZYON HASARLANMA MODELİNDE GELİŞEN UZAK ORGAN
HASARLANMASI ÜZERİNE VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME
FAKTÖRÜNÜN (VEGF) ETKİSİ**

Mehmet Ata ALPSOY

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2015

Mehmet Ata ALPSOY tarafından hazırlanan “Rat ince bağırsağında oluşturulan deneysel iskemik reperfüzyon hasarlanma modelinde gelişen uzak organ hasarlanması üzerine vasküler endotelyal büyüme faktörünün(VEGF) etkisi ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~ÖY~~ ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Çiğdem ÖZER

Fizyoloji A. D., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~

Başkan : Prof. Dr. Deniz ERBAŞ

Fizyoloji A. D., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~

Üye : Prof. Dr. Eser ÖZ OYAR

Fizyoloji A. D., Katip Çelebi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~

Tez Savunma Tarihi:/...../.....

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Mehmet Ata ALPSOY

12.02.2015

RAT İNCE BAĞIRSAĞINDA OLUŞTURULAN DENEYSSEL İSKEMİK
REPERFÜZYON HASARLANMA MODELİNDE GELİŞEN UZAK ORGAN
HASARLAMASI ÜZERİNE VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME
FAKTÖRÜNÜN(VEGF) ETKİSİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Mehmet Ata ALPSOY

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Şubat 2015

ÖZET

İskemi-reperfüzyon (I/R) hasarının fizyopatolojisi tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Ancak iskeminin neden olduğu hasarın önemli bir kısmının reperfüzyon sırasında, post-iskemik dönemde olduğu düşünülmektedir. İskemi süreci içerisinde biriken bazı toksik metabolitler, reperfüzyon fazında dolaşıma katılarak, iskemiye maruz kalan dokuda ve uzak organlarda sistemik inflamatuvar bir yanıt oluşturmaktadırlar. Çalışmanın amacı; Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)'nün deneysel I/R hasarının uzak organ dokularında oluşturabileceği oksidan stres ve antioksidan savunma sistemleri üzerindeki etkinliğini değerlendirmektir. Çalışmada 30 adet Wistar Albino erkek sıçan 5 gruba ayrıldı. Bunlar; 1-Sham, 2-VEGF(V), 3-İskemi-Reperfüzyon (I/R), 4-I/R+V, 5-V+I/R grupları şeklinde belirlendi. Sham grubunda sadece cerrahi prosedür, VEGF grubunda ise cerrahi prosedürü takiben tek doz intravenöz VEGF (0,8 µg/kg) enjeksiyonu uygulandı. I/R ve tedavi gruplarında, cerrahi prosedür ve mesenterik arterin 90 dakika süresince klipajı yapıldı. I/R+V grubunda reperfüzyon süreci sonrasında, V+I/R grubunda ise iskemi periyodu öncesinde tek doz VEGF uygulandı. İskemi periyodundan 4 saat sonra hayvanlar feda edilerek karaciğer, böbrek ve kan dokusu örnekleri alındı. Bütün prosedürler anestezi altında gerçekleştirildi. Dokular oksidatif stres ve antioksidan düzeyleri açısından değerlendirildi. Kan örneklerinde organ fonksiyonları açısından biyokimyasal analizler yapıldı. Gruplar arası farklılığı belirlemede Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sonuç: VEGF'ün ince bağırsak dokusunda meydana gelebilecek I/R hasarına karşı uzak dokularda belli düzeylerde oksidatif stresi azaltıp, antioksidan düzeylerini artırarak koruyucu bir etkisi olabileceğini gördük. Yapılacak yeni çalışmalar VEGF'ün I/R hasarına karşı koruyucu etkilerinin daha iyi anlaşılmasında fayda sağlamakla beraber, klinikte uygulamaya girmesi halinde hastalık tedavi planlanmasında da yeni ufuklar açabilecektir.

Bilim Kodu : 1023
Anahtar Kelimeler : İskemi-Reperfüzyon, İntestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarı,
VEGF, Antioksidanlar, Oksidatif Stres.
Sayfa Adedi : 99
Danışman : Prof. Dr. Çiğdem ÖZER

EFFECT OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) ON
DEVELOPING DISTANT ORGAN DAMAGE DURING EXPERIMENTAL
INTESTINAL ISCHEMIA REPERFUSION INJURY MODEL IN RATS

(M. Sc. Thesis)

Mehmet Ata ALPSOY

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

February 2015

ABSTRACT

The physiopathology of ischemia-reperfusion's (I/R) injury wasn't illuminated exactly. It is thought that there is the essential part of injury caused by ischemic during reperfusion in the period of post ischemic. Some toxic metabolites cumulating in ischemic process by getting into circulation in reperfusion phase compose systemic inflammatory response to tissue exposing by ischemic and distance organs. The purpose of study is to evaluate effectiveness of VEGF's experimental I/R injury on distant organ tissues for oxidant stress and antioxidant defense. In this study Wistar Albino male rats were used. Rats were divided into five groups (n= 6). Groups: 1-Sham, 2-VEGF(V), 3-I/R, 4-I/R+V, 5-V+I/R. In Sham and VEGF groups only surgical procedure is applied. In I/R and V groups, surgical procedure and clip is applied on the mesenteric artery for 90 min. For I/R+V and V+I/R groups, before or after than ischemia period one dose intra venous VEGF (0,8 µg/kg) was given. 4 hours after than ischemia period, liver and kidney tissue and blood samples were collected. All procedure were done under anaesthesia. The tissues were evaluated about oxidative stress and the levels of antioxidant. It was done biochemical analyses on blood samples about organ functions. It was used Mann-Whitney U test in determining the differences between the groups. The result: We saw that there would be a protective effect of VEGF's intestine tissue to be occurred against I/R injury by reducing oxidative stress in distance tissues at a certain level and increasing the level of antioxidant. New studies to be done avail understandability of protective effects against VEGF's I/R injury and also if they are applied at clinic, they will be opened new horizons.

Science Code : 1023

Key Words : Ischemia-Reperfusion, Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury,
VEGF, Antioxidants, Oxidative Stress.

Page Number : 99

Supervisor : Prof. Dr. Çiğdem ÖZER

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin tez sürecinde, bana her konuda göstermiş olduğu sabır ve desteğinden ötürü danışmanım Prof. Dr. Çiğdem Özer'e, ayrıca yüksek lisans eğitimim sürecinde ilk danışmanlığımı yapan ve tezimin deneysel aşamalarında büyük desteğini gördüğüm Prof. Dr. Eser Öz Oyar'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimime katkı sağlayan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Lamia Pınar ve değerli hocalarım Prof. Dr. Aydan Babül, Prof. Dr. Deniz Erbaş, Prof. Dr. Sibel Dinçer, Prof. Dr. Gonca Akbulut ve Doç. Dr. Şevin Güney'e şükranlarımı sunarım. Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana olan yardım ve desteğinden dolayı Dr.Zuhal Yıldırım' a teşekkür ederim.

Aynı dönemlerde yüksek lisans eğitimini yapan arkadaşım Çiğdem Yazıcı Mutlu' ya istatistiki çalışmalar sürecimde bana verdiği destekten dolayı teşekkürü borç bilirim. Ayrıca Yüksek Lisans eğitimim sırasında destek ve yardımlarından dolayı arkadaşım Arzu Keskin Aktan'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında karşılaştığım her aksilikte beni cesaretlendiren ve yazım aşamasında yardımlarını, sabır ve desteğini benden hiç esirgemeyen canım arkadaşım Ebru Kaya'ya sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca benden sabır ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme de sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Böbreğin Anatomik Yapısı ve Kanlanması	5
2.2. Karaciğerin Anatomik Yapısı ve Kanlanması	7
2.3. İskemi / Reperfüzyon Hasarı	10
2.4. Serbest Radikaller.....	12
2.4.1. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu.....	14
2.4.2. Serbest radikallerin etkileri	19
2.5. Antioksidanlar	23
2.5.1. Antioksidan enzimler	24
2.6. Böbrek ve İskemi /Reperfüzyon Hasarı.....	30
2.7. Karaciğer ve İskemi /Reperfüzyon Hasarı.....	32
2.8. Sitokinler	35
2.8.1. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF).....	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	45
3.1. Deney Grupları	45
3.2. Biyokimyasal Analizler	47

	Sayfa
3.2.1. Homojenizasyon.....	47
3.2.2. Dokuda malondialdehit (MDA) düzeyi tayini	47
3.2.3. Doku protein düzeyi tayini.....	47
3.2.4. Dokuda glutatyon (GSH) düzeyi tayini	47
3.2.5. Dokuda süperoksit dismutaz (SOD) enzim düzeyi tayini	48
3.2.6. Dokuda katalaz enzim düzeyi tayini	48
3.2.7. Doku nitrit/ nitrat düzeyi tayini.....	48
3.2.8. Plazma LDH, AST, ALT, üre, kreatin düzeyleri tayini	49
3.3. İstatiksel Analiz ve Grafikler.....	49
4. BULGULAR	51
4.1. Böbrek Dokusu MDA Düzeyleri.....	54
4.2. Karaciğer Dokusu MDA Düzeyleri.....	55
4.3. Böbrek Dokusu NOx Düzeyleri	56
4.4. Karaciğer Dokusu NOx Düzeyleri	57
4.5. Böbrek Dokusu SOD Düzeyleri	58
4.6. Karaciğer Dokusu SOD Düzeyleri	59
4.7. Böbrek Dokusu GSH Düzeyleri	60
4.8. Karaciğer Dokusu GSH Düzeyleri	61
4.9. Böbrek Dokusu Katalaz Düzeyleri.....	62
4.10. Karaciğer Dokusu Katalaz Düzeyleri.....	63
4.11. Plazma Üre Düzeyleri.....	64
4.12. Plazma Kreatin Düzeyleri.....	65
4.13. Plazma Laktat Dehidrogenaz Enzim Düzeyleri.....	66
4.14. Plazma ALT Düzeyleri.....	67
4.15. Plazma AST Düzeyleri	68
5. TARTIŞMA	69

	Sayfa
6. SONUÇ.....	77
KAYNAKLAR.....	79
EKLER.....	97
EK-1. Etik Kurul Onayı.....	98
ÖZGEÇMİŞ.....	99

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Böbrek dokusu biyokimyasal analiz sonuçları-1	51
Çizelge 4.2. Karaciğer dokusu biyokimyasal analiz sonuçları-2	52
Çizelge 4.3. Plazmanın biyokimyasal analiz sonuçları-3	53

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Böbreğin yapısı.....	5
Şekil 2.2. Böbrek kanlanması	7
Şekil 2.3. Karaciğerin segmental anatomisi.....	8
Şekil 2.4. Splanknik sirkülasyon.....	9
Şekil 2.5. Oksidatif stres	13
Şekil 2.6. Moleküler oksijenden serbest radikal oluşumu ve nitrik oksit ilişkisi ile peroksitrit oluşumu.....	18
Şekil 2.7. Lipid peroksidasyonu.....	22
Şekil 2.8. VEGF tirozin kinaz reseptörleri.....	43
Şekil 4.1. Böbrek dokusu MDA düzeyleri.....	54
Şekil 4.2. Karaciğer dokusu MDA düzeyleri.....	55
Şekil 4.3. Böbrek dokusu NOx düzeyleri	56
Şekil 4.4. Karaciğer dokusu NOx düzeyleri	57
Şekil 4.5. Böbrek dokusu SOD düzeyleri	58
Şekil 4.6. Karaciğer dokusu SOD düzeyleri	59
Şekil 4.7. Böbrek dokusu GSH düzeyleri	60
Şekil 4.8. Karaciğer dokusu GSH düzeyleri	61
Şekil 4.9. Böbrek dokusu CAT düzeyleri	62
Şekil 4.10. Karaciğer dokusu CAT düzeyleri	63
Şekil 4.11. Plazma üre düzeyleri.....	64
Şekil 4.12. Plazma kreatin düzeyleri.....	65
Şekil 4.13. Plazma LDH düzeyleri	66
Şekil 4.14. Plazma ALT düzeyleri	67
Şekil 4.15. Plazma AST düzeyleri	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış semboller ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Semboller

Açıklamalar

cm	Santimetre
dl	Desilitre
gr	Gram
kDa	Kilodalton
l	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Mikrometre
mmHg	Milimetreciva
nm	Nanometre
nmol/g	Nanomol/gram
nmol/mg	Nanomol/miligram
rpm	Devir Sayısı
u	Bir enzim birimi

Kısaltmalar

Açıklamalar

aFGF	Asidik fibroblast büyüme faktörü
AMP	Adenin monofosfat
ATP	Adenozin trifosfat
bFGF	Temel fibroblast büyüme faktörü
CAT	Katalaz
cGMP	Siklik guonazin monofosfa
CoQ10H2	Ubikinol
CuZnSOD	Bakır çinko süperoksit dismutaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTNB	5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoik asit

Kısaltmalar**Açıklamalar**

EGF	Epidermal büyüme faktörü
EPO	Eritropoietin
FAD	Flavin adenin dinukleotid
Fe	Demir
GM-CSF	Granülosit/makrofaj koloni stimüle eden faktör
Granülosit-CSF	Granülosit koloni stimüle eden faktör
GSH	Glutasyon
GSHPx	Glutasyon peroksidaz
GSHR	Glutasyon redüktaz
GSSG	Okside glutasyon
GST	Glutasyon S-Transferaz
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
HIF	Hipoksi ile indüklenebilen faktör
HOCL	Hipoklorit asit
HSP	Isı şok proteini
I/R	İskemi/reperfüzyon
IFN	Interferonlar
IGF	insülin benzeri büyüme faktörü
IL	İnterlökin
KDH	Ksantin dehidrogenaz
KO	Ksantin oksidaz
L	Lipit radikali
LDH	Laktat dehidrogenaz
LIF	Lösemi inhibitör faktör
LOO[·]	Lipit peroksit radikali
LOOH	Lipid hidroperoksit
MDA	Malondialdehit
MnSOD	Manganez süperoksit dismutaz
MPO	Miyeloperoksidaz
Multi-CSF	Multi koloni stimüle eden faktör
NADPH	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

Kısaltmalar**Açıklamalar**

NBT	Nitroblue tetrazolium
NGF	Sinir büyüme faktörü
NO	Nitrik oksit
NO₂⁻	Nitrit
NO₃⁻	Nitrat
NOS	Nitrik oksit sentetaz
O₂⁻	Süperoksit anyonu
OH⁻	Hidroksil radikali
ONOO⁻	Peroksinitrit
ORAC	Oksijen radikal absorban kapasitesi
p38 MAPK	Mitojenle aktive protein kinaz
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri
PLGSH-Px	Fosfolipit hidroksiperoksit glutasyon peroksidaz
PMNL	Polimorf nüveli lökosit
Prx	Peroksiredoksin
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
RTA	Relatif telomeraz aktivitesi
-SH	Sülfhidril
SMA	Süperior mezenterik arter
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikali
TGSH	Total glutasyon
TIMP	Doku metalloproteinaz inhibitörü
TNB	5-thio-2-nitro benzoik asit
TNF	Tümör nekroz faktörleri
TNF-R	Tümör nekroz faktör reseptör
Trx	Tiyoredoksin
TrxR	Tiyoredoksin redüktazı
TxNiP	Thioredoxin interacting protein
Tyr	Tirozin

Kısaltmalar**Açıklamalar****VEGF**

Vasküler endotelial büyüme faktörü

VEGFR

Vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü

XD

Ksantin dehidrogenaz

XO

Ksantin oksijenaz

1. GİRİŞ

İskemi, dokunun oksijen(O₂) ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının dolaşım tarafından sağlanamaması ve oluşan artık ürünlerin uzaklaştırılmaması olarak tanımlanır. Reperfüzyon ise bu iskemik dokudaki kan dolaşımının tekrar sağlanmasıdır [1].

Dokuya giden kan akımı kesildiğinde, o dokuya ait hücrelerde fonksiyon bozukluğu ile başlayıp, hücre ölümüne kadar ilerleyen bir dizi kimyasal olay gerçekleşir. Hücresel enerji eksikliği iskemik hasarın gelişmesinde merkezi bir rol oynamaktadır. Hücresel fonksiyonların gerçekleşebilmesi için gerekli temel yakıt O₂'dir. İskemi döneminde, O₂ yokluğuna bağlı olarak, mitokondrial elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon kapasitesi giderek azalmaktadır. Oksidatif fosforilasyonun bozulması hücre içi ATP ve fosfokreatin sentezinde azalmaya yol açar. Hücrede anaerobik glikolizle ATP üretimi başlar. Laktik asit ve toksik metabolitlerin birikimi artar [2].

İskemik dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin, lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar. İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP ve adenzin oluşur. Adenzin, hızla hücre dışına difüze olur ve inozin ve hipoksantine parçalanır. Dolayısıyla, iskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar. Normal şartlarda hipoksantin ürik asite metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı NAD⁺ (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu) dir. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle KDH → KO'a dönüştüğünden hipoksantin ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır [3].

Reperfüzyon biyokimyasal mekanizmaların aracılık ettiği sekonder hasara neden olan bir olaydır. Reperfüzyon hasarı, moleküler oksijenin toksik metabolitleri ile oluşur. Normalde O₂, karbondioksit ve suya metabolize olur. Hipoksi sonucu, elektron transport sisteminde bozulmaya bağlı olarak reperfüzyon döneminde ani olarak artan O₂, su ve karbondioksit yerine sitotoksik serbest oksijen radikallerine dönüşmeye başlar [4].

Ayrıca iskemi süreci içerisinde biriken bazı toksik metabolitler, reperfüzyon fazında dolaşıma katılarak, iskemiye maruz kalan dokuda ve uzak organlarda sistemik inflamatuvar bir yanıt oluşturmaktadırlar. Etkilenen dokularda sıklıkla nötrofil infiltrasyonu gözlenir. Postkapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına çıkması ve lökositlerin hareketliliği başlar. İskemi/reperfüzyon (I/R) sonrası dokularda mikrovasküler fonksiyon bozukluğu gelişir. Kapillerlerde lökosit tıkaçları oluşur, sıvı filtrasyonu artar. [5].

İnce bağırsak iskemisi çeşitli nedenlerle ortaya çıkan etiyolojisine göre mortalite ve morbiditesi değişen klinik bir durumdur. Strangülasyon ileusu ve akut mezenterik iskemi en sık karşılaşılan nedenlerdir [6]. Gastrointestinal sistem I/R hasarına karşı son derecede hassastır [7]. İntestinal I/R hasarı, akut mezenterik iskemi, intestinal obstrüksiyon, ince bağırsak transplantasyonu, travma ve şoku içeren birçok klinik vakada ortaya çıkmaktadır [8,9]. I/R boyunca intestinal bariyerin zedelenmesi, bakterilerin ve bakteri ürünleri olan endotoksinlerin transloke olmasına yol açar. Bu maddelerin sistemik disseminasyonu, uzak organ hasarının oluşumu ile ilişkilidir. Endotoksinler, çeşitli sitokinleri ve TNF-alfa gibi diğer bazı enflamatuvar medyatörleri salgılatmak üzere makrofajları stimüle ederek "Sistemik İnflamatuvar Yanıt" ya da "Çoklu Organ Disfonksiyonu Sendromu"nun ortaya çıkmasına neden olmaktadır [10,11].

Uzak organ hasarı, I/R hasarı olan organdan uzaktaki çeşitli organlarda da görülebilen bir çeşit oksidatif hasardır [12]. Örneğin renal iskemik hasar; beyin, kalp, karaciğer, kemik, mide, barsak, akciğer gibi organlarda hasara neden olur [13]. Proinflamatuvar sitokinler, intestinal I/R olayının yerel ve uzak organ hasarı oluşturmasında önemli role sahiptirler[14].

Reperfüzasyon içindeki çeşitli toksik maddelerden olan TNF-alfa ve IL-1, önce portal ven yoluyla kalbe ulaşır, sonra sistemik dolaşıma dağılırlar. Böylece sistemik bir enflamatuvar yanıt tetiklenmiş olur. TNF alfa ve IL-1, lökositler üzerinden sistemik enflamatuvar yanıtı yol açarlar. Bu maddeler, akciğer, karaciğer ve miyokard hasarına neden olan başlıca sitokinlerdir [15].

Özetle I/R zedelenmesi ele alındığında bu sürecin reaktif oksijen türleri (ROT), kompleman sistemi, hem oksijenaz sistemi (HO), endotel hücreleri ve nötrofiller arasındaki tam anlaşılammış ve karmaşık bir ilişkiyle ortaya çıktığı görülmektedir [16].

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF), Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süper ailesinin bir üyesi olup [17] vaskülojeniz ve anjiogenezde önemli bir mediatördür [18]. Anjiyogenez çeşitli malign tümörlerin gelişimi, ilerlemesi ve tümör hücrelerinin yayılmasında önemli rol oynamaktadır [19]. Hipoksi, VEGF ve reseptörlerinin yapımını indükleyerek anjiyogenezi başlatan en etkili stimullardan biridir. VEGF'in morfogenez ve kemotaksisde de önemli roller üstlendiği bilinmektedir [17]. VEGF'ün endotel hücrelerini apoptozise karşı koruduğu da ifade edilmektedir [20]. VEGF, NO üretimini stimüle eder. NO ise vasküler permeabilite ve anjiogenezisi artırır [21,22]. Literatürde farklı dokularda iskemi reperfüzyon hasarının etkilerinin azaltılması amacı ile kullanılan bu ajanın sadece vaskülojeniz ve anjiogenez özelliği ile değil antioksidan ve vazodilatatör etkileri ile de fayda sağladığı düşünülmektedir[23]. Nitekim Öz Oyar ve arkadaşları VEGF'nin I/R hasarı üzerinde antioksidan etki gösterdiğini belirtmişlerdir [24].

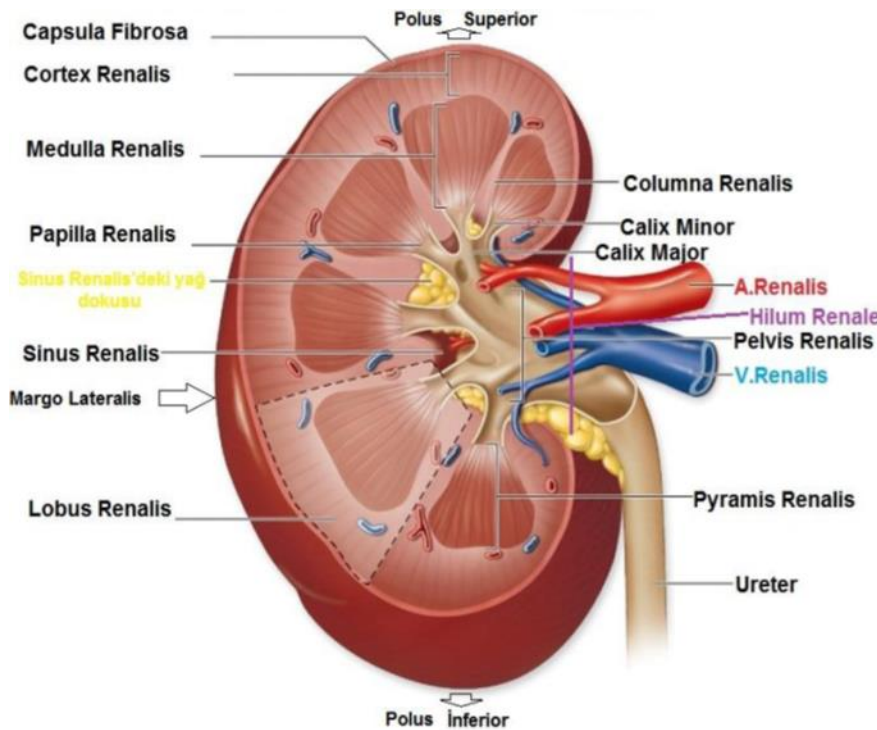
Bu çalışmanın amacı; VEGF'in, deneysel I/R hasarının uzak organ dokularında oluşturabileceği oksidan stres ve antioksidan savunma üzerindeki etkinliğini değerlendirmektir. Bu amaçla kullanılan ajanın literatürde ve klinikte uygulamaya girmesi halinde hastalık tedavi planlanmasında yeni ufuklar açılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbreğin Anatomik Yapısı ve Kanlanması

Böbrekler karın arka bölgesinde retroperitoneal alana yerleşmiş olup, columna vertebralisin hemen lateralinde ekstraperitoneal bağ dokusu içinde uzanırlar. Sırtüstü pozisyonda, üst uçtan T12 vertebra, alt uçtan L3 vertebra arasında bulunurlar. Sağ böbrek karaciğerle ilişkisinden dolayı sola göre birkaç cm daha aşağıdadır. Böbreklerin seviyeleri solunum sırasında ve postür değişikliği ile değişir, her bir böbrek derin inspirasyonda vertikal olarak yaklaşık 3 cm. hareket eder. Böbrekler şekil ve hacim olarak benzer olmalarına rağmen sağ böbrek sol böbreğe göre daha kısa kalındır ve orta hatta daha uzaktır. [25,26].

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



Şekil 2.1. Böbreğin yapısı [25]

Böbrek ince ve sağlam bağ dokusundan yapılmış kapsula fibroza adı verilen bir tabaka ile sarılmıştır. Kapsula fibroza hilus yakınlarında iki yaprağa ayrılır. Dış yaprak hilustan

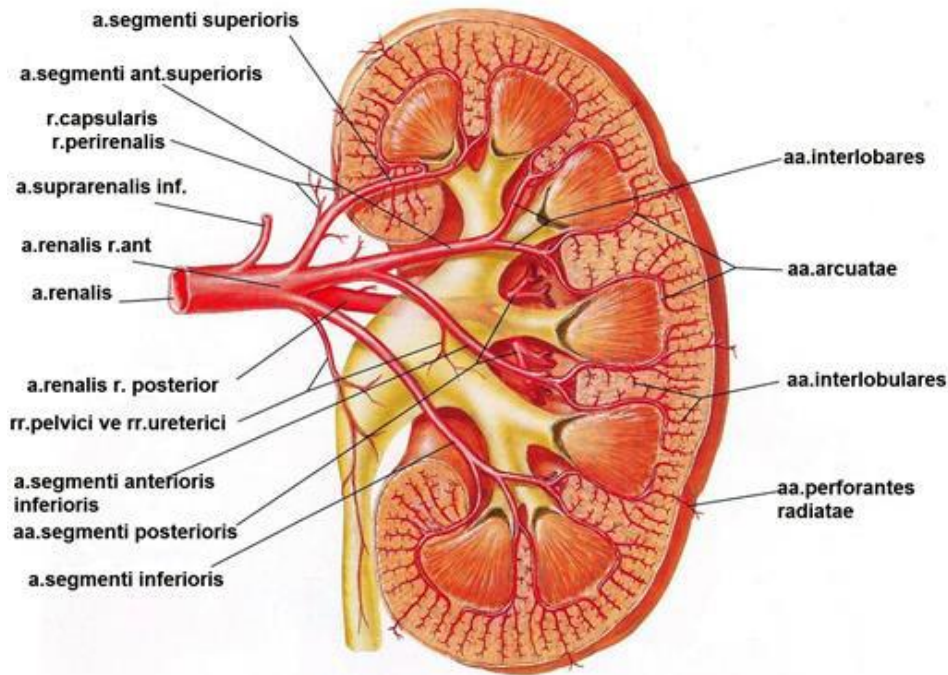
böbreğe giren çıkan oluşumların üzerini her taraftan sarar. Bu düzeyde daha sıkı ve yapışıktır. Kapsüla fibrozanın dışında böbreğin büyük bir kısmı kapsüla adipoza adı verilen bir yağ tabakası ile sarılıdır. Böbreğin arka tarafında bu tabaka her zaman daha kabadır. Önde, böbreğin peritonla örtülü kısımlarında yağ tabakası bulunmaz. Kapsüla adipozanın dışında böbreğin her tarafını saran ve fasiya renalis (Gerota fasiyası) denilen ince bir fasiya vardır. Bunun dışında da pararenal yağ tabakası bulunur. Gerota fasiyası böbrek orjinli patolojik durumları sınırlayan çok önemli bir anatomik bariyerdir [27]. (Şekil 2.1)

A. renalis'ler her iki tarafta 1. ve 2. lumbal omurlar arasındaki discus intervertebralis hizasında dik açı ile aorta'dan ayrılır [28]. Renal arterler 5 segmental artere ayrılır. Renal arterin ilk ve en geniş dalı; posterior segmental arterdir. Çoğunlukla renal hilusa girmeden renal arterden ayrılır, renal pelvisin arkasından ilerler ve böbreğin posteriorunun büyük bir kısmını besler. Segmental arterler arasında anastomoz ve kollateral dolaşım yoktur. Yani bir segmental arterin tıkanması sonucu o arterin beslediği parenkimde iskemi ve enfarkt gelişir. Eğer renal arter dallarını vermeden hasarlanırsa böbreğin tümü kaybedilebilir [29].

Böbrek içine girmeden önce renal arter, anterior ve posterior olmak üzere iki dala ayrılır. Posterior segmental arter böbreğin hemen hemen % 50'sini besleyen bir yapıdır. Posterior dalı böbreğin arka yüzünü ve orta kısmını beslerken anterior dalı böbreğin geri kalan tüm kısımlarını besler [30-32]

Segmental arterler renal sinüste ilerler ve dallanarak her piramit için bir lobar arter olarak devam ederler. Daha sonra tekrar dallanarak interlobar arterler olarak parankime girerler ve piramitler arasında uzanırlar. İnterlobar arterler kortikomeduller bölgede piramit tabanına paralel seyretmek üzere dönerek arkuat arter adını alırlar [33].

Arkuat arterlerin dalları olan interlobüler arterlerden çıkan afferent arterioller glomerüler yumağı oluşturur ve bu yumaktan çıkan efferent arterioller stroma içinde ven sistemiyle devam eder. Renal venler arterlere eşlik eder ve onlara benzer isimler alırlar, interlobar venler birleşerek vena renalis, vena renalis ise vena kava inferiora drene olur [34,35] (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Böbrek kanlanması

Renal venin distalindeki venüllerde tıkanıklık oluşsa da, ara bağlantılar sayesinde böbreğin drenajı devam edebilir. Bu drenaj venöz sistem arasındaki anastomozlar sayesinde sağlanır. Renal sinirler renal damarlara eşlik ederek böbrek içine giren renal pleksustan çıkar. Renal pleksusa onbir ve onikinci spinal sinirlerin dorsal köklerinden duyu, çölyak gangliondan sempatik, splanknik ve vagus sinirlerinden parasempatik lifler gelir. Böbreğin lenfatik kanalları ise lomber lenf nodlarına drene olurlar.

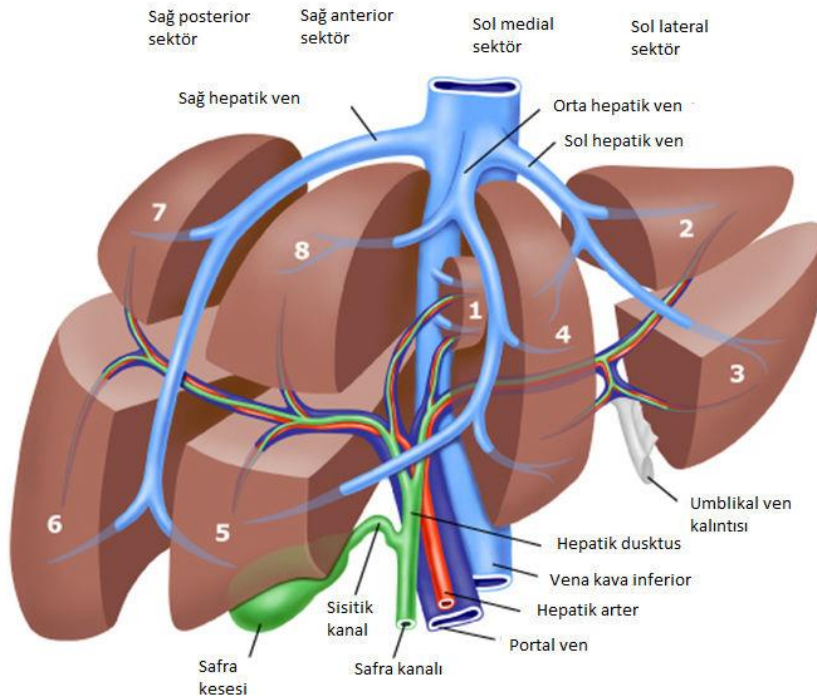
Renal hilusta arter ve venle birlikte renal pelvis yer alır. Renal pelvise major ve minor kaliksler açılır. Minor kaliksler birleşerek üst, orta ve alt major kalikslere ve bunlar da renal pelvise açılırlar [36]. Renal pelvis tamamen intrarenal veya kısmen ekstrarenal durumda olabilir, alt orta tarafta ureterle devam ederek oluşan idrarı alt üriner sisteme boşaltırlar [25,35].

2.2. Karaciğerin Anatomik Yapısı ve Kanlanması

Karaciğer vücudun en büyük parankimal organıdır. Midklaviküler hatta 4. İnterkostal aralıktan kosta kavsine kadar uzanır [37]. Normal ağırlığı erişkin erkeklerde ortalama 1400-1600 gr, erişkin kadınlarda ise ortalama 1200-1400 gr civarındadır [38]. Yetişkin bir insanda karaciğer toplam vücut ağırlığının % 2-3 ünü oluşturmasına karşın, organdan

geçen kan, dakikada 1400-1500 ml olup, bu miktar dolaşımdaki kanın % 25- 30 'u kadardır. Karaciğere kanın % 70-80 'i portal venden, geri kalan kısmı hepatic arterden gelmektedir. Karaciğer hilusundan portal ven, hepatic arter ve sinirler girer, sağ ve sol hepatic kanallar ile lenfatikler çıkar. Karaciğer, diyafragma ve arka yüzde, batınla temas eden bölüm dışında periton ile örtülüdür [37].

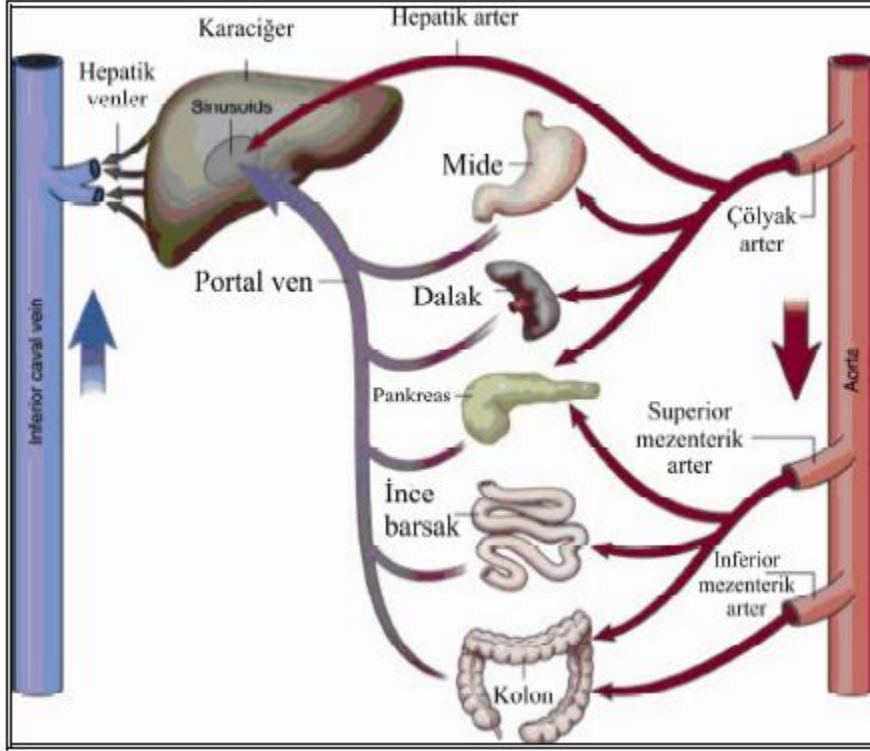
Karaciğer cerrahisindeki en önemli gelişmelerden biri karaciğerin segmental anatomisinin anlaşılmasıdır. Couinaud'un karaciğer için geliştirdiği segmental sistem pratikte geniş kabul görmüştür [39]. Couinaud ve Bismuth portal ve hepatic venlerin dallanmasını esas alarak karaciğeri segmentlere ve subsegmentlere ayırmışlardır. Burada karaciğer sekiz segmente ayrılmıştır. Subsegmentler üç ayrı dikey düz-lem ile belirlenir. Segment I haricindeki tüm bu segmentler daha sonra sağ ve sol ana portal dallar düzeyinden geçen bir yatay düzlem ile superior ve inferior subsegmentlerine ayrılır. Böylece karaciğerin üç dikey ve bir yatay düzlem tarafından oluşturulan sekiz subsegmenti ve bir segmenti (segment I) tanımlanır [40]. (Şekil 2.3)



Şekil 2.3. Karaciğerin segmental anatomisi [41]

Karaciğer splanknik kan akımının merkezindedir ve ayrılmaz bir şekilde bağlıdır. Splanknik vaskülaritede meydana gelen herhangi bir değişiklik hepatic kan akımını etkiler [42].

Hepatik arterdeki kanın O_2 satürasyonu normal insanda %96–98 civarında olmasına rağmen, debisinin portal vene göre düşük olması sebebi ile karaciğer oksijenasyonundaki payı portal vene göre daha düşüktür. Bu nedenle karaciğer oksijenasyonunun %60-70'inden portal ven, %30-40'ından ise hepatic arter sorumludur [42,43].



Şekil 2.4. Splanchnik sirkülasyon [44]

Portal ven valf içermediği için düşük basınçta yüksek kanlanma sağlar. Ek olarak bu özelliği nedeniyle portal sistemin herhangi bir yerinden basınç ölçümü yapıldığında portal basınç ölçülmüş olacaktır. Portal ven 6-8 cm uzunluğunda ve yaklaşık 1 cm çapındadır. Karaciğere girmeden hemen önce sağ ve sol portal dalları verir ve daha distalde segmenter anatomiye uygun olarak dallanır [45].

Karaciğerde ayrıca inferior frenik arterden ve gastroduedonal arterden de arteriyel beslenme olmaktadır. Hepatik arter, çölyak trunkustan ayrıldıktan sonra superior gastroduedonal ve sol gastrik dallarını verir ve arteria hepatica propria adını alır. Bu arterde karaciğere girmeden önce sağ ve sol hepatic arter dallarını verir [46].

Hepatik arter sağ ve sol dallarını verdikten sonra bağlansa bile interlober ve intersegmenter kollateraller sayesinde kanlanma yeterli seviyede kalmaya devam edebilir. Ancak bu kollaterallerin her zaman olmayabileceği de akıldan çıkarılmamalıdır [46].

Hepatik fonksiyonel ünitenin dolaşımında ise ana yollar portal triadlardaki hepatik arter ve portal venin dallarıdır. Glisson kapsülünün hemen altında sinüzoidlere dal verirler. Portal ven basıncı yaklaşık olarak 6–10 mmHg, sinüzoidlerdeki basınç ise 2–4 mm Hg'dır. Bu nedenle karaciğerde kan akımı, basınç farkına göre portal venden sinüzoidlere doğru devam etmektedir [44].

2.3. İskemi / Reperfüzyon Hasarı

Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumu reperfüzyon şeklinde tanımlanır. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar [1].

Doku ve hücre zararına yol açan kan akımının azalması ya da kesilmesi en çok oksijene hassas dokuları etkiler. Bu aerobik hücreler enerji kaynağı olarak mitokondrial oksidatif fosforilasyonu kullanırlar. Dolayısıyla aerobik metabolizmaya sahip tüm doku ve organlar I/R hasarı için potansiyel hedeftir [47].

İskemi sonucu hipoksi oluşmakta, oluşan hipoksi ise aerobik oksidatif solunumu etkileyerek, son derece önemli ve genel bir hücre zedelenmesi ve ölüm nedeni olmaktadır [14]. İskemide hasarın şiddeti, hipoksinin süresi ve derinliğine bağlıdır [48].

İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenozin5'trifosfat (ATP) ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır [2]. ATP azalması hücre içinde birçok sistemi etkiler. Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında

bulunan Na⁺-K⁺ ATPaz pompasının aktivitesi azalır. Buna bağlı olarak hücre içinde Na⁺ ve Ca⁺² birikirken, K⁺ azalır. Solid materyalin artışı, suyun izoosmotik artışıyla birlikte akut hücrel şişmeye neden olur [49,50].

Hücre içinde Ca⁺² iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir [51]. Ca⁺² seviyesindeki bu artış sitoplazmik proteazlar ve nükleazların salınımını aktive etmektedir. Bunlar yapısal proteinlerin ve DNA'nın hasar görmesinden sorumlu olan enzimlerdir. Kalsiyumun aktive ettiği fosfolipazlar, membran lipidlerini araşidonik asit ve diğer çeşitli vazoaktif metabolitlere dönüştürecektir. Ca⁺² ile endotelial ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza dönüşür ki bu enzim reperfüzyon esnasında serbest radikal üretiminde rol alan önemli bir ajandır. Sonuç olarak, intraselüler Ca⁺² konsantrasyonundaki yükselme, aspartat ve glutamat miktarının artmasına neden olur [48].

Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücrel yapılar, zar lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir [52].

Reperfüzyon hasarının oluşmasında iki mekanizma söz konusudur. Bunlardan ilki serbest oksijen radikallerinin açığa çıkması, diğeri ise hidrolitik bir enzim olan fosfolipaz A2' nin iskemik dönemde kalsiyum etkisiyle aktive olarak membranlardaki yağ asitlerini parçalamasıdır [53]. Polimorf nüveli lökosit (PMNL)'ler myeloperoksidaz (MPO) enzimi ve intestinal mukoza hücrelerindeki ksantin oksidaz (XO) enzimi etkisiyle serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar [54]. Fosfolipaz A2 hücre membranındaki yağ asitlerini fosfolipidlerden ayıran hidrolitik bir enzimdir. Fosfolipaz A2' nin etkisiyle lesitinden lizolesitin, sefalinden lizosefalin, fosfatidilkolinden lizofosfatidilkolin meydana gelir.

Fosfolipaz A2 ayrıca prostaglandinlerin ve lökotrienlerin üretimini de uyarır. Lizolesitin çok sitotoksik bir maddedir. Ayrıca lizofosfatidilkolin normalde iskemiden sonra görülen intestinal permeabiliteyi oldukça şiddetlendirir [54-56].

2.4. Serbest Radikaller

Serbest radikal, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküldür. Genelde elektronlar, atom veya molekülde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Ancak, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı onu reaktif hale getirir [57].

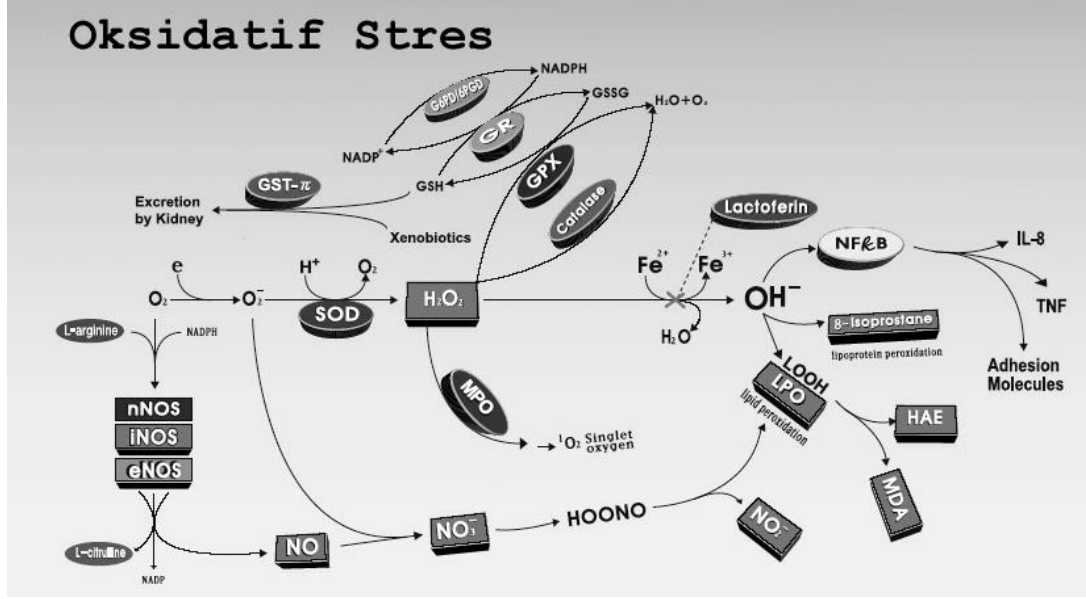
Serbest radikallerin hücre içerisinde oluşma şekilleri, radyant enerjinin absorpsiyonu ile normal fizyolojik olaylar sırasında oluşan redüksiyon-oksidasyon reaksiyonları ile eksojen kimyasal maddelerin enzimatik metabolizmaları iledir. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler.

Serbest radikaller aracılığı ile gelişen hücre zedelenmesinde özellikle üç reaksiyon ilgilidir;

- 1-Membranların lipit peroksidasyonu
- 2-Deoksiribonükleik asit lezyonları
- 3-Proteinlerin çapraz bağlanması [58].

Radikaller bazen diğer radikallerle etkileşerek stabil moleküller meydana getirirken, radikal olmayan bileşiklerle yeni radikaller meydana getirebilirler. Yeni radikaller, daha toksik olabilir veya başka toksik radikal reaksiyonunu başlatabilirler [59, 60].

Oksidatif stres sonucu oluşan çeşitli serbest radikaller ve singlet oksijen ile hidrojen peroksit gibi radikal olmayan ara ürünlere genel olarak reaktif oksijen türleri (ROT) denir [61]. Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde. Bu dengenin serbest radikallerin artması yönünde bozulması 'Oksidatif stres' olarak adlandırılan duruma neden olur [62, 63].



Şekil 2.5. Oksidatif stres

İskemi sırasında dokuda aşırı miktarda hipoksantin birikir. Normal koşullarda hipoksantin, nikotinamid adenindinükleotid varlığında ksantin dehidrogenaz (XD) enzimi aracılığı ile ürik aside çevrilir. Bu tepkimede nikotinamid adenindinükleotid okside formu elektron alıcısıdır. İskemi sırasında hücrel enerji bozulduğu için hücrenin Ca^{+2} dağılımını dengeleme yeteneği de bozular. Hücre içi Ca^{+2} birikimi olur. Bu olay XD, ksantin oksidaz (XO) formuna dönüşmesine neden olur [64].

İskemi sonrasında damar endotelinin hasar görmesi ile nötrofil ve trombosit aktivasyonu meydana gelmektedir. Bunun yanısıra iskemik alanda ortaya çıkan kemotaktik faktörlerden kompleman 3a (C3a) ve kompleman 5a (C5a) nötrofillerin bölgeye göç etmesine neden olur. I/R alanına gelen nötrofiller, bu bölgede SOR üretirler. Ortaya çıkan SOR antiproteazları inaktive eder. Sonuçta, lizozomlardan proteolitik enzimler salınarak membran hasarı oluşur. Ayrıca nötrofiller de uyarılmaları sonucunda esnek yapılarını kaybederek mikrosirkülasyonda kalır ve embolizasyona neden olurlar [65].

Reperfüzyon sırasında aniden ve çok miktarda O_2 sisteme katılır. Hipoksantin, XO katalizörlüğü altında ürik aside dönüşür. Elektronlar moleküler O_2 aktarılır, böylece O_2 süperoksit radikaline (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2)'e dönüşmektedir. Ayrıca süperoksit anyon radikali endotel hücrelerinde H_2O_2 , hidroksil radikali (OH^*) ve hipoklorit asit ($HOCL$) gibi diğer O_2 metabolitlerinin açığa çıkmasına neden olur [66].

Reperfüzyon sırasında, hücre içine Ca^{+2} akışının artması ya da endojen fosfolipaz A2 inhibitörlerinin inaktivasyonu, fosfolipaz A2 aktivasyonuna neden olur. Fosfolipaz A2, membrandaki fosfolipitlerden yağ asitlerini ayırarak, lesitinden lisesitin, sefalinden lizosefalin ve fosfatidilkolinden lizofosfatidilkolin oluşturan hidrolitik bir enzimdir. Bu ürünlerin çoğu iskemi ile hasarlanmış doku için toksiktir, özellikle lizofosfatidilkolin konsantrasyonu reperfüzyon sonrası fosfolipaz aktivasyonundaki artışla paralellik gösterir, yüksek konsantrasyonlarda oldukça sitotoksiktir ve iskemi sonrası oluşan aşırı geçirgenliği artırır [67].

2.4.1. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu

Reperfüzyon ile birlikte, I/R hasarı gelişiminde önemli rol oynayan süperoksit anyonu (O_2^-), hipoklorik asit (HOCl) ve H_2O_2 gibi ROT'lar oluşur. En genel ROT kaynağı mitokondridir. Mitokondriyal elektron transport sıkıca düzenlenmiştir ancak bazı kaçaklar her zaman meydana gelmektedir. Bu kaçaklar ROT oluşumuna yol açar [68]. Solunan oksijenin % 95'inden fazlası mitokondrilerde ATP şeklinde enerji oluşumunda kullanılırken, yaklaşık %5 'i de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içeren ve bu özellikleri nedeniyle de toksik serbest radikallere dönüşmektedir [69]. Organizmada serbest radikal ve ROT'ların oluşmasına yol açan endojen ve ekzojen kaynaklar bulunmaktadır [61].

Endojen kaynaklar:

- 1- Mitokondriyal ve endoplazmik retikulum elektron transport zinciri
- 2- Nötrofil fagositoz sistemi
- 3- Ksantin oksidaz sistemi
- 4- Araşidonik asit metabolizması
- 5- Enzimatik olmayan reaksiyonlar
- 6- Lenfosit, fibroblast ve endotelden düzenleyici moleküller olarak salgılanma
- 7- Diğer oksidazlar

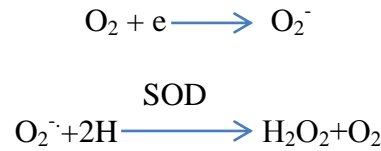
Ekzojen kaynaklar:

- 1- İyonizan radyasyon (X-ışını)
- 2- Hepatotoksinler (Karbon tetraklorür)
- 3- Ksenobiyotikler
- 4- Redoks siklusu yapan maddeler

- 5- Kemoterapötikler (Adriamisin)
6- Hava kirliliği, UV ışınları, sigara

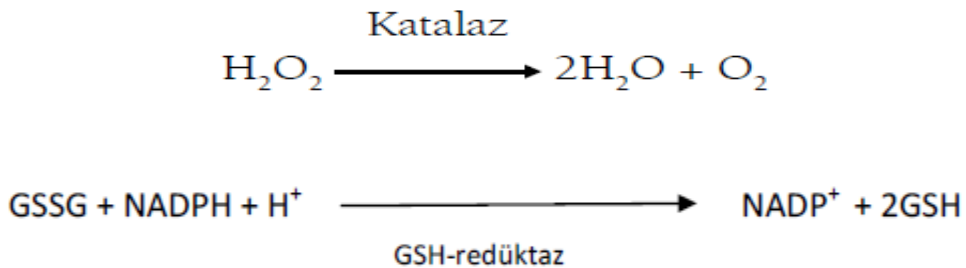
Süperoksit radikali (O_2^-)

Hücrel metabolizma akışında şekillenen en bol serbest oksijen radikalleri O_2^- radikallerdir. Bu radikal, çoğunlukla endoplazmik retikulum ve mitokondiride elektron aktarımı sırasında üretilir. Fakat bu radikal aynı zamanda çeşitli enzimatik reaksiyonlarda yan üründür [70]. O_2^- radikali, oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur. Spontan ya da enzimatik süperoksit dismütasyonla(SOD) bu radikalden ikinci bir ara ürün olan H_2O_2 oluşur [71]. H_2O_2 eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir [72].



Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Moleküler O_2 'nin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek H_2O_2 i meydana getirir. H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Katalaz enzimi(CAT) ile H_2O_2 ve O_2 ye yıkılır [73]. H_2O_2 , CAT ve GSHPx tarafından toksik olmayan ürünlere çevrilir [74].

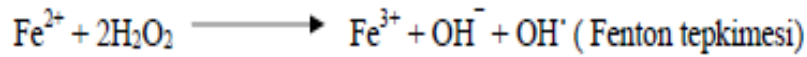




H_2O_2 bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif O_2 türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest radikal olan OH^\cdot radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Buna Haber-Weiss tepkimesi adı verilir. Haber-Weiss tepkimesi, ya katalizör varlığında ya da katalizörsüz olarak gerçekleşir. Katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler.



Demirle katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu tepkimede önce ferri demir (Fe^{3+}) süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{2+}) indirgenir. Sonra ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile H_2O_2 'den OH^\cdot radikalleri üretilir. Süperoksit, hem H_2O_2 kaynağı hem de geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir. İndirgenmiş geçiş metalleri (demir ve bakır) okside şekillerine göre H_2O_2 ile birlikte daha reaktiftirler [73].



Hidroksil radikali (OH^\cdot)

Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucu OH^\cdot radikali oluşur [75]. OH^\cdot radikali reaktif oksijen partiküllerinin en güçlüsüdür ve yarılanma ömrü çok kısadır. Ayrıca OH^\cdot radikali H_2O_2 'nin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu) meydana gelir [57].



Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

Ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının

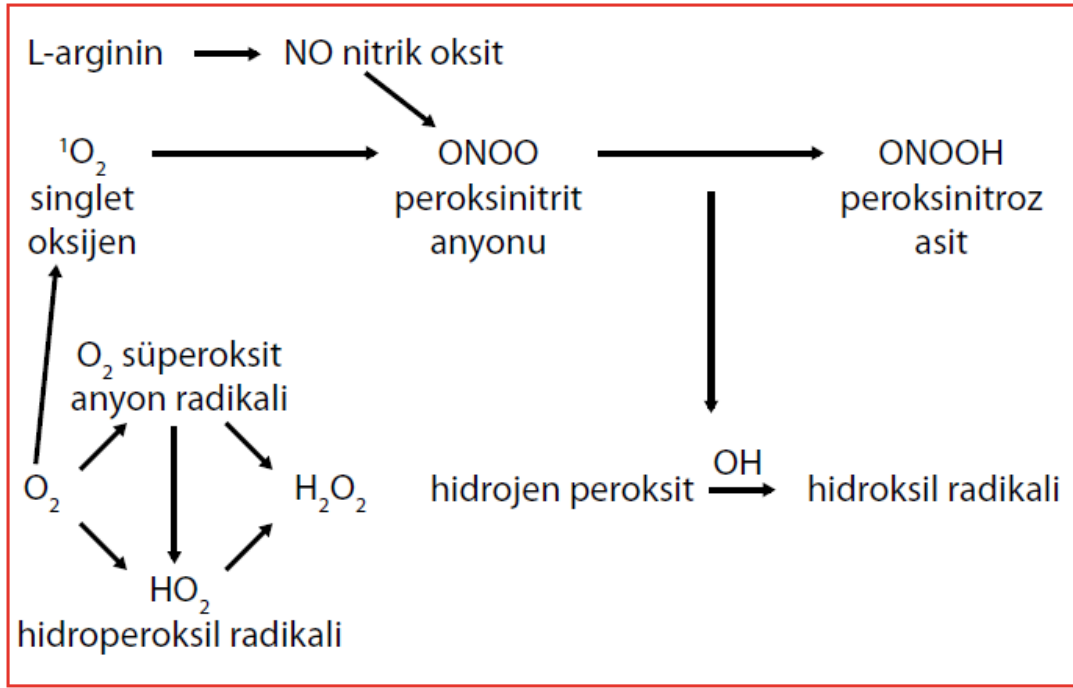
başlamasına da sebep olur Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileşime girdiğinde içerdiği enerjiyi ya transfer eder, ya da bağlı tepkimelere girer [58].

Nitrik oksit (NO)

Serbest nitrojen radikallerinden organizma için en önemlileri nitrik oksit (NO) ve peroksinitritdir (ONOO⁻). NO, karaciğerde önemli sinyal molekül işlevi gören pluripotent gaz formunda bir serbest radikaldir. Bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır. NO lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir ve suda çözünür. Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir birçok dokuda fizyolojik süreçlerin kontrolünde yer alan önemli bir sinyal molekülüdür. Nörotransmisyon, immün direnç, apoptozis kontrolü gibi birçok süreçte rol alır. Biyolojik etkilerini hem grupları, sülfidril grupları, demir ve çinko gibi hedef moleküllerde gösterir. NO endotel hücresi, sinir hücresi, makrofaj, trombosit, düz kas hücresi ve birçok hücrede L-Argininden nitrik oksit sentetazlar (NOS) olarak adlandırılan bir dizi enzim tarafından sentezlenir [77].

Karaciğerde NOS'un 3 izoformu bulunmaktadır. Bunların içinde uyarılabilen inflamatuvar NOS (iNOS, NOS-2) ve endotelyal yapısal NOS (eNOS, NOS-3) en önemli olanlarıdır. iNOS, genellikle inflamatuvar mediatörlere yanıt olarak, hepatositler ve Kupffer hücreleri ve nötrofiller gibi inflamatuvar hücrelerden eksprese edilir. eNOS, aktivitesi intrasellüler Ca⁺² seviyelerine bağlıdır [78].

Endotelden sentezlenen NO, vasküler düz kas hücrelerinde guanilat siklazı uyararak siklik guanosin monofosfat (cGMP) oluşturur. Böylece vasküler düz kasın gevşemesini sağlar[79].



Şekil 2.6. Moleküler oksijenden serbest radikal oluşumu ve nitrik oksit ilişkisi ile peroksinitrit oluşumu [69]

iNOS ile NO aşırı üretiminin sepsisteki sistemik vazodilatasyondan sorumlu major mekanizma olduğu düşünülmektedir. Endotelde, vasküler kas hücresinde, makrofajda, mezansimal hücrede iNOS aktivitesi saptanmıştır. iNOS; Endotoksin, Tümör Nekrozitan Faktör, İnterlökin-1 ile uyarılır. Ayrıca aktive nötrofillerin kendileri de bir NO kaynağıdır. Lokal NO üretimi renal kan akımı düzenlenmesinde önemli bir medyatördür. Preglomerüler vasküler direnci, efferent arteriöl tonusu ve mikrovasküler akımı düzenler. Nötrofil-endotel hücre ilişkilerini bloke ederek trombosit agregasyonunu ve oksidan salınımını engeller. Hayvan modellerinde NO inhibisyonunun proteinüride artışa, böbrek glomerüler süzme hızında azalmaya ve glomerüler tromboza sebep olduğu gösterilmiştir [80].

NO insanlarda damar endotelinden bazal durumlarda sürekli salınarak oluşan vazodilatör etki sonucunda damar rezistansının düzenlenmesine katkıda bulunur. İlâveten endotele lökosit adezyonunun sınırlandırılmasında trombosit aktivasyonunun önlenmesinde, miyokard kontraktilitesinin regülasyonunda, ağrı, görme, koklama ve açlık duygusunu algılamada da önemli rolü vardır. Penil ereksiyonundan pankreasta beta hücrelerinden insülin salgılanmasına, uterusun kasılma ve gevşemesine kadar organ sistemleriyle ilgili

pek çok etkilerine ilaveten, immün sistemde de önemli fonksiyonların gerçekleşmesine katkıda bulunmaktadır [81,82].

Peroksinitrit (ONOO)⁻

Peroksinitrit (ONOO)⁻ ise NO ve O₂⁻ tepkimesi sonucu meydana gelir. NO'nin toksik etkileri peroksinitrit üretimi ile bağlantılıdır. Peroksinitrit birden fazla yolla hücre hasarına neden olabilir. Bunlar; hücrede lipid peroksidasyonunun başlaması, doğrudan mitokondriyal solunum zinciri enzimlerinin inhibisyonu ve membran Na / K ATPaz aktivitesi inhibisyonudur [83,84].

Peroksinitrit, direkt olarak proteinleri hasara uğratar ve OH[•], azot dioksit (NO₂[•]) ve nitronyum iyonu (NO₂⁺) gibi toksik ürünlere dönüşür [85]

Hiperklorit

Hiperklorit, myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ile H₂O₂ oluşmaktadır. Hiperklorit çoğunlukla nötrofiller tarafından oluşturulmakla birlikte, tiyollerin, lipidlerin, askorbatın ve Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH)'ın oksidasyonu sonucu çeşitli sekonder ürünlerin oluşumu ile birçok biyomoleküle hasar vermektedir. Ayrıca asidik formda, bu oksidan hücre zarından geçebilmekte ve de proteinlerin birçok reaksiyonla fragmantasyonuna ve de agregasyonuna neden olmaktadır [61].

2.4.2. Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok hasara neden olmaktadır. Bu hasarlar şöyle sıralanabilir:

- a) DNA' nın tahrip olması
- b) Nükleotit yapıları koenzimlerin yıkımı
- c) Lipid peroksidasyonu sonucu membran yapısı ve fonksiyonun değişmesi
- d) Enzim aktivelerinde ve lipit metabolizmalarındaki değişiklikler
- e) Protein ve lipitlerle kovalen bağlar oluşturulması
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması
- g) Seroid ve yaş pigmenti denen bazı maddelerin birikimi

- h) Proteinlerin tahrip olması ve protein turnover'nin artması
- i) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi
- j) Kollagen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerde aterosklerotik değişikliklerin oluşması
- k) Mukopolisakkaritlerin yıkımı [86].

Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri

Biyolojik sistemlerin esas bileşenleri olan proteinlerin mitoz, transport sistemleri, şaperon aktivitesi ve sinyal transdüksiyon gibi çeşitli hücresel fonksiyonlarda görev almaları nedeniyle organizma için oksidatif hasara uğramaları çok önemlidir [87]. Serbest radikaller aminoasitlerin modifikasyonunda, proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarında ve fragmentasyonunda yapısal değişikliklere neden olurlar. Buna en çok sülfür içeren aminoasitler sebep olur. Serbest radikallerin çift bağ ve tiyol içeren moleküllerle reaktivitesinin yüksek olmasından dolayı; triptofan, trozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein aminoasitleri serbest radikal hasarına duyarlıdır. Serbest radikallerin modifikasyonuna duyarlı olan membran proteinleri oksidasyonla hücresel ve membran fonksiyonlarında önemli bozulmalar olmaktadır [88].

Prolin, lizin gibi amino asitler ve protein yapısını oluşturan peptid bağları, indirgenmiş oksijen türevlerinden etkilenebilir; örneğin O_2^- radikali, OH^- radikali, H_2O_2 açığa çıkarıcı reaksiyon ortamında prolin ve lizin hidrosilasyonu non-enzimatik olarak oluşabilir [89].

Serbest radikallerin etkileri neticesinde, Ig G ve albümin gibi proteinlerin yapıları bozulur, fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hemoglobin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görür. Özellikle oksihemoglobinin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur.

Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri

Isı, görünür ışık, X ışınları ve ultraviyole gibi her türlü radyasyon hücrelerde iyonların, enerji kazanmış moleküllerin ve serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Oksijen radikallerinin etkilerini gösterdiği bölgeler içinde purin ve pirimidin bazlarının yer aldığı

DNA'nın temel yapı taşı olan nükleotidlerdir. Özellikle bu radikaller aracılığı ile guanin bazının hidrosilasyonuna bağlı olarak DNA molekülünün yapısı değişerek mutasyonlar görülmektedir [14].

SOR DNA'da timin bazı ile etkileşerek tek zincir kırılmalarına neden olur. Hücrede enerji kaybı olur ve nekroz şeklinde ölüm gerçekleşir [90,91].

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksisite, büyük oranda, nükleik asid baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır [89].

Serbest radikallerin membran lipidleri üzerine etkileri

Hücre membranları, SOR hasarına karşı çok duyarlıdır ve radikal kaynaklı hasarların sık görülen hedefleri olduğu tespit edilmiştir. Membrandaki çoklu doymamış yağ asitlerinin çoğunluğu iki çift bağ arasındaki bir metilen grubu içerir, oksidasyon ile yağ asitleri daha hassas hale gelir. Yağ asitlerinin oluşturduğu bu oksidasyon sonucunda membran lipid yapısı değişir ve hücrenin yapı ve fonksiyonu bozulur [92].

Organizmada meydana gelen güçlü bir radikalın etkisiyle, bir hidrojen atomunun membran yapısındaki konjuge olmayan yağ asidi zincirinde bulunan metil gruplarından uzaklaşması ile lipid peroksidasyonu başlar. Yağ asidi zinciri bu olayla radikalleşir. Meydana gelen lipid radikali (L) dayanıksızdır. Lipit peroksit radikali (LOO•) moleküler oksijen ile lipid radikalının reaksiyona girmesi sonucu oluşur. Yeni lipid radikalleri de membrandaki çok doymamış diğer yağ asitlerinin lipid peroksit radikali tarafından etkilenmeleriyle oluşmaktadır. Açığa çıkan H₂ atomlarını alan LOO• de Lipit Hidroperoksitlere dönüşmektedir. Fenton tipi bir reaksiyonla lipid hidroperoksitlerden aldehit ve alkanlar oluşur. Daha fazla radikali yıkan hidroperoksitler lipid peroksit, pentan ve etan gibi uçucu gazları oluştururlar. En toksik ürünleri de aldehitlerdir [93].

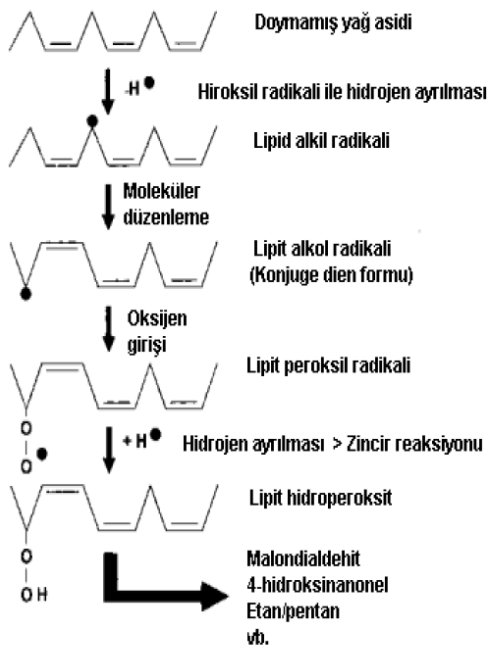
Hidroperoksitler devam eden tepkimeler sonucunda ve bunların parçalanması ile radikal özelliği daha şiddetli olan türlere özellikle de daha kararlı olan malondialdehite (MDA) dönüşürler. MDA seviyesinin dokuda artması serbest radikallerin de o dokuda arttığını

gösterir. MDA oluştuğu ortamdan hücrenin dış kısmına ya da iç kısmına diffüze olarak hasar oluşturabilir [94].

Bunun yanı sıra membran fonksiyonlarının yavaşlamasına, membran akıcılığının azalmasına, membran geçirgenliğinin artmasına ve membran enzim ve reseptörlerinin inaktive olmasına, esansiyel yağ asitlerinin kaybolmasına neden olur. Dokularda MDA seviyesinin artmasının akciğer kanseri, akciğer hastalıklarına, koroner arter hastalığına, iltihaplanmalara ve DNA'ya bağlanarak mutasyonlara yol açtığı bildirilmektedir [95].

Lipid radikallerin hidrofobik yapıları nedeni ile reaksiyonların büyük çoğunluğu membrana bağlı moleküller ile meydana gelecektir. Membran yağ asitlerinin peroksidasyonundan sonra ortamda kısa zincirli yağ asitlerinin varlığı membran permeabilitesini ve mikroviskoziteyi ciddi boyutlarda etkileyebilir.

Lipid peroksidasyon ürünlerinden MDA, membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açarak esneklik, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyi determinantlarının agregasyon durumu gibi intrinsek membran özelliklerine sahip olduğu için DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir. Bu özellikleri ile MDA, mutajenik, kültür hücreleri için genotoksik ve karsinojeniktir [89].



Şekil 2.7. Lipid peroksidasyonu

Serbest radikallerin sitozolik moleküller üzerine etkileri

Sitozol proteinleri, sitoplazmik serbest radikaller etkisiyle değişime uğrarlar. Hemoproteinler, örneğin oksihemoglobin, O_2^- radikallerinin ya da H_2O_2 demirle reaksiyonu sonucu methemoglobine dönüşür.

Hemoproteinlerin geniş bir spektrumu, oksijen türevi serbest radikaller tarafından harap edilebilir. Bir diğer önemli hemoprotein olan katalaz, O_2^- radikali tarafından inhibe edilir. O_2^- radikali, katalazı inaktif şekilleri olan ferroksi (Compound III) ve ferril (Compound II) formlarına dönüştürür. Superoksitin dismutasyon ürünü olan H_2O_2 , CuZn-SOD enzimini, Cu^{+2} 'i Cu^{+} 'e indirgeyerek inhibe edebilir [89,96].

2.5. Antioksidanlar

Organizmanın antioksidan savunma sisteminin dengede olması sağlıklı bir yaşam için çok önemlidir. SOR'ların oluşturduğu hasarı önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere görev yapan endojen veya eksojen kaynaklı enzim veya enzim olmayan ajanlara antioksidan madde denir [97]. Organizmayı koruyan antioksidan savunma sistemi dört yolla etki göstermektedir:

- I. Süpürücü Etki: Serbest oksijen radikallerini etkiledikten sonra onları tutup, yok ederler. Küçük moleküller ve antioksidan enzimler bu yolla etki gösterirler [69,98].
- II. İnaktif şekle dönüştürücü etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileştikten sonra bir hidrojen aktararak onların aktivitelerini azaltırlar ve inaktif şekle dönüştürürler. Flavanoidler ve vitaminler bu tarz bir etkiye sahiptirler [99].
- III. Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini bağladıktan sonra zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki gösterirler. Hemoglobin, mineraller ve seruloplazmin bu şekilde etki gösterirler [100].
- IV. Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılmasıyla etkilerini gösterirler [101].

Antioksidanlar endojen ve eksojen antioksidanlar olarak iki gruba ayrılırlar:

✓ Endojen Antioksidanlar

Enzim olan endojen antioksidanlar: SOD, GSHPx, Glutasyon S-Transferaz (GST), CAT, Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, Hidroperoksidaz [102].

Enzim olmayan endojen antioksidanlar: Melatonin, Seruloplazmin, Transferin, Miyoglobin, Hemoglobin, Ferritin, Bilirubin, GSH, Sistein, Metiyonin, Ürat, Laktoferrin, Albümin [103].

✓ Eksojen Antioksidanlar

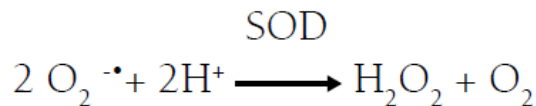
Vitamin eksojen antioksidanlar: a-tokoferol (vitamin E), β-karoten, Askorbik asit (vitamin C), Folik asit (folat).

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar: Ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, rekombinant SOD, trolox-C (vitamin E analogu), endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein, desferroksamin, nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbitüratlar, demir şelatörleri [75].

2.5.1. Antioksidan enzimler

Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD, oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur, SOD, $O_2^{\cdot-}$ radikalinin H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir [104].



Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimi ile gerçekleşir. SOD, $O_2^{\cdot-}$ radikalini metabolize eder ve daha zararlı olan OH^{\cdot} radikalinin oluşumunu engeller [105].

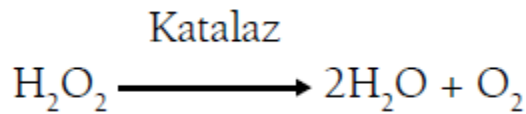
SOD enzimi metalloprotein yapısındadır. Hücrelerde farklı şekillerde bulunmaktadır. İnsanlarda SOD enzimi: Sitozolik Cu/Zn-SOD; mitokondrial Mn-SOD; plazma, lenf ve sinovyal sıvılarda bulunan ekstrasellüler SOD olmak üzere 3 formda bulunur [106].

SOD, O_2^{\cdot} molekülleri ile spontan olarak dismutasyona uğrayabilir. Sulu ortamda kendiliğinden ve hızlı bir şekilde dismutasyona uğrayarak O_2 ve H_2O_2 oluşturur. SOD varlığı dismutasyon hızını 10^4 kat artırır. Böylece O_2^{\cdot} radikalinin potansiyel substratla reaksiyona girmesi ve OH^{\cdot} radikali gibi daha toksik ürünlerin oluşması SOD tarafından önlenmiş olur. Organizmada oksidatif stresin ve dokuda pO_2 'nin arttığı durumlarda SOD enzim aktivitesi artmaktadır.

H_2O_2 , Fenton reaksiyonu veya Haber-Weiss reaksiyonları ile çok daha reaktif olan OH^{\cdot} radikali oluşturabilir. Oluşan H_2O_2 'e karşı ikinci savunma CAT ve GPx enzimleriyle sağlanır [107].

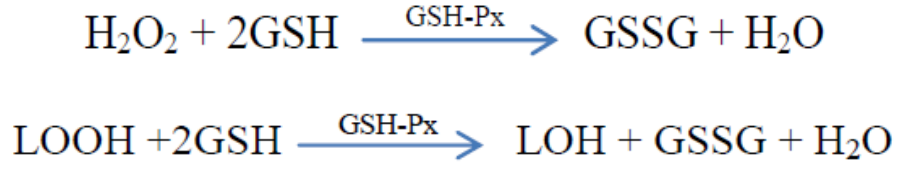
Katalaz (CAT)

CAT; her biri bir prostetik grup olan ve yapısında Fe^{+3} bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir [108]. CAT vücutta doğal olarak oluşmaktadır. SOD ile kombine şekilde etkimektedir. Esas olarak peroksizomlarda bulunur. Az olarak da sitozolde ve mikrozomal yapıda bulunur. H_2O_2 parçalayarak su ve oksijen oluşturur. Böylelikle OH^{\cdot} serbest radikali oluşumunu önlenmiş olur [70].



Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutasyon redüktaz (GSH-R)

GSH sistemi, oksidatif hasarın azaltılmasında rol oynayan, serbest radikallerin hücre içinde detoksifikasyonuna neden olan ve lipid peroksidasyonunu önleyen en önemli endojen mekanizmalardandır [109]. GSH-Px; H_2O_2 'yi suya, lipid hidroperoksitleri(LOOH) alkol ve suya dönüştürür [110].

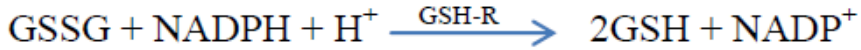


GPx'in antioksidan aktivitesini göstermesi, hücre içinde yeterli konsantrasyonda GSH-R, GSH ve nikotinamid adenin dinükleotid bulunmasına bağlıdır [109].

GSH-Px sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. GSH-Px, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Ayrıca Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) adı verilen bir enzim monomerik yapıdadır ve esas olarak membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirger.

Fosfolipid hidroperoksit GSH-Px membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E yetersiz olduğunda membranı peroksidasyona karşı korur. GSH-Px'in fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler [75].

GSH-R, bir flavin enzimdir, hem sitozolde hemde mitokondride bulunur, koenzimi NADPH ve prostetik grubu FAD'dır. GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşümünü katalize eder [75].



Glutasyon s-transferaz (GST)

GST, hücresel detoksifikasyon ve transporttan sorumlu iki protein alt birimden oluşan multifonksiyonel protein ailesidir. Genel olarak üç sitozolik ve bir de mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılır. GST ailesi hepatositlerdeki başlıca detoksifiye edici sistemdir. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksitlere karşı GST'ler, selenyumdan bağımsız GSH-Px aktivitesi gösterirler [111].

GST'lar, glutatyonun reaktif metabolitlerle konjugasyonunu sağlayarak organizmadan uzaklaşmasını sağlamaktadır [112].

Peroksiredoksin (Prx)

Peroksiredoksinler (Prx; tiyoredoksin peroksidazlar), H₂O₂ ve farklı alkil hidroperoksitler gibi peroksitlerin doğrudan indirgenmesini sağlayan enzimlerdir [95].

Tiyoredoksin sistem (Trx)

Tiyoredoksin sistem oksidoredüktaz enzim aktivitesi gösteren tiyoredoksin (Trx) ile tiyoredoksin redüktazı (TrxR) içeren iki antioksidan enzim sistemi içerir. TrxR NADPH kullanarak tiyoredoksinin disülfid aktif bölgesini ve pek çok substratı redükler. Trx'in insanda immun sistem düzenlenmesiyle ilişkili olduğu ve farklı genler tarafından kodlanan üç farklı varyantı gösterilmiştir. TrxR izoenzimleri, her subünitesinde bir flavin adenin dinukleotid (FAD) bulunduran NADPH bağlı oksido redüktazlardır [114].

GSH sisteminin aksine Trx sistemi hücrede çok daha düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Trx ve GSH'nun hücrenin korunmasındaki rolleri birbirinden farklıdır. GSH özellikle düşük redoks potansiyelinin ve serbest tiol seviyelerinin yükseltilmesinden; Trx ise sinyal iletimi ve gen regülasyonunda rol oynayan tiyollerin redoks regülasyonundan sorumludur [115].

TRX ve TRX mRNA' sının uyarılması, I/R durumunda sadece iskemi durumuna göre daha kuvvetlidir. TRX invitro ve invivo olarak sellüler nükleusda transkripsiyon faktörlerini düzenlemede önemlidir [116]. Trx' in serum plazma düzeyleri enfeksiyon, iskemi reperfüzyon ve diğer oksidatif streslerde yükselir ve oksidatif stresi takip etmede iyi bir göstergedir [117].

TrxR/Trx sistemi, DNA sentezi ve hücre çoğalması için gerekli olan deoksiribonükleotidlerin yapımında kritik bir rol oynar. Trx, nükleotid difosfatların deoksiribonükleotidlere dönüşümünü katalizleyen bir enzim olan ribonükleotid redüktazın, ribozu indirgemesi için gerekli olan elektronları sağlar [118]. Trx, SOR artışına bağlı apoptozise karşı hücreleri korumaktadır. Glutaredoksin ve glutatyon gibi tiyoredoksin

sistemde, oksidatif stresle inaktive olmuş proteinleri, yenileme yeteneğindedir. Dehidroaskorbati askorbata çevirebilir [119].

2.5.2. Zincir kıran antioksidanlar

Glutasyon (GSH)

GSH, yaşayan hücrelerdeki başlıca serbest tiyoldür ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, iyonize edici radyasyon etkilerine karşı koruma, hidroperoksitlerin uzaklaştırılması, proteinlerin sülfidril gruplarının düzenlenmesi ve disülfid değişimiyle enzim aktivitesinin değiştirilmesi gibi çok sayıda biyolojik işleme katılır. Hücrelerde GSH'ın oksidasyonu GGSG oluşumuyla sonuçlanır ve GSSG redüktaz tarafından NADPH/NADP+ sistemiyle bağlantılı olarak tekrardan redükte hale dönüştürülebilir [120].

Organizmada temel olarak; peroksidaz aracılı peroksitlerin katabolize edilmesi, hücresel tiyol ve redoks potansiyelinin düzenlenmesi, Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH; yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar ayrıca eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada GSH hayati öneme sahiptir [121-123].

C vitamini (Askorbik Asit)

Vitamin C organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar ayrıca kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Tirozinden epinefrin sentezinin dopamin β -hidroksilaz basamağında görev alır. Tirozin yıkılımında p- hidroksi fenil pirüvatın homogenizata oksidasyonunda rol alır. Safra asitlerinin sentezindeki 7- α -hidroksilaz başlangıç basamağında rol alır. Lizinden karnitin sentezinde rol alır. Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici olarak rol oynar, midede ferri demiri ferro demire indirger. İmmünite ve yara iyileşmesinde etkilidir [75].

Vitamin C, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. O_2^- radikali ve OH^- radikali ile reaksiyona girerek onları ortamdaki temizler. Askorbik asit antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonunda H_2O_2 ile etkileşmeye ve sonunda OH^- radikali oluşturmaya uygun ferro demire dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir. Vitamin C'nin fagositoz için de önemli olduğu gösterilmiştir [75].

E vitamini (α -tokoferol)

Vitamin E çok güçlü bir antioksidandır, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur [121]. Yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka bu moleküle antioksidan özellik kazandırır [124]. Vitamin E; O_2^- ve OH^- radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. [121].

Ubikinol

Ubikinonlar (koenzim Q10), mitokondrideki elektron taşıma zincirinin önemli yapıtaşlarıdır. Lipid peroksidasyonunun bağlamasını ve ilerlemesini inhibe ettikleri bulunmuştur [125]. Antioksidan form, ubikinonun indirgenme ürünü olan ubikinol ($CoQ_{10}H_2$)'dür. Doğrudan antioksidan etkilerine ek olarak, α -tokoferol gibi yağda çözünen diğer antioksidanların da rejenerasyonunda iş görmektedirler [126].

Karotenoidler

Karotenoidler (β -karoten, Likopen, Zeaksantin, Lutein, Violaksantin), genelde sarı ve turuncu renkli bileşikler olup bazı bakteriler ve alglerde, çoğu zaman ise bitkilerde bulunan pigmentlerdir. Karotenoidler organizmada, triplet uyarıcıların zararlı etkilerini baskılama, singlet oksijeni baskılama ve bazı oksijen radikallerini temizleme gibi koruyucu etkilere sahiptir. Bununla birlikte karotenoidler, lipid membranlara lokalize olarak membranların oksidatif strese karşı hassasiyetini azaltır [127].

2.6. Böbrek ve İskemi /Reperfüzyon Hasarı

Böbrek iskemisi; kardiyopulmoner bypass, böbrek transplantasyonu, renal arter ameliyatı, kısmi nefrektomi gibi çeşitli ürolojik girişimler ve travma, şok, sepsis gibi klinik durumlarda görülür. Böbrek I/R hasarı multifaktöriyel, birbirine bağlı hipoksi, enflamatuvar cevap ve serbest radikal hasarıyla ilişkilidir [50,128,129]. Bu hasarın şiddeti iskemi stresine paralel olarak artmakta, sonuçta belirgin doku hasarı olmaksızın gelişen prerenal azotemiden, tübüler veya kortikal nekroza bağlı ciddi akut böbrek yetmezliğine (ABY) kadar değişebilen farklı klinik tablolar karşımıza çıkabilmektedir [130].

İskemi sonrasında hücrelerde birçok metabolik ve yapısal değişiklikler oluşmaktadır. Bunlardan bazıları; vasküler endotel hücrelerde, tübüler epitelyum hücrelerde ve böbrek immün sistem hemostazındaki değişikliklerdir. Hücrede oksidatif fosforilasyonu bozarak fosfokreatin ve ATP sentezinde azalmaya yol açmasıdır. Hücre membranında bu durum ATP'ye bağımlı iyonik pompa fonksiyonunun bozulmasına ve hücreye daha fazla Na⁺ ve Ca⁺², ile su girmesine neden olur. Adenin nükleotinin yıkımı da iskemi sırasında artmaktadır. Bu durum ise SOR'un prekürsörü olan hipoksantin hücre içerisinde birikimine neden olmaktadır [131-133].

Ca⁺² iyon konsantrasyonunun hücre içinde artması sitotoksiktir. Hücrede iyon konsantrasyonunun bu dönemde değişimi ile lökosit adezyon moleküllerinin yapımında artış ve antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Reperfüzyon dönemindeki hasara karşı bu durum hücreyi oluşabilecek hasara karşı güçsüz kılar [49].

Reperfüzyon ile dokuya oksijen sağlanması böbrek hücrelerindeki koruyucu antioksidatif kapasiteyi aşan SOR'un oluşmasına sebep olur. Dahası, I/R hasarı kemokinler, sitokinler, sitozin reseptörleri ve adezyon molekülleri içeren çoklu proinflamatuvar genlerin tamamlayıcı aktivasyonunu ve doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin bileşenlerini uyarır [134]. Reperfüzyonun erken döneminde hasar alanlarında masif nötrofil akınları gözlenir. Bu nötrofiller serbest proteaz ve SOR ile I/R'nin patofizyolojisinde çok önemli rolü vardır ve böbrek hasarını arttırırlar. Bu koşullarda tübüler epitel hücreleri nekroz ve apoptozise maruz kalırlar. ATP üretimi iskemi döneminde durmasına rağmen kullanımı devam ettiği için ATP'den adenzin ve adenzin monofosfat (AMP) oluşur. Adenzin hücre dışına hızla difüze olur ve hipoksantine ve inozine parçalanması sonucunda ATP yıkımı ve

dokuda hipoksantin ve ksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine neden olarak XD'ın XO'a dönüşümüne yol açar [135].

Azalmış böbrek kan akımı sonucunda gelişen iskeminin şiddetli ve uzun olması akut tübüler nekroza (ATN) neden olur. Meydana gelen ATN, ABY en sık nedeni ve geriye dönüşümlü böbrek hastalığıdır [136]. İskemiye bağlı olarak gelişen ABY, tübüler nekroz, glomerül filtrasyon hızında azalma ve böbrek vasküler direncin artmasıyla karakterizedir [137]. Glomerüler filtrasyon hızının azalmasındaki en önemli neden vazokonstriksiyon olup, buna endotelden üretilen ET miktarındaki artış ve NO üretimindeki azalma neden olmaktadır [50].

İskemik böbrek hasarında, renal perfüzyonun bozulması sonucu oluşan ve böbrek fonksiyonlarının bozulmasında temel patoloji olan tübüler hasarın yanı sıra, yeniden perfüzyon sağlandıktan sonra üretilen serbest radikaller de önemli bir yere sahiptir. Özellikle proksimal tübül hücrelerinin metabolik açıdan yoğun olmaları, ATN sırasında mitokondriyal hasar ve intrasitoplazmik Ca^{+2} artışı nedeniyle oksidatif moleküller fazla miktarlarda oluşur. Hücre hasarı sırasında oluşan süperoksitten yoğun miktarlarda H_2O_2 oluşur. H_2O_2 normalde su molekülüne çevrilebildiği halde hasarlı hücrelerde OH^{\bullet} radikallerine de dönüşebilir. Oluşan OH^{\bullet} gibi SOR lipid peroksidasyonuna sebep olarak, hücre proteinlerini okside ederek, plazma ve mitokondri membranını bozarak ve DNA'ya hasar vererek hücre zedelenmesine sebep olur [138].

ABY sırasında yüksek mortalite oranı çoğunlukla uzak organ disfonksiyonundan kaynaklanmaktadır. Renal I/R hasarı akciğer, beyin ve karaciğer gibi diğer sistemlerin yetmezliğine de neden olabilir [139].

Böbrek damarlarındaki nötrofillerin aktivasyonu ile hücre zedelenmesi ABY oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Böbrek hasarının gelişiminde iskemiden çok, reperfüzyon hasarının etkileri daha fazladır. Mikrovasküler disfonksiyon, vazoaaktif maddelerin dengesizliği, ROT ile reaktif nitrojen türlerinin artması endotel hücre hasarını artırır [131]. İnflamasyon ile bozulmuş mitokondriyal solunum I/R kaynaklı hasarın altta yatan mekanizmalarıdır. Kompleman proteinler, kemokinler ve adezyon moleküllerinin böbrek I/R hasarının oluşumunda aktif rol aldıkları bilinmektedir. Bu ardışık olaylar sitokin, kemokinler ve adezyon moleküllerini kontrol eden nükleer faktör kappanın β 'nin aktivasyonunda bulunduğu

bilinmektedir. Ayrıca, interlökin (IL)-1, IL-6 ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) gibi proinflatuar sitokinlerin böbreklerdeki üretiminin ve salınımının artmış olduğu görülmüştür [140].

I/R ile böbrekte vasküler endotel hücrelerde, tübüler epitel hücrelerde ve immün sistem homeostazında bozukluklara neden olur. Bunun sonucu ödem ve mikrovasküler geçirgenliğin arttığı bildirilmiştir [131,140]. Akut iskemik hasar, başlıca proksimal tübülde görülür. Proksimal tübül hücreleri, adenozin trifosfat (ATP) sentezini sadece mitokondriyal oksidatif fosforilasyon yolu ile yaptığından iskemik hasara daha duyarlıdır [141].

2.7. Karaciğer ve İskemi /Reperfüzyon Hasarı

I/R hasarı, karaciğerde ilk kez 1975'de Toledo ve arkadaşlarının deneysel olarak gerçekleştirdikleri karaciğer naklinde gözlenmiştir. Transplante edilmiş karaciğerde konjesyon, ilerleyici tromboz, organ yetmezliği ile sonuçlanan greft nekrozu gelişmiştir [142].

Karaciğere gelen kanın %70–80'i portal venden, geri kalan kısmı ise hepatik arterden gelmektedir. Karaciğerin dolaşım sistemindeki yeri, metabolitlerin biriktirilip taşınması, toksik maddelerin nötralize ve elimine edilmesi için oldukça uygundur [143]. İkili kan desteği ve glikojen depolarının yüksek anaerobik metabolizma kapasitesine rağmen karaciğerde hipoksik hasarlanma meydana gelebilmektedir.

Karaciğerde hepatik arter ve portal venin klemplenmesi pringle manevrası olarak adlandırılır. Geniş karaciğer yaralanmalarında, transplantasyonda ve karaciğer rezeksiyonlarında kanama kontrolü sağlamak için uygulanmaktadır. Ancak klempleme süresi uzun tutulduğunda karaciğerde I/R hasarına neden olabilir [144].

Organ kan akımının ve buna bağlı olarak da organa sağlanan oksijen ve besin desteğinin kesilmesi, birçok cerrahi prosedürde karsımıza çıkmaktadır. Karaciğer cerrahisinde, özellikle büyük hepatik tümörlerin çıkartılması, hepatik travmanın cerrahisi, vasküler yapıların düzeltilmesi, transplantasyon ve rezeksiyon cerrahilerinde (pringle manevrası) bu iskemik periyotları oldukça uzundur [145].

Sadece intraoperatif kanama kontrolü için uygulanan pringle manevrası değil, sistemik kan basıncının düşmesi, hipoksi, konjestif kalp yetmezliği, sepsis, kanama, travma ve solunum yetmezliği de karaciğerde I/R hasarına yol açabilir [146,147].

Karaciğer reperfüzyon hasarı, sıcak I/R hasarı ve soğuk-depolama reperfüzyon hasarı olarak sınıflanabilir. Sıcak I/R hasarı klinik olarak karaciğer cerrahisi ile ilişkilidir. Karaciğer nakli, hipovolemik şok, bazı tip toksik karaciğer hasarları, veno-oklüziv hastalıklar, Budd-Chiari Sendromu gibi durumlarda meydana gelir. Soğuk depolama reperfüzyon hasarı ise nakil öncesi organ korunması sırasında oluşmaktadır [148].

Karaciğerde sıcak I/R hasarında; erken faz ve geç faz olmak üzere iki evre söz konusudur. Erken faz; hepatik reperfüzyon ardından iki saatten daha kısa süre içerisinde gözlenen oksidan stresle karakterize olan fazdır. Bu evrede temel patolojik ajan, ortamın tekrar oksijenasyonu sonucu oluşan ROT'lardır. ROT'ların üretimi ve salınımı hepatositlerde hasarlanmaya neden olur. Geç faz: Hepatik reperfüzyondan 6–48 saat sonraki dönemdir. Nötrofillerin, makrofajların, lenfositlerin ve trombositlerin karaciğere göçü ile inflamasyon yanıtı uyarılmakta ve sinuzoidal kan akımında değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Hepatositlerdeki hasar ROT ve ekstrasellüler sitokinler ile meydana gelmektedir [145].

I/R patofizyolojisinde karmaşık mekanizmalar rol oynar. Karaciğer I/R hasarının erken fazında endotelial ve kupffer hücre şişmesi, vazokonstriksiyon, koagülasyon sisteminin aktivasyonu, platelet agregasyonu ve lökosit infiltrasyonu sonucunda mikrosirkülasyonda bir yetersizlik gelişir [37,149].

I/R zedelenmesi genel olarak ele alındığı zaman, süreç iskemik periyotla başlamaktadır. Karaciğer iskemisinde önce karaciğer makrofajları, hepatositler ve endotel hücreler etkilenmektedir. Zaten I/R süreçlerinde üretilen ROT'ların ana kaynağını da bu hücreler oluşturmaktadır. Kupffer ve endotel hücrelerde enerji substratlarında azalma sonucu membran transport bozulmakta ve ödem oluşmaktadır [150].

Hürelere gelen oksijen kesilince oksidatif fosforilasyonun bozulmasıyla ATP miktarı azalmakta, Ca^{++} homeostazı bozulmakta ve hücre içine su, Na^+ ve Ca^{++} girişi artmaktadır. ATP üretimindeki problemlere bağlı olarak hücreler enerji molekülü olarak ATP'nin yanında, adenosin difosfat (ADP) ve hatta adenosin monofosfatları da (AMP) kullanmaya

başlamaktadır. AMP yıkımlarının artışı sonucu hücrede ksantin türevleri, ürik asit düzeyleri artmaktadır. Ksantin oksidaz reaksiyonunun sürekli çalışmasına bağlı olarak da normalden çok fazla miktarlarda $\cdot\text{OH}$ ve H_2O_2 üretilmektedir. ATP katabolizmasındaki bu değişikliklerle ROT'ların, sitokinlerin, adezyon moleküllerinin ve endotelin ve tromboksan gibi vazo aktif ajanların üretimleri artmaktadır. Bu tip değişikliklere NO, prostoglandin I'lar gibi hücre koruyucu maddelerin azalması da eşlik etmektedir [151]. Böylece I/R döneminde doku zedelenmesini artıran proinflamatuvar bir durum yaratmaktadır.

Karaciğerde bulunan bu makrofajlar; Kupffer hücreleri I/R ile birlikte hücrel hasarın başlatılmasında ve yayılmasında kilit rol oynayan hücrelerdir [152]. Kupffer hücreleri iskemik fazda ve daha çok da reperfüzyon sırasında aktive olurlar. Aktivasyonları ile birlikte, hasarda önemli rol oynayan çeşitli aracı moleküllerin sentez ve aktivasyonunu artırır. Reaktif oksijen ve nitrojen radikalleri, tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-1 β (IL-1 β) ve interlökin-6 (IL-6) gibi proinflamatuvar sitokinler ve antiinflamatuvar (IL-10, IL-13) sitokinler bunlardan bazılarıdır [153,154].

Kupffer hücreleri, karaciğerde doğrudan veya uzak I/R hasarını meydana getiren kompleman sistemini, CD4 + T hücreleri tarafından interferon gama (IFN- γ) ve natural killer (NK) hücrelerinin üretimini aktive ederler [155].

I/R hasarında önemli bir role sahip olan nötrofiller reperfüzyonun erken döneminde birikmeye başlarlar ve subakut dönemde önem kazanırlar. Karaciğerde I/R hasarı ile birlikte sinusoidlerde nötrofil birikimi başlar ve bunun sonucunda sinüzoidal endotelial hücrelerde şişme, platelet adezyonu ve sinusoidlerde tıkanma meydana gelir. ROT' nin salınması, NADPH oksidaz enzim aktivasyonu ve sitoplazmik veziküllerde bulunan bazı enzimlerinde ortama salgılanması ile birlikte hepatositlerde minimal hasardan ölüme kadar giden mekanizma ilerler [156].

Hasarlanmış vasküler endotelial hücrelerde, özellikle geç reperfüzyon fazında ROT, araşidonik asit metabolitleri, NO, endotelinler (ET), sitokinler, adezyon molekülleri gibi maddelerin salınımı artmakta ve kompleman aktivasyonu ortaya çıkmaktadır. Proinflamatuvar sitokinler, kemokinler ve aktive kompleman faktörleri geç reperfüzyon fazında nötrofillerin bir araya toplanmasından ve nötrofil aracılı oksidatif stresden sorumludur. Kupffer hücreleri ve nötrofil aracılı oksidatif stres, reperfüzyon fazında oluşan

vasküler ve parankimal hasarın önemli bir faktörüdür 40. Bu postiskemik vasküler oksidan stresin, H_2O_2 , HOCl ve $ONOO^-$ 'leri yok eden, ekstrasellüler glutatyonun (GSH) koruyucu etkileriyle azaltıldığı gösterilmiştir [156].

Kompleman sistemi, membrana bağlı ve çözünür durumda bulunan proteinlerden oluşur. Kompleman sisteminin üç farklı yolla aktive olduğu bilinmektedir. Bunlar; klasik, alternatif ve mannoz-bağlayıcı lektin yollarıdır. Her 3 yol da karaciğerde I/R hasarında aktive olur [157].

Karaciğer I/R hasarında ışık mikroskopik inceleme yapıldığında, santral nötrofil lökosit (NL) infiltrasyonu, bölgesel hemoraji ve nekroz, konjesyon, sinuzoid ve lenfatik kılcallarda genişleme, bölgesel hepatosellüler vakuolizasyon, hepatosit şişmesi, ultrastrüktürel inceleme yapıldığında ise mitokondrial yapıda bozulma, şişme, boyanma farklılıkları, NL birikimi gözlenir [158,159]. Karaciğer dokusu homojenatında yapılan biyokimyasal çalışmalarda ise, MDA aktivitesi protein karbonil (PO) düzeyi (proteinlerin oksidatif hasarının spesifik göstergesi) artmış, GSH düzeyi azalmış olarak bulunur [160].

Karaciğerdeki I/R hasarı kolestazi indüklemekte bu da erken ve genellikle geçici olarak safra sekresyonunda azalmaya neden olmaktadır. Safra akımındaki bu değişiklikler artmış, ALT ve AST düzeyleri, karaciğer MPO aktivitesi ve serum bilirubin değerleri ile beraberdir. Bu değişikliklerin 1–3 gün içinde geri dönüşümlü olabileceği bulunmuştur [161].

Genel olarak I/R zedelenmesi ele alındığında bu sürecin reaktif oksijen türleri, kompleman sistemi, hem oksijenaz sistemi (HO), endotel hücreleri ve nötrofiller arasındaki tam anlaşılammış ve karmaşık bir ilişkiyle ortaya çıktığı görülmektedir [16].

2.8. Sitokinler

Sitokinler, insan vücudunda değişik hücreler tarafından sentezlenen, multi fonksiyonel polipeptidlerdir. Hastalıkların fizyopatolojisinde etkili ve terapötik potansiyele sahip olan bir protein grubudur. İmmün sistem hücreleri arasındaki ilişkileri kontrol ederek, inflamatuvar cevapları destekleyerek ve hematopoez olayını düzenleyerek birçok fizyolojik cevapta önemli rol oynarlar [162].

Sitokinlerin otokrin, parakrin ve daha az olmak üzere endokrin etkileri vardır [163]. Bir sitokin değişik tip hücreler tarafından yapılabilir ve değişik tip hücreler üzerine etki gösterebilir, başka sitokinlerin sentezlenmesini uyarabilir ya da engelleyebilir. Bir sitokinin aynı hedef hücre üzerinde farklı etkileri olabilir. Birden fazla sitokin aynı etkiyi gösterebilir [164]. Sitokinler, lenfositler tarafından salgılandıkları zaman lenfokinler, monosit ve makrofajlar tarafından salgılandığında ise monokinler, lökositler tarafından salgılandıkları zaman ise interlökin (IL) olarak adlandırılmaktadır. Kemokinler deyimi ise kemotaktik ve sitokin parçalarının birleştirilmesiyle üretilmiş olup bunlar, makrofaj ve monositleri enfeksiyon noktasına çekebilen bir grup sitokindir [165].

Sitokinlerin tanımlanması ve karakterize edilmesi çeşitli isimlendirme ve sınıflandırma sistemine göre yapılmıştır. Bu sınıflandırma sitokinler arasındaki fonksiyonel benzerliklere etki mekanizmalarına dayanmaktadır [166].

Sitokinlerin sınıflandırılması

Elgert'in aile gruplarına göre sitokinler

İnterlökinler: IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-14, IL-15.

Kemokinler: IL-18, Monosit Kemotaktik Protein-1 (MCP-1).

İnterferonlar: IFN- α , IFN- β , IFN- γ .

Sitotoksik/immün düzenleyici/büyüme faktörleri: TNF- α , TNF- β , TGF- β .

Koloni uyarıcı faktörler (Hematopoietik büyüme faktörleri): G-CSF, GM-CSF, M-CSF, IL-3, IL-7.

Fonksiyonlarına göre sitokinler

Doğal immüniteye aracılık edenler: Tip I interferonlar, TNF, IL-1, IL-6, kemokinler.

Lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyenler: IL-2, IL-4, TGF- β .

İnflamatuar yanıtı düzenleyenler: IFN- γ , lenfotoksin, IL-5, IL-10, IL-12.

Hematopoezi uyaranlar: C-Kit ligand (stem cell factor), IL-3, IL-7, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, IL-7, IL-9, IL-11 [167].

Sitokinler I/R hasarının başlamasında, sürdürülmesinde ve şiddetinin belirlenmesinde kritik ve önemli roller oynamaktadırlar [168]. Bu maddelerden en çok çalışılan ve

bilinenler TNF- α , IL-1 ve IL-6'dır. TNF- α , IL-1 ve IL-6'nın belirgin pro-inflamatuar aktiviteleri vardır, IL-6 ve IL-8 sentezini artırır ve anti-inflamatuar özellikleri olan IL-10 salınımını da azaltır [169].

IL-8 potent bir nötrofil kemotaktik ve aktive edici faktördür ve I/R sürecinde nötrofil infiltrasyonuna paralel olarak ortamda bulunur [170].

Adezyon moleküllerinin salınımı (β 2-integrinler ve selektinler) lökosit endotel hücre bağlanmasını uyarır. Bu faktörler, kemokin ve kompleman faktörleriyle beraber, PMNL'in toplanmasında ve ROS, TNF- α ve proteazların salınımıyla, iskemik hasarın sürdürülmesinde ve artırılmasında rol oynarlar [171].

TNF- α lökosit kemotaksisini, aktivasyonunu ve makrofajlardan ROS salınımını uyarır [172]. Farklı hücre tiplerinden inflammatuar ve immunmodulatör uyarıya yanıt olarak salınan TNF- α , karaciğer I/R hasarında da proinflammatuar sitokinlerin santral komponentidir. Kupffer hücreleri tarafından üretilir, parakrin ve endokrin etkileri mevcuttur. Ayrıca karaciğer I/R hasarı ile ilişkili uzak organ hasarından sorumludur [173].

TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinler dual bir fonksiyona sahiptirler. Enflamatuar yanıtlara aracılık etmeleri yanında karaciğer rejenerasyonu gibi reperatif etkiler göstermektedirler [174].

I/R zedelenmesinde hem TNF- α hem de IL-1 seviyeleri artmaktadır. Bunların nötralizasyonunun I/R hasarının şiddetini azalttığı gösterilmiştir [170].

2.8.1. Vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF)

VEGF ailesi ilk olarak 1980'lerde tanımlanmıştır. İlk bulunduğu yıllarda tek bir üyeden oluştuğu düşünülse de yapılan çalışmalarla bunun birçok üyesi olan bir aile olduğu ortaya konmuştur. Bu aileden ilk özel anjiogenik büyüme faktörü ayrıştırılmış ve buna vaskülotropin veya VEGF adı verilmiştir [20,175,176]. VEGF, 6. kromozomun kısa kolunda (6p12) lokalize molekül ağırlığı 45 kDA olan bir sitokindir [177,178].

VEGF ailesi insanın tüm vücuduna dağılmış, vasküler sistem boyunca dizilmiş endotel hücreleri için bilinen en özgül mitojendir. Vaskülojenesis ve anjiogenezde önemli bir

mediatördür [18], ayrıca endotelial hücrelerin migrasyon aktivitesini de uyarmaktadır. Bu faktörün geri çekilmesi halinde vaskülarizasyonun gerilediği gözlenmiştir [176]. Damar gelişimi vaskülojenez ve anjiojenez olarak iki farklı şekilde meydana gelir. Vaskülojenez, embriyoda endotel hücre öncülerinin farklılaşması ile damar oluşumunu tanımlarken, anjiojenez ise daha önce oluşmuş damarlardan yeni damarların gelişimi olarak ifade edilir. Erişkinde anjiojenez, kadınların üreme döngüsü, kıl büyümesi ve kan basıncı düzenlenmesini içeren normal biyolojik fonksiyonlar için gerekli iken, iskemi, inflamasyon ve tümör gelişimi gibi bazı patolojik durumlarda da anjiojenez görülür[179]. Anjiyogenezin çeşitli malign tümörlerin gelişimi, ilerlemesi ve tümör hücrelerinin yayılmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir [19]. Kansere hastalarında tedavinin yetersiz olmasının en büyük nedeni tümör invazyonu ve metastazdır. Pek çok epitel kökenli tümörde tümör hücresinin yayılması tümörün damarlanmasıyla kısa bir süre sonra meydana gelmektedir [181]. Eksüdatif yaşa bağlı makula dejenerasyonu, kanser, psöriazis, romatoid artrit, proliferatif retinopatiler gibi hastalıkların gelişiminde anjiojenez hastalığın seyrini kötüleştirecek şekilde rol oynar [180].

Dermal yaralanmaları da içeren birçok yaralanmada; normal doku tamirinin ayrılmaz bir parçası olan anjiojenez, yaralanmadan hemen sonra yüzeysel epidermal keratinositler tarafından salgılanan VEGF tarafından indüklenir. Bu sayede bir yanda kan akımının artması gerçekleşirken, diğer yandan yaralanma bölgesinde yeni kan damarları oluşumu tetiklenir ve iyileşme hızlanır. Eksojen olarak verilen VEGF'ün iskemik tavşan ekstremiteğinde ve domuz koroner arterlerinde azalmış kan akımına cevap olarak yeni damar oluşumunu ve perfüzyonu artırdığı gösterilmiştir [181]. Özellikle son yıllarda bu olumlu etkilerin sinir onarımı üzerinde de olduğunu gösteren çalışmalar yapılmaktadır [182,183].

VEGF'ün aynı zamanda osteoblastlar üzerinde de kemotaktik etkileri vardır ve kemik iliğinden endotelial öncü hücrelerin periferik dolaşıma geçmesinde de önemli rol oynar [184].

Hipoksi, VEGF ve reseptörlerinin yapımını indükleyerek anjiyogenez başlatan en etkili stimullardan biridir. Buna örnek olarak büyüyen tümörlerin hipoksik merkezleri oluşması ve bunu engellemek için tümör hücrelerinden VEGF ekspresyonu ve yeni damar yapımı gösterilebilir [17]. Yapılan çalışmalarda, hem tümör hücrelerinde VEGF'e ait

mRNA'ların arttığı hem de tümöre komşu endotel hücrelerinde VEGF reseptörlerine ait mRNA'larının arttığı gösterilerek; tümör anjiogenezi, tümör büyümesi ve hematojen yolla yayılmasında VEGF'ün önemli rolü olduğu belirlenmiştir [20].

VEGF'ün endotel hücrelerini apoptozise karşı koruduğu da bilinmektedir [20]. Anjiogenez sırasında dokular içine ilerleyen kapillerlerin penetrasyonunu sağlayan kollajenaz ve plazminojen aktivatörlerinin ekspresyonuna da yardımcı olur [185].

Patolojik neoanjiogenez olarak sınıflandırılan bazı oküler hastalıklarda oluşan yeni damarların sebebinin artmış VEGF olduğu gösterilmiştir [175]. Bunların tedavisinde anti-VEGF ajanlar verilmektedir [186].

VEGF ailesi üyeleri

Bugüne kadar VEGF ailesinin 7 üyesi saptanmıştır. Bunlar VEGF-A (human VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F(sv-VEGF) ve plasental büyüme faktörü (PIGF)'dür [187].

VEGF-A

VEGF-A geni, kromozom 6p21.3'teki lokalizasyonda kodlanmıştır. Aynı zamanda Human-VEGF olarak bilinir. VEGF-A bazı makalelerde sadece VEGF olarak adlandırılmaktadır[188]. VEGF-A'nın insanlarda tanımlanan 9 izoformu vardır. VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₄₈, VEGF₁₆₂, VEGF₁₆₅, VEGF_{165b}, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆. Bu izoformlar içinde VEGF_{165b}, diğerlerinden farklı olarak endojen inhibitör izoformdur, VEGFR2 üzerinden etkilidir [189]. En çok bilinen major izoformlar VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆'dır [190,191]. Bu izoformlardan VEGF₁₂₁ hariç, hepsi heparine bağlanmaktadır. VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅ ve VEGF₁₆₅ salgılandığında kolayca diffüze olur ve erimiş formları sıvılarda saptanabilir. VEGF₁₈₉ ve VEGF₂₀₆ ise salgılandığı halde hücre aracılı olarak kalır ve varlıkları testlerle kolayca saptanamaz [192]. VEGF₂₀₆, VEGF'ün orijinal karakteristik formu olup, yaklaşık 34-46 kDa ağırlığında homodimerik bir glikoproteindir. VEGF₁₆₅, VEGF₁₂₁'in aksine hücre yüzeyindeki veya ekstrasellüler matriksteki proteoglikanlara ve heparine bağlanan formdur. VEGF₁₈₉ heparin ve heparan sülfat proteoglikanına bağlanmayı tetikler ve artırır [175].

Heparine bağlanan VEGF-A izoformları plazmin gibi proteolitik enzimlerle hızla parçalanır. Bu nedenle, hücre dışı proteolizin, VEGF biyoyararlanımını düzenlemede önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Plazmin etkisiyle VEGF₁₂₁ dışındaki izoformlar daha küçük olan VEGF₁₁₀'a dönüşürler. VEGF₁₁₀ endotel hücre büyümesini uyarır ve damar geçirgenliğini artırır. Mitojenik aktivitesi VEGF₁₆₅'den daha azdır [190].

VEGF-A'nın etkileri büyük ölçüde lokal konsantrasyonuna bağlıdır. Düşük fizyolojik VEGF-A düzeyleri kardiyovasküler hemostaz, endotel hücre ömrü, prostasiklin, NO üretimi için gereklidir. Böylece, vasodilatasyon, antitromboz ve düz kas hücre proliferasyonunun baskılanması meydana gelmektedir. Anjiogenik ve vaskulogenik etkiler için daha yüksek konsantrasyonlar gereklidir. VEGF-A'nın plasentasyonda sitotrofoblastların ve sinsisyotrofoblastların gelişiminde rol aldığı düşünülmektedir. VEGF-A'nın up regülasyonu yeterli perfüzyon ve endotel bütünlüğünü sağlamaktadır. VEGF-A ve diğer aile üyelerinin atherogenezin başlatılmasında rollerinin olmadığı, atherogenez sırasında sürekli VEGF-A yüksekliğinin büyüyen lezyonlarda hipoksi ve inflamasyona sekonder olduğu ileri sürülmüştür [193-195].

VEGF-B

VEGF-B, vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-1 (VEGFR-1)'e bağlanarak etki eder, hücre dışı matriks degradasyonu, hücre adezyonu ve göçünde rol oynar. Kalp, iskelet kası ve pankreasta fazla miktarda bulunur, endotel hücre fonksiyonunu düzenler [179]. Ayrıca monositlerin aktivasyonu ve farklılaşmalarında rol alır [195].

VEGF-C

VEGF benzeri protein olarak da bilinir. Lenfatik damarların oluşmasında (lenfanjiogenez) rolü olduğu, VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak vasküler ve lenfatik endotelial hücrelerde mitojenik etki yaptığı bilinmektedir [195]. VEGF-C'nin Kaposi sarkomunda önemli oranda rol aldığı görülmüştür [196]. Birçok solid tümörde bölgesel lenf nodlarının invazyonu ve prognozuna olumsuz katkıda bulunur ve uzak metastaz habercisidir. Çeşitli tümör tiplerinde yapılan çalışmalarda, VEGF-C ekspresyonu ile lenfatik vasküler invazyon, bölgesel lenf nodu metastazı, uzak metastaz, arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler saptanmıştır [197].

VEGF-D

VEGF-D yapısal olarak %48 oranında VEGF-C'ye benzer bir glikoproteindir. Proprotein olarak üretilir. VEGF-D normal şartlarda, erişkin insanda, vasküler endotel, kalp, iskelet kası, akciğer ve bağırsaklardan eksprese edilir. VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanır ve bunların aktivasyonu ile endotel hücreleri için anjiogenik, mitojenik ve lenfanjiogenik olarak işlev görür. En fazla embriyogenezis döneminde akciğer ve deride bulunur [198]. Bazı kanserlerde lenfangiyogenezis ve lenf nodu metastazı ile ilişkili bulunmuştur [199].

VEGF-E

VEGF-E aminoasit dizilimi %25 oranında VEGF-A ile aynı olan bir polipeptittir. Güçlü bir mitojen ve permeabilite arttırıcı faktördür. VEGFR-2'ye seçici olarak bağlanarak etkisini gösterir [194].

VEGF-F (sv-VEGF)

VEGF'nin yapısına çok benzeyen, yılan zehirinde bulunmuş bir moleküldür. Bu yeni bulunan molekülün anjiogenezi VEGF-A'dan 10 kat daha az arttırmasına rağmen, vasküler geçirgenliği şiddetle arttırdığı bildirilmiştir [200].

VEGF-E ve VEGF-F, VEGF-A'nın insanlar dışındaki canlılardaki homologlarıdır. [179,205].

Plasental büyüme faktörü (PIGF)

PIGF adından da anlaşılacağı gibi ilk kez plasentada saptanmıştır. Normal embriyonik ya da erişkin dokularda yüksek düzeylerde eksprese edilmemektedir. Sinyal peptitlerinin bölünmesi sırasında ilkin 131 amino asit olarak sentezlenir. Daha sonra yeni amino asitlerin eklenmesiyle VEGF-A ile %37 oranında benzeşen ve 152 amino asit içeren son şekli oluşur. VEGFR-1'e bağlanarak etki gösterir[194]. PIGF patolojik angienez formlarında VEGF-A aktivitesini tamamladığı ve potansiyalize edebildiği gösterilmiştir [202].

VEGF sentezi

Endotel hücreleri için önemli bir mitojen olan ve migrasyon etkisine sahip olan VEGF, fizyolojik olarak ovulasyondan hemen önce ovaryum folliküllerinden salgılanarak yeni damarların oluşumunu artırırken, ovulasyondan sonra bu salgılama görevini korpus luteum üstlenir. Erken implantasyon döneminde ise embriyo trofoblastlarınca salgılanır [203]. Embriyolojik gelişimin ilk dönemlerinin sonuna doğru VEGF biraz azalırken, organogenez döneminde oldukça yükselir [204].

Megakaryositler, VEGF'nin önemli kaynağıdır ve trombositlerin α granüllerinde depo edilir [205]. Vücutta değişik hücrelerden salgılanır. Endotel hücreleri, lökosit, megakaryosit, ovaryum folikülleri, korpus luteum, akciğer alveolar hücreleri, renal glomerül visseral epitelyum hücreleri, kardiyak myositler, böbrek proksimal tübül hücreleri, adrenal korteksin tüm hücreleri, Leydig hücreleri, aktive makrofajlar, arteriyollerini çevreleyen fibroblastlar, bronşiyal ve koroid pleksus epitelyum hücreleri, hepatositler ve özellikle de malign tümör hücrelerinde (Karaciğer, mesane, böbrek, over, mide, kolon, beyin ve meme kanserleri) sentezlenmektedir [205-207].

VEGF mRNA'sının transkripsiyonu; trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB (PDGF-BB), keratinosit büyüme faktörü (FGF-7), epidermal büyüme faktörü (EGF), tümör nekrosis faktör- α (TNF- α), transforming büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1) ve interlökin- β 1 gibi çeşitli faktörler tarafından başlatılır [175].

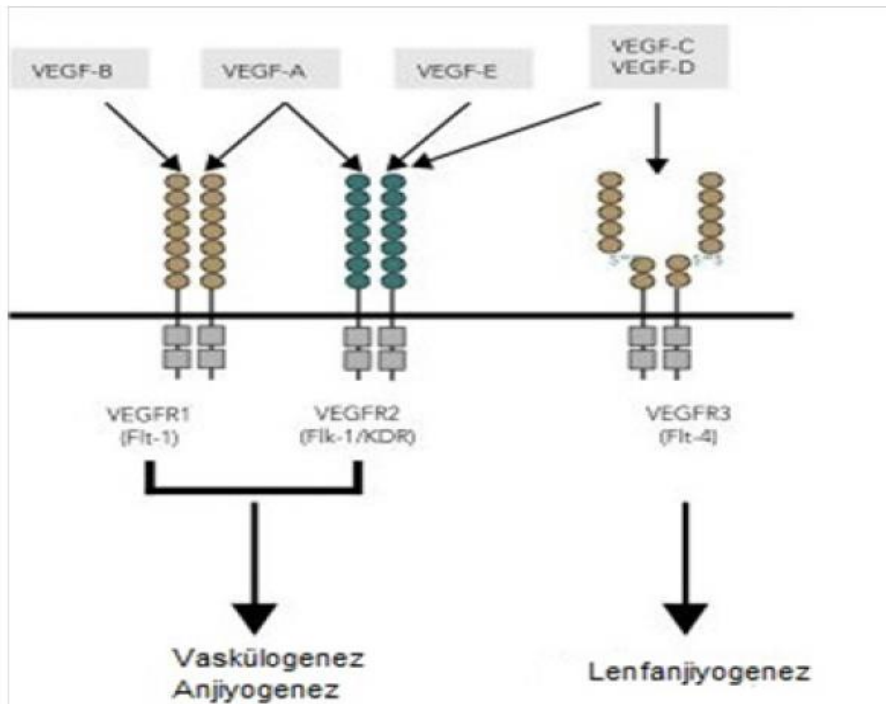
Ayrıca protein büyüme faktörlerinin haricinde, forbol esterleri ve prostaglandin E₂ (PGE₂) gibi bazı küçük mediatörlerin de VEGF ekspresyonunu düzenledikleri görülmüştür [208]. Hipoksi, belki de, VEGF ve reseptörlerinin yapımını indükleyerek anjiogenezi başlatan etkili stimuluslardan biridir. Buna örnek olarak büyüyen tümörlerin hipoksik merkezleri oluşması ve bunu engellemek için tümör hücrelerinden VEGF ekspresyonu ve yeni damar yapımı gösterilebilir. Yine tıkanmış kalp damarlarına bağlı gelişen hipoksi sonrasında da VEGF ekspresyonu artmaktadır. VEGF yapımı hipoksi tarafından tetiklenirken, CO tarafından da inhibe edilmektedir. Hipoksinin yanında azalan pH ve sitokinler ile de VEGF ekspresyonu artmaktadır [17,181].

VEGF reseptörleri

VEGF reseptörleri ilk olarak endotel hücrelerinde saptanmıştır [18]. VEGF hücre dışına salgılanarak 3 tirozin kinaz ve 2 nörofilin reseptörüne bağlanır [179,201].

VEGF reseptör 1'in (VEGFR1) (Flt-1) endotel hücreleri dışında monositler, osteoblastlar, makrofajlar, perisitler, hemopoetik kök hücreleri, damar düz kas hücreleri ve kolorektal tümör hücrelerinde bulunur [18]. VEGFR-1'e bağlanan büyüme faktörleri VEGF-A, VEGF-B, svVEGF ve PlGF'dir. VEGFR-1, VEGF-A ve PlGF'e yüksek affinite ile bağlanır ama iyi bir proliferasyon ve kemotaktik cevap elde edilemez. Ancak, PlGF'e bağlanmayan ama VEGF'e sıkıca bağlanan VEGFR-2 ile iyi cevap alınır [175].

VEGFR2 (Flk-1/KDR) VEGF-A'nın mitojenik, anjiyojenik ve vasküler geçirgenlik artışı etkilerinden sorumludur. Endotel hücre büyümesi, farklılaşması, göçü ve tübül oluşumunu düzenler [209]. Endotel hücrelerine ek olarak hemopoetik kök hücrelerde, megakaryositlerde, retina öncü hücrelerinde, damar düz kas hücrelerinde ve bazı tümör hücrelerinde (küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri, nöroblastoma, meme ve mide kanserleri) bulunur. VEGFR-2; VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve svVEGF'ün etkilerine aracılık eder [174].



Şekil 2.8. VEGF tirozin kinaz reseptörleri

VEGFR3 (flt-4), Lenfatik damarlarda anjiogenik etkiden ve lenfatik metastazdan sorumludur. VEGF-C ve VEGF-D'nin etkilerine aracılık eder [210].

Nörofilin-1, VEGF₁₆₅'in VEGFR2'ye ilgisini ve bu faktöre bağlı kemotaksisi artırır.12 Endotel, nöron ve tümör hücrelerinde bulunur [18].

Nörofilin-2 VEGF₁₆₅ ile birlikte nörofilin-1'den farklı olarak VEGF₁₄₅'i ve plasental büyüme faktörünü de bağlar [18].

VEGF reseptörlerinin aktivasyonu; fosfolipaz-C, fosfoinositol-3 kinaz ve ras GTPaz aktivatör proteinleri gibi bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinlerini fosforile ederek endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon, ve diferansiyasyonunu sağlar [122].

VEGF ve NO

NO, kanserli olgularda kompleks bir role sahip bir moleküldür. NO'nun DNA'yı hasarlayarak hastalığın başlangıcı ile ilişkili olduğu ve ayrıca immün hücrelerin tümörisidal aktivitesi için NO'nun gerekli olduğu gösterilmiştir. VEGF; in vitro ve in vivo olarak endotelial hücrelerden NOS enzimi uyararak [23] NO üretimini stimüle eder. NO ise sonradan vasküler permeabilite ve anjiogenezisi artırır [21,22]. Yapılan bir çalışmada prostat Ca²⁺lı hastalarda artmış VEGF seviyeleri ile ilişkili olan anlamlı derecede yüksek seviyede plazma NO düzeyleri tespit edilmiştir [211]. Yine VEGF, NO aracılı vazodilatasyonu uyararak hipotansif bir etki yaratır. Ayrıca von-Willebrand faktörün salgılanmasını arttıran VEGF, prostoglandin I₂ üretimini de uyarmaktadır. Yine arşidonik asit salınımını ve MAP-kinaz bağımlı sitozolik fosfolipaz A2'yi aktive etmektedir [23,212].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Grupları

Çalışma sırasında kullanılan deney hayvanları Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (GÜDAM) temin edilerek hayvanların barındırılması, bakımı ve araştırmanın deneysel aşaması GÜDAM'da gerçekleştirildi. Kan ve dokuda çalışılacak parametreler (oksidatif stres belirteçleri, proinflatuvar sitokin düzeyleri) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ve Fizyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarlarında çalışıldı.

Yapılan tüm cerrahi işlemler ketamin ve xylazine anestezisi altında steril koşullarda gerçekleştirildi. Deneysel intestinal I/R hasarı modeli, hayvanlarda süperior mezenterik arterin belli bir dönem klempe edilmesi ve takiben klempin kaldırılması suretiyle oluşturuldu. Literatürde bağırsaktaki I/R hasarının oluşturulması için gerekli iskemi ve reperfüzyon süreleri tartışmalıdır. Çalışmamızda Dwivedi ve arkadaşları tarafından kullanılan 90 dakikalık iskemi ve 4 saatlik reperfüzyon modelinin kullanılması planlandı [213]. Bu modeli seçmemizin nedeni hem bağırsak dokusunda hem de uzak organlarda reperfüzyon hasarının tüm aşamalarının bu sürelerde görülmesidir. Ayrıca uygulanan VEGF tedavi dozu, Anabilim Dalımızda daha önce yapılan çalışmalarla etkinliği gösterilmiş olan en düşük VEGF dozudur. Bu çalışmalarda aşağıda belirtilen dozun altındaki kullanımlarının etkisiz, üzerindeki kullanımlarının da eşdeğer etkili olduğu görülmüş, en düşük doza bağlı etkiler yayın haline getirilmiştir [24].

Çalışmada 30 adet, ortalama ağırlıkları 241 ± 10 gr olan erişkin erkek Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Hayvanlar randomize şekilde 5 gruba ayrıldı.

- 1- Sham grubu (S, n=6): Bu gruptaki sıçanlara anestezi altında laparotomi yapıldıktan sonra mezenter arter disseke edilerek klempe edilmek üzere hazırlandı ancak klempe edilmeksizin batın kapatıldı. 4 saat sonra anestezi altında intrakardiyak olarak kanları alındı. Daha sonrasında sıçanlar kurban edildi. Böbrek ve karaciğer dokuları çıkarılarak kan ve doku örnekleri biyokimyasal çalışmalar yapılınca kadar -80°C de saklandı.

- 2- VEGF grubu (V, n=6): Sıçanların kaudal kaval venleri anestezi altında kateterize edilerek, intravenöz yoldan VEGF(human) (0,8µg/kg) tek doz olarak verildi. Tedaviden 4 saat sonra intrakardiyak olarak kanları alınarak sıçanlar sakrifiye edildi. Böbrek ve karaciğer dokuları çıkarıldı. Kan ve doku örnekleri biyokimyasal çalışmalar yapılınca kadar -80°C de saklandı
- 3- İskemi-Reperfüzyon grubu (I/R, n=6): Sıçanlara anestezi altında laparotomi yapıldıktan sonra mezenter arter disseke edilerek, vasküler klemplerle klempe edildi ve 90 dk. süre ile intestinal iskemi gerçekleştirildi. 90 dk'lık iskemiye takiben vasküler klempe açılıp batın kapatıldı. İşlemden 4 saat sonra intrakardiyak olarak kanları alınarak sıçanlar sakrifiye edildi. Böbrek ve karaciğer dokuları çıkarıldı. Kan ve doku örnekleri biyokimyasal çalışmalar yapılınca kadar -80°C de saklandı.
- 4- İskemi-Reperfüzyon ve Reperfüzyonda VEGF grubu (I/R+V, n=6): Sıçanlara anestezi altında laparotomi yapıldıktan sonra mezenter arter disseke edilerek vasküler klemplerle klempe edildi ve 90 dk. süre ile intestinal iskemi gerçekleştirildi. 90 dk'lık iskemiye takiben damar klempe açılıp ve hemen akabinde reperfüzyon başlangıcında intravenöz VEGF uygulandı ve batın kapatıldı. İşlemden 4 saat sonra intrakardiyak olarak kanları alınarak sıçanlar sakrifiye edildi. Böbrek ve karaciğer dokuları çıkarıldı. Kan ve doku örnekleri biyokimyasal çalışmalar yapılınca kadar -80°C de saklandı.
- 5- İskemi-Reperfüzyon ve İskemi öncesi VEGF grubu (V+I/R, n=6): Sıçanlara anestezi altında laparotomi yapıldıktan sonra iskemi yapılmadan hemen önce intravenöz VEGF uygulandı, sonrasında mezenter arter disseke edilerek vasküler klemplerle klempe edildi ve 90 dk süre ile intestinal iskemi gerçekleştirildi. İskemiye takiben damar klempe açılarak batın kapatıldı. Diğer gruplarda olduğu gibi işlemden 4 saat sonra intrakardiyak olarak kanları alınarak sıçanlar sakrifiye edildi. Böbrek ve karaciğer dokuları çıkarıldı. Kan ve doku örnekleri biyokimyasal çalışmalar yapılınca kadar -80°C de saklandı.

3.2. Biyokimyasal Analizler

3.2.1. Homojenizasyon

Dokuların homojenizasyonu porselen bir kap içinde sıvı azot kullanılarak dokuların ezilerek toz haline getirilmesi sonrasında GSH ölçümleri için 1:5 %5 metafosforik asit solüsyonu içinde diğer ölçümler için 1:10 lizis buffer ile dilue edilmesi şeklinde gerçekleştirildi. Numuneler 2500 rpm'de 10 dakika +4°C'de santrifüj edildikten sonra süpernatantlar ependorflara alındı.

3.2.2. Dokuda malondialdehit (MDA) düzeyi tayini

Bu yöntem lipid peroksidasyon ürünlerinden malondialdehidin Tiobarbitürik Asit (TBA) ile oluşturduğu kompleksin spektrofotometrik olarak 530 ve 540 nm'de tespiti esasına dayanmaktadır [214]. Doku örnekleri, 1/5 ağırlık/hacim (w/v) olacak şekilde RIPA buffer ile seyreltilip, homojenize edildi. Homojenatlar, 1.600 g'de, 10 dakika +4°C'de santrifüj edildi. Doku MDA miktarı, 530 nm'de Cayman TBARS assay kiti kullanılarak tayin edildi ve sonuçlar nmol /g doku olarak verildi.

3.2.3. Doku protein düzeyi tayini

Doku protein tayini Bradford yöntemine göre spektrofotometrik olarak 595 nm'de ölçüldü. Bradford yöntemi protein boya bağlanma prensibini kullanarak mikrogram miktarlarda protein tayini için hızlı duyarlı bir yöntemdir [215].

3.2.4. Dokuda glutatyon (GSH) düzeyi tayini

Bu yöntem, hafif alkali ortamda, 5,5' ditiyobis 2-nitrobenzoik asidin (DTNB, Ellman reaktifi), dokudaki alifatik tiyol bileşikleriyle reaksiyonu sonucu her molekül tiyol başına oluşan, p-nitrofenol anyonunun miktarının spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır [216].

Doku örnekleri, 1/5 ağırlık/hacim (w/v) olacak şekilde 50 mM metafosforik asitle (pH:6-7, içerisinde 1mM EDTA içerecek şekilde) seyreltilip, homojenize edildi. Homojenatlar,

10.000 g'de, 15 dakika +4⁰C'de santrifüj edildi. Doku GSH miktarı, 410 nm'de Cayman GSH assay kiti kullanılarak tayin edildi ve sonuçlar nmol/ mg protein olarak verildi.

3.2.5. Dokuda süperoksit dismutaz (SOD) enzim düzeyi tayini

Yöntemin esası, ortamda oluşturulan süperoksitin, SOD enzimi ile ortadan kaldırılması ve kalan miktarın boyanarak renklenmesine dayanan ksantin ksantin oksidaz (XO) ile O₂⁻ oluşturması ve bunun da nitroblue tetrazolium (NBT) ile renkli bileşik oluşturarak bu renk şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçülmesidir [217].

Doku örnekleri, 1/5 ağırlık/hacim (w/v) olacak şekilde 20 mM HEPES (pH:7.2, içerisinde 1mM EGTA, 210 mM mannitol, 70 mM sükröz içerecek şekilde) seyreltilip, homojenize edildi. Homojenatlar, 1.500 g'de, 5 dakika +4⁰C'de santrifüj edildi. Doku SOD miktarı, 440 nm'de Cayman SOD assay kiti kullanılarak tayin edildi ve sonuçlar Ünite/ mg protein olarak verildi.

3.2.6. Dokuda katalaz enzim düzeyi tayini

Yöntemin esası hidrojen peroksitin yıkıma esasına dayanmaktadır [218]. Doku örnekleri, 1/5 ağırlık/hacim (w/v) olacak şekilde 50 mM potasyum fosfat buffer (pH:7, içerisinde 1mM EDTA içerecek şekilde) seyreltilip, homojenize edildi. Homojenatlar, 10.000 g'de, 15 dakika +4⁰C'de santrifüj edildi. Doku CAT miktarı, 540 nm'de Cayman CAT assay kiti kullanılarak tayin edildi ve sonuçlar nmol/min/mg protein olarak verildi.

3.2.7. Doku nitrit/ nitrat düzeyi tayini

Yöntemin esası Nitrat Redüktaz enzimi varlığında nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) kullanarak Nitratın Nitrite dönüşümüdür. Oluşan nitrit kırmızı-mor diazo boya veren N-(1-Naftil) etilen diamin ve sülfanamid ile reaksiyona girer. Oluşan diazo boyanın absorbansı 540nm dalga boyunda ölçülür [219].

Doku örnekleri, 1/5 ağırlık/hacim (w/v) olacak şekilde PBS (pH:7.4) seyreltilip, homojenize edildi. Homojenatlar, 10.000 g'de, 20 dakika +4⁰C'de santrifüj edildi. Doku Nitrat-nitrit (NO_x) miktarı, 540 nm'de Cayman Nitrat-nitrit assay kiti kullanılarak tayin edildi ve sonuçlar µM olarak verildi.

3.2.8. Plazma LDH, AST, ALT, üre, kreatin düzeyleri tayini

Plazma LDH, AST, ALT, Üre, Kreatin düzeyleri ROCHOP800 otoanalizör kullanılarak ölçüldü.

3.3. İstatiksel Analiz ve Grafikler

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 15 programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda nonparametrik Mann Whitney U testi kullanıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi. Verilere ait grafiklerin oluşturulmasında Graph Prism 6.0 programı kullanıldı.

4. BULGULAR

Çizelge 4.1. Böbrek dokusu biyokimyasal analiz sonuçları-1

BÖBREK	S	V	I/R+V	I/R	V+I/R
MDA (nmol/g)	15,58 ± 2,36	12,49 ± 1,65	6,78 ± 2,46	22,47 ± 3,97	9,60 ± 3,75
NOx (µM)	14,78 ± 3,99	12,67 ± 3,63	23,61 ± 3,62	33,92 ± 14,61	32,00 ± 12,86
SOD (U/mg protein)	13,84 ± 5,23	19,07 ± 5,49	20,05 ± 6,86	7,61 ± 1,29	11,68 ± 1,93
GSH (nmol/mg protein)	10,14 ± 3,26	6,94 ± 1,30	7,63 ± 1,01	5,24 ± 2,89	6,06 ± 2,10
CAT (nmol/min/mg protein)	27,03 ± 7,67	28,46 ± 8,05	20,00 ± 1,36	32,75 ± 5,86	35,14 ± 10,42

Çizelge 4.2. Karaciğer dokusu biyokimyasal analiz sonuçları-2

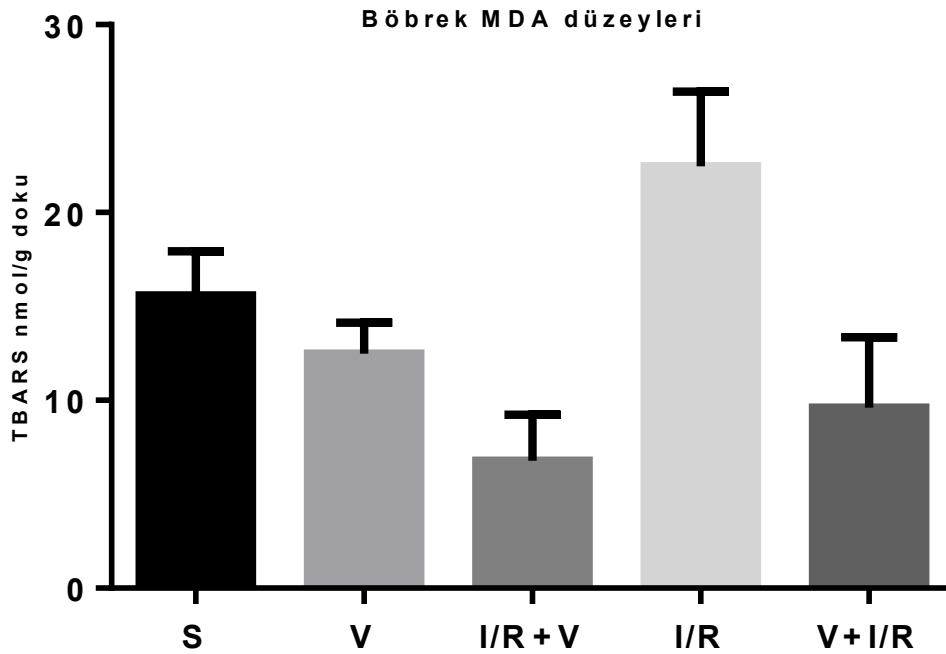
KARACİĞER	S	V	I/R+V	I/R	V+I/R
MDA (nmol/g)	9,46 ± 1,18	12,13 ± 2,11	7,28 ± 2,06	23,11 ± 5,91	10,13 ± 1,93
NOx (µM)	23,10 ± 6,28	24,00 ± 5,41	24,06 ± 4,18	25,73 ± 5,81	27,91 ± 1,71
SOD (U/mg protein)	21,07 ± 5,35	17,45 ± 5,11	17,06 ± 2,47	12,23 ± 2,16	12,56 ± 4,45
GSH (nmol/mg protein)	14,89 ± 2,37	14,51 ± 6,04	15,79 ± 3,41	10,74 ± 4,25	12,64 ± 1,52
CAT (nmol/min/mg protein)	30,78 ± 6,47	31,10 ± 6,46	32,4 ± 11,51	24,27 ± 5,78	30,04 ± 6,52

Çizelge 4.3. Plazmanın biyokimyasal analiz sonuçları-3

PLAZMA	S	V	I/R+V	I/R	V+I/R
Üre (mg/dL)	48,48 ± 6,94	43,28 ± 6,17	89,0 ± 14,85	100,31 ± 21,35	86,10 ± 26,17
LDH (IU/L)	1895,33 ± 321,78	1278,66 ± 293,98	1911,16 ± 281,59	1300,16 ± 934,94	1280,50 ± 777,98
Kreatin (mg/dL)	0,20 ± 0,06	0,25 ± 0,03	0,28 ± 0,04	0,40 ± 0,09	0,40 ± 0,15
ALT (U/L)	66,83 ± 23,91	86,83 ± 20,56	137,75 ± 53,61	119,50 ± 51,97	154,6 ± 64,21
AST (U/L)	423,50 ± 171,77	493,83 ± 141,46	438,0 ± 117,95	579,5 ± 115,88	616,0 ± 175,52

4.1. Böbrek Dokusu MDA Düzeyleri

Çalışmamızda böbrek dokularında lipid peroksidasyonun derecesiyle benzerlik gösteren MDA düzeyleri ölçüldü. Böbrek dokularında, I/R grubu MDA düzeyleri sham grubuna kıyasla anlamlı ölçüde artarken, VEGF uygulaması yapılan bütün gruplardaki (V, I/R+V ve V+I/R grupları) MDA düzeyleri sham grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azaldı. MDA'daki en yüksek değer I/R yapılan grupta görüldü ki bu yükselme bütün gruplara göre anlamlı idi. VEGF'nin iskemi sonrası verildiği gruptaki (I/R+V) MDA düzeyinin diğer bütün gruplara kıyasla anlamlı olarak en düşük değer olduğu tespit edildi. (Şekil 4.1)



Şekil 4.1. Böbrek dokusu MDA düzeyleri

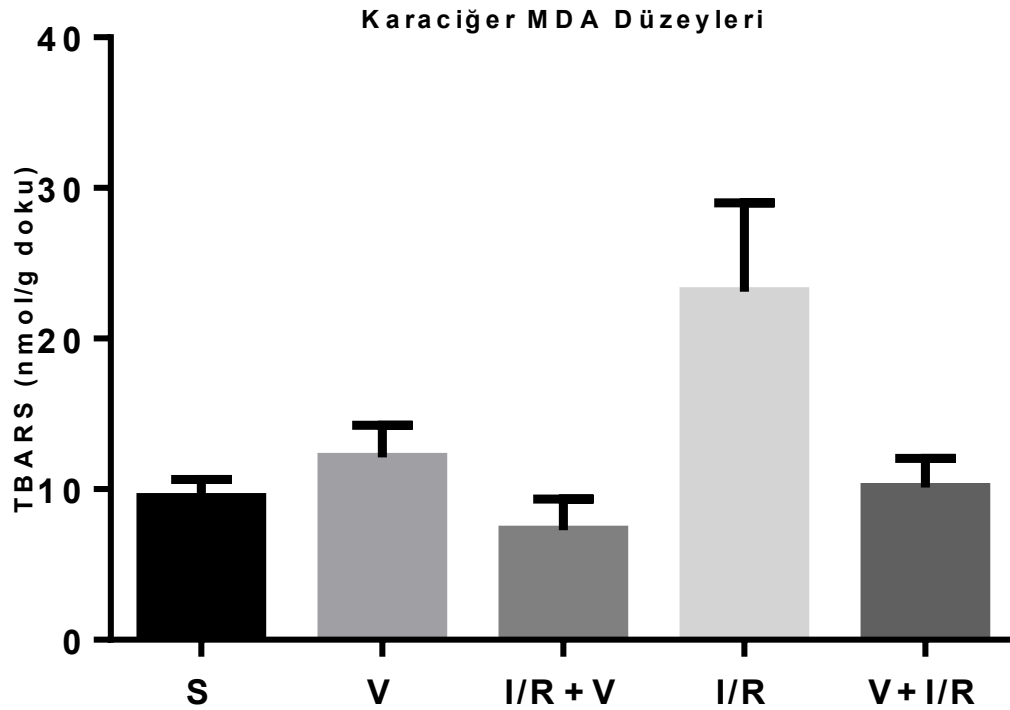
Değerler ort \pm SD olarak verildi.

$p < 0.05$: [(S)-(V)], [(S)-(I/R+V)], [(S)-(I/R)], [(S)-(V+I/R)]

$p < 0.01$: [(V)-(I/R+V)], [(V)-(I/R)], [(I/R+V)-(I/R)], [(I/R)-(V+I/R)]

4.2. Karaciğer Dokusu MDA Düzeyleri

Karaciğer dokularında, MDA düzeyleri incelendiğinde, I/R grubu MDA düzeyleri diğer bütün gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu. En düşük MDA değerleri ise VEGF'nin iskemi sonrası verildiği grupta (I/R+V) ölçüldü. Bu değer diğer bütün gruplara göre anlamlı olarak değerlendirildi. Böbrek dokusundan farklı olarak, karaciğerde tek başına VEGF uygulaması yapılan grupta (V) , MDA düzeyleri I/R sonrası VEGF uygulanan gruba göre (I/R+V) anlamlı olarak yüksekti. (Şekil 4.2)



Şekil 4.2. Karaciğer dokusu MDA düzeyleri

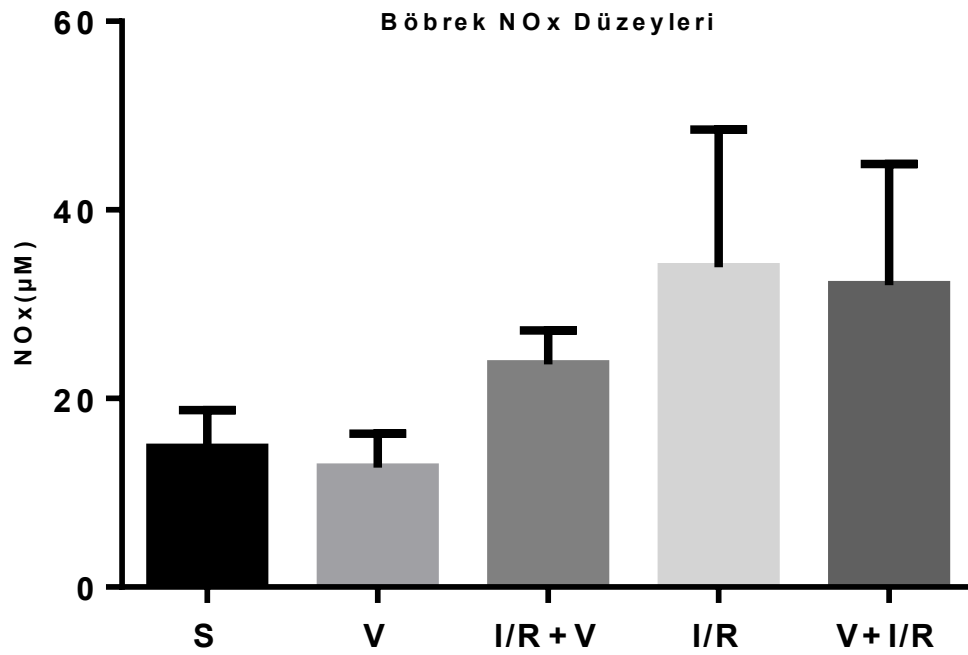
Değerler ort \pm SD olarak verildi.

$p < 0.05$: [(S)-(I/R+V)], [(V)-(I/R+V)], [(I/R+V)-(V+I/R)],

$p < 0.01$: [(S)-(I/R)], [(V)-(I/R)], [(I/R+V)-(I/R)], [(I/R)-(V+I/R)]

4.3. Böbrek Dokusu NOx Düzeyleri

Böbrek dokusu NOx düzeyleri değerlendirildiğinde gerek Sham ve VEGF grubu arasında gerekse I/R grupları arasında anlamlı bir fark görülmedi. Ancak I/R yapılan gruplarda (I/R, I/R+V ve V+I/R), böbrek dokusu NOx düzeyleri Sham ve VEGF (V) gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu. (Şekil 4.3)



Şekil 4.3. Böbrek dokusu NOx düzeyleri

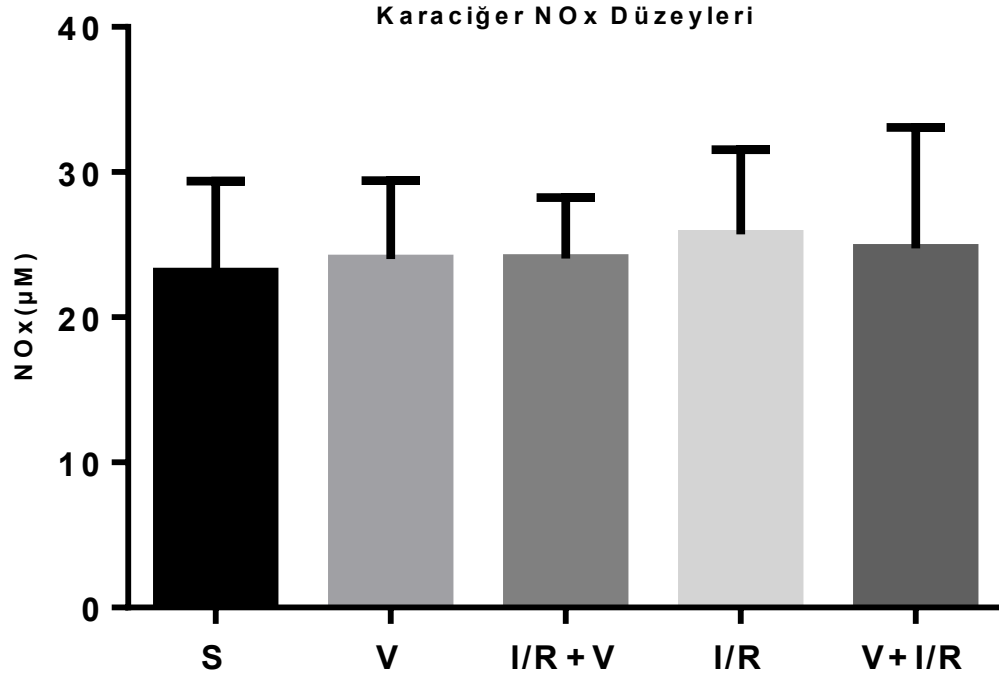
Değerler ort \pm SD olarak verildi.

$p < 0.05$: [(S)-(I/R+V)], [(S)-(I/R)], [(S)-(V+I/R)], [(V)-(I/R+V)], [(V)-(I/R)]

$p < 0.01$: [(V)-(V+I/R)]

4.4. Karaciğer Dokusu NOx Düzeyleri

Karaciğer dokusu NOx düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi (Şekil 4.4).

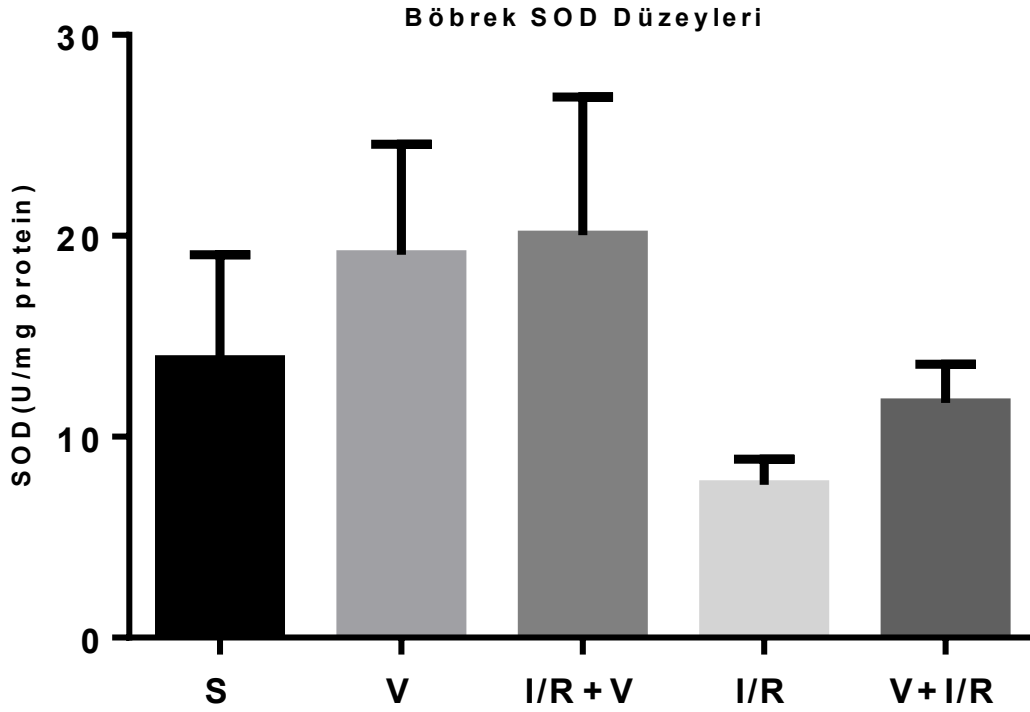


Şekil 4.4. Karaciğer dokusu NOx düzeyleri

Değerler ort \pm SD olarak verildi

4.5. Böbrek Dokusu SOD Düzeyleri

Böbrek dokusunda SOD düzeyleri değerlendirildiğinde; Sham ve VEGF grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. Tek başına I/R yapılan (I/R grubu) sıçanlarda böbrek doku SOD düzeyleri diğer bütün gruplara kıyasla anlamlı ölçüde düşük bulundu. I/R grubu ile karşılaştırıldığında; I/R sonrası ve öncesi VEGF tedavisi uygulanan grupların (I/R+V, V+I/R) SOD düzeyleri anlamlı olarak artmış olarak bulundu. Bu artış sonucu Sham grubu ile V+I/R I/R+V grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi. (Şekil 4.5)



Şekil 4.5. Böbrek dokusu SOD düzeyleri

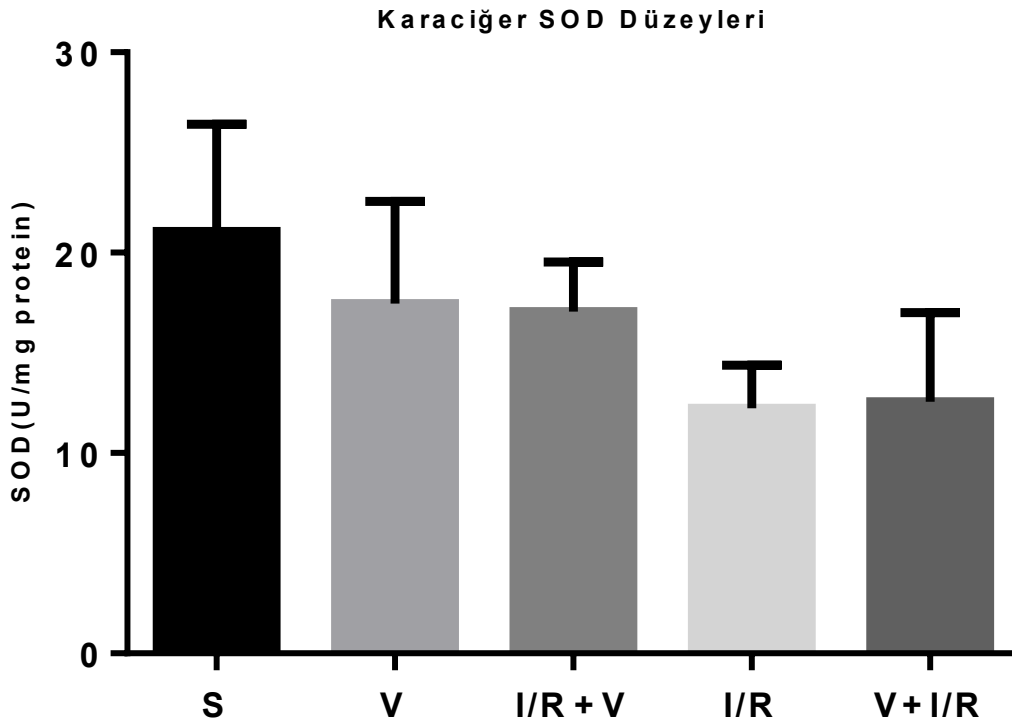
Değerler ort \pm SD olarak verildi.

$p < 0.05$: [(S)-(I/R)], [(V)-(I/R)], [(V)-(V+I/R)], [(I/R+V)-(V+I/R)]

$p < 0.01$: [(I/R+V)-(I/R)], [(I/R)-(V+(I/R))]

4.6. Karaciğer Dokusu SOD Düzeyleri

Karaciğer dokusunda SOD düzeyleri değerlendirildiğinde; I/R yapılan gruplarda SOD düzeylerinin Sham grubuna göre azaldığı görüldü. I/R sonrası VEGF tedavisi uygulanan grubun (I/R+V) karaciğer SOD düzeyleri, I/R grubuna kıyasla anlamlı ölçüde arttı. Diğer gruplar arasındaki anlamlı fark tespit edilemedi. (Şekil 4.6)



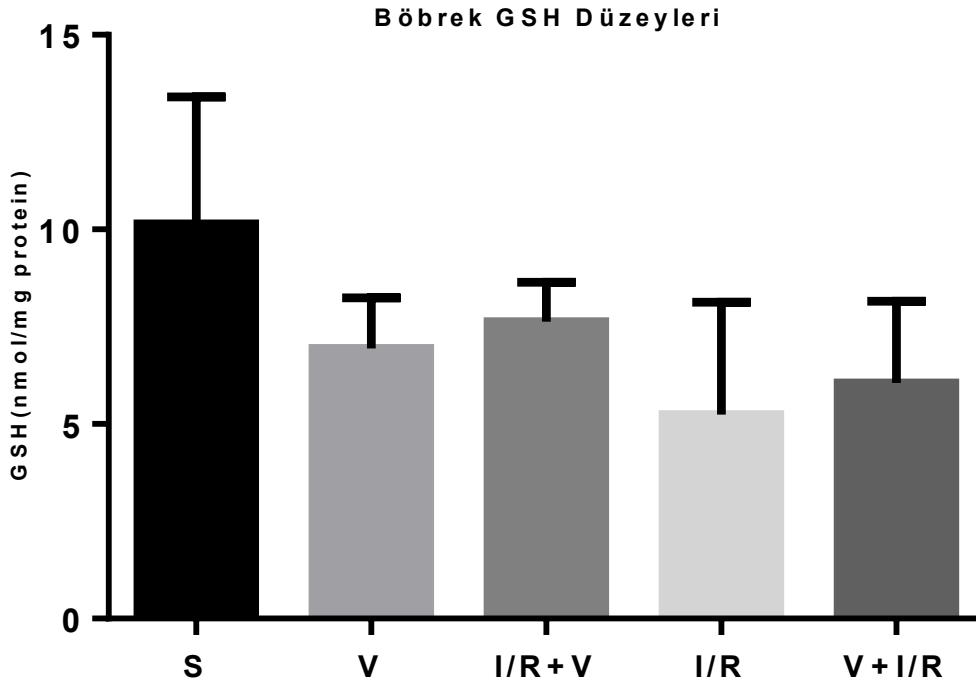
Şekil 4.6. Karaciğer dokusu SOD düzeyleri

Değerler ort \pm SD olarak verildi.

$p < 0.05$: [(S)-(I/R+V)], [(S)-(I/R)], [(S)-(V+I/R)], [(V)-(I/R)], [(I/R+V)-(I/R)]

4.7. Böbrek Dokusu GSH Düzeyleri

Böbrek dokusu GSH düzeyleri açısından sonuçlar değerlendirildiğinde, I/R uygulaması GSH düzeylerinde azalmaya neden oldu. VEGF verilmesi azalan GSH düzeylerinde bir miktar artma meydana getirdi. Ancak bu artma I/R ile karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuca ulaşamadı. ($p>0.05$) (Şekil 4.7)

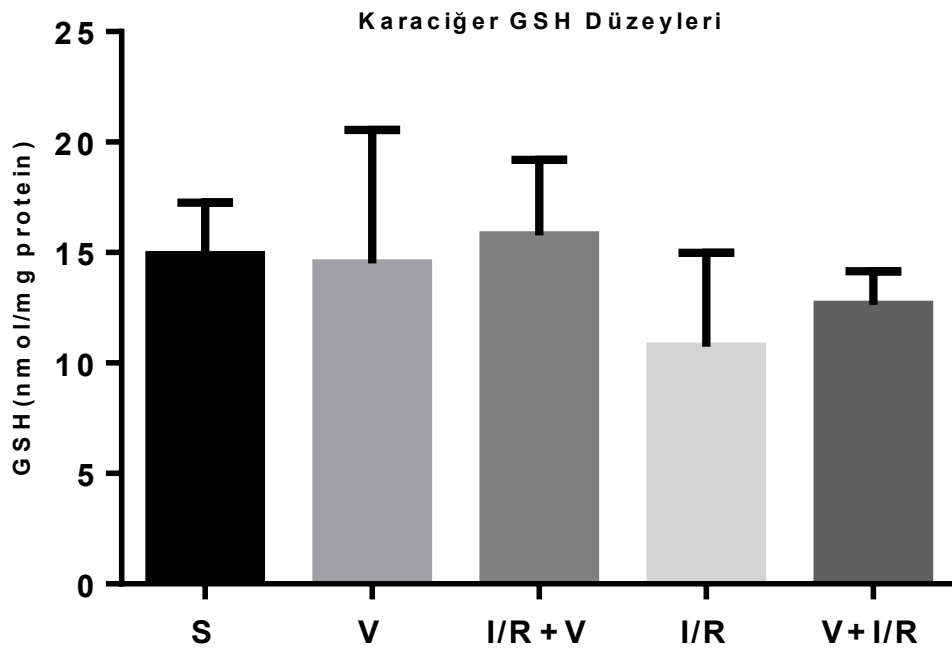


Şekil 4.7. Böbrek dokusu GSH düzeyleri

Değerler ort \pm SD olarak verildi.

4.8. Karaciğer Dokusu GSH Düzeyleri

I/R uygulaması karaciğerde doku GSH düzeyinde düşme meydana getirdi. Ancak bu düşme muhtemelen SD'nun yüksek olması nedeniyle Sham grubuna göre anlamlı değildi. Özellikle I/R+V grubunda daha belirgin olmak üzere VEGF uygulaması yapılan her iki grupta da GSH düzeylerinde artma tespit edildi. Ancak bu artışlarda I/R grubuna göre anlamlı değildi. ($p>0.05$) (Şekil 4.8)

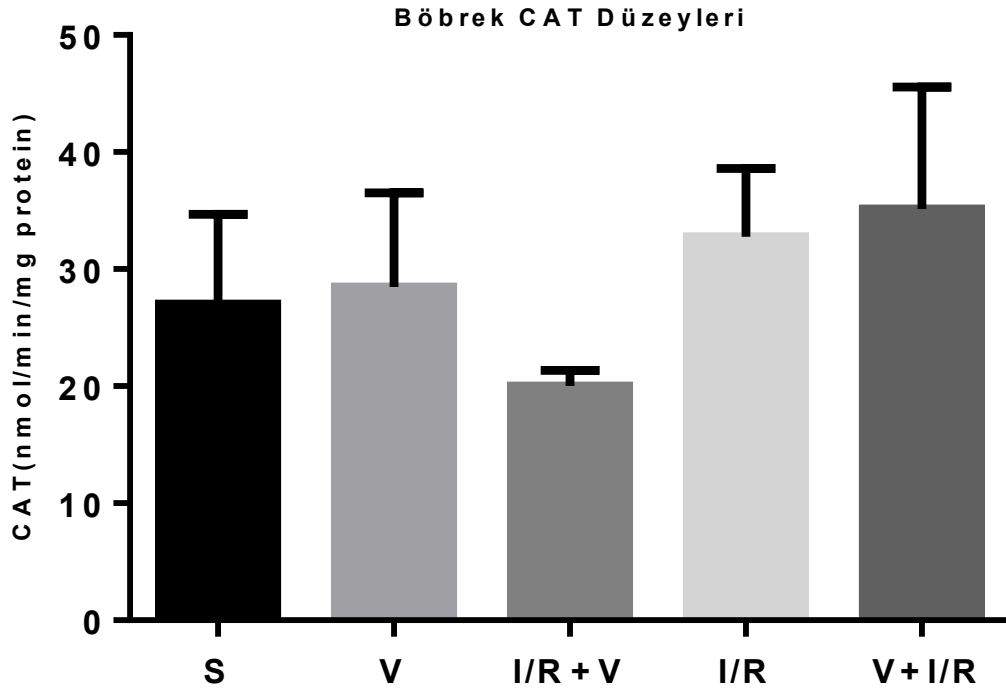


Şekil 4.8. Karaciğer dokusu GSH düzeyleri

Değerler ort \pm SD olarak verildi.

4.9. Böbrek Dokusu Katalaz Düzeyleri

Çalışmamızda böbrek dokusunda katalaz (CAT) düzeyleri de ölçüldü. I/R+V grubu böbrek CAT düzeyleri, Sham grubu, I/R ve V+I/R grubu CAT düzeylerine kıyasla anlamlı ölçüde düşük bulundu. Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir fark bulunamadı. ($p<0.05$) (Şekil 4.9)



Şekil 4.9. Böbrek dokusu CAT düzeyleri

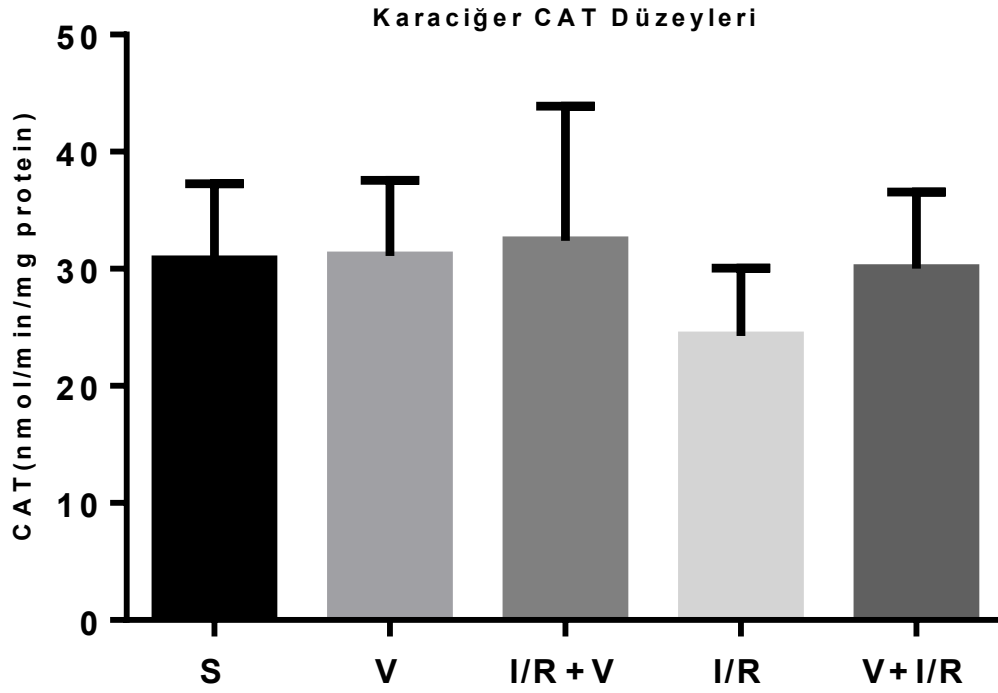
Değerler ort \pm SD olarak verildi.

$p<0.05$: [(S)-(I/R+V)]

$p<0.01$: [(I/R+V)-(I/R)], [(I/R+V)-(V+I/R)]

4.10. Karaciğer Dokusu Katalaz Düzeyleri

Karaciğer dokusu CAT düzeyleri ölçümlerinde I/R grubunda bir miktar azalma olmakla birlikte, hiçbir grup arasında anlamlı bir fark yoktu. ($p>0.05$) (Şekil 4.10)

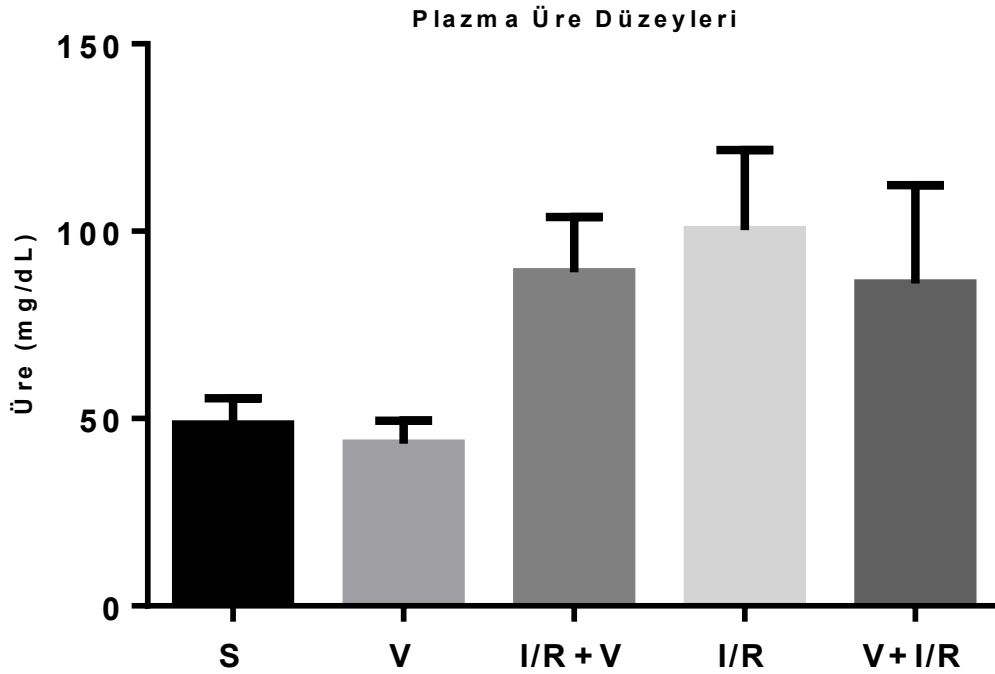


Şekil 4.10. Karaciğer dokusu CAT düzeyleri

Değerler $\text{ort} \pm \text{SD}$ olarak verildi.

4.11. Plazma Üre Düzeyleri

Yapılan ölçümlerde Sham grubu ve VEGF grubu arasında bir fark yokken, I/R uygulaması bütün gruplarda plazma üre düzeylerini kontrollerine göre anlamlı olarak yükseltti. ($p < 0.01$) Gerek iskemiden önce (V+I/R), gerekse iskemiden sonra (I/R+V) VEGF uygulaması, I/R'nun yükselttiği üre düzeylerinde bir miktar azalmaya neden olmakla birlikte bu azalmalar anlamlı değildi. Tek başına VEGF uygulaması (V grubu) ise plazma üre düzeyleri açısından Sham grubu ile (S) karşılaştırıldığında herhangi bir değişikliğe neden olmadı. ($p > 0.05$) (Şekil 4.11)



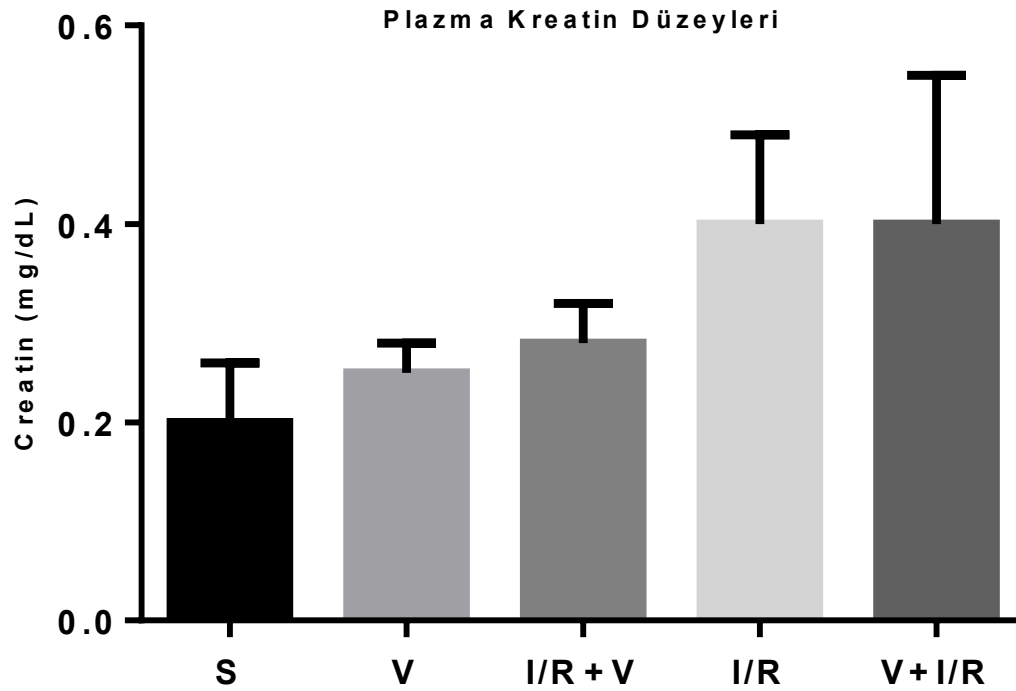
Şekil 4.11. Plazma üre düzeyleri

Değerler ort \pm SD olarak verildi.

$p < 0.01$: [(S)-(I/R+V)], [(S)-(I/R)], [(S)-(V+I/R)], [(V)-(I/R+V)], [(V)-(I/R)],
[(V)-(V+I/R)]

4.12. Plazma Kreatin Düzeyleri

I/R uygulaması plazma kreatinin düzeylerinde yükselmeye neden oldu. Sham grubuylam karşılaştırıldığında I/R yapılan her üç grupta da plazma kreatin düzeyleri anlamlı olarak yükseldi. I/R sonrası VEGF uygulaması (I/R+V) kreatin düzeylerinde diğer iskemili gruplara göre anlamlı bir düşme meydana getirdi. (Şekil 4.12)



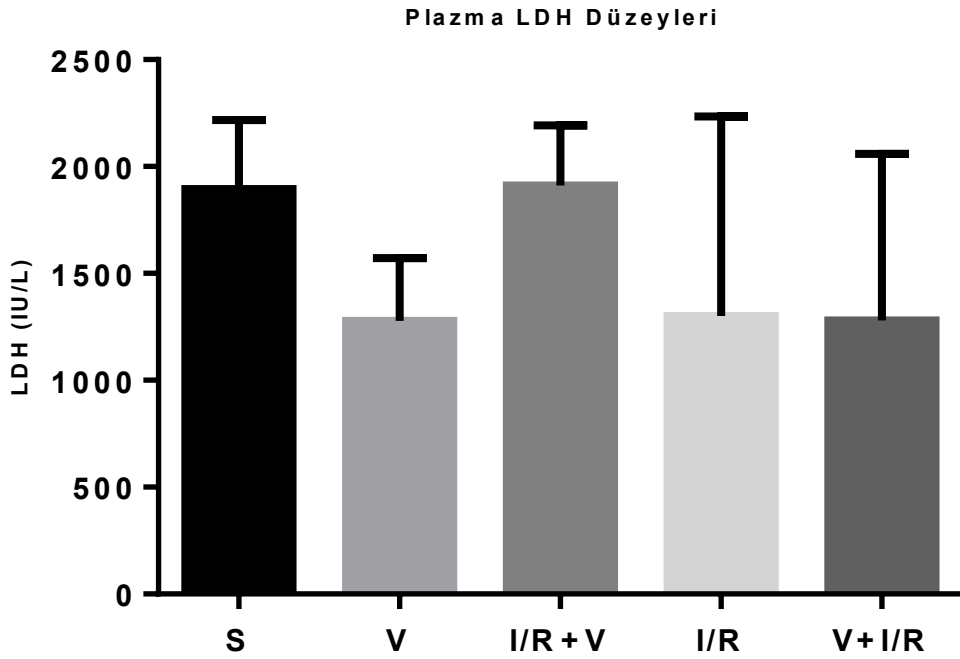
Şekil 4.12. Plazma kreatin düzeyleri

Değerler ort \pm SD olarak verildi.

$p < 0.05$: [(S)-(I/R+V)], [(S)-(I/R)], [(S)-(V+I/R)], [(V)-(I/R)], [(V)-(V+I/R)],
[(I/R+V)-(I/R)], [(I/R+V)-(V+I/R)]

4.13. Plazma Laktat Dehidrogenaz Enzim Düzeyleri

VEGF grubu (V) plazma LDH düzeylerinin, sham grubuna (S) kıyasla anlamlı ölçüde azaldığı görüldü. VEGF grubundaki bu azalmanın, I/R+V grubuna göre de anlamlı olduğu tespit edildi. Diğer gruplar birbirleri ile kıyaslandığında anlamlı farklılaşma görülmedi. ($p<0.05$) (Şekil 4.13)



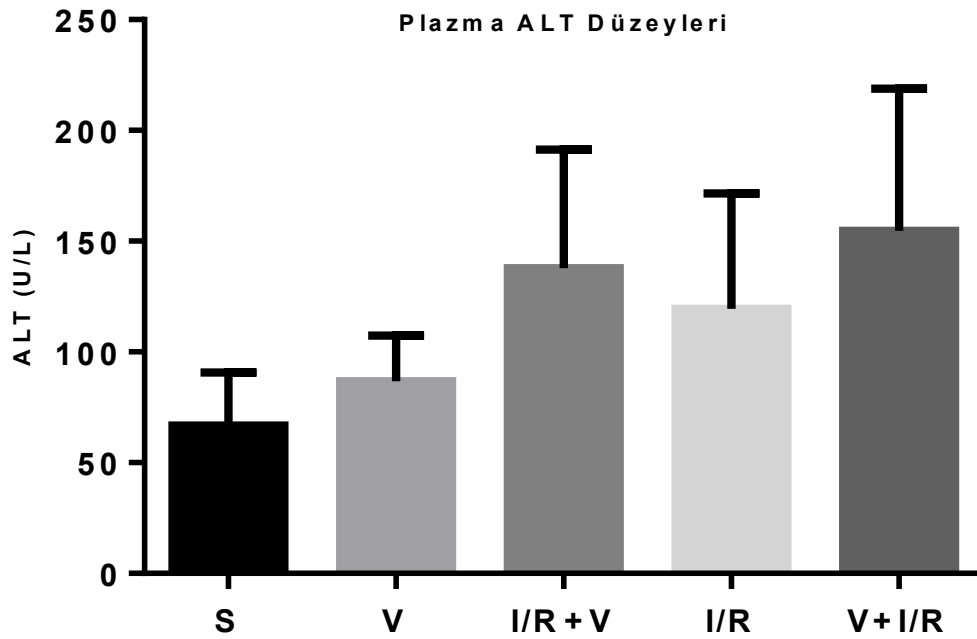
Şekil 4.13. Plazma LDH düzeyleri

Değerler ort \pm SD olarak verildi.

$p<0.05$: [(S)-(V)], [(V)-(I/R+V)]

4.14. Plazma ALT Düzeyleri

Plazma ALT düzeyleri değerlendirildiğinde, I/R grubu, I/R+V grubu ve V+I/R grubu plazma ALT düzeylerinin sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü. İskemi bütün gruplarda plazma ALT düzeylerinde yükselmeye neden oldu. En fazla yükselme V+I/R grubunda değerlendirildi. (Şekil 4.14)



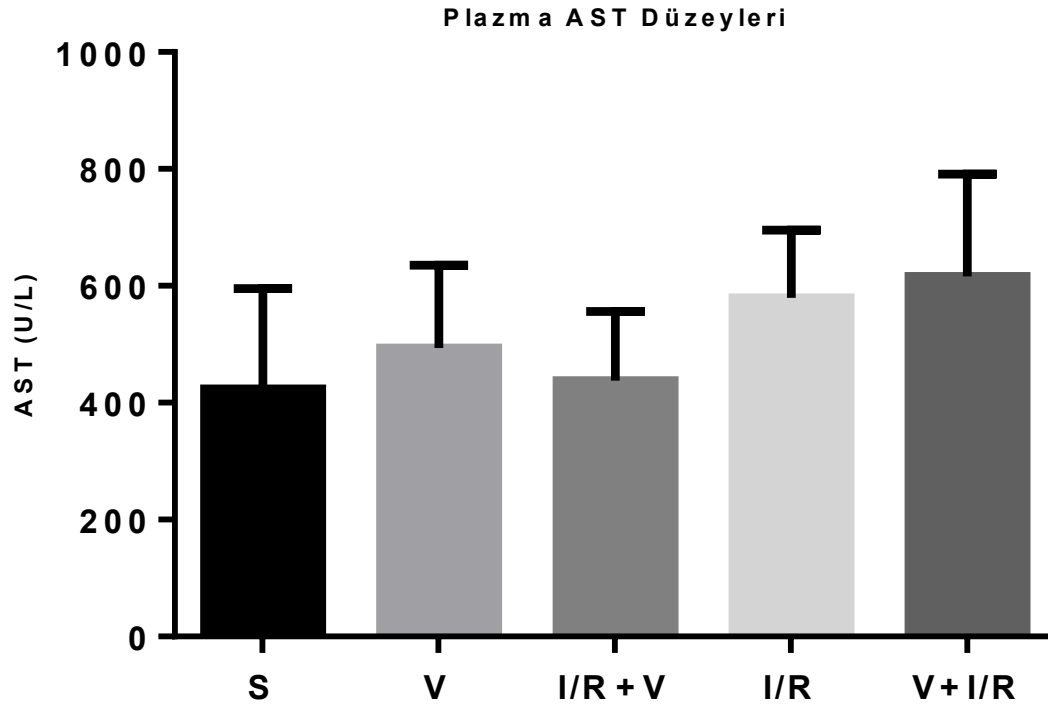
Şekil 4.14. Plazma ALT düzeyleri

Değerler ort \pm SD olarak verildi.

$p < 0.05$: [(S)-(I/R+V)], [(S)-(I/R)], [(S)-(V+I/R)]

4.15. Plazma AST Düzeyleri

Plazma AST düzeyleri değerlendirildiğinde, en yüksek değer V+I/R grubunda ölçülmekle birlikte istatistiksel olarak hiçbir grup arasında anlamlı fark görülmedi. (Şekil 4.15)



Şekil 4.15. Plazma AST düzeyleri

Değerler ort \pm SD olarak verildi.

5. TARTIŞMA

I/R hasarının fizyopatolojisi tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Bu sürecin reaktif oksijen türleri, kompleman sistemi, HO sistemi, endotel hücreleri ve nötrofiller arasındaki tam anlaşılammamış ve karmaşık bir ilişkiyle ortaya çıktığı görülmektedir [16].

İskemi döneminde, O₂ yokluğuna bağlı olarak, mitokondrial elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon kapasitesi giderek azalır [2], hücrede enerji eksikliği sonucu ATP yıkım ürünleri birikir [9]. Ancak iskeminin neden olduğu hasarın önemli bir kısmının reperfüzyon sırasında, post-iskemik dönemde olduğu düşünülmektedir. I/R hasarında serbest radikallerin oluşumu, PMNL'lerin aktivasyonu, endotel ve kompleman sistemi gibi major komponentlerin rol oynadığı bilinmektedir [220].

İskemi süreci içerisinde biriken bazı toksik metabolitler, reperfüzyon fazında dolaşıma katılarak, iskemiye maruz kalan dokuda ve uzak organlarda sistemik inflamatuvar bir yanıt oluşturmaktadırlar. Etkilenen dokularda sıklıkla nötrofil infiltrasyonu gözlenir [5].

Gastrointestinal sistem I/R hasarına karşı son derecede hassastır [7]. I/R boyunca intestinal bariyerin zedelenmesi, bakterilerin ve bakteri ürünleri olan endotoksinlerin transloke olmasına yol açar. Bu maddelerin sistemik disseminasyonu, uzak organ hasarının oluşumu ile ilişkilidir. Endotoksinler, çeşitli sitokinleri ve TNF-alfa gibi diğer bazı enflamatuvar medyatörleri salgılatmak üzere makrofajları stimüle ederek [10,11] "Sistemik İnflamatuvar Yanıt" ya da "Çoklu Organ Disfonksiyonu Sendromu"nun ortaya çıkmasına neden olur. Proinflamatuvar sitokinler, intestinal I/R olayının yerel ve uzak organ hasarı oluşturmasında önemli role sahiptirler [14].

Park ve ark. hepatik I/R sonrası ortaya çıkan toksinler ve serbest oksijen radikallerinin karaciğerin yanısıra akciğer, böbrek ve kalp gibi uzak organ ve dokuları da etkilediğini göstermişlerdir [221]. Yine literatürde karaciğer dokusundaki I/R'nin; kalp ve akciğer gibi uzak organların hasarına neden olduğunu belirten başka çalışmalar da mevcuttur [222,223].

Çalışmamızda, superior mezenterik arterin oklüzyonu şeklinde ince bağırsakta iskemi ve arkasından reperfüzyon yaparak uzak organ olarak tanımladığımız karaciğer ve böbrek dokularındaki etkilerini, oksidan stres, antioksidanlar ve organ fonksiyonları açısından

değerlendirmeye çalıştık. Ayrıca ince bağırsakta oluşturduğumuz I/R sürecinin farklı dönemlerinde sistemik VEGF uygulaması yaparak VEGF'nin I/R'nun uzak organlarda oluşturduğu hasar üzerine etkisini araştırdık.

VEGF, vaskülojenez ve anjiogenezde önemli bir mediatördür [17]. Hipoksinin VEGF ve reseptörlerinin yapımını indüklediği, VEGF'in ise morfogenez ve kemotaksiste önemli roller üstlendiği [17], endotel hücrelerini apoptozise karşı koruduğu [20], NO üretimini stimüle ederek vasküler permeabilite ve anjiogenezisi arttırdığı bilinmektedir [21,22]. Literatürde farklı dokularda I/R hasarının azaltılması amacı ile kullanılan bu ajanın sadece vaskülojenez ve anjiogenez özelliği ile değil antioksidan ve vazodilatatör etkileri ile de fayda sağladığı düşünülmektedir [23]. Nitekim Öz Oyar ve arkadaşları VEGF'nin I/R hasarı üzerinde antioksidan etki gösterdiğini belirtmişlerdir [24]. Bu bilgiler VEGF'in iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak oluşan oksidatif stres ve serbest radikallerin oluşumu ile yakından ilgili olduğunu göstermektedir.

Poynter ve arkadaşları kalpte iskemik hasara karşı korumada kısmen VEGF'in etkili olduğunu, VEGF üretiminin HIF-1a transkripsiyon düzeyi ile regüle edildiğini, HIF-1a aktivasyonu ile VEGF üretiminin arttığını belirtmişlerdir [224].

Pande ve arkadaşları da meme kanserli hastalarda VEGF'in potent bir anjiyogenik sitokin olduğunu ve yüksek VEGF seviyeleri ile artmış oksidatif hasar ve azalmış antioksidan seviyeleri arasında paralellik olduğunu göstermişlerdir [225].

Çalışmamızda superior mezenterik arterin oklüzyonu şeklinde ince bağırsakta iskemi gerçekleştirilmiştir. İnce bağırsak iskemisi meydana getirmek için seçilen model literatürdeki birçok çalışmada kullanılmıştır [226] .

I/R hasarındaki temel mekanizma iskemi sonrası reperfüzyon geliştiğinde dokulara oksijenin ulaşması ile serbest oksijen radikallerinin oluşmasıdır. Oluşan serbest oksijen radikalleri, nötrofil, endotel hücreleri ve hasarlanmış hücre membranındaki yağ asit radikalleri ile etkileşerek lipid peroksidasyon reaksiyonunu artırır ve üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonundan MDA meydana gelir [227]. Stabil bir molekül olan MDA düzeyi ölçümü ile membran hasarı derecesi hakkında fikir sahibi

olunabilir. Bu yüzden oksidatif stres durumlarında biyomarker olarak MDA kullanılır [228].

Ahmadiasl ve ark, böbrek dokusunda yaptıkları I/R çalışmalarında MDA değerlerinin önemli şekilde artış gösterdiğini rapor etmişlerdir [229]. Kadkhodae ve ark. da sıçanlarda karaciğer dokusunda yaptıkları I/R modeli sonrası, uzak organ olarak böbrek fonksiyonlarında ve enflamatuar endekslerde bozulma ve böbrek dokusu MDA düzeylerinde anlamlı olarak artış olduğunu tespit etmişlerdir [230].

Çalışmamızda ince bağırsakta yaptığımız I/R modelinde uzak organ olarak gerek böbrek gerekse karaciğer dokularında reperfüzyon sonrası beklenildiği üzere ve literatürle uyumlu olarak MDA düzeylerinde sham grubuna kıyasla anlamlı ölçüde artış tespit ettik. Yine çalışmamızda her iki dokuda VEGF uygulaması yapılan gruplarda (I/R+V ve V+I/R) MDA düzeylerinin iskemi grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azaldığını tespit ettik. En düşük MDA değerlerini ise VEGF'nin iskemi sonrası verildiği grupta (I/R+V) ölçtük. Bu sonuçlar bize VEGF'nin, I/R'nun neden olduğu oksidatif hasara karşı koruyucu etkisinin iskemi yapılmadan önce uygulanması durumunda daha belirgin olarak ortaya çıktığını göstermektedir.

NO gaz halinde bir molekül olup; vazodilatasyon, sinirsel ileti, anti-mikrobiyal ve antitümör aktivitelerini içeren çeşitli fonksiyonlara aracılık etmektedir. I/R hasarında NO tam olarak mekanizması bilinmese de anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. NO, süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturmaktadır. Peroksinitrit ise hem I/R hasarının hemde hipoksi-reoksijenizasyon hasarının patofizyolojisinde yer almaktadır. iNOS'un hasar aşamasında rol oynadığı ve iNOS inhibitörlerinin veya iNOS yokluğunun bu hasarı azalttığı görülmektedir [231-233]. eNOS'un ise özellikle vasküler regülasyon başta olmak üzere çeşitli mekanizmalarla I/R hasarını önlediği ifade edilmektedir [234].

Korkmaz ve ark. böbrek I/R hasarı oluşturdukları modelde, iNOS inhibisyonunun I/R grubunda kontrol grubuna kıyasla plazma nitrit/nitrat düzeylerinde belirgin bir artış meydana getirdiğini tespit etmişlerdir [235].

Çalışmamızda, I/R yapılan bütün gruplarda (I/R, I/R+V ve V+I/R) , böbrek dokusu NO_x düzeyleri Sham ve VEGF (V) gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu. En belirgin artış VEDF uygulamasının yapılmadığı I/R grubunda kaydedildi. Karaciğer dokusunda ise sonuçlar biraz farklı idi. I/R uygulaması doku NO_x düzeylerini biraz arttırmakla birlikte anlamlı bir değişikliğe neden olmadı.

NO, karaciğerdeki I/R sürecinde önemli mediyatörlerden biridir. Erken faz I/R da sitotoksik etki yaparken, geç faz I/R da NO'nun endojen olarak üretimi nedeniyle sitoprotektif bir role sahip olduğu tespit edilmiştir [236].

Miranda ve arkadaşlarının karaciğer I/R modeli yaptıkları çalışmalarında; 1 saat iskemi, 2 saat reperfüzyon yapılan grupta NO seviyesinin arttığı, 1 saat iskemi, 6 saat reperfüzyon yapılan grupta ise NO seviyesinin azaldığı bulunmuştur [236].

Çalışmamızda 90 dk'lık iskemi ve 4 saatlik bir reperfüzyon dönemi sonrası doku örnekleri alınmıştır. Dolayısıyla reperfüzyon süremiz literatürdeki bu örnek çalışmaya göre daha kısadır. Ayrıca çalışmamızda direk karaciğerde değil, ince bağırsakta I/R modeli oluşturulmuştur. Her iki nedenden ötürü çalışmamızda karaciğer dokusu NO_x düzeylerinde I/R sonrası belirgin bir değişiklik tespit edememiş olabiliriz.

Emre ve ark. da böbrek I/R hasarının karaciğer üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında NOS inhibitörü L-NAME, endotelin reseptör inhibitörü BQ-123 ve L-arjinin kullanılmasının karaciğer dokusunda kontrol ve I/R hasarı oluşturulan gruplar arasında doku nitrit/nitrat (NO_x) seviyesinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığını bildirmişlerdir [237].

Çalışmamızdaki bulgular Emre ve ark.ların çalışmalarındakine benzerlik göstererek; karaciğer dokusu NO_x düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

SOD, süperoksit serbest radikalının H₂O₂ ve O₂ dönüşümünü katalizleyen bir antioksidan enzimdir. Somuncu ve ark. [238] tavşan overinde yaptıkları I/R modelinde, SOD enzim düzeylerinde azalma kaydetmişlerdir. Çalışmamızda I/R uygulaması gerek böbrek gerekse karaciğer dokuları SOD düzeylerinde belirgin bir azalmaya neden oldu. Bu azalma böbrek

dokusunda daha belirgin idi. Gerek I/R öncesi (V+I/R), gerekse I/R sonrası (I/R+V) VEGF uygulaması her iki dokuda da azalan SOD düzeylerinde artış yapmakla birlikte bu artışın böbrek dokusu I/R+V grubunda çok daha belirgin olması dikkat çekici idi.

Bilindiği üzere GSH çok önemli bir antioksidan olup serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. I/R hasarında doku GSH'in tüketildiği ile ilgili yayımlar bulunmaktadır [239,240]. Nijmeh ve ark. [241] iskeminin indüklediği angiogenesis çalışmalarında GSH düzeyinin azaldığını tespit etmişlerdir. Azalan GSH düzeyine bağlı olarak patolojik durumlar ortaya çıkmaktadır. Başka bir deneysel çalışmada ise Sezgin ve ark. sıçanlarda böbrek iskemisine bağlı olarak doku GSH düzeylerinin azaldığını belirtmişlerdir [242].

Seifi ve ark [243] 90 dk iskemi, 4 sa reperfüzyon yaptıkları karaciğer I/R modelinde, uzak organ olarak böbrek hasarına karşı Pentoxifylline ve N-Acetylcysteine'in koruyucu etkisini araştırmışlardır. Çalışmada antioksidan olan GSH düzeylerinin sham grubu ile karşılaştırıldığında; I/R grubunda azalma olduğunu tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda literatürdeki çalışmalara benzer şekilde, I/R uygulaması gerek karaciğer gerekse böbrek dokusunda GSH düzeylerinde azalmaya neden oldu. VEGF verilmesi her iki dokuda da azalan GSH düzeylerinde bir miktar artma meydana getirmekle birlikte bu artma ve azalmalar sham grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuca ulaşmadı ve gruplar arasında da anlamlı bir fark tespit edilemedi.

CAT da vücutta doğal olarak oluşmakta ve SOD ile kombine şekilde etkimektedir. Esas olarak peroksizomlarda bulunmakla birlikte az olarak da sitozolde ve mikrozomal yapıda bulunur. H₂O₂ parçalayarak su ve oksijen oluşturur. Böylelikle OH⁻ serbest radikali oluşumu önlenmiş olur [244]. Somuncu S ve ark. [238] tavşan over modeli üzerinde yaptıkları I/R hasarında, CAT enzim düzeylerinde azalma kaydetmişlerdir. Güneli ve ark. da intestinal I/R modelinde dokudaki CAT düzeylerinin sham grubuna kıyasla I/R grubunda düştüğünü göstermişlerdir [9]. Ancak literatürde CAT aktivitesinin, tedavi gruplarında I/R grubuna göre düşüş gösterdiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur [245,246]

Mun ve ark.[247] da deneysel böbrek I/R modelinde doku SOD ve katalaz düzeylerinin yükseldiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda böbrek dokusu CAT aktivitesi I/R grubunda; sham ve I/R+V tedavi grubuna göre yüksek, V+I/R grubuyla ise hemen hemen aynı düzeylerde bulundu. Ayrıca böbrek dokusunda I/R grubu ile kıyaslandığında, I/R sonrası VEGF uygulanan grubun CAT düzeylerinde belirgin bir düşüş olduğu görüldü. Karaciğer dokusu CAT düzeyleri ölçümlerinde ise I/R grubunda bir miktar azalma olmakla birlikte, hiçbir grup arasında anlamlı bir fark yoktur.

Çalışmamızda barsak I/R modelinde uzak organ olarak böbreklerdeki olası hasarı incelemek amacıyla plazma üre ve kreatinin düzeylerine de baktık. I/R uygulaması bütün gruplarda plazma üre düzeylerini kontrollerine göre anlamlı olarak yükseltti. Gerek iskemiden önce (V+I/R), gerekse iskemiden sonra (I/R+V) VEGF uygulaması, I/R'nun yükselttiği üre düzeylerinde bir miktar azalmaya neden olmakla birlikte bu azalmalar anlamlı değildi. Tek başına VEGF uygulaması (V grubu) ise plazma üre düzeyleri açısından Sham grubu ile (S) karşılaştırıldığında herhangi bir değişikliğe neden olmadı. Plazma üre düzeyleri için elde ettiğimiz bu sonuçlarımız I/R hasarı açısından değerlendirildiğinde literatürle uyumlu görünmektedir. Nitekim Aydoğdu ve ark. yaptıkları çalışmada böbrek I/R modelinde plazma üre düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir [248]. Ayrıca sıçanlarda 45 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uygulayan Wei ve ark. da plazma üre düzeylerinde artma olduğunu ifade etmektedirler [249]. Ancak çalışmamızda VEGF'nin plazma üre düzeyleri açısından I/R hasarına karşı koruyucu bir etkisinin olduğunu söyleyememekteyiz.

I/R hasarı ve plazma kreatinin düzeyleri açısından literatür incelendiğinde; Efrati ve ark. sol böbrek nefrektomisi yaptıkları çalışmada 1, 24, 48, 168 saat reperfüzyon sürecinde plazma kreatinin düzeylerini ölçmüşlerdir. Araştırmacılar 24 saatlik reperfüzyon süresindeki ölçümlerde kreatinin düzeylerinde artma, olduğunu bildirmişlerdir [250]. Wever ve ark. ise yaptıkları metaanalizde böbrek iskemik hasarı sonrası kreatinin yüksekliğinin olduğunu göstermişlerdir [251].

Plazma kreatinin düzeyleri açısından sonuçlarımız değerlendirildiğinde özellikle I/R ve V+I/R gruplarımızda kreatinin düzeylerinin yükselmiş olduğunu gördük. VEGF

uygulamasının I/R'dan sonra yapıldığı grupta ise plazma kreatinin düzeyinde anlamlı bir azalma tespit ettik.

Özellikle karaciğer hasarının değerlendirilmesinde önemli parametrelerden olan ALT, AST ve LDH verilerimiz değerlendirildiğinde, I/R gruplarında ALT düzeylerinin arttığını, VEGF uygulamasının ise plazma ALT düzeyleri üzerinde kontrollerine göre bir miktar daha artışa neden olduğunu gördük. Benzer şekilde plazma AST düzeylerinde de I/R uygulaması kontrole göre bir miktar artışa neden olmakla birlikte gruplar arasında anlamlı bir değişiklik göstermedi.

Topaloğlu ve ark yaptığı 30 dakikalık iskemi sonrası reperfüzyon uygulanan I/R grubunda serum ALT, AST ve LDH düzeyinde artma olduğunu ifade etmişlerdir [252], Kadkhodae ve ark. ise sıçanlarda karaciğerde iskemiye takiben 4 saatlik reperfüzyon sonrası uzak organ olarak böbrek fonksiyonlarında, AST, ALT, ve LDH seviyelerinde anlamlı olarak yükselme olduğunu belirtmişlerdir [230]. Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda ise I/R gruplarında özellikle ALT ve bir miktarda AST düzeylerinin arttığını, görmekteyiz.

Zhou ve ark ise 30 dk karaciğer iskemi ve 24h reperfüzyon sonrası plazma AST, ALT, BUN ve Kreatin düzeyinin sham grubuna göre anlamlı olarak arttığını göstermişlerdir [253].

Behrends ve ark. hepatik I/R'den (75 dk iskemi 24 saat reperfüzyon) sonra gelişen uzak organ böbrek hasarında, I/R grubunda, sham grubuna göre AST ve ALT seviyelerinin istatistiki olarak anlamlı derecede azaldığını, kreatin ve BUN seviyelerinin ise anlamlı olarak arttığını göstermişlerdir [254]. Chatterjee ve ark. sıçanlarda böbrek I/R hasarında yaptıkları çalışmada serum AST düzeyinin arttığı buna karşın, karaciğerdeki hasarın bir göstergesi olarak kullanılan ALT düzeyinin değişmediği bildirilmiştir [232].

Görüldüğü üzere literatürdeki mevcut veriler karaciğer veya böbrek I/R uygulaması sonucunda elde edilen bulgulardır ve reperfüzyon süreleri de çalışmamızdaki reperfüzyon süresinden oldukça uzundur. Biz çalışmamızda bağırsakta iskemi ve arkasından 4 saatlik bir reperfüzyon yaparak uzak organ olarak böbrek ve karaciğer üzerindeki etkileri değerlendirdik. Bu nedenle bu organlardaki fonksiyonel bozuklukların değerlendirilmesinde kullanabileceğimiz ALT, AST ve LDH bulgularımız gerek

reperfüzyon süremizin diğer çalışmalara göre daha kısa olması, gruptaki denek sayımızın az olması ve gerekse bazı gruptaki standart sapmaların yüksek olması nedeniyle tam bir yorum yapamamamıza neden olmaktadır.

Dolayısıyla gerek oksidatif stres gerekse plazmadaki diğer parametrelerdeki bazı sonuçlarımızın literatürdeki mevcut bulabildiğimiz çalışmalardan farklı olmasını; I/R süremizin uzunluğundaki değişikliğe, farklı koruyucu madde kullanmamıza ve direk I/R yapılan dokuda değil de uzak organlardaki etkileri incelememize bağlamaktayız.

6. SONUÇ

Yapmış olduğumuz bu çalışmanın, intestinal I/R'nun neden olabileceği uzak organ hasarlarına karşı VEGF'nin olası koruyucu etkilerinin araştırılması açısından literatürdeki ilklerden biri olduğunu düşünmekteyiz. Bulgularımızın hepsi değerlendirildiğinde VEGF'nin ince bağırsak dokusunda oluşturulan I/R modelinde uzak organ dokularında meydana gelebilecek hasara karşı koruyucu/antioksidan etkilerinin olabileceğini gördük. Ayrıca bulgularımız VEGF'nin, I/R'nun neden olduğu uzak organlardaki oksidatif hasara karşı koruyucu etkisinin iskemi yapılmadan önce uygulanması durumunda daha belirgin olarak ortaya çıktığını göstermektedir.

Çalışmamızda böbrek ve karaciğer sonuçlarına bakıldığında bu dokulardaki artış ve azalışların çoğunlukla uyum gösterdiği ve birbirini desteklediği görülmektedir.

Bu alanda yapılacak yeni çalışmalar VEGF'nin I/R hasarına karşı koruyucu etkilerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacağı gibi, klinikte uygulamaya girmesi halinde de hastalık tedavi planlanmasında yeni ufuklar açabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Zimmerman, B.J., Granger, D.N. (1992). Reperfusion injury. *Surgical Clinics of North America*, 72: 65-83.
2. Jennings, R.B., Reimer, K.A. (1991). The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annual Review of Medicine*, 42: 225-246.
3. Parks, D.A., Williams, T.K. and Beckman, J.S. (1988 May). Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *American Journal of Physiology*, 254(5 Pt 1):G768-74.
4. Kirshner, D.L., Kirshner, R.L., Heggeness, L.M., De- Weese, J.A. (1989). Spinal cord ischemia: An evaluation of pharmacologic agents in minimizing paraplegia after aortic occlusion. *Journal of Vascular Surgery*, 9:305-8.
5. Parks, D.A., Granger, D.N.(1986). Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *American Journal of Physiology*, 250: 749-753.
6. İlgi, S. (1996).Gastrointestinal Sistem Anatomisi. İçinde: Sayek İ. (ed): *Temel Cerrahi* (2.baskı). Güneş Kitabevi, Ankara, S. 899-901.
7. Mojzis, J., Hviscova, K., Germanova, D., Bukovicova, D. and Mirossay, L. (2001). Protective effect of quercetin on ischemia/ reperfusion-induced gastric mucosal injury in rats. *Physiological Research*, 50(5):501-506.
8. Mallick, I. H., Yang, W., Winslet, M.C., and Seifalian, A.M. (2004). Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Digestive Diseases and Sciences*, 49(9):1359-1377.
9. Guneli, E., Cavdar, Z., Islekel, H., Sarioglu, S., Erbayraktar, S., Kiray, M., ve Sokmen, S. (2007). Erythropoietin protects the intestine against ischemia/reperfusion injury in rats. *Molecular Medicine*, 13(9-10):509-517.
10. Börjesson, A., Norlin, A., Wang, X. and Anderson, R.(2000). TNF-alpha stimulates alveolar liquid clearance during intestinal ischemia-reperfusion in rats. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 278: 3-12.
11. Rosile, D., Kong, S.E. and Hall, J.C.(2002). McCauley. Influence of glycine on intestinal ischemia-reperfusion injury. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 26 (2): 130- 135.
12. Gulec, B., Coskun, K., Yigitler, C., Yigit, T., Aydin, A., Oner, K. (2008). Ischemia-reperfusion injury in the liver during renal transplantation: does perfusion solution play any role? *Transplantation Proceedings*, 40:59–62.
13. Golab, F., Kadkhodae, M., Zahmatkesh, M., Ghaznavi, R., Arab, H.A., Seifi, B., Soleimani, M. (2009). Hepatic changes during various periods of reperfusion after induction of renal ischemia in rats. *Transplantation Proceedings*, 41, 2749- 2750.

14. Akkoç, H. (2008). Ischemia-Reperfusion-Induced Injury of Myocardium. *Dicle tıp dergisi*, 35(3); 211-215.
15. Yamagishi, Y., Horie, Y., Kato, S., Kajihara, M. (2002). Ethanol modulates gut ischemia/reperfusion induced liver injury in rats. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 282: 640-646.
16. Vardanian, A.J., Busuttil, R.W., Kepiec-Weglinski, J. (2008). Molecular mediators of liver Ischemia and Reperfusion Injury: A Brief Review. *Molecular Medicine*, 14(5-6):337-345.
17. Bikfalvi, A. (2004). Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Biochemical Pharmacology*, 68:1017-1021.
18. Lecouter, J., Lin, R., Ferrara, N. (2004). EG-VEGF: a novel mediator of endocrine-specific angiogenesis, endothelial phenotype, and function. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1014: 50-7.
19. Yan, G., Zhou, X.Y., Cai, S.J., Zhang, G.H., Peng, J.J., Du, X. (2008). Lymphangiogenic and angiogenic microvessel density in human primary sporadic colorectal carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 14(1): 101-7.
20. Kleespies, A., Guba, M., Jauch, K.W., Bruns, C.J. (2004). Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *Journal of Surgical Oncology*, 87: 95-104.
21. Wink, D.A., Vodovotz, Y., Laval, J. (1998). The multifaceted roles of nitric oxide in cancer. *Carcinogenesis*, 19: 711-721.
22. Das, U.N. (2002). A radical approach to cancer. *Medical Science Monitor*, 8: 79-92.
23. Zachary, I. (1998). Molecules in focus VEGF. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 30: 1169-74.
24. Oz Oyar, E., Kardes, O., Korkmaz, A., Omeroglu, S. (2009). Effects of vascular endothelial growth factor on ischemic spinal cord injury caused by aortic cross-clamping in rabbits. *Journal of Surgical Research*, 151(1):94-9.
25. Moore, D. (2007). Clinically Oriented Anatomy. *Bobel Lippincott Williams & Wilkins*, Baltimore USA. Sayfa 279-349.
26. Yıldırım, M. (2011). *Tıp fakültesi Öğrencileri için Gray's Anatomi*. Ankara. Elsevier Limited. syf 355-359 s.
27. Odar, İ.V.(1986). *Anatomi ders kitabı*. 7. Baskı, Ankara: Hacettepe Taş Kitapçılık, 230-277s.
28. Arıncı, K. ve Elhan, A. (1997). *Anatomi*, Güneş Kitapevi, Ankara, 392-398 s.
29. Sampaio, F. J. B. (1996). Surgical anatomy of the kidney. In: Smit A, Badlani G, Bagley D, Clayman R, Jordan G, Kavoussi L, Lingeman J, Preminger G, Segura J.

- Eds Smith's Textbook of endourology. St Louis. Missouri. *Quality medical publishing*, 153-184.
30. Clayman, R. V., Surya V., Hunter, D., Castaneda-Zuniga, W. R., Miller, R., Coleman, C., Amplatz, K., and Lange P. (1984). Renal vascular complications associated with the percutaneous removal of renal calculi. *Journal of Urology*, 132: 228-230.
 31. Sampaio, F. J. B., Zanier, J. F. C., Aragao, A. H. M., and Favorito, L. A. (1992). Intrarenal access: Threedimensional anatomical study. *Journal of Urology*, 148; 1769-1773.
 32. Sampaio, F. J. B., and Aragao, A. H. M. (1990). Anatomical relationship between the intrarenal arteries and the kidney collecting system. *Journal of Urology*, 143: 679-681.
 33. Kabalin, J. N. (1998). Surgical anatomy of the retroperitoneum, kidneys, and ureters. In: Walsh P C, Retik A B, Vaughan E D, Wein A J. Eds. *Campbell's Urology*. 7th. Ed., Vol. 1, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 49-88.
 34. Palace, G. P., Del Vecchio, P. J., and Horgan, M.J. (1993). *American Review of Respiratory Disease*, 147.
 35. Liu, M., and Agreda, P. M. (2009). Crow. Effects of delayed rapamycin treatment on renal fibrosis and inflammation in experimental ischemia reperfusion injury. *Transplantation proceedings*, (41):4065-71.
 36. Junqueira, L.C., Carneiro, J., and Kelley, R.O. (1992). Urinary System: *Basic Histology*. Yedincibaskı. Appleton&Lange, Lebanon s.371-93.
 37. Carden, D.L., Granger, D.N. (2000). Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *Journal of Pathology*, 190:25-26.
 38. Dere, F. (1994). *Karaciğer anatomisi*, 3: 633-635.
 39. Couinaud, C. (1953). le foie . Etudes anatomiques et chirurgicales. *Paris mason & cie*, p1.
 40. Goldsmit, N.A. (1987). Woodburne R T .Surgical anatomy pertaining to liver resection. *Surgery, gynecology & obstetrics*, 195:310-318.
 41. Aokainc (October 24, 2013) Anatomy Systems >> Liver Anatomy >> liver anatomy
 42. Schwartz, S.I. (2004). Liver. In: Timothy, S., Steven, A.C. (eds). *Schwartz's Principles of Surgery*. McGraw-Hill, Philadelphia , pp.1139-87.
 43. Townsend, M.C., Beauchamp, R.D., Evers, B.M. (2004). Liver. In: Meyers WC, Chan RS (eds). *Sabiston Textbook of Surgery*. WB Saunders Company, Philadelphia, pp.997-1059.
 44. Phillip, S., and Gelman, S. (2010). Hepatic Physiology and Pathophysiology. In: Miller RD, Eriksson LI, Fleisher LA (eds), *Miller's Anesthesia* (7th ed). Churchill Livingstone, Philadelphia, pp.411-40.

45. D'Angelica, M., Fong, Y. (2004). The liver. Ed. Townsend CM Jr, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. *Sabiston Textbook of Surgery*. 17. edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 1513-69.
46. Skandalakis, J.E., Skandalakis, P.N., Skandalakis, L.J. (2000). Çeviri: Seven, R., Yaltı, T., Erbil, Y., Değerli, Ü. *Cerrahi anatomi ve teknik. Karaciğer*. 2. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 531-72.
47. De, G.H., Rauen, U. (2007). Ischemia-reperfusion injury: processesin pathogenetic networks: a review. *Transplantation Proceedings*, 39:481-4.
48. Krause, G.S., White, B.C., Aust, S.D. (1988). et al: Brain cell death following ischemia and reperfusion: a proposed biochemical sequence. *Critical Care Medicine*, 16:714-26.
49. Şener, G., Yeğen, B.Ç. (2009). İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim*, 22 (3):5-13.
50. Kumar, V., Cotran, R., Robbins, S.L. (2003). *Basic Pathology*. 7th edition, P:6-11,531-533.
51. Orrenius, S., Burkitt, M.J., Kass, G.E., Dypbukt, J.M., Nicotera, P. (1992). Calcium ions andoxidative cell injury. *Annals of Neurology*, S33-42 n. ;47:117-137.
52. Wilhelm, J. (1990). Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Universitatis Carolinae. Medica. Monographia*, 137:1-53.
53. Udassin, R., Vromen, A., Haskel, Y. (1994). The time sequence of injury and recovery following transient reversible intestinal ischemia. *Journal of Surgical Research*, 56: 221-225.
54. Otamiri, T. (1989). Oxygen radicals, lipid peroxidasyon, and neutrophil infiltration after small intestinal ischemia and reperfusion. *Surgery*, 105:593-597.
55. Schoenberg, M.H., Muhl, E., Sellin, D. (1984). Posthypotensive generation of superoxide free radicals-possible role in the pathogenesis of the intestinal mucosal damage. *Acta chirurgica Scandinavica*, 150:301-309.
56. Schoenberg, M.H. (1993). Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Critical Care Medicine*, 21:1376- 1386.
57. Acworth, I.N., Bailey, B. (1997). Reactive Oxygen Species. In: *The handbook of oxidative metabolism*. Massachusetts: ESA Inc., p. 1-1 to 4-4.
58. Eliaçık, M., Turhan, G. (2000) Hücresel Düzeyde Hipoksi, *Kumar Cotran Robbins In Pathology Çeviri: Uğur Çevikbaş*. İstanbul: Elma Basım, s.7-23.
59. Akcetin, Z., Busch, A., Kessler, G., Heynemann, H., Holtz, J. Brömme, H.J. (1999). Evidence for only a moderate lipid peroxidation during ischemia-reperfusion of rat kidney due to its high antioxidative capacity. *Urological Research*, 27: 280-284.

60. Sorensen, V., Nilsson, U., Pettersson, S., Schersten, T., Sjöquist, P.O., Svensson, L., Jonsson, O. (1997). Effects of pretreatment with an indole compound on lipid peroxidation in the cortex and medulla of rabbit kidneys after ischemiareperfusion. *Acta Physiologica Scandinavica*, 161: 403-409.
61. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (2003). *Free Radicals in Biology And Medicine*, 3rd ed: Oxford University Press.
62. Esmaeili, M.A., Yazdanparast, R. (2004). Hypoglycaemic effect of Teucrium polium: studies with rat pancreatic islets. *Journal of Ethnopharmacology*, 95: 27-30.
63. Chauhan, S.S., Ojha, S., Mahmood, A. (2011). Modulation of lipid peroxidation and antioxidation defense systems in rat intestine by subchronic fluotide and ethanol administration. *Alcohol*, 45: 663-72.
64. Hatungil, R. (2002). Serbest radikallerin yol açtığı doku hasarı. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 3:460-9.
65. Türkyılmaz, Z. (2003). *Karaciğer iskemi-reperfüzyon zedelenmesinde pentoksifilin, dimetilsülfoksit ve eksojen melatoninin koruyucu etkilerinin karşılaştırılması* (Uzmanlık tezi). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi.
66. Urbaniak, J.R., Seaber, A.V., Chen, L. (1997). Assessment of ischemia and reperfusion injury. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 334:30-6.
67. Schoenberg, M.H., Beger, H.G. (1990). Oxygen radicals in intestinal ischemia and reperfusion. *Chemico-Biological Interactions*, 76(2):141-61.
68. Martindale, J.L., Holbrook, N.J. (2002). Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *Journal of Cellular Physiology*, 192:1-15.
69. Reiter, R.J. (1995). *Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain*. *The FASEB Journal*, 9: 526-533.
70. Rodriguez, C., Mayo, C.J., Sainz, R.M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36: 1-9.
71. Odabaşı, D. (2006). *L-Karnitin'in Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Akciğer ve Endotel Hasarı Üzerine Etkisi* (Uzmanlık tezi). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi.
72. Davies, S.J., Reichardt-Pascal, S.Y., Vaughan, D., Russel, G.I. (1995). Differential effect of ischemia reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Experimental Nephrology*, 3: 348-354.
73. Tamer, L., Polat, G., Eskandari, G., Ercan, B., Atik, U. (2000). Serbest radikaller. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1:52-8.
74. Jaeschke, H. (1995). Mechanism oxidant stress induced acute tissue injury. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 209: 104-11.

75. Akkuş, İ. (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*, Mimoza Yayınları, Konya.
76. Gunel, E., Caglayan, F., Caglayan, O., Dilsiz, A., Duman, S., Aktan, M. (1998). Treatment of intestinal reperfusion injury using antioxidative agents. *Journal of Pediatric Surgery*, 33(10):1536-9.
77. Moncada, S., Higgs, A. (1993). The L-arginine-nitric oxide pathway. *The New England Journal of Medicine*, 329:2002-12.
78. Vasquez-Vivar, J., Kalyanaraman, B., Martasek, P. (1998). Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: The influence of cofactors. *PNAS, Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95:9220-5.
79. Gultekin, N., Ersanlı, M., Küçükateş, E. (1996). Güncel ve etkin bir transmitter: Nitrik oksid, *Türk Kardiol Dern Ars*, 24, 311-320.
80. Kılınç, A. (2002). Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2):110-8.
81. Atalık, K.E., Doğan, N. (1997). Nitrik oksit ve fizyolojik etkileri. *Genel Tıp Dergisi*, 7(3): 167-9.
82. Palm, F., Teerlink, T., Hansell, P. (2009). Nitric oxide and kidney oxygenation. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 18: 68-73.
83. Hon, W.M., Lee, K.H., Khoo, H.E. (2002). Nitric oxide in liver diseases: friend, foe, or just passerby? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 962:275-95.
84. Szabo, C. (2003). Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicol Letters*, 140-141:105-12.
85. Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*, 344: 721-724.
86. Cotran, R. (1994). Hücre Zedelenmesi Adaptasyon. *Basic Pathology*. Cotran R, Kumar V, Robbins S. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri, 1: 3 -11.
87. Çakatay, U., Kayalı, R. (2006). Serbest radiksl biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. *Cerrahpasa Tıp Dergisi*, 37: 162-7.
88. Sarı, S. (2008). *Farelerde ehrlich asit solid tümör modelinde thymus sipyleus ve taurinin, böbrek MDA, Glutasyon, AOPP düzeylerine ve SOD aktivitesine etkileri (tez)*. Ankara: Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
89. Kavas, (Özelçi) G. (1989). Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri* , Cilt 9, Sayı 1.
90. Huang, H.Y., Helzlsouer, K.J., Appel, L.J. (2000). The effecys of vitamin C and vitamin E on oxidative DNA damage: Results from a randomized controlled trial. *Cancer Epidemiology, Biomarkers& Prevention*, 9: 647-52.

91. Marnett, L.J. (2000). Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 21;3:361-70.
92. Grigorov, B. (2012). Reactive oxygen species and their relation to carcinogenesis. *Trakia Journal of Sciences*, (10)3: 83-92.
93. Cornelli, U. (2009). Antioksidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology*, 27: 175-94.
94. Cüre, E. (2007). *Ratlarda demir yüklenmesi ile oluşturulan oksidatif stresin önlenmesinde kafeik asit fenetil ester'in etkinliğinin araştırılması (tez)*. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi.
95. Kolanjiappan, K., Manoharan, S., Kayalvizhi, M. Measurement of rythrocyte lipids, lipid peroxidation, antioxidants and osmotic fragility in cervical cancer patients. *Clinica Chimica Acta*, 326: 143–9.
96. Korkmaz, A. (2012). *Rat ince bağırsağında oluşturulan deneysel iskemik reperfüzyon hasarlanma modelinde gelişen organ hasarlanması üzerine vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) etkisi (doktora tezi)*. Ankara: Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Entütüsü.
97. Eşrefoğlu, M. (2009). Cell Injury and Death: Oxidative Stress and Antioxidant Defense System. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 29(6),1660-76.
98. Karihtala, P., Soini, Y. (2007). Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 115:81-103.
99. Cherubini, A., Ruggiero, C., Morand, C., Lattanzio, F., Dell'aquila, G., Zuliani, G., Di Iorio, A., Andres-Lacueva, C. (2008). Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Current Medicinal Chemistry*, 15: 1236-1248.
100. Mickle, D.A., Weisel, R.D. (1993). Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *Canadian Journal of Cardiology*, 9: 89-93.
101. Virág, L., Szabó, C. (2002). The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacological Reviews*, 54: 375-429.
102. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44-84.
103. Şehirli, A.O. (2001). *Renal İskemi/Reperfüzyon Hasarında Melatonin'in Koruyucu Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. T.C. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
104. Sözman, E.Y. (2002). Yaşlanma Biyokimyası. Onat T, Emerk K, Sözman ET (editörler). *İnsan Biyokimyası*. 1.Baskı, Ankara, 667–672.

105. Cuzzocrea, S., Reiter, R.J. (2001). Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *European Journal of Pharmacology*, 426(1-2):1-10.
106. Atlı, Y. (2009). *İntestinal iskemi Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Alfa Lipoik Asit Ve Quersetin'in Koruyucu etkilerinin Araştırılması*. Uzmanlık Tezi, K.Maraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilimdalı.
107. Gilgun-Sherki, Y., Rosenbaum, Z., Melamed, E., Offen, D. (2002). Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state. *Pharmacological Reviews*, 54(2):271-84.
108. Vincent, A.M., Russell, J.W., Low, P., Feldman, E.L. (2004). Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*, 25:612-28..
109. Oral, T. (2002). *İnsan biyokimyası*. Ankara: Palme Yayıncılık, 665-74.
110. Reiter, R.J., Melchiorri, D., Sewerynek, E., Poeggeler, B., Barlow-Walden, L., Chuang, J., Ortiz, G.G., Acuña-Castroviejo, D. (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of Pineal Research*, 18: 1-11.
111. Shidhu, P. (2004). Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 150: 199–209.
112. Liebert, J., Matlawska, I., Bylka, W. (2005). Protective effect of aquilegia vulgaris on APAP induced oxidative stress in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 97: 351–358.
113. Chae, H.Z., Kang, S.W., Rhee, S.G. (1999). Isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in presence of thioredoxin. *Methods in Enzymology*, 300, 219–226.
114. Nordberg, J., Arner, E.S.J. (2001). Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11): 1287-1317.
115. Schafer, F.Q., Buettner, G.R. (2001). Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radical Biology and Medicine*, 30:1191-1212.
116. Takagi, Y., Horikawa, F., Nozaki, K., Sugino, T., Hashimoto, N., (1998). et al. Expression and distribution of redox regulatory protein, thioredoxin during transient focal brain ischemia in the rat. *Neuroscience Letters*, 251: 25-28.
117. Nakamura, H. (2004). Thioredoxin as a key molecule in redox signaling. *Antioxidants Redox Signaling*, 6(1): 15-17.
118. Jordan ,A., Reichard, P. (1998). Ribonucleotide reductases. *Annual Review of Biochemistry*, 67:71-98.
119. Powis, G., Mustacich, D. and Coon, A. (2000). The role of the redox protein thioredoxin in cell growth and cancer. *Free Radical Biology and Medicine*, 29:312-322.

120. Theodorus, P.M., Akerboom, Sies, H. (1981). Assay of Glutathione, Glutathione disulfide, and Glutathione Mixed Disulfides in Biological Substances. *Methods in Enzymology*, 77, 373-382.
121. Wall, J. (2000). Antioxidants In Prevention Of Reperfusion Damage Of Vascular Endothelium. *Trinity Student Medical Journal*, 1:67-70.
122. Droge, K., Schulze-Osthoff, S., Mihm, D., Galter, H., Schenk, H.P., Eck S. Roth, Gmunder, H. (1994). Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. *Federation of American Societies for Experimental Biology journal*, pp. 1131–1138.
123. Haddad, J.J., Olver, R.E., Land, S.C. (2000). Antioxidant/pro-oxidant equilibrium regulates HIF- 1 and NF-B redox sensitivity. Evidence for inhibition by glutathione oxidation in alveolar epithelial cells, *The Journal of Biological Chemistry*, pp. 21130–21139.
124. Halliwell, B. (1996). Antioxidants In human health and disease. *Annual Review of Nutrition*, 16:33-50.
125. Frei, B., Kim, C.M., Ames, N.B. (1990). Ubiquinol-10 is an effective lipidsoluble antioxidant at physiological concentrations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87 (12), 4879–4883.
126. Ernster, L., Forsmark, P., Nordenbrand, K. (1992). The mode of action of lipidsoluble antioxidants in biological membranes: relationship between the effects of ubiquinol and vitamin E as inhibitors of lipid peroxidation in submitochondrial particles, *Biofactors*, 3 (4), 241-248.
127. Gruszecki, W.I., Strzalka, K. (2005 May 30). Carotenoids as modulators of lipit membrane physical properties. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1740 2: 108-15.
128. Conesa, L.E., Valero, F., Nadal, J.C. ve ark. (2001). N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *American Journal of Physiology*, 281: R730- R737.
129. Dillon, J.J., Grossman, S.H., Finn, W.F. (1993). Effect of oxypurinol on renal reperfusion injury in the rat. *Renal Fuiture*, 15: 37-45.
130. Sivarajah, A., Chatterjee, P.K., Patel, N.S., Todorovic, Z., Hattori, Y., Brown, P.A., Stewart, K.N., Mota- Filipe, H., Cuzzocrea, S., Thiernemann, C. (2003). Agonists of peroxisome-proliferator activated receptor-gamma reduce renal ischemia/reperfusion injury. *American Journal of Nephrology*, 23:267-76.
131. Yazihan, N., Kavas, G.O. (2010). Protective effect of erythropoietin in renal ischemia-reperfusion injury. *The Open Drug Discovery Journal*, 2: 3-7.
132. Salehipour, M., Monobbati, A., Salahi, H., Nikeghbalian, S., Bahador, A., Marvasti, V.E. (2010). Protective effect of parenteral vitamin E on ischemia-reperfusion injury of rabbit kidney. *Urology*, 75(4): 858-61.

133. Kandilci, H.B., Gümüşel, B. (2005). Akciğerlerde iskemi-reperfüzyon hasarı ve iskemik önkoşullanma. *Hacettepe Univ Eczacı Fakültesi Dergisi*, 25(1): 35-49.
134. Gueler, F., Rong, S., Mengel, M., Park, J.K., Kiyani, J., Kirsch, T. (2008). Renal urokinase-type plasminogen activator (uPA) receptor but not uPA deficiency strongly attenuates ischemia reperfusion injury and acute kidney allograft rejection. *The Journal of Immunology*, 181: 1179-89.
135. Ragheb, A., Attia, A., Eldin, W.S., Elbarbry, F., Gazarin, S., Shoker, A. (2009). The protective effect of thymoquinone, an anti-oxidant and anti-inflammatory agent, against renal injury: A Review. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, 20(5): 741-52.
136. Aydın, O.Ö. (2006). *Kardiyopulmoner baypas sonrası gelişen böbrek hasarının risk faktörleri, hemoliz serum ferritin seviyesi ile ilişkisi* (uzmanlık tezi). İstanbul: Siyami Ersek Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
137. Aydoğdu, N., Kaymak, K., Yalçın, Ö. (2005). Sıçanlarda Böbrek iskemi reperfüzyon hasarında Nasetilsisteinin etkileri. *Fırat Tıp Dergisi*, 10(4): 151-55.
138. Paller, M.S., Hoidal, J.R., Ferris, T.F. (1984). Oxygen Free Radicals in Ischemic Acute Renal Failure in the Rat. *Journal of Clinical Investigation*, 74: 1156-64.
139. Hassoun, H.T., Grigoryev, D.N., Lie, M.L., Liu, M., Cheadle, C., Tuder, R.M., Rabb, H. (2007). Ischemic acute kidney injury induces a distant organ functional and genomic response distinguishable from bilateral nephrectomy. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 293(1):30– 40.
140. Senturk, H., Kabay, S., Bayramoğlu, G., Ozden, H., Yaylak, F., Yucel, M. (2008). Silymarin attenuates the renal ischemia/reperfusion injury-induced morphological changes in the rat kidney. *World Journal of Urology*, 26: 401-7.
141. Tanrıverdi, M.H., Karadağ, F. (2010). Akut Böbrek Yetersizliği. *Konuralp Tıp Dergisi*, 2(1) 46-52.
142. Baykara, B., Tekmen, I. (2005). Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı, *Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dergisi* Cilt 19, Sayı 3, 185 – 194,s.
143. Junqueira, L.C., Carneiro, J. (2003). *Basic Histology Text & Atlas*. Tenth Edition. USA: McGraw-Hill Companies, 332-344.
144. Kaplowitz, N. (2000). Mechanisms of liver injury. *Journal of Hepatology*, 32:39–47,p.
145. Jaeschke, H. (2003). Molecular mechanisms of hepatic ischemia reperfusion injury and preconditioning. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiologist*, 284: G15-G26.
146. Rushing, G.D., Britt, L.D. (2008). Reperfusion injury after hemorrhage: a collective review. *Annals of Surgery*, 247:929-37.

147. Birrer, R., Takuda, Y., Takara, T. (2007). Hypoxic hepatopathy: pathophysiology and prognosis. *Internal Medicine*, 46:1063-70.
148. Teoh, N.C., Farrell, G.C. (2003). Hepatic ischemia reperfusion injury: Pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 18:891–902.
149. Inglott, F.S., Habib, N.A., Mathie, R.T. (2001). Hepatic ischemia-reperfusion injury. *The American Journal of Surgery*, 181:160–161.
150. Anaya-Prado, R., Toledo-Pereyra, L.H., Lentsch, A.B., Ward, P.A. (2002). Ischemia/reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*, 105:248-58.
151. McCord, J.M. (1985). Oxygen derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine*, 312:159-63.
152. Caban, A., Oczkowicz, G., Abdel-Samad, O., Cierpka, L. (2002). Influence of Kupffer cells on the early phase of liver reperfusion. *Transplantation Proceedings*, 34:694-7.
153. Tsukamoto, H. (2002). Redox regulation of cytokine expression in Kupffer cells. *Antioxid Redox Signal*, 4:741-8.
154. Zhang, W., Wang, M., Xie, H.Y., Zhou, L., Meng, X.Q., Shi, J. (2007). et al. Role of reactive oxygen species in mediating hepatic ischemia-reperfusion injury and its therapeutic applications in liver transplantation. *Transplantation Proceedings*, 39:1332-1337.
155. Kuboki, S., Sakai, N., Tschöp, J., Edwards, M., Lentsch, A., Caldwell, C. (2009). Distinct contributions of CD4+ T cell subsets in hepatic ischemia/reperfusion injury. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 296:1054-9.
156. Jaeschke, H. (2006). Mechanisms of Liver Injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 290:1083-8.
157. Arumugam, T.V., Shiels, I.A., Woodruff, T.M., Granger, D.N., Taylor, S.M. (2004). The role of the complement system in ischemia- reperfusion injury. *Shock*, 21:401-9.
158. Nadig, N.S., Periyasamy, B., Shafizadeh, S.F. (2004). et al. Hepatocellular ultrastructure after ischemia/ reperfusion injury in human orthotopic liver transplantation. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 8: 695–700.
159. Topaloğlu, S., Abbasoğlu, O., Ayhan, A., Sökmensuer, C., Kılınç, K. (2003). Antiapoptotic and protective effects of roscovitine on ischemia- reperfusion injury of the rat liver. *Liver International*, 23:300-307.
160. Şener, G., Tosun, O., Şehirli, O. (2003). Melatonin and Nacetylcysteine have beneficial effects during hepatic ischemia and reperfusion. *Life Sciences*, 72: 2707-2718.

161. Şahin, E. (2007). *Karaciğerin Reperfüzyon Hasarında Uzak İskemik Önkoşullama Ve Direkt İskemik Önkoşullamanın Etkinliği*. Uzmanlık tezi Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Ve Reanimasyon Anabilim Dalı.
162. Abu-Amara, M., Yang, S.Y., Tapuria, N., Fuller, B., Davidson, B., Seifalian, A. (2010). Liver ischemia/reperfusion injury: processes in inflammatory networks—a review. *Liver Transplantation*, 16:1016-32.
163. Asadullah, K., Sterry, W., Trefzer, U. (2002). Cytokines: interleukin and interferon therapy in dermatology. *Clinical and Experimental Dermatology*, 27:578-584.
164. Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E. (2002). *İnsan Biyokimyası*, s.557-569.
165. Abbas, K.A., Lichtman, A.H., Pober, J.S. (2000). *Cellular and Molecular Immunology*. USA:Saunders Company, 235-269.
166. Keen, L.J. (2002). The extent and analysis of cytokine and cytokine receptor gene polymorphism. *Transplant Immunology*, 10:143-6.
167. Tokgöz, G. (1997). Sitokinler. *Klinik İmmünoloji*, 11:85-100.
168. Strieter, R.M., Kunkel, S.L., Bone, R.C. (1993). Role of tumor necrosis factor alpha in disease states and inflammation. *Critical Care Medicine*, 21:S447-63.
169. Morariu, A.M., Loef, B.G., Aarts, L.P., Rietman, G.W., Rakhorst, G., van Oeveren, W. (2005). Dexamethasone: benefit and prejudice for patients undergoing on- pump coronary artery bypass grafting: a study on myocardial, pulmonary, renal, intestinal, and hepatic injury. *Chest Journal*, 128:2677-87.
170. Kiuchi, T., Oldhafer, K.J., Schlitt, H.J., Nashan, B., Deiwick, A., Wonigeit, K. (1998). Background and prognostic implications of perireperfusion tissue injuries in human liver transplants: a panel histochemical study. *Transplantation*, 66:737-47.
171. Lichtman, S.N., Lemasters, J.J. (1999). Role of cytokines and cytokine-producing cells in reperfusion injury to the liver. *Seminars in Liver Disease*, 19:171-87.
172. Shibuya, H., Ohkohchi, N., Tsukamoto, S., Satomi, S. (1997). Tumor necrosis factor-induced, superoxidemediated neutrophil accumulation in cold ischemic/reperfused rat liver. *The Journal of Hepatology*, 26:113-20.
173. Shirasugi, N., Wakabayashi, G., Shimazu, M., Oshima, A., Shito, M., Kawachi, S., et al. (1997). Up-regulation of oxygen-derived free radicals by interleukin-1 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Transplantation*, 64:1398-403.
174. Boros P, Bromberg JS. New cellular and molecular immune pathways in ischemia/reperfusion injury. *American Journal of Transplantation*, 2006; 6: 652-658.
175. Thomas, K.A. (1996). VEGF, a potent and selective angiogenic agent. *The Journal of Biological Chemistry*, 271: 603- 6.
176. Ferrara, N. (2001). Role of VEGF in regulation of physiological angiogenesis. *The American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 280: C1358-66.

177. Wei, M. (1996). Localization of the human vascular endothelial growth factor gene, at chromosome 6p12. *Journal of Human Genetics*, 97:794-797.
178. Mattei, M.G. et al. (1996). Assignment of vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor(PIGF) genes to human chromosome 6p12 and 14q24-q31 regions, respectively. *Genomics*, 32:168-169.
179. Byrne, A.M., Bouchier-Hayes, D.J., Harmey, J.H. (2005).: Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 9:777-794.
180. Kenyon, B.M., Voest, E.E., Chen, C.C. (1996). A model of angiogenesis in the mouse cornea. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 37:1625.
181. Shweiki, D., Itin, A., Soffer, D., Keshet, E. (1992). Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature*, 359: 843-5.
182. Patrick, C. Angelos, Winn, S.R. (2011). Evaluating Revascularization and Flap Survival Using Vascular Endothelial Growth Factor in an Irradiated Rat Model. *Archives of Facial Plastic Surgery*, E1-E2.
183. Lopes, F., Lisboa, B., Frattini, F., Almeida, F. (2011). Enhancement of sciatic nerve regeneration after vascular endothelial growth factor (VEGF) gene therapy. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 37, 600–612.
184. Xie, K., Wei, D., Shi, Q., Huang, S. (2004). Constitutive and inducible expression and regulation of vascular endothelial growth factor. *Cytokine Growth Factor Review*, 15: 297-324.
185. Ferrara, N., Davis-Smyth, T. (1997). The biology of VEGF. *Endocrine Reviews*, 18: 4-25.
186. Özcura, F., Helvacı, M.R. (2006). Ödem ve neovaskülerizasyonla seyreden hastalıklarda tedavi anti vegf ajanlar *Türkiye Klinikleri Journal of Ophthalmology*, 15: 132-9.
187. Gerwins, P., Sköldenberg, E., Claesson-Welsh, L. (2000). Function of fibroblast factors and vascular endothelial growth factors and their receptors in angiogenesis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 34: 185–194.
188. Bren, EC. (2007). VEGF in biological control. *Journal of Cellular Biochemistry*, 102:1358-1367.
189. Konopatskaya, O., Churchill, A.J., Harper, S.J., et al. (2006). : VEGF165b, an endogenous C-terminal splice variant of VEGF, inhibits retinal neovascularization in mice. *Molecular Vision*, 12:626-632.
190. Kaiser, P.K. (2006). : Antivascular endothelial growth factor agents and their development: therapeutic implications in ocular disease. *American Journal of Ophthalmology*, 142:660-668.

191. Zhang, S.X., Ma, J.X. (2007).: Ocular neovascularization: Implication of endogenous angiogenic inhibitors and potential therapy. *Progress in Retinal and Eye Research*, 26:1-37.
192. Olofsson, B., Pajusula, K., Kaipainen, A., Euler, G., Joukov, V., Saksela, O. et al. (1998). Vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) binds to VEGF receptor-1 and regulates plasminogen activator activity in endothelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95:11709-14.
193. Yla-Herttuala, S., Rissansen, T.T., Vajanto, I., Hartikainen, J. (2007). Vascular endothelial growth factors. Biology and current status of clinical applications in cardiovascular medicine. *Journal of the American College of Cardiology*, 49:1015-1026.
194. Ortega, N., L'Faqihi, F.E., Plouet, J. (1998). Control of VEGF angiogenic activity by the extracellular matrix. *Biology of the Cell*, 90:381-390.
195. Clauss, M. (2000). Molecular biology of the VEGF and the receptor family. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 26:561-569.
196. Detmar, M. (2000). Tumor angiogenesis. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 5:20-3.
- 197.** Kubo, H., Cao, R., Brakenheim, E., Makinen, T. (2002). Blockade of vascular endothelial growth factor receptor-3 signaling inhibits fibroblast growth factor-2-induced lymphangiogenesis in mouse cornea. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99 (13): 8868-8873.
198. Baldwin, M.E., Halford, M.M., Roufail, S. et al. (2005). Vascular endothelial growth factor D is dispensable for development of the lymphatic system. *Molecular and Cellular Biology*, 25: 2441–2449.
199. Shimizu, K., Kubo, H., Yamaguchi, K. et al. (2004). Suppression of VEGFR-3 signaling inhibits lymph node metastasis in gastric cancer. *Cancer Science*, 95:328–333.
200. Takahashi, H., Hattori, S., Iwamatsu, A., Takizawa, H., Shibuya, M. (2004). A novel snake venom vascular endothelial growth factor (VEGF) predominantly induces vascular permeability through preferential signaling via VEGF receptor-1. *The Journal of Biological Chemistry*, 279: 46304-14.
201. Shams, N., Ianchulev, T. (2006). : Role of vascular endothelial growth factor in ocular angiogenesis. *Ophthalmology Clinics of North America*, 19:335-344.
- 202.** Carmeliet, P., Moons, L., Luttun, A., Vincenti, V., Compernelle, V. et al. (2001). Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Nature Medicine*, 7: 575–83.
203. Tamanini, C., De Ambrogi, M. (2004). Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *Reproduction in Domestic Animals*, 39:206-16.

204. Monacci, W.T., Merrill, M.J., Oldfield, E.F. (1993). Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues. *American Journal of Physiology*, 264:C995-C1002.
205. Wartiovaara, U. (1998). A peripheral blood platelets Express VEGF-C and VEGF which are released during activation. *Thrombosis and Haemostasis*, 80:171-175.
206. Yamaguchi, R. (1998). Expression of vascular endothelial growth factor in human hepatocellular carcinoma. *Hepatolog*, 28:68-77.
207. Kitadai, Y. (1998). Significance of vessel count and vascular endothelial growth factor in human esophageal carcinomas. *Clinical Cancer Research*, 4:2195-2200.
208. Harada, S., Nagy, J.A., Sullivan, K.A., Thomas, K.A., Endo, N., Rodan, G.A. (1994). Induction of vascular endothelial growth factor expression by prostaglandin E2 and E1 in osteoblasts. *Journal of Clinical Investigation*, 93:2490-6.
209. Rahimi, N. (2006). : Vascular endothelial growth factor receptors: Molecular mechanisms of activation and therapeutic potentials. *Experimental Eye Research*, 83:1005-1016.
210. Robinson, C.S., Stringer, S.E. (2001). : The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. *Journal of Cell Science*, 114:853-865.
211. Seçkin, D., Onur, R., İlhan, N., Ardiçoğlu, A., İlhan, N. (2005). Prostat kanserli ve bening prostat hiperplazili hastalarda plazma vasküler endotelial büyüme faktörü, oksidatif stres ve nitrik oksit ilişkisi. *FÜ Sağlık Bilimleri Dergisi*, 19: 277-81.
212. Wheeler-Jones, C., Abu-Ghazaleh, R., Cospedal, R., Houlston, R.A., Martin, J., Zachary, I. (1997). Vascular endothelial growth factor stimulates prostacyclin production and activation of cytosolic phospholipase A2 in endothelial cells via p42/p44 mitogen-activated protein kinase. *FEBS Letters*, 420: 28-32.
213. Dwivedi AJ, Wu R, Nguyen E, Higuchi S, Wang H, Krishnasasthy K, Marini CP, Ravikumar TS, Wang P. (2007). Adrenomedullin and adrenomedullin binding protein-1 prevent acute lung injury after gut ischemia-reperfusion. *Journal of the American College of Surgeons*, 205(2):284-93.
214. Yoshioka, T., Kawada, K., Shimada, T., Mori, M. (1979). Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 135:372-376.
215. Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254.
216. Ellman G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups, *Archives of Biochemistry and Biophysics* , 82, 70-77
217. Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y. (1988) A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3):497-500.


218. Johansson, L.H., Borgi, L.A. (1988). A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Analytical Biochemistry*, 174(1):331-336.
219. Bories, P.N., Bories, C. (1995). Nitrate determination in biological fluids by an enzymatic one-step assay with nitrate reductase. *Clinical Chemistry*, 41(6):904-907.
220. Özel, Y. (2006). *Ratlarda karaciğer iskemi / reperfüzyon hasarında grape seed proanthocyanidin koruyucu etkilerinin incelenmesi*. (Uzmanlık tezi). İstanbul. Haydarpaşa Numune Eğitim Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği.
221. Park, S.W., Chen, S.W., Kim, M., Agati, V.V.D., Lee, H.T. (2010). Selective intrarenal human A1 adenosine receptor overexpression reduces acute liver and kidney injury after hepatic ischemia reperfusion in mice. *Laboratory Investigation*, 90(3):476-95. EpubJan 11.
222. Nielsen, N.G., Tan, S., Baird, N.S., Samuelson, P.N., Mccammon, A.T. and Parks, D.A. (1997). Xanthine oxidase mediates myocardial injury after hepatoenteric ischemia-reperfusion, *Critical Care Medicine*, vol. 25, no. 6, pp. 1044–1050.
223. Peralta, C., Perales, J.C., Bartrons, R. (2002). The combination of ischemic preconditioning and liver Bcl-2 overexpression is a suitable strategy to prevent liver and lung damage after hepatic ischemia-reperfusion, *American Journal of Pathology*, vol. 160, no. 6, pp. 2111–2122.
224. Poynter, J.A., Manukyan, M.C., Wang, Y., Brewster, B.D., Herrmann, J.L., Weil, B.R., Abarbanell, A.M., Meldrum, D.R.(2011). Systemic pretreatment with dimethylxalylglycine increases myocardial HIF-1a and VEGF production and improves functional recovery after acute ischemia/reperfusion. *Surgery*, 150(2):278-83.
225. Pande, D., Negi, R., Khanna, S., Khanna, R., Khanna, H.D.(2011). Vascular endothelial growth factor levels in relation to oxidative damage and antioxidant status in patients with breast cancer. *Journal of Breast Cancer* Sep, 14(3):181-4.
226. Petrat, F., de Groot, H. (2011). Protection against severe intestinal ischemia/reperfusion injury in rats by intravenous resveratrol. *Journal of Surgical Research*, 167(2):e145-55.
227. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44-84.
228. Giera, M., Lingeman, H., Niessen, W.M. (2012). Recent Advance- ments in the LC- and GC-Based Analysis of Malondi- aldehyde (MDA): A Brief Overview. *Chromatographia*, 75:9:433-440.
229. Ahmadiasl, N., Banaei, S., Alihemati, A., Baradaran, B., Azimian, E. (2014). Effect of a combined treatment with erythropoietin and melatonin on renal ischemia reperfusion injury in male rats. *Clinical and Experimental Nephrology*, 18(6):855-64.

230. Kadkhodae, M., Mikaeili, S., Zahmatkesh, M., Golab, F., Seifi, B., Arab, H.A., Shams, S., Mahdavi-Mazdeh, M. (2012). Alteration of renal functional, oxidative stress and inflammatory indices following hepatic ischemiareperfusion. *General Physiology and Biophysics*, 31(2):195-202.
231. Noiri, E., Peresleni, T., Miller, F., Goligorsky, M.S. (1996). In vivo targeting of inducible NO synthase with oligodeoxynucleotides protects rat kidney against ischemia. *The Journal of clinical investigation*, 97:2377-83.
232. Chatterjee, P.K., Patel, N.S., Kvale, E.O., Cuzzocrea, S., Brown, P.A., Stewart, K.N. (2002). Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney international*, 61:862-71.
233. Wangsiripaisan, A., Gengaro, P.E., Nemenoff, R.A., Ling, H., Edelstein, C.L., Schrier, R.W. (1999). Effect of nitric oxide donors on renal tubular epithelial cell-matrix adhesion. *Kidney international*, 55:2281-8.
234. Brodsky, S.V., Yamamoto, T., Tada, T., Kim, B., Chen, J., Kajiya, F. (2002). Endothelial dysfunction in ischemic acute renal failure: rescue by transplanted endothelial cells. *American journal of physiology Renal physiology*, 282:F1140-9.
235. Korkmaz, A., Kolankaya, D. (2013). Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Canadian journal of surgery Journal canadien de chirurgie*, 56:6-14.
236. Miranda, K.M., Espey, M.G., Wink, D.A. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide-Biol Ch*, 5(1):62-71.
237. Emre, M.H., Erdogan, H., Fadillioglu, E. (2006). Effect of BQ-123 and nitric oxide inhibition on liver in rats after renal ischemia-reperfusion injury. *General physiology and biophysics*, 25:195-206.
238. Somuncu, S., Cakmak, M., Dikmen, G. (2008). Ischemia-reperfusion injury of rabbit ovary and protective effect of trapidil. An experimental study. *Pediatric Surgery International*, 24:315-18.
239. Blaustein, A., Deneke, S.M., Stolz, R.I., Baxter, D. (1989). Myocardial Glutathione Depletion Impairs Recovery After Short Periods of Ischemia. *Circulation*, 80: 1449-1457.
240. Manukyan, M.N., Yavuz, Y., Erbarut, I., Velioglu Ögünç, A., Ataizi-Çelikel, C., Yalçın, A.S., Güllüoğlu, B.M. (2008). Sıçanlarda whey proteini ile oluşturulan glutatyon önkoşullandırmasının karaciğer sıcak iskemi/reperfüzyon hasarında hem oksijenaz-1 sistemi üzerine etkisi. *Ulusal Cerrahi Dergisi*, 24:3:137-144.
241. Nijmeh, J., Moldobaeva, A., Wagner, E. (2009). Glutathione levels in ischemia-induced angiogenesis. *The FASEB Journal*, 23:1:592-595.
242. Sezgin, G., Oztürk, G., Güney, S., Sinanoğlu, O., Tunçdemir, M. (2013). Protective effect of melatonin and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Renal Failure*, 35(3):374-9.

243. Seifi, B., Kadkhodaei, M., Delavari, F., Mikaeli, S., Shams, S. And Ostad, S.N. (2012). Pretreatment with Pentoxifylline and N-Acetylcysteine in Liver Ischemia Reperfusion-Induced Renal Injury.
244. Rodriguez, C., Mayo, C.J., Sainz, R.M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36: 1–9.
245. Serteser, M., Koken, T., Kahraman, A., Yilmaz, K., Akbulut, G., Dilek, O.N. (2002). Changes in hepatic TNF- α levels, antioxidant status, and oxidation product after renal ischemia/ reperfusion injury in mice. *Journal of Surgical Research*, 107 : 234-240.
246. Jayakumar, T., Thomas, P.A., Geraldine, P. (2007). Protective effect of an extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on antioxidants of major organs of aged rats. *Experimental Gerontology*, 42:183-91.
247. Mun, K.C., Lee, H.G., Lee, T.H., Kim, Y.H., Kwak, C.S. and Kim, S.P. (2003). Effect of modified polyhemoglobin on the ischemia/reperfusion injury in kidney. *Transplantation Proceedings*, 35:99-100.
248. Hacı, M. (2012). *Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında baicalinin etkileri* (tez). Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi.
249. Wei, R., Ding, R., Wang, Y., Tang, L. (2011). Grape seed proanthocyanidin extract reduces renal ischemia/reperfusion injuries in rats. *The American Journal of the Medical Sciences*, 1-6.
250. Efrati, S., Berman, S., Hamad, R.A., Siman-Tov, Y., Ilgiyaev, E., Maslyakov, I. (2011). Effect of captopril treatment on recuperation from ischemia/reperfusion-induced acute renal injury. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 0: 1–10.
251. Wever, K.E., Menting, T.P., Rovers, M., van der Vliet, J.A., Rongen, G.A., Masereeuw, R. (2012). Ischemic preconditioning in the animal kidney, a systematic review and meta-analysis. *Public Library Of Science*, 7:e32296.
252. Topaloğlu, U., Odabaşo, M., Güran, M., Özcan, A., Ark. (1999). Karaciğer Rezeksiyonu Esnasında Sürekli İskemi- Reperfüzyon Hasarı Ve Prostaglandin E2 'Nin Rolü, *Ulusal Travma Dergisi*, 5; 67-73, s.
253. Zhou, L., Yao, X., and Chen, Y. (2012). Dexamethasone Pretreatment Attenuates Lung and Kidney Injury in Cholestatic Rats Induced by Hepatic Ischemia/ Reperfusion. *Inflammation*, 35(1):289-96.
254. Behrends, M., Hirose, R., Park, Y.H., Tan, V., Dang, K., Xu, F., Park, S.H., Niemann, C.U. (2008). Remote renal injury following partial hepatic ischemia/reperfusion injury *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 12(3):490-5.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı


T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

642/2618

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/64-3754
KONU:

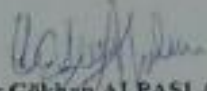
Sayın
Prof. Dr.Eser ÖZ OYAR
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

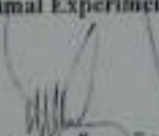
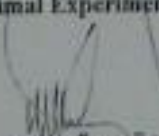
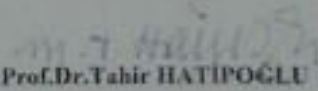
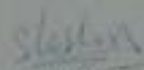
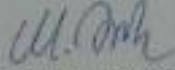
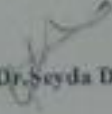
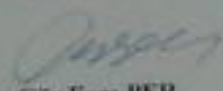
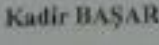
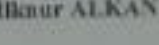
G.Ü.ET-09.102 kod numaralı ve "*Rat ince bağırsağında oluşturulan deneysel iskemik reperfüzyon hasarlanma modelinde gelişen organ hasarlanması üzerine vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) etkisi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-09.102 and entitled "*The effects of vascular endothelial growth factor (VEGF) on tissues in an experimental rat model of intestinal ischemic reperfusion injury*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.


Prof. Dr. Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı
Chairman
Gazi University Animal Experiments Ethics Committee

 Prof. Dr. Sevim ERCAN	 Prof. Dr. Nurten TÜRKÖZKAN	 Prof. Dr. Tahir HATIPOĞLU
 Doç. Dr. Şule COŞKUN CEVHER	 Doç. Dr. Mustafa ARK	 Uzman Dr. Seyda DİKER
 Arş. Gör. Esra PER	 Kadir BAŞAR	 İlknur ALKAN

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı,adı : ALPSOY, Mehmet Ata
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 15.01.1984 Midyat
Medeni hali : Bekar
Telefon : 536 577 51 61
e-mail : mataa.1@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Ü. Fizyoloji AB	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü	2007
Lise	Etimesgut Anadolu Lisesi	2002

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2015	Türkiye Kamu Hastaneleri Kurumu	Network

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Kitap okuma, Müzik, Playstion



GAZİ GELECEKTİR..