



**RATLARDA GENTAMİSİNE BAĞLI
NEFROTOKSİSİTEDE KARADUT PEKMEZİNİN
ETKİLERİ**

Feyzi DOĞRU

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Alaadin POLAT**

Doktora Tezi-2022

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA GENTAMİSİNE BAĞLI NEFROTOKSİSİTEDE
KARADUT PEKMEZİNİN ETKİLERİ**

Feyzi DOĞRU

**Fizyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Alaadin POLAT**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından TDK-
2021-2491 nolu proje ile desteklenmiştir

**MALATYA
2022**

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak Prof. Dr. Alaadin POLAT danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “RATLARDA GENTAMİSİNE BAĞLI NEFROTOKSİSİTEDE KARADUT PEKMEZİNİN ETKİLERİ” başlıklı Doktora tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

...../...../20...

Feyzi DOĞRU

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Böbreğin Anatomisi.....	3
2.2. Böbrek Fizyolojisi.....	4
2.2.1. Sıvı ve Elektrolit Dengesinin Düzenlenmesi	6
2.2.2. Metabolik Atıkların ve Diğer Kimyasalların Atılımı	7
2.2.3. Kan Basıncının Düzenlenmesi.....	7
2.2.4. Asit-Baz Dengesinin Düzenlenmesi	8
2.2.5. Eritrosit Üretiminin Düzenlenmesi	8
2.2.6. 1 α , 25-Dihidroksi Vitamin D3 Sentezi	9
2.2.7. Glikoz Homeostazı	9
2.3. Böbrek Yetmezliğinin Patofizyolojisi	10
2.4. Gentamisine Bağlı Gelişen Nefrotoksisitede Oksidatif Hasarın Yeri	13
2.5. Karadut (<i>Morus nigra L.</i>) Hakkında Genel Bilgiler	19
2.5.1. Karadutun Botanik Özellikleri.....	19
2.5.2. Fonksiyonel Gıda Olarak Karadut	19
2.5.3. Karadutun Farmasötik Etkileri.....	20
2.5.4. Pekmez Hakkında Genel Bilgiler ve İlgili Mevzuat.....	22
2.6. Oksidatif Stres.....	23
2.6.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Serbest Radikaller.....	23

2.6.2. Serbest Radikallerin İç ve Dış Kaynakları.....	26
2.6.3. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerine Etkileri	28
2.7. Antioksidanlar.....	28
2.7.1. Enzimatik Antioksidan Sistem.....	29
2.7.2. Nonenzimatik Antioksidan Sistem	30
3.MATERYAL VE METOT	33
3.1. Karadut Pekmezinin Üretimi	33
3.2. Karadut Pekmezinin Yapılan Kimyasal Analizler	35
3.2.1. Ekstraksiyon.....	35
3.2.2. Şeker Bileşiminin Belirlenmesi	36
3.2.3. Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi:.....	36
3.2.4. Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi:.....	36
3.2.5. Toplam Flavonoid Ölçümü.....	37
3.2.6. Toplam Antosiyanin Ölçümü.....	37
3.2.7. HPLC Metodu ile Farmasötik Kompozisyonun Belirlenmesi	37
3.3. Deney Grupları ve Yapılan Uygulamalar	38
3.4. Kan ve Doku Örneklerinde Yapılan Ölçümler	40
3.4.1. Serum BUN ve Kreatinin Düzeylerinin Ölçümü.....	40
3.4.2. Kan Glikoz Ölçümü	40
3.4.3. Böbrek Dokularının Homojenizasyonu	40
3.4.5. Malondialdehit Ölçümü	41
3.4.6. Protein Miktarı Ölçümü	41
3.4.7. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü	41
3.4.8. Glutasyon Ölçümü.....	41
3.4.9. Katalaz Aktivitesinin Ölçümü	42
3.4.10. Süpeoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü.....	42

3.4.11. TAS ve TOS Ölçümü ile OSİ Hesaplanması.....	42
3.4.12. IL-6 ve TNF- α Ölçümü.....	43
3.5. Histopatolojik İnceleme.....	43
3.6. İstatistiksel Analizler	43
4.BULGULAR.....	45
4.1. Karadut Pekmezinin Fiziksel Özellikleri ve Farmasötik Kompozisyonu.....	48
4.2. Ratların Makroskopik Değerlendirilmesi ve Serum Biyokimyası.....	49
4.2.1. Vücut Ağırlığı Kaybı	49
4.2.2. Kan Glikoz Düzeyi	49
4.2.3. Serum BUN Düzeyi	50
4.2.4. Serum Kreatinin Düzeyi	51
4.3. Antiinflamatuvar Belirteçler	52
4.3.1. TNF- α	52
4.3.2. IL-6	53
4.4. Oksidatif Stres Belirteçleri.....	54
4.4.1. Glutatyon Düzeyi.....	54
4.4.2. Malondialdehit Düzeyi	55
4.4.3. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi	56
4.4.4. Katalaz Aktivitesi	56
4.4.5. Glutatyon peroksidaz Aktivitesi	57
4.4.6. Toplam Antioksidan Durum	58
4.4.7. Toplam Oksidan Durum	59
4.4.8. Oksidatif Stres İndeksi.....	60
4.5. Histopatolojik Bulgular.....	61
5.TARTIŞMA	66
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	78

KAYNAKLAR	80
EKLER	98
Ek-1 Etik Kurul Onay Formu	98
Ek-2 Özgeçmiş.....	99



TEŞEKKÜR

Fizyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirdiğim doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle yolumu aydınlatan ve bana yeni bakış açıları kazandıran değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. AlaadinPOLAT'a;

Bu süreçte bilimsel olarak gelişmemde desteklerini esirgemeyen anabilim dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Sedat YILDIZ, Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU, Prof. Dr. Halil DÜZOVA, Prof. Dr. Süleyman SANDAL ve Doç. Dr. Suat TEKİN hocalarıma;

Tez çalışmalarına yaptıkları değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Hakan PARLAKPINAR'a, Prof. Dr. Selim ERDOĞAN'a, Prof. Dr. Turan ARABACI'ya, Doç. Dr. Elif TAŞLIDERE'ye ve Dr. Rukiye ZENGİN'e;

Fizyoloji Anabilim Dalındaki arkadaşlarıma, enstitü çalışanlarına ve Deney Hayvanları Merkezi'nin tüm çalışanlarına;

Hayatıma girdiği günden beri mutluluğu ve hüznü beraber yaşadığım, akademik eğitimim ve meslek yaşamım sürecinde gösterdiği sabır ile en büyük destekçim ve hayat arkadaşım olan sevgili eşim Esra DOĞRU'ya;

Hayatıma renk katan ve bu süreçte gerektiği gibi vakit ayıramadığım evlatlarım Sadık, Hamza ve Feyza'ya;

Emekleriyle beni bu günlere ulaştıran anneme ve babama;

En içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Ratlarda Gentamisine Bağlı Nefrotoksisitede Karadut Pekmezinin Etkileri

Amaç: Böbrekler ilaca bağlı toksisitenin hedef organlarından birisidir. Bu çalışmada eldeki mevcut verilere göre antioksidan etkileri bulunan ve geleneksel halk tıbbında kullanılmakta olan karadut bitkisinin, gentamisin ile indüklenen nefrotoksisite modeli oluşturulmuş ratlarda böbrek üzerindeki olası koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve metot: Farmasötik kompozisyonu analiz edilen karadut pekmeziyle iki farklı doz uygulaması için toplamda 48 rat kullanılarak altı gruplu bir deney modeli oluşturuldu. Deney süreci tamamlanarak serumda BUN ve kreatinin düzeyi ölçüldü. Böbrek dokularında oksidan/antioksidan ve antiinflamatuvar biyokimyasal belirteçlerden MDA, GPX, GSH, CAT, SOD, TAS, TOS, OSİ, TNF- α ve IL-6 değerleri çalışıldı.

Bulgular: Akut böbrek yetmezliğinin klinik takibinde kullanılan serum BUN ve kreatinin değerlerinin hasar grubunda yükseldiği; pekmez verilen hasar gruplarında düştüğü tespit edildi. Biyokimyasal oksidatif stres belirteçlerine baktığımızda; GSH, SOD, CAT, GPx ve TAS değerlerinin hasar grubunda düştüğü pekmez verilen gruplarda yükseldiği görüldü. MDA, TOS ve OSİ düzeylerinin ise hasar grubunda artmış olduğunu pekmez verilen gruplarda tekrar düştüğü görüldü. TNF- α düzeyinde inflamatuvar durum ile ilgili değişiklik izlenmedi. IL-6 düzeyi karadut pekmezi ile inflamasyonun da baskılandığı tespit edildi. Bu durum histopatolojik olarak da desteklendi.

Sonuç: Bu sonuçlara bakıldığında gentamisine bağlı hasarın gerçekleştiği ve karadut pekmezinin oksidatif stres düzeyini düşürdüğü dolayısıyla organ hasarı ve fonksiyon kaybını azalttığı görüldü. Ayrıca klinik çalışmalara temel oluşturabileceğinden dolayı koruyucu etkinin altında yatan mekanizmayı net olarak ortaya çıkarabilecek ve doz konusunu netleştirebilecek moleküler düzeyde ileri çalışmaların yapılması sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Akut böbrek hasarı, antioksidanlar, oksidatif stres. rat

ABSTRACT

Effects of Black Mulberry Molasses on Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats

Aim: The kidneys are one of the target organs of drug-induced toxicity. This study aimed to investigate the possible protective effects of the black mulberry plant, which has antioxidant effects according to the available data and is used in traditional folk medicine, on the kidneys in rats with a gentamicin-induced nephrotoxicity model.

Material and Method: An experimental model with six groups was created by using 48 rats in total for two different doses of black mulberry molasses whose pharmaceutical composition was analyzed. The experiment was completed, and the serum BUN and creatinine levels were measured. The oxidant/antioxidant and anti-inflammatory biochemical markers MDA, GPX, GSH, CAT, SOD, TAS, TOS, OSI, TNF- α and IL-6 were studied in kidney tissues.

Results: Serum BUN and creatinine values used in the clinical follow-up of acute renal failure were increased in the injury group; It was determined that it decreased in the damage group given molasses. When we look at biochemical oxidative stress markers, it was observed that GSH, SOD, CAT, GPx and TAS values decreased in the damage group and increased in the molasses-given groups. It was observed that MDA, TOS and OSI levels increased in the damage group and decreased again in the groups given molasses. There was no change in TNF- α level related to the inflammatory state was observed. Inflammation was also suppressed with IL-6 level black mulberry molasses. This situation was also supported histopathologically.

Conclusion: According to our results, it was seen that gentamicin-related damage occurred, and black mulberry molasses reduced the level of oxidative stress, thus reducing organ damage and loss of function. In addition, it was concluded that further studies at the molecular level should be conducted to reveal the mechanism underlying the protective effect and to clarify the dose issue, as it can form the basis for clinical studies.

Keywords: Acute kidney injury, antioxidants, oxidative stress, rat

SİMGELER KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
AKI	: AcuteKidneyInjury
AKIN	: AcuteKidneyInjury Network
BUN	: Kan üre azotu
cAMP	: Siklik adenosin mono fosfat
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EPO	: Eritropoietin
GCL	: Glutasyon-sisteinligaz
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GLUT	: Glikoz taşıyıcı protein
GPx	: Glutasyon peoksidaz
GSH	: Glutasyon
GSS	: Glutasyon sentetaz
GSSG	: Okside glutasyon
HIF	: Hipoksi ile indüklenabilir faktörler
HMF	: Hidroksi metil furfural
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IL-6	: İnterlökin-6
KDIGO	: KidneyDisease: Improving Global Outcomes
MDA	: Malondialdehit
NAD	: Nikotinamidadenindinükeotid
NADH	: Nikotinamidadenindinükeotidhidrit
NADPH	: Nikotinamidadenindinükeotid fosfat
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PTFE	: Politetrafloroetilen
PVDE	: Polivilinildendiflorür
RIFLE	: Risk, injury, failure, loss, end-stagekidneydisease
RNA	: Ribonükleik asit

ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
SGLT	: Sodyum-glikoz taşıyıcı protein
SOD	: Süperoksit dismutaz
TAS	: Toplam antioksidan durum
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü -alfa
TOS	: Toplam oksidan durum
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Böbrek kesiti ve anatomik yapısı	3
Şekil 2.2. Nefronun yapısı	5
Şekil 2.3. Gentamisin sitotoksikite mekanizması	15
Şekil 2.4. Gentamisin tedavisi sırasında akut böbrek hasarı	17
Şekil 3.1. Karadut pekmezinin elde edildiği, ‘Feyzi Doğru 1001’ herbaryum kaydı yapılan ağaç (Malatya/Darende)	34
Şekil 3.2. Deney prosedürü.....	39
Şekil 4.1. Grupların vücut ağırlığındaki kayıp oranları.....	49
Şekil 4.2. Grupların kan glikoz düzeyleri.....	50
Şekil 4.3. Grupların serum BUN düzeyleri	51
Şekil 4.4. Grupların serum kreatinin düzeyleri.....	52
Şekil 4.5. Grupların TNF- α düzeyleri.....	53
Şekil 4.6. Grupların IL-6 düzeyleri	53
Şekil 4.7. Grupların böbrek dokusu GSH miktarları	54
Şekil 4.8. Grupların böbrek dokusu MDA miktarları.....	55
Şekil 4.9. Grupların böbrek dokusu SOD enzim aktiviteleri.....	56
Şekil 4.10. Grupların böbrek dokusu CAT enzim aktiviteleri.....	57
Şekil 4.11. Grupların böbrek dokusu GPx enzim aktiviteleri.....	58
Şekil 4.12. Grupların toplam antioksidan durumu	59
Şekil 4.13. Grupların toplam oksidan durumu	60
Şekil 4.14. Grupların oksidatif stres indeksi.....	61
Şekil 4.15. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda glomerül ve tübül yapıları	62
Şekil 4.16. %25 pekmez grubuna ait böbrek dokusunda glomerül ve tübül yapıları	62

Şekil 4.17. Saf pekmez grubuna ait böbrek dokusunda glomerül ve tübül yapıları	63
Şekil 4.18. Genta grubuna ait böbrek dokusunda intertübüler hemoraji ve infiltrasyon alanları.....	63
Şekil 4.19. Genta grubunda bazı glomerüllerde kollaps ve infiltrasyon alanları	64
Şekil 4.20. %25 pekmez + Genta grubunda böbrek dokusunda küçük hemorajik ve inflamasyon alanları.....	64
Şekil 4.21. Genta+ Saf pekmez grubunda inflamasyon alanları.....	65



TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Böbrek Tübüllerinde Bulunan Taşıyıcı Proteinler ve Görevleri.....	6
Tablo 2.2. Böbrek Yetmezliği Tanı Kriterleri.....	12
Tablo 2.3. Böbrek Yetmezliği Evreleme Kriterleri.....	12
Tablo 2.4. Serbest Radikal Oluşumuna Neden Olan Bazı Olaylar	26
Tablo 4.1. Deney sürecinde bakılan ve değerlendirilen belirteçlerin toplu sonuçları....	46
Tablo 4.2. İstatistiksel açıdan gruplar arasında anlamlı farklılıklar ve p değerleri.....	47
Tablo 4.3. Karadut Pekmezinde Yapılan Analizler	48
Tablo 4.4. Histopatolojik Hasar Skoru (Med (Min-Max)).....	61

1.GİRİŞ

Böbrekler işlevsel olarak homeostazın sağlanmasını, çeşitli metabolik atıkların ve toksinlerin vücuttan uzaklaştırılmasını sağlayan organımızdır. Dolayısıyla çalışma konumuz olan ilaca bağlı toksisitenin hedef organlarından birisidir. İlaça bağlı gelişen nefrotoksisite hastane ortamında gelişen akut böbrek hasarının temel nedenlerindendir (1). Bu ise böbrekte fonksiyon kaybına neden olabilen bir durum olarak karşımıza çıkar.

Gentamisin'in de içinde bulunduğu aminoglikozid grubu antibiyotikler gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda bakterisidal etkisiyle yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu ilaçların kullanımına bağlı gelişen nefrotoksisite sonucu oksidatif stres ile ilişkili akut tübüler nekroz gelişebilir (2). Ortaya çıkan bu yan tesirler kullanımla ilgili korkulan ve dikkat edilmesi gereken ana noktadır. Bu nedenle geniş etki spektrumuna sahip olmalarına rağmen kullanımları sınırlı kalmaktadır (3).

Karadut bitkisi hakkında antioksidan çalışmalar olsa da böbrek üzerine antioksidan etkileri hakkında çalışmalar sınırlıdır. Bununla birlikte gentamisine bağlı gelişen nefrotoksisitede karadut meyvesinden elde edilen pekmezin etkisi üzerine yapılmış çalışmaya rastlanmamıştır. Literatürde karadutun halk arasında oral mukoza yaralarında ve kanser tedavisine bağlı gelişen mukozitlerde tedaviye destekleyici olarak kullanıldığı ifade edilmiştir (4, 5). Yine içeriği itibari ile meyvelerin güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu, bu ağacın yaprakları ve kabuklarından elde edilen ekstraktların organ koruyucu etki gösterdiği ileri sürülmektedir (6–9).

Bu çalışmada eldeki mevcut verilere göre antioksidan etkileri bulunan ve geleneksel halk tıbbında belirli amaçlarla kullanılmakta olan bu bitkinin, gentamisin ile indüklenen nefrotoksisite modeli oluşturulmuş ratlarda böbrek üzerindeki olası koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlandı. Çalışma karadut meyvelerinin soğuk presleme sonrasında ısıtma işlemi uygulanarak suyunun uzaklaştırıldığı pekmez formu ile gerçekleştirildi.

Sonuç olarak ortaya çıkan verilerin literatüre kazandırılmasıyla bu çalışma, karadut pekmezinin organ koruyucu etkilerine yönelik yapılacak insan çalışmalarına rehberlik edebilecektir. Yapılacak çalışmalarla birlikte böbrek yetmezliğine neden olabilecek bir duruma karşı koruyucu etkiye kanıt sağlanabilecektir. Bunun yanında

belirli bir bölgeden elde edilen karadut pekmezi ile ilgili içerik analizi ile birlikte iki farklı doz uygulanarak literatüre doz bilgisi kazandırılması amaçlandı.

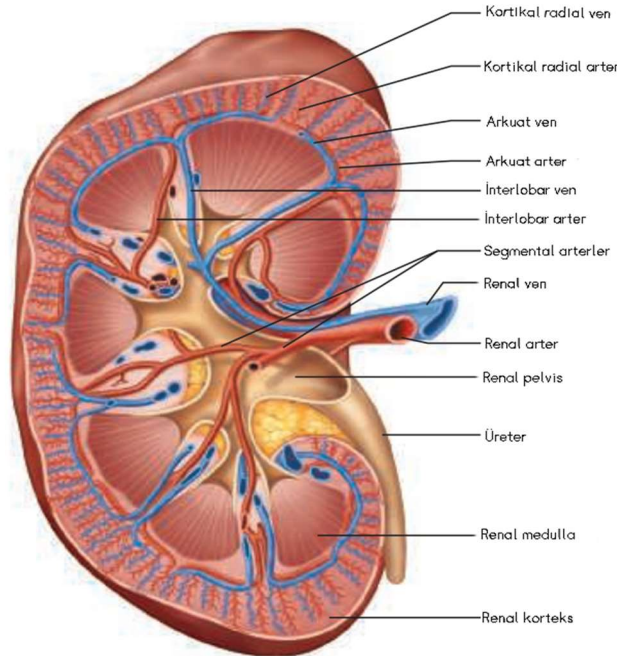


2.GENEL BİLGİLER

2.1. Böbreğin Anatomisi

Yetişkin bir insanda, bir böbreğin ağırlığı 115 g ile 170 g arasındadır ve yaklaşık olarak boyutları 11 ile 12 cm uzunluğunda, 5 ile 7.5 cm genişliğinde ve 2.5 ile 3 cm kalınlığındadır. Böbrekler, karın arka duvarında, T12-L3 seviyesinde vertebral kolonun her iki yanında retroperitoneal olarak yerleşmiş bir çift organdır. Sağ böbrek karaciğer komşuluğunda sol böbrekten daha aşağı seviyede bulunur (10).

Bir böbreği hilumterminalis adı verilen damar, idrar yolları ve sinir gibi yapıların bulunduğu kısımdan dik olarak ikiye böldüğümüzde; karşımıza korteks ve medulla olarak adlandırılan parankim alanları ve pelvis renalis adı verilen idrarın toplandığı boşluk çıkar. Korteks ve medulla böbreğin fonksiyonel kısımları olan nefronların bulunduğu bölgelerdir ve yapısal olarak böbrek piramitleri denilen alanları oluştururlar. Bu piramidal bölgelerin tepe kısmında bulunan papillalar ile süzölmüş olan idrar pelvise taşınır ve idrar yolları aracılığıyla önce mesaneye iletilir sonrasında vücuttan dışarı atılır.



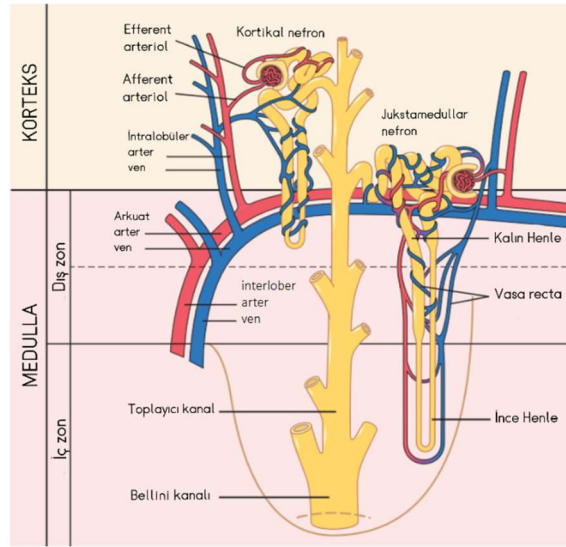
Şekil 2.1.Böbrek kesiti ve anatomik yapısı

Böbreklerin kanlanması direkt olarak abdominal aortanın bir dalı olan renal arter aracılığıyla gerçekleşir. Venöz dönüş ise vena cava inferiora dökülen renal ven aracılığıyla olur. Renal arter aracılığıyla böbreğe giren kan segmental arterlerden interlober arter, arkuat arter, interlobüler arter, afferent arteriol ve glomerüler kapillere açılır. Sonrasında efferent arterioller ve peritübüler kapillerler aracılığıyla ikincil bir damar ağıyla devam eder. Arteriyel damarlara paralel uzanan interlobüler ven, arkuat ven, interlober ven ve renal ven ile vena cava inferiora ulaşır. Böbreğin mikroskopik yapısı Şekil 2.1.'de şematize edilmiştir (11).

Böbreklerin sinirsel innervasyonu, alt torasik ve üst lomber segmentlerden gelen lifler ile çölyak plexusun bir dalı olan sempatik vazomotor lifler taşıyan plexusrenalis tarafından sağlanır. Bu sinir dalları böbreğe girdikten sonra damarlar ile birlikte ilerler (11).

2.2. Böbrek Fizyolojisi

Böbreğin fonksiyonel birimi nefron adı verilen yapılardır. Sağlıklı bir insanda damar yumakları ve içi boş tüplerden oluşan bu yapılardan her bir böbrekte yaklaşık bir milyon adet vardır. Nefronlar renal korpuskül, proksimal tübül, henle kulpu, distal tübül ve toplayıcı kanal sistemlerinden oluşur. Renal korpuskül, Bowman kapsülü ve içinde yer alan glomerüler kılcal damarlardan oluşur. Proksimal tübül bu kapsülün devamıdır. Bunu Henle kulpunun inen ve çıkan kolları, devamında distal tübül ve toplayıcı kanallar takip eder. Distal tübülde glomerüle komşu olarak yerleşen makuladensa denilen bir yapı vardır. Toplayıcı kanalların yapısına göre nefronlar iki farklı şekilde gruplandırılabilir. Kortikal nefronların tübül yapıları böbreğin korteks bölgesinde sınırlı olarak yerleşir. Jukstaglomerüler nefronların tübül yapıları böbrek medullasına kadar uzanır ve bunlar nefronların yaklaşık %15'ini oluşturur. Nefronu oluşturan bu yapılar Şekil 2.2.'de şematize edilmiştir (12).



Şekil 2.2. Nefronun yapısı

Böbreğin fonksiyonlarını, vücudumuzdaki hücrelerin düzenli ve doğru bir şekilde çalışabilmesi için gereken hücre dışı ortamın korunması olarak özetleyebiliriz. Her iki böbreğe giden kan akışı dinlenme halinde bulunan 70 kg ağırlığında bir bireyde kalp debisinin yaklaşık %22'sini (1.1 L/dk) oluşturur. Böbreklerin toplam vücut ağırlığının %0.4'ünü oluşturduğunu göz önüne alırsak kütlelerine göre kan akımının oldukça yüksek olduğu görülecektir (12). Renal kan akımının yanında böbrek işlevini değerlendirirken esas önemli değer glomerüler filtrasyon hızıdır (GFR). GFR bir dakikada ultrafiltrasyona uğrayan plazma miktarı olarak ifade edilir. Bir maddenin plazmadaki miktarı ve idrarla atılan miktarı üzerinden hesaplanabilir. GFR ölçümünde kullanılması düşünülen bir maddenin glomerüllerden serbest bir şekilde süzülürken hem tübüler reabsorbsiyona uğramaması hem de sekrete edilmemesi gereklidir. Bu ölçüm dışarıdan verilecek bir madde ile gerçekleştirilmek isteniyorsa ayrıca metabolize olmamalı ve toksik etki göstermemelidir. Bu maksatla inulin kullanılabilir. Fakat pratikte buna en yakın ölçüm vücuttan atılması gereken bir madde olan kreatinin ile yapılmaktadır. Ortalama yetişkin bir insanda GFR değeri yaklaşık 125 mL/dk ya da 180 L/gün'dür(12). Çeşitli otheregölasyon mekanizmaları aracılığıyla glomerüler kan akımında değişiklikler yapılarak bu filtrat miktarı düzenlenmeye çalışılır. Renal kan akımının düzenlenmesine bağlı olarak sağlıklı bir insanda bir günde yaklaşık 180 L filtrat glomerüllerden süzülür. Bu süreçte suyun ve diğer birçok suda çözünmüş maddenin renal taşınması Na^+ geri emilimi ile doğrudan veya dolaylı olarak ilişkilidir. Glomerüllerden süzülen yaklaşık 180 L hacimdeki filtratın nefronun farklı bölümlerinde belirli hormonların etkisindeki farklı özellikteki hücreler sayesinde reabsorbsiyon ve sekresyon süreçleri sonunda %99 u geri emilirken kalanı idrar olarak dışarı atılır. Bu

geri emilim bazı protein yapıllı maddeler için endositozla diğler maddeler için difüzyon ya da aktif taşıma yollarıyla olur. İlgili maddeler ve taşıyıcı proteinlerden bazıları Tablo 2.1.'de verilmiştir (12).

Tablo 2.1. Böbrek Tübüllerinde Bulunan Taşıyıcı Proteinler ve Görevleri

Yer	Taşıyıcı Protein	Görevi
Proksimal Tübül	Na–Glikoz co-transporter	Na ve glikoz emilimi
	Na-P co-transporter	Na ve P emilimi
	Na-Amino asit co-transporter	Na ve amino asit emilimi
	Na-Laktat co-transporter	Na ve laktat emilimi
	Na-H değıştirici	Na emilimi H salgısı
	Cl-Baz değıştirici	Cl emilimi
Henle	Na-K-2Cl co-transporter	Na, K ve Cl emilimi
	Na-H değıştirici	Na emilimi ve H' in lümene atılımı
	K kanalları	K'nın hücreden lümene döndürölmesi
Distal Kıvrımlı Tübül	NaCl co-transporter	Na ve Cl emilimi
Toplayıcı Tübül	Na (ENaC) kanalı	Na emilimi

2.2.1. Sıvı ve Elektrolit Dengesinin Düzenlenmesi

Böbrekler vücudun sıvı ve elektrolit dengesini düzenlerken Na^+ ve Cl^- geri emilimini temel alır. Nefronun çeşitli bölgelerinde H^+ , glikoz, amino asitler, organik asitler, fosfat gibi diğler elektrolitlerin tübül hücrelerinden taşınması bir şekilde Na^+ ile ilişkilidir. Vücutta homeostazın sağlanması için alınan sıvı ve elektrolitlerin dengeli bir şekilde atılımının gerçekleşmesi gerekmektedir. Bu denge bazı durumlarda anlık olarak bozulabilse de yaşamın sürdürölmesi dengenin tekrar düzenlenmesine bağıdır. Su ve elektrolitlerin alımı kişinin yeme içme alışkanlıklarıyla ilişkilidir. Bir maddenin aşırı ya da az alımı söz konusu olduğunda, böbrek hormonal ve fiziksel değışikliklerle duruma adaptasyon göstererek, maddenin vücuttaki düzeyini hızla ideal değıerlere çekmeye çalışır. Vücutta bir günde oluşan atık maddelerin uzaklaştırılabilmesi için gereken en az sıvı miktarı yaklaşık 500 mL'dir. Bu durumda maksimum 1400 mOsm/kg değıerine kadar konsantre idrar oluşturabilir. Günlük atılan ortalama 1.75 L idrar miktarı için bu değıer 400 mOsm/kg olur. Vazopressin yokluğunda bu değıer 50 mOsm/kg'a kadar düşebilir ki bu da atık maddelerin uzaklaştırılabilmesi için 14 L sıvının kaybedilmesi

demektir (12). İdrarın dilüe halde atılması vücudun su kaybetmesi anlamına gelir. Su atılımının ana düzenleyicisi plazma osmolaritesine göre hipofiz bezinin arka lobundan salınan antidiüretik hormon ya da vazopressin olarak adlandırılan hormondur. Böbrek tübüllerinde ve toplayıcı kanallarda suyun taşınması vazopressinin cAMP ve Protein Kinaz A aracılığıyla etkisini gösterdiği aquaporin denilen taşıyıcı zar proteinleriyle olur (13). Böbreklerin bahsedilen fonksiyonları arasında bu dengeleri sağlarken idrarın oluşumu önemlidir. İdrar oluşturulurken glomerüler filtrasyon, tübüler geri emilim ve tübüler sekresyon olayları gerçekleşir. Bu şekilde kan ve idrar içeriğinin dengesi ayarlanmaya çalışılır.

2.2.2. Metabolik Atıkların ve Diğer Kimyasalların Atılımı

Metabolizma sonucu ortaya çıkan atık maddelerin vücuttan uzaklaştırıldığı ana yol böbrektir. Bu metabolik atıkların büyük kısmı protein yapıların yıkımıyla ortaya çıkan üre, ürik asit ve kreatinin gibi azot içeren maddelerdir. Ürenin atılımı kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla gerçekleştirilir. Nefronun farklı bölgelerinde farklı izoformları bulunan üre taşıyıcı proteinler (UT A1-4, UT B1-3) buna aracılık eder (14). Üre, idrarın konsantre hale getirilmesi sırasında tübüllerde zıt akım mekanizmasının çalışması için önemlidir. Düşük proteinli diyetlerde idrarın dilüe edilmesi bu nedenle zorlaşır. Ayrıca üre taşıyıcı proteinler de vazopressine duyarlı olarak hareket eder (15). Hemoglobin ve hormon gibi maddelerin yıkım ürünleri de böbrek tarafından atılır. Metabolik atıkların yanında ilaç, pestisit ve gıda katkıları gibi yabancı kimyasallar ve bazı metabolitler de böbrekler tarafından vücuttan uzaklaştırılır.

2.2.3. Kan Basıncının Düzenlenmesi

Kan basıncının düzenlenmesi kardiyovasküler, renal, nöral, endokrin ve lokal doku kontrol sistemlerinin birlikte gerçekleştirdiği eylemlere bağlıdır. Bu kontrol sistemleri birkaç saniye gibi kısa bir sürede ya da saatler, günler gibi daha uzun zaman içinde devreye girebilirler (16). Kan basıncının hızlı kontrolünde arteriyel baroreseptörler ani değişiklikleri algılayarak otonomik refleksleri harekete geçirir. Kemoreseptörler ise kanda oksijen veya karbondioksit seviyelerini algılar. Bunun yanında düşük kan basıncı sonucu merkezi sinir sisteminde oluşan iskemi hızlı bir şekilde yanıt ortaya çıkarır ve güçlü etkileri vardır. Dakikalar ve saatler içinde kan basıncındaki değişikliklere yanıt olarak interstisyel alanlardan damar lümenini ya da duruma göre tersi yönde bir sıvı

geçiş olur. Sonrasında ise kan basıncının çok düştüğü durumlarda aktive olan ya da yükseldiği durumlarda baskılanan renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi etkili olur. Son olarak kan basıncı yükseldiğinde uyarılan vazodilatör sistemler devreye girer. Bu sistemlerin hepsi anlık olarak basıncı düzeltebilse de vücudun sıvı ve elektrolit değerleri belirli bir süre içerisinde böbrekler tarafından tam olarak dengeye getirilebilir. Bu durum uzun süreli olarak özellikle su ve sodyumun dengelenmesiyle ilişkilidir. Sodyum hücre dışı sıvıda en önemli katyondur. Vücut sıvılarının osmotik aktivitesi temel olarak sodyuma bağlı olarak düzenlenir. Bu yüzden hücre dışı sıvı hacminin temel belirleyicisidir. Sodyumun geri Emilimi ile ilişkili faktörler aldosteron, diğer mineralkortikoidler, atrialnatriüretikpeptid, H^+ ve K^+ düzeyleridir. Yükselen arteriyel basıncın düzenlenmesinde bazı vazoaktif maddelerin salımı da cevabın ortaya çıkmasına katkıda bulunur (17).

2.2.4. Asit-Baz Dengesinin Düzenlenmesi

Böbrekler sıvı ve elektrolit dengesini korurken aynı zamanda bazı iyonların alışverişini sağlayarak vücut ortamlarının pH düzeyini belirli sınırlarda tutar. Bu konuda akciğerler ve sıvı tampon sistemleriyle birlikte çalışır. Asidoz ve alkaloz durumlarının gelişmesini önler. Böbrekler asit baz dengesini temelde iki görevi yerine getirerek korur. İlk olarak, böbrekte filtrasyona uğramış HCO_3^- iyonlarının neredeyse tamamı reabsorbe edilmelidir; bu, öncelikle proksimal tübülde H^+ iyonu salgılanarak yapılır. İkinci olarak, böbrekler atılması gereken asit yükünün tamponlanmasında kaybettiği HCO_3^- iyonlarının yerine vücuda yeni HCO_3^- iyonları eklemelidir; bunu da idrarla NH_4^+ iyonlarının atılmasıyla sona eren metabolik süreçte gerçekleştirir. HCO_3^- iyonlarının Emilimi ile ilgili Anjiyotensin-2'nin artırıcı, parathormonun ise küçük bir inhibisyon etkisi söz konusudur (18). Böbrekler H^+ ve HCO_3^- iyonları aracılığıyla hedeflenen kan pH değerini 7.4'e dengelemeye çalışır.

2.2.5. Eritrosit Üretiminin Düzenlemesi

Böbrekler hipoksi durumunda, kanda oksijen taşınmasından sorumlu eritrosit hücrelerinin kemik iliği tarafından üretimini eritropoietin (EPO) denilen maddenin salımıyla düzenler. Son dönem böbrek hastalığı gibi durumlarda bu işlev gerçekleştirilemediğinden ağır anemiler söz konusu olmaktadır. Anemi derinleştikçe peritübüler hücrelerin sayısının artışı bu hücrelerin EPO salımında görevli olduğunu

gösterir (19). Eritrositlerin azalan üretimi, artan yıkımı veya eritrosit kaybı oksijen sunumunun azalmasına neden olacağından ortaya çıkan hipoksi bu hormonun üretimini indükler. Bu düzenleme hipoksi tarafından uyarılan ‘hipoksi ile indüklenebilir faktörler’ (HIF) adındaki transkripsiyon faktörleri ile sağlanır. HIF alt birimlerinin hipoksi koşullarında oluşturduğu kompleks bu hormonun üretimini uyarır. Oksijen varlığında α alt birimde ubikuitin-proteozom sistemi hızla bozulacağından kompleks oluşumu, dolayısıyla da hormon üretiminde indüksiyon son bulur. Hipoksiye dayalı EPO üretimi için renal HIF-2 gereklidir. Renal HIF’lerin çeşitli sebeplerle yokluğunda ise Hepatik HIF-2 EPO üretiminin ana düzenleyicisi olur. Dolaşımda olan EPO böbreklerin yanında karaciğerler tarafından da salınır (20).

2.2.6. 1 α , 25-Dihidroksi Vitamin D3 Sentezi

Böbrekler D vitamininin üretimi aşamasında aktif forma dönüştürülmesinde rol oynar. Cilt ve karaciğerde dönüştürülen 25-hidroksi vitamin D3 pasif yapıdadır. Aktif haldeki 1 α , 25 dihidroksi vitamin D3 kalsiyum ve fosfatın vücutta kullanılması ve emilimi ile ilgili görevleri vardır. Sentezi ise yine bu minerallerle birlikte paratiroid hormon tarafından düzenlenir. 25-hidroksi vitamin D3’ün 1 α , 25 dihidroksi vitamin D3’e dönüşümü proksimal tübül hücrelerinde sitokrom P450 içeren mitokondrial bir enzim olan 1 α -hidroksilaz tarafından gerçekleştirilir. Böbrekler bu reaksiyonda merkezi bir roldedir. Nefrektomi sonrası ya da özellikle kronik böbrek yetmezliği gibi böbreğin fonksiyonunu yitirdiği durumlarda 1 α , 25-dihidroksi vitamin D3 dönüşümünün durması söz konusu olur (21).

2.2.7. Glikoz Homeostazı

Böbrekler sistemik glikoz homeostazında üç şekilde yer alır. İlk olarak, glomerüler filtrasyon sonrası süzülen glikozu tübüllerde geri emer. İkinci olarak glukoneogenez ile glikozu de novo sentezler ve dolaşıma bırakır. Son olarak da dolaşımdaki glikozu kendi hücrel faaliyetlerine yakıt sağlamak için kullanırlar. Glikoz homeostazı esas olarak karaciğer tarafından sağlanır, böbrekler ise sadece asidoz koşullarında ve uzun süreli açlıktan sonra düzenlemede önemli bir rol oynar. Bu sayede kan glikoz düzeyini dengede tutulması ve vücudun enerji ihtiyacının karşılanmasında görev alır. Kanda bulunan glikozun günlük yaklaşık 140-160 g kadarı suda çözünmüş olarak glomerüler filtrata geçer. Filtrelenen glikoz proksimal tübüllerde SGLT-2 ve

GLUT-2 taşıyıcı proteinleri aracılığıyla aktif olarak geri emilir (22). Plazma glikoz konsantrasyonu 200 mg/dL düzeyine gelene kadar idrarda glikoz izlenmez (12). Plazma glikoz konsantrasyonu böbrek eşiğini aştığında, örneğin diabetesmellitusta taşıyıcı proteinler doygunluğa ulaşacağından glikoz idrarda kalabilir. Dolaşıma endojen olarak salınan glikoz glukojenoliz ve glukoneogenez süreçleriyle sağlanır. Böbrek, glikozu aşırı açlık ve asidoz durumunda glikozun glikoz olmayan öncüllerden de novo sentezi yoluyla yani glukoneogenez ile üreterek dolaşıma bırakır. Glukoneogenez, dört anahtar enzim tarafından katalize edilen dört geri dönüşümsüz reaksiyon ile gerçekleşir: piruvat karboksilaz, fosfoenolpiruvatkarboksikinas, fruktoz-1, 6-bisfosfataz ve glikoz-6-fosfataz. Endojen glukoneogenezin%40'ı böbrek proksimal tübüllerinde meydana gelir. İnsanlarda laktat, glutamin, alanin ve gliserol ana glukoneojenik substratlardır. Laktat, her iki organda da baskın glukoneojenik öncüdür, ancak glutamin böbrek için tercih edilen glukoneojenik substrattır (23). Bununla birlikte böbrekler kandaki glikoz düzeyini regüle eden insülinin yıkımına ve temizlenmesinde önemli bir role sahiptir. İnsülinin renal klirensinin bozulması, dolaşımdaki insülinin yarı ömrünü uzatır (24). Böbrek yetmezliği olan diyabetik hastalarda klinikte insülin ihtiyacında bir azalma söz konusudur.

2.3. Böbrek Yetmezliğinin Patofizyolojisi

Böbrekler gerçekleştirdikleri işlevleri çeşitli sebeplerle kaybedebilir. Böbrek hastalığı olan bir bireyde renal fonksiyonlar kısmen azalmış ya da tam olarak yok olmuştur. Örneğin nefrojenikdiabetesinsipidusu olan bir hastada sadece idrar konsantre edilemezken diğer işlevler korunmuş olarak devam eder, son dönem böbrek hastalığında tüm fonksiyonlarda yetersizlik söz konusudur. Böbrek hasarı olan tüm hastalar bu fonksiyonlara bağlı değişikliklerle değerlendirilebilir. En yaygın olanı serum ve idrar kreatinin düzeyi üzerinden çeşitli formüllerle yapılan değerlendirmelerdir. Bu ölçümlerle hastalığın derecesi, seyri ve tedavi yanıtı takip edilebilir (25).

Böbrekte gerçekleşen herhangi bir hasar basit bir hematüriden, diyaliz gerektirebilecek ağır böbrek yetmezliği durumlarına kadar bazı sorunlara sebep olabilir. Çoğunlukla bu hasarlar az bir fonksiyon kaybı ile veya tamamen şifa ile iyileşebilir. Hasarın derecesi dışında böbrekler belirli düzeyde, kalan nefronların kapasitesini ve filtrasyon hızlarını artırarak hasara fonksiyonel olarak uyum sağlayabilir. Bu sayede hafif derecede böbrek yetmezliklerinde dahi serum belirteçlerinde değişiklik

gerçekleşmez. Fakat uzun vadede bu adaptasyonun kendisi de mevcut nefronlarda hasara neden olabilmektedir. Bu süreç çeşitli tedavi yaklaşımlarıyla yavaşlatılabilir. Örnek olarak anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü, anjiyotensin II reseptör blokeri, sodyum-glikoz kotransporter-2 inhibitörleri gibi ajanlarla antihipertansif tedavi bu süreci önlemeye yardımcı olacak, ilerleyici hastalığı yavaşlatacak ve hatta böbrek fonksiyonunu koruyacaktır (26). Bu ilerleyici durum bütün hastalar için geçerli değildir. Bu durum altta yatan hastalık, komorbid durumlar, sosyoekonomik durum, genetik ve tekrarlayan hasar gibi faktörlere bağlı olarak değişir.

Böbreklerde gelişen hasar etiyoloji ve lokalizasyonuna göre prerenal, intrarenal ve postrenal olarak değerlendirilebilir (25). Prerenal akut böbrek hasarı, akut böbrek hasarının en sık sebebi olarak karşımıza çıkar. İntravasküler volümde azalma, kardiyak outputta azalma, sistemik vazodilatasyon, renal vazokonstriksiyon, artmış intraabdominal basınç başlıca hasar nedenleri arasındadır. Bunlar genel olarak renal iskemi oluşturarak böbreği etkileyen durumlardır. Böbrekler oldukça yüksek bir perfüzyona sahip olduğu için azalan kan akımına oldukça hassastır. Bunun yanında sadece belirli bölgelerin iskemiden etkilendiği durumlar da söz konusudur. Bu durumda parankim hasarı henüz gerçekleşmediyse perfüzyon sağlanması durumunda renal fonksiyonlar çoğunlukla geri dönecektir (27). İntrarenal akut böbrek hasarı uzun süreli iskemiyile gelişen hücresel hasara bağlı veya nefrotoksik nedenlerle oluşabilir. Etkilenen böbrek yapıları tübüller, glomerüller, interstisyel ve intrarenal kan damarları olabilir. Tübüler hasar şiddetli ve uzun süren iskemi ya da toksinler nedeniyle gelişir. Böbreğe toksik etki yapan maddeler endojen ya da eksojen kaynaklı olabilir. Postrenal hasar ise çoğunlukla idrar yollarında gelişen mekanik obstrüksiyona bağlı ortaya çıkar. Obstrüktif etiyoloji ortadan kaldırıldığında hasar ve fonksiyon kaybı hızlıca geri dönecektir. Sebep olan durum böbreğin farklı seviyelerinden kaynaklansa da buna bağlı ortaya çıkan hasar benzer lokalizasyonda oluşabilir. Hasarın sebeplerine bağlı oluşturulan bu kategoriler akut böbrek hasarı ile başvuran hastaları değerlendirirken faydalı olsa da klinikte bir dereceye kadar örtüşme söz konusudur (28). Bu değerlendirmeler sonucu böbrek hasarı aşağıda belirtildiği şekilde evrelenebilir.

Böbrekte herhangi bir hasara bağlı gelişen yetmezlik durumu, temel olarak nitrojen atık ürünlerinin vücutta birikmesiyle ortaya çıkan GFR'de ani azalma olarak tanımlanmaktadır. Bu durumda ortaya çıkan değişiklikler saatler günler içinde gelişir. Bu konudaki en güncel ve uyarlanmış tanı kriterleri Tablo 2.2.'de evreleme kriterleri ise

Tablo 2.3.'de RIFLE (29), AKIN (30) ve KDIGO (31) klavuzlarına göre özet olarak verilmiştir.

Tablo 2.2. Böbrek Yetmezliği Tanı Kriterleri

AKIN	KDIGO
48 saat içinde serum kreatininde ≥ 0.3 mg/dL veya $\geq 50\%$ artış VEYA >6 saat boyunca < 0.5 mL/kg/saat idrar çıkışı	Serum kreatininde 48 saat içinde ≥ 0.3 mg/dL veya 7 gün içinde $\geq 50\%$ artış VEYA >6 saat boyunca < 0.5 mL/kg/saat idrar çıkışı

Hastanede yatan hastaların yaklaşık %3 ile %7'sinde yoğun bakım ünitesinde tedavi alan hastaların ise %25 ile %60'ında akut böbrek hasarı gelişir. Yoğun bakım ünitesinde tedavi alan ve böbrek hasarı gelişmiş olan hastaların %5 ile %6'sı renal replasman tedavisine ihtiyaç duyar (32). Ayrıca hastane kaynaklı akut böbrek hasarı dünya çapındaki tüm akut böbrek hasarı vakalarının %22'sini oluşturur (33). Bu duruma bakıldığında ilaçlara bağlı gelişen nefrotoksisite ciddi bir problem olarak karşımıza çıkacaktır.

Böbrekler ekzojen nefrotoksinlere maruz kalırsa intrarenal akut böbrek hasarı ortaya çıkar. Bu durumun nedeni tübüllerin etkilendiği akut tübüler nekrozdur. Nefrotoksik akut tübüler nekroz intrarenal hasarın ikinci en sık nedenidir. Böbrekler yüksek kan akımı nedeniyle iskemiye hassas oldukları kadar toksinlere de oldukça hassastır. Böbrekler bu nefrotoksinlerin başlıca eliminasyon yolu olmasıyla da maruziyeti yüksektir.

Tablo 2.3. Böbrek Yetmezliği Evreleme Kriterleri

Evre	Evreleme Kriterleri		
Risk (RIFLE) ya da 1. aşama (AKIN/KDIGO)	Serum kreatininde başlangıç değerinin 1.5 katına kadar artış VEYA 6 ile 12 saat boyunca < 0.5 mL/kg/saat idrar çıkışı	Serum kreatininde ≥ 0.3 mg/dL veya %150 ile 200 bazal artış VEYA 6 ile 12 saat boyunca < 0.5 mL/kg/saat idrar çıkışı	Serum kreatininde ≥ 0.3 mg/dL veya başlangıç değerinin 1.5 ile 1.9 katı artış VEYA 6 ile 12 saat boyunca < 0.5 mL/kg/saat idrar çıkışı
Hasar (RIFLE) ya da 2. aşama (AKIN/KDIGO)	Serum kreatininde başlangıç seviyesinin 2 katına kadar artış VEYA 12 ile 24 saat boyunca < 0.5 mL/kg/saat idrar çıkışı	Serum kreatininde artış, %200 ile 300 taban çizgisine VEYA 12 ile 24 saat boyunca < 0.5 mL/kg/saat idrar çıkışı	Serum kreatininde başlangıç seviyesinin 2.0 ile 2.9 katına artış VEYA 12 ile 24 saat boyunca < 0.5 mL/kg/saat idrar çıkışı

Yetmezlik (RIFLE) ya da 3.aşama (AKIN/KDIGO)	Serum kreatininde başlangıç seviyesinin 3 katına kadar artış VEYA Serum kreatininde >0.5 mg/dL ile >4.0 mg/dL artış VEYA >24 saat süreyle <0.3 mL/kg/saat idrar çıkışı veya >12 saat süreyle anüri VEYA Böbrek replasman tedavisinin başlatılması	Serum kreatininde >300 taban çizgisine artış VEYA Serum kreatininde >0.5 mg/dL ile >4.0 mg/dL artış VEYA >24 saat süreyle <0.3 mL/kg/saat idrar çıkışı veya >12 saat süreyle anüri VEYA Böbrek replasman tedavisinin başlatılması	Serum kreatininde başlangıç değerinin ≥ 3.0 katına kadar artış VEYA Serum kreatininde ≥ 0.3 mg/dL ile ≥ 4.0 mg/dL arası artış VEYA >24 saat süreyle <0,3 mL/kg/saat idrar çıkışı veya ≥ 12 saat süreyle anüri VEYA Böbrek replasman tedavisinin başlatılması
Böbrek fonksiyon kaybı (RIFLE)	> 4 hafta boyunca böbrek replasman tedavisi ihtiyacı		
Son dönem böbrek yetmezliği (RIFLE)	> 3 ay boyunca böbrek replasman tedavisi ihtiyacı		

2.4. Gentamisine Bağlı Gelişen Nefrotoksisitede Oksidatif Hasarın Yeri

Gentamisin, Micromonosporapurpurea kültürlerinden elde edilen aminoglikozid grubuna ait bakterisit etkili bir antibiyotiktir. Diğer aminoglikozidlere benzer şekilde, duyarlı bakterilerin 30 S ribozomal alt birimine geri dönüşümsüz olarak bağlanması yoluyla bakteri protein sentezini inhibe eder. Bu şekilde ilaç molekülü haberci RNA'ya (mRNA) müdahale eder. Sonuç olarak, bakteri DNA'sının yanlış okunması nedeniyle anormal ve işlevsel olmayan proteinler oluşur. Duyarlı bakteriler, fonksiyonel proteinlerin eksikliği nedeniyle ölür. Gentamisin, bakteri hücresi içine aktif olarak taşınır. Aminoglikozidlerin bakterisit etki gösterebilmesi için hücre içinde yüksek konsantrasyonlara ulaşması gerekmektedir. Anaerobik bakteriler, aminoglikozid alımı için aktif bir taşıma mekanizmasının olmaması nedeniyle aminoglikozidlere duyarlı değildir (34).

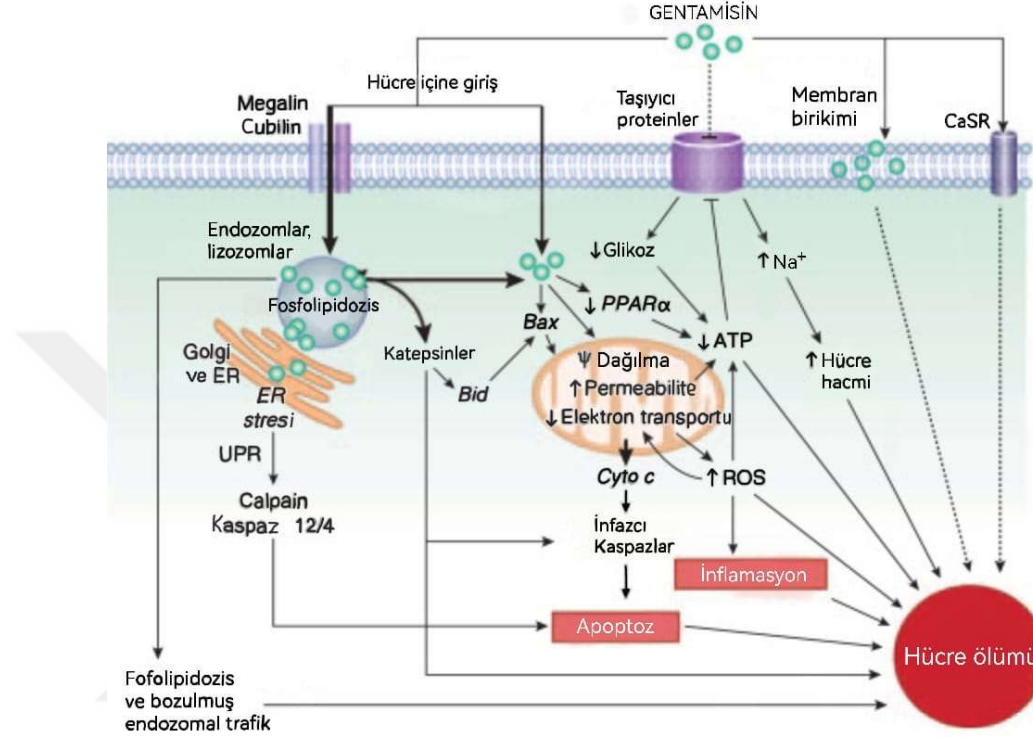
Gentamisin intravenöz, intramusküler, topikal ve oftalmik yoldan uygulanır. Gentamisinin proteine bağlanma oranı düşüktür (%0 ile %30). Gentamisin, hücre dışı sıvıya dağılır. Bu nedenle, hücre dışı sıvı volümü fazla olan hastalarda doruk serum konsantrasyonları daha düşük olabilir. Renal korteksteki konsantrasyonları serumdan 8 kat daha fazla olabilir. Serum, lenf, balgam, eklem sıvısı ve periton sıvısı gibi vücut sıvılarında saptanabilir. Periton duvarını ve plasenta zarlarını geçer. Sistemik uygulama ile subaraknoid boşluğa zayıf difüzyonu söz konusudur; bu nedenle beyin omurilik sıvısındaki konsantrasyonlar genellikle düşüktür ve bu geçiş doza, penetrasyon hızına ve meningeal inflamasyonun derecesine bağlı olarak değişir.

Gentamisin kullanımı 24 saat sonra ultrafiltrata geçmiş olan ilaç dozunun yaklaşık %70'i böbrek tübüllerinden geri emilir. Eliminasyon neredeyse tamamen glomerüler filtrasyon yoluyla dır. İlacın proksimal tübül tarafından yeniden emilmesi, nefrotoksisiteden sorumlu olan birikimin nedenidir. Az miktarda safrayla da atılır. Bu nedenle eliminasyon yarı ömrü ağırlıklı olarak böbrek fonksiyonuna bağlı değişir. Vücudun sıvı kaybettiği ciddi yanıklar gibi durumlarda ilacın yarılanma ömrü azalabilir. Normal böbrek fonksiyonu olan hastalarda, serum yarı ömrü yaklaşık 2 saattir. Oral alımında gastrointestinal sistem tarafından emilimi yoktur. İntervenz ve intramusküler uygulama yaygındır. Yanık gibi cilt bütünlüğünün bozulduğu durumlarda topikal uygulama da söz konusudur.

Gentamisin ve genel olarak aminoglikozidler, hayatı tehdit eden gram negatif enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan önemli bir antibiyotik grubudur. Nefrotoksisite ve ototoksisite bu ilaç grubuyla ilgili klinik kullanımda en büyük sınırlamalar olmaya devam etmektedir (35). Aminoglikozidler, genellikle merkezi bir konumda bir heksos çekirdeğine glikozit bağıyla birleştirilen iki veya daha fazla amino şekerden oluşur. Fizyolojik pH'da, polaritesi ve suda çözünürlüğü yüksek olan polikasyon molekülleridir (36, 37).

Ratlarda deneysel amaçlı oluşturulan böbrek yetmezliği modellerinde, radyokontrast ilaçlar, antibiyotikler, antikanser etkili kemoterapötikler, gliserol, miyogloblin, folik asit ve hemogloblin gibi bilinen çeşitli toksik etkili maddeler kullanılır. Ekzojen nefrotoksinlerin değerlendirilmesi için ratlarda aminoglikozid grubu antibiyotikler tarafından oluşturulan tablo iyi bir modeldir (38). Aminoglikozid nefrotoksisitesi en iyi şekilde yukarıda özelliklerinden bahsedilen glomerüler filtrasyonla atılan polar bir ilaç olan gentamisin ile karakterize edilmiştir (39). İlaç zerindeki katyonik amino grupları (NH_3^+) proksimal tübül hücrelerinin lüminal tarafında bulunan fırçamsı kenarlarındaki anyonik fosfolipitlere bağlanarak ilaç-reseptör kompleksi oluşturur. Sonrasında tübül hücresine pinositoz ile alınarak lizozomlara taşınır. Lizozomlarda bulunan daha asidik pH ortamı, aminoglikozidlerin fosfolipitlere bağlanma afinitesini arttırır. Aminoglikozidlerin hem in-vitro hem de in-vivo koşullarda fosfolipazların etkisini inhibe ettiği, fosfolipitlerin bozunmasını ve inositol trifosfat salınımını önlediği izlenmiştir. Bu şekilde lizozom membranında fosfolipidozis yoluyla yıkıma neden olur. Aminoglikozidlerin ayrıca renal protein kinaz C aktivitesini de inhibe ettiği gösterilmiştir. Fosfolipit metabolizmasının aminoglikozid kaynaklı inhibisyonu sadece lizozomları değil mitokondri dahil diğer hücresel bileşenleri de

etkiler. Hem lizozom içeriğinin sitozole boşalması hem hücre içi enerji döngüsünün bozulması hücrede apoptozu uyarır. Sonuç olarak net etki, aminoglikozid nefrotoksitesinde erken dönemde fosfoinositolkaskadı ve ikinci haberci yolunun bozulması olacaktır.



Şekil 2.3.Gentamisin sitotoksikite mekanizması (41)

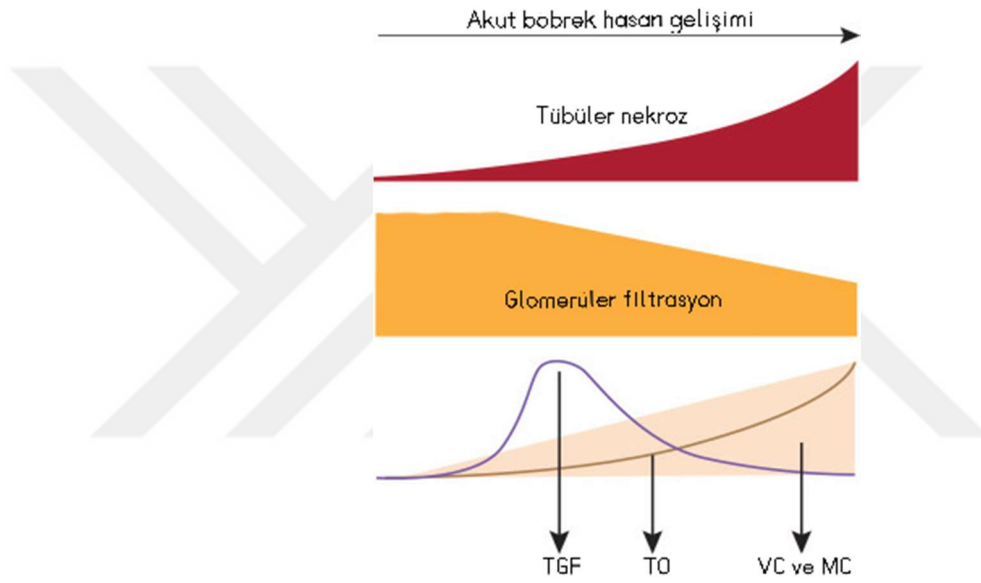
Membran fosfolipitlerindeki değişiklikler, muhtemelen azalmış kalsiyum taşınması, organik asit ve baz taşınması, sodyum/potasyum ATPaz ve adenilsiklaz aktivitesinin azalması dahil olmak üzere hem apikal hem de bazolateral membranda taşıma fonksiyonlarının modifikasyonu ile sonuçlanır ve hücre bütünlüğünün kontrolü bozulur. Mitokondri fonksiyonlarının bozulması ayrıca hücre içinde reaktif oksijen ürünlerinin artışına neden olur. Apoptozla sonuçlanması gereken süreç hem oksidatif stres hemde enerji kısıtlılığı nedeniyle nekroza ilerler. Gentamisin proksimal tübül hücrelerine verdiği hasarla tübüloglomerüler geri bildirimi bozmasının yanında mezenşiyal hücrelerde ve vasküler yatakta kasılmaya neden olarak GFR'nin daha da düşmesine neden olur ve nefrotoksikite tablosunu oluşturur (40, 41).

Aminoglikozidlerin renal birikimi ile ilgili hücresel mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamış olsa da proksimal tübül hücrelerinde bulunan megalin ve kübilin moleküllerinin bu endositoz aktivitesinde rol oynadığı düşünülmektedir.

Megalinproksimal tübüler epitel hücrelerinin apikal membranında lokalize olan dev bir multiligandendositik reseptördür. Megalin eksikliği olan farelerde böbrek tübüllerinde aminoglikozid geri emiliminin ortadan kalktığı gözlenir (42). Bu durum megalinin aminoglikozidlerin birikiminden sorumlu olduğunu destekler niteliktedir. Aminoglikozidler, sitozole endozomalbozunma yoluyla erişebilir. Sitozolda bulunan aminoglikozidler mitokondriyal membranlara bağlanarak renal kortikal mitokondrilerde oksidatif fosforilasyonu inhibe eder. Hücre içi kalsiyum taşınımı, ATP sentezi ve mitokondriyal geçirgenlikteki değişiklikler, endoplazmik retikulum stresi ve reaktif oksijen türlerinin üretimi ile ilişkilidir. In-vitro olarak, gentamisin diğer reaktif oksijen türlerinin olası üretimi ile mitokondri tarafından hidrojen peroksit oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir. Serbest oksijen radikalleri, aminoglikozid nefrotoksitesinde gösterilen membran fosfolipitlerinin peroksidasyonu dahil olmak üzere çok sayıda hücre içi süreçle etkileşime girer (42, 43).

Tek başına tübüler hasar, aminoglikozid nefrotoksitesi ile meydana gelen GFR'deki önemli azalmayı açıklamak için muhtemelen yetersizdir. Böbrek tübüllerinde, gentamisin birikimine bağlı olarak gelişen tübüler nekrozun artışıyla glomerüler filtrasyon azalır. Bazı çalışmalarda gentamisin glomerüler endotelial fenestraların sayısını ve porların boyutunu azalttığı gösterilmiştir (45). Bununla birlikte izole mezangiyal hücre kültürlerinde kasılmayı aktive etmiştir (46). Gentamisin tarafından uyarılan çeşitli faktörler de hücre içi kalsiyum miktarını artırarak kasılmaya sebep olur. Bu faktörler arasında; renin-anjiyotensin aktivasyonu, endotel disfonksiyonu kaynaklı endotelin-1 ve tromboksan A2 vazokonstriktörlerin üretimi ve doğrudan reaktif oksijen türevlerinin üretimi ile oksidatif stres vardır (35, 41). Bu durum şekil 2.3.'de şematize edilmiştir. Gerçekleşen bu mezangial ve endotelial hücrelerdeki kasılma GFR'de azalmaya yol açan değişikliklerle glomerüler ve vasküler fonksiyon üzerinde doğrudan etki eder. Bu süreçte ilk olarak tübüloglomerüler geri bildirim hızı artar. Tübüloglomerüler geri bildirim hızının adaptasyonu için tübüler obstrüksiyon, glomerülerde vasküler ve mezangialkonstraksiyonun artışı gerçekleşir. Bu ilişkiler şekil 2.3.'de şematize edilmiştir (41). Durum akut böbrek hasarının ortaya çıkışı ve ilerlemesiyle devam eder. Ayrıca parakrin etki vasküler düz kas hücrelerinin daralmasına ve renal kan akışında azalmaya yol açar (47). Ek olarak, lokal hücre tepkileri, böbrek hasarını tübüler, glomerüler ve vasküler düzeyde daha da şiddetlendiren bir inflamatuvar yanıt ortaya çıkar. Kontrollü bir inflamasyon, sonunda hücrenin ölümüne kadar giden esasında vücut için koruyucu bir süreçtir. İnflamasyona sebep olan

hasar doku ve organda fonksiyon kaybına neden olabilecek büyüklükte olabilir. İnflamatuar süreçler doku veya organda çeşitli hücrel immün aktivitelere ve buna bağlı değişikliklere neden olan bazı mediatörlerin ortaya çıkmasına neden olur. Nötrofiller, bağışıklık sisteminde mikroorganizmalara karşı hareket eden önemli bir beyaz kan hücresidir. Nötrofiller kanda en bol bulunan lökositlerdir. İnflamasyon ve enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattı olarak kabul edilirler. TNF- α , IL-6, memeli nötrofil hücrelerindeki azurofilik granüllerin ana bileşenleridir; insan monositlerinde mikrobiyal öldürme ve inflammatuar doku hasarında yer alırlar. Bu nedenle, TNF- α ve IL-6, çeşitli inflammatuar faktörlerin neden olduğu doku hasarının göstergeleri olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (48, 49).



Şekil 2.4. Gentamisin tedavisi sırasında akut böbrek hasarı (AKI), tübüler nekroz, glomerüler filtrasyon, tübüloglomerüler geri besleme ve vasküler ve mezangial kasılmanın karşılaştırmalı zamansal gelişimi. Başlangıçta, tübüloglomerüler geri besleme (TGF), glomerüler filtrasyon (GFR), tübüler obstrüksiyon (TO), vasküler kontraksiyon (VC), mezangial kontraksiyon (MC)

Gentamisine bağlı nefrotoksisitede izlenen tablo nonoligürik akut böbrek hasarıdır. Genellikle 5 ile 10 günlük antibiyotik tedavisi sonrasında ortaya çıkabilmektedir. Distal tübüler segmentlerin tutulumu poliüri, potasyum ve magnezyum kaybına neden olabilir. Temelde gentamisin birikimi ile ilişkili etkilenen bölge proksimal tübüler hücrelerdir, hasar günlük doz ve tedavi süresi ile ilişkilidir. Proksimal tübüler hücrelerde uzun süreli birikim, ilaç kesildikten sonra bile akut böbrek hasarı gelişimine neden olabilir (50, 51).

Aminoglikozid molekülleri üzerindeki katyonik grupların sayısı, bu ilaçların hücre zarı boyunca taşınma kolaylığını belirler ve toksisitenin önemli bir belirleyicisidir. Molekül başına daha az amino grubuna sahip olan molekül daha az nefrotoksiktir. Neomisin en nefrotoksik olanıdır, gentamisin, tobramisin ve amikasinin toksisitesi orta düzeydedir. Streptomisin ise en az nefrotoksiktir (51). Ayrıca, megaliniciilastatin ile bloke etmenin bu gruba bağlı nefrotoksisiteyi azalttığı bilinmektedir (52). Aminoglikozid nefrotoksitesini için risk faktörleri arasında yüksek veya tekrarlanan dozların kullanımı, uzun süreli tedavi, kronik böbrek hastalığı, diyabet, ileri yaş ve renal iskeminin bir arada bulunması veya diğer nefrotoksik etkili maddelerin kullanımı yer alır (53).

Gentamisinin de dahil olduğu aminoglikozid grubu antibiyotik ilaçlar nefrotoksitesinin yanında özellikle ototoksisite olmak üzere sinir sistemi ve kardiyovasküler sistem üzerine de toksik etkileri ile ön plana çıkmaktadır. Ototoksisite, iç kulaktaki duyu tüy hücrelerinin aminoglikozid kaynaklı yıkımı ile ilgilidir. En savunmasız olan koklear duyu hücreleri bazal uçta, bu nedenle ilk önce yüksek frekanslarda işitme kaybı ortaya çıkar. Ototoksitekokleanın tepesine doğru yükseldikçe, düşük frekanslar da etkilenir. Vestibüler fonksiyonla ilgilenen duyu hücrelerinin etkilenmesiyle denge ile ilgili sorunlar ortaya çıkabilir (54).

Klinikte nefrotoksisite potansiyelini en aza indirebilecek çeşitli stratejiler benimsenmiştir. Mümkün olduğunca en az nefrotoksik aminoglikozid molekülünün tedavide seçilmesi, uygulamadan önce hipokalemi ve hipomagnezeminin düzeltilmesi, böbrek fonksiyonunun değerlendirilerek dozun ayarlanması, tedavi süresinin 7-10 gün ile sınırlandırılması ve eşlik eden nefrotoksik ilaçların en aza indirilmesi bu stratejiler arasında yer alır. Bunun yanında bazı ajanlar aminoglikozid nefrotoksitesini önlemek için potansiyel bileşikler olarak ortaya çıkmıştır. Potansiyellerine rağmen, aminoglikozid nefrotoksitesinin önlenmesi için hiçbir klinik olarak benimsenmemiştir. Bu bileşiklerden poliaspartik asit ve poliglutamik asidi içeren anyonik poliaminoasitler (PAA'lar), kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir. İlk yapılan çalışmalar, PAA'nın aminoglikozidin proksimal tübül hücresinde plazma membranına bağlanmasını inhibe ettiğini göstermiştir. Daha sonraki çalışmalar, PAA'nın doğrudan aminoglikozidlere bağlandığını ve bunları negatif yüklü lizozomlardan uzaklaştırabildiğini de göstermiştir (55).

Aminoglikozid nefrotoksitesini önlemedeki potansiyel rolleri açısından değerlendirilen diğer bileşikler arasında antioksidan etkili maddeler yer alır. Örnek

olarak, desferrioksamin, metimazol, E vitamini, C vitamini ve selenyum sayılabilir. Süperoksit dismutaz, α -lipoik asit, dimetil-sülfoksit (DMSO), N-asetilsistein (NAC), melatonin ve pioglitazon (peroksizom proliferatörü ile aktive olan gama reseptör agonisti) da preklinik modellerde aminoglikozid nefrotoksitesinin önlenmesinde fayda göstermiştir (56).

2.5. Karadut (*Morusnigra L.*) Hakkında Genel Bilgiler

2.5.1. Karadutun Botanik Özellikleri

Dut, Moraceae familyasından *Morus* cinsine ait, çeşitli iklim ve coğrafya koşullarında yetişebilen ılıman ve subtropikal bölgelerde daha yaygın olarak bulunan, çok yıllık, yaprak döken, odunsu ve çiçekli bir bitkidir. *Morusalba* (beyaz dut) ön planda olmak üzere *Morusnigra L.* (karadut) ve *Morusrubra* (kırmızı dut), tıbbi, nutrisyonel ve ticari özellikler sergiledikleri için dünya çapında yaygın olarak üretilen *Morus* türleridir. Karadut olarak da adlandırılan *M. nigra L.*, özellikle Güneybatı Asya'ya özgüdür. Yüzyıllardır Avrupa'da ve ülkemizde özellikle Akdeniz çevresinde yetiştirilmektedir. Yaklaşık 8-10 hafta gibi uzun bir meyve dönemi söz konusudur. Yüksek kromozom sayısı (dekosaploidi, $2n=22x=308$) da benzersizdir (57). Anadolu'da birçok bölgede asırlık karadut ağaçlarına rastlanabilmektedir. Ülkemizde 2021 TÜİK verilerine göre meyve verir vaziyette 2032000 adet dut ağacı mevcut olup aynı yıl dut üretimi 69475 ton olarak gerçekleşmiştir. Dut üretimi oldukça yaygın ve önemli düzeyde olup Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgeleri ön plandadır. İlimiz Malatya'da bu hususta ön plandadır. Bu üretimin yaklaşık %3-5 civarının beyaz dut dışındaki türlere ait olduğu tahmin edilmektedir (58).

2.5.2. Fonksiyonel Gıda Olarak Karadut

Fonksiyonel gıdalar besin olmanın yanında vücut için belirli faydaları olan kapsül ve hap gibi formların dışında meyve ve sebzeler gibi gıdalardan oluşur. Bu kapsamda önemli bir besin değerine sahip olan dutun meyve özellikleri nedeniyle taze olarak tüketilmesi oldukça sınırlıdır. Dut meyveleri daha çok pekmez gibi ürünlere işlenerek ya da kurutularak gıda maddesi şeklinde tüketilmektedir. Doğal içeriğine bakıldığında zengin ve değerli bir bitkidir. *Morus* türlerinin her çeşidi yüksek oranda C vitamini içerir. Ancak tüm çeşitler arasında karadut en fazla C vitamini içeriğine sahip

olan türdür. Ayrıca dut yaprakları bağışıklık sistemi üzerinde uyarıcı etkisi bulunan bazı alkaloidleri de içermektedir. Dutta bulunan şekerler içinde fruktoz en yüksek düzeye sahiptir ve olgunlaştıkça oranı artmaktadır. Yağ içeriği bakımından karadut, beyaz duttan sonra gelmektedir. Tüm dut cinsleri zengin bir mineral kompozisyonuna sahiptir. Kalsiyum, fosfor, potasyum, magnezyum ve sodyum başta birçok mineral içerir. Fakat *Morus* türüne ait olmalarına rağmen mineral içerikleri farklılık göstermektedir (59).

2.5.3. Karadutun Farmasötik Etkileri

M. nigra L.'nin biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri, *M. alba*'ya kıyasla nispeten daha az çalışılmış olmasına rağmen, *M. nigra L.*'dan izole edilen birkaç biyoaktif bileşik, analjezik ve antioksidan özelliklerinden dolayı hayvanlar ve insanlar için geleneksel bitkisel ilaç etkili bir gıda olarak da kullanılmıştır. Geleneksel olarak kırmızı ve siyah türleri insan vücuduna faydalı olarak kabul görmüştür (60).

Antinosiseptif Aktivite

Farelerde formalinle oluşturulmuş ağrı modeliyle yapılan bir çalışmada karadut yaprağından elde edilen morusininantinosiseptif etkisi bildirilmiştir. Bu çalışmada hot plate, tail flick gibi ağrı duyarlılığıyla ilgili testlerde ağrıya tepki süresinin kısaldığı izlenmiştir (61). Fakat bu madde diğer *morus* türlerinde de olduğundan karaduta özgü bir etki olarak kabul etmek doğru olmayacaktır. Farklı bir çalışmada *M. nigra L.* taze meyvelerinden elde edilen flavanoidlerin farelerde formalinle oluşturulan ağrı yanıtının süresini doza bağlı olarak azalttığı görülmüştür (62).

Antiinflatuar Etki

İnflamasyon temel olarak vücudun fizyolojik savunmasında görevli bir dizi süreçtir. Birçok dejeneratif otoimmün ve sistemik hastalığın ilk basamağı olarak karşımıza çıkar. Karadut yaprağı ve kabuğundan elde edilen bazı bileşiklerin inflamasyonun basamaklarından olan ödem gelişimini ve granülasyonu inhibe ettiği çalışmalar söz konusudur (63, 64). Lipopolisakkarit ile indüklenen fare sepsis modelinde karadut yaprak ekstresinin ve karadut meyve özütünün bronkoalveolar lavaj sıvısında lökosit oranını azalttığı, sepsisin önemli bir belirteci olan TNF- α seviyelerini sepsis gruplarına göre düşürdüğü izlenmiştir (6).

Antimikrobiyal Aktivite

Karadut yapraklarının çeşitli çözücülerle yapılan ekstraktlarının birçok antimikrobiyal etki çalışmasında farklı birçok bakteriye karşı etkili olduğu izlenmiştir

(65, 66). Yine meyve özütlerinin de düşük konsantrasyonlarda antimikrobiyal etki göstermesi söz konusudur. Karadut taze meyve suyunun standart dozlarda geleneksel antibiyotiklerle karşılaştırıldığı bir çalışmada genel olarak daha küçük inhibisyon alanları oluştursa da hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere karşı geniş bir spektrum göstermiştir (67). Benzer şekilde tüberküloz ve kandida etkenlerine karşı da etkinlik göstermektedir (68).

Antidiyabetik Etki

Diabetes mellitus insülinin üretimi, salınması ve kullanılması ile ilgili olup hipoglisemi ile karakterize, metabolik sorunlara neden olan bir endokrin bozukluktur. Birçok sistemik komplikasyon ile ilişkilidir. Karadut bitkisinin bazı kısımlarından elde edilen ekstraktlar içerdikleri aktif bileşikler aracılığıyla antidiyabetik etkiler gösterebilmektedir. Bu ekstraktlar, streptozosin ile diyabet modeli oluşturulan ratlarda doza bağlı olarak plazma glikoz konsantrasyonlarının azalmasına yardımcı olmuştur (69, 70).

Antihiperlipidemik Etki

Lipitler ve kolesterol hücrede yapı maddesi olarak görev yapar. Bununla birlikte kandaki seviyelerinin yüksek olması ateroskleroz ile ilişkili bir risk faktörüdür. Yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda karadut ekstraktı lipit profilinin düzenlenmesinde etkili olmuştur (71). Farklı bir deneyde karadut yaprağı ekstraktının yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda ortalama vücut ağırlığını düşürdüğü izlenmiştir. Aortun histolojik incelemelerinde ateroskleroz gelişimini etkili bir şekilde azalttığı izlenmiştir (72).

Organ Koruyucu Etki

Çeşitli toksinlerle oluşturulan deney modellerinde karadutun bazı kısımlarından elde edilen ekstraktların karaciğer, böbrek, sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve üreme sistemi üzerinde organ koruyucu etkilerinin olduğu ortaya çıkarılmıştır (9, 73–75). Bu etkileri çoğunlukla verilen maddenin içerdiği antioksidan bileşiklere atfedilmiştir. Yine bu antioksidan etkiye bağlı olarak antikanser etkinlik göstermesi söz konusudur (76).

Antioksidan Aktivite

Oksidatif stres özetle antioksidan savunma kapasitesinin aşılmasıyla vücutta ortaya çıkan durumdur. Yaşlanma, kanser, diyabet, ateroskleroz, kronik inflamasyon, nörodejeneratif hastalıklar ve iskemi reperfüzyon durumlarında kritik bir role sahiptir. Bu etkiler içeriğindeki maddeler aracılığıyla ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stres ve antioksidan aktivite ile ilgili bilgiler daha geniş biçimde ele alınacaktır.

2.5.4. Pekmez Hakkında Genel Bilgiler ve İlgili Mevzuat

Geleneksel bir ürün olarak pekmez kültürümüzün önemli bir parçasıdır. Üretiminde genel olarak o yörede fazlaca yetişen meyveler kullanılır. Dut meyvesi gıda sanayisi açısından da değerlidir. Meyve özellikleri nedeniyle korunması zor ve taze olarak tüketimi oldukça sınırlıdır. Bu da onun çeşitli katma değerli ürünlere dönüştürülerek tüketilmesine sebep olmuştur. Pekmez bu amaçla ülkemizde üretilen önemli geleneksel gıdalardan birisi olarak karşımıza çıkar. Ülkemizde pekmez en fazla üzüm olmak üzere dut, elma, keçiboynuzu ve erik gibi meyvelerden üretilmektedir. Taze olarak tüketilmesi sınırlı olan bu meyveler pekmez gibi işlenmiş gıdalara çevrilerek enerji, organik asitler ve minerallerce zengin hale getirilir ve yıl boyunca tüketilebilir.

Türk gıda kodeksinde pekmez ticari olarak üretiminin daha ön planda üretilmesi sebebiyle üzüm pekmezi için standartlar oluşturulmuş ve 15/06/2007 tarihinde yürürlüğe girmiştir. Bu tebliğde pekmez; “fermente olmamış taze veya kurutulmuş meyveden elde edilen ekstraktın uygun görülen yöntemlerle asitliğinin azaltılarak durultulması sonrasında tekniğine uygun olarak vakum altında ya da açıkta koyulaştırılması ile elde edilen kıvamlı ürün” olarak tanımlanmıştır. Aynı tebliğde üzüm pekmezi tadına göre tatlı (pH: 5-6) ve ekşi (pH: 3.5-5) olarak; kıvamına göre ise suda çözünür madde miktarına göre katı ve sıvı olarak sınıflandırılabilir. Kendine has renk ve kokusu vardır. Meyve sırası kaynatma esnasında bir kısım şekerin yanmasıyla hidroksimetilfurfural (HMF) ortaya çıkar. Aynı maddenin pekmez içindeki miktarı uzun süre bekledikçe artacaktır. Bu madde pekmeze yanık tadı verir ve miktarı kalitesi ile ilişkilidir. HMF içeriği sıvı pekmez için en çok 75 mg/kg katı pekmez için 100 mg/kg olarak kabul edilmiştir. Bunun yanında içeriğinde ticari glikoz gibi katkı maddelerinin bulunmaması gerekir. Her ne kadar bu standartlar üzüm pekmezi için oluşturulmuş olsa da fiziksel özelliklerinin benzerliği nedeniyle referans alınmıştır (77). Türk Standartları Enstitüsü ise dut pekmezi standardında ‘yabancı maddelerden arındırılmış taze dut veya dut kurusu sırasının açıkta ve/veya vakumda belirli bir kıvama kadar koyulaştırılmasıyla elde edilen bir mamul’ olarak tanımlanmıştır. Bu standartta kuru madde oranına göre en az %72 kuru madde barındıran Tip 1 ve en az %65 kuru madde bulunduran Tip 2 olarak sınıflandırılmıştır. HMF oranı en çok 75 mg/L olarak belirlenmiştir. Sakkaroz oranı Tip 1 için %14 Tip 2 için %17 olarak belirlenmiştir. Her iki sınıfta bulunan pekmez için de pH 5 -6 arasında kabul edilebilir değerlerdir (78).

2.6. Oksidatif Stres

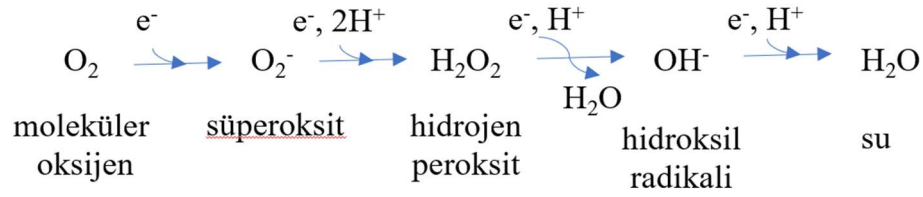
Enerjinin açığa çıktığı birçok metabolik reaksiyonda oksijen kullanılır. Bu süreçler sırasında moleküler oksijen indirgenir ve su oluşur. Oksijenin tamamen indirgenemediği bazı durumlarda hücre canlılığı ve bağışıklıkta da önemli bir yeri olan oldukça aktif bir dizi molekül de ortaya çıkar. Ortaya çıkan bu oksijenin serbest radikalleri ve reaktif oksijen ürünlerine ya da yüksek yoğunlukta oksijene maruziyet, hücre ve dokularda toksik etki göstererek onlara zarar verebilir.

Aerobik koşullarda hücreler güçlü antioksidan sistemler tarafından korunur. Oluşan reaktif moleküller ve antioksidan savunma sistemleri arasında bir denge söz konusudur. Denge kaybolduğunda hücresel fonksiyonlar bozularak patolojik koşullar ortaya çıkar. Bu dengenin oksidan maddeler lehine bozulması ‘oksidatif stres’ olarak adlandırılır (79).

2.6.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Serbest Radikaller

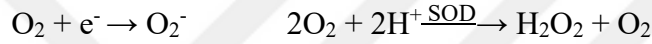
Tanım olarak serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren moleküllerdir. Bu durum kendilerini nötralize etmek için diğer maddelerden elektron yakalamalarına neden olur. Serbest radikaller son derece reaktif, yarı ömrü çok kısa, zincirleme reaksiyonlarla yeni radikal moleküller üretebilen, doku ve hücrelerde biyomoleküllerin yapısını bozarak onlara zarar verebilen maddelerdir. Singlet oksijen ($^1O_2$), hidroperoksi radikalleri ($HOO^\cdot$), lipid peroksit radikalleri ($ROO^\cdot$), nitrik oksit ($NO^\cdot$), lipid peroksitleri ($LOO^\cdot$) ve peroksinitrit ($ONOO^\cdot$) diğer önemli serbest radikallerdir. Oksijen radikallerinin dışında azot içeren serbest radikaller de geniş ve önemli bir ailedir (80).

Hücre içinde enerji açığa çıkarken mitokondride elektron transport zinciri reaksiyonları gerçekleşir. Bu sırada suya dönüşen oksijen bir elektron alarak $O_2^\cdot$, 2 elektron alarak H_2O_2 ve 3 elektron alarak $OH^\cdot$ ortaya çıkarır. Elektromanyetik radyasyona maruziyet veya moleküler oksijenin süperoksit ile reaksiyonu ise singlet oksijen ($^1O_2$) üretimine neden olabilir. Bunun yanında geçiş elementleri de denilen Fe, Cu, Mn, Mo, gibi bazı metal iyonları da eşleşmemiş elektron bulundurur. Buna rağmen serbest radikal olarak değerlendirilmezler, fakat serbest radikal oluşumunda rol oynarlar (81).



Süperoksit Radikali (O_2^-)

Bu anyonun yarı ömrü oldukça kısadır. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile katalize edilen dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 ve O_2 oluşturur. Ağırlıklı olarak mitokondriyal elektron transport zincirinde NADH 'ın NAD^+ 'a okside olması sırasında ortaya çıkar. Bunun yanında birçok oksidaz enzimi tarafından da üretilmektedir. O_2^- 'nin fizyolojik ve patolojik etkileri olabilir. Vasküler fonksiyonlarda regülasyona ve bazı bağışıklık hücrelerinde fagositoza destek olur. O_2^- zararlı etkilerini özellikle H_2O_2 öncülü ve bazı iyonların indirgeyicisi olmasıyla gösterir (82).

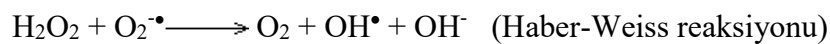


Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Temel olarak bir serbest radikalın iyon yüklü olması gerekir. H_2O_2 'ya bakıldığında iyon yüklü değildir. Fakat bulunduğu ortamda membranları aşarak sitozole geçer ve bazı metal iyonlarıyla birlikte OH^- radikalinin oluşumuna neden olur. Metal iyonlarının yokluğunda zayıf reaktiftir. Bu durum onun önemli bir reaktif oksijen türeği olarak değerlendirilmesini sağlar. H_2O_2 , SOD aracılığıyla dismutasyon reaksiyonu sonucu oluşur. Bunun yanında süperoksit molekülünden kendiliğinden de oluşabilir (83).

Hidroksil Radikali (OH^-)

Hücre için en zararlı oksijen radikalidir. Oldukça güçlü bir okside edicidir. Hücrede radyasyon maruziyeti sonrasında kendiliğinden oluşabilir. Ayrıca hidrojen peroksit ve oksijenden Fe^{+2} veya Cu^{+2} gibi geçiş elementlerinin (M) varlığında bazı reaksiyonlar sonucu ortaya çıkar. Bu reaksiyonlar Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu olarak adlandırılır. H_2O_2 'nin zararlı etkilerinin temelinde bu reaksiyon sonucu ortaya çıkan OH^- radikali vardır.



$\text{OH}^\bullet$ hücre için hayati öneme sahip nükleik asitler başta olmak üzere birçok protein ve karbonhidrat molekülleriyle reaksiyona girebilir. Bununla birlikte hidroksil radikali tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonu hücreler için en önemli hasar

sebepleri arasındadır. Membran fosfolipitlerinin doymamış yağ asitleri ile oksidan maddelerin varlığında reaksiyona girmesi, membran fonksiyonlarının bozulmasına neden olur (84).

Singlet Oksijen ($^1O_2$)

Eşlenmemiş elektronu bulunmadığı için H_2O_2 'ya benzer şekilde serbest radikal olarak değerlendirilmez. Serbest radikal oluşumuna neden olduğundan, hücrel olarak etkili bir reaktif oksijen türevidir (85).

Hipokloröz Asit (HClO)

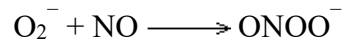
Miyeloperoksidaz (MPO) enzimi aracılığıyla nötrofil hücrelerinde H_2O_2 ve Cl reaksiyonu sonucu oluşur. Kendisi serbest radikal olmayıp serbest oksijen türevi olarak değerlendirilir.



Bu reaksiyon bakteri ve fagositoya uğrayan yabancı yapıların yok edilmesinde önemli bir mekanizmadır. Vücudun bakterilere karşı savunulmasında rol oynar. Ana hedefi proteinlerdir, fakat birçok molekül ile reaksiyona girebilir (86).

Nitrik Oksit (NO)

Oksijen atomuyla bir azotun eşlenmemiş elektronlarının birleşerek oluşturduğu hem fizyolojik hem de patolojik etkileri olan bir moleküldür. Nitrik oksit sentaz enzimi etkisi ile L-arjinin ve oksijenden sentezlenir. NO insanda vasküler tonusun düzenlenmesi, kan basıncı ve böbrek fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynar. Nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla özellikle sinir, vasküler endotel, trombositler ve diğer bazı dokularda üretilir. Hücrede siklik GMP aracılığıyla protein kinazları aktive ederek etki gösterir. Ayrıca antimikrobiyal aktivite de gösterebilmektedir (87).



NO, demir bağlı proteinlerden demiri kopararak yerine kendisi geçme eğilimi gösterir. Fenton reaksiyonunu uyararak bu mekanizma ile kanserogeneziste rol oynar. NO, SOD enzimi ile yarışmalı etki göstererek O_2^- molekülünü bağlar ve peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşur. Bu şekilde oksidatif etki gösterir ve nitrik oksitin fizyolojik etkileri inhibisyona uğrar. $ONOO^-$, NO'un toksik etkilerinin ana sorumlusudur. Normal olarak bu radikaller nitrit (NO_2^-) ve nitrata (NO_3^-) metabolize edilir. Patolojik süreçlerde ise özellikle proteinlere doğrudan zarar vererek, azot dioksit (NO_2), nitronyum iyonu (NO_2^+) ve hidroksil radikali gibi serbest radikallere dönüşür (88).

2.6.2. Serbest Radikallerin İç ve Dış Kaynakları

Vücuda alınan oksijenin yaklaşık %5'inin serbest radikallere dönüştüğü tahmin edilmektedir. Serbest radikal oluşumundan sorumlu başlıca iki sebep vardır. Birincisi vücutta devam eden normal hücrel metabolik süreçler, ikincisi ise çevresel etkilere. Tablo 2.4.'de bu durumlar ile ilgili örnekler listelenmiştir (89).

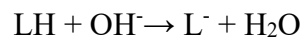
Tablo 2.4.Serbest Radikal Oluşumuna Neden Olan Bazı Olaylar

Serbest radikallerin oluştuğu iç kaynaklı süreçler; • Solunum zincirlerinden elektron sızıntısı • Oksidaz enzimleri (NADPH oksidaz, ksantin oksidaz) tarafından H_2O_2 veya O_2^- üretimi • Membran lipidlerinin peroksidasyonunda zincirleme reaksiyonlar • Peroksizomal O_2^- ve H_2O_2 üretimi • Prostaglandinlerin sentezi • Argininden NO üretimi • Fagositoz sırasında (bakterisidal eylemin bir parçası olarak) • Hemoglobinin parçalanması sırasında oluşan hemin safra pigmentlerine oksidasyonu • Oto-oksidasyonun bir sonucu olarak, örn. metal iyonları [Fe^{2+}, Cu^{2+}]; askorbik asit, glutatyon, flavin koenzimleri.
Serbest radikal oluşturan dış kaynaklar; • İlaç metabolizmasının bir sonucu olarak, örn. parasetamol, halotan, sitokrom P450 ile ilgili reaksiyonlar. • İyonlaştırıcı radyasyonların (ör. X ışınları) dokularda neden olduğu hasar • O_2'nin ışıqla fotolizi • Organik moleküllerin foto-uyarılması • Sigara dumanında bulunan ağır metallerin sebep olduğu serbest radikal ve OH^- üretimi • Alkolün sebep olduğu lipid peroksidasyonu

Lipit Peroksidasyonu

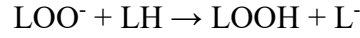
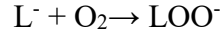
Membran lipidlerinin serbest radikal kaynaklı peroksidasyonu, üç aşamada gerçekleşir: başlama, yayılma ve sonlandırma

Başlama aşaması: Bu adım, çoklu doymamış yağ asitlerinden hidroksil radikalının tarafından hidrojen atomunu (H) çıkarılmasıyla başlar. Sonuç olarak su ve yağ asidi radikali (L^-) ortaya çıkar

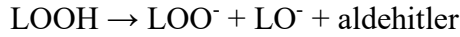


Yayılma aşaması: Aerobik koşullar altında, yağ asidi radikali oksijeni alarak peroksil radikali (LOO^-) oluşturur. Oluşan peroksil radikali, lipid hidroperoksit ($LOOH$)

oluşturmak için başka bir çoklu doymamış yağ asidinden H atomunu alır ve zincirleme bir reaksiyonun devamını sağlar.



Hidroperoksitler, alkoksi ($LO^{\cdot}$) ve peroksil ($LOO^{\cdot}$) radikalleri oluşturabildikleri için lipid peroksidasyonunu daha da uyarabilir.



Sonlandırma aşaması: Lipit peroksidasyonu, mevcut PUFA'nın tamamı oksitlenene kadar zincirleme bir reaksiyon olarak ilerler (89, 90).

Lipit peroksidasyonu için bir belirteç olarak malondialdehit

Lipit peroksidasyon ürünlerinin çoğu karboniller, esterler, alkanlar, alkenler, 2-alkenal, 2,4-alkadienal ve malondialdehit (MDA) gibi kararsız bileşiklerdir. Bunlardan MDA en çok çalışılmış olanıdır ve lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi için biyokimyasal bir belirteç olarak kullanılır (92). MDA hücre zarı bileşenlerinden olan PUFA ve araşidonik asitin ayrışması sonucu oluşan son üründür. Yağ asidi oksidasyonunun spesifik bir göstergesi değildir fakat oksidatif stresle oldukça iyi korelasyon gösterir. MDA düzeyi ne kadar yüksekse hasar o derece yüksek düzeydedir (93). MDA ve diğer aldehitler tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek kırmızı renkli ürünler yani kolorimetrik olarak ölçülebilen tiyobarbitürik asit reaktifleri (TBARS) üretirler. Deneysel olarak MDA düzeyinin ölçümü de bu prensibe dayalı olarak yapılmaktadır (94).

Makrofajlar Tarafından ROS Üretimi

Fagositoz sırasında makrofajlar, NADPH oksidaz tarafından katalize edilen bir reaksiyonla $O_2^{\cdot-}$ üretir. Bu $O_2^{\cdot-}$ radikali H_2O_2 'ye ve ardından hipokloröz aside ($HClO$) dönüştürülür. $O_2^{\cdot-}$, hipokloröz iyonlarla birlikte bakterisidal etki meydana getirir. Bu etkisi, vücut tarafından üretilen serbest radikallerin faydalı etkilerini temsil eder. Bakterisidal işlevleri sırasında makrofajlar tarafından büyük miktarda O_2 tüketilir, bu olay solunum patlaması olarak adlandırılır. Makrofajlar tarafından alınan O_2 'nin yaklaşık %10'unun serbest radikallerin üretimi için kullanıldığı tahmin edilmektedir (95).

2.6.3. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerine Etkileri

Proteinler: Serbest radikaller, sülfhidril gruplarının oksidasyonuna ve bazı amino asitlerin (örneğin metionin, sistein, histidin, triptofan, tirozin) modifikasyonuna neden olur. Reaktif oksijen ürünleri, parçalanma, çapraz bağlanma ve agregasyon yoluyla proteinlere zarar verebilir. Sonuç olarak, serbest radikaller sıklıkla proteinlerin biyolojik aktivitesini kaybetmesine neden olur.

Lipitler: Daha önce anlatıldığı şekilde, çoklu doymamış yağ asitleri, serbest radikallerin verdiği zarara karşı oldukça hassastır.

Karbonhidratlar: Fizyolojik pH'da monosakkaritlerin (örn. glikoz) oksidasyonu H_2O_2 ve oksoaldehitler üretebilir. Karbonhidratların proteinlere bağlanması (glikasyon) proteinlerin serbest radikallerin saldırısına karşı duyarlılığını artırır. Bu durum, protein glikasyonunun diyabetik mikroanjiyopati ve diyabetik nefropati gibi birçok sağlık komplikasyonu ile ilişkili olduğu diyabetes mellitusta önem kazanır.

Nükleik asitler: Serbest radikaller DNA'da zincir kırılmalarına ve bazların parçalanmasına neden olabilir. Bu tür hasarlar sitotoksikite ve mutasyonlarla ilişkilidir. Serbest radikallerin mutajenite ve sitotoksikiteye neden olabilmesi onları kanserojenizde anahtar rol sahibi yapar.

2.7. Antioksidanlar

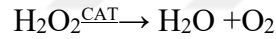
Aerobik hücreler serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltmak için antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Biyolojik bir antioksidan, bir substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya inhibe eden bir madde olarak tanımlanabilir. Serbest radikallerin üretimi ve antioksidanlar tarafından nötralizasyonu normal bir bedensel süreçtir. Antioksidanlar serbest radikallere elektron transferi yaparak veya onları ortadan kaldırarak hücresel düzeyde hasarı engellemektedir. Serbest radikallerin temizleyicileri olarak düşünülebilir. Antioksidanlar farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Antioksidanların bir kısmı vücuda diyetle alınırken bir kısmı ise vücutta hücresel düzeyde üretilir. Etkilerine ve doğalarına göre değerlendirirsek enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir. Vücut serbest radikallere karşı ilk olarak katalaz, SOD, glutatyon peroksidaz enzimleri ile karşılık verir. Bunun yanında sağlık açısından önemli ve diyetle alınabilen antioksidan maddeler vardır (96,97).

2.7.1. Enzimatik Antioksidan Sistem

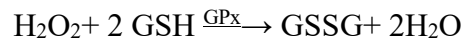
SOD: Reaktif oksijen ürünleri ve O_2^- radikaline karşı en önemli antioksidan savunma sistemidir. Yüksek oranda reaktif olan O_2^- 'nin daha az reaktif olan H_2O_2 'ye dönüşümünü katalize eder. Bu, hücreleri O_2^- 'nin zararlı etkilerinden koruyan ilk savunma hattıdır. İnsanlarda üç farklı SOD formu vardır. Sitozolik olan Cu/Zn SOD, mitokondriyal Mn SOD ve hücre dışı SOD. SOD enzimi aktif bölgesinde bulunan metallerin ardışık oksidasyonu ve indirgenmesi ile O_2^- 'yi oldukça hızlı bir şekilde ortadan kaldırır. Tüm SOD türleri azid ve florür gibi tek yüklü anyonları bağlar, fakat aktif metali Fe, Mn veya Cu/Zn olan SOD enzimlerinin duyarlılıkları birbirinden farklıdır. Yine bu enzimler N_3 , CN ve F tarafından yarışmalı olarak inhibe edilir. Bu enzimlerle ilişkili genlerde görülecek mutasyonlar çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir. Yaşlanmayla seviyeleri azalır (97, 98).



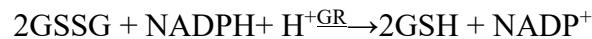
Katalaz: Bu enzim peroksizomlarda bulunur. Mitokondride oluşarak sitozole geçen H_2O_2 peroksizomlarda sentezlenen katalaz enzimi ile detoksifiye edilir. H_2O_2 hücre için bazı fizyolojik fonksiyonlarda düşük seviyelerde gerekli ve önemlidir. Katalaz H_2O_2 'yi sınırlandırarak bu dengenin kurulmasını sağlar (97).

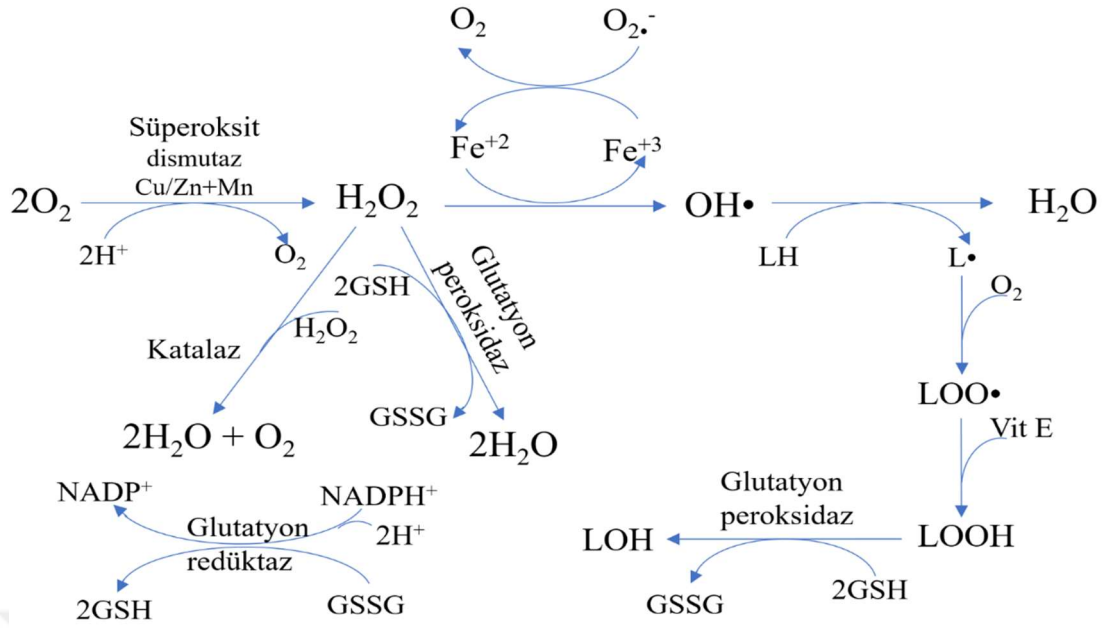


Glutasyon peroksidaz: Özellikle mitokondri bazen de sitoplazmada H_2O_2 'yi suya parçalayan önemli bir antioksidandır. H_2O_2 'nin H_2O 'ya detoksifikasyonu indirgenmiş glutatyonun (GSH) oksitlenmiş glutatyon (GSSG) dönüşümü sırasında olur. İndirgenmiş glutatyon, NADPH kullanılarak glutatyon redüktaz enzimi tarafından yeniden üretilebilir. Birçok izoformu vardır. Bir kısmı selenyuma bağlı çalışır. Azalmış GPx seviyeleri antioksidan etkinliğin bozulmasıyla ilişkilidir (100).



Glutasyon redüktaz: FAD içeren bir enzimdir. Okside olmuş glutatyon NADPH'tan bir elektronu aktararak yeniden glutatyon dönüşür. Glutasyon peroksidaz ile birlikte heksoz monofosfat yolundan gelen NADPH üzerinden serbest radikal hasarını önlemeye çalışır (101).

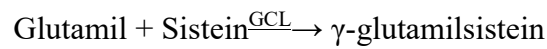




2.7.2. Nonenzimatik Antioksidan Sistem

Eksojen ve Endojen Kaynaklı Antioksidanlar

GSH: Glutamin, sistein ve glisin amino asitlerinden glutamin-sisteinligaz (GCL) ve glutasyon sentetaz (GSS) enzimleri aracılığıyla üretilir. GSH, biyolojik antioksidan enzim sisteminde anahtar rol oynar. Hücrelerde glutamata ardışık olarak sistein ve ardından glisin eklenmesiyle sentezlenir. Antioksidan etkiyi sağlayan indirgeme ve konjugasyon işlevi sisteininsülfhidril grupları tarafından gerçekleştirilir. GSH, glutasyon redüktaz ve NADPH'ın katılımıyla oksitlenmiş glutatyondan (GSSG) yeniden üretilir. Hücre dışı ortamlarla karşılaştırıldığında, hücrelerin içinde olanlar oldukça farklıdır. GSH, farklı hücresel bölmelerde önemli rolleri vardır. Mitokondride nekroza ve apoptoza karşı düzenlemede anahtar bir rol oynar. Hücre çekirdeğinde glutasyon, hücresel bölünmenin kilit düzenleyicisidir. Hücrelerde antioksidan olarak glutasyonun çoğu GPx tarafından kullanılır. Bu enzimler, H_2O_2 'nin glutasyon tarafından H_2O ve GSSG'ye indirgenmesini katalize eder. GSSG potansiyel olarak toksik bir moleküldür, ancak hücreler normalde GSH'ın çoğunu indirgenmiş formda tutan yüksek glutasyon redüktaz aktivitesine sahiptir (102).



Tokoferoller (E vitamini): E vitamini yağda çözünür ve tokoferoller arasında α -tokoferol biyolojik olarak en aktif olanıdır. Tüm hücre zarlarında bulunan bir

antioksidandır ve lipit peroksidasyonuna karşı koruyucudur. α -Tokoferol, oksiradikaller (örn., $O^\cdot$, $OH^\cdot$, singlet oksijen) üzerinde doğrudan etki edebilir ve bu nedenle önemli bir zincir kırıcı antioksidan görevi görür. İşlenmemiş bitkisel yağlar (pamuk tohumu yağı, yarfıstığı yağı, ayçiçek yağı) kepekli tahıllar, yapraklı sebzeler, baklagiller ana kaynaklarıdır (103).

Askorbik asit (C vitamini): Vücudun birçok normal metabolik reaksiyonuna katılan bir vitamindir. Askorbik asit, suda çözünebilirliğiyle biyolojik sıvılar içinde önemli bir antioksidan olarak karşımıza çıkar. C vitamini, serbest radikalleri etkili bir şekilde temizler ve lipit peroksidasyonunu engeller. Aynı zamanda α -tokoferolün (ROS'un temizlenmesi sırasında üretilen α -tokoferoksil radikalinden) rejenerasyonunu da destekler. Narenciye (portakal, üzüm), bektaşı üzümü (amla), guava, yeşil sebzeler (lahana, ıspanak), karnabahar ve kavun ana kaynaklarıdır (104).

Karotenoidler: Lipofilik özelliklere sahip doğal bileşiklerdir. Yaklaşık 500 farklı karotenoid tanımlanmıştır, β -karoten en önemlileri arasındadır. β -karoten genellikle C ve E vitaminleri ile birlikte işlev görür. Yağda çözünen bir pigment olan likopen, bir karotenoiddir. Bazı meyve ve sebzelerin (örneğin domates) renginden sorumludur. Likopen antioksidan özelliğe sahiptir. Lutein ve zeaksantin ayrıca meyve ve sebzelere sarı veya yeşil renk veren karotenoid pigmentlerdir. Bu pigmentler ayrıca antioksidan görevi görebilir. Havuç, yeşil meyve ve sebzeler, ıspanak, şalgam ve kayısı karotenoid içeren besinlerdir (105).

Selenyum: Temel bir eser elementtir ve önemli bir antioksidan olduğu kanıtlanmıştır. Selenyum, serbest radikallerle mücadelede E vitamini ile birlikte çalışır. Ayrıca önemli bir antioksidan enzim olan GPx'in işlevi için de gereklidir. Deniz ürünleri, etler, sakatatlar ve tam tahıllardan gıda ile alınabilir (106).

α -Lipoik asit: Bitkisel ve hayvansal kaynaklardan temin edilmesinin yanı sıra vücutta üretilen vitamin benzeri bir bileşiktir. α -Lipoik asit, askorbik asit, α -tokoferol ve GSH gibi diğer önemli antioksidanların geri dönüşümünde anahtar rol oynar. Kırmızı et, karaciğer ve maya ile alınabilir (107).

Kafein: Son araştırmalar, kafeinin doğrudan bir antioksidan olabileceğini göstermektedir. Kafeinin en büyük kaynağı olan kahve ayrıca antioksidan etkileri olan birçok flavonoidi de içerir (108).

Biyolojik öneme sahip birçok metabolik antioksidan vardır. Bunlardan seçilmiş birkaçı aşağıda listelenmiştir.

Ürik asit, güçlü bir singlet oksijen ($^1O^2$) ve $OH^\cdot$ radikalleri temizleyicisidir.

Seruloplazmin, demir ve bakıra bağlı lipit peroksidasyonunu inhibe eder.

Transferrin demire bağlanır ve demirin katalizlediği serbest radikal oluşumunu engeller. Albümin yüzeyinde oluşan serbest radikalleri temizleyebilir.

Bilirubin, albümine bağlı serbest yağ asitlerini peroksidasyondan korur.

Haptoglobin, serbest hemoglobine bağlanır ve lipit peroksidasyonunun hızlanmasını engeller.



3.MATERYAL VE METOT

Hipotez: Geleneksel olarak üretilen karadut pekmezi nefrotoksik maddelere bağlı gelişen böbrek hasarına karşı antioksidan etkilerle koruyucu etki gösterebilir.

Araştırma Tipi: Deneysel hayvan çalışması olarak düzenlendi. Bu çalışma için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan 10200 HAYBİS no'lu 2020/16-3 sayılı kararı ile onay alındı. İlgili tez çalışması İnönü Üniversitesi BAP Birimi tarafından TDK-2021-2491 nolu proje kapsamında desteklendi.

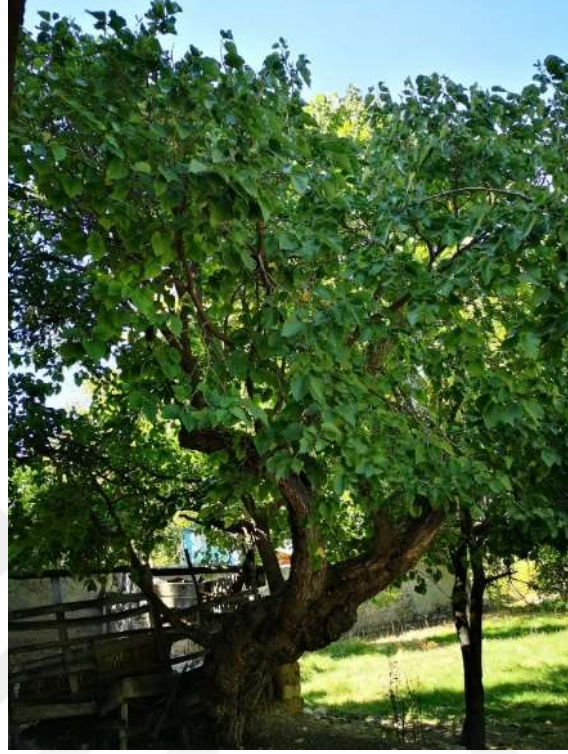
Araştırmanın Evreni: Deneyde İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında ebeveyn ratların çiftleştirilmesiyle üretilen ortalama ağırlıkları 250-300 g civarında olan ratlar kullanılmıştır. Toplamda 48 rat basit randomizasyon yoluyla 6 gruba ayrıldıktan sonra tartılarak, ortam şartları takip edilen odalarda 12 saat gece ve 12 saat gündüz döngüsüyle deney hayvanları laboratuvarında muhafaza edildi. Her kafese dört adet erişkin dişi *Wistar Albino* cinsi rat bulunacak şekilde yerleştirildi. Deney prosedürü yine aynı merkezde gerçekleştirildi. Bu süreçte tüm grupların standart pelet rat yemi ve şebeke suyu ile ad libitum beslenmesi sağlandı. Kafes temizliği ve sularının değişimi düzenli olarak yapıldı.

Örneklem Büyüklüğü ve Yöntemi: I. Tip hata miktarı (alfa) 0.05, testin gücü (1-beta) 0.95, ve etki büyüklüğü 0.7 iken anlamlı bir fark bulunabilmesi için yapılan güç analizi sonucu bu çalışmanın gerekli olan minimum örneklem büyüklüğü 6 grupta n=8 olmak üzere toplam 48 adet rat ile yapılması gerektiği hesaplandı (109). Çalışmamızda karadut pekmezinin koruyucu etkilerini araştırmak istediğimiz için buna uygun oluşturulan gruplar ileride ayrıntılı olarak belirtildi.

3.1. Karadut Pekmezinin Üretimi

Deney sürecinde kullanılan karadut pekmezi 2020 yaz mevsiminde geleneksel yöntemle tarafımızca üretildi. Pekmezin elde edildiği Şekil 3.1.'de gösterilmiş olan karadut ağacının tür tayini İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Turan Arabacı tarafından yapıldı. Sonrasında Prof. Dr. Turan Arabacı ve Feyzi Doğru tarafından 13/06/2021 tarihinde herbaryum örneği oluşturuldu. İlgili örneğe İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

herbaryumundan ‘Feyzi Doğru 1001’ numarasıyla ulaşılabilir. Hayvan deneyi ile ilgili süreç başlamadan önce deneyde kullanılacak pekmezin eldesi ve farmasötik kompozisyonunun belirlenmesi sağlandı.



Şekil 3.1.Karadut pekmezinin elde edildiği, ‘Feyzi Doğru 1001’ herbaryum kaydı yapılan ağaç (Malatya/Darende)

Karadut pekmezi araştırma amacımıza uygun olarak halk arasında yaygın kullanılan geleneksel yöntemlerle elde edildi. Genel olarak halk arasında karadut meyvesi taze olarak tüketilmeyecekse reçel, pekmez ve pestil gibi ürünler şeklinde muhafaza edilir ve tüketilir. Pekmez eldesi için özetle taze meyve soğuk presleme ile sıvı kısmının ayrılması ve ardından bu sıvıya kısa süre ısıtma işlemi uygulanması ve belli bir süre açık havada buharlaşması beklenerek suyunun uzaklaştırılması ve yoğunlaştırılması işlemleri yapılır. Çalışmamızda kullanılan pekmez aşağıda belirtildiği şekilde üretildi (110).

Pekmezin yapımında 2020 Ağustos ayında Malatya İli Darende İlçesinde bulunan tür tayini yapılarak herbaryum örneği oluşturulan karadut ağacından toplanan meyveler kullanıldı. Toplanan meyvelerin içinde bulunan dal ve yaprak gibi kalıntılardan kaba bir temizlikle arındırıldı. Pekmez üretiminde meyveler kaynatıldıktan sonra süzülerek yapılan uygulamalar olsa da posanın kaynamayla ortaya çıkaracağı

potansiyel etkilerden korunmak adına çiğ süzme yöntemi seçildi. Yaklaşık meyve miktarının yarısı oranında su eklenen meyveler mekanik olarak ezildi ve suyu süzülerek posasından ayrıldı. Kalan posaya bir miktar daha su eklenerek tekrar süzüldü. Sonuç olarak yaklaşık 20 L kadar şıra elde edildi. Elde edilen şıra yeterli büyüklükteki bakır kazanda direkt alev ile 1 saat kadar ısıtıldı. Yaklaşık 10 dakika kaynamaya devam eden şıra bu süreçte üzerinde oluşan köpük toplanarak soğumaya bırakıldı. Soğutulan şıra süzülerek çökmüş olan posa bir kez daha ayrıldı. Bu aşamada kalsiyum karbonat içerikli pekmez toprağı denilen toprak eklenerek çökme sağlanabildiği gibi mekanik süzmeyle de duru pekmez elde edilebilir. Soğumaya bırakılan şıra pamuktan imal edilmiş ince gözenekli çuvalarda süzülerek katı maddeden arındırıldı ve açık ve berrak bir hal alması sağlandı. Süzülen duru haldeki şıranın geniş tabanlı kaplarda ince bir katman halinde yaklaşık 2-3 gün boyunca güneş altında koyulaştırılması (solar evaporasyon) sağlandı. Güneşle yapılan evaporasyon sayesinde HMF oluşumu sınırlandırılmaya çalışıldı. Burada ağırlığının yaklaşık %65-70 civarını kaybetmesi sağlandı. Konsantre hale gelen bu dut şırası dut pekmezi olarak ifade edilir. Tüm bu işlemler sonunda 10 kg yaş meyveden yaklaşık 2,2 kg kadar pekmez elde edildi. Elde edilen pekmez ince bir tülbent ile süzülerek cam kavanozlara alındı. Ambalajlanan karadut pekmezi serin ve karanlık bir ortamda muhafaza edildi.

Standardizasyonu sağlamak amacıyla deneyde kullanılan karadut pekmezinin farmasötik kompozisyonu İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Selim Erdoğan rehberliğinde analiz edilerek açığa çıkarıldı.

3.2. Karadut Pekmezine Yapılan Kimyasal Analizler

3.2.1. Ekstraksiyon

Yapılan literatür araştırmalarında; pekmez örneklerinin ekstraksiyonunda birçok çözügen karışımı kullanılmış; fenolik ve antioksidan özellik bakımından en iyi sonuçlar metanol ve/veya su ile sağlanmıştır. Bu nedenle çalışmamızda içerik analizi için yapılacak ölçümlerde çözücü olarak metanol, su karışımı (%50:50 v/v) ve sadece su (%100) kullanıldı. Ekstraksiyon için pekmez örneklerinden 5 g tartılarak tüplere alındı. Tartımı yapılan ve 5 g olarak alınan örneklerin üzerine 50 mL çözügen karışımından eklendi. Daha sonra elde edilen karışım vorteks yardımıyla homojenize edilerek, 1 saat kadar karanlıkta bekletilip ardından 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar 0.45 µm PVDF filtre yardımıyla süzülerek elde edilen ekstre

kullanıldı. Ekstreler günlük hazırlandı ve kullanılıncaya kadar +4°C’de saklandı (111–113).

3.2.2. Şeker Bileşiminin Belirlenmesi

Karadut pekmez örneğinden yaklaşık 1 g tartıldı, üzeri 100 mL saf su ile tamamlandı. İyice karıştırılarak 0.45 µm PVDF filtre yardımıyla süzüldü. Hazırlanan örnekler HPLC ile analiz edildi. Analiz için Carbosep CHO 87C Karbonhidrat kolonu (7.8x300mm) kullanıldı. Örneklerin analizi 3 paralel olacak şekilde yapıldı (113, 114).

3.2.3. Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi:

Pekmez örneğinin toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesinde FolinCiocalteu yöntemi kullanıldı. Ekstrakte edilen pekmez örneğinin toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için uygun tüplerin içerisine 30 µL örnek ekstresi, 2370 µL saf su ve 150 µL folin konularak iyice karıştırıldı. Karışım, 3 dakika bekletildi ve ardından 450 µL Na₂CO₃ (%7’lik) eklenerek homojen bir şekilde karışması sağlandı. Tüpler 2 saat boyunca bekletildi ve bu sürenin sonunda absorbens değerleri 765 nm’de köre karşı ölçüldü. Kör numunelerde ekstre yerine saf su, standartlarda ise gallik asit kullanıldı. Pekmez örneğinin toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri (mg GAE/ 100 g) olarak belirlendi (116).

3.2.4. Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi:

ABTS Yöntemi

Pekmez örneğinin antioksidan aktivite tayini için öncelikle potasyumpersülfat ve ABTS radikal çözeltileri hazırlandı. 7 mM (0.0384 g tartılıp bir miktar saf suda çözüldü) olarak hazırlanan ABTS üzerine 2 mL potasyum persülfattan (0.0331 g alınıp saf su ile 10 mL’ye tamamlanarak hazırlandı) ilave edilip saf su ile 10 mL’ye tamamlandı. Bir gece buzdolabında bekletilen çözeltinin absorbensı 734 nm dalga boyunda 0.700±0.02 absorbens verecek şekilde ayarlandı. Bunun için yaklaşık 1 mL ABTS radikal çözeltisi alınıp 100 mL metanol ile seyreltildi. Kapaklı tüplere; hazırlanan bu çözeltiden 3’er mL eklenerek üzerine 100’er µL örnek çözeltisi ilave edildi. Karışımlar vortekslenip 10 dakikanın sonunda, 734 nm dalga boyunda saf suya karşı okutuldu. Sonuçlar mg Troloks Eşdeğeri (TE)/100 g üzerinden hesaplandı (116, 117).

Kuprik İyon Metodu (CUPRAC)

Pekmez örneğinin kuprik iyon indirgeme kapasitesi aşağıdaki yönteme göre belirlendi. Bir tüp içerisine 1 mL $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (10^{-2} M), 1 mL neocuprin (7.5×10^{-3} M), 1 mL amonyum asetat (pH:7.0) eklendi. Ardından uygun oranda seyreltilen örnek ekstraktlarından 100 μL ilave edilerek, son hacim saf su ile 4.1 mL'ye tamamlandı. Standart olarak troloks kullanıldı ve örneklerin absorbens değerleri 450 nm'de ölçüldü (119).

3.2.5. Toplam Flavonoid Ölçümü

Toplam flavonoid içerik için 1 mL örnek ekstraktı üzerine 4 mL saf su ve 300 μL %5 NaNO_2 ilave edilerek yaklaşık 5 dakika bekletildi. Daha sonra 300 μL %10 $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ eklenerek iyice karışması sağlandı. 6 dakika sonra, 2 mL 1M NaOH ilave edilerek toplam hacim saf su ile 10 mL'ye tamamlandı. Karışımın absorbensı 510 nm'de ölçüldü. Standart olarak kateşin kullanıldı bu sebeple ekstraktların toplam flavonoid içeriği 100 g örnek başına mg kateşin eşdeğeri (mg kateşin/100 g) olarak ifade edildi (120).

3.2.6. Toplam Antosiyanin Ölçümü

Pekmez örneğinde bulunan toplam antosiyanin miktarı pH farkı metodu kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Bu analiz için pH'sı 1.0'a ayarlanan 0.025 M potasyum klorür (KCl) çözeltisi ile pH'sı 4.5'e ayarlanan 0.4 M sodyum asetat ($\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) çözeltileri hazırlandı. İki ayrı tüpe 0.7 mL pekmez ekstraktı konularak tüplerden birine 1.5 mL KCl çözeltisi diğerine ise 1.5 mL $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi ilave edildi. 30 dakika beklendikten sonra hazırlanan çözeltilerin 510 ve 700 nm'de ayrı ayrı absorbens değerleri ölçüldü (121).

3.2.7. HPLC Metodu ile Farmasötik Kompozisyonun Belirlenmesi

Polifenollerin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan standart bileşikler; Kuersetin, Kafeik asit, Naringin, Kateşin, Hesperidin, p-kumarik asit, Epigallokateşingallat, Epikateşin, Myricetin, Kampferol, Phloridzindihidrat, Gallik asit, Ellagik asit, Luteolin, Resveratrol, Klorogenik asit ve Rutindir. Öncelikle standart bileşiklerin stok solüsyonları 1000 ppm konsantrasyonunda hazırlandı. Çözeltilerin hazırlanmasında çözücü olarak

metanol:sukarışımı (1:1 v/v) kullanıldı. Hazırlanmış olan standart solüsyonlardaki analitlerin analizi için HPLC kullanılarak miktar tayini yapıldı. Mobil faz A: Su: Asetik Asit (%95.5: %4.5), Mobil faz B: Asetonitril. 280, 320, 360 ve 520 nm dalga boylarında analiz edildi. Ekstrakt içerisindeki bileşiklerin miktar tayini HPLC ile yapıldı.

Antosiyanin Türlerinin Miktarlarının Belirlenmesi

Antosiyanin ekstraksiyon ve saflaştırma: Analiz edilecek pekmez örneğinden 1 g örnek alınıp, 5 mL metanol:asetikasit:su (%85:14.5:0.5) karışımı eklenerek iyice karıştırıldı ve soğutmalı santrifüjde 2000 rpm' de 10 dakika 4°C' de santrifüj edildi. Süpernatant kısmı ayrı bir tüpe alındı. Kalan katı kısım üzerine tekrar 5 mL taze çözgen eklenerek aynı işlem tekrarlandı. Birleştirilen süpernatant kısımları 0.45 µm PTFE ve/veya naylon filtreden geçirilerek amber renkli 1.5 mL' lik cam şişelere (vial) alındı ve HPLC'ye verildi.

Analizi yapılan temel antosiyanin bileşikleri; Siyanidin-3-O-glikozit, Siyanidin-3-galaktozit, Siyanidin-3-arabinosit, Siyanidin-3-rutinozit, Siyanidin-3-sambubioside, Pelargonidin-3-glikozit, Kaemferol-3-O-rutinozit, Kuersetin-3-O-rutinozit, Malvidin-3-O-glikozit, Delfidin-3-O-glikozittir.

3.3. Deney Grupları ve Yapılan Uygulamalar

Kontrol grubu: Bu gruba herhangi bir medikasyon uygulanmadı. Sadece stres şartlarını standardize etmek amacıyla deneyin birinci gününden onuncu gününe kadar oral gavaj yoluyla 2 mL distile su verildi ve intraperitoneal yolla (i.p.) 0.5 mL serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı.

%25 Pekmez grubu: Bu gruba deneyin birinci gününden onuncu gününe kadar oral gavaj yoluyla 8 mL/kg/gün dozunda distile su ile ¼ oranında seyreltilmiş pekmez verildi ve stres şartlarını standardize etmek amacıyla i.p. 0.5 mL serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı.

Saf Pekmez grubu: Bu gruba deneyin birinci gününden onuncu gününe kadar oral gavaj yoluyla 8 mL/kg/gün dozunda saf pekmez verildi ve stres şartlarını standardize etmek amacıyla i.p. 0.5 mL serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı.

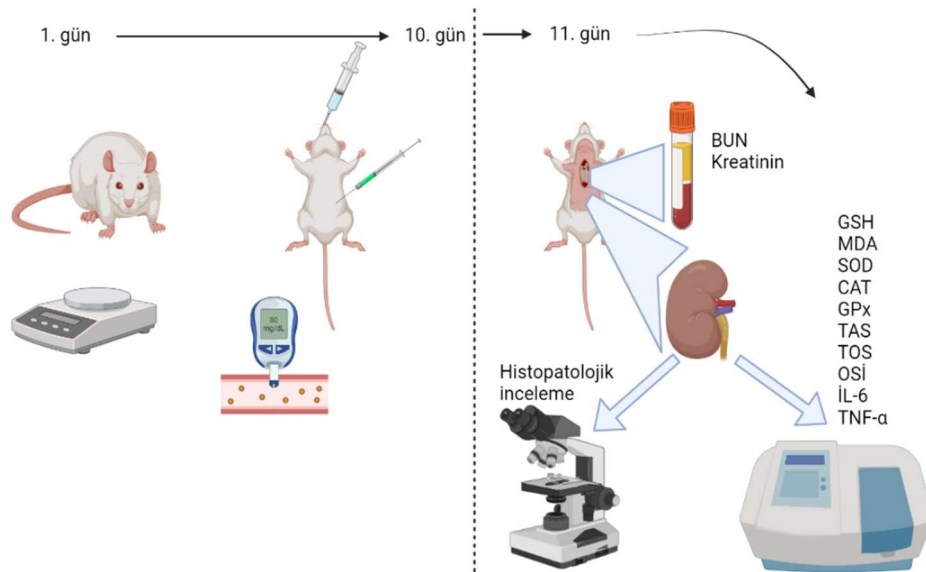
Genta grubu: Bu gruba deneyin birinci gününden onuncu gününe kadar stres şartlarını standardize etmek amacıyla oral gavaj yoluyla 8 mL/kg/gün dozunda distile su verildi ve böbrek hasarı modelini oluşturmak için i.p. 100 mg/kg/gün dozunda gentamisin enjeksiyonu yapıldı (122).

Genta + %25 Pekmez grubu: Deneyin birinci gününden onuncu gününe kadar oral gavaj yoluyla 8 mL/kg/gün dozunda distile su ile ¼ oranında seyreltilmiş pekmez verildi ve böbrek hasarı modelini oluşturmak için i.p. 100 mg/kg/gün dozunda gentamisin enjeksiyonu yapıldı.

Genta + Saf Pekmez grubu: Deneyin birinci gününden onuncu gününe kadar oral gavaj yoluyla 8 mL/kg/gün dozunda saf pekmez ve böbrek hasarı modelini oluşturmak için i.p. 100 mg/kg/gün dozunda gentamisin enjeksiyonu yapıldı.

Tüm gruplarda günlük olarak yapılan uygulamalar öncesinde kan glikoz düzeylerini takip etmek amacıyla kuyruk veninden alınan kandan strip ile kan şekeri takibi yapıldı.

Deneyin 11. günü tüm gruplarda tekrar tartıları alınan ratların 75 mg/kg ketamin ve 8 mg/kg ksilazin anestezisi altında karınları açılarak her iki böbrekleri alındı. Alınan organlar dekapsüle edildikten sonra dikey olarak ortadan ikiye bölündü. Böbrek dokularının bir parçası histopatolojik inceleme yapılması için formaldehit solüsyonunda tespit edilerek muhafaza edildi, diğer parça oksidan/antioksidan ve antiinflamatuvar biyokimyasal belirteçler (GSH, MDA, SOD, CAT, GPx, TAS, TOS, OSI, TNF- α ve IL-6) çalışılması için ayrı ayrı gruplandırıldı ve laboratuvar çalışmaları yapılana kadar -80 °C soğutucuda muhafaza edildi. İşlem sonunda ratlar intrakardiyak kan alınarak sakrifiye edildi. Alınan kan dokusu santrifüj edilerek serum kısmı ayrıldı. Elde edilen serum ile kan üre azotu (BUN) ve kreatinin düzeylerinin ölçümü yapıldı.



Şekil 3.2. Deney prosedürü

3.4. Kan ve Doku Örneklerinde Yapılan Ölçümler

İlgili analizler İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Merkez Biyokimya Laboratuvarı ve Fizyoloji Anabilim Dalı Moleküler Fizyoloji ve Oksidatif Stres Laboratuvarının imkanları kullanılarak yapıldı.

3.4.1. Serum BUN ve Kreatinin Düzeylerinin Ölçümü

BUN ve Kreatinin analizleri İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Merkez Biyokimya Laboratuvarında hizmet alımı ile yapıldı ve sonuçları alındı.

3.4.2. Kan Glikoz Ölçümü

Kan glikoz tayini periferik kılcal kandan glukometre ve strip ile günlük olarak ratların kuyruklarından alınan kandan ölçülerek yapıldı.

3.4.3. Böbrek Dokularının Homojenizasyonu

-80 °C soğutucuda muhafaza edildikleri ortamdan çıkarılan dokular içerisinde Tris-HCl bulunan behere batırılarak durulandı. Sonrasında ağırlıkları tartılarak not edildi. Cam tüplerin içine alınan dokuların üzerine 2 mL pH 7.4 Tris-HCl tamponu eklenerek bir dakika boyunca İKA-WERKE T 25 B marka cihaz kullanılarak homojenize edildi. Üzerine 2 mL daha tampon solüsyonu eklenerek bir dakika daha homojenizasyona devam edildi. Son olarak toplam hacim 6 mL olacak şekilde tampon solüsyonu eklenerek homojenizasyon bir dakika daha yapılarak bitirildi. Elde edilen homojenattan birisi yedek olarak saklanmak üzere diğeri ise analizler için kullanılmak üzere 2 adet 1.5 mL numaralandırılmış eppendorf tüplere aktararak ayrıldı. Kalan homojenat +4 °C soğukta Hettich D 78532 marka soğutuculu santrifüj cihazında 3220 rpm hızda 45 dakika boyunca santrifüj edildi. Üstte kalan berrak kısım süpernatant olarak birisi yedek saklanmak üzere diğeri ise analizler için kullanılmak üzere 2 adet 1 mL halinde numaralandırılmış eppendorf tüplere aktararak ayrıldı. İlgili spektrofotometrik okumalar SHIMADZU UV-160A marka cihazla yapıldı.

İlgili analizler İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Moleküler Fizyoloji ve Oksidatif Stres Laboratuvarının imkanları kullanılarak gerçekleştirildi.

3.4.5. Malondialdehit Ölçümü

MDA, Uchiyama ve Mihara'nın yöntemine göre ölçüldü. Yöntem, bir lipit peroksidasyonu ürünü olan MDA'nın 95°C'de tiyobarbitürik asit ile birleştirilmesine dayanmaktadır. Standartlara ve homojenata uygulanan işlemler sonrasında numunelere ait tüplerde ayrılan n- butanol fazı alınarak 535 ve 520 nm dalga boyunda spektrofotometre ile okunarak fark kaydedildi. Elde edilen sonuçlar nmol/g doku cinsinden ifade edildi (123).

3.4.6. Protein Miktarı Ölçümü

Çalışılan diğer belirteçlere ait verilerin hesaplanması amacıyla kullanılacak protein miktarı analizi modifiye Lowry yöntemi ile yapıldı. Metodun prensibi; alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşarak Folin-Ciocalteu-Phenol reaktifini indirgemesine dayanır. Bu reaksiyon sonrasında koyu mavi bir renk oluşur. Rengin koyuluğu ile ortamdaki protein konsantrasyonu doğru orantılıdır.

Folin reaktifi numunelerin de bulunduğu alkali bakır-protein çözeltisine eklenip vortekslendi. Bu uygulama ile folin reaktifinin parçalanmadan önce indirgenme olayı gerçekleştirildi. Spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda standartlar ve numuneler okundu. Elde edilen standart grafiğe göre sonuçlar hesaplanıp µg/mL olarak ifade edildi (124).

3.4.7. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü

GPx aktivitesi Paglia ve Valentine yöntemiyle ölçüldü. NADPH, indirgenmiş glutasyon, sodyum azid ve glutasyon redüktaz içeren bir tüpe süpernatant eklenerek H₂O₂ ilavesiyle enzimatik bir reaksiyon başlatıldı. Bu reaksiyon sonucu spektrofotometre ile 340 nm dalga boyunda değişiklik bir izlendi. Bu değişiklik belirli bir süre takip edildi ve absorbans değişimiyle hesaplanan aktivite, U/mg protein olarak verildi (125).

3.4.8. Glutasyon Ölçümü

Homojenattaki glutasyon konsantrasyonu, Ellman yöntemine göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Her homojenat numunesi, 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.5) ve 17.5 M etilen diamintetraasetik asit (EDTA) içerisinde 10 mM 5,5-ditiobis (2-nitrobenzoik asit) ile karıştırıldı. Reaksiyon, 0.5 birim glutasyon redüktaz

ve 0.4 mM NADPH eklenerek başlatıldı. 5 dakika sonra numunelerin absorpsanları 410 nm dalga boyunda ölçülerek GSH konsantrasyonu standart bir eğriye göre hesaplandı. Sonuçlar $\mu\text{mol/g}$ doku olarak ifade edildi (126).

3.4.9. Katalaz Aktivitesinin Ölçümü

Katalaz aktivitesi Aebi'nin yöntemine göre belirlendi. Test prensibi, hız sabitinin (k, s^{-1}) veya H_2O_2 ayrışma hızının 240 nm dalga boyunda belirlenmesine dayanır. H_2O_2 çözeltisine süpernatant eklenmesiyle ayrışma başlar ve spektrofotometrede değişiklik izlenir. Bu değişiklik belirli bir süre takip edildi ve absorpsan değişimiyle hesaplanan aktivite takip edilerek hız sabiti bulundu. Sonuçlar K/g protein olarak verildi (127).

3.4.10. Süpeoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü

SOD aktivitesi Sun ve arkadaşlarının yöntemiyle çalışılarak belirlendi. SOD aktivite testi NitroblueTetrazoliumChloride (NBT) indirgenmesinin inhibisyonu prensibine dayanır. SOD aktivitesi, 560 nm dalga boyunda formazonun absorpsiyon değeri ile ters orantılıdır. Sonuçlar U/mg protein olarak hesaplandı (128).

3.4.11. TAS ve TOS Ölçümü ile OSİ Hesaplanması

Elde edilen süpernatandan toplam antioksidan seviye Erel yöntemi ile ölçüldü (129). Yöntemin esası H_2O_2 varlığında ABTS molekülünün $ABTS^+$ molekülüne okside olmasına dayanır. Bu ölçüm yönteminde 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radikali (ABTS kökü) kullanılır. ABTS kökü, antioksidan miktarına ve antioksidan kapasiteye göre mavi ve yeşil rengini kaybeder. Bu renk değişikliği 660 nm dalga boyunda ölçülerek değerlendirme yapılır. Renk değişimi ile örnek içindeki antioksidan miktarı arasında ters ilişki bulunur. Reaksiyon hızı, bilinen bir yöntem olan Trolox ile ayarlanır. Birimi Troloxequivalent/L'dir.

Toplam oksidan seviye (TOS) ölçümü, Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemle yapıldı. Birimi $\mu\text{mol } H_2O_2\text{equivalent /L}$ 'dir.

Oksidatif stres indeksi (OSİ) toplam oksidan seviyenin (TOS) toplam antioksidan seviyeye (TAS) bölünmesi ile hesaplanarak verildi. Birimi arbitraryunit (AU)'dır.

TAS ve TOS ölçümleri özel olarak geliştirilmiş RelAssayDiagnostics (MEGA TIP San. Tic. Ltd. Sti.) marka test kitleriyle üreticinin talimatları dikkate alınarak yapıldı ve klavuzda belirtildiği şekilde hesaplandı.

3.4.12. IL-6 ve TNF- α Ölçümü

Sitokinlerin seviyeleri, hazır olarak üretilmiş Sunred marka rat IL-6 ve TNF- α ELISA kitleri (ShanghaiSunredBiologicalTechnologyCo., Ltd) ile deney prosedürü sonunda alınan doku örneklerinden elde edilen süpernatantlar kullanılarak kit üreticisinin talimatlarına göre ölçüldü.

3.5. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik değerlendirme için ratların böbrek dokuları 3-4 mm'lik küçük parçalara ayrıldı. Daha sonra plastik doku takip kasetlerine konularak %10'luk formaldehit içerisinde 24 saat süre ile fikse edildi. Fiksasyon sonrasında dokular 24 saat boyunca akan çeşme suyunda yıkandı. Dereceli alkollerde dehidrate edilerek, ksilende şeffaflaştırılıp parafine gömüldü. Parafin bloklardan Leica RM2145 marka mikrotom yardımıyla 5'er mikron'luk kesitler alındı. Kesitlere hematoksilin ve eozin boyama yöntemi uygulanarak genel histolojik yapı değerlendirildi. Renal hasar; intertubuler hemoraji, peritubuler infiltrasyon ve glomerüler kapiller kollaps yönünden değerlendirildi. Her kesitten X20'lik büyütmede 10 alan incelendi ve histopatolojik skorlama renal hasarın derecesi ve yaygınlığına göre belirlendi. Hasarın şiddetine göre; 0 (değişiklik yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (ağır) olarak değerlendirildi. Preparatlar Leica DFC280 ışık mikroskobu ve Leica Q (Leica MicroImagingSolutionLtd, Cambrige, UK) görüntü analiz sistemi ile incelenerek skorlandı, fotoğrafları çekildi.

3.6. İstatistiksel Analizler

Histolojik İncelemeye Ait İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler, SPSS istatistiksel yazılım programı ile yapıldı. Çalışmada yer alan tüm gruplardaki ölçülebilir değişkenlerin normallik testlerine göre normal dağılım göstermediği saptandı ($p>0.05$). Bu nedenle, istatistiksel değerlendirmede parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis varyans analizi, tüm değişkenler yönünden grupların genel karşılaştırılmasında kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar, Bonferroni düzeltmesi yapılarak Mann-Whitney-U testi ile yapıldı. $p<0.05$ istatistiksel

olarak anlamlı kabul edildi. Veriler, dağılıma bağlı olarak medyan (minimum-maksimum) (Med (Min.-Max.)) olarak ifade edildi.

Biyokimyasal Verilere Ait İstatistiksel Analiz

Yapılan ölçümlerden sonra elde edilen verilerin istatistiksel analizleri yapıldı. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi için IBM SPSS bilgisayar programı kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluğu sağlayan belirteçlerde nicel değişkenler açısından gruplar arası farklılıklar tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ile çoklu karşılaştırmalar ise varyansların homojenitesine göre Tukey HSD veya Tamhane testi ile gerçekleştirildi. Normal dağılıma uygunluk varsayımının sağlanmadığı durumlarda ise nicel değişkenler açısından gruplar arası farklılıklar Kruskal Wallis-H testi ile ve ikili karşılaştırmalar ise Mann-Whitney-U testi ile gerçekleştirildi. Araştırma kapsamındaki nicel veriler parametrik testlerde ortalama±standart sapma, non-parametrik testlerde medyan (minimum-maksimum) (Med (Min.-Max.)) şeklinde oluşturuldu. $p<0.05$ değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

Günlük olarak takip edilen ratlardan hasar modeli uygulanan grupların yaklaşık 3. günden sonra hareketliliklerinde azalma olduğu izlendi. Yine bu gruplarda ilk birkaç gün altlıklarının daha sık ıslandığı, iştahsızlık, kilo kaybı ve kaşıntı gibi üremik belirtilerin ortaya çıktığı izlendi. Deney sürecinde beklenmedik bir rat kaybı gerçekleşmedi. Deney gruplarına ait % kilo kaybı, kan şekeri, BUN, kreatinin, MDA, GSH, GPx, SOD, CAT, TAS, TOS, OSİ, TNF- α ve IL-6 değerlerine ait bulgular Tablo 4.1.'de paylaşıldı. Tablo 4.2.'de ise bu bulgulara ait istatistiksel analizlerin p değerleri ve istatistiksel açıdan anlamlı olup olmadığına ait veriler sunuldu.

Deney başlamadan önce yapılan analizlerle karadut pekmezinin fitokimyasal içeriği ve pekmezin fiziksel özellikleri aydınlatılmaya çalışıldı. Elde edilen veriler Tablo 4.3.'de özet halinde sunuldu.

Sunulan tablolar sonrasında ölçülen her belirteç ayrı başlıklar altında grafiklerle değerlendirildi. Son olarak da histopatolojik incelemeye ait veriler ve görseller paylaşıldı.

Tablo 4.1. Deney sürecinde bakılan ve değerlendirilen belirteçlerin toplu sonuçları

Grup	Kontrol	%25 Pekmez	Saf Pekmez	Genta	%25 Pekmez + Genta	Saf Pekmez + Genta
% Kilo Kaybı (%) Ortalama± Standart Sapma	5.54±2.95	1.92 ±3.58	2.56 ±3.51	9.86 ±3.05	4.62 ±2.36	6.35 ±3.67
Kan Şekeri (mg/ dL) Ortalama± Standart Sapma	103.69 ±5.32	101.54 ±8.80	134.29 ±26.77	95.12 ±6.11	90.06 ±8.02	109.00 ±9.72
BUN (mg/ dL) Ortalama (Min. – Max.)	22.90 (18.70 – 25.70)	20.80 (18.70 – 22.40)	22.40 (19.20 – 34.10)	42.05 (31.80 – 60.80)	25.90 (17.80 – 32.40)	22.45 (20.60 – 25.70)
Kreatinin (mg/dL) Medyan (Min. – Max.)	0.50 (0.50 – 0.60)	0.60 (0.50 – 0.70)	0.55 (0.50 – 0.70)	0.95 (0.80-2.00)	0.65 (0.50 – 1.00)	0.70 (0.60 – 0.80)
MDA nmol/g doku Ortalama±Standart Sapma	72.52±12.02	78.66±20.36	70.41±14.76	164.46±44.12	62.10±13.28	82.43±21.13
GSH Micromol/g doku Ortalama±Standart Sapma	7.29±1.98	6.32±1.24	5.57±0.63	4.68±0.38	5.19±0.40	6.10±0.69
GPx U/mg Protein Ortalama±Standart Sapma	35.44±9.95	29.55±9.83	26.52±9.66	21.27±8.34	28.84±9.72	26.92±9.04
SOD U/mg Protein Medyan (Min. – Max.)	1.42 (0.87- 2.02)	1.45 (1.03- 2.21)	1.35 (0.84- 2.54)	1.12 (0.49- 1.26)	1.28 (0.50 – 1.44)	1.30 (0.87 – 1.70)
CAT K/g Protein Ortalama (Min. – Max.)	343.45 (221.00 – 454.00)	405.45 (204.10 – 497.00)	375.75 (316.50 – 545.50)	157.20 (93.40 – 254.00)	235.20 (144.40 – 399.60)	254.25 (188.90- 317.40)
TAS Trolox Eqv./L Medyan (Min. – Max.)	0.98 (0.55 – 1.09)	0.99 (0.70 – 1.06)	1.04 (0.94 – 1.15)	0.75 (0.51 – 0.97)	0.92 (0.50 – 1.09)	1.03 (0.87 – 1.08)
TOS H₂O₂ Eqv./L Ortalama (Min. – Max.)	4.42 (3.16 – 5.21)	3.84 (3.58 – 7.26)	3.98 (2.09 – 6.05)	5.60 (4.14 – 8.05)	4.93 (2.98 – 8.00)	5.82 (2.70 – 6.74)
OSİ Arbitrary unit Ortalama±Standart Sapma	4.81±1.48	5.11±1.64	4.05±1.40	8.49±3.38	6.11±1.82	5.32±1.42
TNF-α pg/mL Ortalama±Standart Sapma	26.49 ±1.52	26.29 ±1.26	25.13 ±1.62	25.68 ±1.59	25.20 ±1.45	25.18 ±1.78
IL-6 pg/mL Medyan (Min. – Max.)	6.57 (4.88- 7. 42)	6.90 (5.90 – 7.69)	6.68 (4.74 – 7.54)	9.41 (8.23 – 9.61)	8.64 (7.14- 10.14)	8.53 (7.78-9.70)

Tablo 4.2. İstatistiksel açıdan gruplar arasında anlamlı farklılıklar ve p değerleri

	1-2	1-3	1-4	1-5	1-6	2-3	2-4	2-5	2-6	3-4	3-5	3-6	4-5	4-6	5-6
Kilo Kaybı	0.240	0.448	0.100	0.993	0.996	0.999	0.000	0.554	0.086	0.001	0.795	0.197	0.026	0.270	0.890
Kan Şekeri	1.000	0.193	0.139	0.025	0.966	0.142	0.840	0.221	0.876	0.059	0.028	0.402	0.948	0.075	0.013
BUN	0.154	0.702	0.001	0.187	0.958	0.139	0.001	0.074	0.064	0.001	0.371	0.833	0.001	0.001	0.226
Kreatinin	0.045	0.268	0.001	0.024	0.001	0.418	0.001	0.245	0.004	0.001	0.112	0.003	0.007	0.001	0.659
MDA	1.000	1.000	0.007	0.859	0.992	0.999	0.008	0.704	1.000	0.005	0.998	0.971	0.003	0.012	0.460
GSH	0.990	0.509	0.104	0.262	0.906	0.923	0.98	0.439	1.000	0.078	0.942	0.879	0.226	0.006	0.111
GPx	0.811	0.422	0.048	0.727	0.473	0.504	0.504	1.000	0.993	0.873	0.996	1.000	0.601	0.836	0.998
SOD	1.000	0.753	0.027	0.141	0.294	0.529	0.016	0.074	0.141	0.046	0.462	0.462	0.208	0.027	0.916
CAT	0.401	0.208	0.001	0.021	0.021	0.916	0.002	0.016	0.027	0.001	0.005	0.001	0.036	0.006	0.462
TAS	0.958	0.091	0.031	0.713	0.495	0.140	0.01	0.712	0.527	0.001	0.127	0.318	0.207	0.002	0.370
TOS	0.875	0.958	0.006	0.270	0.083	0.793	0.141	0.753	0.636	0.021	0.208	0.115	0.345	0.674	0.916
OSİ	1.000	0.972	0.008	0.776	0.995	0.893	0.017	0.911	1.000	0.001	0.319	0.795	0.182	0.030	0.996
TNF-α	1.000	0.496	0.898	0.555	0.536	0.664	0.969	0.721	0.703	0.978	1.000	1.000	0.988	0.986	1.000
IL-6	0.318	0.834	0.001	0.002	0.001	0.294	0.001	0.002	0.001	0.001	0.002	0.001	0.093	0.156	0.753

4.1. Karadut Pekmezinin Fiziksel Özellikleri ve Farmasötik Kompozisyonu

Karadut pekmezinde yapılan içerik analizi ile testler sonucu tespit edilen maddeler ve pekmezin fiziksel özelliklerine ait elde edilen veriler Tablo 4.3.'de özetlendi.

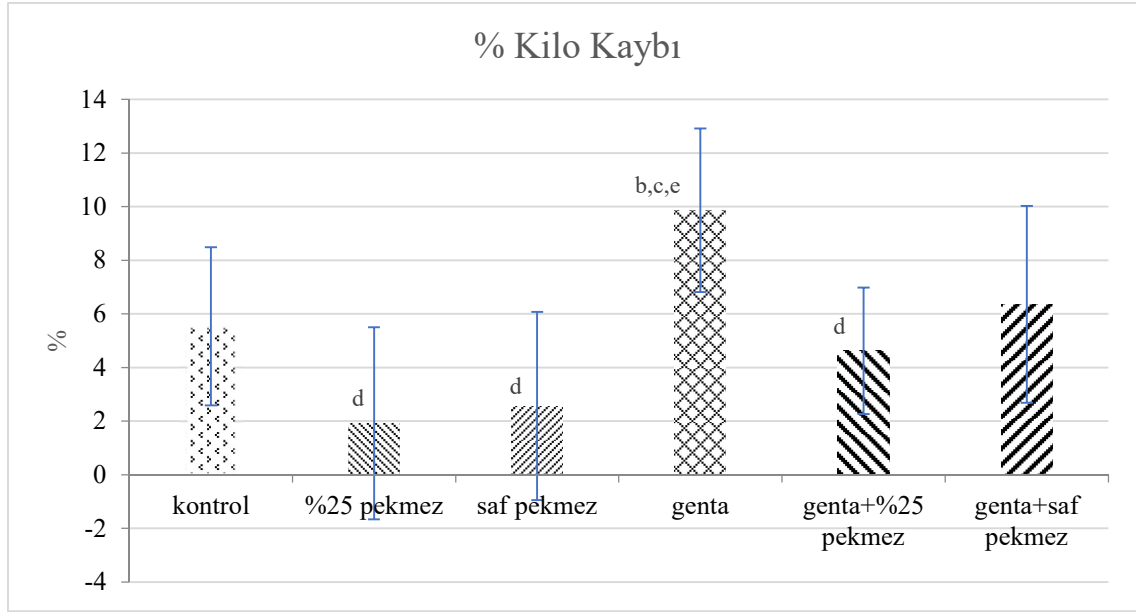
Tablo 4.3. Karadut Pekmezinde Yapılan Analizler

Karadut Pekmezi		Ortalama Değer
pH		3.87
Kül (%)		3.93
HMF (mg/kg)		249.13
Şeker Bileşimi (g/100 g)	Glikoz	24.63
	Fruktoz	26.54
	Sakkaroz	1.77
Toplam Flavonoid Madde Miktarı (mg kateşin/100 g)	Su çözeltisi	909.87
	Metanol çözeltisi	885.05
Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/100 g)	Su çözeltisi	788.39
	Metanol çözeltisi	769.20
Toplam Antioksidan Kapasite, ABTS (mg TE/100 g)	Su çözeltisi	290.05
	Metanol:su:asit çözeltisi	262.51
Toplam Antioksidan Kapasite, DPPH (mg TE/100 g)	Su çözeltisi	167.54
	Metanol:su:asit çözeltisi	200.75
Fenolik Bileşikler (mg/100g)	Kateşin	12.69
	Klorojenik asit	17.50
	Rutin	9.81
	Kuersetin	3.61
	Kaemferol-3-rutinozit	0.076
Toplam Antosiyanin (siyanidin-3-glikozit eşdeğeri, mg/kg)	Su çözeltisi	282.38
	Metanol:su:asit çözeltisi	376.64
Antosiyanin Bileşikleri (mg/100g)	Siyanidin-3-rutinozit	0.32
	Siyanidin-3-glikozit	1.43
	Pelargonidin-3-glikozit	0.014
	Delfinidin-3-glikozit	Tespit edilemedi
	Malvidin-3-glikozit	Tespit edilemedi

4.2. Ratların Makroskopik Değerlendirilmesi ve Serum Biyokimyası

4.2.1. Vücut Ağırlığı Kaybı

Vücut ağırlıklarındaki kayıplar ile ilgili veri % kayıp miktarı olarak Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'te sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.1.'de verildi.

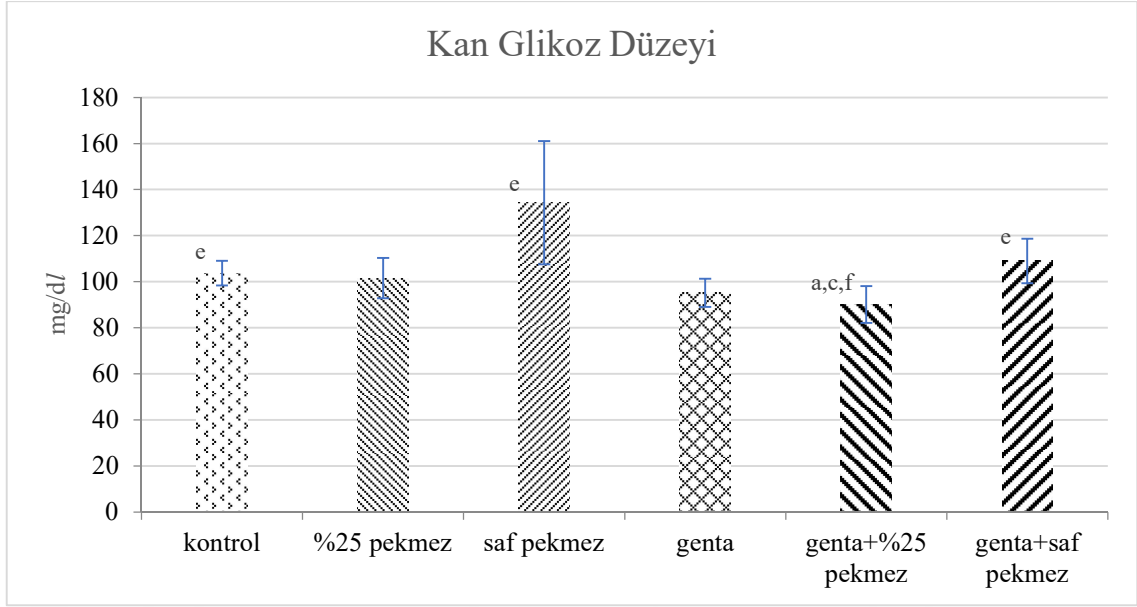


Şekil 4.1. Grupların vücut ağırlığındaki kayıp oranları (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

Tabloya bakıldığında ortalama olarak tüm gruplarda kilo kaybı izlendi. Bununla birlikte gentamisin ile hasar oluşturulan grupta kilo kaybı en fazlaydı. Hasar grubunda ki bu değişim hasar oluşturulmamış pekmez verilen gruplar ve hasar oluşturularak düşük doz pekmez verilen grup ile istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). % Kilo kaybı oranları hasar oluşturulmamış pekmez verilen gruplarda en düşük düzeyde gerçekleşti.

4.2.2. Kan Glikoz Düzeyi

Deney boyunca tüm ratların günlük olarak ilaç uygulamalarından hemen önce kan glikoz düzeyleri kuyruktan alınan kandan strip ile ölçülerek kaydedildi. Grupların on günlük ortalama kan glikoz düzeyleri Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'de sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.2.'de verildi.

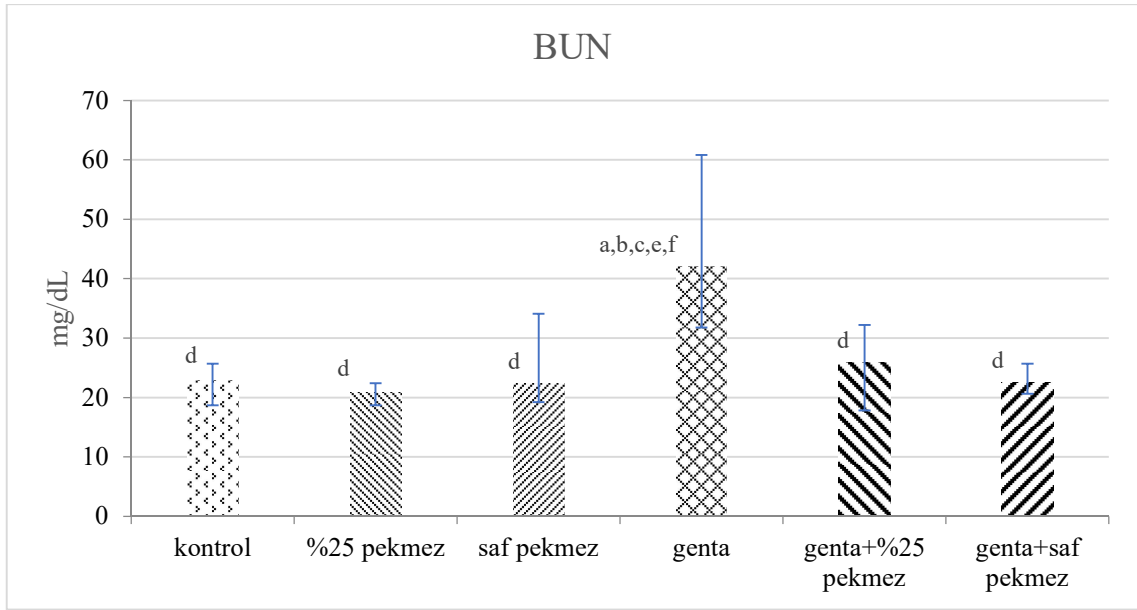


Şekil 4.2.Grupların kan glikoz düzeyleri (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

Tabloya bakıldığında kontrol grubuna göre hasar oluşturulmayan ve saf pekmez alan grup en yüksek ortalamaya sahipti. Kontrol grubuna göre en düşük ortalama ise hasar oluşturulan düşük doz pekmez alan grupta izlendi. Bu gruptaki kan şekeri düzeyi ile kontrol, hasar oluşturulmayan saf pekmez ve hasar oluşturulan saf pekmez grubu arasında anlamlı farklılık vardı ($p<0.05$).

4.2.3. Serum BUN Düzeyi

Deney sonlandırılırken alınan kan dokusu santrifüj edilerek ayrıldı ve elde edilen serumdan çalışılan BUN değerleri açısından gruplar arasında homojen dağılım yoktu. BUN değerleri medyan (min-max) olarak Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'te sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.3.'de verildi.

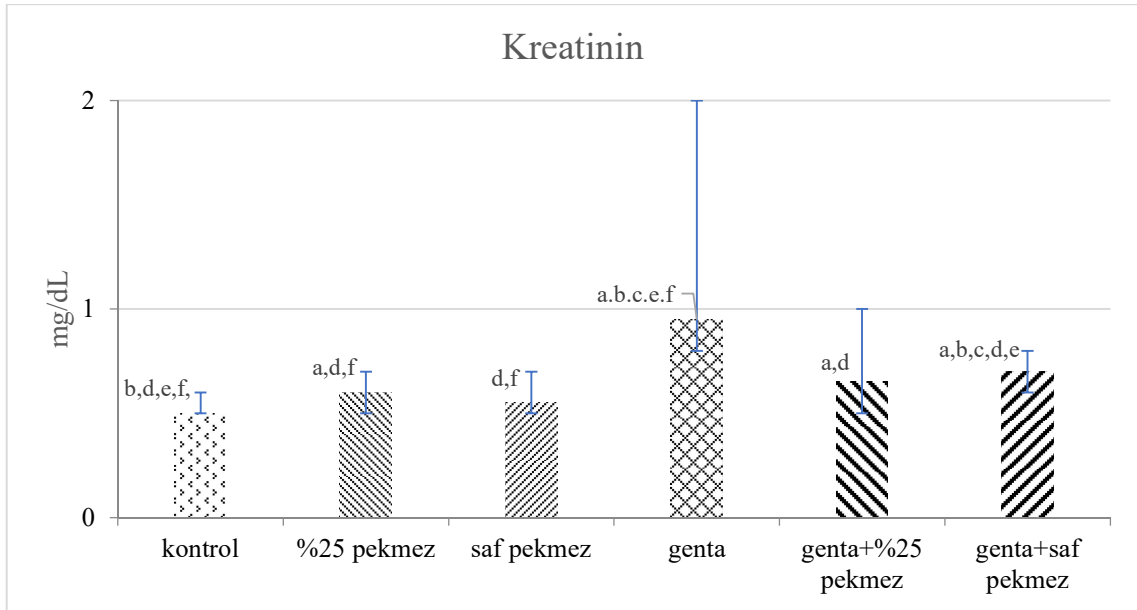


Şekil 4.3. Grupların serum BUN düzeyleri (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

BUN seviyeleri için gruplar arasında önemli farklılıklar elde edildi. Pekmez verilmeyen hasar grubunda BUN seviyesinin diğer gruplara göre anlamlı şekilde artmış olduğu izlendi ($p<0.05$). Pekmez verilen hasar gruplarında, BUN seviyesinin pekmez verilmeyen hasar grubuna göre anlamlı şekilde daha düşük olduğu bununla birlikte kendi aralarında anlamlı fark olmadığı izlendi. Hasar oluşturulmayan ve pekmez verilen gruplar ile kontrol grubunda elde edilen değerler yaklaşık olarak aynıydı. BUN düzeyi saf pekmez alan hasarlı grup ve kontrol grubunda yaklaşık değerlere sahip olup düşük dozda pekmez alan hasar grubunda ise bunlardan hafif düzeyde yüksekti.

4.2.4. Serum Kreatinin Düzeyi

Deney sonlandırılırken alınan kan dokusu santrifüj edilerek elde edilen serumdan çalışılan kreatinin değerleri açısından gruplar arasında homojen dağılım yoktu. Kreatinin değerleri medyan (min-max) olarak Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'te sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.4.'de verildi.



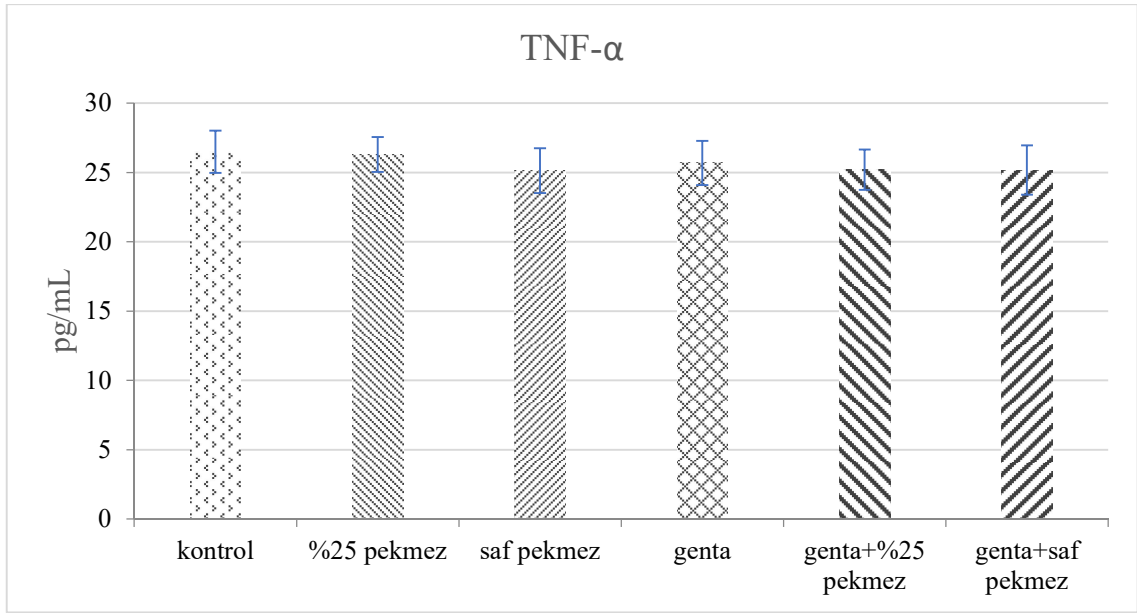
Şekil 4.4.Grupların serum kreatinin düzeyleri (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

Kreatinin düzeyleri için gruplar arasında önemli farklılıklar elde edildi. Pekmez verilmeyen hasar grubunda kreatinin seviyesinin diğer gruplara göre anlamlı şekilde arttığı izlendi ($p<0.05$). Pekmez verilen hasar gruplarında, kreatinin seviyesi pekmez verilmeyen hasar grubuna göre anlamlı şekilde daha düşük olduğu bununla birlikte kendi aralarında anlamlı fark olmadığı izlendi ($p<0.05$). Hasar oluşturulmayan ve pekmez verilen gruplar ile kontrol grubunda elde edilen değerler yaklaşık olarak aynıydı.

4.3. Antiinflamatuvar Belirteçler

4.3.1. TNF- α

Deney sonlandırılırken alınan böbrek dokusundan elde edilen süpernatant kullanılarak, hazır olarak temin edilen kit ile çalışıldı. TNF- α düzeylerinde gruplar arası homojen dağılım söz konusuydu. İlgili değerler Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'te sunuldu. Grupların TNF- α düzeyleriyle ilgili grafik Şekil 4.5.'de verildi.

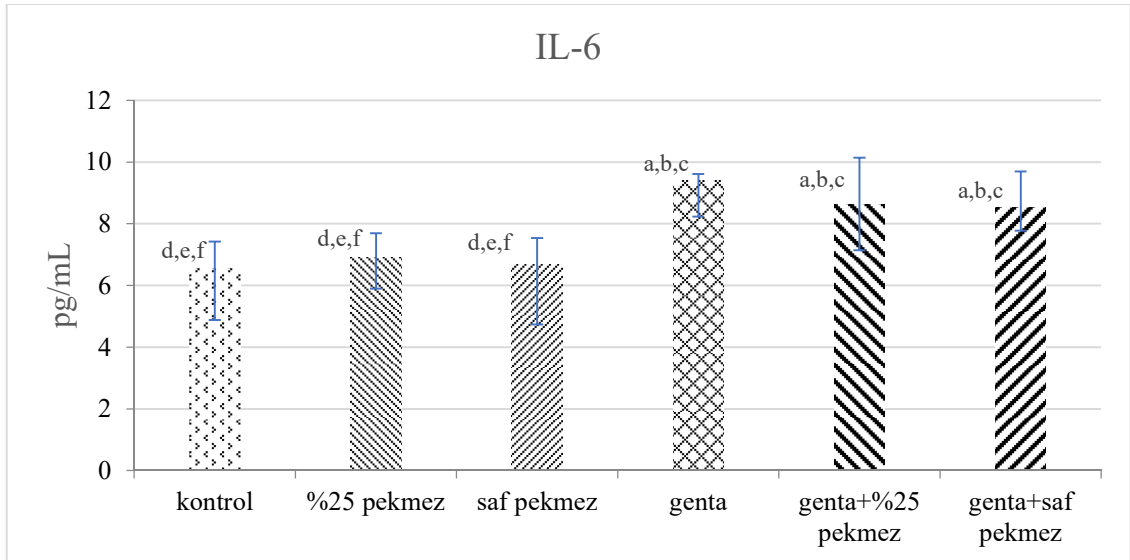


Şekil 4.5. Grupların TNF- α düzeyleri (gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir.)

TNF- α düzeylerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan fark izlenmedi. Tüm değerler yaklaşık düzeyde bulundu.

4.3.2. IL-6

IL-6 değerleri açısından gruplar arasında homojen dağılım yoktu. Değerler medyan (min-max) olarak verildi. İlgili değerler Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'te sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.6.'de verildi.



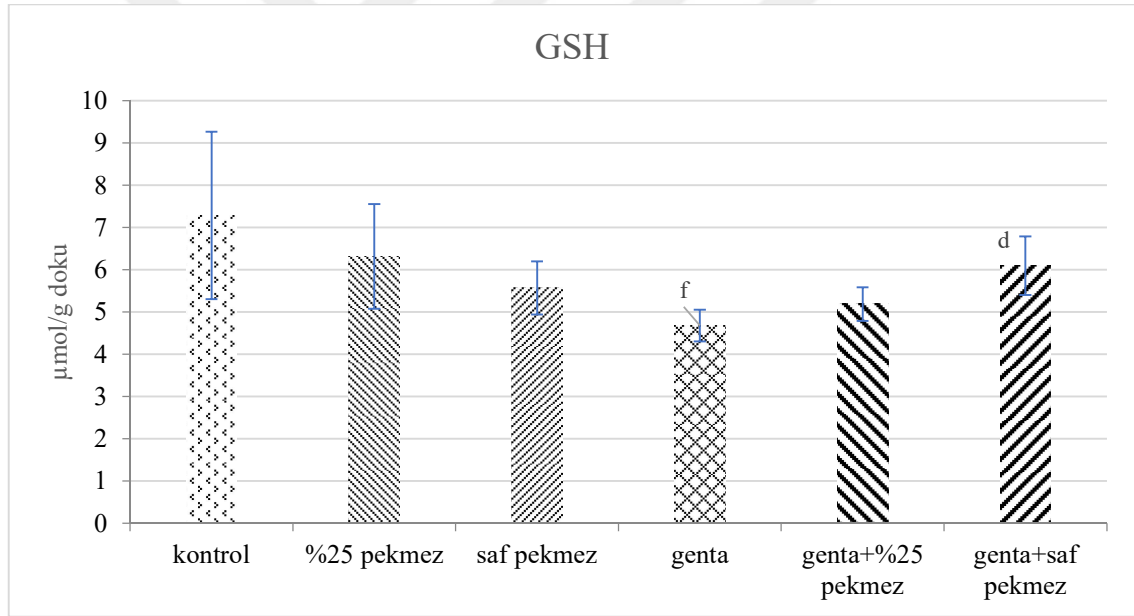
Şekil 4.6. Grupların IL-6 düzeyleri (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

IL-6 düzeylerine bakıldığında gentamisin ile hasar oluşturulan gruplarda kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen bu gruplar ile diğer gruplar arasında ayrı ayrı istatistiksel açıdan fark vardı ($p<0.05$). IL-6 düzeyleri hasar grubunda en yüksek olmakla birlikte hasar oluşturularak pekmez verilen diğer gruplarda bu gruba göre daha düşüktü. Hasar oluşturulmayan gruplarda ise benzer düzeylerdeydi.

4.4. Oksidatif Stres Belirteçleri

4.4.1. Glutasyon Düzeyi

Deney sonunda alınan böbrek dokularından elde edilen homojenattan bakılan GSH düzeyleri açısından gruplar arasında homojen dağılım söz konusuydu. İlgili değerler Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'te sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.7.'de verildi.



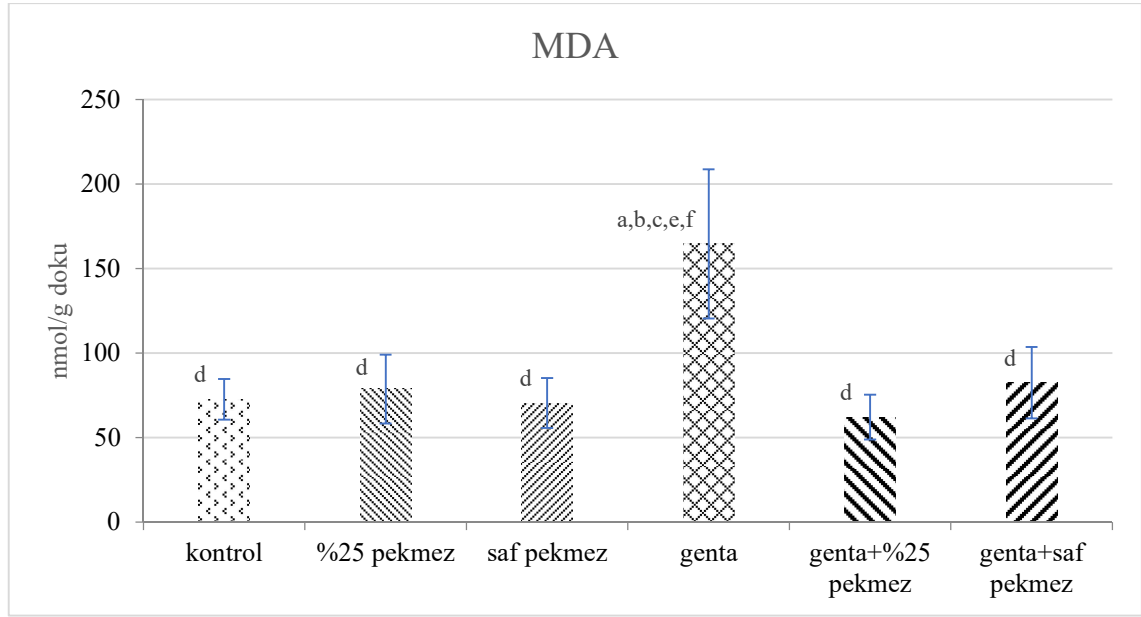
Şekil 4.7. Grupların böbrek dokusu GSH miktarları (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

Doku GSH düzeylerine bakıldığında pekmez verilmeyen hasar grubunda en düşük düzeyde olduğu izlendi. Bu değerler arasında sadece pekmez verilmeyen hasar grubu ve saf pekmez verilen hasar grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0.05$). GSH düzeyleri hasar oluşturulan model grubuna kıyasla saf pekmez alan grupta daha fazla olmak üzere yüksekti. Hasar oluşturulmayan ve pekmez verilen

gruplarda GSH düzeyinin dozla orantılı azalmış olduğu izlendi. Bu değişikliklerde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi.

4.4.2. Malondialdehit Düzeyi

Deney sonunda alınan böbrek dokularından elde edilen homojenattan bakılan MDA düzeyleri açısından gruplar arasında homojen dağılım söz konusuydu. İlgili değerler Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'de sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.8.'da verildi.

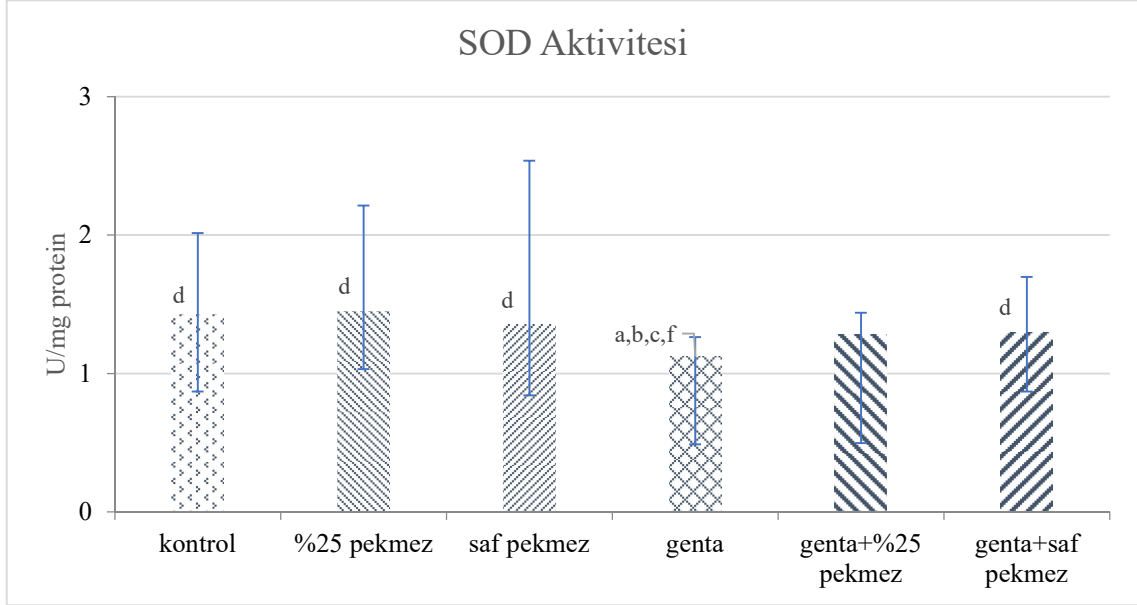


Şekil 4.8. Grupların böbrek dokusu MDA miktarları (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

Elde edilen değerlere bakıldığında hasar oluşturulmuş ve pekmez verilmeyen model grubunda MDA düzeyinin diğer tüm gruplara göre yüksek olduğu izlendi. Bu farklılık diğer tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Model grubunda yükselen MDA düzeyleri hasar oluşturulan her iki pekmez grubunda da kontrol grubuna yaklaşık değerler izlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Hasar oluşturulan pekmez gruplarının her ikisi de model grubuna kıyasla düşük MDA düzeylerine sahip olup düşük doz pekmez alan grupta bu düşüş daha fazlaydı. Pekmez gruplarının kendi arasındaki farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı değildi.

4.4.3. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi

SOD aktiviteleri açısından gruplar arasında homojen dağılım yoktu. Değerler medyan (min-max) olarak verildi. İlgili değerler Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'de sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.9.'de verildi.

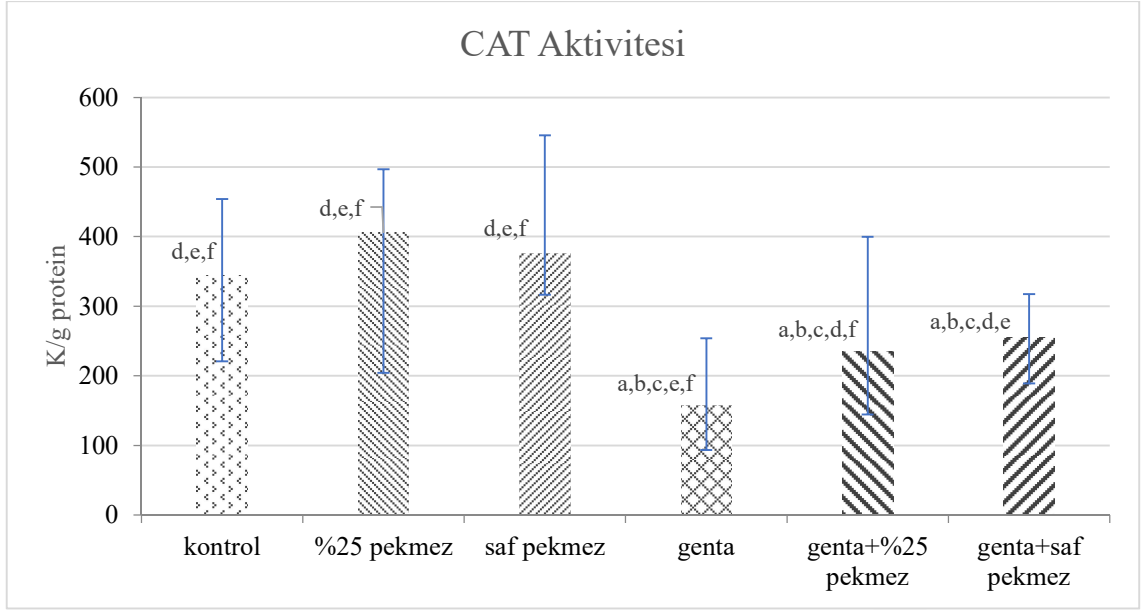


Şekil 4.9. Grupların böbrek dokusu SOD enzim aktiviteleri (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

Elde edilen verilere bakıldığında SOD aktiviteleri gentamisin uygulanmış tüm gruplarda düşük izlendi. En düşük değer pekmez verilmeyen hasar grubundaydı. Bu grup ile düşük doz pekmez verilen hasar grubu dışında ki tüm gruplar arasında bulunan fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Pekmez verilen hasar gruplarından elde edilen SOD aktiviteleri model grubuna göre yüksek bulundu. Hasar oluşturulmayan pekmez verilmiş gruplar ve kontrol grubuna ait değerler benzerlik gösteriyordu.

4.4.4. Katalaz Aktivitesi

CAT aktivitesi açısından gruplar arasında homojen dağılım yoktu. Değerler medyan (min-max) olarak verildi. İlgili değerler Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'te sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.10.'de verildi.

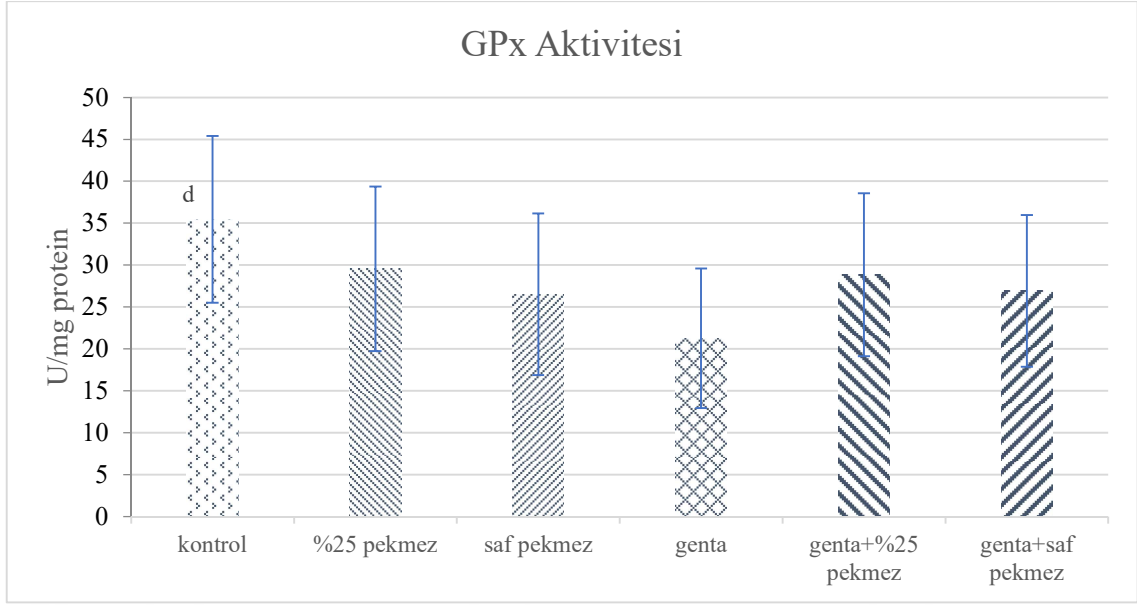


Şekil 4.10. Grupların böbrek dokusu CAT enzim aktiviteleri (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

Hasar modeli oluşturulan tüm gruplarda CAT aktivitesi düşük seviyede idi. En düşük değerler pekmez verilmeyen grupta izlendi. Pekmez verilmeyen grupların kendi arasında ve pekmez verilen hasar gruplarının kendi arasında olan farklar dışında tüm grup farklılıkları istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Hasar oluşturularak pekmez verilen gruplar sadece hasar oluşturulan model grubuna göre daha yüksek aktivite gösterdi. Aynı şekilde hasar oluşturulmamış pekmez verilen gruplar da kontrol grubuna göre daha yüksek aktiviteye sahipti.

4.4.5. Glutatyon peroksidaz Aktivitesi

GPx aktivitesi deney sonunda alınan böbrek dokusundan elde edilen süpernatant ile çalışıldı. GPx aktivitesi düzeylerinde gruplar arası homojen dağılım söz konusuydu. İlgili değerler Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'te sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.11.'de verildi.

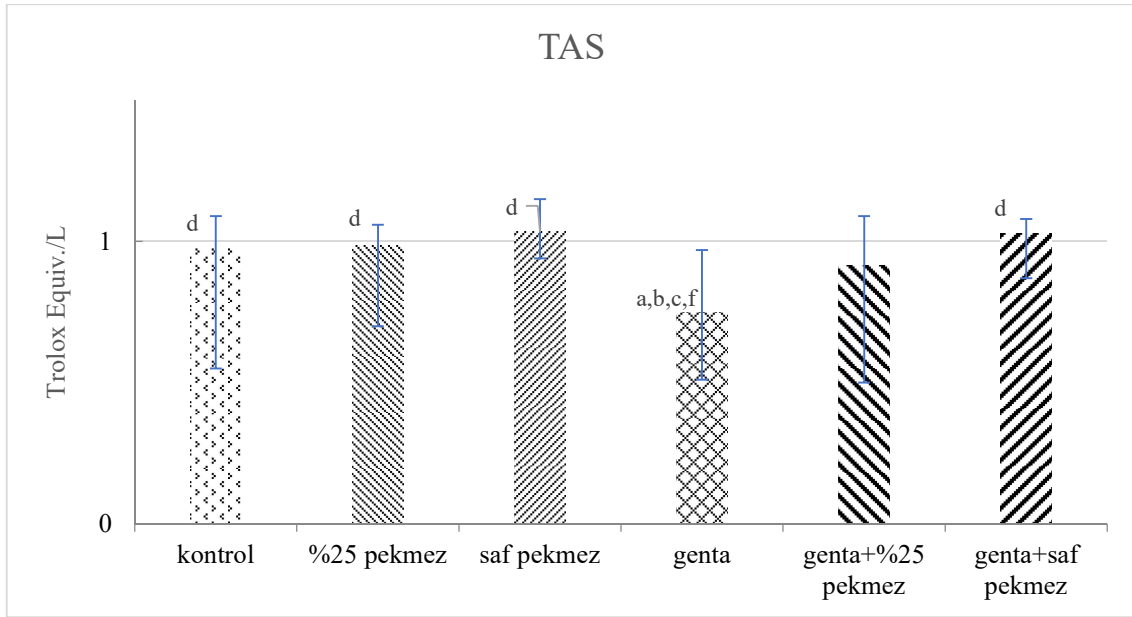


Şekil 4.11. Grupların böbrek dokusu GPx enzim aktiviteleri (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

GPx aktivitelerine bakıldığında en düşük değer gentamisin ile hasar oluşturulan grupta izlendi en yüksek değerler ise kontrol grubundaydı. GPx aktivitelerinde sadece bu iki grup arasında ki fark istatistiksel açıdan anlamlıydı ($p < 0.05$). Gentamisin ile hasar oluşturulan pekmez verilen gruplarda GPx değerleri hasar grubuna göre daha yüksek izlendi.

4.4.6. Toplam Antioksidan Durum

Deney sonunda alınan dokudan elde edilen süpernatant kullanılarak, hazır olarak temin edilen kit ile çalışıldı. TAS değerleri açısından gruplar arasında homojen dağılım yoktu. Değerler medyan (min-max) olarak verildi. İlgili değerler Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'te sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.12.'de verildi.

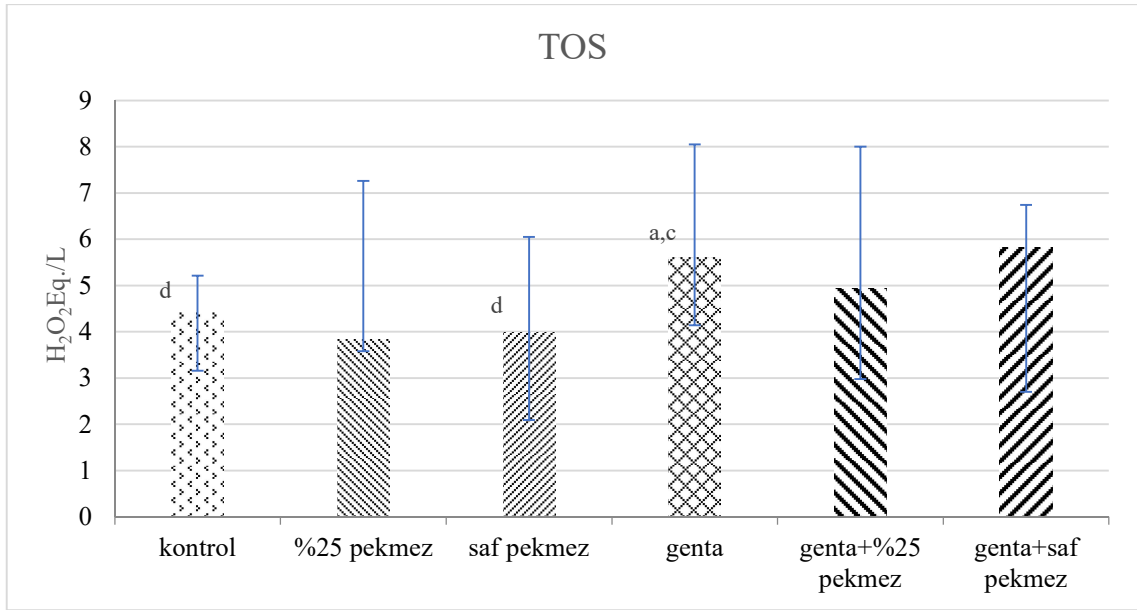


Şekil 4.12. Grupların toplam antioksidan durum (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

Toplam antioksidan durum değerlendirildiğinde en düşük değerler gentamisin ile hasar oluşturulmuş model grubunda izlendi. Hasar oluşturulmuş pekmez verilen gruplarda ise bu değerler kontrol grubuna yaklaşık seviyede bulundu. Hasar grubu ile hasar oluşturulan ve düşük doz pekmez verilen grup dışında diğer tüm gruplar arasında izlenen farklılıklar anlamlı bulundu ($p<0.05$).

4.4.7. Toplam Oksidan Durum

Deney sonunda alınan dokudan elde edilen süpernatant kullanılarak, hazır olarak temin edilen kit ile çalışıldı. TOS değerleri açısından gruplar arasında homojen dağılım yoktu. Değerler medyan (min-max) olarak verildi. İlgili değerler Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'te sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.13.'de verildi.

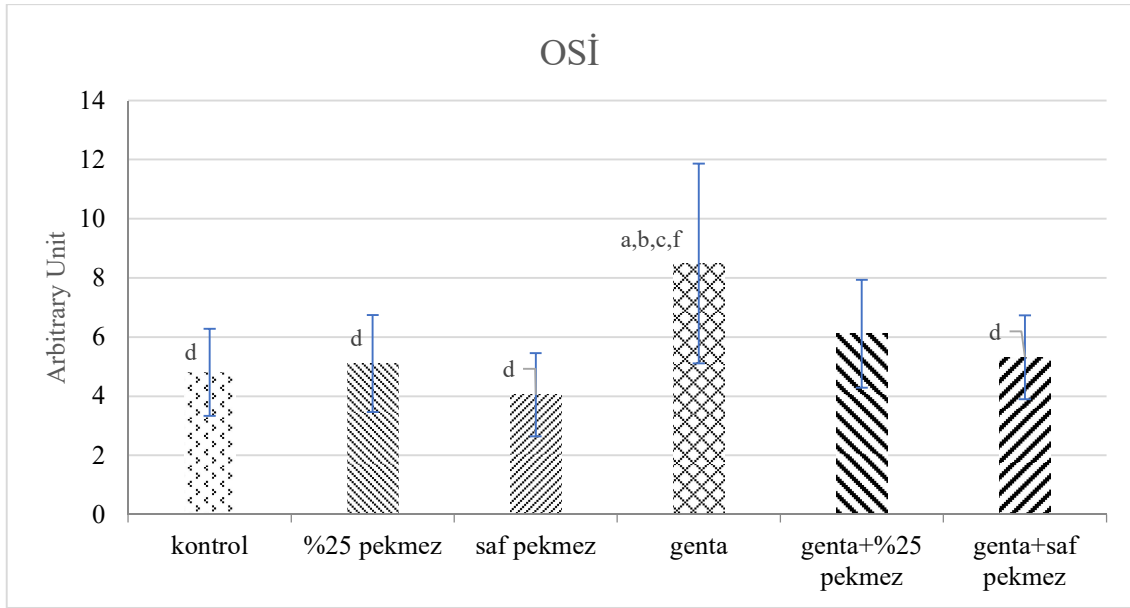


Şekil 4.13. Grupların toplam oksidan durum (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

Toplam oksidan duruma bakıldığında gentamisin ile model oluşturulmuş gruplarda böbrek hasarı oluşturulmayan gruplara göre daha yüksek izlendi. Bunlardan kontrol ve hasar oluşturulmayan saf pekmez grubu ile model grubu arasında fark anlamlı bulundu ($p < 0.05$). En düşük değerler ise hasar oluşturulmayan pekmez gruplarında gözlemlendi.

4.4.8. Oksidatif Stres İndeksi

Oksidatif stres indeksi, elde edilen TAS ve TOS değerleriyle hesaplama yapılarak bulundu. Hesaplanan OSİ düzeylerinde gruplar arası homojen dağılım söz konusuydu. İlgili değerler Tablo 4.1.'de, gruplar arası farklılıklar ise Tablo 4.2.'de sunuldu. İlgili grafik Şekil 4.14.'de verildi.



Şekil 4.14. Grupların oksidatif stres indeksi (a: kontrol grubuna göre, b: %25 pekmez grubuna göre, c: saf pekmez grubuna göre, d: genta grubuna göre, e: genta +%25 pekmez grubuna göre, f: genta + saf pekmez grubuna göre anlamlı farklılık)

Oksidatif stres indeksine bakıldığında gentamisin verilerek model oluşturulan grup ile düşük doz pekmez alan hasar grubu dışında ki diğer gruplar arasında fark izlendi ($p<0.05$). En yüksek değer hasar grubunda en düşük değerler ise sadece saf pekmez alan gruptaydı.

4.5. Histopatolojik Bulgular

Model oluşturma ve pekmez uygulama süreçleri bittikten sonra 11. günde ratlarsakrifiye edilerek böbrek dokuları alındı. Böbrekler makroskopik olarak incelendiğinde hasar modeli oluşturulan gruplarda böbrekler ödemli ve daha açık renkli olarak izlendi. İstatistiksel veriler Tablo 4.4.'de sunuldu. Mikroskopik olarak yapılan histopatolojik görüntülemeler gruplara göre alt başlıklarda paylaşıldı.

Tablo 4.4. Histopatolojik Hasar Skoru (Med(Min-Max))

N o	Grup	Hemoraji	İnfiltrasyon	Glomerüler kollaps
1	Kontrol	0.00 (0-1)	0.00 (0-1)	0.00 (0-1)
2	%25 pekmez	0.00 (0-1)	0.00 (0-1)	0.00 (0-1)
3	Saf pekmez	0.00 (0-1)	0.00 (0-1)	0.00 (0-1)
4	Genta	1.00 (0-2) ^a	1.00 (0-2) ^a	1.00 (0-2) ^a
5	Genta+%25 pekmez	0.00 (0-2) ^{a,b}	0.00 (0-2) ^{a,b}	0.00 (0-2) ^{a,b,c}
6	Genta+Saf pekmez	0.00 (0-1) ^{b,c}	0.00 (0-1) ^{a,b,c}	0.00 (0-1) ^{a,b,c}

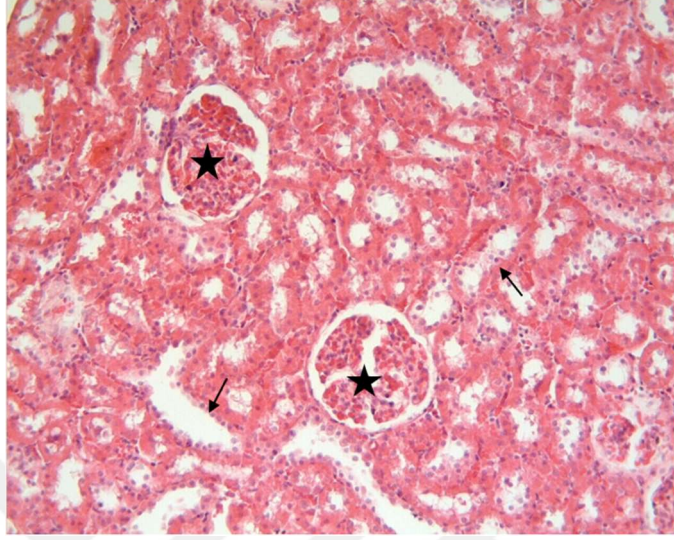
^aKontrol ile istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.0001$)

^bGenta ile istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.0001$)

^cSafpekmez+Genta ile istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuyor ($p>0.05$)

4.5.1. Kontrol Grubu

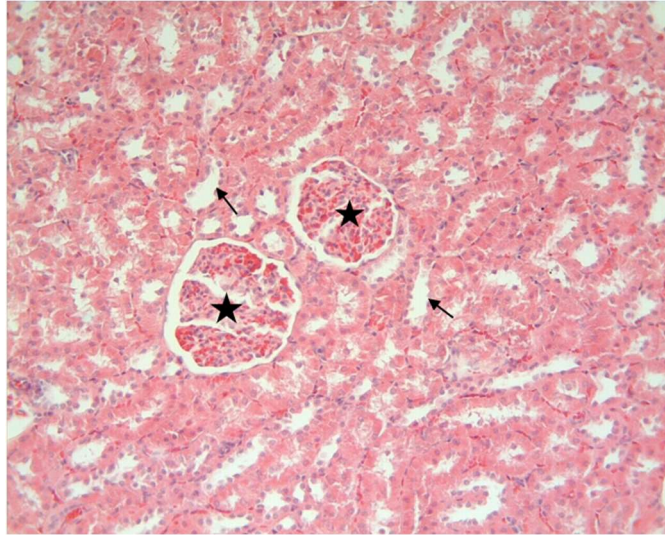
Hematoksilen-eozin boyama metodu uygulanan böbrek kesitlerinde kortekste yer alan glomerül ve tübül yapıları normal histolojik yapıda izlendi (Şekil 4.15.).



Şekil 4.15. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda glomerül (yıldız) ve tübül yapıları (oklar) normal olarak izlenmekte H-E; X20

4.5.2. %25 Pekmez Grubu

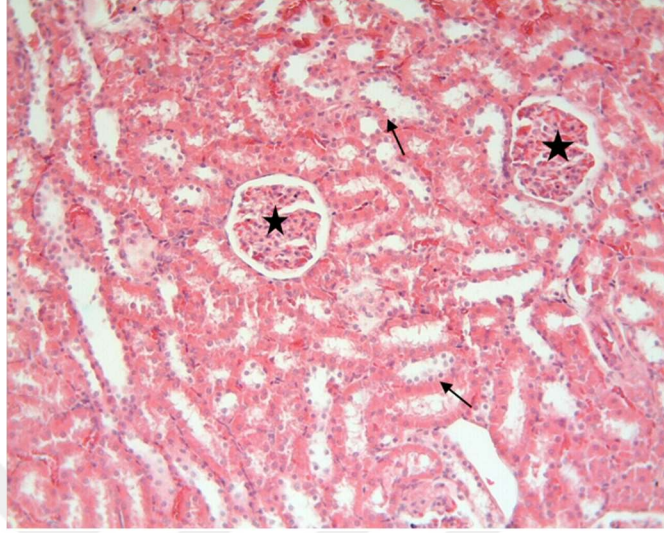
Hematoksilen-eozin boyama metodu uygulanmış kesitlerde böbrek korteksi içerisinde yer alan glomerüllerin ve tübüllerin histolojik görünümü kontrol ve saf pekmez gruplarına benzer şekildeydi (Resim 2).



Şekil 4.16. %25 pekmez grubuna ait böbrek dokusunda glomerül (yıldız) ve tübül yapıları (oklar) normal olarak izlenmekte H-E; X20

4.5.3. Saf Pekmez Grubu

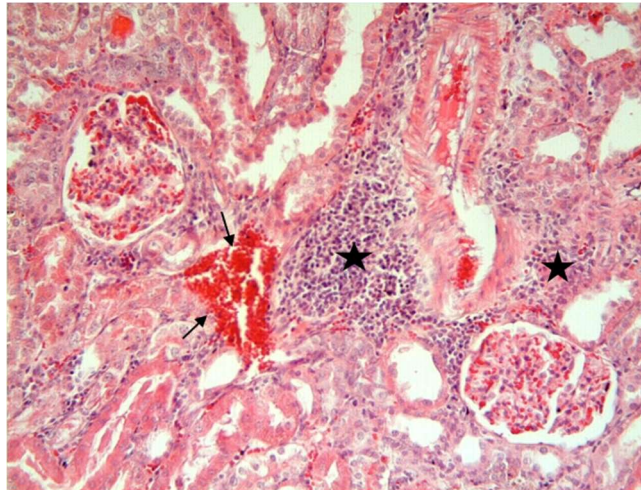
Hematoksilen-eozin boyama metodu uygulanmış kesitlerde böbrek korteksi içerisinde yer alan glomerullerin ve tübüllerin histolojik görünümü kontrol ve düşük doz pekmez gruplarına benzer şekildeydi (Şekil 4.17.).



Şekil 4.17. Saf pekmez grubuna ait böbrek dokusunda glomerül (yıldız) ve tübül yapıları (oklar) normal olarak izlenmekte H-E; X20

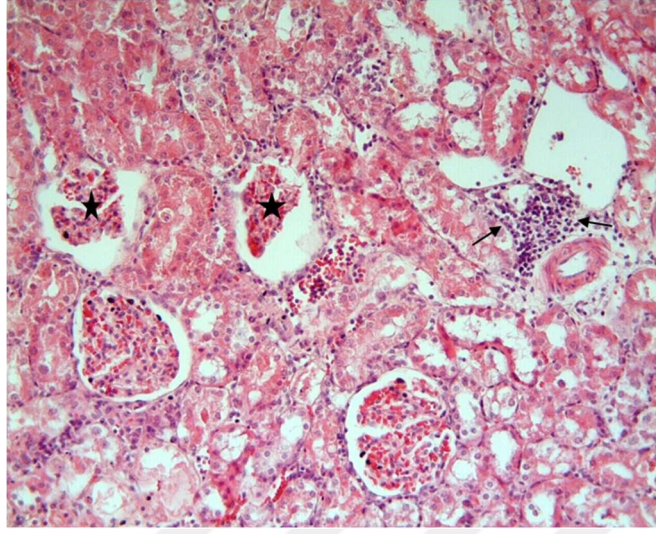
4.5.4. Genta Grubu

Hematoksilen-eozin boyama metoduyla incelenen preparatlarda, kortekste intertübüler alanda belirgin hemoraji ve infiltrasyon alanları izlendi (Şekil 4.17.). Ayrıca bazı glomerüllerde kollaps gözlemlendi (Şekil 4.18.).



Şekil 4.18. Genta grubuna ait böbrek dokusunda intertübüler hemoraji (oklar) ve infiltrasyon alanları (yıldız) izlenmekte H-E; X20

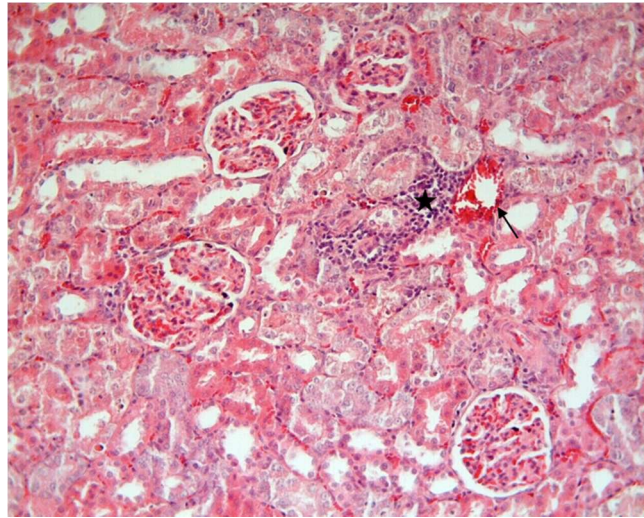
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta histopatolojik hasarın istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edildi ($p<0.001$) (Tablo 4.4.).



Şekil 4.19.Genta grubunda bazı glomerüllerde kollaps (yıldız) ve infiltrasyon alanları (oklar) izlenmekte H-E; X20

4.5.5. Genta+%25 Pekmez Grubu

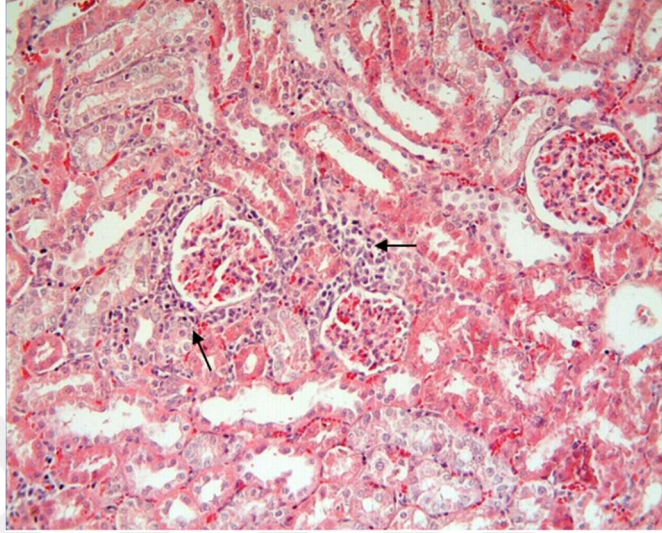
Hematoksilen-eozin boyama metodu uygulanan kesitlerde böbrek dokusu histolojik olarak normal görünmesine rağmen bazı bölgelerde lokal inflamatuvar inflamasyon alanları ve küçük hemorajik alanlar izlendi (Şekil 4.20.). Genta grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta histopatolojik değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlenirken ($p<0.001$), saf pekmez+genta grubuyla karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).



Şekil 4.20.%25 pekmez + Genta grubunda böbrek dokusunda küçük hemorajik (ok) ve inflamasyon alanları (yıldız) izlenmekte H-E; X20

4.5.6. Genta+Saf Pekmez Grubu

Hematoksilen-eozin boyama metodu uygulanan kesitlerde Genta grubu ile karşılaştırıldığında hasarın azaldığı fakat bazı yerlerde lokal hücre infiltrasyonu içeren alanların bulunduğu tespit edildi (Şekil 4.21.).



Şekil 4.21.Genta+ Saf pekmez grubunda inflamasyon alanları izlenmekte (oklar) H-E;
X20

5.TARTIŞMA

Gentamisin hücre zarından aktif taşıma ile geçmesi nedeniyle gram negatif aerob bakteri enfeksiyonlarında daha etkin kullanılan aminoglikozid grubunda bulunan bir antibiyotiktir. Bakteri hücrelerine, 30s ribozomal alt birimde 16s mRNA' ya bağlanarak mRNA translasyonunu bozar ve bakterisit etki gösterir (34). Protein üretiminin bozulması ve hücre içindeki yaşamsal proteinlerin tükenmesi reaktif oksijen ürünlerinin hücre içinde birikmesine bu da hücre canlılığının sona ermesine neden olur (130). Aminoglikozid grubuna dahil olan antibiyotiklerin özellikle vestibüler tüy hücrelerinde ve böbrek tübül hücrelerinde birikimi sonucu doz ile doğru orantılı olarak bu hücrelerde toksisiteye, sonuç olarak da fonksiyon ve organ kaybına neden olduğu bilinmektedir (131). İnsanlarda ve hayvan modellerinde bu etkileri ve doku hasarında oksidatif stresin yerini değerlendirmek amacıyla MDA, GSH düzeyleri; SOD, GPx, CAT, aktivitesi; TAS, TOS, OSI değerleri sıklıkla kullanılır. Bununla birlikte doku hasarı oluşan böbreklerde fonksiyonları değerlendirmek amacıyla BUN ve kreatinin klinikte de en önemli belirteçler olarak karşımıza çıkar. Dokuda ortaya çıkan hasar bir inflamatuvar sürece sebep olur. Oluşan bu inflamasyonun şiddetini değerlendirmek amacıyla IL-6 ve TNF- α önemli belirteçlerdir. Son olarak rat böbrek modellerinde oluşturulan hasarın hücresel düzeylerde morfolojik olarak ortaya çıkardığı değişikliklerin değerlendirilmesinde hemoraji, infiltrasyon, glomerüler kolaps gibi histopatolojik belirteçler yaygın olarak kullanılır.

Gentamisin tedavisi ile ilişkili nefrotoksisite ve ototoksisite antibiyotik tedavilerinin sınırlandırılmasında temel nedenlerdendir. Öyle ki ilacın kullanılmaya devam edilmesini sorgulatacak düzeyde organ fonksiyon kayıplarına neden olabilir (132). Literatürde gentamisine bağlı gelişen nefrotoksisitede kırlangıç otu ve propolis içeriğindeki etken maddeler ile meyve ve sebzelerin içeriğinde bulunan aminoguanidin, p-kumarik asit ve salisilik asit gibi bazı maddelerin koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmalar ve metaanaliz raporu yayınlanmıştır (133–136). Bu amaçla özellikle tıbbi bitkiler başta olmak üzere antioksidan etkileriyle öne çıkan çeşitli ajanlar koruyucu etkileri yönünden sıkça araştırılmıştır. Örnek olarak fenolik bir bileşik olan p-kumarik asidin gentamisin kaynaklı nefrotoksisitede etkilerinin araştırıldığı 35 rat üzerinde yapılan bir çalışmada, gentamisin verilen hasar grubunda kontrol grubuna göre serum

üre, kreatinin ve nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin düzeyleri anlamlı olarak artarken, gentamisin+p-kumarik asit grubunda gentamisin grubuna göre anlamlı düşüş gözlenmiştir. Aynı çalışmada TOS ve OSI değerleri gentamisin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükselirken gentamisin+p-kumarik asit grubunda gentamisin grubuna göre anlamlı olarak düşmüştü. Bu sonuçlara göre p- kumarik asidin antioksidan etkileriyle biyokimyasal ve histopatolojik olarak koruyucu özellik gösterdiği ileri sürülmüştür (136). 24 tavşanda gentamisin toksisitesi oluşturularak yapılan ve 80 mg/kg/gün dozunda salisilik asidin kullanıldığı benzer bir çalışmada gentamisin ile birlikte salisilik asit verilen grubun böbrek fonksiyon testlerinde gentamisin grubuna göre anlamlı olarak belirgin iyileşmeler izlenmiş ve koruyucu etkilerinin olduğu ileri sürülmüştür. Aynı çalışmada böbrek hasarı kilo kaybıyla anlamlı olarak ilişkilendirilmiştir (137). Lee ve arkadaşları tarafından yapılan LLC-PK-1 domuz böbreği epitelyal hücre kültüründe cisplatin ile oluşturulan hasara karşı *M. alba* cinsi dut meyvesinin koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada böbrek koruyucu etkiler izlenmiştir. 25 µM cisplatin ile %60'a düşen hücre canlılığının dut meyvesinden elde edilen 7-ketositosterolün 5 µM dozunda uygulanması ile %100'e yakın olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada dut meyve ekstraktında bulunan bir fitosterol olan 7-ketositosterolün p38 ve kaspaz-3'ün ekspresyonunu inhibe ederek cisplatin kaynaklı apoptozu bloke ettiği gösterilmiştir (138). Yine beyaz dut yaprak ekstresinin kullanıldığı ratlarda yapılan başka bir çalışmada, ekstraktın serum BUN ve kreatinin seviyelerini normalleştirdiği bunu da oksidatif stresi özellikle lipid peroksidasyonunu inhibe ederek ve serum glutatyon düzeylerini artırarak yaptığı ifade edilmiştir (139).

Gentamisin ve doksisisiklinle tedavi edilen *Y. pestis* ile enfekte toplam 65 hastayla yapılan randomize klinik bir çalışmada 7 günlük tedavi sonrasında kreatinin düzeyleri gentamisin alan 35 hastada ortalama 1.04 ± 0.44 mg/dL, doksisisiklin alan 30 hastada ortalama 0.70 ± 0.18 mg/dL olarak ölçülmüştür. Bu çalışmada gentamisin tedavisi ile ortaya çıkan kreatinin değerlerindeki yükselme istatistiksel olarak anlamlıydı (140). Mathew tarafından yapılan ilaca bağlı gelişen renal hastalığın incelendiği bir derlemede aminoglikozid tedavisine 7 günden daha fazla devam eden hastaların yaklaşık %30'unda poliüri ya da serum kreatinin düzeylerinin artışı gibi nefrotoksisite belirtilerinin izlenmeye başladığı ifade edilmiştir (141). Ratlar üzerinde yapılan gentamisin nefrotoksitesi deney modellerinde en az 7-10 günlük i.p. 100 mg/kg gentamisin uygulaması ile nefrotoksitenin olduğu izlenmiştir. İncelediğimiz bu çalışmalarda D vitamini ve metformin gibi bazı maddelerin koruyucu etkileri

araştırılmıştır (121, 141–143). Çalışmamızda model olarak hasar oluşturulacak gruplarda ratlara 10 gün boyunca 100 mg/kg/gün i.p. gentamisin enjeksiyonu, bunun yanında koruyucu etkiyi araştırmak amacıyla gentamisin ve karadut pekmezinin birlikte uygulanması seçildi. Pekmez grupları oluşturulurken literatürde içeriği aydınlatılmış olan karadut pekmezi ile ilgili uygulama dozuna rastlanmadı. Bu nedenle %25 ve %100 konsantrasyonlarda iki farklı doz seçildi ve hem kontrol hem de hasar grubu için iki farklı grup eklenerek toplamda altı grupla çalışma planlandı. Bu şekilde karadut pekmezi ile ilgili gelişebilecek olası hiperglisemi ya da beklenmeyen durumların ortaya çıkarılması amaçlandı.

Karadutun bulunduğu Moraceae (dutgiller) ailesinde yirmiden fazla dut cinsi vardır. Bunlardan koyu renkli olanları antioksidan özellikleri ile ön plana çıkar. Ülkemizde yapılan bir çalışmayla Kafkas ve arkadaşları tarafından incelenerek özellikleri belirlenen 4 farklı bölgeden 33 karadut genotipinden 14'ü ve 5 kırmızı dut genotipinden 4'ü ele alınarak başta antosiyaninler olmak üzere içerik analizleri yapılmıştır. Bu çalışmada bakılan çeşitli *M. nigra* L. örneklerinin antosiyanin miktarı ortalama 571 ± 23 µg/siyanidin-3-glikozit eşdeğeri iken *M. rubra* örneklerinde bu değer ortalama 98.8 ± 2 µg/siyanidin-3-glikozit eşdeğeri olarak bulunmuştur. Yine bu örneklerle ait toplam antioksidan kapasite analizleri sırasıyla *M. nigra* L. 11.4 ± 2.4 µmol/trolox eşdeğeri ve *M. Rubra* 6.6 ± 06 µmol/trolox eşdeğeri olarak rapor edilmiştir. Sonuç olarak yapılan antioksidan aktivite analizleri ve içerikler karşılaştırılmış, karadutun bu renk ve antioksidan özellikleri antosiyanin içeriğine atfedilmiştir (145, 146). Bitkisel ürünlerin kullanımında ekstraksiyon yöntemi ve çözücü gibi faktörler içerik ve antioksidan özellik bakımından farklılıklar yaratabilir. Diğer tıbbi bitkilerde olduğu gibi dut cinsleri de bitki genotipi, yetiştirme şartları ve yetiştikleri bölgenin coğrafi özelliklerine göre içerik ve dolayısıyla tıbbi özellikler açısından bazı farklılıklar gösterebilir (147, 148). Tıbbi amaçla kullanılan bitkisel ürünlerin içerik analizlerinin yapılmış olması bu farklılıklardan dolayı önem arz eder. Çalışmamızda pekmez içerik analizleri ve antioksidan özelliklerin belirlenmesinde farklı çözücüler kullanıldı. Standardizasyon adı verilen bu durum ile ilgili bilgiler ilaç prospektüslerine benzetebileceğimiz ve ilgili literatür ışığında oluşturulan monograf dediğimiz yayınlar içinde bulunur. Karadut meyvesi ile ilgili Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu yayını olan Türk Farmakope Dergisinde botanik özelliklerine, etnobotanik kullanımına, kimyasal bileşimine ve farmakolojik özelliklerine ilişkin bilgiler mevcuttur (149). Uluslararası farmakopelerde karadut meyvesine ilişkin monograflar henüz oluşturulmamıştır. Bu durum konuya

ilişkin yeterli bilimsel veri olmaması ile ilişkilidir. Çalışmamız bu hususta literatüre destekleyici veriler ortaya koymaktadır.

Pekmez üretimi taze meyvelerin geleneksel yöntemlerle işlenerek suyun uzaklaştırılması ve şeker oranının %20'lerden %60'ın üzerine çıkarılması, bu şekilde daha dayanıklı hale getirilmesi prensibine dayanılarak yapılır. Üretim süreci yöreye ve kullanılan hammaddeye göre soğuk ya da sıcak sıkım, taze ya da kuru meyve kullanımı gibi farklılıklar gösterir (150). Yasal olarak özellikle karadut pekmezi için belirlenmiş bir standart mevcut değildir. Çalışmamızda bu konuda Türk Standartları Enstitüsü dut pekmezi standardı ve Türk Gıda Kodeksi Üzüm Pekmezi tebliği verileri referans alınarak değerlendirme yapıldı (77, 78). Gıda kodeksinde sıvı pekmezlerde kuru madde içeriği %65 civarında iken katı pekmezlerde bu oran %80'e çıkar. Türk Standartları Enstitüsü dut pekmezi standartlarına göre kuru madde oranı en az %72 olan Tip 1 ve en az %65 olan Tip 2 olarak sınıflandırmıştır. Bu içeriğin büyük kısmı şekerlerdir. Çalışmamızda kullandığımız pekmez örneği kıvam ve kuru madde miktarı açısından Tip 1 sınıf ve katı bir pekmez olarak değerlendirilebilecek nitelikte olup ölçülen şeker içeriği glikoz, fruktoz ve sakkaroz olmak üzere toplamda %52.94'tür. Fruktoz/glikoz oranı 1.07 olup elimizdeki referans olan Türk Gıda Kodeksi Üzüm Pekmezi Tebliğinde belirtilen 0.9-1.1 aralığındadır. Sakkaroz oranı açısından %1.77 ile TSE dut pekmezi standardına göre Tip 1 olarak değerlendirildi. Toplam kül miktarı açısından da %3.93 ile Tip 1 pekmez standardına uymuştur. Gıda kodeksine göre ise standartların üzerinde bir değerdedir. Literatürde karadut pekmezine ait daha yüksek değerlere de rastlanmıştır (110). Üzüm pekmezi tebliğine göre pH 3.87 değerinde olan karadut pekmezi örneğimiz ekşi pekmez olarak değerlendirildi.

Hidroksimetilfurfural (HMF) şeker içeren gıdaların ısı ile etkileşiminde Maillard reaksiyonu sonucu ortaya çıkan bir ara üründür. Aynı zamanda uzun süren depolama süreçlerinde de artış gösterir (151). Deneyde kullandığımız pekmezde HMF değeri 249.13 mg/kg olarak ölçüldü. Bu değer gıda kodeksinde belirtilen katı pekmez için 100 mg/kg olan değer üzerinde bir seviyededir. Çalışmada kullandığımız pekmez örneği için üretim ve ölçüm arasında geçen yaklaşık en az 10 aylık süreç göz önüne alındığında bu artışın olması beklenen bir durumdur. Bununla birlikte bu tür ürünlerde depolama koşulları ve süresi sadece HMF değil içeriğin tamamı ile ilgili değişikliklere neden olabilir (152).

Bitkisel kaynaklı maddelerin içeriğinde bulunan fenolik ve flavonoid bileşikler antioksidan etkilerinden sorumlu tutulmuş olup bu etkiler bileşiklerin seviyeleri ile

korelasyon gösterir (153, 154). Flavonoidlerin antioksidan etkilerini üç mekanizmayla gösterdiği ileri sürülmüştür. İlk olarak sentez enzimlerini inhibe ederek veya bunlar için gereken metal iyonlarını şelatlayarak ROS üretimini azaltır. İkincisi, hidrojen atomu vericisi olarak bu oksidanları nötralize eder. Üçüncü olarak antioksidan savunmanın güçlendirilmesi ve düzenlenmesinde rol alarak bu etkileri gösterir (155). Ercişli ve Orhan tarafından yapılan çalışmada beyaz, kırmızı ve karadut türlerine ait dut meyvelerinin fenolik ve flavonoid içeriklerine bakılmış, karadut içeriğinde bu maddelerin miktarı beyaz ve kırmızı duta göre daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada karadut için toplam fenolik madde miktarı 1422 mg GAE/100 g olarak toplam flavonoid madde miktarı ise 276 mg QE/100 g olarak izlenmiştir (59). Çalışmamızda kullanılan pekmezde her iki çözücü için de toplam fenolik madde miktarı bu değerden daha düşük iken flavonoid madde miktarı daha yüksek düzeyde izlendi.

Tüzün ve arkadaşları tarafından yapılan Tunceli ili yerel pazarından toplanan nar, keçiboynuzu, karadut ile Batman ve Mardin yöresine ait üzüm pekmezlerinin aralarında olduğu çeşitli pekmez türlerinin antioksidan aktivitelerinin ve içeriklerinin karşılaştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Bu pekmez türlerinin toplam fenolik madde miktarları karşılaştırılmış ve en yüksek değer keçiboynuzu pekmezinde 748.74 ± 14.43 mg GAE/100g olarak, en düşük değer Mardin üzüm pekmezinde 166.14 ± 6.8 mg GAE/100g olarak ve karadut pekmezinde ise 331.79 ± 1.96 mg GAE/100g olarak bulunmuştur. Bahsedilen çalışmadaki pekmez türlerine göre çalışmamızda kullandığımız karadut pekmezinin toplam fenolik madde miktarı daha yüksek düzeydeydi (156). Çalıştığımız karadut pekmezinin toplam fenolik madde miktarı, sulu çözeltisinde 788.39 ± 14.42 mg GAE/100g, metanol:su:asit çözeltisinde ise 769.20 ± 17.60 mg GAE/100g olarak ölçüldü.

Kamiloğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada karaduttan elde edilen çeşitli ürünler incelenmiş; toplam antosiyanin içeriği en fazla taze karadut meyvesinde 1221 ± 42.9 mg siyanidin-3-glikozit eşdeğeri /100 g bulunurken; karadut pekmezinde ise bu değer 2.4 ± 0.1 mg siyanidin-3-glikozit eşdeğeri /100 g olarak bulunmuştur (157). Çalışmamızda kullandığımız karadut pekmezinde ise bu değer sulu çözeltide 28.23 mg siyanidin-3-glikozit eşdeğeri /100 g olarak, metanol:su:asit çözeltisinde 37.66 mg siyanidin-3-glikozit eşdeğeri /100 g tespit edildi. Antosiyanin türevlerine bakıldığında aynı çalışmada karadut pekmezinde Siyanidin-3-glikozit 0.1 mg/100 g rastlanırken Siyanidin-3-rutinozit ve Pelargonidin-3-glikozite rastlanmamıştır. Fakat taze meyvede bu maddeler sırasıyla 704.1 ± 20.4 , 572.1 ± 22.5 , 27.8 ± 2.1 mg/100 g düzeylerinde tespit

edilmiştir. (157). Çalışmamızdaki karadut örneğinde bu maddeler sırasıyla 1.43, 0.32, 0.014 mg/100 g bulundu. Ayrıca çalıştığımız diğer bileşikler olan delfinidin-3-glikozit ve malvidin-3-glikozit bileşikleri HPLC’de tespit edilemedi. Sernikli ve Kadakal tarafından yapılan çalışmada 70-95 derece arasında sıcaklıklar uygulanmış ve sıcaklığın artması ile karadut suyunda rutin ve toplam fenolik madde miktarının yarı ömür sürelerinin azaldığı izlenmiştir. Karadut suyuna uygulanan ısı işlem süresi ve sıcaklığının içeriğindeki antioksidan madde miktarı ile aktivitesi üzerine negatif etkileri olabileceği ileri sürülmüştür (158). Mevcut çalışmada kullandığımız karadut pekmezinin bileşiminin diğer çalışmalardan farklı olmasının nedeni coğrafi farklılıklar, ısı işlem süresi ve sıcaklığı, depolama süresi ve koşulları ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

Böbrek yetmezliği durumunda malnutrisyon ve buna bağlı kilo kaybı sık karşılaşılan bir durumdur. Kilo kaybı ve beslenme bozukluğu kronik safhalarda yaşam kalitesinde azalmayla beraber mortalite ve morbiditenin artışıyla da ilişkilidir. Kronik böbrek yetmezliğinde malnutrisyonun değerlendirildiği bir klinik çalışmada GFR’nin azalmasıyla ileri evrelerde malnutrisyonun derinleştiği ifade edilmiştir. Bu çalışmada kronik böbrek hastalığı tanısı olan 3. evre 30 hasta ve 4. evredeki 30 hasta olmak üzere 60 hastanın son 6 aylık beslenme davranışı, gastrointestinal sistem problemleri ve kilo verme durumları izlenmiştir. İştahsızlık nedeniyle yetersiz kalori ve protein alımı, oksidatif stres, inflamasyon, asidoz, idrarla protein kaybı ve protein katabolizmasında artış gibi çeşitli faktörler böbrek hastalığına bağlı beslenmenin bozulmasıyla ilişkilendirilmiştir (159). Böbrek fonksiyonlarının bozulması sıvı ve elektrolit bozukluğuna sebep olacağı için hastanın beslenmesinde ayrıca düzenlemeler yapılması gerekir. Çalışmamızda da deney sürecinde özellikle hasar gruplarında davranışsal olarak ratların daha az beslendiği, yapılan kilo ölçümlerinde hasar grubunun ortalama %10 kilo kaybettiği gözlemlendi. Çalışmamızda aynı ortamda bulunan, serbest olarak beslenmeye devam eden ve stres şartları eşitlenmeye çalışılmış olan ratlardan oluşan tüm gruplarda kilo kaybı gerçekleşti. Pekmez verilen hasarlı gruplarda gerçekleşen kilo kaybı yüzdesi hasar grubuna göre daha azdı ve kontrol grubuna yakın değerlerdeydi. %25 pekmez ve saf pekmez grupları ise en az kilo kaybeden gruplardı. Bu durum dikkate alınarak besleyici özellikleri ve şeker içeriği oldukça yüksek olan karadut pekmezinin kilo alımı ile ilişkili olabileceği düşünülmüş ve ratların günlük kan şekeri takipleri yapılmıştır. Literatürde karadut bitkisinin kök, yaprak ve meyve gibi farklı kısımlarından elde edilen ekstrelerin antidiyabetik etkileri olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Abouzed ve

arkadaşları tarafından ratlardastreptozotosin ile diyabet modeli oluşturularak yapılan toplamda 80 hayvanın dört grupta incelendiği bir çalışmada yaklaşık 1 kilogram karadut meyvesinden elde edilen 160 gram karadut meyvesi özütünden 150 ve 300 mg/kg olmak üzere iki farklı dozda karadut meyvesi özütü kullanılmış ve diyabet ilişkili belirteçler değerlendirilmiştir. Bu özütün içeriğinde total fenolik madde 13.53mgGAE/g toplam flavonoid madde 3.02 mgQE/g siyanidin-3-o glikozid 2.8 mg/g olarak ölçülmüştü. Kullandığımız pekmeze göre fenolik madde içeriği daha yüksek olan karadut meyve ekstraktı ile yapılan bu çalışmada sonuç olarak kilo kaybı ve kan şekeri düzeylerinin 4 hafta boyunca meyve ekstraktı verilen gruplarda hasar grubuna göre kontrol grubuna yaklaştığı izlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada böbrekte oluşan diyabetik nefropatiye ilişkin hasarın histopatolojik ve biyokimyasal olarak düzeldiği görülmüştür. Yine bu çalışmanın sonuçlarında plazma MDA düzeyi ve katalaz aktivitelerinde gerçekleşen değişiklikler gruplar arası karşılaştırmalarda hasar grubuna karşı karadut meyve ekstraktı verilen her iki doz grubuna göre antioksidan etki lehine gerçekleşmiştir. Bahsedilen bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu ifade edilmiştir. (160). Çalışmamızda da benzer şekilde; hasar grupları ve hasar oluşturulmamış gruplar kendi arasında değerlendirildiğinde kilo kaybının karadut pekmezi alan ratlarda daha az olduğu tespit edildi. Bu durum karadut pekmezinin besleyici özelliği ile ilişkilendirildi.

Kan glikoz düzeylerine bakıldığında genel olarak hasar gruplarında glikoz düzeylerinin daha düşük olduğu görüldü. Bunun nedeni böbrekler yoluyla metabolize edilmesi gereken insülinin kandaki yarı ömrünün böbrek yetmezliği durumuna bağlı olarak uzaması yada oksidatif stresle hasara uğrayan proksimal tübüllerden glikozun reabsorbe edilememesiyle plazma konsantrasyonunun azalması olabilir (24). Fakat karadut bitkisinin hipoglisemik etkileri literatürde içerdiği antosiyaninler ve antioksidan etkili maddelere atfedilmiştir (160). Bu duruma bakarak şeker içeriği yüksek olan karadut pekmezinin antihiperlisemik etki göstermesi böbrek yetmezliğinden bağımsız şekilde ayrıca araştırılması gereken bir konu olarak değerlendirildi.

Klinikte böbrek yetmezliğinin değerlendirilmesinde kullanılan ana belirteçler arasında BUN ve kreatinin değerleri vardır. Bu belirteçler aslında böbrek yoluyla atılan metabolik atıklardır. Böbrek yetmezliği durumuyla oldukça iyi korelasyon gösterirler. Böbrek yetmezliği durumu derinleştikçe BUN ve kreatinin değerleri böbrekten atılımın bozulmasına bağlı olarak yükselir. Bu belirteçler RIFLE, AKIN ve KDIGO gibi böbrek yetmezliğinin tanı ve tedavisinde kullanılan klinik klavuzlarda değerlendirme kriterleri

olarak karşımıza çıkar (29–31). Rehberlerde yer alan idrar çıkışı imkanlar dahilinde yapılacak olan çalışmalarda toplanabilir. Çalışmamızda BUN ve kreatinin değerlerinde ortaya çıkan değişikliklerin birbiriyle paralellik gösterdiği izlendi. Gruplar arasında değerlendirildiğinde her iki belirteçte de kontrol grubuna göre hasar grubunda bu değerler arttı, pekmez verilen hasarlı gruplarında ise bu değerler hasar grubuna göre anlamlı olarak azaldı. Bu durum bize, gentamisin böbrek hasarına neden olduğunu ve modelin ger ekle ti ini, koruyucu etkiyi araştırmak için verilen karadut pekmezinin ise kullandığımız her iki dozda da böbrek hasarına karşı etkili olduğunu gösterdi. Bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olması oldukça önemlidir.

TNF-  ve IL-6 gibi proinflatuar sitokinler akut faz proteinlerinin sentezi ve lenfosit farklılaşması gibi immün yanıtların oluşmasında önemli bir yer tutar. Oksidatif hasara bağlı ortaya çıkan inflamasyon derinle erek doku ve organda fonksiyon kaybına neden olabilir (161). Bu sitokinlerin düzeyi inflamasyon hakkında bilgi verici niteliktedir. TNF-  ve IL-6 düzeyinin yüksek olması bize hasarın daha fazla olduğunu gösterecektir. Ayrıca bu inflamatuvar sitokinler akut böbrek hasarında kritik bir role sahiptir (48). Bao ve Dai tarafından yapılan iskemi reperfüzyon modeli ile oluşturulan böbrek hasarında deksmedetomidinin koruyucu etkilerinin ara tırıldı ı bir çalışmada oksidatif hasar görülen grupta, kontrol grubuna göre PCR ile böbrek dokusunda  l len TNF-  ve IL-6 değerlerinin arttığı izlenmiştir. Deksmetomidin verilen grupta ise bu değerler d     göstermiştir. Bu  alı mada TNF-  ve IL-6 değerlerinin gruplar arasında farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (162). Başka bir çalışmada yine cisplatin nefrotoksisitesi modelinde antioksidan etkileri olduğu bilinen bir polifenol olan curcuminin koruyucu etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada curcumin (120 mg/kg) bir gruba cisplatin öncesi diğer gruba ise cisplatin sonrası verilmiştir. TNF-  ve IL-6 değerleri özellikle cisplatin öncesi curcumin verilen grupta anlamlı olarak daha d     izlenmiştir. Hasar sonrası curcumin verilen grupta TNF-  ve IL-6'da d     n çok az olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlenmiştir. Bu koruyucu etkiyi özellikle  n tedavide inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ederek gösterdiği araştırmacılar tarafından ileri s r lm  tur (163). Çalışmamızda IL-6 düzeylerine bakıldığında literatüre benzer şekilde hasar oluşturulmuş gruplarda anlamlı yükselme izlendi. Pekmez verilen hasar gruplarında ise anlamlı olmayan d     izlendi. Bu durum bize antiinflamatuvar etkiyi işaret eder. Modelde gentamisin neden olduğu hasara karşı gerçekleşen antiinflamatuvar etkinin pekmez içeriğindeki maddelerin bir polifenol olan curcumine benzer şekilde inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu üzerine inhibitör

etkisiyle ortaya çıktığı düşünöldü. TNF- α düzeylerinde ise gruplar arasında değerler yakın olup anlamlı bir fark görölmedi. Aynı zamanda bu değerler arasında hasarla ya da iyileşmeyle ilişkilendirilebilecek bir patern izlenmedi. İL-6 ekspresyonu İL-1 ve TNF- α tarafından indüklenir. Bunun yanından İL-6 antiinflamatuvar etki göstererek İL-1 ve TNF- α salınımını inhibe edebilir. TNF- α düzeylerinde ortaya çıkan durum bu ilişkiye bağlı olabilir (164).

GSH üç amino asitten oluşan bir tripeptiddir. H₂O₂'nin GPx aracılığıyla suya yıkıldığı reaksiyonda indirgenmiş halden glutatyon disülfide oksitlenir. Daha sonra NADPH kullanılarak glutatyon redüktaz tarafından tekrar indirgenir (165). Dokuda miktarının azalması hücre içinde aşırı kullanımına bağlıdır. Dokuda GSH düzeyinin düşüklüğü bize oksidatif stresi gösterir. Yapılan bir çalışmada ratlardagentamisinle indüklenen böbrek hasarında eksojen olarak verilen GSH'ın antioksidan enzim aktivitelerini artırarak renal oksidatif stresi iyileştirdiğı ifade edilmiştir. Bu çalışma incelendiğinde eksojen glutatyonun Bax ve Kaspaz-3'ün down-regölasyonu Bcl-2'nin up-regölasyonu ile apoptozu inhibe ettiğı izlenmiştir. Aynı zamanda proliferatif hücre nükleer antijenin ekspresyonunu azalttığı da görölmüştür. Sonuç olarak gentamisin ile oluşan böbrek hasarında glutatyonun oksidatif stresi, apoptozisi ve proliferatif hücre nükleer antijenini düzenleyerek akut böbrek hasarını azalttığı ileri sürölmüştür (166). Çalışmamızda elde edilen verilere göre GSH düzeylerinin hasar oluşturulan model grubunda en düşük seviyede, pekmez verilen hasar gruplarında ise pekmez verilmeyen hasar grubuna göre daha yüksek seviyede olduğı izlenmiştir. Çalışmamızda da hasar oluşturulan gruplara bakıldığında, saf pekmez verilen grup seyretilmiş pekmez alan gruba göre daha yüksek glutatyon düzeylerine sahipti. Burada karadut pekmezi içeriğindeki fenolik maddeler ve antosiyaninler gibi antioksidan özellik gösteren maddelerin, hücre içi dengeyi oksidan maddeler aleyhine düzelttiğı, bunun da verilen pekmez miktarı ile doğru orantılı olarak değiştii göröldü. Bu durum karadut pekmezinin antioksidan organ koruyucu etkileri olduğına dair bir işarettir. Pekmez verilen gruplarda pekmezin glutatyona yani bu süreçte devam eden katalitik reaksiyonlara olan ihtiyacı azaltmasının ve glutatyonun apoptozis üzerindeki düzenleyici etkisinin bu sonuçları verdiği düşünöldü.

Oksidatif stres akut böbrek hasarının gelişmesinde önemli bir mekanizmadır (167). Bu konuda önemli bir belirteç olan MDA çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidan maddeler etkisiyle peroksidasyona uğraması sonucu ortaya çıkar. Dokuda izlenen MDA miktarı oksidatif hasara bağlı gerçekleşen lipid peroksidasyonunun derecesi hakkında

bize fikir verir (168). Ungur ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada n=8 olmak üzere 32 rat kullanılmış ve hasar modeli için hayvanlara 10 gün boyunca 100 mg/kg gentamisin uygulanmış. Hasar grubunda MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, hasar oluşturularak 1 mL *Sambucusnigra L.* (kara mürver) verilen grupta ise hasar grubuna göre anlamlı olarak düşük izlenmiştir. Buna göre flavonoidler ve antosiyaninlerce zengin bir bitki olan *Sambucusnigra L.* ekstresinin lipid peroksidasyonuna karşı inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada MDA düzeyleri hasar grubunda kontrol grubuna göre yükselmiş ve tedavi grubunda tekrar düşmüştü (155). Çalışmamızda da benzer şekilde gentamisin ile model oluşturulan grupta MDA düzeyleri yüksek olarak izlendi. Karadut pekmezi verilen hasar gruplarında ise MDA düzeyi anlamlı bir fark olmamakla birlikte kontrol grubuna yakın değerlere düştü. Karadut pekmezinde yapılan içerik analizlerinde antosiyaninler ve polifenolik maddelerce zengin olduğu görüldü. Bu maddeler sayesinde lipid peroksidasyonu engellenebilir, sonuç olarak da böbrek hasarı önlenmiş olabilir. MDA düzeylerinde izlenen bu düşüşün antioksidan etkileriyle öne çıkan bu maddeler aracılığıyla gerçekleştiği düşünüldü.

SOD, CAT ve GPx enzimleri hücrede oluşan serbest oksijen radikallerinin eliminasyonunda görev alan enzimlerdir. Oksidatif hasar söz konusu olduğunda dokuda ölçülen SOD, CAT ve GPx aktiviteleri, kullanımlarının artmış olmasıyla birlikte daha düşük izlenir. Akut böbrek hasarının iskemi reperfüzyon modelleriyle yapılan iki çalışmada hasar gruplarında CAT, SOD ve GPx aktivitelerinin düşmüş olduğu, tedavi gruplarında ise yükselmiş olduğu izlendi. Amini ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 40 rat kullanılmış, naringenin ve trimetazidin etkileri incelenmiştir. Park ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise yine ratlarda böbrek iskemi reperfüzyon hasar modeli ile hesperidinin koruyucu etkileri incelenmiş. Bu çalışmalarda tedavi gruplarında hasar grubuna göre enzim aktivitelerinin arttığını antioksidan etkinin ortaya çıktığını ifade etmişlerdir. Sonuç olarak kullanılan ajanlara antioksidan etki atfedilmiştir (169, 170). Yine zencefil ekstrelerinin iskemi reperfüzyon ve ilaç toksisitesi ile oluşturulan böbrek hasarına etkisinin araştırıldığı çalışmaların incelendiği bir meta analizde ratlarla yapılan 17 çalışma değerlendirilmiş ve enzim değerlerinin hasar gruplarında düşük olduğu, antioksidan etkileri olan zencefil uygulaması sonrasında hasar gruplarına göre yükselmiş olduğu raporlanmıştır (171). Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde SOD, CAT ve GPx aktivitelerinin her üç belirteç için de kontrol grubuna göre hasar grubunda anlamlı düzeyde daha düşük olduğu görüldü. Bunun yanında hasar

oluşturularak farklı dozlarda karadut pekmezi verilen grupların her ikisinde de düşmüş olan bu değerlerin yükselmiş olduğu görüldü. Bu durum bize karadut pekmezinin akut böbrek hasarı durumunda oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengeyi antioksidanlar lehine değiştirerek oksidatif strese karşı etkili olduğunu gösterdi. Enzim miktar ve aktivitelerinin pekmez verilmesiyle tekrar yüksek olarak bulunması durumu, bize karadut pekmezinin bu etkiyi oksidanların oluşmasını engelleyerek değil içeriğindeki polifenol ve antosiyaninler gibi antioksidan etkili maddeler sayesinde oksijen radikallerinin eliminasyonuna katkı sağlayarak yaptığını düşündürdü.

TAS, serbest radikallerin elimine edilmesiyle ilgili dokunun antioksidan kapasitesini ölçmede önemli bir belirteçtir. TOS ve OSİ değerleri ise dokuda oluşan hasarın ve oksidatif stresin derecesi hakkında fikir veren belirteçlerdir. Dülger ve Söğüt tarafından n=8 olmak üzere 32 rat ile yapılan etanol kaynaklı böbrek hasarında borik asitin etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, kontrol grubuna göre hasar grubunun TOS ve OSİ değerleri yüksek bulunmuş, TAS ise düşmüştür. Borik asit verilen grupta ise TOS ve OSİ değerleri düşmüş TAS ise yüksek bulunmuştur. Borik asidin renal hasarda antioksidan etkilerinin olduğu ve renal tübüler hücreleri apoptozise karşı koruyucu olduğunu ileri sürmüşlerdir (172). Benzer şekilde Kadioğlu ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada 64 rat ile ezik yarası oluşturulan böbrek hasarı modelinde bordoksolon metilin koruyucu olarak antioksidan etkiler ortaya çıkardığı izlenmiştir. Bordoksolon metilin hasar grubuna karşı TOS değerlerini azalttığı TAS düzeylerini ise arttırdığını tespit etmişlerdir (173). Eraslan ve arkadaşları tarafından böbrek iskemi reperfüzyon hasarı üzerinde yapılan çalışmada 32 rat kullanılmış ve evodiaminin etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada hasar ve koruyucu etki histopatolojik olarak görülmüştür. TAS, TOS ve OSİ değerlerine bakıldığında hasar ve tedavi gruplarında oksidatif hasarı ve koruyucu etkiyi destekleyen istatistiksel açıdan anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (174). Çalışmamızda da hasar modeli oluşturulan grubun TAS değeri kontrol grubuna göre daha düşüktü. Pekmez verilen hasar grupları ise hasar grubuna göre yüksek izlendi. TOS değerine bakıldığında, hasar modeli grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti. Pekmez verilen gruplarına bakılınca %25 pekmez alan hasar grubunda TOS değeri düşerken saf pekmez alan grup için düşüş söz konusu değildi. Oksidatif stres indeksine bakıldığında hasar grubunda kontrol grubuna göre bir yükselme izlendi. Pekmez verilen gruplarda ise tekrar OSİ değerinin düşmüş olduğu görüldü. Sonuç olarak bu değerlere bakıldığında böbrekler üzerinde gentamisinin oksidatif hasar oluşturduğu, karadut pekmezinin ise bu hasara karşı koruyucu etkileri

olduğu izlenmiştir. TAS, TOS ve OSİ değerleri oksidan ve antioksidanların toplamı şeklinde yorumlanabilir.

Histopatolojik inceleme hasarın görülmesi açısından oldukça önemli bir belirteçtir. Fauzi ve arkadaşları tarafından n=5 olmak üzere 20 rat üzerinde yapılan çalışmayla deney hayvanlarında 30, 40 ve 50 mg/kg olmak üzere farklı dozlarda gentamisin böbrek üzerine toksik etkileri biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmiştir. BUN ve kreatinin değerlerinde anlamlı fark olmamakla birlikte tüm dozlarda tübüller ve Bowman kapsülünde histopatolojik olarak gentamisin hasarına bağlı nekrotik değişiklikler oluştuğu gösterilmiştir (175). Yine gentamisine yapılan farklı nefrotoksisite çalışmalarında gentamisin oksidatif stres belirteçleriyle de uyumlu bir şekilde hasara neden olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda kullanılan likopen ve disogenin gentamisinin neden olduğu akut tübüler nekroza ve glomerüllerde bu hasarı azalttığı gösterilmiştir. Özellikle 24 ratla likopenin etkisinin incelendiği çalışmada hasar ve tedavi grupları arasında histopatolojik değişiklikler istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (176, 177). Çalışmamızda kontrol grubunda ve hasar oluşturulmayan pekmez gruplarında glomerül ve tübül yapılarının normal histolojide olduğu izlendi. Gentamisin verilerek hasar oluşturulan grupta ise hemoraji ve infiltrasyon alanları net olarak izlendi. Bunun yanında bazı glomerüllerde kollaps gözlendi. Kontrol grubu ve hasar grubu arasındaki bu değişiklikler istatistiksel açıdan anlamlıydı. Pekmez verilen hasar gruplarının kendi arasında fark olmamakla beraber izlenen değişiklikler pekmez verilmeyen hasar grubuna göre daha küçük hemorajik alanlar ve lokal inflamatuvar alanlar şeklinde sınırlı olduğu g r ld . Bu düzelme her iki grupta hasar grubuna karşı istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklıydı. Sonuç olarak histopatolojik incelemede karadut pekmezinin, uygulanan her iki dozda da gentamisine bağlı gelişen hücre ve doku hasarını mikroskopik olarak azalttığı g r ld . Bu durum çalışmamızın diğer belirteçleriyle de uyumlu bir şekilde karadutun antioksidan etkileri olduğunu düşündürdü.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

İlaç toksisitesine bağlı gelişen akut böbrek hasarı klinikte hem tedaviyi kısıtlayan hem de ciddi komplikasyonlara sebep olan bir durumdur. Gentamisine bağlı böbrek hasarında oksidatif stres ve organ fonksiyon kaybı söz konusudur. İnsan vücudu için önemli fonksiyonları olan böbreklerin bu şekilde bir kayba karşı korunması son derece önem arz etmektedir. Bu çalışma karadut pekmezinin antioksidan etkilerini araştırmak amacıyla İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalında doktora tezi olarak planlanmıştır.

Kullandığımız karadut pekmezi içeriği, literatürde antioksidan etkinlik gösteren farklı karadut çalışmalarıyla benzerdir.

Akut böbrek yetmezliğinin klinik takibinde kullanılan serum BUN ve kreatinin değerleri gentamisin grubunda yüksek; pekmez verilen gruplarda düşüktür. % kilo kaybında da benzer bulgular ortaya çıkmaktadır. Dikkat çekici şekilde yaklaşık yarısı şekerden oluşan bir ürün olan karadut pekmezi hipoglisemik etkilere sahiptir.

Gentamisin verilen hasar gruplarında azalmış olan SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri ile GSH miktarı pekmez verilmesi durumunda normale yaklaşmaktadır.

Gentamisin verilen hasar gruplarında artmış olan MDA, TOS ve OSI düzeyi pekmez verildiğinde azalmaktadır.

Gentamisin verilen hasar gruplarında artmış olan TNF- α ve IL-6 düzeyleri pekmez verilmesiyle azalmaktadır.

Gentamisin histopatolojik olarak tespit edilen böbrek hasarına neden olmaktadır.

Sonuç olarak; gentamisin ile oluşturulan nefrotoksistide oksidatif stres rol oynamaktadır. Karadut pekmezi bu mekanizmayı düzenleyerek koruyucu olabilir.

Yoğunlukları arasında dört kat fark bulunan iki karadut pekmezi grubu karşılaştırıldığında koruyucu etki açısından belirgin fark oluşmamaktadır. Bunun için daha fazla yoğunluk farkları denenebilir.

Çalışmamız antioksidan etkinliği net olarak göstermiştir fakat bunu sağlayan mekanizmaları net olarak açıklamak için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Klinik çalışmalara temel oluşturabileceğinden dolayı bu konuda yapılacak çalışmaların koruyucu etkinin altında yatan mekanizmayı net olarak ortaya çıkarabilecek moleküler düzeyde araştırmalara yönelik tasarlanması önerilmektedir. Ayrıca karadut pekmezinin

hiperglisemik olması beklenirken hipoglisemik etkisi dikkat çekici ve ayrıca çalışılması gereken bir husustur.



KAYNAKLAR

1. Sales GTM, Foresto RD. Drug-induced nephrotoxicity. *Rev Assoc Med Bras* 2020, 13: 82–90.
2. Jospe-Kaufman M, Siomin L, Fridman M. The relationship between the structure and toxicity of aminoglycoside antibiotics. *Bioorg Med Chem Lett* 2020, Online First 1-6
3. Becker B, Cooper MA. Aminoglycoside antibiotics in the 21st century. *ACS Chem Biol* 2013, 8(1): 105–15.
4. YuceSari S, Beduk Esen CS, Yazici G, Yuce D, Cengiz M, Ozyigit G. Do grape and black mulberry molasses have an effect on oral mucositis and quality of life in patients with head and neck cancer? *Support Care Cancer* 2022, 30(1): 327–36.
5. Çubukçu NÜ, Çınar S. Kemoterapi alan kanserli hastalarda oral mukozitler önlenbilir mi? *Clin Exp Health Sci* 2012, 2(4): 155–63.
6. de Pádua Lúcio K, Rabelo ACS, Araújo CM, Brandão GC, de Souza GHB, da Silva RG, de Souza DMS, Talvani A, Bezerra FS, Cruz Calsavara AJ, Costa DC. Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Black Mulberry (*Morus nigra* L.) in a Model of LPS-Induced Sepsis. *Oxid Med Cell Longev* 2018, Online First 1-13.
7. Ghorbani A, Hooshmand S. Protective Effects of *Morus nigra* and Its Phytochemicals against Hepatotoxicity: A Review of Preclinical Studies. *Pharmacology* 2021, 106: 233–43.
8. Polumackanycz M, Wesolowski M, Viapiana A. *Morus alba* L. and *Morus nigra* L. Leaves as a Promising Food Source of Phenolic Compounds with Antioxidant Activity. *Plant Foods Hum Nutr* 2021, 76(4): 458–65.
9. Deniz GY, Laloglu E, Koc K, Nadaroglu H, Geyikoglu F. The effect of black mulberry (*Morus nigra*) extract on carbon tetrachloride-induced liver damage. *Arch Biol Sci* 2018, 70(2): 371–8.

10. Verlander J, Clapp W. Anatomy of the Kidney. In: Chertow G, Luyckx V, Marsden P, Skorecki K, Taal M, Yu A (eds). *Brenner and Rector's The Kidney*. 11th ed. Philadelphia, Elsevier Inc; 2020: 38–79.
11. Marieb EN, Hoehn K. *Anatomy & Physiology*. 6th ed. San Francisco: Pearson Education; 2017: 824.
12. Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 13th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016: 327, 340, 335, 680, 370, 351.
13. Al-Awqati Q, Barasch J. Structure and Function of the Kidneys. In: Goldman L, Schafer A (eds). *Goldman-Cecil Medicine*. 26th ed. Philadelphia, Elsevier Inc; 2020: 107, 709–712.
14. Klein JD, Blount MA, Sands JM. Urea transport in the kidney. *Compr Physiol* 2011, 1(2): 699–729.
15. Stewart GS, Thistlethwaite A, Lees H, Cooper GJ, Smith C. Vasopressin regulation of the renal UT-A3 urea transporter. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009, 296(3): 642–8.
16. Magder S. The meaning of blood pressure. *Crit Care* 2018, 22(1): 1–10
17. Wolff CB, Collier DJ, Shah M, Saxena M, Brier TJ, Kapil V, Green D, Lobo M. A Discussion on the Regulation of Blood Flow and Pressure. *Adv Exp Med Biol* 2016, 876: 129–35.
18. Hamm LL, Nakhoul N, Hering-Smith KS. Acid-Base Homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015, 10(12): 2232–42.
19. Shih HM, Wu CJ, Lin SL. Physiology and pathophysiology of renal erythropoietin-producing cells. *J Formos Med Assoc* 2018, 117(11): 955–63.
20. Pan SY, Chiang WC, Chen YM. The journey from erythropoietin to 2019 Nobel Prize: Focus on hypoxia-inducible factors in the kidney. *J Formos Med Assoc* 2021, 120(1): 60–7.

21. Vahdat S. Vitamin D and Kidney Diseases: A Narrative Review. *Int J Prev Med* 2020, Online First 1-5
22. Ghezzi C, Loo DDF, Wright EM. Physiology of renal glucose handling via SGLT1, SGLT2 and GLUT2. *Diabetologia* 2018, 61(10): 2087–97.
23. Schoolwerth AC, Smith BC, Culpepper RM. Renal gluconeogenesis. *Miner Electrolyte Metab* 1988, 14(6): 347–61.
24. Rabkin R, Ryan MP, Duckworth WC. The renal metabolism of insulin. *Diabetologia* 1984, 27(3): 351–7.
25. Mercado MG, Smith DK, Guard EL. Acute Kidney Injury: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician* 2019, 100(11): 687–94.
26. Girndt M. Diagnosis and treatment of chronic kidney disease. *Internist* 2017, 58(3): 243–56.
27. Bonavia A, Vece G, Karamchandani K. Prerenal acute kidney injury – still a relevant term in modern clinical practice? *Nephrol Dial Transplant* 2021, 36(9): 1570–7.
28. Koza Y. Acute kidney injury: current concepts and new insights. *J Inj Violence Res* 2016, 8(1): 58–62.
29. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, the ADQI workgroup. Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Critical Care* 2004, 8(4): 204.
30. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A, the Acute Kidney Injury Network. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Critical Care* 2007, 11(2): 1-8.
31. Kellum JA, Lameire N, Aspelin P, Barsoum RS, Burdmann EA, Goldstein SL, Herzog CA, Joannidis M, Kribben A, Levey AS, MacLeod AM. Kidney disease:

- Improving global outcomes (KDIGO) acute kidney injury workgroup. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Int Suppl.* 2012, 2(1): 1–138.
32. Steven DW, Paul MP. Prevention and Management of Acute Kidney Injury. In: Chertow G, Luyckx V, Marsden P, Skorecki K, Taal M, Yu A (eds). *Brenner and Rector's The Kidney*. 11th ed. Philadelphia, Elsevier Inc; 2020: 940–77.
 33. Farrar A. Acute Kidney Injury. *Nurs Clin North Am* 2018, 53(4): 499–510.
 34. Wargo KA, Edwards JD. Aminoglycoside-induced nephrotoxicity. *J Pharm Pract* 2014, 27(6): 573–7.
 35. Quiros Y, Vicente-Vicente L, Morales AI, López-Novoa JM, López-Hernández FJ. An integrative overview on the mechanisms underlying the renal tubular cytotoxicity of gentamicin. *Toxicol Sci* 2011, 119(2): 245–56.
 36. Mıstık R. Aminoglikozid Antibiyotikler ve Günde Tek Doz Kullanımları. *Klinik Derg* 2000, 13(2): 43–5.
 37. Şahin Y, Yıldırım E. Antibiyotiklerin hücre içi farmakokinetik özellikleri. *KÜ Tıp Fak Derg* 2020, 22(3): 470–7.
 38. Sasaki D, Yamada A, Umeno H, Kurihara H, Nakatsuji S, Fujihira S, Tsubota K, Ono M, Moriguchi A, Watanebe K, Seki J. Comparison of the course of biomarker changes and kidney injury in a rat model of drug-induced acute kidney injury. *Biomarkers* 2011, 16(7): 553–66.
 39. Heyman SN, Rosenberger C, Rosen S. Acute Kidney Injury: Lessons from Experimental Models. In: Herrera GA. *Experimental Models for Renal Diseases: Pathogenesis and Diagnosis Contrib Nephrol* 2011, 169: 286–96.
 40. Nagai J, Takano M. Molecular aspects of renal handling of aminoglycosides and strategies for preventing the nephrotoxicity. *Drug Metab Pharmacokinet* 2004, 19(3): 159–70.
 41. Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, Lopez-Hernandez FJ. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney Int* 2011, 79(1): 33–45.

42. Nagai J, Saito M, Adachi Y, Yumoto R, Takano M. Inhibition of gentamicin binding to rat renal brush-border membrane by megalin ligands and basic peptides. *J Control Release* 2006, 112(1): 43–50.
43. Simmons CF, Bogusky RT, Humes HD. Inhibitory effects of gentamicin on renal mitochondrial oxidative phosphorylation. *J Pharmacol Exp Ther* 1980, 214(3): 709–15.
44. Walker PD, Shah SV. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J Clin Invest* 1988, 81(2): 334–41.
45. Avasthi PS, Evan AP, Huser JW, Luft FC. Effect of gentamicin on glomerular ultrastructure. *J Lab Clin Med* 1981, 98(3): 444–54.
46. Martínez-Salgado C, López-Hernández FJ, López-Novoa JM. Glomerular nephrotoxicity of aminoglycosides. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007, 223(1): 86–98.
47. Neugarten J, Aynedjian HS, Bank N. Role of tubular obstruction in acute renal failure due to gentamicin. *Kidney Int* 1983, 24(3): 330–5.
48. Nechemia-Arbely Y, Barkan D, Pizov G, Shriki A, Rose-John S, Galun E, Axelrod J. IL-6/IL-6R axis plays a critical role in acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2008, 19(6): 1106–15.
49. Apaydin Yildirim B, Aydin T, Kordali S, Yildirim S, Cakir A, Yildirim F. Antihemorrhoidal activity of organic acids of *Capsella bursa-pastoris* on croton oil-induced hemorrhoid in rats. *J Food Biochem* 2020, 44(9): 133–43.
50. Atsmon J, Dolev E. Drug-induced hypomagnesaemia: scope and management. *Drug Saf* 2005, 28(9): 763–88.
51. Humes HD. Aminoglycoside nephrotoxicity. *Kidney Int* 1988, 33(4): 900–11.
52. Hori Y, Aoki N, Kuwahara S, Hosojima M, Kaseda R, Goto S, Iida T, De S, Kabasawa H, Kaneko R. Megalin blockade with cilastatin suppresses drug-induced nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 2017, 28(6): 1783–91.

53. Oliveira JF, Silva CA, Barbieri CD, Oliveira GM, Zanetta DM, Burdmann EA. Prevalence and risk factors for aminoglycoside nephrotoxicity in intensive care units. *Antimicrob Agents Chemother* 2009, 53(7): 2887–91.
54. Fu X, Wan P, Li P, Wang J, Guo S, Zhang Y, An Y, Ye C, Liu Z, Gao J, Yang J, Fan J, Chai R. Mechanism and prevention of ototoxicity induced by aminoglycosides. *Front Cell Neurosci* 2021 Online First 1-8
55. Gilbert D, Wood C, Kohlhepp S, Kohnen P, Houghton D, Finkbeiner H, Linsley J, Bennett WM. Polyaspartic acid prevents experimental aminoglycoside nephrotoxicity. *J Infect Dis* 1989, 159(5): 945–53.
56. Medić B, Stojanović M, Rovčanin B, Kekić D, Škodrić SR, Jovanović GB, Vujović KS, Divac N, Stojanović R, Radenković M. Pioglitazone attenuates kidney injury in an experimental model of gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *SciRep* 2019, 9(1): 1–10.
57. Gürçan K. Ekşi karadutun (*Morus nigra* L.) Türkiye’de yetiştiricilik kültürü ve alanları: Asırlık ağaçların keşfi. *EJOSAT* 2021, 31(1): 568–82.
58. TÜİK- Veri Portalı. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111> Son Erişim Tarihi: 04 Eylül 2022
59. Ercisli S, Orhan E. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Foodchem* 2007, 103(4): 1380–4.
60. Lim SH, Choi CI. Pharmacological Properties of *Morus nigra* L. (Black Mulberry) as A Promising Nutraceutical Resource. *Nutrients* 2019, 11(2): 1-18
61. De Souza MM, Bittar M, Cechinel-Filho V, Yunes RA, Messana I, Delle Monache F, Ferrari F. Antinociceptive properties of morusin, a prenylflavonoid isolated from *Morus nigra* root bark. *Z Naturforsch C J Biosci* 2000, 55(3–4): 256–60.
62. Chen H, Pu J, Liu D, Yu W, Shao Y, Yang G, Xiang Z, He N. Anti-inflammatory and antinociceptive properties of flavonoids from the fruits of black mulberry (*Morus nigra* L.). *PloS one* 2016, 11(4): Online First 1-14.

63. Padilha MM, Vilela FC, Rocha CQ, Dias MJ, Soncini R, dos Santos MH, Alves-da-Silva G, Giusti-Paiva A. Antiinflammatory properties of Morusnigraleaves. *PhytotherRes* 2010, 24(10): 1496–500.
64. Wang L, Yang Y, Liu C, Chen RY. Three new compounds from Morusnigra L. *J AsianNatProdRes* 2010, 12(6): 431–7.
65. Budiman A, Aulifa DL, Kusuma ASW, Sulastri A. Antibacterial and antioxidant activity of black mulberry (Morusnigra L.) extract for acne treatment. *Pharmacogn J* 2017, 9(5): 611–4.
66. Aulifa DL, Fitriansyah SN, Ardiansyah SA, Wibowo DP, Julata YA, Christy DS. Phytochemical screening, antibacterial activity, and mode of action on Morusnigra. *Pharmacogn J* 2018, 10(1): 167–71.
67. Khalid N, Fawad SA, Ahmed I. Antimicrobial activity, phytochemical profile and trace minerals of black mulberry (Morusnigra L.) fresh juice. *Pak J Bot* 2011, 43(6): 91–6.
68. Mascarello A, Menegatti ACO, Calcaterra A, Martins PGA, Chiaradia-Delatorre LD, D'Acquarica I, Ferrari F, Pau V, Sanna A, De Logu A. Naturally occurring Diels-Alder-type adducts from Morusnigra as potent inhibitors of Mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatase B. *Eur J Med Chem* 2018, 144: 277–88.
69. AbouZid SF, Ahmed OM, Ahmed RR, Mahmoud A, Abdella E, Ashour MB. Antihyperglycemic effect of crude extracts of some Egyptian plants and algae. *J Med Food* 2014, 17(3): 400–6.
70. Abd El-Mawla A, Mohamed KM, Mostafa AM. Induction of biologically active flavonoids in cell cultures of Morusnigra and testing their hypoglycemic efficacy. *SciPhar* 2011, 79(4): 951–62.
71. Mahmoud MY. Natural antioxidant effect of mulberry fruits (Morusnigra and Morusalba L.) on lipids profile and oxidative stress in hypercholesterolemic rats. *Pakistan J Nutr* 2013, 12(7): 665–72.

72. Jiang Y, Dai M, Nie WJ, Yang XR, Zeng XC. Effects of the ethanol extract of black mulberry (*Morus nigra* L.) fruit on experimental atherosclerosis in rats. *J Ethnopharmacol* 2017, 200: 228–35.
73. Tag HM. Hepatoprotective effect of mulberry (*Morus nigra*) leaves extract against methotrexate induced hepatotoxicity in male albino rat. *BMC Complement Altern Med* 2015, 15(1): 1–9.
74. Hassanlilou T, Payahoo L, Shahabi P, Abbasi MM, Jafar-abadi MA, Bishak YK, Khordadmehr M, Esnaashari S, Barzegar A. The protective effects of *Morus nigra* L. leaves on the kidney function tests and histological structures in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomed Res (Aligarh)* 2017, 28(14): 6113–8.
75. Nesello LAN, Beleza MLML, Mariot M, Mariano LNB, de Souza P, Campos A, Cechinel-Filho V, Andrade SF, da Silva LM. Gastroprotective value of berries: Evidences from methanolic extracts of *Morus nigra* and *Rubus niveus* fruits. *Gastroenterol Res Pract* 2017, Online First 1-8.
76. Ahmed A, Ali M, El-Kholie E, El-Garawani I, Sherif N. Anticancer activity of *Morus nigra* on human breast cancer cell line (MCF-7): the role of fresh and dry fruit extracts. *J Biosci Appl Res* 2016, 2(6): 352–61.
77. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. Türk Gıda Kodeks Üzüm Pekmezi Tebliği <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/06/20170930-24.htm> Son Erişim Tarihi: 20 Eylül 2022.
78. TSE. Türk Standartları Enstitüsü Dut Pekmezi Standardı TS 12001. <https://intweb.tse.org.tr/standard/standard/Standard.aspx?08111805111510805111041191101040550480650820770551030760760560841180850871170681210811141180671051110780981130530660650861020560810801130661190680770761100860751171131131141000971060550570810840981040781080710740811030801191051190800810831061140541191020811020770691100670731060680791220750730830740690840510480831181110840431181090811111907006707904710708810210609707710305011108811606811310008908810812208908806610607009097054072051117097088052065061061> Son Erişim Tarihi: 20 Eylül 2022.

79. Sies H. Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. *Antioxidants* 2020, 9(9): 852–7.
80. Jakubczyk K, Dec K, Kałduńska J, Kawczuga D, Kochman J, Janda K. Reactive oxygen species—sources, functions, oxidative damage. *Pol Merkur Lekarski* 2020, 48(284): 124–7.
81. Bayr H. Reactive oxygen species. *Crit Care Med* 2005, 33(12): 498–501.
82. Benov L. How superoxide radical damages the cell. *Protoplasma* 2001, 217(1): 33–6.
83. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett* 2000, 486(1): 10–3.
84. Gligorovski S, Strekowski R, Barbati S, Vione D. Environmental Implications of Hydroxyl Radicals ($\bullet\text{OH}$). *Chem Rev* 2015, 115(24): 13051–92.
85. You Y. Chemical tools for the generation and detection of singlet oxygen. *Org Biomol Chem* 2018, 16(22): 4044–60.
86. Winterbourn CC, Kettle AJ. Biomarkers of myeloperoxidase-derived hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 2000, 29(5): 403–9.
87. Kuyumcu A, Düzgün AP, Özmen MM, Besler HT. Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus Travma Derg* 2004, 10(3): 149–59.
88. Pitocco D, Zaccardi F, DiStasio E, Romitelli F, Santini SA, Zuppi C, Ghirlanda G. Oxidative Stress, Nitric Oxide, and Diabetes. *Rev Diabet Stud* 2010, 7(1): 15–25.
89. Satyanarayana U, Chakrapani U. *Biochemistry*, 6th-E-book. New Delhi. Elsevier RELX India, 2021, 656.
90. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem Biophys Res Commun* 2005, 338(1): 668–76.
91. Yin H, Xu L, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem Rev* 2011, 111(10): 5944–72.

92. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek* 2004, 57(9–10): 453–5.
93. Singh Z, Karthigesu IP, Singh P, Kaur R. Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies: a Review. *Iran J Public Health* 2014, 43(Supple 3): 7–16.
94. Morales M, Munné-Bosch S. Malondialdehyde: Facts and Artifacts. *Plant Physiol* 2019, 180(3): 1246–50.
95. Iles KE, Forman HJ. Macrophage signaling and respiratory burst. *Immunol Res* 2002, 26(1): 95–105.
96. Mirończuk-Chodakowska I, Witkowska AM, Zujko ME. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Adv Med Sci* 2018, 63(1): 68–78.
97. Haida Z, Hakiman M. A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food Sci Nutr* 2019, 7(5): 1555–63.
98. Younus H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci* 2018, 12(3): 88–93.
99. Rosa AC, Corsi D, Cavi N, Bruni N, Dosio F. Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses. *Molecules* 2021, 26(7): 1844.
100. Brigelius-Flohé R, Flohé L. Regulatory Phenomena in the Glutathione Peroxidase Superfamily. *Antioxid Redox Signal* 2020, 33(7): 498–516.
101. Sargolzaei M. Virtual Compound Screening and Molecular Dynamics to Identify New Inhibitors for Human Glutathione Reductase. *Lett Drug Des Discov* 2020, 17(12): 1465–74.
102. Narayanankutty A, Job JT, Narayanankutty V. Glutathione, an Antioxidant Tripeptide: Dual Roles in Carcinogenesis and Chemoprevention. *Curr Protein Pept Sci* 2019, 20(9): 907–17.

103. Caddeo C, Manca ML, Peris JE, Usach I, Diez-Sales O, Matos M, Fernández-Busquets X, Fadda AM, Manconi M. Tocopherol-loaded transfersomes: In vitro antioxidant activity and efficacy in skin regeneration. *Int J Pharm* 2018, 551(1): 34–41.
104. Njus D, Kelley PM, Tu YJ, Schlegel HB. Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radic Biol Med* 2020, 159: 37–43.
105. Young AJ, Lowe GL. Carotenoids—Antioxidant Properties. *Antioxidants* 2018, 7(2): 28–32.
106. Kiełczykowska M, Kocot J, Paździor M, Musik I. Selenium—a fascinating antioxidant of protective properties. *Adv Clin Exp Med* 2018, 27(2): 245–55.
107. Karafakioğlu YS. Effects of α lipoic acid on noise-induced oxidative stress in rats. *Saudi J Biol Sci* 2019, 26(5): 989–94.
108. Vieira AJSC, Gaspar EM, Santos PMP. Mechanisms of potential antioxidant activity of caffeine. *Radiat Phys Chem* 2020, Online First 174: 108968.
109. Arslan AK, Yaşar Ş, Çolak C, Yoloğlu S. WSSPAS: An Interactive Web Application for Sample Size and Power Analysis with R Using Shiny. *Türkiye Klinikleri J Biostat* 2018, 10(3): 224–46.
110. Yavaş O. Karadut konsantresinin üretimi ve depolanması sırasında bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerde meydana gelen değişimler. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Elâzığ: Atatürk Üniversitesi, 2020.
111. Jarić S, Kostić O, Mataruga Z, Pavlović D, Pavlović M, Mitrović M, Pavlović P. Traditional wound-healing plants used in the Balkan region (Southeast Europe). *J Ethnopharmacol* 2018, 211: 311–28.

- 112.Ünlüer A. Beyaz dut (Morusalba) ve karadut (Morusnigra) yaprak özütleri üzerine antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Manisa: Celal Bayar Üniversitesi, 2011.
- 113.Tüzün S, Baş İ, Karakavuk E, Sanyürek NK, Benzer F. Çeşitli Pekmez Türlerinde Farklı Yöntemlerle Tespit Edilen Antioksidan Aktivitelerin Karşılaştırılması. *Türk Tarım Doga Bilim Derg* 2020, 7(2): 323–30.
- 114.Llano T, Quijorna N, Andrés A, Coz A. Sugar, acidandfurfuralquantification in a sulphitepulp mill: Feedstock, productandhydrolysateanalysisby HPLC/RID. *BiotechnolRep* 2017, 15: 75–83.
- 115.Talcott ST, Howard LR. Phenolicautoxidation is responsiblefor colordegradation in processedcarrot puree. *J AgricFoodChem* 1999, 47(5): 2109–15.
- 116.Bae SH, Suh HJ. Antioxidantactivities of fivedifferentmulberrycultivars in Korea. *LWT* 2007, 40(6): 955–62.
- 117.Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidantactivityapplying an improved ABTS radicalcationdecolorizationassay. *FreeRadicBiolMed* 1999, 26(9): 1231–7.
- 118.Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assaysforestimatingantioxidantactivityfromguavafruitextracts. *J FoodCompost Anal* 2006, 19(6–7): 669–75.
- 119.Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. Novel Total AntioxidantCapacity Index forDietaryPolyphenolsandVitamins C and E, Using TheirCupricIonReducingCapability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *J AgricFoodChem* 2004, 52(26): 7970–81.
- 120.Kim DO, Jeong SW, Lee CY. Antioxidantcapacity of phenolicphytochemicalsfromvariouscultivars of plums. *FoodChem* 2003, 81(3): 321–6.

121. Kutlu T, Durmaz G, Ateş B, Yılmaz İ, Çetdotoveṙn M Ş. Antioxidant properties of different extracts of black mulberry (*Morus nigra* L.). *Turk J Biol* 2011, 35(1): 103–110.
122. Parlakpınar H, Sahna E, Acet A, Mizrak B, Polat A. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia–reperfusion-induced apoptotic cell death. *Toxicology* 2005, 209(1): 1–14.
123. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978, 86(1): 271–8.
124. Waterborg JH, Matthews HR. The Lowry Method for Protein Quantitation. In: Walker JM (ed), *Basic Protein and Peptide Protocols* 1st ed New Jersey: Humana Totowa; 1994: 1–4.
125. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967, 70(1): 158–69.
126. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959, 82(1): 70–7.
127. Bergmeyer HU. *Methods of enzymatic analysis*. 3rd ed. New York: Elsevier; 1985: 38.
128. Sun YI, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988, 34(3): 497–500.
129. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004, 37(4): 277–85.
130. Kohanski MA, Dwyer DJ, Hayete B, Lawrence CA, Collins JJ. A Common Mechanism of Cellular Death Induced by Bactericidal Antibiotics. *Cell* 2007, 130(5): 797–810.
131. Walker PD, Barri Y, Shah SV. Oxidant Mechanisms in Gentamicin Nephrotoxicity. *Ren Fail* 1999, 21(3–4): 433–42.

132. Turnidge JD, Waterston JA. Gentamicin and ototoxicity: why this drug is still in use. *Med J Aust* 2012, 196(11): 665–6.
133. Parlakpınar H, Tasdemir S, Polat A, Bay-Karabulut A, Vardi N, Ucar M, Yanılmaz M, Kavaklı A, Acet A. Protective effect of chelerythrine on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Cell Biochem Funct* 2006, 24(1): 41–8.
134. Vardi N, Parlakpınar H, Öztürk F, Acet A. Gentamicin-induced nephrotoxicity and protective effect of caffeic acid phenethyl ester in rats. *Fundam Clin Pharmacol* 2005, 19(2): 173–7.
135. Polat A, Parlakpınar H, Tasdemir S, Colak C, Vardi N, Ucar MH, Acet A. Protective role of aminoguanidine on gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Acta Histochem* 2006, 108(5): 365–71.
136. Hakyemez İN, Cevizci MN, Aksoz E, Yılmaz K, Uysal S, Altun E. Protective effects of p-coumaric acid against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Drug Chem Toxicol* 2021, 45(6): 2825–32.
137. Zaidi SNF, Usman SM. Salicylic acid attenuates gentamicin-induced nephrotoxicity in rabbits. *Pak. J. Pharm. Sci* 2021, 34(1): 165–70.
138. Lee D, Lee SR, Park BJ, Song JH, Kim JK, Ko Y, Kang KS, Kim KH. Identification of Renoprotective Phytosterols from Mulberry (Morus alba) Fruit against Cisplatin-Induced Cytotoxicity in LLC-PK1 Kidney Cells. *Plants* 2021, 10(11): 2481.
139. Hashim MI, Askar SJ. Ameliorating Effects of Morus alba Leaves Extract on Nephrotoxicity-Induced by Gentamicin in Male Rats. *IJONS* 2019, 9(52): 16626–37.
140. Mwenge W, Butler T, Mgema S, Mhina G, Almasi Y, Bradley C, Formanik JB, Rochester CG. Treatment of plague with gentamicin or doxycycline in a randomized clinical trial in Tanzania. *Clin Infect Dis* 2006, 42(5): 614–21.
141. Mathew TH. Drug-induced renal disease. *Med J Aust* 1992, 156(10): 724–9.
142. Hur E, Garip A, Camyar A, İlgun S, Özisik M, Tuna S, Olukman M, Narlı Özdemir Z, Yıldırım Sözmen E, Sen S. The effects of vitamin D on gentamicin-

- induced acute kidney injury in experimental rat model. *Int J Endocrinol* 2013, Online First 1-7,
143. Amini FG, Rafieian-Kopaei M, Nematbakhsh M, Baradaran A, Nasri H. Ameliorative effects of metformin on renal histologic and biochemical alterations of gentamicin-induced renal toxicity in Wistar rats. *J Res Med Sci* 2012, 17(7): 621-5.
 144. Turkistani A, Tounsi E. Pomegranate and blueberry extracts ameliorate gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *J Med Sci Medical Sci* 2021, 25(107): 230–9.
 145. Kafkas S, Özgen M, Doğan Y, Özcan B, Ercişli S, Serçe S. Molecular Characterization of Mulberry Accessions in Turkey by AFLP Markers. *J Am Soc Hortic Sci* 2008, 133(4): 593–7.
 146. Özgen M, Serçe S, Kaya C. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Sci Hortic* 2009, 119(3): 275–9.
 147. Arshad S, Rehman R, Mushtaq A, Qayyum A. Morphology, chemical composition and medicinal properties of *Morus nigra* L. A review. *IJCBS* 2018, 13(2018): 100–3.
 148. Ebrahimi A, Poursalavati A, Mohamadi Esboei M, Monfared SR, Sahebi M, Amerian MR, Khoshro HH. Population and individual multivariate analysis of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry genotypes: applications for breeding, conservation and development. *Euphytica* 2021, 217(7): 1–27.
 149. Koyu H. Karadut Meyvesi Milli Monografi. *Türk Farmakope Dergisi* 2018, 3(4): 21–4.
 150. Aksu Mİ, Nas S. Dut Pekmezi Üretim Tekniği ve Çeşitli Fiziksel-Kimyasal Özellikleri. *Gıda* 1996, 21(2): 83-8
 151. Oral RA, Dogan M, Sarioglu K, Toker ÖS. 5-hydroxymethyl furfural formation and reaction kinetics of different pekmez samples: effect of temperature and storage. *International Journal of Food Engineering* 2012, 8(4): 1-14.

152. Hepsağ F. Phenolic Composition, Colour and Anthocyanin Stability of Black Mulberry and White Mulberry Jam as Affected by Cultivar and Storage Temperature. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry* 2016, 44(4): 395–9.
153. Tungmunthum D, Thongboonyou A, Pholboon A, Yangsabai A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines* 2018, 5(93): 1-16.
154. Hidalgo M, Sánchez-Moreno C, de Pascual-Teresa S. Flavonoid–flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chem* 2010, 121(3): 691–6.
155. Ungur RA, Borda IM, Codea RA, Ciortea VM, Năsui BA, Muste S, Sarpataky O, Filip M, Irsay L, Crăciun EC, Căinap S, Jivănescu DB, Pop AL, Singurean VE, Crişan M, Groza OB, Martiş GS. A Flavonoid-Rich Extract of *Sambucus nigra* L. Reduced Lipid Peroxidation in a Rat Experimental Model of Gentamicin Nephrotoxicity. *Materials* 2022, 15(3): 772-96.
156. Tüzün S, İsa B, Karakavuk E, Sanyürek NK, Benzer F. Çeşitli Pekmez Türlerinde Farklı Yöntemlerle Tespit Edilen Antioksidan Aktivitelerin Karşılaştırılması. *Türk Tarım Doga Bilim Derg* 2020, 7(2): 323–30.
157. Kamiloğlu S, Serali O, Unal N, Capanoglu E. Antioxidant activity and polyphenol composition of black mulberry (*Morus nigra* L.) products. *J Berry Res* 2013, 3(1): 41–51.
158. Sernikli C, Kadakal Ç. Karadut (*Morus nigra*) suyunda rutin ve toplam fenolik bileşiklerin ısı parçalanma kinetiği. *Harran Tarım Gıda Bilim Derg* 2020, 24(3): 290–300.
159. Demircan Ö. Kronik böbrek hastalarında malnutrisyon ile böbrek fonksiyonları arasındaki ilişki. Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Kocaeli: Kocaeli Üniversitesi 2011.
160. Abouzed TK, Sadek KM, Ghazy EW, Abdo W, Kassab MA, Hago S, Abdel-Wahab S, Mahrous EA, Abdel-Sattar E, Assar DH. Black mulberry fruit extract alleviates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats:

- targeting TNF- α inflammatory pathway. *J Pharm Pharmacol* 2020, 72(11): 1615–28.
161. Popko K, Gorska E, Stelmaszczyk-Emmel A, Plywaczewski R, Stoklosa A, Gorecka D, Pyrzak B, Demkow U. Proinflammatory cytokines IL-6 and TNF- α and the development of inflammation in obese subjects. *Eur J Med Res* 2010, 15(2): 1–3.
162. Bao N, Dai D. Dexmedetomidine Protects against Ischemia and Reperfusion-Induced Kidney Injury in Rats. *Mediators Inflamm* 2020, Online First 1-8
163. Kumar P, Sulakhiya K, Barua CC, Mundhe N. TNF- α , IL-6 and IL-10 expressions, responsible for disparity in action of curcumin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Mol Cell Biochem* 2017, 431(1): 113–22.
164. Schulte W, Bernhagen J, Bucala R. Cytokines in Sepsis: Potent Immunoregulators and Potential Therapeutic Targets—An Updated View. *Mediators Inflamm* 2013, Online First 1-16 pages
165. Hong YA, Park CW. Catalytic antioxidants in the kidney. *Antioxidants* 2021, 10(1): 130-51
166. Babaeenezhad E, Dezfoulan O, Hadipour Moradi F, Rahimi Monfared S, Fattahi MD, Nasri M, Amini A, Ahmadvand H. Exogenous glutathione protects against gentamicin-induced acute kidney injury by inhibiting NF- κ B pathway, oxidative stress, and apoptosis and regulating PCNA. *Drug Chem Toxicol* 2022, Online First 1–10.
167. Tomsa AM, Alexa AL, Junie ML, Rachisan AL, Ciumarnean L. Oxidative stress as a potential target in acute kidney injury. *PeerJ* 2019, Online First 1-21.
168. Davey MW, Stals E, Panis B, Keulemans J, Swennen RL. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. *Anal Biochem* 2005, 347(2): 201–7.

169. Amini N, Sarkaki A, Dianat M, Mard SA, Ahangarpour A, Badavi M. Protective effects of naringin and trimetazidine on remote effect of acute renal injury on oxidative stress and myocardial injury through Nrf-2 regulation. *Pol J Pharmacol* 2019, 71(6): 1059–66.
170. Park WS, Park MS, Kang SW, Jin SA, Jeon Y, Hwang J, Kim SK. Hesperidin shows protective effects on renal function in ischemia-induced acute kidney injury (Sprague-Dawley rats). *Transplant Proc* 2019, 51(8): 2838–41.
171. Rostamkhani H, Faghfour AH, Veisi P, Rahmani A, Noshadi N, Ghoreishi Z. The protective antioxidant activity of ginger extracts (*Zingiber Officinale*) in acute kidney injury: A systematic review and meta-analysis of animal studies. *J Funct Foods* 2022, Online First 1-13
172. Cikler-Dulger E, Sogut I. Investigation of the protective effects of boric acid on ethanol induced kidney injury. *Biotech Histochem* 2020, 95(3): 186–93.
173. Kadioğlu E, Tekşen Y, Koçak C, Koçak FE. Beneficial effects of bardoxolone methyl, an Nrf2 activator, on crush-related acute kidney injury in rats. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2021, 47(1): 241–50.
174. Eraslan E, Tanyeli A, Polat E, Yetim Z. Evodiamine alleviates kidney ischemia reperfusion injury in rats: A biochemical and histopathological study. *J Cell Biochem* 2019, 120(10): 17159–66.
175. Fauzi A, Titisari N, Mellisa V. Gentamicin nephrotoxicity in animal model: study of kidney histopathology and physiological functions. *OP Conf Ser: Earth Environ Sci* 2020, Online First 1-8
176. Patil AA, Doijad R, Koparde A. Renoprotective effect of Lycopene on Renal Functional and Histopathological changes in Gentamycin Induced Nephrotoxicity in Rats. *Research J Pharm and Tech* 2020, 13(7): 3237–40.
177. Mishra P, Mandlik D, Arulmozhi S, Mahadik K. Nephroprotective role of diosgenin in gentamicin-induced renal toxicity: biochemical, antioxidant, immunological and histopathological approach. *Futur J Pharm Sci* 2021, 7(1): 1–13.

EKLER

Ek-1 Etik Kurul Onay Formu:



Ek-2 Özgeçmiş:

