

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK(TIP)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**MANYETİK ALAN VE PTEROSTİLBENİN RENAL İSKEMİ
VE REPERFÜZYONA ETKİSİ**

**Hatice KESER
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Özlem BOZKURT**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-15031proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Hatice KESER tarafından hazırlanan “Manyetik Alan ve Pterostilbenin Renal İskemi ve Reperfüzyona Etkisi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21.01.2016

Üye (Tez Danışmanı) : Yrd. Doç. Dr. Özlem BOZKURT ADÜ TIP. FAK.

Üye : Prof. Dr.Mehmet Dinçer BİLGİN ADÜ TIP. FAK.

Üye : Prof. Dr.Nadide KAZANCI EÜFEN. FAK.

ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında yanımda olan, tez çalışması için ortamın sağlanmasında desteğini esirgemeyen, önerileri ile bana yol gösterici olan tez danışmanım Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Özlem BOZKURT'a, desteğini, önerilerini esirgemeyen Adnan Menderes Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalı Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr Mehmet Dinçer BİLGİN'e ve değerli hocamız Prof. Dr. Mehmet BİLGİN'e, deneylerimin spektroskopi incelemeleri aşamasında laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağlayan Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyolojik Bilimler Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr Feride SEVERCAN'a ve ODTÜ Biyofizik Araştırma Grubuna, lisans eğitimimde önemli katkıları olan değerli hocam Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Nadide KAZANCI'ya, araştırmada kullanılmak üzere hiçbir ücret talep etmeksizin tarafımıza *pterocarpus marsipium* ekstiresini gönderen Sami Labs Limited Şirketi'ne (Hindistan) sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Manevi desteği ve yardımlarıyla yanımda olan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Selda KAHVECİ'ye, deneylerim sırasında deneyim ve yardımlarıyla destek olan bölüm arkadaşlarım Döne ÖZTÜRK, Ömer SAYARCAN, Araş. Gör. Mahmut Alp KILIÇ, Araş. Gör. Ergün Cem KÖKEN, Araş. Gör. Didem BAKAY, Araş. Gör. Mehran AKSEL ve Serçin ÖZLEM ÇALIŞKAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Gösterdikleri sabır ve verdikleri her türlü destek için sevgili annem Emine KESER'e, babam Hamza KESER'e, kardeşlerim İbrahim Erdel KESER ve Hasan Erinç KESER'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
EKLER DİZİNİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Böbrek Yapısı ve İşlevi.....	3
2.1.1. Böbrek Fizyolojisi	4
2.1.2. Böbrek Kanlanması	5
2.2. Akut Böbrek Yetmezliği	6
2.3. Renal İskemi ve Reperfüzyon	7
2.4. Oksidatif Stres.....	9
2.4.1. Oksidatif stres nedenli dokularda oluşan hasar mekanizmaları	9
2.4.2. İskemi Hasarında Oksidatif Stresin Rolü	11
2.4.3. Antioksidanlar	12
2.4.4. Pterostilben.....	12
2.5. Elektromanyetik Alan	13
2.5.1. Manyetik alanın Farklı Patolojik Durumlardaki Etkileri	15
2.5.2. Manyetik Alanın İskemik Hasar Tedavisindeki Rolü	16
2.5.3. Elektromanyetik Alanın Oksidatif Stresi Gidermedeki Rolü.....	19
2.6. Kızılötesi Dönüşüm Fourier Spektroskopisi	19
2.6.1. İki Atomlu Bir Molekülde Gerilme Titreşiminin Mekanik Modeli	22
2.6.2. FTIR Spektroskopisi Çalışma Prensibi	24
2.6.3. FTIR spektroskopisi avantajları ve kullanım alanları	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27

3.1. Kimyasallar:.....	27
3.2. Çalışma grupları:.....	27
3.3. İskemi ve Reperfüzyon Modeli Oluşturulması:.....	28
3.4. Pterostilben ve manyetik alan uygulaması:.....	29
3.5. FTIR Spektroskopik İncelemeler:.....	31
3.5.1. Böbrek dokusunun homejenizasyonu:	31
3.5.2. FTIR Spektroskopik İncelemeler ve Veri Analizi:	31
3.6. İstatistiksel Analiz:	34
4.BULGULAR	35
4.1. Böbrek Doku FTIR Spektrumu ve Bant Tanımları.....	35
4.2. Deney Gruplarına Ait FTIR Spektrumları	38
4.3. FTIR Spektrumlarından Elde Edilen Detaylı Spektral Analiz Sonuçları	39
5.TARTIŞMA.....	52
6.SONUÇ.....	61
KAYNAKLAR.....	63
EKLER	79
ÖZGEÇMİŞ.....	80

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABY	:Akut böbrek yetmezliği
ATP	:Adenozin trifosfat
CaF ₂	:Kalsiyum florür
CAT	:Katalaz
DMSO	:Dimetilsülfoksit
EDTA	:Etilendiamintetraasetik asit
FGF	:Fibroblast büyüme faktörü
FTIR	:Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi
GFH	:Glomerüler filtrasyon hızı
GSH	:Glutasyon
GSH-Px	:Glutasyon peroksidaz
GST	:Glutasyon-S-Transferaz
HUVEC	:Umbilikal damar endotel hücre
IR	:Kızılötesi ışık
İR	:İskemi-reperfüzyon
K	:Kontrol
KBr	:Potasyum bromür
KCl	:Potasyum Klorür
MA	:Manyetik alan
MDA	:Malondialdehit
NaCl	:Sodyum klorür
PEMF	:Puls elektromanyetik alan
PMNL	:Polimorf nüveli lökositler
PRF	:Puls radyofrekans alan
ROS	:Reaktif oksijen türleri
SOD	:Süperoksit dismutaz
SOR	:Serbest oksijen radikalleri
VEGF	:Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VEGF-R	:Tirozin kinaz reseptörü
XO	:Ksantin oksitaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Böbrek kesiti, böbrek ana damarları ve nefrondaki dolaşım.....	3
Şekil 2. Geriemişim düzenleyici hormonlar.....	5
Şekil 3. Lipit peroksidasyon.....	10
Şekil 4. İskemide hücre hasarı oluşum mekanizmaları.....	11
Şekil 5. Pterostilben ve resveratrolün yapısı.....	13
Şekil 6. Elektromanyetik spekturum.....	14
Şekil 7. Eğilme titreşimleri.....	21
Şekil 8. Orta kızılötesi spekturumunda görülen temel fonksiyonel gruplara ait titreşim frekans bölgeleri.....	22
Şekil 9. Harmonik osilasyon.....	23
Şekil 10. Michelson interferometresi.....	24
Şekil 11. Havanın spekturum örneği.....	32
Şekil 12. Tampon çözeltisine ait spekturumun örnek spekturumundan çıkartılması.....	33
Şekil 13. 3100-1000 cm^{-1} frekans aralığındaki örnek kontrol böbrek homojenatı spekturumu.....	36
Şekil 14. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait olan 3050-2800 cm^{-1} frekans aralığındaki örnek FTIR spekturumları.....	38
Şekil 15. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait olan 1800-1000 cm^{-1} frekans aralığındaki örnek FTIR spekturumları.....	39
Şekil 16. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spekturumlarındaki A) CH_3 antisimetrik gerilim B) CH_2 simetrik gerilim C) ester $C=O$ gerilim D) $C=O$ gerilim E) COO^- simetrik gerilim bantları dalga sayılarındaki değişimler.....	42
Şekil 17. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spekturumlarındaki A)	

CH₂ antisimetrik gerilim, B) PO₂⁻ antisimetrik gerilim, C) C-O gerilim bantların alan değerlerindeki değişimler45

Şekil 18. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki CH₂ antisimetrik gerilim bant genişliği değerindeki değişimler46

Şekil 19. Kontrol, iskemi reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki A) lipit/protein, B) CH₂ simetrik gerilim/CH₃ simetrik gerilim, C) CH₃ antisimetrik gerilim/total lipit, D) CH₂ antisimetrik gerilim/CH₃ antisimetrik gerilim bant alan oranlarının değişimlerini gösteren bar grafikler..... 51

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Klempin renal artere yerleştirilmesi.....	29
Resim 2. Faraday kafesi içerisindeki selenoidlerin manyetik alan şiddetinin teslametre ile 1 <i>mT</i> olarak ölçülmesi	30
Resim 3. İç ve dış sıcaklık ölçer termometre	30
Resim 4. Perkin Elmer Spectrum 100 FTIR spektrometresi.....	32

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Böbrek dokusunun $3100-1000\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki başlıca kızılötesi spektrumu soğurulma bantları ve bu bantların literatüre göre belirlenen bant tanımları	37
Tablo 2. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki bantların dalga sayılarındaki değişimler.....	41
Tablo 3. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki bantların alanlarındaki değişimler.	44
Tablo 4. Kontrol, iskemi reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki bazı bantların bant genişliklerindeki değişimler.....	46
Tablo 5. Kontrol, iskemi reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki bazı bantların alan değerlerinin oranlanması ile elde edilen bant alan oranlarındaki değişimler.	50

EKLER DİZİNİ

EK 1. ADÜ-HADYEK Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Belgesi.....	79
--	-----------

ÖZET

MANYETİK ALAN VE PTEROSTİLBENİN RENAL İSKEMİ VE REPERFÜZYONA ETKİSİ

Keser H. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik (Tıp) Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2016.

Günümüzde farklı hastalıkların tedavisinde önemli bir yere sahip olan organ naklinin sonrasında ortaya çıkabilecek en önemli patolojik mekanizma iskemik ve reperfüzyona bağlı olarak oluşan iskemik hasardır. Bu hasarı önlemeye yönelik farklı tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu yöntemlerden biri olabilecek manyetik alan uygulamasının iskemik hasarı önlemede olumlu sonuç verdiği veya bir etkisinin gözlenmediği yönünde birbiriyle çelişen sonuçlar bildirilmiştir. Bu çalışmada 50 Hz düşük frekanslı manyetik alanın ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin renal iskemi-reperfüzyon uygulanmış sıçan böbrek dokularındaki iskemik hasarı tedavi edici rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada renal arterleri 20 dakika boyunca klemple tutturularak renal iskemi-reperfüzyon modeli oluşturulan sıçanlara, iskemik hasar oluşumundan 24 saat sonra başlanarak beş gün süresince 50 Hz manyetik alan ve manyetik alanla birlikte uygulanan 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmıştır. Tedavi sonunda çıkarılan böbrekler homojenize edilerek homojenatlar Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ile incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre iskemi-reperfüzyon hasarının böbrek doku bileşenlerinden lipit ve protein miktarında azalmaya, lipit/protein oranında azalmaya, doymamış lipit içeriğinde azalmaya, doymamış ve doymuş lipitlerin birbirlerine göre olan oranında azalmaya, lipit peroksidasyonunda artıma neden olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, iskemik hasarın böbrek protein ve lipit yapısında değişime neden olduğu ve böbrek dokularında daha uzun hidrokarbon zincirine sahip bileşenlerin bulunduğu gözlenmiştir. Özellikle manyetik alanla birlikte uygulanan pterostilben tedavisi bu değişimleri kontrol düzeyine getirmiş, doymamış lipit içeriğinde artıma yol açarak lipit peroksidasyonunu azaltmış, lipit ve protein yapısal değişimlerini önlemede etkin olmuştur. CH₂ antisimetrik ve simetrik gerilim bant frekans değerleri ile gözlenen membran düzeninde gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmezken,

iskemi-reperfüzyonda bu bantların genişliklerinde görülen artım ile gözlenen membran lipit dinamiğindeki artımı her iki tedavi yöntemi de azaltmakta etkin olmuşlardır. Sonuçlara göre, 50 Hz frekansında uygulanan manyetik alan tedavisi bu değişimlerden bazılarını tedavi etmede yeterli olamazken manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin tüm bu parametrelerde gözlenen hasarı tedavi etmede etkin olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Renal iskemi-reperfüzyon, düşük frekanslı manyetik alan, antioksidan, pterostilben, FTIR spektroskopisi

ABSTRACT

THE EFFECTS OF MAGNETIC FIELD AND PTEROSTILBENE ON RENAL ISCHEMIA AND REPERFUSION

**Keser H. Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Biophysics (Medicine)
Programme M.Sc. Thesis, Aydın, 2016.**

Ischemia reperfusion injury is one of the most important pathological mechanisms observed after organ transplantation nowadays. Therefore, the development of new therapeutic strategies to prevent ischemic injury has a scientific significance. The application of magnetic field to prevent ischemic injury has been proposed as a new treatment strategy, however there have been controversial results reported on the effects of magnetic field as being effective or ineffective on ischemic injury. This study aims to determine the therapeutic role of 50 Hz low frequency magnetic field application and the administration of pterostilbene together with magnetic field application on kidney tissues of ischemia reperfusion rat model. In the study, renal ischemia reperfusion injury model was established by clamping the renal arteries for 20 minutes, then the kidneys were reperfused for 24 hours and the rats were projected to two different treatments. The first treatment group was subjected to 50 Hz low frequency magnetic field application and the rats in the second group received a 10 mg/kg dose of pterostilbene injection together with magnetic field application for 5 consecutive days. After 5 days, the kidneys were dissected and homogenised, the homogenate was analyzed by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy.

The results revealed that ischemia-reperfusion injury caused a decrease in lipid and protein amount, lipid/protein ratio, a decrease in the level of unsaturated lipids and unsaturated/saturated lipid ratio, an increase in lipid peroxidation in components of rat kidneys. Moreover, ischemia-reperfusion injury led to an alteration in the structure of lipids and proteins and a higher content of long chained lipids were observed in kidneys of ischemia-reperfusion group. Both treatments, but more precisely pterostilbene treatment together with magnetic field application was observed to be effective to restore these ischemia induced alterations. Although no significant changes were observed in the membrane order, the increase in the bandwidth of the CH₂ antisymmetric and symmetric stretching bands revealed

that membrane fluidity was increased in ischemia-reperfusion group, where both treatments were found to be effective to decrease the membrane fluidity. Although 50 *Hz* frequency magnetic field application was not sufficient to repair ischemia-induced alterations, pterostilbene treatment applied together with magnetic field successfully restored ischemia-induced changes in all of the investigated parameters.

Key words: Renal ischemia reperfusion injury, low frequency magnetic field, antioxidant, pterostilbene, FTIR spectroscopy

1. GİRİŞ

Diyabet, hipertansiyon, kronik glomerülonefrit gibi farklı patolojilerin neden olduğu böbrek yetmezliği genellikle geç farkedilmekte, yetmezliğin seviyesine göre diyaliz tedavisi kaçınılmaz olmaktadır. Kronik böbrek yetmezliği son dönem böbrek yetmezliğine ulaştığında gerçekleştirilen böbrek nakli, diyalize oranla daha düşük bir morbiditeye sahip olduğu ve hastanın yaşam kalitesini arttırdığı için tercih sebebidir. Günümüzde ülkemizdeki ve dünyadaki birçok merkezde böbrek nakli organ transplantasyonları arasında ilk sırada yer almakta ve başarıyla gerçekleştirilmektedir. Organ transplantasyonu sonrası greft kaybı gibi bazı istenmeyen yan etkiler ortaya çıkabilmekte, bu yan etkiler yapılan araştırmalarla yeni tedavi yöntemleri geliştirilerek azaltılmaya çalışılmaktadır.

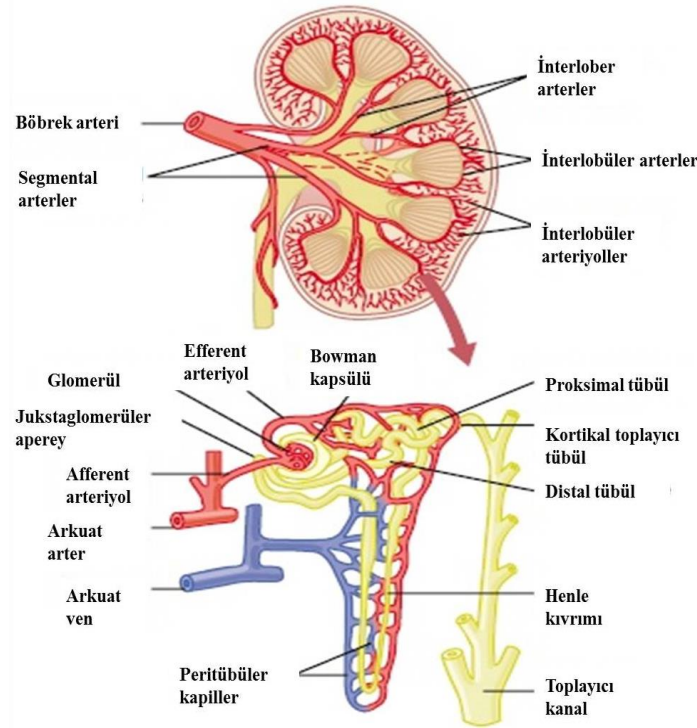
Farklı hastalıkların tedavisinde önemli bir yere sahip olan organ naklinin sonrasında ortaya çıkabilecek bazı patolojik mekanizmalar mevcuttur. Bu durumlardan en önemlisi iskemi ve reperfüzyona bağlı olarak oluşan iskemik hasardır. Renal iskemi ve reperfüzyonu, klinik uygulamalarda yüksek hastalık ve ölüm oranına yol açan akut böbrek hasarının büyük bir sebebidir ve böbrek nakli, kardiopulmoner bypass, kısmi nefrektomi, hidronefroz, ürolojik girişimler ve sepsis gibi çeşitli klinik durumlarda görülebilir. Ayrıca septik şoka bağlı akut böbrek yetmezliğinde de benzer bir durumla karşılaşılmakta ve akut böbrek yetmezliği tedavisinde hastalarda sıvı, asit-baz, nitrojen ve elektrolit dengesi yardımcı yöntemlerle sağlanamadığında çeşitli diyaliz yöntemleri kullanılmaktadır. İskemik hasar sırasında gelişen olaylar serisi apoptoz ve nekroz ile hücre ölümüne yol açabilir. Yapılan çalışmalar, renal iskemi ve reperfüzyonda ortaya çıkan oksijen serbest radikallerinin akut renal yetmezlikte ve renal transplantasyon sonrası allograft fonksiyonunun gecikmesinde anahtar rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca böbrek transplantasyonunda iskemi-reperfüzyon hasarının lipid peroksidasyonunu arttırdığı rapor edilmiştir. Böbrek hasarında veya transplantasyonunda gerçekleşebilen iskemik hasarı önleyebilmek amacıyla çeşitli alternatif yöntemler geliştirilmesine yönelik çalışmalar günümüzde de devam etmektedir. Bu alternatif tedavi yöntemlerinden biri de son yıllarda önerilen manyetik alan uygulaması ile iskemik hasarın önlenmesidir. İskemik hasarın tedavisine yönelik geliştirilen yöntemlerde dikkat edilecek en önemli husus oksidatif stresin mümkün olduğunca azaltılmasıdır. Çünkü serbest radikallerin oluşumuna yol açan oksidatif stres gözlenen iskemik hasarın başlıca sebebi olarak belirtilmektedir.

Yapılan bu çalışmada, renal iske­mi-reperfüzyon sıçan modelinde uygulanan 50 Hz düşük frekanslı manyetik alanın ve manyetik alanla birlikte uygulanan antioksidan bir madde olan pterostilbenin renal iskemik hasar üzerindeki tedavi edici etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Her ne kadar literatürde manyetik alanın değişik organlardaki iske­mi-reperfüzyon hasarı üzerine olan etkileri araştırılmış olsa da manyetik alanın etkileri üzerine birbiri ile çelişen sonuçlar bulunmaktadır. Ayrıca renal iske­mi-reperfüzyon hasarı üzerine manyetik alan uygulamasının tedavideki etkinliğine yönelik bilgiler sınırlıdır. Litaratürde antioksidanların renal iske­mi hasarı üzerindeki etkisi de yeterince araştırılmamıştır. Hindistan geleneksel tıbbında özellikle kan şekere seviyesini sabit tutmak için kullanılan ve antioksidan özelliği bulunan pterostilbenin diyabet, kanser ve nörolojik rahatsızlıklarda koruyucu veya tedavi edici özelliği bulunduğuna dair bilgiler mevcuttur. Fakat, pterostilbenin iskemik hasar tedavisine yönelik kullanım etkinliği ilk defa bu çalışma ile araştırılmaktadır. Çalışma sonuçları, manyetik alan ve pterostilbenin renal iske­mi ve reperfüzyonda dolayısıyla organ nakli sırasında oluşan iskemik hasarı azaltıcı rolünü ortaya koymaktadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar literatürdeki eksikliklerin giderilmesine yardımcı olarak organ transplantasyonu ve akut böbrek yetmezliğinde görülen hasarların tedavisine yönelik yeni uygulamaların geliştirilmesine ışık tutmakta; dolayısıyla sağlık alanına önemli katkılar sağlamaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Böbrek Yapısı ve İşlevi

Yetişkin insanlarda her bir böbreğin ağırlığı yaklaşık 150 gr'dır ve sıkılmış bir yumruk boyutundadır. Her böbreğin ortasında girintili hilum bölgesi bulunmaktadır. Bu bölgeden renal arter ve ven, lenf damarları, sinirler ve böbrekten mesaneye idrar taşıyan üreter geçer. Böbrek içerdeki hassas yapıları koruyan sağlam lif bir kapsülle çevrilidir. Boyuna ikiye ayrıldığında dışta korteks, içte medulla bölgeleri görülmektedir (Şekil 1). Medullada böbrek piramitleri vardır ve koni şeklindedir. Korteks ve medulla sınırında başlayan bu yapılar böbrek pelvisine uzanan renal papillada sonlanır. Pelvis, idrarı pelvik boşluktan mesaneye ileten üreterin üst-geniş bölgesini oluşturur. İnsan böbreğinde pelvis major kaliksler adı verilen 2 veya 3 keseye bölünür. Her major kaliks idrarı herbir papilladan toplayan minör kalikslere bölünür. Kaliksler, pelvis ve üreterin duvarları düz kas içerir; kasılması ile idrar mesaneye gönderilir. İdrar, atılıncaya kadar mesanede depolanır (Guyton ve Hall, 2015).



Şekil 1. Böbrek kesiti, böbrek ana damarları ve nefrondaki dolaşım. Guyton ve Hall (2015) kaynağından modifiye edilmiştir.

Böbrekler ortalama sayısı 1 milyon olan nefron denen alt birimlerden oluşurlar. Nefronda oluşan üre, toplayıcı kanallara, minör ve majör kalikslere ve üretere geçer. Nefronların temel iki bileşeni vardır; süzme işlemi yapan renal korpüskül ve burdan dışarıya uzanan tübüldür. Renal korpüskül veya malpighi korpüskülü adı verilen bölge glomerül ve onu saran Bowman kapsülünden oluşur. Kanın filtrasyonu glomerülde başlar. Yapısındaki kapillerlerde hücrelere geçirgen olmayan suda eriyen maddelere geçirgen olan geniş porlar vardır. Tübül hücrelerinin ilk kısmı Bowman kapsülünü oluşturur. Renal tübül, tek katlı epitel hücrelerinden oluşan ince, silindir şeklinde bir yapıdır. Tübül boyunca değişen epitel hücreler farklı yapı ve işlevdedir, en az sekiz farklı segmente sahiptir. En önemli iki tip nefron vardır. Bunlar; uzun Henle kulplarına sahip jukstamedüller nefronlar ile kısa Henle kulpu olan ya da hiç olmayan kortikal nefronlardır (Widmaier ve ark, 2014).

2.1.1. Böbrek Fizyolojisi

Böbreğin fizyolojik öneme sahip olan iki temel fonksiyonu boşaltım ve bazı metabolik reaksiyonlardır. Böbrek fonksiyonlarının başlıcaları; metabolik artıkların ve ekzojen toksinlerin elenmesi, vücudun su ve tuz homeostazı, asit baz dengesinin korunumu, glukagon, insülin, vazopressin gibi hormonların yıkımı, eritropoietin, D vitamini, büyüme faktörleri gibi maddelerin yapımı, lipid metabolizması ve glukoneogenezdir (Tisher, 2000).

Böbrek korpüskül kandan, hücreler, iri polipeptidler ve proteinlerden arındırılmış bir süzüntü oluşturur ve bu süzüntü burdan tübüle girer, burada bazı maddeler çıkartılır ya da eklenir. Son olarak bu sıvı toplayıcı kanallara gelir ve böbrekleri idrar olarak terk eder (Widmaier ve ark, 2014). İdrarın vücuttan atılması için böbrek glomerül filtrasyonu, tübül geriemiilimi ve tübül sekresyonu işlemlerini gerçekleştirir. Bu işlemler glomerüler filtratın proksimal tübül, Henle kıvrımı, distal tübül, toplayıcı tübül ve toplayıcı kanallarda gerekli yerlerde geriemiilerek gerekli yerlerde kandan tübül lümenine salgılanarak gerçekleşir. Tübül epitel zarından böbreğin hücrelerarası sıvısına geçen madde peritübül kapiller zarla kana geri taşınarak geriemiilir. Çözünmüş maddeler ve su bunu kolloid ozmotik kuvvetler ve ve hidrostatik vasıtasıyla gerçekleşen kütle akımıyla yapar. Proksimal tüpte; filtrelenmiş sodyum, klorür, potasyum, bikarbonatın ortalama %65'i, filtrelenen amino asit ve glikozun tümü geri emilir. Hidrojen iyonları, organik asit ve bazlar ise tübüler lümenine salgılanır. Henle kıvrımı üç ana bölümden oluşmaktadır; inen ince bölüm, çıkan ince bölüm, çıkan kalın bölüm. Genellikle pasif geriemiilimin görüldüğü inen ince bölümde su geriemiilir. Filtrelenmiş potasyum, sodyum ve klorürün %25'i, bikarbonat, magnezyum ve kalsiyumun büyük bir

kısmı çıkan kalın bölümde geri emilerek, hidrojen iyonları buradan tübül lümenine salgılanır. Distal tübül, ilk, son kısım ve toplayıcı kanallardan oluşur. Üre ve suya geçirgen olmayan ilk kısımda magnezyum, kalsiyum, sodyum ve klorür geri emilir. Son kısımda sodyum esas hücreler tarafından emilerek potasyum lümene salgılanır. Bikarbonat ve potasyum interkale hücreler tarafından geri emilerek hidrojen iyonları salgılanır. Medullanın toplayıcı kanalı üreye geçirgendir ve üre burada geri emilir. Ayrıca aktif sodyum geri emilimi ve hidrojen iyonlarının lümene salgılanması burada gerçekleşir. Su geri emilimi distal tübülün son kısmında ve toplayıcı kanallarda antidiüretik hormon konsantrasyonu ile kontrol edilmektedir (Guyton ve Hall, 2015). Tübüllerde geri emilim düzenleyici başlıca hormonlar ve etki mekanizmaları Şekil 2’de gösterilmiştir.

Hormon	Etki Yeri	Etkileri
Aldesteron	Toplayıcı tübül ve kanal	↑ NaCl, H ₂ O geri emilimi, ↑ K ⁺ sekresyonu
Anjiyotensin II	Proksimal tübül, Henle’nin çıkan kalın kolu/ distal tübül, toplayıcı tübül	↑ NaCl, H ₂ O geri emilimi, ↑ H ⁺ sekresyonu
Antidiüretik hormon	Distal tübül/ toplayıcı tübül ve kanal	↑ H ₂ O geri emilimi
Atriyal natriüretik peptit	Distal tübül/ toplayıcı tübül ve kanal	↓ NaCl geri emilimi
Paratiroid hormon	Proksimal tübül, Henle’nin çıkan kalın kolu/ distal tübül	↓ PO ₄ ⁻³ geri emilimi, ↑ Ca ⁺⁺ geri emilimi

Şekil 2. Geri emilim düzenleyici hormonlar. Guyton ve Hall (2015)’den modifiye edilmiştir.

2.1.2. Böbrek Kanlanması

Renal fraksiyon, kalp debisinin böbreklerden geçen miktarıdır ve böbrekler vücut ağırlığının %0,5’ini oluşturur. Buna rağmen renal fraksiyon yaklaşık %25 olup dinlenme sırasında böbrek kan akımı 1200 mililitre/dakika’dır. Böbreğin kan akımıyla meydana gelen olaylar şunlardır; glomerüler filtrasyon hızının (GFH) belirlenmesi, erimiş maddelerin ve

suyun proksimal tübülde geri emilimi, geri emilenlerin genel dolaşıma katılması, ürenin yoğunlaşması ve seyreltilmesi, oksijen, besinler ve hormonların nefron hücrelerine bırakılmasıdır.

Kan akımı organlarımızda; basınç ile doğru, direnç ile ters orantıdadır. Renal arter ile renal ven arasındaki basınç farkı renal vasküler dirence bölünürse böbrek kan akımı elde edilir. Sistemik arter basıncı renal arter basınç değerlerine yakındır. 3–4 *mmHg* olan renal ven basıncı düşüktür. Afferent arteriyoller, efferent arteriyoller ve interlobuler arter, renal vasküler direnci belirler. Kontrol faktörleri ise hormonlar, sempatik sinir sistemi ve bölgesel vazoaktif maddelerdir. Glomerüler ve peritübüler kılcal damarlardaki hidrostatik basıncın düzenlenmesi afferent ve efferent arteriyollerin direncinin böbrekler tarafından ayarlanmasına bağlıdır. Böylelikle vücut ihtiyaçları doğrultusunda glomerüler filtrasyon hızı ve tübüler geri emilimi değiştirebilirler (Köylü, 2014).

Renal kan akışı, glomerüllere afferent arteriyoller aracılığıyla girer, efferent arteriyoller aracılığıyla çıkar. Kan, afferent arteriyollerle glomerul kapillere gelir, son olarak proteinleri ve hücreleri haricindeki bileşenleri bowman kapsülü içine süzülür. Süzülen sıvı plazma yapısına benzerlik gösterir. Bu akış bazı hormonlar ile düzenlenir. Norepinefrin damarlarda büzülmeye neden olarak akışı azaltır, dopamin ise vazodilasyon ile akışı artırır. Benzer olarak anjiyotensin II büzülmeye, prostaglandin renal kortekste dilasyona, renal medullada büzülmeye ve asetilkolin vazodilasyona neden olur. Ayrıca Anjiyotensin II sistemik dolaşımdaki arteriyolleri kasar ve kan basıncının yükselmesine, adrenal korteksten aldosteron salgısını uyararak tuz ve su tutulmasının artırılmasına, hipotalamusu etkileyerek antidiüretik hormon salgısını ve susama hissinin uyarılmasına neden olur. Böylelikle kan basıncı yükselip ekstrasellüler sıvı hacmi artar. (Barrett ve ark, 2010).

2.2. Akut Böbrek Yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği (ABY), glomerüler filtrasyonda ani düşüş, ekstrasellüler sıvı hacmi, elektrolit, asit-baz denegelerinin bozulması, protein katabolizması atığı nitrojenöz birikimi ile karakterize edilen klinik bir sendromdur (Brady ve Singer, 1995). Patolojik olarak incelendiğinde prerenal ABY, akut intrinsik böbrek yetmezliği, postrenal ABY şeklinde üçe ayrılır. Prerenal ABY, hipoperfüzyon nedeniyle oluşan böbrek fonksiyonları geri döndürülebilir fakat zamanında perfüzyon gerçekleştirilemezse böbrek hasarına da yol açabilir. Akut intrinsik böbrek yetmezliği, böbrek damar hastalıkları, böbreğin mikrovasküler damarlarında ve glomerüllerinde düzensizlik, tübülointerstisyel hastalıklara, iskemik ve

nefrotoksik akut tübüler nekroza bağlı olarak ortaya çıkar. Postrenal ABY, bir böbrek kreatinindengesini sürdürmek için gerekli temizlemeyi yapamaz ve serum kreatinin yükselir. Bunun nedeni bilateral üreterlerde, üretrada veya mesane boynunda tıkanmadır (Brady ve Singer, 1995).İskemik ABY, böbreğe giden akımının azalmasından dolayı oluşur. Tıkanma, mikrovasküler vazokonstrüksiyon, prerenal sebeplerden kaynaklanabilir. Renal medulla böbreğin hipoksiye en duyarlı bölgesidir ve iskemik hasar buradan başlar. Hipoksinin artması, hücrelerde enerjinin azalmasına, kasta aktin iskeletinin deformasyonuna yol açar (Friedewald ve Rabb, 2004).

Hipertansiyon, diyabet, kronik glomerülonefrit, sidik torbasından böbreğe idrar kaçışı (vezikoüreteral reflü) ve taş hastalıkları gibi farklı patolojiler böbrek yetmezliğine neden olabilmektedir. Böbrek yetmezliğinin son dönemine gelindiğinde diyaliz tedavisi gerçekleştirilmesi gerekir ve kaçınılmaz olarak böbrek nakline ihtiyaç duyulabilir. Farklı nedenlerle oluşan böbrek yetmezliği ve buna bağlı olarak gerçekleştirilen böbrek nakli sadece ülkemizde değil tüm dünyada yaygın olarak görülmekte ve böbrek nakli organ nakilleri arasında ilk sırada yer almaktadır. T.C. Sağlık Bakanlığı verilerine göre 2014 yılında ülkemizde 2314 tane böbrek nakli gerçekleştirilmiş olup böbrek nakli organ ve doku nakil istatistiğinde en büyük paya sahiptir. Böbrek transplantasyonunun ardından hastada çeşitli komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Görülebilen komplikasyonlar arasında kardiyovasküler hastalıklar, enfeksiyonlar, transplantasyon sonrası oluşabilen böbrek uyumsuzluğu veya hasarı, glomerüler hastalık, dislipidemi, diyabet, proteinüri, hipertansiyon gibi rahatsızlıklar sayılabilir (Djamali ve ark, 2006). Geç dönem komplikasyonlarından olan kronik transplant nefropatisi geri dönüşümlü değildir.En büyük nedenlerinden biri %10 sıklığında görülebilen renal arter stenozudur.Böbrek transplantasyonu komplikasyonlarından biri olan ve çoğu hastada ilaç tedavisi ile gerilemesi sağlanabilen renal arter stenozu böbrekte akut iskemik yetersizliğe yol açar (Klble ve ark, 2006).

2.3. Renal İskemi ve Reperfüzyon

İskemi-reperfüzyon (İR) hasarı renal transplantasyon ve septik şokla ilişkili olarak gerçekleşen akut renal yetmezlik gelişiminde en önemli patolojik mekanizmalardan biridir. Cerrahi girişimlerde doku iskemisi ve akabinde reperfüzyon süreci gerçekleşir. Organ nakli, kalp ve damar, ortopedi, roloji cerrahileri bunların başlıcalarıdır. Bir dokuyu besleyen damarlar; pıhtı, emboli gibi bir fiziksel etken nedeniyeltıkanırsadokunun kanlanması ve oksijenlenmesi bozularak iskemi oluşur. Reperfüzyon ise herhangi bir nedenle azalan veya

kesilen kan akımının tekrar sağlanması işlemidir. Reperfüzyon hasarı, tromboliz, anjiyoplasti ve koroner bypass ameliyatları gibi operasyonlarda kan akımını yeniden sağlamak ve hasarı en aza indirmek için uygulanan yöntemler sebebiyle ortaya çıkabilecek klinik bir durumdur. Kan akımı yeniden sağlandığında, dokuya yerleşmiş olan polimorf nüveli lökositler (PMNL) serbest oksijen radikallerini (SOR) salarak dokusal yıkımı artırır.

Böbrek iskemisi ve reperfüzyonu klinik uygulamalarda yüksek hastalık ve ölüm oranına yol açan akut böbrek hasarının büyük bir sebebidir. Renal İR hasarının altta yatan mekanizması kompleks bir tablo olup ATP tüketimi, intrasellüler Ca_2 ve SOR birikimi, mitokondriyal disfonksiyon, birçok litik enzim sistem aktivasyonu ve pro-enflamatuvar sitokin üretimini içerir. İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetersizliği veya uzamış iskemik glomerüler filtrasyon hızında (GFH) azalmaya, böbrek damarlarında direnç artışı ve tübüler nekroza neden olur (Devarajan, 2006). İskemik akut renal yetersizlik, yetersiz kan akımıyla başlar. Yetersiz kan akımı da azalmış kardiyak debisi yanında renal arter stenozu ya da tıkanıklığı veya intrarenal küçük damarların ateroskleroz, ateroemboli, vaskülit gibi nedenlerle hasarlanması sonucu gelişir. Akut böbrek yetmezliği (ABY) vakalarının önemli bir kısmında prerenal ABY söz konusudur. Prerenal faktörlere kısa sürede müdahale edilirse ölümcül olmayan hasarın, apoptozunun veya nekrozunun gelişmesi önlenir (Noiri, 1994).

İskemik böbrek dokusunun reperfüzyonu nihayetinde nekrotik ve apoptotik böbrek hücre ölümüne yol açan bir dizi karmaşık hücresel olayı başlatır (Fouad, 2013). Hücre ölümüne neden olabilen bu olaylar içerisinde ATP eksikliği, hücre içi pH değişiklikleri, intrasellüler Ca^{++} miktarının artması, serbest radikallerin artması, apoptozis gibi değişiklikler yer alır. İskemik reperfüzyon hasarı, reaktif oksijen alanlarının açığa çıkmasını, hücre apoptozunu, nekrozunu, tetikleyici hücreler tarafından infiltrasyonunu, doku hasarına yol açan aktif mediyatörlerin açığa çıkmasını içeren ardışık hücresel olaylar akışıdır (Zou ve ark, 2013). Reaktif oksijen alanları ve nitrik oksit İR hasarı boyunca hücre hasarına vasıta olmada önemli bir rol oynar (Vaghasiya ve ark, 2011). İskemi boyunca, ATP yapımı sınırlı oksijen mevcudiyetine bağlı olarak azaltılır. Daha sonra, membran iyon gradientlerindeki değişimler hasarlı membranlarda Ca^{++} iyonunun hücre içine akışına sebep olur. Reperfüzyon boyunca, temin edilen moleküler oksijen ksantin oksitaz (XO) tarafından süperoksit radikallere dönüştürülür. Mitokondri elektron taşıma zincirindeki reaktif oksijen alanlarında bir artış gözlenir (İnal ve ark, 2001). Renal iskemisi-reperfüzyonu hasarı, iskemik böbrek yetersizliğinin başlangıç ve akabindeki evresinde anahtar bir rol oynayan endotel fonksiyon bozukluğu tarafından karakterize edilir (Shi ve ark, 2007). Böbreklerdeki İR hasarının mekanizması multifaktöriyel ve birbirine bağlı hipoksi, serbest radikal hasarı ve enflamatuvar cevaplarla

ilişkilidir (Dillon ve ark, 1993; Sabbatini ve ark, 1994). İskemik böbrekte vazodilatör maddelerin etkisine karşı bir direnç, vazokonstriktör maddelerin etkisine karşı da aşırı duyarlılık vardır. Oksijenlenmenin bozulması ile artan intrasellüler kalsiyum birikimi afferent arteriyollerdeki direnç artışına neden olur (Noiri,1994).

2.4. Oksidatif Stres

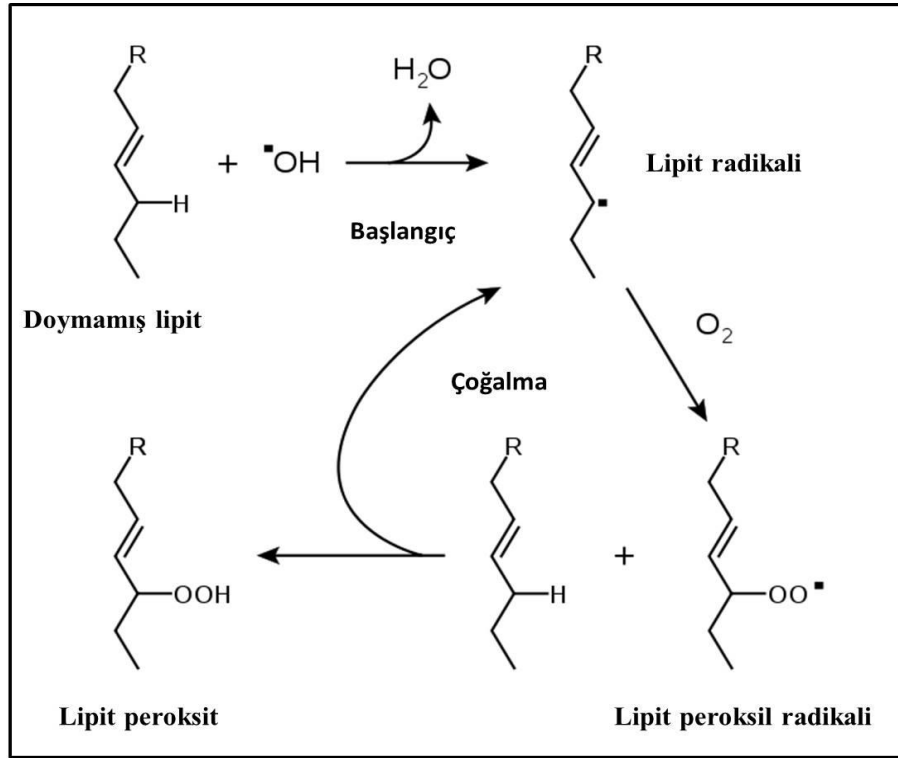
Bir atom veya molekülün en dış kabuğunda eşleşmemiş bir ya da birden fazla elektron bulunuyorsa o atom veya molekül serbest radikaldir ve eşleşmemiş elektronlarından dolayı diğer moleküllerle tepkimeye girmeye meyillidirler (Cheeseman ve Slater, 1993). Oksijenin iki adet eşleşmemiş elektronu bulunur ve oksijenin indirgenmesiyle serbest oksijen radikalleri oluşur. Bu olaya oksijen peroksidasyonu denir (Yerer ve Aydoğan, 2000). Ksantin oksidaz, hipoksantini ksantine çevirir ve süperoksit radikallerini oluşturur. Bu radikaller yıkıma uğrayarak hidroksil radikali ile hidrojen peroksit mitokondrium yıkım ürünlerinin ortaya çıkmasına neden olur.

Antioksidan bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) serbest radikallerin yol açtığı hasarla artarak süperoksit radikalini hidrojen peroksit (H_2O_2)'e indirger. Eşleşmemiş elektronu olmayan hidrojen peroksit radikallere dahil değildir. Fakat hidroksil elektronegativitesinden dolayı makromoleküllerle tepkimeye girerek hasara yol açan bir radikaldir (Akkuş, 1995).

2.4.1. Oksidatif stres nedenli dokularda oluşan hasar mekanizmaları

Serbest oksijen radikallerinin oluşumu dokularda lipit, protein, nükleik asit gibi farklı makromoleküllerde hasar oluşumunu tetikler. Serbest oksijen radikalleri karbonhidrat metabolizmasında glikolitik ATP sentezini azaltır ve ATP kullanımını artırır. Serbest radikal oluşumu ile proteinlerin karboksil gruplarında dekarboksilasyon reaksiyonu gerçekleşebilir, bu da protein yapısında bazı değişimler oluşturabilir. Ayrıca serbest radikal saldırısı sonucu proteinlerin, peptid bağlarının hidrolizi veya disülfit bağlarının kırınımı, protein yapısında bazı çapraz bağların oluşması gibi reaksiyonlar gözlenir. Bu durum protein yapısının değişmesine ve enzim aktivitelerinin değişimine sebep olarak hücresel işlevleri bozar (Halliwell ve Chirico, 1993). Nükleik asit bazlarında ise DNA polimeraz aktivitesini engeller ve kırılmalara neden olurlar (Özdemir, 1993; Çavdar ve ark, 1997; Halliwell ve Chirico, 1993)

Dokularda serbest radikal reaksiyonları sonucu hasar oluşan önemli makromoleküllerin arasında lipitler de yer alır. Reaktif oksijen türlerinin yıkım ürünleri membranda lipit peroksidasyon (Şekil 3) olayına neden olur (Kellogg ve Fridovich, 1975). Hücre membranının yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitleri ile serbest radikallerin etkileşimi sonucunda lipit peroksidasyon gerçekleşir. Lipit yapısı değiştiğinden membranın akıcılığı ve potansiyeli azalır, iyonlara daha geçirgen hale gelir. Hücre hasarıyla sonuçlanır (Girotti, 1998). Lipit peroksidasyon radikal zincir reaksiyonuna yol açarak lipit peroksit radikali (LOO•) oluşmasına neden olur. Ayrıca devam eden reaksiyon sonucu lipit hidroperoksitler, aldehit ve alkanlar oluşur (De Zwart ve ark, 1998). Son ürün malondialdehit (MDA) gerçekleşen lipit peroksidasyonun derecesini ölçmek için kullanılan bir parametredir ve oluşan MDA membrandaki yapıların polimerizasyonu ile hasar oluşturur (Girotti, 1998).

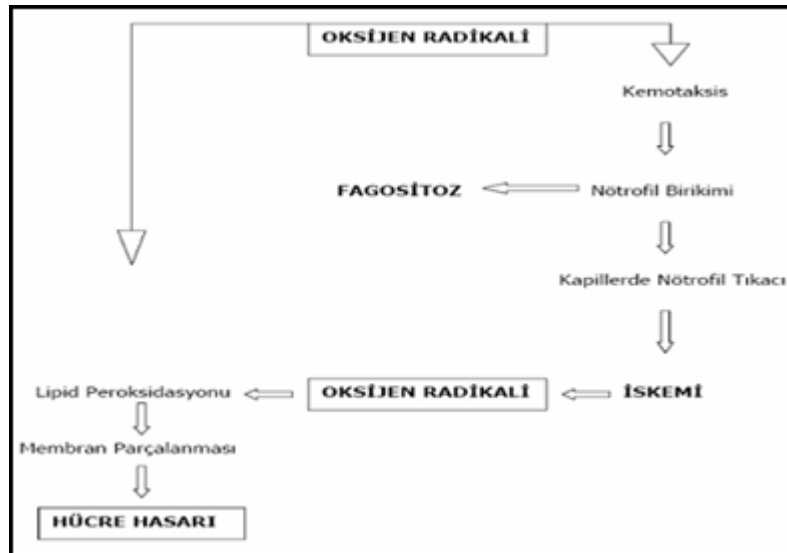


Şekil 3. Lipit peroksidasyon

Serbest oksijen radikalleri karbonhidrat metabolizmasında glikolitik ATP sentezini azaltır ve ATP kullanımını artırır. Proteinlerde dekarboksilasyon, peptid bağlarının hidrolizi, disülfid ve çapraz bağların oluşması ile enzim aktivitelerini değiştirerek hücresel işlevleri bozar. Nükleik asit bazlarında ise DNA polimeraz aktivitesini engeller ve kırılmalara neden olurlar (Özdemir, 1993; Çavdar ve ark, 1997; Halliwell ve Chirico, 1993)

2.4.2. İskemi Hasarında Oksidatif Stresin Rolü

Literatürde iskemi hasarında oksidatif stresin önemli bir rolü olduğuna dair bulgular yer almaktadır. İskemi hasarında oksidatif stresin önemli bir rolü bulunmaktadır. İskemi, serbest oksijen radikallerine karşı savunma mekanizmasında değişikliklere, esasen mitokondriyal süperoksit dismutaz aktivitesinde azalmaya ve doku içeriğindeki indirgenmiş glutatyonun azalmasına sebep olur (Ferrari ve ark, 2013). Reperfüzyondan sonra oksidatif hasara yol açan yükseltgenmiş reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumu meydana gelir (Walker ve ark, 2001; Cutrin ve ark, 2000). Serbest radikaller reaktif yapılarından dolayı doku ve hücrelerde birçok zarara neden olur. Bu zarar mekanizması Şekil 4’de gösterilmiştir. Farklı hayvan modelleri antioksidan terapinin iskemi-reperfüzyon kaynaklı oksidatif hasara karşı koruyucu olabileceğini göstermiştir (Lloberas ve ark, 2002; Aragno, 2000). Bu koruyucu etki antioksidan bileşenlerinin oksidatif hasarın gelişimi ile bağlantılı erken intrasellüler olayları normalleştirme yeteneği ile ilişkili olabilmektedir (Chatterjee, 2000; De Vecchi ve ark, 1998). Örneğin zerdeçalın sıçanlarda renal iskemi ve reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu (Bayrak ve ark, 2008) ve akut renal yetmezlikte resveratrolün koruyucu etkisi (Chander ve Chopra, 2006) olduğu gözlemlenmiştir. Bir diyabet ilacı olan Pioglitazone’un da antioksidan kapasitesini artırarak renal iskemi ve reperfüzyonda koruyucu etkisi olduğu bulunmuştur (Zou ve ark, 2013).



Şekil 4. İskemide hücre hasarı oluşum mekanizmaları

2.4.3. Antioksidanlar

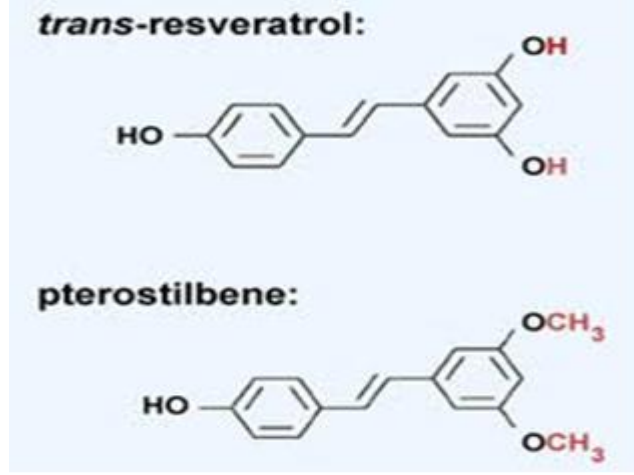
Antioksidanlar, serbest radikallerin zararlarını engellemede ve vücudun dengesini korumakta görev alırlar. Oksijeni ortamdan uzaklaştırıp konsantrasyonunu düşürürler. Reaktif oksijen türlerini ve katalitik metal iyonlarını ortamdan uzaklaştırırlar ve zayıflatırlar. Radikal zincir reaksiyonlarının başlamasını engellerler (Özcan ve ark, 2015) Kaynaklarına göre endojen ve ekzojen olmak üzere ikiye ayrılır. Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon s-transferaz, katalaz gibi enzim yapısında endojen antioksidanlar bulunduğu gibi melatonin, seruloplazmin, transferin ve laktoferrin, ferritin, bilirubin ve sistein, albümin, glutatyon gibi enzim olmayan endojen antioksidanlar da bulunmaktadır. Ekzojen antioksidanlar ise vitaminler ve antioksidan etkili ilaçlar olarak sınıflandırılabilir. Vitaminlerin başlıcaları; Vitamin E, β- karoten, Vitamin C'dir (Akkuş, 1995).

Sağlıklı kişilerde serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi dengededir. Radikal üretiminin aşırı artması ve antioksidanların azalması oksidatif stres şeklinde tanımlanan duruma neden olur. Oksidatif stres uzun süre devam ederse hastalıklar ve farklı patolojilerle sonuçlanabilir. Serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve uzaklaştırılmalarını sağlamak üzere organizmayı koruyan “antioksidan savunma sistemi” çeşitli yollarla etki göstermektedir. Vücutta antioksidan savunma sisteminde yer alan pek çok enzim bulunmaktadır. Bunların başlıcaları Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), Süperoksitdismutaz (SOD) , Glutatyon-S-Transferazlar (GST)'dir.

2.4.4. Pterostilben

Pterostilben Resveratrol'ün metoksilli doğal bir türevidir. Şekil 5'de kimyasal yapısı gösterilmiştir. Pterocarpus marsipium özünün ekstresinde ve ayrıca Pterocarpus Santalinm ve Vitis Vinifera yapraklarında bulunur.

Hayvan çalışmalarında biyoyararlılığı %20 olan Resveratrol ile karşılaştırıldığında pterostilbenin biyoyararlılığının %80 olduğu gösterilmiştir, bu durum pterostilbeni tedavi edici bir ajan olarak potansiyel olarak avantajlı yapmaktadır.



Şekil 5. Pterostilben ve resveratrolün yapısı

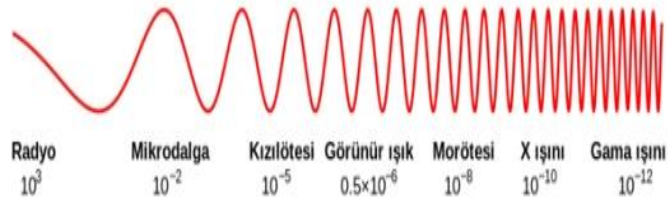
Pterostilben, *Pterocarpus marsipium* (Santstritçe: Pitasala) (*Leguminosae*) ağacından elde edilen doğal bir antioksidandır. *Pterocarpus marsipium* Indian Kino ya da Bijasar olarak bilinen, sonbaharda yapraklarını döken Hindistan Yarımadası'nın karışık ormanlarının bilindik büyük bir ağacıdır. *Pterocarpus marsipium*, Hindistan halk tıbbında diyabetin tedavisi için geleneksel olarak kullanılır ve diyabetik deney hayvanlarında kan şekeri seviyesini kontrol ettiği gösterilmiştir (Satheesh, 2006). Ayrıca pterostilbenin diyabet dışında kanser, sinir sistemi rahatsızlıkları gibi farklı rahatsızlıkların tedavisinde olumlu etkiler yapabileceği son yıllarda yapılan çalışmalar ile önerilmiştir (Kapetanovic ve ark, 2011; Mannal ve ark, 2010; Joseph, 2008). Yapılan çalışmalar, pterostilbenin süperoksit dismutaz, glutatyon, glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon reduktaz (GR) ve katalaz (CAT) gibi endojen antioksidanların yapımını artırdığını göstermiştir. Diabetes Mellitus'da sıçan karaciğer ve böbrek dokularında azalan GSH, GST, SOD, GPx ve katalaz aktivitelerinin pterostilben tedavisi ile belirgin şekilde yükseldiği bulunmuştur (Satheesh, 2006). Pterostilbenin antioksidan özellikleri ayrıca *in vitro* çalışmalarla da gözlemlenmiştir (Milkstacka, 2010). Ayrıca, pterostilbenin türevi olan resveratrolün antioksidan potansiyeli birçok hastalık üzerinde denenmiştir (De la Lastra ve Villegas, 2007).

2.5. Elektromanyetik Alan

Noktasal bir enerji kaynağından yarıçapları doğrultusunda çevreye her türlü kütleli, yöklüenerjetik tanecik veya dalgasal enerji yayılmasına ışımaya (radyasyon) denir. Elektromanyetik ışımaya, çok büyük bir hızla uzayda hareket eden enerji türüdür. Türleri

arasında; görünür ışık, ısı şeklinde algılanan infrared (kırmızı ötesi) ışınları, X-ışınları ve radyo dalgaları sayılabilir.

Işık, dalga ve tanecik özellikleriyle tanımlanmaktadır. Işının absorpsiyonu (soğurma) veya emisyonu (yayımlanma) olaylarının açıklanmasında dalga modeli yeterli değildir. Bu olaylarda elektromagnetik ışın enerji parçacıkları halindedir ve foton kavramıyla tanımlanır. Bir fotonun enerjisi, ışının frekansı ile orantılıdır. Fotoelektrik etki ışığın tanecik özelliğini ortaya koymaktadır. Işık hem dalga hem de tanecik özelliklerini taşır. Elektromanyetik dalgalar, manyetik ve elektrik alanlar etkisiyle oluşurlar. Manyetik alan değişimi, bir elektrik alan oluşturur. Elektrik alan değişimi, bir manyetik alan oluşturur. Dalganın yönü ve hız vektörü elektrik alan ve manyetik alana diktir. Frekans, bir dalganın saniyedeki titreşim sayısıdır. Frekans ışık kaynağı tarafından belirlenerek ışının geçtiği ortamdan etkilenmez. Frekansın genel birimi Hz (hertz) dir ve 1 devir/saniye ye eşittir. Dalga boyu (λ), bir dalganın, ardışık iki maksimum veya iki minimum dalgalanma noktası arasındaki doğrusal uzaklıktır. Dalga sayısı, her bir cm deki dalgaların sayısıdır ve vakumdaki dalga boyu cm birimiyle $1/\lambda$ dir. Şekil 6’de elektromanyetik spekturumda dalga sayısı arttıkça dalga boyunun kısaldığı görülmektedir.



Şekil 6. Elektromanyetik spekturum, (Miao ve ark, 2014)

Yayımla hızı dalganın bir ortamdan geçiş hızıdır, frekans ve ortama bağlıdır. Bir elektrona 1 volt potansiyel verilirse kazandığı enerji miktarı ışının enerjisidir (elektron volt). Işının frekansına veya dalga boyuna bağlı olan fotonun enerjisi aşağıdaki bağıntı ile verilir. (h :planck sabiti = $6,63 \times 10^{-27} \text{erg.sn}$)

$$E = hv, E = hc / \lambda$$

Bir maddeyi oluşturan atom ya da moleküllerden birinin hareketi enerji farkına neden olur, bu da yayımlanan veya soğurulan foton enerjisi ile bağlantılıdır (Bilgin, 2013).

İnsan vücudu su molekülleriyle çevrelenmiş farklı elementlerin atomlarından oluşmaktadır. Bu atomlar manyetik ve elektrik kuvvetlere, alanlara tepki verir. Elektromanyetik kuvvetler fizyolojik fonksiyonları değiştirebilir, pozitif ya da negatif yolla organizmayı etkileyebilir. İnsanlar üzerinde manyetik alan etkileri araştırılırken, genel anlamda iki farklı manyetik alan tipi farkedilmiştir. Bunlar (1) büyük bir miktarda etrafında bulunan statik manyetik alan, (2) frekansı 10 Hz'den yüksek olan darbeleri manyetik alandır (Andra ve Nowak, 2007). İyonların hücre membranı içinde, dışında ve boyunca hareketleri vücudumuzda elektriksel bir aktiviteye sebep olur. Bu elektrik yüklü parçacıkların hareketleri, doğal elektrik akımı, potansiyel farklılıklara neden olur ve vücut dışından ölçülebilen manyetik alandan sorumludur. Bu manyetik alana biyomanyetik alan denir (Williamson ve Kaufman, 1981).

Manyetik tedavilerinde; darbeleri elektromanyetik alanlar (PEMF), statik manyetik alanlar, düşük frekanslı sinüs dalgalar, darbeleri radyofrekans alanlar (PRF), transkranial manyetik stimülasyon ve milimetrik dalgalar kullanılır. Statik manyetik alanlar, doğrusal akımla meydana gelir ve frekansları 0 Hz'dir. Düşük frekanslı sinüs dalga elektromanyetik alanlar; 50-60 Hz frekansındadır. Puls elektromanyetik alanlar; genlikli ve düşük frekanslıdır. Darbeleri radyofrekans alanlar; seçici olarak 13,56 MHz, 27,12 MHz ve 40,68 MHz radyofrekans aralığında kullanılır. Transkranial manyetik stimülasyon; kısa ve yoğun manyetik darbelerle beynin seçici bölgelerine uygulanan bir tedavidir. Milimetrik dalgalar; 30-100 GHz yüksek frekans aralığındadır (Markov, 2007)

2.5.1. Manyetik alanın Farklı Patolojik Durumlardaki Etkileri

Statik manyetik alan uygulaması polimerlerin yapısında (Rodin,1991), sinyal kaskatlarının başlamasında (Wang ve ark, 2010), membran geçirgenliğinin değişmesinde (Liu ve ark, 2011), kan sirkülasyonunun dağılımında (Ohkubo ve Okano, 2011; Okano, 2008) ve ilaçların ve diğer yararlı maddelerin absorpsiyonunun artmasında etkili olabilmektedir. Manyetik alanlar in vitro ve in vivo çalışmalarda önemli bir antitümör aktivitesine sahiptir. 60 Hz sinüzoidal manyetik alan, kaspaz-3 ile bölünen ve reaktif oksijen alanları tarafından çoğaltılan prostat kanseri hücrelerinin gelişimini kayda değer biçimde engellemiş ve apoptozuna neden olmuştur (Koh ve ark, 2008). Bir statik manyetik alanla kombine edilen düşük frekanslı manyetik alan (0,5-16,5 Hz) fare modelinde Ehrlich asit karsinom gelişimini önemli derecede baskılar (Novikov ve ark, 2009). Son zamanlarda gelişmiş hepatosellüler karsinom hastaları hızlı uygulanan genlik modülasyonlu elektromanyetik alanlarla tedavi

edilmiştir ve sonuçlar tedavinin ortaya konmuş, güvenli olduğu kadar iyi tolere edilmiş antitümör etkilerini göstermiştir (Costa ve ark, 2011). 50 Hz manyetik alanın melanoma hücrelerinin varlığını sürdürmesini engellediği ve melanoma hücrelerinde antiapoptotik protein BAG3'ün regülasyon direncini terapi boyunca azalttığı bildirilmiştir (Basile ve ark, 2011). Kısaca fare modellerinde tümör gelişimi zayıf şiddetli manyetik alan tarafından (1-5 *nT*) baskılanmıştır (Hu ve ark, 2010). Sinüzoidal manyetik dalga uyarısının sıçanlarda osteoporotik kemik kaybına karşı koruyucu etkisinin bulunduğu dair deneysel sonuçlar önerilmiştir (Yan ve ark, 1998). Cruess ve arkadaşlarının (1983), McLeod ve Rubin'in (1990, 1992) ve Simske ve arkadaşlarının (1991) darbeli manyetik alan tarafından kemik kaybı inhibasyonunun aynı deneysel sonuçlara sahip çalışmaları bulunmaktadır. Görüldüğü gibi manyetik alan uygulamasının farklı patolojilerin tedavisinde kullanımı literatürde denenmiş ve olumlu sonuçlar alındığı rapor edilmiştir.

Elektrikli cihazlar ve elektrik hatları tarafından üretilen ayrıca dokuların derinine nüfuz edebilen düşük frekanslı elektromanyetik alanların frekansı 0-300 *kHz* arasındadır. Düşük frekanslı manyetik alanın bildirilen yararlı etkileri, koksidiyal enfeksiyonlu tavuklarda intestinal lezyonların şiddetinde düşüşü (Elmusharaf ve ark, 2007), yara iyileşmesinde hızlanması (Callaghan ve ark, 2008; Goudarzi ve ark, 2010), sıçanlarda ve insanlarda kemik iyileşmesinde hızlanması (Grana ve ark, 2008; Griffin ve ark, 2008) ve insanlarda bakteriyel değişimlere makrofajların cevabının artışı (Akan ve ark, 2010) kapsar. Ayrıca oksijen radikallerinin modülasyonunu ve sinyal iletim yollarındaki değişimleri kapsayan farklı mekanizmalar önerilmiştir (Liburdy ve ark, 1993; Blank ve Soo, 2001; Rollwitz ve ark, 2004; Frahm ve ark, 2010).

2.5.2. Manyetik Alanın İskemik Hasar Tedavisindeki Rolü

İnsan sağlığı üzerinde düşük frekanslı manyetik alanın etkileri için yapılan bilimsel çalışmalarda sinyallerin kullanımı ile ilgili büyük bir çeşitlilik bulunmaktadır. Manyetik alanın anjiyogenezi artırabildiğine ya da azaltabildiğine, vazodilasyon ya da vazokonstrüksiyon oluşturabildiğine dair çalışmalar bulunmaktadır, bu olaylar hemodinamik prosese göre değişir (McKay ve ark, 2007). Ayrıca manyetik alan bölgesel yoğunluk ve endotel tübüllerin uzunluğunun artışı kolaylaştırabilir (Okano ve ark, 2006). Ancak, manyetik alanın endotel hücreler üzerine etkisi hakkında çelişkili sonuçlar vardır. Örneğin Li ve arkadaşları (2007) 1 ve 10 *mT* statik manyetik alanın insan umbilikal damar endotel hücrelerinin (HUVEC) gelişimini engellediğini fakat 0,1 *mT* manyetik alanın bu hücrelerin

çoğalmasını etkilemediğini gözlemlemişlerdir. Aksine, Martino ve arkadaşları (2010) 60 ve 120 *mT* uygulamada bu insal umbilikal damar endotel hücrelerinin çoğalmasında artışı gözlemlemişlerdir. Ayrıca Dell Monache ve arkadaşları (2008) 50 *Hz* ve 1 *mT* manyetik akı yoğunluklu düşük frekanslı manyetik alanın insan umbilikal damar endotel hücrelerinin çoğalması, göç etmesi ve endotel tüp formasyonunu uyarma kapasitesinde olduğunu bulmuşlardır.

Manyetik alanın iskemi tedavisindeki rolü üzerine yapılan çalışmalar manyetik alan uygulamasının anjiyogenez ve damar geçirgenliğinde artışa neden olduğunu işaret etmektedir. Hareket eden elektrik yükleri, zamanla değişen elektrik alanları ya da temel parçacıklar içsel olarak manyetik alanı üretir. Bazı çalışmalar manyetik alanın iskemi- reperfüzyon hasarını önleyebileceğini ya da giderebileceğini önermiştir (Pan ve ark, 2013). Pan ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları çalışmada, düşük frekanslı darbeli manyetik alan alan uygulamasının iskemi kaynaklı hücre ölümünü geciktirebileceği ya da iskemik penumbra (yani fonksiyonel olarak bozulmuş ancak kısa sürede reperfüzyon gerçekleşirse geri dönüşümsüz hasar oluşmadan kurtarılabilir olan doku) alanını düşürmek için dallanmış kan akımını geliştirdiği, ayrıca anjiyogenezi arttırdığı öne sürülmüştür.

Anjiyogenez; fizyolojik bir süreç olup, yeni damarların oluşması, gelişmesi anlamına gelir. Anjiyogenez, büyüme ve gelişme ile yara iyileşmesi gibi süreçlerde olması beklenen bir olaydır. Bununla beraber tümör gelişimi gibi bazı durumlarda patolojik de olabilmektedir. Anjiyogenezi tetikleyen ve önleyen faktörler arasındaki denge bozulduğu takdirde dengenin bozulduğu yön lehine anjiyogenezde eksiklik veya fazlalık görülebilir.

Anjiyogenez nedenlerinden en önemli olanı vasküler endotelial büyüme faktörüdür (VEGF). VEGF'in etkisini gösterebilmesi için, endotel hücreleri ve lenf damarları üzerindeki özgün transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanması gereklidir. Bağlanma gerçekleştiğinde VEGF reseptörleri aktifleşir ve hücre içerisinde sinyal iletisi sağlayan bir dizi proteini fosforilize eder. Bu olay da ikincil habercilerin oluşmasına katkıda bulunarak, endotel hücrelerin çoğalmasını ve göçünü sağlar. VEGF anjiyogenezde; nitrik oksit salınımını indükler, damar permeabilitesini, bazal membran ve matriks yıkımını artırır, anjiyopietinler sayesinde endotel hücrelerin farklılaşmasında ve maturasyonunda rol oynar. VEGF ailesinin tüm üyeleri, hücre yüzeyindeki tirozin kinaz reseptörlerine (VEGF-R) bağlanarak hücrel cevapları uyarırlar.

Anjiyogenez süreci; ekstrasellüler çevre değişiminin anjiyogenik faktörleri, hücre göçü, profilyasyonu, yeni oluşan kapillerin düzenlenmesi, damar yayılışının yeniden düzenlenmesi ve olgunlaşması gibi endotel hücre aktivasyonunu kapsar (Ferrara ve Kerbel, 2005). Endotel tek

katmanın bütünlüğü, kan homeostazında ve endotel geçirgenliğin aktif regülasyonunda esastır. Vasküler bütünlüğün devamlılığında FGF sinyal yolağı anahtar rol oynar (Murakami, 2008). Kan damar formasyonu (anjyogenez) ve doku damar oluşumunu ilerletebilen belirli tiplerde elektrik alanların kanıtı ortaya çıkmaktadır. Hücre düzlemine paralel yönlendirilmiş doğru akım elektrik alanı fizyolojik büyüklükteki yeniden ortasyon, göç,aktin düzeneği, insan umbilikal kordunda (HUVEC) ve sığır aortik endotel hücrelerinde VEGF salınımı gibi hücre yanıtlarını yükseltmektedir (Zhao ve ark, 2004;Li ve Kolega, 2002). Yapılan çalışmalarda hücre yüzeyine paralel uygulanan düşük frekanslı elektrik alan modeli insan umbilikal kord hücrelerinde fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2) vasıtasıyla anjiyogenik yanıtı uyardığı gözlenmiştir (Tepper ve ark, 2004; Hopper, 2009). Normal ve diyabetik in vivo diyabetik modellerde anjiyogenezin FGF-2'nin yukarı regülasyonu (up-regulation) tarafından aktivasyonu ile yara iyileşmesinin hızlandırıldığı gözlenmiştir(Callaghan, 2009). Okana ve arkadaşlarının (2006) yaptıkları çalışmada orta derece şiddetli durgun manyetik alanın endotel kapiler tübül oluşumunun erken dönemlerinde başlangıç hücre gelişimi periyodu boyunca insan umbilikal damar endotel ve insan diploid fibroblast hücre kültürü üzerine olan etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular durgun manyetik alan uygulamasının intakt ya da VEGF-A uyarılmış vasküler endotel hücrelerinde boyutsal gradyent yükselişinin merkez bölgeyle bağlantılı olduğu hücre kültürü kuyucuğunun çevre bölgesinde arteriogenezi arttırmada esas rol oynadığına işaret etmektedir. Sheikh ve arkadaşlarının (2012) yaptığı çalışmaların Sheikh ve arkadaşlarının (2012) yaptığı çalışmaların sonuçlarına göre, düşük frekanslı elektrik alan uygulaması frekans duyarlı mapk/erk yolağı aktivasyonu vasıtasıyla endotel anjiyogenik cevabın kontrol edilmesine olanak sağlamış, buna göre elektrik alan tabanlı vasküler doku rejenerasyonu tedavilerinde yeni bir intrasellüler mekanizma hakkında önemli çıkarımlar sağlanmıştır. Dell Monache ve arkadaşlarının (2013) yaptığı çalışmada $2mT$ şiddetinde $50 Hz$ frekansında manyetik alanın bu reseptörlerden anjiyogenezde anahtar rolü olan VEGFR-2 nin ekspresyonunu ve aktivasyonunu azaltarak tümör anjiyogenezini inhibe ettiği ve manyetik alanın tümör tedavisinde kullanılabileceği gözlenmiştir. Pan ve arkadaşlarının (2013) yaptığı arka bacak iskemi ve reperfüzyon çalışmasında manyetik alanın anjiyogenezde diğer bir önemli faktör olan fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2) nin ekspresyonu ve aktivasyonunu artırarak anjiyogenezi artırdığı gözlenmiştir. Bu bulgu manyetik alan uygulamasının iskemi reperfüzyon hasarı tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir. FGF reseptörlerinin endotel hücrelerinde ya da diğer hücre tiplerinde aktivasyonu anjiyogenezi direk olarak ya da anjiyogenik faktörlerin salınmasını tetikleyerek destekler (De Falco, 2014). FGF-2 *in vivo* endotel hücrelerin göçünü ve proliferasyonunu

uyarır (Ware ve Simons, 1997), antiapoptotik aktiviteye sahiptir (Yanagisawa-Miwa ve ark, 1992) ve büyük koleteral damarlarının gelişimini uyaran fibroblastların ve düz kas hücrelerinin mitojenezini destekler (Scholz ve ark, 2001). Aydınlatıcı bir denemede FGF-2'nin miyokardiyumda iskemik bölgeleri azalttığı, koşu bandı performansını geliştirdiği ve anjin frekansını azalttığı gözlenmiştir (Unger ve ark, 2000; Laham ve ark, 1999). Ayrıca Dell Monache ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında (2008) 1mT şiddetinde 50 Hz frekanslı manyetik alanın insan endotelial hücre hattında VEGFR-2 ekspresyonunu artırdığı böylelikle terapötik anjiyogenezi artırabileceği gözlemlenmiştir. Bu nedenle çalışmamızda 1mT şiddetinde 50 Hz frekanslı manyetik alanın sıçanlarda oluşturulacak olan böbrek iskemi-reperfüzyon modelindeki tedavi edici etkinliği araştırılacaktır.

2.5.3. Elektromanyetik Alanın Oksidatif Stresi Gidermedeki Rolü

Elektromanyetik alanın insan vücuduna nüfuz ederek tüm organlarda hücre membran potansiyeli değişiminde ve iyonların dağılımında etkili olduğu bilinmektedir (Kula ve ark, 1999). Elektromanyetik alanın kan-beyin bariyerindeki geçirgenliği üzerine potansiyel etkileri tartışılmaktadır (Cosquer ve ark, 2005; Salford ve ark, 1993; Stam, 2010). Bu bariyer, yüksek molekül ağırlığına sahip maddelerin kandan beyne geçişini engeller iken küçük olanlara izin verir. Elektrik alanın ve elektromanyetik alanın etkilerini açıklayan en yararlı hipotezlerden biri, süperoksit anyon (O_2^-), hidroksil radikaller (OH) ve diğerleri gibi moleküllerin dengesiz yapım oranını geliştirerek, bu maddelerin normal eliminasyon yollarını modifiye ederek organizmadaki serbest radikallerin normal dengesinin düzenlenmesidir (Dro'gue, 2002). Bu düzenlemenin GSH, vitaminler, karotenoidler, flavonoidler ve diğerlerini kapsayan enzimatik olmayan sistemi aktive ederek veya vücuttaki antioksidan savunma enzim aktivitelerini artırarak gerçekleşebildiği düşünülmektedir (Genestra 2007, Valko ve ark, 2007) .

2.6. Kızılötesi Dönüşüm Fourier Spektroskopisi

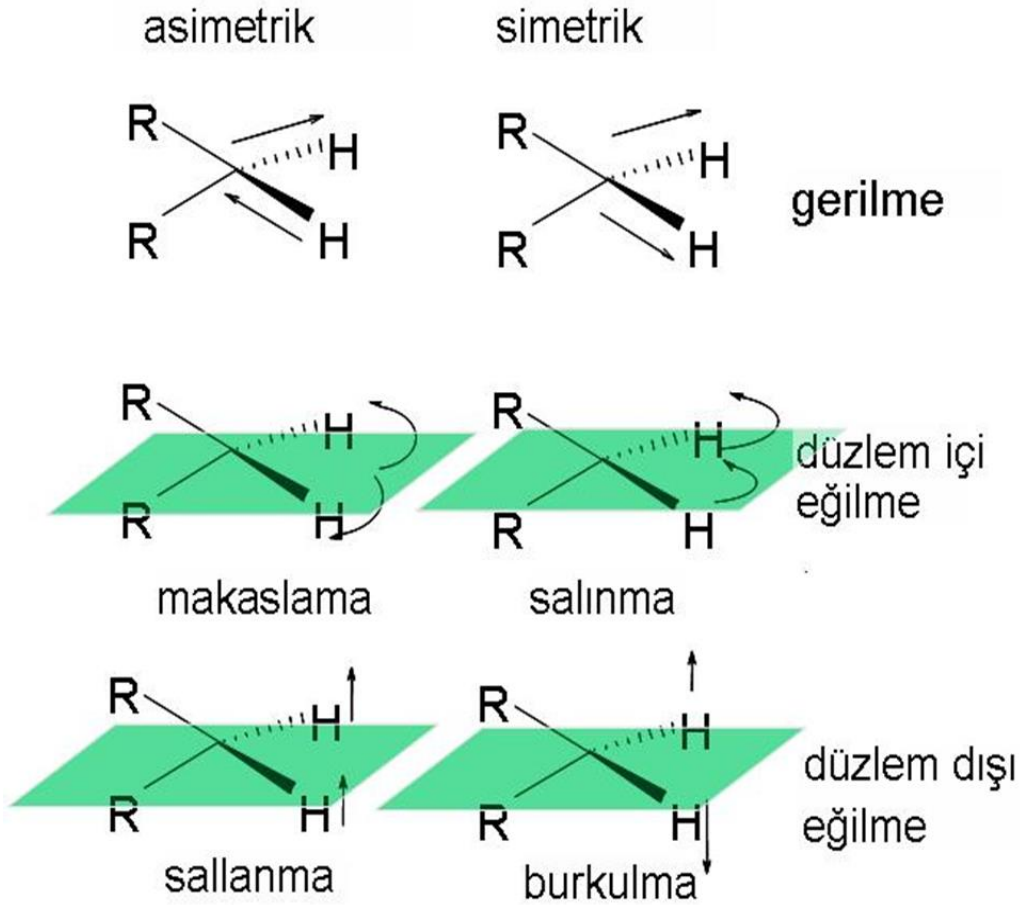
Spektroskopi, ışın ve madde arasındaki etkileşimi inceleyen bir bilim dalıdır. Madde ile etkileşen ışık temel olarak madde tarafından soğurulabilir, saçılma uğratılabilir veya madde içerisinde farklı bir frekansta ışık emisyonuna neden olabilir. Bu durumlardan herhangi birini ölçebilmek için değişik spektroskopik yöntemler geliştirilmiştir. Örnek madde içerisindeki bileşenlerin kimliğini belirleyen analize nitel (kalitatif), miktar ya da konsantrasyonunu belirleyen analize ise nicel (kantitatif) denir (Gündüz, 1998).

Spektroskopik metotlar içinde yer alan kızılötesi spektroskopisi, elektromanyetik spektrumun kızılötesi bölgesinde yer alan ışığın bir madde yapıtaş moleküllele ile etkileşimi ile oluşan soğurmayı (absorbsiyonu) ölçen bir yöntemdir. Kızılötesi spektroskopisinin temel prensibi moleküllerinkızılötesi ışığını (IR) soğurmaları sonucu oluşan titreşim hareketlerininörüntülenmesidir. Moleküldeki atomlar sürekli hareket ederler ve bu öteleme, dönme, kimyasal bağ uzunluğundaki periyodik değişim gibi hareketler titreşime sebep olur. Dalga boyları 780nm-1.000.000 nm aralığında olan kızılötesi ışınlar yakın, ortave uzak kızılötesi olmak üzere üç bölgede incelenebilir. Yakın kızılötesi bölgesindeki kızılötesi ışınlar, zirai, endüstriyel maddelerin nicel analizlerinde kullanılır ve incelemeler ullraviyole-görünür spektrometrelerine benzer yapıdaki spektrometreler ile yapılır. Orta kızılötesi bölgedeki ışınlaremisyon ve absorblanma ölçümü gerektiren daha komplike maddelerin nicel analizi Fourier dönüşüm kızılötesi spektrometreleri kullanılarak yapılır. Işın dağıtıcı özelliğine sahip bu cihazlar, mikroskopik yüzey çalışmaları, azaltılmış toplam yansıma ve difüze yansıma ile katıların analizi, fotoakustik ölçümleri uygulamalarında kullanılır (Gündüz, 1998; Skoog ve ark, 1998).

Kızılötesi spekturumunda dikey eksen geçirgenlikveya soğurma, yatay eksen ise dalga sayısidir (cm^{-1}) Enerji ve frekansla doğru orantılı olan dalga sayısı sırası doğrusaldır. Frekans birimi büyük olduğundan yatay eksen de pek kullanılmaz. Kızılötesi bölgede örneğe uygulanan ışık, örnek tarafından soğrulur ve moleküllerdeki titreşim enerji seviyeleri arasında geçişlere neden olur. Bu uyarım moleküler bağları bozamaz, elektronik seviyede de değildir ama bağların titreşme genliklerinde artışa neden olur. Bu artış, atom kütlelerine, molekülün geometrik yapısına ve bağların gücüne bağlıdır (Gündüz, 1998; Skoog ve ark, 1998; Yıldız ve ark, 1997).

Bir molekülün soğurulabilmesi için dipol momentinde belirli bir değişme olmalıdır. Titreşim ve dönme hareketinin sonucu olan bu değişim sayesinde molekül ışının elektrik alanı ile etkileşir, genlikte değişime sebep olur. Örnek; hidrojen klorür simetrik bir yük dağılımı olmadığından dipol momente sahiptir ve polar bir moleküldür. Molekülü oluşturan elementlerin yük farkının büyüklüğü ve yük merkezleri arasındaki uzaklık dipol momentini etkileyen faktörlerdir. Hidrojen klorür titreştiğinde dipol momentini değişerek ışının elektrik alanıyla etkileşen bir alan oluşturur. Molekül frekansı ile ışın frekansı arasında uyum olursa moleküler titreşimin genliği değişir. Bu değişimin sebebi enerji alışverişidir ve bu olaya ışının absorpsiyonu denir. Asimetrik moleküller ağırlık merkezi etrafında dönerek ışınla etkileşebilen periyodik bir dipol değişim oluşturur. Genellikle polar bağlar İR aktiftir. Bir molekül içinde atomların bağıl yerleri (birbirine göre yerleri) kesin değildir. Çeşitli titreşimler

sonucu devamlı olarak değişir. Çok atomlu moleküllerde titreşimlerin türü ve sayısını hesaplamak çok güçtür. Titreşimler beşe ayrılır: esneme titreşimleri, eğilme titreşimleri, kapling titreşimleri, overton titreşimleri, kombinasyon titreşimleri. Esneme (gerilme) titreşimleri simetrik ve asimetric diye ikiye ayrılır. Simetrik ve asimetric titreşimlerde iki atom arasındaki bağ uzunluğu devamlı olarak değişir. Eğilme titreşimleri dörde ayrılır (şekil 7); makaslama, sallanma, salınma, burkulma. Bunlarda, moleküller içinde bulunan bağlar arasındaki açılar devamlı olarak değişir(Gündüz, 1998; Skoog ve ark, 1998; Yıldız ve ark, 1997).

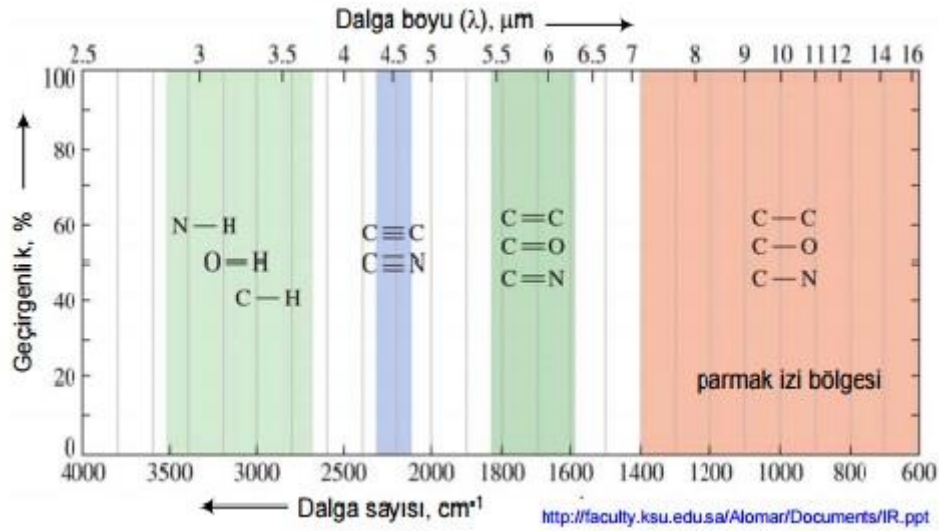


şekil 7. Eğilme titreşimleri (Yıldız ve ark, 1997)

Kızılötesi bölgesinin $4000-1000\text{ cm}^{-1}$ arasında kalan kısmı fonksiyonel grup bölgesi; $1800-1000\text{ cm}^{-1}$ bölgesi parmak izi bölgesi olmak üzere moleküllere ait kızılötesi soğurma bandları ikiye ayrılır. Parmak izi bölgesinde gözlenen bandların tümü incelenen moleküle özğüdür. Moleküllerin infrared spektrumları (şekil 8) yardımıyla yapılarının aydınlatılmasında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bilinmeyen maddelerin

kızılötesispektrumları, şüphenilen maddelerin aynı koşullarda çekilen spektrumları ile karşılaştırılır. Kullanılan cihaz kızılötesi absorpsiyon spektrofotometreleridir.

Titreşim sırasında periyodik dipol moment oluşursa uyumlu frekanstaki foton soğurulması gerçekleşir ve enerji belli bir değer alır. Gerilme titreşimleri, eğilme titreşimlerinden daha büyüktür. H₂, N₂, O₂ ve C₂H₂'nin gerilme titreşimleri sırasında dipol momenti değişmediğinden IR inaktiftirler. Orta kızılötesi (mid-IR) bölgesi 2500– 1500 nm (4000 – 650 cm⁻¹) aralığıdır. IR bölgesinin 4000 – 1300 cm⁻¹ arasındaki bölgede karşılaşılan bantlar moleküldeki çeşitli fonksiyonel gruplara ait belirgin bantlardır. Halojen veya ağır metal atomları ağır atom olduklarından uzak IR bölgede gözlenirler. Titreşim frekansını moleküldeki hidrojen bağları çift bağlar ve rezonans etkiler (Skoog ve ark, 1998).



Şekil 8. Orta kızılötesi spektrumunda görülen temel fonksiyonel gruplara ait titreşim frekans bölgeleri

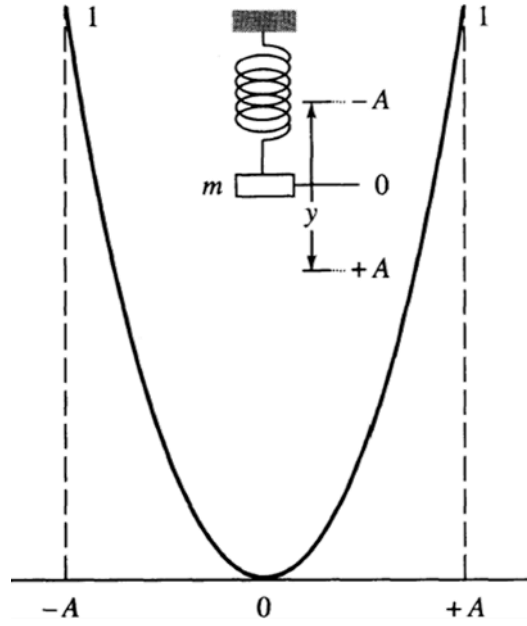
2.6.1. İki Atomlu Bir Molekülde Gerilme Titreşiminin Mekanik Modeli

Mekanik bir yay modeli ile atomik gerilme titreşimi ifade edilebilir. Yayın iki ucundaki kütlelerden biri yayın ekseni yönünde çekilip bırakılırsa basit harmonik harekete başlar. Sabitlenmiş bir yayın ucuna asılı tek bir kütlenin titreşimi gözönüne alınırsa ve yayın ucundaki kütle yayın ekseni yönünde çekilip denge halinden y kadar uzaklaştırılırsa, yayı ilk haline getirmek için gerekli kuvvet F , y ile orantılı olur (Hook yasası):

$$F = -ky$$

Burada k kuvvet sabitidir, yayın gerilebilirliğine bağlıdır. Negatif işaret, F'ninyayı ilk haline getiren kuvvet olduğunu ifade eder. Kuvvetin yönünün çekilme yönünün tersidir.. Bu yüzden kuvvet kütleyi eski yerine getirmeye eğilimlidir.

Basit harmonik osilasyonun potansiyel enerji eğrisi parabolüdür (Şekil 9).Potansiyel enerji, yayın maksimum A genliğine kadara gerilmesi veya sıkıştırılması durumunda en büyük, denge halinde ise sıfırdır.



Şekil 9. Harmonik osilasyon

$$E = \frac{1}{2}ky^2$$

Frekansenerjiden bağımsız, yayın kütlesi ve kuvvet sabitine bağlıdır. Enerjideki değişimler titreşimin A genliğinde bir miktar değişmeye neden olur.

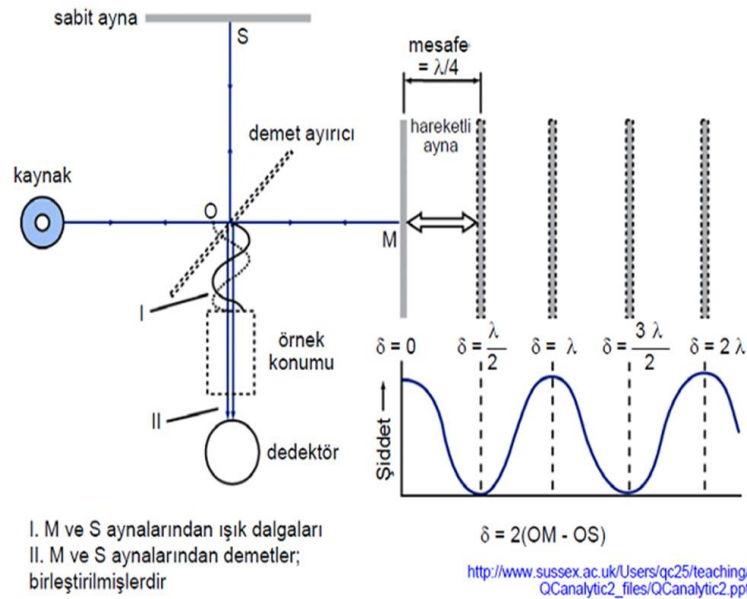
$$V_m = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}}$$

V_m :mekanik osilatörün doğal frekansı, k:bağın kuvvet sabiti (N/m), atomların kütle, elektronegatiflik, bağ uzunluğu ve bağ gücü değerlerine bağlı olarak değişir(Skoog ve ark, 1998).

2.6.2. FTIR Spektroskopisi Çalışma Prensibi

Fourier dönüşümü çözümleri rutin bir şekilde bilgisayarlar ile yapılabilmektedir. Sinyal çözme komplike cihazlarda Fourier dönüşüm tabanlıdır ve bu cihazlara Fourier dönüşüm cihazlar adı verilir. Kaynaktan gelen ışını, ışın yolu uzunluğu girişim deseni verecek şekilde periyodik olarak değişebilen iki ayrı ışın demetine ayırarak kodlama yapılır, verilerin işlenmesinde Fourier dönüşümü kullanılır. FTIR spektrometreleri; ışık kaynağı, interferometre, numune, dedektör, bilgisayar kısımlarından oluşur (Skoog ve ark, 1998).

Fourier dönüşümlü cihazların çoğu, ışının şiddeti zamanın fonksiyonu olarak grafiğe geçirilen Michelson interferometreye (Şekil 10) dayanır. Michelson interferometre, zaman bağımlı sinyalleri elde edebilir, yüksek frekans sinyalinin, sinyalin taşıdığı zaman ilişkilerini kaybetmeden, ölçülebilir frekansa dönüştürür. Işın demetlerini yaklaşık eşit güçte iki demete ayırıp, daha sonra iki demetin ışık yolları farkının fonksiyonu olarak demetin şiddet değişimleri ölçülebilecek şekilde yeniden birleştirilmesini sağlayan düzenektir (Skoog ve ark, 1998).



Şekil 10. Michelson interferometresi

Işın demeti ayırıcıları, geçirgen malzemeden yapılmış olup üzerine düşen ışının yarısını geçirip yarısını yansıtacak bir kırma indisine sahiptir. Uzak IR bölgede düşük kırma indisli bir katının iki plaka arasına sıkıştırılmasıyla elde edilen ince bir Mylar film kullanılır. Sezyum

iyodur (veya bromür), NaCl veya KBr üzerine ince bir film halinde Ge veya Si çöktürülerek orta-IR bölgede kullanılan ışın ayırıcılar hazırlanır. Yakın-IR bölgede uygun olan ayırıcılar CaF₂ üzerinde demir (3) filmi içerirler. Işın kaynakları, IR cihazlarındakine benzer. Detektör olarak çoğunlukla hassasiyeti daha fazla olduğundan sıvı azotla soğutulmuş civa/kadmiyum tellür veya indiyum antimonit fotoiletken dedektörler kullanılmaktadır. FTIR cihazları ile geçirgenlik veya absorbansı tayin etmek için, önce genellikle hava olan bir referansı 20-30 defa tarayarak bir referans interferogram elde edilir, veriler yeniden yüklenir ve sonuçlar spektruma çevrildikten sonra cihazın bilgisayarında korunur. Sonra, örnek ışın yoluna konularak aynı işlem tekrarlanır. Örnek ve referans spektrum verilerinin oranı, çeşitli frekanslarda geçirgenlik elde etmek için hesaplanır (Gündüz, 1998; Skoog ve ark, 1998; Yıldız ve ark, 1997; Coates, 2000).

2.6.3. FTIR spektroskopisi avantajları ve kullanım alanları

FTIR spektroskopisi, katı, sıvı, gaz fazlarındaki örneklere ve çözeltiler, tozlar, lifler, filmler, yüzeyler gibi birçok farklı çeşitte örneğe uygulanabilir olması açısından avantajlıdır. Bu örnekler ucuz ve zahmetsiz hazırlanabilir, aynı örnekten farklı makromoleküller hakkında eş zamanlı veri toplanabilir (Stuart, 2004). FTIR spektroskopisi hassas ölçüm yapabilen bir teknik olduğundan çok az örnek miktarında bile gürültüsüz spektrumlar elde edilerek bantlar analiz edilebilir. Az bir örnekle diğer spektroskopi yöntemlerine göre az zamanda çözünürlüğü yüksek spektrumlar elde edilebilir. Ayrıca sinyal/gürültü oranı sinyal azaldığında gürültüde değişim olmadığından dolayı düşüktür. Defalarca tekrarlanabilen ölçümlerde toplanan sinyaller bilgisayarda hızlı bir şekilde ortalamaları alınarak gürültülü ortamın dezavantajı ortadan kaldırılır. Bu cihazlarda çok az optik eleman kullanıldığından dolayı ve blok diyagramındaki gürültüyü düşüren hassas interferometre sistemi sayesinde detektöre gelen ışın şiddeti daha büyüktür, böylelikle daha büyük sinyaller gözlenebilir (Skoog ve ark, 1998). Dalga boyu iyi bir şekilde tekrarlanabilir ve büyük bir ayırım gücüne sahip oldukları için karmaşık spekturum analizlerinde avantajlıdır. Örneğin tüm elementlerinin sinyalleri detektöre eş zamanlı ulaşır, zamandan tasarruf sağlar. Lipitler, proteinler, peptidler, biyomembranlar, nükleik asitler, hayvan dokuları, mikrobik hücreler, bitki ve klinik örnekleri içeren farklı biyolojik sistemlerin başarı ile çalışılmasına olanak sağlar (Stuart, 2004). Ayrıca, FTIR spektroskopisinin farmakoloji araştırmaları, adli tıp, polimer analizi, gıda endüstrisi, kalite ve kontrol çalışmaları, çevre ve su analizleri, biyokimyasal ve biyomedikal çalışmalar, petrokimya gibi çok sayıda farklı kullanım alanı

mevcuttur. Biyokimyada; peptit ve membran yapıları ile lipit-protein veya lipit-ilac etkileşimlerinin belirlenmesi; karbonhidrat, fosfolipit, aminoasit, polipeptit ve proteinlerin yapısının tayini;proteinlerin ikincil yapılarındaki değişimlerin incelenmesi ve proteinlerdeki karboksil grubunun iyonlaşmasının incelenmesi; makromoleküllere ligand bağlanması ve moleküler konformasyonlar değişimlerinin belirlenmesi;bağlantılı polisakkaritlerin yapılarındaki farklılıkların incelenmesi; oksihemoglobin yapısındaki demir ile oksijenin bağlanmasının etkinliği;peptit azotundaki proton ile peptit karbonili arasındaki hidrojen bağının tespiti gibi farklı analizlerde kullanılabilir (Gündüz, 1998; Skoog ve ark, 1998).

FTIR spektroskopisinde elde edilen spektrumlar bant frekanslarında, bant alanlarında ve bant genişliklerindeki değişimler gibi bazı spektral parametreler değerlendirilerek incelenir. Bu incelemeler sonucu FTIR spektrumundan aynı örneğe ait yapısal, içeriksel ve dinamik bilgi tek bir inceleme ile elde edilebilir. Bu FTIR spektroskopisini diğer biyokimyasal veya analitik yöntemlerden daha avantajlı kılar. FTIR spekturumunda görülen bantlarının frekans değerlerindeki kayma söz konusu fonksiyonel grubu taşıyan moleküldeki yapısal değişime işarettir. 3000-2800 cm^{-1} frekans bölgesinde görülen CH bölgesinde bulunan bantların frekans değerlerindeki kayma membranın düzen ve düzensizliği hakkında bilgi verir (Casal ve Mantsch, 1984, Cameron ve Charette, 1981). Ayrıca, PO_2^- simetrik ve antisimetrik gerilim bantlarının frekans değerlerindeki kaymalar membran fosfolipitlerinin veya nükleik asit fosfat gruplarının hidrojen bağı yapma derecesi hakkında bilgi verir (Dovbeshko ve ark, 2000). Bunların dışındaki amid I, amid II, C=O ester gerilim, COO^- gerilim gibi bantların frekans değerlerindeki kaymalar ise bu fonksiyonel grupları taşıyan moleküllerdeki yapısal değişikliğe işaret eder(Coates, 2000). FTIR spektrumunda yer alan bantların altında kalan alan ve/veya bant şiddeti değerleri o fonksiyonel grubun örnek içerisindeki konsantrasyonu hakkında bilgi verir (Alo ve ark, 1998; Freifelder, 1982). Ayrıca, spektrumun CH bölgesinde yer alan CH_2 simetrik ve antisimetrik gerilim bant genişlikleri membran akışkanlığını ve lipit dinamiğini incelemede kullanılır (Mantsch, 1984). Membran yapısında bulunan lipitlerin zincir uzunluğunda, zincir esnekliğinde ve doymuşluk derecesindeki farklılıkları lipitlerin etkileşimlerini, membrandaki yerleşimlerini dolayısıyla da membran akışkanlığını etkiler. Doymamış bağıın bulunması komşu açıl zincirlerinin rotasyonel özgürlüğünü kısıtlayarak sistemin birlikte hareket etme derecesini azaltır ve bunun sonucunda akışkanlığın artmasına neden olur (Luckey, 2008). Membran akışkanlığı FTIR spekturumda gözlenen bant genişliği ile doğru orantılıdır (Mantsch, 1984), bant genişlik değeri arttıkça membran akışkanlığı artar.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kimyasallar:

Pterowhite %90 *pterocarpus marsipium* ekstresi Sami Labs Limited (Hindistan) şirketinden tarafımıza hiçbir ücret talep edilmeksizin araştırmada kullanılmak üzere gönderildi. Dimetilsülfoksit (DMSO), Sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4), disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), potasyum klorür (KCl), fenil metil sülfonilflorid (PMSF), etilendiamintetraasetik asit (EDTA), DL-dithiothreitol (DTT), etanol Sigma-Aldrich (A.B.D.) firmasından temin edildi. Ketazol %10 RichterPharma (Avusturya) firmasından, Alfazyne %2 Alfasan (Hollanda) firmasından ve %0,9 izotonik sodyum klorür (PBS) Polifarma (Türkiye) firmasından temin edildi. Tüm kimyasallar firmalardan mümkün olan en saf hallerinde temin edildi.

3.2. Çalışma grupları:

Çalışmada kullanılan tüm hayvan deneyleri, Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alınarak (etik kurul karar no: 64583101/2014/068, Ek 1) Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden temin edilen ortalama 300-350 gr. ağırlığında 35 adet erkek, erişkin (11 haftalık) Wistar-albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar, havalandırılması kontrol edilen semiklimatize laboratuvar koşullarında, $22 \pm 1^\circ\text{C}$ çevre sıcaklığı, % 40-60 bağıl nemde ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsünde tutularak standart yem ve su ile beslendi.

Sıçanlar, dört ayrı gruba ayrılarak çalışma grupları oluşturuldu.

- 1. Kontrol Grubu (K)** (n=9): Bu gruptaki sıçanlar iskemik uygulamaya tabi tutulmadı.
- 2. İskemi- Reperfüzyon Grubu (İR)** (n=10): Bu gruptaki sıçanlara iskemi ve reperfüzyon işlemi uygulandı.
- 3. İskemi- Reperfüzyon + Manyetik Alan Grubu (MA)** (n=7): Bu gruptaki sıçanlara iskemi-reperfüzyon uygulamasından sonra 5 gün süreyle manyetik alan tedavisi uygulandı.

4. İskemi- Reperfüzyon + Manyetik Alan + Pterostilben Grubu (MA+10P) (n=8):

Bu gruptaki sıçanlara iskemi-reperfüzyon uygulamasından sonra 5 gün süreyle manyetik alan uygulaması ile birlikte DMSO içeren solüsyon içerisinde çözülmüş pterostilben 10mg/kg dozunda intraperitonel olarak enjekte edildi.

3.3. İskemi ve Reperfüzyon Modeli Oluşturulması:

Denekler, 60 mg/kg ketamin-HCl (Ketasol %10, RichterPharma, Avusturya), 10 mg/kg ksilazin (Alfazyne %2, Alfasan, Hollanda) karıştırılarak hazırlanan anesteziğin intraperitonel uygulaması ile uyutuldu. Sıçanların abdominal bölgesi tıraş edildikten sonra batikon ile steril edildi. Orta hat üzerinden kesi alınarak karın içi organları görünür hale geldiğinde serum fizyolojik ile ıslatılmış steril gazlı bez üzerine çekildi. Sıvı kaybını önlemek amacıyla işlemlerin sonuna kadar organlar %0,9 izotonik sodyum klorür (Polifarma, Türkiye) ile ıslatıldı. Görünür hale getirilen renovasküler yataktan sol renal pedikül bulunarak disseke edildi. İR, MA, MA+10P gruplarının sol renal pedikülü 10-15 gr basınçlı, 45° açılı, tek kullanımlık mini bulldogklem (ScanlanVascu-Stat, ABD) ile klemlenerek 20 dk. boyunca iskemi uygulandı (Resim 1). Pulsasyonun durması ve böbreğin renk değişimi ile arteriel kan akımının kesildiği gözlemlendi. İskemi sonrası klem açılarak laparotomi insizyonu iç kısmı absorbe ipek iplikle, cilt kısmı absorbe olmayan ipek iplikle kapatıldı. 24 saat reperfüzyon sonrasında MA, MA+10P gruplarının 5 günlük tedavilerine başlandı.



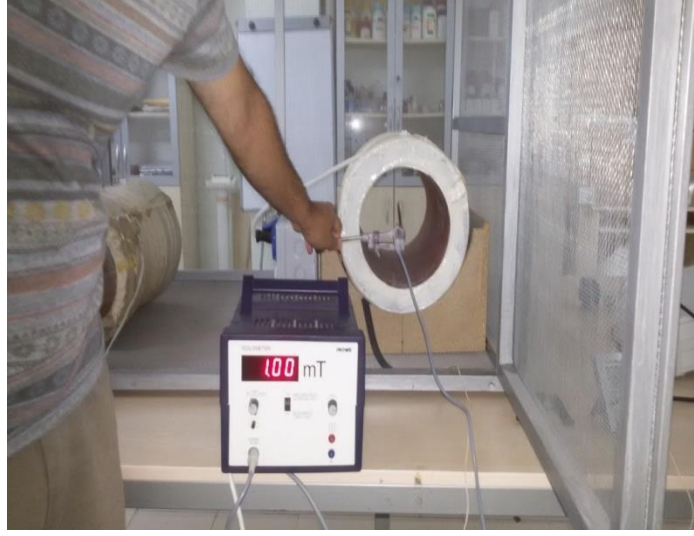
Resim 1. Klempin renal artere yerleştirilmesi

3.4. Pterostilben ve manyetik alan uygulaması:

MA, MA+10P gruplarındaki Wistar sıçanları 50 Hz'lik manyetik dalgalara manyetik alan şiddeti 1 mT olacak şekilde 5 gün boyunca günde 1 saat maruz bırakıldı (DellMonache, 2008). İki adet selenoid manyetik alanın çevreye zarar vermemesi adına faraday kafesi içerisine yerleştirildi. Teslametrenin (Phywe, Almanya) probu selenoidlerin orta noktasında tutularak manyetik alan şiddeti 1 mT'ya ayarlandı (Resim 2). Sıçanlar üçerli gruplar halinde delikli, pleksiglas kafeslere konularak 1 saat manyetik alana maruz bırakıldı. İç ve dış sıcaklık ölçer termometrenin probu selenoid içine konularak selenoid içi ve faraday kafesi dışı sıcaklık farkının 1°C'yi geçmemesine dikkat edildi (Resim 3). Bu nedenle, bir saatlik manyetik alan uygulamasını takiben selenoidler 1 saat kapatılarak sıcaklığın dengede tutulması sağlandı.

MA+10P grubu için pterostilben günlük olarak 10 mg/kg vücut ağırlığına karşılık gelecek dozlarda uygulandı (Satheesh, 2006). Her enjeksiyon günü, 10 mg pterostilben tartılarak DMSO içeren solüsyonda vortex yardımıyla çözüldü ve sıçanların vücut ağırlıklarına göre mg/kg oranında intraperitoneal olarak enjekte edildi (Manickam ve ark, 1997). Pterostilbenin verilmiş yolu literatüre bakılarak seçilmiş olup literatürde bu ajanının kullanıldığı çalışmalarda intraperitoneal enjeksiyon kullanıldığından bu uygulama metodu

seçilmiştir (Manickam ve ark, 1997; Satheesh, 2006). Tedavi sürecinde hayvanlar beşerli kafeslerde normal yem ve su ile beslendi.



Resim 2. Faraday kafesi içerisindeki selenoidlerin manyetik alan şiddetinin teslametre ile 1 *mT* olarak ölçülmesi



Resim 3. İç ve dış sıcaklık ölçer termometre

Beş gün uygulanan manyetik alan ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin ardından sıçanlara ketamin (70 *mg/kg*) ve ksilazin (10*mg/kg*) ile intraperitoneal anestezi yapıldı. Anestezi altındaki sıçanların kan örnekleri toplanarak EDTA içeren tüplere

konulup kan plazmaları ayrıldı. Sıçanlar anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Nefrektomi yapılarak tüm deneklerdeki her iki böbrek alındı. Yapılacak incelemeler için parçalara ayrılan böbrekler hızlıca sıvı azot içinde dondurularak çalışma zamanına kadar -80°C 'de saklandı.

3.5. FTIR Spektroskopik İncelemeler:

3.5.1. Böbrek dokusunun homejenizasyonu:

FTIR spektroskopik incelemeler için kullanılacak olan böbrek parçaları homojenize edildi. Homojenizasyon solüsyonu $0.2M$ fosfat tampon çözeltisi (pH 7.4), %1,15 (ağırlık/hacim) KCl, 5 mM EDTA, $0,2\text{ mM}$ PMSF, $0,2\text{ mM}$ DTT kullanılarak hazırlandı. Fosfat tampon çözeltisi hazırlanırken $0.2M$ monobazik sodyum hidrojen fosfat (NaH_2PO_4) ve dibazik sodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) solüsyonları kullanıldı. Saf su ile yıkanan böbrek dokusu örnekleri tartıldı, bistürüyle küçük parçalara ayrıldı. Böbrekler cam homojenizasyon tüpüne konuldu ve üzerlerine her 1 gr dokuya 4 ml olacak şekilde soğuk homojenizasyon solüsyonu eklendi. Tüp kırık buz içerisinde tutularak yüksek performanslı parçalayıcı (Ultra Turrax-25, IKA, Almanya) ile 11.000 rpm/dk devirde homojenize edildi. Tüm işlemler $0-4^{\circ}\text{C}$ de gerçekleştirildi. Ependorflara alınan homojenatlar 4100 rpm 'de 5 dakika santrifüj edilerek supernatantları ayrıldı ve pellet kısmındaki doku homojenatı FTIR spektroskopik incelemelerde kullanılmak üzere alındı.

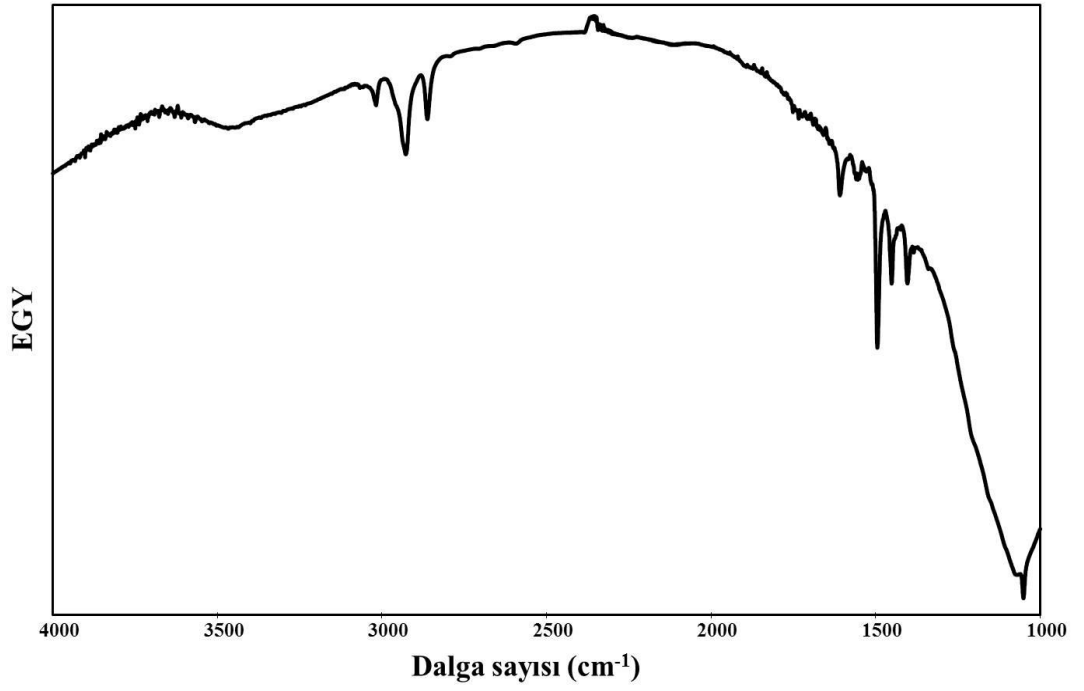
3.5.2. FTIR Spektroskopik İncelemeler ve Veri Analizi:

Tüm gruptaki böbrek homojenatlarından $20\text{ }\mu\text{l}$ homojenat, kızılötesi geçirgen özel kalsiyum florür (CaF_2) camları arasına konuldu ve camlar arasındaki boşluk $12\text{ }\mu\text{m}$ kalınlığında aralık kullanılarak sabit hale getirildi. Örnekler FTIR spektrometresine (Perkin Elmer Spectrum 100, A.B.D.) yerleştirildi (Resim 4). Örneklerin FTIR spektrumları oda sıcaklığında, $4000-650\text{ cm}^{-1}$ frekans aralığında, 2 cm^{-1} spektral çözünürlükte, 100 interferogramın ortalaması alınarak toplandı. FTIR spektrumları aynı şartlar altında her bir örnek için iki kez toplandı ve detaylı analizlerde bu iki spektrumun ortalaması kullanıldı. Çekim yapılan hava içerisindeki su buharı ve karbondioksit örneklerin spektrumları ile etkileşebileceğinden dolayı örneklere ait FTIR çekimlerinden önce havanın spekturumu

alınarak bu spektrum her örnek spekturumundan otomatik olarak çıkarıldı. Şekil 11’de havanın örnek spekturumu görülmektedir.



Resim 4. Perkin Elmer Spectrum 100 FTIR spektrometresi

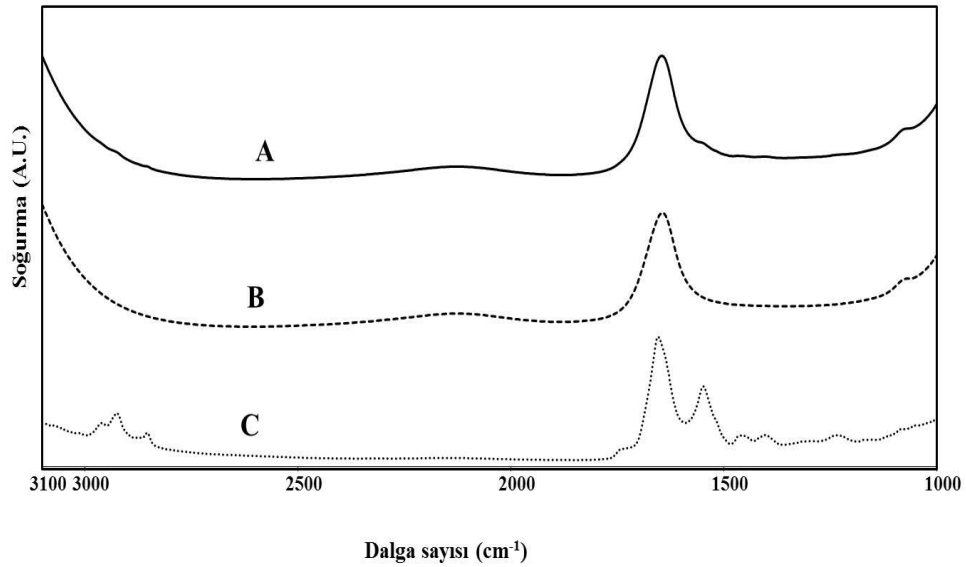


Şekil 11. Havanın spekturum örneği

FTIR spektrumları sıvı ortamda toplandığı için ortamdaki su elde edilen doku spektrumunu kapatmaktadır. Sıvı çekimlerinde homojenizasyon işlemine kullanan tampon çözeltisinde bulunan ve bantların çözünürlüğünü etkileyen suyun etkisinden kurtulmak için tampon çözeltisine ait olan spektrumlar örnek spektrumları ile aynı koşullarda farklı hacimlerde tampon çözelti kullanılarak toplandı. Uygun hacimdeki tampon çözelti spektrumu örneğe ait olan spektrumdan analiz programı aracılığıyla çıkarıldı. Şekil 12’ de tampon çözeltisi çıkartılmamış örneğin, tampon çözeltisinin ve tampon çözeltisi çıkartılmış örneğin spektrumları gösterilmiştir.

Spektrumların analizinde Perkin Elmer Spectrum Software programı kullanıldı. Öncelikli olarak tüm spektrumlar gürültüyü azaltmak amacıyla düzgünleştirildi. Daha sonrasında spektrumlarda yer alan bantların frekans değerleri maksimum soğurma tepe noktası yüksekliğinin %80’indeki genişliğin orta noktası alınarak belirlendi. Lipitlere ait olan C-H gerilim bölgesindeki bantların aynı noktadaki bant genişlikleri ölçüldü. Bunun yanı sıra, bantların altında kalan alanlar analiz programı aracılığıyla hesaplandı.

Detaylı spektral analizler tüm gruplara ait spektrumlar kullanılarak gerçekleştirildi ve gruplar birbirleri ile karşılaştırıldı.



Şekil 12. Tampon çözeltisine ait spekturumun örnek spekturumundan çıkartılması. A) Tampon çözeltisi çıkartılmamış örnek spekturumu B) Tampon çözeltisi spekturumu C) Tampon çözeltisi çıkartılmış örnek spekturumu

3.6. İstatistiksel Analiz:

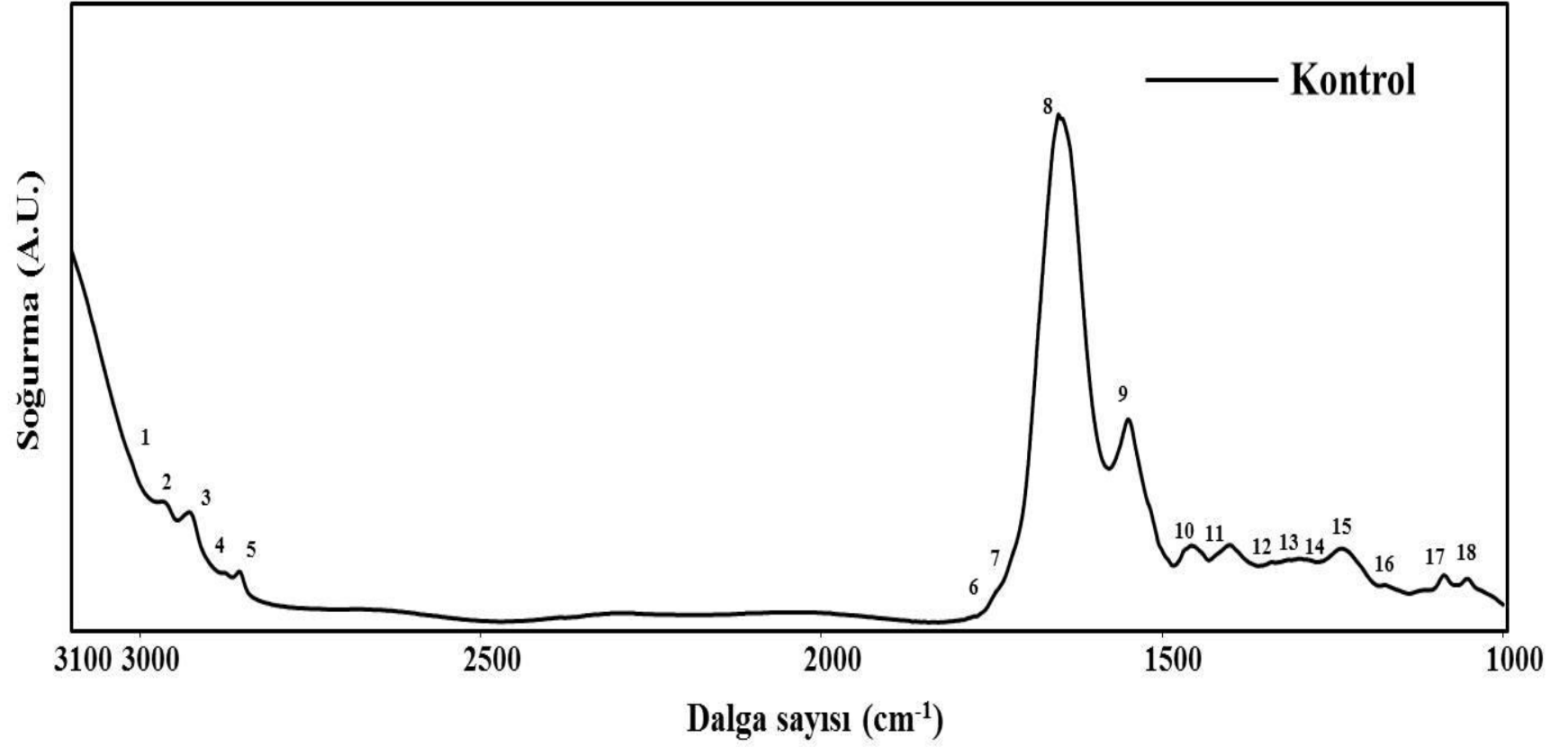
Elde edilen tüm veriler ortalama \pm standart hata şeklinde verildi. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Minitab 17 programında Anderson-Darling normalite testi uygulanarak belirlendi. Yapılan analiz sonucu verilerin normal dağılıma uyduğu saptanarak istatistiksel değerlendirme için tek yönlü varyans (One-way ANOVA) analizi ve artçı test olarak Tukey testi kullanılarak tüm gruplar birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Bu analiz GraphPadPrism 6 programı kullanılarak uygulandı. İstatistiksel anlamlılık $*p \leq 0,05$; $**p \leq 0,01$; $***p \leq 0,001$ şeklinde ifade edildi. Bu karşılaştırılma sonrasında istatistiksel anlamlılık derecesi gösterilirken kontrol grubuna göre olan istatistiksel anlamlılık * işareti ile, İR grubuna göre olan istatistiksel anlamlılık † işareti ile, IR+MA grubuna göre olan istatistiksel anlamlılık ‡ işareti ile gösterilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Böbrek Doku FTIR Spektrumu ve Bant Tanımları

Bu çalışmada, iskemi ve reperfüzyona bağlı böbrek dokusu makromoleküler bileşenlerinde meydana gelen içeriksel, yapısal ve fonksiyonel değişimleri tespit etmek, ayrıca manyetik alan ve manyetik alanla birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin böbrek dokusunda iskemi ve reperfüzyonun yol açtığı hasar üzerindeki tedavi edici etkilerini gözlemek amacıyla Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektroskopisi incelemeleri yapılmıştır.

Moleküllerdeki değişik fonksiyonel gruplar FTIR spektrumunda karakteristik soğurma bantları oluşturmaktadır (Mantsch, 1984; Diem ve ark, 1999; Cakmak ve ark, 2006; Ozek ve ark, 2009; Bozkurt ve ark, 2010; Ozek ve ark, 2010). Şekil 12' de kontrol böbrek doku homojenatına ait 3100-1000 cm^{-1} frekans aralığındaki örnek spektrumu görülmektedir. Şekilde de görülebildiği gibi böbrek dokusu spektrumu çok sayıda bant içermektedir. Şekil 13' de numaralandırılmış olan bantların tanımları literatüre bakılarak belirlenmiş ve Tablo 1' de gösterilmiştir.



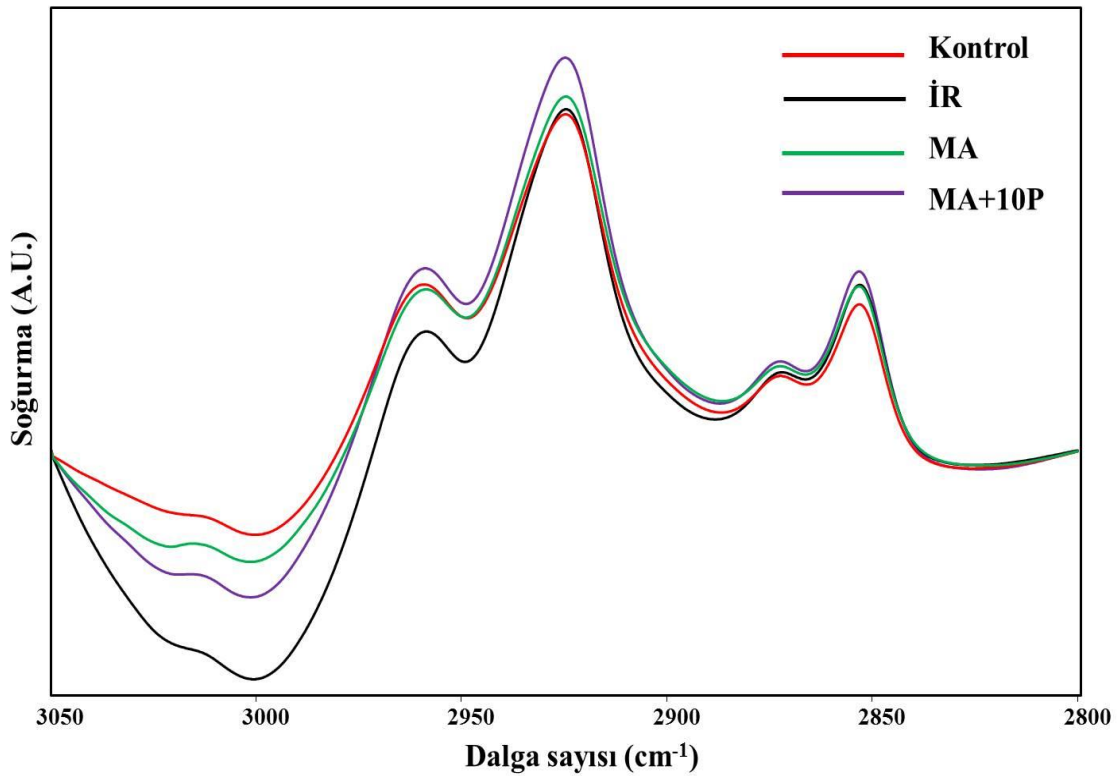
Şekil 13. 3100-1000 cm^{-1} frekans aralığındaki örnek kontrol böbrek homojenatı spektrumu

Tablo 1. Böbrek dokusunun 3100-1000 cm^{-1} bölgesindeki başlıca kızılötesi spekturumu soğurulma bantları ve bu bantların literatüre göre belirlenen bant tanımları

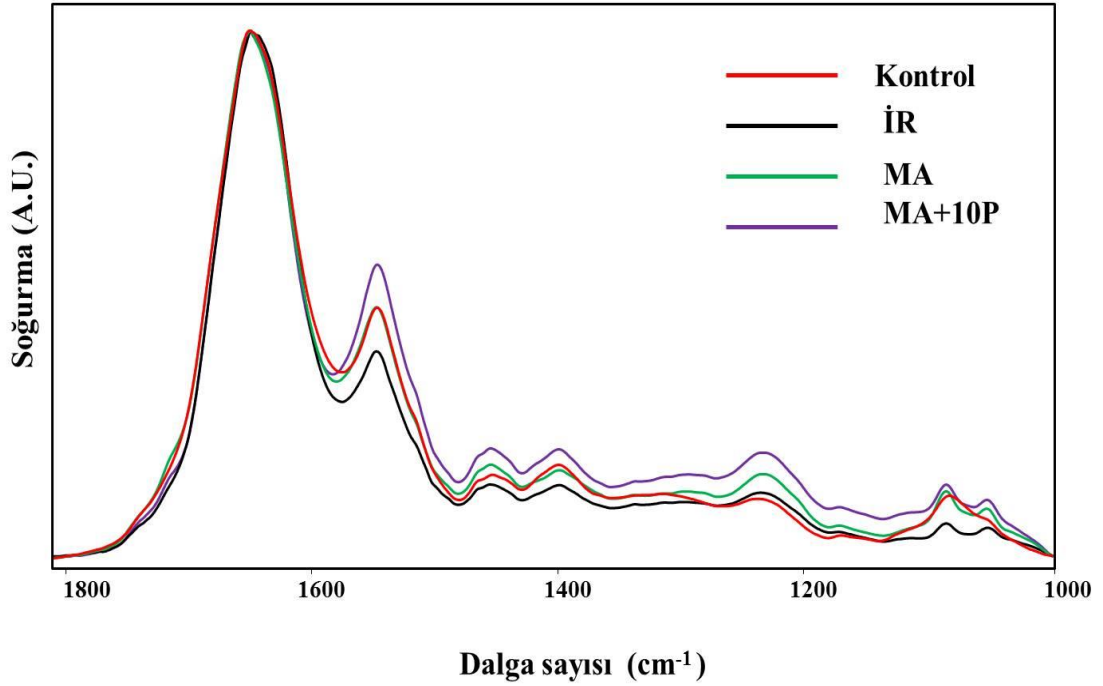
Bant No	Dalga Sayısı (cm^{-1})	Tanım
1	3014	Olefinik =CH : Doymamış lipitler (Severcan ve ark, 2005)
2	2962	CH₃ antisimetrik gerilim: Lipitler ve protein yan zincirleri (Szalontai, 2009; Severcan ve ark, 2010)
3	2925	CH₂ antisimetrik gerilim: Çoğunlukla lipitler (Cakmak ve ark,2006; Severcan ve ark, 2010)
4	2873	CH₃ simetrik gerilim: Çoğunlukla proteinler (Cakmak ve ark,2006; Severcan ve ark, 2010)
5	2854	CH₂ simetrik gerilim: Çoğunlukla lipitler (Cakmak ve ark,2006)
6	1738	Ester C=O gerilim: Lipit kolesterol ester grupları (Kneipp ve ark, 2000; Nara ve ark, 2002)
7	1713	C=O gerilim: Serbest yağ asitleri (Nara ve ark, 2002)
8	1650	Amid I: Protein, %80 C=O gerilim, %10 N-H bükülme, %10 C-N gerilim (Haris ve Severcan, 1999)
9	1545	Amid II: Protein, %60 N-H bükülme, %40 C-N gerilim (Haris ve Severcan, 1999)
10	1455	CH₂ bükülme: Çoğunlukla lipitler (Cakmak ve ark, 2006; Özek ve ark, 2010)
11	1401	COO⁻ simetrik gerilim: Yağ asitleri ve protein yan zincirleri (Cakmak ve ark, 2006)
12	1340	CH₂ sallanma: Kolejen yan zincir titreşimleri (Fujioka ve ark, 2004)
13	1317	Amid III : Protein bant bileşenleri , kolajen (Movasaghi ve ark, 2008)
14	1283	Kolejen (Movasaghi ve ark, 2008)
15	1234	PO₂⁻ antisimetrik gerilim, hidrojen bağı: Çoğunlukla nükleik asitler, az miktarda fosfolipitler (Özek ve ark, 2010)
16	1170	CO-O-C antisimetrik gerilim: Kolesterol esterlerin ester bağları (Stuart , 2004)
17	1084	PO₂⁻ simetrik gerilim: Çoğunlukla nükleik asitler ve az miktarda fosfolipitler (Akkas ve ark, 2007)
18	1049	vC-O + δC-O gerilim: Glikojen (Cakmak ve ark, 2006)

4.2. Deney Gruplarına Ait FTIR Spektrumları

Çalışmada elde edilen FTIR spektrumları $3050-2800\text{ cm}^{-1}$ frekans aralığındaki lipit C-H bölgesi ve $1800-1000\text{ cm}^{-1}$ frekans aralığındaki parmak izi bölgesi olmak üzere iki temel bölgede incelenmiştir. Şekil 14 ve 15’de kontrol, iskemi reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait olan FTIR spektrumları sırasıyla $3050-2800\text{ cm}^{-1}$ ve $1800-1000\text{ cm}^{-1}$ frekans aralıklarında görülmektedir. Şekillerde de görüldüğü gibi FTIR spektrumlarında görülen bantlarda gruplar arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıklar detaylı spektral analizler uygulanarak incelenmiştir.



Şekil 14. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait olan $3050-2800\text{ cm}^{-1}$ frekans aralığındaki örnek FTIR spektrumları. Spektrumlar amid I bandına göre normalize edilmiştir.



Şekil 15. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait olan 1800-1000 cm^{-1} frekans aralığındaki örnek FTIR spektrumları. Spektrumlar amid I bandına göre normalize edilmiştir.

4.3. FTIR Spektrumlarından Elde Edilen Detaylı Spektral Analiz Sonuçları

FTIR spektrumunda yer alan değişik bölgelerdeki bantlardaki frekans kaymaları, belirli bant genişliğindeki değişimler ve sinyal şiddetlerindeki ve/veya alanlarındaki değişimler, sistemdeki çeşitli moleküllerin yapı, içerik ve dinamik özellikleri hakkında bilgi elde etmede kullanılır (Alo ve ark, 1998; Freifelder, 1982). Bu nedenle, elde edilen spektrumlar üzerinde detaylı spektral analizler gerçekleştirilmiştir.

FTIR spektrumundaki bantlarda gözlenen frekans kaymaları yapısal değişimleri gözlemekte kullanılabilir (Mantsch, 1984). Tablo 2’de kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait FTIR spektrumlarında yer alan bantların frekans değerlerindeki değişimler görülmektedir. Şekil 16’da ise tüm grupların FTIR spektrumlarında bulunan CH_3 antisimetrik gerilim, CH_2

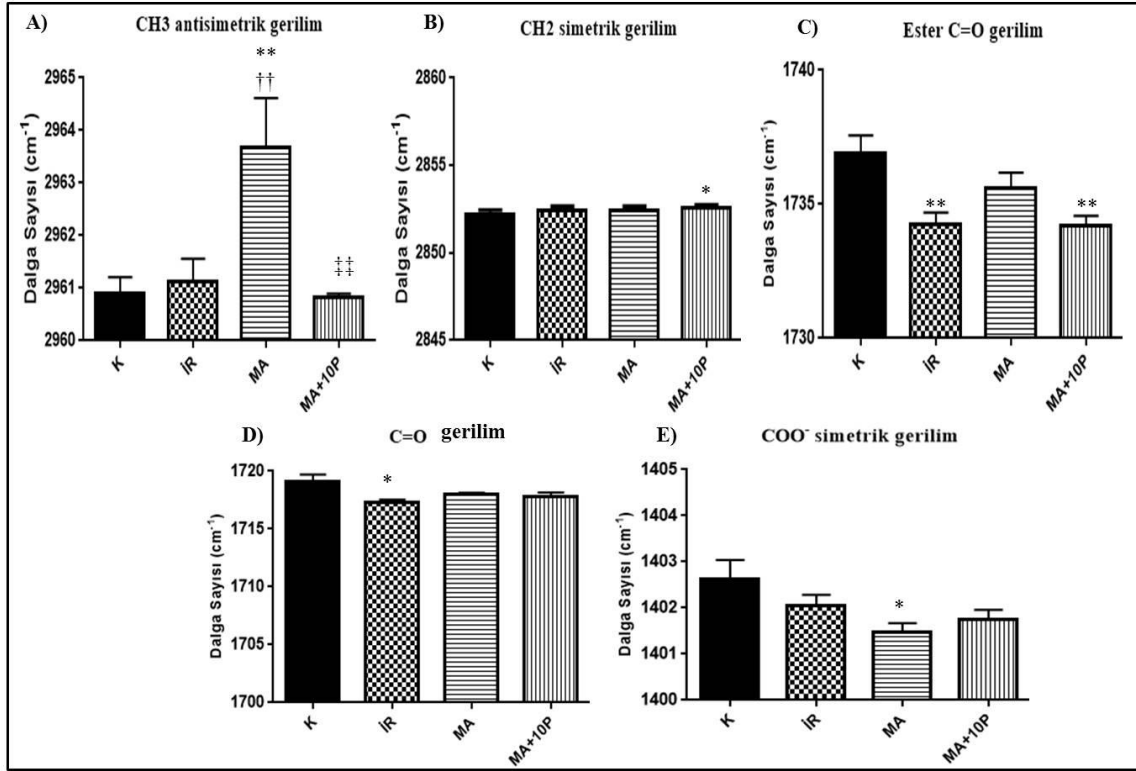
simetrik gerilim, ester C=O gerilim, yağ asitlerinden kaynaklanan C=O gerilim ve COO⁻ simetrik gerilim bantları dalga sayılarındaki değişimler detaylı olarak gösterilmektedir.

FTIR spektrumunun 3100-2800 cm^{-1} frekans bölgesinde bulunan CH₂ antisimetrik, CH₂ simetrik ve CH₃ antisimetrik gerilme titreşimlerinin bant şiddetleri veya band alanları ağırlıklı olarak sistemdeki lipit miktarı, CH₃ simetrik gerilme titreşimlerinin bant şiddeti/alanı ise sistemdeki protein miktarları hakkında bilgi vermektedir (Mantsch, 1984; Severcan ve ark, 2000; Severcan ve ark, 2010; Bozkurt ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011). Membrandaki lipitler hakkında yapısal bilgi veren parametreler düzen (order) ve düzensizlik (disorder), parametreleridir. Bu parametreler özellikle FTIR spektrumunda yer alan CH₂ antisimetrik ve simetrik gerilim modu frekans (veya dalgasayısı) değerindeki değişim ile tespit edilebilir (Casal ve Mantsch, 1984). CH₃ antisimetrik gerilme modu frekans değerindeki değişimler ise membranın iç bölgelerindeki düzen ve/veya düzensizlik hakkında bilgi edinmek için kullanılabilir (Takahashi ve ark, 1991). Bu çalışmanın sonuçlarına göre CH₃ antisimetrik bandı frekansı iskemi-reperfüzyon uygulaması ve manyetik alan tedavisi ile yüksek değerlere kaymış ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisi yüksek değere olan bu kaymayı tekrar kontrol grubu değerine düşürmüştür. Bu sonuç, membranın iç bölgelerinde iskemi ve reperfüzyon ile düzensizlik oluştuğu ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin oluşan membran düzensizliğini önlemede rolü olduğunu gösterir. CH₂ simetrik bandının frekansında ise manyetik alan-pterostilben tedavi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış vardır. Ayrıca ester C=O gerilim bandı frekansı manyetik alan tedavi grubunda iskemi grubuna göre yüksek değerlere kaymıştır. Bu gerilim titreşim modu hidrojen bağlanması ya da polarite gibi ester C=O bağı çevresindeki değişimlerden sorumludur (Arrondo ve Goni, 1998). Yağ asitlerinden kaynaklanan C=O gerilim bandı frekansı manyetik alan ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavi gruplarında iskemi grubuna göre biraz daha yükselmiştir. Amino asit ve yağ asidi yan zincirleri titreşimlerinden sorumlu COO⁻ simetrik gerilim bant frekans değerleri (Cakmak ve ark, 2006) tedavi gruplarında düşüş göstermiştir.

Tablo 2.Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki bantların dalga sayılarındaki değişimler.

BANT NO	DALGA SAYISI (cm^{-1})	BANT DALGA SAYILARI			
		KONTROL (n=9)	İR (n=10)	MA (n=7)	MA+P10 (n=8)
1	3014	3012,308 ± 0,11	3012,906 ± 0,31	3012,547 ± 0,21	3012,218 ± 0,13
2	2962	2960,894 ± 0,29	2961,137 ± 0,40	2963,666 ± 0,88 ^{**,††}	2960,836 ± 0,06 [‡]
3	2925	2922,579 ± 0,06	2922,7 ± 0,05	2922,774 ± 0,08	2922,689 ± 0,05
4	2873	2872,927 ± 0,07	2873,106 ± 0,07	2873,266 ± 0,15	2872,984 ± 0,06
5	2854	2852,20 ± 0,08	2852,44 ± 0,06	2852,46 ± 0,06	2852,54 ± 0,06 [*]
6	1738	1736,92 ± 0,60	1734,25 ± 0,42 ^{**}	1735,61 ± 0,53	1734,19 ± 0,35 ^{**}
7	1713	1719,07 ± 0,60	1717,30 ± 0,24 [*]	1717,96 ± 0,12	1717,81 ± 0,33
8	1650	1648,11 ± 0,43	1647,57 ± 0,17	1648,25 ± 0,39	1647,82 ± 0,26
9	1545	1549,92 ± 0,39	1549,48 ± 0,27	1549,91 ± 0,21	1549,52 ± 0,48
10	1455	1456,33 ± 0,37	1456,79 ± 0,17	1456,56 ± 0,42	1456,81 ± 0,20
11	1401	1402,63 ± 0,39	1402,06 ± 0,21	1401,47 ± 0,19 [*]	1401,76 ± 0,19
12	1340	1340,89 ± 0,30	1340,77 ± 0,26	1340,58 ± 0,25	1340,68 ± 0,23
13	1317	1317,22 ± 0,16	1317,76 ± 0,22	1318,10 ± 0,22	1318,12 ± 0,28
14	1283	1283,32 ± 0,40	1282,69 ± 0,22	1282,30 ± 0,16	1282,31 ± 0,19
15	1234	1237,86 ± 0,92	1236,25 ± 0,46	1236,44 ± 0,74	1237,57 ± 0,61
16	1170	1173,10 ± 0,07	1173,12 ± 0,09	1173,47 ± 0,12	1173,27 ± 0,10
17	1084	1084,26 ± 0,54	1085,40 ± 0,31	1084,99 ± 0,20	1085,14 ± 0,24
18	1049	1052,33 ± 0,28	1051,81 ± 0,33	1052,33 ± 0,47	1050,90 ± 0,65

Veriler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi ile tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuna göre anlamlılık * işareti ile, iskemi ve reperfüzyon grubuna göre anlamlılık † işareti ile, manyetik alan grubu ile anlamlılık ‡ işareti ile gösterilmiştir. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).



Şekil 16. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki A) CH₃ antisimetrik gerilim B) CH₂ simetrik gerilim C) ester C=O gerilim D) C=O gerilim E) COO⁻ simetrik gerilim bantları dalga sayılarındaki değişimler. Veriler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi ile tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuna göre anlamlılık * işareti ile, iskemi ve reperfüzyon grubuna göre anlamlılık † işareti ile, manyetik alan grubu ile anlamlılık ‡ işareti ile gösterilmiştir. (*p< 0,05, **p< 0,01, ***p< 0,001).

FTIR bantlarının sinyal şiddetleri ve/veya bu bantların altında kalan alan değerleri, adı geçen fonksiyonel grubun konsantrasyonu hakkında bilgi vermektedir (Freifelder, 1982; Liu ve ark, 2002; Severcan ve ark, 2005; Bozkurt ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2006). Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki bantların altında kalan alan değerlerindeki değişimler Tablo 3'de görülmektedir. Bu bant alanı değerlerinden

istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilen CH_2 antisimetrik gerilim, PO_2^- antisimetrik gerilim ve C-O gerilim bantların alan değerlerindeki değişimler daha detaylı olarak Şekil 17'de gösterilmiştir.

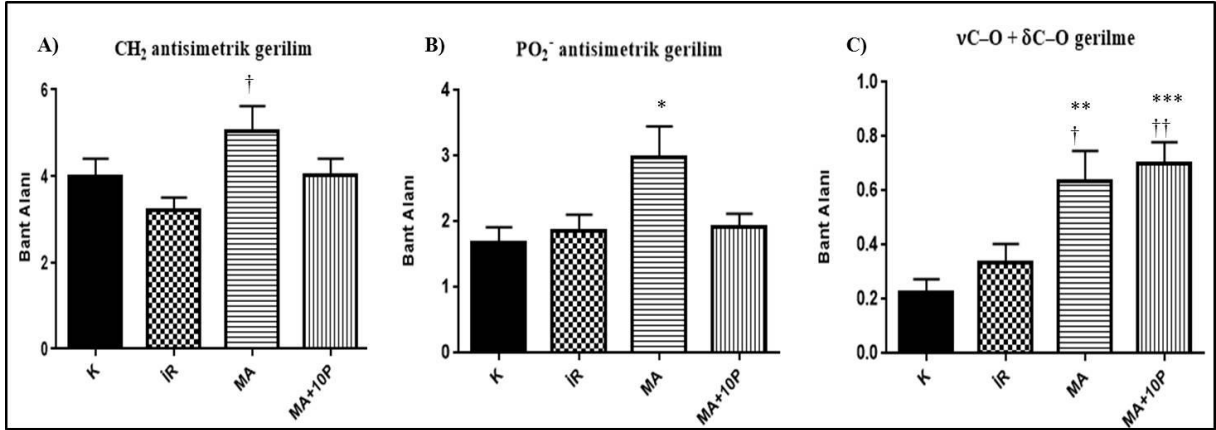
Yaklaşık 3014 cm^{-1} frekans değerlerinde görülen ve doymamış lipitlerden kaynaklanan (Cakmak ve ark, 2006; Bozkurt ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011) olefinik ($\text{HC}=\text{CH}$) bandı alan değerinin iskemi-reperfüzyon grubunda bir azalma gösterirken tedavi gruplarında bu bandın alanının arttığı bulunmuştur. Fakat elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmemiştir. FTIR spektrumunda lipit moleküllerinden kaynaklanan CH_3 antisimetrik, CH_2 antisimetrik ve simetrik, C=O ester gerilim, CH_2 bükülme ve COO^- simetrik gerilim titreşim bantlarının alanlarında iskemi-reperfüzyon grubunda bir azalma görülmüştür. Bu lipit bant alan değerleri manyetik alan tedavi grubunda artarken, bu artışın manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavi grubunda kontrol grubu bant alan değerlerine daha çok yaklaştığı gözlenmiştir. Özellikle CH gerilim titreşimleri bölgesindeki çoğunlukla lipitlerin oluşturduğu CH_2 antisimetrik gerilim titreşim modu (Cakmak ve ark, 2006; Severcan ve ark, 2010) altında kalan alan iskemi grubu ile karşılaştırıldığında manyetik alan tedavi grubunda anlamlı bir artış göstermiştir ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavi grubunda kontrol grubu bant alan değerleri ile hemen hemen aynı seviyededir.

Protein içeriğini gösteren 1650 cm^{-1} frekans değerlerinde görülen amid I ve 1545 cm^{-1} frekans değerlerinde görülen amid II bant alanları iskemi-reperfüzyon grubunda anlamlı olmayan bir azalma görülürken, manyetik alan ve manyetik alanla birlikte uygulanan pterostilben tedavilerinde ise protein miktarını yine anlamlı olmayan bir artım olduğu bulunmuştur. FTIR spektrumunda yaklaşık 1234 ve 1084 cm^{-1} frekans değerlerinde görülen PO_2^- antisimetrik ve simetrik gerilim bandı çoğunlukla nükleik asitler ve az miktarda fosfolipitlerin fosfat gruplarından kaynaklanmaktadır (Akkas ve ark,2007). PO_2^- antisimetrik gerilim bant iskemi grubu ile karşılaştırıldığında manyetik alan tedavi grubunda anlamlı bir artış göstermiştir ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavi grubunda kontrol grubu bant alan değerlerine yaklaşıştır. Glikojen makromolekülleri kaynaklı C-O gerilim (Cakmak ve ark, 2006) bant alanları her iki tedavi grubunda iskemi grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır. Bant alanlarındaki bu değişimler, manyetik alan tedavi grubu ve manyetik alanla birlikte uygulanan pterostilben tedavi grubunda lipit ve glikojen makromolekülleri konsantrasyonlarına paralel olarak miktarlarının arttığını işaret etmektedir.

Tablo 3. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki bantların alanlarındaki değişimler.

BANT NO	DALGA SAYISI (cm^{-1})	BANT ALANLARI			
		KONTROL (n=9)	İR (n=10)	MA (n=7)	MA+P10 (n=8)
1	3014	3,94 ± 0,74	2,52 ± 0,33	4,00 ± 0,55	4,23 ± 0,56
2	2962	3,98 ± 0,55	2,85 ± 0,31	4,06 ± 0,48	4,27 ± 0,46
3	2925	3,99 ± 0,39	3,20 ± 0,28	5,05 ± 0,52 [†]	4,02 ± 0,36
4	2873	0,75 ± 0,07	0,82 ± 0,08	0,85 ± 0,08	0,78 ± 0,06
5	2854	1,02 ± 0,09	0,83 ± 0,07	1,17 ± 0,12	1,19 ± 0,10
6	1738	0,65 ± 0,08	0,47 ± 0,05	0,63 ± 0,06	0,73 ± 0,12
7	1713	1,35 ± 0,21	0,96 ± 0,11	1,17 ± 0,13	1,37 ± 0,15
8	1650	31,69 ± 5,76	28,22 ± 2,67	37,31 ± 4,65	33,89 ± 3,32
9	1545	8,95 ± 0,93	8,85 ± 0,80	12,71 ± 1,48	9,20 ± 0,59
10	1455	2,04 ± 0,22	1,91 ± 0,19	2,83 ± 0,34	2,06 ± 0,15
11	1401	2,50 ± 0,26	2,21 ± 0,22	3,24 ± 0,37	2,28 ± 0,20
12	1340	0,68 ± 0,08	0,59 ± 0,07	0,92 ± 0,11	0,64 ± 0,09
13	1317	0,48 ± 0,06	0,46 ± 0,05	0,67 ± 0,08	0,47 ± 0,06
14	1283	0,89 ± 0,11	0,77 ± 0,09	1,24 ± 0,16	0,80 ± 0,10
15	1234	1,67 ± 0,23	1,87 ± 0,23	2,97 ± 0,44 [*]	1,92 ± 0,19
16	1170	0,12 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,17 ± 0,03	0,13 ± 0,01
17	1084	0,19 ± 0,07	0,10 ± 0,03	0,30 ± 0,06	0,17 ± 0,04
18	1049	0,23 ± 0,04	0,34 ± 0,06	0,63 ± 0,11 ^{**†}	0,70 ± 0,07 ^{***††}

Veriler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi ile tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuna göre anlamlılık * işareti ile, iskemi ve reperfüzyon grubuna göre anlamlılık † işareti ile, manyetik alan grubu ile anlamlılık ‡ işareti ile gösterilmiştir. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).



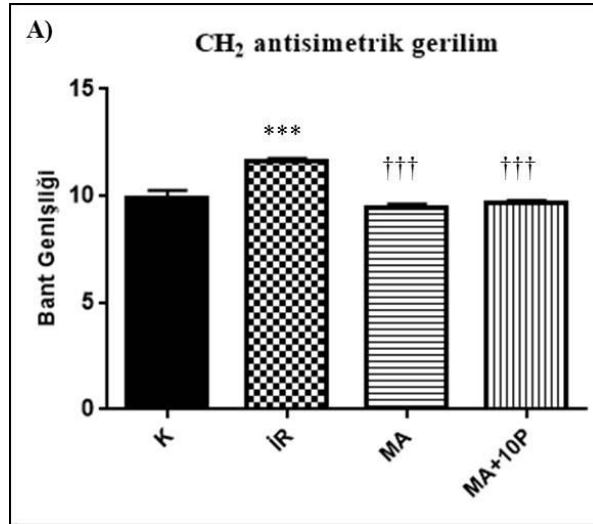
Şekil 17. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki A) CH₂ antisimetrik gerilim, B) PO₂⁻ antisimetrik gerilim, C) C-O gerilim bantların alan değerlerindeki değişimler. Veriler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi ile tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuna göre anlamlılık * işareti ile, iskemi ve reperfüzyon grubuna göre anlamlılık † işareti ile, manyetik alan grubu ile anlamlılık ‡ işareti ile gösterilmiştir. (*p< 0,05, **p< 0,01, ***p< 0,001).

Tüm gruplara ait FTIR spektrumlarındaki bazı bantların bant genişlikleri ise Tablo 4’de verilmiştir. CH₃ antisimetrik gerilim, CH₂ antisimetrik ve CH₂ simetrik gerilim titreşimlerinin bant genişlikleri dokudaki membran yapılarındaki lipitlerin dinamiği hakkında bilgi vermektedir (Toyran ve Severcan, 2003). Bant genişliğinde gerçekleşen azalma membran lipit yapılarındaki dinamiğin azaldığını göstermektedir (Kazancı ve Severcan, 2007; Şahin ve ark, 2007). CH₂ antisimetrik bant genişliğinde iskemi-reperfüzyon ile kontrole göre anlamlı bir artım gözlenmiştir (p<0,001). Manyetik alan ve manyetik alan-pterostilben tedavi gruplarında ise bu bantın bant genişliği değeri iskemi ve reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak azalmış ve kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır (Şekil 18, Tablo 4). Bu sonuç, manyetik alan ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin membran lipitlerinin akışkanlığını azalttığını göstermektedir.

Tablo 4. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki bazı bantların bant genişliklerindeki değişimler.

BANT NO	DALGA SAYISI (cm^{-1})	BANT GENİŞLİKLERİ			
		KONTROL (n=9)	İR (n=10)	MA (n=7)	MA+P10 (n=8)
2	2962	10,95 ± 1,44	11,63 ± 0,66	9,69 ± 0,18	9,22 ± 0,83
3	2925	9,88 ± 0,35	11,63 ± 0,12***	9,42 ± 0,19†††	9,64 ± 0,14†††
5	2854	9,84 ± 0,37	10,79 ± 0,53	9,62 ± 0,25	10,20 ± 0,27

Veriler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi ile tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuna göre anlamlılık * işareti ile, iskemi ve reperfüzyon grubuna göre anlamlılık † işareti ile, manyetik alan grubu ile anlamlılık ‡ işareti ile gösterilmiştir. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).



Şekil 18. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki CH₂ antisimetrik gerilim bant genişliği değerindeki değişimler. Veriler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi ile tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuna göre anlamlılık * işareti ile, iskemi ve reperfüzyon

grubuna göre anlamlılık † işareti ile, manyetik alan grubu ile anlamlılık ‡ işareti ile gösterilmiştir. (*p< 0,05, **p< 0,01, ***p< 0,001).

FTIR spektrumunda görülen bazı bantların altında kalan alanların oranlanması ile gruplar arası alan oranı değişimleri belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 5’de verilmiştir (Şekil 19). Bu oranlar çalışmadaki deney gruplarına ait böbrek dokularındaki lipid/protein oranının, lipid hidrokarbon zincir uzunluklarının, dokulardaki protein ve lipid miktarındaki değişiminin, lipidlerdeki karbonil grubu miktarının, total lipid içeriğindeki doymamış lipid miktarının, doymamış/doymuş lipid oranının, lipidlerdeki etil ve metil gruplarının miktarının, doku proteinindeki yapısal değişikliklerin tayininde kullanılmıştır (Çakmak ve ark, 2011; Çakmak ve ark, 2012; Şen ve ark, 2015). Bu alan oranlarının bazılarının hesaplanmasında kullanılan total lipid miktarı lipidlerden kaynaklı olefinik (HC=CH), CH₂ antisimetrik, CH₂ simetrik, CH₃ antisimetrik gerilim, COO⁻ simetrik gerilim, CO-O-C antisimetrik gerilim titreşimlerine ve CH₂ bükülme titreşimine ait bant alanlarının toplamından elde edilmiştir.

Membran yapısını ve dinamiğini en çok etkileyen faktörler içerdikleri protein ve lipid miktarıdır. Bu miktarlar toplam lipid/protein oranıyla yani toplam lipid bant alanlarının amid I ya da amid II bant alanına bölünmesiyle belirlenebilir (Szalontai ve ark, 2000). Ayrıca CH₂ simetrik gerilim bant alanının CH₃ simetrik gerilim bant alanına oranı da lipid / protein miktarlarının saptanmasında kullanılabilir. Toplam lipid/ protein oranının iskemi-reperfüzyon grubunda kontrole göre azaldığı, manyetik alan-pterostilben tedavi grubunda ise iskemi ve reperfüzyon grubuna göre anlamlı bir şekilde (p<0,05) arttığı görülmektedir. CH₂ simetrik gerilim/CH₃ simetrik gerilim bant alan oranı ile elde edilen lipid/protein oranı da benzer sonuçlar vermiş, iskemi-reperfüzyon ile azalan lipid/protein oranı manyetik alan-pterostilben tedavisi ile diğer tüm çalışma gruplarına göre anlamlı olarak artmıştır. Sadece manyetik alan tedavisi de lipid/protein oranını iskemi ve reperfüzyon grubuna göre anlamlı olarak (p<0,001) artırmıştır.

FTIR spektrumunda görülen amid I bandı %80 oranında C=O gerilim, %10 oranında N-H bükülme ve %10 oranında C-N gerilim titreşimlerinden, amid II bandı ise %60 oranında N-H bükülme ve %40 oranında C-N gerilim titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Haris ve Severcan, 1999). Bu nedenle, amid I bant alan değerinin amid II bant alan değerine oranlanması ile elde edilen amid I/amid II oranındaki değişim protein kompozisyonundaki değişimleri belirlemek amacıyla kullanılabilir (Melin ve ark, 1999). Amid I/amid II bant alanı oranında iskemi-reperfüzyon ve manyetik alan tedavi gruplarında bir azalma görülürken bu

oran manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavi grubunda artmıştır. Bu oranda gözlenen değişimler protein yapısındaki değişimler olduğuna işaret etmektedir.

CH₂ antisimetrik gerilim bant alanının CH₃ antisimetrik gerilim bant alanına oranı lipitlerdeki hidrokarbon zincir uzunlukları ile ilgili bilgi vermektedir. Bu oranın değerinin artması membran yapısında daha uzun zincir uzunluğuna sahip lipitlerin görüldüğünü göstermektedir (Wang ve Zhang, 2005). Bu oran hesaplandığında, iskemi-reperfüzyon ve manyetik alan tedavi gruplarında artış gözlenirken, manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavi grubunda ise CH₂ antisimetrik / CH₃ antisimetrik gerilim bant alan oranının manyetik alan tedavi grubuna göre anlamlı olarak azaldığı ve kontrol grubu değerlerine yaklaştığı gözlenmiştir.

Doymamış lipitlerden kaynaklanan olefinik (HC=CH) bant alanının, doymamış lipitlerin toplam bant alanına oranıyla membrandaki doymamış lipitlerin doymuş lipitlere oranı hesaplanabilmektedir (Gasper ve ark, 2009). Bu oran iskemi-reperfüzyon grubunda kontrole göre azalmış, manyetik alan tedavisi ile biraz artmıştır. Manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisi ile bu oranın arttığı ve kontrol grubu değerlerine yaklaştığı gözlenmiştir. Doymamış lipitlerin tüm lipit yapıları içerisindeki oranı gösteren olefinik/total lipit alan oranı sonuçlarında da benzer değişim gözlenmiştir. Fakat gözlenen bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

C=O ester gerilim/total lipit oranı lipitlerdeki karbonil grup miktarını, CH₂ antisimetrik gerilim/total lipit oranı lipitlerdeki etil grup miktarını, CH₃ antisimetrik gerilim/total lipit oranı ise lipitlerdeki metil grup miktarını gösterir (Cakmak ve ark, 2011). Metil grup miktarında iskemi-reperfüzyon grubunda kontrole göre anlamlı olmayan ve manyetik alan tedavi grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,01) bir azalma gözlenmiştir. Manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavi grubunda lipitlerdeki metil grubu miktarında bir artış gözlenmiş ve tedavi ile metil grup miktarının kontrol grubu seviyesine geldiği bulunmuştur. Lipitlerde bulunan etil gruplarının miktarının gözlendiği CH₂ antisimetrik gerilim/total lipit oranı değerlerinin iskemi-reperfüzyon ve manyetik alan tedavi gruplarında anlamlı olmayan bir artım gösterdiği, manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin ise bu oran değerini kontrol grubuna yaklaştırdığı bulunmuştur. Lipitlerdeki karbonil içeriğinde ise gruplar arası anlamlı bir değişim gözlenmemiştir.

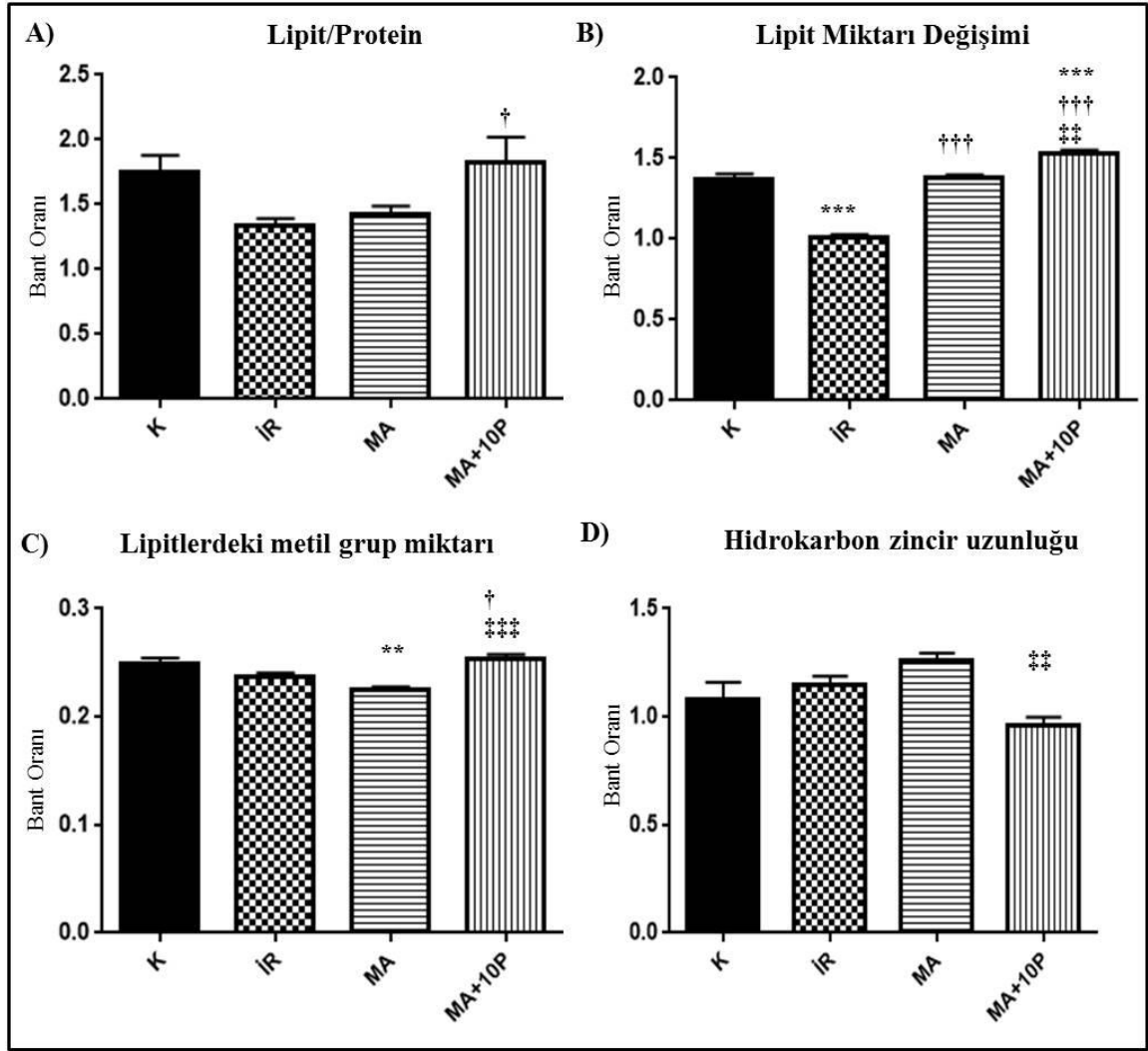
Büyük oranda nükleik asitlerin fosfat gruplarından ve daha az miktarda fosfolipitlerin kafa gruplarından kaynaklanan PO₂⁻ simetrik gerilim (Rigas ve ark, 1990; Dovbeshko ve ark, 2000) bant alanının amid I bant alanına oranlanması ile elde edilen nükleik asit / protein oranı nükleik asit ve proteinlerin birbirine göre değişimlerini gözlemek için kullanılabilir. FTIR

spektrumunda yer alan glikojen moleküllerinden kaynaklı $\nu\text{C-O} + \delta\text{C-O}$ gerilim bandı alan değerinin PO_2^- simetrik gerilim bandı alan değerine oranlanması ile doku içeriğindeki metabolik aktiviteyi gösteren karbonhidrat moleküllerinin çevrimi hakkında bilgi elde edilebilir (Ozek ve ark, 2010; Salman ve ark, 2002; Ramesh ve ark, 2009; Sen ve ark, 2015). Bu bant oranının iskemi ve reperfüzyon grubunda anlamlı olmayan bir şekilde arttığı, tedavi gruplarında bu oranın azaldığı ve özellikle manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinde bu oranın çok daha etkin bir şekilde azaldığı gözlenmiştir.

Tablo 5. Kontrol, iskemi-reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki bazı bantların alan değerlerinin oranlanması ile elde edilen bant alan oranlarındaki değişimler.

BANT ALANLARI ORANLARI	KONTROL (n=9)	İR (n=10)	MA (n=7)	MA+P10 (n=8)
Total lipit/amid II (Toplam lipit/protein)	1,75±0,13	1,34±0,05	1,42±0,06	1,83±0,18 [†]
CH ₂ simetrik gerilim/CH ₃ simetrik gerilim (Lipit/protein)	1,37±0,03	1,01±0,01 ^{***}	1,38±0,01 ^{†††}	1,53±0,02 ^{***,†††,‡‡}
CH ₂ antisimetrik gerilim/CH ₃ antisimetrik gerilim (Hidrokarbon zincir uzunluğu)	1,08±0,08	1,15±0,04	1,26±0,03	0,96±0,03 ^{‡‡}
CH ₂ bükülme/CH ₂ antisimetrik gerilim+CH ₂ simetrik gerilim (Lipit içeriğindeki değişim)	0,41±0,02	0,47±0,01	0,45±0,01	0,41±0,03
CH ₃ antisimetrik gerilim/Total lipid (Lipitlerdeki metil grup miktarı)	0,25±0,006	0,24±0,003	0,23±0,003 ^{**}	0,25±0,004 ^{†,‡‡‡}
CH ₂ antisimetrik gerilim/Total lipit (Lipitlerdeki etil grup miktarı)	0,26±0,013	0,27±0,007	0,28±0,004	0,25±0,004
C=O ester gerilim/Total lipit (Lipitlerdeki karbonil grup miktarı)	0,04±0,002	0,04±0,002	0,04±0,003	0,04±0,03
Olefinik=CH/CH ₂ antisimetrik gerilim+CH ₂ simetrik gerilim (Doymamış/doymuş lipit oranı)	0,74±0,10	0,62±0,05	0,63±0,03	0,80±0,07
Olefinik=CH/Total lipit (Doymamış lipit miktarı)	0,23±0,021	0,21±0,011	0,22±0,007	0,25±0,012
Amid I/Amid II(Proteinlerdeki yapısal değişim)	3,37±0,38	3,21±0,18	2,92±0,11	3,66±0,21
PO ₂ ⁻ simetrik gerilim/Amid I (Nükleik asit / Protein)	0,05±0,003	0,03±0,001	0,08±0,001	0,05±0,01
vC–O + δC–O gerilim/PO ₂ ⁻ simetrik gerilim (Metabolik aktivite)	0,64±0,30	3,40±0,83	2,62±0,43	1,49±2,28

Veriler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi ile tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuna göre anlamlılık * işareti ile, iskemi ve reperfüzyon grubuna göre anlamlılık † işareti ile, manyetik alan grubu ile anlamlılık ‡ işareti ile gösterilmiştir. (**p* < 0,05, ***p* < 0,01, ****p* < 0,001).



Şekil 19. Kontrol, iskemi reperfüzyon (İR), manyetik alan tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA) ve manyetik alan ile birlikte 10mg/kg dozunda pterostilben tedavisi uygulanmış iskemi-reperfüzyon (MA+10P) gruplarına ait böbrek FTIR spektrumlarındaki A) lipit/protein, B) CH₂ simetrik gerilim/CH₃ simetrik gerilim, C) CH₃ antisimetrik gerilim/total lipit, D) CH₂ antisimetrik gerilim/CH₃ antisimetrik gerilim bant alan oranlarının değişimlerini gösteren bar grafikler. Veriler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi ile tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuna göre anlamlılık * işareti ile, iskemi ve reperfüzyon grubuna göre anlamlılık † işareti ile, manyetik alan grubu ile anlamlılık ‡ işareti ile gösterilmiştir. (*p< 0,05, **p< 0,01, ***p< 0,001).

5.TARTIŞMA

Akut böbrek hasarı olan hastalarda veya organ transplantasyonunda karşılaşılabilen durumlardan bir tanesi de böbrek dokusuna giden kan akımının bir süreliğine kesilmesi ve tekrar başlaması şeklinde açıklanabilen iskemi-reperfüzyon durumudur. İskemi-reperfüzyon hali dokuda bazı hasarların oluşmasına sebep olmaktadır. Bu hasarların önlenmesi veya tedavi edilmesi için değişik yöntemler bulunmaya çalışılmaktadır. Başka dokularda iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede manyetik alan uygulanmasının etkili olabileceğine dair literatürde bilgiler bulunmaktadır (Pan ve ark, 2013). Bu çalışmada da iskemi ve reperfüzyon ile böbrek dokusu makromoleküllerinde oluşan yapısal ve kompozisyonel değişimler, böbrek doku homojenatlarındaki lipit zincir uzunluğu, doymuş ve doymamış lipit miktarları, lipit peroksidasyon miktarı gibi parametrelerdeki iskemi-reperfüzyon kaynaklı değişimler FTIR spektroskopisi ile belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, iskemi-reperfüzyon kaynaklı böbrek doku değişimlerinde 1 *mT* şiddetli 50 *Hz* oldukça düşük frekanslı manyetik alan ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin etkinliği araştırılmış olup manyetik alan ve pterostilben tedavisinin iskemi-reperfüzyon kaynaklı hasarları geri döndürmedeki rolü incelenmiştir.

Kızılötesi spektroskopisi temel doku bileşenleri olan lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi moleküllerin fonksiyonel gruplarının titreşimlerine ait karakteristik soğurulma bantlarının görüntülenmesi ile hastalıkların veya dokulardaki bozuklukların etkilerinin belirlenmesinde kullanılan hassas ve etkin bir yöntemdir (Severcan ve ark, 2010). Kızılötesi spektrumunda elde edilen fonksiyonel gruplara ait bantların frekansları, bant genişlikleri ve bant alanları incelenerek doku bileşenlerinin kompozisyonel, yapısal ve dinamik özellikleri tespit edilebilir (Kneipp ve ark, 2000). Spektrumda görülen bazı bantların alan değerlerinin oranlanması ile elde edilen alan oranları ise tespit edilen parametrelerdeki değişimlerin örnek kalınlığından bağımsız olarak gözlemlenebilmesini sağlar.

Doku içeriğindeki lipit ve protein miktarı ve bunların birbirlerine göre oranları membran yapı ve dinamiğini en çok etkileyen faktörler içerisinde yer almaktadır (Szalantoi ve ark, 2000). Elde edilen sonuçlara göre amid I ve amid II bant alanları ile gözlenen doku protein miktarında iskemi-reperfüzyon grubunda anlamlı olmayan bir azalma görülürken, manyetik alan ve manyetik alanla birlikte uygulanan pterostilben tedavilerinde ise protein miktarını yine anlamlı olmayan bir artım olduğu bulunmuştur. Bu sonuç, uygulanan iskemi-

reperfüzyon ve tedavilerin protein içeriğinde az miktarda bir değişime neden olduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra, FTIR spektrumundaki lipid bantlarının alanları incelendiğinde böbrek dokuları lipid içeriğinin de iskemi-reperfüzyon grubunda azaldığı, manyetik alan ve manyetik alanla birlikte uygulanan pterostilben tedavilerinin ise böbrek lipid içeriğinde bir artıma neden olduğu görülmüştür. Toplam lipid miktarına yani lipidlerden kaynaklanan olefinik (HC=CH), CH₃antisimetrik gerilim, CH₂ antisimetrik gerilim, CH₂ simetrik gerilim, CH₂ bükülme, C=O ester gerilim, CO-O-C antisimetrik gerilim bantları alanlarına bakıldığında iskemiyle azalan bant alanlarının tedavi gruplarında kontrol grubu seviyesine ulaştığı görülmüştür. Özellikle CH₂ antisimetrik gerilim bandında manyetik alan tedavi grubunda anlamlı bir artış olmuştur ($p < 0,05$). Bu sonuç, iskemi-reperfüzyon uygulaması ile böbrek lipid içeriğinde bir azalma olduğunu ve tedavi ile birlikte lipid içeriğinin normale dönmüş olduğunu göstermektedir. Böbrek lipid ve protein içeriklerinin birbirlerine göre dağılımlarını gözlemlemek amacıyla lipid/protein alan oranı hesaplanmış; böbrek doku içeriğinde iskemi-reperfüzyon ile azalan lipid/protein oranının manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisiyle iskemi ve reperfüzyon grubuna nazaran anlamlı bir artıma neden olduğu ve tedavinin lipid/protein oranını kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığı gözlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, protein içeriğinde anlamlı bir değişime neden olmayan iskemi-reperfüzyon durumunun asıl olarak lipid içeriği üzerinde bir değişime neden olduğunu göstermektedir. Ayrıca, manyetik alan ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavileri iskemi nedenli gözlenen lipid içerik değişimlerini tedavi etmede etkin olmuştur.

Vaghasiya ve arkadaşlarının (2011) gerçekleştirdikleri çalışmada renal iskemi uygulanan diyabetik sıçanlarda renal iskeminin lipid peroksidasyona sebep olduğu, Zou ve arkadaşlarının (2013) çalışmalarında da serbest oksijen türlerinin renal iskemide açığa çıkarak lipidlere zarar verdiği öne sürülmüştür. Benzer şekilde renal iskemi uygulanan diyabetik sıçanlarda (Fouad ve ark, 2013) ve sağlıklı sıçanlara uygulanan renal iskemide (İnal ve ark, 2001) böbrek dokusunda lipid peroksidasyon son ürünlerinden malondiadehit (MDA) miktarında bir artış olduğu tespit edilmiştir. Literatürde yer alan bilgilere göre iskemi ve reperfüzyon hasarı hücre geçirgenliğinin artışına, kalsiyumun hücre içine fazla akışına ve hücrenin şişmesine neden olarak hücrede protein, membran, mitokondri ve DNA hasarlarına ve lipid peroksidasyona sebep olmaktadır (Altınışık, 2000). Lipitler hücre membranının büyük bir kısmını oluştururlar ve hücrelerde görülen membran hasarının önemli bir kısmı lipid yapısındaki ve içeriğindeki değişimler ile gözlenebilmektedir.

Lipit peroksidasyonu, oksidatif stresin göstergesi olan serbest radikaller tarafından tetiklenen hücresel bir hasar mekanizmasıdır. Lipit yapılarında bulunan çoklu doymamış yağ

asitleri, bulundurdukları çift bağın bitişik karbon atomundaki karbon-hidrojen bağı zayıflatması nedeniyle serbest radikallerin saldırısına açıktır (Betteridge, 2000). Lipid peroksidasyonu öncelikle çoklu doymamış yağ asidi zincirlerinin çift bağ yerleşimlerinde meydana gelir. Serbest radikallerin lipit yapısındaki doymamış bağlara saldırması sonucu lipit içeriğindeki doymamış bağ sayısı azalmaktadır (Zwartve ark,1999). Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre lipitlerdeki doymamış HC=CH bağlarından kaynaklanan olefinik bant alanının iskemi-reperfüzyon grubunda azaldığı, manyetik alan ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavilerinin ise olefinik bant alanında artıma yol açtığı görülmüştür. Bu bulgu, iskemi-reperfüzyon uygulaması ile böbrek dokularında lipit peroksidasyonunun arttığını ve bu artışla birlikte doymamış lipit miktarının azaldığını göstermektedir. Uygulanan tedaviler ise böbrek dokusunda iskemi nedenli oluşan lipit peroksidasyonunu azaltmada etkili olmuştur. Bunun yanı sıra, doymamış lipitlerden kaynaklanan olefinik (HC=CH) bant alanının doymuş lipitlerden kaynaklanan CH₂ antisimetrik ve simetrik gerilim bant alanlarına oranlanması ile doymamış/doymuş lipit miktarı, olefinik (HC=CH) bant alanının toplam lipit bant alanına oranlanması ile ise lipitlerdeki doymamışlık oranı (unsaturasyon oranı) tespit edilebilir (Kneipp ve ark, 2000; Cakmak ve ark, 2011). Bu oranlara bakıldığında iskemi ile her iki oranın da azaldığı ve uygulanan tedavilerin özellikle de manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin bu oranlarda artıma yol açtığı görülmüştür. Bu bulgu, manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin iskemi nedenli doymamış lipit miktarında oluşan azalmayı önlemede etkin bir rol oynadığını göstermektedir.

FTIR spektrumundan elde edilen hidrokarbon zincir uzunluğu, lipitlerdeki karbonil grup miktarı ile lipitlerdeki etil ve metil grup miktarları gibi parametreler dokudaki lipit yapısında oluşan değişimleri izlemek için kullanılabilir (Zwart ve ark, 1999;Cakmak ve ark, 2011; Sen ve ark, 2015). Lipitlerin hidrokarbon zincirlerinin gövde kısmında CH₂ gruplarının, uç kısmında ise CH₃ moleküllerinin bulunduğu bilinmektedir (Luckey, 2008). FTIR spektrumunda bulunan CH₂ antisimetrik gerilim bant alanının CH₃ antisimetrik gerilim bant alanına oranlanması ile lipit hidrokarbon zincir uzunluğu hakkında bilgi edilebilir (Wang ve Zhang, 2005). Bu oranın iskemi-reperfüzyon grubunda ve manyetik alan tedavi grubunda arttığı gözlenmiştir. Manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin ise bu oranı azalttığı görülmüştür. CH₃ antisimetrik gerilim bant alanının toplam lipit miktarına oranı lipitlerdeki metil grup miktarında meydana gelen değişimlerin gözlenmesinde, CH₂ antisimetrik gerilim bant alanının toplam lipit miktarına oranı ise lipitlerdeki etil grup miktarının belirlenmesinde kullanılabilir (Çakmak ve ark, 2011). Lipit yapılarındaki metil grup miktarının iskemi-reperfüzyon grubunda ve manyetik alan tedavi grubunda azaldığı,

manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisiyle ise lipit yapılarındaki metil grup miktarının arttığı bulunmuştur. Lipit yapılarındaki etil grup miktarının iskemi-reperfüzyon ve manyetik alan tedavi gruplarında arttığı, manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisi ile ise arttığı görülmüştür. Gruplar arası benzer değişimin CH_2 antisimetrik gerilim bant alanında da tespit edildiği görülmektedir. Tüm bu sonuçlar, iskemi-reperfüzyon ve manyetik alan tedavi grupları böbrek homojenatlarında daha uzun zincire sahip lipitlerin bulunduğunu, manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavi grubunda ise kontrol grubundaki gibi daha kısa zincirli lipitlerin bulunduğunu göstermektedir. Serbest radikallerin saldırısı sonucunda lipitlerdeki kimyasal bağların değişimi lipit yapılarında da bazı değişimlere sebep olabilir (Zwartve ark,1999). Elde edilen sonuçlara göre lipitlerde iskemi nedenli oluşan yapısal değişimleri manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin etkin bir şekilde önlemede rol oynadığı görülmektedir. Lipitlerdeki karbonil grup miktarındaki değişimleri belirlemek için hesaplanan $\text{C}=\text{O}$ ester gerilim/toplam lipit bant alan oranı incelendiğinde ise gruplar arası önemli bir değişime rastlanmamıştır.

CH_3 antisimetrik gerilim CH_2 antisimetrik ve simetrik bantlarının pozisyonları, lipit asil zincirlerinin esnekliği, yani lipitlerin konformasyonel düzensizlikleri hakkında bilgi vermektedir (Umemura ve ark, 1980; Casal ve ark, 1980; Boyar ve Severcan, 1997; Kazancı ve Severcan, 2007; Şahin ve ark, 2007). CH_3 antisimetrik gerilim bant frekans değerlerindeki değişim ise membranı iç bölgelerindeki düzen/düzensizlik hakkında bilgi verir. Bu bantların frekanslarında görülen düşük değerlere kayma, sistemdeki asil zincirlerinin daha düzenli olduğu, yani trans/gauche oranının arttığı anlamına gelmektedir (Liu ve ark, 2002; Ozek ve ark, 2010; Bozkurt ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011). Frekansta gözlenen yüksek değere kayma ise, açıl zincirlerinin düzensizliğinin arttığını, dolayısıyla trans/gauche oranının azaldığını göstermektedir (Mantsch, 1984). CH_3 antisimetrik, CH_2 simetrik ve antisimetrik gerilim titreşim modu frekans değeri lipitlerdeki konformasyonel düzensizliğin derecesine bağlı olarak farklılık gösterir, bu yüzden sistemdeki ortalama trans/gauche izomerizasyonun işaretçisi olarak kullanılabilir (Severcan ve ark, 2005). Çalışmamızda CH_3 antisimetrik bant frekansının iskemi-reperfüzyon uygulaması ve manyetik alan tedavisi ile yüksek değerlere kaydığı ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin yüksek değere olan bu kaymayı tekrar kontrol grubu değerine düşürdüğü görülmüştür. Bu sonuç, membranın iç bölgelerinde iskemi ve reperfüzyon ile düzensizlik oluştuğunu ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin oluşan membran düzensizliğini önlemede rolü olduğunu gösterir. CH_2 simetrik ve antisimetrik gerilim titreşim modu frekans değerinde ise anlamlı bir değişim görünmemiştir. Spekturumda gözlenen CH bölgesindeki CH_3 antisimetrik

gerilim, CH₂ antisimetrik ve CH₂ simetrik gerilim titreşimlerinin bant genişlik değerleri ise membran lipitlerinin dinamikleri hakkında bilgi elde etmek için kullanılabilir (Cameron ve Charette, 1981; Toyran ve Severcan, 2003). Lipit moleküllerinin kafa grupları, açıl zincirleri ve ara yüzeylerini temsil eden farklı titreşim modlarına ait bant genişliklerindeki değişimler fonksiyonel bilgi verir ve bant genişliğinin azalması membran lipit dinamiğinde azalma olduğunu gösterir (Kazancı ve Severcan, 2007; Şahin ve ark, 2007). CH₂ antisimetrik gerilim titreşimlerine ait bant genişliği değerleri iskemi ve reperfüzyon grubunda artmış, bu sonuç lipit akışkanlığının iskemi-reperfüzyonla arttığını göstermiştir. Manyetik alan tedavi grubu ve manyetik alanla birlikte uygulanan pterostilben tedavi grubunda ise bant genişlik değerleri azalarak dinamiğin kontrol değerlerine yaklaştığı gözlemlenmiştir. Membran düzensizliğinin artması membran akışkanlığını artırır (Luckey, 2008). Düzensizlik artarken ve akışkanlığın azalması membran içerisinde lipit yerleşiminde faz ayrımı olduğunu gösterir (Severcan ve ark, 2005; Korkmaz ve Severcan, 2005). Elde edilen sonuçlara göre, böbrek dokusunda düzensizlik artarken lipit akışkanlığının arttığı ve bir faz ayrımı durumuna rastlanmadığı gözlemlenmiştir.

Farklı manyetik alan uygulamalarının çeşitli patolojik durumlarda tedavi amaçlı kullanılmasının etkinliği daha önceki çalışmalarda incelenmiş manyetik alanın lipit peroksidasyonunu engelleyici etkisi olduğu gözlenmiştir. Glinka ve arkadaşlarının (2013) yaptığı bir çalışmada frekansı 40 Hz, manyetik akı yoğunluğu 10 mT olan düşük manyetik alanın yara iyileşmesi üzerine olan etkileri incelenmiş, uygulanan manyetik alanın antioksidan enzim aktivitelerinde değişime neden olarak fosfolipit peroksidasyonunu inhibe ettiği sonucuna ulaşılmıştır. Emre ve arkadaşları (2011) manyetik alana maruz kalmanın oksidatif stres ve apoptoz ile ilişkisini araştırmış, 1,5 mT şiddetindeki darbeli manyetik alanın karaciğer dokusunda lipit peroksidasyona karşı koruyucu etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir. Martínez-Sámano ve arkadaşları (2010) çalışmalarında iki saat süreyle akut olarak 60 Hz frekanslı elektromanyetik alana maruz kalan Wistar sıçanların karaciğer, kalp, böbrek ve plazmalarındaki antioksidan enzim seviyelerini incelemiş ve uygulanan elektromanyetik alanın dokularda lipit peroksidasyonu işaret eden herhangi bir değişime neden olmadığını bulmuşlardır. Ayrıca Watanabe ve arkadaşlarının (1997) yaptığı çalışmada 4.7 T şiddetinde 3, 6, 24, ve 48 saat süreyle uygulanan durgun manyetik alana maruz kalan farelerin karaciğerlerinde lipit peroksidasyonunun anlamlı bir şekilde arttığı fakat böbrek, kalp, akciğer ve beyin dokularında değişmediği görülmüştür. Dinçer ve arkadaşları (1998) gerçekleştirdikleri çalışmada frekansı 50 Hz, şiddeti 120 µT olan düşük frekanslı elektromanyetik alana 18 gün boyunca günde 7 saat maruz kalan farelerin böbrek dokusunda

lipit peroksidasyonunun anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında da, özellikle olefinik bant alanı değerlerindeki değişim göz önüne alındığında, 50 Hz frekanslı, 1 mT şiddetinde 5 gün boyunca günde 1 saat uygulanan manyetik alanın böbrek dokularında lipit peroksidasyonunu azalttığı gözlemlenmiştir. Fakat tek başına manyetik alan uygulamasının lipit yapısında iskemi nedenli oluşan değişimleri önlemede çok etkili olmadığı gözlenmiştir. Manyetik alan ile birlikte 10 mg/kg dozunda uygulanan pterostilben tedavisinin iskemi nedenli lipit yapısında oluşan değişimleri önlemede daha etkin olduğu bulunmuştur.

Serbest radikaller yalnız lipitler üzerinde değil yapısal proteinler üzerinde de hasarlar oluştururlar. Reaktif oksijen türleri (ROS) proteinler ile etkileştiğinde protein yapısında özel amino asit rezidü hasarı, üçüncül yapı değişimleri, indirgeme, parçalanma ve peroksidasyon gibi değişimlere yol açarak dolaylı ya da direk hasara neden olurlar (Kohen ve Nyska, 2002). Protein içeriğinde yer alan peptid zincirindeki fonksiyonel gruplardaki değişimler farklı amid modlarının titreşim frekanslarında değişime neden olur. Amid I bandı peptid grubunun C=O gerilim titreşiminden kaynaklanır. Amid II bandı C-N gerilim titreşimlerinin katkısıyla N-H bükülme titreşimleridir. N-H bükülme ve C-N gerilme titreşimlerinden kaynaklanan amid III soğurulması ise kızılötesinde çok zayıftır (Haris ve Severcan, 1999). FTIR spektrumundaki amid I / amid II bant alan oranındaki farklılıklar protein yapısında gerçekleşen değişimlere işaret edebilir (Melin ve ark, 2000; Schmidt ve ark, 2007). Elde edilen sonuçlara göre, amid I/ amid II oranı iskemi-reperfüzyon ve manyetik alan tedavi gruplarında azalmış, manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavi grubunda ise artmıştır. Bu sonuçlar, iskemi hasarı sonucu olası protein ikincil yapılarında bazı değişimlerin olabileceğine ve manyetik alanla birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin bu değişimler üzerinde tedavi edici bir rolünün olabileceğine işaret etmektedir. Protein ikincil yapısında gerçekleşen değişimlerin net olarak belirlenebilmesi için amid I bandı altında kalan ikincil yapı bileşenlerine ait bantların incelenmesi gerekmektedir. Protein ikincil yapılarındaki değişimler ileriki çalışmalarda incelenecektir.

FTIR spektrumunda yer alan PO_2^- simetrik ve antisimetrik gerilim bandı çoğunlukla nükleik asitler ve az miktarda fosfolipitlerin fosfat gruplarından kaynaklanmaktadır (Akkas ve ark, 2007). Fosfat gruplarındaki değişimler, nükleik asit sarmalındaki fosfat grupları pozisyonunun uzaysal değişimleri ile bağlantılıdır (Dovbeshkove ark, 2000). Çalışma sonuçlarına göre gruplar arasında PO_2^- simetrik ve antisimetrik gerilim bant frekans değerlerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Nükleik asitlerin ve proteinlerin birbirlerine göre olan bağıl değişimleri hakkında bilgi edinmek için nükleik asit protein oranı PO_2^-

simetrik gerilim/amid I oranı hesaplanarak incelenmiştir (Bozkurt ve ark, 2010). Elde edilen sonuçlara göre nükleik asit/protein oranı iskemi-reperfüzyon grubunda azalmış, sadece manyetik alan tedavisi uygulanan grupta yükselmiş, manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisi ile ise bu oranda tekrar kontrol seviyesine bir düşüş gözlenmiştir. Amid I ve II bant alanları ile gözlenen protein miktarının da gruplar arasında benzer şekilde değişim gösterdiği gözlenmiştir. Benzer şekilde, PO_2^- simetrik gerilimbant alan değerinin iskemi reperfüzyonda azaldığı, manyetik alan tedavisi uygulanan grupta arttığı ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisi ile kontrol değerine yaklaştığı gözlenmiştir. PO_2^- simetrik gerilim titreşim alanının değişiminin nedeni nükleik asit ya da fosfolipit içeriğindeki değişimlerden kaynaklanmaktadır. Protein ve lipit miktarında da benzer değişimin gözlenmesi iskemik koşullarda makromoleküler içeriğin azaldığını ve hücre hasarının oluştuğunu göstermektedir. Hasar gören hücrelerde hem yapısal değişimler hem de fonksiyon kaybı görülür. $\nu C-O + \delta C-O$ gerilim/ PO_2^- simetrik gerilim alan oranı yani glikojen/fosfat oranı ise böbrek dokusundaki metabolik aktivite başka bir deyişle glikojen ve/veya karbonhidrat çevrim hızı, glikojen ve fosfat içeriklerinin birbirleriyle bağlantılı değişimi hakkında bilgi verir. Bu oranın yükselmesi düşük bir metabolik aktiviteye işaret eder (Ozek ve ark, 2010; Salman ve ark, 2002; Ramesh ve ark, 2009; Sen ve ark, 2015). İskemi ve reperfüzyon grubunda bu bant oranının yükselerek metabolik aktivitenin düştüğü gözlemlenmiştir. Manyetik alan tedavi grubunda oran azalarak metabolik aktivite artımı görülürken manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisinde ise oran daha da düşerek metabolik aktivite daha da hızlanmıştır. Metabolik aktivitenin pterostilben tedavisi ile daha fazla artması, iskemiden kaynaklı hücre hasarının azaldığını göstermektedir.

Pterostilbenin antioksidan aktivitesinin incelendiği çalışmalarda, pterostilbenin içerdiği stilben bileşenlerinden dolayı *in vivo* ve *in vitro* modellerde oksidatif hasarı önleyici ve tedavi edici etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir. Pterostilbenin antioksidan aktivitesinin tümör oluşumunun yavaşlatılmasında, nörolojik hastalıkların modülasyonunda, inflamasyonun azaltılmasında, damar hastalıklarının semptomlarının azaltılmasında, diyabette şeker seviyesinin düzenlenmesinde etkili olduğu anlaşılmıştır (McCormack ve McFadden, 2013). Yapılan başka bir çalışmada resveratrolün doğal bir dimetileter analogu olan pterostilbenin moleküler sinyal yollarında yer alan genlerin metiyonin metabolizmasını düzenlediği, transkripsiyon faktör aktivitesini ve mitokondri fonksiyonları artırıcı etki gösterdiği gözlemlenmiştir (Pan ve ark, 2008). Ayrıca Mannel ve arkadaşları (2009) pterostilbenin *in vitro* pankreatik kanser hücrelerinde hücre çoğalmasını artırdığını, mitokondri membran depolarizasyonunu artırdığı ve kaspazların aktivasyonunu engellediğini tespit etmişlerdir.

Pterocarpus marsupium'un fenolik bileşenlerinin antihiperglisemik aktivite gösterdiği ve diyabetik sıçanlarda plazma glikoz seviyesini düşürdüğü gözlemlenmiştir (Manickam ve ark, 1997). Pterostilbenin glikoz homeostazını düzenlenmesinde yararlı etkileri olduğu sonucuna varılmıştır (Pari ve Sateesh, 2006). Bu farklı etkilere ek olarak, pterostilbenin türevi polifenolik bir fitoaleksinin olan resveratrolün gliserin nedenli akut böbrek yetmezliğinde koruyucu etkisinin olduğu ve resveratrol tedavisi ile nitrik oksit seviyelerinde artım, renal fonksiyon bozukluğu ve morfolojik değişimde azalma, lipit peroksidasyonda düşüş, tükenen renal antioksidan enzimlerin onarılması gibi anlamlı değişimler gözlemlendiği bildirilmiştir (Chander ve Chopra, 2006). Bu tez çalışmasının sonuçlarına göre de pterostilbenin iskemik hasar sonucu böbrek makromoleküllerinde gerçekleşen değişimleri önlemede etkin olarak kullanılabilmesi tespit edilmiştir.

Farklı şekillerde uygulanan manyetik alanın birçok çalışmada yararlı etkileri olabileceği gözlemlenmiştir. Elektromanyetik alanın Wistar sıçanlarının karaciğer, kalp, böbrek ve plazmalarındaki antioksidan sistemlerine etkisi incelendiğinde 60 Hz frekansında iki saat boyunca uygulanan elektromanyetik alanın çalışılan dokularda lipit peroksidasyon göstergesi olan tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri (TBARS) konsantrasyonunda bir değişim olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Samano ve ark, 2010). 40 Hz düşük frekanslı, 10 mT manyetik akı yoğunluklu elektromanyetik alanın fosfolipit peroksidasyonunu engellediği glutatyon peroksidaz aktivitesini uyardığı ve bunların sonucunda hücrel membranı stabilize ettiği gösterilmiştir (Glinka ve ark, 2013). Bu çalışmada da 50 Hz frekansındaki 1 mT şiddetinde manyetik alanın lipit peroksidasyonunu azaltıcı etkileri olabileceği gözlemlenmiştir. Endojen antioksidan sistem aktivitesine bağlı olarak elektromanyetik alanın, uzun süreli yara iyileşmesinde tedavi edici bir destek olarak kullanılabilmesi önerilmiştir (Glinka ve ark, 2013). 2 mT şiddetinde, 50 Hz sinüzoidal manyetik alan vasküler endotelial büyüme faktörü sinyal yolağına antianjiyogeneze neden olan bir etki ederek yeni damarların oluşmasını engellediği bulunmuştur. Spesifik genikli kullanıldığında kanser, iskemik hastalıklar, kronik inflamasyon gibi anjiyogeneze bağlantılı hastalıklarda tedavi edici bir uygulama olabileceği öne sürülmüştür (Dell Monache ve ark, 2013). Bir başka çalışmada ise manyetik alan uygulamasının anjiyogenezi artırıcı bir etki gösterdiği belirtilmiştir. Bu sonuçlar uygulanan manyetik alanın çeşidine göre anjiyogeneze etkisinin değişebileceğine işaret etmektedir. Diyabetik sıçanlarda arka bacak iskemisine uygulanan darbeli manyetik alanın perfüzyonu ve damarlanmayı artırarak diyabette yara iyileşmesinde tedavi edici bir etki yaptığı gözlemlenmiştir (Pan ve ark, 2013). Darbeli manyetik alanın normal ve diyabetik yara

iyileşmesini, endojen fibroblast büyüme faktörü salınımını artırarak hızlandırdığı sonucuna varılmıştır (Callaghan, 2007).

Bu çalışma sonucunda ise 50 Hz frekanslı, 1 mT şiddetli düşük frekanslı manyetik alanın renal iskemi ve reperfüzyonda tek başına veya pterostilben ile birlikte uygulandığında tedavi edici etkisi olabileceği gözlemlenmiştir. Fakat, bazı parametrelerdeki iskemi nedeni oluşan değişimi önlemede manyetik alanın tedavi edici gücünü yeterli olmadığı gözlenmiştir. Gözlenen tedavi edici etkinin pterostilbenle birlikte uygulandığında daha etkin olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Manyetik alan uygulamasının vasküler geçirgenliği (Callaghan, 2007; Dell Monache ve ark, 2013; Pan ve ark, 2013) ve antioksidan enzim sistemlerinin aktivitelerini (Samano ve ark, 2010; Glinka ve ark, 2013) artırdığı göz önüne alındığında, iskemik hasarda manyetik alan tedavisi endojen antioksidanların etkinliklerinde artışa ve pterostilbenin zarar gören dokudaki hücrelere ulaştırılmasının kolaylaştırılmasına neden olarak olumlu etkiler göstermiş olabilir. Tedavi gruplarındaki lipid peroksidasyon düzeyindeki azalmadan pterostilbenin serbest radikalleri uzaklaştırdığı anlaşılmaktadır. Sonuç olarak, düşük frekanslı manyetik alanın iskemik hasarın tedavisinde antioksidan maddelerle birlikte uygulanması daha uygun alternatif bir yöntem olarak kullanılabilir.

6.SONUÇ

Manyetik alan uygulamasının iskemi-reperfüzyon modelleri üzerinde olan etkilerine dair birbiri ile çelişen sonuçlar literatürde mevcuttur. Bu uygulamanın damar geçirgenliğini artırdığı ve özellikle darbeli manyetik alan uygulamasının anjiyogenezi artırdığı bildirilmiştir. Fakat oldukça düşük frekanslı 50 Hz manyetik alan uygulamasının böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine olan etkileri yeterince incelenmemiştir. Yapılan bu çalışmada 1 mT şiddetli oldukça düşük frekanslı 50 Hz manyetik alan ve manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilbenin renal iskemi ve reperfüzyon nedeni ile böbrek dokusunda oluşan değişimleri azaltmadaki rolünün incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, lipit, protein ve karbonhidrat gibi farklı makromoleküllerin aynı örnekte eş zamanlı olarak yapısal, kompozisyonel ve fonksiyonel özelliklerinin incelenmesini sağlayan FTIR spektroskopisi kullanılarak iskemik hasarın böbrek dokusunda neden olduğu değişimler gözlemlenmiştir. İskemik hasarla azalan lipitlerdeki hidrokarbon zincir uzunluğu, toplam lipit miktarı, doymamış lipitlerin doymuş lipitlere oranındaki değişimler manyetik alan tedavisiyle ve özellikle manyetik alan ile birlikte uygulanan pterostilben tedavisiyle kontrol değerlerine yakınlaşmıştır. Ayrıca iskemi ve reperfüzyon nedeniyle lipit yapısında bazı değişimlerin gerçekleştiğini gösteren lipitlerdeki karbonil, etil ve metil grup miktarındaki değişimler, manyetik alanla birlikte uygulanan pterostilben tedavisiyle düzelerek kontrol seviyesine yaklaşmıştır. Bununla birlikte, iskemi reperfüzyon grubunda doymamış lipit içeriğinde azalma gözlenmiş, bu sonuç iskemik hasar ile lipit peroksidasyonunda artım olduğunu göstermektedir. Her iki tedavinin de, özellikle de manyetik alanla birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin, böbrek doymamış lipit miktarını artırarak lipit peroksidasyonunu azalttığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, manyetik alanla uygulanan pterostilbenin serbest oksijen radikallerini lipitlerden uzaklaştırdığını işaret etmektedir. Ayrıca, amid I ve amid II bant alanları incelendiğinde manyetik alan tedavisi ve manyetik alanla uygulanan pterostilben tedavisinin protein miktarını az da olsa artırdığı, amid I/amid II bant alan oranı incelendiğinde ise gruplar arasında protein ikincil yapılarında değişim olabileceği gözlemlenmiştir. FTIR spekturumundaki CH₂ antisimetrik ve simetrik gerilim ve CH₃ antisimetrik gerilim bant genişliklerindeki değişimler membran lipit akışkanlığı hakkında bilgi vermektedir. İskemi ve reperfüzyonun membrandaki lipit hareketliliğini artırdığı, manyetik alan tedavisi ve manyetik

alanla birlikte uygulanan pterostilben tedavisinin ise bu hareketliliği normale döndürdüğü belirgin bir şekilde gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak çalışmada 50 Hz manyetik alanın böbrek iskemi-reperfüzyonundaki etkileri incelenmiş, bir antioksidan olan pterostilbenin belirli dozda manyetik alan ile birlikte uygulanmasının iskemik hasar üzerinde daha yüksek derecede tedavi edici bir etkisi olduğu belirlenmiştir. Pterostilbenin endojen antioksidan sistemler üzerine olumlu etki yaparak serbest radikallere karşı savunmada rol aldığı gözlemlenmiştir. Manyetik alan uygulamasının dokuda damar geçirgenliğini arttırabileceğine yönelik literatürde bulunan bulgulara dayanarak manyetik alan tedavisinin renal iskemi-reperfüzyon durumunda oluşacak hasarları azaltma yönünde etkili olabileceği, ayrıca damar geçirgenliğini etkileyerek pterostilbenin daha geniş bir alana nüfuz etmesinde yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar organ transplantasyonu ve akut böbrek yetmezliğinde görülen hasarların tedavisine yönelik yeni uygulamaların geliştirilmesine ışık tutacak ve sağlık alanına önemli katkılar sağlayacaktır. Bununla birlikte, 50 Hz düşük frekanslı manyetik alan ve pterostilben tedavilerinin etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi için yeni çalışmalar gerçekleştirilmelidir. Özellikle bu tedavilerin damar geçirgenliği üzerine olan etkileri ile membran geçirgenliğine ve anjiyogeneze sebep olan büyüme faktörlerinin ekspresyonunda neden oldukları değişimler belirlenmelidir. Ayrıca, bu tedavilerin protein ikincil yapılarında yol açabileceği olası değişimler detaylı olarak belirlenebilir.

KAYNAKLAR

Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymol*, 1984, 105:121-26; *Annals of Biochemistry*, 95:351–358

Akan Z, Aksu B, Tulunay A, Bilsel S, Inhan-Garip A. Extremely low-frequency electromagnetic fields affect the immune response of monocyte-derived macrophages to pathogens. *Bioelectromagnetics*, 2010,31:603–612

Akkas SB, Inci S, Zorlu F. Melatonin affects the order, dynamics and hydration of brain membrane lipids, *Journal of Molecular Structure*, 2007,834; 207-215

Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya, 1995.

Alo F, Brun P, Cont C, Gorgini E, Rubi C, Tosi G. Fourier Transform Spectroscopy, *11th International Conference, The American Institute of Physics*, 1998

Altınışık M. Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar sunumu, Adü Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı, 2000, Aydın

Andra W, Nowak H. Magnetism in Medicine. Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KgaA, 2007

Aragno M. Dehydroepiandrosterone Prevents Oxidative Injury Induced by Transient Ischemia/Reperfusion in the Brain of Diabetic Rats, *Diabetes*, 2000, vol. 49;1924-1930

Arrondo JLR, Goni FM. Infrared studies of protein-induced perturbation of lipids in lipoproteins and membranes. *Chem. Phys Lipids*, 1998, 96, 53–68.

Barrett K, Brooks H, Boitano S, Barman S. Ganong's Review of Medical Physiology (23rd edition) , Mcgraw Hill , A.B.D., 2010;639-686

Basile A, Zeppa R, Pasquino N. Exposure to 50 Hz electromagnetic field raises the levels of the anti-apoptotic protein BAG3 in melanoma cells. *J Cell Physiol*, 2011, 226(11):2901–2907

Bayrak O, Uz E, Bayrak R, Turgut F, Atmaca AF, Sahin S, Yildirim ME, Kaya A, Cimentepe E, Akcay A. Curcumin protects against ischemia/reperfusion injury in rat kidneys. *World J Urol*, 2008, 26:285–291

- Betteridge.DJ.** What is Oxidative Stress? *Metabolism*, 2000, Vol. 49, No.2; 3-8.
- Bilgin MD.** Elektromanyetik Dalgalar Biyofizik Ders Notları, Aydın, 2013;1-38
- BlankM, Soo L.** Optimal frequencies for magnetic acceleration of cytochrome oxidase and Na,K-ATPase reactions.*Bioelectrochemistry*, 2001, 53(2):171–174
- BoscoPJ, Schweizer RT.** Use of oxygen radical scavengers on autografted pig kidneys after warm ischemia and 48-hour perfusion preservation. *Arch Surg*, 1988, May;123(5):601-4
- Boyar H, Severcan F.** Tamoxifen-Phospholipid Model Membrane Interactions: An FT-IR Study, *J. Molecular Structure*, 1997, 408/409, 265-268
- Bozkurt O, Severcan M, Severcan F,** Diabetes induces compositional, structural and functional alterations on rat skeletal soleus muscle revealed by FTIR spectroscopy: a comparative study with EDL muscle, *Analyst*, 2010, 135(12):3, 110-9
- Brady HR, Singer GG.** Acute Renal Failure, *Lancet*, 1995, 346:1533-1540
- Cakmak G, Miller LM, Zorlu F, Severcan F.** Amifostine, a Radioprotectant Agent, Protects Rat Brain Tissue Lipids against Ionizing Radiation Induced Damage: An FTIR Microspectroscopic Imaging Study. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2012, Apr 15;520(2):67-73
- Cakmak G, Togan I, Severcan F.** 17 β -estradiol induced compositional, structural and functional changes on rainbow trout liver, revealed by FTIR spectroscopy: A comparative study with nonylphenol, *Aquatic Toxicology*, 2006, 77(1), 53-63
- Cakmak G, Zorlu F, Severcan M, Severcan F.** Screening of protective effect of amifostine on radiation-induced structural and functional variations in rat liver microsomal membranes by FT-IR Spectroscopy, *Analytical Chemistry*, 2011, 83 (7); 2438-2444
- CallaghanMJ, Chang EI, Seiser N, Aarabi S, Ghali S, Kinnucan ER, Simon BJ, Gurtner GC.** Pulsed electromagnetic fields accelerate normal and diabetic wound healing by increasing endogenous FGF-2 release. *Plast Reconstr Surg*, 2008, 121(1):130–141
- Cameron PG, Charette GM.** Automation of Fourier Transform Infrared of Temperature-Induced Phenomena, *Appl. Spectrosc*, 1981, 35;224

Casal HL, Cameron DG, Smith ICP, Mantsch, HH. Fourier transform infrared spectra of A. Laidlawii membranes, *Biochemistry*, 1980, 19; 444-451

Casal HL, Mantsch HH. Polymorphic phase behaviour of phospholipid membranes studied by infrared spectroscopy, *Biochim Biophys Acta*, 1984, 779, 381-401

Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1997; 3-4: 92-95

Chander V, Chopra K. Protective Effect of Resveratrol, a Polyphenolic Phytoalexin on Glycerol-Induced Acute Renal Failure in Rat Kidney. *Renal Failure*, 2006, 28:161–169

Chatterjee PK. Tempol, a membrane-permeable radical scavenger, reduces oxidant stress-mediated renal dysfunction and injury in the rat, *Kidney International*, 2000, Vol. 58 ,658–673

Cheeseman, KH, Slater TF. An introduction to free-radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 1993, 49, 481-493

Coates J. Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. Encyclopedia of Analytical Chemistry R.A. Meyers (Ed.), John Wiley & Sons Ltd, 2000;10815–10837

CollardCD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and preventations of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*, 2001, 94:1133-38.

ConesaLE, Valero F, Nadal JC. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol*, 2001, 281:730-7

CosquerB, De Vasconcelos AP, Frohlich J, and Cassel JC. Blood-brain barrier and electromagnetic fields: effects of scopolamine methylbromide on working memory after whole-body exposure to 2.45GHz microwaves in rats. *Behavioral Brain Research*, 2005, 161:229–237

CostaFP, de Oliveira AC, Meirelles R. Treatment of advanced hepatocellular carcinoma with very low levels of amplitude-modulated electromagnetic fields. *Br J Cancer*, 2011, 105(5):640–648

- Cruess RL, Kan K, Basset CAL.** The effect of pulsed electromagnetic fields upon bone metabolism in an experimental model of disuse osteoporosis. *Clin Orthop Relat Res*, 1983, 173:245–250
- Cutrin JC, Zingaro B, Camandola S, Boveris A, Pompella A, Poli G.** Contribution of γ glutamyl transpeptidase to oxidative damage of ischemic rat kidney, *Kidney International*, 2000, Vol. 57 ,526–533
- De Falco S.** Antiangiogenesis therapy: an update after the first decade, *Korean J Intern Med*, 2014;29:1-11
- De la Lastra CA, Villegas I.** Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochemical Society Transactions*, 2007, Volume 35, part 5
- De Vecchi E, Lubatti L, Beretta C, Ferrero S, Rinaldi P, Kienle MG, Trazzi R, Paroni R.** Protection from renal ischemia-reperfusion injury by the 2-methylaminochroman U83836E. *Kidney International*, 1998, Vol. 54 ,857–863
- De Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN, Vermeulen NP.** Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology & Medicine*, 1999, Jan;26(1-2):202-26
- Dell Monache S, Alessandro R, Iorio R, Gualtieri G, Colonna R.** Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields (ELF-EMFs) Induce In Vitro Angiogenesis Process in Human Endothelial Cells, *Bioelectromagnetics*, 2008, 29:640-648
- Delle Monache S, Angelucci A, Sanità P, Iorio R, Bennato F, Mancini F, Gualtieri G, Colonna RC.** Inhibition of Angiogenesis Mediated by Extremely Low-Frequency Magnetic Fields (ELF-MFs). *PLoS ONE*, 2013, 8(11): e79309.
- Demir E, Erken U.** Böbrek nakli alıcılarında görülen istenmeyen ürolojik yan etkiler ve hastalıkların tedavisi. *Türk Üroloji Dergisi*, 2005, 31 (3): 427-431
- Devarajan P.** Update on Mechanisms of Ischemic Acute Kidney Injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2006, 17: 1503–1520
- Diamond JR, Bonventre JV, Karnovsky MJ.** A role for oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int*, 1986, Feb;29(2):478-83

- Diem M.Boydston-White S., Chiriboga L.**, Infrared spectroscopy of cells and tissues: shining light onto a novel subject, *Applied Spectroscopy*, 1999, 53, 148A-161A
- Dillon JJ, Grossman SH, Finn WF.**Effect of oxypurinol on renal reperfusion injury in the rat.*Renal Fuiture*, 1993, 15: 37-45.
- Dinçer S, Kanan B, Ömeroğlu S, Gönül B.** Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Farelerde Doku Lipid Peroksidasyonu, Askorbik Asit ve Glutatyon Düzeylerindeki Değişiklikler. *İç Hastalıkları Dergisi*, 1998, 3;173-176
- Djamali A, Samaniego M, Muth B, Muehrer R, Hofmann RM, Pirsch J, Howard A, Mourad G, Becker BN.** Medical Care of Kidney Transplant Recipients after the First Posttransplant Year, *TheClinical Journal of the American Society of Nephrology*, 2006, 1: 623– 640
- Dovbeshko GI, Gridina NY, Kruglova EB,Pashchuk OP.** FTIR spectroscopy studies of nucleic acid damage, *Talanta*, 2000, 53, 233-246
- Dro'gueW.**Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 2002,82:47–95
- ElmusharafMA, Cuppen JJ, Grooten HN, Beynen AC.**Antagonistic effect of electromagnetic field exposure on coccidiosis infection in broiler chickens.*Poult Sci*,2007, 86(10):2139–2143
- Emre M, Cetiner S, Zencir S, Unlukurt I, Kahraman I, Topcu.Z.** Oxidative Stress and Apoptosis in Relation to Exposure to Magnetic Field, *Cell Biochem Biophys*, 2011, 59;71–77
- FerraraN, Kerbel RS.**Angiogenesis as a therapeutic target, *Nature*, 2005, 438, 967–974
- FerrariR, Guardigli G, Mele D, Percoco GF, Ceconi C, Curello S.** Oxidative stress during myocardial ischaemia and heart failure.,*Current Pharmaceutical Design*, 2013, 10(14):1699-711
- Fouad AA, Al-Mulhim AS, Jresat I, Morsy MA.** Protective effects of captopril in diabetic rats exposed to ischemia/reperfusion renal injury. *J Pharm Pharmacol.* 2013 Feb;65(2):243-52.

- Frahm J, Mattsson MO, Simko M.** Exposure to ELF magnetic fields modulate redox related protein expression in mouse macrophages. *Toxicol Lett*, 2000, 192(3):330–336
- Freifelder D.** Applications to biochemistry and molecular biology, Physical Chemistry, Freeman Press, W. H. (Ed), New York, 1982; 145.
- Friedewald JJ, Rabb H.** Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney International*, 2004, 66: 486-491
- Fujioka N, Morimoto Y, Arai T, Kikuchi M.** Discrimination between normal and malignant human gastric tissues by Fourier transform infrared spectroscopy. *Cancer Detection and Prevention*, 2004, 28; 32–36
- Gasper R, Dewelle J, Kiss R, Mijatovic T, Goormaghtigh E.** IR Spectroscopy as a new tool for evidencing antitumor drug signatures, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, 1788, 1263-1270
- Genestra M.** Oxyl radicals, redox-sensitive signaling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling*, 2007, 19:1807–1819
- Girotti A.** Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of Lipid Research*, 1998, 39;1529-1542
- Glinka M.** Influence of extremely low-frequency magnetic field on the activity of antioxidant enzymes during skin wound healing in rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2013; 32(4): 463–470
- Goudarzi I, Hajizadeh S, Salmani ME, Abrari K.** Pulsed electromagnetic fields accelerate wound healing in the skin of diabetic rats. *Bioelectromagnetics*, 2010, 31(4):318–323
- Grana DR, Marcos HJ, Kokubu GA.** Pulsed electromagnetic fields as adjuvant therapy in bone healing and periimplant bone formation: An experimental study in rats. *Acta Odontol Latinoam*, 2008, 21(1):77–83
- Griffin XL, Warner F, Costa M.** The role of electromagnetic stimulation in the management of established non-union of long bone fractures: What is the evidence? *Injury*, 2008, 39(4):419–429
- Gündüz T.** İnrümentel Analiz Kitabı, A.Ü. Fen Fakültesi, Ankara, 1988

Günes T. Rat Alt Ekstremitte İskemi-Reperfüzyon Modelinde İskemik Önkoşullama ve Ardkoşullamanın Erken Dönem Etkileri. *Adü Tıp Fakültesi Dergisi*, 2011, 12(3): 21-27

Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology (13th edition), Elsevier Inc, A.B.D., 2015; 307-326

Halliwell, B, Chirico S. Lipid Peroxidation: Its Mechanism, Measurement, and Significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1993, 57; 715-725.

Haris PI, Severcan F. FTIR spectroscopic characterization of protein structure in aqueous and non-aqueous media. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 1999, 7; 207–221

Okano H, Onmori R, Tomita N, Ikada Y. Effects of a Moderate-Intensity Static Magnetic Field on VEGF-A Stimulated Endothelial Capillary Tubule Formation In Vitro *Bioelectromagnetics*, 2006, 27:628-640

Hopper RA, Verhalen JP, Tepper OT, Mehrara BJ, Detch R, Chang EI, Baharestani S, Simon BJ, Gurtner GC. Osteoblasts stimulated with pulsed electromagnetic fields increase HUVEC proliferation via a VEGF-A independent mechanism. *Bioelectromagnetics*, 2009, 30, 189–97

Hu JH, St-Pierre LS, Buckner CA. Growth of injected melanoma cells is suppressed by whole body exposure to specific spatial-temporal configurations of weak intensity magnetic fields. *Int J Radiat Biol* 2010, 86(2):79–88.

İnal M, Altışık M., Bilgin MD. The effect of quercetin on renal ischemia and reperfusion injury in the rat, 2001, *Cell Biochem Funct* ; 20: 291–296

Joseph JA. Cellular and behavioral effects of stilbene resveratrol analogues: implications for reducing the deleterious effects of aging, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, vol. 56, no.22, 10544–10551

Kälble T, Lucan M, Nicita G, Sells R, Burgos Revilla FJ, Wiesel M. Böbrek Transplantasyonu Kılavuzu. European Association of Urology, 2006

Kapetanovic IM, Muzzio M, Huang Z. Pharmacokinetics, oral bioavailability, and metabolic profile of resveratrol and its dimethylether analog, pterostilbene, in rats, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2011, vol. 68, no. 3, 593–601

Kazanci N, Severcan F. Concentration dependent different action of tamoxifen on membrane fluidity. *Biosci Rep*, 2007 Oct;27(4-5):247-55.

Kellogg EW, Fridovich I. Superoxide, Hydrogen Peroxide, and Singlet Oxygen in Lipid Peroxidation by a Xanthine Oxidase System. *The Journal of Biological Chemistry*, 1975, 250(22); 8812-8817

KırA. Renal İskemi Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Epigallokateşin-3-gallat ve Quercetin'in Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. T.C. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. 2013

Kneipp J, Lasch P, Baldauf E, Beekes M, Naumann D. Detection of pathological molecular alterations in scrapie-infected hamster brain by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta 1501*, 2000; 189-199

Koçoğlu H, Öztürk H, Öztürk H, Yılmaz F. Effect of Deksmetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney a histopathologic study. *Ren Fail*, 2009; 31: 70-74.

Koh EK, Ryu BK, Jeong DY. A 60-Hz sinusoidal magnetic field induces apoptosis of prostate cancer cells through reactive oxygen species. *Int J Radiat Biol*. 2008 Nov;84(11):945-55

Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*. 2002 Nov-Dec;30(6):620-50.

Korkmaz F, Severcan F. Effect of progesterone on DPPC membrane: evidence for lateral phase separation and inverse action in lipid Dynamics. *Arch Biochem Biophys*, 2005, 440,141-147.

Köylü H, Tıbbi Fizyoloji Klinik Anlatımlı, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2014; 283-331

Kula B, Sobczak A, Grabowska-Bochenek R, Piskorska D. Effect of electromagnetic field on serum biochemical parameters in steelworkers. *Journal of Occupational Health*, 1999, 41: 177-18

Laham RJ, Rezaee M, Post M, Sellke1 FW , Braeckman RA, Hung D and Simons M. Intracoronary and intravenous administration of basic fibroblast growth factor: myocardial and tissue distribution. *Drug Metab Dispos*, 1999, Jul;27(7):821-6.

LiF, Xu K-W, Wang H-C, Guo W-Y, Han Y, Liu B, Zhang R-Q. Effects of static magnetic field on human umbilical vessel endothelial cell. *J Med Coll PLA*, 2007, 22:106–110

LiX, Kolega J. Effects of direct current electric fields on cell migration and actin filament distribution in bovine vascular endothelial cells. *J. Vasc. Res*, 2002, 39, 391–404

LiburdyRP, Callahan DE, Harland J, Dunham E, Sloma TR, Yaswen P. Experimental evidence for 60 Hz magnetic fields operating through the signal transduction cascade. Effects on calcium influx and c-MYC mRNA induction. *FEBS Lett*, 1993, 334(3):301–308

Liu KZ, Bose R, Mantsch HH. Infrared spectroscopic study of diabetic platelets. *Vibr. Spectrosc*, 2002, 28; 131–136

LiuY, Qi H, Sun RG, Chen WF. An investigation into the combined effect of static magnetic fields and different anticancer drugs on K562 cell membranes. *Tumori*, 2011, 97, 386-392

LloberasN, Torras J, Herrero-Fresneda I, Cruzado JM, Riera M, Hurtado I, Grinyo JM. Postischemic renal oxidative stress induces an inflammatory response through PAF and oxidized phospholipids: prevention by antioxidant treatment , *The FASEB Journal*, 2002, Vol 16; 908-910

Luckey M. Membrane Structural Biology. Cambridge University Press. New York, 2008

ManickamM, Ramanathan M, Jahromi MA, Chansouria JP, Ray AB. 1997. Antihyperglycemic activity of phenolics from *Pterocarpus marsupium*. *J Nat Prod*, 1997, Jun;60(6):609-10

MannalPW, Alosi JA, Schneider JG, McDonald DE, McFadden DW. Pterostilbene inhibits pancreatic cancer in vitro. *J Gastrointest Surg*, 2010; 14:873–879

Mantsch H.H. Biological application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy: A study of phase transitions in biomembranes, *J. Mol. Structure*, 1984, 113, 201-212

Markov MS. Expanding Use of Pulsed Electromagnetic Field Therapies. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2007;26:257-64.

Martínez-Sámano J, Torres-Durán PV, Juárez-Oropeza MA, Elías-Viñas D, Verdugo-Díaz L. Effects of acute electromagnetic field exposure and movement restraint on antioxidant system in liver, heart, kidney and plasma of Wistar rats: a preliminary report. *Int J Radiat Biol*, 2010, Dec;86(12):1088-94

MartinoCF, Perea H, Hopfner U, Ferguson VL, Wintermantel E. Effects of weak static magnetic fields on endothelial cells. *Bioelectromagnetics*, 2010, 31:296–301

McCormack D, McFadden D. A Review of Pterostilbene Antioxidant Activity and disease modification. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:575482.

McKayJC, Prato FS, Thomas AW. A literature review: The effects of magnetic field exposure on blood flow and blood vessels in the microvasculature. *Bioelectromagnetics*, 2007, 28:81–98

McLeodKJ, Rubin CT. Frequency specific modulation of bone adaptation by induced electric fields. *J Theor Biol*, 1990, 145:385–396

McLeod KJ, Rubin CT. Effect of low-frequency electrical fields on osteogenesis. *J Bone Joint Surg*, 1992,74A:920–929

Melin A, Perromat A, Deleris G. Pharmacologic application of Fourier transform IR spectroscopy: in vivo toxicity of carbon tetrachloride on rat liver, *Biopolymers (Biospectroscopy)*, 2000, 57; 160–168

Melin AM, Perromat A, Délérís G. Pharmacologic application of FTIR spectroscopy: effect of ascorbic acid-induced free radicals on *Deinococcus radiodurans*. *Biospectroscopy*., 1999; 5(4):229-36.

Miao L, Holley AK, Zhao Y, St. Clair WH, St. Clair DK. Redox-Mediated and Ionizing-Radiation-Induced Inflammatory Mediators in Prostate Cancer Development and Treatment. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2014, Vol 20(9); 1481-1500

Mikstacka R. Antioxidant effect of trans-resveratrol, pterostilbene, quercetin and their combinations in human erythrocytes in vitro. *Plant Foods Hum Nutr*, 2010, Mar;65(1):57-63

Movasaghia Z, Rehmanb S, Rehmana I. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2008, 43: 2, 134 — 179

MurakamiM, Loc T, Zhang Z, Moodie K, Carmeliet P, Stan R ve Simons M. The FGF system has a key role in regulating vascular integrity, *J Clin Invest*, 2008, 118(10):3355–3366

Nara M, Okazaki M, Kagi H. Infrared study of human serum very-low-density and low-density lipoproteins. Implication of esterified lipid C=O stretching bands for characterizing lipoproteins. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2002, 117; 1–6

NoiriE, Gailit J, Sheth D. Cyclic RGD peptides ameliorate ischemic acute renal failure in rats. *Kidney Int*, 1994, 46: 1050-58.

NovikovVV, Novikov GV, Fesenko EE. Effect of weak combined static and extremely low-frequency alternating magnetic fields on tumor growth in mice inoculated with the Ehrlich ascites carcinoma. *Bioelectromagnetics*, 2009, Jul;30(5):343-51

OhkawaH, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979, Jun;95(2):351-8.

OhkuboC, Okano H. Clinical aspects of static magnetic field effects on circulatory system. *Environmentalist*, 2011, 31, 97e106

OkanoH, Onmori R, Tomita N, Ikada Y. Effects of a moderate-intensity static magnetic field on VEGF-A stimulated endothelial capillary tubule formation in vitro. *Bioelectromagnetics*, 2006, 27:628–640

OkanoH. Effects of static magnetic fields on blood pressure in animals and humans. *Curr. Hypertens*, 2008, Rev. 4, 63e72

Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 2015; 6 (3): 331-336

ÖzdemirG. Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP) oksidan molekülleri, serbest radikaller. *Roche Bilimsel Eserleri Serisi*, 1993, Floyd R1990.

Ozek NS, Sara Y, Onur R, Severcan F. Low dose Simvastatin induces compositional structural and dynamical changes on rat skeletal extensor digitorum longus muscle tissue, *Bioscience Reports*, 2009, 6; 30(1), 41-50

Ozek NS, Tuna S, Erson-Bensan AE, Severcan F. Characterization of microRNA-125b expression in MCF7 breast cancer cells by ATR-FTIR spectroscopy, *Analyst*, 2010, 135(12), 3094-3102

PagliaDE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Cm. Med*, 1967, 70:158-69

PanY. Effectsof PEMF on Microcirculation and Angiogenesis in a Model of Acute Hindlimb Ischemia in Diabetic Rats.*Bioelectromagnetics*, 2013, 34:180-188

Pan Z, Agarwal AK, Xu T, Feng Q, Baerson SR, Duke1 SO, Rimando AM. Identification of molecular pathways affected by pterostilbene, a natural dimethylether analog of resveratrol. *BMC Medical Genomics*, 2008, 1;7

Pari L, Satheesh MA. Effect of pterostilbene on hepatic key enzymes of glucose metabolism in streptozotocin- and nicotinamide-induced diabetic rats. *Life Sciences*, 2006, 79;641–645

Rabl H, Khoschorur G, Colombo T, Petritsch P, Rauchenwald M, Költringer P, Tatzber F, Esterbauer H. A multivitamin infusion prevents lipid peroxidation and improves transplantation performance. *Kidney International*. 1993. 43:912-917

Ramesh J, Salman A, Argov S, Goldstein J, Sinelnikov I, Walfisch S, Guterman H, Mordechai S.FTIR Microscopic Studies on Normal, Polyp, and Malignant Human Colonic Tissues. *Subsurface Sensing Technologies and Application*, 2001, 2, 99–117

Rigas B, Morgellot S, Goldman IS, Wong PTT. Human colorectal cancers display abnormal Fourier-transform infrared spectra, *Proc. Nati. Acad. Sci*, 1990, 87, 8140-8144

Rodin YP. Static magnetic fields and physical-mechanical properties of polymersea review. *Mech. Compos. Mater*, 1991, 27, 331e341

RollwitzJ, Lupke M, Simko M. Fifty-hertz magnetic fields induce free radical formation in mouse bone marrowderived promonocytes and macrophages. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1674(3):231–238

Sabbatini M, Sansone G, Uccello F, de Nicola L. Functional versus structural changes in the pathophysiology of acute ischemic renal failure in aging rats. *ZGdney Znt*, 1994, 45: 1355-61.

Sadi G. Oxidative Damage And Regulation Of Antioxidant Enzymes In Streptozotocin Induced Diabetic Rats. Thesis Submitted To The Graduate School Of Natural And Applied Sciences Of Middle East Technical University, 2009

Sahin I, Severcan F, Kazancı N. Melatonin induces opposite effects on order and dynamics of anionic DPPG model membranes. *Journal of Molecular Structure*, 2007, 834-836 195-201

Salford LG, Brun A, Eberhardt JL, Persson BRR. Permeability of the blood-brain barrier induced by 915 MHz electromagnetic radiation, 200 Hz. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 1993, 30:293–301

Salman A, Erukhimovitch V, Talyshinsky M, Huleihil M, Huleihel M. FTIR spectroscopic method for detection of cells infected with herpes viruses. *Biopolymers*, 2002, 67, 406–412.

Satheesh A. The antioxidant role of pterostilbene in streptozotocin nicotinamide-induced type 2 diabetes mellitus in Wistar rats. *JPP*, 2006, 58: 1483–1490

Schmidt M, Wolfram T, Rumpler M, Tripp CP, Grunze M. Live cell adhesion assay with attenuated total reflection infrared spectroscopy. *Biointerphases*, 2007, 2; 1-5.

Scholz D, Cai WJ, Schaper W. Arteriogenesis, a new concept of vascular adaptation in occlusive disease. *Angiogenesis*, 2001; 4:247–257

Sen I, Bozkurt O, Aras E, Heise S, Brockmann GA, Severcan F. Lipid Profiles of Adipose and Muscle Tissues in Mouse Models of Juvenile Onset of Obesity Without High Fat Diet Induction: A Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopic Study. *Applied Spectroscopy*, 2015, Volume 69 (6); 679-688

Severcan F, Toyran N, Kaptan N, Turan B. FTIR study of the effect of diabetes on rat liver and heart tissues in the C-H region, *Talanta*, 2000, 53; 55-59

Severcan F., Bozkurt O., Gurbanov R., Gorgulu G. FT-IR spectroscopy in diagnosis of diabetes in rat animal model, *J. Biophoton* 3, 2010, no 8–9: 621–631

- Severcan F., Gorgulu G., Gorgulu T.S., Guray T.** Rapid monitoring of Diabetes-Induced Lipid peroxidation by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Analytical Biochemistry*, 2005, 339, 36-40
- SheikhAbdul Q., Taghian T, Hemingway B, Cho H, Andrei B, Narmoneva K, Narmoneva D.** Regulation of endothelial MAPK/ERK signalling and capillary morphogenesis by low-amplitude electric field. *J R Soc Interface*, 2010, 10
- Shi H, Patschan D, Epstein T, Goligorsky MS, Winaver J.** Delayed recovery of renal regional blood flow in diabetic mice subjected to acute ischemic kidney injury. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 2007, 293: F1512–F1517
- SimskeSJ, Wachtel H, Luttgess MW.** Effect of localized pulsed electromagnetic fields on tail-suspension osteopenia in growing mice. *Bioelectromagnetics*, 1991, 12:101–116
- Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA.** Enstrümantal Analiz (5.Baskı), Bilim Yayıncılık ,Ankara, 1998
- Stam R.** Electromagnetic fields and the blood-brain barrier. *Brain research Reviews*, 2010, 65: 80–97
- Stuart B.** Infrared Spectroscopy Fundamentals and Applications Analytical Techniques in the Sciences. England: John & Sons, Ltd. 2004
- SunY.** A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *CLIN. CHEM.* 1988, 34/3, 497-500
- Szalontai B, Nishiyama Y, Gombos Z, Murata N.** Membrane dynamics as seen by Fourier transform infrared spectroscopy in a cyanobacterium, *Synechocystis* PCC 6803 The effects of lipid unsaturation and the protein-to-lipid ratio, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, 1509; 409-419
- Takahashi H, French SW, Wong PTT.** Alterations in hepatic lipids and proteins by chronic ethanol intake: A high pressure Fourier transform infrared spectroscopic study on alcoholic liver disease in the rat, *Alcoholism-Clinical and Experimental Research*, 1991, 15, 219–223
- TepperOM , Callaghan MJ, Chang EI, Galiano RD, Bhatt KA, Baharestani S, Gan J.** Electromagnetic fields increase in vitro and in vivo angiogenesis through endothelial release of FGF-2. *FASEB J.* 2004, 18,1231–1233

Tisher CC. Structure and Function of Kidneys: Cecil Textbook of Medicine (Yirmibirinci baskı), Goldman L, Bennet JC (ed). WB Saunders Company Philadelphia, Pennsylvania, 2000; 532-539

Toyran N. ve Severcan F. Competitive effect of vitamin D₂ and Ca²⁺ on phospholipid model membranes: An FTIR study, *Chemistry and Physics of Lipids*, 2003, 123; 165-176

Umemura J, Cameron DG, Mantsch HH. A Fourier transform infrared spectroscopic study of the molecular interaction of cholesterol with 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, *Biochim Biophys Acta.*, 1980, 16;602(1), 32–44

UngerEF, Goncalves L, Epstein SE, Chew EY, Trapnell CB, Cannon RO 3rd, Quyyumi AA. Effects of a single intracoronary injection of basic fibroblast growth factor in stable angina pectoris. *Am J Cardiol.* 2000; 85:1414–1419

VaghasiyaJ, Sheth N, Bhalodia Y, Manek R. Sitagliptin protects renal ischemia reperfusion induced renal damage in diabetes, *Regul Pept.* 2011, Jan 17

ValkoM, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Tesler J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2007, 39:44–84

Walker LM, York JL, Imam SZ, Ali SF, Muldrew KL, Mayeux PR. Oxidative Stress and Reactive Nitrogen Species Generation during Renal Ischemia, *Toxicological Sciences*, 2001 63, 143–148

Wang J., Zhang GJ. Influence of membrane physical state on lysosomal potassium ion permeability, *Cell Biology International*, 2005, 29, 393–401

WangZ, Che PL, Du JA, Ha B, Yarema KJ. Static magnetic field exposure reproduces cellular effects of the Parkinson's disease drug candidate ZM241385. *PLoS One*, 2010, 5, e13883

WareJA, Simons M. Angiogenesis in ischemic heart disease. *Nature Med.* 1997; 3:158–164

Watanabe Y, Nakagawa M, Miyakoshi Y. Enhancement of lipid peroxidation in the liver of mice exposed to magnetic fields. *Ind Health*, 1997 Apr;35(2):285-90

Widmaier E, Raff H, Strang KT. Vander's Human Physiology (13th edition), McGraw Hill Higher Education, A.B.D, 2014, 492-493

Williamson S.J. and Kaufman L. Biomagnetism.*J. Magn. Magn.Mater.* 1981, 22 (2), 129–202

YanQC, Tomita N, IkadaY. Effects of static magnetic field on bone formation of rat femurs.*Med Eng Phys*, 1998, 20:397–402

Yanagisawa-MiwaA, Uchida Y, Nakamura F, Tomaru T, Kido H, Kamijo T, Sugimoto T, Kaji K, Utsuyama M, Kurashima C. Salvage of infarcted myocardium by angiogenic action of basic fibroblast growth factor, *Science*. 1992 Sep 4;257(5075):1401-3

Yerer B, Aydoğan S. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar, *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2000, 9(1);49-53

Yıldız A, Genç Ö, Bektaş S. Enstrumental Analiz Yöntemleri, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 1997


ZhaoM, Bai H, Wang E, Forrester JV, McCaig CD. Electrical stimulation directly induces preangiogenic responses in vascular endothelial cells by signaling through VEGF receptors. *J. Cell Sci.*2004, 117,397–405

ZouC, Hu H, Xi X, Shi Z, Wang G, Huang X.Pioglitazone protects against renal ischemia-reperfusion injury by enhancing antioxidant capacity, *J Surg Res*. 2013, Mar 25.


Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biol. Med*, 1999,26; 202–226.

EKLER

EK 1.Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ADÜ-HADYEK)



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(ADÜ-HADYEK)



Aydın, 11 Haziran 2014

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2014 Yılı V. Oturumu

Sayı :64583101/2014/068

Proje Başlığı :Manyetik alan ve pterostilbeninrenaliskemi ve reperfüzyona etkisi

Proje Yürütücüsü : Özlem BOZKURT

Proje Ekibi : Hatice KESER

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması

İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Doç. Dr. Turhan DOST
(Başkan)

Yrd. Doç. Dr. Cengiz ÜNSAL
(Üye)

Doç. Dr. Yücel KOCA
(Üye)

Prof. Dr. İbrahim CEMAL
(Üye)

Dr. Nurten ATALAY
(Üye)

Vet. Hek. Serdar AKTAŞ
(Üye)

Şevket AKYOL (Raportör)

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

ÖZGEÇMİŞ

Adı, Soyadı : Hatice KESER
Doğum yeri ve tarihi : İzmir, 25.09.1982
Medeni Durumu : Bekar
Telefon : 0 554 973 97 42
E-mail : hatice.k35@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı	2016
Lisans	Ege Üniverstesi Fen- Fakültesi Fizik Bölümü	2012

1. PROJELER

Manyetik Alan ve Pterostilbenin Renal İskemi ve Reperfüzyona Etkisi, ADÜ BAP Projesi, Proje No:TPF-15031, Süre:2015-2016, , Ö. Bozkurt (Yürütücü), **H. Keser** (Araştırmacı)

Deneysel diyabet modelinde pterostilbenin ve pterokarbosidin olası nöroprotektif etkisinin elektrobiyofiziksel, nosiseptif, biyokimyasal ve FTIR spektroskopik yöntemlerle araştırılması, ADÜ BAP Projesi, Proje No: TPF14009, Süre: 2014-2016, Ö. Bozkurt (Yürütücü),), MD Bilgin (Araştırmacı), D Öztürk (Araştırmacı), **H. Keser** (Araştırmacı), EC Köken (araştırmacı).

2. BİLDİRİLER

Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

Bozkurt Ö, **Keser H**, Majeed M, Vaidyanathan P, Bilgin MD, Pterostilben tedavisinin tip 1 diyabetik sıçan sıyatik siniri üzerine olan nöroprotektif etkileri, 27. Ulusal Biyofizik Kongresi, 29 Eylül-3 Ekim 2015, Malatya, Kongre özet kitabı sf. 44, Sözlü Bildiri.

Bozkurt Ö, **Keser H**, Köken EC, Bilgin MD, Diyabetik nöropatide pterostilben tedavisinin koruyucu etkileri, 13. Ulusal Sinirbilim Kongresi, 1-3 Mayıs 2015, Konya, Kongre özet kitabı sf. 92, Sözlü Sunum.

3. EĞİTİM, SEMPOZYUM, KONGRE VE ÇALIŞTAYLARA KATILIM

2015	Erasmus Traineeship Programme / Utrecht University, Utrecht, Netherlands
2015	Bijvoet Center for Biomolecular Research Symposium, Utrecht, Netherlands
2014	Workshop: Tips and Tricks of Conducting Basic or Clinical Research Araştırma Projesi Hazırlama Kursu, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, Türkiye
2014	6th Traditional Science and Technology Symposium: Neurodegenerative Diseases and Molecular Mechanisms, Ege University, İzmir, Türkiye
2012	İzmir Genç Fizikçiler Kongresi Katılımcı Sertifikası, İzmir, Türkiye
2011	Turkish Disorder Systems Working Group XI International Symposium on “Disorder Systems: Theory and Its Applications”, İzmir, Türkiye
2005	Universiade İzmir Üniversite Oyunları Sosyal Proje İletişim Sertifikası, İzmir, Türkiye
