

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

DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA
BETA GLUKANIN OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

AYŞEGÜL MAVİ BULUT
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Gökhan Cesur

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 16034 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2017

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Ayşegül Mavi Bulut tarafından hazırlanan “Deneysel Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarında Beta Glukanın Etkileri” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

| Ünvanı, Adı Soyadı | Üniversite | İmza |
|-------------------------------|------------|------|
| Üye: Doç. Dr. Gökhan CESUR | ADÜ | |
| Üye: Prof. Dr. Rauf Onur EK | ADÜ | |
| Üye: Yrd. Doç. Dr. Onur ELMAS | MSKÜ | |

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.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmalarım sırasında tecrübeleriyle, bilgisi ve anlayışıyla her türlü sorunda yanımda olup beni yönlendiren çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Gökhan Cesur'a teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Yüksek Lisans eğitimim ve çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, hoşgörüsünü benden esirgemeyen ADÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Rauf Onur Ek'e katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışmamızın sonuçlanmasında emeği geçen ADÜ Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Kemal Ergin'e teşekkür ederim.

Biyokimya ve biyoistatistik sonuçlarını değerlendiren, çalışmamın ilk anından itibaren bana dostça davranan, benden desteğini esirgemeyen ADÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı araştırma görevlileri başta Cenk Orak olmak üzere Gül Taşlı Yeşilçayır ve Ferhat Şirinyıldız'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| KABUL ONAY..... | ii |
| TEŞEKKÜR..... | iii |
| İÇİNDEKİLER..... | iiiv |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ..... | vii |
| ŞEKİLLER..... | x |
| RESİMLER..... | xi |
| TABLOLAR..... | xii |
| ÖZET..... | xiii |
| ABSTRACT..... | xiv |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1. Böbrek Anatomisi..... | 3 |
| 2.2. Sıçan Böbreğinin Anatomisi..... | 5 |
| 2.3. Böbrek Fizyolojisi..... | 5 |
| 2.3.1. Böbrek Kapiller Sistemi..... | 7 |
| 2.3.2. Glomerüler Kapillerin Özellikleri..... | 7 |
| 2.3.3. Glomerül Filtrasyon Hızını Belirleyen Etmenler..... | 8 |
| 2.3.3.1. Filtrasyon Katsayısı..... | 8 |
| 2.3.3.2. Starling Güçleri..... | 9 |
| 2.3.4. Böbrek Kan Akımı..... | 12 |
| 2.3.4.1. Böbrek Kan Akımının Düzenlenmesi..... | 13 |
| 2.3.4.1.1. Böbrek Kan Akımını Azaltan Etmenler..... | 13 |
| 2.3.4.1.2. Böbrek Kan Akımını Arttıran Etmenler..... | 14 |
| 2.4. İskemiReperfüzyon Hasarı..... | 14 |
| 2.4.1. İskemik Hasar..... | 14 |
| 2.4.1.1. Geri Dönüşümlü İskemik Hasar..... | 14 |
| 2.4.1.2. Geri Dönüşümsüz İskemik Hasar..... | 15 |

| | |
|---|----|
| 2.4.2. Reperfüzyon Hasarı..... | 17 |
| 2.5. İskemi Reperfüzyon Hasarının Fizyopatolojisi..... | 17 |
| 2.5.1. Serbest Radikaller..... | 19 |
| 2.5.2. Serbest Oksijen Radikalleri..... | 20 |
| 2.5.2.1. Süperoksit Radikali..... | 20 |
| 2.5.2.2. Hidrojen Peroksit..... | 21 |
| 2.5.2.3. Hidroksil Radikali..... | 22 |
| 2.5.2.4. Singlet Oksijen..... | 22 |
| 2.5.3. Polimorf Nüveli Lökositler..... | 22 |
| 2.5.4. Kompleman Rolü..... | 24 |
| 2.5.5. Endotel Hücre Rolü..... | 24 |
| 2.5.5.1. Nitrik Oksit..... | 24 |
| 2.5.6. Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları..... | 25 |
| 2.5.6.1. Lipid Peroksidasyonu..... | 27 |
| 2.5.6.1.1. Malondialdehit..... | 27 |
| 2.5.6.2. Nükleik Asitler ve DNA..... | 28 |
| 2.5.6.3. Proteinler..... | 28 |
| 2.6. Antioksidan Savunma Sistemi..... | 28 |
| 2.6.1. Antioksidanların Gruplandırılması..... | 29 |
| 2.6.1.1. Endojen Antioksidanlar..... | 29 |
| 2.6.1.1.1. Enzim Olan Endojen Kaynaklı Antioksidanlar..... | 29 |
| 2.6.1.1.1.1. Süperoksit Dismutaz..... | 30 |
| 2.6.1.1.1.2. Katalaz..... | 31 |
| 2.6.1.1.1.3. Glutatyon Peroksidaz..... | 31 |
| 2.6.1.1.2. Enzim Olmayan Endojen Kaynaklı Antioksidanlar..... | 33 |
| 2.6.1.1.2.1. Glutatyon..... | 33 |
| 2.6.1.2. Ekzojen Antioksidanlar..... | 33 |
| 2.6.1.2.1. Vitamin Ekzojen Antioksidanlar..... | 34 |
| 2.6.1.2.2. İlaç Olarak Kullanılan Antioksidanlar..... | 34 |
| 2.6.2. Beta Glukan..... | 34 |

| | |
|---|----|
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 38 |
| 3.1. Deney Hayvanları..... | 38 |
| 3.2. Deney Grupları..... | 38 |
| 3.3. Beta Glukan Uygulaması..... | 39 |
| 3.4. İskemi Reperfüzyon Uygulaması..... | 40 |
| 3.5. Böbrek Doku Örneklerinin Biyokimyasal Analizi..... | 43 |
| 3.5.1. Doku Malondialdehit Düzeylerinin Ölçümü..... | 43 |
| 3.5.2. Doku Miyeloperoksidaz Düzeylerinin Ölçümü..... | 44 |
| 3.5.3. Doku Katalaz Düzeylerinin Ölçümü..... | 44 |
| 3.5.4. Doku Glutasyon Düzeylerinin Ölçümü..... | 45 |
| 3.6. Böbrek Doku Örneklerinin Histolojik Analizi..... | 45 |
| 3.7. İstatistiksel Analiz..... | 46 |
| 4. BULGULAR..... | 47 |
| 4.1. Biyokimyasal Bulgular..... | 47 |
| 4.1.1. Doku Malondialdehit Düzeyleri..... | 47 |
| 4.1.2. Doku Miyeloperoksidaz Düzeyleri..... | 48 |
| 4.1.3. Doku Katalaz Düzeyleri..... | 49 |
| 4.1.4. Doku Glutasyon Düzeyleri..... | 50 |
| 4.2. Histolojik Bulgular..... | 51 |
| 5. TARTIŞMA..... | 55 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 61 |
| KAYNAKLAR..... | 62 |
| EK-1..... | 76 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 77 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|------------------------------|---|
| α-1 | :Alfa 1 |
| A⁰ | :Angstrom |
| AMP | :Adenozin mono fosfat |
| ATP | :Adenozin tri fosfat |
| β-1 | :Beta 1 |
| c DNA | :Komplementer deoksiribo nükleik asit |
| C5A | :Kompleman sistem komponentleri |
| Ca⁺⁺ | :Kalsiyum |
| cm | :Santimetre |
| CR3 | :Komplement reseptör |
| dk | :Dakika |
| e | :Elektron |
| eNOS | :Endotelyal nitrik oksit sentaz |
| ET | :Endotelin |
| FDA | :Amerika Birleşik Devletleri, sağlık bakanlığına bağlı gıda ve ilaçtan sorumlu bürosu |
| g | :Gram |
| GFR | :Glomerül filtrasyon hızı |
| GPx | :Glutatyon peroksidaz |
| GRAS | :Generally recognized as safe, güvenli kabul edilen |
| GSH | :Glutatyon |
| GSH-Rd | :Glutatyon Redüktaz |
| GSSG | :Oksitlenmiş glutatyon |
| GST | :Glutatyon s transferaz |
| H₂ | :Hidrojen |
| HCIO | :Hipoklorik asit |
| HOCl | :Hipoklorür |
| IL-1 | :İnterlökin 1 |

| | |
|------------------------|---|
| IR Grup | :İskemi Reperfüzyon Grubu |
| IR + BG Grup | :İskemi Reperfüzyon + Beta Glukan Grubu |
| iNOS | :Uyarılabilir NOS |
| KAT | :Katalaz |
| kDA | :Kilo dalton |
| KDH | :Ksantin dehidrogenaz |
| K_f | :Filtrasyon katsayısı |
| KO | :Ksantin oksidaz |
| LOO | :Lipit peroksit radikali |
| MCP | :Monosit kemotrakfan protein |
| MDA | :Malondialdehit |
| MID | :Makrofaj inflamatuvar protein |
| mmHg | :Milimetre civa |
| Mn | :Manganez |
| MPO | :Miyeloperoksidaz |
| Na⁺ | :Sodyum |
| NAD⁺ | :Nikotin amidadenin dinükleotidin |
| Na-K-ATPaz | :Sodyum potasyum ATPaz pompası |
| NK | :Natural killer hücreler |
| nm | :Nanometre |
| nmol/well | :Nanomol / well |
| NO | :Nitrik oksit |
| NOS | :Nitrik oksit sentaz |
| O | :Oksijen |
| p.o. | :Per oral |
| P_B | :Bowman kapsülü hidrostatik basıncı |
| PBS | :Tuzlu fosfat çözeltisi |
| P_G | :Glomerül kapiller hidrostatik basıncı |
| pH | :Power of hydrogen |
| PO₂ | :Oksijen basıncı |

| | |
|--------------------------------|--|
| PMNL | :Polimorf Nüveli Lökositler |
| RNA | :Ribonükleik asit |
| rpm | :Revolution perminute, dönel hız |
| s | :Saniye |
| S. Cerevisiae | :Saccharomyces cerevisiae |
| Se-GSH-Px | :Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz |
| SOD | :Süperoksit dismutaz |
| TBA | :Tiyobarbitürik asit |
| TLR-2 | :Toll benzeri reseptör 2 |
| TNF-α | :Tümör nekrozis faktör |
| Zn | :Çinko |
| Π_G | :Glomerül kapiller onkotik basınç |
| μl | :Mikrolitre |
| -SH | :Sülfidril |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1. Böbreğin makroskobik anatomisi..... | 3 |
| Şekil 2. Jukstamedullar ve kortikal nefron..... | 4 |
| Şekil 3. İdrar atımı..... | 6 |
| Şekil 4. Starling güçleri..... | 9 |
| Şekil 5. GFR ve arteriyol dirençleri..... | 10 |
| Şekil 6. Filtrasyon fraksiyonu ile onkotik basınç ilişkisi..... | 11 |
| Şekil 7. Böbrek oksijen tüketimi ile Na ⁺ geri emilimi arasındaki ilişki..... | 13 |
| Şekil 8. Stres ve hasar verici uyaranlar karşısında hücre yanıtının evreleri..... | 15 |
| Şekil 9. İskemi reperfüzyonun doku hasarına etkisi..... | 18 |
| Şekil 10. Serbest oksijen radikallerinin üretim yolları..... | 26 |
| Şekil 11. Antioksidan sistemin yeterli çalışmaması durumunda meydana gelen hücre hasarı..... | 32 |
| Şekil 12. Ekmek mayası hücre duvarı..... | 35 |
| Şekil 13. Doku MDA değerleri..... | 47 |
| Şekil 14. Doku MPO değerleri..... | 48 |
| Şekil 15. Doku KAT değerleri..... | 49 |
| Şekil 16. Doku GSH değerleri..... | 50 |

RESİMLER

| | |
|--|----|
| Resim 1. İmuneks 50 mg kapsül..... | 39 |
| Resim 2. Gastrik gavaj ile beta glukan uygulaması..... | 40 |
| Resim 3. Anestezi altında operasyon öncesi..... | 41 |
| Resim 4. Sol nefrektomi..... | 41 |
| Resim 5. Sağ böbrek nontravmatik mikrovasküler klemp ile iskemi uygulaması..... | 42 |
| Resim 6. Reperfüzyon uygulaması, mikrovasküler klempin çıkarılması..... | 42 |
| Resim 7. Microplate okuyucu..... | 43 |
| Resim 8. Sham grubu histopatolojik örnek..... | 52 |
| Resim 9. IR grubu histopatolojik örnek..... | 53 |
| Resim 10. IR + BG grubu histopatolojik örnek..... | 54 |

TABLULAR

| | |
|--|----|
| Tablo 1. Doku MDA, MPO, KAT, GSH değerleri..... | 50 |
| Tablo 2. Histolojik skorlama..... | 51 |

ÖZET

DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINDA BETA GLUKANIN OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mavi Bulut A. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek lisans Tezi, Aydın, 2017.

Bu çalışmada böbrek dokusunda oluşturulmuş iskemi ve reperfüzyonun yaratacağı oksidatif strese karşı beta-glukanın olası koruyucu etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Çalışmamızda 30 adet 300-350g ağırlığında Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar, Sham kontrol, İskemi reperfüzyon (IR), İskemi reperfüzyon + beta glukan (IR + BG) olmak üzere gruplandırılmıştır (n=10). Sham kontrol grubuna sol nefrektomi yapılmış, sağ böbreğe herhangi bir uygulama yapılmadan histolojik ve biyokimyasal inceleme için alınmıştır. IR grubunda sol nefrektomi yapıldıktan sonra sağ böbreğe nontravmatik mikrovasküler klemple 45 dakika iskemi uygulaması yapıp ardından 60 dakika reperfüzyon uygulanmıştır. Sağ böbrek dokuları incelenmek üzere alınmıştır. IR + BG grubunda sıçanlara 10 gün boyunca 100 mg/kg beta glukan per oral (p.o.) gastrik gavaj aracılığıyla verilmiştir. Sol nefrektomi ardından sağ böbreğe 45 dakika iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uygulaması yapılmıştır.

Biyokimyasal inceleme sonucunda doku MDA değeri IR grubunda Sham grubuna kıyasla anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,05$). IR + BG grubunda ise IR grubuna kıyasla anlamlı bir azalma kaydedilmiştir ($p<0,05$). Doku MPO değerleri IR grubunda Sham grubuna kıyasla anlamlı bir artış gözlenirken, IR + BG grubunda IR grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olmamıştır. Doku KAT düzeylerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Doku GSH değerleri IR grubunda Sham grubuna kıyasla anlamlı bir azalma göstermiştir ($p<0,05$). IR + BG grubunda IR grubuna kıyasla anlamlı artış bulunmuştur ($p<0,05$). Histopatolojik değerlendirmede de IR + BG grubunda IR grubuna kıyasla daha az hasar tespit edilmiştir.

Bu veriler beta glukanın böbrek iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: antioksidan, betaglukan, böbrek, iskemi, reperfüzyon.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF BETA GLUCAN AGAINST EXPERIMENTAL RENAL ISCHEMIA REPERFUSION DEFECT

Mavi Bulut A. Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Physiology (Medicine) Graduate Program, Master Thesis, Aydın, 2017

In this study, it was aimed to investigate the possible protective effects of beta-glucan against oxidative stress that is caused by ischemia and reperfusion injury in kidney tissue.

In the study, 30 Wistar albino male rats weighing 300-350g were used (n=10). Rats were randomly grouped into three groups of Sham control, ischemia reperfusion group (IR), ischemia reperfusion + betaglucan group (IR + BG). Sham group had left nephrectomy, the right kidney, taken for histopathologic and biochemical examination. After left nephrectomy in IR group, ischemia procedure was applied for 45 minutes via nontraumatic microvascular clamp, then reperfusion was applied for 60 minutes in the right kidney. In the IR+BG group, rats were administered per oral (p.o.) 100 mg/kg beta glucan via gastric gavage for 10 days. Reperfusion was applied for 60 minutes to the right kidney and ischemia application for 45 minutes. Before application, rats were not fed for 24 hours. 10 mg / kg xylazine and 50 mg / kg ketamine was administered according to their weight.

As a result of biochemical examination MDA values showed a significant increase in IR group compared to Sham group ($p < 0,05$). In IR + BG group, there was a significant decrease compared to IR group ($p < 0,05$). Tissue MPO values in IR group showed a significant increase compared to Sham group, in the IR + BG group there was not a significant decrease. There was not a significant difference in tissue catalase levels. Tissue GSH values showed a significant decrease in IR group compared to Sham group ($p < 0,05$). In the IR + BG group a significant increase was found compared to IR group ($p < 0,05$). Less damage has been revealed in the IR + BG group compared to IR group in the histopathologic examination.

All these data show that beta glucan may have an antioxidant effect on renal ischemia reperfusion injury.

Keywords: antioxidant, betaglucan, ischemia, kidney, reperfusion

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi, arteriyel ya da venöz kan akımının azalmasıyla organ ve dokunun yetersiz kanlanması sonucunda oluşan oksijen yoksunluğudur. Buna bağlı olarak hücre düzeyde enerji depolarının tükenmesi ve toksik metabolitlerin birikmesiyle hücre ölümü gerçekleşmektedir (Şener G. ve Yeğen B.Ç, 2009). Böbrek iskemisi; böbrek nakli, kısmi nefrektomi, kardiyopulmoner by-pass, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler ve hidronefrozis gibi farklı klinik durumlarda gözlenebilen, akut böbrek yetmezliği, glomerül filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışıyla karakterize edilebilen bir durumdur (Aydoğdu N. ve ark, 2005; Conesa LE. ve ark, 2001). İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenozin 5'-trifosfat (ATP) ve fosfokreatinin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır (Jennigs R.B. ve Reimer K.A, 1991). İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara kıyasla çok daha ciddi bir hasara yol açar (Aydoğdu N. ve ark, 2005). İskemi ve reperfüzyon sırasında ATP'nin azalması, hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) artışı ve hücre iskeleti ile membran fosfolipitlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfotazların aktivite artışının yanı sıra oluşan aşırı miktardaki serbest oksijen radikalleri yolu ile oksidatif stres hasarı ortaya çıkmaktadır (Laurent B. ve Ardailou R, 1986). Dokularda oksidatif hasara karşı enzimatik ve nonenzimatik antioksidan mekanizmalar vardır. Antioksidan enzim sistemleri; iki süperoksit dismutaz (CuZnSOD ve MnSOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleridir (Dobashi K. ve ark,2000). Non-enzimatik endojen antioksidanların en önemlilerinden biri glutatyon (GSH)'dur (Meister A. ve Anderson ME, 1983; Slusser SO. ve ark, 1990).

Beta glukanlar; ekmek mayasının hücre duvarından (*Saccharomyces Cerevisiae*) elde edilen glukoz polimerleridir ve temel besin maddelerinden olan tahılların ana yapısını oluşturur (Jamás S. ve ark, 1990). Beta glukanın fonksiyonel fagositik hücreler olan granülosit, monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerin fagositoz yeteneğini arttırdığı bilinmektedir (Soltys J. ve Quinn MT, 1999). Beta glukan aracılığıyla natural killer hücreler (NK), makrofaj, monosit ve nötrofillerin aktive olduğu, total lökosit sayısının arttığı, interlökin-1 (IL-1), tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) ve prostaglandin E2 üretiminin de

uyarıldığı gösterilmiştir (Novak M. ve Vetvicka V, 2009; Bedirli A. ve ark, 2003). İmmün sistem üzerine etkileri bilinen beta glukan toksik ve yan etkisi bildirilmemiş güçlü bir immünostimülatör olarak tanımlanmış, ayrıca antioksidan ve organ koruyucu özelliği bildirilmiştir (Sandvik A. ve ark, 2007; Vetvicka V. ve ark, 2002). İlk olarak T-lenfositler üzerinde bu hücrelerin çoğalmasını sağlayan tanımlanamayan bir reseptörün varlığı anlaşılmış; daha sonra makrofaj komplementer DNA (cDNA) ekspresyonu ile bu reseptörün bir glukan reseptörü olan Dectin-1 olduğu ortaya konulmuştur (Brown GD. ve Gordon S, 2001).

In vitro ve hayvan denemeleri maya ve mantarlardan elde edilen 1,3-glukanların bağışıklıkla ilgili hücrelerin fonksiyon ve yanıtında artış yaratabildiğini göstermiştir. Olson ve ark (1996) *Saccharomyces Cerevisiae* (*S. Cerevisiae*)'dan elde edilen beta glukanın sıçanlardan izole edilen alveolar makrofajlar sayesinde in vitro TNF üretimini artırdığı göstermiştir. Bayrak O. ve ark (2008) bir çalışmasıyla beta glukanın, böbrek iskemi reperfüzyonda süperoksit dismutaz (SOD) düzeyini artırdığı ve böbreği reperfüzyon hasarından koruduğu ortaya konmuştur. Babayiğit H. ve ark (2005) da sıçanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada, abdomen sepsis modelinde beta glukanın serumda miyeloperoksidaz (MPO) düzeyini azalttığını ve akciğer hasarının düzeltilmesinde olumlu etkilerinin olduğunu göstermiştir. Erkol H. ve ark (2011) çalışmalarında beta glukanın karaciğer dokusundaki glutasyon (GSH) düzeyini artırdığını ortaya koymuştur. Bu sonuç da beta glukanın antioksidan etkiyi artırdığını göstermektedir.

Günümüzde antioksidan ve organ koruyucu maddelerin öneminin artmasıyla birlikte günlük kullanımları da sıklıkla artmaktadır. Renal iskemik hasarların tedavisinde beta glukanın olası olumlu sonuçlarının saptanması, bu tedavi alanına kazandırılmış yeni bir artı değer olarak ortaya çıkacaktır. Konu ile ilgili gerçekleştirilecek ileri çalışmalar sonucunda multidisipliner yaklaşımlar geliştirilebilecek, insanlık için faydalı bir bilimsel çalışma ortaya konacaktır. Beta glukanın tedavi edici olarak verildiği bir böbrek iskemi modeline literatürde az rastlanmıştır. Çalışmamızda beta glukanın böbrek iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olası koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

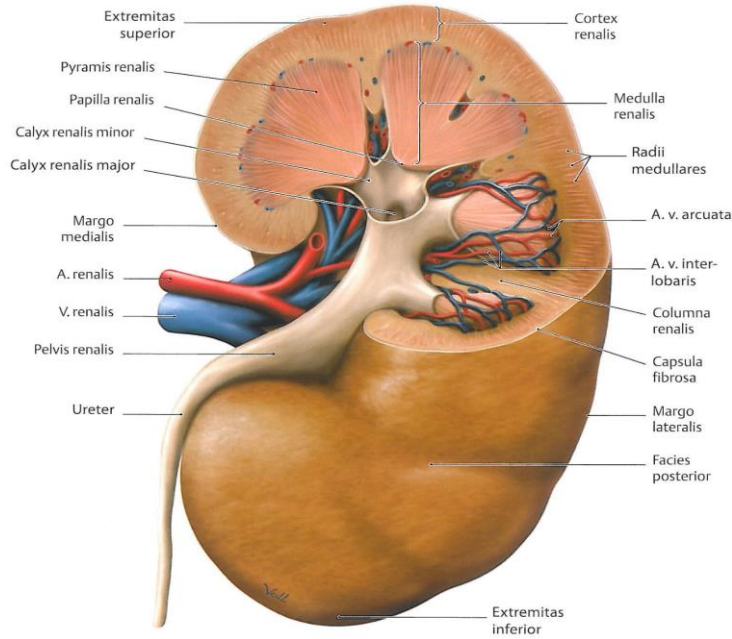
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek Anatomisi

Böbrekler; periton boşluğunun dışında ve karın arka duvarında yer almaktadır. Yetişkin bir insanda ortalama bir böbreğin ağırlığı 150 gramdır. Her böbreğin orta kısmında böbreğin arteri, veni, lenfatikleri, sinirlerinin ve üreterlerin girip çıktığı çukur bir bölge olan hilum yapısı vardır (Guyton A. ve Hall J, 2013).

Böbreğin dış kısmına korteks adı verilirken iç kısmına medulla adı verilmektedir. Böbreğin medullasında koni şeklinde 8-10 adet böbrek piramitleri bulunmaktadır. Üreterin üst ucunun bulunduğu bölge böbrek pelvisidir. Burada majör kaliksler açık ceplerde aşağıya doğru uzanır ve burada tübüllerden idrar toplayan minör kalikslere ayrılır. Üreter daha sonra idrarı mesaneye taşır ve buradan üretrayla vücut dışına atılır (Guyton A. ve Hall J, 2013)

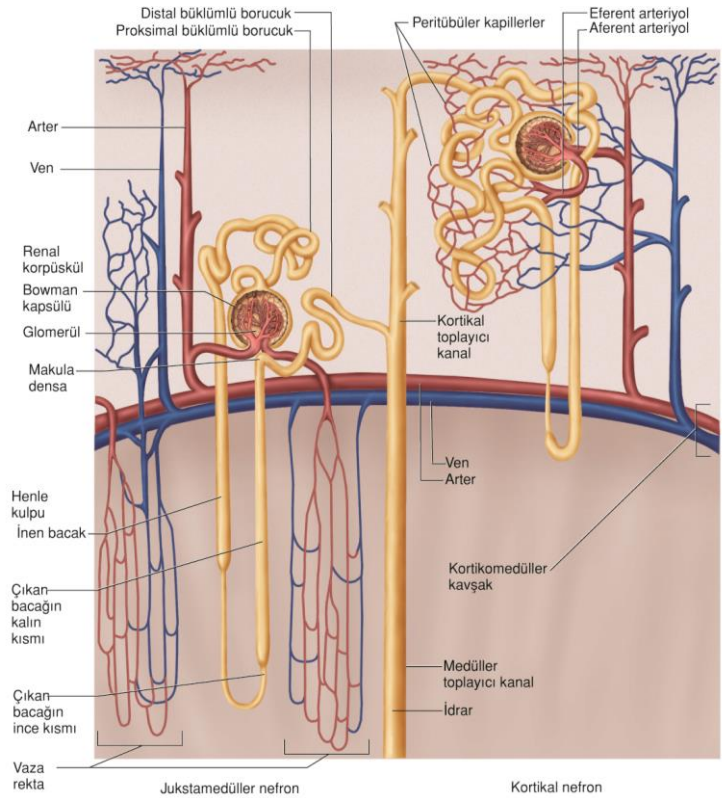
İnsanda her böbrek idrar oluşturma yeteneğine sahip 1.000.000 civarında nefrondan oluşur. Her nefron glomerül kapiller ağ ile tübülden oluşur. Glomerül kapiller ağdan kandan büyük miktarda sıvı filtre olur. Tübülde ise filtre edilen sıvıdan idrar oluşur.



Şekil 1: Böbreğin makroskobik anatomisi (Schünke M, 2015)

İdrar oluşumu sırasında öncelikle glomerül kapillerinden filtre olan sıvı Bowman kapsülü içine ve daha sonra proksimal tübül içine ve ardından Henle kıvrımına akar. Her kıvrımın bir inen bir de çıkan kolu vardır. Çıkan kalın kolun sonunda, duvarlarında özelleşmiş epitel hücrelerinden oluşan ve nefron fonksiyonlarının kontrolünde önemli bir rol alan makula densa yer almaktadır. Sıvı makula densadan sonra distal tübüle doğru devam eder. Distal tübülü birleştirici tübüller ve korteksin toplayıcı tübülü izler. Toplayıcı kanalların birleşmesiyle daha geniş toplayıcı kanallar oluşur. Her böbrekte bu yolla idrar toplayan yaklaşık 250 kadar geniş kanal vardır (Guyton A. ve Hall J, 2013).

İki çeşit nefron bulunmaktadır. Glomerülü korteksin dış kısmına yerleşmiş olanlara korteks nefronları denmektedir. Bu nefronların Henle kıvrımları çok kısa mesafeye inmektedir. Glomerülleri korteksin nispeten daha derin kısımlarına yerleşmiş olanlara jukstamedullar nefronlar denir. Bu nefronların Henle kıvrımları uzundur ve medullanın derinliklerine kadar iner (Guyton A. ve Hall J, 2013).



Şekil 2: Jukstamedullar ve kortikal nefron (Widmaier E ve ark, 2014)

2.2. Sıçan Böbreğinin Anatomisi

Sıçanlarda uzun ve kısa nefronlar bir arada bulunmaktadır. Sıçan böbreği üretere tek bir kaliksle bağlanır (Sharp P.E. ve La Regina M.C, 1998). Sıçan böbreğinin uzunluğu 1,6 cm civarında, genişliği 1 cm, kalınlığı ise 0,9 cm civarındadır. 180 - 280 g ağırlığındaki bir sıçanın böbrek ağırlığı 2,7 – 3 g civarındadır (Nur İ.H. ve Yoldaş A, 2011).

İnsan böbreği ile sıçan böbreği kıyaslanacak olursa insan böbreği boyutu yaklaşık 12 x 6 x 4 cm iken sıçan böbreği ortalama 1,6 x 1 x 0,9 cm'dir ve insanda yaklaşık 5-6 papilla varken sıçan böbreğinde 1 tane papilla vardır yani sıçan böbreği ünipapillerdir. İnsanda tek bir böbrekte yaklaşık 850000-1200000 nefron varken sıçan böbreğindeki nefron sayısı yaklaşık 30000-31000 civarındadır. İnsana oranla daha az renal tubülü vardır ve böbrek pelvisi basittir, üriner boşluğu çok küçüktür. Medulla hacminin korteks hacmine oranı açısından değerlendirildiğinde, insan böbreğine çok yakın bir oranda; 1:2 oranındadır ki bu oran tavşanda 1:16 'dır (Çakır Ö.O. ve ark, 2014).

Sıçanlarda genellikle renal arterler *a. mesenterica superior*'a yakın bir orjin almakta; sağ renal arter sola göre daha cranialde yer aldığı için *a. mesenterica cranialis*'in üst önünden orjin almaktadır. *A. renalis*'ler hilus içinde iki dal vermektedir ki bazı kaynaklar ilk segmental dalları 'a.segmenta renalia' olarak tanımlamıştır (Dursun N, 1996; Grene E.C, 1963).

2.3. Böbrek Fizyolojisi

Böbreklerin en önemli görevleri plazmayı filtre ederek vücudun ihtiyacına göre maddeleri değişik hızda vücuttan uzaklaştırmaktır. Aynı zamanda filtrattaki gerekli maddeleri de kana geri döndürmektedir. (Guyton A. ve Hall J, 2013).

Böbrekler, yabancı kimyasal maddelerin ve metabolik yıkım ürünlerinin, ilaçların ve hormon metabolitlerinin vücuttan atılmasında da görevlidir. Metabolik artık ürünler arasında aminoasit metabolizmasından üre, nükleik asitlerden ürik asit, kas kreatininden kreatinin, hemoglobin yıkımının son ürünleri (bilürubin gibi) ve değişik hormon metabolitleri sayılabilir. (Widmayer E, Raff H ve Strang K, 2014).

Böbrekler, su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesinde de etkin göreve sahiptir. Su ve birçok elektrolitin alınması genellikle kişinin beslenme alışkanlıkları ile ilgilidir ancak maddelerin alınışına göre atım hızını böbrekler ayarlamaktadır (Widmayer E, Raff H ve Strang K, 2014).

Arter basıncının düzenlenmesinde böbrekler önemli rol oynamaktadır. Kısa süreli arter basıncının düzenlenmesinde renin salgılaması büyük rol oynarken, uzun süreli arter basıncının düzenlenmesi su ve sodyum atılımına bağlıdır (Widmaier E, Raff H ve Strang K, 2014).

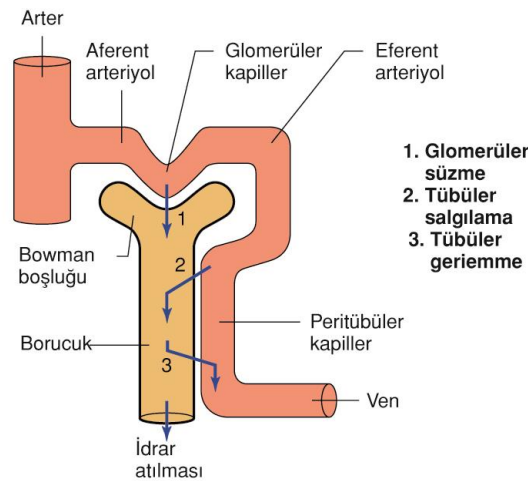
Böbrekler asit atarak vücut sıvılarının tampon stoklarını asit-baz dengesini açısından düzenlemektedir. Sadece böbrekler yoluyla gerçekleşen protein metabolizmasında oluşan sülfirik asit ve fosforik asit bu dengede önemli yer almaktadır (Widmaier E, Raff H ve Strang K, 2014).

Böbrekler, kemik iliğinden eritrosit yapımını uyaran eritropoietini salgılamaktadır. 1,25-dihidroksi vitamin D3 yapımının düzenlenmesinde böbrekler vitamin D'nin aktif şeklini yaparak kalsiyumun gastrointestinal sistemden emilmesini sağlamaktadır. (Widmaier E, Raff H ve Strang K, 2014).

Uzun süreli açlık durumunda, glikoneojenez ile glikoz sentez edilmesini böbrekler sağlamaktadır (Widmaier E. ve ark, 2014).

Vücuttaki atık maddelerin idrarla atılması üç basamak ile gerçekleşmektedir. İlk basamak glomerül kapillerinde gerçekleşen glomerüler filtrasyondur. İkinci basamak böbrek tübüllerinden kana bir takım maddelerin geri emilimidir. Üçüncü basamak ise kandan böbrek tübüllerinde bazı maddelerin sekresyonudur (Guyton A ve Hall J, 2013). Matematiksel olarak;

$$\text{İdrarla atılma hızı} = \text{Filtrasyon hızı} - \text{Geri emilim hızı} + \text{Sekresyon hızı}$$



Şekil 3: İdrar atımı (Widmaier E ve ark, 2014)

2.3.1. Böbrek Kapiller Sistemi

Böbrek kapiller sistemi; birbirinden efferent arteriyol ile ayrılmış, glomerül ve peritübüler olmak üzere iki kapiller sistemden oluşmaktadır (Guyton A ve Hall J, 2013).

Glomerül hem dallanma hem de anastomoz yapan bir kapiller ağdan oluşmaktadır. Bowman kapsülü ile sarılan glomerül kapilleri epitel hücrelerle örtülmüştür (Guyton A ve Hall J, 2013).

Kortikal nefronların tübül sistemi peritübüler kapiller ağ ile çevrelenmiştir ve jukstamedullar nefronların kapiller sistemi 'vaza rekta' denen Henle kıvrımı boyunca özelleşmiş bir kapiller ağdan oluşmuştur. İdrarın yoğunlaşmasında medullada yer alan bu özelleşmiş kapiller ağın büyük katkısı vardır (Guyton A ve Hall J, 2013).

Glomerül kapillerinde yaklaşık 60 mmHg'lık basınç varken, peritübül kapillerindeki basınç yaklaşık 13 mmHg'dır. Bu basınç farkı sıvının glomerül kapillerinde hızlı bir şekilde filtre olmasını sağlarken peritübül kapillerinde geri emilim olmasını sağlamaktadır (Guyton A ve Hall J, 2013).

2.3.2. Glomerüler Kapillerin Özellikleri

Glomerül kapilleri iki arteriyol arasında yer alırken sistemik kapiller arteriyol ile venül arasında yer almaktadır.

Glomerül kapillerinde basınç sistemik kapillerin yaklaşık iki katı kadardır. Sistemik kapillerde basınç arteriyol uçta yaklaşık 30 mmHg, venöz uçta yaklaşık 10 mmHg iken glomerül kapillerde basınç afferent arteriyolde yaklaşık 60 mmHg, efferent arteriyolde ise yaklaşık 58 mmHg'dır (Guyton ve Hall, 2013).

Glomerül kapillerinde sadece filtrasyon olurken, peritübül kapilleri geri emilimi sağlamaktadır ancak sistemik kapillerlerde sıvı arteriyel uçta filtre edilirken geri emilim venöz uçta meydana gelmektedir (Köylü H, 2014).

Glomerül kapillerinde kapiller zarı kapiller endoteli, bazal membran ve epitelyum hücre (podosit) tabakası olmak üzere üç tabakadan oluşurken sistemik kapillerlerde endotel ve bazal membran olmak üzere sadece iki tabakadan oluşmaktadır (Guyton A ve Hall J, 2013).

Kapiller endoteli pencere denen binlerce küçük delikten oluşmaktadır. Bu pencerelerden plazma proteinlerinin geçmesine engel olan durum pencerelerin geniş olmasına rağmen, filtrasyon bariyerinin negatif yüklü glikoproteinlerden oluşmasıdır. Ayrıca filtrasyonun

olabilmesi için molekül büyüklüğü olarak yarıçapının 18 Angstrom (A°)'dan küçük olması gerekmektedir. 18-36 A° arasındaki moleküllerin filtrasyonu değişik derecelerde olurken 36 A°dan büyük moleküller filtre olamazlar. Ayrıca molekül büyüklükleri eşit olan maddelerden pozitif yükler kolayca filtre olurken, bazal membran ve podositlerin negatif yüklü olması plazma proteinleri gibi negatif yüklü maddelere sınırlama getirmektedir (Guyton A ve Hall J, 2013).

2.3.3. Glomerül Filtrasyon Hızını Belirleyen Etmenler

Glomerül filtrasyon hızını (GFR) belirleyen iki tane etmen vardır. Bunlardan biri net filtrasyon basıncı, diğeri glomerül kapiller filtrasyon katsayısıdır. Net filtrasyon basıncını Starling güçleri belirlemektedir.

$$\text{GFR} = \text{Net Filtrasyon Basıncı} \times \text{Filtrasyon Katsayısı}$$

2.3.3.1. Filtrasyon Katsayısı

Filtrasyon katsayısı (K_f), glomerül kapillerinin yüzey alanı genişliğini ve sıvı iletkenliğini gösteren bir ölçümdür. GFR'nin net filtrasyon basıncına bölünmesiyle hesaplanmaktadır (Köylü H, 2014).

$$K_f = \text{GFR} / \text{Net filtrasyon basıncı}$$

$$K_f = 125 / 10 = 12,5 \text{ ml/dk/mmHg}$$

Böbreğin 100 gramına göre hesaplandığında bu değer 4,2 ml/dk/mmHg olarak bulunmaktadır. Diğerk dokuların filtrasyon katsayıları ile kıyaslandığında bu değer glomerül kapillerinde yaklaşık 400 kat fazladır (diğerk dokularda $K_f=0,01\text{ml/dk/mmHg}$).

K_f 'nin artışı GFR'yi artırırken, azalması GFR'nin azalmasına neden olmaktadır. Filtrasyon yapan glomerül sayısının azalması ya da glomerül kapiller membran kalınlığının artması filtrasyon katsayısını azaltmakta dolayısıyla GFR'yi düşürmektedir. Kronik hipertansiyon ve diabetes mellitus gibi bazı hastalıklar filtrasyon katsayısını azaltabilmektedir. Ayrıca glomerül arteriyollerine vazodilatasyona sebep olan ilaç ve

hormonlar filtrasyon katsayısını arttırmakta; vazokonstriksiyona sebep olanlar ise filtrasyon katsayısını düşürmektedir (Guyton A ve Hall J, 2013).

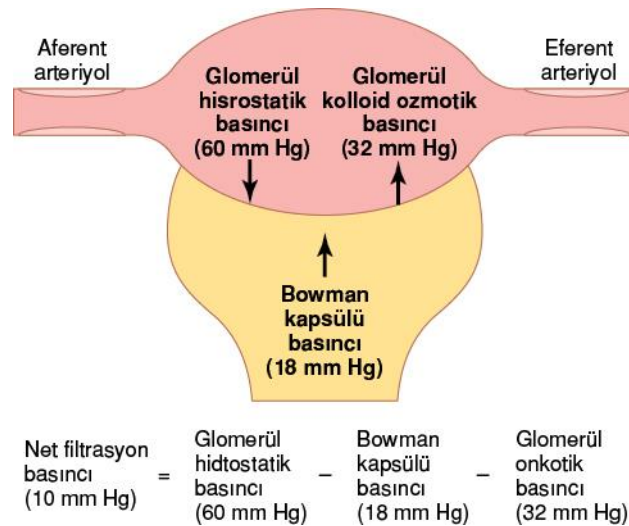
2.3.3.2. Starling Güçleri

Glomerül kapillerinde ve Bowman kapsülü içinde oluşan hidrostatik ve onkotik basınçlar Starling güçlerini oluşturmaktadır. Filtrasyonu sağlayan en büyük güç glomerül kapiller hidrostatik basıncı, buna karşı gelen güçler ise glomerül kapiller onkotik basıncı ve Bowman kapsülü hidrostatik basıncıdır. (Normalde Bowman kapsülü onkotik basıncı filtrasyona yardımcı bir kuvvet olsa da sağlıklı bir böbrekte glomerül kapillerinden protein geçişi olmadığı için Bowman kapsülü onkotik basıncı değeri etkisizdir ve 0 olarak kabul edilir) (Guyton A ve Hall J, 2013).

Net Filtrasyon Basıncı = glomerül kapiller hidrostatik basıncı – (Glomerül kapiller onkotik basıncı + Bowman kapsülü hidrostatik basıncı)

$$\text{Net Filtrasyon} = P_G - (\Pi_G + P_B)$$

$$\text{Net Filtrasyon Basıncı} = 60 - (32 + 18) = 10\text{mmHg}$$



Şekil 4: Starling güçleri (Guyton A ve Hall J, 2013)

Glomerül Kapilleri Hidrostatik Basıncı; glomerül filtrasyonunu sağlayan tek kuvvet olan glomerül kapilleri hidrostatik basıncı yaklaşık 60 mmHg'dır. Glomerül kapilleri hidrostatik basıncındaki değişiklikler doğru orantılı olarak GFR'yi etkilemektedir. Basınç artışı GFR'yi arttırırken, azalması GFR'nin azalmasına sebep olmaktadır (Guyton A ve Hall J, 2013).

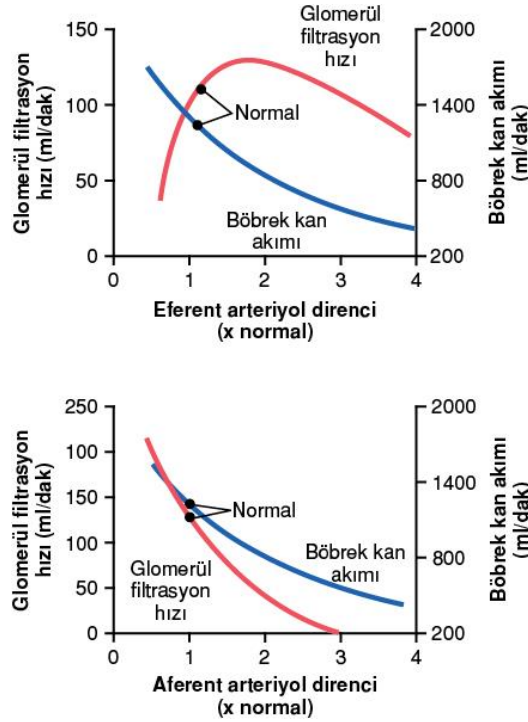
Glomerül hidrostatik basıncını üç değişken belirlemektedir:

1. Arter basıncı
2. Afferent arteriyol direnci
3. Efferent arteriyol direnci

Arteriyel basınç artışı glomerül hidrostatik basıncının artmasını sağlayarak GFR'yi arttırmaktadır. Ancak bu arteriyel basınç artışı bir takım tampon mekanizmalar sayesinde dengede tutulmaktadır (Guyton A ve Hall J, 2013).

Afferent arteriyoldeki direnç artışı glomerül hidrostatik basıncının azalmasına sebep olmakta, dolayısıyla GFR'yi azaltmaktadır. Afferent arteriyolde vazodilatasyon da glomerül hidrostatik basıncı arttırarak GFR'yi arttırmaktadır (Guyton A ve Hall J, 2013).

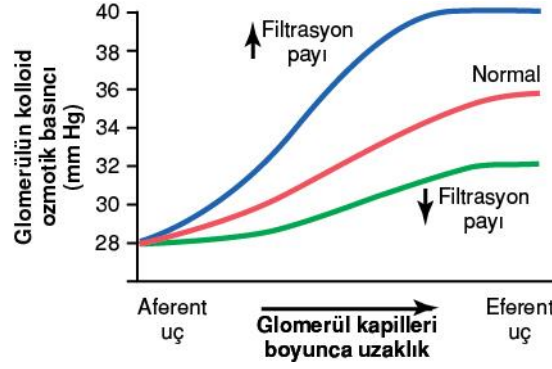
Efferent arteriyol direnci de orta dereceye kadar glomerül hidrostatik basıncını arttırmamasından dolayı GFR'yi arttırmakta ancak ileri derecedeki bir vazokonstriksiyon glomerül hidrostatik basıncından bağımsız GFR'yi düşürmektedir. Bu düşüşe sebep olan olay; efferent arteriyol daralmasına bağlı olarak böbrek kan akımının azalması ve bundan dolayı filtrasyon fraksiyonunun ve glomerül onkotik basıncının artmasıdır. Onkotik basınç plazma protein konsantrasyonundaki artışın Donan etkisine bağlı olarak artmasına bağlıdır ki bu artış hidrostatik basıncındaki artışı aşmakta ve GFR azalma eğilimine girmektedir (Guyton A ve Hall J, 2013).



Şekil 5: GFR ve arteriyol dirençleri (Guyton A ve Hall J, 2013)

Glomerül Kapiller Onkotik Basıncı; glomerül kapiller onkotik basıncı afferent arteriyoler uçta yaklaşık 28 mmHg, efferent arteriyolde ise yaklaşık 36 mmHg olmakta, ortalama 32 mmHg olarak hesaplanmaktadır. Arteriyel plazmanın onkotik basıncı ve filtrasyon fraksiyonu, glomerül kapiller onkotik basıncını belirleyen etmenlerdir (Guyton A ve Hall J, 2013).

Arteriyel plazmanın onkotik basıncının artışı glomerül kapillerindeki onkotik basıncın artışına sebep olmakta ve GFR'yi azaltmaktadır. Glomerül kapillerindeki filtrasyon fraksiyonu protein konsantrasyonunu belirleyen bir etmendir. Bu da glomerül kapiller onkotik basıncı belirlemektedir. Filtrasyon fraksiyonu; $GFR / \text{böbrek plazma akımı}$ şeklinde hesaplanmasından dolayı filtrasyon fraksiyonundaki artış GFR artışı ile gerçekleşebildiği gibi böbrek plazma akımının azalmasıyla da gerçekleşebilir. Böbreğe gelen akımın sadece %20'si filtre edildiğinden filtrasyon fraksiyonu %20'dir. Filtrasyon fraksiyonundaki artış, plazma proteinlerini konsantre ederek glomerül onkotik basıncı arttıran bir sebep olmaktadır (Guyton A ve Hall J, 2013).



Şekil 6: Filtrasyon fraksiyonu ile onkotik basınç ilişkisi(Guyton A ve Hall J, 2013)

Bowman Kapsülü Hidrostatik Basıncı; Bowman kapsülü hidrostatik basıncı yaklaşık 18 mmHg'dır. Bowman kapsülü içinde hidrostatik basınç GFR ile ters orantılı olarak artmakta ya da azalmaktadır. Bowman kapsülü hidrostatik basınç artışı GFR'yi azaltır ve Bowman kapsülü hidrostatik basıncındaki azalma GFR'yi arttırmaktadır. (Guyton A ve Hall J, 2013).

İdrar yolları tıkanıklıklarıyla ilgili bazı patolojilerde Bowman kapsül basıncı artarak GFR'de önemli ölçüde azalmaya yol açabilmektedir (Guyton A ve Hall J, 2013).

Bowman Kapsülü Onkotik Basıncı: Filtrasyon bariyerinden normal koşullarda plazma proteinleri geçemediği için Bowman kapsülü onkotik basıncının GFR üzerine etkisi düşünülmemektedir. Ancak bazı patolojik durumlarda, glomerül kapiller zarının negatif yükü kaybolabilmektedir. Bu tür durumlarda düşük molekül ağırlıklı proteinler filtre edilebilmekte ve GFR'yi etkileyebilecek bir onkotik basınç oluşabilmektedir (Guyton A ve Hall J, 2013).

2.3.4. Böbrek Kan Akımı

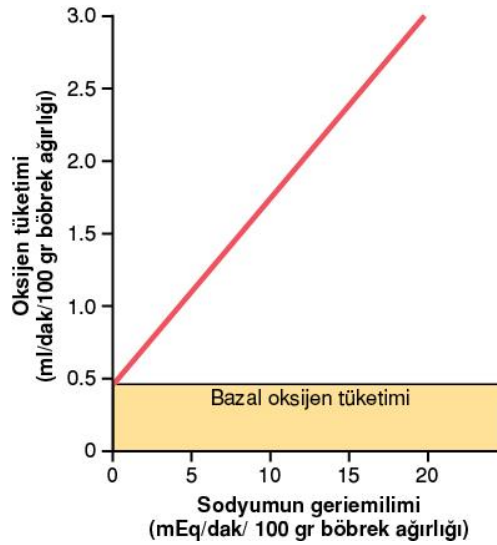
Böbreğin kan akımı normalde yaklaşık 1100 ml, ortalama kalp debisinin yaklaşık %22'sidir. Böbrek kan dolaşımı iki ayrı kapiller yatağı olmasından dolayı özel bir dolaşımdır (Guyton A ve Hall J, 2013).

Böbrek kan akımının hesaplanması renal arter basıncı ile renal venöz basınç farkının toplam damar direncine bölünmesiyle olmaktadır. Renal ven basıncı 3-4 mmHg kadarken renal arter basıncı sistemik arter basıncına yakın bir değerdedir. Böbreklerdeki renal vasküler direnci interlobuler arter, afferent arteriyol ve efferent arteriyol belirlemektedir (Köylü H, 2014).

$$\text{Böbrek Kan Akımı} = \frac{(\text{Böbrek Arter Basıncı} - \text{Böbrek Ven Basıncı})}{\text{Toplam Böbrek Damar Direnci}}$$

Böbreğe giden kan akımı, gram başına düşen doku ağırlığı ile kıyaslandığında beyine giden kan akımının yaklaşık 7 katıdır. Bu fazla kan akımının amacı, vücut sıvı hacimleri ve madde yoğunluklarını tam olarak düzenlemede gereken yüksek glomerül filtrasyon hızı için yeterli plazmayı sağlamaktır. Bunun amacı madde yoğunlukları ve sıvı hacimlerini düzenlemede gerekli GFR'ye, yeterli plazmayı ulaştırmak olabilir (Guyton A ve Hall J, 2013).

Böbreklerin, oksijen tüketimi de diğer dokulara kıyasla (örneğin beynin oksijen tüketiminin yaklaşık iki katı) daha fazladır. Böbreklerde tüketilen bu oksijen miktarı sadece metabolik ihtiyaç için değildir. Böbreklerdeki bu oksijen tüketiminin büyük bir kısmı tübüllerde gerçekleşen aktif sodyum (Na^+) geri emilimi içindir. Bu yüzden oksijen tüketimi sodyumun geri emilmesiyle orantılıdır. Na^+ geri emiliminin olmadığı varsayılırsa böbreklerdeki oksijen tüketimi yaklaşık $\frac{1}{4}$ oranında düşer ki bu da böbrek hücrelerinin metabolik ihtiyaçları için yeterlidir (Guyton A ve Hall J, 2013).



Şekil 7: Böbrek oksijen tüketimi ile Na^+ geri emilimi arasındaki ilişki (Guyton A ve Hall J, 2013)

2.3.4.1. Böbrek Kan Akımının Düzenlenmesi

Böbrek kan akımını etkileyen bir çok hormon ve böbreklerden salgılanan lokal olarak da etki eden vazoaaktif maddeler bulunmaktadır.

2.3.4.1.1. Böbrek Kan Akımını Azaltan Etmenler

Böbrek kan akımını azaltan etmenler; epinefrin, norepinefrin, anjiyotensin II ve endotelindir. Afferent arteriyol, sempatik sinirlerin norepinefrin salgılamasıyla innerve edilmekte, ayrıca norepinefrin ve epinefrinin adrenal medulladan salgılanmasıyla da kan seviyeleri sempatik sinir aktivitesine paralel olarak artmaktadır. Norepinefrin ve epinefrin vazokonstriksiyon etkisini başlıca afferent arteriyoller üzerindeki alfa 1 (α_1) adrenerjik reseptörlere bağlanarak göstermektedir. Ayrıca norepinefrin renin salgılanmasını jukstaglomerüler hücrelerden beta 1 (β_1) adrenerjik reseptörlere bağlanarak yapmaktadır. Anjiyotensin II damarlar üzerinde güçlü bir vazokonstriktör etki yapmaktadır. Orta düzey salınımları efferent arteriyol üzerine etki ederek böbrek kan akımını arttırırken, yüksek miktarları efferent arteriyol yanında afferent arteriyole de vazokonstriksiyon etkisi yaparak böbrek kan akımını azaltmaktadır (Köylü H, 2014).

2.3.4.1.2. Böbrek Kan Akımını Arttıran Etmenler

Böbrek kan akımını arttıran etmenler arasında prostaglandinler ve nitrik oksit (NO) bulunmaktadır. Böbrek kan akımının artışı GFR'yi de arttırmaktadır. Hemoraji gibi bazı patolojik durumlarda böbreklerde lokal olarak prostoglandinler üretilir. Özellikle afferent arteriyolün vazodilatasyonundan sorumludur. Sempatik sinirler ve anjiyotensin II'nin özellikle afferent arteriyoldeki vazokonstriktör etkisini azaltmaktadır. Damar direncini azaltan ve damar endotelinden salgılanan NO böbreklerde aşırı vazokonstriktör etkiyi önlemektedir (Köylü H, 2014).

2.4. İskemi Reperfüzyon Hasarı

2.4.1. İskemik Hasar

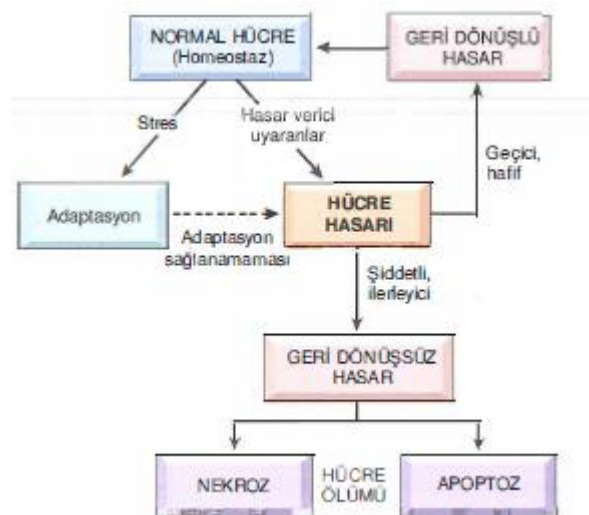
Bir organa gelen kan akımının, bir pıhtı veya mekanik etkenlerle kısmen veya tamamen kesilmesi sonucunda dokunun beslenememesine 'iskemi' denir (Arslan K, 2012). Dokulara giden oksijen miktarının azalması durumuna ise 'hipoksi' adı verilmektedir. İskemi, doku hipoksisine sebep olmaktadır (Kumar V ve ark, 2003). Hücresel enerji depolarının tükenmesi

ve toksik metabolitlerin birikmesiyle doku bütünlüğünü bozan iskemi hücre ölümüne yol açmaktadır (Zimmerman B.J. ve Granger D.N, 1992; Şener G. ve Yeğen B.Ç, 2009).

Dokunun iskemiye maruz kaldığı süre ve dokuya giden kan akımındaki azalmanın miktarı iskemik hasarın şiddetini belirlemektedir (Kandilci H.B. ve Gümüşel B, 2005). Buna göre iskemik hasarın şiddeti geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olmak üzere ikiye ayrılır.

2.4.1.1. Geri Dönüşümlü İskemik Hasar

Hücre fonksiyonları, normal şartlarda oksijen varlığında ve yüksek enerjili fosfat bağları sayesinde aerobik mekanizma ile gerçekleştirilir (Basım S, 2005). Hipoksi durumunda tüm ATP'ler tüketilip üretimi yapılamadığından hücre düzeyinde fonksiyon kaybına bağlı yapısal bozukluklar meydana gelir (İşcan Ş, 2012). ATP aktivitesindeki azalma, sodyum-potasyum-ATPaz (Na-K-ATPaz) pompasının aktif çalışmasını engeller; dolayısıyla hücre içi Na^+ derişimi artar. İzoosmotik su birikimiyle akut hücresel şişme oluşmaktadır. Ayrıca ATP'nin azalmasına bağlı AMP'nin artması ile glikojenden ATP üretimi ile anaerobik glikoliz hızı artmaktadır. Glikojenin tüketilmesi ile de inorganik fosfat ve laktik asit birikiminde artış meydana gelmektedir. Buna bağlı hücre içi asidoz meydana gelir ve protein sentezinin azalmasıyla da mitokondriyal fonksiyonlar bozulur. Membran geçirgenliğindeki artış morfolojik bozulmayla sonuçlanır. İskemi ortadan kalkar ve oksijen eski haline dönerse bu bozulmalar geçicidir ancak iskemi süresinin uzaması geri dönüşümsüz doku hasarına yol açar (Andreoli S.P. ve McAteer J.A, 1990; Kumar V. ve Robbins S.L, 2000).



Şekil 8: Stress ve hasar verici uyarılar karşısında hücre yanıtının evreleri (Kumar V ve ark, 2014)

2.4.1.2. Geri dönüşümsüz iskemik hasar

Böbrek üzerine yapılmış çalışmalar sonucunda kalıcı hasar için belirlenmiş kritik zaman dilimi 30 dakika olarak tespit edilmiştir (Gasnov F, 2010). Geri dönüşümsüz iskemiye belirleyen iki ana olay; mitokondri bozukluğunun yeniden kanlanma olmasına rağmen düzelmeyişi ve hücre membran fonksiyonlarının kaybıdır. Mitokondriyal bozulmalar 30-40 dakikalık iskemi sonrasında geri dönüşümsüzdür. Proteinler, temel koenzimler ve ribonükleik asit (RNA) aşırı geçirgen zarlardan sürekli kaybedilir. Lizozom zarları hidrojenin gücü (power of Hydrogen -pH-)’in düşmesine bağlı olarak zedelenir ve sitoplazmaya geçerek çekirdek yapılarını ve sitoplazmayı sindirir. Bu da hücre ölümünü hızlandırır. Bunlar daha sonra diğer hücreler tarafından fagosite edilerek yağ asitlerine parçalanır (Cotran ve ark, 1995; Ergün Y, 2006; Şahin F, 2011).

Hücre zarının zedelenmesi geri dönüşümsüz hasarın başlangıcını oluşturur. Hücre zarı zedelenmesinin olası nedenleri;

1. Hücresel ATP’nin azalması
2. Membran fosfolipitlerin kaybı
3. Hücre iskeletindeki bozulma: Hücre zarındaki bozulmalar hücre dışındaki kalsiyum (Ca^{++})’un hücre içine akışına sebep olur. Bu hücre için sitotoksik olan Ca^{++} artışı, hücre iskelet proteinlerinin parçalanmasına yol açar (Kumar V ve ark, 2003; Şahin F, 2011; Oreenius S ve ark, 1992).
4. Lipit yıkım ürünleri: Fosfolipitlerin parçalanması sonucunda katabolitik ürünler birikir.
5. Lizozom zarlarının yıkılması
6. Toksik oksijen türevleri: Lizozomların zarlarının yırtılmasıyla geri dönüşümsüz membran zedelenmesi meydana gelir ve toksik oksijen türevleri oluşur. (Kumar V ve ark, 2003; Şahin F, 2011).

2.4.2. Reperfüzyon Hasarı

Reperfüzyon; iskemik dokuya yeniden kan akımının sağlanması ile dokunun yeniden oksijenlenmesi olayıdır. İskeminin ortadan kalkması durumunda oksijenlenmiş kanın dokuya gelişi, doku için iskemik dönemden daha fazla doku hasarına yol açan bir süreç başlatır (Zimmerman BJ ve Granger DN, 1992; Basım S, 2005). İskemik dönemde, hücre iyon derişimlerinin değişimiyle proinflamatuvar sitokinlerin lökosit adezyon moleküllerinin

yapımındaki artma, buna karşılık antioksidan enzimlerinde azalma gibi hücredeki metabolik ve yapısal değişiklikler hücreyi, reperfüzyon döneminde oluşacak hasarlara karşı dayanıksız hale getirir (Şener G ve Yeğen B.Ç, 2009). Zar lipidler, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleri reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılardır (Wilhelm J, 1990).

2.5. İskemi Reperfüzyon Hasarının Fizyopatolojisi

İskemik dönem sırasında üretilen ATP olmadığı halde enerji tüketimi devam etmektedir. Bu kullanım da ATP'nin adenozin monofosfat (AMP) ve adenozine parçalanmasıyla gerçekleşmektedir. Adenozin de hücre dışına hızla yer değiştirerek inozin ve hipoksantine ayrılır (Şener G ve Yeğen B.Ç, 2009). Hipoksantin normal koşullarda ürik asit ve ksantine ayrılır. Bu metabolitik reaksiyonda nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu (NAD⁺) elektron alıcısıdır. İskeminin başlamasının ilk dakikalarında biriken ksantin ve hipoksantin, ksantin dehidrogenazın (KDH) büyük bir kısmının ksantin oksidaza (KO) dönüşmesini sağlamaktadır.

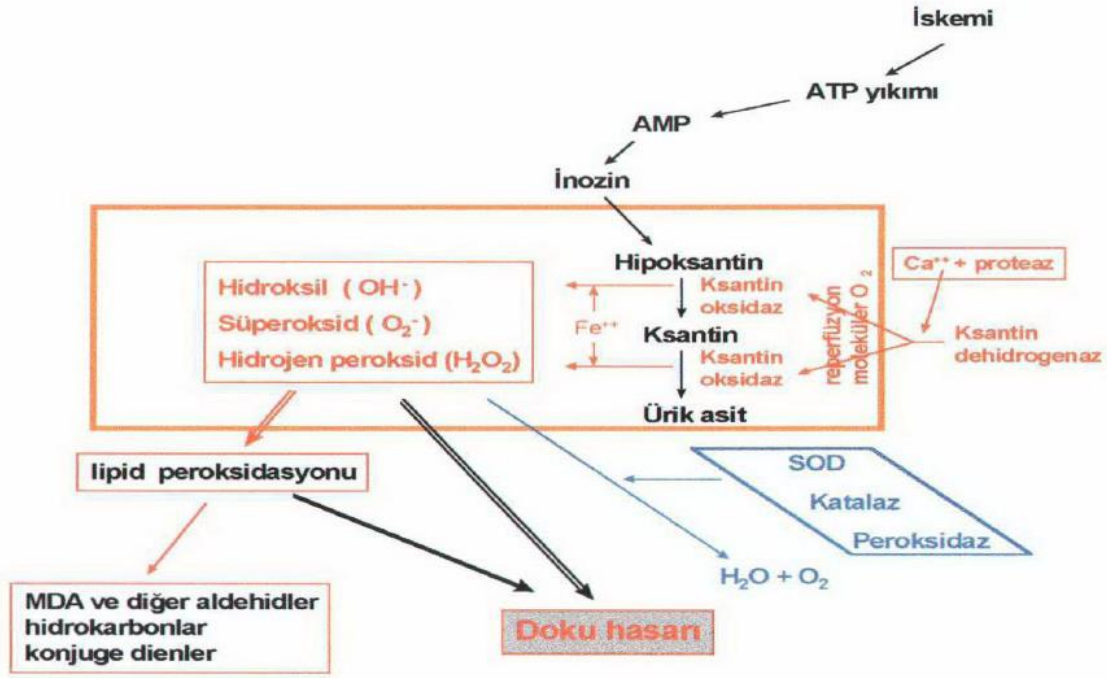
Reperfüzyonun sağlanması ile moleküler oksijen kullanılarak KO sayesinde hipoksantin ksantine ve daha sonrasında da ürik aside dönüşmektedir. Schoenberg ve ark (1985) 2 saatlik iskemi sonrasında ATP'nin iskemi öncesi değerinin %40'ına düştüğünü, bağırsak dokusunda AMP'nin 8 kat civarında arttığını, hipoksantin yaklaşık 10 kat arttığını bulmuşlardır.

Bu sırada endotel lökosit adhezyon molekülleri, sitokinler gibi proinflamatuvar ürünlerin ve endotelin, tromboksan A2 gibi biyoaktif ajanların yapımında artış olmasına karşılık; yapısal nitrikoksit sentaz, trombomodulin gibi koruyucu ürünler ile prostosiklin, nitrikoksit gibi ajanların yapımı baskılanmaktadır (Yılmaz M, 2014). İskeminin süresi, şiddeti gibi faktörlere bağlı olarak bazı hücreler 'programlanmış hücre ölüm mekanizması' olan apoptozise uğrar, bazıları ise nekroza uğrar. Apoptoziste hücrede membran bütünlüğü ve mitokondri dış yapıları korunurken, kromatin çekirdekte yoğunlaşıp çeperde toplanır, sitoplazma büzülür ve sonunda hücre apoptotik cisimcikler oluşturup hücreyi parçalar. Bu cisimcikler makrofaj ve mikroglial hücreler sayesinde fagosite edilmektedir (Clarke PG, 1990; Majno G, 1995; Chalmers-Redman R ve ark, 1997). Nekrotik hücre ölümünde ise membran bütünlük kaybı ve inflamasyon ile hücre şişmesi oluşmaktadır. Apoptoziste DNA iplikçikleri internükleozomal bağlantı noktalarından düzenli olarak kırılırken, nekrozda rastgele olacak şekilde kırılır (Ankarcrona M ve ark, 1995; Majno G, 1995; Patel T ve Gores

GJ, 1995; Sastry PS ve Subba KR, 2000). Reperfüzyon sonucunda caspase-3, caspase-8 gibi pre-apoptotik proteinler apoptozu başlatır. Bu proteinler mitokondrial çeper yapısında ve fonksiyonlarında bozulmaya yol açarken, nükleer DNA'nın yıkılarak hücrenin ölmesine yol açan sitokrom C vitamininin sitoplazmaya salınmasını da sağlamaktadır (Preisler HD ve ark, 2001; Micha L ve ark, 2002). Apoptozu başlatan gen faktörleri; tümör nekrozis faktör (TNF) reseptörünün üst ailesine ait olan ölüm reseptörleridir ve hücre dışından aldıkları ölüm sinyallerini hücre içine iletmektedirler. Ayrıca hücre içinde de hasarlanmış DNA, mitokondri, endoplazmik retikulum gibi organeller de ölüm sinyalinin kaynağını oluşturabilir (Ankarcrona M ve ark, 1995; Rust C ve Gores GJ, 2000; Preisler HD ve ark, 2001).

Doku hasarlarının bir diğer nedeni hücre içinde biriken Ca^{++} 'dir. Na/K pompasının bozulması, hücre membran hasarı, gradient farkı aşırı miktarda Ca^{++} birikimine ve kalsiyum paradoksuna sebep olmaktadır. İskemi sırasında azalmış ATP, Ca^{++} 'nın ATPaz enzim inaktivasyonu ile ATP depolarının daha da azalmasına yol açar. Hücre yıkımı Ca^{++} 'nın aktive ettiği litik görevi olan enzimlerin aktive edilmesiyle gerçekleşir. Aktive olan fosfolipaz membran fosfolipitlerini parçalayarak hücre bütünlüğünü bozar (Türkyılmaz Z, 2003). Hücre bütünlüğünün bozulması hücre iç ve dışında sıvı birikmesine neden olur. Endotel hücrelerinde şişme, damar dışına sızan sıvı basıncı kapiller damar lümeninin daralmasına; mikrosirkülasyonda yeniden kanlanma olsa dahi düzeltilemeyecek hasara yol açar. Buna 'no-reflow olayı' denilmektedir (Taşkiran A, 2002).

İskemi reperfüzyon hasarında hasarın nedenleri arasında özellikle dört faktör olan serbest oksijen radikalleri, polimorf nüveli lökositler (PMNL), kompleman sistemi ve endotel hücreleri yer almaktadır (Homer S ve ark, 1997; Monsinjon T, 2001).



Şekil 9: İskemi-reperfüzyonun doku hasarına etkisi (Ergün E, 1998)

2.5.1. Serbest Radikaller

Serbest radikal; atom ya da molekülün eşlenmemiş elektron (e) içeren formudur. Bu şekilde molekül stabil ve reaktif değilken, bir elektron alır ya da elektron kaybederse reaktif hale gelmektedir ki serbest radikaller kimyasal olarak kararsız olmalarından dolayı reaktiviteleri yüksektir (Acworth IN ve Bailey B, 1997; Cuzzocrea S, 2001). NO, nitrojen di oksit (NO₂) gibi birçok inorganik bileşik dış orbitalindeki eşleşmemiş elektron sebebiyle serbest radikaldir. Moleküler oksijen de dış orbitalinde iki çiftleşmemiş elektron taşır ve bir radikaldir (Southorn PA ve Powis G, 1988). Solunan oksijenin %95'inden fazlası enerji için mitokondriler tarafından kullanılırken yaklaşık %5'i toksik serbest radikallere dönüşmektedir (Reiter RJ, 1995). Aerobik organizmaların yaşamak için ihtiyaç duydukları en önemli element temel haldeki oksijendir. Bu oksijen, hücre ve dokular için zararlı olan reaktif oksijen türleri tarafından üretilir (Rodriguez C, 2004).

Serbest radikaller normal koşullarda antioksidan sistem ile denge halindedir 'oksidatif denge'. Organizmada serbest radikal oluşma hızıyla, antioksidan sistem tarafından serbest radikalin kaldırılma hızı eşleştirildiğinde denge sağlanıyorsa serbest radikallerin zararlı

etkileri oluşmamaktadır. Antioksidan savunması belirli sebeplerden dolayı zayıflamış ya da ortadan kalkmışsa serbest oksijen radikali (SOR) üretiminde artış meydana gelir. Bunun sonucunda oluşmuş doku hasarına ‘oksidatif stres’ denilmektedir (Chauhan SS ve ark, 2011; Serafini M, Del Rio D, 2004). Serbest radikallerin negatif etkilerinin yanında belirli miktarda üretildiklerinde bağışıklık sistemi, enzim aktivasyonu, fagositoz, hücrel sinyal iletimi, kasılması, hücrelerin biyogenezinde ve kimyasal reaksiyonların seyrinde yararlı etkileri de mevcuttur. Fazla üretimindeyse fonksiyon bozuklukları, hücre zehirlenmesi, doku yaralanması ve inflamasyonuna yol açmaktadır (Revan S, 2007; Singh BN, 2009). Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller oksijen içerenlerdir ve bunlar ‘serbest oksijen radikalleri (SOR)’ olarak anılmaktadır. Oksidan molekülleri ya da reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species = ROS) de aynı anlamı taşımaktadır (Akkuş İ, 1995).

2.5.2. Serbest Oksijen Radikalleri

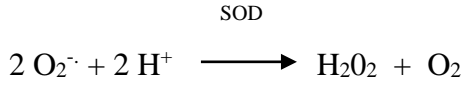
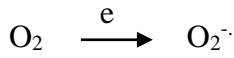
Reperfüzyonda oksijenin dokulara tekrar ulaşmasıyla, iskemik dönemde oluşmuş olan ksantin oksidaz enzimi, birikmiş olan hipoksantini ksantine dönüştürür. Bu esnada birçok reaktif oksijen türleri ortama çıkmaktadır (McCord JM, 1985; Concannon MJ ve ark, 1992). Yine reperfüzyonun erken döneminde, hasarlanmış endotele gelen nötrofil ve trombosit aktivasyonu artmakta ve nötrofiller bu bölgede serbest oksijen radikali üretmektedir. Antiproteazların inaktive olmasına sebep olan serbest oksijen radikalleri, lizozomlardan proteolitik enzimler salınması ve hasarın artışıyla sonuçlanmasına yol açar. Ayrıca esnek yapılarını kaybetmelerinden dolayı nötrofiller embolizasyona yol açabilir (Türkyılmaz Z, 2003).

Oksijen merkezli reaktif oksijen türleri; süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH) ve Singlet oksijendir.

2.5.2.1. Süperoksit Radikali

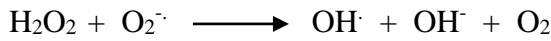
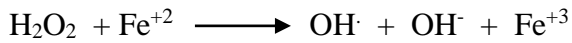
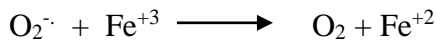
Hücrel metabolizma sırasında en çok üretilen serbest oksijen radikali süperoksit radikaldır. Bu radikal çeşitli enzimatik reaksiyonların yan ürünü olduğu gibi endoplazmik retikulum ve mitokondrilerin elektron değişimi sırasında üretilir (Rodriguez ve ark, 2004). Tüm aerobik hücrelerde enerji tüketilirken suya dönüşür ve serbest süperoksit radikal anyonu

oluşur (Akkuş İ, 1995;Tümay A, 2010). Süperoksit radikali düşük pH’larda katyon etkisi yaparken anyon etkisi için nötral ya da yüksek pH olması gerekmektedir. Süperoksit anyonu, nükleofilitik özelliklerine dayanarak etkisini direkt yapar ve proton olmayan ortamlarda yalnızca aktivitesi ortaya çıkar. Süperoksit anyonu oksidatif bir faktördür ancak süperoksit radikalinin toksik etkisi zayıftır. Asıl etkisini daha güçlü oksijen metabolitlerinin oluşumuna sebep olarak gösterir (Aliyev E, 2005; Aşıcıoğlu YT, 2005). Süperoksit spontan ya da süperoksit dismutaz (SOD) enziminin katalizlediği bir reaksiyon sonucu hidrojen peroksit ve oksijene dönüşmektedir (Çakır M, 2012). Ayrıca süperoksit radikali aldığı bir elektronu başka bir alıcıya devrederek oksijene oksitlenip indirgeyici olarak davranabilir (Aliyev E, 2005).

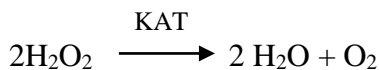


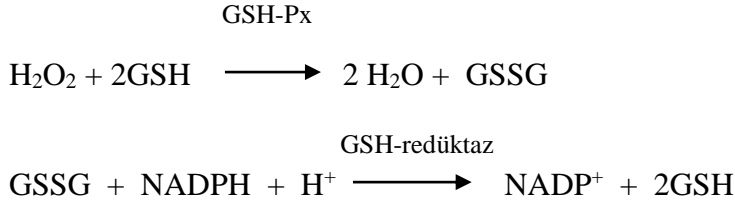
2.5.2.2. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2) hücre membranlarından kolayca geçebilen, kendisi radikal özelliği taşımadığı halde Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarıyla hidroksil radikaline dönüşebilen uzun ömürlü bir oksidandır (Aliyev E, 2005; Çakır M, 2012).



Hücrede oluşan H_2O_2 ’nin uzaklaştırılması katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleriyle gerçekleşmektedir (Çakır M, 2012).





2.5.2.3. Hidroksil Radikali

Oksijen radikalleri içinde reaktivitesi en yüksek ve en toksik radikal hidroksil radikaldır. Ancak bazı biyolojik olayların içinde doğrudan kataliz olayına katıldığı için yer alması da gereklidir. Üretildiği yerde her tür molekülle tepkimeye girme özelliğine sahip olan hidroksil radikalının yarı ömrü çok kısadır ve buna bağlı olarak yarı ömürleri daha uzun, daha az reaktif ve stabil radikaller oluşturmaktadır (Aşıcıoğlu YT, 2005; Taşdemir B, 2005). Hidroksil radikali ilk karşılaştığı molekülle reaksiyona girme süresi 10^{-6} saniye (s) ve reaksiyon mesafesi 14 \AA 'dur. En çok oksidatif hasara neden olduğu yapılar arasında DNA, protein, karbonhidrat ve lipitler yer almaktadır (Şener G ve Yeğen BÇ, 2009). Hidroksil radikalının oluşuktan sonra süpürülebilmesi için yüksek konsantrasyonlar gerektiği için, oluşumunun engellenmesi, süpürülmesinden daha etkindir (Reiter RJ ve ark, 2001).

2.5.2.4. Singlet Oksijen

Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$); ortaklanmamış elektronu olmadığı için serbest radikal olmayan ancak reaktif olan bir oksijen molekülüdür. Reaktif özellik göstermesini sağlayan faktör, elektronlardan birinin enerji alıp kendi spinine ters yönde olan başka bir orbitalle yer değiştirmesidir (Akkuş İ, 1995). Bu özellik sayesinde kimyasal maddelerle çift bağ oluşturması çok kolaydır ve diğer oksijen türlerine kıyasla daha uzun ömürlüdür (Aliyev E, 2005). Singlet oksijen, serbest radikal reaksiyonlarının sonucunda da oluşabilir; aynı zamanda serbest oksijen radikallerini de başlatabilir.

2.5.3. Polimorf Nüveli Lökositler

Reperfüzyonda yapılan çalışmalar sonucunda mikrovasküler permeabilededeki artışın başlıca sorumlusu nötrofiller olarak bulunmuştur (Lopez-Neblina ve ark, 1996). İskemi

reperfüzyon hasarında lökosit aktivasyonu kemotaksis ve lökosit endotel hücre adhezyonu olmaktadır (Frangogiannis NG, 2007). Polimorf nüveli lökositler (PMNL), SOR üretiminde de etkilidir. PMNL ve iskemi-reperfüzyon hasarı ile ilişkili bir takım mekanizmalar;

1. Mikrovasküler oklüzyon
2. SOR üretimi
3. Sitotoksik enzim salınımı
4. Vasküler permeabilite artışı
5. Sitokin salınımıdır (Şener G ve Yeğen BÇ, 2009).

PMN aktivasyon ve migrasyonu endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan selektinler de denilen adhezyon molekülleri sayesinde gerçekleşir. Damar dışına ulaşmış lökositler kemotaksis adı verilen hasar bölgesine göçü gerçekleştirir (Woodfin A ve ark, 2007). Aktif nötrofiller aynı zamanda mikrovasküler tıkanmaya sebep olacak şekilde trombositlerle birlikte damar endoteline yapışmaktadır (Zimmerman BJ ve Granger DN, 1992). Dokudaki lökosit yanıtın gerçekleşmesi şu mekanizmalarla açıklanabilir;

1. Araşidonik asit metabolitleri olan prostoglandinler ve lökotrienler oluşumu sonucunda fosfolipaz A₂ aktivasyonu oluşur.
2. Lizozomal enzimler degranülasyon sonucunda salınır.
3. SOR salınımı gerçekleşir (Schonberg MH ve Beger HG, 1993; Weight SC ve ark, 1996).

Reperfüzyon başlamasıyla birlikte endotel hücrelerinde fazla miktarda oksijen oluşurken, yeterli miktarda NO oluşmaz. Süperoksit radikaliyle nitrik oksit arasındaki dengesizlik, endotel hücrelerinden inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına, adhezyon moleküllerin biyosentezinin artmasına bağlı olarak lökosit-endotel hücre adhezyonuna sebep olur (Weight SV ve ark, 1996; Chatterjee PK, 2007).

Yine reperfüzyonun başlaması ile dokuya gelen oksijenin yaklaşık %70'i NADPH-bağımlı oksidaz aracılığıyla süperoksit iyonlarının oksitlenmesine sebep olmaktadır. Süperoksit, hidrojen peroksit; hidrojen peroksit ise klorür varlığında miyeloperoksit enzimi ile hipoklorik aside indirgenir. Hipoklorik asidin güçlü oksidan etkisi dolayısıyla damar endotel hasarı gerçekleşmekte ve dokuya nötrofil göçü kolaylaşmaktadır (Korthuis RJ ve Granger DN, 1993).

2.5.4. Komplemanın Rolü

Kompleman sistemin rolü tam olarak açığa kavuşmamış olmakla beraber kompleman sistemin aktivasyonu proinflamatuvar komponentleri oluşturmakta; lökosit aktivasyonu ve kemotaksisin uyarılmasını sağlamakta ve bu inflamatuvar yanıtı amplifiye eden C5a gibi anaflatoksinleri, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-2, MIP-1a, MIP-1b, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, TNF- α , IL-1, IL-6 üretimini uyarmaktadır (Thrane AS ve ark,2007). Komplemanın uyardığı salgılar aynı zamanda vazodilatasyonu inhibe edip endotelde siklik guanozin monofosfatı azaltıp vasküler tonusun bozulmasına sebep olmaktadır (Zhang W ve ark, 1999).

2.5.5. Endotel Hücre Rolü

Endotel hücreler; hem SOR üretim merkezi hem de hedef konumunda olup, oksidatif stres sonucunda aktivite ve işlev bozukluğu ile karşı karşıyadır. Endotelden üretilen endotelin (ET) ve NO mikrovasküler dengeden sorumludur ve iskemi-reperfüzyon hasarında bu denge ET lehine bozularak, arteriyel vazokonstriksiyon, venlerde vazodilatasyon meydana gelir (García-Villalón AL ve ark, 2008). Endotel hücreleri komplemanın aktive edilmesini sağlar. Ayrıca kendi bazal membranlarını sindiren kollajenazlar salgılayabilirler (Weight SC ve ark, 1996).

2.5.5.1. Nitrik Oksit

Damarların endotel hücrelerinden salınan nitrik oksit, damarlarda vazodilatör etki yaratarak damar direncinin düzenlenmesinde etkindir. Bunun dışında nitrik oksitin rol aldığı diğer etkiler arasında endotele lökosit adezyonu sınırlandırılması sırasında trombosit aktivasyonunun önlemesi; miyokard kasılabilirliğinin düzenlenmesi; ağrı, görme, koklama, açlık gibi duyguların algılanması yer almaktadır. İmmün sistemde, uterus kontraksiyon ve gevşemesinde, penil ereksiyonda, pankreasın beta hücrelerinden insülin salgılanmasında NO vazgeçilmez katkılarda bulunmaktadır (Atalık KE. ve Doğan N, 1997; Palm F ve ark, 2009).

Böbrek üzerine etkilerine bakıldığında böbrek işlevlerinin sürdürülmesi için makula densa, böbrek arteri, glomerül ve tübüllerde nitrik oksidazların kolaylaştırıcı etkisiyle NO L-

arjininden oluşmaktadır. Böbrek kan akımının 1/3'ünden NO sorumludur. Nitrik oksit sentaz (NOS) inhibisyonunun etkileri üzerine yapılmış çalışmalarda, NO'nun afferent ve efferent arteriyollerinin dirençlerinde önemli etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Gürel EE, 2008). Aynı zamanda böbrekte arteriyel basıncın oluşturduğu natriüretik tepkinin ana düzenleyicisidir ve medulla perfüzyonunun düzenlenmesinde etkilidir. NO; tuz alımındaki değişikliklerde, medulladan Na⁺ atılımını düzenleyerek arteriyel kan basıncını düzenlemektedir (Gürel EE, 2008). Akut NO inhibisyonu plazma renin aktivitesini azaltır çünkü renin salınımı NO'nun makula densa tarafından salınmasıyla uyarılmaktadır (Elli M ve Özkaya O, 2003). NO, renin salgılanmasını, tübüloglomerüler feedback, renal hemodinami, böbrek otheregölasyonu, tübül işlevleri, Na⁺'nın geri çıkarılması, böbrek kan basıncının düzenlenmesinde etkilidir. Damarlar üzerine vazodilatasyon etkisinden dolayı afferent arteriyollere etkisi oldukça güçlüdür. Arteriyel basınçtaki artış endotelial NOS (e-NOS) oluşumunun artmasını sağlar, dolayısıyla NO renin salınımını azaltır, tübüllerden Na⁺'nın geri emilmesini engeller (Singh TD ve ark, 2011; Braam B, 1999). Uyarılabilir NOS (i-NOS) aktivitesi iskemi reperfüzyon hasarında NO sentezi için artış göstermektedir. Bazı çalışmalar iskemi reperfüzyon hasarı sonrasında i(NOS) aktivitesinin inhibisyonu sonucunda böbrek fonksiyonlarının daha az bozulabileceğini göstermiştir (Kınacı MK, 2008).

NO, renal kortikal tübülleri hipoksik hasardan; renal arteriyel hücreleri de oksidatif hasardan korumaktadır. Endotelial NO yapımının azalması renal hasarın artmasına ve kan basıncının yüksekliğine katkıda bulunmakta, dolayısıyla hipertansiyona ve ateroskleroza yol açmaktadır (Talab SS ve ark, 2010; Elli M ve Özkaya O, 2003).

2.5.6. Serbest Radikallerin Oluşma Mekanizmaları

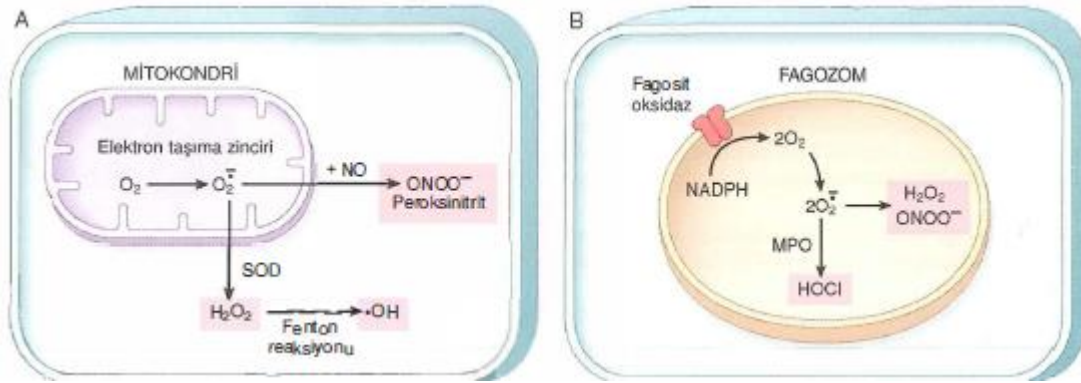
Atmosferik oksijen ile bir organik bileşik arasında gerçekleşen reaksiyona 'otooksidasyon' denilmektedir.(Koca N. ve Karadeniz F, 2003). Otoksidasyon, lipit içeren maddeleri etkilemekte ve poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinmektedir. Membrandaki çoklu yağ asitleri oksidasyon ile daha hassas hale gelmekte ve membran lipit yapısı, hücre yapı ve fonksiyonları değişmektedir (Aşıcıoğlu YT, 2005; Grigorov B, 2012). Lipit peroksidasyonu geri dönüşümsüz membran hasarına yol açmaktadır (Akkuş İ, 1995).

Geçiş metal iyonları serbest radikal oluşturmada katalizör etki yaratmakta ve süperoksit ve hidrojen peroksidin daha güçlü oksidan etki yaratmasını sağlamaktadır (Akkuş İ, 1995). Bu

iyonlar normal fizyolojik şartlarda hücresel düzeyde önemli role sahipken, mesela demirin serbest formları toksik etki yaparak lipid oksidasyonuna katalizör etki ile reaksiyon hızını arttırmaktadır. Manganez (Mn^{+}) de aynı şekilde özellikle Fenton ve Haber-Weiss tepkimelerinin çok hızlı gerçekleşmesini sağlamaktadır. Demir (Fe^{+2}) ve bakır (Cu) gibi indirgenmiş geçiş metalleri okside şekillerine göre H_2O_2 'den bile daha reaktif olabilmektedir (Akkuş İ, 1995; Aliyev E, 2005).

Mitokondrilerde enerji üretimi ve solunum sırasında az miktarda serbest oksijen radikali üretilmektedir. Bu sırada moleküler oksijenin dört elektron ilavesiyle indirgenmesi daha reaktif ürünlerin açığa çıkmasına sebep olmaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD) varlığının hızlandırdığı süperoksitin hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşümü bu ürünlerdendir. Ortamda Fe^{+2} varlığının olması da Fenton reaksiyonuyla doku için çok toksik olan hidroksil radikaline ($OH\cdot$) dönüşebilmektedir (Şekil 10, A bölümü)

Lökosit, nötrofil ve makrofajlar hücre içinde atıkların ve inflamasyon gibi durumlarda mikropların yok edilmesi için serbest oksijen radikallerini silah olarak kullanmakta ve 'oksidatif patlama' denilen bir mekanizmayla bu hücrelerde üretilmektedir. Fagosit oksidaz enzimi katalizör bir rol oynayarak süperoksiti ($O_2^{\cdot-}$) oluşturur ve daha sonra lökositlerde bulunan miyeloperoksidaz (MPO) enzim sayesinde hidrojen peroksit (H_2O_2) ileri derecede radikal olan hipoklorüre (HOCl) dönüşür (şekil 10, B bölümü).



Şekil 10: Serbest oksijen radikallerinin üretim yolları; A: mitokondrilerde gerçekleşen mitokondri solunumu sırasında, B: lökositlerin fagozom membranlarında fagosit oksidaz enzimiyle (Kumar V ve ark, 2014)

2.5.6.1. Lipit Peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonu, bir hidrojen atomunun bir radikalın etkisiyle membrandaki yağ asidi zincirindeki metil gruplarından uzaklaşmasıyla başlar. Yağ asidi zinciri bu durumda radikalleşip lipit radikalini oluşturur. Lipit radikalının oksijenle reaksiyona girmesi sonucunda da lipit peroksit radikali (LOO) oluşmaktadır. Yeni lipit radikalleri de LOO tarafından etkilenerek oluşmaktadır. Lipit peroksit radikali H₂ atomlarının eklenmesiyle 'Lipit Hidroperoksit'e dönüşmektedir. Lipit hidroperoksitler Fenton tipi reaksiyonlarla toksisitesi yüksek olan aldehit ve alkanlar oluşturmaktadır (Aşıcıoğlu YT, 2005;Cornelli U, 2009). Hidroperoksitlerin zincir reaksiyonunu başlatması üç temel mekanizma ile gerçekleşir.

1. Hidroperoksit bir radikal ile reaksiyona girerek peroksi radikalini oluşturabilir.
2. Hidroperoksit, bir metal iyonu ya da farklı bir indirgenle hidroksi radikalini ya da alkoksi radikalini oluşturabilir.
3. Hidroperoksitteki O-O bağı ayrılarak alkoksi ve hidroksi radikalini oluşturabilir (Koca N. ve Karadeniz F, 2003).

2.5.6.1.1. Malondialdehit (MDA)

Hidroperoksitler daha kararlı olan malondialdehit (MDA)'e tepkimeler sonucunda dönüşmektedir. MDA seviyesi ile serbest radikaller doğru orantılı olarak artmakta yani MDA'nın artmış olması serbest radikallerin artmasına bağlanmaktadır (Cüre E, 2007). MDA'nın artmış olması membran fonksiyon bozukluklarına, membran enzim ve reseptörlerin inaktive olmasına, yağ asitlerinin kaybolmasına, doku inflamasyonuna, DNA'ya bağlanıp mutasyonlara ve dolayısıyla akciğer hastalıkları, koroner arter hastalıkları gibi durumlara yol açmaktadır (Kolanjiappan K ve ark, 2002; Altıntaş S, 2006).

MDA, membran komponentlerine çapraz bağlanır. Polimerizasyona sebep olan bu bağlanma enzim aktivitesi, iyon transportu, hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerinde değişikliklere sebep olmaktadır (Akkuş İ, 1995). Ayrıca proteinlere çapraz bağlanması biyolojik fonksiyonları zorlaştırarak hücre yaşlanmasına sebep olur (Havsteen B.H, 2002).

2.5.6.2. Nükleik Asitler ve DNA

Oksijen radikalleri etkilerini pürin ve pirimidin bazlarının yer aldığı nükleotidler üzerinde göstermektedir. DNA yapısı, guanin bazının hidroksilasyonu ile mutasyona uğramaktadır (Akkoç H, 2008; Halliwell B. ve Aruoma OI, 1991). Riboz-fosfat zincirinin kırılması, deoksiriboz-fosfat ve heterosiklik bazın hidroksil radikaliyle reaksiyona girmesi sonucunda gerçekleşir. Nitrojen oksit ve peroksinitrit gibi reaktif nitrojen türleri de DNA hasarına sebep olabilmektedir.

2.5.6.3. Proteinler

Aminoasit modifikasyonunda, proteinlerin agregasyonu ve fragmantasyonunda yapısal değişiklikler serbest oksijen radikallerin etkisiyle oluşmaktadır. Serbest radikallere duyarlı membran proteinleri hücresel düzeyde ciddi fonksiyon kayıplarına yol açmaktadır (Sarı S, 2008).

2.6. Antioksidan Savunma Sistemi

Antioksidan moleküller, oluşmuş oksidan moleküllerinin hücreye hasar vermesini engelleyen; organizma tarafından sentezlenen endojen kaynaklı olduğu gibi dışardan besinlerle alınabilir ekzojen kaynaklı da olabilen, oluşmuş serbest radikallere bir elektron vererek radikalın hasar vermesini azaltan stabil bir molekül yapısıdır. Hücre yapısındaki protein, lipid, karbonhidrat, DNA gibi maddelerin oksidasyonunu geciktiren ya da önleyen maddelere antioksidanlar denilmekte, bu olayın adına da 'antioksidan savunma sistemi' adı verilmektedir (Valko M ve ark, 2007). Oksidan düzeyi ile antioksidan savunma sistemi denge halindeyse organizma sağlıklıdır. Antioksidanların oksidanlara karşı yeterli düzeyde oluşamamış olması oksidatif strese sebep olmaktadır (Çavdar C ve ark, 1997).

Birbirine bağlı birden fazla bileşenden oluşmuş hücresel antioksidan savunma sistemi, farklı molekül ağırlıklarına sahip ve enzimatik veya nonenzimatik olabilmektedir (Valko M ve ark, 2007; Dotan Y ve ark, 2004).

Antioksidan koruma birkaç farklı prensip doğrultusunda hareket eder. Bunlar;

1. Kimyasal reaksiyonları, enzim aktivitesi ya da doğrudan gerçekleştirerek

2. Oksijenden oluşmuş moleküller en az düzeye indirilerek
3. Kimyasal yolla doğrudan radikallerle etkileşerek
4. Reaktif metabolitlerin toksik olmayan ürünlere veya daha az aktif ürünlere indirgenmesiyle temizleyerek
5. Reaktif ürünlerin daha kalıcı, daha zararlı olmasına sebep olan metal iyonları bağlayıp etkisizleştirerek
6. Oluşmuş hasarı tamir ederek
7. Tamir edilemeyen ürünleri uzaklaştırarak (Splettstoesser WD, Werner SP, 2002).

2.6.1. Antioksidanların Gruplandırılması

Antioksidanlar çeşitli kriterlere göre gruplandırılabilir. Yapıları, çözünürlükleri, yerleşim yerleri ve kaynaklarına göre ayrılmaktadır (Akkuş İ, 1995). Yapılarına göre fenolik, aromatik, organosülfür bileşikleri; çözünürlüklerine göre suda ve lipitte çözünen; yerleşimlerine göre intraselüler ve ekstraselüler; kaynaklarına göre ise endojen ve ekzojen kaynaklı olmak üzere ayrılmaktadır.

2.6.1.1. Endojen Antioksidanlar

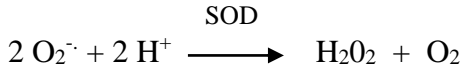
Antioksidan sistemler hasar oluşumunu engellediği gibi, oluşmuş bir hasar varsa bunları tamir eder ya da bu molekülleri temizleyip uzaklaştırır. Hem ekzojen hem endojen antioksidanlar aynı etkiyle oksidanların etkinliğini azaltır ya da ortadan kaldırır (Biçim G, 2013). Endojen antioksidanların enzim yapısında olanları, radikal ve reaktifleri gidererek oksidatif hasarın oluşumuna engel olmaktadır (Ağgöl AG, 2012).

2.6.1.1.1. Enzim Olan Endojen Kaynaklı Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (KAT), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon-S transferaz (GST), hidroperoksidaz ve mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi endojen kaynaklı enzim olan antioksidanlardır.

2.6.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Molekül ağırlığı 17-85 kDa aralığında olan bir metalloenzimdir. Süperoksit anyon radikallerinin dismutasyonu ile oluşmuş moleküler oksijeni hidrojen peroksit katalize etmektedir. Oksijeni metabolize eden tüm ökaryotik hücrelerde yer almaktadır (Demirkıran H, 2011; Biçim G, 2013). Katolitik aktivitesi yüksek olan SOD enzimi, aerobik organizmaları süperoksitin zararlı etkisine karşı koruyarak temel fonksiyonunu gerçekleştirir (Biçim G, 2013). SOD, katalaz ve glutatyon enzimleriyle birlikte çalışarak oksijen radikallerinin oluşturduğu hasara karşı bir savunma mekanizması geliştirmektedir (Karabiga M, 2007). Normal metabolizma sırasında üretilmiş yüksek miktardaki süperoksit radikali SOD sayesinde intraselülerde düşüktür. Membrandan geçememiş süperoksit radikali, hidrojen peroksit dönüşüp membrandan geçebilmektedir. Hidrojen peroksitin Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarıyla hidroksil radikaline dönüşmektedir ki bu dokular için çok zararlı bir radikaldir (Rigo A ve ark, 1977; Deaton C.M. ve Marlin D.J, 2003). KAT ve GSH-Px enzimleri SOD'un arttığı ve oluşan aşırı H₂O₂ birikmesini kontrol altında tutmaktadır.



Bu reaksiyon SOD'un katalizlemesiyle normalden yaklaşık 4000 kat daha hızlı oluşmaktadır (Akkuş İ, 1995).

SOD insanda üç izomer tipte bulunmaktadır. Sitozelle Cu-Zn SOD bulunur ve dimetrik yapıdadır. Bakır ve çinko içeren Cu-Zn SOD siyonid ile inhibe edilebilir. Mitokondride bulunan Mn SOD manganez içerir, tetramerik yapıdadır ve siyanid ile inhibe olmaz. Ekstraselüler SOD hücre dışındadır ve düşük aktivitededir (Çakır M, 2012).

Hücrede en çok bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dur (Sun Y ve ark, 1988; Antmen ŞE, 2005). Down sendromlu hastaların eritrositlerinde Cu-Zn SOD yüksekken; prematürelerin, yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşüktür (Aliyev E, 2005; Güder A, 2008). Cu-Zn SOD enzimidaki çinko enzim stabilitesinden sorumluyken, bakırın görevi oksidasyon ve redüksiyona uğrayarak dismutasyon reaksiyonlarını gerçekleştirmektir (Fridovich I, 1995)

Süperoksit serbest radikalinin lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı koruyan SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intraselüler öldürülmesinde de etkilidir (Hallıwell B, 1974; Kesik V, 2004). Dokularda PO₂ ile artan süperoksit dismutaz, oksijen aktivitesi yüksek dokularda fazladır. Ekstraselüler aktivitesi ise çok düşüktür (Atalay F, 2012).

Cu-Zn SOD'un en yoğun olduğu dokular nöronlar, beyin, karaciğer ve eritrosittir. Mn SOD'un en yoğun olduğu dokular beyin, kalp, karaciğer ve böbreklerdir. Ekstraseüler SOD en yoğun olarak eklem sıvısı, lenf ve plazmada yer almaktadır (Biçim G, 2013).

2.6.1.1.1.2. Katalaz (KAT)

Aerobik hücrelerde antioksidan bir enzim olan KAT, 240 kDa moleköl ağırlığındadır. Her molekölünde 4 ferihemoprotein içeren bu enzimin en yoğun aktivite gösterdiği doku karaciğer ve böbrektir. En az etkili olduğu doku ise bağı dokusudur (Zamocý M ve Koller F, 1999).

KAT da SOD'a benzer şekilde bir dismutasyon mekanizması geliştirmiştir. Hidrojen peroksit su ve moleköl oksijene parçalanır (Akkuş İ, 1995). Katalaz, katalitik reaksiyon ve peroksidik reaksiyon olmak üzere kataliz görevini iki farklı yolla gerçekleştirmektedir. Katalitik reaksiyonda H₂O₂ parçalanırken, peroksidik reaksiyonda alifatik alkollerin peroksidasyonu oluşmaktadır (Mavelli I ve Rotilio G, 1984).

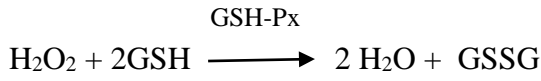


KAT'ın indirgeyici aktivitesi lipid hidroperoksitler gibi büyük moleküllere etki etmezken, daha küçük moleküllü hidrojen peroksit ile metil etil hidroperoksitlere karşı etkindir (Akkuş İ, 1995).

2.6.1.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

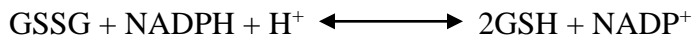
Dört selenyum atomlu tetramerik enzim olan glutasyon peroksidaz sitozolik bir enzimdir ve hidroperoksitleri indirgemektedir (Çakır M, 2012; Akkuş İ, 1995). Ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında %60-75 etkinlik gösteren GSH-Px , %25-40 oranında mitokondrilerde etkinlik göstermektedir. Glutasyon peroksidaz selenyum bağımlı (Se-GSH-Px) ve selenyumdan bağımsız (GST) olmak üzere iki yapısı, dört tip de izoenzimi mevcuttur. Selenyum bağımsız formu daha yoğun bir aktiviteye sahipken, selenyum bağı formu sitoplazma düşük aktivite göstermektedir (Biçim G, 2013). Se-GSH-Px organik hidroperoksitler ve H₂O₂'ye karşı aktivite gösterirken, GST, H₂O₂'den ziyade organik

hidroperoksitlerden sorumludur (Guemori L ve ark, 1991; Halliwell B ve Gutteridge J.M.C, 1999; Cnubben N.H.P ve ark, 2001).

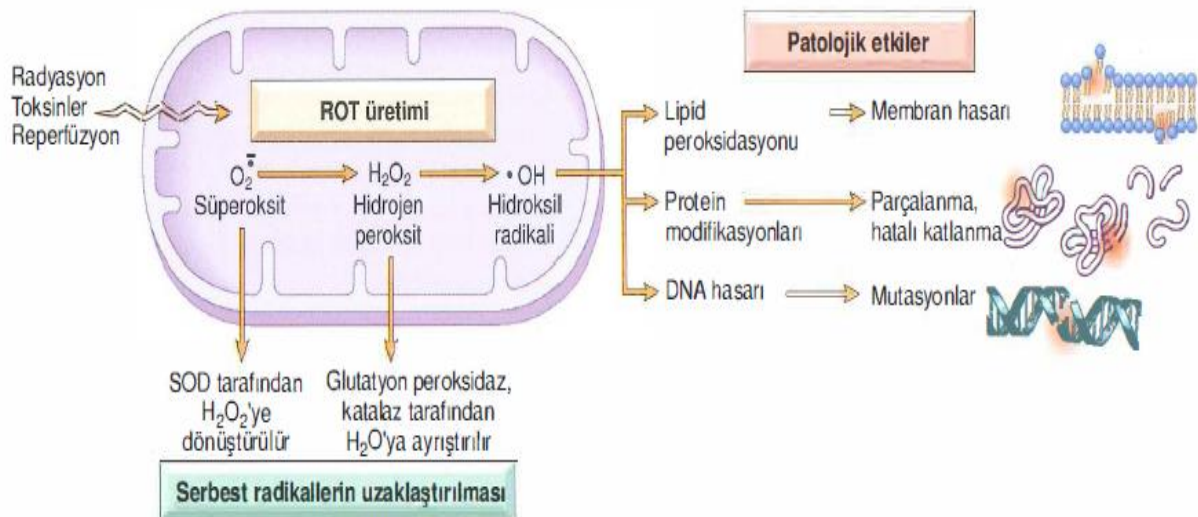


Reaksiyon sonucunda su molekülü ve oksitlenmiş glutatyon (GSSG) oluşmaktadır. Se-GSH-Px'ler yıkımlarını GSH'ın oksidasyonu ile gerçekleştirir. Okside glutatyon, glutatyon redüktaz (GSH-Rd) enzimi ile tekrar GSH'ye dönüşür (Halliwell B ve Gutteridge J.M.C, 1999; Aydın A ve ark, 2001).

Hidrojen peroksitin detoksifikasyonu ile okside forma dönüşmüş glutatyon tekrar kullanılabilir için, NADPH varlığında glutatyon redüktaz enzimiyle glutatyon disülfidi tekrar redükte glutatyon (GSH) döndürülür (Hermes Lima ve ark, 2001).



Glutatyon S transferaz(GST), iki protein alt biriminden oluşmaktadır. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda, araşidonik asit ve linoleat hidroksiperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksitlere karşı aktivite göstermektedir (Storey B.K, 1996).



Şekil 11: Antioksidan sistemin yeterli çalışmaması durumunda meydana gelen hücre hasarı (Kumar V ve ark, 2014)

2.6.1.1.2. Enzim Olmayan Endojen Kaynaklı Antioksidanlar

Glutasyon, melatonin, seruloplazmin, albumin, miyoglobin, transferrin, metiyonin, hemoglobin, bilirubin, sistein, ürat, laktoferrin, ferritin gibi moleküller enzim olmayan endojen kaynaklı antioksidanlar arasında sayılabilir (Şener G ve Yeğen B.Ç, 2009; Basım S, 2005).

2.6.1.1.2.1. Glutasyon

Glutasyon çok önemli bir antioksidandır ve glutamik asit, sistein ve glisinden meydana gelen bir tripeptiddir (Akkuş İ, 1995; Halliwell B ve Gutteridge J.M.C, 1999). Yapısında g-glutamin bağı ve tiyol grubu içerir. Glutasyon hücrede en çok mitokondri, nükleus ve sitozolde bulunur. Hücre içinde büyük çoğunlukta indirgenmiş olarak bulunur ve glutasyon peroksidazın katalizlediği reaksiyonla endojen üretilen peroksitlere karşı okside olup onları indirger. Glutasyon redüktazın katalizlemesiyle redükte halde tutulan GSH hücreyi etkili bir şekilde koruyabilmektedir (Aksoy Y, 2002; Anderson M.E, 1998; Memişoğulları R, 2005).

Hidroksil, Singlet oksijen gibi reaktif oksijen türlerinin temizliyicisi olan glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girip hücreyi oksidanlara karşı korumaktadır. Glutasyon protein ve enzimlerin inaktivasyonunu proteinlerdeki sülfidril (-SH) gruplarını redükte halde tutarak sağlar (Murray R.K ve ark 1993; Burton G.W, 1994). Bunlar dışında GSH enzim aktivitelerinin ayarlanması, protein konformasyonu ve membran geçirgenliğinin sağlanması gibi birçok önemli işlevleri vardır (Akkuş İ, 1995; Klaassen ve Watkins 2003).

2.6.1.2. Ekzojen Antioksidanlar

Antioksidanlar gıdalar yoluyla alınabildiği gibi, ilaç olarak da elde edilmektedir.

2.6.1.2.1. Vitamin Ekzojen Antioksidanlar

Vitamin E (tokoferol), vitamin C (askorbik asit), vitamin A, folik asit (folat), β -karoten, flavonoidler, karotenoidler, polifenoller gibi vitaminler dışarıdan gıdalarla alınabilen antioksidanlardır (Tufan A.N, 2012).

2.6.1.2.2. İlaç Olarak Kullanılan Antioksidanlar

NADPH oksidaz inhibitörleri, ksantin oksidaz inhibitörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri, barbitüratlar, sitokinler gibi ilaçlar antioksidan olarak kullanılabilen ilaçlardır (Akkuş İ, 1995).

2.6.2. Beta-Glukan

Beta-glukanlar; maya, bakteri, mantar ve tahılların hücre duvarında bulunan glikoz zincirlerinden oluşmuş karbonhidratlardır. 1,3; 1,4; 1,6 zincirli glikopirozil birimlerinden oluşabilmektedirler. Bağlantı farklılıklarının dışında dallanma derecesi, molekül ağırlığı, çözünme yapısındaki farklılıklar, polimer yükü, üçboyutlu yapısı immün sistem üzerindeki etkisini değiştirebilmektedir. Örneğin düşük moleküllü olanlar sitokineyle uyarılıp immün sistemi desteklerken, molekül ağırlığı diğerlerinden fazla olan fungus kaynaklı beta-glukanlar direkt lökositleri aktif hale getirmektedir (Volman J.J ve ark, 2008). Ekmek mayasından elde edilmiş beta-glukan biyolojik etkileri en fazla olan türüdür (Şener G ve ark, 2006; Şener G ve ark, 2007). Ekmek mayasından elde edilmiş beta-glukan çeşitli mantarlardan, alglerden, yulaftan ve arpadan elde edilen glukanlardan çok daha güçlü bir immün sistem kuvvetlendiricidir (Ahmed G, 2000).



Resim 12: Ekmek mayası hücre duvarı (Kılıç F, 2015)

Tahılların ana yapısını oluşturan beta-glukanlar ‘*saccharomyces cerevisia*’ denilen glukoz polimeri ekmek mayası hücre duvarından elde edilmektedir (Jamas S ve ark, 1990). Glukanlar 6,5 kDA moleküler ağırlığa sahip 1,3 zincirli glikopiroz polisakarittir ve retikulo endotelial sistemde stimülatör etkisi ve makrofajlar üzerine potent aktivatör etkisi vardır (Kırmaz C ve ark, 2005). *Phellinus linteus* ya da *Sparassis crispa* gibi bir takım mantarlar da beta-glukan içermekte ve bunlar yapısal olarak 1,3 glukopirozil bağlarından oluşan ve 1,6 bağlarla dallanma yapanlar olarak iki farklı içerikte gruplandırılır (Brown G.D ve Gordon S, 2003).

Beta-glukanlar insan vücudu tarafından üretilmemektedir, ancak dışarıdan alımıyla immün sistem tarafından fark edilir ve doğal immüniteyle adaptif immünite üzerine etkileri mevcuttur (Brown G.D ve Gordon S, 2005). Hazırlanmış beta-glukan prepatları ekmek mayası hücre duvarından elde edilen glukanlardır ve hem oral hem de intravenöz olarak alınabilir. Oral olarak alınanlar makrofajlar sayesinde kemik iliğindeki granüositlere etki ederken, intravenöz uygulamada makrofaj basamağına gerek duymadan direkt olarak kemik iliğindeki granüositleri etkiler (Hong F ve ark, 2004). Beta glukanlar oral yolla alındıktan yaklaşık 30 dakika içerisinde ileumdan emilmekte ve bağırsak duvarındaki makrofajlar tarafından özgün reseptörlerine bağlanmaktadır (Bedirli A ve ark, 2003).

Beta-glukanların insan sağlığı üzerine etkileri birçok araştırmayla gösterilmiştir. Antioksidan etkisini güçlü bir intraselüler serbest radikal süpürücü olarak göstermektedir (Kayalı H ve ark, 2005). Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonuna dolayısıyla membran hasar ve yıkımına sebep olur. Beta-1,3-glukan, lipid peroksidasyonunu baskılayarak oksidatif hasara karşı koruyucu etki göstermektedir. Ayrıca lipid peroksidasyonunun

belirleyicisi malondialdehit seviyesindeki artışı inhibe ederek lipid peroksidasyonunu kontrol altında tutar (Şener G ve ark, 2005).

Beta-glukanlar toksik ve yan etkisi bildirilmemiş, immün sistem üzerinde olumlu etkileri bilinen güçlü bir immünostimulatördür (Bedirli A ve ark, 2003). İmmün sistem üzerinde makrofajları ve kompleman sistemini aktive ederek immüniteyi güçlendirmektedir. Makrofajların mutasyona uğramış hücreleri tanıyıp yok etmesi yönünde immün sistemi yönlendirir (Kordon A.Ö, 2010). Beta glukanların bu etkisi makrofaj ve nötrofillerdeki reseptörlerine bağlanması sonucu meydana gelmektedir (Zekovic DB ve ark, 2005). Hematopoietik aktiviteyi immünomodülatör fonksiyonlarıyla gerçekleştirir. Bu fonksiyonları lökositleri aktive ederek oluşturur (Sandvik A ve Wany Y, 2007). Beta-glukanın monositlerde, lökositlerde ve makrofajlardaki reseptörlerine bağlanmasıyla immün cevabı oluşturan sitokinlerin serbest bırakılması, hematopoezin uyarılması ve nitrik oksit oluşumunu tetiklemektedir (Şener G ve ark, 2005; Şener G ve ark, 2007). Beta glukan reseptörlerinin vücutta geniş bir yayılım göstermesinden dolayı endotelial hücreler, ön hipofiz hücreleri, fibroblastlar gibi hücreler immün sistem içinde olmadığı halde beta glukan reseptörlerine sahiptirler. Beta glukanlar fagositler üzerindeki reseptörlerini tanıyıp bağlanır ve aktive olurlar. Bu reseptörler dektin-1, CR3 (komplement reseptör 3), TLR-2 (toll benzeri reseptör 2), laktosilseramid ve sınıf A süpürücü reseptördür (Rice PJ ve ark,2005; Novak, M. ve Vetvicka, V, 2008).

Doku yenileme ve tamirinde beta-glukanlar hasarlı dokudaki onarımı hızlandırarak etkisini gösterir (Kordon A.Ö, 2010).

Radyoprotektif olarak, beta-glukanlar immün sistemi iyonize radyasyona karşı korur (Kordon A.Ö, 2010).

Beta-glukanlar; antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiparazitiklerin etkilerini arttırarak adjuvant etkisini gösterir (Kordon A.Ö, 2010).

Ayrıca beta-glukanlar kompleman sistemi aktive edip, antitümör antikorumları uyararak tümör hücrelerine karşı antineoplastik etki göstermektedir (Liu J ve ark, 2009). Kanser tedavisi gören hastalarda kemoterapi ve radyoterapi sonrasında beta-glukan varlığı sitotoksik etkinin geri dönüşümüne yardımcı olup toleransı arttırmaktadır (Harada T ve ark, 2002).

Monositler, makrofajlar, granülositler ve doğal yok edici hücrelerin yüzeylerinde beta-1,3'ü tanıyıp bağlayan reseptörleri vardır ki bunlar beta-glukanın immünöstimulatör olarak çalışmasını sağlar. Beta-glukan bağlanmış hücreler, bağlanma yoğunluğuna bağlı olarak direkt aktive ettikleri gibi sekonder yanıt için bakteriyosidal bileşenleri oluşturmaya da başlayabilirler. Sistemik yanıt, beta-glukanla karşılaşan hücrenin hem kendisi hem de komşu

hücrelerinde lokal aktivasyonu uyarıp sitokin salınımı da tetiklemesiyle başlar (Hoffman O.A ve ark, 1993). Bazı 1,3 beta glukan polimerlerinin nötrofil, NK makrofajların üstünde bulunan ve aynı zamanda sitoksisite ve fagositoz için bir reseptör olan CR3'e bağlandığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Yan J ve ark, 2000). Dectin-1 reseptörü beta glukan ile bağlanması ardından oksidatif mekanizmaları da içeren fagositoz, endositoz gibi hücre düzeyinde gerçekleşen faaliyetleri arttırmaktadır (Brown GD ve ark, 2002; Hayn PY, 2003). Beta glukanlar ayrıca hücre cevabının uyarılması için gerekli ikincil sinyal oluşumunu kolaylaştıran antijene spesifik T hücreyi aktive eden yüzey reseptörlerinde up regülasyona sebep olmaktadır (Hunter KW ve ark, 2004).

Beta glukanın doz aralığı, FDA tarafından GRAS kategorisinde kabul edilen miktar günlük 40mg-3000mg olarak belirtilmiş ve vücut ağırlığına göre 2-6 mg/kg kabul edilmiştir (Bedirli A ve ark, 2003).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında, 300-350 g ağırlığında Wistar türü 30 erkek sıçan üzerinde yapılmıştır. Etik kurul kararı Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 14.08.2015 tarihli 64583101/2015/099 sayılı kararı tarafından onaylanmıştır.

3.1. Deney Hayvanları

Sıçanlar Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında Şubat 2017 tarihinde 12 saat gece 12 saat gündüz sirkadiyen ritimde, $22 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıkta ve %45-50 nem oranında barındırılmıştır. Sıçanların beslenmesinde standart pellet yemi ve şehir içme suyu kullanılmıştır.

Laboratuvar analizleri ADÜ Merkez Araştırma Laboratuvarında, histolojik incelemeler ADÜ Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Deney Grupları

30 erkek Wistar albino sıçan 3 gruba randomize olarak ayrılmıştır (n=10).

Sham Kontrol Grubu: 10 adet sıçandan oluşan gruba herhangi bir uygulama yapılmaksızın deney sonunda sol nefrektomi yapılmıştır. Sağ böbreğe herhangi bir uygulama yapılmadan doku incelemesi için histoloji ve biyokimya laboratuvarlarına gönderilmiştir.

İskemi-Reperfüzyon Grubu: 10 adet sıçandan oluşmuş gruba herhangi bir uygulama yapılmaksızın deney sonunda sol böbrekleri nefrektomi ile çıkartılmış, sağ böbrek nontravmatik mikrovasküler klemple 45 dakika iskemiye maruz bırakıldıktan sonra 60 dakika reperfüzyon uygulaması yapılmış ardından sağ böbrek dokuları incelenmek üzere histoloji ve biyokimya laboratuvarına yönlendirilmiştir.

Beta-Glukan + İskemi-Reperfüzyon Grubu: 10 adet sıçandan oluşmuş gruba deney öncesi 9 gün ve deney günü olmak üzere toplamda 10 gün gastrik gavaj yöntemiyle per oral (p.o.) olarak beta-glukan uygulaması yapılmıştır. Deney günü sol nefrektomi ardından, sağ böbrek nontravmatik mikrovasküler klemple 45 dakika iskemiye maruz bırakıldıktan sonra 60 dakika reperfüzyon uygulaması yapılmıştır. Sağ böbrekten alınan dokular histoloji ve biyokimya laboratuvarına yönlendirilmiştir.

3.3. Beta Glukan Uygulaması

Beta-glukan uygulaması IR + BG grubundaki sıçanlara 100 mg/kg/gün olacak şekilde hesaplanmıştır. Beta glukan 50 mg kapsül İmuneks® (Mustafa Nevzat İlaç San. A.Ş.) içme suyunda çözülerek orogastrik gavajla uygulanmıştır.



Resim 1: İmuneks® 50mg kapsül



Resim 2: Gastrik gavaj ile beta glukun uygulaması

3.4. İskemi – Reperfüzyon Uygulaması

Deney gününden 24 saat önce yem verilmeyen sıçanlara, uygulama gününde ağırlıkları tekrar ölçülerek 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin uygulaması yapılmıştır. Sıçanların midabdominal bölgesi insizyonla açılarak sol böbrekleri nefrektomi ile alınıp sağ böbrekleri hilus seviyesinden renal arter nontravmatik mikrovasküler klemp ile klemlenerek 45 dakika iskemiye maruz bırakılmıştır. 45 dakika sonrasında nontravmatik mikrovasküler klemp çıkarılmış ve 60 dakika reperfüzyon sağlanmıştır. Operasyon sırasında oluşabilecek dehidratasyona bağlı sıvı kaybını önlemeye yönelik steril serum fizyolojik uygulanmıştır.

Beta-glukan uygulanan iskemi-reperfüzyon grubundan bir sıçan anestezi uygulamasının ardından kaybedilmiştir. Uygulamaları biten ve böbrek dokuları alınan sıçanlar servikal dislokasyon ile anestezi altında sakrifiye edilmiştir.

Biyokimyasal inceleme için ayrılmış dokular analiz zamanına kadar -80°C’de saklanmıştır. Histoloji incelemesine alınacak olanlar ise %10’luk formaldehit solüsyonda saklanmıştır.



Resim 3: Anestezi altında, operasyon öncesi



Resim 4: Sol nefrektomi



Resim 5: Nontravmatik mikrovasküler klemple iskemi uygulaması



Resim 6: Reperfüzyon uygulaması, mikrovasküler klempin çıkarılması

3.5. Böbrek Doku Örneklerinin Biyokimyasal Analizi

Dokuların homojenizasyonu: Deney grubu ve kontrol grubundaki böbrek dokuları tartıldıktan sonra ‘Ultra Turnax, IKA-WERKE, Germany’ marka doku homojenizörü ile ayrı ayrı homojenize edildikten sonra MDA, MPO, KAT ve GSH aktivitelerinin hesaplanması için PBS (phosphate buffer saline) 50 nanometre (nm)’de pH 7,4 olan fosfat tamponu içine konup doku homojenatları 1500 dönel hız (rpm)’de 15 dakika boyunca 4°C’de santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar -80°C’de analiz için saklanmıştır. ELİSA yöntemi ‘Diagnostic Automation, Inc./ELx800™’ marka model otomatik ‘microplate’ okuyucuda uygulanmıştır.



Resim 7: Microplate okuyucu

3.5.1. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü

‘Bio Vision (K739-100, USA)’ marka ‘Lipid Peroxidation (MDA) Colorimetric/Fluorometric Assay Kit’ -20°C’de deney gününe kadar saklanmıştır. Tiyobarbitürik asit (TBA) ile yüksek ısı ve asit ortamında reaksiyona giren MDA, maksimum absorpsiyonunu 532 nm dalga boyunda vermektedir ve MDA-TBA ürünü oluşmaktadır. Saplama limiti 1 nmol/well’dir.

7,5 ml glasiyel asetik asit içinde 250 mg TBA çözündürülerek karıştırılan ve total hacim 25 ml olacak şekilde distile su ilavesi yapılarak hazırlanan TBA karıştırılıp aynı gün çalışılmıştır.

2 nM MDA standardı hazırlamak için 10 µl MDA standart 407 µl distile su ile dilue edilerek, 0,1 M standarttan 20 µl alınıp 980 µl distile su ile karıştırılmıştır. 2 nM MDA standarttan kalibrasyon için 0,2,4,6,8,10 µl pipetlenmiş ve her birinin final volümü 2 µl olabilmesi için distile su ilave edilmiştir. MDA standartları 0,4,8,12,16 ve 20 nmol olarak oluşturulmuştur.

Deney; 200 µl doku süpernatantın cam tüplere konup, 600 µl TBA solüsyonu eklenerek 95°C'de 1 saat boyunca inkübe edilmesi ardından aniden soğutulup, her örnekten 200 µl alınarak mikropalak üzerindeki örnek kuyucaklara transferi ve ELİSA yöntemiyle plak okuyucuda 532 nm dalga boyunda okutularak kalibrasyon grafiğinden sonuçların hesaplanmasıyla gerçekleştirilmiştir.

3.5.2. Doku Myeloperoksidaz (MPO) Düzeylerinin Ölçümü

'Bio Vision (K744-100)' marka 'myelopeoxidase colorimetric activity assay kit' deney güne kadar -20°C'de saklanmıştır. Nötrofillerin azunofilik granüllerinden depo edilen MPO, lizozomal bir proteindir ve H₂O₂ ve Cl⁻ (klor anyonu)'dan HClO (hipoklorik asit) oluşmasını katalizlemektedir. Tirozini, tirozil radikaline dönüştürürken de H₂O₂'yi kullanmaktadır. MPO, HClO taurin ile reaksiyonu sonucunda taurin kloramin oluşur ki bu da sonradan TNB ile 412 nm'de reaksiyona girip TNB probe ile rengi elimine eder. Sapma limiti 0,05 nmol/well'dir.

Deney sırasıyla; 5-10 µl doku süpernatı pozitif kontrol kuyucuklarına, 1-50 µl 96 kuyucuğa aktarılıp MPO tampon ile hacim 50 µl'ye tamamlanmış, her kuyucuğa 50 µl reaksiyon mix'i konulup karıştırılmış, 30-120 dakika 25°C'de inkübe edilip 2 µl stop mix tüm kuyucuklara eklenmiş ve 10 dakika boyunca tekrar inkübe edilerek 5 µl TNB ilave edilip 412 nm'de okuması yapılmıştır.

3.5.3. Doku Katalaz (KAT) Düzeylerinin Ölçümü

'Bio Vision' marka 'catalase activity colorimetric/fluorometric assay kit' +4°C'de deney gününe kadar saklanmıştır.

Tüketilen H₂O₂ ile katalaz arasındaki doğru orantı, katalazın canlı hücrelerde H₂O₂'yi tüketmesiyle alakalıdır. Sapma limiti 1 µU/well'dir.

Deney sırasıyla; tüm kuyucuklara (kör ve standart hariç) 78 µl doku süpernatı konulup, 12 µl 1mM H₂O₂ örnek kuyucuklara eklenmiş, 30 dakika boyunca 25°C’de inkübe edilmiş ve 10 µl stop solüsyon ilave edilerek, tüm kuyucuklara 50 µl reaksiyon karışımı eklenerek 10 dakika 25°C’de bekletilip ELİSA plak okuyucuda 570 nm’de okumaları yapılarak gerçekleştirilmiştir.

3.5.4. Doku Glutasyon (GSH) Düzeylerinin Ölçümü

‘Bio Vision’ marka ‘glutathione colorimetric assay kit’ ile ELISA yöntemi uygulanarak glutasyon miktarları ölçülmüştür. Çözeltiler hazırlanırken çözelti tamponu 25 kat distile su ile karıştırılmıştır; reaksiyon karışımında ise toz reaksiyon karışımı olan şişelere 8 ml distile su ilavesi yapılmış ve orbital karıştırıcıda 15 dakika boyunca çözünmesi sağlanmıştır. 10 µl ‘glutasyon redüktaz’ çözeltisi de şişelere eklenmiştir. Doku homojenizasyonu için %5’lik metafosforik asit her bir doku 20 ml/g olacak şekilde homojenize edilmiştir. Homojenatlar 14000xg’de 15 dakika boyunca +4°C’de santrifüjlenmiştir. Önceden hazırlanmış olan çözelti tamponu 15 tane tüpe 50 µl olacak şekilde konulup, okside glutatyondan (GSSG) 4 µl ilk üç tüpe konmuş, daha sonra mikropipetle 50 µl çekilip diğer 3 tüpe eklenmiş, eklenen tüplerden tekrar 50 µl çekilip diğer üç tüpe aktarılmış ve 12. tüpe de bir önceki ‘3’lü grup’tan çekilen 50 µl konulduktan sonra çekilen homojenat atılmış (her işlemde 10 pipetaj yapılmıştır) ve 13,14 ve 15. tüpler kör olarak kabul edilip sadece çözelti tamponu konulmuştur. 50 µl seyreltilmiş doku süpernatantları üzerine 15 µl reaksiyon karışımı ilave edilip ELISA kuyucuklarına konmuş ve 1-10 dakika arasında absorban değerleri 405 nm dalga boyunda okutulmuştur.

3.6. Böbrek Doku Örneklerinin Histolojik Analizi

Histolojik analiz için alınmış böbrek dokuları inceleme gününe kadar %10’luk formaldehit içerisinde bekletilmiştir. Rutin histolojik takip metodu kullanılan doku örnekleri parafin içerisine gömülüp mikrotom ile 5µm boyutunda kesitler alınmıştır. Hematoksil eozin boyama tekniği kullanılarak boyanan preparatlar entellan ile kapatılmıştır. Histolojik inceleme ışık mikroskobu düzeyinde ‘Olympus B*51’ microscopa monte edilen ‘Olympus DP20 Digital kamera’ ile alınmıştır.

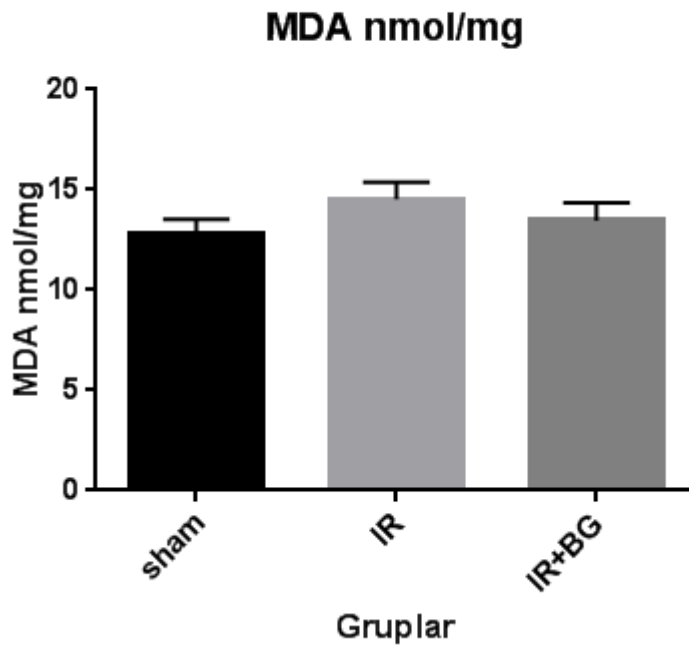
3.7. İstatistiksel Analiz

Elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizi Graphpad Prism® 6 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Kolmogorov Smirnov testinde veriler normal dağılım göstermiştir. Gruplar arasındaki istatistiksel değerlendirme Mann Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır. $P < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

4.1.1. Doku MDA Düzeyleri

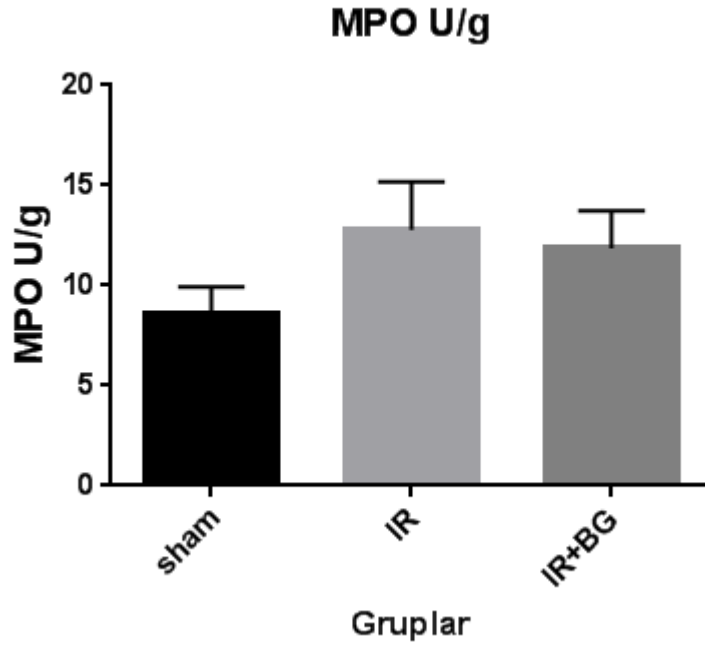


Şekil 13: Doku MDA değerleri

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, sham grubunda $12,81 \pm 0,2578$ nmol/mg (n:10) ; IR grubunda $14,53 \pm 0,3000$ nmol/mg (n:10) ; IR + BG grubunda ise $13,46 \pm 0,3157$ nmol/mg (n:10) olarak ölçülmüştür.

Sham grubu ile IR grubu kıyaslandığında; IR grubunda MDA değeri sham grubuna göre anlamlı derecede artış göstermiştir ($p < 0,05$). IR + BG grubu, IR grubuna kıyasla MDA değeri anlamlı derecede düşüktür ($p < 0,05$).

4.1.2. Doku MPO Düzeyleri

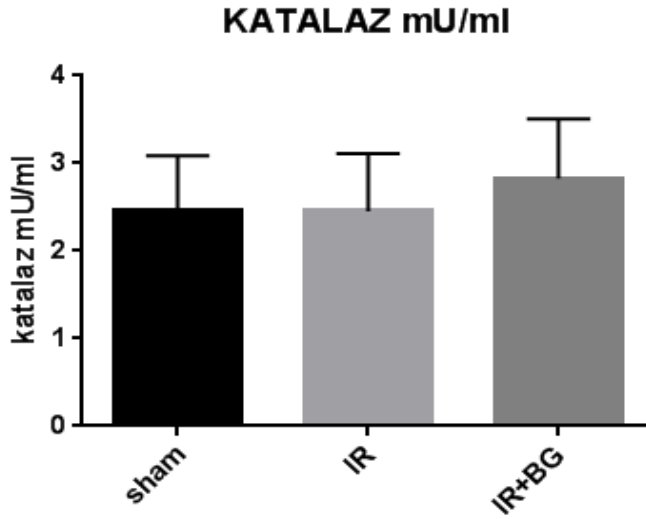


Şekil 14: Doku MPO değerleri

MPO değerleri sham grubunda $8,643 \pm 0,4565$ nmol/mg (n:10); IR grubunda $12,78 \pm 0,8489$ nmol/mg (n:10); IR + BG grubunda ise $11,86 \pm 0,6620$ nmol/mg (n:10) olarak ölçülmüştür.

Sham grubu ile IR grubu kıyaslandığında; MPO düzeyinin sham grubu, IR grubuna göre anlamlı düzeyde azalmıştır ($p < 0,05$). IR + BG grubunda MPO değerleri IR grubuna göre azalmış ancak anlamlı bir fark yaratamamıştır ($p > 0,05$).

4.1.3. Doku KAT Düzeyleri

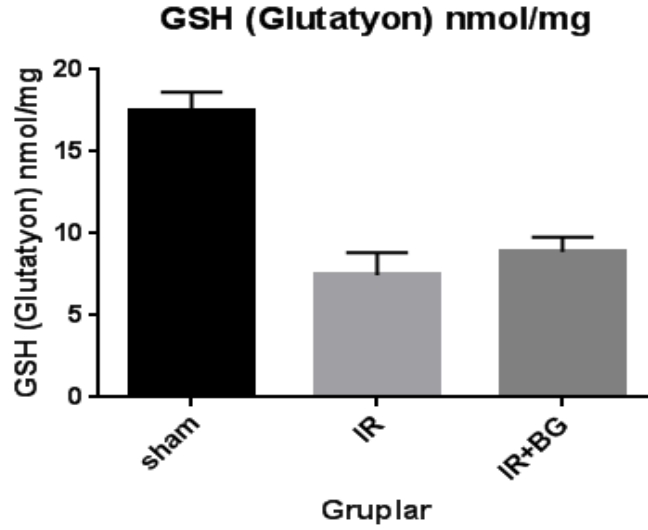


Şekil 15: Doku KAT değerleri

Ölçülen katalaz düzeyleri, sham grubunda $2,456 \pm 0,2225$ nmol/mg (n:10), IR grubu $2,453 \pm 0,2334$ nmol/mg (n:10), IR + BG grubu $2,825 \pm 0,2413$ nmol/mg'(n:10)'dir.

Ölçülen katalaz değerleri açısından sham grubuyla IR grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). IR grubuyla IR + BG grubu arasında da anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$).

4.4. Doku GSH Düzeyleri



Şekil 16: Doku GSH değerleri

Glutasyon düzeyleri, Sham grubunda $17,46 \pm 0,4148$ nmol/mg (n:10), IR grubunda $7,466 \pm 0,4884$ nmol/mg (n:10), IR + BG grubunda ise $8,879 \pm 0,3216$ nmol/mg (n:10) olarak bulunmuştur.

Ölçülen GSH düzeyleri, sham grubuyla IR grubu kıyaslandığında IR grubunda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,05$). IR grubuyla IR + BG grubu kıyaslandığında IR + BG grubunda IR grubuna kıyasla anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0,05$).

Ölçülen tüm değerler tablo 1’de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Tablo 1: Doku MDA, MPO, KAT, GSH Değerleri

| | MDA (nmol/mg) | MPO(nmol/mg) | KAT(nmol/mg) | GSH (nmol/mg) |
|--------------|----------------------------|----------------------|--------------------|----------------------------|
| Sham | $12,81 \pm 0,2578$ | $8,643 \pm 0,4565$ | $2,456 \pm 0,2225$ | $17,46 \pm 0,4148$ |
| IR | $14,53 \pm 0,3000^*$ | $12,78 \pm 0,8489^*$ | $2,453 \pm 0,2334$ | $7,466 \pm 0,4884^*$ |
| IR+BG | $13,46 \pm 0,3157 \dagger$ | $11,86 \pm 0,6620$ | $2,825 \pm 0,2413$ | $8,879 \pm 0,3216 \dagger$ |

* Sham grubuna kıyasla IR grubu için: $p \leq 0.001$

† IR grubuna kıyasla IR+BG grubu için: $p \leq 0.05$

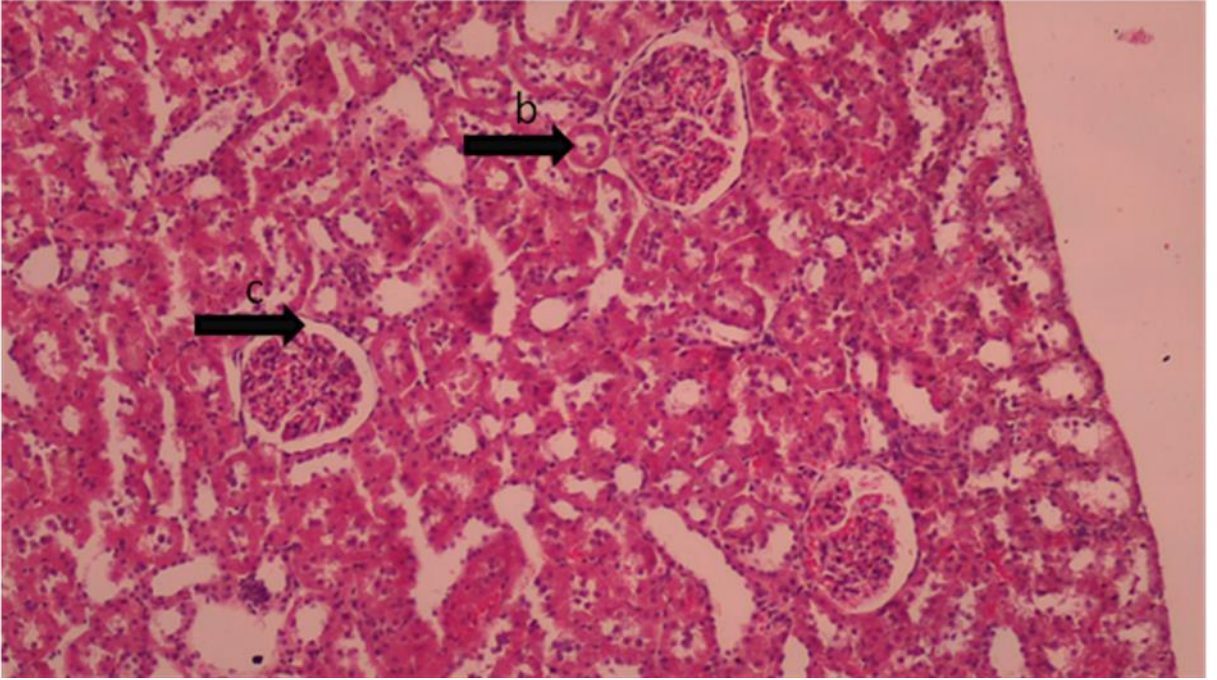
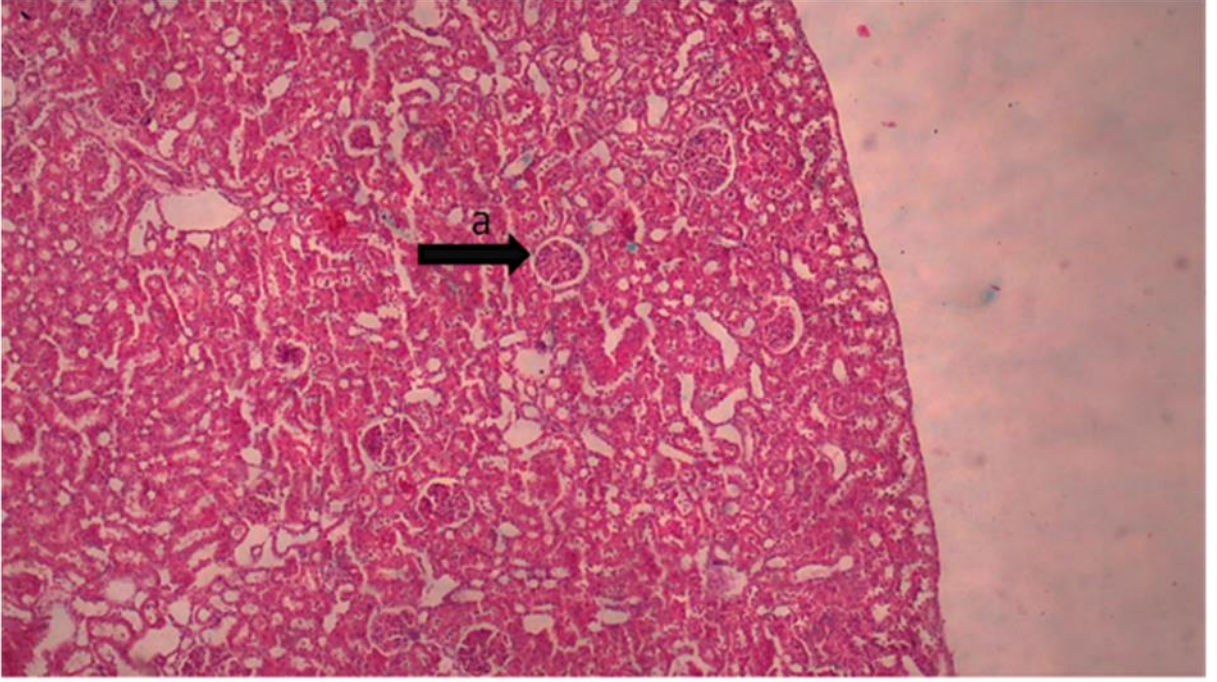
4.2. Histolojik Bulgular

Böbrek dokularında kortikal dejenerasyon, glomerüler küçülme-büyüme, tübüler hasar, medulla dejenerasyonu ve konjesyon durumları değerlendirilmiştir. Yapılan histolojik skora için 0: hasar yok, 1: hafif, 2: orta ve 3: yoğun hasar olarak değerlendirilmiştir.

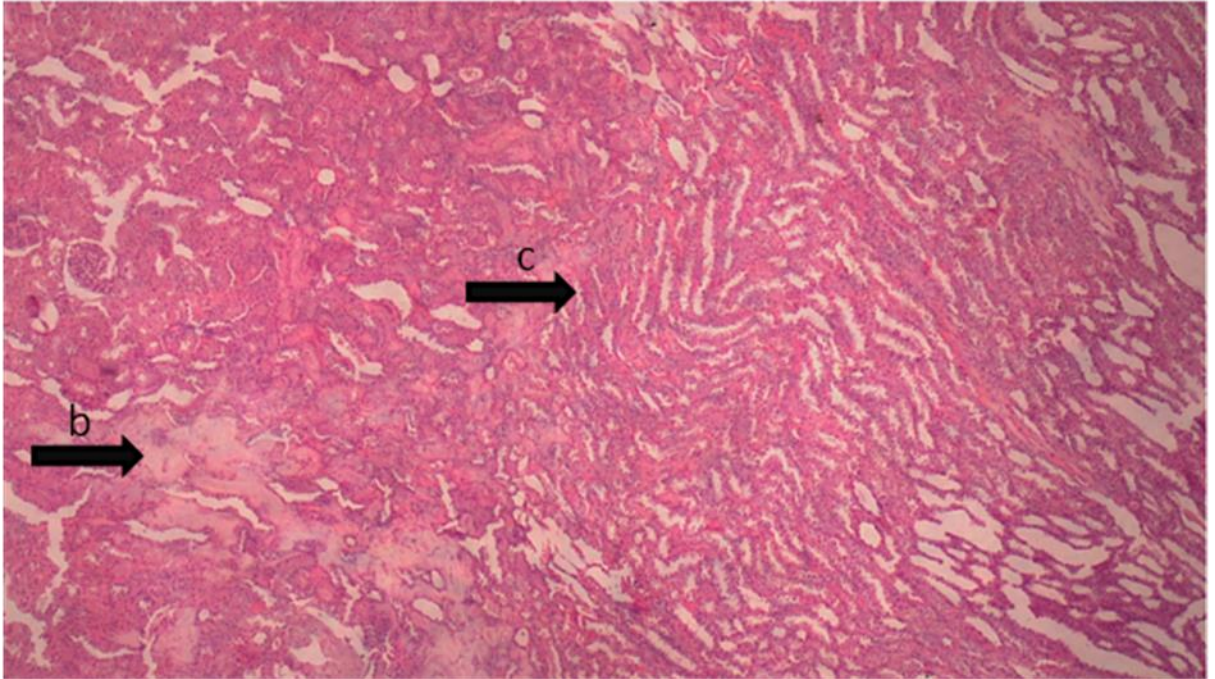
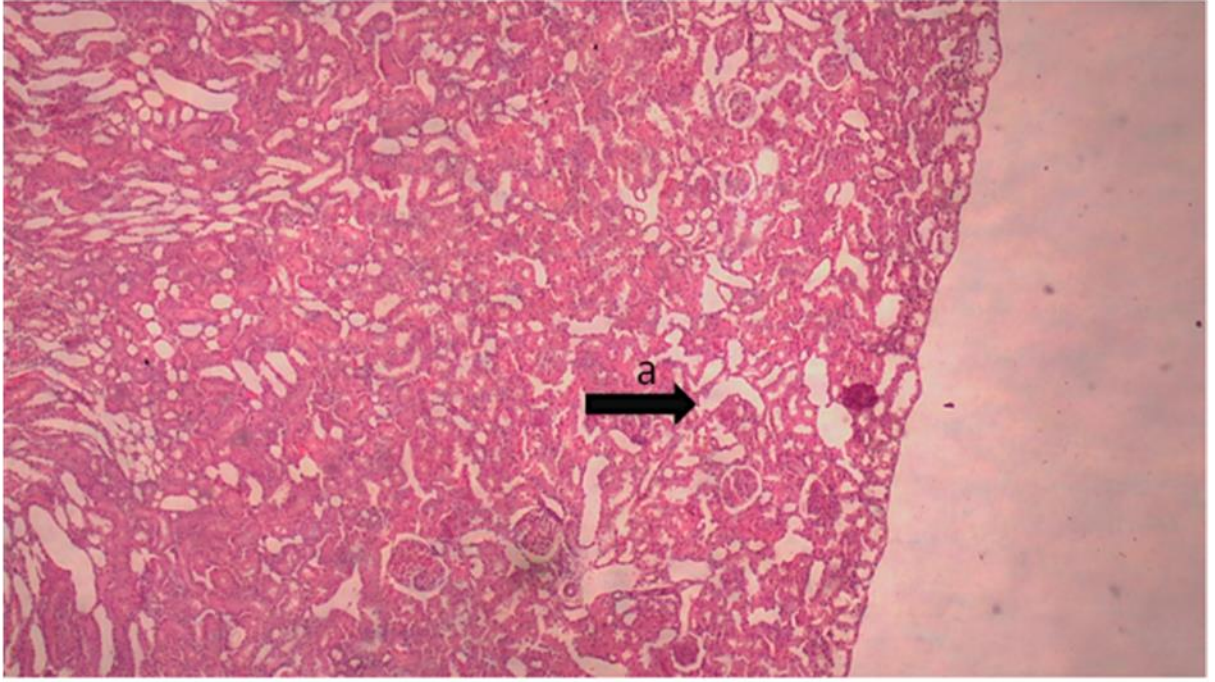
Sham grubunda hafif kortikal dejenerasyon ve hafif glomerül küçüklüğü görülmüştür, IR grubunda orta düzeyli kortikal, medullar, tubuler ve glomerüler dejenerasyon ile konjesyon saptanmıştır, IR + BG grubunda hafif kortikal ve medullar dejenerasyon ve hafif tubuler dejenerasyon izlenmiştir. Tüm grupların ayrıntılı skorlaması Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2: Histolojik skora (ortalama)

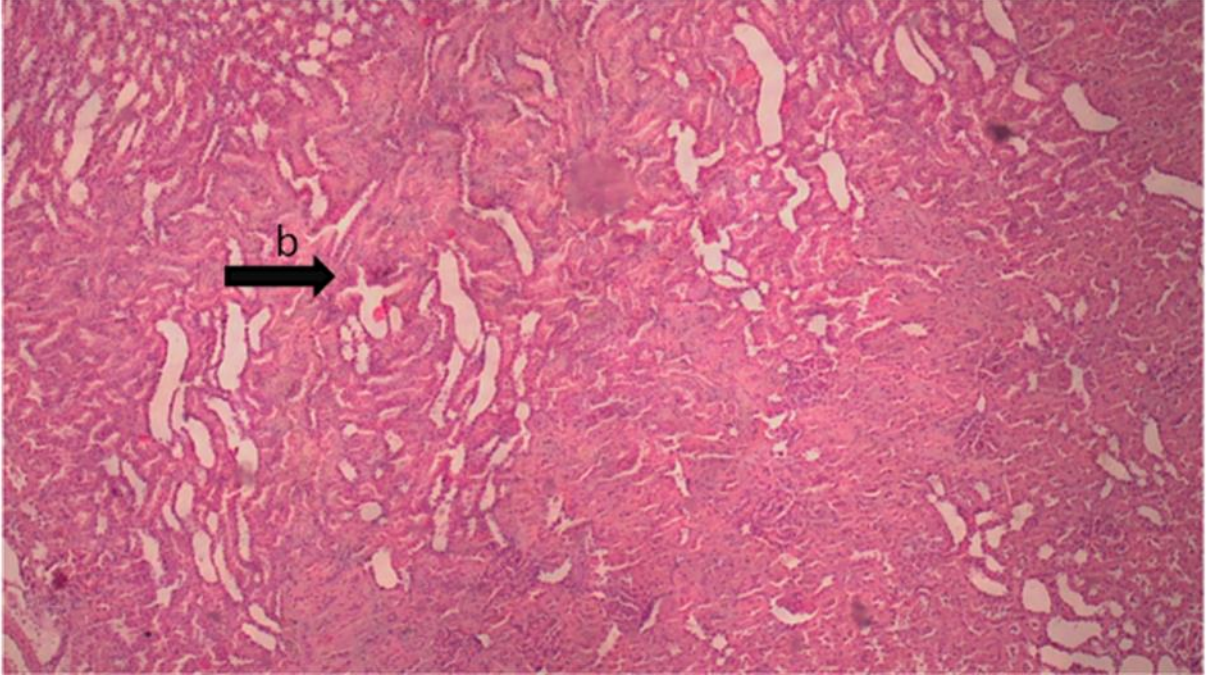
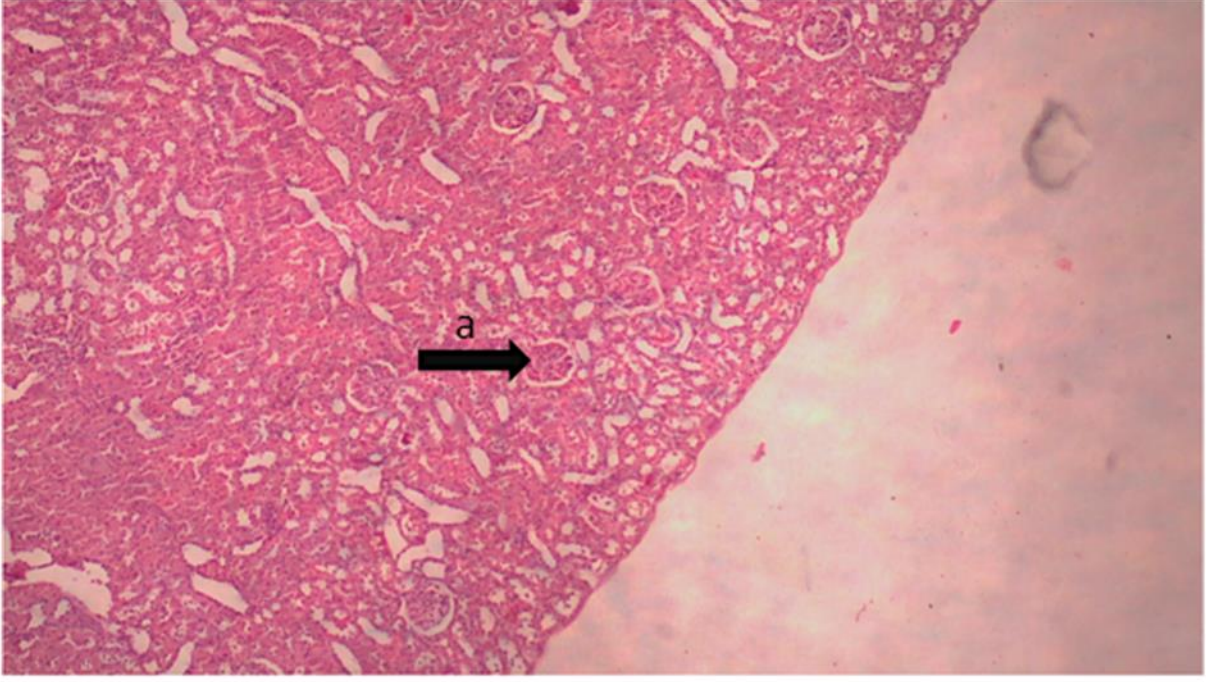
| | Konjesyon | Kortikal dejenerasyon | Glomerüler dejenerasyon | Tübüler dejenerasyon | Medulla dejenerasyon |
|---------------|------------------|------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Sham | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| IR | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| IR+ BG | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |



Resim 8: Sham grubu histopatolojik örnek; böbrek morfolojik yapıları korunmuş. a: glomerül (40X, H&E), b: distal tübül (100X, H&E), c: Bowman boşluğu(100X, H&E).



Resim 9: IR grubu histopatolojik örnek (40X, H&E); böbrekte orta düzeyli morfolojik dejenerasyon izlenmektedir. a: glomerüler bütünlükte bozulma, b: iskemik odak, c: medullar dejenerasyon.



Resim 10: IR + BG grubu histopatolojik örnek (40X, H&E); morfolojik yapıda düşük düzeyli dejenerasyon alanları izlenip glomerüller yapılar büyük oranda korunmuştur. a:glomerül, b: meduller dejenerasyon.

5. TARTIŞMA

Böbrek iskemisi; böbrek nakli, kısmi nefrektomi, kardiyopulmoner by-pass, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler ve hidronefrozis gibi farklı klinik durumlarda gözlenebilen, akut böbrek yetmezliği, glomerül filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışıyla karakterize edilebilen bir durumdur (Aydoğdu N. ve ark, 2005; Conesa LE. ve ark, 2001). Böbrek iskemisi, böbreğe gelen kan miktarının belirgin derecelerde azalmasıyla oluşmaktadır ki bu pre-renal erken böbrek yetmezliğinde, ateroskleroziste, böbrek arter embolizminde ve trombozunda gelişebilmektedir (Thadhani R ve ark, 1996; Gilbert RE ve ark, 2001).

İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelmektedir (Jennigs R.B. ve Reimer K.A, 1991). İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekmektedir. Ancak iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara kıyasla çok daha ciddi bir hasara yol açmaktadır (Aydoğdu N. ve ark, 2005). İskemik hasarın şiddeti iskemiye maruz kalınan süreyle ve dokuya giden kan akımının azalma miktarıyla ilişkilidir (Kandilci H.B. ve Gümüşel B, 2005). İskemi reperfüzyon hasarı, böbrek tübül hücrelerinin hasarlanmış epitel hücrelerinin yerini alma ve yenilenme yeteneğine bağlı olarak geriye dönebilmektedir (Nath KA ve Norby SM, 2000; Paller MS, 1994). Geri dönüşümlü iskemik hasarda tüm fonksiyonlar geri kazanılırken geri dönüşümsüz hasar mitokondri bozukluğu ve membran fonksiyon kaybı gibi kalıcı etkiler bırakmaktadır.

Gasanov F (2010) yaptığı çalışmada kalıcı hasar için kritik zaman dilimini 30 dakika olarak tespit etmiştir. Mitokondriyal bozulma yaklaşık 30-40 dakikalık iskemi sonrasında geri dönüşümsüz hasara yol açmaktadır. Böbrek iskemisi, ATP'nin azalmasına bağlı olarak Na-K-ATPaz pompasında işlev bozukluğuna sebep olup proksimal tübüllerden su, iyon ve makromoleküllerin taşınmasına engel olarak hücre içinde Na^+ iyon artışına ve aşırı su birikimine neden olmaktadır. Bu da hücre içi ödeme ve hücre ölümüne yol açmaktadır (Lieberthal W ve Levine JS, 1996; Sheridan AM ve Boventre JV, 2000). Geri dönüşümsüz hasarın başlangıcı hücre zarının zedelenmesiyle oluşmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin aracılık ettiği lipid peroksidasyonu, hücre membran hasarının ve yıkımının en önemli sebepleri arasındadır. Hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerinin indirgenmesi membran bütünlüğünü bozmaktadır (Şener G ve ark, 2005). Zedelenen endotel doku

vazodilatasyon yapamamakta, bunun sonucunda da vazokonstrüktörlerin salgılanıp vasküler geçirgenliğin artmasına sebep olmaktadır. Vazokonstrüksiyon ekstraselüler ödeme ve sonrasında lökositlerin ve trombositlerin endotele yapışmasına neden olmaktadır. Doku perfüzyonunun daha da bozulmasına sebep olan bu olay onarılamaz doku hasarına sebep olabilmektedir (Weight SC ve ark, 1996; Gunal O ve ark, 1997). Membran akışkanlığını ve geçirgenliğini değiştiren membran peroksidasyonu protein bozulmasını artırarak hücre lizisinin gerçekleşmesine sebep olmaktadır (Şener G ve ark, 2005). Proteinler, temel koenzimler ve RNA hücre membran fonksiyonlarının kaybına bağlı olarak geçirgen hale gelmiş olan membran zarlarından kaybedilir. Lizozom zarları pH düşüklüğüne bağlı olarak zedelenir ve önce çekirdek yapılarıyla sitoplazmayı sindirip daha sonra diğer hücreleri fagosite ederek yağ asitlerine dönüştürmektedir (Cotran ve ark, 1995; Ergün Y, 2006; Şahin F, 2011).

İskemi ve reperfüzyon sırasında ATP'nin azalması, hücre içi Ca^{+2} artışı, proteaz ve fosfotazların aktivite artışına ek olarak aşırı miktarda serbest oksijen radikalleri ile oksidatif stres hasarı ortaya çıkmaktadır (Laurent B. ve Ardaillou R, 1986). Reperfüzyonla beraber dokunun yeniden oksijenlenmesi, oksidatif enzimler sayesinde moleküler oksijenin indirgenmesiyle serbest oksijen radikalleri artmış olarak ortaya çıkmaktadır (Kiris I ve ark, 2008; Valko M ve ark, 2007). Moleküler oksijenin indirgenmesi durumunda süperoksit radikali, hidrojen peroksit radikali ve hidroksil radikali gibi serbest oksijen radikalleri oluşabilmektedir (Halliwell B ve ark, 1992). Reperfüzyonun başlangıcıyla dokuya gelen oksijenin yaklaşık %70'i süperoksit iyonlarına oksitlenip bu formdan da hidrojen perokside dismutasyonla dönüşmektedir (Korthuis RJ ve Granger DN, 1993).

Belirli miktarlardaki serbest radikaller bağışıklık sistemi, enzim aktivitesi, hücrel sinyal iletimi, kas kasılması, fagositoz, hücre biyogenezi ve bir takım kimyasal reaksiyonlarda yararlı etkilere sahipken fazla miktarda üretimi fonksiyon bozuklukları, hücre zehirlenmesi, doku yaralanması ve inflamasyona yol açmaktadır (Revan S, 2007; Singh BN, 2009).

Serbest radikaller normal koşullarda antioksidan sistem ile oksidatif denge denilen; serbest radikal oluşum hızıyla antioksidan sistem tarafından bu radikalin kaldırılma hızının eşleşmesiyle sağlanan bir denge halindedir. Bu denge serbest radikallerin zararlı etkilerinin açığa çıkmasını engellemektedir. Antioksidan savunması belirli sebeplerden dolayı zayıflamış ya da ortadan kalkmışsa serbest oksijen radikali üretiminde artış oksidatif strese sebep olarak doku hasarı oluşturmaktadır (Chauhan SS ve ark, 2011; Serafini M, Del Rio D, 2004).

Antioksidan moleküller, oluşmuş oksidan moleküllere bir elektron vererek serbest radikalin etkisini indirgeyebilmektedir. Oksijenin metabolize edildiği her yerde hızlı ve

enzimatik olarak çalışabilen antioksidanlar oksijenin ara metabolitlerini azaltmaktadırlar. En etkili antioksidanlar arasında süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi enzimler sayılabilmektedir (Akkuş İ, 1995). Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalinden H₂O₂, sonrasında da katalaz ve glutatyon peroksidazın katalize ettiği H₂O ve CO₂'ye dönüşmektedir (Valko M ve ark, 2006).

Antioksidanların etki mekanizmaları birkaç farklı tiptedir. Süpürücü etki, serbest oksijen radikallerin tutulup, yok edilmesi şeklinde etki göstermektedir (Reiter RJ, 1995). İnaktif şekle dönüştürücü etki, serbest oksijen radikale bir hidrojen vererek aktivitesini azaltma şeklinde gerçekleşmektedir (Cherubini A ve ark, 2008). Zincir kırıcı etki, serbest oksijen radikallerinin bağlanıp fonksiyonlarını engelleyerek oluşmaktadır (Mickle DA ve Weisel RD, 1993). Onarıcı etki, serbest oksijen radikallerinin oluşturmuş olduğu hasarı onararak gerçekleştirmektedir (Virág L ve Szabó C, 2002).

Serbest radikallerin neden olabileceği kanser, yaşlanma, dejeneratif hastalıklar gibi durumlar göz önüne alındığında beta glukanların antioksidan olarak süpürücü etkisinin büyük önem taşıdığı düşünülmektedir (Carrow DJ, 1997). Beta glukanların, Kayalı ve arkadaşlarının (2005) yaptığı bir çalışma sonucunda antioksidan etkisini 'radikal süpürücü' olarak yaptığı ortaya konmuştur. Yaptığımız çalışmada, beta glukanın böbrek iskemi reperfüzyon modelindeki koruyucu etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Şener G ve arkadaşlarının (2005) yaptığı bir çalışmada beta glukanın lipit peroksidasyonun son ürünü olan MDA'nın dokudaki artışını engelleyerek MDA'yı normal seviyeye çektiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda doku MDA düzeyleri IR grubunda, sham grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. IR + BG grubunda da IR grubuna kıyasla anlamlı derecede azalmıştır. Şenol G ve arkadaşlarının (2010) bir çalışmada deneysel aortik iskemi reperfüzyonda beta glukanın böbrek hasarı üzerine etkisinde doku MDA düzeyleri IR grubunda anlamlı yüksek ve IR + BG grubunda anlamlı düşük saptanmıştır. Toklu HZ ve arkadaşları (2006) deneysel olarak sıçanlarda yanık hasarı ile sepsis modeli oluşturup beta glukanın olası etkilerinde, böbrek dokularında MDA düzeylerinin anlamlı azaldığını tespit etmişlerdir. Şener G ve arkadaşları 2007 yılında nikotinin indüklediği oksidatif hasarda beta glukanın koruyucu etkilerini araştırmış ve doku MDA düzeylerinde anlamlı azalma saptamıştır. Bu sonuçlar çalışmamızla uyumlu olup beta glukanın böbrek dokusu üzerinde doku MDA düzeyini azalttığını, dolayısıyla lipit peroksidasyonunu da azalttığını söyleyebiliriz.

Serbest oksijen radikallerinin dokulardaki hasarlı bölgelerde nötrofillerin birikmesine yol açtığı ve nötrofillerin aktive olmasının bir serbest oksijen radikali kaynağı olduğu bazı

araştırmalarda gösterilmiştir. MPO lökositlerde lokalize bir enzimdir ve nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Kiris İ ve ark, 2005; Chatterjee PK ve ark, 2005). MPO ile nötrofil infiltrasyonu arasındaki korelasyona bağlı olarak bir dokudaki MPO düzeyi ne kadar fazlaysa, nötrofil infiltrasyonunun ve doku hasarının da o oranda fazla olduğu düşünülmektedir (Wilterbourn CC ve ark, 2000; Laight DW ve ark, 1994). Çalışmamızda Sham grubu ile IR grubu arasındaki değerlendirmede IR grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. IR grubuyla IR + BG grubu kıyaslandığında IR + BG grubu MPO düzeyleri IR grubuna kıyasla azalmış ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratamamıştır. Gülmen ř ve arkadaşlarının (2010) deneysel aortik iskemi reperfüzyon hasarında beta glukanın böbrek hasarına etkisi araştırılmış ve doku MPO düzeylerinde anlamlı bir azalma saptanmıştır. Toklu ve arkadaşları (2006) deneysel oksidatif organ hasarında nötrofil infiltrasyonunun inhibisyonu ile böbrek dokusundaki MPO düzeylerinde anlamlı bir azalma kaydetmişlerdir. Baykara B'nin (2006) karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında karnozin ve melatoninin koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmasında doku MPO düzeyleri melatoninin grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilememiştir. Kordon A.İ. (2010) deneysel tıkanma sarılığında beta glukanın akut akciğer hasarına etkisini araştırmış ve postoperatif beta glukana verilen gruplarda MPO düzeyleri anlamlı azalırken profilaktik tedavi alan grupta anlamlı bir azalma görülmemiştir. Bu alışma bizim çalışmamızla kıyaslandığında bizim çalışmamızda da beta glukana uygulaması iskemi reperfüzyon hasarı öncesinde verilmiş, hasar sonrası herhangi bir beta glukana uygulaması yapılmamıştır. Beta glukana bu şekilde uygulanmış olması MPO düzeyini anlamlı derecede azaltamamış olabileceğini düşündürmektedir. Bu konudaki etki mekanizmaları yapılacak farklı deneysel çalışmalarla araştırılarak daha ayrıntılı verilerin elde edilebileceğini düşünmekteyiz.

Katalaz; kan, karaciğer, kemik iliği, mukoz membran ve böbrekte yüksek oranda bulunan, yapısındaki 'hem'den dolayı hemoprotein olarak kabul edilen bir enzimdir. Hidrojen peroksidi suya indirgeyerek ortamdan uzaklaştırılmasını sağlamaktadır (Smith EL ve ark, 1983; Notarjan D, 1994). Çalışmamızda doku KAT düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmamıştır. Kayabaşı H (2011) kalsiyum dobasilatının sıçanlarda böbrek iskemi reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini araştırmış ve doku KAT düzeylerinde anlamlı bir azalma tespit edilememiştir. Rausher ve arkadaşları (2001) izoğnoln diyabetik sıçanlarda oksidatif stres üzerine etkisini araştırmış ve böbrek dokusunda KAT aktivitelerinde anlamlı bir değişiklik tespit edilememiştir. KAT aktivitelerindeki bu değişiklik uygulama yapılan antioksidan maddenin dozajı ve süresi ile alakalı olabileceğini

düşündürmektedir. Bununla ilgili etki mekanizmaları ileride yapılacak ayrıntılı deneysel çalışmalarla aydınlığa kavuşacaktır.

Glutasyon, oksidatif strese karşı koruyucu bir bileşendir. Çalışmamızda doku GSH düzeyleri Sham grubuyla IR grubu kıyaslandığında IR grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür. IR ile IR + BG grubu kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Bizim çalışmamızla paralel olarak Şener G ve ark (2007) kronik nikotin uygulamasının böbrek ve mesanede doku GSH seviyelerinin düştüğünü, beta glukon uygulanan grupta ise GSH değerlerinin anlamlı olarak arttığını saptamışlardır. Erkol H ve arkadaşları (2010) tıkanma sarılığında beta glukonun karaciğer hasarına etkisini araştırmış ve karaciğer dokusunda GSH düzeylerinin arttığını saptamıştır. Toklu ve arkadaşlarının (2006) yaptığı çalışmada asetaminofen kaynaklı karaciğer toksisitesinde beta glukonun olası koruyucu etkisi araştırılmış ve beta glukonun karaciğer hasarını azalttığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar ışığında beta glukonun antioksidan etkiyi arttırdığı söylenebilir.

Çalışmamızda kortikal dejenerasyon ve tübüler dejenerasyon IR grubunda sham grubuna kıyasla daha yoğun bir hasar mevcutken beta glukon uyguladığımız grupta IR grubuna kıyasla daha az yoğunlukta bir hasar mevcuttur. Demirel B. (2009) sisplatinin sıçan karaciğerinde oluşturduğu histolojik hasar üzerine beta glukonun etkilerini araştırmış ve sisplatinin karaciğerde meydana getirdiği hasara karşı beta glukonun histolojik olarak bu hasarı azalttığını belirtmiştir. Yılmaz M. (2014) böbrek iskemi reperfüzyon modelinde çinko ve melatonin etkisini araştırmış ve histopatolojik değişimlerde iskemi reperfüzyona bağlı meydana gelen yaklaşık %70 oranındaki tübüler düzleşme ve yaklaşık %40 oranında vazüolizasyon ve triodizasyonu yaklaşık %10 seviyelerine düştüğünü belirtmiştir. Bedirli A ve arkadaşları (2007) yaptıkları çalışmada deneysel sepsis modelinde akciğer hasarı üzerine beta glukonun konjesyon, intraalveolar hemoraji ve pulmoner infiltrasyonu histopatolojik açıdan iyileşmeyi sağladığını bildirmişlerdir. Iraz M ve ark (2013) lipopolisakkarit tarafından indüklenmiş akut akciğer hasarında beta glukonun koruyucu etkilerini araştırmış ve lipopolisakkarit alveolar duvarda belirgin inflamasyona, lökosit infiltrasyonuna, damar duvarında solunum alanlarında lökosit toplanmasına ve pulmoner konjesyona sebep olurken beta glukon bu bulguların azalmasını sağlamıştır. Erkol H ve ark (2011) tıkanma sarılığında beta glukonun karaciğer hasarı üzerine etkisini araştırmış ve yaptıkları HAİ skorlama analizi sonucunda tedavi grubundaki histopatolojik hasarın kontrol grubuna göre anlamlı azaldığını bulmuşlardır.

Şener G ve arkadaşları (2005) yaptığı çalışmada beta glukonun böbrek dokusunda histopatolojik olarak intertisyel inflamatuvar infiltrasyonu, glomerüler nekrozu ve Bowman

kapsül dejenerasyonu ile tübüler epitelyal dejenerasyonu anlamlı derecede azalttığını bildirmişlerdir. Gülmen Ő ve ark (2011) deneysel aortik iskemi-reperfüzyonda beta glukanın böbrek hasarı üzerine etkisinde beta glukanın böbrek hasarını histopatolojik olarak azalttığını bulmuşlardır. Aortik iskemi yaptıkları beta glukun grubunda Bowman kapsül dilatasyonu, tübüler epitelyal dejenerasyon, glomerüler nekroz, tübüler epitelyal nekroz, intertisyel inflamatuvar infiltrasyon, tübüler dilatasyon ve konjesyonda anlamlı azalma kaydetmişlerdir. Bu veriler bizim çalışmamızla paralellik gösterip beta glukanın iskemi reperfüzyon hasarı sonucunda histopatolojik incelemede olumlu etkilerini göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada sıçanlara 45 dakika iskemi ardından 60 dakika reperfüzyon uygulanmış ve beta gluklan uygulanan grupta diğer gruplar kıyaslandığında doku MDA ve GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Doku MPO düzeyinde de azalma olmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamıştır. Histopatolojik değerlendirmede de beta gluklanın iskemi reperfüzyon hasarı sonucu oluşabilecek kortikal, medullar ve tubuler dejenerasyonu önlemede etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Beta gluklanın böbrek iskemi reperfüzyon modelinde böbrek hasarını azaltıcı yönde antioksidan etkisi olduğunu ve ileri klinik çalışmalarla farklı deney modellerindeki etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Acworth IN, Bailey B.** Reactive Oxygen Species. In: The handbook of oxidative metabolism. Massachusetts: ESA Inc., 1997, 1-1, 4-4
- Ağgöl, A.G.** Diyabetli ratlarda zeytin yaprağı ekstresinin etkilerinin incelenmesi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2012 136 s.
- Ahmed, G.** β -Glucan: The Next Generation. Total Health; 22, 4; *Health&Medical Complete*, 2000 sf: 34.
- Akkoç H.** Miyokardiyal İskemi reperfüzyon hasarı. *Dicle Tıp Derg* 2008; 35(3): 211-5.
- Akkuş İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Birinci baskı. Mimoza Yayınları, 1-60.1995.
- Aksoy Y.** Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T Klin J Med Sci* 2002; 22: 442-8.
- Aliyev, E.** Atrisorb uygulanmış ve Radikal Süpürücü Enzimler(Süperoksiddismutas (SOD) ve Katalaz (KAT)) verilmesi köpeklerin dişeti dokularında radikal süpürücü enzimler (Süperoksiddidmutas (SOD) ve Katalaz (KAT)) aktivitelerinin zamana göre değişimi, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 2005, 120 s.
- Altıntaş S.** Kahramanmaraş'ta bazı iş kollarında çalışan boya işçilerinde plazma ve eritrosit membranı sialik asit, glutatyon, plazma nitrik oksit ve lipid peroksidasyonu düzeylerinin değerlendirilmesi. Yüksek lisans Tezi. Kahramanmaraş: Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2006.
- Anderson ME.** Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. *Chem Biol Interact.* 1998; 111(112): 1-14.
- Andreoli SP, McAteer JA.** Reactive oxygen molecule-mediated injury in endothelial and renal tubular epithelial cells in vitro. *Kidney. Int* 1990; 38: 785-794.
- Ankarcrona M, Dybukt M, Bonfoco E.** Glutamate- induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptozis depending on mitochondrial function. *Neuron*, 1995; 15:961-73.
- Antmen Ş.E.** Beta talasemide oksidatif stres. Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, Sağlık bilimleri enstitüsü. 2005

- Arslan, K.** Alt ekstremitenin deneysel iskemi/reperfüzyon modelinde geliş reperfüzyona bağlı böbrek hasarına Papaverin ve Vitamin C (Askorbik Asit)'nin etkilerinin araştırılması, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, 2012, 69s.
- Aşıcioğlu YT.** Sıçanlardaki kronik alkolik karaciğer hasarına likopenin etkisi. Uzanlık Tezi. İstanbul: Şişli Eftal Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2005.
- Atalay F.** Gebelerden alınan amniyon sıvılarının karyotip analizinde normal, down sendromu ve nöral tüp defekti olduğu tespit edilen olguların amniyon sıvılarında oksidatif stres (MDA) parametrelerinin, antioksidan (SOD, CAT, GSH-Px) ve eser element (Se, Zn, Cu) düzeylerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi. Kahramanmaraş şütçü imam üniversitesi. Sağlık bilimleri enstitüsü, 2012.
- Atalık KE, Doğan N.** Nitrik oksit ve fizyolojik etkileri. *Gen Tıp Derg* 1997; 7(3): 167-9.
- Aydın A, Sayal A ve Işimer A.** Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi, Gülhane askeri tıp akademisi ayın kitabı, 2001.
- Aydoğdu, N., Kaymak, K., & Yalçın, Ö.** Sıçanlarda böbrek iskemi reperfüzyon hasarında N-Asetilsisteinin etkileri, *Fırat Tıp Dergisi*, 2005, 10(4) 151-155 s.
- Babayigit H, Kucuk C, Sozuer E, Yazici C, Kose K, Akgun H.** Protective effect of beta-glucan on lung injury after cecal ligation and puncture in rats. *Intensive Care Med* 2005;31:865-70.
- Basım, S.** Alt ekstremitede iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda *Ginkgo biloba* EGB 761'in barsak anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi, T.C.Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği, 2005. 50s.
- Baykara B.** Karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarında karnozin ve melatoninin koruyucu etkileri. Dokuz Eylül Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji anabilim dalı, doktora tezi. İzmir, 2006.
- Bayrak O, Turgut F, Karatas OF, Cimentepe E, Bayrak R, Catal F, et al.** Oral beta-glucan protects kidney against ischemia/reperfusion injury in rats. *Am J Nephrol* 2008;28:190-6.
- Bedirli A, Gokahmetoglu S, Sakrak O, Ersoz N, Ayangil D, Esin H.** Prevention of intraperitoneal adhesion formation using beta-glucan after ileocolic anastomosis in a rat bacterial peritonitis model. *Am J Surg* 2003;185:339-43.
- Bedirli A, Kerem M, Pasaoglu H, Akyurek N, Tezcaner T, Elbeg S, et al.** Beta-glucan attenuates inflammatory cytokine release and prevents acute lung injury in an experimental model of sepsis. *Shock* 2007;27:397-401

- Biçim, G.** Oksidatif stres ve antioksidan kapasite ile ilişkili gen polimorfizmlerinin değişik yöntemlerle belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, 2013. 105s.
- Braam B,** Renal endothelial and macula densa NOS: integrated response to changes in extracellular fluid volume. *Am J Physiol* 1999; 276: 1551-61.
- Brown GD, Gordon S,** Immune recognition: A new receptor for β -glucans. *Nature*, 2001, 413: 36-37.
- Brown G.D., Taylor P.R., Reid D.M., Willment J.A., Williams D.L., MartinezPomares L., Wong S.Y., Gordon S.,** Dectin-1 is a major β -glucan receptor on macrophages. *J Exp Med.* 2002;196(3): 407-12
- Brown GD, Gordon S,** Fungal β glucans and mammalian immunity. 2003. 19(3):311-315
- Brown GD, Gordon S,** Immune recognition of fungal β -glucans. *Cell Micro.* 2005. 7:471-479
- Burton G.W,** Vitamin E: Molecular and biological function proceedings of the nutrition society, 1994. 53(2):251-262
- Carrow, D.J.** β -1,3-glucan As a Primary Immune Activator. *Total Health*, 19,2; Health&Medical Complete, 1997. sf: 32.
- Chalmers- Redman R, Franser AD, Ju W.** Mechanisms of nerve cell death: Apoptosis or necrosis after cerebral ischemia, Neuroprotective agents and cerebral ischemia. *Academia Press Lmt*, 1997; 2-25.
- Chatterjee PK, Todorovic Z, Sivarajah A, Mota-Filipe H, Brown PA, Stewart KN,** et al. Inhibitors of calpain activation (PD150606 and E-64) and renal ischemia-reperfusion injury. *Biochem Pharmacol* 2005;69:1121-31.
- Chatterjee PK.** Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2007; 376): 1-43.
- Chauhan SS, Ojha S, Mahmood A.** Modulation of lipid peroxidation and antioxidation defense systems in rat intestine by subchronic fluotide and ethanol administration. *Alcohol* 2011; 45: 663-72.
- Cherubini A, Ruggiero C, Morand C, Lattanzio F, Dell'aquila G, Zuliani G, Di Iorio A, Andres-Lacueva C.** Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Curr Med Chem.* 2008; 15: 1236-1248.
- Clarke PG.** Developmental cell death: Morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat Embryol*, 1990; 181:195-213.

- Cnubben N.H.P**, Rietjens I.M.C.M., Wortelboer H, Van-Zanden J ve Van Bladeren PJ,2001. the interplay of glutathione related processes in antioxidant defense. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 10:141-152
- Concannon MJ, Kester CG, Welsh CF, Puckett CL**. Patterns of free-radical production after tourniquet ischemia: implications for the hand surgeon. *Plast Reconstr Surg*, 1992; 89:846-52.
- Conesa LE, Valero F, Nadal JC** ve ark.. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol* 2001; 281: R730-R737
- Cornelli U**. Antioksidant use in nutraceuticals. *Clin Dermatol* 2009; 27: 175-94.
- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL**. Temel patoloji. Çevikbaş U (Çeviren) 5. Baskı. İstanbul: Nobel ve Yüce, 1995.
- Cuzzocrea S, Riley Dp, Caputi A, Salvemini D**. Antioxidant therapy: A new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 135–59.
- Cüre E**. Ratlarda demir yüklenmesi ile oluşturulan oksidatif stresin önlenmesinde kafeik asit fenetil ester'in etkinliğinin araştırılması. Uzmanlık Tezi. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2007.
- Çakır Ö.O., Yürük E. Ve Binbay M**. Endoüroloji Bülteni : Üriner Sistem Taş Hastalığında Deneysel Modeller. Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği, İstanbul 2014;7:13-17
- Çakır, M.**, Sıçanlarda böbrek iskemi reperfüzyonu ile oluşturulan oksidatif hasara karşı deksmedetomidin etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Entitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, 2012. 70 s.
- Çavdar, C., Sifil, A., ve Çamsarı, T**, 1997,. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Trasplantasyon Dergisi*, 3-4:92-95 s.
- Deaton C.M. ve Marlin D.J**. Exercise-Associated oxidative stres, *Clin. Tech. Equine Pract*, 2003. Vol 2,no 3,278-291
- Demirel B**. Sisplatinin rat karaciğerinde oluşturduğu histolojik hasar üzerine antioksidan beta glukanın etkilerinin ışık mikroskobu düzeyinde araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Samsun, 2009.
- Demirkıran, H**. Ratlarda Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarına Ketaminin Farklı Dozlarının Etkileri, Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Ve Reanimasyon Anabilim Dalı, 2011. 64 s.

- Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK.** Kidney ischemia-reperfusion: Modulation of antioxidant defenses. *Mol Cell Biochem* 2000; 205: 1-11.
- Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I.** Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Progress in Lipid Research*, 2004, 43:200-227
- Dursun N.** Veteriner Anatomi II (11. baskı), Medisan, Ankara,1996, s: 128-263.
- Elli M, Özkaya O.** Böbreğin gelişiminde nitrik oksid'in fizyopatolojik rolü. *T Klin Pediatri* 2003; 12: 252-9.
- Ergün, O.** Böbreğin iskemi reperfüzyonunu önleyici bir ajan olarak Karnitin'in etkisi, Uzmanlık Tezi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, 1998, 56s.
- Ergün, Y.** Çizgili kas iskemi-reperfüzyon hasarı ve nitrik oksit ile ilişkisi, 2006, 15,133s.
- Erkol H., Kahramansoy N., Kordon Ö., Büyükaşık O., Serin E., Ulaş N.** Tıkanma sarılığında beta glukanın karaciğer hasarına etkisi. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2011;17 (4):303-307
- Frangogiannis NG.** Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost.* 2007; 97: 738-747.
- Fridovich I.** superoxide radical and superoxide dismutase. *Annu. Rev. Biochem* 1995, 64:97-112
- García-Villalón AL, Amezcua YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G.** Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol.* 2008; 48:109-114.
- Gasanov, F.,** Sıçanlarda Renal İskemi Reperfüzyon Hasarının Azaltılmasında Fosfodiesteraz Tip 5'in (Tadalafil) Rolü, Uzmanlık Tezi, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, 2010, 95 s
- Gilbert RE, Kelly DJ, Atkins RC.** Novel approaches to the treatment of progressive renal disease. *Curr Opin Pharmacol.* 2001;1:183-189
- Greene E.C.** Anatomy of the Rat. Philadelphia. *Hafner Publishing Company*, New York and London. Chapter VII. Circulatory system.1963. s: 199.
- Grigorov B.** Reactive oxygen species and their relation to carcinogenesis. *Trakia J Sci* 2012; (10)3: 83-92.
- Guemori L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, ve Siest G.** Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood *Clin. Chem.* 1991. 37(11):1932-1937.

- Gurol O, Aktan AO, Yegen C, Kurtel H, Yalin R.** Captopril prevents the oxidative damage to proteins after renal ischemia reperfusion injury: role of endothelin-1. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997;56:23-7.
- Guyton, A., Hall, J.** *Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji*. B. Çağlayan Yeğen (çev.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri (orijinal baskı tarihi 2011). 2013
- Güder A.** *Urtica dioica L. Ve Malva Neglecta Wallr. Bitkilerinin ve karışımlarının antioksidant aktivitesinin belirlenmesi*. Yüksek lisans tezi, On Dokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.2008
- Gülmen Ş., Doğuç DK., Ceylan BG., Çetin NK., Meteoğlu İ., Okutan H., Öcal A.** Deneysel aortik iskemi-reperfüzyonda beta-glukanın böbrek hasarı üzerine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 2011;19(2):234-241
- Gürel EE.** Sıçanlarda deneysel miyoglobürik akut böbrek yetmezliğinde sarımsağın etkileri. Yüksek lisans Tezi. Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fak; 2008.
- Hahn P.Y., Evans S.E., Kottom T.J., Standing J.E., Pagano R.E., Limper A.H.,** Pneumocystis carini cell wall beta-glucan induced release of macrophage inflammatory protein-2 from alveolar epithelial cells via a lactosylceramide-mediated mechanism. *J Biol Chem*. 2003;278:2043-2050.
- Halliwell B.** Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase: Solutions to the problems of living with oxygen. *New Phytol* 73,1075-1086, 1974
- Halliwell B, Aruoma, OI.** DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett* 1991;81: 9-19.
- Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE.** Free radicals, antioxidants and human disease:where are we now. 1992
- Halliwell B ve Gutteridge J:M:C.,** Free radicals in Biology and medicine. Third edition , Oxford university Pres. Inc., New York,936s.1999.
- Harada T, Miura N, Adachi Y, ve ark.** Effects of SCG, 1,3-beta-glucan from Sparassis crispa on the hematopoietic response in cyclophosphamide induced leukopenic mice. *Biol Pharm Bull*.2002;25(7):931-9
- Havsteen BH.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Therapeut*. 2002; 96: 67-202.
- Hoffman, O.A., Olson, E.J., Limper, A.H.,** Fungal Beta-glucans Modulate Macrophage Release of Tumor Necrosis Factor-alpha in Response to Bacterial Lipopolysaccharide. *Immunol Lett.*, 37: 19-25. 1993

- Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ.** Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997; 14:195-203.
- Hong F, Yan J, Baran J.T, Allerdorf D.J** ve ark. Mechanism by which orally administered beta 1,3-glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models. *J. Immunol.* 173(2):797-806
- Hunter K.W., JR., Dupre's., Redelman D.,** Microparticulate beta-glucan upregulates the expression of B7.1, B7.2, B7-H1, but not B7-DC on cultured murine peritoneal macrophages. *Immunol Lett.* 2004;93(1):71-8
- Iraz M, Iraz M, Eşrefoğlu M, Aydın MŞ.** Protective effects of B-glucan on acute lung injury induced by lipopolysacchoride in rats. *Turkish Journal of Medical Science, Tubitak,* 2015. 45:261-267
- İşcan, Ş.,** Alt ekstremitelerde deneysel iskemi/reperfüzyon modelinde gelişen reperfüzyona bağlı akciğer hasarına İloprost'un etkilerinin araştırılması, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, 2012, 56s.
- Jamas S, Chen Y- CJ, von der Osten CH, Sinskey AJ, Rha CK.** Spectral analysis of glucan produced by wild-type and mutant *Saccharomyces cerevisiae*. *Carbohydr Polymers* 1990;13:207-19.
- Jennings RB, Reimer KA.** The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991; 42: 225-246
- Kandilci, H. B. ve Gümüsel, B.,** Akciğerlerde iskemi-reperfüzyon hasarı ve iskemik önkoşullama, *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi,* 25, 35-49 s.2005
- Karabiga, M., Kiriş, İ., Yılmaz, N., Altuntaş, İ., Karahan, N., Okutan, H., 2007,** Aprotinin deneysel aortik iskemi-reperfüzyon modelinde böbrek hasarına etkisi, 16, 9-18.
- Kılıç F.** Rat abdominal epigastrik arter flebinde beta-glukanın iskemi reperfüzyon hasarına etkisi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Kayseri,2015.
- Koca, N. ve Karadeniz, F.,** Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları Ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri, *Gıda Mühendisliği Dergisi,* 32-37.2003
- Kayabaşı H.** Kalsiyum dobesilatın sıçanlarda böbrek iskemi reperfüzyon hasarı ve antioksidan sistem üzerine etkilerinin incelenmesi. Yandal uzmanlık tezi. Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı. Diyarbakır,2011.
- Kayali, H., Özdağ, M.F., Kahraman, S., Aydın, A., Gonul, E., Sayal, A., Odabasi, Z., Timurkaynak, E.** The Antioxidant Effect of Beta-Glucan on Oxidative Stress Status in Experimental Spinal Cord Injury in Rats. *Pub-Med Medline,* 28(4):298-302.2005

- Kesik V.** Aspirin ile tedavi edilen ratlarda eritrosit içi antioksidan enzim seviyelerinin korunmasında, hepatic ve renal toksisitenin önlenmesinde antioksidan enzim kofaktörlerinin etkinliklerinin in vivo olarak araştırılması. Uzmanlık tezi. Genel kurmay başkanlığı GATA Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilimdalı Başkanlığı. 2004
- Kınacı MK.** İskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçan böbrek dokusunda quercetin apoptozis ve real-time PCR ile tayin edilen iNOS gen ekspresyonu üzerine etkisi. Yüksek lisans Tezi. Eskişehir: Osman Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008
- Kırmaz C, Bayrak P, Yılmaz O,** et al. Effects of glucan treatment on the Th1/Th2 balance in patients with allergic rhinitis: a double-blind placebo-controlled study. *Eur Cytokine Netw.* 2005;16:128-34
- Kiris İ, Okutan H, Savaş Ç, Yönden Z, Delibaş N.** Deneysel aortic iskem-reperfüzyon modelinde renal hasara gadolinium klorürün etkisi. *Turkish J Vasc Surg* 2005;14:13-8
- Kiris I, Kapan S, Kilbas A, Yılmaz N, Altuntaş I, Karahan N,** et al. The protective effect of erythropoietin on renal injury induced by abdominal aortic-ischemia-reperfusion in rats. *J Surg Res* 2008;149:206-13
- Klaassen C.D ve Watkins J.B.** Caserett&Doull's Essentials of toxicology, third (Eds). New York, *McGraw-Hill*, USA 2003
- Kolanjiappan K, Manoharan S, Kayalvizhi M.** Measurement of erythrocyte lipids, lipid peroxidation, antioxidants and osmotic fragility in cervical cancer patients. *Clin Chim Acta*;2002; 326: 143–9.
- Kordon A.Ö.** Deneysel tıkanma sarığında beta-glukanın akut akciğer hasarına etkisi. Uzmanlık tezi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı. 2010
- Korthuis RJ, Granger DN.** Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardiol.* 1993; 16(4 Suppl 1): I19-26.
- Köylü, H.** *Tıbbi Fizyoloji – Klinik Anlatımlı.* Birinci Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.2014
- Kumar V, Robbin S.L:** Robbin's Basic Pathology, 6. baskı, 2000, S.6-9.
- Kumar, V., Cotran, R. S., ve Robbins, S. L.,** Basic Pathology (Temel Patoloji), 7. Edisyon, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2003.
- Kumar V, Abbas, Aster,** Robin's Temel Patoloji (editör:prof. Dr. Sıtkı Tuzlalı, Doç. Dr. Mine Güllüoğlu, Prof. Dr. Uğur Çevikbaş, 9. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2014. 910s

- Laight DW, Lad N, Woodward B, Waterfall JF.** Assessment of myeloperoxidase activity in renal tissue after ischemia/reperfusion. *Eur J Pharmacol* 1994;292:81-8
- Laurent B, Ardailou R.** Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251: F765-F776.
- Lieberthal W, Levine JS.** Mechanisms of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury. *Am J Physiol.* 1996; 271:477-488
- Liu J, Gunn L, Hansen R, Yan J.** Combined yeast-derived β -glucans with anti-tumor monoclonal antibody for cancer immunotherapy. *Experimental and Molecular Pathology.* 2009; 86:208-214
- Lopez-Neblina F, Paez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH.** Mechanism of Protection of Verapamil by Preventing Neutrophil Infiltration in the Ischemic Rat Kidney. *J SurgRes* 1996; 61: 469-472.
- Majno G.** Apoptosis, oncosis and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol,* 1995; 146: 3-15.
- Mavelli I ve Rotilio G.** enzymatic protection against intracellular oxidative processes, advances on oxygen radicals and radioprotectors, edizioni scientifiche, 65-80. 1984
- McCord JM.** Oxygen derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N Engl J Med,* 1985; 312:159-63.
- Meister A, Anderson ME.** Glutathione. *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 711-760.
- Memişoğulları R.** Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fak Derg* 2005; 3: 30-9.
- Micha L, James A, William D, Susan J, Chunzhi D, Susan M, Heather S, Leslie M.** Regional Pharmacokinetics Of Amifostine in Anesthetized Dogs: Role Of The Liver, Gastrointestinal Tract, Lungs, And Kidneys. *Anti- cancer Drugs,* 2002; 13:181-209.
- Mickle DA, Weisel RD.** Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *Can J Cardiol* 1993; 9: 89-93
- Monsinjon T, Richard V, Fontaine M.** Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement. *Fundam Clin Pharmacol* 2001; 15: 293-306.
- Murray R.K, Mayes P.A, Granner D.K and Radwell V.W.,.** Harper'in biyokimyası. Çevirenler: Prof. Dr. Gülriz Menteş, Prof.Dr. Biltan Ersöz. Barış kitapevi 1993
- Nath KA ve Norby SM.** Reactive oxygen speices and acute renal failure. *Am J Med,* 2000; 109:655-678.

- Notarjan D.** Oxidants and signal transduction in vascular endothelium. *J. Clin. Med.* 1994; 125(35): 26-37
- Novak, M., Vetvicka, V.,** beta-Glucans, History, and the Present: Immunomodulatory Aspects and Mechanisms of Action. *Journal of Immunotoxicology*, 5, 47–57. 2008.
- Novak M, Vetvicka V.** Glucans as biological response modifiers. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2009; 9(1): 67-75.
- Nur, İ.H. and Yoldaş, A,** Bir Wistar Rat’da *A.renalis*’in değişik dallanması, *Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 8(3) 211-216. 2011
- Olson EJ, Standing JE, Griego-Harper N, Hoffman OA, Limper AH.** Fungal glucan interacts with vitronectin and stimulates tumor necrosis factor alpha release from macrophages. *Infect Immun*, 64 (9): 3548. 1996
- Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P.** Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann Neurol* 1992; 32 Suppl: S33-42.
- Paller MS.** The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Invest Med* 1994, 42:632-639
- Palm F, Teerlink T, Hansell P.** Nitric oxide and kidney oxygenation. *Curr Opin Nephrol Hy* 2009; 18: 68–73.
- Patel T, Gores GJ.** Apoptosis and hepatobiliary disease. *Hepatology*. 1995; 21:1725-41.
- Preisler HD, Li B, Yang R.** Suppression of telomerase activity and cytokine messenger RNA levels, in acute myelogenous leukemia cell in vivo in patients by amifostine and interleukin 4. *J Clin Invest*, 2001; 101:746-54.
- Rauscher FM, Sonders RA, Watkins JB.** Effects of Isoeugenol on oxidative stress pathways in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, *J Biochem molecular toxicology*, volume 15.
- Reiter RJ.** Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J*, 1995; 9: 526-533.
- Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D, Tan DX, Burkhardt S.** Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 939: 200-215.
- Revan S.** Farklı dayanıklılık antrenmanlarının oksidatif stres oluşumu ve antioksidan düzeyleri üzerine etkisi. Yüksek lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2007.
- Rice, P.J., Adams, E.L., Ozment-Skelton, T., Gonzalez, A.J., Goldman, M.P., Lockhart, B.E., Barker, L.A., Breuel, K.F., DePonti, W.K., Kalbfleisch, J.H., Ensley, H.E., Brown, G.D., Gordon, S., Williams, D.L.** Oral Delivery and Gastrointestinal Absorption of Soluble

Glucans Stimulate Increased Resistance to Infectious Challenge. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*, 314, 1079–1086. 2005

Rigo A. , Stevanato R, Finazzi-Agro A ve Rotilio G., An attempt to evaluate the rate of the Haber-Weiss Reaction by using OH radical scavengers. *FEBS lett* 1977;80:130-132 1977

Rodriguez C, Mayo CJ, Sainz RM, Antolin I, Herrera F, Martin V et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res* 2004; 36: 1–9.

Rust C, Gores GJ. Apoptosis and liver disease. *Am J Med*, 2000; 108:567-74.

Sandvik A, Wang YY, Morton HC, Aasen AO, Wang JE, Johansen FE. Oral and systemic administration of betaglucan protects against lipopolysaccharide-induced shock and organ injury in rats. *Clin Exp Immunol* 2007;148:168-77.

Sarı S. Farelerde ehrlich asit solid tümör modelinde thymus sipyleus ve taurinin, böbrek MDA, Glutasyon, AOPP düzeylerine ve SOD aktivitesine etkileri (tez). Ankara: Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.

Sastry PS, Subba KR. Apoptosis and the Nervous System. *J Neurochem*, 2000; 74:1-20.

Schoenberg MH, Fredholm BB, Haglund U, Jung H, Sellin D, Younes M, Schildberg FW. Studies on the oxygen radical mechanism involved in the small intestinal reperfusion damage. *Acta Physiol Scand*, 1985; 124(4): 581-9.

Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21: 1376-1386.

Schünke M. Prometheus Anatomi Atlası 2. Baskı Palme Yayıncılık Ankara 2015; 228

Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Rep* 2004; 9(3):145-52.

Sharp, P.E ve La Regina, M.C., The Laboratory Rat, CRC Press, 204 s. 1998

Sheridan AM, Boventre JV. Cell biology and molecular mechanisms of injury in ischemic early renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2000;9:427-434

Singh BN et al. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1109–16.

Singh TD, Patial K, Vijayan VK, Ravi K. Role of nitric oxide in the diuresis and natriuresis occurring in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 2011; 53: 11-20.

Slusser SO, Grotyohann LW, Martin LF, Scaduto RC. Glutathione catabolism by the ischemic rat kidney. *Am J Physiol* 1990; 258(6): F1546-F1553.

- Smith EL, Hill RL, Lehmal R.** Principle of biochemistry. 7th cd- McBraw Hill, inc. USA. 1983;S:382 383
- Soltys J, Quinn MT.** Modulation of endotoxin -and enterotoxin-induced cytokine release by in vivo treatment with β -(1-6)-branched β -(1-3)-glucan. *Infect Immun* 1999; 67(1): 244-52
- Southourn P.A., Powis G.,** Free radicals in medicine. 1. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin. Proc.* 63:381-389, 1988
- Spletstoesser WD, Werner SP.** Oxidative stres in phagoctes ‘The Enemy Within’. *Microscopy Research And Technique* 2002;57:44-55
- Storey B.K.** Oxidative stres: animal adaptations in nature. *Brazil. J. Med. Biol. Res.*,29:1715-1733 . 1996
- Sun Y.,Oberley LW, Li Y.** A simple methodfor clinical assay of superoxide dismutase. 1988 *Clinical Chemistry* 34,497-500
- Şahin, F.** Pioglitazon’un böbrek iskemi reperfüzyonu üzerine olan koruyucu etkisinin incelenmesi, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, 49 s. 2011
- Şener, G., Toklu, H., Ercan, F., Erkanlı, G..** Protective Effect of Beta-Glucan Againts Oxidative Organ Injury in Rat Model of Sepsis. *International Immunopharmacolog*, 5:1387-1396. 2005
- Şener, G., Sert, G., Özer Şehirli, A., Arbak, S., Uslu, B., Gedik, N. Ayanoglu-Dülger, G.,** Pressure Ulcer-Induced Oxidative Organ Injury is Ameliorated by Beta- glucan Treatment in Rats. *International Immunopharmacology*, 6:724-732. 2006.
- Şener, G., Toklu, H.Z., Çetinel, Ş.,** Beta-Glucan Protects Against Chronic Nicotine- Induced Oxidative Damage in Kidney and Bladder. *Environmental Toxicology And Pharmacology*, 23:25-32. 2007.
- Şener, G., Yeğen B.Ç.,** İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim*; 22 (3): 5- 13.2009
- Şenol G., Doğuç DK., Ceylan BG.,Çetin NK, Meteoğlu İ., Okutan H., Öcal A.** Deneysel aortik iskemi-reperfüzyonda beta-glukanın böbrek hasarı üzerine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı;2010.
- Talab SS, Emami H, Elmi A, Nezami BG, Assa S, Deroee AF et al.** Chronic lithium treatment protects the kidney against ischemia/reperfusion injury: The role of nitric oxide and cyclooxygenase pathways. *Eur J Pharmacol* 2010; 647: 171-7.
- Taşdemir B.** Streptozotocin ile diyabet oluşturulan ratlarda eksojen kaynaklı L-argininin; arginaz, paraoksonaz, nitrik oksit ve antioksidan enzim düzeylerine etkisi (tez). Elazığ:Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2005

- Taşkıran A.** Koroner By-Pass Yapılan Olgularda Lipid Hidroperoksit, Antioksidan Kapasite ve Oksidan Strese Duyarlılık (tez). Edirne: TÜ Tıp Fak, 2002.
- Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV.** Early renal failure *N Engl J Med.* 1996;334:1448-1460.
- Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS.** A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Med Hypotheses* 2007; 68: 1363-1370.
- Toklu HZ, Sener G, Jahovic N, Uslu B, Arbak S, Yeğen BC.** Beta-glucan protects against burn-induced oxidative organ damage in rats. *Int Immunopharmacol* 2006;6:156-69.
- Tufan, A.N.** Tahıllarda Spektrofotometrik Toplam Antioksidan Kapasite Tayini Ve Antioksidan Bileşenlerin Kapiler Elektroforezle Saptanması, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı, Yüksek Lisans Tezi, 107s. 2012,
- Tümay, A.** Retinitis Pigmentosa'da Serbest Radikallerin Rolü, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 131s. 2010
- Türkyılmaz Z.** Karaciğer İskemi-Reperfüzyon Zedelenmesinde Pentoksifilin, Dimetilsülfoksit ve Eksojen Melatoninin Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması (tez). Edirne: TÜ Tıp Fak, 2003.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006;160:1-40.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J.,** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39:44-84. 2007.
- Virág L, Szabó C.** The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 375-429
- Volman, J.J., Ramakers, D., Plat, J.** Dietary Modulation of Immune Function by Beta-Glucans. *Physiology&Behavior*, 94:276-284. 2008
- Weight SC, Bell PR, Nicholson ML.** Renal ischaemia—reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83: 162-170. Where are we now? *J Lab. Clin. Med.* 1992; 119: 598-620
- Widmaier, E., Raff, H., Strang, K.** *Vander İnsan Fizyolojisi – Vücut Fonksiyon Mekanizmaları.* T. Özgünen (çev.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri (orijinal baskı tarihi 2013).
- Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137:1-53. 2014

- Winterbourn CC, Vissers MC, Kettle AJ.** Myeloperoxidase. *Curr Opin Hematol* 2000;7:53-8.
- Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S.** PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2514-2523.
- Yan J., Vetvicka V., Xia Y., Hanikyrova M., Mayadas T.N., Ross G.D.,** Critical role of kupffer cell CR3 (CD11b/CD18) in the clearance of igM-opsonized erythrocytes of soluble beta-glucan. *Immunopharmacol.* 2000;46: 39-54
- Yılmaz M,** Sıçanlarda Deneysel Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarında Çinko ve Melatoninin Etkileri, Yüksek lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2014.
- Yılmaz M.** Bazı pestisitlerin sıçan dokularındaki asetilkolinesteraz ve antioksidan enzim aktiviteleri ile malondialdehit düzeyine etkileri. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana,2010.
- Zamocky, M., and Koller, F.,** Progress in Biophys.*Mol. Biol.*, **72**, 19-66 (1999).
- Zekovic DB, Kwiatkowski S, Vrvic MM, Jakovljevic D, Moran CA.** Natural and modified (1→3)-β-D-Glucans in health promotion and disease alleviation. *Crit Rev Biotechnol* 2005; 25(4): 205–230.
- Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D.** Increased expression of bioactive chemokines in human cerebrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. *J Neuroimmunol* 1999; 101:148-160.
- Zimmerman BJ, Granger DN.** Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83.

EK-1



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



Aydın, 14 Ağustos 2015

Oturum : Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu 2015 Yılı VIII. Oturumu
Sayı : 64583101/2015/099
Proje Başlığı : Deneysel böbrek iskemi reperfüzyon hasarında beta glukanın olası koruyucu etkilerinin araştırılması
Proje Yürütücüsü : Yüksel YILDIZ
Proje Ekibi : Rauf Onur EK, Gökhan CESUR, Gül TAŞLI YEŞİLÇAYIR, Cenk ORAK, Ferhat ŞİRİNİYILDIZ

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötusu kullanılması
İnsan embriyosu ve fötusu 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.


Prof. Dr. Turhan DOST
(Başkan)


izinli


Yrd. Doç. Dr. Cengiz ÜNSAL
(Üye)


Prof. Dr. İbrahim CEMAL
(Üye)

izinli

Vet. Hek. Ufuk SAYIN
(Üye)


Dr. Nurten ATALAY
(Üye)


Doç. Dr. Yücel KOCA
(Üye)


Vet. Hek. Serdar AKTAŞ
(Üye)


Şevket AKYOL (Raporör)

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

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : Mavi Bulut, Ayşegül
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Aydın, 1983
Telefon : 05059125230
E-mail : aysegulmavi@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

| <u>Derece</u> : | <u>Kurum</u> : | <u>Mezuniyet Tarihi</u> : |
|-----------------|--------------------------|---------------------------|
| Lisans | Dokuz Eylül Üniversitesi | 06/2006 |

İŞ DENEYİMİ

| <u>Yıl</u> : | <u>Yer ve Kurum</u> : | <u>Unvan</u> : |
|--------------|----------------------------------|----------------|
| 2006-2007 | Aydın, Atça Özel Eğitim Merkezi | Fizyoterapist |
| 2007-2008 | Siirt, Umut Özel Eğitim Merkezi | Fizyoterapist |
| 2008-2014 | Ayfiz Fizik Tedavi ve Reh. Merk. | Fizyoterapist |
| 2014-... | Aydın Devlet Hastanesi | Fizyoterapist |