



**AKUT PANKREATİT OLUŞTURAN SIÇANLARDA
KARVAKROLUN BÖBREKLER ÜZERİNDE
ETKİLERİ**

Mirkhalil HOSSEİNİGOUZDAGANI

Doktora Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Genel Biyoloji Bilim Dalı

Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

2017

Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**AKUT PANKREATİT OLUŞTURAN SIÇANLARDA
KARVAKROLUN BÖBREKLER ÜZERİNE ETKİLERİ**

Mirkhalil HOSSEİNİGOUZDAGANI

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Genel Biyoloji Bilim Dalı**

**ERZURUM
2017**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



TEZ ONAY FORMU

Akut Pankreatit Oluşturulan Sıçanlarda Karvakrolun Böbrekler Üzerine Etkileri.

Prof. Dr. Fatime Geyikoğlu danışmanlığında, Mirkhalil Hosseinigouzdagani tarafından hazırlanan bu çalışma, 05/07/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Genel Biyoloji Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (....)** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

İmza :

Üye : Doç. Dr. Turgay ŞİŞMAN

İmza :

Üye : Prof. Dr. Hasan Türkez

İmza :

Üye : Doç. Dr. Hakan AŞKIN

İmza :

Üye : Doç. Dr. Suat Çolak

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun 06.07./2017 tarih ve 27/.../56 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projesi kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 2012/167

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

AKUT PANKREATİT OLUŞTURAN SIÇANLARDA KARVAKROLUN BÖBREKLER ÜZERİNDE ETKİLERİ İ

Mirkhalil HOSSEİNİGOUZDAGANI

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

Akut pankreatitin neden olduğu Akut renal hasar yüksek mortalite oranı ile ilişkilenen yaygın bir komplikasyondur. Kekiğin ana bileşeni Karvakrol anti-oksidan, anti-bakteriyel ve anti-inflamatuvar özelliklere sahiptir. Bu çalışmanın amacı, Akut pankreatit ile teşvik edilmiş böbrek hasarı üzerine Karvakrolün etkinliğini araştırmak ve temel mekanizmayı açıklamaktır. Bu amaçla sıçanlar kontrol, Akut pankreatit ve Akut pankreatit+Karvakrol gruplarına ayrıldı. Hayvanlara 50 µg/kg serulein enjeksiyonundan sonra intraperitoneal enjeksiyonlarla 50, 100 and 200 mg/kg Karvakrol verildi. Deneysel prosedürlerden sonra, böbrek ağırlığı tespit edildi. Böbrek fonksiyonu değerlendirildi ve aynı zamanda renal dokular histolojik ve biyokimyasal araştırmalar için çıkarıldı. Araştırma sonuçlarına göre Akut pancreatit+Karvakrol gruplarının renal dokularında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi Antioksidan enzimlerin aktivitesi Akut pankreatit grubundaki sıçanlardakinden daha yüksek oldu. Üstelik Karvakrolün artan dozları pankreatit ile teşvik edilmiş malondialdehit (MDA) miktarlarını belirgin bir şekilde düşürdü. Renal histomimarisinde belirgin iyileştirmelerle Karvakrol tedavisi doza bağlı olumlu etkiler gösterdi. Aynı zamanda muamelelerden önce ve sonra Akut pankreatitli sıçanların BUN/Üre, Kreatinin ve Ürik asit seviyeleri arasında önemli farklılıklar vardı. Bunun yanı sıra seruleine maruziyetten sonra organ ağırlıkları belirgin bir şekilde etkilendi. Ancak Akut pankreatit grubu ile karşılaştırıldığında Karvakrol ile muamele edilmiş sıçanların böbrek ağırlıklarında belirgin bir azalma tespit edildi. Birlikte ele alındığında bu veriler Karvakrolün yüksek dozunun Akut pankreatit ile teşvik edilmiş renal hasarlar ve fonksiyon bozukluklarına karşı etkili bir tedavi olduğunu gösterdi. Sonuç olarak, Karvakrolün iyileştirici etkisi onun Antioksidan özellikleri ile ilişkilendi. Böylece, Karvakrol pankreatiti ile teşvik edilmiş çoklu organ hasarlarına karşı doğal farmakolojik ajan olarak teklif edildi.

2017, 124 sayfa

Anahtar Kelimeler: Akut pankreatit, Sıçan, Böbrek, Karvakrol, Histopatoloji, Oksidan/ Antioksidan

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

THE EFFECTS OF CARVACROL ON THE KIDNEYS OF CARVACROL IN THE ACUTE PANCREATITIS-INDUCED RATS

Mirkhalil HOSSEINIGOUZDAGANI

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Department of General Biology

Supervisor: Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

Acute renal injury caused by acute pancreatitis is a common complication that is associated with a high rate of mortality. Carvacrol the main compound of thyme has anti-oxidant, anti-bacterial and anti-inflammatory properties. The aim of this study was to investigate the efficacy of carvacrol on acute pancreatitis-induced kidney injury and to explain the underlying mechanism. With this aim, rats were randomized into control, acute pancreatitis and acute pancreatitis + carvacrol groups. The animals were given 50, 100 and 200 mg/kg carvacrol by intraperitoneally injections after 50 µg/kg cerulein injection. After experimental procedures, kidney weight was determined. Kidney function was assessed and also renal tissues were removed for histological and biochemical investigations. According to investigation results, the activity of antioxidant enzymes as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) in renal tissues of the acute pancreatitis+carvacrol groups was higher than that of the rats in the acute pancreatitis group. Moreover, the increasing doses of carvacrol significantly reduced pancreatitis-induced malondialdehyde (MDA) amount. With marked improvements in renal histoarchitecture, carvacrol treatment showed a duration and non dose-dependent positive effects. Also, there were significant differences between BUN, CRE and UA levels of rats with acute pancreatitis before and after treatments. Besides, organ weights were significantly affected after exposure to cerulein. However, a significant decrease was established in the kidney weights of rats treated with the carvacrol as compared with acute pancreatitis group. Taken together these data showed that 200 mg/kg carvacrol is an effective therapy against acute pancreatitis-induced renal damages and dysfunction. As conclusion, the ameliorative effect of carvacrol was associated with its antioxidant properties. Thus, carvacrol was suggested as natural pharmaceutical agent against pancreatitis-induced multiple organ damages.

2017, 124 pages

Keywords: Acute pancreatitis, Rat, Kidney, Carvacrol, Histopathology, Oxidant/Antioxidant.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince tez çalışmamda konunun belirlenmesinden tamamlanmasına kadar yapıcı ve yönlendirici fikirleri ile bana daima yol gösteren, sabır ve hoşgörü ile bana destek olup yetişmemde emeği geçen, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU'na teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını eksik etmeyen laboratuvar arkadaşlarıma ve özellikle sayın Araştırma görevlileri Kübra Koç ve Salim Çeriğ'e, yaşamıma girdiği andan itibaren hep yanımda olan, hayatı paylaşmaktan mutluluk duyduğum, Türkiye'deki eğitimim sırasında kilometrelerce uzakta olan öğretmenlik yaparken çocuklarımı kanatlarının altına alıp hiç durmadan, yorulmadan, şikayet etmeden tüm varlığıyla bana güç veren çok değerli ve fedakar eşim Rubab'a ve canımdan çok sevdiğim, gelecekleri için mücadele ettiğim çocuklarım Babak ve Atabak'e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteğini hiç bir zaman esirgemeyen her daim yanımda olan ve dualarını başımdan eksik etmeyen saygıdeğer annem Gülşan'a, rahmetle andığım babam Mir Cafar'e, kardeşlerime, türk can dostlarıma destek ve teşviklerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mirkhalil HOSSEİNİGOUZDAGANI

Haziran, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Akut Pankreatit.....	1
1.1.1. Tanım.....	1
1.1.2. Akut pankreatit'in sınıflandırılması	2
1.1.3. Akut pankreatit etyolojisi	2
1.1.4. Akut Pankreatit Patogenezi	3
1.2. Pankreas Anatomisi ve Histolojisi	4
1.3. Böbrek	6
1.3.1. Böbrek anatomisi.....	6
1.3.2. Böbrek histolojisi	8
1.3.3. Böbrek fizyolojisi	14
1.4. Serbest Radikaller.....	21
1.1. Serbest Radikal Kaynakları	22
1.4.1. Serbest radikal oluşum mekanizmaları.....	23
1.4.2. Serbest radikallerin oluşum şekilleri	24
1.4.3. Önemli serbest radikaller.....	25
1.4.4. Serbest radikallerin biyomoleküllere etkileri	26
1.4.5. Serbest radikallere karşı Antioksidan savunma sistemi (Antioksidanlar).....	30
2. KAYNAK ÖZETLERİ	53
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	57
3.1. Materyal.....	57
3.1.1. Araştırmanın yapıldığı yer.....	57
3.1.2. Deneklerin seçimi.....	57

3.1.3. Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler	57
3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar	58
3.1.5. Kullanılan boya ve çözeltilerin hazırlanması	58
3.2. Yöntem	59
3.2.1. Deney gruplarının belirlenmesi	59
3.2.2. Sıçanlarda deneysel pankreatit modelinin oluşturulması	59
3.2.3. Karvakrol	59
3.2.4. Organ ağırlığı ölçümü	60
3.2.5. Serum amilaz ve lipaz düzeylerinin ölçülmesi	60
3.2.6. Böbrek fonksiyonunun değerlendirilmesi	60
3.2.7. Antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA düzeyinin belirlenmesi	61
3.2.7.a. Doku homojenatlarının hazırlanması	61
3.2.7.b. Malondialdehit (MDA) düzeyinin belirlenmesi	61
3.2.7.c. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin belirlenmesi	62
3.2.7.d. Katalaz (KAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi	62
3.2.7.e. Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesinin tayini	63
3.2.8. Histopatolojik işlemler	64
3.2.8.a. Böbrek diseksiyonu	64
3.2.8.b. Histopatolojik kesit fotoğraflarının çekilmesi	68
3.2.8.c. Histopatolojik skorlama	68
3.3. Verilerin Değerlendirilmesi	68
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	69
4.1. Böbrek Ağırlığı	69
4.2. Biyokimyasal Parametreler	70
4.3. Histopatolojik Bulgular	72
4.4. Histopatolojik Skorlama	104
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	106
KAYNAKLAR	114
EKLER	124
EK 1	124
ÖZGEÇMİŞ	125

KISALTMALAR DİZİNİ

µg	: Mikrogram
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADH	: Antidiürtik hormon
ALT	: Alanin aminotransferaz
ANP	: Atriyal Natriüertik Peptid
AP “	: Akut Pankreatit
AP-1	: Aktivatör protein 1
AQP-1	: Akuaporin-1
AST	: Aspartat aminotransferaz enzimi
BUN	: Blood Urea Nitrogen (Kan Üre Azotu)
COX-2	: Siklooksijenaz-2
DTNB	: 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)
EDTA	: Etilen diamin tetraasetik asit
EPO	: Eritropoetin
FPG	: Formamidopyrimidine glycosylase
GR	: Glutatyon Redüktaz
GSH	: Glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon Peroksidaz
GSH-R	: Glutatyon Redüktaz
GSSG	: GSH oksitlenmiş şekli
GST	: Glutatyon-S- Transferaz
H& E	: Hematoxylin and Eosin(Hematoxylin ve Eosin)
HCO ₃ -	: Bikarbonat
HDL-C	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol
HFD	: Yüksek yağlı diyet
HHE	: 4-hidroksi-2-hekzenal
HL-60	: İnsan Akut promiyelositik lösemi hücreleri
HNE	: 4-hidroksi-2-nonenal
İFN-γ	: İnterferon gamma

İL	: İLLİNOİS- CHİCAGO
İL-1	: İnterlökın-1
İL-2	: İnterlukın – 2
KAT	: Katalaz
LDL-C	: Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol
LM	: Lümen
LOO.	: Lipid perolsil radikali
LOOH	: Lipid peroksit
LPO	: Lipid peroxidation (Lipid peroksidasyonu)
M/cm	: Mol/santimetre
MDA	: Malondialdehit
mg/kg	: Miligram/Kilogram
mg	: Miligram
Ml	: Milimol
mM	: Milimol
MPO	: Myeloperoksidaz
MTX	: Metotreksat
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NFAT	: Aktifleşmiş T hücresi nüklear faktörü
nm	: Nanometr
NTF	: Nötral tamponlanmış formalin
Ort	: Ortalama değer
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
p<	: Anlamlılık düzeyi veya kritik <i>p</i> -değeri
PAF	: Platelet aktive edici faktör
PARP	: Poly ADP ribose polymeraz
PAS	: Periodik acid – schiff
PLGSH-PX	: Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz
PLOOH	: Fosfolipid hidroperoksit
PUFA	: Poliansature yağ asitleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Revolutions per Minute (Dakikadaki devir sayısı)

RSG	: Rosiglitazone
SD	: Standart sapma
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TAS	: Total Antioksidan kapasite
TBA	: Tiyoarbitürük asit
TNF- α	: Tümör nekrozis faktör- α
TOS	: Total Oksidan Kapasite
U/g	: Ünite/gram
U/L	: Units per litre (Litre başına birim)
VLDL-C	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol
μ M	: Mikromol

ŞEKİLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Akut pankreatit etyolojisi	3
Şekil 1.2. Pankreas anatomisi	5
Şekil 1.3. Üriner sistem bir çift böbrek bir çift üreter mesane ve üretradan oluşmaktadır	6
Şekil 1.4. Böbrek anatomisi	7
Şekil 1.5. Böbrek anatomisi	7
Şekil 1.6. Nefron histolojisi	9
Şekil 1.7. Nefronun bölümleri	10
Şekil 1.8. Böbrek cisimciği	11
Şekil 1.9. Proksil radikalleinin oluşumu	27
Şekil 1.10. Serbest radikallere karşı Antioksidan savunma sistemi.....	30
Şekil 1.11. GST kataliz reaksiyonu	36
Şekil 1.12. α -tokoferol	39
Şekil 1.13. Askorbik asit.....	40
Şekil 1.14. Retinol	41
Şekil 1.15. Retinoik asid	41
Şekil 1.16. Retinal.....	41
Şekil 1.17. İzopren	45
Şekil 1.18. Mirsen (7- metil- 3- metilen- 1,6 oktadien).....	47
Şekil 1.19. Sabinen	47
Şekil 1.20. Fitol, Vitamin A- Retinol, Abietikasit	48
Şekil 1.21. Skualen, Lanosterol, Lupan, Perhidropisen türevleri	48
Şekil 1.22. Karvakrol ve timol'ün yapısı	49
Şekil 4.1. Kontrol grubu böbrek korteks bölgesi	73
Şekil 4.2. Kontrol grubuna ait sıçanlarda medulla bölgesi normal böbrek histolojisi....	73
Şekil 4.3. Akut pankreatit grubunda mezanşimal matriks artışı, ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu görülmektedir	74
Şekil 4.4. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda, arterioskleröz, lenfosit infiltrasyonu ve konjesyon görülmektedir	75

Şekil 4.5. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda medulla bölgesinde kontrollerle karşılaştırıldığında tübül lümeninde protein birikimi görülmektedir	75
Şekil 4.6. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda arterioskleröz ve konjesyon görülmektedir	76
Şekil 4.7. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda arterioskleröz, fibroz doku artışı görülmektedir	76
Şekil 4.8. Akut pankreatit grubunda mezenşimal matriks artışı, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu görülmektedir	77
Şekil 4.9. Akut pankreatit grubunda damar etrafında bağ dokusu artışı.....	77
Şekil 4.10. Akut pankreatit grubunda tübüler dilatasyon	78
Şekil 4.11. 50 mg/kg Karvakrol grubu	79
Şekil 4.12. 100 mg/kg Karvakrol grubu	79
Şekil 4.13. 200 mg/kg Karvakrol grubu. Kısaltmalar Şekil 4.1'deki gibidir (H& E).....	80
Şekil 4.14. Akut pankreatitli hayvanlara 50mg/kg Karvakrol uygulandığında konjesyon ve mezenşimal matrikste azalma	81
Şekil 4.15. Akut pankreatitli hayvanlara 100mg/kg Karvakrol uygulandığında böbrek korteksinde mezenşimal matrikste azalma.....	82
Şekil 4.16. Akut pankreatitli hayvanlara 100mg/kg Karvakrol uygulandığında böbrek medullasında tübüler dilatasyonlarda azalma	82
Şekil 4.17. Akut pankreatitli hayvanlara 200mg/kg Karvakrol uygulandığında böbrek dokusu (H& E)	83
Şekil 4.18. Akut pankreatitli hayvanlara 200mg/kg Karvakrol uygulandığında böbrek dokusunda seyrek te olsa gözlenen tübüler dilatasyon (T)	83
Şekil 4.19. Kontrol grubuna ait sıçanlarda böbreğin korteks bölgesi	84
Şekil 4.20. Kontrol grubuna ait sıçanlarda böbreğin medulla bölgesi	84
Şekil 4.21. Akut pankreatit grubunda mezenşimal matriks artışı, ayırt edilemeyen Bowman mesafesi ve tübüler dilatasyon.....	85
Şekil 4.22. Akut pankreatit grubunda mezenşimal matriks artışı, Bowman mesafesinde daralma ve konjesyon	86
Şekil 4.23. Akut pankreatit grubunda mezenşimal matriks artışı, konjesyon.....	86
Şekil 4.24. Akut pankreatit grubunda çapı artmış damarda skleröz, konjesyon, tübüler dilatasyon, fibröz doku artışı ve dejenere olmuş hücreler	87

Şekil 4.25. Akut pankreatit grubunda böbrek korteks bölgesinde kontrollere kıyasla belirgin bir şekilde açık boyanmış hücreler (PAS)	87
Şekil 4.26. Akut pankreatitli hayvanlara 50mg/kg Karvakrol uygulandığında böbrek korteks bölgesinde kontrollere kıyasla tübüler lümende hiyalinleşmiş atık birikimi ve glikojen deposuna bağlı olarak biraz daha koyu boyanmış hücreler.....	88
Şekil 4.27. Akut pankreatitli hayvanlara 100mg/kg Karvakrol uygulandığında artan glikojen deposuna bağlı olarak koyu boyanmış hücreler (PAS)	89
Şekil 4.28. Akut pankreatitli hayvanlara 200mg/kg Karvakrol uygulandığında 100mg/kg Karvakrol grubuna kıyasla artan glikojen deposuna bağlı olarak koyu boyanmış hücreler	89
Şekil 4.29. Kontrol grubu normal böbrek histolojisi	90
Şekil 4.30. Kontrol grubu böbrek medulla bölgesi normal histolojisi. D: Distal tübül, P: Proksimal tübül (Masson trikrom)	91
Şekil 4.31. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda kontrollere kıyasla doku arasında ve damar etrafında kollajen lif miktarında artış görülmektedir	91
Şekil 4.32. Akut pankreatitli hayvanlarda glomerülüs etrafında artan bağ dokusu	92
Şekil 4.33. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda medulla bölgesinde kollajen lif miktarında artış	92
Şekil 4.34. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda medulla bölgesinde kollajen lif miktarında artış	93
Şekil 4.35. Akut Pankreatit grubu böbrek dokusunda medulla bölgesinde kollajen lif miktarında artış ve konjesyon görülmektedir	93
Şekil 4.36. 50 mg/kg Karvakrol grubu	94
Şekil 4.37. 100 mg/kg Karvakrol grubu	95
Şekil 4.38. 200 mg/kg Karvakrol grubu	95
Şekil 4.39. Akut pankreatitli hayvanlara 100 mg/kg Karvakrol uygulandığında glomerülüs etrafında ve damar etrafında azalan bağ dokusu	96
Şekil 4.40. 200mg/kg Karvakrol uygulanmış Akut pankreatitli hayvanlarda böbreğin korteks kısmı (Masson trikrom).	97
Şekil 4.41. 200mg/kg Karvakrol uygulanmış Akut pankreatitli hayvanlarda böbreğin medullası (Masson trikrom)	97

Şekil 4.42. Kontrol grubu böbrek korteks bölgesi	98
Şekil 4.43. Kontrol grubu böbrek medulla bölgesi	99
Şekil 4.44. Akut pankreatitli hayvanların böbrek korteksinde amiloid birikimi	99
Şekil 4.45. Akut pankreatitli hayvanların böbrek medullasında amyloid birikimi.....	100
Şekil 4.46. 50 mg/kg Karvakrol grubu	101
Şekil 4.47. 100 mg/kg Karvakrol grubu	101
Şekil 4.48. 200 mg/kg Karvakrol grubu	102
Şekil 4.49. Akut pankreatit+50 mg/kg Karvakrol grubu hayvanların böbreğinde protein birikimi.....	103
Şekil 4.50. Akut pankreatit+100 mg/kg Karvakrol grubu hayvanların böbreğinde protein birikimi (Kongo Red).....	103
Şekil 4.51. Akut pankreatit+200 mg/kg Karvakrol grubu hayvanlarda böbrek.....	104

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Akut pankreatit'in sınıflandırılması.....	2
Çizelge 1.2. Tübüler sekresyon.....	19
Çizelge 1.3. Serbest radikallere ilişkili patolojik durumlar	22
Çizelge 1.4. Reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri	25
Çizelge 1.5. Enzimatik ve enzimatik olmayan Antioksidan sistemler.....	31
Çizelge 1.6. Terpenlerin genel yapıları.....	45
Çizelge 4.1. Kontrol ve deney gruplarının böbrek ağırlıkları	69
Çizelge 4.2. Kontrol ve deney gruplarında Amilaz ve Lipaz seviyeleri.....	70
Çizelge 4.3. Kontrol ve deney gruplarının böbreklerinde SOD, KAT, GPx ve MDA seviyeleri.....	71
Çizelge 4.4. Kontrol ve deney gruplarının böbreklerinde BUN, Ürik asit ve Kreatinin seviyeleri.....	72
Çizelge 4.5. Kontrol ve Deney grupları arasındaki patolojik skorlar	105

1. GİRİŞ

1.1. Akut Pankreatit

1.1.1. Tanım

Akut pankreatit bakteriyel olmayan klinik olarak karın ağrısı ile başlayan ve buna eşlik eden kan ve idrarda pankreas enzimlerinin (amilaz ve lipaz) yükseliği ile seyr eden karakterize inflamatuvar bir pankreas hastalığıdır. Ağrı Akut pankreatitin belirgin ve ayırt edici bir özelliğidir. Hastaların %60'ından fazlasında epigastrik bölgede lokalize olmaktadır (Hsu *et al.* 2010)

Akut pankreatitli vakaların yaklaşık %80'inden safra kesesi taşları ve alkol sorumlu olmaktadır (Kesler 2008). Metabolik sebepler, ilaçlar, toksinler, travma, vasküler sebepler, bazı enfeksiyonlar, bazı kalıtsal durumlar ve postoperatif hadiseler Akut pankreatite neden olabilen diğer etyolojik faktörler arasında sayılmaktadır (Acevedo–Piedra *et al* 2014). Akut pankreatit, pankreasın inflamasyonu olup ödemden nekroza kadar giden patolojik değişiklikler ile seyredebilen bir hastalıktır. Akut pankreatit sadece hafif, kendini sınırlayan bir klinik tablodan, şiddetli sıvı kaybı, metabolik dengesizlikler, hipotansiyon, sepsis ve ölüme kadar ilerleyebilen şiddetli hastalık tablosuna kadar geniş bir spektrum sergiler. Pankreatik nekroz, nekroz zemininde enfeksiyon, psödokist oluşumu, pankreatik abse, splenik ven trombozu, kanama gelişebilen pankreatik komplikasyonlardır. Akut pankreatite eşlik eden sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve gelişebilecek pankreatik komplikasyonlar hastalığa bağlı mortalite oranlarında ciddi artışa neden olabilen faktörlerdir. Tüm Akut pankreatit hastaları ele alındığında mortalite %6-23 oranında bildirilmektedir. Akut pankreatit etyolojisinde karşımıza en sık çıkan iki neden safra taşları ve alkoldür. Safra kesesi ve koledokta bulunan taşlara yönelik tedavi girişimleri gerek hastalığın tekrarlamasının önlenmesi gerekse de seçilmiş vakalarda Akut hastalığın seyrinin değiştirilebilmesi açısından önemlidir. Türkiyede safra taşları Akut pankreatit etyolojisinde daha sık olarak rol aldığından safra

kesesi ve distal koledok taşlarına yaklaşım önemli bir tartışma konusudur (Çavdar 2009).

1.1.2. Akut pankreatit'in sınıflandırılması

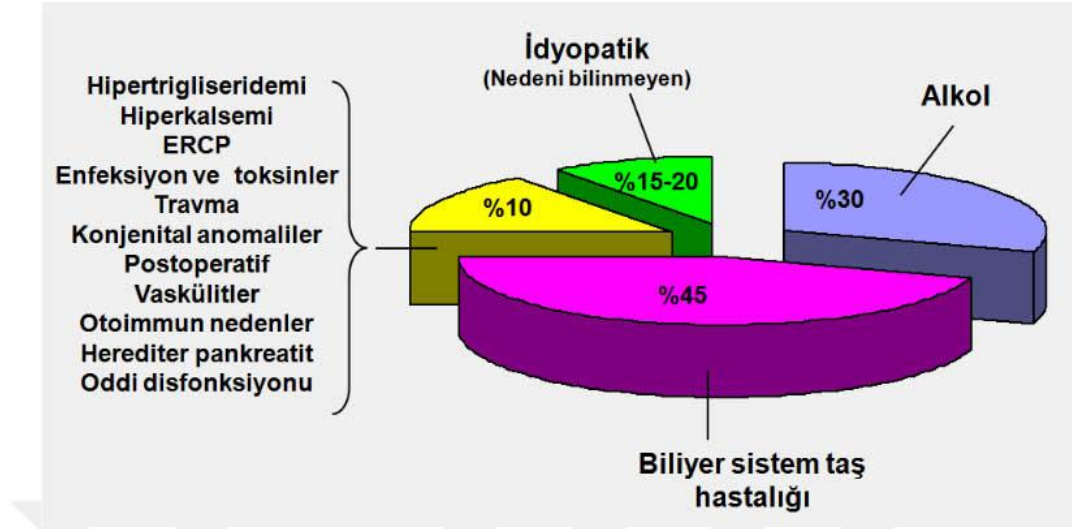
Günümüzde Akut pankreatit iki sınıflandırmayla tanımlanmaktadır. Gerçekte her iki sınıflama arasında belirgin bir fark bulunmamaktadır. Literatüre Atlanta sınıflamasının kattığı tek yenilik 'hafif' ve 'ağır' terimleridir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Akut pankreatit'in sınıflandırılması

Beger Sınıflaması	Atlanta Sınıflaması
1- Ödematöz	1- Hafif
2- Nekrotizan a) Enfekte tip b) Steril tip	2- Ağır a)Enfekte tip b) Steril
3- Pankreas APsesi	3- Pankreas Absesi
4- Pseudokist	4- Pseudokist
	5-Peripankreatik Sıvı

1.1.3. Akut pankreatit etyolojisi

Genel olarak değerlendirildiğinde safra taşları Akut pankreatit vakalarının %40-45 inde etyolojik faktör olarak görülürken alkol en sık görülen sebepler arasında ikinci sırada yer almaktadır (%30-35). Diğer sebepler %10 den az bir oranı oluştururken vakaların yaklaşık olarak 1/4 inde etyolojik bir sebep bulunamaz (idiyopatik pankreatit) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Akut pankreatit etyolojisi (Anonim 2014)

1.1.4. Akut Pankreatit Patogenezi

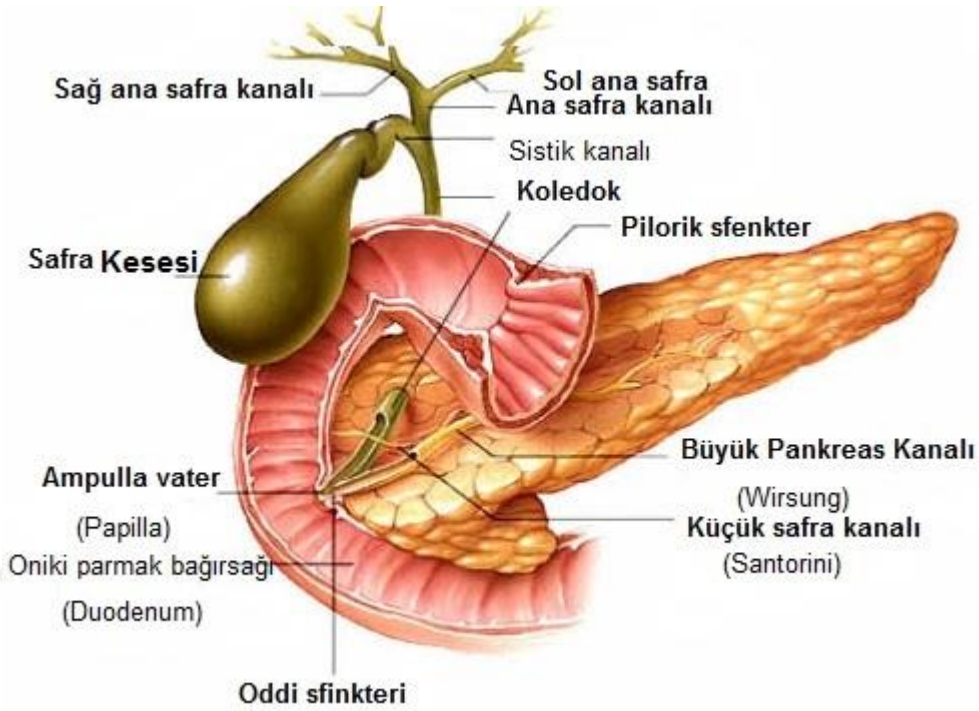
Akut pankreatit, patogenezi kesin olarak belirlenememiş hastalıklardan birisidir. Günümüzde en çok kabul edilen görüş, pankreas içindeki inaktif proenzimlerin, aktif hale geçmeleri ve bezin kendi kendini sindirmesi olayıdır. Oluşturulan enzimler ya doğrudan beze zarar verimekte ya da oluşturdukları inflamatuvar olayın sistemik yansımaları sonucunda şoka, respiratuvar distrese, böbrek yetmezliğine, kardiyak aritmilere ve ölüme neden olmaktadır (Çavdar 2009).

Alkol veya safra taşı gibi tetikleyici faktörler, asinar hücreleri uyarak, sindirim enzimlerinin (tripsinojen, prokarboksiptidaz A1) aktive olmasına neden olmaktadır. Bu enzimlerin ince bağırsağa ulaşmadan aktive olması anahtar rol oynamaktadır. Tripsinojen otoaktivasyonu ve katepsin B stimülasyonu sonucu erken dönemde tripsin aktivitesi artmaktadır. Asit pH ve hiperkalsemi tripsinojen otoaktivasyonunu arttırmaktadır. Aktive olan enzimler, zimojen granülünden kaçmakta ve asinar hücreleri parçalayarak inflamatuvar mediatörlerin ve vasküler permeabiliteyi arttıran ajanların salınımına yol açmaktadır. Aktive olan tripsin kompleman sistemi erken dönemde aktive olarak nötrofil ve makrofajlardan serum ve pankreatik doku içerisine daha fazla tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), nitrik oksit ve platelet aktive edici

faktör (PAF) salınımına yol açmaktadır. Salgılanan bu faktörler, pankreasta ödem ve iskekiye neden olarak nekroza kadar giden geniş bir pankreatit spektrumuna yol açmaktadır. Bu inflamatuvar faktörler, ayrıca sistemik etkilere de sahip olup kapiller damarlardan sızıntıya, ateş ve hipotansiyona neden olabilmektedir. Tüm bu olayların sonucunda pankreasta apoptozis ve nekroz ortaya çıkabilmektedir (Keşkek 2002).

1.2. Pankreas Anatomisi ve Histolojisi

İnsanda ikinci ve üçüncü lomber vertebralar hizasında yer alan pankreas, 15 cm uzunluğunda, 60-140 gram ağırlığında sekretuvar bir organdır. Sıçan pankreası ise 5-15 g ağırlığındadır. Ergin memeli pankreası anatomik olarak sindirim kanalının duodenal kıvrımının iç kısmında yer alan baş; omurga ile onun önünde yerleşik bulunan ve kan damarlarının üstünde uzunlamasına yer alan gövde ve dalağa kadar uzanan kuyruk kısmı olmak üzere 3 farklı bölümden oluşmaktadır (Şekil 1.2). Pankreasın parankim dokusu, bir ekzokrin bez olarak salgısını duodenuma ve endokrin bez olarak salgısını kana vermektedir. Endokrin bez olarak pankreas, pankreasa akan venöz sirkülasyon içindeki insülin, glukagon, somatostatin ve pankreatik polipeptid hormonlarının sentezi, depolanması ve salgılanmasında görev almaktadır. Pankreasın ekzokrin fonksiyonu ise sindirim enzimleri ve bikarbonattan zengin sıvıların sentezi, depolanması ve salgılanmasını yapmaktır (Longnecker. 2015).



Şekil 1.2. Pankreas anatomisi (Anonim 2012)

Langerhans adacıkları denilen pankreasın endokrin hormonlarını üreten kısmı yüz binlerce küçük bezden oluşmaktadır. Bu adacıklar pankreas ağırlığının %2-3'ünü oluşturmaktadır (Abu-Bonsrah *et al.* 2016).

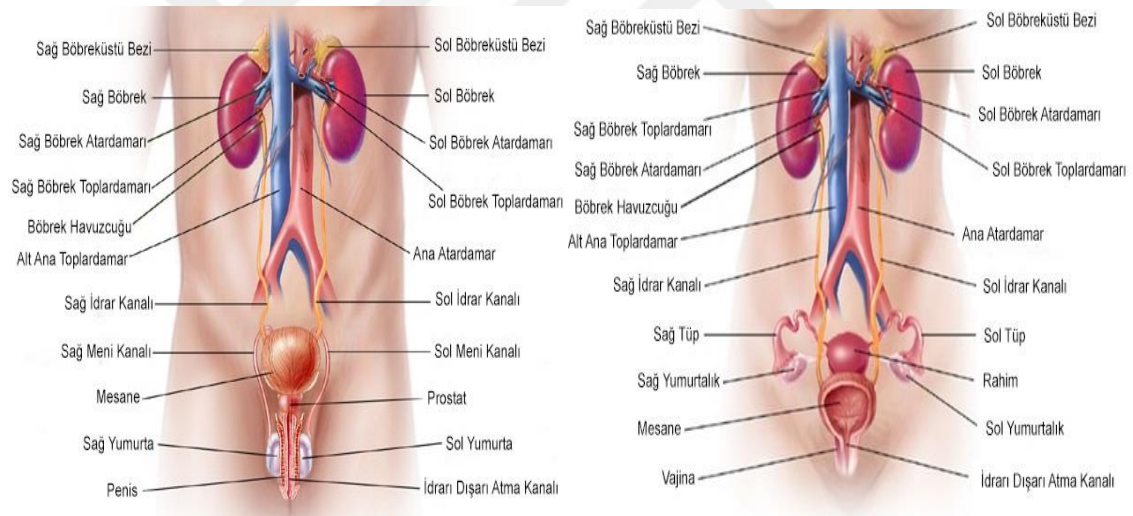
Pankreas hormonları özelleşmiş hücre kümeleri tarafından üretilmektedir. Adacıklardaki farklı hücre tipleri farklı tip hormonlar üretmektedir;

- Beta (β) hücreleri; insülin hormonunu salgılar ve bu hormon da kan glukozunun düşürülmesinde görev almaktadır.
- Delta (D) hücreleri; somatostatin salgırlar. Somatostatin, büyüme hormonu, glukagon ve insülin salgılanmasını inhibe etmektedir.
- PP hücreleri; pankreatik polipeptid hormonunu salgılar. Hormonlar karbonhidrat ve diğer yapıtaşlarının metabolizmasının düzenlenmesini sağlamaktadır.
- Alfa (α) hücreleri; glukagon salgılar. Glukagon kan glukozu düştüğü zaman salgılanmakta ve kan glukozunun yükselmesini sağlamaktadır.

1.3. Böbrek

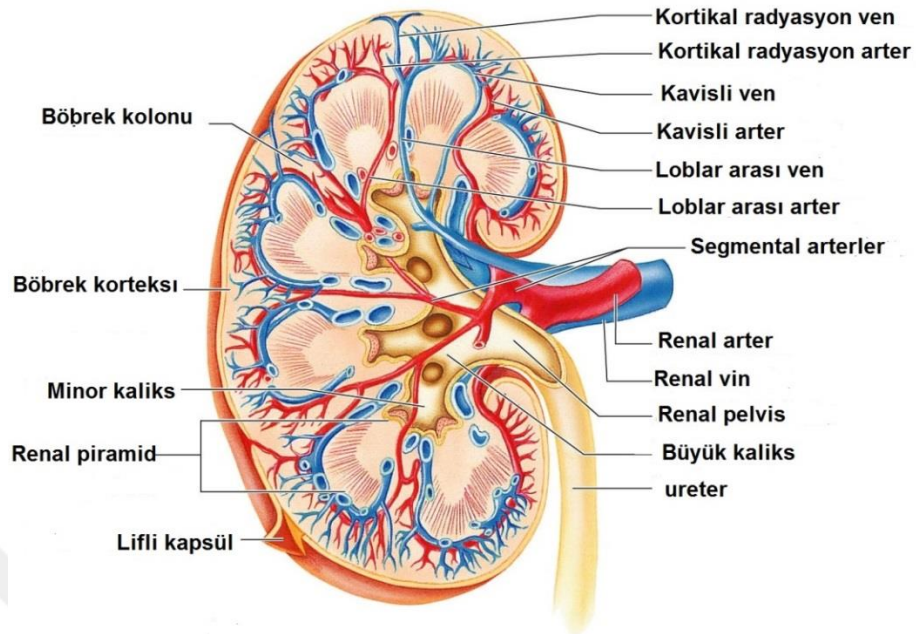
1.3.1. Böbrek anatomisi

Üriner sistem bir çift böbrek bir çift üreter mesane ve üretradan oluşmaktadır (Şekil 1.3). Bu sistemin en önemli parçası olan böbrekler, omurganın her iki tarafında peritonun arkasında ve karın duvarına yakın yerleşmiş fasülye şeklinde bir çift organdır. Cinsiyete göre insanlarda değişmek üzere her biri 11-14 cm uzunluğunda, 5-7,5 cm genişliğinde ve 2,5-3 cm derinliğinde: yetişkin erkeklerde ~125-170 g ve yetişkin dişilerde ~115-155 gr ağırlığındadır. Böbrekler kendilerini saran dayanaklı bir bağ dokusu kapsül içine yerleşmiştir.



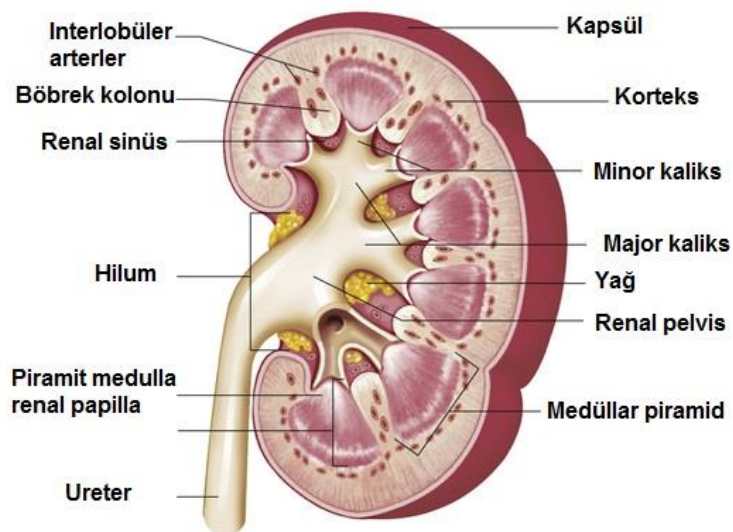
Şekil 1.3. Üriner sistem bir çift böbrek bir çift üreter mesane ve üretradan oluşmaktadır (Anonim 2016a)

En dıştaki kapsülden hiluma üreter, renal arter, renal ven, lenfatik damarlar ve sinirler geçmektedir. Enine kesitine bakıldığında, böbrek birkaç belirgin şeritten oluşmuş gibi görünmektedir. Bir dış şerit (korteks) kapsülün altında uzanmakta ve kanın filtrasyon bölgesi olarak görev yapmaktadır. Orta şerit (medulla) 8-18 konik renal piramide bölünmüştür. Piramitler, birçok nefrondan idrarı toplayan ve üretere doğru yönlendiren binlerce ince kanaldan oluşmaktadır.



Şekil 1.4. Böbrek anatomisi (Anonymous 2017a)

Piramidin tepesi (papilla) minör kaliks olarak bilinen toplayıcı bir damara girmektedir. Minör kaliksler, ortak bir renal pelvis'e dökülen majör kaliksleri oluşturmak üzere birleşmektedirler. Pelvis, idrarı depolamak ve istemli olarak boşalmak üzere mesaneye gönderen üreterin başını oluşturmaktadır. Bu bölge huni şeklinde olup 2 ya da 3 kaliksin keçiştiği bölgedir (Handa *et al.* 2017) (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Böbrek anatomisi (Anonymous 2016b).

Hayati fonksiyona sahip böbreklerin üst uçları 12. torasik vertebra, alt uçları ise 3. lumbal vertebra hizasındadır. Sağ böbreğin ön yüzü, karaciğerin alt yüzü ve sağ kolon dirseği ile komşudur. Sol böbreğin ise ön yüzü pankreas kuyruğu ve dalak ile komşuluk yapmaktadır. Arkada ise her iki böbrek, karın arka duvarı ile komşu durumundadır. Böbrekler konumları bakımından bakışimsızdırlar bunun nedeninin ise karın boşluğunda büyük bir yer kaplayan karaciğerin, sağda bulunan böbreği soldakine göre 1-2 cm daha aşağıya itmesi olduğu belirtilmiştir (Diez-Roux *et al.* 2011).

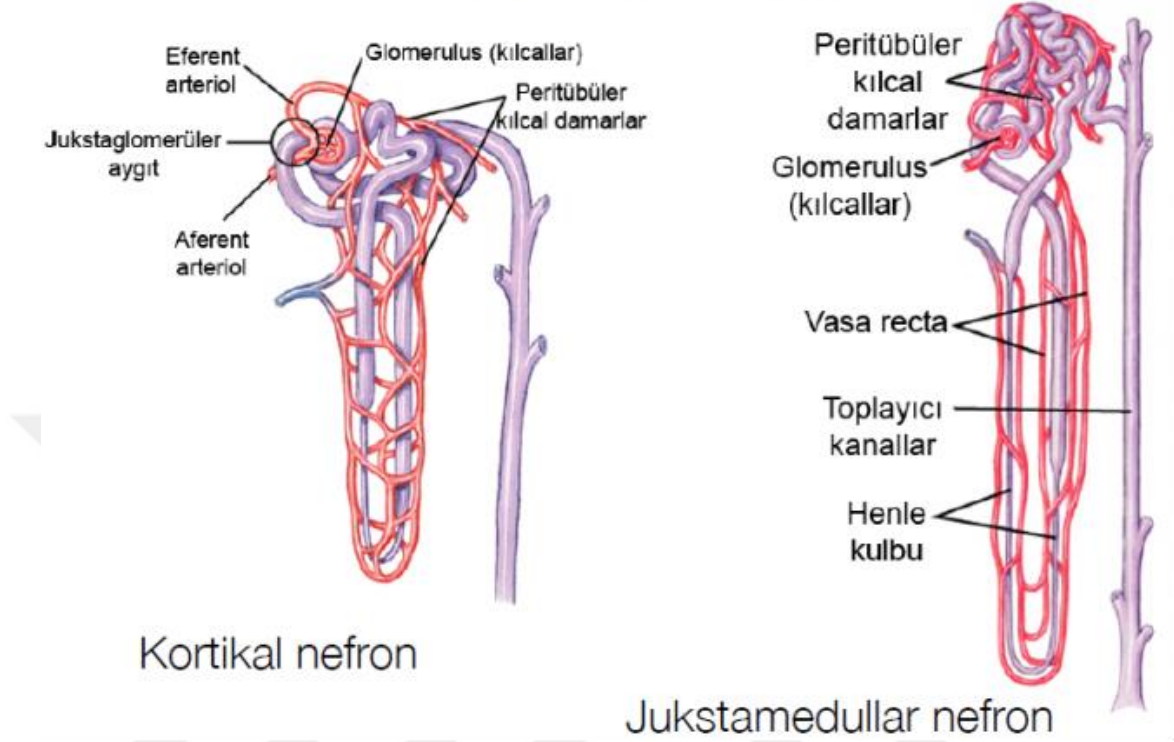
1.3.2. Böbrek histolojisi

Nefronlar

Nefronlar böbreği oluşturan ve idrar oluşumunu sağlayan en küçük yapı ve görev birimi olarak tanımlanmaktadır. Bu birim bir glomerül ve bir böbrek tübülünden meydana gelmektedir. Her böbrekte yaklaşık bir milyondan fazla nefron bulunmaktadır. Böbrekte iki farklı nefron tipi tespit edilmiştir. Bunlar yüzeysel nefronlar ve jukstamedüller nefronlardır.

- Yüzeysel nefronlar: Böbrek kan akımının ~ %90'ını almakta ve damar sisteminden filtre olan sıvının büyük bir yüzdesini geri emmektedirler. Glomerülleri dış kortikal bölgelerde yerleşmiş olup nefron kulpları kısadır. Kulpları dış medullaya kadar inmekte fakat iç medullaya girememektedirler.
- Jukstamedullar: Juktameduller nefronlar böbrek kan akımının ~%10'unu almaktadırlar. Glomerülleri iç kortekste yerleşmiş ve iç medullanın derinliklerine kadar uzanan çok uzun nefron kulpları vardır. Jukstamedullar nefronlara eşlik eden peritübüler ağ özelleşmiş olup kapillerle tübülü medullaya doğru takip ederek vaza rekta olarak adlandırılan uzun kulp şeklinde bir damarsal yapı oluşturmaktadır. Jukstamedullar nefronlar idrarı konsantre edecek şekilde tasarlanmıştır (Şekil 1.6).

Nefron: Genel Bakış



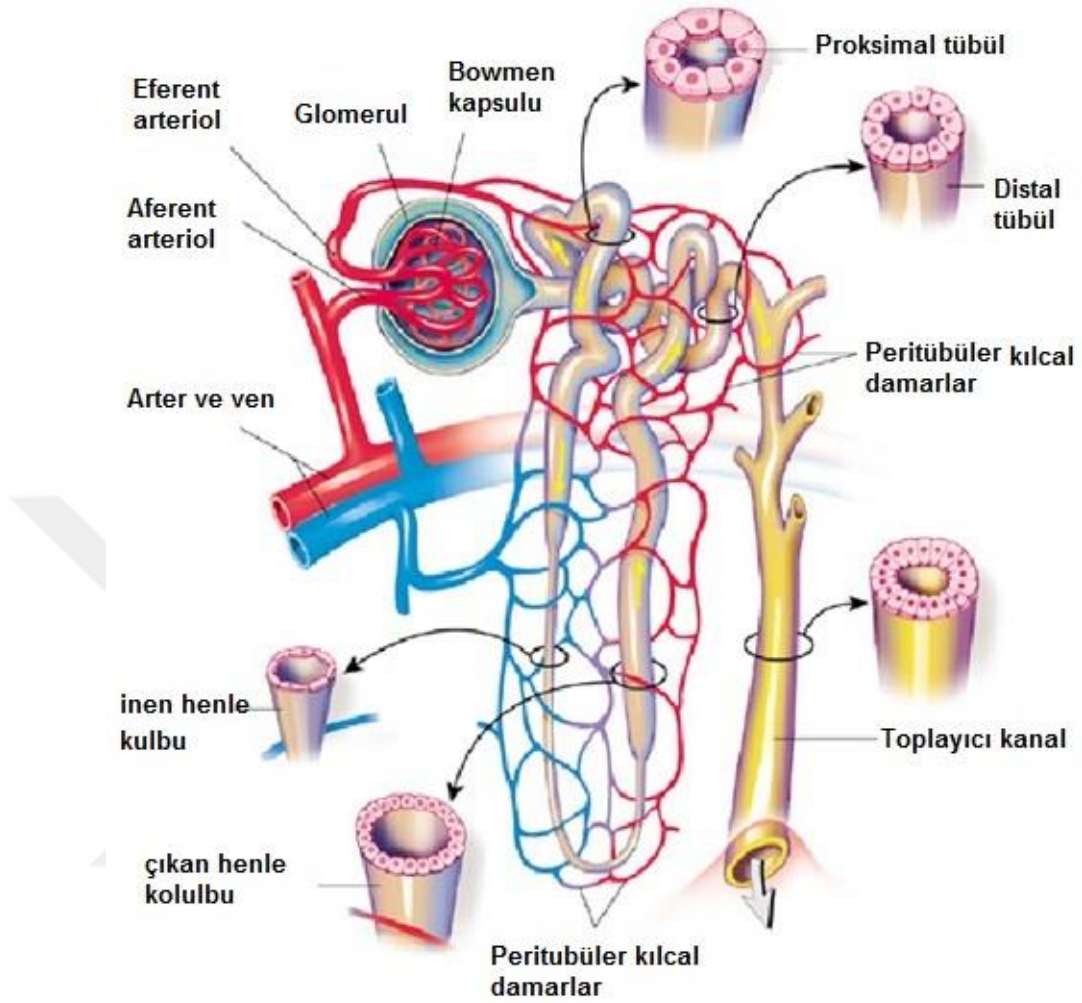
Şekil 1.6. Nefron histolojisi (Anonim 2015a)

Nefronlar kanı filtre etmekte, seçici emilim yapmakta, filtre edilmiş kandan istenmeyen atıkları uzaklaştırmaktadır.

Nefron şu bölümlerden oluşmuştur (Cui *et al.* 2015):

Böbrek cisimciği: Glomerül (Kapiller yumak), Bowman kapsülü

Nefron tubülleri: Proksimal kıvrımlı tübül, proksimal düz tübül (Henle'nin kalın inen parçası), inen ince parçası, çıkan ince parçası, düz distal tübül (Henle'nin çıkan kalın parçası), kıvrımlı distal tübül (Şekil 1.7).



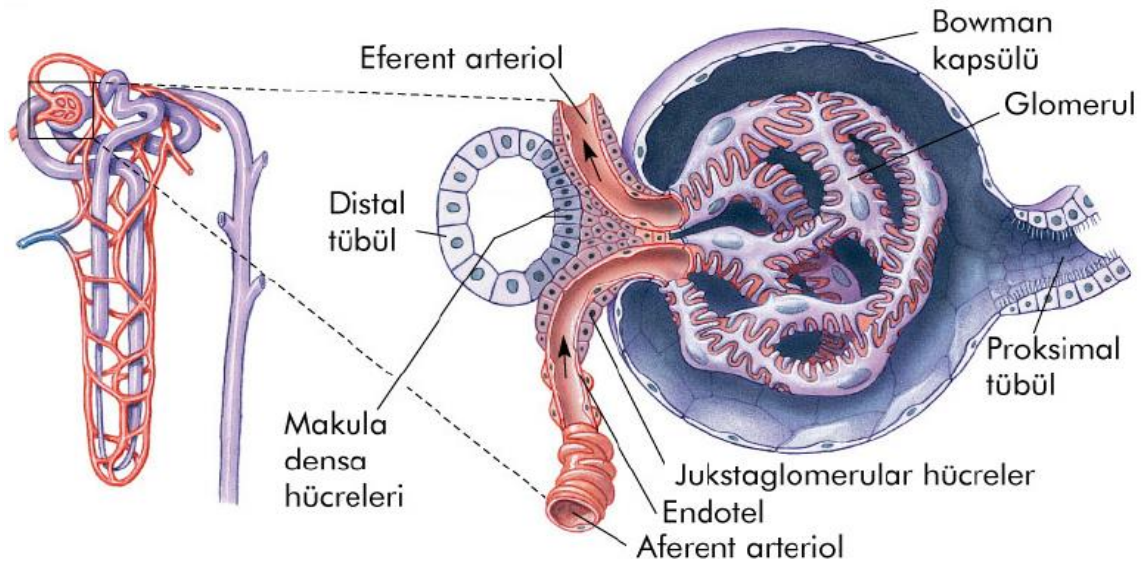
Şekil 1.7. Nefronun bölümleri (Anonim 2017b)

Glomerül (Kapiller yumak)

Kanı süzerek içindeki zararlı maddelerden, metobolitlerden ve vücut için fazla olan maddelerden temizlenmesini sağlamaktadır (ultrafiltrasyon). Kısaca filtre yeteneğindeki kapillerlerdir. 2 milyon glomerülden dakikada 1,2 Lt kan geçmekte ve bu kanın dakikada 120 mL'si glomerüllerden filtre olmaktadır. Glomerüler kapiller endotel hücreleri oldukça incelmış olup yaklaşık 80 nm çapında por ya da fenestralar içermektedirler. Glomerüler kapiller endotel hücrelerinde bulunan akuaporin-1 (AQP-1) su kanalları, suyun epitel hücresinden hızlı geçişini sağlamaktadır.

Bowman Kapsülü

Glomerüler kapsül olarak da bilinen, Bowman kapsülü fincan benzeri bir kese olup nefronun birinci bölümüdür. Bu kapsül böbreklerde filtrasyon sisteminin bir parçası olarak hizmet etmektedir. Filtrasyon için böbreklere ulaşan kan, ilk olarak Bowman kapsülüne girmekte ve kapsül ile kan iki komponente ayrılmaktadır. Filtre olmuş kan ürünü ve filtrat nefron aracılığıyla böbreğin başka bir yapısına taşınmaktadır. Glomerüler kapsül visseral ve pariyetal tabakadan oluşmaktadır (Şekil 1.8). Visseral tabaka podosit olarak da adlandırılan epitel hücreleri ile kaplıdır, pariyetal tabaka ise skuamöz epitel ile kaplıdır ve glomerülüs olarak da adlandırılan kılcal damar ağıyla birlikte Bowman kapsülü içerisinde yer almaktadır. Kan süzöldükten sonra böbreğin bu bölümüne gelmektedir.



Şekil 1.8. Böbrek cisimciği (Anonim 2015b)

Proksimal Kıvrımlı Tübül

Bowman kapsülünden proksimal kıvrımlı tübüle filtrat süzölmektedir. Nefronun bu bölümünde epitel hücrelerinin yüzeyi yoğun bir şekilde mikrovilluslarla kapalıdır. Emme işlevini kolaylaştırmak için, mikrovilluslar, hücre yüzey alanını artırmaktadırlar.

Mikrovilusların zarları çok sayıda sodyum pompası içermektedir. Glomerüler filtrattan su, tuz ve glukozun emilimi tübülün bu bölümünde meydana gelmektedir. Bunun yanı sıra ilaç metabolitleri ve ürik asit içeren maddeler atılım için aktif olarak kan kılcallarından tübüle transfer edilmektedir.

Henle Kulbu

Proksimal tübül Henle kulbu olarak devam etmektedir. Henle kulbu inen ve çıkan lublara ayrılmaktadır. Henlenin inen kolu çıkan kolundan daha kalındır. Henle kolubunun ana işlevi, böbreğin medullasında yüksek sodyum konsantrasyon bölgesinde bir konsantrasyon gradiyentini meydana getirmektir. Henle kulubunun inen parçası su için yüksek geçirgenliğe, üre ve iyonlar için düşük geçirgenliğe sahip gözükmektedir. Gerektiğinde, idrar nefronun bu bölümü içinde konsantre edilmekte ve çözünenlerin bu yüksek konsantrasyonu, karşı akım çarpanı ile korunmaktadır. Henle kulbunun farklı bölgelerinin farklı fonksiyonları tespit edilmiştir;

- * İnen henle kulbu suya geçirgen olduğundan su osmoz yoluyla dışarı hareket etmekte ve sıvı tübül içinde hipertonic hale gelmektedir.
- * Çıkan henle kulbunun kalın kısmı ise suya hemen hemen geçirgen değildir. Ancak sodyum ve klor iyonları gibi solutlere karşı geçirgenliği vardır. Dolayısıyla bu iyonlar konsantrasyon gradiyenti yönünde aşağı taşınmaktadır. Tübül içindeki sıvı ilk olarak izotonik, daha çok iyon ayrıldıkça ise hipotonik hale gelmektedir. Çıkan kol içerisindeki üre toplama kanalından yayılmakta ve medullar intersitisyum içinde emilmektedir. Burası aynı zamanda medulla intersitisyumu içindeki üreyi tutmakta ve idrarın konsantre edilmesinde rol almaktadır.
- * Çıkan henle kolunun kalın kısmı ve distal kıvrımlı tübülün ilk kısmı suya hemen hemen geçirimsizdir. Ancak sodyum ve klor iyonları aktif olarak tübül üzerinden taşınmakta, tübüller sıvı hipotonik hale gelmektedir.

Distal Kıvrımlı Tübül

Henle kulbunun çıkan kalın kısmı distal kıvrımlı tübül içine açılmaktadır. Distal tübül basit kübik hücrelerle kaplıdır. Proksimal kıvrımlı tübül mikrovilluslu olduğundan distal kıvrımlı tübülün lümeni proksimal kıvrımlı tübülün lümeninden daha büyüktür. Distal kıvrımlı tübül nefronun önemli bir bölgesidir. Bu bölgenin fonksiyonları şöyledir;

- İyonların ve asitlerin aktif sekresyonunda,
- Kalsiyum iyonlarının düzenlenmesinde,
- Kalsitonin hormonuna yanıt olarak aşırı kalsiyum salınımında,
- Suyun seçici geri emiliminde,
- Filtrat içine H^+ salgılayarak ve bikarbonat absorbe ederek PH'nın düzenlenmesinde rol oynamaktadır.
- Aynı zamanda, Arginin vasopresin reporsör 2 proteinleri de distal kıvrımlı tübülde bulunmaktadır. Bu bölümde idrarın son konsantrasyonu, antidiüretik hormon (ADH) adı verilen bir hormona bağlı olarak oluşmaktadır. ADH varlığında distal tübül ve toplayıcı kanal suya geçirgen hale gelmektedir. Toplayıcı kanal, medulla içinden interstisyumda bulunan yüksek solüt (katı madde) ile geçerken, su kanalın lümeninden dışarı hareket etmekte ve konsantre idrar oluşmaktadır. ADH yokluğunda tübül suya minimal geçirgenlik göstermektedir. Bu yüzden büyük miktarlarda seyreltik idrar meydana gelmektedir.

Toplayıcı Kanallar

Filtrat distal kıvrımlı tübülde sonra toplama kanallarına süzülmemekte ve toplama kanalları da birleşerek papiller kanalları adı verilen büyük bir sistem içine süzülmemektedir. Burada idrar adını alan süzüntü, renal pelvis içine akmaktadır. Bu işlem sodyum ve su geri emiliminin son aşamasıdır. Bir insan susuz kaldığında, filtra edilmiş suyun yaklaşık %25'i toplama kanalına geri emilmektedir. Toplama kanallarındaki hücreler suya geçirimsizdir. Ancak ADH ve su kanallarının yardımı ile su toplama kanallarından geri emilmektedir. Su kanalları su akışını düzenleyen, hücre zarına

gömülü proteinlerdir. İyon ve diğer solütlerin geçişi su kanallarında önlenirken, seçici olarak hücre içine ve dışına su molekülleri taşınır.

1.3.3. Böbrek fizyolojisi

Böbrekler canlıda, değişen faktörlere rağmen iç ortamın sabit tutulmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. Böbreklerin temel fonksiyonları şöyle sıralanabilmektedir (Jamison 2014);

- Kan hacminin düzenlenmesi,
- Ozmolaritenin düzenlenmesi,
- Vücut sıvısı, elektrolit düzeyi, asit- baz dengesinin korunması,
- Renin enzimini ve anjiotensin hormonunu salgılayarak kan basıncını düzenler,
- D vitaminin sentezi,
- Serbest radikaller ve ilaçların detoksifikasyonu,
- Glukoneogenez,
- İdrar oluşturur,
- Metabolik atıkları vücuttan atar,
- Eritropoietin ve prostaglandin E2 salgılayarak bir endokrin organ olarak görev yapar,
- 1,25 hydroxycholecalciferol'ü aktive ederek D vitaminin sentezinde rol oynar.
- Filtrasyon; Kandan toplanan sıvı şeklindeki atık maddeler böbreklerle vücuttan uzaklaştırılır. Her gün böbrek arterleri ile böbreklere 190 Lt kan girmekte ve böbreklerde glomerül adı verilen milyonlarca küçük filtre, kandan su ve atıkları ayırmaktadır. İstenmeyen maddelerin pek çoğu yeme içme yolu ile alınmaktadır. Böbrekler otomatik olarak sadece vücudun ihtiyacı olan miktarda tuz ve diğer mineralleri kandan ayırmaktadır.
- Vücutta sıvı dengesi olarak da adlandırılan atıkların yeterince atılması böbreklerin görevidir. Kadınlarda, sıvı içeriği, toplam ağırlığın %55'i, erkeklerde, toplam ağırlığın yaklaşık %60'ıdır. Böbreklerin görevi vücuda giren sıvı miktarına karşı, vücuttan çıkan sıvı miktarını dengeleyerek bu oranları korumaktadır. Büyük miktarlarda sıvı

alındığında, sağlıklı böbrekler aşırı sıvı atmak ve idrar üretmekle görevlidirler. Aksine, sıvı alımı düşük ise, böbrekler sıvı miktarını korumakta ve hasta çok idrara çıkamamaktadır. Sıvı ayrıca ter, nefes ve dışkı yoluyla da vücuttan atılmaktadır. Sıcak havalarda ve kişinin terleme ile sıvı kaybının çok olduğu durumlarda böbrekler az idrar üretmektedir.

- Böbrekler renin ve anjiotensin sentezler. Bu enzim ve hormonlar vücutta tutulacak su ve sodyum miktarını belirlemekte ve kan damarlarının ne kadar gevşeyip kasılabileceğini ayarlayarak kan basıncının kontrolüne yardımcı olmaktadır.
- Böbrekler kemik iliği için kanda taşınan kırmızı kan hücrelerinin yapımını uyaran eritropoetin (EPO) hormonunu üretmektedirler. Eritrositlerin görevi vücuda oksijen taşımaktır. Yorgunluk halsizlik, nefes darlığı gibi durumlarda kırmızı kan hücreleri yeterince sağlıklı olsa da anemi gelişebilmektedir.
- Sağlıklı böbrekler kalsitriol hormonunu üreterek kemikleri güçlü tutmaktadırlar. Kalsitriolün görevi kan ve kemiklerde kalsiyum ve fosfat miktarlarını doğru düzeyde tutmaktır. Kalsiyum fosfat dengesi kemikleri sağlıklı tutmak için oldukça önemlidir. Yeterince kalsitriol üretilmediğinde fosfat, kalsiyum ve D vitaminin anormal düzeyleri böbrek ve kemik hastalığına yol açmaktadır.

Akut ve Kronik Renal Bozukluk

Böbrekler düzgün çalışmadığında atık ürünler ve sıvı yaşamı tehlikeye sokabilmektedir. Böbreklerin kontrol ettiği önemli ürünler arasında sodyum, potasyum, klor, bikarbonat (HCO_3^-), PH, kalsiyum, fosfat ve magnezyum sayılabilmektedir. Böbreğe olan kan akışı, dolaşımdaki sıvı miktarı, kan basıncı ve böbreğin sağlıklı olması gibi bazı fizyolojik faktörlere bağlı olmaktadır. Travmaya bağlı veya cerrahi müdahalenin bir sonucu olarak böbreğe gelen kan miktarı azaldığında böbreklerin fonksiyonları etkilenebilmektedir.

Böbrek yetmezliğinin sebepleri önemli hastalıklar veya ameliyatlar özellikle de şiddetli enfeksiyonların komplikasyonlarıdır (istenmeyen etkiler). Böbreklerdeki kan miktarı kan kaybı, kan basıncının düşmesi, ciddi dehidratasyon veya tuz eksikliği gibi

nedenlerle azalırsa böbrekler hasar görebilmektedir. Bu sorun uzun sürerse böbrek dokusunda kalıcı hasarlar oluşabilmektedir. Böbrekten idrar akışının aniden durması hasara neden olabilmektedir. Muhtemelen böbrek taşları da bu duruma sebep olabilir. Akut böbrek hasarı bazı ilaç tedavilerinin ve diğer nadir durumların yan etkisi olarak da meydana gelebilmektedir.

Kronik böbrek yetmezliğinin çeşitli nedenleri sayılmaktadır. Böbrek dokusunu etkileyen inflamatuvar durumlar, uzun süreli diabetes mellitus, kronik olarak böbreklerdeki akışın engelenmesi ve polikistik böbrek hastalığı gibi bazı kalıtsal durumlar kronik böbrek yetmezliğinin sebepleri olabilmektedir. Hastalık sıklıkla yıllar önce oluşmaya başlamakta ve tanımlanamamaktadır.

Böbreğin Kan Akımı

İstirahat durumunda böbrekler kalpten bir atımda pompalanan kanın en az %20-25 kadarını filtre emektedir. Kan böbreklere doğrudan aortadan ayrılan böbrek arteri aracılığıyla gelmektedir. Arteria renalis'de ramus anterior ve ramus posterior olarak ayrılmaktadır.

Böbreklere kan iletmek için arterler:

- A. Renalis- ilk lumbal omur düzeyinde abdominal aortadan çıkmaktadır
- Segmental arter- A. Renalis'in dalıdır
- İnterlobar arter- segmental arterin dalıdır
- Arkuat arter- krotikomedullar bileşke yerinde ilerlemektedir
- İnterlobuler arterler- Arkuat arterlerin bölümleridir.

İnterlobular arterin dalları afferent arteriöl olarak nefrona girmektedir. Afferent arteriöl Glomerulüs adı verilen kapiller ağı oluşturmaktadır. Glomerüler kapiller yeniden bir araya gelerek efferent arteriyöl olarak Bowman kapsülünü terk etmektedir. Efferent

arterioller, interlobüler venleri, interlobüller venlerde sırasıyla arcuat venleri ve son olarak da interlobar venleri oluşturmaktadır. Kan daha sonra vena cava inferior'a akmakta ve vena renalis yoluyla böbreklerden ayrılmaktadır. Afferent arteriolün çapı efferent arteriol çapından daha büyük gözükmektedir.

İdrar Oluşumu

İdrar oluşumunda üç süreç bulunmaktadır:

- Filtrasyon (süzme)
- Seçici emilim
- Salgı

Filtrasyon

Kan filtrasyon için A. renalis tarafından alınarak böbrekte küçük arterioller oluşturmaktadır. Bowman kapsülüne giren arteriol, glomerulus adı verilen kılca damarlar yumağına ayrılan afferent arterioldür. Kan glomerülden geçerken, sıvının içerdiği kimyasal maddeler, çözünmüş atık maddeler membran boyunca osmoz ve difüzyon ile kandan çekilmekte ve filtre edilerek bowman kapsülü içine akmaktadır. Kandan filtre edilmiş su, atık ürünler, glukoz, tuz ve diğer kimyasallar glümeruler filtrat olarak adlandırılır. Kandan süzülen sıvı serbest protein, sodyum, klorür, potasyum ve hücre metabolizması atık ürünleri (üre, ürik asit, keratinin) içermektedir. Filtre edilen kan efferent arteriol ile ve son olarak da V. renalis ile dolaşıma dönmektedir.

Seçici Geri Emilim (Reabsorbsiyon)

Seçici geri emilim süreçleri ile vücut işlevi için gerekli olan filtrattaki maddelerin plazma içerisine geri emilimi sağlanmaktadır. Sodyum, kalsiyum, potasyum, klor gibi maddeler sıvı ve elektrolit dengesi ve kanın PH dengelerini korumak için geri

emilmektedir. Bu maddeler vücudun ihtiyacından fazla iseler, idrarla atılmaktadırlar. Glomerüler süzüntünün sadece %1 kadarı vücuttan atılmakta, %99'u kana geri emilmektedir.

Geri emilim üç şekilde gerçekleşmektedir:

- Osmoz
- Difüzyon
- Aktif transport

Kanın getirdiği glukozun tamamı proksimal tübüllerden geri emilmektedir. Glukoz aktif taşıma ile tübül dışına ve oradan da peritübüller kapillere taşımaktadır. Na^+ ve diğer iyonlar ise sadece kısmen renal tübüllerden gelen kan içine geri emilmekte ancak çoğunlukla, sodyum iyonları tübüler sıvıdan aktif taşıma ile kan içine geri taşınmaktadır. Besinlerle alınan tuz miktarına bağlı olarak geri emilen sodyum miktarı değişmektedir.

Sekresyon (Salgı)

İlaçlar ve hidrojen iyonları peritübüler kılcallardan böbrek tübüleri içine salgılanmaktadır. Tübüler sekresyonun esası aktif taşınmaya dayanmaktadır. Tübüler sekresyon, renal tübüller ve toplayıcı kanalları döşeyen epitel hücrelerinden yapılmaktadır (Çizelge 1.2). Tübüler sıvı içine şu maddeler salgılanmaktadır:

- Hidrojen iyonları (H^+)
- Amonyum iyonları (NH_4^+)
- Potasyum iyonları (K^+)
- Üre
- Bazı hormonlar

Kanın PH'sını korumak için hidrojen ve amonyum iyonları tübüler sekresyona ilave edilmektedir.

Çizelge 1.2. Tübüler sekresyon

Proksimal Kıvrımlı Tübül

Geri emilim	Atılım
Yaklaşık %65 su	Hidrojen iyonları
%65 sodyum ve potasyum	Üre
%100 glukoz	Keratinin
%100 amino asit	Amonyum iyonları
Ortalama %50 klor	
Bikarbonat, kalsiyum, magnezyum	
Üre	

Henle Kulbu

Geri emilim	Atılım
Su	Üre
Ortalama %30 sodyum ve potasyum	
Ortalama %35 klor	
Ortalama %20 bikarbonat	
Kalsiyum ve magnezyum	

Distal Kıvrımlı Tübül

Geri emilim	Atılım
Ortalama %15Su	Potasyum (kandaki düzeyine bağlı olarak)
Ortalama %5 sodyum ve klor	Hidrojen iyonu (kandaki düzeyine bağlı olarak)
Kalsiyum	
Bir miktar üre	

Çizelge 1.2. (devam)**Toplayıcı Kanallar**

Geri emilim	Atılım
Bikarbonat (kandaki düzeyine bağlı olarak)	Potasyum (kandaki düzeyine bağlı olarak)
Üre	Hidrojen iyonu (kandaki düzeyine bağlı olarak)
Ortalama %9 su	
Ortalama %4 sodyum	

Tübüler Geri Emilimin ve Sekresyonun Hormonal Kontrolü

Sıvı ve elektrolit düzenlenmesinde görev alan hormonlar şunlardır:

- Aldosteron
- Anjiyotansin II
- Antidiüretik hormon
- Atrial natriüretik peptid.

Anjiyotansin II hormonu kısa etkili, güçlü bir vazokonstriktör (damar kasıcı) etki yaparak kan basıncını artırmaktadır. Proksimal kıvrımlı tübülde sodyum, klor ve su geri emilimini kolaylaştırmaktadır. Aynı zamanda, Anjiyotansin II toplayıcı kanallarda sodyum klorür geri emilimini ve potasyum sekresyonunu uyaran ve adrenal bezden salınan aldosteron adı verilen hormonun salınımını uyarmaktadır.

Antidiüretik Hormonu: Hormon distal kıvrımlı tübül hücrelerinin ve toplayıcı kanalların geçirgenliğini artırmakla görevlidir. Suyun büyük kısmı ADH varlığında renal tübüllerden geri emilmektedir. ADH eksikliğinde suyun az bir kısmı renal

tübüllerden geri emilebilmektedir. Bu nedenle ADH vücutta sıvı dengesinin düzenlenmesinde büyük rol oynamaktadır.

Atriyal Natriüertik Peptid (ANP): Hormon kalbin atriyum miyositleri tarafından üretilen bir protein olup, kan basıncının yükselmesine tepki olarak güçlü bir damar genişletici (vazodilatatör) olarak görev yapmaktadır. ANP böbreklerden su ve sodyum atılımını uyararak kan basıncını düşürmektedir. Ayrıca, aldosteron ve ADH salgılanmasını baskılamaktadır. Aynı zamanda ANP: sodyum ve su dengesi, kan hacmi ve kan basıncının uzun dönemde düzenlenmesi ile ilişkilidir. ANP'nin varlığı iki büyük avantaj sunmaktadır: natriürez ve diüreze yol açan renal ve damar genişletici etkileri ile ANP doğrudan venleri genişletmekte böylece santral venöz basıncı azaltmaktadır. Bu da ventrikül ön yükünü azaltarak kalp debisini düşürmektedir. ANP aynı zamanda arterleri genişleterek sistemik arterial basıncı ve sistemik vasküler direnci azaltmaktadır.

1.4. Serbest Radikaller

Başka moleküllerle reaksiyona giren ve onların kimyasal yapısını bozan yüksek aktiviteye sahip kimyasal moleküllere serbest radikaller, oksidan moleküller, reaktif oksijen türleri denilmektedir (Gözükara 2011).

Canlı sistemlerde doğal olarak bulunan serbest radikaller elektron transferi, makrofajlarda bakterilerin yok edilmesi ve biyosinyal üretimi gibi pek çok diğer metabolik işlevde rol almaktadır. Buna karşılık bu radikal ve reaktiflerin canlıda yüksek miktarlarda bulunması biyomoleküllerin oksidasyonu sonucunda doku hasarı, hücre ölümü, erken yaşlılık, kanser, kalp damar hastalıkları ve nörolojik bozukluklar gibi zararlı süreçlere sebep olmaktadır (Çizelge 1.3) (Gürdöl ve Adenoğlu 2010).

Çizelge 1.3. Serbest radikallere ilişkili patolojik durumlar

• Yaşlanma	• Deri bozuklukları
• Kanser	• Ateroskleroz
• Romatoid artrit	• İskemi-reperfüzyon hasarı
• Akciğer hastalıkları	• Otoimono hastalıkları
• Karaciğer bozuklukları	• Kas hastalıkları
• Radyasyon hasarı	• Kan hastalıkları
• Diabetes mellitus	• İnflamasyon
• Böbrek bozuklukları	• Merkezi sinir sistemi hastalıkları
• Göz bozuklukları	• Gastrointestinal bozukluklar

Serbest radikaller dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftleşmemiş elektronlar serbest radikallere büyük bir reaktivlik kazandırarak hücrelerin protein, lipid, karbonhidrat, DNA ve nükleotid, koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır (Diplck 1998).

1.1. Serbest Radikal Kaynakları

Aktive olmuş fagositler, antineoplastik ajanlar, radyasyon, alışkanlık yapan maddeler, çevresel ajanlar ve stres, küçük moleküllerin otooksidasyonu, enzimler ve proteinler, mitokondriyal elektron transport sistemleri, peroksizomlar, plazma membranı ve aynı zamanda oksidatif stres yapıcı çeşitli durumlar Serbest radikal kaynakları olarak sayılabilmektedir (Karabulut 2016).

Biyolojik sistemlerde önemli serbest radikallerin çoğu oksijene dayanmaktadır. Hasta veya yaşlı hücreler çok miktarda serbest radikal üretmektedirler. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşuma kaynakları ise elektron transport sistemi, bazı enzimatik reaksiyonlar, oksidasyon reaksiyonları gibi metabolik kaynaklar ve UV ışınları,

radyasyon, ilaç yan etkileri, sigara, beslenme, kanserojen maddeler gibi dış kaynaklardır (Aksoy 2002).

1.4.1. Serbest radikal oluşum mekanizmaları

Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin oluşumu normal metabolik olayların ve bazı yabancı kimyasal maddelerin metabolize edilmesi gibi iç veya dış faktörlerin etkisi ile oluşabilmektedir. Bu nedenle serbest radikaller hem endojen hem de ekzojen materyaller tarafından üretilebilmektedir. Potansiyel endojen kaynaklar arasında mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar ve iltihaplı hücreler yer almaktadır (Lim *et al.* 2015).

Bazı küçük moleküllerin örneğin hidrokinonlar, flavinler ve tiyollerin otooksidasyonu ve ksantin oksidaz, triptofan dioksidad ve aldehit oksidaz gibi bazı enzimlerin katalitik döngüsü de endojenik kaynaklar arasında yer almaktadır. Biyokimyasal tepkimelerde kullanılabilmesi için reaktif formlara çevrilmesi zorunlu olan oksijen, mitokondride aerobik solunum sırasında kullanılmakta ve toplam oksijen %2-5'i ROS radikallerine dönüştürülmektedir.

Süperoksit radikallerinin çoğunlukla mitokondriyal veya mikrozomal elektron transferi sırasında ortaya çıktığı belirtilmektedir. Serbest radikaller ayrıca fagositoz, araşidonik asit metabolizması, bayanlarda ovulasyon ve üreme sırasında ortaya çıkmaktadır (Singh *et al.* 2004).

Reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri sadece mitokondriyal solunum mekanizması sırasında değil anaerobik koşullarda da ortaya çıkabilmektedir (Bakonyi and Radak 2004). Hücre içinde radikal oluşumunun ilk önce çoklu doymamış yağ asitlerinde tespit edildiği belirtilmektedir (Thomas 2000).

Ksantin oksidaz, triptofan oksidaz, ve indol-amin dioksijenaz gibi az sayıdaki enzimin direkt olarak serbest radikaller oluşturduğu saptanmıştır. L-amino asit

akşidaz ve mono aminokşidaz tarafından katalizlenen reaksiyonlar sonucunda ise radikal olmayan ancak oksidan özellik gösteren hidrojen peroksit oluştuğu belirlenmiştir (Singh *et al.* 2004).

Serbest radikaller ökaryotik hücreler tarafından hücre bütünlüğünün korunması ve hücre fonksiyonlarının sürdürülebilmesi sırasında üretilmektedir. Lipokşijenaz, siklookşijenaz, tirozin hidroksilaz, nitrik oksit sentetaz ve ribonokleokşit redüktaz enzimleri tarafından da oluşturulduğu kaydedilmiştir (Thomas 2000).

Tüketilen gıda maddeleri, hava kirliliği, tütün ürünleri, aşırı fiziksel aktivite, iyonize radyasyon, güneş ve infrared ışınlar ekzojen kaynaklar arasında yer almaktadır. (Vinson 2006) Bu faktörlerin yanı sıra oksidatif stres vücudun Antiokşidan savunması ile hücre zarlarının lipid tabakasının perokşidasyonuna neden olan serbest radikallerin üretimi sırasındaki dengesizlik, alkol tüketimi, soğuk, ilaç tedavisi, travma, enfeksiyon, toksin ve yetersiz beslenme gibi bazı faktörlere de bağılı olabilmektedir (Singh *et al.* 2004). Etil alkol, demir gibi farklı kimyasal maddelerin de Serbest Radikal miktarının artmasına neden olduğu bildirilmektedir (de Zwart *et al.* 1999).

1.4.2. Serbest radikallerin oluşum şekilleri

Serbest radikaller üç şekilde oluşabilmektedir (Seemann and Lupp 2015) :

1- Kovalent bağ oluşturan elektronlardan birinin bağ atomlarından birinde, diğ erinin ötekisinde kalmasıyla sonuçlanan homolotik bağ kırılmasıyla,



2- Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile



3- Bir moleküle bir atomun katılması ile



1.4.3. Önemli serbest radikaller

Serbest radikaller reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri olarak 2 büyük grupta toplanmaktadır. Reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri ise kendi içinde radikal ve radikal olmayan 2 grup bileşenden oluşmaktadır (Çizelge 1.4).

Çizelge 1.4. Reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri

Reaktif oksijen çeşitleri	
Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksit, $O_2^{\cdot -}$	Hidrojen peroksit H_2O_2
Hidroksil, $HO^{\cdot}$	Hpokloroz asit, $HOCL$
Peroksil, $RO_2^{\cdot}$	Ozon, O_3
Alkoksil, $RO^{\cdot}$	Singlet oksijen, $^1\Delta_g$
Hidroperoksil, $HOO^{\cdot}$	Peroksinitrit, $ONOO^{\cdot}$
Reaktif nitrojen çeşitleri	
Radikaller	Radikal olmayanlar
Nitrik oksit, $NO^{\cdot}$	Nitrosil, NO^+
Nitrogen oksit $NO_2^{\cdot -}$	Nitrikoksit, $NO^{\cdot}$
	Nitroz asit, HNO_2
	Dinitrojen trioksit, N_2O_3
	Dinitrojen tetraoksit, N_2O_4
	Nitronyum iyonu, NO_2^+
	Peroksinitrit, $ONOO^{\cdot}$
	Alkil peroksinitrit $ROONO$

Reaktif oksijen türleri hem oksijen radikallerine ve hem de radikal olmayan okside eden özel ajanlara veya kolaylıkla radikallere dönüşebilen ajanlara (HOCL,O₃,ONOO⁻,O₂,H₂O₂) işaret eden ortak kısaltmadır.

Reaktif nitrojen çeşitleri de nitrik oksit ve nitrojen dioksit radikallerine işaret etmekte ve radikal olmayan, HNO₂ ve N₂O₃. ONOO⁻ diğer ajanları da kapsayabilmektedir.

1.4.4. Serbest radikallerin biyomoleküllere etkileri

Lipidler Üzerine Etkileri

Lipid peroksidasyonu, serbest radikal kaynaklı doku hasarının en önemli sonuçlarından birisidir. Çoğunlukla membran fosfolipidlerinde oluşan yağ açıl gruplarının peroksidasyonu üç fazdan oluşmaktadır: Başlangıç, İlerleme ve Sonlanma basamaklardır (Girotti *et al.* 1985; Montine *et al.* 2002).

Lipid peroksidasyonu, poliansatüre yağ asitlerinin zincirleme bir radikal reaksiyonudur ve üç aşamada olmaktadır:

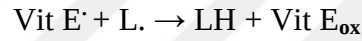
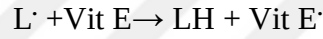
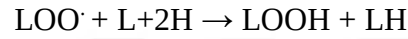
1) Başlangıç: Hidroksil radikali, bir yağ asidinin metilen kısmından bir hidrijen atomu kopararak bir lipid radikali oluşturmaktadır. Bu reaksiyon hem membran lipidleri hem de besinsel yağlar için geçerlidir. Buna göre, gıdaların korunması için iyonize radyasyonun kullanılması sakıncalıdır.

2) İlerleme: Zincirleme reaksiyon, oluşan lipid radikaline O₂ ilavesi ile devam etmekte ve lipid peroksil radikali (LOO[•]) ile lipid peroksit (LOOH) oluşmaktadır.

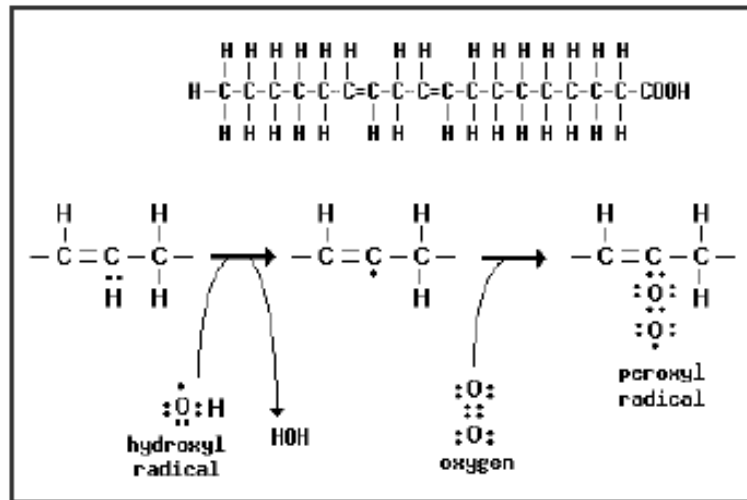
3) Sonlanma: Tek elektron üzerinden yeniden yapılanma lipidin parçalanması ile sonuçlanmaktadır. Burada oluşan ürünlerin birisi MDA olan kan ile idrarda saptanabilmektedir. Üç ya daha fazla çift bağ içeren asitlerin peroksidasyonundan meydana gelmektedir. Oluşan MDA, hücre membranında iyon alışverişinde etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açmakta ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden

olmaktadır. MAD bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona gire bilmekte ve bundan dolayı da mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojenik olabilmektedir. Oluşan diğer ürünler ise, 4-hidroksinonenal, 4-hidroksi-2,3-transnonenaldir.

Zincir reaksiyonu, zincir kırıcı Antioksidanlar (vitamin E vs.) tarafından sonlandırılabilir.



Lipid Peroksidasyonun iki yaygın sonucu bulunmaktadır: Birincisi membranların yapısal hasarı, ikincisi ise sekonder ürünlerin oluşmasıdır. Membran hasarı, endosiklizasyon, lipid-protein çapraz bağları ve fragmente yağ asit zincirlerinin oluşumu sonucu meydana gelmektedir (Şekil 1.9). Lipid peroksidasyonunun ikinci ürünleri malondialdehit (MDA), akrolein, 4-hidroksi-2-hekzenal (HHE) ve 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) gibi kimyasal olarak reaktif aldehytlerdir (Montine and Sb 2002).



Şekil 1.9. Proksil radikalleinin oluşumu

Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri, amino asit içeriklerine ve kompozisyonuna bağlıdır. Hidroksil ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallere reaktivesi yüksek olduğundan, triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip olan proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenebilmektedirler. Özellikle de sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller ortaya çıkarabilmektedirler. Bu reaksiyonlar sonucunda immünoglobulin G ve albumin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunan proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulmakta ve böylece normal fonksiyonlarını yerine getirememektedirler (Hung *et al.* 2016).

Sitoplazmik ve membran proteinleri ozon ve protoporfirin gibi okside edici ajanlara maruz kaldıktan sonra çapraz bağlanarak dimerleşmektedirler. Prolin ve lizin süperoksit radikali üreten reaksiyonlara maruz kaldığında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilmektedir (Gözükara 2011).

Protein oksidasyonu, özellikle histidin, tirozin, fenilalanin gibi aminoasitlerde karbonil gruplarının oluşumu şeklinde olmaktadır. Lipid peroksidasyonunun aldehit yapıdaki ürünleri, sisteinin sülfidril grupları ile veya lizin ve histidinler ile kovalant bağlar oluşturarak proteinlerde fragmatasyon ve çapraz bağlanmalara yol açmakta ve bu nedenle de bir dizi bozukluk ve hastalıklara neden olabilmektedir (Gürdöl ve Adenoğlu 2010).

Bu hastalıklar arasında başlıcaları: alzheimer, amiyotrofik lateral skleroz, katarakt oluşumu, kronik böbrek yetmezliği, kistik fibröz, diyabet, iskemi ve reperfüzyon hasarı, Parkinson, romatoid artrit ve sepsis sayılabilmektedir (Kalousova 2002).

Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Serbest oksijen radikallerinin karbonhidratlar üzerine, polisakkarit depolimerizasyonu ve monosakkarit otooksidasyonu gibi etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehidler meydana gelmektedir. Bunlar diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklarda önemli rol oynamaktadır. Okzoaldehidler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstermektedirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynamaktadırlar. Poliansature yağ asitleri (PUFA) ve karbonhidrat oksidasyonunun ürünü olan glioksal'ın hücre bölünmesini inhibe ettiği bildirilmiştir.

Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hyaluronik asit (glukronik asit+N-asetil glukozamin), sinoviyal sıvıda da bol bulunmaktadır. İnflamatuvar eklem hastalıklarında sinoviyal sıvıya bol miktarda polimorf nükleer lökosit geçmektedir. Ve muhtemelen immonokomplekslerle aktivasyonları sonucu ekstrasellüler sıvıya H₂O₂ ve O₂.- salmaktadırlar. Bu radikallerin *in vitro* hyaluronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir. Hiyaloronik asit parçalanması inflamatuvar hastalıklarda sinoviyal sıvının karakteristik bir özelliği olarak kabul edilmiştir (Gözükara 2011).

Nükleik asitler ve DNA Üzerine Etkileri

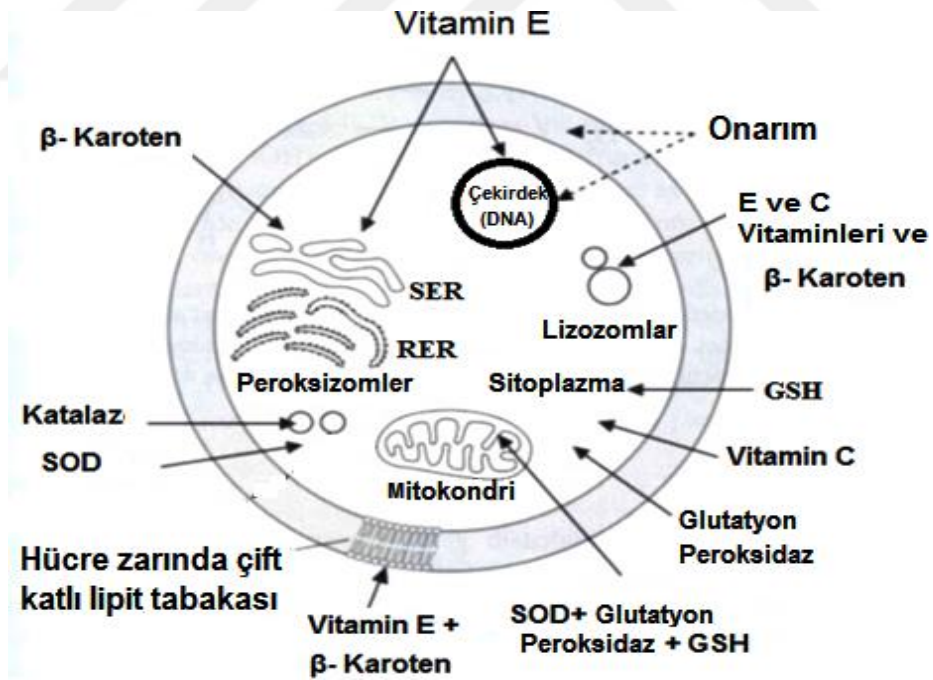
Serbest radikallerin etkisi ile DNA yapısında yapısal değişimler olmaktadır. Bu yapısal değişimler pürin ve pirimidin bazlarında parçalanma, zincir kırılmaları, DNA denatürasyonu gibi çeşitli olayları kapsamaktadır (Gürdöl ve Adenoğlu 2010).

Bu nedenle de hücrede mutasyon ve ölüme yol açmaktadırlar. Hidroksil radikali, nükleik asitlerdeki doymuş karbon atomlarından, hidrojen atomu çıkartılması veya çift bağlara katılma tepkimeleri ile sonuçlanan reaksiyonlarda rol almaktadır. Bu olayların sonucunda mutagenез, karsinogenез ve hücre ölümü oluşabilmektedir. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksid membranlardan kolayca

geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak, DNA hasarına, hücre fonksiyonunun bozulmasına ve hatta hücre ölümüne yol açabilmektedir. Bu yüzden DNA serbest radikallerden kolay zarar görebilen önemli bir hedeftir (Gözükara 2011).

1.4.5. Serbest radikallere karşı Antioksidan savunma sistemi (Antioksidanlar)

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalar Antioksidan savunma sistemi veya Antioksidanlar olarak bilinmektedir. Antioksidanlar, radikal oluşumunu sınırlandırma, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasını sağlama, oluşan radikalleri ortadan kaldırma ve hasarlı molekülleri tamir etme ve temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini göstermektedirler (Song *et al.* 2015) (Şekil 1.10 ve Çizelge 1.5).



Şekil 1.10. Serbest radikallere karşı Antioksidan savunma sistemi (Anonim 2015c).

Antioksidanlar farklı şekillerde etki ederler (Mészáros *et al.* 2015).

1- Toplayıcı (Scavenger) etki: Reaktif oksijen türlerini etkileyerek tutma veya daha zayıf bir moleküle çevirme işlemine denilmektedir. Örnek: Antioksidan enzimler

2- Bastırıcı (Quencher) etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya denilmektedir.

3- Zincir kırıcı (Chain breaking) etki: Reaktif oksijen türlerini kendisine bağlayarak zincir kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye denilmektedir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller.

4- Onarıcı (Repair) etki

Enzimler: Mitokondrial sitokromoksidaz, Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (KAT), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon-S- Transferaz (GST), Glutasyon Redüktaz (GR) ve hidroperoksidazlar.

Enzim olmayanlar: *a*-tokoferol, *B*-karoten, Askorbik asit, melatonin, ürat, sistein, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, myoglobin, hemoglobin, ferritin, methionin, albümin, bilirubin, GSH.

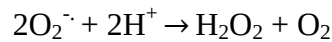
Çizelge 1.5. Enzimatik ve enzimatik olmayan Antioksidan sistemler

ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDANLAR
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Vitamin C, Vitamin E, Vitamin A
Katalaz (KAT)	Melatonin
Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) (Selenyum bağımlı)	Glutasyon (GSH)
Glutasyon-S- Transferaz (GST)	Flavonoidler
Glutasyon Redüktaz (GR)	Ürik asit
Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz	Albumin
	Bilirubin vs

Enzimatik Antioksidan sistemler

- **Süperoksit Dismutaz (SOD):** SOD enzimi superoksit radikalini dismutasyona uğratarak H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlamaktadır. Organizmada substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzim SOD'dır (Yin *et al.* 2015).

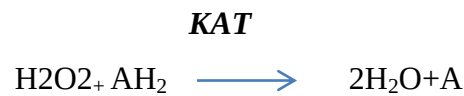
SOD



İnsanlarda SOD'ın Cu, Zn-SOD ve Mn-SOD olmak üzere iki izoenzimi vardır. Bakır ve çinko içeren tipi sitozolde, mangan içeren tipi ise mitokondride bulunur. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazla, buna karşılık ekstrasellüler sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür (Gürdöl ve Adenoğlu 2010).

- **Katalaz (KAT):** KAT, tetramerik bir hemoproteindir. Yapısında prostetik grup olarak Fe^{+3} içeren bir Protoporfirin ihtiva etmektedir. Enzim H_2O_2 'i oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizlemektedir (katalitik aktivite).

H_2O_2 konsantrasyonuna bağlı olarak KAT'ın katalizlediği tepkimler;



(Gürdöl ve Adenoğlu 2010).

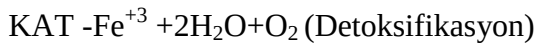
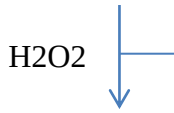
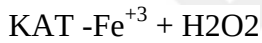
Enzim esas olarak peroksizomlarda lokalize olmakla birlikte endoplazmik retikulum ve sitozolde de bulunmaktadır. KAT aktivitesi karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde yüksektir. Bağ doku ise enzim aktivitesinin en düşük olduğu kısımdır (Gözükara 2011).

KAT sitokrom sistemi içeren tüm aerobik hücrelerde bulunmaktadır. Radyasyona dirençli bakterilerde de bulunduğu rapor edilmiştir. Kan, kemik iliği, müköz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarlarda bulunmaktadır.

KAT, karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiveye sahiptir (Uyumlu 2007).

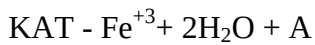
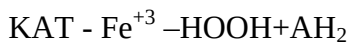
Enzimler arasında en yüksek katalitik dönüşüm hızına sahip olduğu bilinen KAT'ın aktivitesi için demir gerekmektedir. Aktif kısmı olan Fe^{+3} protoporfirinin iki fonksiyonel döngüsü bulunmaktadır.

KAT'ın fonksiyonel döngüleri;



Ortamda H_2O_2 düzeyi çok düşük olduğunda aktif olmayan enzim bileşiği ile elektron alıcısı tepkimeye girmektedir.

Düşük H_2O_2 konsantrasyonunda KAT etkisi;



- **Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px):**

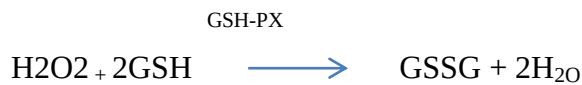
Sitozolda ve memeli hücrelerinin mitokondoriyal matriksinde de bulunan tetramerik bir selenoenzim olup molekül ağırlığı 88000 daltonudur. GSH-Px dokuları oksidatif hasara karşı koruyan enzimlerden birisidir. H₂O₂'i indirgeyen tepkimeyi, çok çeşitli organik hidroperoksitleri, su ve uygun alkollere indirgeyen tepkimeleri katalizlemektedir (Uyumlu 2007; Jiang *et al.* 2016).

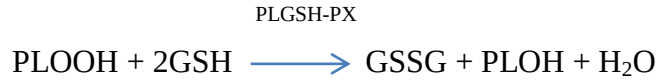
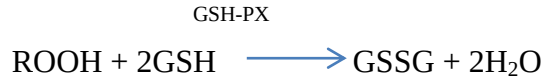
GSH-Px, H₂O₂ ve lipid hidroperoksitleri üzerine etkilidir. Yani hem H₂O₂'yi hem de organik hidroperoksitleri kullanabilmektedir. GSH-Px'in iki farklı tipi vardır. Aktivitesi için selenyuma gereksinim duyan formu, hem H₂O₂ hem de lipid hidroperoksitleri (LOOH), selenyum gerektirmeyen formu ise sadece LOOH'ları metabolize etmektedir. Bu reaksiyonlarda GSH hidrojen verici olup H₂O₂ ve LOOH'lar indirgenirken, GSH oksitlenmiş şekline (GSSG) dönüşmektedir. Oksitlenmiş ise GSH NADP'a bağımlı GR tarafından tekrar GSH'a indirgenmektedir.



(Gürdöl ve Adenoğlu 2010).

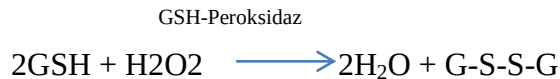
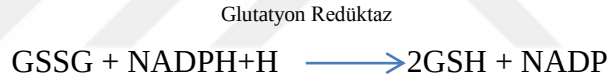
GSH-Px, hem ve diğer prostetik grupları içermez. Aşağıdaki reaksiyonları katalizlemektedir;





Memelilerde membrana bağılı en önemli Antioksidan olan vitamin E yetersiz olduğunda, GSH-Px gibi aynı fonksiyonu gören ikinci bir selonoenzim Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-PX) görev yapmakta ve membran yapısındaki fosfolipid hidroperoksidlerini (PLOOH) alkollere indirgemektedir.

Okside Glutatyonun (GSSG) tekrar kullanılması için NADPH ile redüksiyonu Glutatyon Reduktaz aracılığı ile olmakta ve tekrar GSH'a dönüşmektedir.

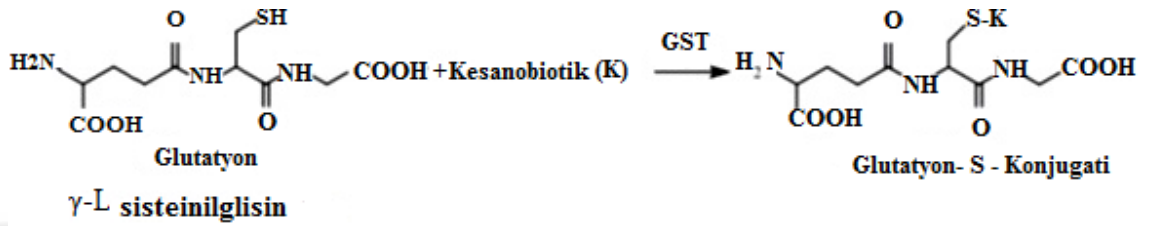


GSH-Px solunum patlaması sırasında fagositik hücre hasarını önlemekte, H₂O₂'in arttığı durumlarda en etkili Antioksidan olmaktadır. Eritrositlerde de oksidatif strese karşı en etkili Antioksidan rolündedir (Gözükara 2011).

• **Glutatyon-S-Transferaz (GST):**

Vücutta 30 µM'dan (plazmada) 3. 0 mM'lara kadar (böbrek proksimal tübüllerinde) değişen konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Bu miktarların çeşitli organların tümörlerinde 10 mM'a kadar eriştiği bildirilmiştir. Glutatyon transferazlar, tanımlandığından beri kullanılan ismiyle glutatyon S-transferazlar, endojen ve

ekzojen kaynaklı, elektrofilik ve hidrofobik bileşiklerin glutatyon ile konjugasyonunu sağlayarak, genellikle daha kolay atılabilen ve daha az toksik metabolitlere dönüşümünü katalizleyen Faz-II detoksifikasyon enzim ailesi olarak tanımlanmışlardır (Wang *et al.* 2016) (Şekil 1.11).

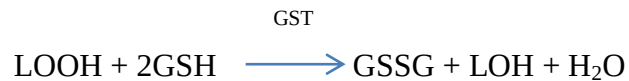


Şekil 1.11. GST kataliz reaksiyonu

GST glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptiddir. İlk defa 1888’de izole edilmiş, fakat yapısı 40 sene sonra açıklanmıştır. Memelilerde sekiz alt sınıfı (alfa, mu, pi, teta, omega, zeta, sigma ve kapa) olan dimerik yapıda olup sitozolde bulunan bir Antioksidandır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda önemli rolleri olan GST’ler çeşitli endojen ve ekzojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu kataliz etmektedir.



GST’lerin bazı izoenzimleri GSH-PX aktivesi göstererek LOOH’ların metabolizmasını da sağlamaktadır.



(Gürdöl ve Adenoğlu 2010).

Bu enzimin hem detoksifikasyon hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak GSH'daki sistein SH grubu ile yabancı maddeleri bağlayarak elektrofilik bölgeleri nötralize etmektedir. Oluşan ürün daha fazla suda çözülmemekte ve oluşan bu GSH konjugatları metabolizma yoluyla atılabilmekte ve daha ileri metabolize edebilmektedir. GSH dan glutamat ve glisin koparılmakta ve sisteinin serbest amino grubu, merkaptorik asitlere dönüşmektedir. Ksanobiotik klasik atılım ürünlerinden merkoptürik asitler yani N-asetil sisteinin S-alkile olmuş türevleri safra ile atılmaktadır. GST'lerin, kanserojen ve mutajen maddelerin detoksifikasyonunda rolleri vardır. Aynı zamanda hidrofobik ve lipofilik bileşikler bağlamaktadırlar. Yine, birçok pigment (bilirubin, hematin, indosiyanin green gibi) steroid hormonlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar bu proteinle taşınmaktadır.

Önemli alt sınıflarından olan;

GST μ : GST ler karaciğerde sitokrom P450'de oluşan ara ürünleri daha az reaktif konjugatlara dönüştürmektedir. Epoksit konjugasyonu mutagen ve karsinojenlere karşı koruma sağlamaktadır.

GST Π (Asidik): Fetus karaciğerinde bulunmaktadır. Normal karaciğerde bulunmaz. Kimyasal maddelerle oluşan sıçan hepatomasında ve hiperplastik nodülde artış göstermektedir. Hepatomada tümör markırıdır.

GST α (Bazik): 10 haftalık gebelik sonrasında tüm karaciğerde bulunmaktadır. Serum GST konsantrasyonu AST ve ALT den daha duyarlı hepatosellüler hasar yapmaktadır.

GST'ler hem periportal hem de sentrilobuler olarak bulunmaktadır. GST ler küçük olduğu için ve sentrilobuler kısımda bulunduğu için erken karaciğer hasarında plazmaya salınmaktadır. Akut karaciğer hasarı ve kronik aktif hepatitde aminotransferazın aksine GST aktivitesi ile daha iyi belirlenebilmektedir (Gözükara 2011).

Glutasyon Redüktaz (GR): Bir flavoprotein olan GR, NADPH yardımıyla okside glutasyonun (GSSG), GSH'a indirgenmesini katalize etmektedir. GSH'un indirgenmiş halde kalması birçok Antioksidan enzim aktivitesi için önemlidir. GSH-Px ve KAT için büyük önem taşımakta, KAT azaldığı zaman GSH bağımlı enzimler aktive olmaktadır. Ayrıca, Selenyum düzeyindeki azalma GSH-Px ve GR düzeylerinde azalmaya neden olmaktadır. GR eksikliği eritrositlerin H₂O₂'ye daha duyarlı hale gelmesine ve ozmotik frajilitede artışa yol açmaktadır (Singh and Mishra 2016).

- **Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz:** Solunum zincirinin son enzimi olan Mitokondriyal sitokrom oksidaz süperoksidi (O₂⁻) detoksifiye etmektedir.

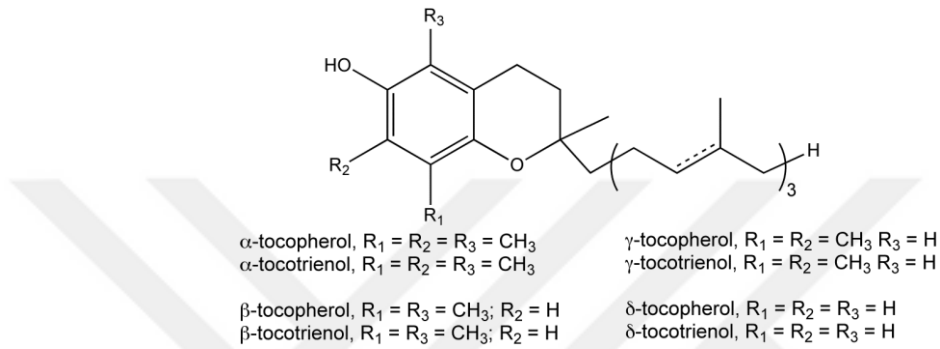


Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyondur, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanmakta ve bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanmaktadır. Ancak çoğu zaman süperoksit (O₂⁻) üretimi Mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşmakta ve bu durum da diğer Antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin (O₂⁻) zararlı etkilerine engel olmaktadır. (Kesa *et al.* 2017).

Enzimatik olmayan Antioksidan sistemler

E Vitamini (Tokoferoller): α,β, γ ve δ olmak üzere dört farklı tokoferol formu bulunmaktadır. Biyolojik olarak en yaygın ve en aktif E vitamini şekli olan alfa tokefroldür (Şekil 1.12). Tokoferol ve benzeri maddelerin kuvvetli Antioksidan etkiye sahip oldukları görülmektedir. Yağda çözünen vitaminlerin en az toksik olanı fakat suda çözünmeyen bu vitamindir. E vitamini doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemekte ve oksijen bulunmayan ortamlarda asit ve sıcaklığa dayanıklılık göstermektedir. Peroksitleri ve serbest oksijen radikallerini nötralize ederek membran stabilitesini artırmaktadır. E vitamini yetersizliği olan deney

hayvanlarının mitokondrilerinde aktivitenin ileri derecede bozulduğu görülmektedir. Mitokondrilerde eşleşmemiş elektronlarla reaksiyona giren ve onları indirgeyebilen hidroksil grubu oluşmaktadır. E vitamini radikal reaksiyonları sırasında zincir kırıcı etki göstermekte ve glutatyon, askorbik asit gibi Antioksidanlarla etkinliği artmaktadır (Antmen 2005; Yiğitoğlu 2012).

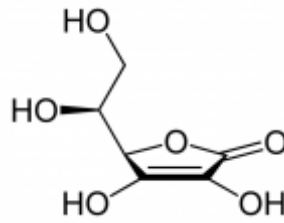


Şekil 1.12. α -tokoferol

C Vitamini (Askorbik asit): Araştırmacılar, C vitaminin (Şekil 1.13) etkili bir Antioksidan ve aynı zamanda anti-kanser ajanı olduğunu rapor etmişlerdir. Askorbik asit suda çözünen en güçlü Antioksidandır. C vitamini yapıcı heksozlara benzer ve organizmada kolayca dehidroaskorbik aside oksitlenir. Süperoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirmektedir. E vitamininin rejenerasyonunda görev almakta ve E vitamini ile birlikte etkin bir şekilde düşük densiteli lipoproteinleri oksidasyona karşı koruma görevi yapmaktadır (Gürdöl ve Adenoğlu 2010).

Vitamin C lipitlerin peroksidasyonunu önleyerek dejenerasyon ve yaşlanmayı önlemede etkilidir. Serbest radikallerin DNA'ya verebilecekleri hasarları da önleyebilmektedir. C vitamini karaciğerde detoksifiye edici enzimleri stimüle ederek karsinogenik ve mutajenik etkilere neden olan toksik maddelere karşı koruyucu olabilmektedir. Aynı zamanda, immün sistemin kanser hücrelerini taramasında da yardımcı olabilmektedir. Ayrıca C vitamini işlenmiş yiyeceklerde sıcak bulunan nitratlardan nitrozamin oluşumunu engellemektedir. C vitamini karaciğerde oksalik

aside dönüştürülmektedir. İdrardaki oksalatın bir kısmından sorumlu olup yüksek doz da tamamen değişmemiş olarak böbreklerden atılmaktadır. C vitaminin vücuttaki en önemli görevi protein kollajen sentezidir. Aynı zamanda kemik, diş, kıkırdak ve derideki liflerin oluşumunu sağlamaktadır. Eksikliği enfeksiyonlar, deri kuruması, diş dökülmesi, kanama, foliküller hiperkeratozis, kramplar ve kas yorgunluğu gibi pek çok soruna neden olabilmektedir (Gözükara 2011; Adam ve Yiğitoğlu 2012).

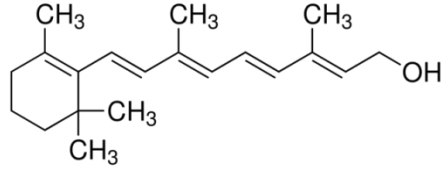


Şekil 1.13. Askorbik asit

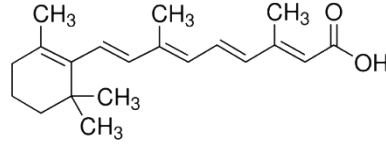
A Vitamini (Karotenoidler): A vitaminin aktif şekilleri: Alkoller (Retinoller) ve Retinoik asid, Aldehidler (Retinaller) (hayvansal kaynaklı) ve Beta-karoten (bitkisel kaynaklı)'dır (Şekil 1.14, Şekil 1.15 ve Şekil 1.16). Sadece retinol A vitaminin tüm aktivitesini gösterirken diğerleri A vitaminin fonksiyonlarının ancak bazılarını yerine getirir. Vitamin A'da, β -karoten provitamini mevcuttur. β - karotenin vitamin A kaynağı olarak etkinliği retinolden azdır. A vitamini lipidlerle birlikte emildikten sonra şilomikronların yapısına girmekte daha sonra şilomikron kalıntıları halinde karaciğere gelerek orada retinal palmitat olarak depolanmaktadır. Çinko yetmezliğinde A vitamini azalmaktadır. Nitekim, A vitaminin karaciğerde depolanmasında ve kana salınmasında çinko önemli rol oynamaktadır.

A vitaminin fonksiyonları:

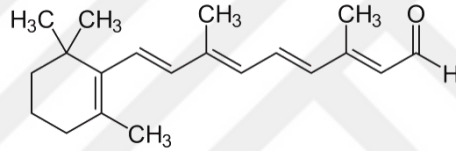
- Retinol; Reprodüktif olaylarda daha etkilidir
- Retinal; Görme pigmenti rodopsinin bir komponentidir. Alaca karanlıkta görmeye yardımcı olmaktadır.
- Retinoik asid; Büyüme, farklılaşma ve epitelizasyonu etkilemektedir.



Şekil 1.14. Retinol



Şekil 1.15. Retinoik asid



Şekil 1.16. Retinal

Retinoid ve karotenlerin antikanserojen etkileri vardır. β -karoten bir Antioksidandır. Ayrıca, oksijen düşük parsiyel basınçlarında serbest peroksit radikallerinin dokularda yakalanmasında rol oynamaktadır.

Vitamin A yetmezliğinde karaciğer depoları bitince karakteristik bulgular ortaya çıkmaktadır. Eksikliğinde epitel atrofiye uğramakta yerini keratinleşmiş bir doku almaktadır. En duyarlı hücreler olan gözyaşı bezleri ve kornea epitel hücrelerinde keratinizasyon, kseroftalmi ve keratomalazi ortaya çıkmaktadır. Üriner kanaldaki keratin birikintilerinin dökülmesi sonucu böbrek taşı oluşma riski artmakta, deri ve kıl foliküllerinde hiperkeratoz meydana gelmektedir. Mukopolisakaridlerin normal gelişmesi için gerekli olan A vitamini eksikliğinde kemik büyümesi yavaşlamakta, immün cevap bozulmakta, bakterilerin solunum yolu epitel hücrelerine bağlanmaları sonucunda enfeksiyonlara eğilim artmaktadır (Gözükara 2011; Adam ve Yiğitoğlu 2012).

Melatonin: İnsan biyoritmi üzerine etkili olan, N-asetil 5- metoksi triptamin olarak da bilinen bu hormon epifiz bezi (Pineal) tarafından özellikle gece saatlerde salgılanmaktadır. Geceleri gündüze göre 7-10 kat daha fazla üretilmektedir. Melatonin ilk kez 1958 yılında epifiz bez kaynaklı bir molekülün kurbağanın koyu renkli melatonin granüllerini aglütine etmesiyle tanımlanmıştır. Ancak memelilerde pigment üzerine etkisinin olmadığı anlaşılmış olup çok güçlü ve etkili bir endojen radikal toplayıcısı olduğu tespit edilmiştir (Reiter *et al.* 2001).

Melatonin doğal bir nörotransmitter olup küçük ve lipofilik bir moleküldür. Vücutta birçok biyolojik ve fizyolojik düzenlemelerde görev almaktadır. Melatonin hem *in vivo* hem de *in vitro* çalışmalarla kanıtlanmış çok önemli bir Antioksidandır. İlk defa 1993 de Antioksidan özelliği ortaya çıkmıştır (Malm *et al.* 2017).

Direk olarak oksijen kaynaklı serbest radikalleri detoksifiye eden melatonin toksik hidroksil radikalleri ile reaksiyona girerek bütün hücre kompartımanlarındaki biyomolekülleri, oksidatif hasara karşı bölgesel olarak yerinde korumaktadır. Çok reaktif olan hidroksil radikallerinin yıkıcı etkilerine karşı primer nonenzimatik savunma mekanizması oluşturmaktadır (Durand *et al.* 2017). Melatonin bu serbest radikal toplayıcı özelliği için bağlanma bölgesine ve reseptöre gereksinim duymamaktadır (Hardeland *et al.* 1995; Reiter *et al.* 2001).

Diğer taraftan, E vitamininin kan-beyin bariyerini geçememesine rağmen melatoninin kolaylıkla geçmesi onun üstün bir Antioksidan olduğunu göstermiştir. Yaşlanmayla birlikte, stres veya toksik ajanlarla maruziyet sonucunda ortaya çıkan serbest radikal oluşumu Antioksidan kapasitede azalmaya neden olmakta ve bu durum melatonindeki azalmayla paralellik göstermektedir. Sonuçlar melatoninin Antioksidan özelliği ile örtüşmektedir (Reiter 2001).

Glutasyon (GSH): Hücre içinde serbest radikaller ve peroksidlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korumaktadır. GSH zehirsizleştirme reaksiyonlarına doğrudan katıldığı gibi, bazı enzimlerin substratı veya kofaktörü

olarak da görev yapmaktadır. Karaciğerde yüksek oranda bulunmaktadır. Glutamat, sistein ve glisinden oluşan bu tripeptid, sülfidril grupları açısından oldukça zengindir. GSH-P_x, GSH-R VE GST gibi enzimlerin fonksiyonu için gereklidir. Ayrıca hücrenin protein yapısındaki sülfidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engellemektedir. GSH amino asitlerin membrandan transportunda da görev almaktadır (Gürdöl ve Adenoğlu 2010).

Flavonoidler: Flavonoidler çeşitli meyve, sebze ve otlarda bulunan polifenol grubu doğal Bileşiklerdir. Doğada altı binin üzerinde flavonoid vardır. Antioksidan, antiarteriyosklerotik, antiinflamatuvar, antitümör, antitrombojenik, antiviral, antialerjik etkileri vardır. Flavonlar, flavanonlar; kateşinler, isoflavonlar, antosiyanidinler olarak altı sınıfa ayrılmaktadırlar. Flavonoidler, önemli metal şelatörleri ve serbest radikal temizleyicisi gibi roller oynamaktadırlar. Flavonoidler tarafından temizlenebilen ve formasyonları inhibe edilebilen reaktif oksijen ürünleri; süperoksit anyonları, hidroksil radikali, alkol radikali, peroksil radikali ve perhidroksi radikali. Flavonoidler, radikallerin reaktif kısımlarıyla etkileşerek, reaktif oksijen ürünlerini stabilize etmektedirler (Aeschbach *al.* 1994).

Ürik Asit: pürin metabolizmasının son ürünüdür. İnsanlarda pürin nükleozidleri olan adenosin ve guanosin katabolizmasının temel ürünü ürik asittir. Metal bağlayıcı ve serbest radikal temizleyicisi olarak görev almaktadırlar (Becker and Roessler 1995).

Bilirubin: Bilirubinin büyük bir kısmı ömrünü dolduran eritrositlerin parçalanmasından kaynaklanmakta ve dolaşımdan karaciğere geçerek biyotransformasyona uğramaktadır. Bilirubin safra ve idrarla atırmaktadır. Antioksidan olarak peroksil radikallerini toplamaktadır (Dali 2013).

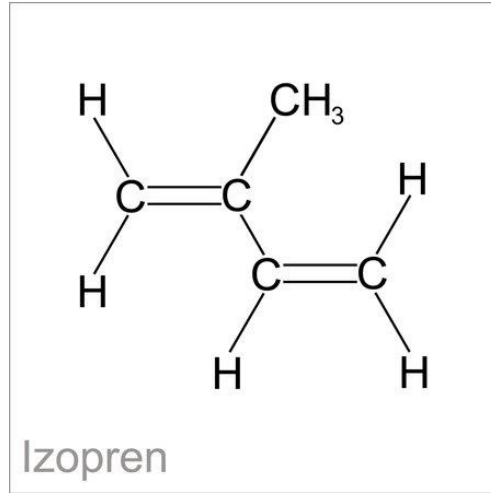
Selenyum:

1800'lerin modern kimyanın kurucularından olan bir İsviçreli kimyacı tarafından keşf edilen selenyumun adı eski yunanda ay tanrıçası selenadan alınmıştır. Ancak fonksiyonları eser element olarak bir asir sonra tanımlanmıştır (Kohrle 1999).

Güçlü Antioksidan, immün fonksiyonları attıran, apoptosizi indükleyen, hücre proliferasyonunu inhibe eden, karsinojen metabolizmasını değiştiren selenyumun bir çok Antioksidan ve anti kanserojenik etkisi özelliği olan selenyum, selenoproteinlerin ve önemli Antioksidan enzimlerden olan glutatyon peroksidazın yapısında bulunur. Vücudumuzda birçok enzim kofaktörüdür. Başta karaciğer ve bubreğ olmak üzere insanın tüm dokularında bulunmaktadır. Yiyeceklerde (deniz ürünleri, yumurta ve karaciğerde) selenosistein öncü maddesi olan selenitler, selenatlar ve selenometiyonin olarak bulunmaktadır. Selenoproteinler tiroid fonksiyonunun düzenlenmesine yardımcı olmakta ve bağışıklık sistemi içinde rol oynamaktadırlar. Sağlık için gerekli temel bir mineral olmakla birlikte, vücudun bu minerale gereksinimi çok az miktardadır ve yüksek konsantrasyonlarda toksik etkisi var (Günaldı 2009).

Terpenler

Doğal ürünlerin en yaygın gruplarından birisi olan terpenler beş karbonlu bir hidrokarbon olan izoprenin tekrar etmesi ile meydana gelmektedir. Aromatik bileşikler olarak tanımlanmış terpenler hayvanlarda ve bitkilerde farklı fonksiyonlara sahiptirler.



Şekil 1.17. İzopren

Aynı zamanda izopren yapılarından dolayı terpenler ikincil metabolitlerin en büyük sınıfı olarak belirtilmişlerdir. Ayrıca onlar izopren sayısına göre monoterpen, (C10) (iki izoprenin birbirine bağlanması ile meydana gelen terpene monoterpen denilmektedir), Seskiterpen (C15), (üç izopren), Diterpen (dört izopren) (C20), Triterpen (altı izopren) (C30), Tetraterpen (sekiz izopren) (C40) ve yüzden fazla izoprene sahip olanlar kauçuk olarak adlandırılmaktadır (Breitmaier, 2006).

Çizelge 1.6. Terpenlerin genel yapıları

	Terpenler	İzoprene birimleri	Karbon atomları
1	Monoterpenler	2	10
2	Seskiterpenler	3	15
3	Diterpenler	4	20
4	Sesterpenler	5	25
5	Triterpenler	6	30
6	Karotenoidler (Tetraterpen)	8	40
7	Kauçuk	>100	> 500

Pek çok bitkiden elde edilen terpenler düz zencirli veya halkalı yapıda olabilirler. Nandeden elde edilen mentol, limondan elde edilen limonen, Geranyomdan elde

edilen geraniol, turpentinden elde edilen neftiyağı ve kamforden elde edilen kamfor gibi terpenler karakteristik koku ve tada sahiptirler. Diğer taraftan, yağda çözünen üç vitamin yani A (retinol), E (α – Tokeferol) ve K (1,4- naftokinon) vitaminleri de en önemli terpenler arasında sayılabilmektedir Serbest radikaller ve Antioksidan enzimler (Gözükara 2011).

Terpenler kimyasallar, nutrasütikler, Antioksidanlar ve ilaçlar gibi farklı endüstriyel uygulamalarda kullanılmaktadır (Breitmaier. 2006) . Örneğin tat ve koku endüstri piyasasında terpenlerin tek başlarına 1milyar dolardan fazla satışları bulunmaktadır (Wu *et al.* 2006).

Bunlara ek olarak bazı monoterpen, seskiterpen ve bunların türevlerinin termokimyasal ve termofiziksel özellikleri nedeniyle benzin ve motorin yakıtlarına ideal aday olabilecekleri de belirtilmektedir (Chuck and Donnelly 2014). *Copaifera oleoresinin* önemli bir bileşeni *b- caryophyllene* C15 sesquiterpenleri dizel yakıtı olarak kullanılabilir (Kanis *et al.* 2012). Ayrıca, izoprenoid bisabolenin türevi olan Bisabolan de biyosentetik dizel yakıtı olarak kullanılabilir (Peralta *et al.* 2011).

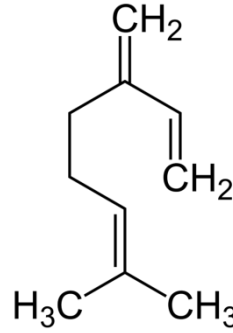
Ancak hala terpenlerin doğal üretimi yüksek değildir. Ekonomik ve diğer nedenlerden dolayı terpenlere olan talep sanayide yerini bulmamıştır. Aslında doğal kaynaklar yerine potansiyel olarak terpenlerin fotosentetik üretiminin önemli olması gerekmektedir.

Monoterpenler (C10)

Günümüzde uçucu yağlarda 150’den fazla monoterpen bulunmuştur. Monoterpenler başlıca 3 grup altında toplanabilmektedir;

1- Üç çiftlik bağ içeren monoterpenlere **Asiklik** denilmektedir.

Asiklik monoterpenlerin en basit yapılı ve karakteristik örneği mirsen'dir.

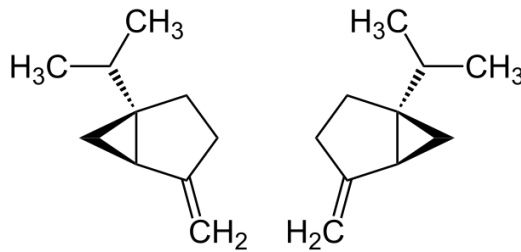


Şekil 1.18. Mirsen (7- metil- 3- metilen- 1,6 oktadien)

Asiklik monoterpenlerin alkol, ester veya aldehit grubu taşıyan oksijenli türevleri de bulunmaktadır. Geraniol, nerol, sitronellol ve sitronellal asiklik monoterpenlerin diğer örnekleridir.

2- İki çiftlik bağ içeren Monoterpenlere **Monosikliklik** denilmektedir. Monosiklikler esas yapılarında mentan içerirler. Metil ve izopropil gruplarının konumlanmalarına göre o-, m-, ve p- olmak üzere üç izomerik mentan bulunmaktadır. Bilinen monosiklik monoterpenlerin çoğunluğu, p-mentan türevidir.

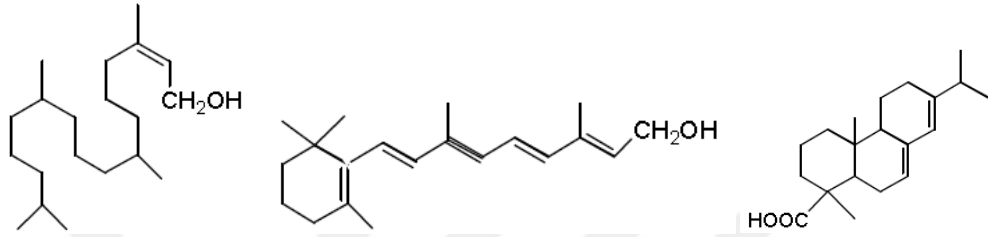
3- Bir çiftlik bağ içeren Monoterpenlere **Bisikliklik** denilmektedir. Örneğin; Sabinen ve karen



Şekil 1.19. Sabinen

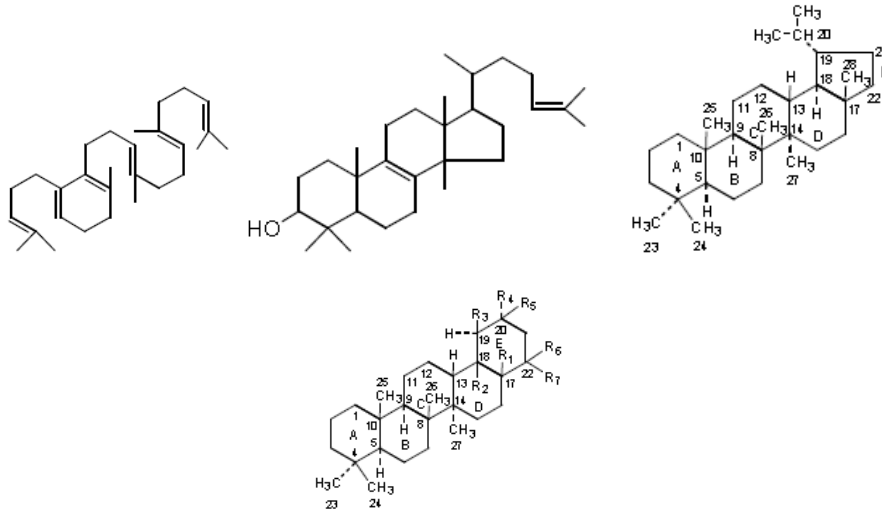
Diğer terpenler;

Diterpenler: 20 karbon içeren bileşiklerdir (4 izopentan, 2 terpen birimi). Örneğin: Fitol, Vitamin A- Retinol, Abietikasit.



Şekil 1.20. Fitol, Vitamin A- Retinol, Abietikasit

Triterpenler: 30 karbon içeren bileşiklerdir (6 izopentan, 3 terpen birimi). Örneğin: Skualen, Lanosterol, gammaseran ve onun homologları ve lupan ve onun homologları.

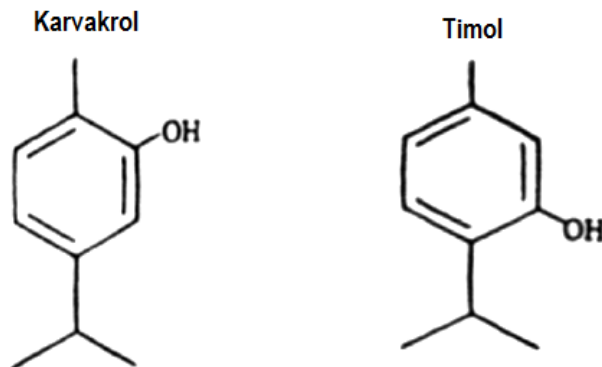


Şekil 1.21. Skualen, Lanosterol, Lupan, Perhidropisen türevleri

Tetraterpenler:40 karbon içeren bileşiklerdir (8 izopentan, 4 terpen birimi). Bu grubun karakteristik örnekleri karotenler, karotenoit hidrokarbonlar başlığı altında toplanabilmektedir.

Timol ve Karvakrol

Bitkilerin geniş grubu olan *Origanum* türleri (*Lamiaceae*), çeşitli bileşikler açısından örneğin monoterpen, hidrokarbon, oksijenat, fenolik monoterpen, seskiterpen hidrokarbon, oksijenat seskiterpen ve diğer fenolik maddelerce zengindirler (Siroli *et al.* 2014). Doğada özellikle Labiatae grubunda çeşitli bitkilerin uçucu yağlarında bulunan iki fenolik monoterpen olan Timol ve Karvakrol güvenilir gıda katkısı, lezzet artırıcı, antimikrobial (Bagamboula *et al.* 2004), antifungal (Tampieri *et al.* 2005), Antioksidan (Aeschbach *et al.* 1994), insektisidal (Panella *et al.* 2005) ve antiparazitik (Llana-Ruiz-Cabello *et al.* 2015) aktiviteye sahiptir (Şekil 1.17 ve 1.18) Timol ve Karvakrol kekik (*Thymus vulgaris* L) yağının önemli fenolik bileşiklerindendir. Timol (5methyl-2-isopropylphenol) monoterpenler grubuna ait oksijenli bir aromatik bileşiktir. Timol fenolik zincirinin farklı bir bölgesinde hidroksil gruba sahip olan Karvakrole (2- methyl-5-(1-methylethyl phenol) yapısal olarak da çok benzemektedir. Timol ve Karvakrol ABD Gıda ve İlaç idaresi tarafından insan tüketimi için güvenilir olarak tanınmış fenolik bileşikler olup Avrupa konseyi tarafından da aromalı Gıda listesine dahil olmuştur (Hyldgaard *et al.* 2012).



Şekil 1.22. Karvakrol ve timol'ün yapısı

Serbest radikaller çoklu hastalıklara örneğin kalp hastalıklarına ve kansere neden olabilmektedir (Javanmardi *et al.* 2003). Fenolik bileşikler bir grup Antioksidanlardan olup serbest radikal parçalayıcı ve bitkisel tıpta Antioksidan aktiveden sorumludurlar. Bu bileşikler lipidlerin ve diğer moleküllerin serbest radikallerden oluşan oksidatif hasarını geciktirmekte ya da onlara engel olmaktadır. Aynı zamanda, kalp koroner hastalıkları gibi önemli hastalıkların gelişimine karşı koruma özelliğine sahiptirler (Kris-Etherton *et al.* 2002). Bir araştırmaya göre *Thymus vulgaris* türünün Antioksidan aktivitesinin önemli kısmı fenolik bileşiklerden (Timol ve Karvakrol) kaynaklanmaktadır (Köksal *et al.* 2017). Diğer bir araştırmaya göre de fenolik muhtevanın çoğalması, Antioksidan aktivitesinin artmasına sebep olmakta ancak bitkilerdeki Antioksidan aktivite sadece fenolik bileşiklerle değil, başka çoklu ikincil metabolit Antioksidanlardan olan karotenoidler ve vitaminlerden de kaynaklanmaktadır (Javanmardi *et al.* 2003).

Karvakrol ve Timolun Caco-2 insan hücre hatlarında Ames, Alkalın, FPG (formamidopyrimidine glycosylase) testleri ile mutajenik ve genotoksik potansiyelleri değerlendirilmiştir. FPG testinde Karvakrolun yüksek dozlarda (460 M) mutajenik aktivitesi ve DNA oksidatif (purin bazlarında) potansiyeline rağmen Timol'un (0-250µm) herhangi bir konsantrasyonda mutajenik etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre Karvakrol ve Timolün belirli dozlarda uygulanması etkinlikleri için gerekli görülmüştür (Llana *et al.* 2014).

Lösemide Karvakrol uygulaması apoptoza sebep olmuştur. Bu çalışmada mitokondrideki kaspaz-3 ile HL-60 (insan Akut promiyelositik lösemi hücreleri) ve Jarkat hücrelerinde (insan T lenfosit hücreleri) Karvakrolun apoptoza yol açtığı gösterilmiştir. Buna bağlı olarak Karvakrolun antikanser etkisi anlaşılmış ve moleküler çalışmalarla lösemi kanser hattında ideal iyileştirici role sahip olduğu anlaşılmıştır (Bhakkiyalakshmi *et al.* 2016).

Bir başka çalışmada metotreksat (MTX) uygulanmasıyla oksidatif stres oluşturulmuş sıçanlarda Karvakrol ve nar özü tedavisi serum ve akciğerde MDA, TOS ve OSİ

düzeylerini belirgin bir artırmış tersine TAS seviyesini azaltmıştır. Söz konusu çalışmada Karvakrol ve nar özü serbest radikalleri tutarak ve vücudun endojen Antioksidan sistemini destekleyerek MTX kaynaklı akciğer toksisitesine karşı korumada faydalı etkiler göstermiştir (Abo-Haded *et al.* 2017).

Ayrıca, Timol ve Karvakrolün Ap-1 ve NFAT-2 transkripsiyon faktörlerini dengeleyerek İL-2 ve İFN- γ üretiminin azaltılması ile T hücrelerinin etkinliklerine katkıda bulunabilecekleri kaydedilmiştir. Bu çalışma T hücrelerinin aşırı aktivasyon ve proliferasyon derecesinin azaltılmasına bağlı olarak Timol ve Karvakrolün potansiyel faydalarının olduğunu ortaya koymuştur (Golijani *et al.* 2015).

Bir diğer çalışmada Karvakrol ve rosiglitazone (RSG) kombinasyonunun diyabetik sıçanlarda antihiperlipidemik ve anti-enflamatuvar etkisi değerlendirilmiş ve HFD kaynaklı diyabetik sıçanlarda plazmada ve dokulardaki kolesterolün, triglisridin, fosfolipidin, serbest yağ asitlerinin, çok düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterolün (VLDL-C) ve düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterolün (LDL-C) azaldığı ancak yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterolün (HDL-C) hayvanların plazma ve dokularında arttığı gözlenmiştir. Sonuçta Karvakrol ve rosiglitazone (RSG) uygulanmış sıçanlarda çalışılmış tüm parametrelerin normalleştiği gözlenmiştir (Ezhumalai *et al.* 2015).

Başka bir araştırmada Timol ve Karvakrol kuşların bağırsağında *Clostridium perfringens*'e karşı uygulanmış ve kuşların büyümesine zarar vermemesine rağmen bağırsak lezyonlarına sebep olduğu ve kripta derinliğini iliumda artırdığı görülmüştür (Encun *et al.* 2016).

Diğer taraftan kronik strese maruz kalmış sıçanların beyin, karaciğer ve böbreklerinde Karvakrolün oksidatif strese karşı koruyucu etkileri çalışılarak MDA, indirgenmiş GSH, SOD, GSH-Px, GR ve KAT aktivitelerinin seviyesi değerlendirilmiştir. Strese bağlı olarak hayvanların beyin, karaciğer ve böbreklerinde MDA seviyesi önemli ölçüde daha yüksek, GSH ve Antioksidant enzimlerin

seviyeleri ise kontrol grubuna kıyasla dahü düşük bulunmuştur. Çalışma sonuçlarına göre, strese maruz kalmış hayvanlarda Karvakrolün uygulanması iyileştirici yönde etkiler sunmuştur. Mevcut çalışma Karvakrolün oksidatif strese bağlı doku ve organ hasarlarının önlenmesinde faydalı etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Farooqui *et al.* 2017).

Karvakrolün insan oral skuamöz kanser hücrelerinin çoğalması üzerine etkileri araştırılmış ve ve apoptozisi uyardığı saptanmıştır. Araştırma sonuçları Karvakrolün etkisini moleküler çalışmalarla desteklemiştir (Wei *et al.* 2016).

Pankreastaki inflamasyon prosesinin sistemik organ bozukluklarına yol açabileceği ve böbreğin Akut pankreatit ile etkilenen hedef organlardan en önemlisi olduğu rapor edilmiştir (Rybak *et al.* 2015). Günümüzde Akut pankreatit ile teşvik edilmiş böbrek hasarının patojenisi ve organ üzerinde terapötik ajanların etkinliğinin araştırılması etkili tedavi stratejilerinin daha fazla geliştirilmesi için değerli sayılmıştır (Pretagostini *et al.* 2016). Konuyla ilgili literatür taramalarında Karvakrol ile ilgili *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların yeterli düzeyde olmadığı anlaşılmıştır. Üstelik şimdiye kadar Akut pankreatitli hayvanların dokuları üzerinde Karvakrolün etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya da rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada Akut pankreatitin teşvik edildiği sıçanlarda Karvakrolün böbrekler üzerinde tedavici edici etkisinin bulunup bulunmadığı doza bağlı olarak biyokimyasal ve histopatolojik metotların kullanılmasıyla ilk defa kapsamlı bir şekilde araştırılmış ve etki mekanizması aydınlatılmaya çalışılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bhakkiyalakshmi *et al.* (2016), mitokondrideki kaspaz-3 ile HL-60 (insan Akut promiyelositik lösemi hücreleri) ve Jarkat hücrelerindeki (insan T lenfosit hücreleri) apoptozis üzerine Karvakrol'un etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, Karvakrol tarafından indüklenen hücrel apoptozun potansiyel mekanizmasının kaspaz-3 tarafından aracılık edildiğini ve serbest radikallerin oluşumuyla hücre içi Antioksidan havuzun tükenmesiyle ilişkili olduğunu bulmuşlardır.

Choi *et al.* (2016), araştırmalarında anti-inflamatuar bitkisel alkaloid olan berberin'in etkisini seruleinle indüklenen AP'li farelerde çalışmışlardır. Serum amilaz ve lipaz aktiviteleri ile nitrik oksid üretimini belirlemek için kan örnekleri elde etmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmanın sonucunda Berberin'in anti-inflamatuar etkisini, hafif ve ağır AP hastalıklarında ortaya koymuşlardır.

Criddle DN *at el.* (2016) gerçekleştirdikleri deneyde vücuttaki $Ca^{(+2)}$ iyonlarının dengesinin bozulması ile sindirim enzimlerinin erken aktive olduğu ve bunun sonucunda vakuolizasyon ve nekrotik hücre ölümüne yol açarak AP'ye neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Pankreasın asinar hücrelerinde kalsiyum sinyalizasyonunun bozulması ile AP geliştiğini ortaya koymuşlardır.

Encun *et al.* (2016), araştırmalarında Timol ve Karvakrol'u kuşların bağırsağındaki *Clostridium perfringens*'e karşı uygulamış ve çalışma neticesinde Timol ve Karvakrol'un kuşların büyümesine zarar vermemesine rağmen bağırsak lezyonlarına sebep olduğu ve kripta derinliğini iliumda arttırdığını gözlemişlerdir.

Golijani *et al.* (2015), araştırmalarında Timol ve Karvakrolün aktivatör protein-1(Ap-1) ve aktive edilmiş T hücrelerinin nüklear faktörleri (NFAT-2)'nin transkripsiyon faktörlerini dengeleyerek interlökin-2 (İL-2) ve interferon-Y (İFN-Y) üretiminin azaltılması sonucunda T hücrelerinin etkinliklerine katkıda bulunabileceklerini

kaydetmişlerdir. Bu çalışma T hücrelerinin aşırı aktivasyon ve proliferasyon derecesinin azaltılmasına bağlı olarak Timol ve Karvakrolun potansiyel faydalarının olduğunu ortaya koymuşlardır.

Hotta *et al.* (2010), COX-2 yükseltici aktivitesinin, sığır arteriyel endotel hücreleri kullanılarak yapılan hücre esaslı transfeksiyon analizlerinde kekik, karanfil, gül, okaliptüs, rezene ve bergamot bitkilerinden elde edilen esansiyel yağlar tarafından bastırıldığını gözlemlemişlerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda, Karvakrolün anti-inflamatuvar özelliğinin önemli olduğu kanısına varmışlardır.

Llana *et al.* (2014), çalışmalarında Karvakrol ve Timolun Caco-2 insan hücre hatlarında Ames, Alkalın, Endo 111, FPG (formamidopyrimidine glycosylase) testleri ile mutajenik ve genotoksik potansiyellerini değerlendirmişlerdir. FPG testinde Karvakrolun yüksek dozlarda (460 μ M) mutajenik ve DNA oksidatif (purin bazlarında) potansiyeline sahip olmasına rağmen Timol'un (0-250 μ M) herhangi bir konsantrasyonda mutajenik etkisinin bulunmadığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre Karvakrol ve Timolün belirli dozlarda uygulanmasının aktivitelerini etkilediği ortaya konulmuştur.

Ezhumalai *et al.* (2015), yapmış oldukları çalışmada Karvakrol ve rosiglitazone (RSG) kombinasyonunun diyabetik sıçanlarda antihiperlipidemik ve anti-inflamatuvar etkisi değerlendirilmiş ve HFD kaynaklı diyabetik sıçanlarda plazmada ve dokulardaki kolesterolün, triglisridin, fosfolipidin, serbest yağ asitlerinin, çok düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterolün (VLDL-C) ve düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterolün (LDL-C) yükseldiği ancak yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterolün (HDL-C) hayvanların plazma ve dokularında azaldığı gözlenmiştir. Sonuç olarak Karvakrol ve rosiglitazone (RSG) uygulanmış sıçanlarda çalışılmış tüm parametrelerin normaleştiği gözlemlenmiştir. Rybak *et al.* (2015), çalışmalarında AP'nin ilk aşamalarında idrar analizi yöntemiyle AP ile böbrek yetmezliği arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve sonuçta Akut pankreatit ile böbrek yetmezliği arasında yüksek oranda ilişki bulmuşlardır. Rybak *et al.* (2015), araştırmalarında pankreastaki

inflamasyon prosesinin sistemik organ bozukluklarına yol açabileceğini ve böbreğin Akut pankreatit ile etkilenen hedef organlardan en önemlisi olduğu kanısına varmışlardır.

Farooqui *et al.* (2016), deneylerinde kronik strese maruz kalmış sıçanların beyin, karaciğer ve böbreklerinde Karvakrol'ün oksidatif strese karşı koruyucu etkilerini araştırmışlardır ve MDA, indirgenmiş GSH, SOD, GSH-Px, GR ve KAT aktivitelerinin seviyelerini değerlendirmişlerdir. Strese bağlı olarak hayvanların beyin, karaciğer ve böbreklerinde MDA seviyesi önemli ölçüde daha yüksek, GSH ve Antioksidant enzimlerin seviyelerinin ise kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, strese maruz kalmış hayvanlarda Karvakrol'ün uygulanması iyileştirici yönde etkiler sunmuştur ve Karvakrol'ün oksidatif strese bağlı doku ve organ hasarlarının önlenmesinde faydalı etkilere sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Şen *et al.* (2014), metotreksat (MTX) uygulanmasıyla akciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlarda Karvakrol ve nar özü tedavisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda oksidatif stres oluşturulmuş sıçanlarda Karvakrol ve nar özünün serum ve akciğerde MDA, TOS ve OSİ düzeylerinde belirgin bir artış sağladığını buna karşın TAS seviyesini azalttığını gözlemlemişlerdir. Söz konusu çalışmada Karvakrol ve nar özünün serbest radikalleri tutarak ve vücudun endojen Antioksidan sistemini destekleyerek MTX kaynaklı akciğer toksisitesine karşı korumada faydalı etkiler gösterdiği belirenmiştir. Silva *et al.* (2012), Karvakrolün anti-inflamatuar ve anti-ülser aktivitelerini inceledikleri çalışmada Karvakrolün prostanooid gibi inflamatuvar mediatörlerin salınmasına veya sentezlenmesine müdahale ederek mide ülserinin iyileşmesini destekleyen farklı farmakolojik hedefler üzerinde etkili olduğunu düşünmüşlerdir.

Yang *et al.* (2013), yapmış oldukları çalışmada L-sistein'in pankreas iltihabında etkisini incelemişlerdir. L-sistein'in AP'li sıçanlarda oksidan/Antioksidan dengesini düzenlediğini ve çoklu organ hasarını azalttığını belirtmişlerdir.

Yu *et al.* (2012), sodyum taurokolat ile AP oluşturdukları ratlarda poli (ADP riboz) polimerazın (PARP) inhibisyonunun Akut böbrek hasarını hafifletip hafifletmediğini araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda 3-aminobenzamidinin, serum amilaz, lipaz seviyelerini, böbrek patolojik yaralanmaları, renal MPO aktivitesini ve PARP aktivasyonunu azalttığını gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak AP’de PARP aktivasyonunun böbrek hasarı ile ilişkili olduğu ve PARP inhibitörlerinin renal hasarlar üzerine yararlı olduğu kanaatine varmışlardır.



3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırmanın yapıldığı yer

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi ile Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı Hayvan Fizyolojisi ve Histoloji laboratuvarında yapıldı.

3.1.2. Deneklerin seçimi

Yapılan çalışmada Sprague-Dawley tipi (200-250 g) sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları aynı bakım koşullarında standart fabrikasyon palet yem ile beslendi. Kullanılan metal kafesler standartlara uygundu. Çalışmalar için Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezi Etik Kurulundan (09.01.2012 tarih ve B.30.2.ATA.0.10.71.00-34 sayılı yazı) izin alınmış olup deneyler süresince Etik Kurul şartlarının sağlanmasına özen gösterildi (**Ek 1**).

3.1.3. Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler

Yapılan çalışmada, Karvakrol (2-methyl-5-(1-methylethyl), serulein (Sigma-Aldrich, GmbH, Stenheim, Germany), Mason–Goldner Staining, Amiloid, Hematoksilen ve Eozin, Merck firmasından, formaldehit, gliserol, peryodik asit kiti (Sigma-Aldrich), disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), parafin, glasiyal asetik asit, merkürük oksit (civa oksit), etanol, sodyum hidroksit (NaOH), amonyak, etilen diamin tetraasetik asit (EDTA), ksilol, NADPH, GSH, NaN_3 , glutasyon redüktaz, hidrojen peroksit (H_2O_2), sodyum fosfat tamponu, H_3PO_4 , n-bütanol, tiyobarbitürik asit (TBA), sodyum fosfat monobazik dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), jelatin, hidroklorik asit (HCl), potasyum klorür (KCl), alüminyum potasyum sülfat (şap), entellan, sodyum hidroksit

(NaOH), ve sıvı azot kullanıldı. Serum lipaz ve amilaz ölçümleri için ticari kitler Abbott Diagnostics firmasından temin edildi.

3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar

Mikrotom, Doku bloklama cihazı, Santrifüj, Etüv, Hassas terazi, Su banyosu, Işık mikroskobu, Serum lipaz ve amilazı ölçüm cihazı ve Derin dondurucu Leica ve Heraeus firmalarından satın alındı.

3.1.5. Kullanılan boya ve çözeltilerin hazırlanması

Histopatolojik çalışmalarda kullanılan boyalar kitler halinde Sigma-Aldrich firmasından satın alındı ve diğer çözeltiler aşağıdaki gibi hazırlandı.

Asit alkol solüsyonu'nun hazırlanışı

HCl (10 cc)

Etil alkol (300 cc)

Distile su (700 cc)

Nötral tamponlanmış formalin (NTF)

Disodyum hidrojen fosfat, Na_2HPO_4 (6,5 g)

Sodyum fosfat monobazik dihidrat, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (4 g)

%40'lık formalin (100 mL)

Distile su (900 mL)

Stok formalin tespit solüsyonundan 100 ml ölçüldü ve distile su üzerine ilave edildi. Tartılan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve Na_2HPO_4 hazırlanan solüsyona ilave edildi. Çözelti 30 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve kullanılmak üzere oda sıcaklığında tutuldu.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney gruplarının belirlenmesi

Araştırmada Sprague-Dawley (56 adet) tipi sıçan kullanıldı ve her bir grupta yedi hayvan olacak şekilde deney grupları oluşturuldu: (1) Kontrol; (2) Akut pankreatit grubu; (3, 4 ve 5) Karvakrol uygulanmış gruplar (üç farklı dozda); (6, 7 ve 8); Karvakrol uygulanmış Akut pankreatit grupları.

- 1. Grup:** Kontrol grubu
- 2. Grup:** Akut Pankreatit grubu
- 3. Grup:** 50 mg/kg Karvakrol grubu
- 4. Grup:** 100 mg/kg Karvakrol grubu
- 5. Grup:** 200 mg/kg Karvakrol grubu
- 6. Grup:** Akut Pankreatit + 50 mg/kg Karvakrol grubu
- 7. Grup:** Akut Pankreatit + 100 mg/kg Karvakrol grubu
- 8. Grup:** Akut Pankreatit + 200 mg/kg Karvakrol grubu

3.2.2. Sıçanlarda deneysel pankreatit modelinin oluşturulması

1ml serum fizyolojik içerisinde serulein (50 µg/kg) çözüldü ve hayvanlara intraperitoneal yoldan birer saatlik aralıklarla dört defa enjekte edildi. Son enjeksiyondan sonra serum lipaz ve amilaz değerleri tespit edilerek Akut pankreatit modeli değerlendirildi. Diğer taraftan deney grupları ile aynı anda kontrol gruplarına serum fizyolojik enjeksiyonları yapıldı.

3.2.3. Karvakrol

Serum fizyolojik içinde çözülen Karvakrol deney gruplarına 50, 100 ve 200 mg/kg'lık dozlarda intraperitoneal yolla tek doz halinde uygulandı. Karvakrol

uygulamasý hayvanlara serulein injeksiyonundan iki saat sonra yapıldı. Sıçanlar Karvakrol alımından 12 saat sonra izofloran ile anestezi edilerek kan serum örnekleri alındı. Karvakrol dozlarının seçimi ön denemeler ve literatür taraması sonucunda (NRC 1999; Hagiwara *et al.* 2009) tespit edildi.

3.2.4. Organ ağırlığı ölçümü

Deney bitiminde dijital terazi ile böbreklerin ağırlıkları ölçüldü.

3.2.5. Serum amilaz ve lipaz düzeylerinin ölçülmesi

Serum amilaz ve lipaz düzeylerini ölçmek için deney hayvanlarının kalplerinden alınan kan örnekleri jelli tüplere konuldu. Örnekler santrifüj cihazında (MSE Mistral 2000 marka) 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi (Sanz *et al.* 1998; Aktay *et al.* 2000) ve elde edilen serumlar analizleri yapılincaya kadar -80°C'de polietilen tüplere konularak derin dondurucuda bekletildi (Fruta *et al.* 2000). Lipaz ve amilaz enzimlerinin aktiviteleri ticari test kitleri kullanılarak Abbott Aeroset (IL, USA marka) marka otoanalizör ile ölçüldü.

3.2.6. Böbrek fonksiyonunun değerlendirilmesi

Böbrekte oluşabilecek fonksiyonel bozuklukları tespit edebilmek amacıyla kan örneklerinde BUN, Ürik asit ve Kreatinin seviyeleri Synchron LX 20 marka oto analizatör yardımıyla ticari test kitleri kullanılarak yapıldı.

3.2.7. Antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA düzeyinin belirlenmesi

3.2.7.a. Doku homojenatlarının hazırlanması

Alınan böbrek örnekleri 0,5 g tartılarak bir havan içinde sıvı azot kullanılarak ezildi. Bu örneklerin üzerine fosfat tampon (4,5 ml) eklendi ve ultra-turraks homojenizatörde 15 dk süreyle homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar soğutmalı santrifüj kullanılarak her enzim için literatürlerde belirtilen hızlarda +4°C’de santrifüj edildikten sonra üstte kalan berrak kısım (süpernatant) enzim aktivitelerinin belirlenmesi için kullanıldı (Alarcón de la Lastra *et al.* 2002).

3.2.7.b. Malondialdehit (MDA) düzeyinin belirlenmesi

Ölçüm prensibi: Serbest radikallerin hücre zarında oluşturduğu lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan malondialdehit (MDA) düzeyinin belirlenmesi için kullanılan metotların çoğu MDA’nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği reaksiyonu temel almaktadır. MDA’nın bir molekülü iki molekül TBA ile reaksiyona girerek stabil kırmızı renk oluşturmaktadır. LPO ölçümü, MDA’nın asidik ortamda tiyobarbitürik (TBA) asitle oluşturduğu rengin 532 nm’de optik densitesinin ölçülmesi prensibine dayanılarak yapılmaktadır (Ohkawa *et al.* 1979).

MDA ölçümü: MDA değeri Mihara ve Uchiyama yöntemine göre belirlendi (Mihara and Uchiyama 1978). 3 ml H₃PO₄ çözeltisi ile yarım mililitre homojenat karıştırıldı daha sonra 1 ml tiyobarbitürik asit (TBA) solüsyonu ilave edilerek karışım 95°C’de 45 dk süreyle su banyosu içinde ısıtıldı. Karışıma n-bütanol ilave edildi ve 532 nm’de absorbans değeri ölçüldü. *Tetrametoksipropan standart olarak kullanıldı.* Lipit peroksitlerin miktarı lipid peroksidasyonunun tiyobarbitürik asit reaktif maddesi olarak hesaplandı ve nmol/mg protein olarak rapor edildi.

3.2.7.c. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Ölçüm prensibi: Ksantin oksidaz enzimi vasıtasıyla ksantin, ürik aside dönüştürülmesiyle meydana gelen süperoksit radikalleri ortamda nitro blue tetrazolium (NBT) mevcutsa, NBT ile reaksiyona girerek formazon boyası oluşturmaktadır. Oluşan bileşik 560 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermektedir. Şayet ortamda SOD enzimi varsa süperoksit radikalleri bu enzim tarafından H₂O₂'ye dönüştürüldüğü için formazon oluşumu düşmekte buna bağlı olarak da 560 nm'de ölçülen absorbans azalmaktadır. Böylece SOD aktivitesi absorbanstaki azalmanın miktarı olarak verilmektedir.

SOD ölçümü: SOD aktivitesi Sun *et al.* (1988) tarafından tarif edilen yöntemle göre tayin edildi (Champe et al 1997). Metoda göre dokular homojenize edildikten sonra 18000 g'de 1 saat santrifüj edildi (Hye Kyung *et al.* 2001). Cam bir spektrofotometre küvetine 2450 µl karışım (0,3 mM Xanthine, 0,6 mM EDTA, 150 µM NBT, 0,4 M Na₂CO₃, 1,2 g/L BSA), 500 µl supernatant, 50 µl ksantin oksidaz eklendikten sonra karıştırılarak 20 dakika inkubasyona bırakıldı ve 1000 µl CuCl₂ ilave edildikten sonra reaksiyon sonlandırıldı.

SOD aktivitesinin hesaplanması: Oluşmuş formazonun miktarı 3 ml'lik quartz küvetler kullanılarak 560 nm'de okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak SOD aktivitesi, mmol/dakika/mg doku olarak verildi. Her bir faktörün etkisi üç tekrar yapılarak tespit edildi.

$$EU/mg.doku = 100 - \left(1 - \frac{\Delta AKör - \Delta A_{numune}}{\Delta AKör}\right) \times 100$$

3.2.7.d. Katalaz (KAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Ölçüm prensibi: Ölçüm ortamdaki H₂O₂'in KAT vasıtasıyla H₂O'ya dönüşümüne bağlı olarak oluşan absorbans azalmasının 240 nm'de ölçülmesi esasına

dayanmaktadır. KAT aktivitesi harcanan H₂O₂ miktarından aşağıda bahsedilen yönteme göre hesaplandı.

KAT ölçümü: Katalaz enziminin aktivitesi spektrofotometre kullanılarak, H₂O₂ tüketiminden dolayı 240 nm’de absorbans değerindeki düşüşe bakılarak Luck (1965) metoduna göre ölçüldü. Bu metotta 3 ml’lik bir reaksiyon karışımı, 66 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7,0) ve %30 H₂O₂ içermektedir. Reaksiyona bu çözeltiye uygun bir seyreltme yapılarak başlandı ve KAT enziminin aktivitesi mg protein başına birim olarak ifade edildi.

3.2.7.e. Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesinin tayini

Ölçüm prensibi: Bu enzim hidrojen peroksit varlığında redükte glutasyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) yükseltgenmesini katalize etmektedir. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GPx’in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH’a indirgenmekte ve GPx aktivitesi, NADPH’nin NADP⁺’ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 340 nm’de okunmasıyla hesaplanmaktadır. GPx aktivitesi ünite/gram (U/g) doku proteini şeklinde belirtilmektedir. Ölçüm ortamındaki DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)] disülfid bir kromojen olup sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenebilmektedir. Reaksiyon sonucu oluşan sarı renk 412 nm de spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir.

GPx ölçümü: Lawrence ve Burk metoduna göre GPx aktivitesi ölçüldü (Lawrence and Burk, 1976). 1ml 50 nM fosfat tamponu (5 mM EDTA, 2 µM NADPH, 20 µM GSH, 10 µM NaN₃, ve 23 mU glutasyon redüktaz içeren, pH: 7,4) 5 dakika 37°C’de inkübe edildi. Bu karışıma 20 µL 0.25 mM H₂O₂ and 10 µL süpernatant eklendi. 340 nm’de 1 dk boyunca absorbans değeri izlendi. Bir birim GPx aktivitesi, NADPH için uygun molar absorplama katsayısı kullanılarak (6220 M/cm) dakika başına tüketilen µmol NADPH olarak ifade edildi.

3.2.8. Histopatolojik işlemler

3.2.8.a. Böbrek diseksiyonu

Karvakrol uygulamasından on iki saat sonra deney hayvanları izofluran kullanılarak uyutuldu. Daha sonra hayvanların böbrekleri çıkarıldı ve çıkarılan doku örneklerinden bir kısmı nötral tamponlu formalin solüsyonu içerisinde histolojik işlemler için kırk sekiz saat bekletildi.

Fiksatifte kırk sekiz saat bekletilen sıçan böbreklerine sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanarak doku takipleri yapıldı;

- 1) Akarsuda yıkama: Çıkarılan dokular çeşme suyunda dört saat yıkandı.
- 2) Dereceli alkol serileri dehidratasyon işlemi için kullanıldı. Bu amaçla dokular; dört saat %70'lik alkolde ve bir gece %80'lik alkolde bekletildi. Bu işlemlerden sonra böbrek örnekleri birer saat dört ayrı %96'lık alkol serisinde bekletildi.
- 3) Dehidratasyon işleminden sonra ksilen serileri ile şeffaflaştırma işlemi yapıldı. Bu amaçla dokular üç ayrı ksilol serisinden geçirildi; Ksilol I, Ksilol II ve Ksilol III'de 15'er dakika bekletildiler.
- 4) Şeffaflaştırma işleminden sonra 3 ayrı parafin banyosunda 1'er saat (58⁰C'deki etüvde) bekletildiler.
- 5) 3. parafin banyosundan sonra parçalar parafin kalıplara konularak üstlerine sıcak parafin eklendi ve böylece örnekler kesit alınacak duruma getirildi.
- 6) Dokuların mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitleri alındı ve aşağıda belirtilen boyama işlemleri uygulandı (Bancroft and Stevens 1982).

Hematoksilen-eosin boyama metodu

Dokuların genel histolojik yapılarını göstermek için kullanıldı.

Boyama Tekniği;

1. Kesitler, ksilol I havuzunda 15dk bekletildi
2. Ksilol II havuzunda 15dk bekletildi
3. Ksilol III havuzunda 15dk bekletildi
4. Birinci alkol serisinde (%70'lik) 10dk bekletildi
5. İkinci alkol serisinde (%80'lik) 10dk bekletildi
6. Üçüncü alkol serisinde (%96'lık) 10dk bekletildi
7. 15dk çeşme suyunda yıkandı
8. Kesitler yeni hazırlanmış hematoksilin boyasında 30dk, bir buçuk ay beklemiş boyada 15dk bekletildi
9. Preparatlar asit alkole üç defa batırılıp çıkarıldı.
10. Eozin boyasında 1dk bekletildi
11. Saf suda 1dk bekletildi
12. Birinci alkol serisinde (%96'lık) 10dk bekletildi
13. İkinci alkol serisinde (%80'lik) 10dk bekletildi
14. Üçüncü alkol serisinde (%70'lik) 10dk bekletildi
15. Ksilol I havuzunda 15dk bekletildi
16. Ksilol II havuzunda 15dk bekletildi
17. Ksilol III havuzunda 15dk bekletildi

Boyama işlemlerinden sonra preparatlar entellan ile kapatıldı.

PAS boyama metodu (Periodic acid schiff's solution, Diagnostic BioSystems)

Böbrek hücrelerinde bazal membranları ve glikojeni göstermek için kullanıldı.

Boyama yöntemi;

1. Kesitler, Ksilol I havuzunda 10 dk bekletildi
2. Ksilol II havuzunda 10 dk bekletildi
3. Ksilol III havuzunda 10 dk bekletildi
4. Birinci alkol serisinde (%70'lik) 10dk bekletildi
5. İkinci alkol serisinde (%80'lik) 10dk bekletildi
6. Üçüncü alkol serisinde (%96'lık) 10dk bekletildi
7. Kesitler akarsuda yıkandı
8. Kesitler Peryodik asit solüsyonunda 7 dk bekletildi
9. Kesitler distile suda çalkalandı
10. Kesitler Schiff's solüsyonunda 15 dk bekletildi
11. Çeşme suyunda 5 dk yıkandı
12. Kesitler Hematoksilen'de 2 dk boyandı
13. Kesitler çeşme suyunda 3 dk yıkandı
14. Zemin yeşil olana kadar Light green boyasında bekletildi
15. Kesitler üç ayrı alkolde suyunu gidermek için bekletildi
16. Kesitler Ksilol I, II, III serilerinden geçirildi

Kesitler entellan ile kapatıldı.

Kongo Red boyama metodu (Amiloid, Diagnostic Biosystems)

Böbrek hücrelerinde protein birikimini göstermek için kullanıldı.

Boyama tekniği;

1. Preparatlar Ksilolde 40 dakika bekletildi
2. Preparatlar Ksilol I'de 3 dk boyunca daldırılıp çıkartıldı
3. Preparatlar Ksilol II'de 3 dk boyunca daldırılıp çıkartıldı
4. Preparatlar Ksilol III'de 3 dk boyunca daldırılıp çıkartıldı

5. Kesitler %96 alkolde 5 dk bekletildi
6. Kesitler %80 alkolde 5 dk bekletildi
7. Kesitler %70 alkolde 5 dk bekletildi
8. Kesitler çeşme suyunda 5 dk yıkandı
9. Kesitler distile suyla durulandı
10. Kesitler Kongo kırmızısında 30 dk bekletildi
11. Kesitler çeşme suyunda yıkandı
12. Kesitler distile suya daldırıldı
13. Kesitler Lityum solüsyonunda 15 dk bekletildi
14. Kesitler distile suya daldırılıp arıtıldı
15. Kesitler Alkollü farklılaştırma tamponunda 20 sn bekletildi
16. Kesitler iyice durulanana kadar 5 dk çeşme suyunda yıkandı
17. Kesitler Mayer hematoksilen boyasında 5 dk bekletildi
18. Kesitler çeşme suyunda 10 dk yıkandı
19. Kesitler %70'lik alkolde 5 dk bekletildi
20. Kesitler %80'lik alkolde 5 dk bekletildi
21. Kesitler %96'lık alkolde 5 dk bekletildi
22. Kesitler Ksilol I, II ve III serilerinde 5'er dk bekletildi
23. Kesitler entellan ile kapatıldı

Masson trikrom boyama metodu

Bu boyama metodu dokuda kollajen lif miktarını göstermek için kullanıldı.

Boyama Tekniği

1. Kesitler Ksilol I, II ve III serilerinde 5'er dk bekletildi
2. Birinci alkol serisinde (%96'lık) 5 dk bekletildi
3. İkinci alkol serisinde (%80'lik) 5 dk bekletildi
4. Üçüncü alkol serisinde (%96'lık) 5 dk bekletildi
5. Kesitler çeşme suyunda 5 dk yıkandı

6. Kesitler distile suyla durulandı
7. Kesitler Asit fuksinde 5 dk bekletildi
8. Kesitler çeşme suyunda yıkandı
9. Kesitler distile suyla iyice yıkandı
10. Kesitler Phosphomoly Acit'de 3 dk bekletildi
11. Kesitler entellan ile kapatıldı

3.2.8.b. Histopatolojik kesit fotoğraflarının çekilmesi

Hazırlanan preparatlar dijital kameralı Leica DM750 fotomikroskopuyla incelendi ve 10X20 büyütmede fotoğrafları çekildi.

3.2.8.c. Histopatolojik skorelama

Elde edilen preparatlar ışık mikroskopunda incelendi ve dokudaki değişiklikler her bir kesit için en az 20 farklı alanda değerlendirildi. Grupların Böbrek lezyonları (Konjesyon, İnfiltrasyon, Tübüler nekroz, Tübüler dilatasyon) %33'den azında ise 1; %33-66 arasında ise 2 ve %66'dan fazla ise 3 puan olarak derecelendirildi.

3.3. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS® 13,0 for Windows® paket programı kullanılarak yapıldı. Deneysel veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak analiz edildi ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testleri uygulanarak değerlendirmeye alındı. Histolojik skor analizi için Mann Whitney-U testi ve *t* testi kullanıldı. P değerleri 0,05'den küçük olanlar anlamlı; p değerleri 0,05'den büyük olanlar ise anlamsız olarak kabul edildi. Sonuçlar, ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası olarak verildi (Öntürk ve Özbek 2007).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Böbrek Ağırlığı

Serulein ile Akut pankreatit oluşturulmuş hayvanların böbrekleri kontrollere kıyasla belirgin bir ağırlık artışı gösterdi. Tek başına uygulanan Karvakrol dozları (50, 100 ve 200 mg/kg) organ ağırlıkları üzerinde herhangi bir olumsuz etkiye sahip değildi. Hasta hayvanlar Karvakrolün artan dozları (50 ve 100 mg/kg) ile muamele edildiğinde ise böbreklerin ağırlıkları doza bağlı bir şekilde azaldı. En belirgin etki 200 mg/kg Karvakrol dozunda gözlemlendi ve değerler kontrollere benzer oldu ($p<0,05$) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Kontrol ve deney gruplarının böbrek ağırlıkları

Gruplar	Ortalama Böbrek Ağırlığı (gr) Ort±SD
Kontrol	0.75±0,50 ^a
Akut Pankreatit	0.98±0,69 ^{*b}
Karvakrol 50mg/kg	0.72±0,30 ^a
Karvakrol 100mg/kg	0.74±0,62 ^a
Karvakrol 200mg/kg	0.69±0,79 ^a
Akutpankreatit+Karvakrol 50mg/kg	0.95±0,28 ^{*b}
Akutpankreatit+Karvakrol 100mg/kg	0.88±0,26 ^{*b}
Akutpankreatit+Karvakrol 200mg/kg	0.82±0,33 ^a

* Sembolü kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki belirgin farklılığı ifade eder ($p<0,05$). a,b,: sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir. Ort: Ortalama değer, SD: Standart sapma.

4.2. Biyokimyasal Parametreler

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hasta hayvanlarda lipaz ($p<0.05$) ve amilaz ($p<0.05$) değerleri belirgin artışlar gösterdi (Çizelge 4.2). Karvakrolün tek başına uygulandığı gruplarda ise enzim değerleri herhangi bir değişiklik göstermedi. Üstelik, Karvakrolün artan dozları Akut pankreatitli hayvanlarda lipaz ve amilaz seviyeleri üzerinde olumlu etkiler göstererek en yüksek Karvakrol dozunda enzim miktarlarını kontrol değerlere yaklaştırdı.

Çizelge 4.2. Kontrol ve deney gruplarında Amilaz ve Lipaz seviyeleri

Gruplar	Amilaz (U/L) ort $\pm$ SD	Lipaz (U/L) ort $\pm$ SD
Kontrol	318.98 $\pm$ 14.78 ^a	19.61 $\pm$ 1.18 ^a
Akut Pankreatit	1916.73 $\pm$ 213.44 ^{*d}	93.11 $\pm$ 6.05 ^{*d}
Karvakrol 50mg/kg	319.04 $\pm$ 11.09 ^a	19.56 $\pm$ 0.95 ^a
Karvakrol 100mg/kg	316.44 $\pm$ 17.23 ^a	18.28 $\pm$ 1.03 ^a
Karvakrol 200mg/kg	318.10 $\pm$ 13.88 ^a	17.47 $\pm$ 1.38 ^a
Akutpankreatit+Karvakrol 50mg/kg	1755 $\pm$ 197.71 ^{* c,d}	84.52 $\pm$ 7.26 ^{* c,d}
Akutpankreatit+Karvakrol 100mg/kg	1679 $\pm$ 205.34 ^{*c,d}	7.06 $\pm$ 5.11 ^{*c,d}
Akutpankreatit+Karvakrol 200mg/kg	811.24 $\pm$ 148.67 ^b	42.72 $\pm$ 3.91 ^b

* Sembolü kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki belirgin farklılığı ifade eder ($p<0,05$). a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir. ort: ortalama değer, SD: standart hata

SOD, KAT, GPx gibi önemli antioksidan enzimlerin aktiviteleri Akut pankreatit oluşturulmuş hayvanların böbrek dokularında kontrollere kıyasla belirgin düşüşler gösterdi ($p<0,05$). Aksine, MDA seviyesinde önemli artışlar görüldü. Karvakrolün 50 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarının tek başına uygulandığı gruplarda Antioksidan enzim seviyelerinde artışlar gözlenirken, en belirgin artış enzim seviyelerinde olduğu gibi

Karvakrolün 200 mg/kg dozunda tespit edildi. Üstelik, Karvakrol uygulamaları MDA üzerinde herhangi bir olumsuz etkiye sahip değildi. Akut pankreatit+Karvakrol gruplarında ise Antioksidan enzim aktiviteleri istatistiksel bakımdan anlamlı düzeyde artışlar gösterdi ve MDA düzeyinde de belirgin azalmalar sağlandı (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Kontrol ve deney gruplarının böbreklerinde SOD, KAT, GPx ve MDA seviyeleri

Gruplar	SOD (U/mg-protein) ort±SD	KAT (U/mg-protein) ort±SD	GPx (U/mg-protein) ort±SD	MDA (nmol/mg- protein) ort±SD
Kontrol	3.09±0.18 ^{b,c}	1,02±0.17 ^{b,c}	5.97±0.11 ^{b,c}	2.91±0.36 ^a
Akut Pankreatit	0.90±0.10 ^f	0.13±0.02 ^{*f}	1.91±0.10 ^{*f}	5.21±0.33 ^{*d}
Karvakrol 50mg/kg	3.21±0.14 ^{a,b}	1.07±0.05 ^{a,b,c}	6.17±0.17 ^{a,b}	2.87±0.08 ^a
Karvakrol 100mg/kg	3.25±0.12 ^{a,b}	1.12±0.12 ^{a,b}	6.29±0.22 ^{a,b}	2.84±0.16 ^a
Karvakrol 200mg/kg	3.38±0.36 ^a	1.15±0.21 ^a	6.43±0.19 ^a	2.86±0.09 ^a
Akutpankreatit+ Karvakrol 50mg/kg	1.08±0.15 ^e	0.35±0.09 ^{*e}	2.81±0.04 ^{*e}	4.06±0.17 ^{*c}
AkutPankreatit+ Karvakrol 100mg/kg	1.96±0.27 ^d	0.55±0.08 ^{*d}	3.65±0.28 ^{*d}	3.46±0.21 ^{*b}
AkutPankreatit+ Karvakrol 200mg/kg	2.87±0.22 ^c	0.95±0.06 ^c	5.59±0.36 ^c	2.97±0.14 ^a

* Sembolü kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki belirgin farklılığı ifade eder (p<0,05). a,b,c,d,e,f: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir. ort: ortalama değer, SD: standart hata

Akut pankreatit grubundaki sıçanların böbreklerinde fonksiyon bozukluklarını tespit etmek için BUN, Ürik asit ve Kreatinin gibi önemli parametrelerin seviyeleri ölçüldü ve kontrol grubuna kıyasla belirgin artışlar gözlemlendi (p<0,05) (Çizelge 4.4). Oysa, kontroller ve farklı Karvakrol dozlarında herhangi bir doku hasarına rastlanmadı. Karvakrolün 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarının uygulandığı Akut pankreatitli gruplarda ise artan doza bağlı olarak çalışılan parametrelerin seviyelerinde düşüşler

gözlendi. Üstelik, Karvakrolün en yüksek dozu tüm enzimler üzerinde Akut pankreatit ile teşvik edilmiş böbrek hasarlarına karşı belirgin bir şekilde olumlu etkiler göstererek değerlerin kontrollere yaklaşmasını sağladı ($p<0,05$).

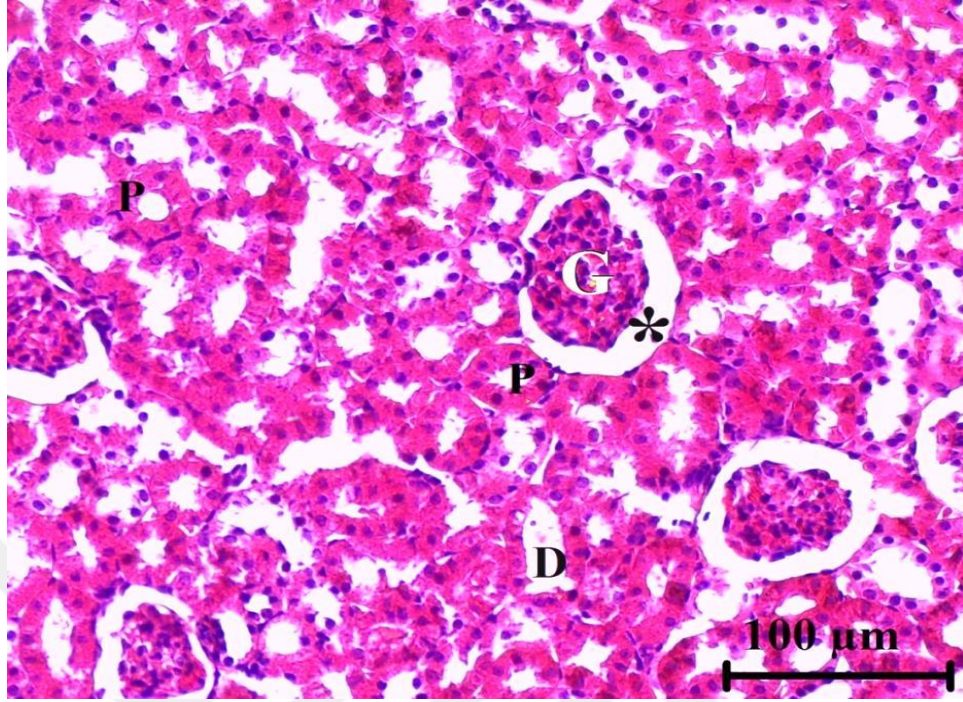
Çizelge 4.4. Kontrol ve deney gruplarının böbreklerinde BUN, Ürik asit ve Kreatinin seviyeleri

Gruplar	BUN/Üre (U/L)	ÜRİK ASİT (U/L)	KREATİNİN (U/L)
Kontrol	23.42±2.87 ^a	1.35±0.32 ^a	0.21±0.041 ^a
Akut Pankreatit	96.68±5.31 ^{*d}	3.83±0.28 ^{*d}	0.98±0.035 ^{*d}
Karvakrol 50mg/kg	22.09±3.02 ^a	1.41±0.27 ^a	0.33±0.028 ^a
Karvakrol 100mg/kg	23.35±3.04 ^a	1.44±0.24 ^a	0.25±0.031 ^a
Karvakrol 200mg/kg	22.85±4.25 ^a	1.38±0.23 ^a	0.24±0.026 ^a
Akutpankreatit+Karvakrol 50mg/kg	77.81±4.71 ^{*c}	3.37±0.20 ^{*c}	0.82±0.014 ^{*c}
Akutpankreatit+Karvakrol 100 mg/kg	54.29±7.29 ^{b*}	2.44±0.34 ^{*b}	0.60±0.019 ^{*b}
Akutpankreatit+Karvakrol 200mg/kg	29.68±6.06 ^a	1.50±0.19 ^a	0.34±0.017 ^a

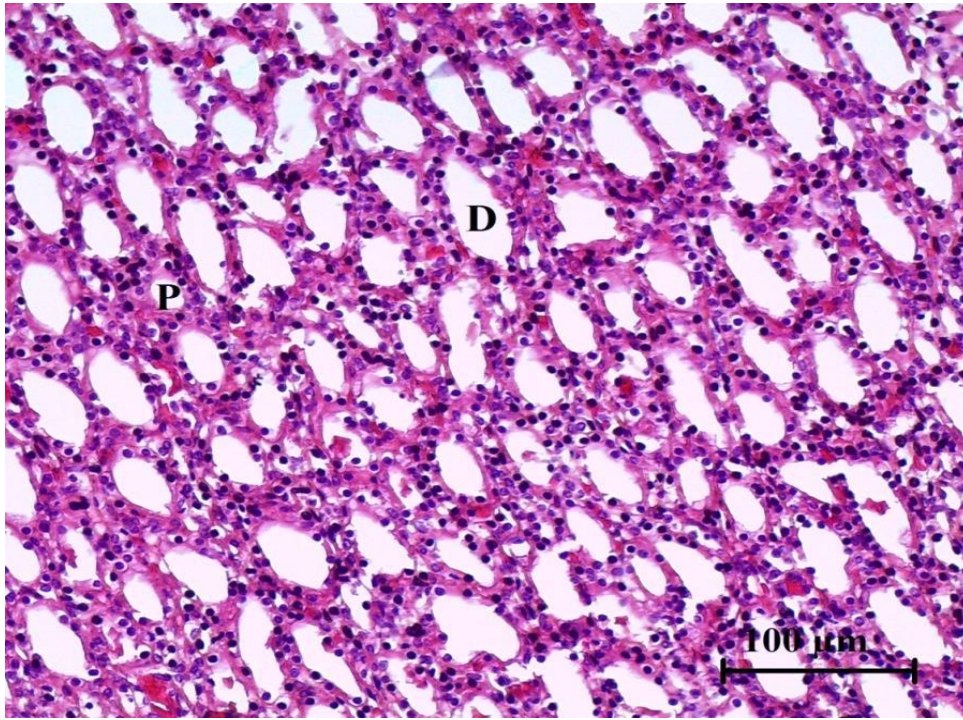
* Sembolü kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki belirgin farklılığı ifade eder ($p<0,05$). a,b,c,d,e,f: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir. ort: ortalama değer, SD: standart hata.

4.3. Histopatolojik Bulgular

H& E boyama metodu, böbrek dokusunun genel histolojik yapısını belirleyebilmek amacıyla uygulandı ve histolojik incelemeler sonucunda kontrol grubuna ait sıçan böbreklerinde patolojik bulguya rastlanmadı (Şekil 4.1 ve 4.2).

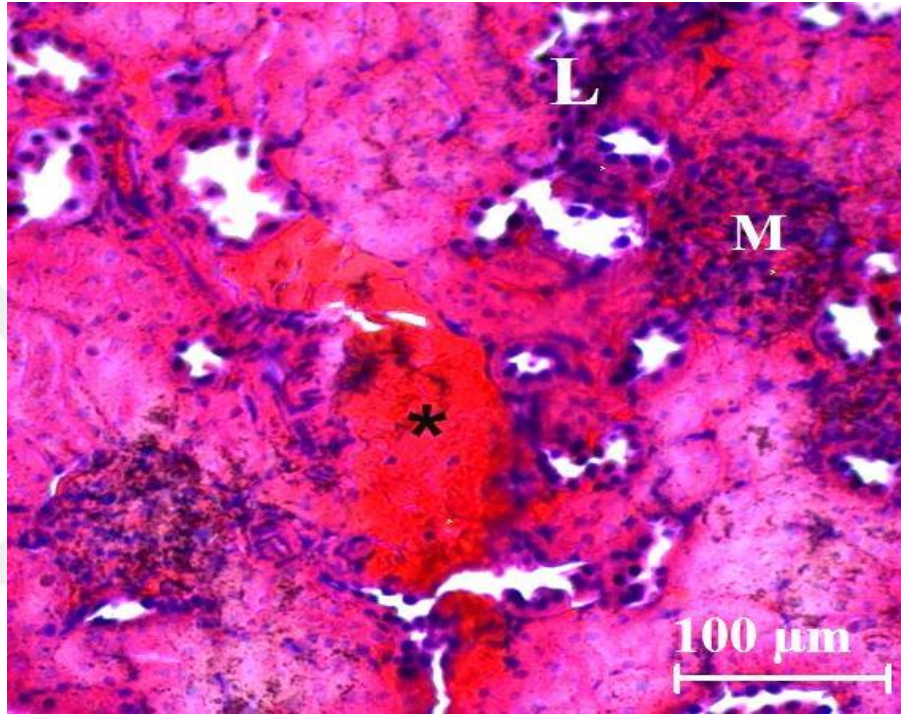


Şekil 4.1. Kontrol grubu böbrek korteks bölgesi
G: Glomerülüs, Yıldız: Bowman mesafesi, D: Distal tübül, P: Proksimal tübül (H& E)

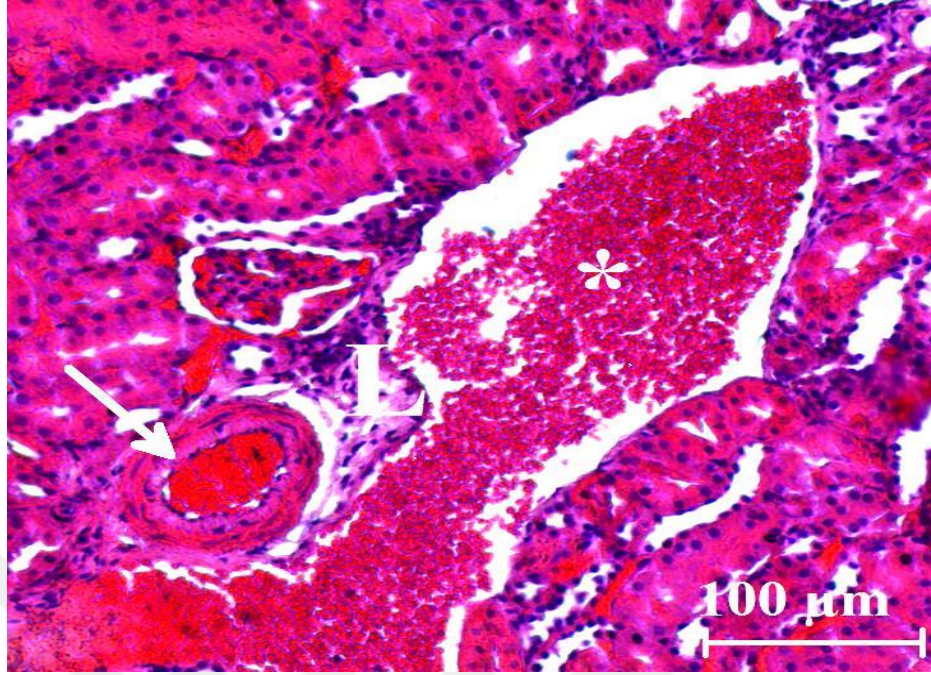


Şekil 4.2. Kontrol grubuna ait sıçanlarda medulla bölgesi normal böbrek histolojisi
D: Distal tübül, P: Proksimal tübül (H& E)

Akut pankreatitli hayvanların böbrek dokuları kontrollerle karşılaştırıldığında mezanşimal matriks artışı, ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu, arterioskleröz, fibröz doku artışı, damar etrafında bağ dokusu artışı, dilatasyon gibi belirgin histopatolojik bulgulara rastlandı (Şekil 4.3-10).

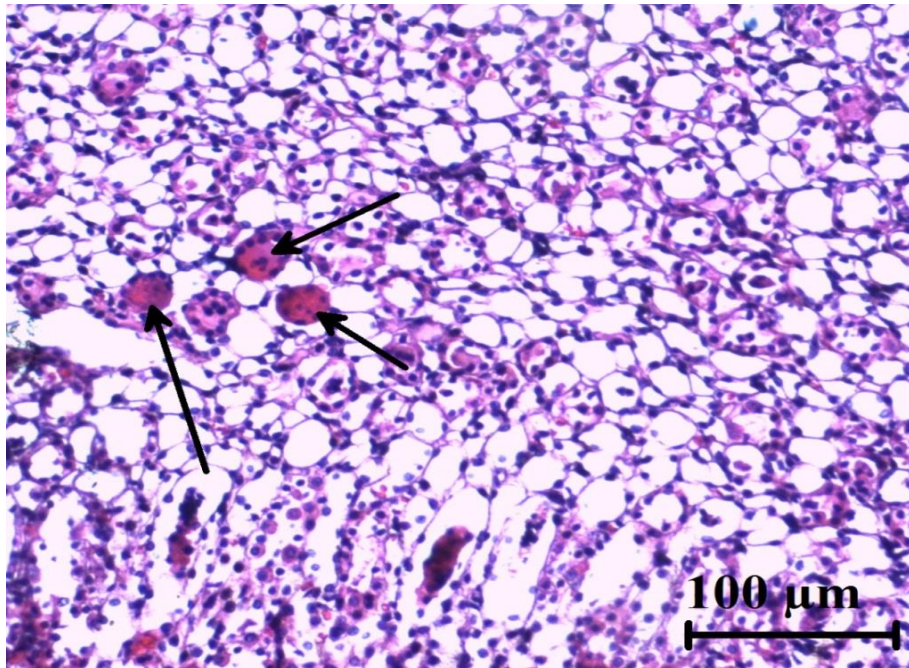


Şekil 4.3. Akut pankreatit grubunda mezanşimal matriks artışı, ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu görülmektedir
M: Mezanşimal matriks artışı, Yıldız: Konjesyon, L: Lenfosit infiltrasyon (H& E)



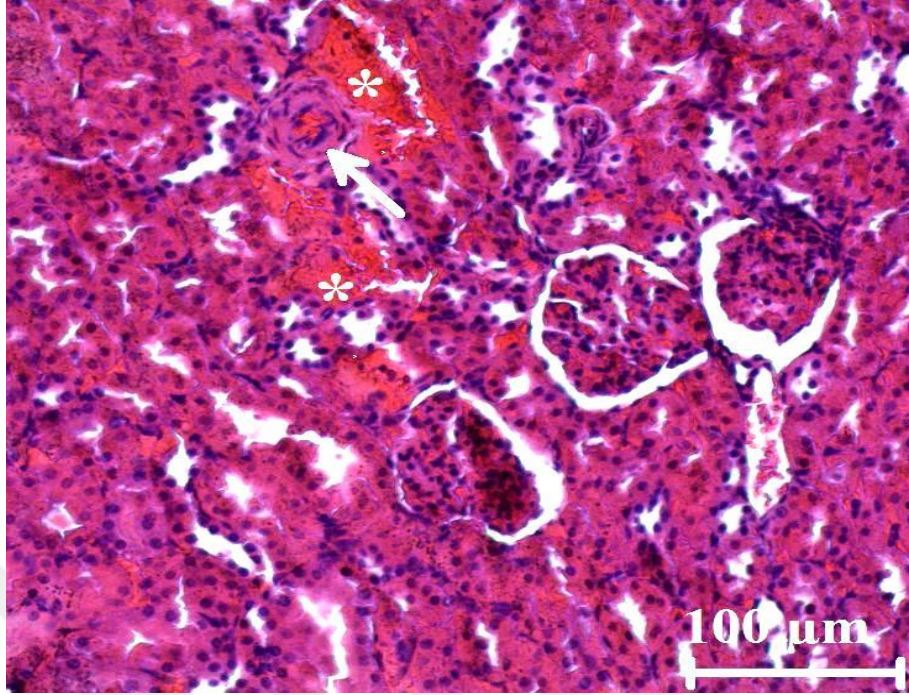
Şekil 4.4. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda, arterioskleröz, lenfosit infiltrasyonu ve konjesyon görülmektedir

Yıldız: Konjesyon, L: Lenfosit infiltrasyon, Ok: Arterioskleröz (H& E)



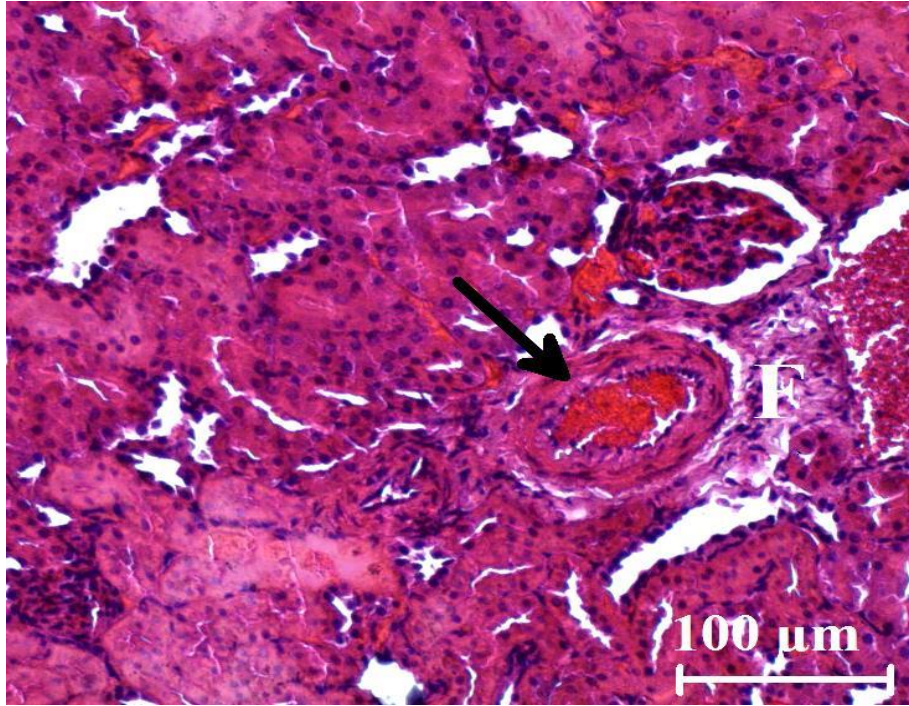
Şekil 4.5. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda medulla bölgesinde kontrollerle karşılaştırıldığında tübül lümeninde protein birikimi görülmektedir

Oklar: Protein (H& E)



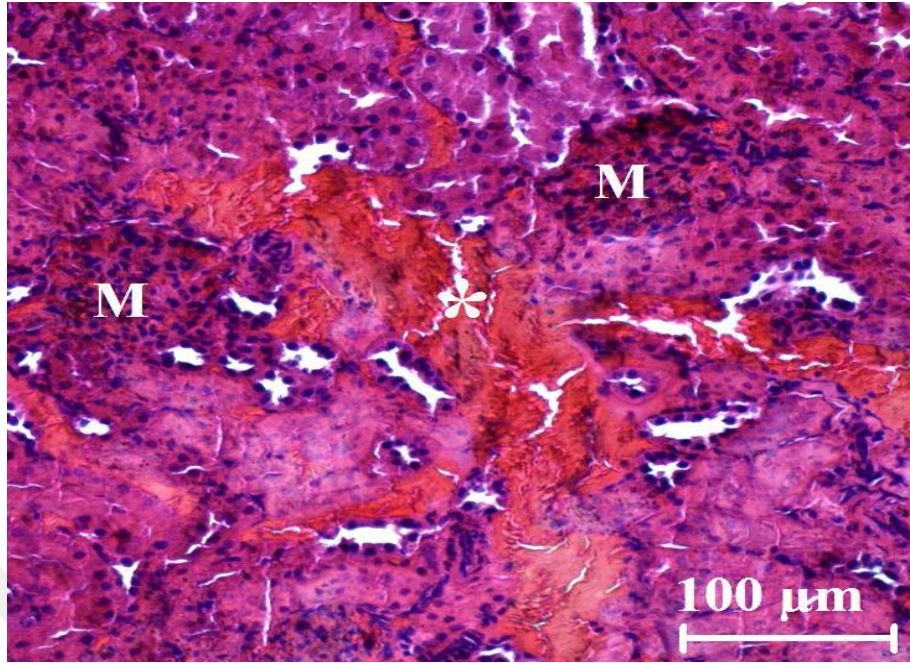
Şekil 4.6. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda arterioskleröz ve konjesyon görülmektedir

Yıldız: Konjesyon, Ok: Arterioskleröz (H& E)



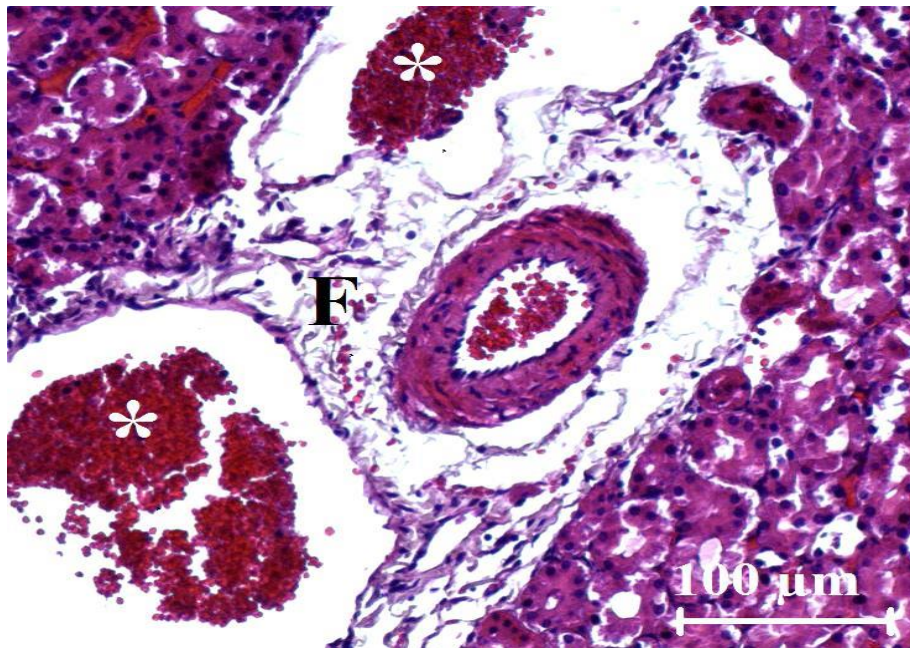
Şekil 4.7. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda arterioskleröz, fibroz doku artışı görülmektedir

F: Fibroz doku artışı, Ok: Arterioskleröz, Yıldız: Konjesyon , L: Lenfosit infiltrasyonu (H& E).



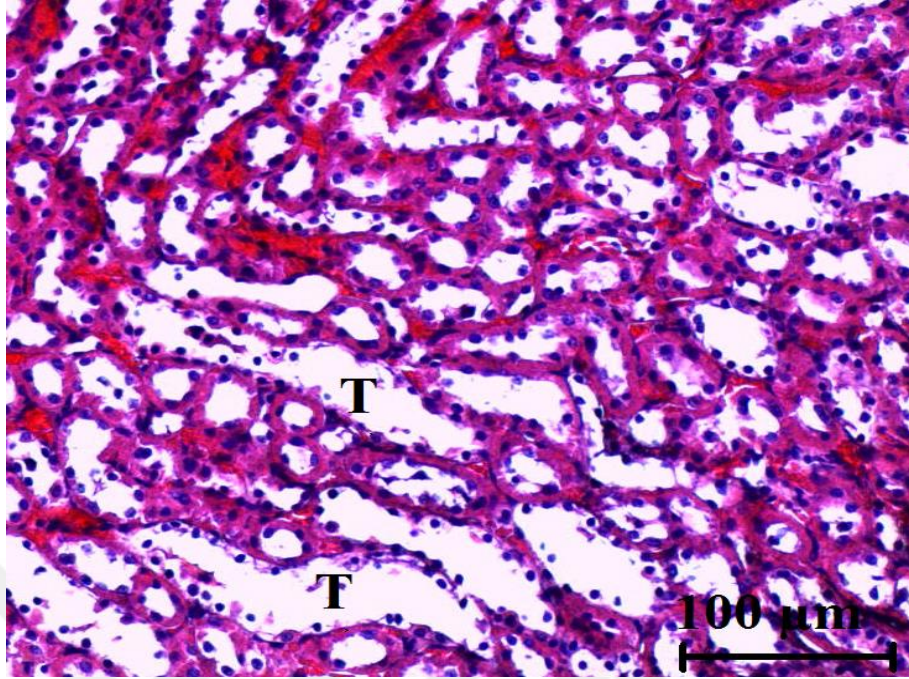
Şekil 4.8. Akut pankreatit grubunda mezenşimal matriks artışı, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu görülmektedir

M: Mezenşimal matriks artışı, Yıldız: İntersellüler aralıkta konjesyon (H& E)



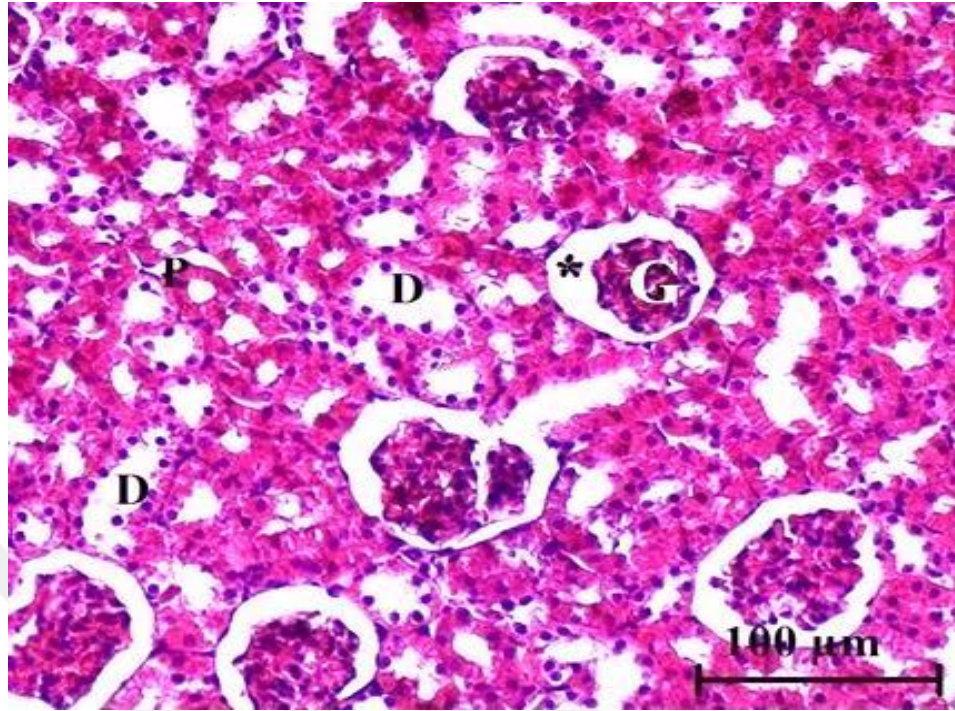
Şekil 4.9. Akut pankreatit grubunda damar etrafında bağ dokusu artışı

Yıldız: Konjesyon, F: Fibroz doku artışı (H& E)

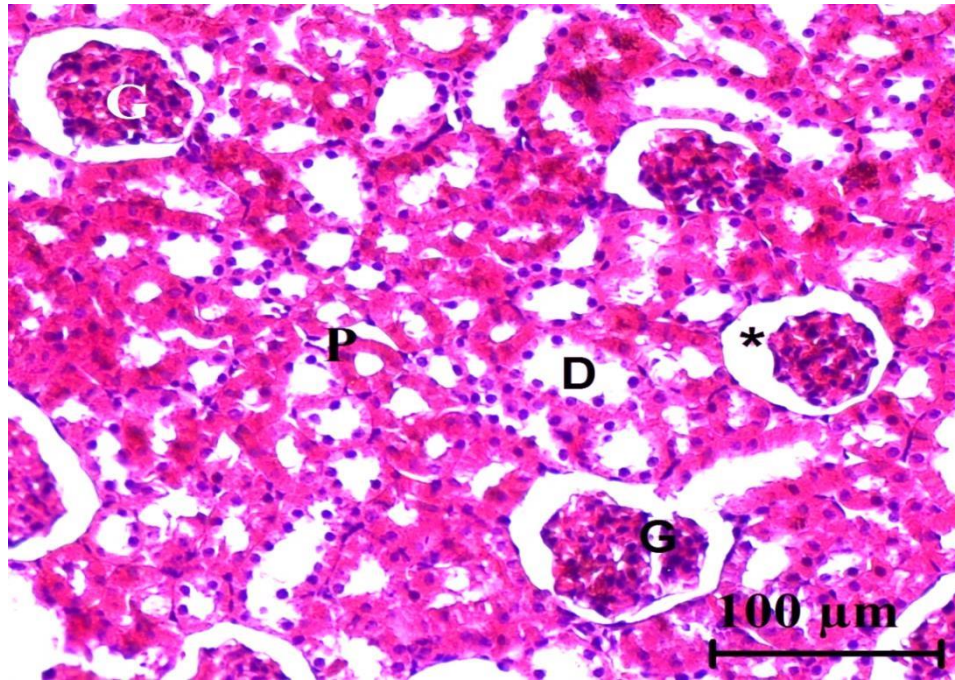


Şekil 4.10. Akut pankreatit grubunda tübüler dilatasyon
T: Tübüler dilatasyon (H& E).

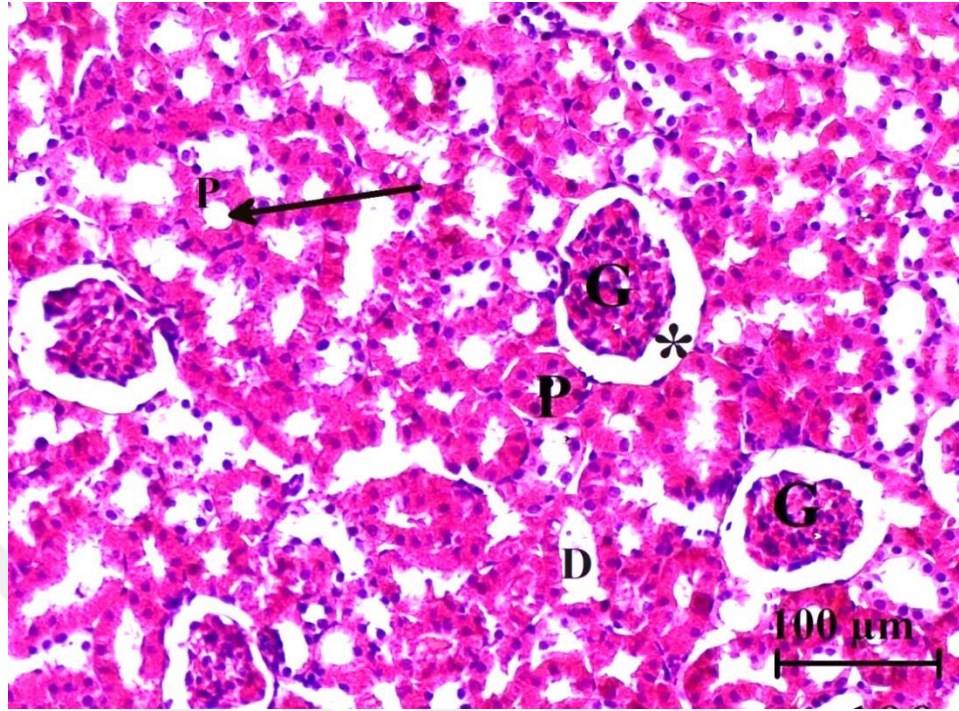
Karvakrolün farklı dozlarının (50,100 ve 200 mg/kg) uygulandığı hayvanların böbrek dokularında herhangi bir patolojik bulgu gözlenmedi. Bu gruplarda dokular kontrol grubundakine benzer bir şekilde normal histolojik yapı gösterdi (Şekil 4.11, 4.12 ve 4.13).



Şekil 4.11. 50 mg/kg Karvakrol grubu
*Kısaltmalar Şekil 4.1'deki gibidir (H& E)

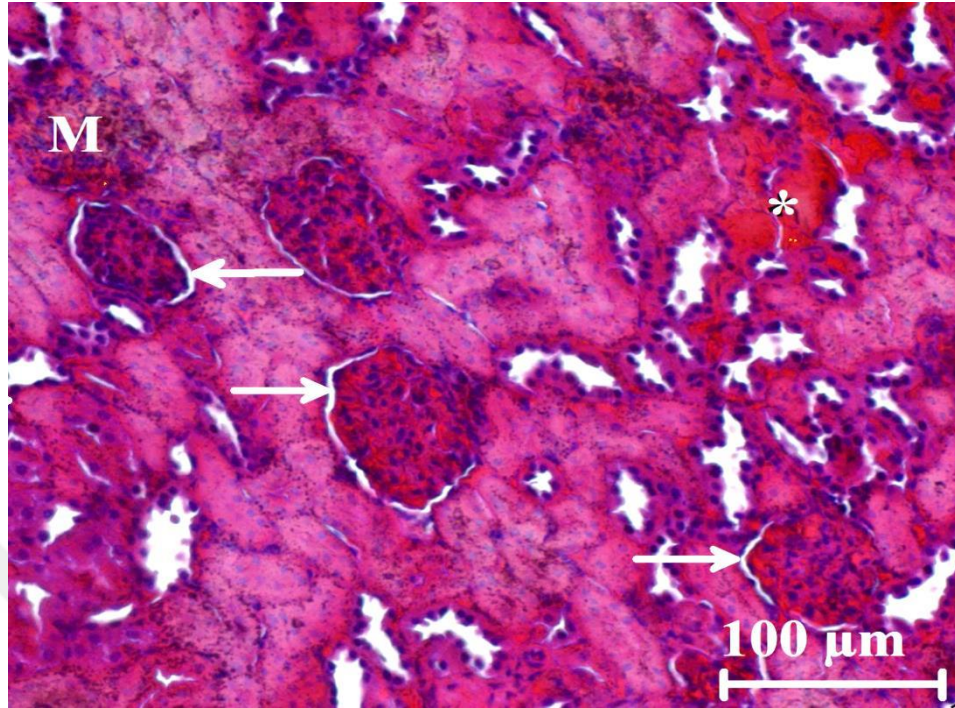


Şekil 4.12. 100 mg/kg Karvakrol grubu
*Kısaltmalar Şekil 4.1'deki gibidir (H& E)



Şekil 4.13. 200 mg/kg Karvakrol grubu. Kısaltmalar Şekil 4.1'deki gibidir (H& E).

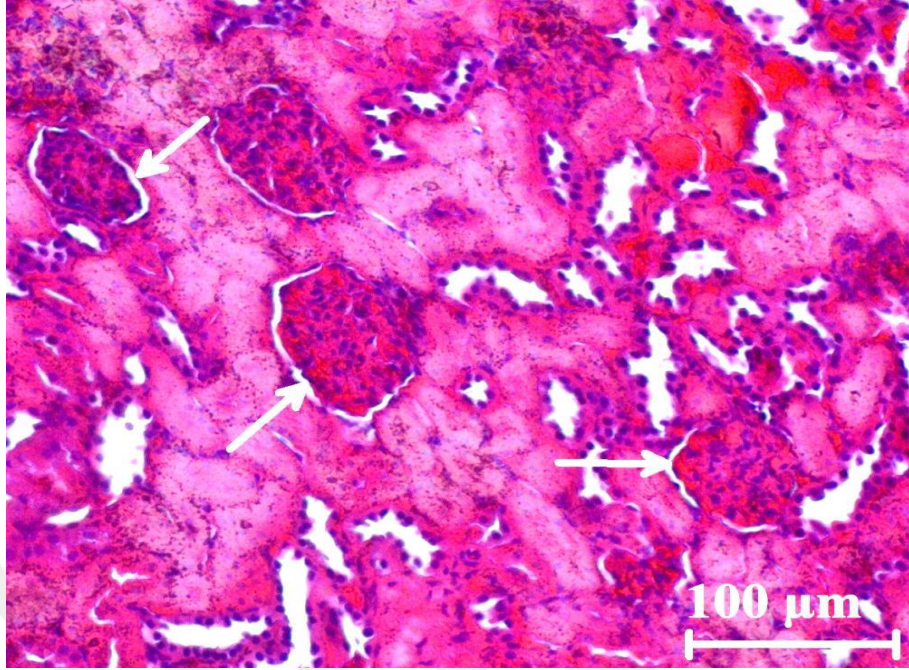
Hasta hayvanlara tedavi amacıyla Karvakrol verildiğinde böbrek dokusunda gözlenen patolojik bulgular maddenin etkisiyle azaltıldı. Bu olumlu etki 50 mg/kg grubunda diğer dozlara kıyasla daha zayıftı. Akut pankreatit grubu ile kıyaslandığında bu grupta zayıf konjesyon ve mezenşimal matrikste yer yer azalmalar söz konusuydu (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Akut pankreatitli hayvanlara 50mg/kg Karvakrol uygulandığında konjesyon ve mezenşimal matrikste azalma

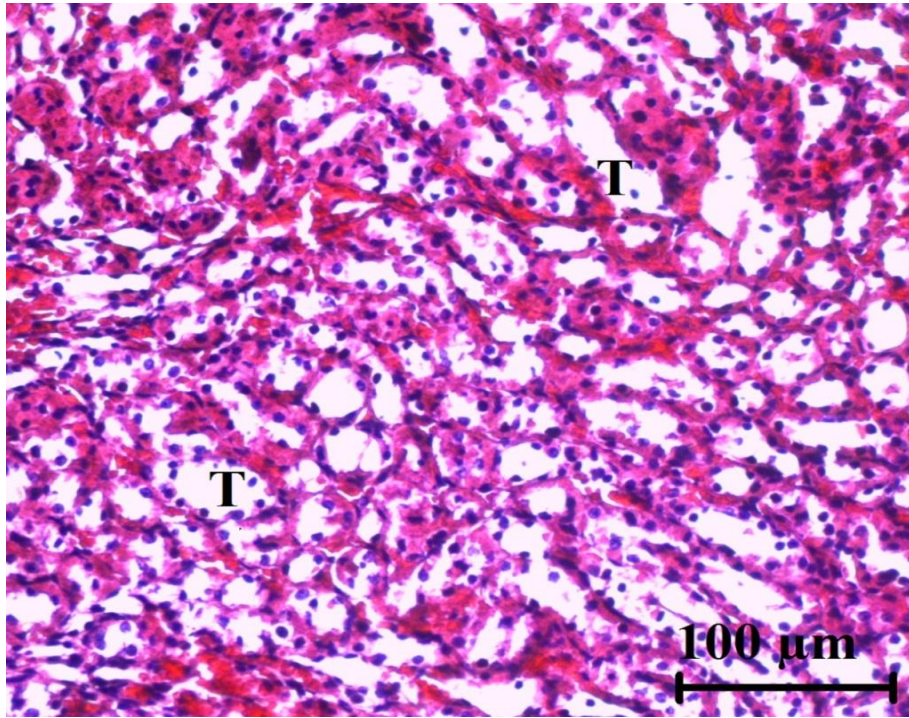
*Oklar: Mezenşimal matrikste azalma, M: Mezenşimal matriks, Yıldız: Konjesyon (H& E)

50 mg/kg Karvakrolün ın uygulandığı grupla karşılaştırıldığında Karvakrolün artan dozunun (100 mg/kg) kortekste mezenşimal matriks artışını büyük ölçüde giderdiği (Şekil 4.16) ve medullada ise tübüler dilatasyonu azalttığı gözlemlendi (Şekil 4.16).



Şekil 4.15. Akut pankreatitli hayvanlara 100mg/kg Karvakrol uygulandığında böbrek korteksinde mezenşimal matrikste azalma

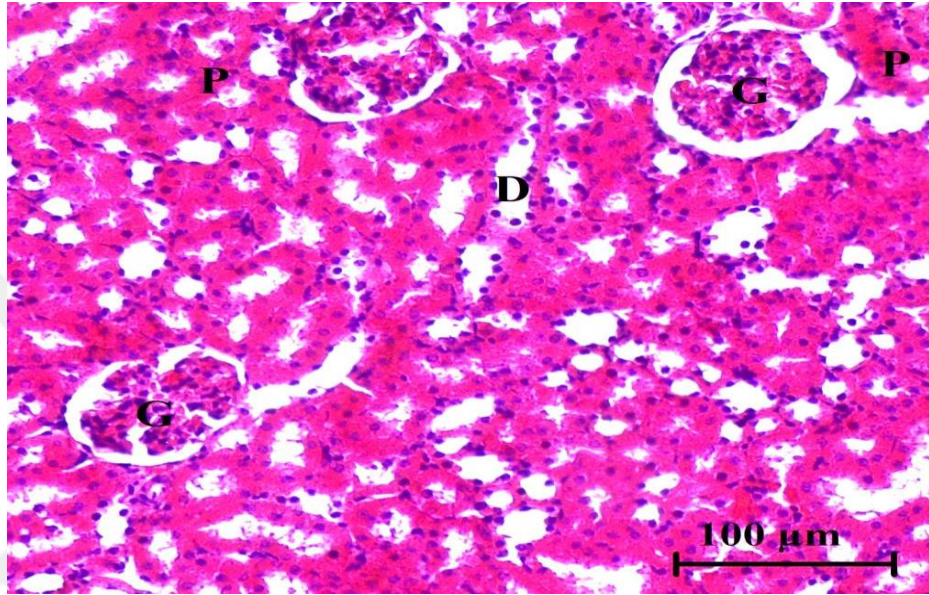
*Okla: Mezenşimal matrikste azalma, (H& E)



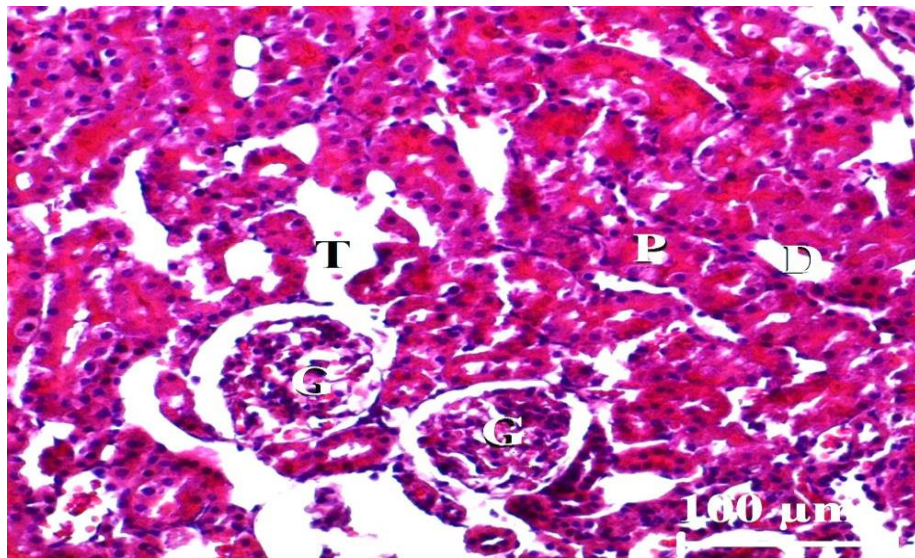
Şekil 4.16. Akut pankreatitli hayvanlara 100mg/kg Karvakrol uygulandığında böbrek medullasında tübüler dilatasyonlarda azalma

*T: Azalan tübüler dilatasyon (H& E)

Akut pankreatit grubunda rastlanan patolojik bulguların 200 mg/kg Karvakrol gruplarında oluşmadığını ve böbrek dokusunun kontrollere benzer görünüm aldığı tespit edildi (Şekil 4.17). Ancak nadiren de olsa yer yer tübüler dilatasyonlara rastlandı (Şekil 4.18).

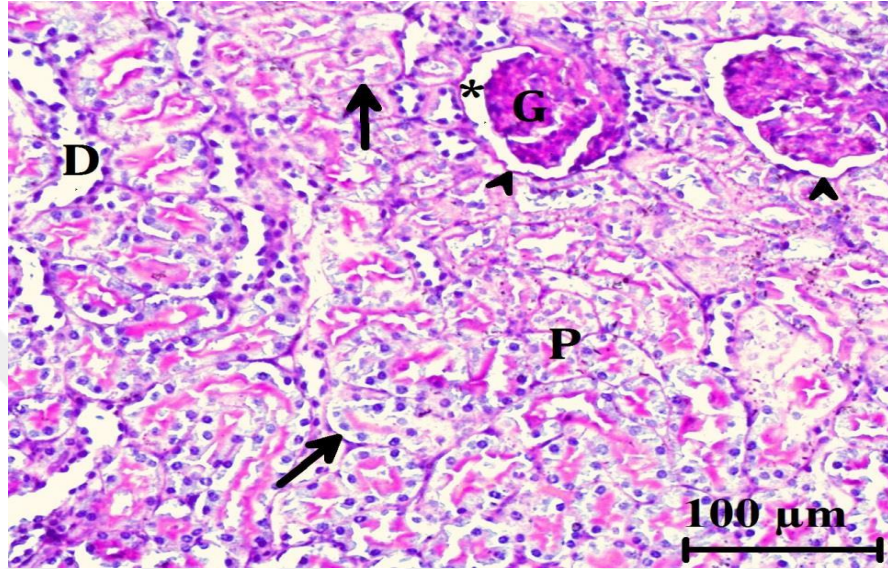


Şekil 4.17. Akut pankreatitli hayvanlara 200mg/kg Karvakrol uygulandığında böbrek dokusu (H& E)



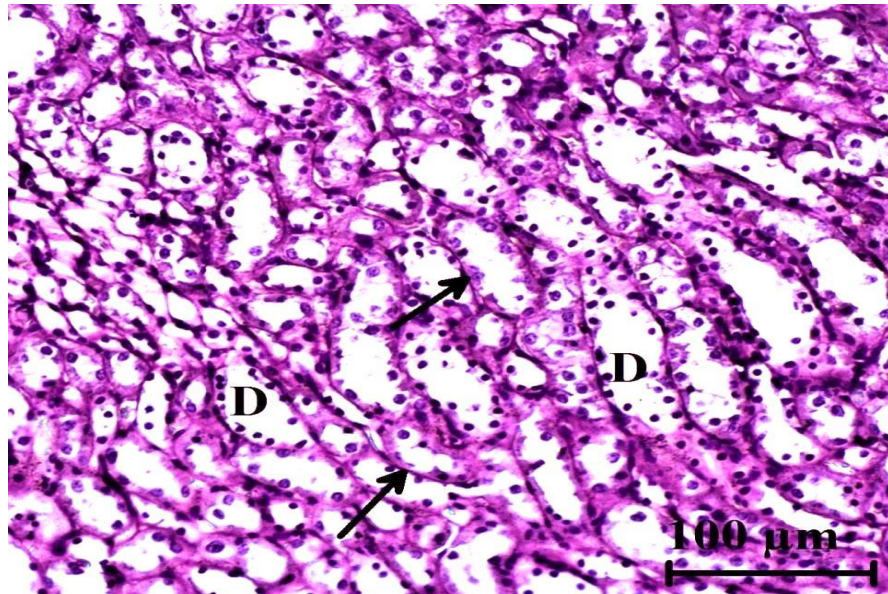
Şekil 4.18. Akut pankreatitli hayvanlara 200mg/kg Karvakrol uygulandığında böbrek dokusunda seyrek te olsa gözlenen tübüler dilatasyon (T) (H& E)

Böbrek hücrelerinde glikojeni göstermek amacıyla PAS boyama metodu uygulandı ve kontrol grubuna ait sıçan böbreğinde glikojenin normal bir şekilde depolandığı gözlemlendi (Şekil 4.19 ve 4.20).



Şekil 4.19. Kontrol grubuna ait sıçanlarda böbreğin korteks bölgesi

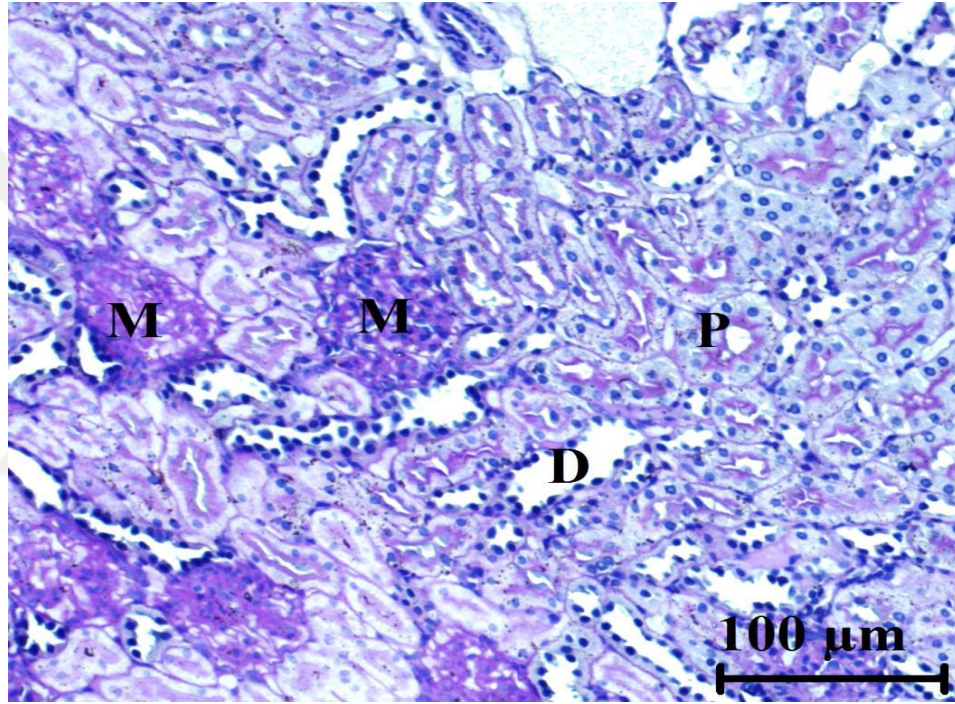
*G: Glomerülüs, Yıldız: Bowman mesafesi, D: Distal tübül, P: Proksimal tübül, Oklar: Tübüler bazal membran Okbaşları: Bowman kapsülünün parietal yaprağı (PAS)



Şekil 4.20. Kontrol grubuna ait sıçanlarda böbreğin medulla bölgesi

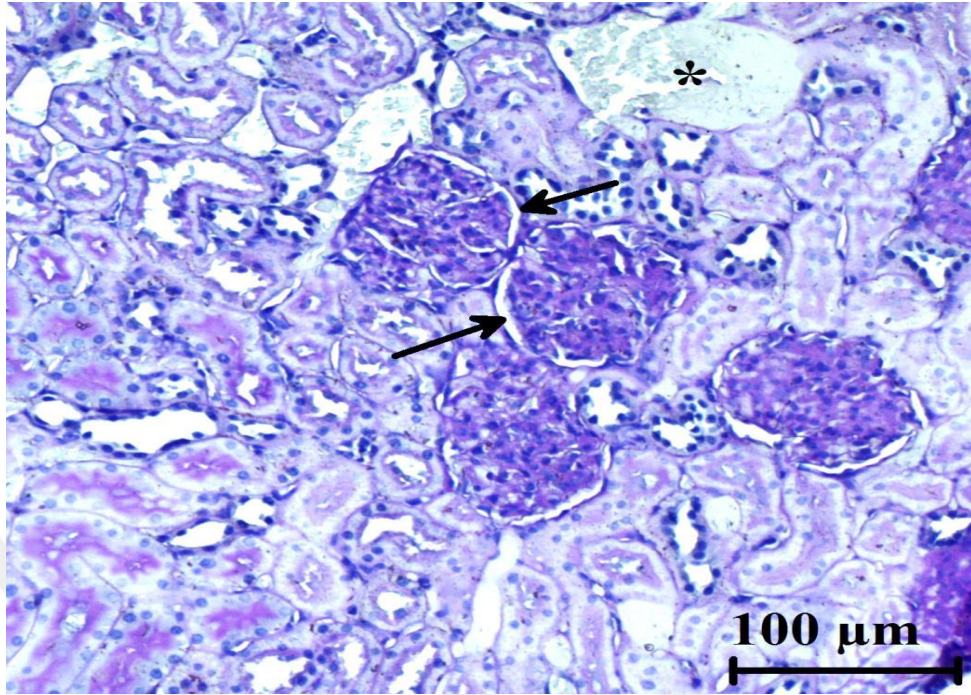
*D: Distal tübül, P: Proksimal tübül, Oklar: Tübüler bazal membran (PAS).

PAS boyama metodu ile Akut pankreatitli hayvanlarda H& E metodunda gözlendiği gibi böbrekte mezanşimal matriks artışı, ayırt edilemeyen Bowman mesafesi ve tübüler dilatasyon (Şekil 4.21), konjesyon (Şekil 4.22 ve 4.23), çapı artmış damarda skleröz, dejenere olmuş hücreler, fibröz doku artışı (Şekil 4.24) ve aynı zamanda glikojen tüketimine bağlı olarak belirgin bir şekilde açık boyanmış hücreler görüldü (Şekil 4.25).



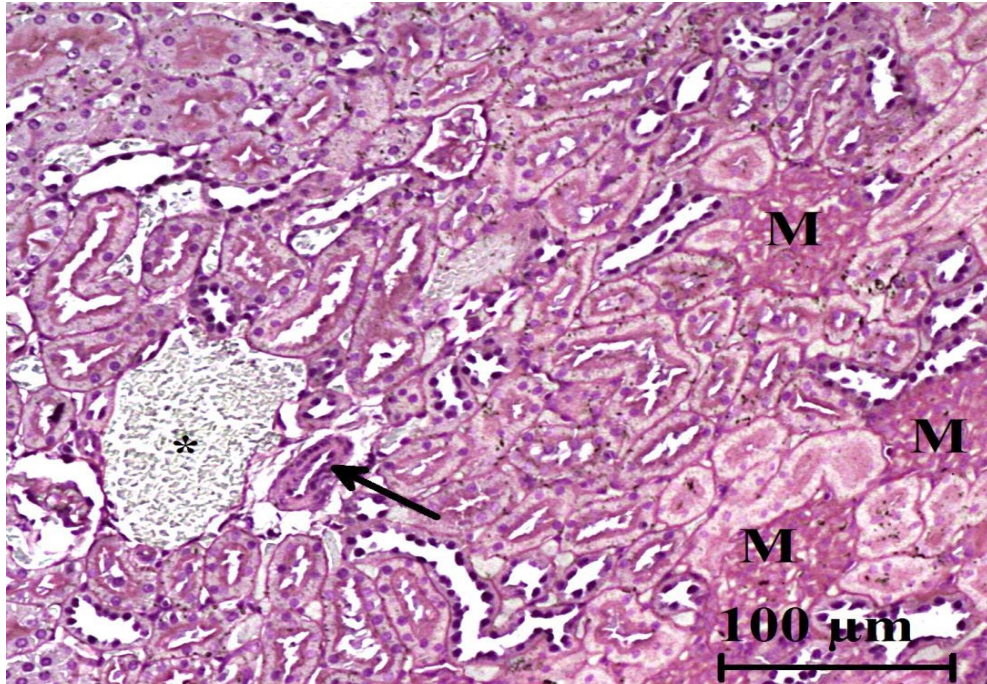
Şekil 4.21. Akut pankreatit grubunda mezanşimal matriks artışı, ayırt edilemeyen Bowman mesafesi ve tübüler dilatasyon

*M: Mezenşimal matriks artışı T: Tübüler dilatasyon (PAS)



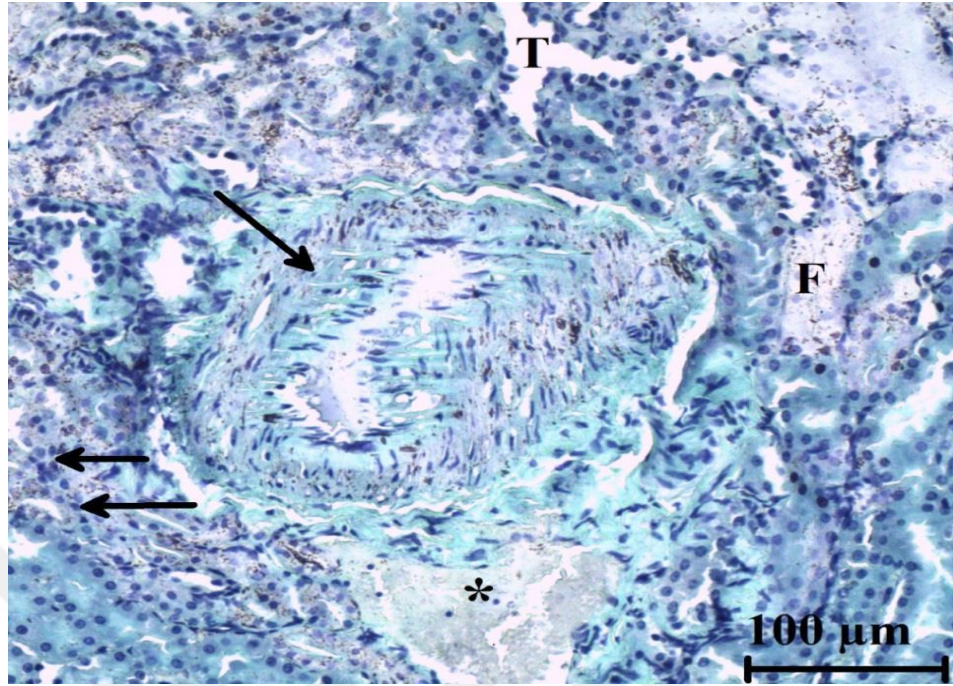
Şekil 4.22. Akut pankreatit grubunda mezanşimal matriks artışı, Bowman mesafesinde daralma ve konjesyon

*Oklar: Bowman mesafesinde daralma, Yıldız: Konjesyon (PAS)

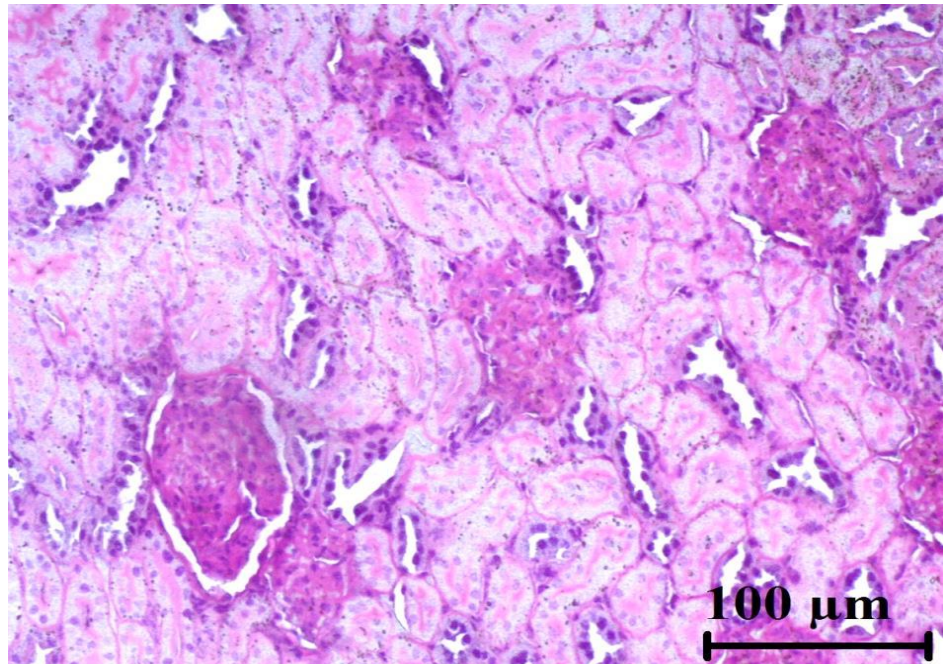


Şekil 4.23. Akut pankreatit grubunda mezanşimal matriks artışı, konjesyon

*M: Mezanşimal matriks artışı, Yıldız: Konjesyon, Ok: Arteriol (PAS).

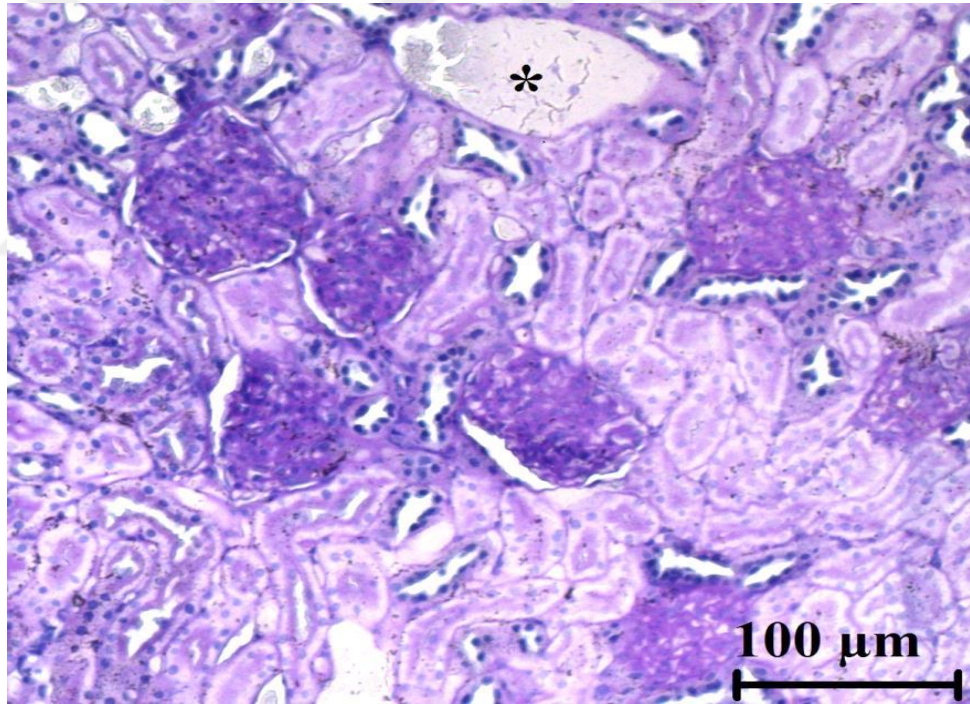


Şekil 4.24. Akut pankreatit grubunda çapı artmış damarda skleröz, konjesyon, tübüler dilatasyon, fibröz doku artışı ve dejenere olmuş hücreler
 *Ok: Skleröz, T: Tübüler dilatasyon, Yıldız: Konjesyon: Hücresel dejenerasyon, F: Fibröz doku artışı (PAS)



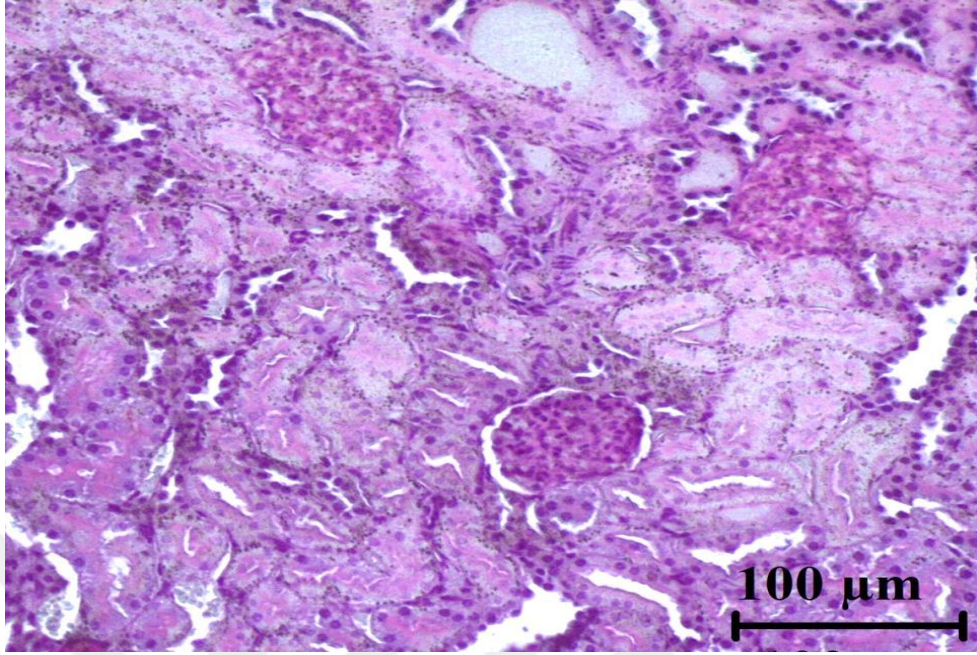
Şekil 4.25. Akut pankreatit grubunda böbrek korteks bölgesinde kontrollere kıyasla belirgin bir şekilde açık boyanmış hücreler (PAS)

Hayvanlara Karvakrol verildiğinde böbrek dokusunda hastalıkla oluşturulan patolojik bulguların maddenin etkisine bağlı olarak azaldığı görüldü. Ancak bu olumlu etki 50 mg/kg grubunda diğer dozlara kıyasla daha zayıf bir şekilde gerçekleşti. Akut pankreatit+50 mg/kg Karvakrol grubunun böbrek dokusunda artan glikojen içeriğine bağlı olarak biraz daha koyu boyanmış hücreler gözlemlendi. Ancak hiyalinleşmiş atıklara yer yer rastlandı (Şekil 4.26). Akut pankreatit +100 mg/kg Karvakrol grubunda ise hücreler boyanın erguvani rengini daha fazla aldı ve koyu boyandılar (Şekil 4.27). Üstelik, en yüksek Karvakrol dozunda glikojen miktarının belirgin bir şekilde arttığı tesbit edildi ve mezenşimal matriks artışı söz konusu değildi (Şekil 4.28).

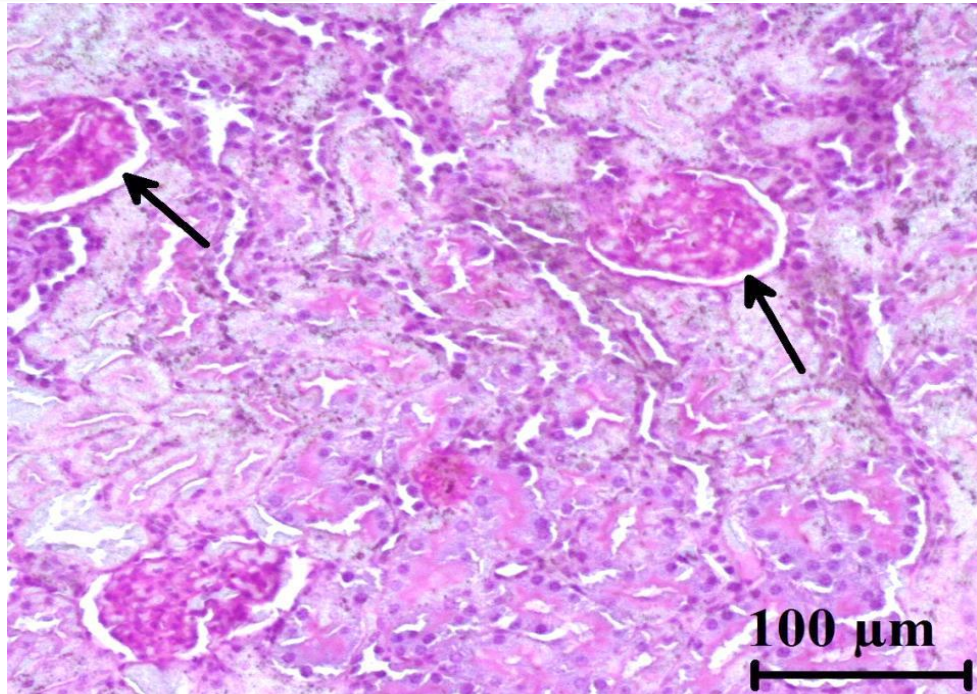


Şekil 4.26. Akut pankreatitli hayvanlara 50mg/kg Karvakrol uygulandığında böbrek korteks bölgesinde kontrollere kıyasla tübüler lümende hiyalinleşmiş atık birikimi ve glikojen deposuna bağlı olarak biraz daha koyu boyanmış hücreler

*Yıldız: Hiyalinleşmiş atık (PAS)

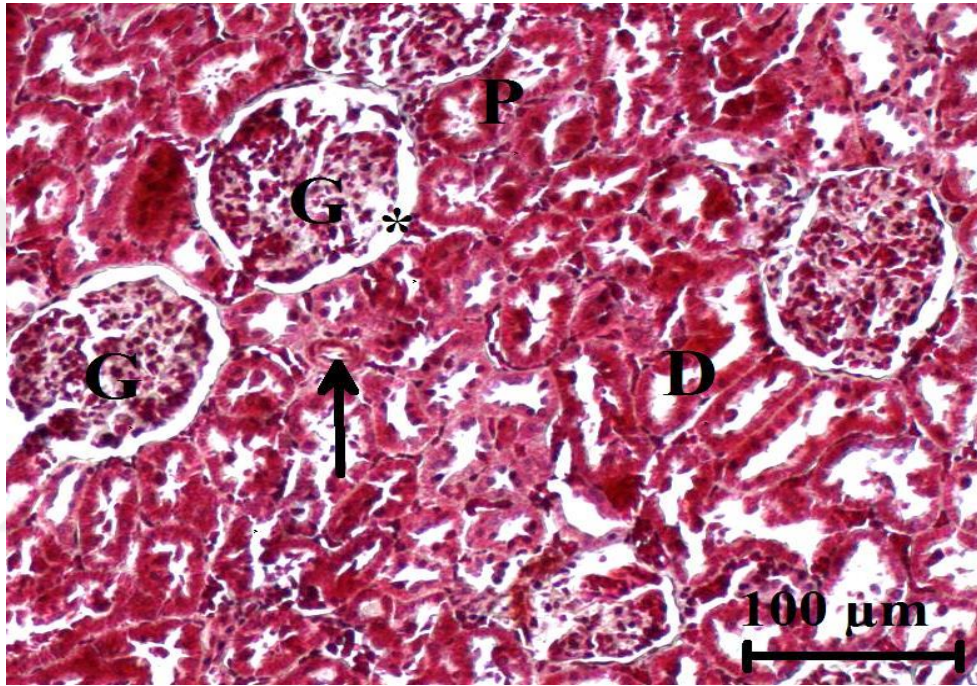


Şekil 4.27. Akut pankreatitli hayvanlara 100mg/kg Karvakrol uygulandığında artan glikojen deposuna bağlı olarak koyu boyanmış hücreler (PAS)



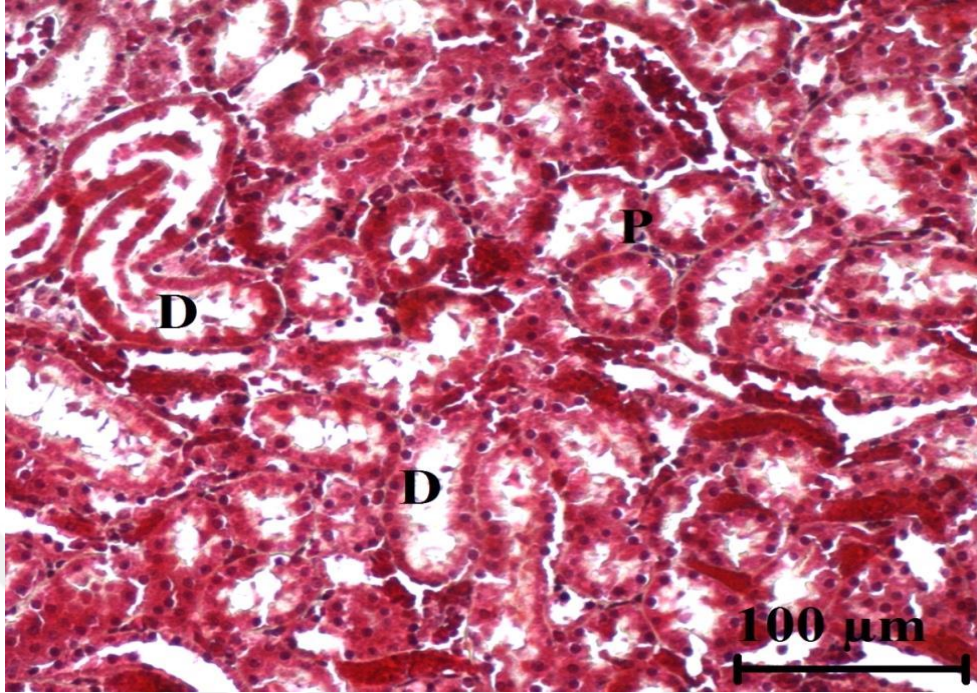
Şekil 4.28. Akut pankreatitli hayvanlara 200mg/kg Karvakrol uygulandığında 100mg/kg Karvakrol grubuna kıyasla artan glikojen deposuna bağlı olarak koyu boyanmış hücreler
*Oklar: Mezenşimal matrikste azalma (PAS)

Masson trikrom boyama metodu ise böbrek dokusundaki kollajen lif miktarını ve yerleşimini tespit edebilmek amacıyla kullanıldı. Kontrol kesitlerde normal histolojik yapı gözlenirken (Şekil 4.29 ve 4.30) Akut pankreatit grubundaki böbreklerde interstisyel dokuda, damar etrafında, intertübüler alanlarda ve glomerülüslerin etrafında kollajen lif miktarının arttığı gözlemlendi (Şekil 4.31-35).

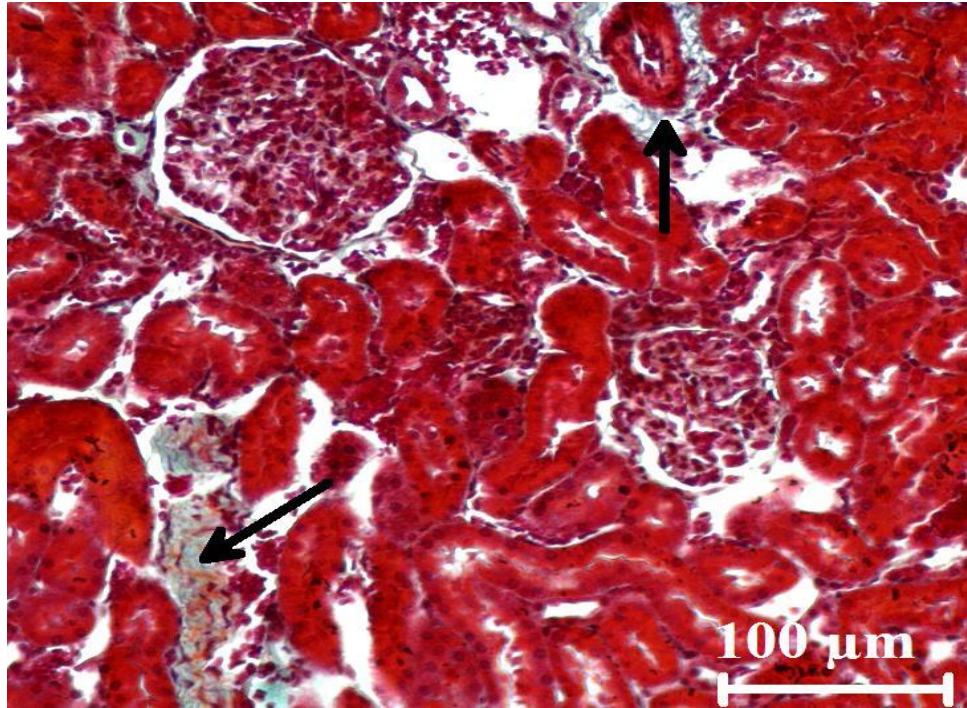


Şekil 4.29. Kontrol grubu normal böbrek histolojisi

*G: Glomerülüs, Yıldız: Bowman mesafesi, D: Distal tübül, P: Proksimal tübül, Ok: Atar damar (Masson trikrom).

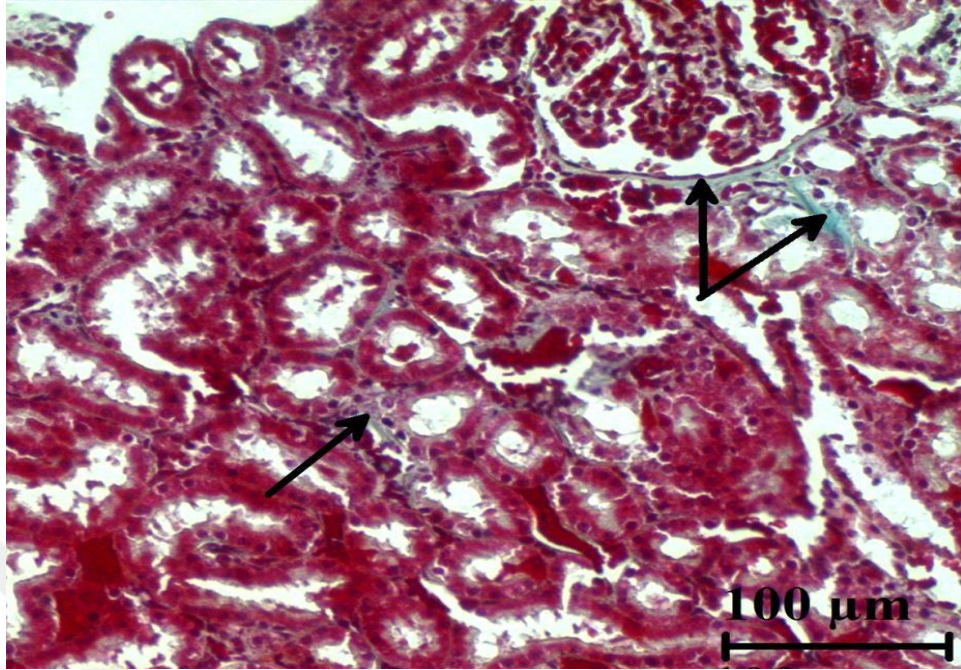


Şekil 4.30. Kontrol grubu böbrek medulla bölgesi normal histolojisi. D: Distal tübül, P: Proksimal tübül (Masson trikrom)

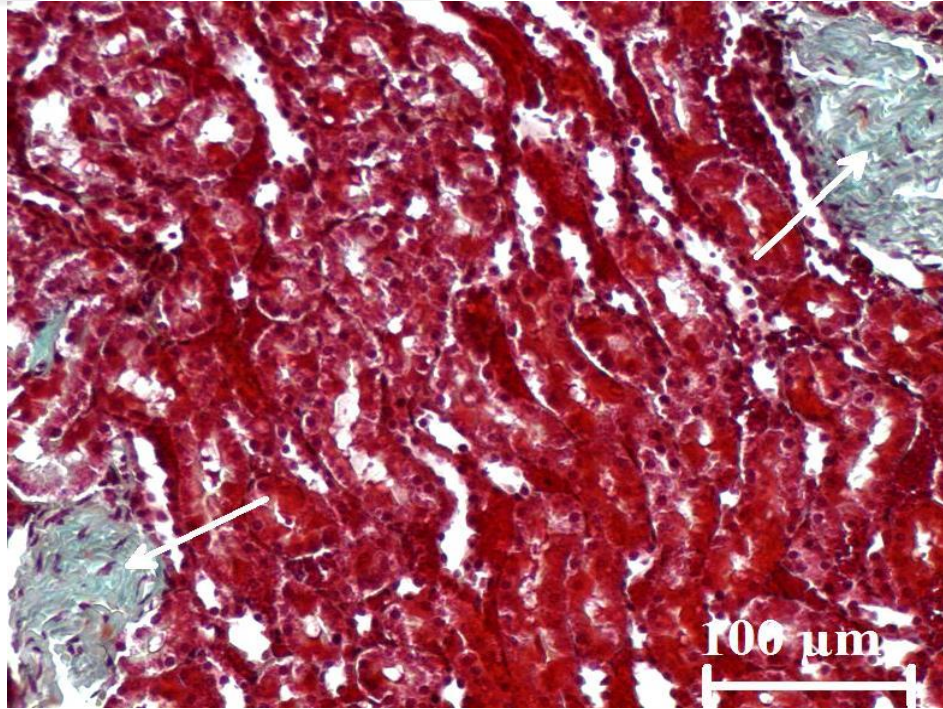


Şekil 4.31. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda kontrollere kıyasla doku arasında ve damar etrafında kollajen lif miktarında artış görülmektedir

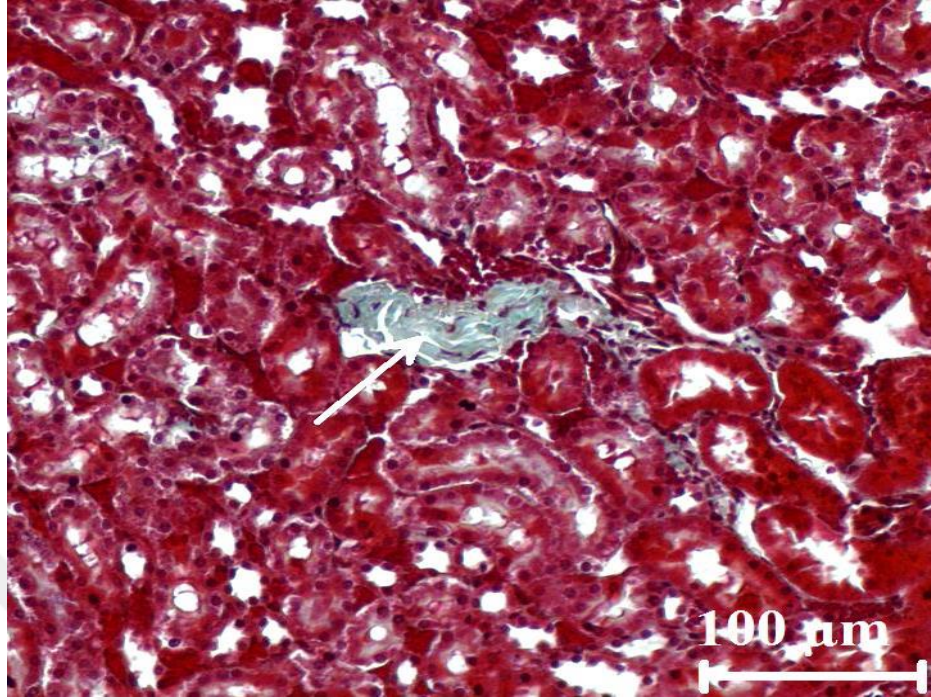
*Oklar: Kollajen lifler (Masson trikrom).



Şekil 4.32. Akut pankreatitli hayvanlarda glomerülüs etrafında artan bağ dokusu
 *Ok: Glomerülüs etrafında kollajen lifler (Masson trikrom).

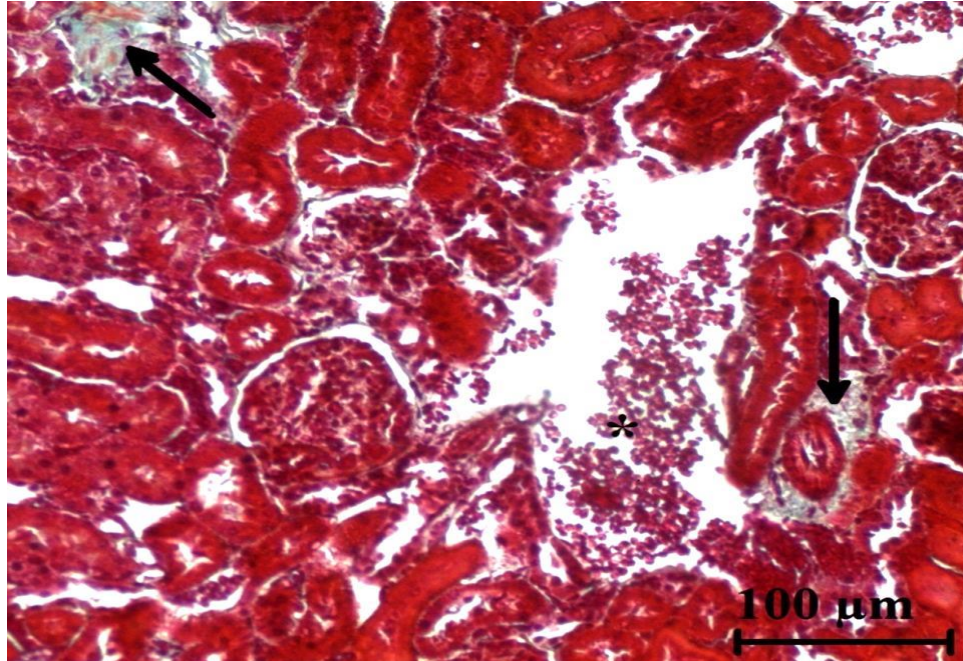


Şekil 4.33. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda medulla bölgesinde kollajen lif miktarında artış
 *Oklar: Belirgin intertübüler fibrözis (Masson trikrom)



Şekil 4.34. Akut pankreatit grubu böbrek dokusunda medulla bölgesinde kollajen lif miktarında artış

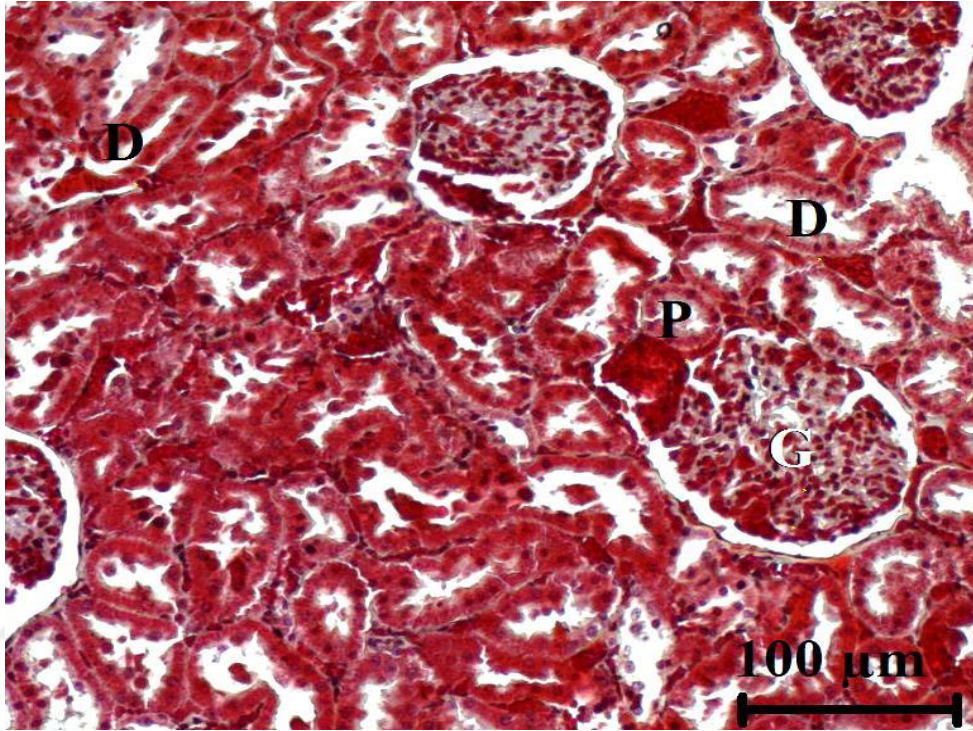
*Ok: İntertübüler fibrözis (Masson trikrom).



Şekil 4.35. Akut Pankreatit grubu böbrek dokusunda medulla bölgesinde kollajen lif miktarında artış ve konjesyon görülmektedir

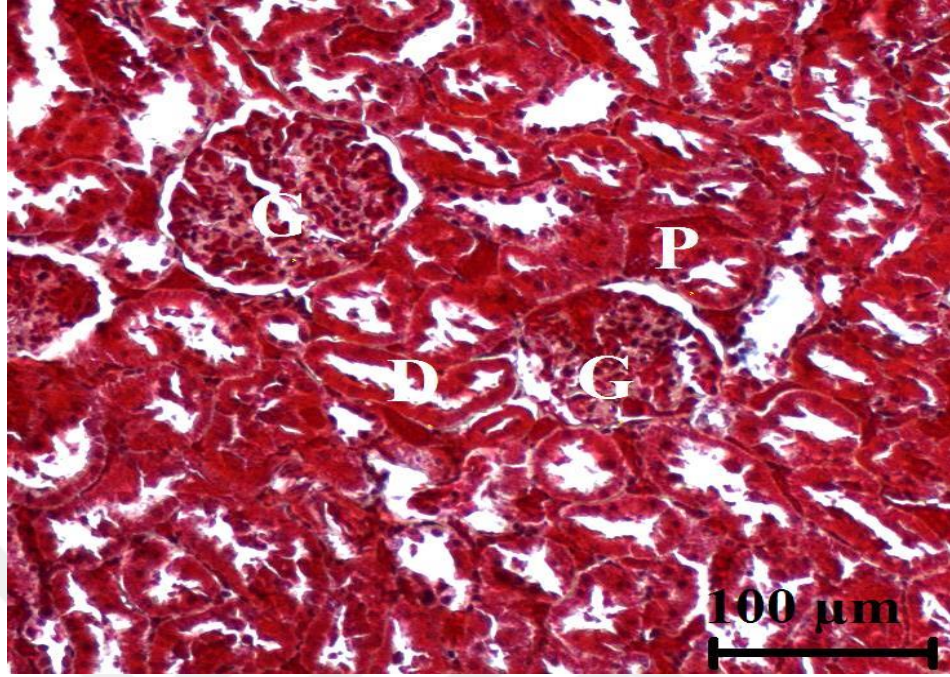
*Ok: Kollajen lif, Yıldız: Konjesyon (Masson trikrom).

Karvakrolün farklı dozlarının uygulandığı gruplara ait böbrek dokusunda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Bu gruplarda böbrek kontrol grubundaki gibi normal histolojik yapı gösterdi (Şekil 4.36, 37 ve 38).

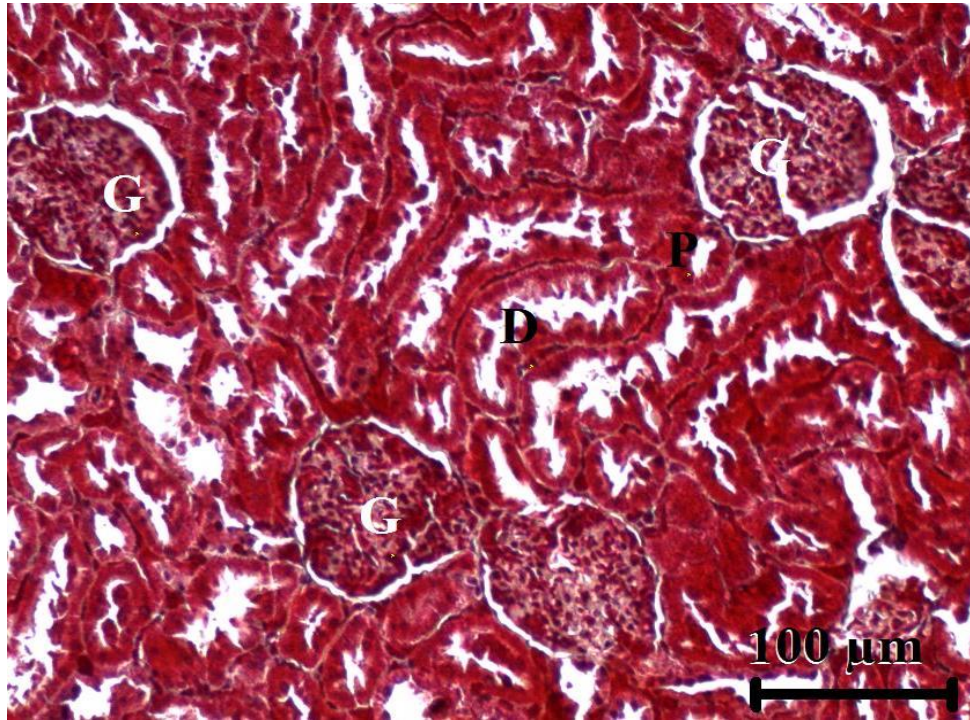


Şekil 4.36. 50 mg/kg Karvakrol grubu

*Kısaltmalar Şekil 4.29'deki gibidir (Masson trikrom)

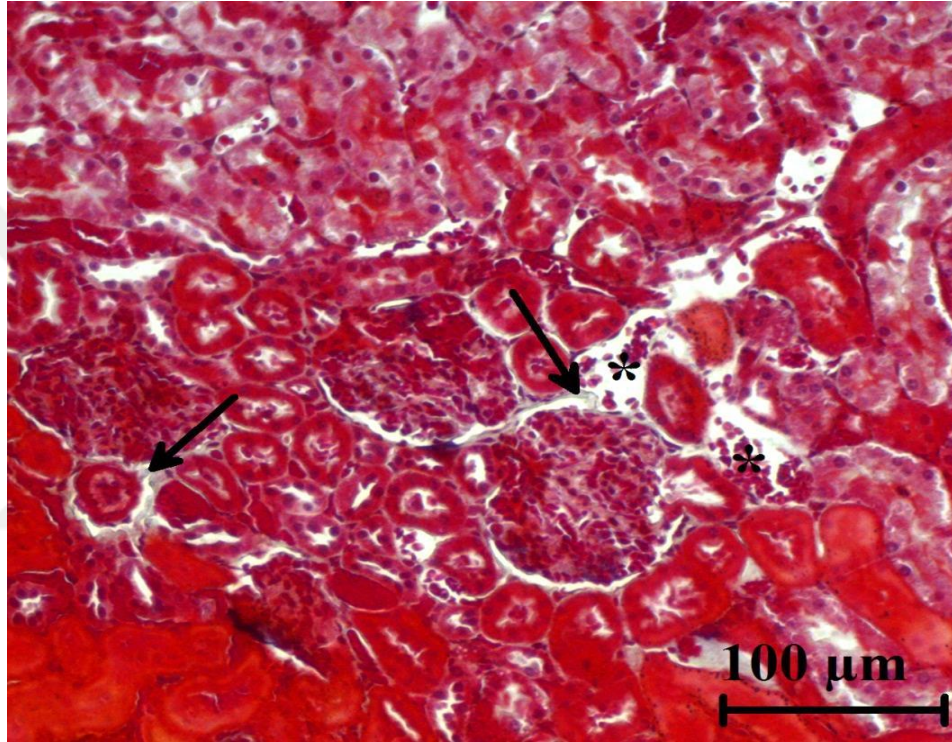


Şekil 4.37. 100 mg/kg Karvakrol grubu
*Kısaltmalar Şekil 4.29'daki gibidir (Masson trikrom)



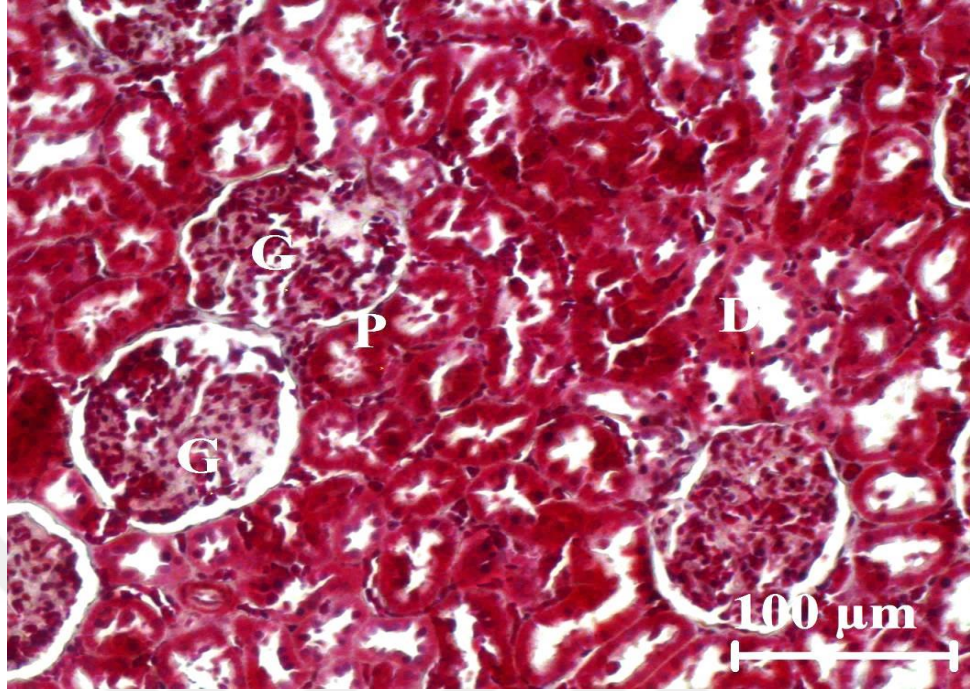
Şekil 4.38. 200 mg/kg Karvakrol grubu
*Kısaltmalar Şekil 4. 29'deki gibidir (Masson trikrom).

Tedavi amacıyla Karvakrol uygulandığında hastalığın oluşturduğu patolojik bulgular maddenin etkisiyle azaltıldı. Fakat bu olumlu etki 50 mg/kg Karvakrol grubunda diğer dozlara kıyasla çok daha zayıf bir şekilde gerçekleşti. 100 mg/kg Karvakrol grubunda glomerülüslerin çevresinde bağ dokusu azalırken (Şekil 4.39), Karvakrolün yüksek dozunda kontrollere benzer kesitler gözlemlendi (Şekil 4.40 ve 41).

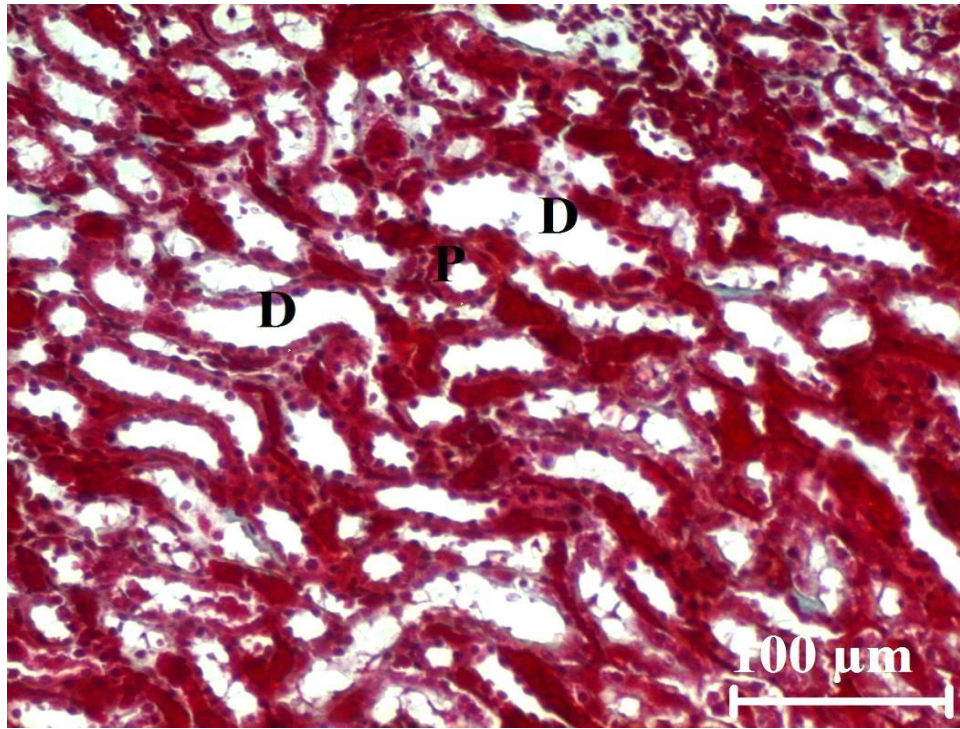


Şekil 4.39. Akut pankreatitli hayvanlara 100 mg/kg Karvakrol uygulandığında glomerülüs etrafında ve damar etrafında azalan bağ dokusu

*Siyah ok: Glomerülüs etrafında kollajen lifler, Beyaz ok: Damar etrafında kollajen lifler Yıldız: Konjesyon (Masson trikrom)

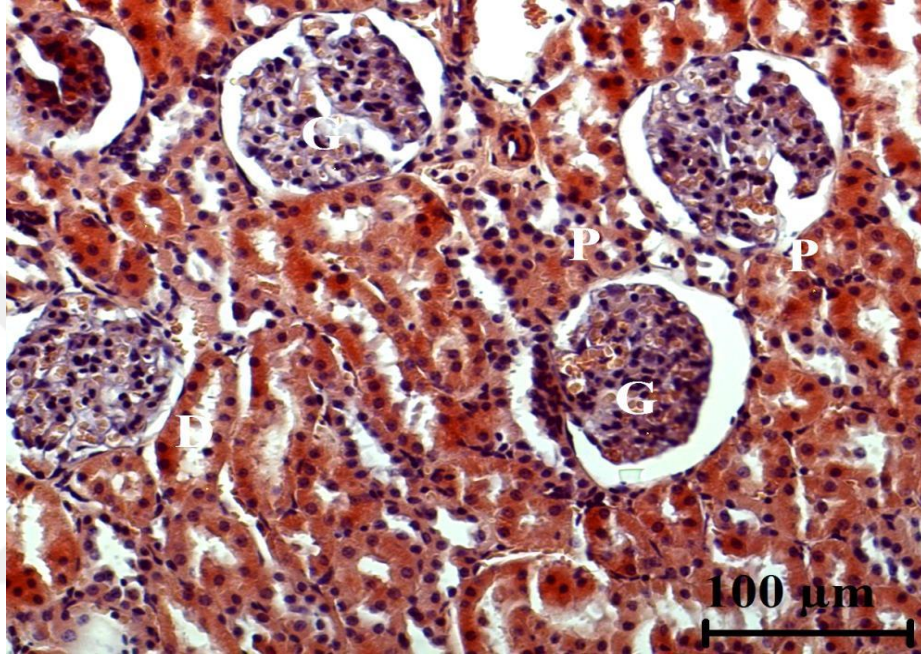


Şekil 4.40. 200mg/kg Karvakrol uygulanmış Akut pankreatitli hayvanlarda böbreğin korteks kısmı (Masson trikrom).



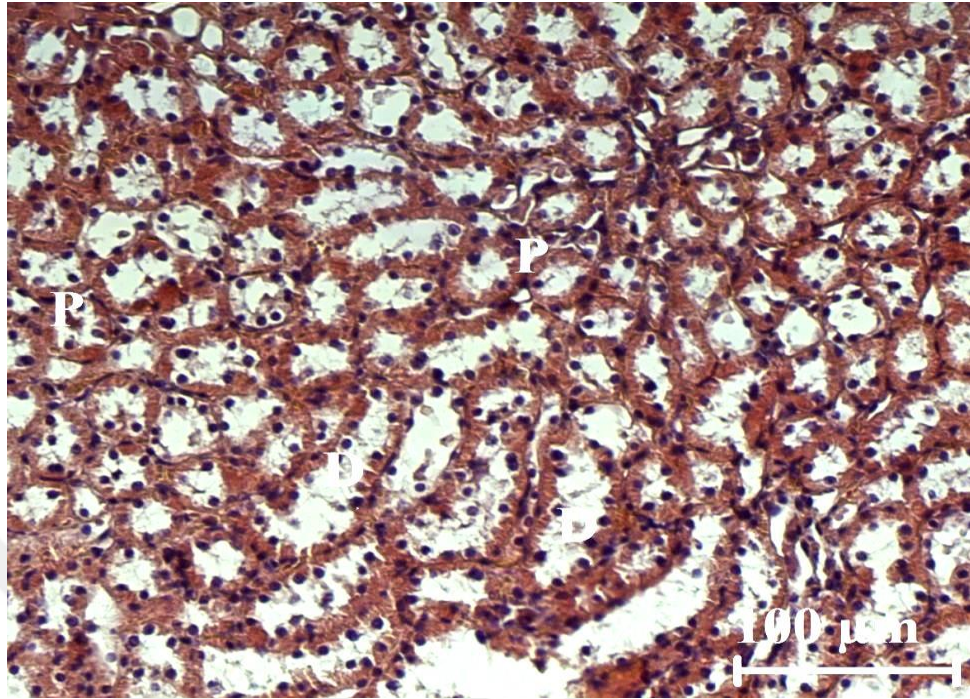
Şekil 4.41. 200mg/kg Karvakrol uygulanmış Akut pankreatitli hayvanlarda böbreğin medullası (Masson trikrom)

Böbrek dokusunda proteininin birikimini belirleyebilmek için Kongo Red boyama metodu uygulandı. Kontrol grubunda normal histolojik yapı söz konusuyken (Şeki 4.42 ve 4.43) Akut pankreatitli hayvanlarda glomerülüs içinde ve interstisyel dokuda artan amyloid birikimi önemli bir şekilde dikkat çekiciydi (Şekil 4.44 ve 4.45).



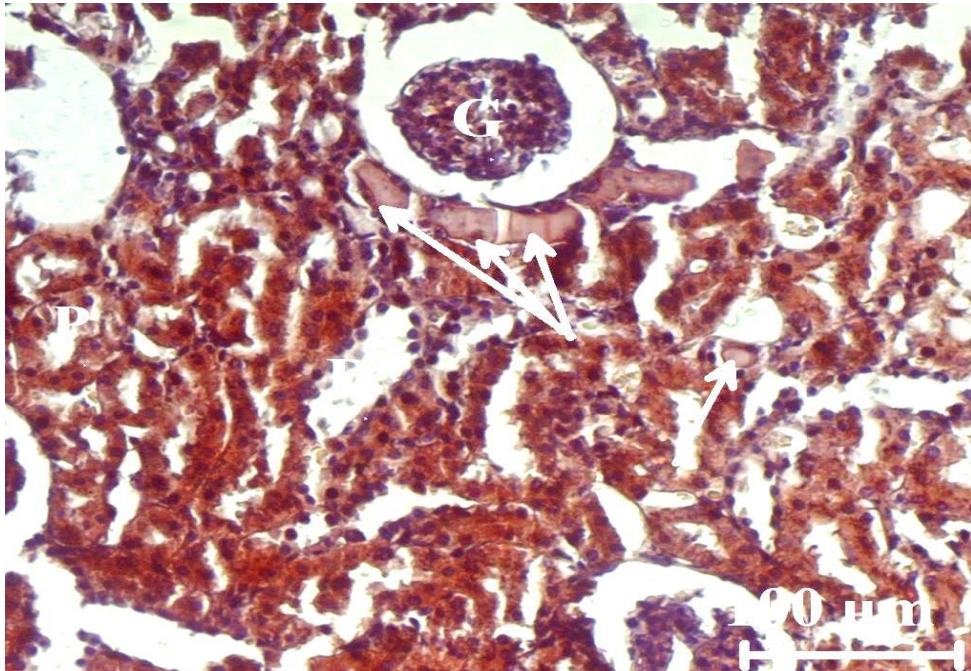
Şekil 4.42. Kontrol grubu böbrek korteks bölgesi

*G: Glomerülüs, D: Distal tübül, P: Proksimal tübül (Kongo Red)



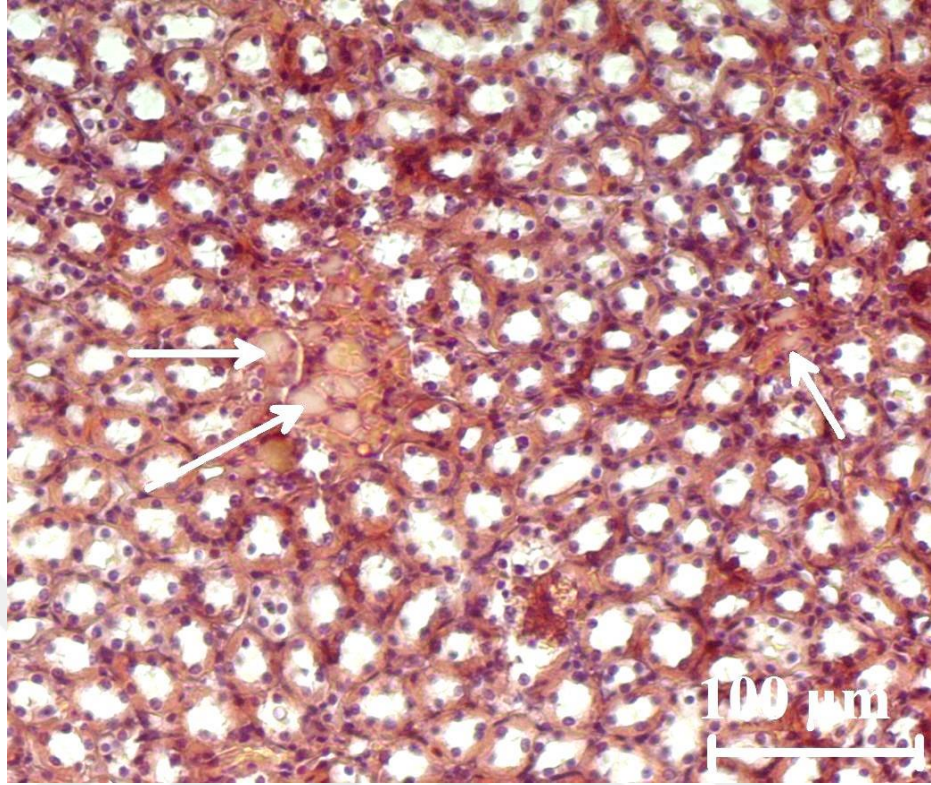
Şekil 4.43. Kontrol grubu böbrek medulla bölgesi

*D: Distal tübül, P: Proksimal tübül, (Kongo Red)



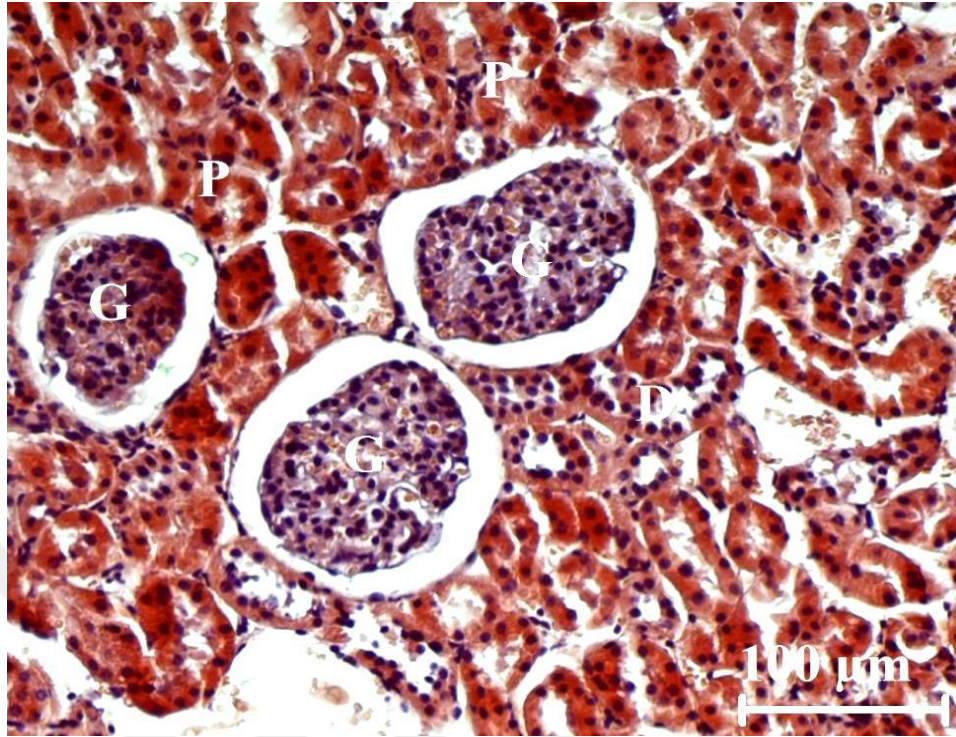
Şekil 4.44. Akut pankreatitli hayvanların böbrek korteksinde amiloid birikimi

*Oklar: Amiloid birikimi (Kongo Red)

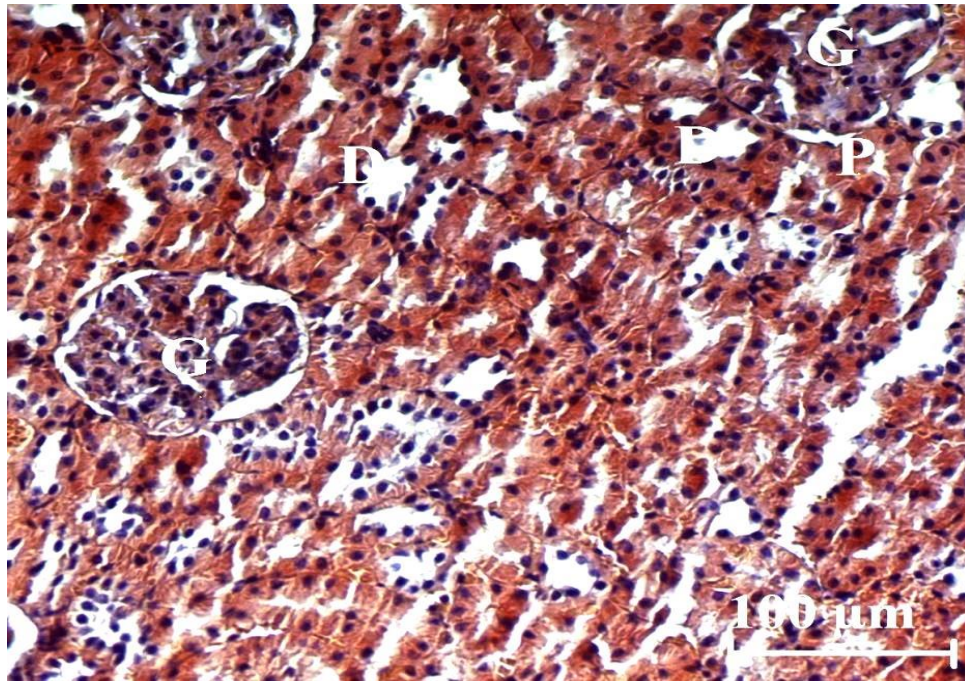


Şekil 4.45. Akut pankreatitli hayvanların böbrek medullasında amyloid birikimi
*Oklar: Amiloid birikimi (Kongo Red).

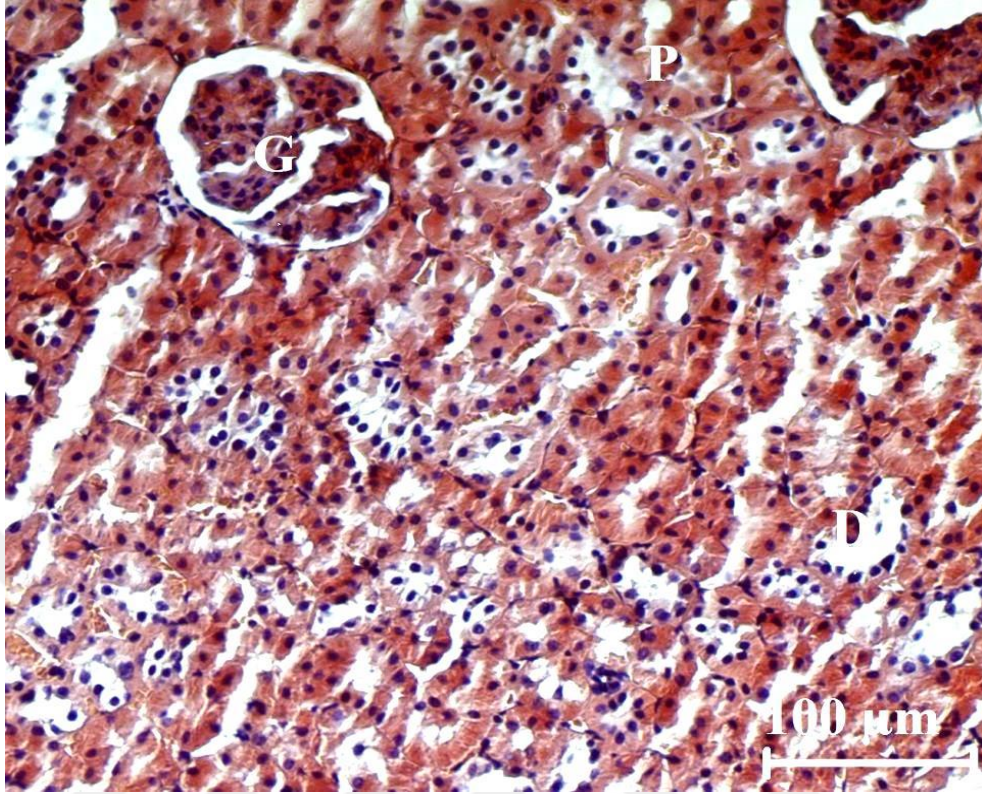
Karvakrolün 50, 100 ve 200 mg/kg'ının uygulandığı gruplara ait böbrek dokusunda ise herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Söz konusu gruplarda böbrek dokusu kontrol grubundaki gibi normal histolojik yapıya sahipti (Şekil 4.47, 48 ve 49).



Şekil 4.46. 50 mg/kg Karvakrol grubu
*Kısaltmalar Şekil 4.43'deki gibidir (Kongo Red)

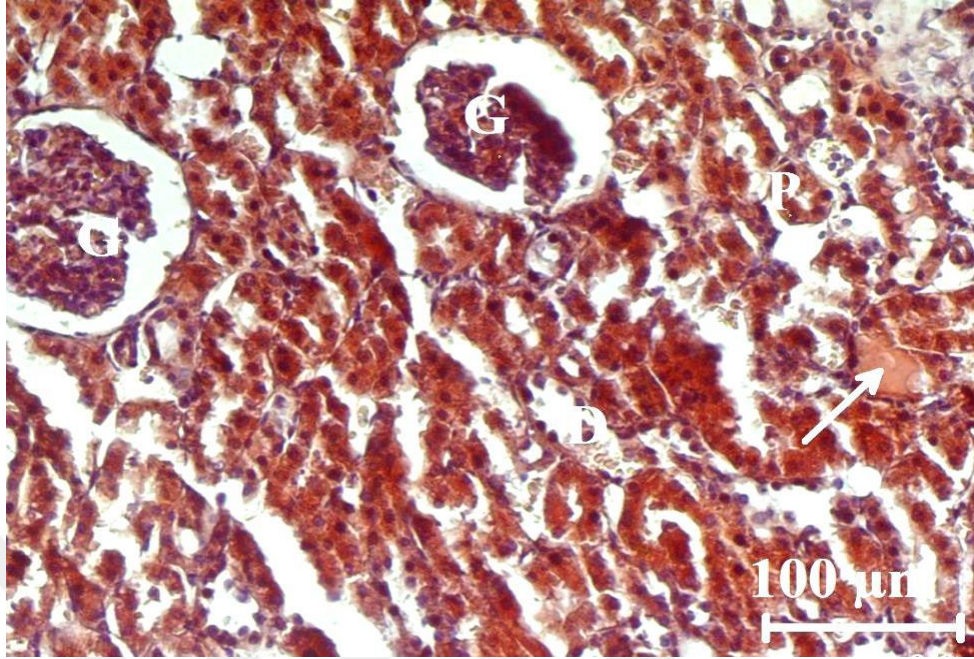


Şekil 4.47. 100 mg/kg Karvakrol grubu
*Kısaltmalar Şekil 4.43'deki gibidir (Kongo Red)



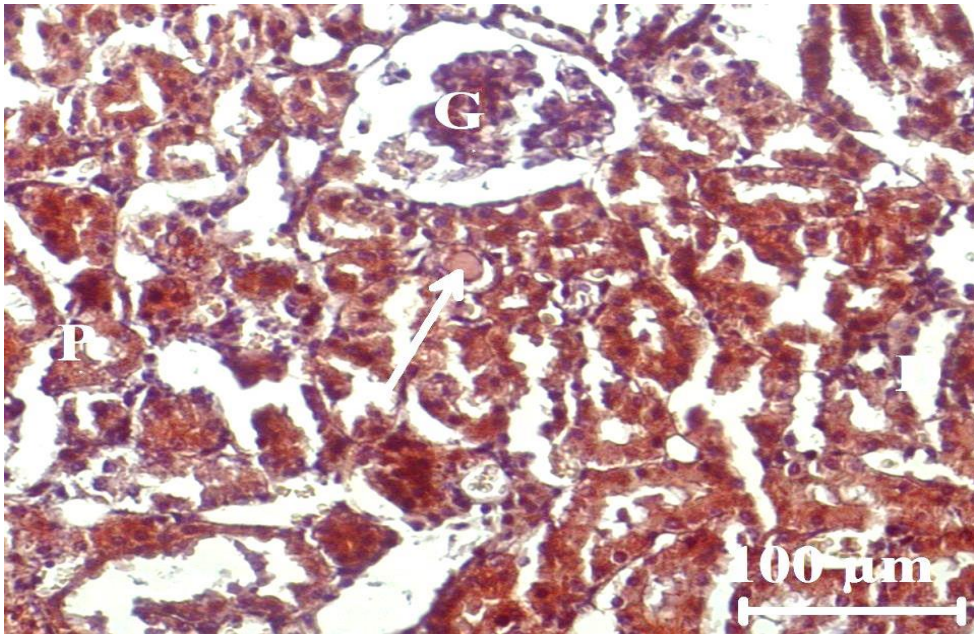
Şekil 4.48. 200 mg/kg Karvakrol grubu
*Kısaltmalar Şekil 4.43'deki gibidir (Kongo Red)

Ancak, Karvakrolün farklı dozları ile muamele edilmiş Akut pankreatitli hayvanların böbrek dokusunda artan doza bağlı olarak amiloid birikiminin azaldığı görüldü (Şekil 4.50, 51 ve 52).

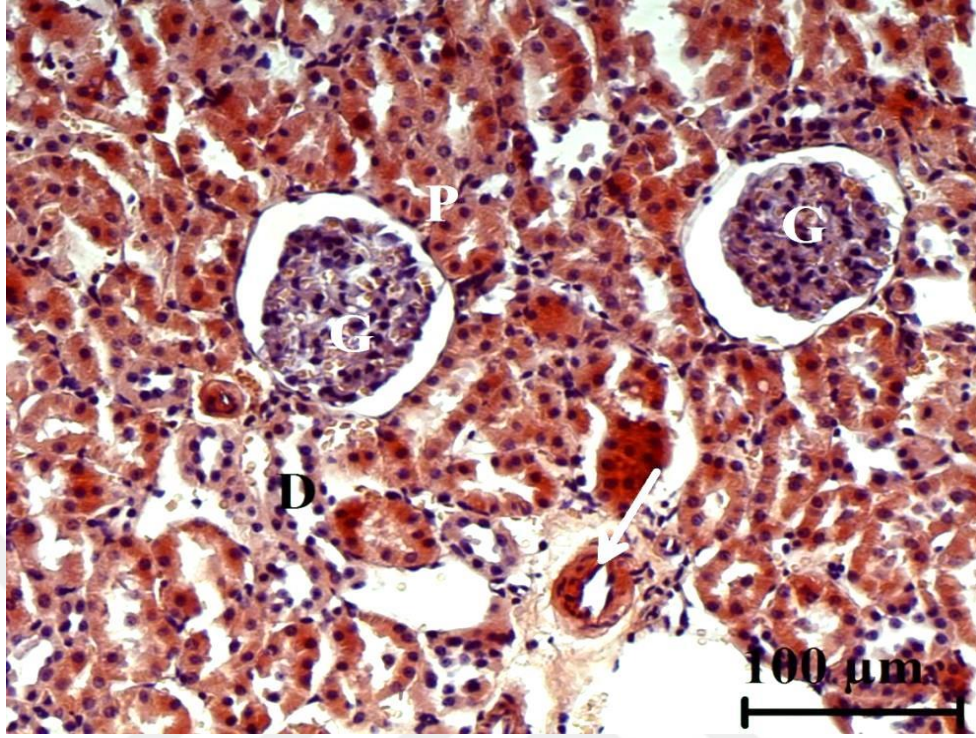


Şekil 4.49. Akut pankreatit+50 mg/kg Karvakrol grubu hayvanların böbreğinde protein birikimi

*Kısaltmalar Şekil 4.43'deki gibidir. Ok: Protein birikimi (Kongo Red)



Şekil 4.50. Akut pankreatit+100 mg/kg Karvakrol grubu hayvanların böbreğinde protein birikimi (Kongo Red)



Şekil 4.51. Akut pankreatit+200 mg/kg Karvakrol grubu hayvanlarda böbrek
 *G: Glomerülüs, P: Proksimal tübül Ok: Arteriol (Kongo Red).

4.4. Histopatolojik Skorlama

Kontrol ve deney grupları arasında gözlenen histopatolojik skorlama bulguları Çizelge 4.5’de sunuldu. 50 ve 100 mg/kg Karvakrol grubu hasta grupla karşılaştırıldığında doza bağlı olarak patolojik skorların azaldığı görüldü. Karvakrolün yüksek dozunda ise böbrekte rastlanan bulguların tespit edilmediği ve kontrole yakın faydalı etkilerinin olduğu anlaşıldı ($p<0.05$).

Çizelge 4.5. Kontrol ve Deney grupları arasındaki patolojik skorlar

Gruplar	Konjesyon (maksimum skor 3) Ort±SD	İnfiltrasyon (maksimum skor 3) Ort±SD	Tübüler nekroz (maksimum skor 3) Ort±SD	Tübüler dilatasyon (maksimum skor 3) Ort±SD
Kontrol	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Akut Pankreatit	4.47±0.71* ^a	3.96±0.21* ^a	3.42±0.47* ^a	3.74±0.52* ^a
Karvakrol 50mg/kg	0.02±0.03	0.04±0.02	0.06±0.07	0.05±0.06
Karvakrol 100mg/kg	0.04±0.02	0.08±0.03	0.04±0.05	0.09±0.03
Karvakrol 200mg/kg	0.05±0.01	0.07±0.05	0.01±0.06	0.08±0.04
Akutpankreatit+ Karvakrol 50mg/kg	3.06±0.16* ^{a, b}	3.84±0.34* ^a	3.35±0.23* ^a	3.60±0.39* ^a
Akutpankreatit+ Karvakrol 100 mg/kg	2.91±0.24* ^{a, b}	1.96±0.17* ^{a, b}	3.31±0.18* ^a	3.60±0.39* ^a
Akutpankreatit+ Karvakrol 200mg/kg	0.39±0.14 ^b	0.57±0.08	0.45±0.06 ^b	0.72±0.11 ^b

*Sembolü kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki belirgin farklılığı ifade eder (p<0,05). a,b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir. Ort: ortalama değer, SD: standart sapma. Teixeira *et al.* (1982) ve Sheashaa *et al.* (2016)'dan yararlanılmıştır.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Akut pankreatitli hastalarda ölümlerin en önemli nedenlerinden birisi çoklu organ yetmezliğidir (Yang *et al.* 2013). Çoklu organ yetmezlikleri arasında hastalığın tespit edilmiş en önemli komplikasyonu ciddi böbrek yetmezliğidir (Yu *et al.* 2012; Rybak *et al.* 2015). Bundan dolayı da günümüz araştırmalarının odağını, başta renal hasarlar olmak üzere hastalıkla etkilenen diğer organların korunma ve tedavisi oluşturmuştur.

Bu çalışmada, serulein enjeksiyonlarından sonra hayvanlarda Akut pankreatit modeli geliştirilmiştir. Serulein'in intraperitoneal enjeksiyonları hayvanlarda deneysel Akut pankreatit modeli oluşturmak için çok yaygın bir şekilde kullanılmış, α -amylase ve lipaz gibi sindirim enzimlerinin pankreastan sızarak pankreasın yapısını bozması serulein ile teşvik edilmiş Akut pankreatitin ciddiyetini tespit etmek için ana parametreler olarak değerlendirilmiştir (Spormann *et al.* 1989; Choi *et al.* 2016). Amilaz ve lipaz seviyesinin kanda artması pankreasın erken asiner hücre hasarları ve sonuçta inflamatuvar süreçleri hakkında önemli bilgiler sunmuştur (Sarr *et al.* 2013). Böylece, bu çalışmada öncelikle Akut pankreatitin pankreasa verdiği hasarın ciddiyetini tespit etmek için amilaz ve lipaz enzimlerinin seviyeleri ölçülmüştür. Çalışma sonuçları seruleinle pankreastaki enzim aktivitelerinde belirgin artışların olduğunu ve bu artışların Karvakrol ile inhibe edilebildiğini ortaya koymuştu. Mevcut çalışmada serulein ile teşvik edilmiş Akut pankreatit modelinde sıçan böbrek hücrelerinde MDA değeri belirgin bir şekilde yükselmiş ve bu durum literatür bilgilerine dayanılarak organda yoğun oksidatif stresin varlığını göstermiştir. Deneysel araştırmaların büyük bir bölümü Akut pankreatitin patogenezinde bilhassa hastalığın erken evresinde oksidatif stresin önemini vurgulamıştır (Reinheckel *et al.* 1999; Modzelewski and Janiak 2005). Bu hastalıkta reaktif oksijen türlerinin aşırı üretiminin enzimatik radikal savaşçıları etkisiz hale getirdiği ve serbest radikallerin pankreas parankimasının oksidatif hasarına katkıda bulunan önemli faktörlerden birisi olduğu rapor edilmiştir. Diğer taraftan bu oksidatif radikallerin farklı biyolojik proseslerde gen ifadesi ve transkripsiyon faktörlerinin önemli regülatörleri olabilecekleri belirtilmiştir (Schulz *et al.* 1994; Urunuela *et al.* 2002). Ancak

dokularda aşırı bir şekilde üretilmiş reaktif oksijen çeşitlerinin membran protein ve lipidlerine saldırarak proteinlerde oksidatif modifikasyonlarla protein bağlı karbonil gruplarının oluşmasına ve aynı zamanda lipid peroksidasyonunun ayrışma ürünlerinden olan aldehitik madde MDA'nın üretilmesine rehberlik ettikleri de önemle vurgulanmıştır. Bu yüzden de oksidatif stres ürünlerinin üretim ve birikiminin Akut pankreatit hastalığının ciddiyetinin gösterilmesinde en belirgin işaretçiler oldukları düşünülmüştür (Bian and Tsang 2014; Mirmalek *et al.* 2016). Araştırmalar, artan MDA'nın Akut pankreatitte doku hasarı ve organ başarısızlığı ile doğrudan ilişkilendiğini ortaya koymuş ve bu işaretçi doku hasarından 3-5 saat sonra pik oluşturduğundan erken Akut pankreatit tanısında önemli bir parametre olarak değerlendirilmiştir (Schoenberg *et al.* 1990). Akut pankreatitin patogeneze katılan inflamatuvar mediyatörlerden birisi olan MDA böbrek tübüllerinde membran peroksidasyonuna rehberlik etmiş ve hücelere doğrudan zarar verebilmiştir (Ienaga 2013). Mevcut çalışmada Karvakrolün iyileştirici etkisinin incelenmesi amaçlanmış ve bu amaçla üç ayrı dozu denenmiştir. Çalışılan dozlarda Karvakrolün böbrek hücrelerinin biyolojik aktiviteleri üzerinde belirgin bir etki gösterdiği ve özellikle de 200 mg/kg dozunun renal doku üzerinde önemli bir koruyuculuk sunduğu anlaşılmıştır ($p < 0.05$). Araştırma sonuçları serulein uygulanmasından sonra sıçan böbreğinde oksidatif stresle indüklenen bozuklukların Karvakrolün uygulanmasıyla belirgin bir şekilde düzeldiğini ortaya koymuştur. Karvakrol muamelesi esasen Akut pankreatit ile uyarılan MDA'nın artışını önlemiştir. Önceki çalışmalarda Karvakrolün son derece lipofilik oluşu ve diğer lipid bileşenlerine ve hücre membranlarına yerleşebilmesinden dolayı reaktif oksijen türlerini maksimum seviyede ortadan kaldırma yeteneğine sahip olabileceği rapor edilmiştir (Reiner 2013; Samarghandian *et al.* 2016). Diğer taraftan, Karvakrolün lipozomal membranların lipid peroksidasyonlarında inhibisyon etkileri ve serbest radikal temizleyici özellikleri de rapor edilmiştir (Aeschbach 1994).

Son çalışmaların ilgi odağını ise serbest radikal kaynaklarının modülasyonu ile ilgili araştırmalar oluşturmuştur. Nitekim Akut pankreatit'te etkisiz hale gelmiş enzimatik radikal savaşçıları ve hiperaktif oksidatif sistemlerden dolayı reaktif oksijen

parçacıklarının doku hasarlarında oksidatif strese katkıda bulunan en önemli faktör olduğuna inanılmıştır. Bu yüzden Akut pankreatitin tedavisinde Antioksidanlar uygun terapötik yaklaşımlar olarak düşünülmüştür. Normal fizyolojik şartlarda intrinsik Antioksidan sistemlerle (glutasyon ve E vitamini gibi) ve enzimatik serbest radikal savaşçılarıyla (glutasyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz) reaktif oksijen türlerinin eliminasyonu sağlandığından Antioksidan parametrelerin değerlendirilmesi etkili terapötik yaklaşımların ana göstergeleri olarak kabul edilmiştir (Forsmark and Toskes 1995; Criddle 2016).

Bu *in vivo* çalışmada Akut pankreatitli sıçanların böbrek hücrelerinde SOD aktivitesi belirgin bir şekilde azalmış ve böbrekte önemli patolojik bulgular gözlenmiştir. Dokularda Antioksidan savunmayı SOD, KAT ve GSH-Px gibi önemli enzimlerin aktivasyonu oluşturmuştur. Akut pankreatitte hastalığın ciddiyetine bağlı olmaksızın SOD aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir. SOD'un lipid peroksidasyonunun önlenmesi ve doku nekrozunda koruyucu role sahip olduğu belirtilmiş aynı zamanda bu enzimin dokularda ödemlerin önlenmesi ve dokunun enflamasyon cevaplarından etkilenmemesinden de sorumlu önemli bir Antioksidan olduğu kanıtlanmıştır (Schoenberg *et al.* 1990; Abu-Hilal *et al.* 2006; Ding *et al.* 2016). Üstelik pankreasta glutasyonun azalan seviyeleri dokularda ve vücutta oksidatif stresin varlığını teklif etmiştir (Meher *et al.* 2015). Mevcut araştırmada Antioksidan savunmadaki belirgin değişiklikler ilk defa Karvakrolün koruyucu etkisini ortaya koymuş ve böbrekte SOD, KAT ve GSH-Px enzimlerinin aktivitelerinde belirgin artışlar tespit edilmiştir. Bu durum Karvakrolün serbest oksijen radikallerini temizleyici etkisini göstermiş buna bağlı olarak da böbrek morfoloji ve yapısı korunabilmiştir. Önceki çalışmalarda Akut pankreatite bağlı olarak karaciğerde SOD ve GSH-Px aktivitesinde değişikliklerin gözlemlendiği ve bu değişikliklerin melatoninle azaltıldığı kaydedilmiştir. Diğer taraftan, melatoninin faydalı etkisinin KAT enzimine kıyasla pankreastaki SOD enzim aktivitesi üzerinde daha fazla olduğu belirtilmiştir. Pankreasta SOD ile üretilmiş H₂O₂'in KAT veya GSH-Px'in substratı olarak görev yapabileceği belirtilmiş ve bu durumun, KAT aktivitesindeki yükselme ve GSH-Px aktivitesindeki eksiklik ile açıklanabileceği rapor edilmiştir. İncelenen dokularda enzim aktiviteleri

arasındaki farklılıkların Antioksidanın karaciğerde lipid peroksidasyonunu önleyebilme oysa pankreasta bunu başaramama durumuyla ilgili olabileceği kaydedilmiştir. Böylece serbest radikal savaşçılığının zayıf olması Akut pankreatitli hastalarda mortalite nedenlerinden sayılmıştır (Szabolcs *et al.* 2006; Baser *et al.* 2015). Hidroksil grubu ve delokalize elektron sisteminin varlığı Karvakrol gibi fenolik bileşiklerin Antioksidan aktivitesi için önemli sayılmış ve böyle özel bir yapı hidrojen veya elektron vericiler ile birlikte reaktif oksijen parçacıklarını etkisiz hale getirmek için indirgeyici maddeler olarak fonksiyonel olabilmeyi sağlamıştır (Oke *et al.* 2009). Önceki bir araştırmaya göre Karvakrol erkek wistar albino sıçanlarda diethylnitrosamine-kaynaklı karaciğer kanserinde Antioksidan sistemi koruyucu özellik sergilemiştir (Jayakumar *et al.* 2012). Mevcut çalışmada renal hücrelerde Karvakrol doza bağlı bir şekilde Antioksidan savunmayı artırmıştır. Savunma sisteminin stres kaynaklı modülasyonunda hücrelerin serbest oksijen türlerinin toksik etkisinden kendilerini koruyabilmek için birçok mekanizmaya sahip olduğu ancak serbest radikal temizleyicileri olan KAT ve SOD aktivitelerinin böbrekte belirgin bir koruma sağlayabildiği kaydedilmiştir (Thamilselvan *et al.* 2000; Bousta 2001; Mohebbati *et al.* 2016). Hücrelerin SOD ve KAT'ı kullanarak H₂O₂'i hızlıca suya dönüştürmek suretiyle süperoksit radikallerini ortadan kaldırdığı ve aynı zamanda GSH-Px enziminin aktivitesi ile mitokondrilerde normal metabolizma sırasında oluşan hidrojen peroksitin sebep olduğu reaktif oksijen türleri-kaynaklı oksidatif hasarlardan hücre membranlarını koruduğu belirtilmiştir. Bu bağlamda GSH-Px'in lipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyerek serbest oksijen radikallerinin zararlarına karşı hücreleri savunduğu da tespit edilmiştir. Bu enzimlerin aktivitesindeki herhangi bir değişikliğin hidrojen peroksit ve süperoksit radikallerinin birikmesi nedeniyle hücrelere aşırı derecede zarar vereceği rapor edilmiştir (Romeu *et al.* 2002; Zhou and Yao 2013).

Bilim adamları bugüne kadar Akut pankreatit kaynaklı böbrek yetmezliğinin ana nedenlerinin böbrek hasarının temelinde yatan sistemik mikrosirkülasyon bozuklukları ve kademeli bir şekilde artan indüklenmiş inflamatuvar mediyatörler olduğuna inanmışlardır (Kamei 2010). Ancak günümüzde Akut pankreatit sürecinde

çalışmaların açıklamakta yetersiz kaldığı özel patolojik bir olgu vardır. Hastalıkla ilgili muammalar hipotezlerle açıklanabilmiş ve Akut pankreatit ile ilişkili böbrek sendromlarının mekanizmasını daha açık bir şekilde anlamamıza yardımcı olabilmektedir. Farklı oksijen radikal türlerinin ağır hücre hasarlarına yol açtığını ve bu durumun da Akut pankreatitin dokularda patofizyolojik değişiklikleri başlatması açısından önemli olabileceği kanaatine varılmıştır (Sporek *et al.* 2016).

Bu araştırma aynı zamanda Akut pankreatitle gelişen böbrek nekrozunun oksidatif stres ile ilişkisini değerlendirmiştir. Bu değerlendirmenin hastalıkla teşvik edilen böbrek hasarlarının daha net bir şekilde yorumlanabilmesine rehberlik edeceği düşünülmüştür. Sonuçlarımız seruleinin böbrek dokusunda infiltrasyon, hemoraji ve belirgin tübüler nekroz gibi önemli patolojik bulguları teşvik ettiğini göstermiştir. Önceki araştırmacılar belirtilen patolojik bulguların serulein uygulamasıyla oluşturulan Akut pankreatit hastalığının kötücül bir sonucu olarak renal dokuda gözlenebilen spesifik bulgular olduğunu rapor etmişlerdir (Willemer 1992; Blundell and Adam 2013; Jacob *et al.* 2014). Aynı zamanda bu modelde reaktif oksijen türlerinin inflamatuvar aracı olarak davranabileceği ve büyük lipid peroksidasyonlarıyla oluşan MDA gibi bazı metabolitlerle doku komplikasyonlarına yol açabileceği kaydedilmiş veriler arasındadır (Snook *et al.* 2008; Iaremchuk and Posokhov 2010). Renal hasarların Akut pankreatitin sistemik inflamatuvar yanıtındaki tahrip edici aktivasyonuna ve sirkülasyondaki MDA'nın salınımına bağlı olarak gelişebileceği belirtilmiştir (Petrov 2010; Yang *et al.* 2014). Oksidatif stresin vasküler permabiliteyi artırarak, lökosit infiltrasyonu ve hemorajiyi teşvik ettiği ve nihai doku nekrozuna yol açarak böbrekte pro-inflamatuvar mediatör gibi hareket edebileceği rapor edilmiştir (Suppiah *et al.* 2013). Bu bulguya dayanılarak Akut pankreatit modelinde oksidatif strese bağlı olarak lökositlerin inflamasyona katıldığı açık bir şekilde ifade edilebilmiştir (Luan *et al.* 2013).

Verilerimiz Karvakrolün artan dozlarda *in vivo* şartlarda böbrek hücreleri üzerinde doğrudan güçlü bir etki gösterdiğini ve lökosit infiltrasyonunu önlediğini açıkça göstermiştir. Bu bulgu artan dozlarda Karvakrolün gastrik lezyonlarda inflamasyona

karşı koruyucu etkisinin olduğunu belirten çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu gözükmiştir (Silva *et al.* 2012). Diğer taraftan Karvakrolün inflamasyonda önemli roller oynayan reseptörleri kontrol edebildiği tespit edilmiştir (Hotta *et al.* 2010). Gerçekte Antioksidanların doku inflamasyonu ve MDA sonucunda ve ayrıca sistemik redoks dengesini olumlu yönde etkilemede potansiyel bakımdan faydalı oldukları anlaşılmıştır (Fabian *et al.* 2013). Sonuçlarımız önceki bulguları doğrulamış ve Karvakrolün böbrek yetmezliğiyle ilişkili Akut pankreatitin patolojisini azaltmada belirgin krüyucu bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Aynı zamanda bu etkinin potansiyel mekanizmasının oksidatif stresin inhibisyonuna bağlı olduğunu kanıtlamıştır. Karvakrolün eritrositlerin D-galaktosamin-kaynaklı lipid peroksidasyonunu korumada etkili Antioksidan olabileceği belirtilmiştir (Aristatile *et al.* 2009). Nitekim monoterpenlerin bitkilerde önemli Antioksidan bileşikler olduğu anlaşılmıştır (Saei-Dehkordi *et al.* 2010).

Hemoraji Akut pankreatitli hayvanların farklı dokularında yaygın bir şekilde gözlenmiştir (Zhao *et al.* 2013; Hoshimoto *et al.* 2016). Artan vasküler permabilitenin eritrositlerin ekstrasvazasyonuna (damar dışına akmasına) yol açarak hemorajiye önemli ölçüde katkıda bulunabileceği rapor edilmiştir. Bu bağlamda böbreğin pankreatik venöz akışı sağlayan organlardan birisi olduğu ve organda belirgin bir kan akışının vuku bulduğu belirtilmiştir (Kes *et al.* 1996; Shields *et al.* 2002). Böylece böbreğin Akut pankreatit durumunda serbest oksijen radikalleri aktivasyonunun bir sonucu olarak yüksek oranda hasar görmesi nekrotik dokudaki büyük alanlarda hemorajik durumun makroskobik olarak da gözlenebilmesine neden olmuştur (Muñoz-Casares *et al.* 2006). Oysa bu çalışmada Karvakrol renal dokuda hemorajiyi önemli ölçüde azaltmış ve bu durum mikroskobik incelemelerimizle açık bir şekilde gösterilmiştir. Önceki bir araştırma bulgusuna göre de Karvakrolün sirkülasyon problemleri ve lenf hastalıklarının tedavisinde faydalı olabileceği belirtilmiştir (Esmaeili 2013).

Böbrekte fibrozisin gelişmesi ciddi patolojik bulgular arasında sayılmıştır (Wen *et al.* 2011). Bu çalışmada bağ dokusu boyalarından Masson trikrom ile boyanmış

kesitlerde Akut pankreatite bağılı olarak böbreğin interstisyel dokusunda, intertübüler alanlarda, glomerülüslerin ve damarların etrafında yoğun kollajen lif birikimleri gözlenmiştir. Hastalığın sonucu olarak farklı doku ve organlarda belirgin fibrozis tespit edilmiş (De Boeck *et al.* 2005) ve bu durum renal fonksiyon bozukluğunun en önemli nedenlerinden sayılmıştır (Saeki *et al.* 2016). Bu nedenle de günümüzde kullanılacak terapötik maddelerin fibrözise karşı böbreği koruması hedeflenmiştir (Kuma *et al.* 2015). Bu bağlamda Antioksidanların Akut pankreatit ile teşvik edilmiş fibrozise karşı güçlü bir koruma sağladığı anlaşılmıştır (Siech *et al.* 2009). Mevcut çalışmada Karvakrolün böbrek dokusunda anti-fibrotik özellikler sergilediği gözlenmiş benzer durum akciğerde de rapor edilmiştir (Amato *et al.* 2016).

Bu araştırmada PAS ve Kongo Red boyamalarından sonra tübül lümenlerinde belirgin bir şekilde protein depoları görülmüştür. Oksidatif stres sonucunda böbrekte protein depolarının şekillenebileceği ve bu durumun da tübüler nekroza yol açabileceği rapor edilmiştir (Monteiro *et al.* 2015). Ancak mevcut çalışma Karvakrolün böbrek dokusunda hem amiloid birikimini önlediğini hem de tübüler hasarları önleyerek Akut pankreatite bağılı olarak gelişen böbrek hasarlarını doza bağılı bir şekilde önlediğini mikroskopik gözlemler ışığında net bir şekilde sergilemiştir.

Akut pankreatitli sıçanlarda böbrek yetmezliğinin önemli parametreleri olarak düşünülen BUN ve Ürik asitin yükselmesi böbreğin fonksiyonel bakımdan da kusurlu olduğunu göstermiştir (Zhao 2013; Li *et al.* 2015). Renal yetmezliğin hastalık durumunda kreatinin seviyesinin yükselmesiyle daha da belirgin bir hale geldiği belirtilmiştir (Le Champion *et al.* 2013). Bu durumun Akut pankreatitin sebep olduğu oksidatif strese bağılı olabileceği düşünülmüştür. Mevcut araştırma bulgularına göre Karvakrolün etkisiyle renal fonksiyonda istatistiksel bakımdan anlamlı bir iyileşme gözlenmiş ($p<0.05$) ve 200 mg/kg Karvakrol dozu Akut pankreatitli sıçanların böbreklerinde tübüler dejenerasyonları belirgin bir şekilde önlemiştir. Nitekim Karvakrolün konsantrasyona bağılı olarak Antioksidan aktivite

sunduğu ve onun bu özelliğinin önemli olduğu belirtilmiştir (Saei-Dehkordi *et al.* 2010).

Günümüze kadar Akut pankreatit kaynaklı doku sendromları üzerinde Karvakrolün etkisi ile ilgili literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu araştırma sonuçları Akut pankreatitin sebep olduğu böbrek hasarlarına karşı Karvakrolün faydalı etkilerinin olduğunu biyokimyasal ve histolojik veriler ışığında ilk defa ortaya koymuştur. Çalışma bulgularına göre, söz konusu hastalıkla teşvik edilmiş oksidatif strese karşı Karvakrol, böbrek morfoloji ve fonksiyonunu koruyabilecek özelliktedir.

Sonuç olarak, Karvakrolün Akut pankreatite bağlı olarak gelişen başta böbrek hasarları olmak üzere çoklu organ yetmezliklerinde alternatif bir ilaç kaynağı olarak kullanıma sunulmasının faydalı olacağı kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abo-Haded, H.M., Elkablawy, M.A., Al-Johani, Z., Al-ahmadi, O. and El-Agamy, D.S., 2017. Hepatoprotective effect of sitagliptin against methotrexate induced liver toxicity. *PloS one*, 12 (3), e0174295.
- Abu-Bonsrah, N., Goodwin, C.R., Crane, G.M., Abiola, G. and Sciubba, D.M., 2016. Langerhans cell histiocytosis of the cervical spine. *Journal of Spine Pancreas*, 16 (1), e11-e12.
- Abu-Hilal, M., McPhail, M.J., Marchand, L. and Johnson, C.D., 2006. Malondialdehyde and superoxide dismutase as potential markers of severity in acute pancreatitis. *Journal of Spine Pancreas*, 7 (2), 185-192.
- Acevedo-Piedra, N.G., Moya-Hoyo, N., Rey-Riveiro, M., Gil, S., Sempere, L., Martínez, J. and de-Madaria, E., 2014. Validation of the determinant-based classification and revision of the Atlanta classification systems for acute pancreatitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 12 (2), 311-316.
- Adam, B. ve Yiğitoğlu, R., 2012. *Tibbi Biyokimya*. Nobel Tıp Kitabevleri, 628 s, İstanbul, Türkiye.
- Aeschbach, R., Löliker, J., Scott, B.C., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B. and Aruoma, O.I., 1994. Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food and Chemical Toxicology*, 32 (1), 31-36.
- Aksoy, Y., 2002. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 22 (4), 442-448.
- Amato, D.N., Amato, D.V., Mavrodi, O.V., Braasch, D.A., Walley, S.E., Douglas, J. R. and Patton, D.L., 2016. Destruction of Opportunistic Pathogens via Polymer Nanoparticle-Mediated Release of Plant-Based Antimicrobial Payloads. *Advanced Healthcare Materials*, 5, 1094-1103.
- Anonim, 2014. <http://www.drahmetdobrucali.com/hastaliklar/pankreatit/>
- Anonim, 2015a. http://www.biologimu.com/2015/03/organ-sistem-ekskresi_62.html
- Anonim, 2015b. http://www.biologimu.com/2015/03/organ-sistem-ekskresi_62.html
- Anonim, 2016a. <https://www.sevkiert.com/hasta-bilgileri/>
- Anonymous, 2017a. <http://www.jouefct.com/kidney-anatomy-and-function>
- Anonymous, 2016b. <https://basicmedicalkey.com/structure-and-function-of-the-renal-and-urologic-systems/>
- Anonymous, 2017b. <http://www.mezatforum.com/forum/showthread.php?7664-Omurgal%FDlarda-bo%FEalt%FDm>
- Anonim, 2015c. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01b.pdf>
- Antmen, Ş.E., 2005. Beta talasemide oksidatif stres. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Adana.
- Aristatile, B., Al-Numair, K.S., Veeramani, C. and Pugalendi, K.V., 2009. Effect of carvacrol on hepatic marker enzymes and antioxidant status in d-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 23 (6), 757-765.
- Bagamboula, C. F., Uyttendaele, M., & Debevere, J. (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-

- cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food microbiology*, 21(1), 33-42.
- Bakonyi T. and Radak Z., 2004. High altitude and free radicals. *Journal of Sports Science and Medicine*, 3, 64-69.
- Baser, H., Can, U., Karasoy, D., Ay, A.S., Baser, S., Yerlikaya, F.H. and Ecirli, S., 2015. Evaluation of oxidant/anti-oxidants status in patients with mild acute-pancreatitis. *Acta gastro-enterologica Belgica*, 79 (1), 23-28.
- Becker, M.A., Nosal, J.M., Switzer, R.L., Smith, P.R., Palella, T.D. and Roessler, B. J., 1995. Point mutations in PRPS1, the gene encoding the PRPP synthetase (PRS) 1 isoform, underlie X-linked PRS superactivity associated with purine nucleotide inhibitor-resistance. In *Purine and Pyrimidine Metabolism in Man VIII*, Springer, US., 707-710
- Bhakkiyalakshmi, E., 2016. Carvacrol induced mitochondrial mediated apoptosis in HL- 60 promyelositic and jurket t lanphoma cells. *European Journal of Pharmacology*, 772, 92-98.
- Bian, Z.X. and Tsang, S.W. 2014. Therapeutic implications of antioxidant defense in acute pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 13 (4), 346-347.
- Blundell, R. and Adam, F., 2013. Haemolytic anaemia and acute pancreatitis associated with zinc toxicosis in a dog. *Veterinary Record.*, 172: 17-25.
- Bousta, D., Soulimani, R., Jarmouni, I., Belon, P., Falla, J., Froment, N. and Younos, C., 2001. Neurotropic, immunological and gastric effects of low doses of *Atropa belladonna* L., *Gelsemium sempervirens* L. and Poumon histamine in stressed mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 74 (3), 205-215.
- Breitmaier, E., 2006. Terpenes: Importance, general structure, and biosynthesis. *Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones*, 1-9.
- Çavdar, F., 2009. Akut Biliyer pankreatit'te markp bulguları ile klinik ve laboratuvar bulgularının karşılaştırılması ve mrkp zamanlamasının erkp kararına katkısı. Uzmanlık Tezi, Haydarpaşa numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi I. Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul, Türkiye.
- Choi, S.B., Bae, G.S., Jo, I.J., Wang, S., Song, H.J. and Park, S.J., 2016. Berberine inhibits inflammatory mediators and attenuates acute pancreatitis through deactivation of JNK signaling pathways. *Molecular Immunology*, 74, 27-38.
- Chuck, C.J. and Donnelly, J., 2014. The compatibility of potential bioderived fuels with Jet A-1 aviation kerosene. *Applied Energy*, 118, 83-91.
- Criddle, D.N., 2016. Reactive oxygen species, Ca²⁺ stores and acute pancreatitis; a step closer to therapy?. *Cell calcium*, 60 (3), 180-189.
- Cui, J., Li, X., Duan, Z., Xue, W., Wang, Z., Lu, S. and Huang, J.D., 2015. Analysis of Kif5b expression during mouse kidney development. *PloS one*, 10 (4), e0126002.
- Dali, B.A., 2013. Farklı dozlarda selenyum uygulamalarının haşhaş (*Papaver somniferum* L.) yapraklarında Antioksidan enzimler üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Osman Paşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, Türkiye.
- De Boeck, K., Weren, M., Proesmans, M. and Kerem, E., 2005. Pancreatitis among patients with cystic fibrosis: correlation with pancreatic status and genotype. *Pediatrics*, 115 (4), e463-e469.

- de Zwart L.L., Meerman J.H.N., Commandeur, J.N.M. and Vermeulen. N.P.E., 1999. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (1/2), 202-226.
- Diez-Roux, G., Banfi, S., Sultan, M., Geffers, L., Eichele, G., and Ballabio, A., 2011. A high-resolution anatomical atlas of the transcriptome in the mouse embryo. *PLoS Biol.*, 9 (1), e1000582.
- Ding, L., Cao, J., Duan, Y., Li, J., Yang, Y., Yang, G. and Zhou, Y., 2016. Proteomic and physiological responses of *Arabidopsis thaliana* exposed to salinity stress and N-acyl-homoserine lactone. *Physiologia plantarum*, 158 (4), 414-434.
- Durand, N. and Storz, P., 2017. Targeting reactive oxygen species in development and progression of pancreatic cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 17 (1), 19-31.
- Encun, Du, E., Wang, W., Gan, L., Li, Z., Guo, S. and Guo, Y., 2016. Effects of thymol and carvacrol supplementation on intestinal integrity and immune responses of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7 (1), 19.
- Esmaili, A. 2013. Biological activities and chemical composition of the stems and roots of *Helichrysum oligocephalum* DC grown in Iran. *Pakistan Journal of Pharmacological Science*, 26, 599-604.
- Ezhumalai, M., Ashokkumar, N. and Pugalendi, K.V., 2015. Combination of carvacrol and rosiglitazone ameliorates high fat diet induced changes in lipids and inflammatory markers in C57BL/6J mice. *Biochimie*, 110, 129-136.
- Fabian, E., Pölöskey, P., Kósa, L., Elmadfa, I. and Réthy, L.A., 2013. Nutritional supplements and plasma antioxidants in childhood asthma. *The Central European Journal of Medicine* in press, 125 (11-12), 309-315.
- Farooqui, Z., Afsar, M., Rizwan, S., Khan, A.A. and Khan, F., 2016. Oral administration of *Nigella sativa* oil ameliorates the effect of cisplatin on membrane enzymes, carbohydrate metabolism and oxidative damage in rat liver. *Toxicology Reports*, 3, 328-335.
- Forsmark, C.E. and Toskes, P.P., 1995. Acute pancreatitis. *Medical management. Critical Care Clinics*, 11 (2), 295-309.
- Girotti, A.W. 1985. Mechanisms of lipid peroxidation. *Journal of Free Radicals in Biology & Medicine*, 1 (2), 87-95.
- Golijani, N., 2015. Modulation of Cytokine Production and Transcription Factors Activities in Human Jurkat T Cells by Thymol and Carvacrol. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 5 (Suppl 1), 653-660.
- Gözükara, E.M., 2011. Serbest radikaller ve Antioksidan enzimler. *Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul*, s. 881-899.
- Günaldı, M., 2009. Kan Selenyum düzeyi ve Glutasyon peroksidaz aktivitesinin Akut miyokart enfarktüsü gelişimi üzerinde etkisi. *Uzmanlık tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitimi ve Araştırma Hastanesi II. İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul*.
- Gürdöl, F. ve Adenoğlu, E., 2010. Serbest radikaller ve oksidatif stres. *Biokimya Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul*.
- Handa, R.K., Territo, P.R., Blomgren, P.M., Persohn, S.A., Lin, C., Johnson, C.D. and Hutchins, G.D., 2017. Development of a novel magnetic resonance

- imaging acquisition and analysis workflow for the quantification of shock wave lithotripsy-induced renal hemorrhagic injury. *Urolithiasis*, 1-7.
- Hardeland, R., Balzer, I., Poeggeler, B., Fuhrberg, B., Una, H., Behrmann, G. and Reiter, R.J., 1995. On the primary functions of melatonin in evolution: mediation of photoperiodic signals in a unicell, photooxidation, and scavenging of free radicals. *Journal of Pineal Research*, 18 (2), 104-111.
- Harvey, R.A., Clark, M.A., Finkel, R., Rey, J.A. and Whalen, K., 2012. Lippincott's illustrated reviews: Pharmacology, 526, 530-541.
- Hoshimoto, S., Aiura, K., Shito, M., Kakefuda, T. and Sugiura, H., 2016. Successful resolution of a hemorrhagic pancreatic pseudocyst ruptured into the stomach complicating obstructive pancreatitis due to pancreatic cancer: a case report. *World Journal of Surgical Oncology*, 14 (1), 46.
- Hotta, M., Nakata, R., Katsukawa, M., Hori, K., Takahashi, S. and Inoue, H., 2010. Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPAR α and γ and suppresses COX-2 expression. *Journal of lipid research*, 51 (1), 132-139.
- Hsu, P.C., Lin, T.H., Su, H.M., Lin, Z.Y., Lai, W.T. and Sheu, S.H., 2010. Acute necrotizing pancreatitis complicated with ST elevation acute myocardial infarction: a case report and literature review. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 26 (4), 200-205.
- Hung, J.H., Chen, C.Y., Omar, H.A., Huang, K.Y., Tsao, C.C., Chiu, C.C. and Teng, Y.N., 2016. Reactive oxygen species mediate Terbufos-induced apoptosis in mouse testicular cell lines via the modulation of cell cycle and pro-apoptotic proteins. *Environmental Toxicology*, 31 (12), 1888-1898.
- Hyldgaard, M., Mygind, T. and Meyer, R.L., 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3, 1-3.
- Iaremchuk, O.Z. and Posokhova, K.A., 2010. The liver and kidneys biochemical indices at the experimental pancreatitis in case of the administration of nitric oxide synthesis modulators and recombinant superoxide dismutase. *Ukrains'kyi biokhimichnyi zhurnal*, 83 (4), 57-66.
- Ienaga, K., Park, C.H. and Yokozawa, T., 2013. Protective effect of an intrinsic antioxidant, HMH (5-hydroxy-1-methylhydantoin; NZ-419), against cellular damage of kidney tubules. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65 (5), 559-566.
- Jacob, T.G., Raghav, R., Kumar, A., Garg, P.K. and Roy, T.S., 2014. Duration of injury correlates with necrosis in caerulein-induced experimental acute pancreatitis: implications for pathophysiology. *International journal of experimental pathology*, 95 (3), 199-208.
- Jamison, R.L., 2014. Resolving an 80-yr-old controversy: the beginning of the modern era of renal physiology. *Advances in Physiology Education*, 38 (4), 286-295.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. and Vivanco, J. M., 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food chemistry*, 83 (4), 547-550.
- Jayakumar, S., Madankumar, A., Asokkumar, S., Raghunandhakumar, S., Kamaraj, S., Divya, M.G.J. and Devaki, T., 2012. Potential preventive effect of

- carvacrol against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in rats. *Molecular and cellular biochemistry*, 360 (1-2), 51-60.
- Jiang, W., Luo, F., Lu, Q., Liu, J., Li, P., Wang, X. and Ding, X., 2016. The protective effect of Trillin LPS-induced acute lung injury by the regulations of inflammation and oxidative state. *Chemico-biological interactions*, 243, 127-134.
- Kalousova, M., Skrha, J. and Zima, T., 2002. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. *Physiological Research*, 51 (6), 597-604.
- Kamei, K., Yasuda, T., Ueda, T., Qiang, F., Takeyama, Y. and Shiozaki, H., 2010. Role of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in experimental severe acute pancreatitis. *Journal of Hepato-biliary-pancreatic Sciences*, 17 (3), 305-312.
- Kanis, L.A., Prophiro, J.S., da Silva Vieira, E., do Nascimento, M.P., Zepon, K.M., Kulkamp-Guerreiro, I.C. and da Silva, O.S., 2012. Larvicidal activity of *Copaifera* sp.(Leguminosae) oleoresin microcapsules against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *Parasitology research*, 110 (3), 1173-1178.
- Karabulut, H., 2016. Serbest Radikaller. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimler Enistüsü Dergisi, 4 (1), 50-59.
- Kes, P., VuČIČEviĆ, Ž., RatkoviĆ-GusiĆ, I. and Fotivec, A., 1996. Acute renal failure complicating severe acute pancreatitis. *Renal Failure*, 18 (4), 621-628.
- Kesa, P., Bhide, M., Lysakova, V. and Musatov, A., 2017. Subunit analysis of mitochondrial cytochrome c oxidase and cytochrome bc 1 by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*, 516, 6-8.
- Keşkek, M., and Hamaloğlu, E., 2002. Akut Pankreatit. Yoğun Bakım Dergisi, 2, 185-917.
- Kesler, O., 2008. Akut Pankreatit tedavisinde erken Kolesistektominin yeri. Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal eğitim ve araştırma Hastanesi 3 Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul.
- Kohrle, J. 1999. The trace element selenium and the thyroid gland. *Biochimie*, 81 (5), 527-533.
- Köksal, E., Bursal, E., Gülçin, İ., Korkmaz, M., Çağlayan, C., Gören, A.C. and Alwasel, S.H., 2017. Antioxidant activity and polyphenol content of Turkish thyme (*Thymus vulgaris*) monitored by liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *International Journal of Food Properties*, 20 (3), 514-525.
- Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S. and Appel, L.J., 2002. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*, 106 (21), 2747-2757.
- Kuma, A., Tamura, M. and Otsuji, Y., 2015. Mechanism of and Therapy for Kidney Fibrosis. *Journal of UOEH*, 38 (1), 25-34.
- Le Campion, E.R., Jukemura, J., Coelho, A.M., Patzina, R. and Carneiro D'Albuquerque, L.A. 2013. Effects of intravenous administration of pentoxifylline in pancreatic ischaemia-reperfusion injury. *HPB*, 15 (8), 588-594.
- Li, H., Liu, J., Wang, W., Zhang, Z., Li, D., Lin, K. and Lin, W., 2015. Matrix Metalloproteinase 9 and Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein Related to

- Acute Kidney Injury in Severe Acute Pancreatitis Rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 60 (12), 3647-3655.
- Lim, J.B., Barker, K.A., Eller, K.A., Jiang, L., Molina, V., Saifee, J.F. and Sikes, H. D., 2015. Insights into electron leakage in the reaction cycle of cytochrome P450 BM3 revealed by kinetic modeling and mutagenesis. *Protein Science*, 24 (11), 1874-1883.
- LLana-Ruiz-Cabello, M., Maisanaba, S., Puerto, M., Prieto, A.I., Pichardo, S., Jos, Á. and Cameán, A.M., 2014. Evaluation of the mutagenicity and genotoxic potential of carvacrol and thymol using the Ames Salmonella test and alkaline, Endo III-and FPG-modified comet assays with the human cell line Caco-2. *Food and Chemical Toxicology*, 72, 122-128.
- Llana-Ruiz-Cabello, M., Pichardo, S., Maisanaba, S., Puerto, M., Prieto, A.I., Gutierrez-Praena, D. and Camean, A.M., 2015. In vitro toxicological evaluation of essential oils and their main compounds used in active food packaging: a review. *Food and Chemical Toxicology*, 81, 9-27.
- Longnecker, D.S., 2014. Anatomy and Histology of the Pancreas. *Pancreapedia: The Exocrine Pancreas Knowledge Base*
- Luan, Z.G., Zhang, J., Yin, X.H., Ma, X.C. and Guo, R.X., 2013. Ethyl pyruvate significantly inhibits tumour necrosis factor- α , interleukin-1 β and high mobility group box 1 releasing and attenuates sodium taurocholate-induced severe acute pancreatitis associated with acute lung injury. *Clinical and Experimental Immunology*, 172: 417-426.
- Malm, G., Haugen, T.B., Rylander, L. and Giwercman, A., 2017. Seasonal fluctuation in the secretion of the antioxidant melatonin is not associated with alterations in sperm DNA damage. *Asian Journal of Andrology*, 19 (1), 52.
- Meher, S., Mishra, T.S., Sasmal, P.K., Rath, S., Sharma, R., Rout, B. and Sahu, M. K., 2015. Role of biomarkers in diagnosis and prognostic evaluation of acute pancreatitis. *Journal of Biomarkers*, 2015.
- Mészáros, A.T., Weidinger, A., Dumitrescu, S.D., Müllebnner, A., Duvigneu, J.C., Redl, H. and Kozlov, A.V., 2015. INF/IR-2: Mitochondria targeted Antioksidant treatment can have deleterious consequences in systemic inflammation. *Shock (Augusta, Ga.)*, 44, 7-7.
- Mirmalek, S.A., Gholamrezaei Boushehrinejad, A., Yavari, H., Kardeh, B., Parsa, Y., Salimi-Tabatabaee, S.A. and Jangholi, E., 2016. Antioxidant and anti-inflammatory effects of coenzyme Q10 on L-arginine-induced acute pancreatitis in rat. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 1-8.
- Modzelewski, B. and Janiak, A., 2005. Lipid peroxidation product as prognostic factors in acute necrotizing pancreatitis. *Polski merkuriusz lekarski: organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 19 (112), 511-513.
- Mohebbati, R., Shafei, M.N., Soukhtanloo, M., Roshan, N.M., Rad, A.K., Anaigoudari, A. and Beheshti, F., 2016. Adriamycin-induced oxidative stress is prevented by mixed hydro-alcoholic extract of *Nigella sativa* and *Curcuma longa* in rat kidney. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6 (1), 86.
- Montine, T.J., Neely, M.D., Quinn, J.F., Beal, M.F., Markesbery, W.R., Roberts, L. J. and Morrow, J.D., 2002. Lipid peroxidation in aging brain and Alzheimer's disease 1, 2. *Free Radical Biology and Medicine*, 33 (5), 620-626.

- Muñoz-Casares, F.C., Padillo, F.J., Briceño, J., Collado, J.A., Muñoz-Castañeda, J. R., Ortega, R. and Muntané, J., 2006. Melatonin reduces apoptosis and necrosis induced by ischemia/reperfusion injury of the pancreas. *Journal of Pineal Research*, 40 (3), 195-203.
- Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S. and Altundag, S., 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, 112 (4), 874-879.
- Panella, N.A., Dolan, M.C., Karchesy, J.J., Xiong, Y., Peralta-Cruz, J., Khasawneh, M. and Maupin, G.O., 2005 . Use of novel compounds for pest control: insecticidal and acaricidal activity of essential oil components from heartwood of Alaska yellow cedar. *Journal of Medical Entomology*, 42 (3), 352-358.
- Peralta, C.A., Shlipak, M.G., Judd, S., Cushman, M., McClellan, W., Zakai, N.A. and Warnock, D., 2011. Detection of chronic kidney disease with creatinine, cystatin C, and urine albumin-to-creatinine ratio and association with progression to end-stage renal disease and mortality. *Jama*, 305 (15), 1545-1552.
- Petrov, M.S., 2010. Therapeutic implications of oxidative stress in acute and chronic pancreatitis. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13 (5), 562-568.
- Pretagostini, R., Quirino, L., Pettorini, L., Garofalo, M., Poli, L., Melandro, F. and Berloco, P.B., 2016, March. Multiple Organ Failure Associated With Coxsackie Virus in a Kidney Transplant Patient: Case Report. In *Transplantation proceedings* 48 (2), 438-440.
- Rahman, S.H., Ammori, B.J., Holmfield, J., Larvin, M. and McMahon, M.J., 2003. Intestinal hypoperfusion contributes to gut barrier failure in severe acute pancreatitis. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 7 (1), 26-36.
- Reiner, G.N., Delgado-Marín, L., Olguín, N., Sánchez-Redondo, S., Sánchez-Borzone, M., Rodríguez-Farré, E. and García, D.A., 2013. GABAergic pharmacological activity of propofol related compounds as possible enhancers of general anesthetics and interaction with membranes. *Cell biochemistry and biophysics*, 67 (2), 515-525.
- Reinheckel, T., Prause, J., Nedelev, B., Augustin, W., Schulz, H.U., Lippert, H. and Halangk, W., 1999. Oxidative stress affects pancreatic proteins during the early pathogenesis of rat caerulein pancreatitis. *Digestion*, 60 (1), 56-62.
- Reiter, R.J., Tan, D.X., Manchester, L.C. and Qi, W., 2001. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 34 (2), 237-256.
- Romeu, M., Mulero, M., Giralt, M., Folch, J., Nogues, M.R., Torres, A. and Mallol, J., 2002. Parameters related to oxygen free radicals in erythrocytes, plasma and epidermis of the hairless rat. *Life Sciences*, 71 (15), 1739-1749.
- Rybak, K., Sporek, M., Gala-Bładzińska, A., Mazur-Laskowska, M., Dumnicka, P., Walocha, J. and Kuśnierz-Cabala, B., 2015. Urinalysis in patients at the early stage of acute pancreatitis. *Przegląd Lekarski*, 73 (2), 88-92.
- Saei-Dehkordi, S.S., Tajik, H., Moradi, M. and Khalighi-Sigaroodi, F., 2010. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. from

- different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (6), 1562-1567.
- Saeki, T., Kawano, M., Mizushima, I., Yamamoto, M., Wada, Y., Ubara, Y. and Saito, T. 2016. Recovery of renal function after glucocorticoid therapy for IgG4-related kidney disease with renal dysfunction. *Clinical and Experimental Nephrology*, 20 (1), 87-93.
- Samarghandian, S., Farkhondeh, T., Samini, F. and Borji, A., 2016. Protective effects of carvacrol against oxidative stress induced by chronic stress in rat's brain, liver, and kidney. *Biochemistry Research International*, 2016, 1-7.
- Sarr, M.G., Banks, P.A., Bollen, T.L., Dervenis, C., Gooszen, H.G., Johnson, C.D. and Vege, S.S., 2013. The new revised classification of acute pancreatitis 2012. *Surgical Clinics of North America*, 93 (3), 549-562.
- Schoenberg, M.H., Büchler, M., Gaspar, M., Stinner, A., Younes, M., Melzner, I. and Beger, H.G., 1990. Oxygen free radicals in acute pancreatitis of the rat. *Gut*, 31 (10), 1138-1143.
- Schulz, H.U. and Niederau, C., 1994. Oxidative stress-induced changes in pancreatic acinar cells: insights from in vitro studies. *Hepato-gastroenterology*, 41 (4), 309-312.
- Seemann, S. and Lupp, A., 2015. Administration of a CXCL12 analog in endotoxemia is associated with anti-inflammatory, anti-oxidative and cytoprotective effects in vivo. *PloS one*, 10 (9), e0138389.
- Sheashaa, H., Lotfy, A., Elhousseini, F., Aziz, A.A., Baiomy, A., Awad, S. and Zahran, F., 2016. Protective effect of adipose-derived mesenchymal stem cells against acute kidney injury induced by ischemia-reperfusion in Sprague-Dawley rats. *Experimental and therapeutic medicine*, 11 (5), 1573-1580.
- Shields, C.J., Winter, D.C. and Redmond, H.P., 2002. Lung injury in acute pancreatitis: mechanisms, prevention, and therapy. *Current opinion in critical care*, 8 (2), 158-163.
- Siech, M., Zhou, Z., Zhou, S., Bair, B., Alt, A., Hamm, S. and Kornmann, M., 2009. Stimulation of stellate cells by injured acinar cells: a model of acute pancreatitis induced by alcohol and fat (VLDL). *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 297 (6), G1163-G1171.
- Silva, F.V., Guimarães, A.G., Silva, E.R., Sousa-Neto, B.P., Machado, F.D., Quintans-Júnior, L.J. and Oliveira, R.C., 2012. Anti-inflammatory and anti-ulcer activities of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano. *Journal of Medicinal Food*, 15 (11), 984-991.
- Singh, R. P., Sharad, S. and Kapur, S., 2004. Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *Journal Indian Acad Clin Med.*, 5 (3), 218-225.
- Singh, S. and Mishra, A.K., 2016. Unraveling of cross talk between Ca²⁺ and ROS regulating enzymes in *Anabaena* 7120 and *ntcA* mutant. *Journal of Basic Microbiology*, 56 (7), 762-778.
- Sirolì, L., Patrignani, F., Montanari, C., Tabanelli, G., Bargossi, E., Gardini, F. and Lanciotti, R., 2014. Characterization of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil and definition of its antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* in vitro system and on foodstuff surfaces. *African Journal of Microbiology Research*, 8 (29), 2746-2753.

- Snook, J.H., Li, J., Helmke, B.P. and Guilford, W.H., 2008. Peroxynitrite inhibits myofibrillar protein function in an in vitro assay of motility. *Free Radical Biology and Medicine*, 44 (1), 14-23.
- Song, Z.Z., Duan, C.L., Guo, S.L., Yang, Y., Feng, Y.F., Ma, R.J. and Yu, M.L., 2015. Potassium contributes to zinc stress tolerance in peach (*Prunus persica*) seedlings by enhancing photosynthesis and the antioxidant defense system. *Genet. Mol. Res.*, 14, 8338-8835.
- Sporek, M., Dumnicka, P., Gala-Bladzinska, A., Ceranowicz, P., Warzecha, Z., Dembinski, A. and Kusnierz-Cabala, B., 2016. Angiopoietin-2 is an early indicator of acute pancreatic-renal syndrome in patients with acute pancreatitis. *Mediators of inflammation*, 2016, 1-7.
- Spormann, H., Sokolowski, A. and Letko, G., 1989. Experimental acute pancreatitis—a quantification of dynamics at enzymic and histomorphologic levels. *Pathology-Research and Practice*, 185 (3), 358-362.
- Suppiah, A., Malde, D., Arab, T., Hamed, M., Allgar, V., Smith, A.M. and Morris-Stiff, G., 2013. The prognostic value of the neutrophil–lymphocyte ratio (NLR) in acute pancreatitis: identification of an optimal NLR. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 17 (4), 675-681.
- Szabolcs, A., Reiter, R. J., Letoha, T., Hegyi, P., Papai, G., Varga, I. and Lonovics, J., 2006. Effect of melatonin on the severity of L-arginine-induced experimental acute pancreatitis in rats. *World journal of gastroenterology*, 12 (2), 251.
- Tampieri, M.P., Galuppi, R., Macchioni, F., Carelle, M.S., Falcioni, L., Cioni, P.L. and Morelli, I., 2005. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. *Mycopathologia*, 159 (3), 339-345.
- Teixeira, R.B., Kelley, J., Alpert, H., Pardo, V. and Vaamonde, C.A., 1982. Complete protection from gentamicin-induced acute renal failure in the diabetes mellitus rat. *Kidney international*, 21 (4), 600-612.
- Thamilselvan, S., Byer, K.J., Hackett, R.L. and Khan, S.R., 2000. Free radical scavengers, catalase and superoxide dismutase provide protection from oxalate-associated injury to LLC-PK 1 and MDCK cells. *The Journal of urology*, 164 (1), 224-229.
- Thomas, M.J., 2000. The role of free radicals and antioxidants. *Nutrition*, 16 (7), 716-718.
- Urunuela, A., Sevillano, S., De la Mano, A.M., Manso, M.A., Orfao, A. and De Dios, I., 2002. Time-course of oxygen free radical production in acinar cells during acute pancreatitis induced by pancreatic duct obstruction. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1588 (2), 159-164.
- Uyumlu, A.B., 2007. *Tüm vücut radyoterapisinin farklı yaş gruplarındaki ratlarda beyin dokusu lipid peroksidasyonu ve Antioksidan sistem parametreleri üzerine etkileri* (Master's thesis, İnönü Üniversitesi).
- Vinson, J.A., 2006. Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology*, 13(3), 151-162.
- Wang, L., Peng, Y., Nie, X., Pan, B., Ku, P., and Bao, S., 2016. Gene response of CYP360A, CYP314, and GST and whole-organism changes in *Daphnia magna* exposed to ibuprofen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 179, 49-56.

- Wei, D., 2016. Carvacrol suppresses proliferation and invasion in human oral squamous cell carcinoma. open access to scientific and medical research, OncoTargets and Therapy, 9, 2297-2304
- Wen, X., Peng, Z. and Kellum, J.A., 2011. Pathogenesis of acute kidney injury: effects of remote tissue damage on the kidney. *Controversies in Acute Kidney Injury*, 174,129-137.
- Willemer, S., Elsässer, H.P., and Adler, G., 1992. Hormone-induced pancreatitis. *European surgical research*, 24 (1), 29-39.
- Wu, S., Schalk, M., Clark, A., Miles, R. B., Coates, R. and Chappell, J., 2006. Redirection of cytosolic or plastidic isoprenoid precursors elevates terpene production in plants. *Nature biotechnology*, 24 (11), 1441.
- Yang, L.J., Wan, R., Shen, J.Q., Shen, J. and Wang, X.P., 2013. Effect of L-cysteine on remote organ injury in rats with severe acute pancreatitis induced by bile-pancreatic duct obstruction. *Hepatobiliary and Pancreatic Diseases International*, 12 (4), 428-435.
- Yang, M., Liu, C., Jiang, J., Zuo, G., Lin, X., Yamahara, J. and Li, Y., 2014. Ginger extract diminishes chronic fructose consumption-induced kidney injury through suppression of renal overexpression of proinflammatory cytokines in rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 14 (1), 174.
- Yiğitoğlu. R. 2012. *Tibbi Biyokimya*. Nobel tıp kitabevleri, 628 s, İstanbul.
- Yin, F., Gong, H., Ke, Q. and Li, A., 2015. Stress, antioxidant defence and mucosal immune responses of the large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* challenged with *Cryptocaryon irritans*. *Fish and shellfish immunology*, 47 (1), 344-351.
- Yu, J., Deng, W., Wang, W., Ding, Y., Jin, H., Chen, C. and Xu, S., 2012. Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase attenuates acute kidney injury in sodium taurocholate-induced acute pancreatitis in rats. *Pancreas*, 41 (8), 1299-1305.
- Zhao, G., Zhang, J.G., Wu, H.S., Tao, J., Qin, Q., Deng, S.C. and Li, X., 2013. Effects of different resuscitation fluid on severe acute pancreatitis. *World Journal of Gastroenterology*, 19 (13), 2044-2052.
- Zhou, X., and Yao, Y., 2013. Unexpected nephrotoxicity in male ablactated rats induced by *Cordyceps militaris*: the involvement of oxidative changes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1-9.

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında İranın Batı Azerbaycan ilinin Hoy ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Ghareziaoddin’da tamamladı.1996 yılında öğretmenlik bursunu kazanarak, İranın Ardebil şehrinin Mohaggeg Ardebili Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümüne yerleşti. 2000 yılında yerleştiği bölümden başarıyla mezun oldu aynı yıl lisede Biyoloji öğretmenliğine başladı. 2005 yılında İran Azad İslam Üniversitesi Marand biriminde Bitki Biyolojisi Bilim Dalı’nda Yüksek lisans öğrenimini tamamladı. 2012 yılında Türkiye’ye gelerek Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Genel Biyoloji Bilim Dalında Doktora öğrenimine başladı. Evli ve iki çocuk babasıdır.