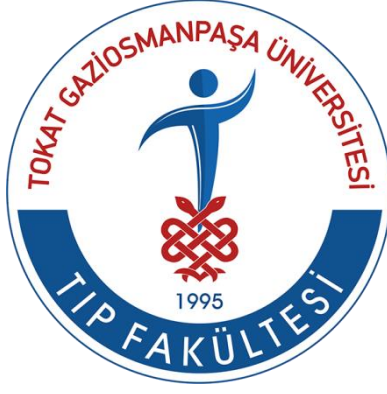




T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

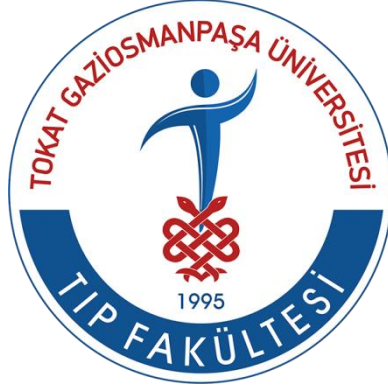
**TEK TARAFLI BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI MODELİ
OLUŞTURULAN RATLARDA NARİNGENİN TEDAVİSİNİN
ERKEN DÖNEM OKSİDATİF STRES VE RENAL
FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Muhammed Ali Eser

UZMANLIK TEZİ

TOKAT

2021



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**TEK TARAFLI BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI MODELİ
OLUŞTURULAN RATLARDA NARİNGENİN TEDAVİSİNİN
ERKEN DÖNEM OKSİDATİF STRES VE RENAL
FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Muhammed Ali Eser

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Engin Kölükçü

TOKAT

2021

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, yol gösteren, desteklerini hissettiğim Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Üroloji Anabilim Dalı değerli öğretim üyeleri, hocalarım Prof. Dr. Bekir Süha PARLAKTAŞ'a, Prof. Dr. Fikret ERDEMİR'e, Prof. Dr. Nihat ULUOCAK'a, Prof. Dr. Doğan ATILGAN'a,

Tez çalışmamın başından sonuna kadar her türlü desteği sağlayan tez danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Engin KÖLÜKÇÜ'ye,

Uzmanlık eğitimi sırasında beraber çalışmaktan onur duyduğum arkadaşlarım Dr. Salih Rahman CEYLAN'a, Dr. Emre ALKAN'a, Dr. Fatih MUTLUŞAHİN'e ve Dr. Hatice ZOROĞLU'na,

Tez çalışmalarımnda katkılarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Fikret GEVREK ve Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Muzaffer KATAR'a

Tüm Üroloji Anabilim Dalı hemşire, personel ve çalışanlarına

Hayatıma girdiği andan itibaren mutluluğu da hüznü de beraber yaşadığım, uzmanlık sürecinde gösterdiği sabır ile en büyük destekçim ve hayat arkadaşım sevgili eşim Burcu ESER'e,

Hayatıma renk katan uzmanlık eğitim sürecinde zamanımın çoğunu ayrı geçirdiğim biricik kızım Esmâ Eylül'e ve oğlum Ömer Akif'e

Ve bugünlere gelmemde desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen anneme ve babama teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Giriş ve Amaç: Böbrek iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarı, acil ve yoğunbakım ünitelerinde sık görülen akut böbrek yetmezliğinin bir nedeni olup, genellikle etyolojisinde travma, şok, enfarktüs, sepsis, aort diseksiyonu ve ürolojik cerrahi girişimler gibi birçok faktör rol oynamaktadır. Çalışmamızda, böbrek İ/R hasarına bağlı böbrek dokusunda oluşan yapısal ve fonksiyonel bozuklukları önlemek için doğal flavonoid olan naringenin etkinliğinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Toplam 24 adet rat üç gruba randomize edildi. Grup 1 kontrol grubu olarak adlandırıldı. Grup 2'deki ratlara ise böbrek İ/R modeli oluşturuldu. Buna göre sol böbrek 45 dakika iskemi ve 6 saat reperfüzyona maruz bırakıldı. Grup 3'deki ratlara benzer prosedürler uygulandı. Bu gruptaki ratlara ek olarak 1 hafta boyunca günde 50 mg/kg doz oral gavaj yoluyla naringenin tedavisi uygulandı. Deney bitiminde kan ve doku örnekleri analiz edildi. Kan örneklerinde tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α), interlökin-1 beta (IL-1 β) ve interlökin-6 (IL-6) düzeyleri bakılırken, doku örneklerinde süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), malondialdehid (MDA), kidney injury molecule-1 (KİM-1) ve neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) seviyeleri incelendi. Doku hasarının derecesini belirlemek amacı ile böbrek doku örnekleri direk mikroskop altında skorlama yapıldı.

Bulgular: Çalışmamızda Grup 3'de Grup 2 ile karşılaştırıldığında kan biyokimyasal analizlerinde IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeylerinde dramatik düşüş izlendi ($p<0,001$). Doku biyokimyasal analizlerimizde SOD, GPx aktivitelerinin Grup 3'de Grup 2'ye nazaran ciddi düzeyde arttığı belirlendi ($p<0,001$). Yine böbrek dokusunda Grup 3'de MDA düzeyleri Grup 2'ye nazaran azaldığı tespit edildi ($p<0,001$). Öte yandan en yüksek KİM-

1 ve NGAL düzeyi Grup 2’de olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). Histopatolojik analizlerimizde ise doku örneklerinde incelenen tübüler epitelyal düzleşmeler, tübüler dilatasyonlar, nükleer ayrılma, fırçamsı kenar kaybı, fokal koagülatif nekrozlar, glomerüler deformateler, yer yer lokal doku erozyonları, yaygın konjesyon alanları ve inflamatuvar infiltrasyon alanları değerlendirildiğinde Grup 3’de Grup 2’ye nazaran iyileşme olduğu tespit edildi ($p<0,05$).

Sonuç: Çalışmamızda naringenin böbrek İ/R hasarının zararlı etkilerini azalttığı, böbrek yapı ve fonksiyonlarını koruduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Naringenin, böbrek, iskemi-reperfüzyon

ABSTRACT

Introduction and Objective: Renal ischemia-reperfusion injury (I/R) is a common cause of acute renal failure in emergency and intensive care units, and many factors such as trauma, shock, infarction, sepsis, aortic dissection and urological surgical interventions play a role in its etiology. In our study, we aimed to examine the protective and therapeutic effects of naringenin, a natural flavonoid, in rat kidney tissue in terms of biochemical and histology, in order to prevent structural and functional damage to the kidney tissue after kidney I/R.

Materials and Methods: A total of 24 rats were randomized into three groups. Group 1 was called the control group. Renal I/R model was created for the rats in group 2. Accordingly, the left kidney was exposed to ischemia for 45 minutes and reperfusion for

6 hours. Similar procedures were applied to the rats in Group 3. In addition to rats in this group, 50 mg/kg daily dose of naringenin was administered by oral gavage for 1 week. At the end of the experiment, blood and tissue samples were analyzed. While tumour necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin-1 beta (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6) levels were measured in blood samples, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), malondialdehyde (MDA), kidney injury molecule-1 (KIM-1) and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) levels were examined. In order to determine the severity of tissue damage, kidney tissue samples were evaluated under direct microscopy.

Results: In our study, a dramatic decrease was observed in IL-1 β , IL-6 and TNF- α levels in Group 3 compared to Group 2 ($p < 0.001$). In our tissue biochemical analyzes, it was determined that SOD, GPx activities increased significantly in Group 3 compared to Group 2 ($p < 0.001$). In the kidney tissue, MDA levels were found to be decreased in Group 3 compared to Group 2 ($p < 0.001$). On the other hand, the highest KIM-1 and NGAL levels were observed in Group 2 ($p < 0.001$). In our histopathological analyzes, when the tissue samples were scored according to tubular epithelial flattening, tubular dilatations, nuclear detachment, brush border loss, focal coagulative necrosis, glomerular deformities, local tissue erosions, widespread congestion areas and inflammatory infiltration areas, it was classified into Group 2 in Group 3. It was found that there was an improvement compared to this ($p < 0.05$).

Conclusion: In our study, it was concluded that naringenin reduces the harmful effects of renal I/R injury and protects kidney structure and functions.

Key words: Naringenin, kidney, ischemia-reperfusion

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLOLAR DİZİNİ	xii
GRAFİKLER DİZİNİ	xiii
RESİMLER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.1. BÖBREK ANATOMİSİ	4
2.1.1. Böbrek Arteri.....	5
2.1.2. Böbrek Veni	6
2.1.3. Böbrek Lenfatikleri ve Siniri.....	6
2.2. BÖBREK HİSTOLOJİSİ	7
2.3. BÖBREK FİZYOLOJİSİ	8
2.4. BÖBREK FONKSİYONLARI	12
2.5. İSKEMİ/REPERFÜZYON	13
2.5.1. İskemi.....	13
2.5.1.1. Geri Dönüşümlü Hasar	14
2.5.1.2. Geri Dönüşümsüz Hasar	14
2.5.2. Reperfüzyon	14
2.6. İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI VE PATOFİZYOLOJİSİ	15
2.7. BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI.....	16
2.8. OKSİDATİF STRES VE SERBEST RADİKALLER.....	18
2.8.1. Serbest Oksijen Radikalleri.....	19
2.8.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)	20
2.8.1.2. Hidroksil Radikali (OH^-)	20
2.8.1.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	21
2.8.1.4. Singlet Oksijen (1O_2)	21
2.8.1.5. Hipoklorik Asit ($HOCl$).....	21
2.8.2. Serbest Radikallerinin Vücuttaki Etkileri	22

2.8.2.1. Lipidlere etkileri	22
2.8.2.2. Proteinlere etkileri	22
2.8.2.3. Nükleik Asitlere Etkileri	23
2.8.2.4. Karbonhidratlara Etkileri	23
2.9. ANTİOKSİDANLAR.....	24
2.9.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	26
2.9.2. Katalaz (CAT).....	26
2.9.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx).....	26
2.9.4. Glutasyon Redüktaz (GR).....	27
2.9.5. Glutasyon (GSH).....	27
2.9.6. Koenzim Q10.....	28
2.9.7. Selenyum	28
2.9.8. Melatonin.....	28
2.9.9. α -Lipoik Asit	29
2.9.10. C vitamini	29
2.9.11. E vitamini	29
2.9.12. Polifenoller	30
2.9.12.1. Flavonoidler	30
2.9.12.1.1. Naringenin (4',5,7- trihidroksiflavanon)	31
3. MATERYAL VE METOD	33
3.1. HAYVAN SEÇİMİ VE CERRAHİ İŞLEMLER	33
3.2. PATOLOJİK DEĞERLENDİRME	37
3.3. BİYOKİMYASAL ANALİZLER	38
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	39
4. BULGULAR.....	41
5. TARTIŞMA.....	50
6. SONUÇ	56
7. KAYNAKLAR	57

KISALTMALAR

ABY: Akut böbrek yetmezliği

ADH: Antidiüretik hormon

ADP: Adenozindifosfat

AMP: Adenozinmonofosfat

ATP: Adenozintrifosfat

°C: Derece santigrat

CAT: Katalaz

Cl: Klor

Cu: Bakır

Dk: Dakika

DNA: Deoksiribonükleik asit

ET-1: Endotelin-1

GFR: Glomerüler filtrasyon hızı

GPx: Glutasyon peroksidaz

Gr: Gram

GSH: Glutasyon

GSSG: Okside glutasyon

GST: Glutasyon-S-transferaz

ICAM: İntersellüler adezyon molekülü

IL: İnterlökin

İ.p.: İntraperitoneal

İ/R: İskemi/reperfüzyon

K: Potasyum

K-H-ATPaz: Potasyum-sodyum-adenozintrifosfataz

KIM-1: Kidney injury molecule-1

Kg: Kilogram

LOOH: Lipid hidroperoksit

MDA: Malondialdehit
mg: Miligram
mm/Hg: Milimetre civa
Mn: Mangan
MPO: Miyeloperoksidaz
Na: Sodyum
Na-K-ATPaz: Sodyum-potasyum- adenzintrifosfataz
NADPH: Nikotinamid adenin dinökleotit fosfat
NBT: Nitrobluetetrazolium
NGAL: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
Nmol/g: Nanomol/gram
NO: Nitrik oksit
NOS: Nitrik oksit sentaz
Pg/ml: Pikogram/mililitre
PMNL: Polimorfnökleer lökosit
RNA: Ribonökleik asit
RNT: Reaktif nitrojen türevleri
ROT: Reaktif oksijen türevleri
SAK: Subaraknoid kanama
SOD: Süperoksid dismutaz
SOR: Serbest oksijen radikali
TNF: Tömör nekroz faktör
U/g: Ünite/gram
Zn: Çinko

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
1. Böbreklerin yerleşimi ve komşulukları	5
2. Böbreğin arteriyel yapısı	6
3. Renal korpüskül ve glomerüler filtrasyon bariyeri	9
4. Jukstaglomerüler aparat	12
5. Flavonoidlerin kimyasal yapısı	31
6. Naringenin kimyasal yapısı	32
7. Gruplar arası histopatolojik görüntüler	48

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
1. Reaktif oksijen bileşikleri	19
2. Endojen antioksidanlar	25
3. Eksojen antioksidanlar	25
4. Böbrek dokusu hasarlarının skorlamasında kullanılan kriterler	38
5. Gruplar arası kan ve doku biyokimyasal sonuç dağılımı	47



GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik	Sayfa
1. Gruplar arası kan TNF- α düzeyi dağılımı	41
2. Gruplar arası kan IL-1 β düzeyi dağılımı	42
3. Gruplar arası kan IL-6 düzeyi dağılımı	42
4. Gruplar arası doku SOD düzeyi dağılımı	43
5. Gruplar arası doku GPx düzeyi dağılımı	44
6. Gruplar arası doku MDA düzeyi dağılımı	45
7. Gruplar arası doku NGAL düzeyi dağılımı	46
8. Gruplar arası doku KİM-1 düzeyi dağılımı	46
9. Gruplar arası histopatolojik skor dağılımı	49

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
1. Laparotomi sonrası görünüm	34
2. Renal pedikülün bulunup ortaya konulması	35
3. Renal pedikülün klemplenip iskemi oluşturulması	36



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek yetmezliği; acil servis ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda yaygın izlenen, kısa ve uzun vadede önemli morbidite ve mortaliteye yol açan, ani böbrek kaybı ile karakterize bir durumdur (1). Uzun süre hospitalize olan hastaların yaklaşık %5'inin akut böbrek yetmezliği (ABY) ile ilişkili patolojiler ile karşılaştığı düşünülmektedir (2). Azotlu atık ürünlerin ve üremik toksinlerin eliminasyonunun azalmasına neden olan glomerüler filtrasyon hızında ani bir düşüş ile kendini gösteren bu acil patolojiye, etkili bir şekilde müdahale etmek için opsiyonel tedavilere ihtiyaç vardır (3).

Renal iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarı, ABY'nin en önemli nedenlerinden biridir. Genellikle böbrek transplantasyonu, parsiyel nefrektomi, şok, akut renal arter tıkanıklığı ve diğer klinik-cerrahi süreçlerde ortaya çıkabilir (4).

Renal iskemi, böbrek kan akışının geçici olarak azalması veya durması sonucunda ortaya çıkan durumdur (5). Hastane ortamında, cerrahi, sepsis veya travma nedeniyle böbreğin genel veya lokalize iskemik hasarı birçok ABY vakasından sorumludur (6). Renal iskemi sonrası böbrek kanlanması kısa bir süre içerisinde sağlanmaz, iskemi süresi uzarsa böbrek dokusunda hücresel bütünlük bozulur, toksik metabolitlerin uzaklaştırılamaması sonucunda hücre ölümü meydana gelir (7). Toksik metabolitlerin uzaklaştırılması ve hücresel yaşamın devam ettirilmesi için dokuda reperfüzyon olması şarttır (5).

İskemi sonrası tekrar kanlanma başlaması ile hipoksik kalan dokunun oksijene kavuşması, metabolitlerin uzaklaştırılmasıyla birlikte hücresel canlılığın devamı sağlanır. Ancak paradoksal olarak reperfüzyon ile birlikte sitokin salınımı, daha fazla miktarda serbest radikallerin oluşması, özellikle nötrofillerin yer aldığı inflamatuvar sürecin devreye girmesi gibi karmaşık birtakım mekanizmaların rol aldığı İ/R hasarı meydana gelir. Reperfüzyon sonrası oluşan hasar, iskemi sırasında meydana gelen hasardan daha tehlikeli olabilmektedir (8-10). Organizmada İ/R sonrası artan serbest radikal düzeyi oksidatif stres meydana getirmektedir. Serbest radikaller çeşitli reaksiyonlara girerek proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi moleküllerde hasara neden olmaktadır. Bu hasarın devam etmesi hücre ölümü olarak sonuçlanabilmektedir (11).

Serbest radikaller, diğer moleküllerle kimyasal reaksiyonlara karşı oldukça kararsız ve aktif olan eşleşmemiş elektronlara sahip moleküller veya iyonlardır (12). Bu kimyasal özelliğinden dolayı serbest radikaller lipid peroksidasyonunu başlatabilir, DNA zincirinin kırılmasına neden olabilir, hücre zarı ve dokulardaki neredeyse tüm molekülleri oksitleyerek hasarlanmasına neden olabilir. Fizyolojik koşullar altında vücut için tehdit olmayıp, hatta belirli bir düzeyde vücut için gereklidir. Ancak bu fizyolojik dengenin bozulması serbest radikalleri tehlikeli bir molekül haline getirir (13).

Serbest radikallerin verdiği hasara karşı mücadele eden antioksidan savunma mekanizması mevcuttur (11). Vücudun kendi ürettiği antioksidanlara endojen antioksidanlar denirken, dışarıdan alınan antioksidanlara eksojen antioksidanlar denilmektedir. Endojen antioksidanların en önemlileri enzimatik antioksidanlar olup, serbest oksijen radikalleri parçalama yetenekleri nedeniyle aktif ve yoğun oksidatif saldırıya karşı daha etkili koruyucu etkilere sahiptirler (14). Bunlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimler olup, serbest radikalleri süpürücü etkisi ile ortadan kaldıracaktır, organizmayı oksidatif strese koruyabilirler. Glutatyon, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, melatonin, C vitamini (askorbik asit), E vitamini (α - tokoferol), A vitamini, karotenoidler, polifenoller bir kısmı endojen bir kısmı eksojen non-enzimatik antioksidanlardır (13, 15).

Flavonoidler, serbest oksijen radikalleri azaltan narenciye grubu meyvelerde bol miktarda bulunan fenolik bileşiklerdir. Antioksidatif, sitoprotektif ve düzenleyici aktivitelerinin yanı sıra potansiyel kullanımları günümüzde geniş çapta araştırılmaktadır. Flavonoidlerin doğrudan serbest radikal süpürme, geçiş metal iyonu şelasyonu, hücresel antioksidan savunma enzimlerinin seviyesini arttırdığı tespit edilmiştir (16). Naringenin, turuncgillerde bol miktarda bulunan ve son yıllarda birçok çalışmaya konu olan flavonoid grubu bir moleküldür (17). Yapılan çalışmalarda antidiyabetik, hepatoprotektif, antimutajenik, antikanserojenik, antiaterojenik, antiinflamatuvar ve antioksidan olduğu ortaya konulmuştur (18). Lipid peroksidasyon biyobelirteçlerini ve protein karbonilasyonunu azalttığı gözlenmiş, karbonhidrat metabolizmasını regüle ettiği, antioksidan savunmayı arttırdığı, reaktif oksijen türlerini temizlediği ve bağışıklık sistemi aktivitesini modüle ettiği izlenmiştir (19).

İ/R tarafından tetiklenen patofizyolojik mekanizmalar hakkındaki artan bilgiye rağmen, klinik uygulamada İ/R hasarına bağlı ABY'nin önlenmesi veya azaltılması için etkili terapötik müdahaleler halen mevcut değildir. Bu nedenle, potansiyel terapötik değeri olan faktörleri belirlemeye yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır (20). Bu çalışmamızda naringenin yukarıda bahsedilen özelliklerinden faydalanarak, tek taraflı böbrek İ/R modeli oluşturduğumuz ratlarda, oksidatif stres ve böbrek fonksiyonunun bozulmasının önlenmesinde naringenin tedavisinin etkinliğini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

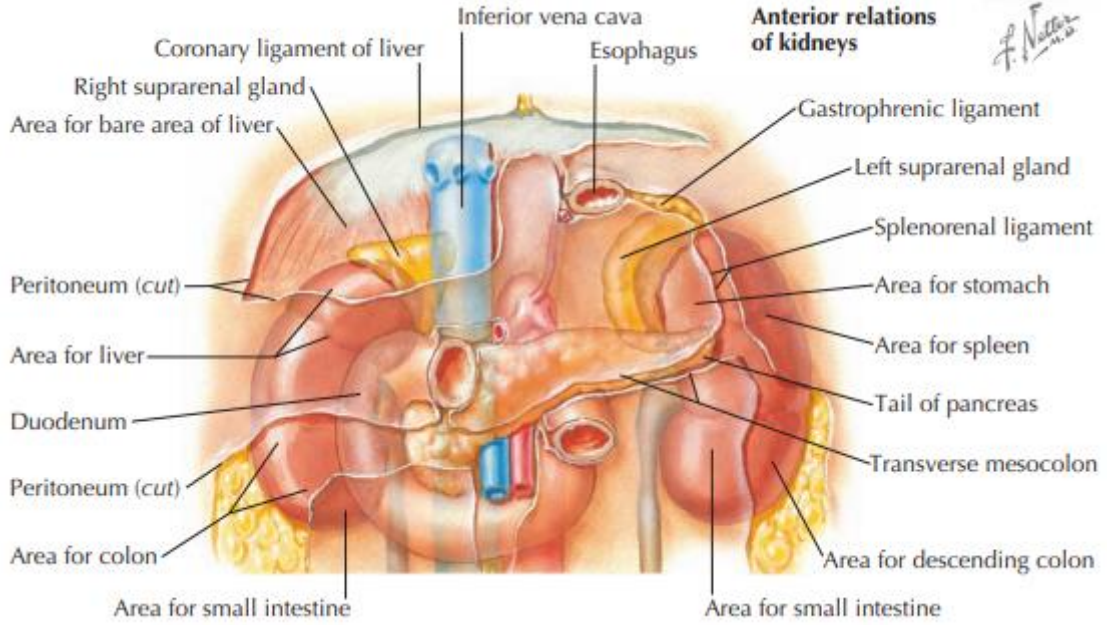


2. GENEL BİLGİLER

2.1. BÖBREK ANATOMİSİ

Böbrek, T12-L3 vertebra hizasında karın arka duvarında, retroperitoneal alanda yer alan oldukça vasküler (kalp debisinin %20'si) bir çift organdır. Sağ böbrek karaciğer varlığından dolayı, sol böbrekten daha aşağı yerleşimlidir. Böbrekler, her biri 130-150 gr ağırlığında, 10-12 cm uzunluğunda, 5-7 cm genişliğinde ve 3-4 cm kalınlığındadırlar. Böbrek, koruyucu bir yağ tabakası olan perirenal yağ tabakası ile çevrili, parlak fibromusküler bir kapsül ile kaplıdır. Her bir böbreğin iki yüzeyi (anterior ve posterior), iki kutbu (üst ve alt) ve iki sınırı (lateral ve medial) vardır. Böbrek medialinde renal hilus bulunmakta olup, vasküler yapılar, sinirler, lenfatikler ve içbükey şekilde çıkan renal pelvis yer alır (21).

Her iki böbrek karın arka duvarında psoas major kası üzerinde yer almakta olup, kuadratus lumborum kası, transversus abdominis kası, diyafragma, kostodiyafragmatik girinti, 11. costa (yalnızca sol böbrek), 12. costa, subcostal sinir, ilioinguinal sinir ve iliohipogastrik sinir ile ilişkilidir. Sol böbrek anteriorda, dalak, böbreküstü bezi, mide, pankreas, jejunum, inen kolon ve sol kolik fleksura ile ilişkili iken, sağ böbrek ön yüzeyi karaciğer, böbrek üstü bezi, ince bağırsak, sağ kolik fleksura ve duodenumun inen kısmı ile ilişkilidir (22).



Şekil-1. Böbreklerin yerleşimi ve komşulukları (23).

2.1.1. Böbrek Arteri

Böbrekler, aortadan direk çıkan genellikle tek renal arterden beslenir. Renal arter posteriorda bulunan renal pelvis ile renal ven arasından geçerek böbreğe gelmeden iki (anterior ve posterior) veya daha fazla dala ayrılır. Posterior dal böbreğin arka yüzünün orta segmentini beslerken, anterior dal böbrek alt ve üst pol ile ön yüzün tamamını besler (24).

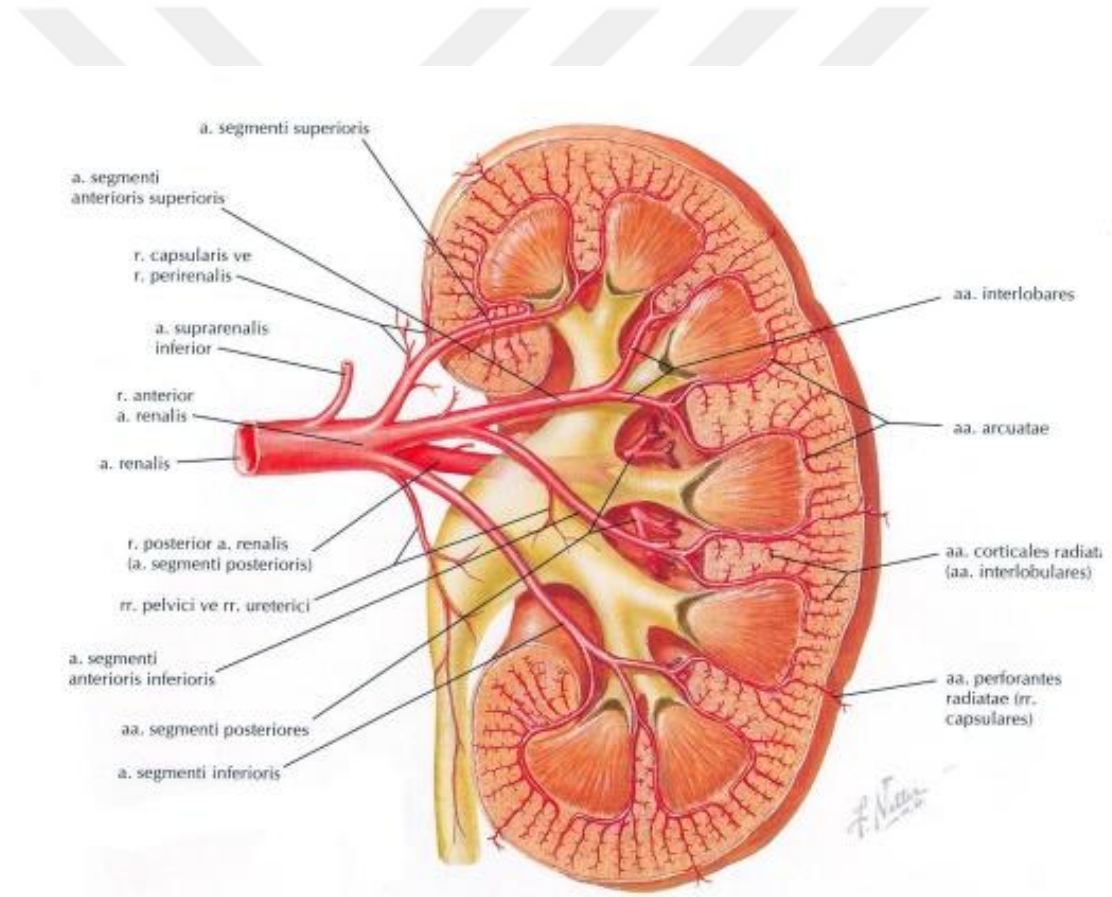
Renal arter böbrek parankimine girmeden önce segmental arter olarak ayrılır. Segmental arter, piramitler arasında interlobar arter olarak devam eder. Piramitlerin tabanına yakın, tabana paralel dönerek yön değiştiren arkuat arterleri, arkuat arterler ise interlobüler arterleri verir. İnterlobüler arterler glomerüllerin afferent arteriollerini oluşturur. Afferent arterioller glomerüllerin kapiller ağını oluşturduktan sonra distal ucu, tübüleri çevreleyen ve peritübüler kapiller olarak adlandırılan ikinci bir ağ oluştururlar. Ardından peritübüler kapillerler efferent arteriyolları oluşturmak için bir araya gelir ve daha sonra sırasıyla interlobüler ven, arkuat ven, interlober ven ve böbrek venini oluştururlar (24).

2.1.2. Böbrek Veni

Renal ven, renal arterin anteriorunda renal artere eşlik eder. Sol renal ven, sağ renal vene göre daha uzundur. Her iki renal ven inferior vena cavaya dökülürler (24).

2.1.3. Böbrek Lenfatikleri ve Siniri

Renal plexus böbreğin sinir ağını oluştururken, lomber lenf nodülleri böbrek lenfatiklerinin drene olduğu yerdir (25).



Şekil-2. Böbreğin arteriyel yapısı (23)

2.2. BÖBREK HİSTOLOJİSİ

Böbreğin dış kısmını bağ dokusu yapısında bir kapsül sarmaktadır. Bu kapsül basınç ve hacim değişikliğine karşı direnç göstermektedir. Böbrek üst polden alt pole uzunlamasına ortadan ikiye kesildiğinde daha koyu olan dış kısmı korteks, daha açık olan renkli iç kısmı ise medulla olarak adlandırılır. Korteks kısmında glomerüller, proksimal-distal kıvrımlı tübüller ve toplayıcı tübüller yer alır. Medullanın kortekse yakın bölgelerinde de henle kulpu, vaza rekta ve toplayıcı tübüllerin terminal uçları bulunmaktadır. Medulla kısmında böbrek piramitleri adı verilen koni biçimli 8-18 adet yapılar bulunur. Piramitlerin tabanı kortekse bakar. Papilla adı verilen piramitlerin apikal bölgesi ise renal sinüse bakar. Papillalar minör kalikslere açılırlar. Minör kaliksler, renal pelvisin ana bölmeleri olan ve böbrekte 2 veya 3 adet bulunan majör kalikslere açılırlar. Kaliksler, renal pelvis ve üreter duvarında bulunan kasılabilir yapı, idrarın mesaneye doğru ilerlemesini sağlar (26).

Böbrekten geçen kanın %90-95'i kortekste, %5-10'u ise medulladadır. Kortekste glomerül ve bowman kapsülünü içeren renal korpüskül, kıvrımlı tübüller, düz tübüller, toplayıcı tübüller ve toplayıcı kanallar yer almaktadır. Bu yapılar böbreğin temel fonksiyonel birimi olan nefronu oluşturur. Makroskopik olarak görülebilen medulladan çıkan ve kortekse doğru vertikal çizgilenmeler olarak izlenen kısma medullar ışınlar (ferrein) denmektedir. Bu kısım düz tübüller ve toplayıcı kanalları içermektedir. Medullada düz tübüller, toplayıcı kanallar ve vaza rekta adı verilen kapiller ağ yer almaktadır. Vaza rektalar tübüllere paralel uzanıp, içerisindeki kan akışının idrar akım yönüne zıt şekilde ilerlemesiyle idrar konsantrasyonunu düzenlerler (26).

Böbreğin işlevsel birimi olan nefron, her bir böbrekte yaklaşık olarak 1,5 milyon adet bulunmaktadır. Nefron, renal korpüskül ve tübüllerden oluşur. Renal korpüskül tek katlı epitel olan bowman kapsülü ile bu kapsüle giren glomerül yumağından oluşur. Renal korpüskülün afferent ve efferent arteriollerin olduğu tarafına damar kutbu denir. Tübüler yapı, bowman kapsülünün proksimal tübül ile birleşme yerinden başlar. Bu tarafa ise idrar kutbu denir. Proksimal tübül kortekste kıvrımlı seyrederken, medullada düz seyreder. Daha sonra proksimal tübül henle kulpunun inen kalın kısmını oluşturur. Henle kulpu çıkan kalın kısmı distal tübül olarak devam eder. Distal tübülün lümeni proksimal tübülden daha geniştir. Distal tübül, nefronun gerçek yapısı olmayan kollektör tübüllere

açılır. Kollektör tübüller ise papillanın area cribrosa denilen yüzeyine açılırlar. Distal tübül, kaynaklandığı renal korpüskülün afferent arteriolüne yakındır. Distal tübülde, arteriole komşu modifiye olmuş makula densa adı verilen hücreler bulunur. Renal korpüskülleri kortekse yakın ve henle kulpları medullaya ancak uzanabilen nefronlara kortikal, renal korpüskülleri medullaya yakın ve henle kulpları medullanın derinliklerine kadar uzanan nefronlara ise jukstamedullar nefronlar adı verilmektedir. (27).

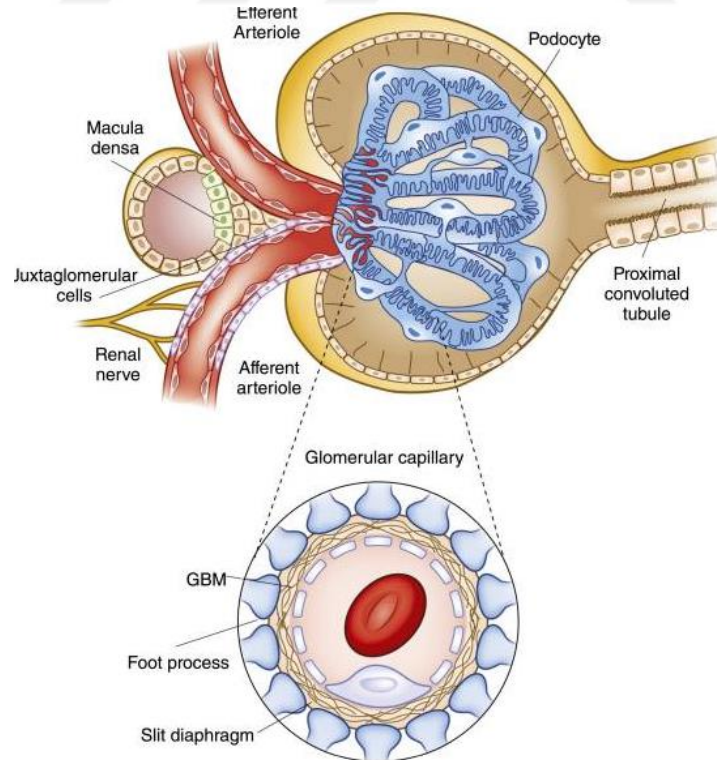
2.3. BÖBREK FİZYOLOJİSİ

Böbrekler vücutta homeostatik dengenin sağlanması için oldukça önemli bir yere sahiptir. Vücuttaki sıvı miktar ve içeriğinin, pH'nin, su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi, metabolizma sonucu meydana gelen artık ürünlerin toksik seviyeye ulaşmadan vücuttan atılması gibi işlevleri yanı sıra, 1,25 dihidroksikolekalsiferol, renin, eritropoetin gibi hormonların salgılanması ile kan kalsiyum düzeyi ayarlanması, kemik yapımı, arteryel kan basıncının düzenlenmesi, eritropoezis gibi işlevleriyle de vücutta önemli görevler üstlenmektedir. Vücutta en fazla protein ve pürin bazlarının katabolizması sonrası oluşan nitrojen artıkları, üre ve ürik asit olarak böbrekten uzaklaştırılırlar (28).

En önemli görevi sıvı elektrolit dengesini sağlamak olan böbreğin bu işlevi nefronlar tarafından yapılır. Kalp debisinin yaklaşık %22'si böbreklere giderken, bu dakikada yaklaşık 1100 ml kanın böbreklerden geçip glomerüler filtrasyona uğradığını göstermektedir. İnterlobüler arterlerden çıkan afferent arterioller, bowman kapsülü içerisinde glomerüler kapillerleri oluşturarak kanın filtrasyonunu sağlarlar. Afferent arteriolün distali, yani bowman kapsülünü terk eden kısmı efferent arteriol olarak isimlendirilir. Efferent arterioller, tübüllerin çevresinde idrar akımına zıt şekilde akıp hidrostatik basıncın düzenlenmesinde rol oynayan peritübüler kapillerleri oluştururlar. Hidrostatik basınç glomerüler kapillerlerde yüksek olup (yaklaşık 60 mmHg) sıvının hızlıca filtrasyonunu sağlarken, peritübüler kapillerlerde düşük seyrederek tübüler reabsorpsiyonu sağlamaktadır. Glomerüler kapillerlerden filtre olan sıvı bowman

kapsülüne, ordan da proksimal tübüle geçer. Bu filtre olan sıvıda kandaki proteinler bulunmamakta olup gerisi plazma sıvısı ile aynı içeriğe ve konsantrasyona sahiptir (29).

Glomerüler filtrasyon hızı (GFR), bir dakikada böbreklerden süzülen plazma miktarı olarak tanımlanmakta olup birimi ml/dk 'dır. Erişkin bir insanda GFR yaklaşık olarak 125 ml/dk olup bu da günde 180 litre kanın böbreklerden süzüldüğü anlamına gelmektedir. Günlük idrar miktarının erişkinde yaklaşık 1-1.5 litre olduğu dikkate alınırsa süzülen plazmanın %99'unun geri emildiği, %1'inin idrar olarak atıldığı görülmektedir (28). İdrar oluşumu glomerüler filtrasyon bariyerinde başlar. Glomerüler filtrasyon bariyeri üç tabakadan meydana gelmektedir. Bunlar; fenestra endotel, glomerüler bazal membran ve epitel hücreleri (podositler). Bu bariyer proteinlerin, albümin ve negatif yüklü makro moleküllerin idrara geçişini engellemektedir. Ultrafiltratın glomerül kapillerlerinden bowman boşluğuna geçmesini sağlayan güç, glomerüler kapillerdeki hidrostatik basınca karşı bowman boşluğundaki hidrostatik basınç ile glomerüler kapiller osmotik basınç toplamının arasındaki fark belirler. Bowman boşluğundaki osmotik basınç ihmal edilebilir düzeydedir (30).



Şekil-3. Renal korpüskül ve glomerüler filtrasyon bariyeri (31).

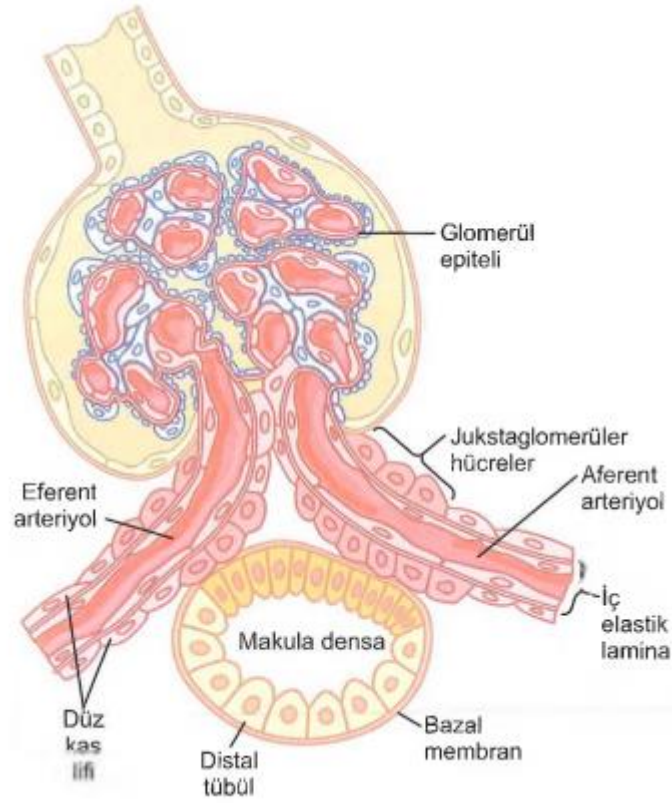
Bowman boşluğuna geçen glomerüler filtrat, renal korpüskülün idrar kutbunda bulunan proksimal tübüllere geçer. Proksimal tübül, kıvrımlı tübül ve düz tübül olmak üzere iki kısımdır. Proksimal tübülde, filtrattaki suyun 2/3' geri emilir. Ayrıca filtrasyona uğramış sodyum, potasyum, klor, bikarbonat, fosfat ve glikozun önemli bir kısmı da burada geri emilmektedir. Proksimal tübüllerin bir diğerk önemli görevi ise filtrasyona uğramış düşük molekül ağırlıklı proteinlerin, vitaminlerin, hormonların ve diğerk küçük metabolitlerin geri emilimini sağlamaktır (32).

Henle kulpu, ince inen kolları ile proksimal tübül, kalın çıkan kolları ile de distal tübül arasında bağlantı kurmaktadır (33). Henle inen ince kolu sadece suya geçirgen olup, ultrafiltratın burada konsantre olmasını sağlar. İnen ince koldan suyun geri emilimi pasif transportla olup, etrafının hipertonic olması suyun geri emilimini sağlar. İnen ince kolun etrafında yüksek üre konsantrasyonunun olması, hipertonic olmasına katkıda bulunmaktadır. Yine henle çıkan kalın kolu sodyum, potasyum ve klor reabsorbsiyonu ile henle çevresinde hipertonic ortam oluşması için önemli bir görev üstlenmektedir. Vasa rectaların da ters akımı ile ieriğininin osmolaritesinin henleden yüksek olması bir diğerk etken olarak görülmektedir (34). Jukstamedller nefronlarda, henle kulbunda ince çıkan kollar bulunmakta olup, bunlar kalın çıkan kollar ile devam eder. Kortikal nefronlarda ise ince inen kollar, direk kalın çıkan kollar ile devam eder. Kalın çıkan kolda bulunan Na-K-2Cl kotransport pompası sayesinde, bu elektrolitler reabsorbe edilir. Ayrıca kalsiyum, magnezyum ve bikarbonat emilimi ile amonyum atılımında önemli rol oynamaktadır. İnen ince kolda ultrafiltrat osmolaritesi giderek artarken, çıkan kalın kolda bu osmolarite giderek düşer (35).

Distal tübül nefronun son kısmıdır. Distal tübül, makula densa kısmı ile toplayıcı tübüller arasındaki nefron segmentidir. Distal tübül, sodyum ve klor reabsorbsiyonuna, ve potasyum sekresyonuna önemli derecede katkı sağlar. Ayrıca kalsiyum, magnezyum dengesi ile asit sekresyonunda önemli rol oynar (36). Distal tübüldeki Na-K-ATPaz pompası, aldosteron hormonu ile düzenlenmektedir. Bu pompa sayesinde sodyum ve su emilimi olurken, potasyum ve asit (hidrojen) sekresyonu meydana gelir. K-H-ATPaz pompası distal tübülde potasyum geri emilimi ve hidrojen atılımında önemli rol oynar (37).

Ultrafiltratın renal korpüskülden başlayıp proksimal tübül, henle kulbu ve distal tübülle devam eden yolculuğu toplayıcı tübüllere gelince artık idrar adını alır. Toplayıcı tübüller idrar konsantrasyonunda önemli rol oynar. Üre geri emilimini sağlayarak henle kulbu çevresinde hipertonic ortam oluşmasına katkı sağlar (38). Ayrıca toplayıcı tübüllerde antidiüretik hormon (ADH) etkisiyle su geri emilimi sağlanır. ADH su geri emilimini aquaporin-2 sentezini arttırarak yapar (39). Toplayıcı tübüller; kortikal toplayıcı tübüller, dış medüller toplayıcı tübüller ve iç medüller toplayıcı tübüller olmak üzere üç ana bölümden oluşur. Toplayıcı tübüller daha sonra idrarı boşaltmak için papillaya açılırlar (38).

Jukstaglomerüler aparat, GFR'nin vücut kan basıncından etkilenmeden sabit kalmasını sağlayan otoregülasyon kompleksidir. Bu kompleks afferent ve efferent arteriollerin duvarında bulunan özelleşmiş jukstaglomerüler hücreler ile distal tübüldeki makula densa hücrelerinin temasıyla oluşmaktadır. Makula densa, distal tübüle ulaşan filtrattaki sodyum ve klor konsantrasyonundaki azalmaya karşı harekete geçer. Afferent arteriolde direnci düşürerek GFR'nin normale dönmesine yardımcı olur. Ayrıca afferent ve efferent arteriollerde bulunan jukstaglomerüler hücrelerdeki renin depolarından renin salgılatır. Renin, bir takım aşamalardan sonra anjiotensin-2 oluşumunu, anjiotensin-2 ise efferent arteriolde vazokonstriksiyonu sağlar. Vazokonstriksiyon ile glomerüllerde artan hidrostatik basınç GFR'yi normal aralıkta tutar (29).



Şekil-4. Jukstaglomerüler aparat (29).

2.4. BÖBREK FONKSİYONLARI

Böbreğin fonksiyonları şu şekilde sıralanabilir:

- 1) Metabolik yıkım ürünlerinin uzaklaştırılması (Üre, kreatinin, ürik asit, bilirubin)
- 2) Vücuttaki yabancı kimyasal maddelerin, ilaçların, toksinlerin detoksifikasyonu ve atılımı
- 3) Su ve elektrolit dengesinin ayarlanması (Sodyum, potasyum, bikarbonat, kalsiyum, magnezyum, fosfor dengesi gibi)
- 4) Arteriyel kan basıncının düzenlenmesi (Su ve sodyum dengesini sağlayarak uzun süreli arter basıncını düzenler. Ayrıca salgıladığı renin ve vazoaaktif faktörler ile kısa süreli arter basıncında da etkili rol oynar)

- 5) Asit – baz dengesinin düzenlenmesi (Vücuttan asit atılımı ve vücut sıvısının tamponlanması)
- 6) Hormon üretimi ve metabolizması (Eritropoetin salgılayarak hemopoetik hücrelerden eritrosit yapımını uyarır, 1,25-dihidroksikolekalsiferol üretimi ile vücuttaki kalsiyum ve fosfatı düzenler)
- 7) Glukoneogenez (Uzun süreli açlıkta glikoz sentezi) (26, 29).

2.5. İSKEMİ/REPERFÜZYON

2.5.1. İskemi

İskemi; doku ve organlara gelen kan akımının kesilmesi sonucu ortaya çıkan durumdur. Reperfüzyon ise doku ve organlarda kan akımının tekrar sağlanmasıdır. İ/R sıklıkla hipovolemik durumlar, septik şok, parsiyel nefrektomi gibi cerrahi durumlar ve transplantasyon sonrası meydana gelmektedir. Dokunun hipoksik kalması sonucu hasar meydana gelmesi istenmeyen bir durum olmakla birlikte; reperfüzyon sonrası paradoksal olarak doku hasarı daha da artabilmektedir (40, 41).

İskemi sonrası dokulardaki hücrelere kan akımı ile giden oksijen miktarının azalması, hücrelerde ATP üretiminin azalmasına bu da hücresel fonksiyonların bozulmasına sebep olur. Azalmış ATP hücrede kalsiyum ve sodyum birikmesine sebep olur. Özellikle kalsiyum birikimi hücrede sitotoksik etki oluşturur. Oksijenin, dolayısıyla da ATP'nin tükenmesi sonucunda asidoz meydana gelir (42). Kan akımının durması ile doku beslenmesinin bozulmasının yanı sıra, hücrelerde atılımı sağlanamayan toksik maddelerin birikimi nedeniyle apoptozise kadar giden süreç meydana gelebilmektedir. İskemi süresinin uzaması halinde doku ve organ kaybı gelişebilmektedir (40).

2.5.1.1. Geri Dönüşümlü Hasar

Hipoksinin hücrede ilk etkilediği fonksiyon, mitokondrideki oksidatif fosforilasyon yani aerobik solunumdur. Hücrenin enerji birim ATP'nin azalması hücredeki birçok sistemin bozulmasına sebep olur. ATP bağımlı sodyum pompasının aktivitesinin azalması ile sodyum hücre içerisinde birikirken, potasyum hücre dışında kalır. Hücre içerisindeki sodyum artışı suyun hücre içerisinde artmasına, bu da hücre sel ödeme sebep olur. Hücre içi artan metabolitlerin birikimi ile hücre içi ozmotik yük daha da artar. İskeminin ilk dakikalarında artan glikoliz ile laktik asit, sitrat ve inorganik fosfatın birikimi sonucunda hücrede pH düşer, asidoz meydana gelir. Hipoksinin devam etmesi ile mitokondrial fonksiyonlar giderek bozulur, membran geçirgenliği daha da artar. Daha sonra ribozomlar, granüllü endoplazmik retikulumlardan ayrılarak polizom ve monozomlara parçalanırlar. Bu bozukluklar hipoksinin başlangıcı aşamasında geri dönüşümlüdür. Ancak hipoksinin daha da devam etmesi geri dönüşümsüz hasara neden olur (43).

2.5.1.2. Geri Dönüşümsüz Hasar

Hipoksik ortamın devam etmesiyle birlikte mitokondrilerde ciddi düzeyde vakuolizasyon, plazma membranında aşırı hasar, lizozomlarda şişme, mitokondri matriksinde amorf kalsiyumdan zengin yapıların birikmesi ile karakterize olan geri dönüşümsüz hasar ortaya çıkmaktadır. Böylelikle aşırı geçirgen membranlarda proteinler, ribonükleik asitler (RNA), koenzimlerde yapısal bozukluklar meydana gelmektedir. Lizozom zarının hasarı ile enzimler sitoplazmaya geçmekte ve asidik olan sitoplazmada lizozomal hidrolazlar aktifleşmektedir. Aktifleşen enzimler nükleer elemanları ve sitoplazmadaki yapıları sindirime uğratmaktadır (44).

2.5.2. Reperfüzyon

Reperfüzyon ile dokunun tekrar kanlanması, enerji üretiminin başlaması ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması sağlanır. Bakıldığında reperfüzyonun sağlanması doku için faydalı bir durum gibi görünse de, iskeminin oluşturduğu hasardan daha fazlasına neden olur. Bu süreç iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarı olarak adlandırılmaktadır. İskemi

durumunda oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR), doku kan akımının tekrar başlaması ile çok daha fazla oluşur ve bu durum hücre hasarını artırır. İskemiye uğramış olan doku ve organın yanı sıra diğer organlarda da hasara sebep olabilmektedir. SOR'un yanı sıra sitokinler, kemokinler ve lökositlerin aktivasyonu ile doku hasarını artırır. (45).

2.6. İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI VE PATOFİZYOLOJİSİ

İ/R hasarı patofizyolojisi çok karmaşıktır ve daha tam olarak netlik kazanmamıştır. Nötrofillerin aktivasyonu, SOR artışı, adhezyon molekülleri ve çeşitli sitokinlerin de dahil olduğu inflamatuvar mediatörlerin salındığı patolojik yollar söz konusudur. İskemi sırasında artan SOR miktarı, reperfüzyon sırasında hücre içine oksijen girişinin hızlanması ile daha da artar. Artan SOR, hücre membranındaki lipitlere, protein ve nükleik asitlere ciddi derecede zarar verir. Lipit peroksidasyonu ve fosfolipaz aktivasyonu ile hücre membranının bütünlüğünün kaybolmasına yol açar (42).

Reperfüzyon ile kan akımının tekrar başlaması ile, iskemik dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökosit (PMNL) sayısında artış meydana gelir. SOR'un salınımında önemli rol oynayan PMNL'ler, mikrovasküler oklüzyon, sitotoksik enzim salınımı, vasküler permeabilite artışı ve sitokin salınımı gibi mekanizmalar ile İ/R hasarından sorumlu tutulmaktadır (46).

Reperfüzyon sonrası mitokondriyal hasar ve elektrolit dengesizliği üç ana sistem ile oksidatif strese neden olur:

- 1- NADPH oksidaz sistemi
- 2- Nitrik oksit sentaz sistemi
- 3- Ksantin oksidaz sistemi (47).

Nötrofillerin membranlarında yer alan NADPH bağımlı oksidaz sistemi, SOR oluşumunda en önemli kaynaklardan biridir. Reperfüzyonun başlaması ile dokuya gelen oksijenin çoğu kısmı NADPH bağımlı oksidaz ile süperoksit iyonlarına, süperoksit iyonları hidrojen peroksit, hidrojen peroksit ise klor varlığında miyeloperoksidaz enzimi vasıtasıyla güçlü bir oksidan olan hipoklorik aside indirgenir (48).

Nitrik oksit, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği ile İ/R hasarında koruyucu bir rol oynar. NOS'un, bilinen üç türü (endotelial NOS, nöronal NOS, indüklenebilir NOS) bulunmaktadır. Tüm NOS türleri L-arginin'den NO üretir (47). Endotel hücreleri endotelin ve nitrik oksit üretiminden sorumludur. İ/R hasarında endotelin/NO dengesi endotelin lehine bozulur. İ/R hasarında etkilenen endotel hücreleri NO salınımında azalmaya yol açar, bu da İ/R hasarını artırıcı etkiye sahiptir (49).

İskemi sonucunda ATP ve ADP, AMP'ye indirgenir ve hücre içerisinde AMP artışı izlenir. AMP'den ayrılan adenozin; inozin ve hipoksantine dönüştürülür. Hipoksi durumunda hipoksantin daha fazla metabolize edilmemekte ve dokuda birikmeye başlamaktadır. Reperfüzyon başlaması ile ksantin oksidaz aktivitesi artar ve hipoksantin; ksantin ile ürik aside dönüşür. Reperfüzyon esnasında dokuya gelen oksijenden, bu reaksiyonlar esnasında süperoksit ve hidrojen peroksit oluşur (50).

İ/R kompleman sistemini aktive etmesiyle proinflamatuvar komponentler, lökositleri aktive ederken aynı zamanda TNF-a, IL-1 ve IL-6 salınımını uyarak inflamatuvar süreci güçlendirirler (51). İ/R, inflamatuvar mediatörlerin salınımı ile nötrofil aktivasyonuna, lökosit ve adezyon molekül üretimine neden olur. İnflamatuvar cevap ile doku hasarı giderek artmaktadır (52). Nötrofil aktivasyonu ile yüksek miktarda SOR üretimi, sitotoksik enzim salınımı, mikrovasküler oklüzyon, vasküler permeabilite artışı ve sitokin salınımı izlenmektedir (46).

2.7. BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI

Böbrek iskemi/reperfüzyon hasarı, her yıl milyonlarca hastayı etkileyen akut böbrek yetmezliğinin önde gelen bir nedenidir. Böbrekte iskemi oluşmasında asıl etken, böbrek kan akımındaki belirgin azalmadır. Renal transplantasyon, böbrek cerrahisi, sepsis, renal arter emboli veya trombozu, aort cerrahisi ve kardiyopulmoner cerrahi böbrek İ/R hasarının en sık sebepleri olarak gösterilmektedir (53).

Böbrek dokusunda, oksijen basıncı korteksten medullaya doğru gittikçe azalmaktadır. Böbrek dokusundaki bu kanlanmada herhangi bir değişiklik, İ/R hasarının başlangıç ve gelişim evresinde önemli yer tutar (54).

Renal iskemin uzun sürmesi, hücresel bütünlüğün bozulması ve toksik metabolitlerin birikimi ile devam eden süreçte, hücre ölümüne neden olmaktadır. Hücresel bütünlüğün korunması ve metabolitlerin temizlenmesi için reperfüzyon gereklidir. Ancak paradoksal bir şekilde reperfüzyon sırasında gelişen bir takım olaylar hücre ve doku hasarını derinleştirmektedir (40).

Renal iskekiye en duyarlı olan yapıların proksimal tübül ve henle kulpunun çıkan kalın kolu olduğu bilinmektedir. İskemide, ATP'nin azalması ile proksimal tübülde Na-K-ATPaz pompasının işlevi azalır. Bu durum da hücrede Na iyon konsantrasyonunun artmasına ve hücre içi su birikimi ile hücrenin şişmesine ve hücre ölümüne neden olur (55). Endotel hasarı, renal iskemi de önemli yer tutar. Renal iskemi sırasında ve sonrasında endotelial fonksiyonun bozulması; renal perfüzyonun bozulmasına, renal hipoksiye, epitel hücre hasarına ve GFR'de azalmaya sebep olur (56).

Böbreğin İ/R hasarından sorumlu olan mekanizmalar; reperfüzyon ile SOR'un artması, iskemi sonrasında böbrek dokusuna inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu, fosfolipaz ve proteaz aktivasyonunda bozulma ve hücresel pH'da bozulmadır. Renal İ/R'nin, peritübüler kapillerlerde kalıcı hasara, tübülointertisyel fibrozise, mikrovasküler tıkanıklığa ve tübüler epitelde hasara yol açtığı bilinmektedir (55, 57).

SOR, İ/R hasarında hedef hücrelerde direkt etki ile hücresel hasara yol açmaktadır. Ayrıca SOR'a bağlı olarak akut tübüler nekroz oluşabilmekte ve bu da ABY patogeneğinde önemli yer tutmaktadır (58).

İskemide böbrek perfüzyonunun bozulması ve GFR'nin azalmasının ana nedenleri; böbreğe gelen kan akımının düşüşüne bağlı olarak glomerüllerde filtrasyon basıncının azalması, tübül epitel hücrelerinin lümene dökülmeleri sonucunda oluşan birikimin obstrüksiyona yol açarak tübüler ultrafiltratın engellenmesi ve glomerüler ultrafiltratın geriye kaçmasıdır (55).

Böbrekteki İ/R hasarının oluşmasında oksidatif stres önemli bir yer tutmaktadır. Süperoksit ve hidroksil benzeri serbest oksijen radikallerinin oluşması ve antioksidan mekanizmada yetersizlik, oksidatif strese neden olmaktadır (58).

2.8. OKSİDATİF STRES VE SERBEST RADİKALLER

Oksidatif stres, prooksidan moleküllerin, özellikle serbest oksijen radikalleri ve reaktif nitrojen türlerinin antioksidanların savunma mekanizmasındaki yetersizliğine karşı prooksidan-antioksidan arasındaki dengenin antioksidan aleyhine bozulmasıdır (59). İleri yaşla birlikte organizmada meydana gelen çoğu kronik hastalıkla oksidatif stres doğrudan ilişkilidir. Bu bağlamda prooksidan-antioksidan dengesinin sağlıklı bir yaşam sürdürmede önemi oldukça büyüktür (60).

Reaktif oksijen türevleri (ROT) ve reaktif nitrojen türevleri (RNT) vücut için istenilmeyen seviyelere ulaştığında, nükleik asitler, karbonhidratlar, lipitler ve proteinler ile reaksiyona girip kalıcı hasar bırakmaktadırlar (61). Dış yörüngesinde çiftlenmemiş/eşlenmemiş elektron bulunan moleküllere veya atomlara serbest radikal denilmektedir. Serbest radikaller, etrafındaki moleküllerden elektron almaya çalışıp bir an önce kararlı hale ulaşma eğilimindedirler (62). Oluşan serbest radikallerin çok büyük kısmı oksijen kaynaklıdır. Oluşan bu serbest oksijen radikallerinin büyük bir kısmı, mitokondrideki reaksiyonların yan ürünüdür. Vücutta metabolizma sırasında serbest radikaller olduğu gibi radyasyona maruziyet, ilaçlar ve zararlı kimyasallarla da oluşabilmektedir (63).

Tablo-1: Reaktif oksijen bileşikleri

Radikaller	Radikal olmayanlar
Hidroksil ($\text{OH}^\cdot$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Alkoksil ($\text{RO}^\cdot$)	Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)
Peroksil ($\text{ROO}^\cdot$)	Ozon (O_3)
Superoksit ($\text{O}_2^\cdot$)	Hipoklorik asit (HOCl)
Nitrik oksit ($\text{NO}^\cdot$)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit ($\text{NO}_2^\cdot$)	Peroksinitrit ($\text{ONOO}^\cdot$)

Oksidatif stresin üç ana bileşeni hasardan sorumlu tutulmaktadır;

- 1- SOR'ların, özellikle hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi radikal olmayan oksidanların, dolaylı yoldan hücre sinyalizasyonunda işlev bozukluğu ve değişiklik oluşturması
- 2- Hücrel regülasyonda görevli proteinlerin kovalent, oksidatif veya nitrozatif modifikasyonu yoluyla hücrel sinyalleşmenin üzerinde modülatör etki oluşturması ve
- 3- SOR ve RNT'lerin; DNA, proteinler, lipidler ve karbonhidratlar gibi hücrel moleküllere doğrudan zarar vermesi (40).

2.8.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Birden fazla serbest radikal çeşidi olmasının yanı sıra en önemli ve organizmada en çok bulunan serbest radikaller, serbest oksijen radikalleridir. Reaktif özelliği bulunan bu moleküllerin aynı zamanda organizma için gerekliliği de kanıtlanmıştır. Hücre iletim sisteminde, fagositoz ve bazı biyokimyasal reaksiyonlarda rol alırlar (64, 65).

İskemi/reperfüzyon hasarında, özellikle reperfüzyon sırasında artan SOR'lar, dokulara saldırma yoluyla hasar boyutunda ciddi artışa sebep olmaktadır. Bunun dışında kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluk ve hastalıklar, ateroskleroz, diyabet, böbrek ve karaciğer hastalıklarında serbest oksijen radikallerinin rol aldığı kanıtlanmıştır (50, 63).

Süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali ($OH^\cdot$) serbest oksijen radikallerine verilecek örnekler olmalarının yanı sıra hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi radikal olmayan ancak serbest radikal oluşturma potansiyele sahip olan oksijen türevi reaktif moleküller de mevcuttur (63).

2.8.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

Moleküler oksijene bir elektron eklenmesi sonucu oluşan indirgenmiş molekül süperoksit olarak adlandırılır. En çok mitokondride aerobik metabolizma sırasında üretilir (66). O_2^- , mitokondriyal elektron transfer zincirinde NADH'ın, NAD^{+} 'a okside olması ile üretildiği gibi birçok oksidaz tarafından da üretilabilmektedir (67).



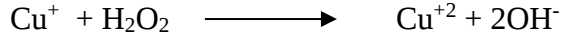
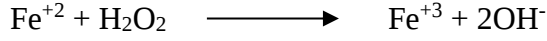
O_2^- birçok fizyolojik ve patofizyolojik mekanizmalarda yer alır (67). Fagositozdan sorumlu makrofaj benzeri hücrelerde, fagositoza katkıda bulunur. Vasküler fonksiyonların regülasyonuna yardımcı olur. Süperoksitin kendisi pek zararlı bir molekül olmamasına karşın, hidrojen peroksit (H_2O_2) öncüsü ve bazı iyonların indirgeyicisi olması onu sekonder olarak zararlı bir molekül haline getirmektedir (68).

Süperoksit radikallerinin yarı ömrü kısa olup süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile katalizlenen dismutasyon reaksiyonuna girerler. Bu reaksiyonla hidrojen peroksit ve oksijen meydana gelir (65).



2.8.1.2. Hidroksil Radikali ($OH^\cdot$)

Hidroksil, bilinen en potent serbest radikaldir. Hücre için en zararlı oksijen radikallerindendir. Hidrojen peroksitin (H_2O_2), Fe^{+2} veya Cu^+ ile reaksiyonu sonucunda hidroksil radikali meydana gelmektedir. Bu reaksiyon, Fenton reaksiyonu olarak bilinmektedir. Ayrıca radyasyona maruz kalan dokularda da $OH^\cdot$ radikali oluşabilmektedir. H_2O_2 'nin zararlı etkisinin temelinde, oluşturduğu $OH^\cdot$ radikali olduğu düşünülmektedir (69).



OH^- ; amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler, proteinler ve şekerler olmak üzere çoğu hücresel elemanlar ile reaksiyona girebilmektedir. OH^- radikalinin bilinen en önemli hasarı ise lipid peroksidasyonudur. Özellikle membran fosfolipidlerinin doymamış yağ asitlerine saldırması ile membran fonksiyonlarında bozulmaya sebep olur (50).

2.8.1.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Bir moleküle serbest radikal demek için iyon yüklü olması gerekir. Oysa H_2O_2 iyon yüklü değildir ancak üretildiği yerde kalan süperoksit radikalinin aksine membranları kolay şekilde aşır sitozole diffüze olması ve bazı geçiş metalleri varlığında ürünü olan OH^- radikalini oluşturması onu önemli bir reaktif oksijen türevi (ROT) haline getirmektedir (68, 69).

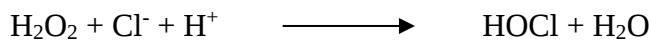
H_2O_2 , süperoksit molekülünden kendiliğinden oluşabileceği gibi, dismutasyon reaksiyonu ile SOD enzimi katalizörlüğünde de oluşabilmektedir (70).

2.8.1.4. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Çiftlenmemiş elektronu bulunmadığından dolayı, aynı H_2O_2 gibi serbest radikal değildir. Sekonder olarak serbest radikal oluşumuna neden olduğundan biyolojik sistemlerde önemli bir reaktif oksijen türevidir (71).

2.8.1.5. Hipoklorik Asit (HOCl)

HOCl , özellikle nötrofillerde miyeloperoksidaz (MPO) enzimi aracılığıyla, klor ile H_2O_2 'den meydana gelir.



Hipoklorik asit de aynı şekilde serbest radikal olmayıp reaktif oksijen türevleri arasında yer almaktadır. Bakterilerin, fagostik hücreler tarafından yok edilmesinde rol oynar. Organizmada bakterisit sisteminin en önemli parçalarından biridir. Birçok molekül ile reaksiyona girebilmesinin yanı sıra ana hedefinin proteinler olduğu düşünülmektedir (72, 73).

2.8.2. Serbest Radikallerinin Vücuttaki Etkileri

2.8.2.1. Lipidlere etkileri

Serbest radikaller vücutta bulunup belirli görevlerde rol alırlar, ancak belirli bir seviyeyi geçtiğinde, savunma mekanizmalarının karşı koyamadığı artış miktarlarında, hücre ve dokularda zararlı değişiklere neden olurlar (74, 75). Değişikliklerden en çok zarar gören lipidlerdir (76).

Serbest radikaller en önemli etkisini lipid peroksidasyonu üzerinden göstermektedir. Hücre membranında bulunan doymamış yağ asitleri ve kolesterol ile reaksiyona giren serbest radikaller, hücre membranı için yıkıcı etkilere neden olabilen lipid peroksidasyonunu başlatırlar (77).

Lipid peroksidasyonu ile hücre membranının akışkanlığı ve bütünlüğü zarar görür. Hücre membranındaki transport sistemi etkilenir. Hücre içi kalsiyum miktarı artar, proteazlar aktifleşir. Lizozomal membranlarda oluşan hasarda, lizozomal enzimlerin salınımı ile hücre içi sindirim meydana gelir. Lipit peroksidasyonunun son ürünü olan aldehitler de hücre için zararlı etkilere sahiptirler (78, 79). Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA), oksidatif stresin bir biyolojik belirteci olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (80).

2.8.2.2. Proteinlere etkileri

Proteinler serbest radikaller tarafından oksidatif olarak üç şekilde modifiye edilebilir (81):

- 1- Bazı amino asitlerin oksidatif modifikasyonu,
- 2- Serbest radikal aracılı peptit bölünmesi ve

3- Lipid peroksidasyon ürünleri ile reaksiyona bağı olarak protein çapraz bağ oluşumu.

Protein ürünlerine oksidatif hasar; enzimlerin, reseptörlerin ve membranların taşıma aktivitesini bozabilir. Hem geri dönüşümsüz hem de geri dönüşümlü protein oksidatif modifikasyonları olabilir. Oksidatif olarak zarara uğramış protein ürünleri, birçok hücresel aktiviteye hasar verebilecek reaktif gruplar içerebilir. Proteinlerin oksidasyonu, yaşlanmaya yol açan sinyal iletim mekanizmasının, enzim aktivitesinin, ısı stabilitesinin ve proteoliz duyarlılığının değişimini etkiler (81, 82).

Proteinlere ve kükürt içeren enzimlere verilen hasar, denatürasyon, inaktivasyon ve çapraz bağlanma ile sonuçlanabilir. Oksidatif olarak modifiye edilmiş proteinler, normal olarak hücreler içinde tanınmasına ve parçalanmasına rağmen, bazıları zamanla kademeli olarak birikebilir ve hücresel işlev bozukluğuna yol açabilir (83).

2.8.2.3. Nükleik Asitlere Etkileri

Serbest radikaller; kromozomal değişiklikler, DNA zincir kırılmaları, pürin ve pirimidin bazlarında parçalanma gibi sonuçlara sebep olacak şekilde nükleik asitlere etki ederler. DNA içerisinde bulunan deoksiribozlarda ve bazlarda kırılmalar meydana gelir. Bütün bunların sonucunda hücresel hasar oluşur (40, 84).

Serbest radikaller, DNA hasarı sonrası aktive olan polimeraz enzimi ile reaksiyona girerek DNA'nın onarımına engel olurlar (85).

$\text{OH}^\cdot$ radikali, bazlarla ve DNA ile kolayca reaksiyona girerek hasara ve mutasyonlara yol açabilir. H_2O_2 ise membranlardan kolayca geçip, DNA'ya ulaşarak hücrede disfonksiyona, mutasyona hatta hücre ölümüne neden olur (86).

2.8.2.4. Karbonhidratlara Etkileri

Serbest radikaller, karbonhidratlar ile reaksiyona girer ve karbon atomlarının bir hidrojen atomunu çıkararak serbest radikal üretirler. Hidrojen peroksit, diğer peroksitler ve oksialdehitler oluşur. Bazı moleküllerde zincir kırılmalarına yol açarak, moleküler yapılarda fonksiyon kayıplarına neden olurlar. (87, 88).

2.9. ANTİOKSİDANLAR

Serbest radikaller vücutta çeşitli fizyolojik süreçler ile sürekli biçimde oluşturulurlar. Bu radikallerin, vücutta önemli görevleri bulunmakla birlikte, organizmadaki savunma sistemlerinin varlığı adeta bir tampon görevi görerek serbest radikallerin zararlı etkileri ortaya çıkmadan engellenmektedir. Bu savunma sisteminin, serbest radikallerin vücut için faydalı olan işlevlerini engellemeden bir denge sağlaması yaşam için kaçınılmazdır. Denge sağlanamadığı zaman serbest radikaller, doku ve organlar için hasar düzeyi değişen bozukluklar meydana getirebilmektedirler (89).

Organizma, serbest radikallerin zararlı düzeylere çıkmalarını engellemek ve hücreleri zararlı etkilerine karşı korumak için yüksek seviyede koruyucu antioksidan sistemlerle donatılmıştır (83). Antioksidan savunma mekanizması, serbest radikal oluşumunu önleyici, serbest radikal süpürücü ve serbest radikal kaynaklı hasar onarımı olarak etki gösterebilir (90).

Antioksidanlar endojen ve eksojen olarak sınıflandırılabilir. Vücudun kendi sentezlediği antioksidanlara endojen antioksidanlar, dışarıdan hazır alınan antioksidanlara ise eksojen antioksidanlar denilmektedir. Endojen antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayanlar olmak üzere farklı tipte bileşenler içerir. Enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon-S-transferazdır (GST) (91).

Non-enzimatik antioksidanlar arasında glutatyon (GSH), koenzim Q10, ürik asit, selenyum, transferrin, melatonin, α -lipoik asit, bilirubin , seruloplazmin gibi çok sayıda molekül bulunmaktadır. Eksojen antioksidanlar ise C vitamini (askorbik asit), E vitamini (α - tokoferol), A vitamini (retinil palmitat), N-asetil sistein, karotenoidler, polifenollerdir (90, 92).

Tablo-2: Endojen Antioksidanlar

Endojen Antioksidanlar	
Enzimatik Antioksidanlar	Non-enzimatik Antioksidanlar
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon (GSH)
Katalaz (CAT)	Koenzim Q10
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Selenyum
Glutasyon-S-transferazdır (GST)	Transferrin
	Melatonin
	α -lipoik asit
	Bilirubin
	Albümin
	Seruloplazmin

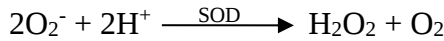
Tablo-3: Eksojen Antioksidanlar

Eksojen Antioksidanlar
C vitamini (askorbik asit)
E vitamini (α - tokoferol)
A vitamini (retinil palmitat)
Folik asit
N-asetil sistein
Karotenoidler
Polifenoller

2.9.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Vücuttaki en etkili antioksidan enzimlerden biri olan SOD, canlı hücrelerde ROS'a karşı birinci basamak savunma sistemi olarak kabul edilen bir endojen antioksidan enzimdir (83).

Dismutasyon reaksiyonu ile potansiyel olarak tehlikeli olan süperoksit radikalini daha az tehlikeli olan hidrojen peroksit'e dönüştürür. Hidrojen peroksit ise diğer enzimler (CAT veya GPx) ile uzaklaştırılabilir (90).

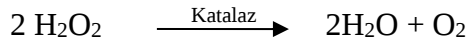


SOD bir metalloenzimdir ve bundan dolayı aktivitesi için bir metal kofaktör gereklidir. İnsanda SOD'un iki formu tanımlanmıştır:

- 1- Sitozolik bakır-çinko süperoksit dismutaz (Cu-Zn SOD)
- 2- Mitokondriyal mangan süperoksit dismutaz (Mn SOD) (90).

2.9.2. Katalaz (CAT)

Oksijen kullanan hemen hemen tüm canlı dokularda yaygın bulunan endojen antioksidan enzimdir. Esas olarak peroksizomlarda bulunan ve yapısında tetramerik porfirin içeren bir enzimdir (83).

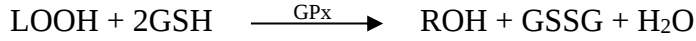
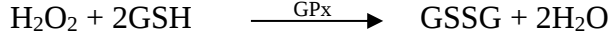


Katalaz, kofaktör olarak demir veya mangan kullanır. H₂O₂'nin suya ve moleküler oksijene indirgenmesini katalize eder. SOD tarafından başlatılan detoksifikasyon sürecini tamamlar. Saniyeler içerisinde milyonlarca H₂O₂'yi parçalayabilmektedir (83, 93).

2.9.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon Peroksidaz (GPx), hidrojen peroksitleri suya parçalayan önemli bir sitozolik enzimdir. Aynı zamanda lipid peroksitlerin (LOOH), su veya alkole indirgenmesini katalize eder. Enzim, lipid peroksidasyon sürecini inhibe ederek önemli bir rol oynar ve bu inhibisyonla hücreleri oksidatif strese korur (83, 90).

Çoğu zaman aktivitesi selenyum kofaktörüne bağlıdır. Bu nedenle GPx'e selenosistein peroksidaz da denilmektedir. Selenyum kofaktörü olmadan da işlev görmekte olan enzimin, selenyum bağımlı ve selenyum bağımsız olmak üzere iki farklı türü vardır. Selenyum bağımlı olan türü hem H₂O₂ hem de lipid peroksitlerin metabolizmasında bulunurken, selenyum bağımlı olmayan türü sadece lipid peroksitleri metabolize etmektedir (83, 94).



Bu reaksiyonlarda glutatyon (GSH) hidrojen vericisi olarak görev alır. Reaksiyon sonrası GSH, okside glutatyon (GSSG) haline dönüşse de, glutatyon redüktaz enzimi ile GSSG, GSH'ye indirgenerek geri kazanılmaktadır (83).

2.9.4. Glutatyon Redüktaz (GR)

Glutatyon redüktaz, nikotinamit adenin dinükleotit fosfatı (NADPH) kullanarak oksitlenmiş glutatyonu (GSSG) yeniden GSH'ye dönüştürür. NADPH oksidatif strese bağlı hasarı engellemek için gereklidir (95).

2.9.5. Glutatyon (GSH)

GSH, glutamat, sistein ve glisinden sitozolde 2 aşamalı reaksiyon yoluyla sentezlenen, çok sayıda sülfidril grupları içeren bir tripeptittir. Sitozoldeki en önemli antioksidan moleküldür. GSH; hidrojen peroksit, lipid peroksit, hidroksil gibi SOR ve diğer serbest radikallerin güçlü bir süpürücüsüdür. Ayrıca bazı enzimatik reaksiyonlar için kofaktördür (83, 96).

GSH, yapısındaki sistein varlığından dolayı proteinlerin disülfid bağlarının düzenlenmesinde önemli bir etkiye sahiptir. C ve E vitaminini aktif formlarına indirgeme yeteneğine sahiptir (83, 96).

2.9.6. Koenzim Q10

Reaktif moleküllerin ana temizleyicisi olarak hareket eden koenzim Q10, bütün hücre zarlarında doğal olarak bulunmaktadır. Hücre içi bir antioksidan olarak koenzim Q10, membran fosfolipidlerini, mitokondriyal membran proteinini ve düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterolü serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasara karşı korur (83).

2.9.7. Selenyum

Hem insan hem de hayvan metabolizmasında antioksidan ve antikanser özellikler sergileyen temel bir mikro besindir. Mitokondri, plazma zarı ve DNA'yı SOR kaynaklı oksidatif hasara karşı korumaya yardımcı olur. Glutasyon peroksidaz dahil olmak üzere çeşitli antioksidan enzimlerin aktif bölgesini oluşturur. Sarımsak, soğan, tahıllar, kuruyemişler, deniz ürünleri, karaciğer ve kırmızı ette bulunman eser minerallerdendir (83, 97).

2.9.8. Melatonin

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin), ağırlıklı olarak epifiz bezi tarafından sentezlenen triptofandan türetilen bir nörohormondur. Sirkadiyen düzende salınımı gerçekleşirken, en çok gece salgılanır (98).

Melatoninin, hücre zarlarını lipid peroksidasyonuna karşı koruduğu ve serbest radikal temizlemede etkili olduğu gösterilmiştir. SOD, GPx, GR ve CAT gibi çeşitli enzimatik antioksidanları uyardığı görülmüştür. GSH sentezinde hız sınırlayıcı enzimi uyarabilir ve böylece hücre içi GSH miktarını artırabilir. Bu gibi yollarla oksidatif stresi azaltmaya yardımcı bir moleküldür (83, 98).

2.9.9. α -Lipoik Asit

Neredeyse tüm canlı türlerinde bulunan önemli bir doğal tiyol antioksidandır. Suda ve yağda çözünmesi nedeniyle hem hücresel membranlarda hem de sitozolde yaygın olarak bulunan ideal bir antioksidandır (83).

Dihidrolipoik asit, α -lipoik asit'in indirgenmiş formu olup daha güçlü bir antioksidandır. Hem α -lipoik asit hem de dihidrolipoik asit, C vitamini, E vitamini ve GSH gibi diğer antioksidanların yeniden üretilmesinin yanı sıra serbest radikallerin temizlemesi ve metal şelasyonunda, oksidatif hasar görmüş proteinlerin onarılmasında rol oynarlar (99).

2.9.10. C vitamini

Askorbik asit olarak da adlandırılan C vitamini, taze meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan suda çözünen güçlü bir antioksidandır (97).

C vitamininin indirgenmiş formu olan L-askorbik asit, elektron verme gücü yüksek ve aktif forma hızlı indirgenmesi nedeniyle güçlü bir antioksidandır. Lipid peroksidasyonuna sebep olan serbest radikalleri ortadan kaldırarak lipidleri oksidasyona karşı korur. Hücre içi GSH miktarını arttırarak proteinleri oksidasyona karşı korumada önemli rolü vardır. E vitaminin tekrar oluşmasına katkıda bulunur (83, 97).

2.9.11. E vitamini

Yüksek antioksidan etkiye sahip, yağda çözünen bir vitamin olan E vitamini; doğada sekiz farklı izomerde bulunur, ana lipid fazı zincir kırıcı antioksidandır. Kuruyemişler, tahıllar, meyveler, yumurtalar, kümes hayvanları ve kırmızı et diyet E vitamini kaynağıdır (97).

α - tokoferol, yüksek antioksidan potansiyele sahip E vitamininin aktif formudur. Yağda çözünebilen α - tokoferol, hücre zarlarını serbest radikallerin yıkıcı etkilerinden korur. En önemli özelliği peroksil, ve süperoksit radikallerini temizleyerek lipid peroksidasyonuna karşı korumaktır (83, 97).

2.9.12. Polifenoller

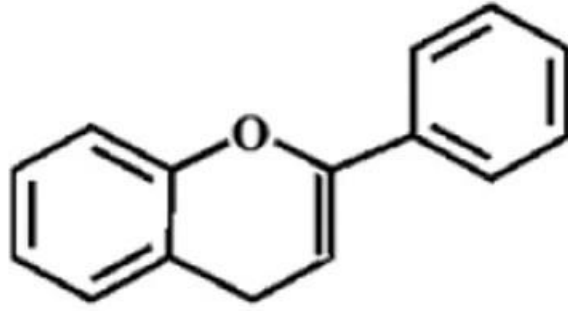
Fenoller, aromatik halkasına bağlı bir veya birden çok OH grubu içeren antioksidanlardır. Meyve, sebze ve tahıllarda yaygın bulunmaktadırlar. Bitkilerin doğal ikincil metabolitleridir. Hücre bileşenlerini oksidatif hasara karşı korumaya yardımcı güçlü antioksidanlardır (83, 100).

Doğal antioksidanlardan olan fenoller, serbest radikalleri bağlayarak, metallerle şelatları oluşturarak ve lipoksijenaz enzimini inhibe ederek etki gösterirler. Polifenoller sahip oldukları fenol halkalarının sayısına ve bu halkaları birbirine bağlayan elementlere göre farklı gruplara ayrılırlar. Fenolik asitler, stilbenler, lignandlar ve flavonoidler başlıca polifenoller grubunda yer alırlar (83, 100).

2.9.12.1. Flavonoidler

Çoğu bitkide bulunan ve bitkiler tarafından fenilalanin, tirozin gibi aromatik amino asitlerden ve malonattan sentezlenen en önemli fenollerdendir. Meyve ve sebzelere canlı renk ve tat vermekten sorumludurlar. Hücre döngüsü inhibisyonu, nitrojen fiksasyonu, ultraviyole filtrasyonu için gereklidir. Kimyasal yapılarına göre 4000'den fazla flavonoid tanımlanmıştır. Flavanoller, flavanonlar, flavonlar, izoflavonlar, kateşinler, antosiyaninler, proantosiyanidinler olarak sınıflandırılmışlardır (83, 97, 101).

İnsan sağlığı üzerindeki etkisi, esas olarak güçlü antioksidan aktivitelerinde bulunmalarıdır. SOR'u temizleme yeteneğinin yanı sıra aynı zamanda ya bir dizi enzimi inhibe ederek ya da serbest radikallerin oluşumuna katılan eser elementleri şelatlayarak antioksidan etki gösterirler. Flavonoidlerin başlıca doğal kaynakları arasında narenciyeler, yeşil çay, zm (kırmızı şarap), elma, kakao (ikolata), ginkgo biloba, soya fasulyesi, zerdeçal, ilek, soğan, brokoli gibi besinler bulunur (97, 102)



Şekil-5. Flavonoidlerin kimyasal yapısı (100)

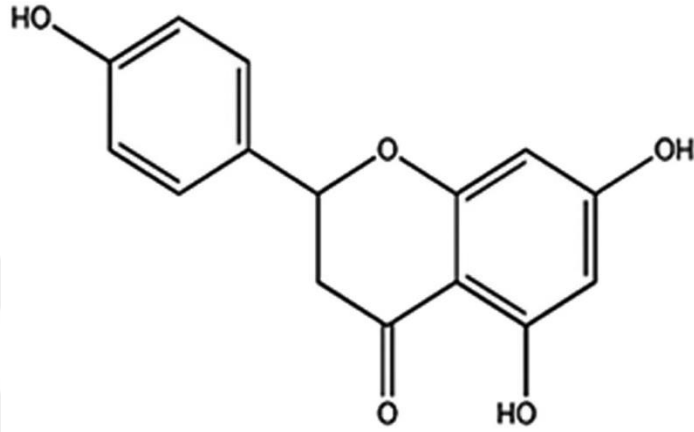
2.9.12.1.1. Naringenin (4',5,7- trihidroksiflavanon)

Reaktif oksijen türevlerine karşı yüksek afinite gösteren naringenin, flavonoidlerin flavanon grubuna ait güçlü bir antioksidandır. ROT'lara karşı olan bu yüksek afinite, yapısında bulunan üç adet OH grubuna sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Greyfurt, portakal gibi turuncgillerde bol miktarda olan naringenin, antep fıstığı, badem, propolis gibi besinlerde de bulunur (103).

Naringenin; antiinflamatuvar, antioksidan, antidiyabetik, hepatoprotektif, antimutajenik, antikanserojenik, antiaterojenik, antiviral, antiülser aktiviteleri olduğu bulunmuştur (18, 104).

Yapılan çalışmalarda, naringenin antioksidan potansiyeli olduğu ve bunu birçok yolla yaptığı gösterilmiştir. Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat oksidaz, lipooksijenaz ve siklooksijenaz gibi prooksidan enzimlerin inhibisyonu, metal iyonların şelasyonu ve en önemlisi serbest radikallerin temizlenmesi gibi işlevlerle antioksidan etki gösterek katkı sağlar. Ayrıca naringenin, GPx, SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin seviyesini arttırdığı izlenmiştir (101).

Antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı naringenin, hayvan araştırmalarında miyokard enfarktüsü, diabetes mellitus ve ateroskleroz dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara karşı koruma sağlamak için kullanılmıştır (105).



şekil-6. Naringenin kimyasal yapısı (101)

3. MATERYAL VE METOD

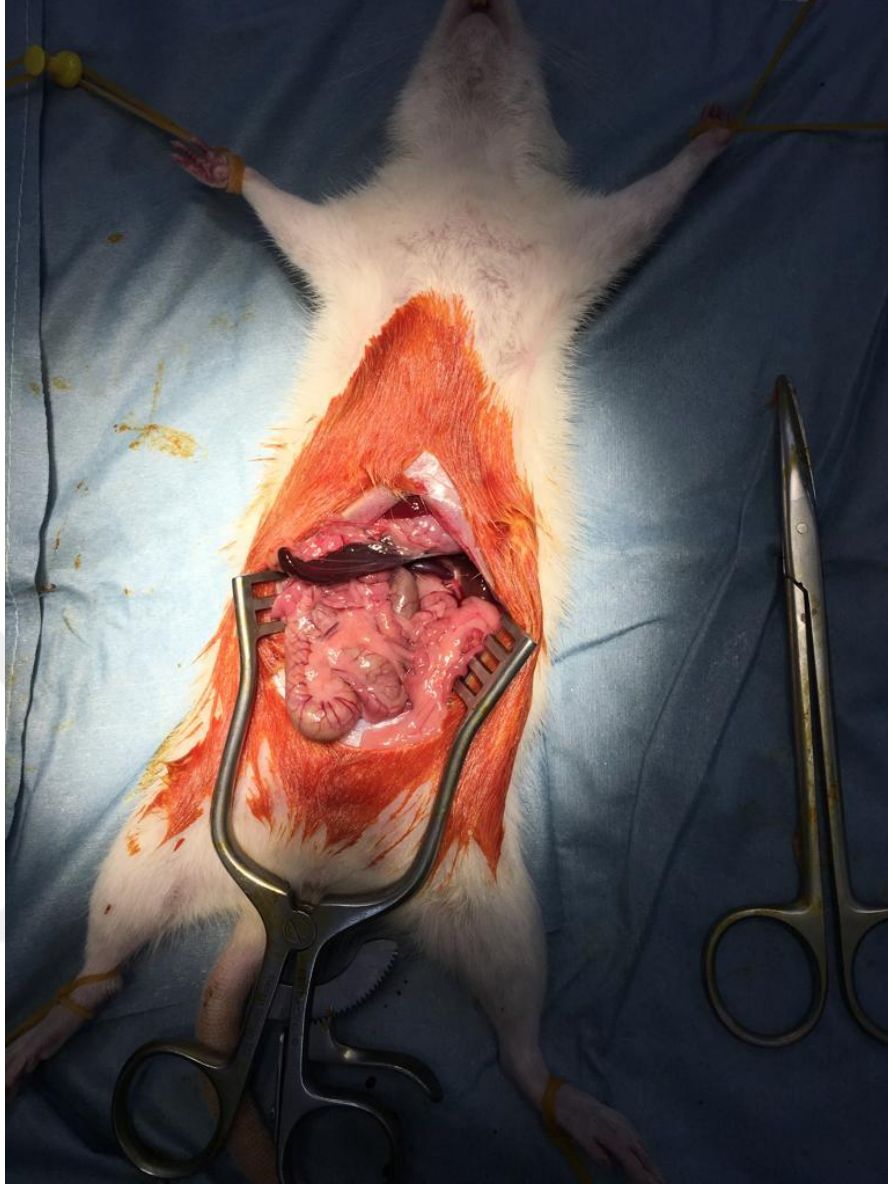
Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'nun 2021 HADYEK-14 numaralı onayı ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı tarafından planlandı ve uygulandı. Deney aşaması Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Histopatolojik inceleme, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda, biyokimyasal inceleme Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda uygulandı.

3.1. HAYVAN SEÇİMİ VE CERRAHİ İŞLEMLER

Bu çalışmada, 24 adet Wistar-Albino cinsi dişi rat (220–400 gr) kullanıldı. Deney 12 saat aydınlık / karanlık döngüsü ile sabit sıcaklıkta ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) yapıldı. Hayvanlar her bir grupta 8 adet olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Tüm deney hayvanları standart besinler ve suyla beslendi. Sadece grup 3'te bulunan sıçanlara belirtilen dozda naringenin verildi.

Cerrahi odasında tüm deney hayvanlarına genel anestezi amacı ile 50 mg/kg ketamin hidroklorür ve 7,5 mg/kg xylazine intraperitoneal olarak uygulandı. Uygun anestezik derinlik sağlanmasını takiben tüm ratların sırtüstü yatar pozisyonda karın tüyleri tıraş edilerek povidon iyodin ve steril gazlı bezle temizlenerek steril koşullar sağlandı. Takiben tüm deney hayvanlarına yaklaşık 3 cm uzunluğunda orta hat kesisi ile laparotomi yapıldı. Bu prosedür tüm ratlara uygulandı ve deney hayvanları üç gruba randomize edildi.



Resim-1. Laparotomi sonrası görünüm

Grup 1-Kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruptaki ratların sağ böbreğine ulaşarak sağ renal arter ve venleri 3/0 ipek ile bağlanarak nefrektomi yapıldı. Ardından hemen sol renal pedikül izole edilerek pediküle herhangi bir müdahale yapılmadan ve ek farmakolojik ajan uygulanmadan histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için kan örnekleri alındı, sol nefrektomi uygulandı.

Grup 2-İskemi reperfüzyon grubu olarak belirlendi. Bu gruptaki ratlara, Grup 1'deki ratlara uygulandığı gibi sağ nefrektomi yapıldı. Sonrasında sol renal pediküle

ulaşılarak travmatik olmayan damar klempı yerleştirilerek 45 dakika sũre ile renal iskemi oluşturuldu. 45. dakikanın sonunda klemp alınarak 6 saat boyunca renal perfũzyon sağlandı. Deney bitiminde histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için kan örnekleri alındı, sol nefrektomi uygulandı.

Grup 3-Tedavi grubu olarak belirlendi. Grup 2’de olduğu gibi iskemi reperfũzyon hasarı oluşturuldu. Grup 3’teki ratlarda diğer deney havyanlarından bağımsız olarak literatũrde daha önce tanımlandığı gibi iskemiden 7 gũn önce başlanarak 50 mg/kg/gũn dozunda naringenin 1,5 ml steril su ile beraber oral gavaj yoluyla uygulandı (106). Deney bitiminde histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için kan örnekleri alındı, sol nefrektomi uygulandı.

Yukardaki belirtilen cerrahi prosedũrler mevcut beslenme rejimi tamamlandıktan sonra gerçekleştirildi.



Resim-2. Renal pedikũlũn bulunup ortaya konulması

Deneyde kullanılacak klempler olarak 0.4-1.0 mm uzunluğunda hassas damarlarda kullanılan ve basıncı 5 mm/Hg'yi geçmeyen çelik alaşımlı mikrovasküler klempler tercih edildi.

İşlemler sonlanıncaya kadar kaybedilen sıvıyı yerine koymak amacıyla Aydoğdu ve arkadaşlarının çalışmasında tanımlandığı gibi vücut ağırlığının %5'i oranında steril serum fizyolojik i.p. yol ile verildi (107).

Renal arter trombozunu engellemek için Özkısacık ve arkadaşlarının tanımladığı gibi deneyin başlangıç noktasında 100 U/kg heparin intraperitoneal olarak uygulandı (108).

Deney sonunda tüm ratların inferior vena kavalarından kan örnekleri alındı. En son olarak tüm deney hayvanlarına ketamin ve xylazine anestezisi altında servikal dislokasyon uygulanarak hayati fonksiyonları sonlandırıldı.



Resim-3. Renal pedikülün klemplenip iskemi oluşturulması

3.2. PATOLOJİK DEĞERLENDİRME

İskemi/reperfüzyon hasarının histopatolojik olarak değerlendirilmesi için, direkt olarak %4'lük tamponlu nötral formalin solüsyonu içerisine konularak 3 günlük fiksasyona bırakıldılar. Tespit işlemi böbrekler tam orta noktadan keskin bir bistüri ile enine tek hamlede iki kısma ayrılarak yapıldı. Üç günlük tespit işlemi sonrasında böbrekler gün boyu akar suda yıkama, artan alkol serilerinde (%70, %80, %90, %96, %100) tutularak dehidratasyon, ksilen serilerinde (3x10 dk) şeffaflaştırma ve 60°C deki 3 ayrı parafin serilerinde sırası ile bekletip parafin emdirme işlemini takiben temiz saf eriyik parafine böbreklerin hepsi aynı yönelimde gömülerek bloklandı. Bloklanan böbreklerden rotary mikrotom (Leica RM2135, Germany) ile 5µm kalınlıkta ardışık ince seri kesitler alındı. Alınan böbrek dokusu kesitleri, rodajlı frozen lamlara yerleştirilerek doku hasarlarının tespit edileceği histopatolojik analizler yapılacak olan hematoksilin eozin boyama için hazır hale getirildiler.

Formalinle fikse edilip parafin bloklara gömülen böbrek dokularına ait 5µm kalınlıktaki doku kesitleri, 60 °C lik etüvde bekletip ve üç ayrı ksilen serilerinden geçirilerek deparafinize edildi. Gittikçe azalan derişimdeki alkol serilerinden (%100, %96, %90, %80, %70) dH₂O ya indirgenerek gerçekleştirilen rehidratasyon işlemlerinden sonra doku kesitleri 10-15 dk. hematoksilin boya solüsyonunda bekletildi. Sonrasında 5 dk. akar suda yıkama, asit alkole daldırma ve tekrar akar suda yıkama sonrası eosin boya solüsyonunda 3 dakika bekletilip dH₂O ya alındı ve fazla boyanın uzaklaşması için distile suda birkaç değişim yapıldı. Doku kesitleri sonra sırasıyla %70, %80, %90 alkollere daldırma %95'lik alkolde 3 dk. ve absolu alkolde 5dk. bekletilip ksilenlerde (3x15dk.) tutulduktan sonra kesitler üzerine entellan damlatılıp lamel ile kapatıldı. Böylece mikroskopik analizler için hematoksilin eozin boyalı böbrek dokusu preparatları hazırlanmış oldu.

Çalışma gruplarına ait hematoksilin eozin boyalı böbrek doku preparatları entellanı kuruduktan sonra araştırma ışık mikroskobu (Nikon Eclipse 200; Japan) ile 40x objektif altında analiz edildiler. Mikroskopik incelemeler her bir deneğe ait ardışık ortalama 5-6 kesitte ve her kesitte rastgele beş farklı alanlarda grup bilgilerinden habersiz kodlama sistemi ile kök bir çalışma şeklinde gerçekleştirildi. Böbrek dokusu kesitlerinin histopatolojik analizleri; genel doku bütünlüğü, parankimal ve stromal hasarlar, tübüler

yapıların bütünlüğü, nekroz ve konjesyon gibi histopatolojik doku hasarları bakımından değerlendirilerek semikantitatif olarak derecelendirildi. Bu derecelendirme skor ve kriterleri aşağıda tablo 4'te belirtildiği gibidir:

Tablo 4. Böbrek dokusu hasarlarının skorlamasında kullanılan kriterler (109)

Skor	Kriter
1	Doku hasarı yok
2	Hafif doku hasarları (epitelyal düzleşme, tübüler dilatasyon, nükleer ayrılma, fırçamsı kenar kaybı)
3	Orta derecede doku hasarları (fokal koagülatif nekroz)
4	Şiddetli doku hasarları (enfarkt)

3.3. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Böbrek dokuları ve serumlar -80°C'de saklandı. Oda sıcaklığına kademeli olarak çıkartılan böbrek dokuları tartıldıktan sonra oksidatif stres parametreleri için homojenat ve süpernatant numuneleri hazırlandı. Böbrek dokularının bir kısmı pH'sı 7.4 Tris-HCl fosfat tamponu ile homojenizatör ile homojenleştirildi. % 10'luk homojenatlar, 4 °C'de 3208xg' de 15 dakika santrifüj edilerek üst fazda süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri belirlenerek, homojenatta malondialdehit (MDA) seviyeleri çalışıldı.

GPx tayini: Glutatyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve ark.'nın metoduna göre çalışıldı (110). GPx, hidrojen peroksit varlığında redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) yükseltgenmesini katalize eder. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH (Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat) yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi, NADPH'ın NADP⁺'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 340 nm'de okunmasıyla hesaplanıp ve ünite/gram (U/g) doku proteini şeklinde belirtildi.

SOD tayini: SOD enzim değerleri Sun ve ark.'nın modifiye ettiği metotla belirlendi (111). Bu metodun prensibi nitrobluetetrazolium'un (NBT) süperoksit üreticisi olan ksantin- ksantinoksidaz sistemi tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Çalışmamızda SOD aktivitesi ünite/gram (U/g) doku proteini olarak ifade edildi.

MDA tayini: Lipid peroksidasyon ölçüm metodu olan Esterbauer metodu uygulanarak yapıldı (112). Tiyobarbutirik asit ile 90-95°C'de reaksiyona giren malondialdehit, pembe renkli kromojen oluşturmaktadır. On beş dakika sonra hızla soğutulan numunelerin absorbensları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Sonuçlar nmol/g doku proteini olarak ifade edildi.

Elisa testleri: Fazla kanı gidermek için böbrek dokuları 0.01 M buz gibi soğuk PBS ile (pH=7.4) yıkandı. Böbrek doku örnekleri 1/10 oranında PBS kullanılarak, buz desteğiyle soğuk ortamda homojenize edildi. Homojenizasyondan sonra elde edilen süpernatantlarda KIM-1 ve NGAL çalışıldı. Eliza yöntemi için Multiskan™ FC Microplate Photometer, Thermo Fischer, USA tanısai araç olarak kullanıldı.

Ayrıca serumlarda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyeleri üretici firmanın talimatlarına göre ELISA kitleri kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar sırasıyla ng/L, pg/ml ve ng/L olarak ifade edildi.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

İstatistiksel analizlerimiz lisanslı IBM SPSS (versiyon 22; SPSS Inc.) paket programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler, normal olmayan şekilde dağılmış sürekli veriler için ortalama $\pm$ SD ve medyan (min-maks) olarak sunulmuş olup normallik dağılımı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. İki den fazla grup arasında sürekli değişken karşılaştırmalarında normal dağılım göstermeyen veriler için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Kruskal-Wallis testinden sonra, farklılığa hangi grubun neden olduğunu belirlemek için sırasıyla Bonferroni düzeltme post-hoc çoklu karşılaştırma testi ile Mann-

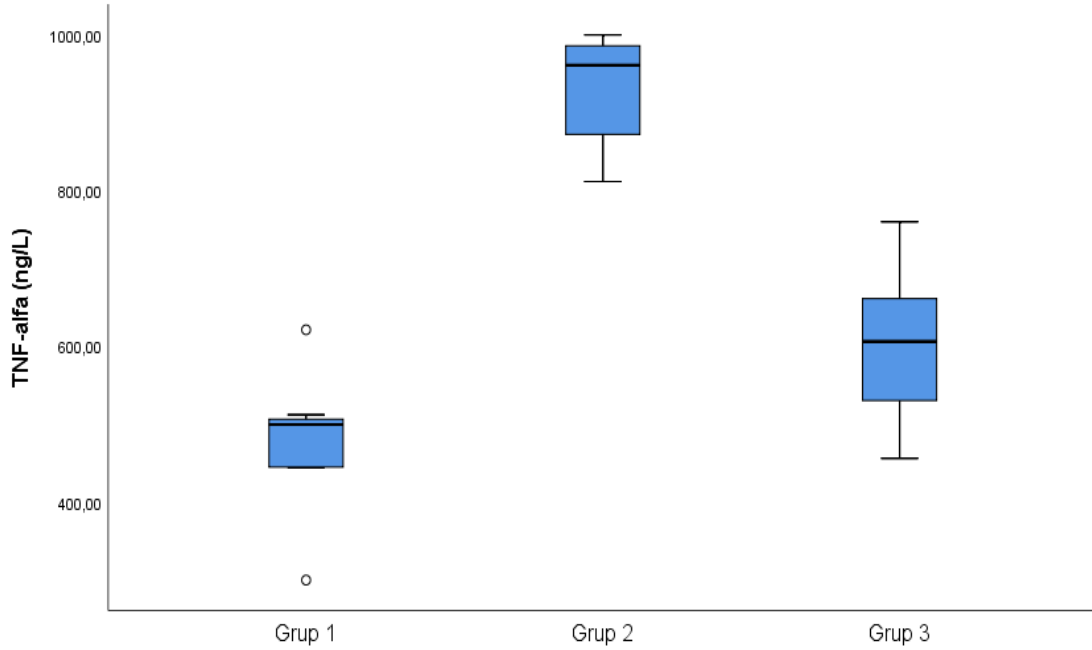
Whitney U testleri kullanıldı. p değerleri 0.05'den küçük hesaplandığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



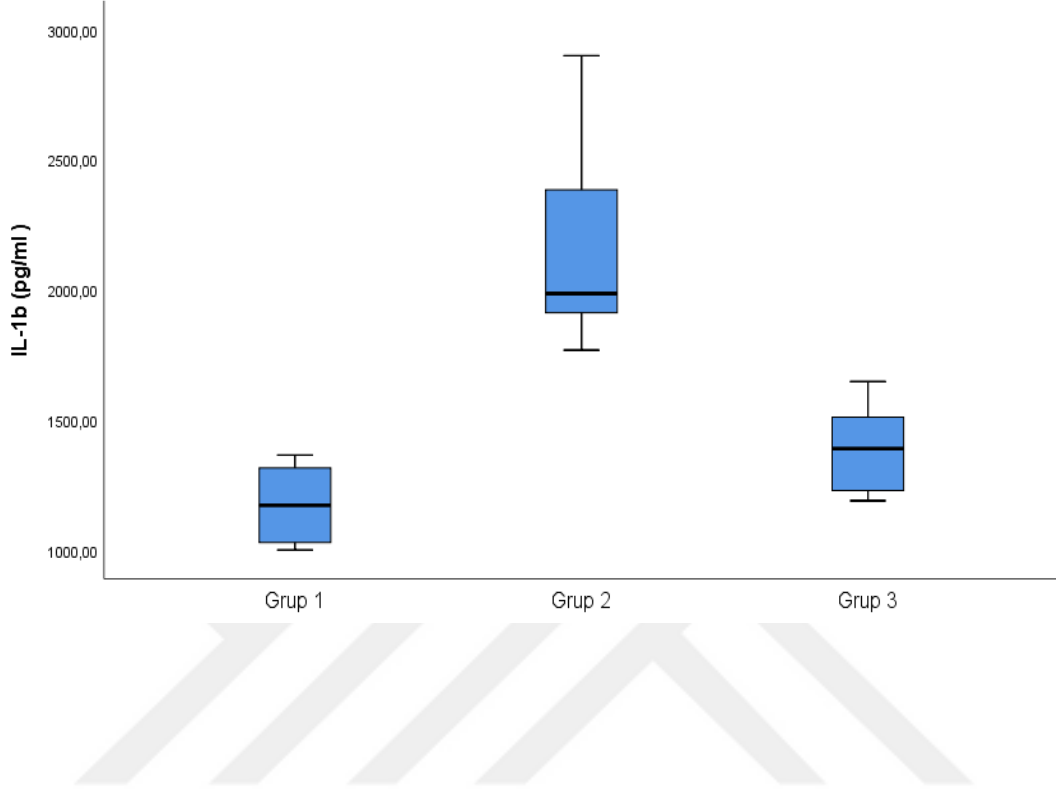
4. BULGULAR

Çalışmada yer alan tüm biyokimyasal analizler Tablo-1’de detaylandırılmıştır. Deney havyanların inflamatuvar belirteçleri incelendiğinde gruplar arasında ciddi düzeyde farklılıklar izlendi. TNF- α düzeyi Grup 1’de 499,7 olarak değerlendirildi. Grup 2’de kontrol grubuna nazaran oldukça yüksek olarak belirlendi ve 960,55 olarak ölçüldü ($p<0,001$). Öte yandan tedavi grubuna bakıldığında TNF-alfa düzeyinde anlamlı derece düşüş izlendi ($p<0,001$) (Grafik-1). IL-1 β ve IL-6 düzeylerine bakıldığında Grup 2’de sırası ile 1985,5 ve 28,65 olarak hesaplandı. Bu değerler kontrol grubuna göre oldukça yüksek olarak gözlemlendi ($p<0,001$). Grup 3’de bu belirteçler sırası ile 1389,5 ve 14,92 olarak belirlendi. Bu değerlerde Grup 2’ye nazaran anlamlı düzeyde düşüş izlendi ($p<0,001$) (Grafik-2 ve 3).

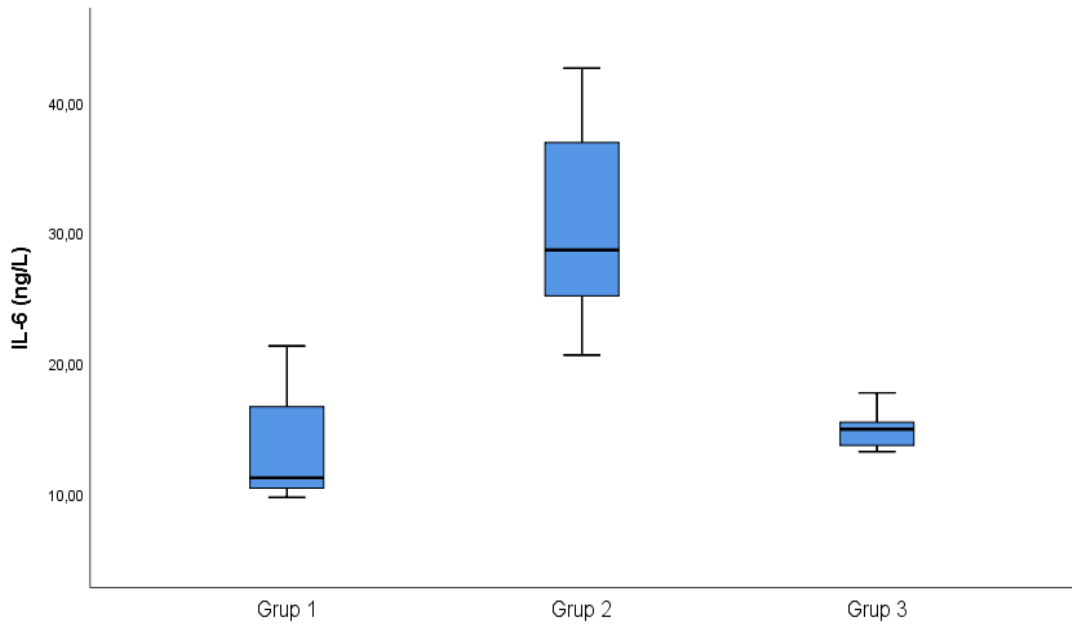
Grafik-1: Gruplar arası kan TNF- α düzeyi dağılımı



Grafik-2: Gruplar arası kan IL-1 β düzeyi dağılımı

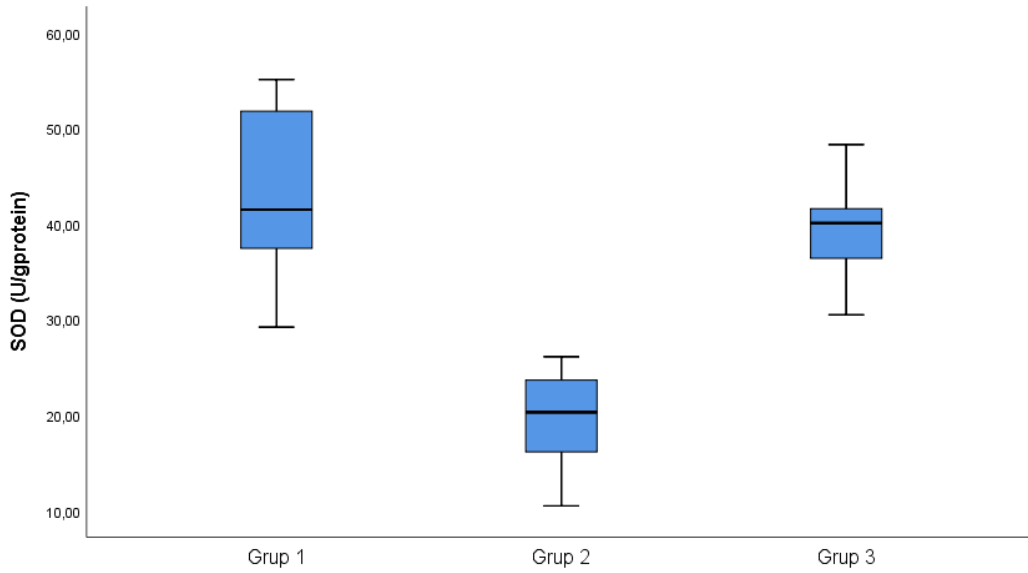


Grafik-3: Gruplar arası kan IL-6 düzeyi dağılımı

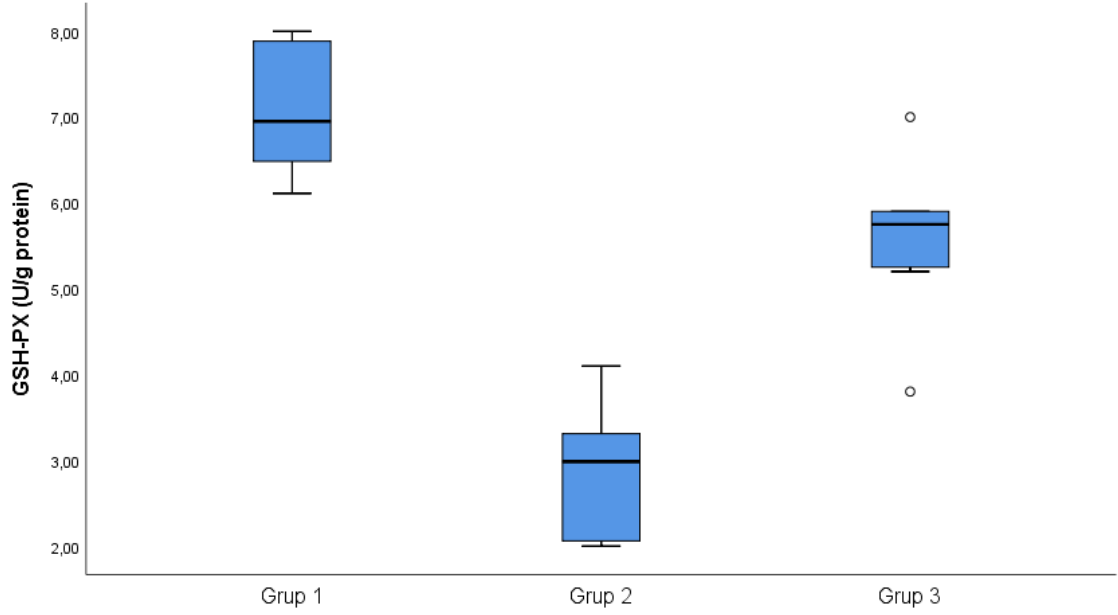


Gruplar arasında antioksidan enzim düzeylerine bakıldığında Grup 1’de SOD ve GSH-Px seviyeleri sırasıyla 41,5 ve 6,95 olarak ölçüldü. Grup 2’de bu değerler 20,3 ve 2,99 olarak hesaplandı. Bu ölçümler diğer gruplara kıyasla oldukça düşük düzeylerdeydi ($p<0,001$). Grup 3’de tedavi ile birlikte oldukça ciddi düzeyde antioksidan artışı izlendi ($p<0,001$) (Grafik-4 ve 5).

Grafik-4: Gruplar arası doku SOD düzeyi dağılımı

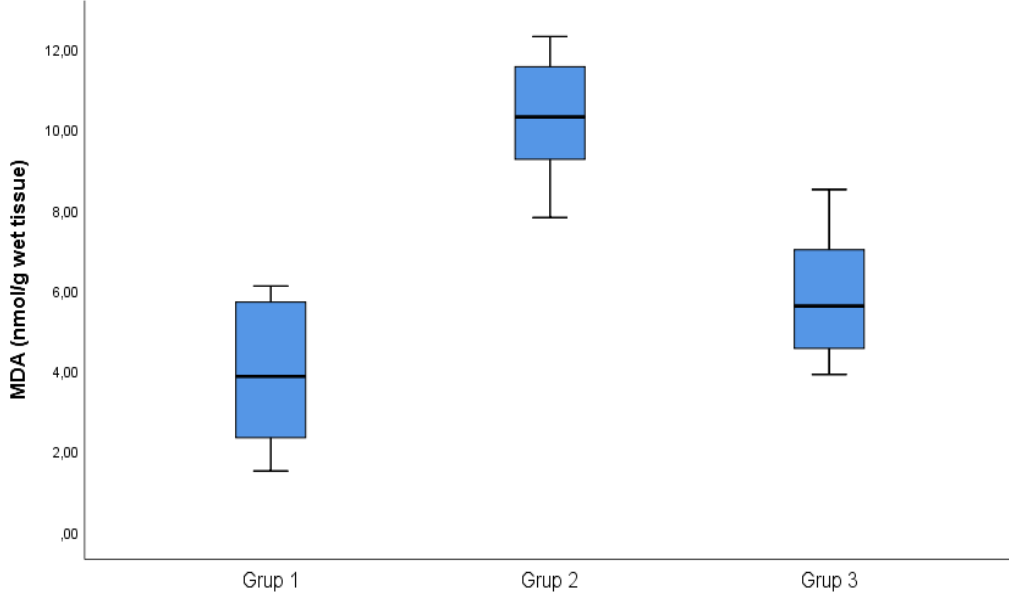


Grafik-5: Gruplar arası doku GSH-Px düzeyi dağılımı



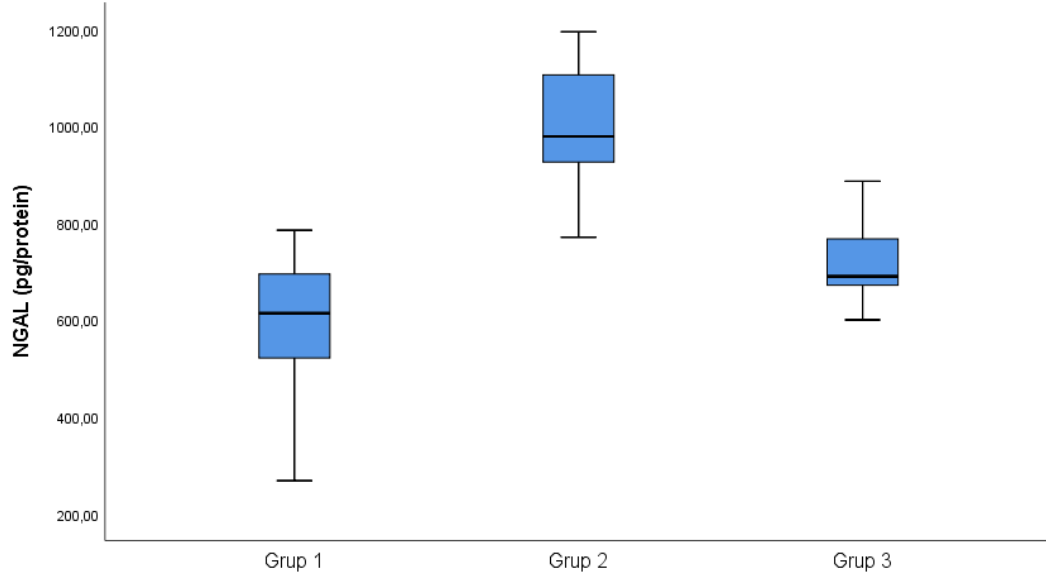
Lipid peroksidasyonun en önemli belirteci olarak gösterilen MDA düzeyine bakıldığında ise Grup 1-2 ve 3’de sırası ile 3,85, 10,3 ve 5,6 olarak ölçüldü. Bu değerler arasındaki farklılık anlamlı olarak değerlendirildi ($p<0,001$) (Grafik-6).

Grafik-6: Gruplar arası doku MDA düzeyi dağılımı

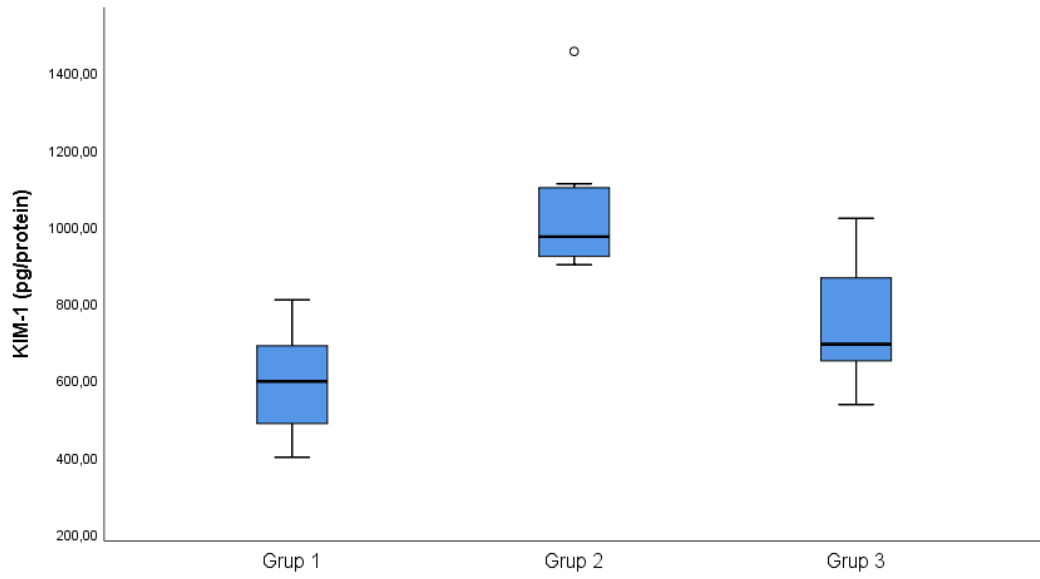


Böbrek hasarının oldukça erken belirteçleri olan KIM-1 ve NGAL düzeyleri sırası ile Grup 2’de 972,4 ve 978,75 olarak hesaplandı. Bu değerler Grup 1’e nazaran oldukça yüksek olarak gözlemlendi ($p < 0,001$). Öte yandan Grup 3’de ise KIM-1 ve NGAL düzeyleri sırası ile 692,6 ve 689,75 olarak belirlendi. Bu değerlerin her ikisinde Grup 2’ye nazaran anamlı düzeyde iyileşme olduğu belirlendi (Grafik-7 ve 8).

Grafik-7: Gruplar arası doku NGAL düzeyi dağılımı



Grafik-8: Gruplar arası doku KİM-1 düzeyi dağılımı



Tablo 5. Gruplar arası kan ve doku biyokimyasal sonuç dağılımı

GRUP					
	GRUP 1 (n=8)	GRUP 2 (n=8)	GRUP 3 (n=8)	KW	p
KAN					
TNF-alfa (ng/L)	499,7[445,1- 506,4] ^a	960,55[871,8- 985,45] ^b	606,2[530,55- 661,1] ^a	17,780	<0,001*
IL-1b (pg/ml)	1171,35[1028,8- 1315,2] ^a	1985,35[1911,9- 2384,3] ^b	1389,5[1228,65- 1510,6] ^a	17,788	<0,001*
IL-6 (ng/L)	11,2[10,4-16,65] ^a	28,65[25,15-36,9] ^b	14,92[13,69- 15,45] ^a	15,942	<0,001*
DOKU					
SOD (U/gprotein)	41,5[37,45-51,8] ^a	20,3[16,15-23,65] ^b	40,1[36,4-41,6] ^a	15,547	<0,001*
GSH-PX (U/g protein)	6,95[6,49-7,89] ^a	2,99[2,06-3,31] ^b	5,75[5,25-5,9] ^a	18,853	<0,001*
MDA (nmol/g wet tissue)	3,85[2,33-5,7] ^a	10,3[9,25-11,55] ^b	5,6[4,55-7] ^a	15,962	<0,001*
KIM-1 (pg/protein)	595,85[486,05- 688,45] ^a	972,4[921,3- 1099,65] ^b	692,6[649,3- 865,25] ^{ab}	13,661	<0,001*
NGAL (pg/protein)	613,75[521,3- 694,9] ^a	978,75[925,75- 1105,6]	689,75[671,45- 767,4] ^a	15,867	<0,001*

Veriler Ortanca [Ç1-Ç3] şeklinde verilmiştir.

(Ç1: Birinci Çeyrek Değer; Ç3: Üçüncü Çeyrek Değer)

p: Kruskal Wallis Varyans Analizi

Çoklu Karşılaştırmalar Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U Testi ile yapılmıştır.

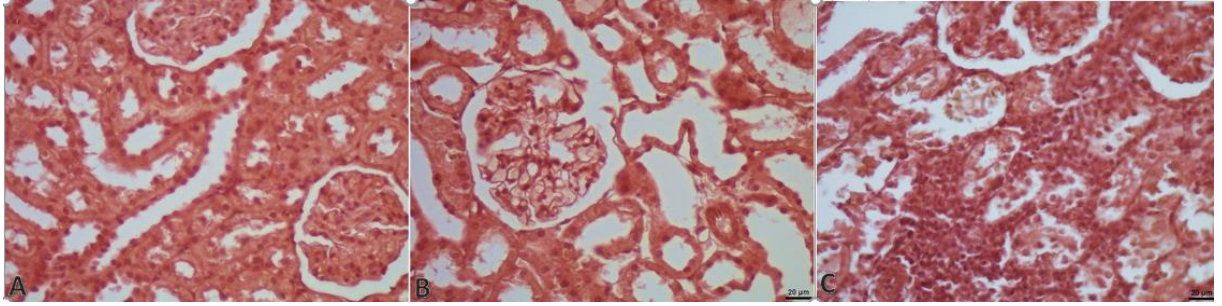
* p değeri 0,05 düzeyinde anlamlı.

Aynı üst indis istatistiksel anlamsızlığı göstermektedir

Histopatolojik incelemelerimize bakıldığında Grup 2'deki ratlara ait böbrek doku kesitlerinde şiddetli ve yaygın doku hasarlarının olduğu gözlemlendi. Bu gözlemler ile bağlantılı olarak Grup 2'deki histopatolojik doku hasarının ortalama değerinin en yüksek olduğu (3,15) tespit edildi. İstatistiksel karşılaştırma sonucunda bu grubun diğer iki gruptan belirgin olarak farklı olduğu hesap edildi ($p<0.05$). Bu grupta gözlemlenen histolojik doku hasarları; genellikle tübüler epitelyal düzleşmeler, tübüler dilatasyon ve düzensizlikler, nükleer ayrılma/atılma, fırçamsı kenar kaybı ve zayıflığı, fokal koagülatif

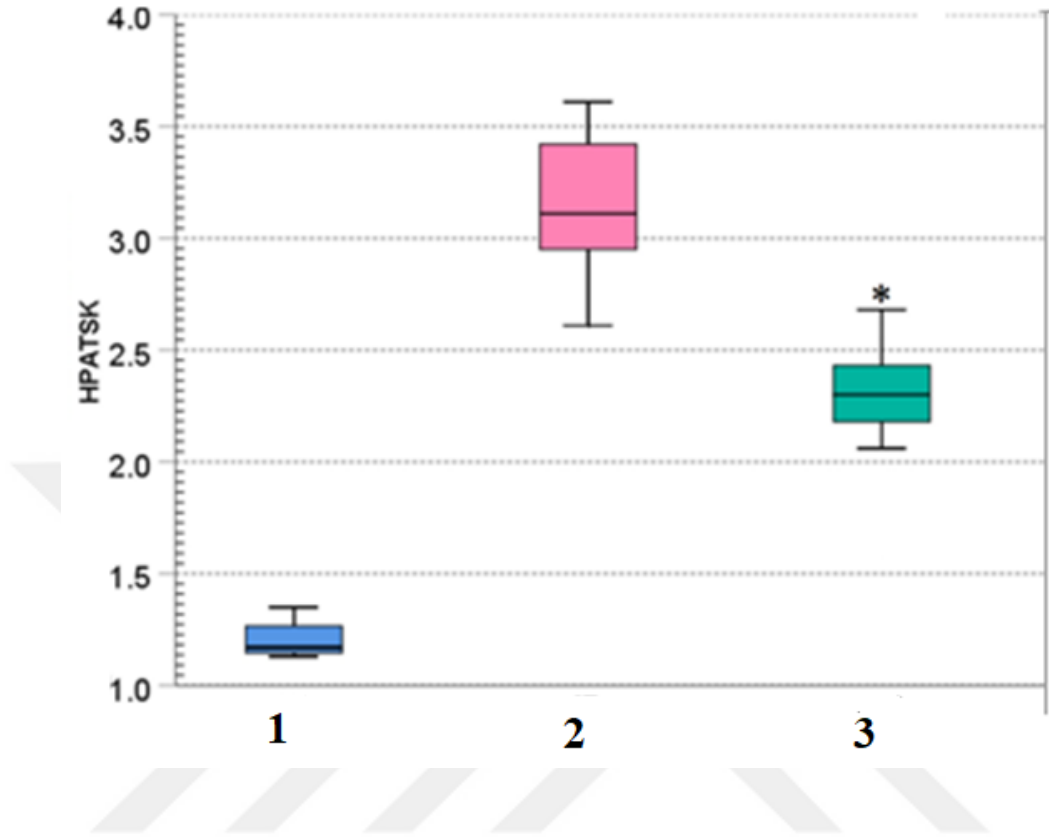
nekrozisler, glomerüler deformiteler, yer yer lokal doku erozyonları/kayıpları, yaygın konjesyon alanları ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu alanları şeklinde idi (Şekil-1 A).

Grup 3'e ait ratların böbrek histopatolojik incelemesinde ise iskemi reperfüzyonla oluşan doku hasarlarının bazı alanlarda yer yer görülse de belirgin olarak azalmış olduğu, organın parankim ve stromal alanlarının genel olarak daha çok normal böbrek dokusu görünümüne benzemeye başlamış olduğu gözlemlendi. Bu görünümünün sonucu olarak tedavi grubunun ortalama histolojik doku hasarı skorunun kontrol ve iskemi reperfüzyon grubu skorlarının arasında bir değerde (2,56) olduğu hesaplandı. İstatistiksel olarak karşılaştırmalarda bu grubun doku hasarı skorunun kontrole göre yüksek ($p<0.05$), Grup 2'e göre ise düşük ($p<0.05$) olduğu hesap edildi (Şekil-1 B ve C) (Grafik-9).



Şekil-7: Gruplar arası histopatolojik görüntüler

Grafik-9: Gruplar arası histopatolojik skor dağılımı



5. TARTIŞMA

Acil ve yoğun bakım ünitelerinde sık görülen akut böbrek yetmezliğinin bir nedeni olan böbrek iskemi-reperfüzyon hasarının, etyolojisinde travma, şok, enfarktüs, sepsis, aort diseksiyonu ve ürolojik cerrahi girişimler gibi birçok faktör rol oynamaktadır. Böbrek fonksiyonlarının akut kaybı şeklinde tanımlanan akut böbrek yetmezliği, renal fonksiyonların saatler içerisinde gerilemesi ve kaybı, vücut sıvı ve elektrolit dengesinin bozulması, idrar çıkışının azalması gibi belirtilerle birçok organ ve sistemi etkileyen bir hastalıktır. Günümüzde akut böbrek yetmezliği olarak tanımlan bu klinik hadise, yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olup sık görülen bir durumdur. Akut böbrek yetmezliği yılda yaklaşık 13,3 milyon kişide izlenmektedir ve bu kliniğe bağlı yılda yaklaşık 1,7 milyon ölüm yaşanmaktadır. Bu yüksek oranların büyük bölümü gelişmekte olan ülkelerde gözlemlenmektedir. Uzun süreli hospitalizasyonda hastaların yaklaşık olarak %5-7'sinde akut böbrek yetmezliği ile karşılaşıldığı, yoğun bakım ünitelerinde ise bu oran %40'lara kadar çıktığı görülmektedir (3, 113, 114).

İskemi, dokunun ihtiyaç duyduğu oksijen ve metabolitlerin sağlanmasının yanı sıra oluşan artık ürünlerin uzaklaştırılması için gerekli ve yeterli dolaşımın olmamasıdır. Böbrek iskemisi; renal kan akımının geçici olarak azalması veya kesilmesi olarak tanımlanmaktadır. Reperfüzyon, iskemide kalan dokuya kan akımının ve bununla birlikte oksijenin tekrar gelmesidir, yani dolaşımın düzelmesidir. Toksik metabolitlerin temizlenmesi ve doku canlılığının korunması için reperfüzyon mutlak gereklidir. Ancak reperfüzyon sırasında, paradoksal olarak iskemik hasara göre çok daha ciddi düzeyde zararlı değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Böbrekler bu İ/R hasarına oldukça hassastır. Böbrek İ/R hasarı akut böbrek yetmezliğinin oldukça yaygın izlenen bir nedenidir. Renal iskeminin uzun süre devam etmesi durumunda, hücresel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi ile hücre ölümü meydana gelmektedir. Hasarlanmış epitel hücrelerin yerine geçebilen böbrek tübül hücreleri sayesinde, yenilenme derecesine bağlı olarak İ/R hasarı geri dönüşümlü olabilir. Hücresel fonksiyonlar geri dönüşümlü hasarlarda tekrar geri kazanılabilirken, geri dönüşümsüz hasarlarda mitokondrinin fonksiyonel bozukluğu ve membranların fonksiyon kaybı sebebiyle hasar kalıcı olabilmektedir. (115-117).

İskemi ile dokulara giden oksijen miktarının azalması, hücrelerde enerji mekanizmasını bozar. ATP'nin azalması ile hücre içi iyon transportu bozulur, hücre içerisinde kalsiyum ve sodyum birikimine sebep olur. Sodyum birikimine bağlı olarak, hücre içi aşırı su birikimi ve hücresel şişme izlenir. Kalsiyum birikimi hücre için ölümcül olabilmektedir. ATP'nin tükenmesi ile hücre içerisinde artan laktik asit ve sitrat gibi moleküllerine etkisi ile asidotik ortam oluşmaya başlar. İskeminin uzun sürmesi ile hücre içerisindeki membranlarda geçirgenlik artar, lizozomal enzimler sitozole geçer ve sitozoldeki asidotik ortamda aktifleşmeye başlar. Aktifleşen enzimler nükleer elemanları ve sitoplazmadaki yapıları sindirime uğratar (42, 44). Reperfüzyon ile doku kan akımının başlaması, iskemik dokuların yaşamsal fonksiyonu için elzemdir. Ancak reperfüzyon sırasında devreye giren birtakım mekanizmalar ile doku hasarı tahmin edilemeyecek boyutlara ulaşabilmektedir. Dokuda proinflatuar sitokin düzeylerinde artış, serbest radikal oluşumunda artış, nötrofillerin artan aktivasyonu, adezyon moleküllerinin devreye girmesi ile birlikte reperfüzyon sırasında doku ve hücresel savunmanın zayıflaması doku hasarını daha kolay hale getirir. İnflatuar süreç, renal İ/R'de yaygın bir anormalliktir ve patofizyolojisinde güçlü bir rol oynar. IL-1 β ve TNF- α gibi proinflatuar sitokinler, renal disfonksiyon ve İ/R hasarından sonraki tahribatın sorumlusu olarak gösterilmektedir. Kemokinler ise proinflatuar sitokinlerin salgılanmasını, lökosit aktivasyonunu ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu modüle eder. (118, 119).

Cámara-Lemarroy ve ark. tarafından yapılan deneysel bir çalışmada, hücreler arası adezyon molekülü (ICAM-1), ET-1, TNF- α düzeylerinin reperfüzyon hasarı sonrası arttığı ve tübüllerde ciddi doku hasarı geliştiği saptanmıştır (120). Ying Xie ve ark. akut böbrek hasarının erken biyobelirteçleri olarak bilinen NGAL ve KİM-1'in, İ/R modeli oluşturulan ratların renal tübüllerinde anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır (121). Başka bir çalışmada, Xu ve ark. böbrek İ/R hasarına bağlı olarak TNF- α , IL-1 β , IL-6 düzeylerinin anlamlı düzeyde arttığını bildirmişlerdir (122). Çalışmamızda benzer şekilde İ/R oluşturulan ratlarda TNF- α , NGAL ve KİM-1 düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulduk.

Serbest radikaller iskemi esnasında oluşurken, reperfüzyon sırasında oluşumu çok daha fazla görülür. ATP ürünü olan düşük enerji kapasiteli AMP'ler ve adenosin molekülleri, iskemik dönemde ortamda yüksek miktarlarda bulunurlar. Bu iki molekülün

parçalanması, hipoksantin ve inozin düzeylerinde artışa neden olur. Dokularda kan akımı yeniden sağlanması ile iskemik koşullarda dokularda biriken hipoksantin başta olmak üzere birçok molekülle birlikte ortamda bol miktarda bulunan oksijen, oksidanların neden olduğu bazı reaksiyonlar ile kararsız hale gelir ve bol miktarda serbest radikal ortaya çıkar. Serbest radikaller, İ/R hasarının oluşum mekanizmasında rol alan en önemli etkenlerden biri olduğu düşünülmektedir (118, 119, 123).

Günümüzde birçok farmakolojik ajan ile renal İ/R hasarını önlemek için ciddi çalışmalar yürütülmektedir. Bunların en başında antioksidanlar gelmektedir. Prooksidan-antioksidan dengesinin prooksidan lehine bozulması, organizmada oksidatif strese yol açmaktadır. Artan serbest radikal seviyeleri, glutatyon gibi enzimatik olmayan endojen antioksidanlar ile katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik antioksidanlar tarafından dengelenmeye çalışılır (119, 124). Ayrıca dışarıdan alınan ve eksojen antioksidan olarak adlandırılan, serbest radikallere karşı savaşan birçok antioksidan molekül bulunmaktadır (91).

Flavonoidler, besin olarak kabul edilmeseler de insan diyetinde bulunan önemli bir bileşendirler. Birçok flavonoidin antioksidan kapasitesi, C ve E vitaminlerinininkinden çok daha güçlü olduğu gösterilmiştir. Antioksidan özelliklerinin yanı sıra, antiviral, antibakteriyel, antiinflamatuvar, vazodilatör, antikanser, anti-iskemik gibi çok sayıda biyolojik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Lipid peroksidasyonunu ve trombosit agregasyonunu inhibe edebilir, artan kılcal geçirgenliği ve kırılabilirliği iyileştirebilirler. (125, 126). Liaquat ve ark. beyin dokusu üzerinde yaptıkları çalışmada, flavonoid grubuna ait olan naringenin ve quercetin moleküllerinin, beyin dokusundaki antioksidan aktiviteleri arttırdıklarını göstermişlerdir (127). Hosseini ve ark. renal İ/R hasarı sonrası lipid peroksidasyonunda artış ve antioksidan düzeylerinde azalma olduğunu çalışmalarında bildirmişlerdir (128). Analizimizde renal İ/R hasarı sonrası deney hayvanlarında lipid peroksidasyonu düzeyini belirlemede kullanılan MDA'da artış gözlenirken, flavonoid türevi olan naringenin verilen tedavi grubunda MDA düzeyi, İ/R hasarı oluşturulup tedavi verilmeyen hayvan grubuna göre anlamlı seviyede daha düşük izlendi. Öte yandan SOD ve GPx aktivitesinde İ/R hasarı oluşturulan gruplarda önemli bir azalma olduğu belirlendi. İ/R modeli yapılarak takip edilen ve naringenin verilen grupta, naringenin verilmeyen gruba göre SOD ve GPx aktivitesi daha yüksek bulundu.

Özellikle birçok narenciye meyvesinde bulunan naringenin (4',5,7-trihidroksiflavanon), antioksidan, antiinflamatuvar, antiproliferatif ve antimutajenik özelliklere sahip olduğu çok sayıda çalışmada gösterilmiştir. Antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı naringenin, hayvan araştırmalarında miyokard enfarktüsü, diabetes mellitus ve ateroskleroz dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara karşı koruma sağlamak için kullanılmıştır. Başlıca antioksidan etkisini lipid peroksidasyonunun inhibisyonu ve serbest radikal süpürücü etkileri ile yaptığı bildirilmiştir (105, 129, 130).

Bu çalışmada antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi gösterilen naringenin, böbrek İ/R hasarında, antioksidan enzimlerin (GPx, SOD) aktiviteleri, lipid peroksidasyonunun önemli bir belirteci olan MDA düzeyleri, proinflamatuvar sitokin (TNF- α , IL-1 β , IL-6) düzeyleri, böbrek hasarının erken belirteci olarak kullanılan KİM-1 ve NGAL düzeyleri ile böbrekte histopatolojik değişiklikleri üzerinde etkilerinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Mershiba ve ark. yaptıkları çalışmada, arsenik ile nefrotoksisite oluşturulan rat modellerinde naringenin tedavisinin koruyucu etkinliğinin olup olmadığını araştırmışlar. Böbrek dokularında yapılan histopatolojik incelemede, arsenik verilen ratlardaki nefrotoksisite, naringenin tedavisi ile minimize edildiği izlenmiş. Tübüler epitelin sağlam kaldığı, fırçamsı kenar bütünlüğünün çok hafif bozulduğu ve hücresel şişmenin yine hafif derecede olduğu görülmüş. Aynı zamanda naringenin tedavisi verilen gruplarda CAT, GPx, SOD aktivitelerinde artış ve lipid peroksidasyonu seviyelerinde azalma olduğu bulundu (131).

Wang ve ark. naringenin iskemik inme üzerinde koruyuculuğunu araştırdılar. Deney hayvanlarında oluşturulan iskemik inme modellerine, naringenin tedavisi verilen gruplarda nöronal hücre proliferasyonunun desteklendiği, iskeminin sebep olduğu apoptozisin azaldığı görüldü. Ayrıca tedavi grubunda MDA ve SOR seviyeleri azalırken SOD miktarlarının arttığı izlendi (132).

Deng ve ark. travmatik beyin hasarı oluşturdukları ratlara naringenin tedavisi uygulayarak oksidatif stres üzerine olan etkisini incelediler. Oksidatif stres göstergesi olarak MDA ve GPx seviyelerini değerlendirdiler. Naringenin tedavisi alan grupta

MDA oluşumu daha az izlendi. GPx aktivitesi, naringenin tedavisi alan grupta tedavi almayan gruba göre anlamlı derecede yüksek izlendi (105).

Zeng ve ark. SAK oluşturdıkları hayvan modelinde naringenin, erken beyin hasarını azaltıp azaltmadığını araştırdılar. Naringenin verilen gruptaki deney hayvanlarında nörolojik defisit ve beyin ödeminin daha az olduğunu tespit ettiler. Proinflamatuvar sitokin olan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerini, naringenin verilen grupta daha düşük olduğunu saptadılar (133).

Wojnar ve ark. oral yoldan uygulanan naringenin, tip 1 diyabet modeli oluşturulan ratların lenslerindeki oksidatif stres belirteçleri üzerindeki etkisini değerlendirdiler. 50 ve 100 mg/kg naringenin tedavisi 4 hafta boyunca uygulandı. Naringenin verilen diyabetik ratlarda bakılan SOD aktivitesi, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek iken 50 ve 100 mg/kg verilen gruplar arasında anlamlı derecede farklılık izlenmedi (103).

Işık ve ark. intestinal İ/R modeli oluşturdıkları ratlarda naringenin ve ozon tedavisinin etkisini incelediler. Histopatolojik olarak İ/R oluşturulan ve tedavi verilmeyen grupta yaralanma skorunun en yüksek olduğu izlendi. Naringenin + ozon tedavisi verilen grupta yaralanma skoru en düşük izlenirken, sadece naringenin verilen gruptaki yaralanma skoru ile birbirine yaklaşık olarak aynı izlendi (134).

Renugadevi ve ark. ratlara 4 hafta kadmiyum vererek meydana getirdikleri oksidatif strese karşı, yine 4 hafta naringenin tedavisinin 25 mg/kg ve 50 mg/kg olmak üzere farklı dozlarda etkisini incelediler. Böbrek fonksiyon belirteçleri olan üre, kreatin kontrol grubuna göre yalnızca kadmiyum verilen grupta yüksek izlenirken, 50 mg/kg naringenin verilen grupta daha fazla olmak üzere naringenin verilen gruplarda kontrol grubuna yakın seyrettiği izlendi. Ayrıca SOD, CAT, GPx düzeyleri kadmiyum verilen grupta düşük izlenirken, kadmiyumla beraber naringenin uygulanan gruplarda bu antioksidanların, 50 mg/kg doz verilen grupta daha fazla olmak üzere artmış olduğu bulundu. Diğer çalışmalarla benzer şekilde lipid peroksidasyonunu gösteren belirteçlerde ise yüksek doz naringenin verilen gruplarda daha fazla olmak üzere anlamlı derecede düşüş olduğu görüldü (135).

Çalışmamızda uygulanan naringenin tedavisi ile yukarıda bahsedilen çalışmalar paralellik göstermektedir. Çalışmamızda İ/R yapıp naringenin verilen grupta akut böbrek hasarının erken belirteci olan NGAL ve KİM-1 düzeyleri, tedavi verilmeyen İ/R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük izlendi. İ/R hasarının sebeplerinden biri olan inflamatuvar süreç, çalışmamızda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri bakılarak değerlendirildi. Naringenin tedavisi verilen grupta bu belirteçler, tedavi verilmeyen gruba göre anlamlı düzeyde düşük izlendi. Yine naringenin verilen grupta enzimatik antioksidanlar olan SOD ve GPx düzeyleri, tedavi verilmeyen gruba göre anlamlı düzeyde yüksek izlendi. İ/R hasarında önemli bir yere sahip olan lipid peroksidasyonu, çalışmamızda MDA seviyelerine göre değerlendirildi. Tedavi verilen grupta MDA düzeyleri, tedavi verilmeyen gruptaki ratlara göre daha düşük izlendi. Histopatolojik değerlendirmede ise naringenin tedavisi verilen ratların böbreklerinin histopatolojik incelemesinde, iskemi-reperfüzyonla oluşan doku hasarları bazı alanlarda yer yer görülse de belirgin olarak azalmış olduğu, böbrek parankim ve stromal alanlarının genel olarak daha çok normal böbrek dokusu görünümüne benzemeye başlamış olduğu gözlemlendi. İskemi-reperfüzyon yapılan ve tedavi verilmeyen grubun histopatolojik incelemesinde böbrek doku kesitlerinde şiddetli ve yaygın doku hasarlarının olduğu, histolojik doku hasarları; genellikle tübüler epitelial düzleşmeler, tübüler dilatasyon ve düzensizlikler, nükleer ayrılma/atılma, fırçası kenar kaybı, fokal koagülatif nekrozisler, glomerüller deformiteler, yer yer lokal doku erozyonları, yaygın konjesyon alanları ve inflamatuvar hücre infiltrasyon alanları şeklinde izlendi.

6. SONUÇ

Bu deneysel çalışmamızda renal I/R modeli oluşturulan ratlarda Naringenin oksidatif stresin minimize edilmesinde oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir. İleriki dönemlerde yapılacak kapsamlı deneysel ve randomize geniş serili klinik çalışmalar ile böbrek cerrahisi, kardiyopulmoner bypass gibi renal I/R hasarının önceden ön görülebileceği durumlarda Naringenin içeriği yüksek turuncgil tüketiminin oldukça yararlı sonuçlarının ortaya çıkartabileceği kanaati taşımaktayız.



7. KAYNAKLAR

1. Valdenebro M, Martín-Rodríguez L, Tarragón B, Sánchez-Briales P, Portolés J. Renal replacement therapy in critically ill patients with acute kidney injury: 2020 nephrologist's perspective. *Nefrología (English Edition)*. 2021;41(2):102-14.
2. Nensén O, Hansell P, Palm F. Role of carbonic anhydrase in acute recovery following renal ischemia reperfusion injury. *PloS one*. 2019;14(8):e0220185.
3. Mishra M, Ng S, Hanison J. Renal failure and its treatment. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*. 2021;22(7):398-405.
4. Liu S, Yang Y, Gao H, Zhou N, Wang P, Zhang Y, et al. Trehalose attenuates renal ischemia-reperfusion injury by enhancing autophagy and inhibiting oxidative stress and inflammation. *American journal of physiology Renal physiology*. 2020;318(4):F994-f1005.
5. Bonventre JV, Yang L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(11):4210-21.
6. Zuk A, Bonventre JV. Acute Kidney Injury. 2016;67(1):293-307.
7. Kang Y, Li Y, Wen H, Zhu J, Zheng J, Feng Z. Prevention of renal ischemia and reperfusion injury by penicillamine hydrochloride through autophagy activation. *Mol Med Rep*. 2020;21(5):2182-92.
8. Chang Y-K, Choi H, Jeong JY, Na K-R, Lee KW, Lim BJ, et al. Dapagliflozin, SGLT2 Inhibitor, Attenuates Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *PloS one*. 2016;11(7):e0158810-e.
9. Guo A, Wang W, Shi H, Wang J, Liu T. Identification of Hub Genes and Pathways in a Rat Model of Renal Ischemia-Reperfusion Injury Using Bioinformatics Analysis of the Gene Expression Omnibus (GEO) Dataset and Integration of Gene Expression Profiles. *Med Sci Monit*. 2019;25:8403-11.
10. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *The Surgical clinics of North America*. 1992;72(1):65-83.
11. Caio-Silva W, da Silva Dias D, Junho CVC, Panico K, Neres-Santos RS, Pelegriño MT, et al. Characterization of the Oxidative Stress in Renal Ischemia/Reperfusion-Induced Cardiorenal Syndrome Type 3. *Biomed Res Int*. 2020;2020:1605358-.
12. Carochio M, Ferreira ICFR. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;51:15-25.
13. Li S, Tan H-Y, Wang N, Zhang Z-J, Lao L, Wong C-W, et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int J Mol Sci*. 2015;16(11):26087-124.
14. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2017;44(2):532-53.
15. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot*. 2003;91 Spec No(2):179-94.
16. Veiko AG, Lapshina EA, Zavodnik IB. Comparative analysis of molecular properties and reactions with oxidants for quercetin, catechin, and naringenin. *Mol Cell Biochem*. 2021;476(12):4287-99.
17. Wali AF, Rashid S, Rashid SM, Ansari MA, Khan MR, Haq N, et al. Naringenin Regulates Doxorubicin-Induced Liver Dysfunction: Impact on Oxidative Stress and Inflammation. *Plants (Basel)*. 2020;9(4):550.

18. Khan TH, Ganaie MA, Alharthy KM, Madkhali H, Jan BL, Sheikh IA. Naringenin prevents doxorubicin-induced toxicity in kidney tissues by regulating the oxidative and inflammatory insult in Wistar rats. *Archives of physiology and biochemistry*. 2020;126(4):300-7.
19. Salehi B, Fokou PVT, Sharifi-Rad M, Zucca P, Pezzani R, Martins N, et al. The Therapeutic Potential of Naringenin: A Review of Clinical Trials. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2019;12(1):11.
20. Conde E, Giménez-Moyano S, Martín-Gómez L, Rodríguez M, Ramos ME, Aguado-Fraile E, et al. HIF-1 α induction during reperfusion avoids maladaptive repair after renal ischemia/reperfusion involving miR127-3p. *Sci Rep*. 2017;7:41099-.
21. Moinuddin Z, Dhanda RJA, Medicine IC. Anatomy of the kidney and ureter. 2015;16(6):247-52.
22. McBride JM. Embryology, anatomy, and histology of the kidney. *The Kidney: Springer*; 2016. p. 1-18.
23. Interactive Atlas of Human Anatomy. illustrated by Frank H. Netter, M.D.
24. Scoffone CM, Hoznek A, Cracco CM. Supine Percutaneous Nephrolithotomy and ECIRS: The New Way of Interpreting PNL: Springer Science & Business Media; 2013.
25. McAninch JW, Lue TF. Smith ve Tanagho Genel Üroloji. 19 ed. Kadioğlu A., Taşçı A.İ., İmamoğlu A. (Çeviri Ed.): Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri; 2021. 4-7 p.
26. Ross MH, Pawlina W. Histology : a text and atlas : with correlated cell and molecular biology. 6th ed. ed: Philadelphia : Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health; 2011.
27. Anafarta K, Arıkan N, Bedük Y. Temel Üroloji. 4th ed: Ankara, Güneş Kitabevleri; 2011.
28. Yaman MÖ, Kadioğlu A, Taşçı Aİ. Güncel Üroloji: İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri; 2018.
29. Hall JE, Guyton AC. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. 12 ed. Çağlayan Yeğen B., Alican İ., Solakoğlu Z. (Çeviri Ed.): İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri; 2013.
30. Fissell WH, Miner JH. What is the glomerular ultrafiltration barrier? *Journal of the American Society of Nephrology*. 2018;29(9):2262-4.
31. Pollak MR, Quaggin SE, Hoenig MP, Dworkin LD. The glomerulus: the sphere of influence. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2014;9(8):1461-9.
32. Raghavan V, Weisz OA. Flow stimulated endocytosis in the proximal tubule. *Current opinion in nephrology hypertension*. 2015;24(4):359.
33. Pannabecker TL. Structure and function of the thin limbs of the loop of Henle. *Comprehensive Physiology*. 2012;2(3):2063-86.
34. Dantzer W, Layton A, Layton H, Pannabecker T. Urine concentrating mechanism in the inner medulla: function of the thin limbs of Henle's loops. *Clin J Am Soc Nephrol*. 10.
35. Mount DB. Thick ascending limb of the loop of Henle. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2014;9(11):1974-86.
36. Subramanya AR, Ellison DH. Distal convoluted tubule. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2014;9(12):2147-63.
37. Eladari D, Chambrey R, Peti-Peterdi J. A new look at electrolyte transport in the distal tubule. *Annual review of physiology*. 2012;74:325-49.
38. Kokko JP. The role of the collecting duct in urinary concentration. *Kidney international*. 1987;31(2):606-10.
39. Wang Y, Ma F, Rodriguez EL, Klein JD, Sands JM. Aldosterone Decreases Vasopressin-Stimulated Water Reabsorption in Rat Inner Medullary Collecting Ducts. *Cells*. 2020;9(4):967.
40. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *International review of cell molecular biology*. 2012;298:229-317.
41. Liu H, Wang L, Weng X, Chen H, Du Y, Diao C, et al. Inhibition of Brd4 alleviates renal ischemia/reperfusion injury-induced apoptosis and endoplasmic reticulum stress by blocking FoxO4-mediated oxidative stress. *Redox biology*. 2019;24:101195.

42. Malek M, Nematbakhsh M. Renal ischemia/reperfusion injury; from pathophysiology to treatment. *Journal of renal injury prevention*. 2015;4(2):20.
43. Newmeyer DD, Ferguson-Miller S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. *Cell*. 2003;112(4):481-90.
44. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia/reperfusion injury. *The Journal of surgical research*. 2002;105(2):248-58.
45. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Surgery*. 2005;81(5):637-47.
46. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British medical bulletin*. 2004;70:71-86.
47. Wu MY, Yiang GT, Liao WT, Tsai AP, Cheng YL, Cheng PW, et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2018;46(4):1650-67.
48. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clinical cardiology*. 1993;16(4 Suppl 1):119-26.
49. Guo JP, Murohara T, Buerke M, Scalia R, Lefer AM. Direct measurement of nitric oxide release from vascular endothelial cells. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 1996;81(2):774-9.
50. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biol*. 2015;6:524-51.
51. Jo SK, Sung SA, Cho WY, Go KJ, Kim HK. Macrophages contribute to the initiation of ischaemic acute renal failure in rats. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2006;21(5):1231-9.
52. Upperman JS, Deitch EA, Guo W, Lu Q, Xu D. Post-hemorrhagic shock mesenteric lymph is cytotoxic to endothelial cells and activates neutrophils. *Shock (Augusta, Ga)*. 1998;10(6):407-14.
53. Solati Z, Edel AL, Shang Y, O K, Ravandi A. Oxidized phosphatidylcholines are produced in renal ischemia reperfusion injury. *PloS one*. 2018;13(4):e0195172.
54. Brezis M, Rosen S. Hypoxia of the renal medulla--its implications for disease. *The New England journal of medicine*. 1995;332(10):647-55.
55. Bonventre JV, Zuk A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? *Kidney Int*. 2004;66(2):480-5.
56. Molitoris BA, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure. *Kidney Int*. 2004;66(2):496-9.
57. Bonventre JV, Weinberg JM. Recent Advances in the Pathophysiology of Ischemic Acute Renal Failure. 2003;14(8):2199-210.
58. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *The American journal of medicine*. 2000;109(8):665-78.
59. Hsu CN, Tain YL. Developmental Origins of Kidney Disease: Why Oxidative Stress Matters? *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2020;10(1).
60. Cabello-Verrugio C, Simon F, Trollet C, Santibañez JF. Oxidative Stress in Disease and Aging: Mechanisms and Therapies 2016. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2017;2017:4310469.
61. Daenen K, Andries A, Mekahli D, Van Schepdael A, Jouret F, Bammens B. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*. 2019;34(6):975-91.
62. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2007;39(1):44-84.

63. Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2017;2017:6501046.
64. Rice-Evans CA, Diplock AT. Current status of antioxidant therapy. *Free radical biology & medicine*. 1993;15(1):77-96.
65. Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK. Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling. *Circulation research*. 2018;122(6):877-902.
66. Lundgren CAK, Sjöstrand D, Biner O, Bennett M, Rudling A, Johansson AL, et al. Scavenging of superoxide by a membrane-bound superoxide oxidase. *Nature chemical biology*. 2018;14(8):788-93.
67. Shi R, Gao S, Smith AH, Li H, Shao M, Shanguan J, et al. Superoxide-induced Type I collagen secretion depends on prolyl 4-hydroxylases. *Biochemical and biophysical research communications*. 2020;529(4):1011-7.
68. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Duzce medical journal*. 2005;7(3):30-9.
69. Di Meo S, Venditti P. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2020;2020:9829176.
70. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *The Biochemical journal*. 2009;417(1):1-13.
71. Cadet J, Wagner JR. DNA base damage by reactive oxygen species, oxidizing agents, and UV radiation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2013;5(2).
72. Goemans CV, Collet JF. Stress-induced chaperones: a first line of defense against the powerful oxidant hypochlorous acid. *F1000Research*. 2019;8.
73. Panasenko OM, Gorudko IV, Sokolov AV. Hypochlorous acid as a precursor of free radicals in living systems. *Biochemistry Biokhimiia*. 2013;78(13):1466-89.
74. Niki E. Do antioxidants impair signaling by reactive oxygen species and lipid oxidation products? *FEBS letters*. 2012;586(21):3767-70.
75. Brieger K, Schiavone S, Miller FJ, Jr., Krause KH. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss medical weekly*. 2012;142:w13659.
76. Gago-Dominguez M, Jiang X, Castela JE. Lipid peroxidation, oxidative stress genes and dietary factors in breast cancer protection: a hypothesis. *Breast cancer research : BCR*. 2007;9(1):201.
77. Halliwell B, Gutteridge JM. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet (London, England)*. 1984;1(8391):1396-7.
78. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine*: Oxford university press, USA; 2015.
79. Hauck AK, Bernlohr DA. Oxidative stress and lipotoxicity. *Journal of lipid research*. 2016;57(11):1976-86.
80. Macotpet A, Suksawat F, Sukon P, Pimpakdee K, Pattarapanwichien E, Tangrassameeprasert R, et al. Oxidative stress in cancer-bearing dogs assessed by measuring serum malondialdehyde. *BMC veterinary research*. 2013;9:101.
81. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*. 2010;4(8):118-26.
82. Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, Yadav UC, et al. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. 2014;15(11):4405-9.
83. Amir Aslani B, Ghobadi S. Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life Sciences*. 2016;146:163-73.
84. Fleming AM, Burrows CJ. On the irrelevancy of hydroxyl radical to DNA damage from oxidative stress and implications for epigenetics. *Chemical Society reviews*. 2020;49(18):6524-8.

85. Srinivas US, Tan BWQ, Vellayappan BA, Jeyasekharan AD. ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biol.* 2019;25:101084.
86. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiological reviews.* 2014;94(3):909-50.
87. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute.* 2016;4(1).
88. Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *The Journal of the Association of Physicians of India.* 2004;52:794-804.
89. Benzie IFF. Evolution of dietary antioxidants. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology.* 2003;136(1):113-26.
90. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine.* 2018;54(4):287-93.
91. Park SK, Hyun SH, In G, Park C-K, Kwak Y-S, Jang Y-J, et al. The antioxidant activities of Korean Red Ginseng (*Panax ginseng*) and ginsenosides: A systemic review through in vivo and clinical trials. *Journal of Ginseng Research.* 2021;45(1):41-7.
92. Sarangarajan R, Meera S, Rukkumani R, Sankar P, Anuradha G. Antioxidants: Friend or foe? *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 2017;10(12):1111-6.
93. Chelikani P, Fita I, Loewen PC. Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular Molecular Life Sciences CMLS.* 2004;61(2):192-208.
94. Drevet J. Glutathione peroxidases expression in the mammalian epididymis and vas deferens. *International Journal of Andrology Supplement.* 2000;23.
95. Freitas M, Baldeiras I, Proença T, Alves V, Mota-Pinto A, Sarmento-Ribeiro A. Oxidative stress adaptation in aggressive prostate cancer may be counteracted by the reduction of glutathione reductase. *FEBS Open Bio.* 2012;2:119-28.
96. Yu H, Jing Y, Zhang X, Qayum A, Gantumur M-A, Bilawal A, et al. Comparison of intracellular glutathione and related antioxidant enzymes: Impact of two glycosylated whey hydrolysates. *Process Biochemistry.* 2020;97:80-6.
97. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science : IJBS.* 2008;4(2):89-96.
98. Anisimov VN, Popovich IG, Zabezhinski MA, Anisimov SV, Vesnushkin GM, Vinogradova IA. Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics.* 2006;1757(5):573-89.
99. Atukeren P, Aydin S, Uslu E, Gumustas M, Cakatay U. Redox Homeostasis of Albumin in Relation to Alpha-Lipoic Acid and Dihydrolipoic Acid. *Oxidative medicine and cellular longevity.* 2010;3:950215.
100. Pandey KB, Rizvi SI. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative medicine and cellular longevity.* 2009;2:897484.
101. Joshi R, Kulkarni YA, Wairkar S. Pharmacokinetic, pharmacodynamic and formulations aspects of Naringenin: An update. *Life Sciences.* 2018;215:43-56.
102. Pietta P-G. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products.* 2000;63(7):1035-42.
103. Wojnar W, Zych M, Kaczmarczyk-Sedlak I. Antioxidative effect of flavonoid naringenin in the lenses of type 1 diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2018;108:974-84.
104. Chakraborty M, Bhattacharjee A, Ahmed MG, Priya E.S S, Shahin H, Taj T. Effect of Naringin on myocardial potency of Resveratrol against ischemia reperfusion induced myocardial toxicity in rat. *Synergy.* 2020;10:100062.

105. Deng C, Yi R, Fei M, Li T, Han Y, Wang H. Naringenin attenuates endoplasmic reticulum stress, reduces apoptosis, and improves functional recovery in experimental traumatic brain injury. *Brain Research*. 2021;1769:147591.
106. Yu LM, Dong X, Xue XD, Zhang J, Li Z, Wu HJ, et al. Naringenin improves mitochondrial function and reduces cardiac damage following ischemia-reperfusion injury: the role of the AMPK-SIRT3 signaling pathway. *Food & function*. 2019;10(5):2752-65.
107. Aydoğdu N. , Kaymak K. , Yalçın Ö Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Nasetilsisteinin Etkileri. *Fırat Tıp Dergisi*. 2005;10(4):151-5.
108. Özkısacık S, Yazıcı M, Gürsoy H, Serter M, Çulhacı N. Dekspantenolün Böbreği İskemi-Reperfüzyon Hasarından Koruyucu Etkisi Var mıdır? *Türk Neph Dial Transpl*. 2011;20 (2):146-9.
109. Liapis H, Gaut JP, Klein C, Bagnasco S, Kraus E, Farris AB, et al. Banff Histopathological Consensus Criteria for Preimplantation Kidney Biopsies. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2017;17(1):140-50.
110. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1967;70(1):158-69.
111. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical chemistry*. 1988;34(3):497-500.
112. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in enzymology*. 1990;186:407-21.
113. Yeniçerioğlu Y, Güngör Ö, Arıcı M. *Temel Nefroloji: Ankara, Güneş Kitabevleri*; 2019.
114. Mehta RL, Cerdá J, Burdmann EA, Tonelli M, García-García G, Jha V, et al. International Society of Nephrology's Oby25 initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology. *Lancet (London, England)*. 2015;385(9987):2616-43.
115. Sharples EJ, Patel N, Brown P, Stewart K, Mota-Philipe H, Sheaff M, et al. Erythropoietin protects the kidney against the injury and dysfunction caused by ischemia-reperfusion. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2004;15(8):2115-24.
116. Cebeci OÖ, Özkan TA. Sıçan Böbrek İskemi Reperfüzyon Modelinde Sildenafil Sitrat Kullanımı Erken Dönemde Doku Hasarını Engellemez. *Okmeydanı Tıp Dergisi*. 2018;34(2):126-31.
117. Okusa MD. The inflammatory cascade in acute ischemic renal failure. *Nephron*. 2002;90(2):133-8.
118. Liu H, Wu X, Luo J, Zhao L, Li X, Guo H, et al. Adiponectin peptide alleviates oxidative stress and NLRP3 inflammasome activation after cerebral ischemia-reperfusion injury by regulating AMPK/GSK-3β. *Experimental Neurology*. 2020;329:113302.
119. Aboutaleb N, Jamali H, Abolhasani M, Pazoki Toroudi H. Lavender oil (*Lavandula angustifolia*) attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rats through suppression of inflammation, oxidative stress and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019;110:9-19.
120. Cámara-Lemarroy CR, Guzmán-de la Garza FJ, Alarcón-Galván G, Cordero-Pérez P, Fernández-Garza NE. Effect of sulfasalazine on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Renal failure*. 2009;31(9):822-8.
121. Xie Y, Xiao J, Fu C, Zhang Z, Ye Z, Zhang X. Ischemic Preconditioning Promotes Autophagy and Alleviates Renal Ischemia/Reperfusion Injury. *Biomed Res Int*. 2018;2018:8353987.
122. Xu YF, Liu M, Peng B, Che JP, Zhang HM, Yan Y, et al. Protective effects of SP600125 on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *The Journal of surgical research*. 2011;169(1):e77-84.

123. Vishwakarma VK, Upadhyay PK, Gupta JK, Yadav HN. Pathophysiologic role of ischemia reperfusion injury: A review. *Journal of Indian College of Cardiology*. 2017;7(3):97-104.
124. Shibagaki K, Okamoto K, Katsuta O, Nakamura M. Beneficial protective effect of pramipexole on light-induced retinal damage in mice. *Experimental eye research*. 2015;139:64-72.
125. Prior RL, Cao G. Antioxidant Phytochemicals in Fruits and Vegetables: Diet and Health Implications. *HortScience HortSci*. 2000;35(4):588-92.
126. Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 2011;82(4):513-23.
127. Liaquat L, Batool Z, Sadir S, Rafiq S, Shahzad S, Perveen T, et al. Naringenin-induced enhanced antioxidant defence system meliorates cholinergic neurotransmission and consolidates memory in male rats. *Life Sciences*. 2018;194:213-23.
128. Hosseini F, Naseri MK, Badavi M, Ghaffari MA, Shahbazian H, Rashidi I. Effect of beta carotene on lipid peroxidation and antioxidant status following renal ischemia/reperfusion injury in rat. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2010;70(4):259-63.
129. Cavia-Saiz M, Busto MD, Pilar-Izquierdo MC, Ortega N, Perez-Mateos M, Muñoz P. Antioxidant properties, radical scavenging activity and biomolecule protection capacity of flavonoid naringenin and its glycoside naringin: a comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2010;90(7):1238-44.
130. Jung UJ, Kim HJ, Lee JS, Lee MK, Kim HO, Park EJ, et al. Naringin supplementation lowers plasma lipids and enhances erythrocyte antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic subjects. *Clinical Nutrition*. 2003;22(6):561-8.
131. Mershiba SD, Dassprakash MV, Saraswathy SD. Protective effect of naringenin on hepatic and renal dysfunction and oxidative stress in arsenic intoxicated rats. *Molecular biology reports*. 2013;40(5):3681-91.
132. Wang K, Chen Z, Huang J, Huang L, Luo N, Liang X, et al. Naringenin prevents ischaemic stroke damage via anti-apoptotic and anti-oxidant effects. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2017;44(8):862-71.
133. Zeng H, Shao B, Zhuang J, Peng Y, Chen H, Yu Q, et al. Naringenin reduces early brain injury in subarachnoid hemorrhage (SAH) mice: The role of the AMPK/SIRT3 signaling pathway. *Journal of Functional Foods*. 2020;72:104043.
134. Isik A, Peker K, Gursul C, Sayar I, Firat D, Yilmaz I, et al. The effect of ozone and naringin on intestinal ischemia/reperfusion injury in an experimental model. *International Journal of Surgery*. 2015;21:38-44.
135. Renugadevi J, Prabu SM. Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology*. 2009;256(1):128-34.