T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Mustafa Burak SAYHAN

DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON SONRASI OLUŞAN BÖBREK HASARINA KARŞI SESAMİN'İN KORUYUCU ETKİSİNİN İNCELENMESİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Eylem SEZENLER

EDİRNE -2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde her türlü destek ve yardımlarını esirgemeyen, öğütlerinden, duruşlarından, Acil Tıp nosyonundan her zaman etkilendiğim hem Anabilim Dalı Başkanım hem tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Mustafa Burak SAYHAN olmak üzere; Prof. Dr. Mutasım Süngün'e, Doç. Dr. Cemil KAVALCI'ya; devamlı ve her alanda benden desteğini esirgemeyen çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Serhat OĞUZ'a; tez çalışmalarım sırasında bana destek veren Doç.Dr. Taner ÖZGÜRTAŞ ve Yrd. Doç. Dr. Nuray CAN'a ve tüm çalışma arkadaşlarıma katkılarından dolayı teşekkür ederim. Bu günlere gelmemde büyük payı olan annem Ayşe SEZENLER'e, babam Ramiz SEZENLER'e ve kardeşim Evren SEZENLER'e teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **BÖBREĞİN ANATOMİSİ ve FİZYOLOJİSİ** 3
- **AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ** 5
- **RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI** 7
- **OKSİDANLAR** 14
- **ANTİOKSİDANLAR** 18
- **SESAMİN** 19

GEREÇ VE YÖNTEMLER 21

BULGULAR 27

TARTIŞMA 35

SONUÇLAR 39

ÖZET 41

SUMMARY 43

KAYNAKLAR 45

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

ABY **:** Akut Böbrek Yetmezliği

AT **:** Anjiyotensin

ATN **:** Akut Tübüler Nekroz

ATP **:** Adenozin Trifosfat

ADP : Adenozin Difosfat

Cr **:** Kreatinin

GFR **:** Glomerüler Filtrasyon Hızı

GR **:** Glutatyon Redüktaz

GSH **:** Glutatyon

GSH-Px **:** Glutatyon Peroksidaz

GST **:** Glutatyon S-Transferaz

ICAM-1 **:** İnterselüler Adhezyon Molekül-1

IL **:** İnterlökin

İ/R **:** İskemi-Reperfüzyon

KAT **:** Katalaz

MDA **:** Malondialdehit

NADH **:** Nikotinamid Adenindinükleotid

O_2^- **:** Süperoksit Radikali

OH^- **:** Hidroksil Radikali

PMNL **:** Polimorf Nüveli Lökositler

SOR **:** Serbest Oksijen Radikalleri

SOD **:** Superoksit Dismutaz

TAS : Total Antioksidan Seviye

TNF **:** Tümör Nekrozis Faktör

TOS : Total Oksidan Seviye

GİRİŞ VE AMAÇ

İskemi bir dokuya gelen kan akımının azalması veya kesilmesi olarak tanımlanır. Reperfüzyon ise kan akımının yeniden başlamasıdır. İskemi sonrasında dokuda hücresel fonksiyon bozukluklarına ve tübüler hasara neden olacak bir dizi kimyasal olay başlar. Yeniden kanlanma ile dokudaki hasar miktarı giderek artar. Bunun en önemli nedeni olarak sitotoksik ajanlar gösterilmektedir (1-3).

Çeşitli nedenlerden oluşan iskemi reperfüzyona bağlı gelişen akut iskemi veya akut böbrek yetmezliği (ABY) özellikle yoğun bakım ünitelerinde morbidite ve mortalitenin başta gelen nedenlerindendir (4,5).

Üç ana başlık altında incelenebilen akut böbrek yetmezliğinin en sık sebebi prerenal nedenlerdir. Diğer nedenler renal ve postrenal sebeplerdir. Prerenal nedenlerin patofizyolojisinde temel olarak renal hipoperfüzyon varken postrenal nedenlerin altında ise obstrüksiyonlar ve mesane işlev bozuklukları yer almaktadır. Hem prerenal hem de postrenal ABY'de böbrek parankim yapısı bozulmamışken renal ABY'de parankimal hasar vardır. Prerenal azotemi nedenleri içerisinde hipovolemi (hemoraji, gastrointestinal kanama, dehidratasyon, aşırı diürez, pankreatit, yanık, travma, peritonit vs.), düşük kardiyak output (kardiyojenik şok, konjestif kalp yetmezliği, perikardial tamponad, pulmoner emboli), sistemik vazodilatasyonu ve renal vazokonstriksiyonu içeren sistemik vasküler resistanstaki değişiklikler (sepsis, anaflaksi, anestezi, afterload'u azaltan ilaçlar), renal otoregülatuar cevapta bozukluğa neden olan ilaçlar siklooksijenaz (COX-1) inhibitörleri, angiotensin converting enzim (ACE) inhibitörleri ve hipervizkosite sendromları sayılabilir. Prerenal ABY'de eğer böbrek hipoperfüzyonu sürerse renal iskemi ve buna bağlı intrensek renal hasar gelişir (6-10).

İntrensek ABY'nin ise en sık nedeni tübül hasarının ön planda olduğu akut tübüler nekrozdur (ATN). ATN'nin en önemli iki nedeni ise iskemi ve nefrotoksinlere maruz kalmadır. İskemi, uzamış prerenal azotemi sonrasında oluşur. Aynı zamanda böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi, kardiyopulmoner bypass gibi major cerrahi girişimlerden sonra, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler ve hidronefrozis gibi çeşitli klinik durumlarda da görülür (10-12).

Akut tübüler nekroz, aynı zamanda iskemi-reperfüzyonda (İ/R) oluşan serbest oksijen radikallerinin meydana getirdiği hasar sonucu da oluşabilmektedir (3, 13).

Deneysel İ/R modeli üzerinde antioksidanların etkileri ile ilgili çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır. İ/R hasarının önlenmesinde endojen antioksidan sistemler etkili olduğu gibi eksojen antioksidan sistemler de etkilidir. Eksojen antioksidanlar konusunda literatürde çok farklı ilaçlar ve gıdalar üzerinde çalışmalar bulunmaktadır. (14-20).

Daha önceki çalışmalarda test edilen ve tedavi protokollerinde kullanılmak üzere geliştirilen birçok antioksidan ajan vardır. Kliniğe uygulanması uzun süreçlere dayansa da, çeşitli patolojik durumlarda ya da cerrahi işlemlerde organ koruyucu olarak kullanılmak üzere bir tür ekzojen antioksidan ajan olan flavonoidlerle yapılan çalışmalar bulunmaktadır.

Yanarates ve ark. (21) üzüm çekirdeği ekstresinin *(proantosiyanidin)* renal iskemi reperfüzyon hasarında iyileştirici etkileri üzerinde çalışmışlardır. Fujii ve ark. (22) ise L-Karnozinin etkisini araştırmışlardır. Kliniğimizde de daha önceki dönemlerde yapılan bir çalışma ise, doğada bolca bulunan ısırgan otunun (*urtica diocica*) deneysel renal iskemi reperfüzyon hasarında proksimal tübüller üzerine koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir (23).

Sesumum Indicum; antikarsinojenik, antimikrobiyal etkilerinin yanı sıra antioksidan özellikleri de bulunan flavonoid kökenli eksojen bir maddedir (24, 26). Utsunomiya ve ark. (27) tarafından yapılan bir çalışmada ratlarda hepatik arter ve portal venin klemplenmesi sonucu oluşturulan karaciğer iskemi reperfüzyon modelinde *Sesamum Indicum'un* biyokimyasal ve histopatolojik etkileri araştırılmıştır (27). Ayrıca Moshohid ve ark. (24) tasarladıkları serebral iskemi reperfüzyon modelinde de sesaminin lipid peroksidaz ürünlerinin birikmesini önlemek ve antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırmak sureti ile oksidanların neden olduğu apoptozis cevabını azaltlıkları gösterilmiştir.

Bu çalışmada daha önce hiç üzerinde çalışılmayan; ratlardaki renal iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası sesaminin böbrekler üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

GENEL BİLGİLER

BÖBREĞİN ANATOMİSİ ve FİZYOLOJİSİ

Böbrekler, vücudun metabolik aktivitesi sonucu ortaya çıkan yan ürünler ile fazla suyun organizmadan dışarı itrahını sağlayarak, elektrolit ve su dengesinde önemli rol üstlenen organlardır (28). Böbreklerin kanlanması 1. ve 2. lumbal vertebralar arasındaki discus intervertebralis seviyesinde her iki tarafta pars abdominalis aortadan ayrılan renal arterler ile olur (28).

Böbrek, idrar yapan oluşumları içeren kortex renalis ve toplayıcı kanallardan oluşan medulla renalis olmak üzere iki kısma ayrılır (28).

Her böbrekte 1-4 milyon arası idrar oluşturabilme yeteneğine sahip temel fonksiyonel ünitesi olan nefron bulunmaktadır. Her nefron genişlemiş bir bölüm olan renal cisimcik (renal korpüskül), proksimal kıvrımlı tübül, Henle kulbu ile distal kıvrımlı tübülden meydana gelir. Nefronlarda üretilen idrarın toplanarak böbrek pelvisine iletilmesinde ise embriyolojik kökeni nefrondan farklı olan toplayıcı tübüller ve kanallar görev alır. Nefron ve içine boşaldığı toplayıcı kanal ise böbreğin işlevsel birimi olarak kabul edilen ürinifer tübülü oluşturur (29).

Renal cisimcik (Malpighi cisimciği) kortekste yer alırken, glomerül ve Bowman kapsülü olmak üzere iki bölümden oluşur (29). Her renal cisimcikte bir damar kutbu bir de idrar kutbu bulunur. Afferent arteriyollerin girdiği ve efferent arteriyollerin çıktığı kısma damar kutbu, proksimal kıvrımlı tübüllerin başladığı yere ise idrar kutbu denir. Afferent arteriyoller renal cisimciğe girdikten sonra glomerülü oluştururlar (29). Glomerüller, proksimal ve distal tübülüsler kortekste, kollektör kanallar ve Henle kulbunun bir kısmı medüllada yer alır (30). Glomerül epitel bir yapı olan Bowman kapsülünün içinde bulunur. Glomerülün yapısı üç ana hücre (endotelyal, mezangial ve epitelyal hücreler) ve filtrasyon

fonksiyonu olan iki ekstrasellüler bölgeden (glomerüler bazal membran ve mezangial matriks) meydana gelir (30). Endotel hücreler kan içeriğinin kapiller lümenden üriner alana geçişini engellemede ilk savunmayı oluştururlar ancak makromoleküllerin geçişine karşı önemli bir engel oluşturmazlar. Ayrıca endotel hücresi negatif yüklüdür; bunun sebebi de polianyonik glikoproteinlerdir ve bu sayede endotel hücreleri filtrasyon bariyerinin yük seçici özelliğinden sorumludur. Mezangiumda fagositik yeteneği olan (makrofajlar) ve olmayan iki tip hücre vardır. Çoğunluğu düz kas hücreleri gibi davranan fagositik özelliği olmayan hücrelerden oluşmaktadır. Ayrıca değişik tipte kollajen sentezleyen fagositik özelliği olmayan hücreler özellikle anjiotensin II, antidiüretik hormon (ADH) için reseptörlere sahiptir. Bu özellikleri sayesinde vazoaktif maddelere karşı verilen kontraksiyon yanıtı ile glomeruler kan akımının ve filtrasyon hızının ayarlanmasında önemli rol oynarlar. Epiteliyal hücreler parietal ve visseral hücre topluluklarından meydana gelir. Parietal hücreler Bowman kapsülünün dış kısmında yer alırken visseral hücreler de bazal membrana uzanan padositleri oluştururlar. Padositlerin yüzeyleri albumin gibi negatif yüklü makromoleküllerin geçişine izin vermeyecek şekilde sialoproteinlerden dolayı negatif yüklüdür ve bu sayede süzme bariyerine katkıda bulunurlar. Glomerüler bazal membran ise kollojen lifleri içeren glikoproteinlerden oluşan hidrate jel tabakasıdır (30).

Glomerüler ultrafilrat, Bowman boşluğundan sırasıyla proksimal tübülüs, Henle kulbu, distal tübülüs, kollektör kanallardan geçerek son olarak idrar şeklini alır ve papilla yoluyla kalikseal sisteme ulaşır (30).

Proksimal tübül glomerülün idrar ucundan başlar; kıvrımlı ve düz olmak üzere iki kısımdan oluşur; bunlar korteks içinde bulunan ve Bowman kapsülünün parietal yaprağının devamı şeklinde olan kıvrımlı kısmı ile medullada bulunan düz tübüldür. Proksimal düz tübül sıvıyı Henle kulbuna geçirir. Henle kulbu büyük kısmı medullada bulunan ve makula densa ile biten nefron segmentidir. Medulla içinde U kıvrımı yaparak kortekse yönelerek burada distal tübülü oluşturur. Distal tübül çıkan Henle'nin devamı şeklindedir ve kortekste bulunur. Tübül tekrar medülla dokusu içine girerek toplayıcı kanallara dönüşür. Glomerüler ultrafiltrat son olarak renal papillaların uçlarındaki Bellini kanallarından renal pelvise dökülür.

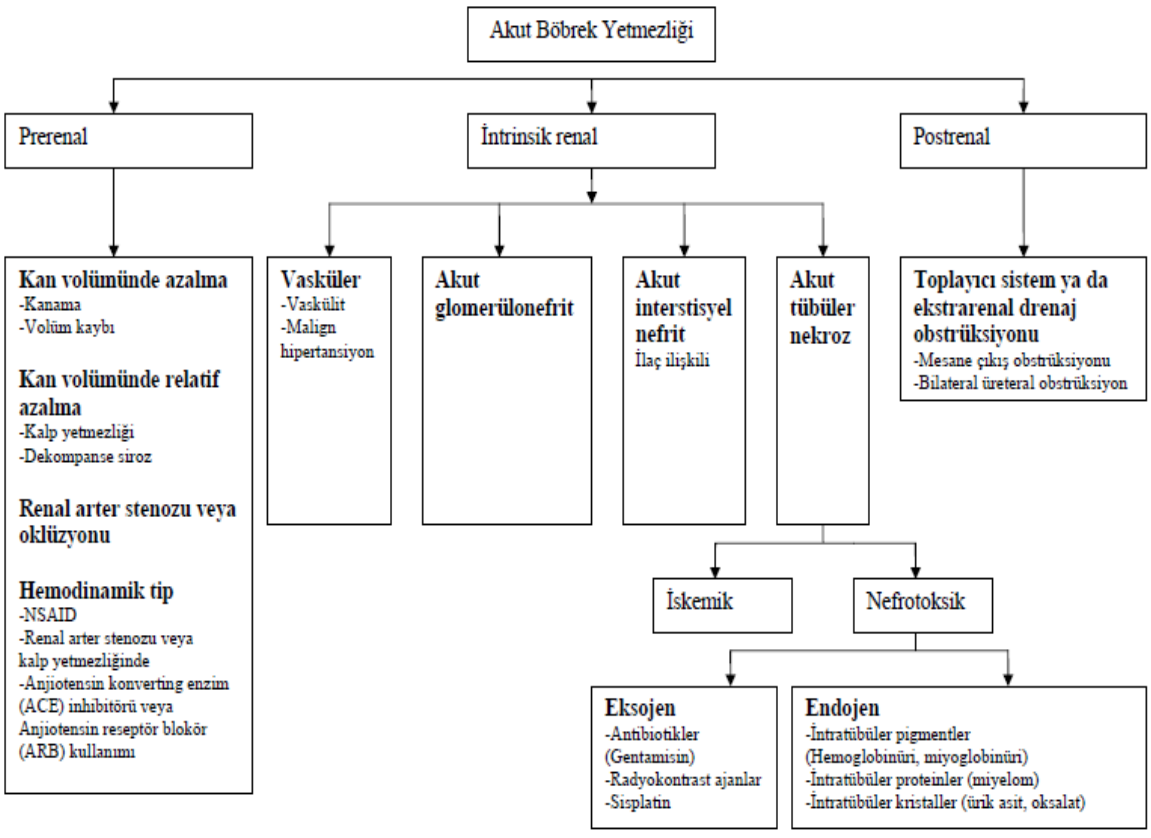
Böbreğin filtrasyon, aktif emilim, pasif emilim ve salgılama işlevleri vardır. Filtrasyon, kan plazması ultrafiltratının oluştuğu glomerülden gerçekleşir. Nefronun tübül kısımları özellikle de proksimal kıvrımlı tübüller bu filtrat içindeki vücut metabolizmasına yararlı olan maddeleri emerek iç ortamdaki hemostazın devamlılığını sağlar. Tübüller aynı zamanda idrarla atılan belli zararlı maddeleri, kandan tübül lümenine aktarır. Toplayıcı kanallar belli koşullarda suyu geçirgen hale gelerek kan plazmasından daha hipertonik olan

idrarın konsantrasyonunu arttırır. Bu yolla organizma suyunu intersellüler sıvısını ve osmotik dengesini kontrol eder (29).

AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

Akut böbrek yetmezliği, saatler veya günler içerisinde ani olarak böbrek fonksiyonlarının bozulması sonucu olarak nitrojenöz maddelerin vücutta birikmesi ve plazma üre, kreatinin değerlerinin yükselmesi ile oluşan bir klinik durumdur. Metabolik tabloda bozukluklar (metabolik asidoz, sıvı ve elektrolit denge bozukluğu) böbrek yetmeliğinin şiddetine ve süresine bağlı olarak tabloya eklenir. (31-36).

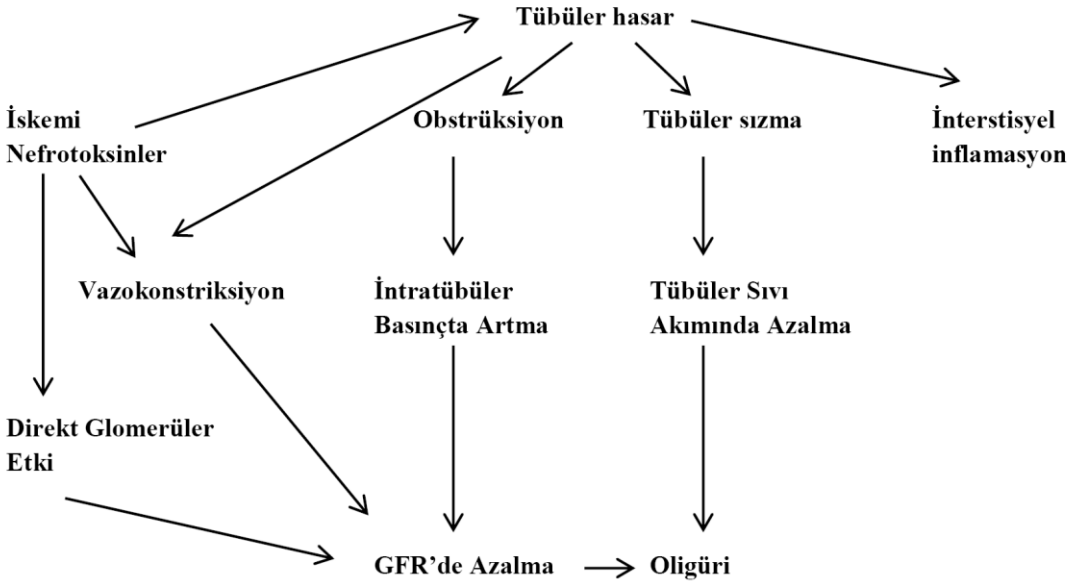
Akut böbrek yetmezliğinin etyolojisi patogenezine göre Şekil 1'de gösterildiği gibi 3 kategoride incelenebilir (32).



Şekil 1. Akut böbrek yetmezliğinin etyolojisi (32)

İntrinsik ABY, toplum kökenli ABY'nin %20'sini oluştururken hastane kaynaklı ABY'lerin %70'ini ATN oluşturur. ABY, birçok nedenden ötürü olabilir; böbreğin büyük ve mikrovasküler damarları ile glomerüllerini tutan hastalıklara, tübülointerstisyel hastalıklara, iskemik ve nefrotoksik ATN'ye bağlı oluşabilir (31-33,37).

Akut tübüler nekroz çoğu zaman ABY ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır. Ancak ABY'li olguların %30'unda ATN'de olduğu gibi tübüler nekroza rastlanmaz (31,33). ATN, morfolojik olarak tübüler epitel hücrelerinin yıkımı ve klinikte böbrek fonksiyonunun akut olarak baskılanması ile karakterize klinikopatolojik bir durumdur. ABY ise böbrek fonksiyonlarının azalması ve idrar çıkışının 24 saat içerisinde 40 ml'nin altına düşmesidir. ATN patogenezinde; tübüler zedelenme ve kan akımında dengesizlik vardır. Tübülüs epitelyum hücreleri özellikle anoksiye duyarlı ve toksinlere hassastır. Tübülüslerin toksik zedelenmesine zemin hazırlayan faktörler arasında; aşırı elektriksel yük, iyonlar, organik asitler yer almaktadır. Bu değişiklikler sonucu iskemik epitelyum hücrelerinde çeşitli yapısal bozulmalar olur (1, 38). Tübüler zedelenme ile ilgili akış şeması Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Akut tübüler nekroz fizyopatolojisinde etkili faktörler (1).

RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON

İskemi, bir dokuya gelen kan akışının çeşitli nedenlerle azalması veya kesilmesi durumudur. Kan akımının kesilmesi nedeni ile dokunun hipoksik kalması sonucu hipoksik doku hasarı meydana gelir. Dokuda kan akımının yeniden başlaması ise reperfüzyon olarak isimlendirilir. Reperfüzyona bağlı doku hasarı da iskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması nedeniyle (reperfüzyon), özellikle dokuya gelip yerleşen polimorfonükleer lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikallerinin (SOR) dokudaki yıkımı artırıcı etkileri ile olur (1,5,15,16,39).

İskemi sonrası dokunun yeniden kanlandığı dönemde, başlayan reaksiyonların sitotoksik oksidanların etkisi ile doku hasarı iskemi dönemine göre çok daha fazla olur (1, 2) . İskemik ABY, temelde ani renal kan akımının azalmasına bağlı ortaya çıkar. Renal kan akımının azalması ise prerenal nedenlere bağlı olabildiği gibi intrarenal mikrovasküler vazokonstrüksiyona veya tıkanıklıklara bağlı da olabilir (32,40,41). Yani iskemik ABY'de prerenal azotemiden farklı olarak, hipoperfüzyona bağlı böbrek hasarı mevcuttur (31,32).

Majör kardiyovasküler girişimler, organ transplantasyonu, sepsis, travma ve hipovolemi iskemik böbrek yetmezliğinin önde gelen nedenleridir (33). İskemik dokuya kan gelmesi sonucu oluşan hasar öncelikle böbreğin hipoksiye en duyarlı olan kısmından başlar. Böbreğe gelen kan akımının büyük kısmı korteksten geçer bu nedenle medullanın kanlanmasını sağlayan vasa rectaya çok az kan gider. Bunun sonucu olarak da böbrek medüllası hipoksiye daha duyarlı hale getirir (42).

İskemi sonucu oluşan böbrek hastalığının ilk fazında böbrek kanlanmasının bozulması sonucu akut böbrek yetmezliğine ilerlemesinin altında yatan neden glomerüler filtrasyon hızındaki (GFR) ani düşüştür (40,41,43). Glomerüler filtrasyon hızının azalması temelde üç nedene bağlanabilir; birincisi renal kan akımındaki azalmaya bağlı glomerüler ultrafiltrasyon basıncının azalmasıdır. İkinci nedeni iskemik tübül epitel hücrelerinin bazal membrandan ayrılarak tübül lümeninde oluşturduğu silendir ve bu silendirlerin birikime bağlı olarak tübüllerin tıkanarak glomerüler filtratın atılımını engellemesidir. Üçüncü sebebi ise glomerüler filtratın geriye kaçmasıdır (41,43).

Hipoksiye en duyarlı bölge böbrek medüllası iken renal hasar öncelikle tübülüslerde oluşur. Renal kan akımı tekrar sağlandıktan yaklaşık 10 gün sonra tübülüslerde iyileşme gözlenirken tam iyileşme hemen hemen bir ayı bulur (41).

İskeminin son aşamasında geri dönüşümlü olmayan böbrek yetmezliğinin ortaya çıkmasının nedeni de her iki böbrekte kortikal nekroz gelişmesidir (44).

İskemik ABY klinik olarak 3 fazda seyreder:

Başlangıç Fazı

Saatler ve günler içinde gelişir. Böbreğe gelen kan akımındaki azalma ile birlikte intrarenal vazokonstrüksiyon, azalmış glomerüler permeabilite, hücresel artıkların tübülleri tıkaması ve glomerüler filtratın hasarlı tübül epitelinden geri sızması sonucu GFR azalmaya başlar (30,31).

Gelişim Fazı

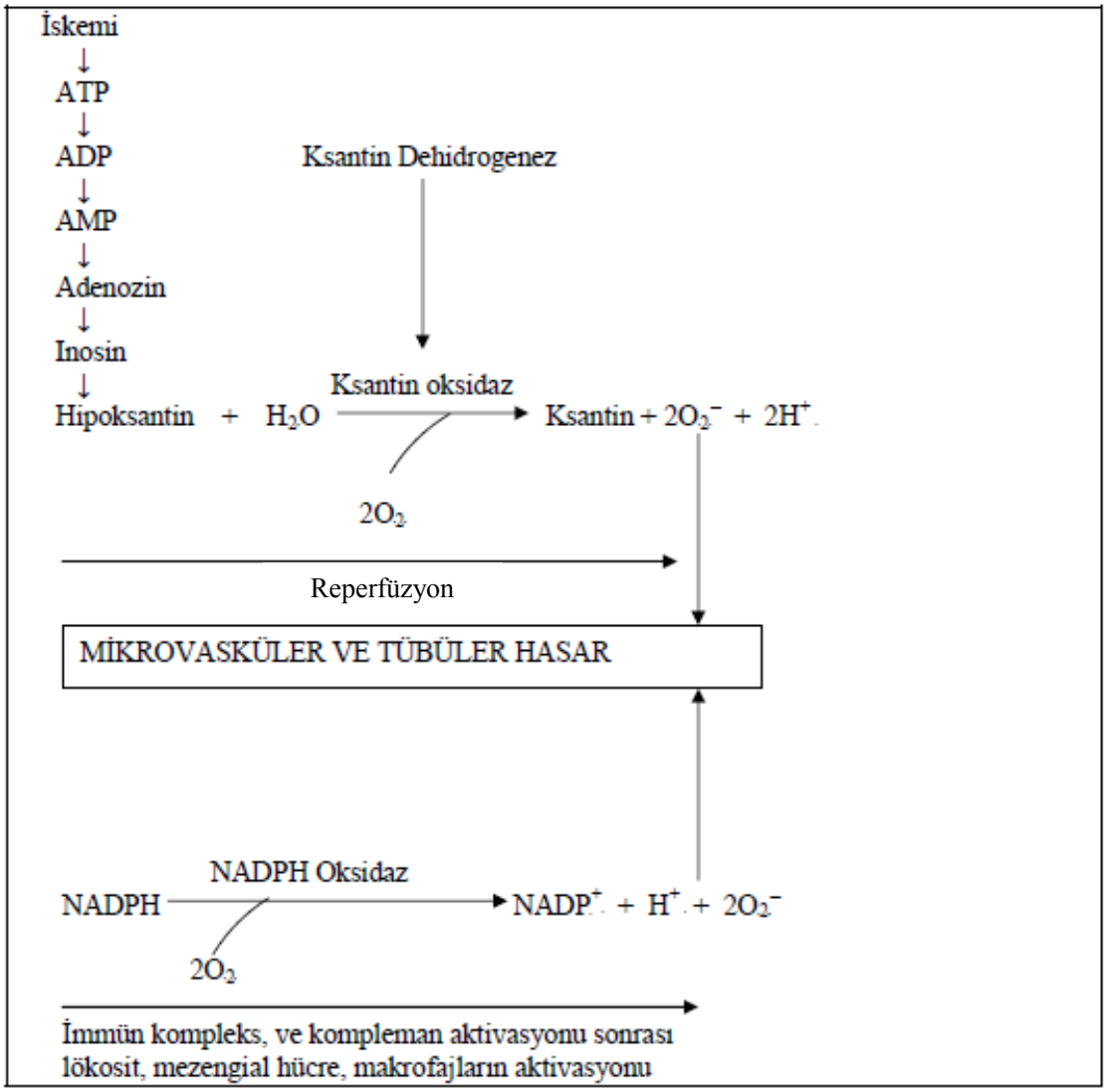
Epitel hücre hasarı gelişim fazında maksimum düzeye erişir. Bu durum 1-2 hafta sürer. GFR 5-10 ml/dk'ya kadar iner, idrar çıkışı azalır ve üremik komplikasyonlar ortaya çıkar (30,31).

İyileşme Fazı

Tübülüs hücrelerinin kendini yenilediği ve GFR'nin gittikçe düzeldiği fazdır. Ancak bu dönemde izlenen poliürü kötü prognoz belirtisidir (30,31).

Hipoksi oksidatif fosforilasyonu etkileyerek hayati önemi olan adenozin trifosfat (ATP) yapımını durdurur. ATP'nin azalması veya tükenmesi öldürücü membran zedelenmesine neden olur. İskemi sonrası oluşan reperfüzyon hücrede bazı hasarlara neden olur. Bu hasarları 4 maddede toplayabiliriz: 1- Ksantin oksidaz nedenli serbest oksijen radikallerin (SOR) oluşumu, 2- ATP kaybından ötürü hasar görmüş endotele nötrofil yapışmasında artma, 3- Enerji kaybı olan organa reperfüzyon sırasında kalsiyum (Ca^{++}) taşınması, 4- Post iskemik dönemde ATP yapımı için adenin nükleotid sağlanmasındaki yetersizlik.

Normal koşullarda hipoksantin, ksantinoksidaz enzimi sayesinde ksantin ve ürik aside okside olur. İskemide ise adenozin trifosfat (ATP), adenozin difosfat (ADP), adenozin monofosfat (AMP), inozin ve hipoksantine yıkılır (Şekil 3). Böylece hipoksantin ve inozin fazla birikir. Bu da hipoksantin oksijenizasyonu için substrat fazlalığına neden olmaktadır. Reperfüzyonda ani ve fazla miktarda oksijen sağlandığından, hipoksantinin ksantine oksidasyonu, süperoksid radikallerinin ortaya çıkmasına neden olur (1,45).



Şekil 3. Adenozin trifosfat metabolizması (45,46).

Oksijenlenmiş kanın iskemik dokuya dönmesi (reperfüzyon) ile oksijen kaynaklı serbest radikallerin renal İ/R hasarında önemli rol oynadığı pek çok çalışmada gösterilmiştir (47).

İskemik hasar; madde transportunun yoğun olarak yapıldığı proksimal tübülüsün terminal medüller kısmında ve Henle kulpunun çıkan kalın kolunda en belirgindir. Ayrıca bu bölgelerde normal durumlarda da böbreğin rölatif olarak daha az kanlanan bölgesinde olmalarının da etkisi vardır (40,41,43).

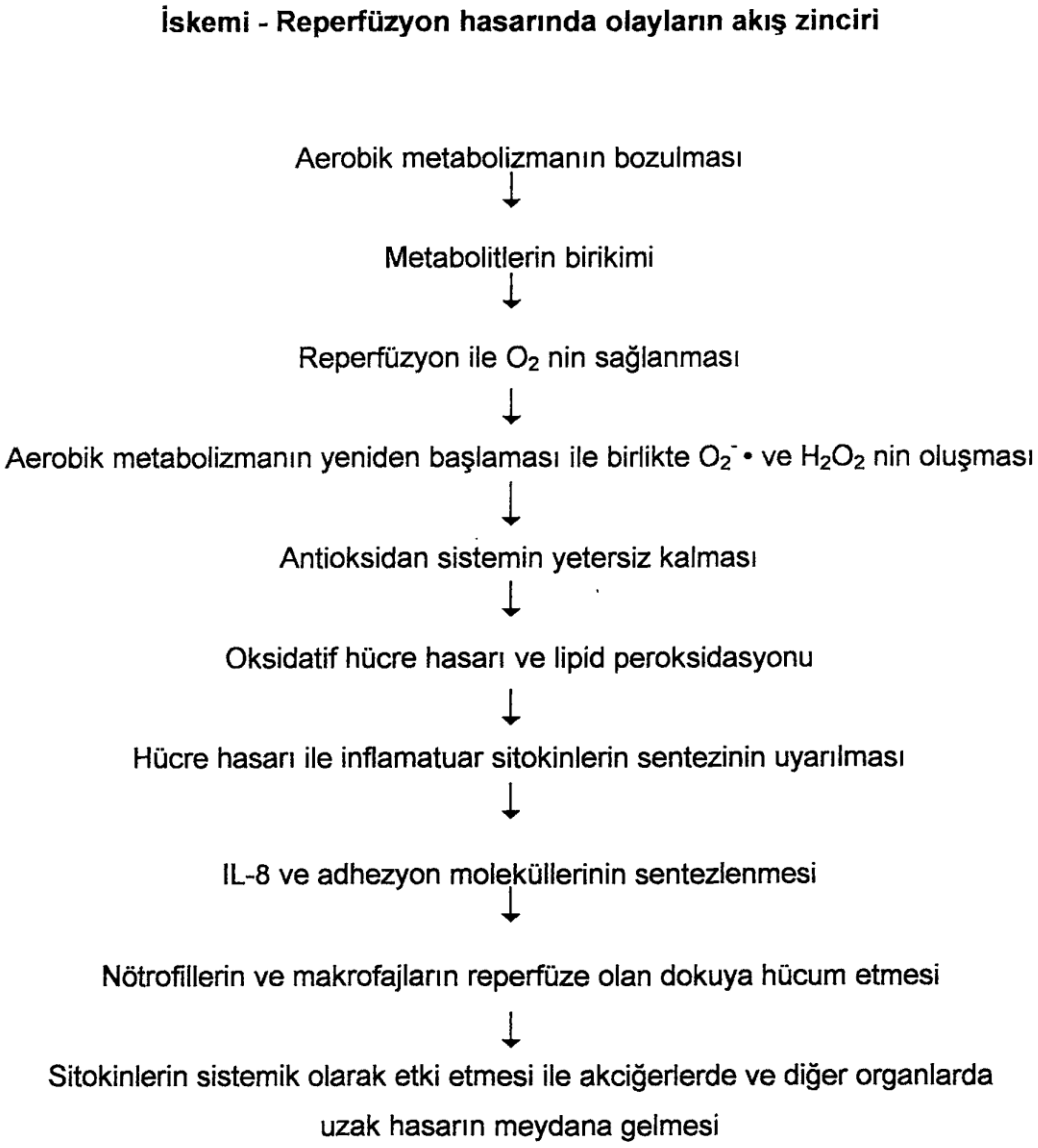
İskemi, hücrede enerji düzeyinin düşmesine ve toksik metabolitlerin dokuda birikmesine yol açarak hücrede işlev bozukluğu ve sonrasında hücre ölümüne kadar gidebilen bir dizi biyokimyasal reaksiyonu başlatır. İskemik ortamda doku ATP düzeyinin azalması

metabolik asidoza neden olur. İskemi süresinin uzun olması ve ardından tekrar kan akımının başlaması ile ATP depoları hızla boşalır. Aynı zamanda tekrar kan akımının başlaması (reperfüzyon) ile hücrelere nötrofillerin istilası ve mediatörlerin toksik etkileri ortaya çıkar. Bu durumda da hücre ölümleri kaçınılmaz olur (5,48,49).

İskemik hasar sonucu enerji depolarının azalması ile birlikte oluşan mikrovasküler tübüler hasar sonrası tübüler disfonksiyon ve sodyum potasyum ATPaz (Na^+-K^+ ATP_{az})'ın bazolateral plazma membranından apikal plazma membranına yer değiştirmesi ile birlikte transsellüler Na^+ transportu azalır. Bu nedenle de distal tübüllere giden Na^+ miktarı artar. İntrasellüler Na^+ miktarının artması ile birlikte intrasellüler Ca^{++} miktarı da artar. Bunun sonucunda glomerüler vazokonstrüksiyon olur ve glomerüler feed back etkisi ile GFR azalır. Medüller hipoksi ayrıca hücresel eneji depolarının azalmasına, endotel ve düz kas hücrelerindeki aktin hücre iskeletinin bozulmasına neden olur. Bunun sonucunda hücresel deformite meydana gelir ve çevre dokularda hipoksi artar (40,42,50,51).

İskemi reperfüzyon sonrası renal endotel ve parankimal hücrelerde proinflamatuar sitokinler, kemokinler salgılanır. Sitokinlerin ve kemokinlerin endotelden salgılanması ile birlikte adhezyon molekülleri ortama salınır. Bu da ortamdaki lökosit artışı ile birlikte mikrovasküler fonksiyon bozukluğuna neden olur. Kapillerlerde oluşan lökosit tıkaçları nedeni ile sıvı filtrasyonu artar ve postkapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına çıkmasıyla birlikte lökosit göçü başlar. Mikrosirkülasyonun tüm segmentlerinde aktive olan endotel hücrelerinden daha fazla reaktif oksijen radikalleri ve daha az nitrik oksit üretilir. Bunun sonucu olarak da arteriollerde endotele bağımlı dilatasyon bozulur. Endotel hücrelerinden süperoksit radikali ve nitrik oksit üretimi arasındaki dengesizlikten ötürü inflamatuar mediatörlerin salınımı artarken adhezyon moleküllerinin biyosentezi de artmıştır (52-54).

Hasarlı endotel hücrelerinden nitrik oksit salgılanması azalırken lökosit adhezyonu ve infiltrasyonu ile vazokonstrüksiyon ve lokal kan akımında azalma olur. Oluşan konjesyon nedeni ile bu durum kısır döngü halinde devam eder. Sonuçta GFR'de azalma ile birlikte geri dönüşümsüz hasar, apoptozise ve nekroza kadar giden bir tabloya yol açar (55). İ/R hasarındaki olayların akış şeması şekil 4'te gösterilmiştir.

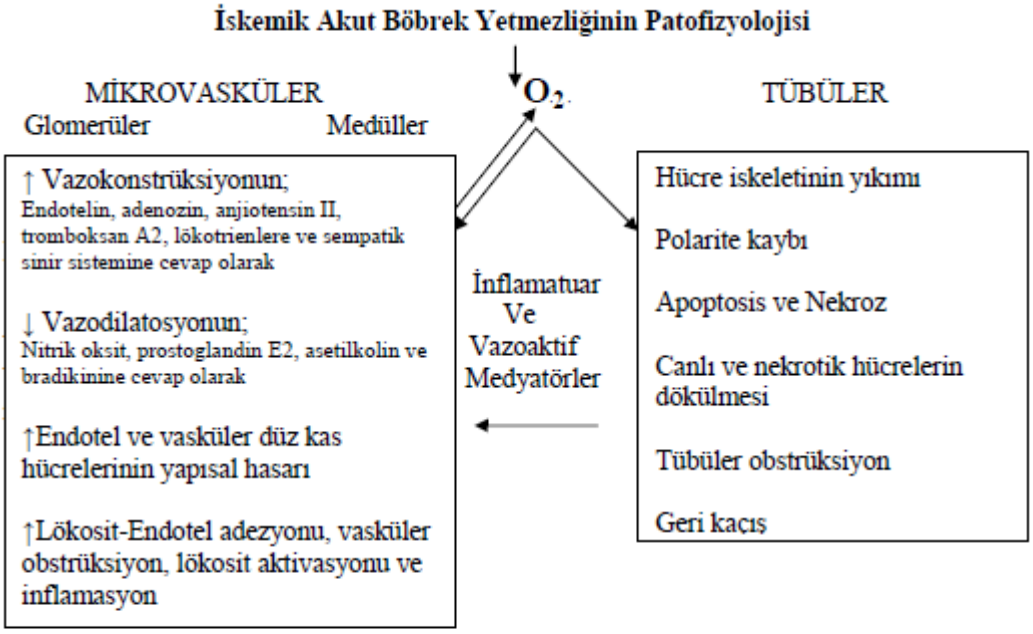


Şekil 4. İskemi reperfüzyon hasarındaki olayların akış şeması (56).

Nitrik oksit (NO), fizyolojik koşullarda endotelden salgılanır, vazodilatasyon yapar ve endotelin ekspresyonu ile aktivasyonu azalır. NO, lökosit sekresyonu ve aktivasyonunu azaltarak lökosite bağlı oluşan hasarı da önler. Bu nedenle NO, antioksidan sistemler içerisinde sayılabilirken, hipoksi ile epitel hücrelerinden İ/R sırasında iskemi bağımlı nitrik oksit sentaz (iNOS) tarafından da sentezlenir. Bu NO, süperoksit anyonu ile birleşerek peroksinitriti oluşturur. Peroksinitrit ile deoksiribonükleik asit (DNA) ve solunum

zincirindeki enzimlerin sentezi inhibe olurken; tübüler hücrelerinin adezyonu azalır ve hücrelerin lümen içine dökülmesi ile intralüminal obstrüksiyonu artar (41,51,55).

Bu durumda iNOS blokajı sağlandığında ise lökosit infiltrasyonu ve İ/R hasarı engellenebilmektedir (51,55).



Şekil 5. İskemik akut böbrek yetmezliğinin patofizyolojisi ile ilgili olayların akış şeması (46,57).

Kan akımında kalıcı düşüş yapan diğer bir mekanizma da endotel hasarıdır. Proksimal tübülde kan akımının azalması ile birlikte endotel hücrelerinde, spektrin ve ankirin gibi aktin bağlayıcı proteinlerin bazolateral membrandan sitoplazmaya yöneldiği ve sonra da bu proteinlerin yıkımının arttığı görülür. Dolayısıyla proksimal tübül hücrelerinin fırçamsı kenarları ve hücreler bazal membrandan koparak tübül lümenine dökülür ve tübül lümeninde tıkanmaya sebep olur (55). Bombeleşme ve adezyon moleküllerinin salınımında artış ile lökosit-endotel etkileşimi endotel hasarını ve hücre şişmesini iyice arttırır. Bu da eritrosit ve lökosit akümülasyonuna neden olurken kan akımının bozulmasına ve medüllada şantların oluşmasına yol açar. Sonuç olarak bu bölgede hipoksi ve hücresel hasar devam eder (41,43,54,57). İskemik ABY patofizyolojisi ile ilgili olaylar şekil 5'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

Aktin hücre yapısındaki bozulmalar ile kan akımında meydana gelen değişiklikler sonucu oluşan hipoksi nedeni ile intrasellüler Ca^{++} yoğunluğu artar (55). Aktin hücre iskeletinin bozulması ile renal kan akımının otoregülasyonu bozulur.

Anjiotensin II, tromboksan A_2, prostoglandin H_2, lökotrienler (C_4, D_4), endothelin-1, adenozin ve sempatik sinir aktivasyonu gelişim fazındaki vazokonstrüksiyondan ve kan akımının bozulmasından sorumludur (41,43,57).

Akut böbrek yetmezliğinin uzama fazında hipoksinin devam etmesi sonucu inflamatuar cevap meydana gelir. Normal koşullar altında oksijen basıncı korteksten medullaya inildikçe azalmaktadır. İskemi sonrasında ATN gelişir. İskemi düzelse bile artık ATN gelişmiş olduğu için kan akımı bozuklukları devam etmektedir. İskemik ABY sonrasında artan endotel geçirgenliği nedeni ile gelişen interstisyel ödem kan akımını, medulladaki damarlara bası uygulayarak daha da bozabilmektedir. Oluşan dolaşım bozukluğu nedeni ile lökositlerin endotel hücreleri ile karşılaşma olasılığı da artar. Eritrosit ve lökositler medullada birikir. Endotel hücrelerinde intersellüler adhezyon molekül-1 (ICAM-1), P ve E selektin salınımının artması üzerine lökositlerin endotel hücrelerine adhezyonu artar (55-59).

Tekrar kan akımı başladıktan sonra dolaşıma katılan kimyasal mediatörler, mikroembolilerin oluşmasında da etkilidir. İskemi ile başlayan tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF-α) artışı ve polimorf nükleer lökosit (PMNL) aktivasyonu ile karakterize inflamatuar yanıtın da reperfüzyon hasarında etkili olduğu gösterilmiştir (53).

Akut iskemik veya toksik hasara bağlı olarak renal dokuda inflamasyonu başlatan en önemli basamağın, tübüler hasar sonucu tübül hücrelerinden inflamasyonu tetikleyen başta TNF-α olmak üzere pek çok sitokinlerin ve interlökin-8 (IL-8) gibi kemokinlerin salgılanmasına bağlı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tübül hücrelerinin, iskemi reperfüzyon hasarı sırasında intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) gibi adezyon moleküllerini ortaya çıkardıkları da gösterilmiştir (60).

İskemi sırasında kan akımının kesilmesi ve taşınan oksijen miktarındaki azalma, hücrede anaerobik metabolizmayı devreye sokar. Laktik asit ve toksik metabolitlerin birikimi de hücre hasarına katkıda bulunur. Hücredeki bu bozuklukların tümü oksijen verilinceye kadar geri dönüşümlüdür, ancak iskemi sürerse geri dönüşümsüz zedelenme başlar (1,61).

İskemi sonrası böbrek fonksiyonlarının bozulmasının temel nedeni tübüler hasardır. Ancak kan akımı tekrar sağlandıktan sonra üretilen ve dolaşıma salınan serbest oksijen radikalleri nedeni ile hasar daha da artmaktadır (45,62).

Özellikle proksimal tübül hücrelerinin yoğun metabolik aktiviteleri nedeniyle, ATN sırasında mitokondriyal hasar ve intrasitoplazmik kalsiyum artışı ve buna bağlı oksidatif

moleküllerin proksimal tübüllerde fazla miktarda birikmesine neden olur. Bu da oluşan oksidatif stres nedeni ile tübüler hasarın artması ile sonuçlanır.

Hücre hasarı sırasında oluşan süperoksitten yoğun miktarlarda hidrojen peroksit meydana gelir. Hidrojen peroksit normalde su molekülüne çevrilebildiği halde hasarlı hücrelerde hidroksil radikallerine de dönüşebilir. Oluşan hidroksi radikalleri gibi reaktif oksijen radikalleri lipid peroksidasyonuna sebep olur. Bu durumda litik enzimler aktive olarak, hücre proteinlerini okside eder. Plazma ve mitokondri membranı bozulur. Böylece DNA hasarı sonucu hücre zedelenmesine sebep olur. Oksidan radikalleri ayrıca hücreden potasyum kaybını artırır, trombosit agregasyonunu ve dokularda fagosit toplanmasını kolaylaştırırken hücre dışındaki kollajen doku komponentlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkar (15,17,55).

OKSİDANLAR

Serbest oksijen radikalleri hakkındaki bilgiler 1970'lerden sonra ortaya çıktı. Ancak 1969'da Mc Cord ve ark. (63) yaptığı bir çalışmada eritroküpreinin süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesi fark edildi ve tüm memelilerde SOD'nin varlığı bildirildi. Bunun ardından 1973'de Barbior ve ark. (64) yaptığı araştırma sonrasında nötrofillerin bakterisidal aktivitelerinde inflamasyon ile oksijen radikalleri bağlamaları sonucu ortaya çıkan süperoksidin rol oynadığını göstermiştir. 1981'de de Granger ve ark. (65) tarafından intestinal iskemi sonrasında reperfüzyonun oksijen radikalleri oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir.

Serbest radikal, yörüngelerinin en dış orbitasında bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan atom veya moleküle denir. Son orbitadaki bu eşleşmemiş elektrondan dolayı, bu atom veya molekül reaktif olup diğer moleküller ile kolayca reaksiyona girme eğilimindedir (15,62,66,67).

Fizyolojik koşullarda oksijen, dış orbitada iki tane eşleşmemiş elektronu ile önemli bir serbest radikaldir. Ayrıca oksijen ile reaksiyona giren moleküllerin oluşturduğu serbest radikaller de biyolojik sistemde önemli bir yere sahiptir (68).

Serbest radikallerin endojen ve eksojen kaynakları vardır. Serbest radikaller hücresel metabolizma sırasında sürekli olarak üretilmektedir. Endojen kaynaklar mitokondrial elektron transport zinciri, oksidan enzimler (ksantin oksidaz, siklooksijenaz), fagositler, nötrofiller, Fe^{+2} ve epinefrinin hücresel otooksidasyonu olup, okside ilaçlar (CClB4B, asitaminofen), sigara, radyasyon, glutatyonu oksidize eden maddeler ise eksojen kaynaklardır (62).

Normal koşullarda mitokondrial elektron transport sisteminde oksijene dört elektron eklenerek suya indirgenir.

$O_2 + 4\,e^- + 4H \longrightarrow 2\,H_2O_2$

İskemi reperfüzyon hasarı durumunda ise sadece bir elektron (e^-) transferi ile indirgenme sonucu oldukça reaktif serbest oksijen radikalleri (SOR) meydana gelir. Bunların başında süperoksid anyonu (O_2^-), hidrojen peroksid (H_2O_2), hipokloröz asit (HOCl), hidroksil (OH^-) radikalleri bulunur. Kaminski ve ark. (69)'nın yaptığı çalışmada da gösterildiği gibi serbest oksijen radikalleri en fazla reperfüzyonun ilk birkaç dakikasında üretilir. Bu nedenle de en çok hasar bu dönemde görülür.

Süperoksid anyonu (O_2^-) tek başına yıkıma neden olacak reaksiyonları başlatabileceği gibi esas olarak daha reaktif oksijen radikallerinin oluşumuna yol açarak hücre toksisitesinde rol oynar (16).

Süperoksid radikali (O_2^-): Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonrasında oluşan zayıf reaktif bir serbest radikaldir. Nerdeyse tüm aerobik hücrelerin mitokondri iç zarında oluşur.

$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^-$

Süperoksid kendi başına fazla zarar vermez. Önemli olan, hidrojen peroksid kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır.

Süperoksid, hidrojen peroksid ile reaksiyona girerek hidroksil radikali ve singlet oksijen oluşturabilir.

$O_2^- + H_2O_2 \longrightarrow {}^1O_2 + OH^- + OH$

Süperoksid, hidroksi radikali ile tepkimeye girerek singlet oksijen oluşumuna neden olur.

$O_2^- + OH^- \longrightarrow {}^1O_2 + OH^-$

Süperoksidin, fizyolojik serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu reaktif oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir.

$O_2^- + NO^- \longrightarrow ONOO^-$

Peroksinitrit oluşumu sayesinde NO^-'nun normal etkisi inhibe olur. Ayrıca, peroksinitrit çeşitli toksik ürünlere dönüşerek de proteinlere zarar verir.

Süperoksid, düşük pH değerinde daha reaktif olup oksidan perhidroksil radikali (HO_2^-) oluşturmak üzere protonlanır.

Süperoksid anyonu, hem oksidleyici hem de redükleyici özelliğe sahiptir. Redüktan olarak görev yaptığında bir elektron kaybeder ve oksijene okside olur. Oksidan olarak görev yaptığında bir elektron alır ve hidrojen perokside indirgenir.

Süperoksid ile perhidroksil radikali reaksiyona girdiğinde biri okside olurken diğeri redükte olur. Sonuçta oksijen ve hidrojen peroksid oluşur (70).

$$HO2^{-} + O_2^{-} + H \longrightarrow O_2 + H_2O_2$$

$$O_2^{-} + 2H^{+} \quad SOD \longrightarrow O_2 + H_2O_2$$

Hidrojen peroksid (H_2O_2): Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması ile indirgenerek veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. İkinci yol biyolojik sistemlerde sıklıkla görülür. Peroksit molekülü de 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi meydana getirir. Hidrojen peroksit, membrandan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Hidrojen peroksit serbest bir radikal olmamakla birlikte kimyasal olarak reaktif olması nedeni ile reaktif oksijen türü olarak kabul edilmektedir (62, 66).

$$O2^{-} + e^{-} + 2H^{+} \longrightarrow H_2O_2$$

$$O2^{-} + 2H^{+} \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

Bu tepkimede (dismutaz tepkimesi) süperoksit radikalleri temizlenmiş olur. Bu reaksiyon spontan veya SOD aracılığı ile olabilir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal değildir. Nötrofil fagozomlarında bulunan myeloperoksidaz enzimiyle çok reaktif serbest oksijen radikali olan hipokloröz asit (HOCl) oluşumuna sebep olur.

$$H^{+} + Cl^{-} + H_2O_2 \longrightarrow HOCl + H_2O$$

Hidrojen peroksit geçiş metallerinin varlığında en önemli serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalinin (OH^{-}) oluşumunu sağlar. H_2O_2'nin diğer önemli görevi de hücre içi sinyal molekülü olarak rol almasıdır. H_2O_2'nin uzaklaştırılmasında da katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksin enzimleri görev alır (66).

Hidroksil radikali (OH^{-}): Biyolojik sistemlere diğer SOR'den daha fazla zarar veren ve biyomoleküller ile reaksiyona girebilen güçlü bir radikaldir. Ancak oluşması için ortamda geçiş metalleri ve hidrojen peroksit gereklidir.

Demir (Fe^{+2}) katalizli Haber Weiss reaksiyonu (fenton reaksiyonu) veya katalize olmayan Haber Weiss reaksiyonu (süperoksidin direk olarak hidrojen peroksitle reaksiyona girmesi) ile oluşur.

$$Fe^{+2} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{+3} + OH' + OH^{-}$$

$$O_2^{-} + H_2O_2 \longrightarrow OH' + OH^{-} + O2$$

Hidroksil radikali canlı hücrede bulunan tüm moleküller ile reaksiyona girebilir. Lipit peroksidasyonunu başlatabilir, DNA'da kırılmaya neden olabilir (63).

Singlet oksijen ($^1O_2$): Serbest oksijen reaksiyonları sonucu olabildiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olabilen radikal olmayan moleküldür. Enerji absorbsiyonu nedeni ile oksijenin paylaşılamamış dış elektronlarını değiştirerek aynı veya farklı orbitale yerleşebilirler. DNA, RNA, protein, lipitler ve sterollerle ile reaksiyona girerek hücreye zarar verirler.

Serbest radikaller oksijen kaynaklı olabildiği gibi karbon kaynaklı da olabilirler. Bu radikaller lipid, nükleik asit, karbonhidrat veya protein gibi moleküllerin yapısında bulunan karboksil (-COOH) gruplarını, oksijen kaynaklı radikallerin harekete geçirmesi ile oluşurlar. Bu reaksiyon sonucunda peroksil radikali (ROO•) oluşur. Peroksil radikalleri daha sonra alkoksil radikali oluşturan reaksiyona katılırlar (62,66,68).

Serbest radikal türleri ile ilgili ayrıntılı bilgi ayrıca Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Serbest radikal türleri (71)

Radikal	**Simge**	**Tanımlama**
Hidrojen	H^+	Bilinen en basit radikal
Süperoksit	O_2^-	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil	OH^-	En toksik (reaktif)oksijen metabolit radikali
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Reaktivitesi en düşük,moleküler hasar düzeyi düşük
Oksijen	O_2	Yarılanma ömrü hızlı,güçlü oksidatif oksijen formu
Perhidroksil radikali	HO_2^-	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır.
Peroksil radikali	ROD	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili,lipidlere lokalize olur
Triklormetil radikali	CCl_3^-	CCl metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal
Thyl radikali	RS	
Aldoksil	RO	
Nitrik oksit	NO	
Azot dioksit	NO_2	

Serbest radikaler, hücrede DNA, nükleotit, lipid, enzim aktiviteleri, protein yapısında tahribat yaparken, hücrede steroid ve yaş pigmentlerin birikmesine neden olurlar. Aynı zamanda mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozar ve hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu arttırırlar (16,62,66,68,71).

ANTİOKSİDANLAR

Normal şartlarda da vücutta üretilen serbest radikallerinin birçok zararlı etkisi vardır. Organizmayı korumak üzere birçok savunma mekanizması geliştirilmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri olarak bilinirler (16,46,71).

Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipit peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlarla ilgili birçok sınıflama yapılmış. Antioksidanlar temel olarak endojen ve eksojen olmak üzere iki başlık altında değerlendirilebileceği gibi enzim olan ve olmayan şeklinde de sınıflandırılabilir (16,67,72-74).

Endojen antioksidanlar

Vücudumuzdaki antioksidan savunma sisteminde yer alan başlıca elemanlar; enzimler, metal iyonlarını bağlayan proteinler ve suda ve yağda çözünen radikal tutucularıdır (75). Endojen etkili antioksidanlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Organizmada bulunan temel antioksidan savunma sistemleri (75)

Enzimler	Enzim Olmayanlar		
	Radikal tutucular		Metal iyonları bağlayan proteinler
	Yağda çözünenler	Suda çözünenler	
*Süperoksit dismutaz	*E vitamini	*C vitamini	*Ferritin
*Katalaz	*Beta karoten	*Glutatyon	*Transferin
*Glutatyon peroksidaz	*Bilirubin	*Ürik asit	*Laktoferrin
*Glutatyon redüktaz	*Ubikinon	*Sistein	*Albumin
*Glutatyon S transferaz	*Flavonoidler	*Mannitol	*Seruloplazmin
*Glutatyon 6 fosfat dehidrogenaz	*Melatonin		*Miyoglobin
	*Lipoik asit		

Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar; vitaminler, ilaçlar ve gıdalarda doğal ve sentetik olarak bulunan antioksidanlar olarak sınıflandırılabilirler (14-16,67,75).

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar şunlardır; ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, diphenyline iodonium), rekombinant süperoksit dismutaz, trolox-C (vitamin E analoğu), endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein),

nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbitüratlar, demir şelatörleri.

Gıdalardaki eksojen antioksidanlar şunlardır (20,22,23,76-81);

1. Gıdalarda doğal olarak bulunan antioksidanların çeşitli hastalıklara karşı koruyucu etkileri üzerine yapılan birçok çalışma vardır. Bunlardan bazıları da şunlardır: askorbik asit, α-tokoferol, β- karotenoidler, glutatyon, fitosteroller, flavonoidler, kumarinler, fenolik asitler, selenyum ve izotiyosiyanatlar.

2. Gıdalara ilave edilen sentetik antioksidanlar ise gıdaların raf ömrünü uzatmak amacı ile kullanılanılırlar ve lipid oksidasyonunu engelleyerek etki ederler. Bunlardan bazılar şunlardır: Butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA), sodium benzoate, ethoxyquin, propylgalate, Fe-superoxyde dismutase.

SESAMİN

Yapılan çalışmalarda birçok bitki ve ilaçların İ/R hasarında koruyucu antioksidan etkilerinin olduğu görülmüştür. Bu bitkilerden biri de susam (*Sesamum Indicum)*'dır. Susam lignanları *(sesamin, sesamolin ve sesamol)* rafine susam yağında bulunan komponentlerdir. Bir flavonoid olan susamın önemli karakteristik özelliği oksidatif bozulmaya karşı direnç göstermesidir. Bu özelliğini susam yağında bulunan *sesamin ve sesamolin* gibi lignanlar sayesinde gerçekleştirmektedir (82).

Sesamin yapısal olarak fenolik grubu içermediği için invitro antioksidan özellik göstermemektedir (86,87).

Sesaminin antioksidan özellik gösterebilmesi için, fenolik grup içeren bileşiklerle metabolize olması gerekmektedir. Doğada var olan birçok bitkinin yapısında fenolik bileşikler yer almaktadır Fenolik asitler fındık gibi sert kabuklu meyvelerin kabuk ve meyve içlerinde büyük oranlarda bulunmaktadır. Deney hayvanlarının standart yemlerinde de fındık kabukları kullanılmaktadır (83-85).

Sesaminin antioksidan özelliği üzerine yaptığımız bu çalışmamızda, invitro antioksidan özelliği bulunmayan sesaminin organizmada antioksidan özellik gösterebilmesi için gerekli fenolik bileşiklerin ratların standart yemlerinde bulunan fındık kabuklarından sağlanıldığını düşünmekteyiz.

Sesaminin antioksidan özelliklerinin yanı sıra antiproliferatif ve antiaromataz antihipertansif etki, lipit metabolizmasında barsaktan kolesterol emilimini inhibisyonu, kolesterol biyosentezinin enzim inhibisyonu yolu ile azaltılması gibi birçok fizyolojik

fonksiyonları da vardır (24-26,88,89). Bu özelliklerinin yanı sıra *sesaminin* nöroprotektif bir ajan olarak da kullanılabileceği düşünülmüş olup bu konuda Ahmad ve ark. (90)'nın yaptığı bir çalışmada serebral iskemi üzerinde sesaminin nöroprotektif etkisi gösterilmiştir. Ayrıca Moshahid ve ark. (24) yaptıkları deneysel serebral iskemi reperfüzyon modelinde de sesaminin lipid peroksidaz ürünlerinin birikmesini önlemek ve antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırmak sureti ile oksidanların neden olduğu apoptozisi cevabını azalttıkları gösterilmiştir.

Utsonomiya ve ark. (91)'nın yaptığı çalışmada ratlarda *sesamin* ile beslenmesinin ardından karaciğerde iskemi reperfüzyon hasarı değerlendirilmiştir. Sonuçta *sesamin* alan grubun sesaminin antioksidan ve anti-inflamatuar etkileri ile iskemi reperfüzyon hasarından daha az etkilendikleri ortaya konmuştur. Yapılan literatür taramasında böbrek iskemi reperfüzyon sonrasında sesaminin koruyucu etkisinin olup olmadığını gösteren bir çalışma tespit edilmemiştir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi 23/11/2011 tarih ve 2011/79 sayılı Etik Kurulu onayı alındıktan sonra rastgele seçimle belirlenen sekizerli 4 gruptan oluşan, ağırlıkları 165-198 gr arasında değişen toplam 32 adet Sprague-Dawley tipi rat çalışmaya alındı. Deney hayvanları laboratuarından temin edilen hayvanlar; deney boyunca uygun ısı, ışık ve karanlık koşullardaki kafeslerde barındılar. Kafeslerinde sürekli rahatça ulaşabildikleri gıda ve su bulunduruldu. Sağlık Araştırmaları Ulusal Topluluğu'nun "Laboratuar Hayvanları Bakım Prensipleri" ve Laboratuar Hayvan Kaynakları Enstitüsü ile Ulusal Sağlık Enstitüsünün yayınladığı, "Laboratuar Hayvanlarının Bakım Ve Kullanım Kılavuzu" (92) doğrultusunda deney hayvanları çalışması yapıldı. Çalışma, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi, Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Merkez Laboratuarı, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı ve Gülhane Askeri Tıp Akademisi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

ÇALIŞMA GRUPLARI

Kontrol grup (n= 8); 14 gün süreyle standart yem ve su verilen, 14. günün sonunda sağ nefrektomi yapıldıktan sonra sol renal pedikülü ortaya konan ancak İ/R yapılmayan grup.

Deney grup (İ/R) (n= 8); 14 gün süreyle standart yem ve su verilen, 14. günün sonunda sağ nefrektomi yapıldıktan sonra 60 dakika süre ile sol renal pedikülü bağlanan ve 24 saat reperfüze edilen grup.

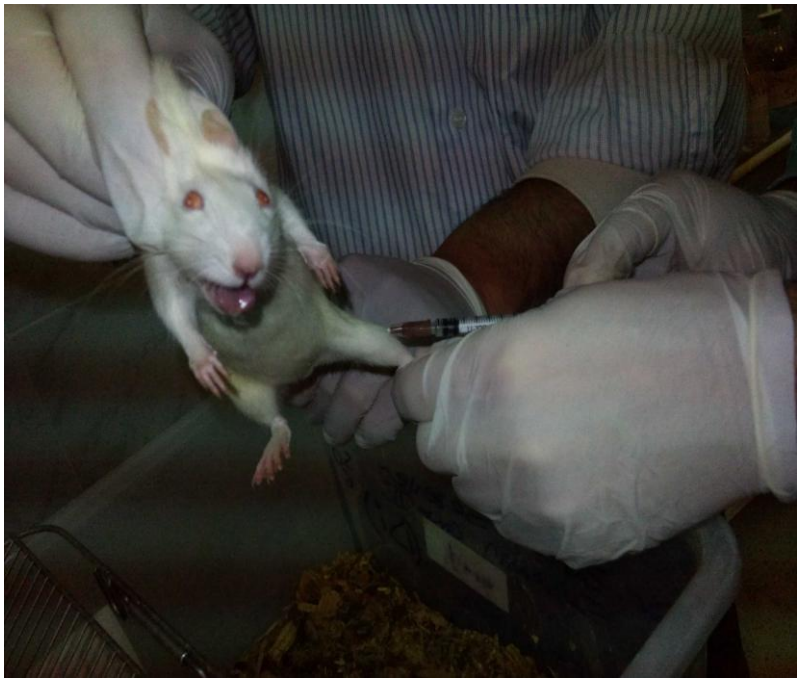
İlaç grup (Sesamin) (n= 8); 14 gün süreyle standart yem ve suya ilaveten orogastrik yolla sesamin verilen, 14. günün sonunda sağ nefrektomi yapıldıktan sonra sol renal pedikülü ortaya konan ancak, İ/R yapılmayan grup.

Deney + İlaç grup (İ/R+Sesamin) (n= 8); 14 gün süreyle standart yem ve suya ilaveten orogastrik yolla sesamin verilen, 14. günün sonunda laparotomi sonrası sağ nefrektomi yapıldıktan sonra 60 dakika süre ile sol renal pedikülü bağlanan ve 24 saat reperfüze edilen grup.

DENEKLERİN HAZIRLANMASI

İlaç grubu ve deney + ilaç grubu hayvanlara standart yem ile birlikte 30 g/kg doz sesamin (%100 toz halinde sesamin ekstresi; Bulk Nutrition, Avusturalya) verildi. Toz halindeki sesamin musluk suyunda eritildikten sonra 14 gün süre ile oragastik yol ile verildi. 14 gün sonra deneklerin orta hat insizyonu ile batınına girilerek renal iskemi reperfüzyon hasarı oluşturuldu**.**

Deneklerin, 30 mg/kg dozda ketamine hydrochloride (Ketalar flk; Pfizer İlaçları Ltd.Sti, Istanbul, Türkiye) ve 3 mg/kg xylazine hydrochloride (Rompun; Bayer, Türk Kimya San. Ltd. Sti. Istanbul, Türkiye) intramuskuler enjeksiyonu ile anestezisi sağlandı (Şekil 6). Ratlar ısıtıcı lamba altında supin pozisyonunda masaya yatırıldı (Şekil 7). Batın tıraşlanıp %10 povidone iodine (Merkez San. Ltd. Sti. Istanbul, Türkiye) solüsyonu ile uygun sterilizasyon sağlandı.



Şekil 6. İntramuskuler ketamine hydrochloride ve xylazine hydrochloride enjeksiyonu ile anestezisi sağlanması



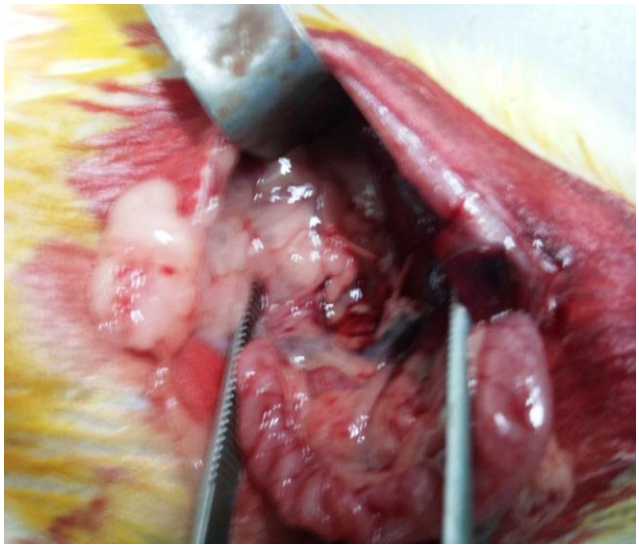
Şekil 7. Ratların cerrahi işlem öncesi supin pozisyonu

RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON TEKNİĞİ

Batın orta hattan açıldıktan sonra karın içine ulaşıldı ve eksplorasyonda sağ ve sol renal pedikül bulundu ve disseke edilerek askıya alındı (Şekil 8). Omentum ve barsaklar aksi yöne alınarak önce sağ nefrektomi yapıldı ve kanama kontrolü yapıldı (Şekil 9). Sol böbrek arteri bulunup etrafından teyple dönüldü, kontrole alındı. Böbrek arteri renal seviyede arteryel bulldog klemp (Vascu-statts, Scanlan, USA) vasıtasıyla klemplendi (Şekil 10). Pulsasyon olmayışı ile arteriel kan akımının kesildiği anlaşıldı. 60 dk'lık iskemi sonrası mikrovasküler klempler açılarak arteriovenöz akımın tekrar başladığı; böbreğin renginin açılması ve pulsasyonun başlaması ile anlaşıldı. İşlemler sonlanıncaya kadar sıvı kaybını önlemek için batın içine serum fizyolojik ile ıslatılmış küçük spanç yerleştirildi. Batın iki adet prolen dikiş (4/0 polypropylene, Prolene®; Ethicon, USA) ile yaklaştırıldı. 24 saatlik reperfüzyon sonunda nefrektomiyle biyokimyasal ve histopatolojik inceleme için doku örneği ile intrakardiyak ponksiyonla biyokimyasal inceleme için 5 cc kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri vakumlu jelli tüplere (BD Vacutainer SST, UK) konuldu ve deney sakrifikasyonla sonlandırıldı.



Şekil 8. Sağ renal pedikülün disseke edilerek askıya alınması



Şekil 9. Sağ renal nefrektomi alanı



Şekil 10. Sol renal arterin klemplenmesi

BİYOKİMYASAL TESTLER

Serum ve doku örneklerinde Toplam Oksidan Seviye (TOS), Toplam Antioksidan Seviye (TAS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) düzeyleri Gülhane Askeri Tıp Akademisi Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışıldı.

Doku ve Serum Total Oksidan Seviyesi Tespiti

Total Oksidan Seviyesi (TOS) ölçümü Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir. Numunede bulunan oksidanlar ferroz iyon-o-dianisidin yapısını ferrik iyona oksitlerler. Asidik ortamda ferrik iyonlar "xylenol orange" ile renkli bir kompleks meydana getirirler. Numunede bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülerek değerlendirme yapılır (93).

Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics® firması tarafından üretilen TOS ticari kitleri kullanılmıştır. 75 µl doku örneğinin bulunduğu kuvartz küvete 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan ilave edilerek 530 nm'de ilk absorbansı okunmuştur. Daha sonra aynı küvete 25 µl Reaktif 2 solüsyonundan eklenerek oda sıcaklığında 10 dk bekletilerek bekleme sonunda 530 nm'de ikinci kez absorbansı okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri ve aşağıdaki formül kullanılarak mmol TOS düzeyleri Trolox Equiv./L cinsinden tespit edilmiştir.

TOS (µmol H2O2 Equiv./L) = (ΔÖrneğin değeri/ΔStandart 2'nin değeri) x (Standart 2 değeri) (93).

Doku ve Serum Total Antioksidan Seviyesi Tespiti

Serum ve doku süpernatant fraksiyonların total antioksidan seviye (TAS) ölçümü Erel tarafından geliştirilen yeni bir otomatik ölçüm yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntem 2-2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sülfonat = $ABTS^{+}$) radikal katyonunun oluşumunu inhibe edecek antioksidan seviyesinin tespitini temal almaktadır (93).

Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics® firması tarafından üretilen TAS ticari kitleri tercih edilmiştir. 30 µl doku örneğinin bulunduğu kuvartz küvete 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan ilave edilerek 660 nm'de ilk absorbansı okunmuştur. Daha sonra aynı küvete 75 µl Reaktif 2 solüsyonundan eklenerek oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiş ve bekleme sonunda 660 nm'de ikinci kez absorbansı okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri ve aşağıdaki formül kullanılarak TAS düzeyleri mmol Trolox Equiv./L cinsinden tespit edilmiştir.

TAS (mmol Trolox Equiv./L) = [(ΔStandart 1'in değeri) - (ΔÖrneğin değeri] /

[(ΔStandart 1'in değeri) – (ΔStandart 2'nin absorbansı)] x 20 (93).

Oksidatif Stres İndeksi Tespiti

Oksidatif stres indeksi olarak tanımlanan TOS ve TAS oranları aşağıdaki gibi hesaplandı (93).

OSİ = (TOS, μmol H_2O_2 equiv./l)/(TAS, μmol Trolox equiv./l)×100

Serum Üre ve Kreatinin Seviyeleri Tespiti

Deneklerden alınan 5 cc kanda, Trakya Üniversitesi Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi, Merkez Laboratuarındaki cihazlarda; üre (Referans aralığı: 17-43 mg/dl) ve kreatinin (Referans aralığı: 0,7-1.2 mg/dl) Beckmann LX20 otomatik analyser (Beckmann, Brea,CA,USA) sistemiyle çalışıldı.

HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

Böbrek doku örneklerindeki histopatolojik incelemeler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Histopatolojik inceleme için alınan her bir böbrek parçası %10 formaldehitle fikse edilerek daha sonra alkol ile dehidrate edildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Işık mikroskobisinde inceleme yapılması için parafin bloklardan ince kesitler elde edildikten sonra bu kesitler hemotoksilen-eozin boyasıyla boyanarak histolojik değişiklikler kantitatif olarak değerlendirildi. Tübüler hücre hasarının derecesi tanımlamak için 1-5 arası sayısal puanlama kullanıldı; (1) hasar yok, (2) tek hücreli, yama tarzında izole hasar, (3) %25'den daha az tübüler hasar, (4) %25-50 arası tubüler hasar, (5) %50 den daha fazla tubüler hasar varlığını gösterdi (23).

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel değerlendirme, 10240642 seri numaralı SPSS 20 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Ölçülebilen verilerin normal dağılıma uygunlukları tek örnek Kolmogorov Smirnov testi ile bakıldıktan sonra normal dağılım gösterenler için gruplar arası kıyaslamalarda varyans analizi (ANOVA) ve post-hoc Dunnett T3 ve Bonferroni testi, normal dağılım göstermeyenler için Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann Whitney U testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler olarak Median (Min-Max) değerleri ve aritmetik ortalama ± standart sapma verildi. Tüm istatistikler için anlamlılık sınırı $p<0.05$ kabul edildi.

BULGULAR

Doku Total Oksidan Seviyeleri

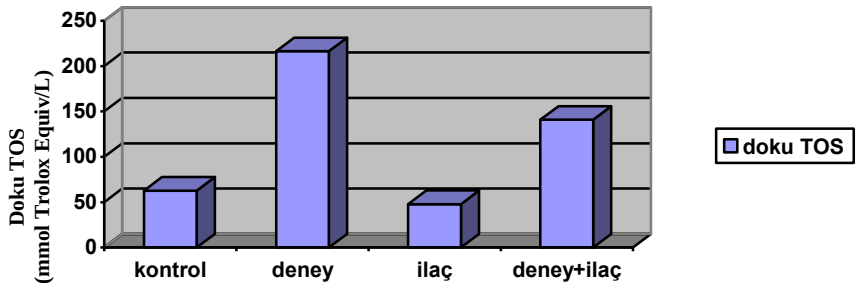
Deney grubunun doku TOS değeri 216,35 ± 32,72 (mmol Trolox Equiv/L) olup, deney + ilaç grubunun doku TOS değeri 140,87 ± 30,92 (mmol Trolox Equiv/L)'dir. Tüm grupların doku TOS değerleri ayrıntılı olarak Şekil 11'de gösterilmiştir.

Deney ve deney + ilaç grupları arasında analiz yapıldığında deney grubunda dokudaki TOS düzeyinin deney + ilaç grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde yüksek olduğu tespit edildi (p= 0,001).

Kontrol ve deney grupları arasında analiz yapıldığında; deney grubunda dokudaki TOS düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde yüksek olduğu tespit edildi (p= 0,001).

Kontrol ile deney + ilaç grubu arasında analiz yapıldığında deney + ilaç grubunda dokudaki TOS düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edildi (p= 0,001).

Kontrol ve ilaç grupları arasında dokudaki TOS düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (p= 0,130).



TOS: Total Oksidan Seviyesi. **Gruplar**

Şekil 11. Tüm grupların doku total oksidan seviyeleri

Serum Total Oksidan Seviyeleri

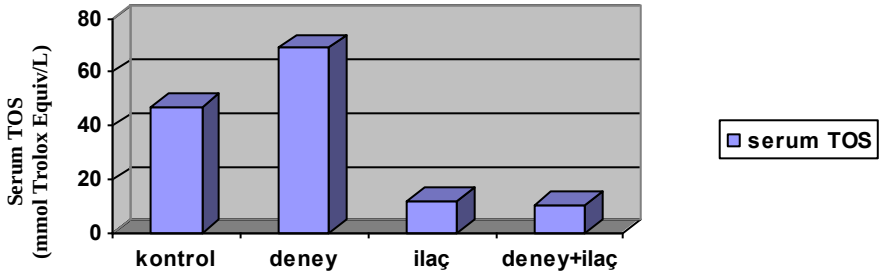
Deney grubunun serum TOS değeri 69,12 ± 20,44 (mmol Trolox Equiv/L) olup, deney + ilaç grubunun serum TOS değeri 10,37 ± 3,77 (mmol Trolox Equiv/L)'dir. Tüm grupların serum TOS değerleri ayrıntılı olarak Şekil 12'de verilmiştir.

Deney ve deney + ilaç grupları arasında analiz yapıldığında deney grubunda serumdaki TOS düzeyinin deney + ilaç grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde yüksek olduğu tespit edildi (p= 0,001).

Kontrol ve deney grupları arasında analiz yapıldığında; deney grubunda serumdaki TOS düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde yüksek olduğu tespit edildi (p= 0,038).

Kontrol ile deney + ilaç grubu arasında analiz yapıldığında kontrol grubunda serumdaki TOS düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edildi (p= 0,001).

Kontrol ve ilaç grupları arasında analiz yapıldığında; kontrol grubunun serum TOS düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde yüksek olduğu tespit edildi (p= 0,001).

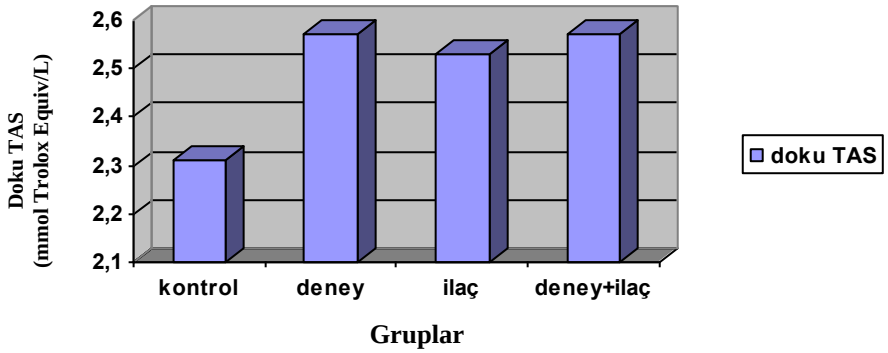


TOS: Total Oksidan Seviyesi.

Şekil 12. Tüm grupların serum total oksidan seviyeleri

Doku Total Antioksidan Seviyeleri

Deney grubunun dokuda TAS değeri 2,57 ± 0,31 olup deney + ilaç grubunun dokuda TAS değeri 2,57 ± 0,31'dir. Tüm grupların doku TAS değerleri ayrıntılı olarak Şekil 13'de verilmiştir.



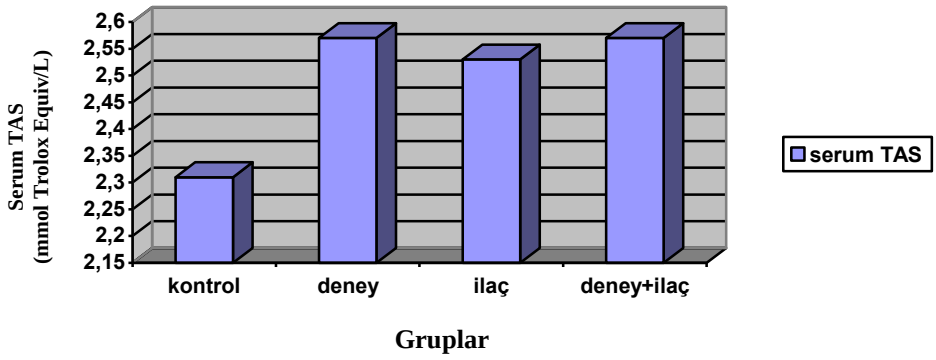
TAS: Total Antioksidan Seviyesi.

Şekil 13. Tüm grupların doku total antioksidan seviyeleri

Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında; istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edildi (p> 0,05).

Serum Total Antioksidan Seviyeleri

Deney grubunun serum TAS değeri olup 2,57 ± 0,31 deney + ilaç grubunun serum TAS değeri. 2,57 ± 0,31'dir. Tüm grupların serum TAS değerleri ayrıntılı olarak Şekil 14'de verilmiştir.



TAS: Total Antioksidan Seviyesi.

Şekil 14. Tüm grupların serum total antioksidan seviyeleri

Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında; istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edildi (p> 0,05).

Tablo 3. Grupların doku ve serumdaki total oksidan ve antioksidan seviyeleri

Değişken (A.Ort. ± SS)	Gruplar (n=8)				P
	Kontrol	Deney	İlaç	Deney+ ilaç	
TOS DOKU	62,76 ± 17,77 *	216,35 ± 32,72 *	47,99 ± 28,02 *	140,87 ± 30,92	0,001 ***
TAS DOKU	2,31 ± 0,25	2,57 ± 0,31	2,53 ± 0,32	2,57 ± 0,31	0,262 **
TOS SERUM	46,87 ± 15.01 *	69,12 ± 20,44 *	12,25 ± 3,01	10,37 ± 3,77	0,001 ***
TAS SERUM	2,31 ± 0,24	2,57 ± 0,31	2,53 ± 0,32	2,57 ± 0,31	0,270 **

TAS: Total Antioksidan Seviyesi; **TOS:** Total Oksidan Seviyesi.

Mann Whitney U Test, *p<0,05; Tek Yönlü ANOVA, ** p > 0.05; Kruskal Wallis Varyans Analizi, ***p<0,05.

Serum Üre ve Kreatinin Seviyeleri

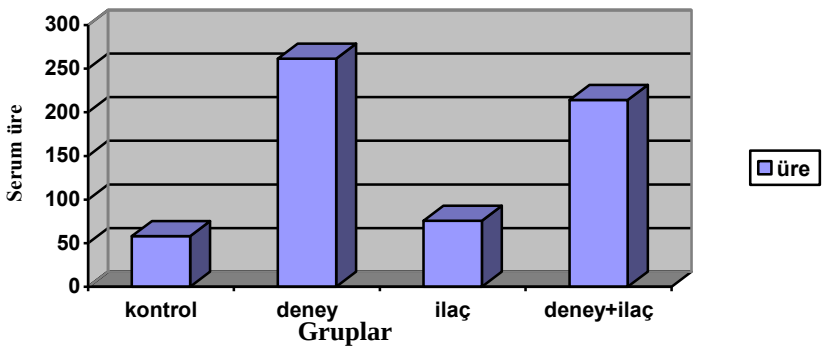
Deney grubunun serum üre değeri 261,35 ± 83,62, serum kreatinin değeri 2,07 ± 0,85'dir. Deney + ilaç grubunda ise serum üre değeri 214,10 ± 77,93, serum kreatinin değeri 1,48 ± 0,61'dir. Diğer tüm grupların serum üre ve kreatinin değerleri ayrıntılı olarak Şekil 15,16' da verilmiştir.

Deney ve deney + ilaç grupları arasında analiz yapıldığında üre ve kreatinin düzeyleri arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi (p> 0,005).

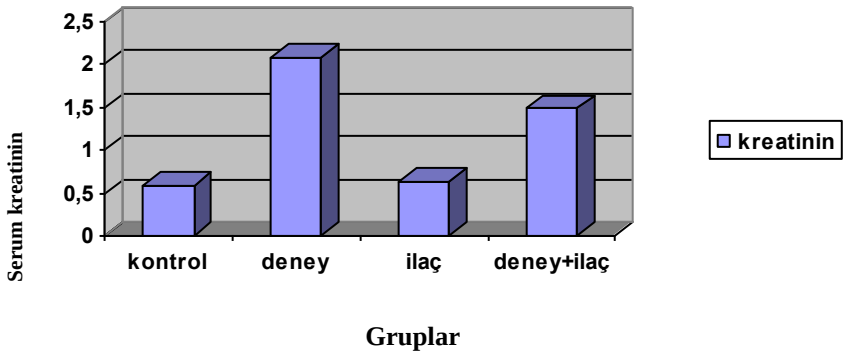
Kontrol ve deney grupları arasında analiz yapıldığında; deney grubunda üre, kreatinin düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde yüksek olduğu tespit edildi (p= 0,001).

Kontrol ile deney + ilaç grubu arasında analiz yapıldığında deney + ilaç grubunda üre, kreatinin düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edildi (p= 0,001).

Kontrol ve ilaç grupları arasında üre, kreatinin düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (p>0,005).



Şekil 15. Tüm grupların serum üre seviyeleri



Şekil 16. Tüm grupların serum kreatinin seviyeleri

Tablo 4. Serum üre ve kreatinin değerlerinin gruplara göre dağılımı

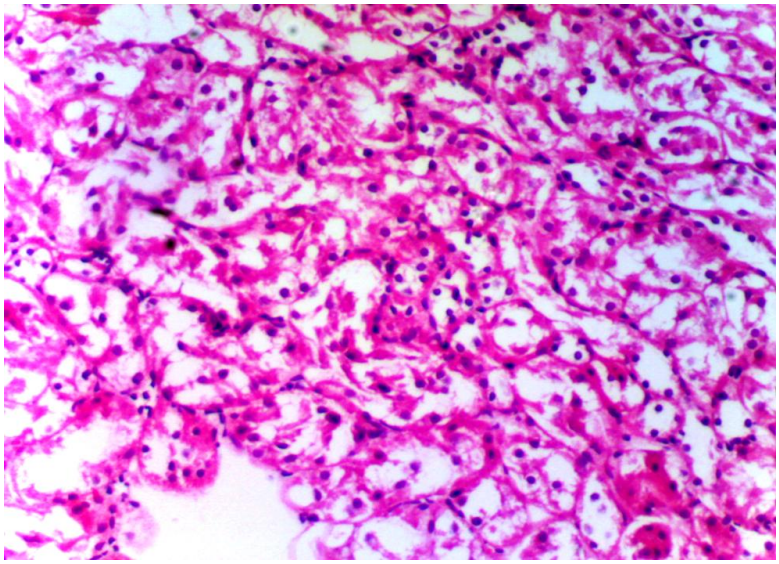
Değişken **A.Ort. ± SS**	**Gruplar (n=8)**				**p**
	Kontrol	**Deney**	**İlaç**	**Deney+ ilaç**	
Üre	58,30 ± 9,80*	261,35 ± 83,62*	75,83 ± 35,74*	214,10 ± 77,93	0,001**
Kreatinin	0,59 ± 0,04*	2,07 ± 0,85*	0,64 ± 0,12*	1,48 ± 0,61	0,001**

SS: Standart Sapma.
Mann Whitney U Test, *p<0,05; Kruskal Wallis Varyans Analizi, **p<0,05.

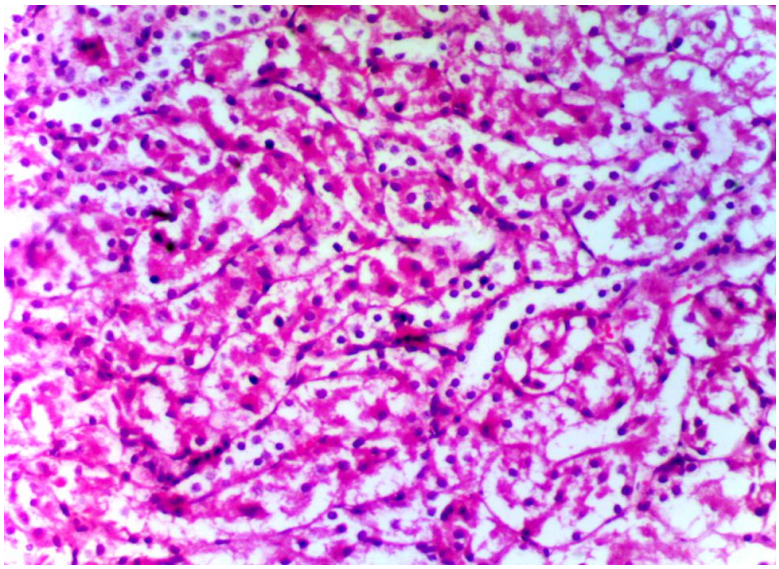
Histopatolojik İnceleme

Tübüler hasar skorlama sistemine göre yapılan histopatolojik değerlendirmede deney grubunun ortanca değeri 4 olup, deney + ilaç grubunun ortanca değeri 5'dir. Skor 4 ve skor 5'e ait histopatalojik görüntü örnekleri Şekil17,18'de verilmiştir.

Deney ve deney + ilaç grupları arasında analiz yapıldığında; tübüler hasar açısından anlamlı fark olmadığı tespit edildi (p> 0,05).

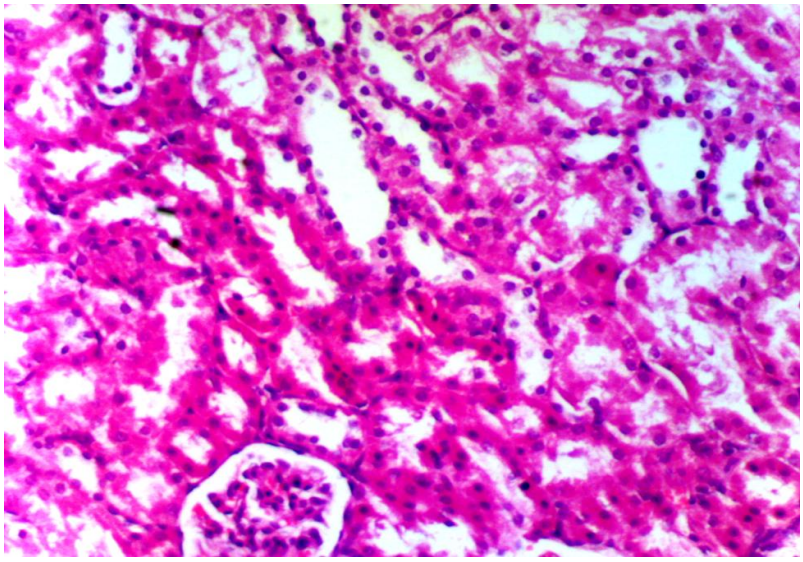


Şekil 17. Skor 4'e (yaygın tübül hasarı; %25-50 oranında) ait histopatalojik görüntü örneği. (H&E X100).

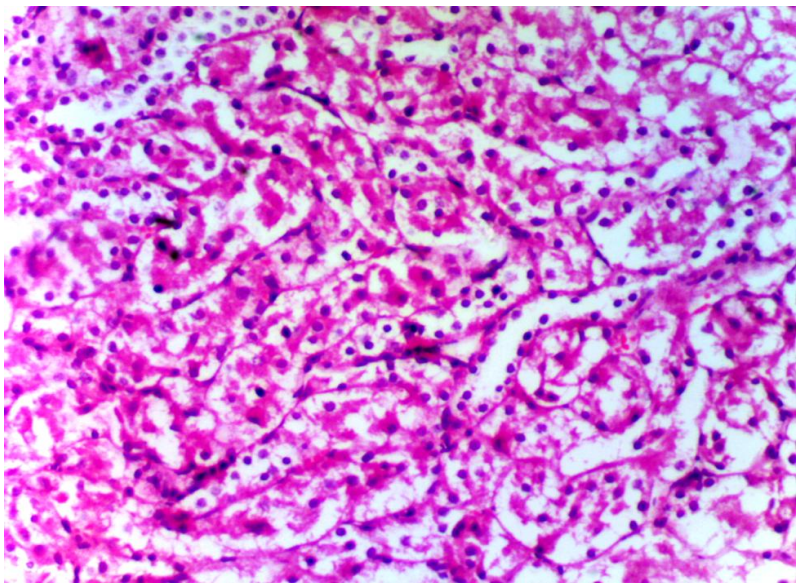


Şekil 18. Skor 5'e (Çok yaygın tübül hasarı; %50'den fazla) ait histopatalojik görüntü örneği. ((H&E X100).

Tübüler hasar skorlama sistemine göre yapılan histopatolojik değerlendirmede kontrol grubunun ortanca değeri 3 olup, deney + ilaç grubunun ortanca değeri 5'dir. Skor 3 ve skor 5'e ait histopatalojik görüntü örnekleri Şekil 19,20'de verilmiştir.



Şekil 19. Skor 3'e (Fokal tübül epitel hasarı içeren böbrek dokusu; %25'ten az) ait histopatalojik görüntü örneği. (H&E X200)



Şekil 20. Skor 5'e (Çok yaygın tübül hasarı; %50'den fazla) ait histopatalojik görüntü örneği.(H&E X100).

Kontrol ile deney + ilaç grubu arasında analiz yapıldığında; deney + ilaç grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak tübüler hasarın daha fazla olduğu tespit edildi (p= 0,007).

Kontrol ve deney grupları arasında analiz yapıldığında; tübüler hasar açısından anlamlı fark olmadığı tespit edildi. (p> 0,05).

Kontrol ve ilaç grupları arasında analiz yapıldığında; tübüler hasar açısından anlamlı fark olmadığı tespit edildi. (p> 0,05).

Tüm grupların tübüler hasar skorlama sistemine göre aldıkları değerler Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Grupların ortanca histopatolojik skor değerleri

Değişken **Ortanca (min-maks)**	**Gruplar (n=8)**				**p**
	Kontrol	Deney	İlaç	Deney+ ilaç	
Sol Tübüler Nekroz skoru	3 (1-4)**	4 (2-5)	4 (3-5)	5 (3-5)	0,042*

Kruskal Wallis varyans analizi, *p<0.05; Mann Whitney U testi, **p<0.05.

TARTIŞMA

İskemiye bağlı gelişen akut böbrek yetmezliği, renal afferent arteriollerde vazokonstriksüyon, tübül hücre hasarı, ultrafiltrasyon miktarı ve GFR'de azalmanın eşlik ettiği glomerüler hasar ile seyreden kompleks bir sendromdur (23,40,94-96).

Hipoksi sonrası hücreye gelen yüksek enerjili fosfat miktarının azalması ile hücre membranında ciddi zedelenme meydana gelir. Bunun sonucu da histolojik düzeyde renal tübüler genişleme, vazokonstrüksiyon, ödem, endotel adezyon moleküllerinde artış olmaktadır (5,48).

Endotel hasarı sonrası endotel hücrelerinden sentezlenen NO miktarının azalması da vazokonstriksiyona, konjesyona neden olarak bir kısır döngü ile GFR'de azalma daha da artar. Bunun da sonucu olarak hücre düzeyinde apoptozis ve nekroz gelişir (48,55,97).

Sağlıklı insan böbreğinde üç saat ve daha uzun olan iskemiler sonrası özellikle peritübüller kapillerde geri dönüşümsüz hücre hasarı olurken hayvan deneylerinde genelde 1 saatlik iskemi uygulanmasının ardından kalıcı hasar oluşmaktadır (12,14,98,99).

İskemide kalmış bir organ ya da dokunun tekrar kanlanmasının sağlanması durumunda ise sanıldığının aksine daha çok hasar oluşmaktadır. Reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan bu durum özellikle hücreye zarar veren reaktif oksijen radikalleri ile ilişkilidir (2).

Sağlıklı bir kişide vücutta oksidan ve antioksidan düzeyleri denge halindedir. Bir hastalık halinde artmış serbest radikaller genelde sebep değil sonuçtur. Ancak sonrasında hastalığın patogenezinde yer almaktadır (12).

Renal iskemi reperfüzyon modeli oluşturularak yapılan çalışmalarda renoprotektif özellikte olan çok sayıda antioksidan bulunmaktadır (23,47,100,101).

Antioksidanlar farklı şekillerde sınıflandırılabilirler. Endojen ve eksojen kaynaklı olan antioksidanlar şeklinde sınıflandırılabildiği gibi enzimatik olan veya enzimatik olmayan antioksidanlar şeklinde de sınıflandırılabilmektedirler (75).

Renal iskemi reperfüzyon modellerinde çok sayıda bitkisel kaynaklı eksojen antioksidan kullanılmaktadır. Daha önceki renal iskemi reperfüzyon modellerinde kullanılan bu eksojen antioksidanlar arasında *ginkgo biloba, naringin, zencefil, sarımsak, karnosin, çörek otu, ısırgan otu, üzüm çekirdeği* bulunmaktadır (20,22,23,76-80).

Ayrıca Roso ve ark. (102)'da bal arılarının kovanlarının yalıtımı için kullandıkları *propolis* ekstresi olan kafeik asidin de renoprotektif olarak etkili olduğunu belirtmişir.

Çalışmamızda renal iskemi reperfüzyon modelinde renoprotektif özelliğini araştırmak amaçlı rafine susam yağında bulunan, susam lignanı, *sesamin* kullanılmıştır. Literatür incelemelerinde sesaminin invivo antikanser, antimikrobiyal, antiproliferatif ve antiaromataz aktivitesi olduğu gösterilmiştir (24,103).

Sesaminin organ iskemi reperfüzyon hasarında antioksidan özellikleri üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Serebral iskemi reperfüzyon modeli üzerinde Ahmad ve ark. (90) ile Khan ve ark. (24) yaptıkları çalışmalarda *sesaminin* antioksidan ve nöroprotektif etkisini gösterilmiştir.

Utsonomiye ve ark. (91)'nın karaciğer iskemi reperfüzyon modeli üzerinde yaptıkları çalışmada da *sesaminin* antioksidan etkisi üzerinde durulmuştur. Ancak literatürde sesaminin renal iskemi-reperfüzyon modeli üzerindeki antioksidan etkisi üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Önceleri renal iskemi reperfüzyon modellerinde lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit (MDA) miktarı ve glutatyon (GSH) düzeyinin ölçümü yapılırken günümüzde doku ve serumdaki total oksidan ve antioksidan düzeylerine bakılmaktadır (23,104,105).

Şener ve ark. (76) flovanoid içeriği olan *ginkgo bilobanın* renal iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmasında oksidatif stresi gösteren enzimlerin (MDA,MPO) iskemi-reperfüzyon sonrası artmış olduğu tespit edilirken ginkgo biloba verilen deney grubunda oksidatif enzimlerde anlamlı bir düşüş saptamışlardır. Deney + ginkgo biloba grubunda antioksidan enzimlerde (GSH) ise yükselme tespit edilmiş olup bu durum ginkgo bilobanın oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin olduğu olarak yorumlanmıştır.

Singh ve ark. (77) bir bioflovonoid olan naringinin böbrekteki iskemi reperfüzyon hasarı üzerinde yaptıkları çalışmada, iskemi reperfüzyon uygulanan grupta antioksidan enzimler olarak bilinen GSH, SOD, CAT seviyeleri belirgin bir şekilde azalırken, iskemi

reperfüzyon öncesi naringin verilen grupta bu azalmanın belirgin şekilde gerilediği tespit edilmiştir.

Yıldız ve ark. (81) deneysel renal iskemi-reperfüzyon modelinde eksojen antioksidan maddelerden çörek otunu (*Nigella sativa*) kullanmışlar ve çalışmanın sonuçlarını bizim çalışmamızda da olduğu gibi TAS ve TOS değerleri üzerinden yapmışlardır. Bu çalışmada çörek otu verildikten sonra yapılan deneysel renal iskemi-reperfüzyon hasarında TOS seviyeleri anlamlı olarak azalmış bulunurken TAS seviyelerinde anlamlı artış olduğu tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda da gruplar arasında TAS seviyelerinde anlamlı farklılık saptanmazken sadece iskemi reperfüzyon uygulanan grupta doku ve serum örneklerindeki TOS seviyeleri 14 gün sesamin verildikten sonra iskemi reperfüzyon uygulanan gruba göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir.

Özkan ve ark. (106) üzüm çekirdeği ekstresinin (*proantosiyanidin*) kontrast nefropatisindeki renoprotektif etkisi üzerinde yaptıkları çalışmada MDA, OSİ, TAS ve TOS düzeyleri karşılaştırmışlardır. Özkan ve ark. (106)'nın yaptıkları çalışmada da bizim çalışmamıza benzer şekilde TOS düzeyleri deney grubuna göre deney + ilaç grubunda anlamlı olarak düşük bulunurken TAS düzeyleri için gruplar arasında anlamlı farklılık saptanamamıştır. Yine benzer şekilde deney ve deney + ilaç grupları arasında histopatolojik açıdan anlamlı farklılık saptanamamıştır.

Güzeloğlu ve ark. (104) taldalafilin renal iskemi reperfüzyon modeli üzerinde yaptıkları çalışmada taldalafil grubunda TAS seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken, TOS seviyeleri deney grubunda yüksek bulunmuştur. Yeşilyurt ve ark. (105) ratlarda radyokontrast nefrotoksisitesi üzerinde erdosteinin koruyucu etkisinin olup olmadığını incelemişlerdir. Serum ve dokudaki TOS seviyesi sadece radyokontrast verilen grupta en yüksek iken, TAS seviyesi sadece erdostain verilen grupta en yüksek seviyelerde bulunmuş. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ise yine sadece radyokontrast verilen grupta daha yüksek seviyelerde olduğu rapor edilmiş.

Bu çalışmada ise dokuda bakılan TOS'da kontrol ve deney grupları ile kontrol ve deney + sesamin grupları arasında anlamlı fark tespit edilirken kontrol ile sadece sesamin verilen grup arasında anlamlı fark tespit edilememiştir. Serumda bakılan TOS değeri ise kontrol grubu ile sesamin ve kontrol grubu ile deney + sesamin grubu ve deney grubu ile deney + sesamin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Ancak doku ve serumda bakılan TAS değerleri hiçbir grup arasında anlamlı olarak farklı bulunmamıştır.

Sayhan ve ark. (23) bir flavonoid olan ısırgan otu tohumu (*Urtica dioica*) ile yaptıkları çalışmada ısırgan otu tohumunun özellikle proksimal ve distal tübül hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü inhibe ederek renal iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan tübüler hasar üzerinde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada tübüler hasarın *Urtica dioica* (UD) verildikten sonra iskemi reperfüzyon yapılan grupta sadece iskemi reperfüzyon yapılan gruba göre anlamlı olarak daha az olduğu tespit edilmiştir. Ancak çalışmamızda bu iki grup arasında histopatolojik değerlendirme açısından anlamlı fark saptanmazken tersine deney + sesamin grubunda kontrol grubuna göre tübüler hasarın anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Singh ve ark. (77) naringin (naranciye ekstresi)'nin renal iskemi reperfüzyon modeli üzerinde oksidatif hasardan koruyucu etkisi üzerine yaptıkları çalışmadaki histopatolojik değerlendirmede iskemi reperfüzyon öncesi naringin verilen grupta tübüler hasarın sadece iskemi reperfüzyon yapılan gruba göre anlamlı olarak daha az olduğu tespit edilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda bu iki grup arasında anlamlı fark tespit edilememiştir.

Maghsoudi ve ark. (20) zencefilin *(Zingiber officinale)* renal iskemi reperfüzyon modeli üzerindeki koruyucu etkisi üzerine yaptıkları deneysel çalışmada da tübüler hasarın deney + ilaç grubunda sadece ilaç verilen gruba göre anlamlı olarak daha az olduğu tespit edilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda bu iki grup arasında anlamlı fark tespit edilememiştir.

İskemi-reperfüzyon sonrası böbrekte glomerüler filtrasyon hızı azalır ve tübülüler hücre hasarı meydana gelir. Bu durum da serum üre, kreatinin ve elektrolit seviyelerinde değişiklikler meydana gelir (107). Bagheri ve ark. (79) renal iskemi-reperfüzyon hasarında sarımsağın (*Allium sativum*) antioksidan etkinliği üzerinde yaptıkları çalışmada deney grubunda serum üre ve kreatinin düzeyleri artarken, deney + ilaç grubunda serum üre kreatinin düzeylerinde anlamlı olarak azalma tespit edilmiştir. Bu durum sarımsağın renal iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu bir etkisinin bulunduğu yönünde yorumlanmıştır.

Bizim çalışmamızda serum elektrolit düzeylerinde gruplar arasında anlamlı fark saptanamazken, serum üre kreatinin düzeylerinde gruplar arasında fark saptanmıştır. Kontrol ve sesamin grubu arasında üre, kreatinin düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır. İskemi-reperfüzyon uygulanan grupta üre ve kreatinin değerleri kontrol grubuna ve sadece sesamin verilen gruba göre anlamlı olarak yüksek iken ($p=0.001$), iskemi reperfüzyon grubunda ve iskemi reperfüzyon + sesamin grupları arasında rakamsal fark olup, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durumun sesaminin olumlu renoprotektif etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı'nda planlanan çalışmamızda daha önce hiç üzerinde çalışılmayan; ratlardaki renal iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası sesaminin böbrekler üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuarı'nda üniversitemiz Acil Tıp ve Patoloji Anabilim Dalları ile Gülhane Askeri Tıp Akademisi Biyokimya Anabilim Dalı'nın ortaklaşa çalışması ile gerçekleştirilmiştir.

Deneysel olarak renal İ/R oluşturulan ratlarda sesaminin etkisinin; ratlarda üre, kreatinin seviyeleri ile renal doku ve serumda bakılan TOS ve TAS düzeyleri ve renal histopatolojik değişiklikler değerlendirilerek şu sonuçlara ulaşıldı:

1. Deney ve deney + ilaç grupları arasında analiz yapıldığında deney grubunda doku ve serum TOS düzeylerinin deney + ilaç grubuna göre anlamlı bir biçimde yüksek olduğu tespit edildi.
2. Kontrol ve deney grupları arasında analiz yapıldığında; deney grubunda doku ve serum TOS düzeylerinin anlamlı bir biçimde yüksek olduğu tespit edildi.
3. Kontrol ile deney + ilaç grubu arasında analiz yapıldığında deney + ilaç grubunda dokudaki TOS düzeyinin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edildi.
4. Kontrol ile deney + ilaç grubu arasında analiz yapıldığında kontrol grubunda serumdaki TOS düzeyinin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edildi.
5. Kontrol ve ilaç grupları arasında analiz yapıldığında; kontrol grubunun serum TOS düzeyinin anlamlı bir biçimde yüksek olduğu tespit edildi.
6. Kontrol ile deney + ilaç grubu arasında analiz yapıldığında; deney + ilaç grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak tübüler hasarın daha fazla olduğu tespit edildi.

7. Renal iskemi reperfüzyon oluşturulan ratlarda kullandığımız sesaminin iskemi reperfüzyon hasarını bir dereceye kadar önleyebildiği fakat histopatolojik değerlendirmeler göz önüne alındığında beklenen olumlu etkilere ulaşmadığı sonucuna varılmıştır.

ÖZET

İskemi bir dokuya gelen kan akımının azalması veya kesilmesi olarak tanımlanır. Reperfüzyon ise kan akımının yeniden başlamasıdır. İskemi sonrasında dokuda hücresel fonksiyon bozukluklarına neden olacak bir dizi kimyasal olay başlar. Yeniden kanlanma ile dokudaki hasar miktarı giderek artar. Çeşitli nedenlerden oluşan iskemi reperfüzyona bağlı gelişen akut iskemi akut böbrek yetmezliğine sebep olmaktadır. Deneysel iskemi reperfüzyon modeli üzerinde antioksidanların etkileri ile ilgili çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır.

Bölümümüzde planlanan ve Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuarı'nda gerçekleştirilen çalışmamızda daha önce hiç üzerinde çalışılmayan; ratlardaki renal iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası sesaminin böbrekler üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığı araştırmayı amaçladık.

Her biri sekiz rat içeren dört ayrı çalışma grubu oluşturuldu. 14 gün süreyle standart yem ve su verilen, 14. günün sonunda opere edilerek sağ nefrektomi yapıldıktan sonra sol renal pedikülü ortaya konan ancak İskemi/Reperfüzyon yapılmayan grup (kontrol grubu). 14 gün süreyle standart yem ve su verilen, 14. günün sonunda laparotomi sonrası sağ nefrektomi yapıldıktan sonra 60 dakika süre ile sol renal pedikülü bağlanan ve 24 saat reperfüze edilen grup (deney grubu). 14 gün süreyle standart yem ve suya ilaveten orogastrik yolla ilaç verilen, 14. günün sonunda opere edilerek sağ nefrektomi yapıldıktan sonra sol renal pedikülü ortaya konan ancak İskemi/Reperfüzyon yapılmayan grup (ilaç grubu). 14 gün süreyle standart yem ve suya ilaveten orogastrik yolla ilaç verilen, 14. günün sonunda laparotomi sonrası sağ nefrektomi yapıldıktan sonra 60 dakika süre ile sol renal pedikülü bağlanan ve 24 saat reperfüze edilen grup (deney+ilaç grubu).

Deney grubunda doku ve serum total oksidan seviyelerinin deney + ilaç grubuna göre anlamlı bir biçimde yüksek olduğu tespit edilirken, total antioksidan seviyeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı. Ayrıca deney + ilaç grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak tübüler hasarın daha fazla olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak; renal iskemi reperfüzyon oluşturulan ratlarda kullandığımız sesaminin iskemi reperfüzyon hasarını bir dereceye kadar önleyebildiği fakat histopatolojik değerlendirmeler göz önüne alındığında beklenen olumlu etkilere ulaşmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Sesamin, iskemi-reperfüzyon, antioksidan

.

RESEARCH FOR PROTECTIVE EFFECT OF SESAMINE ON EXPERIMENTALLY CREATED RENAL INJURY AFTER RENAL ISCHEMIA REPERFUSION

SUMMARY

Ischemia is defined by reduction or interruption of blood stream to a tissue. Reperfusion is restart of the blood stream. After ischemia a series of chemical reaction starts that may lead to impairment of cellular function in the tissue. With reperfusion, injury on the tissue increases. Acute ischemia as a result of ischemia reperfusion caused by many incidences leads to acute renal failure. Studies on effects of antioxidants on experimental ischemia reperfusion models accelerated in the last years.

In our study, which is planned in our department and carried out in Trakya University Experimental Animal Studies Laboratory, we aimed to investigate the protective effect of sesamine on kidneys after renal ischemia reperfusion injury in rats, which was never studied before.

Four separate study groups were formed including different eight rats. A group, standard feed and water was given for 14 days, and operated at the end of the 14^{th} day performing right nephrectomy exposing left pedicle but ischemia/repurfusion was not created (control group). A group, standard feed and water was given for 14 days, and laparotomy made at the end of the 14^{th} day performing right nephrectomy and left renal pedicle was tied for 60 minutes and reperfused for 24 hours (experiment group). A group, standard feed, water and orogastric medication was given for 14 days, and operated at the end of the 14^{th} day

performing right nephrectomy exposing left pedicle but ischemia/repurfusion was not created (drug group). A group, standard feed, water and orogastric medication was given for 14 days, and laparotomy made at the end of the 14th day performing right nephrectomy and left renal pedicle was tied for 60 minutes and reperfused for 24 hours (experiment + drug group).

Tissue and serum total oxidant levels were significantly higher in experiment group than experiment+drug group was found but on the other hand no difference was found among groups for total antioxidant levels. Besides, tubulary injury was higher in experiment+drug group than control group.

As a result, we reached sesamine we used on rats that has renal ischemia reperfusion prevents ischemia reperfusion injury to a level but if histopathologic evaluations are considered it fails to reach the expected positive effect.

Key words: Sesamine, ischemia-reperfusion, antioxidant

KAYNAKLAR

1. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. İskemi-reperfüzyon (çeviri: U.Çevikbaş).Atalay S, İmamoğlu A, İkizler C, Uluoğlu U (Editörler). Temel patoloji'de İstanbul'da Nobel Tıp Kitabevleri; 2000.s.459-60.

2. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg Clin North Am 1992;72(1):65-83.

3. Yüzer H. Ketamin, Tiyopental, Propofol, Etomidat Ve İntralipidin Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkileri (Tez). Kahramanmaraş: Kahramanmaras Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2008.

4. Alataş O, Sahin A, Colak O, Inal M, Köken T, Yaşar B et al. Beneficial effects of allopurinol on glutathione levels and glutathione peroxidase activity in rat ischaemic acute renal failure. J Int Med Res 1996;24(1):33-9.

5. Önal A, Astarcıoğlu H, Örmen M, Atila K, Sarıoğlu S. Sıçandaki renal iskemi reperfüzyon hasarında L-karnitinin koruyucu etkisi. Ulus Travma Derg 2004; 10(3):161-8.

6. Badr KF, Ichikawa L. Prerenal failure: A deleterious shift from renal compensation to decompensation. N Engl J Med 1988;319:623-9.

7. Lameire NH, Vanholder R. Pathophysiology of ischaemic acute renal failure. Best Pract Res Clin Anaesthesiol 2004;18(1):21-36.

8. Franklin SS, Smith RD. A comparison of enalapril plus hydrochlorothiazide with standard triple therapy in renovascular hypertension. Nephron 1986;(44,1):73-82.

9. Bicik Z, Ersan S. Akut renal yetmezlik. Turk Neph Dial Transpl 1999;3:113-7.

10. Usluoğulları A. Yoğun Bakım Ünitesinde Akut Böbrek Yetmezliği İle Takip Edilen Hastaların Sınıflandırılması ve Mortaliteyi Etkileyen Faktörler (Tez). Ankara: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2008.

11. Sykes E, Cosgrove JF. Acute renal failure and the critically ill surgical patient. Ann R Coll Surg Engl 2007;89:22–9.

12. Dağlı C. Deneysel Olarak Renal İskemi Reperfüzyon Oluşturulan Sıçanlarda Diosmin+Hesperidinin Etkisi (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi;2011.

13. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. J Clin Invest 1984;74(4):1156-64.

14. Özdamar M. Renal İskemi Reperfüzyon Hasarında Grape Seed Proanthocyanidin (Üzüm Çekirdeği Proantosiyanidin) Ekstresinin Etkisi (Tez). Konya: Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi; 2008.

15. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. Biochem J 1984;222:1-15.

16. Akkuş İ. Reaktif oksijen radikalleri. Nizamlıoğlu M, Tiftik MA (Editörler) Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Kitabevi; 1995. s.93-5.

17. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Hastalıkların patogenez ve tedavisinde reaktif oksijen partikülleri ve antioksidanlar. Turk Neph Dial Transpl 1997;3-4: 96-101.

18. Alan C, Kocoğlu H, Altıntas R, Alıcı B, Ersay AR. Protective effect of decorin on acute ischaemia-reperfusion injury in the rat kidney. Arch Med Sci 2011;7(2):211-6.

19. Kandis H, Karapolat S, Yildirim U, Saritas A, Gezer S, Memisogullari R. Effects of urtica dioica on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. Clinics 2010;65(12):1357-61.

20. Maghsoudi S, Gol A, Dabiri S, Javadi A. Preventive effect of ginger (Zingiber officinale) pretreatment on renal ischemia-reperfusion in rats. Eur Surg Res 2011;46(1):45-51.

21. Yanarates O, Guven A, Sizlan A, Uysal B, Akgul O, Atim A et al. Ameliorative effects of proanthocyanidin on renal ischemia/reperfusion injury. Ren Fail 2008;30(9):931-8.

22. Fujii T, Takaoka M, Muraoka T, Kurata H, Tsuruoka N, Ono H et all. Preventive effect of L-carnosine on ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats. Eur J Pharmacol 2003;474(23):261-7.

23. Sayhan MB, Kanter M, Oguz S, Erboga M. Protective effect of Urtica dioica L. on renal ischemia/reperfusion injury in rat. J Mol Hist 2012;43(6):691-8.

24. Khan MM, Ishrat T, Ahmad A, Hoda MN, Khan MB, Khuwaja G, et all. Sesamin attenuates behavioral, biochemical and histological alterations induced by reversible middle cerebral artery occlusion in the rats. Chem Biol Interact 2010;183(1):255-63.

25. Liu Z, Saarinen NM, Thompson LU. Sesamin is one of the major precursors of mammalian lignans in sesame seed (Sesamum indicum) as observed in vitro and in rats. J Nutr 2006;136(4):906-12.

26. Peñalvo JL, Hopia A, Adlercreutz H. Effect of sesamin on serum cholesterol and triglycerides levels in LDL receptor-deficient mice. Eur J Nutr 2006;45(8):439-44.

27. Utsunomiya T, Shimada M, Rikimaru T, Hasegawa H, Yamashita Y, Hamatsu T et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of a diet supplemented with sesamin on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. Hepatogastroenterology 2003;50(53):1609-13.

28. Sancak B, Cumhur M. Fonksiyonel Anatomi, böbrekler ve üreterle. Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı,1999; 290-7.

29. Junqueira CL, Carneiro J, Kelley RO. Üriner sistem Aytekin Y (çeviri editörü). Temel Histoloji'de. İstanbul:Barış kitapevi;1998.s.359-74.

30. İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S. Böbrek hastalıkları. Süleymanlar G (Editör). İç Hastalıkları'nda. Ankara: Güneş Kitapevi;2003.s1213-21, 86-93.

31. Brady HR, Singer GG. Acute renal failure. The Lancet Volume December 1995;346:1533-40.

32. Lameire N, Biesen VW, Vanholder R. Acute renal failure. Lancet 2005 ;365(9457):417-30.

33. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. N Engl J Med. 1996;334(22):1448-60.

34. Schrier RW, Wang W, Poole B, Mitra A. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. J Clin Invest 2004;114(1):5-14.

35. Liaño F, Pascual J. Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group. Kidney Int 1996;50(3):811-8.

36. Liaño F, Junco E, Pascual J, Madero R, Verde E. The spectrum of acute renal failure in the intensive care unit compared with that seen in other settings. The Madrid Acute Renal Failure Study Group. Kidney Int Suppl 1998;66:16-24.

37. Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS. Emergency Medicine 6th ed. New York: Mc Graw Hill Co; 2004. p.593-95.

38. Yağbasan Y. Deneysel Akut Böbrek Yetersizliği Modelinde Deksmedetomidinin Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması (Tez). Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2008.

39. Conesa E, Valero F, Nadal JC, Fenoy FJ, Pez B, Arregul B et al. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol 2001;281:730–7.

40. Bonventre JV, Zuk A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? Kidney Int 2004;66(2):480-5.

41. Sheridan AM, Bonventre JV. Pathophysiology of ischemic acute renal failure. Contrib Nephrol 2001;(132):7-21.

42. Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. Kidney Int 2004;66(2):486-91.

43. Versteilen AM, Di Maggio F, Leemreis JR, Groeneveld AB, Musters RJ, Sipkema P. Molecular mechanisms of acute renal failure following ischemia/reperfusion. Int J Artif Organs 2004;27(12):1019-29.

44. Tanrıverdi MH, Karadağ F. Akut böbrek yetersizliği. Konuralp Tıp Dergisi 2010;2(1):46-52.

45. Baud L, Ardaillou R Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. Br Med Bull 1993;49(3):621-9.

46. Suyanı E. Deneysel Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarında Everolimus'un Oksidan-Antioksidan Sistem Ve Renal Histoloji Üzerine Etkileri (Tez). Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2006.

47. Aragno M, Cutrin JC, Mastrocola R, Perrelli MG, Restivo F, Poli G et all. Oxidative stress and kidney dysfunction due to ischemia/ reperfusion in rat: Attenuation by dehydroepiandrosterone. Kidney Int 2003;64:836–43.

48. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. Br J Surg 1991;78(6):651-5.

49. Döşlüoğlu HH, Aktan AO, Yeğen C, Okboy N, Yalçm AS, Yahn R et al. The cytoprotective effects of verapamil and iloprost (ZK 36374) on ischemia/reperfusion injury of kidneys. Transpl Int 1993;6(3):138-42.

50. Molitoris BA, Marrs J. The role of cell adhesion molecules in ischemic acute renal failure. Am J Med1999;106(5):583-92.

51. Khera A, Meldruma KK, Wanga M, Tsaia BM, Pitchera JM, Meldruma DR. Cellular and molecular mechanisms of sex differences in renal ischemia–reperfusion injury. Cardiovascular Research 2005;67:594–603.

52. Furuichi K, Wada T, Iwata Y, Kitagawa K, Kobayashi K, Hashimoto H et all. CCR2 Signaling Contributes to Ischemia-Reperfusion Injury in Kidney. J Am Soc Nephrol 2003;(14):2503–15.

53. Walker LM, Walker PD,Imam SZ, Ali SF, Mayeux PR. Evidence for peroxynitrite formation in renal ıschemia- reperfusion ınjury: studies with the ınducible nitric oxide synthase ınhibitor l-n6-(1-ıminoethyl)lysine. J Pharmacol Exp Ther 2000;295(1):417-22.

54. Molitoris BA, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure. Kidney Int 2004;66(2):496-9.

55. Noiri E, Gailit J, Sheth D, Magazine H, Gurrath M, Muller G et al. Cyclic RGD peptides ameliorate ischemic acute renal failure in rats. Kidney Int 1994;46(4):1050-8.

56. Ergün O. Böbreğin İskemi Reperfüzyon Hasarını Önleyici Bir Ajan Olarak Karnitinin Etkisi (Tez). İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi; 1998.

57. Boventre JV, Weinberg JM. Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. J Am Soc Nephrol 2003;14:2199-210.

58. Chamoun F, Burne M, O'Donnell M, Rabb H. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. Front Biosci 2000;(5):103-9.

59. Wall J. Antioxidants In prevention of reperfusion damage of vascular endothelium. TSMJ 2000;1:67-71.

60. Combe C, Burton CJ, Dufourco P, Weston S, Horsburgh T, Walls J et all. Hypoxia induces intercellular adhesion molecule-1 on cultured human tubular cells. Kidney Int 1997;51(6):1703-9.

61. Kahraman A, Erkasap N, Serteser M, Köken T. Protective effect of quercetin on renal ischemia/reperfusion injury in rats. J Nephrol 2003;16(2):219-24.

62. Greene EL, Paller MS. Oxygen free radicals in acute renal failure. Miner Electrolyte Metab 1991;17(2):124-32.

63. Mccords JM, Fridovich I. Superoxide Dismutase. J Biol Chem 1969;244(22):6049-65.

64. Bernard M. Barbior, Ruby S. Kipnes, Joh T. Curnutte. The production by leukocytes of superoxide, a potential bactericidal agent. J Clin Invest 1973;(52):741-4.

65. Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. Gastroenterology 1981;81(1):22-9.

66. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull 1993;49(3):481-93.

67. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. Turk Neph Dial Transpl 1997;3-4:92-5.

68. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. Am J Surg 1991;161(4):488-503.

69. Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, Musial WJ. Oxidative stress and neutrophil activation-the two keystones of ischemia/reperfusion injury. Int J Cardiol 2002;86(1):41-59.

70. Nordberg J, Arnér ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. Free Radic Biol Med 2001;31(11):1287-312.

71. Aktoz T. Sıçanlarda Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarına Melatonin ve E Vitaminin Antioksidan Etkileri İle Hücresel Deiğişklikler (Tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2004.

72. Selçuk NY, Yakan B, Ayla San, Başoğlu M, Tonbul Z, Kızıltunç A ve ark. Deneysel sıcak renal iskemi ve reperfüzyonda lipid peroksidasyonu ve alpha-tocopherol tedavisinin değerlendirilmesi. Turk Neph Dial Transpl 1996;1:5-10.

73. Çaylak E. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. Tıp Araştırmaları Dergisi 2011;9(1):73-83.

74. Tola H. Doksorubisin İle Oluşturulan Deneysel Kardiyotoksisite Üzerine N-Asetilsisteinin Biyokimyasal Ve Histopatolojik Düzeylerdeki Koruyucu Etkilerinin Araştırılması (Tez). Isparta: Süleyman Demirel ÜniversitesiTıp Fakültesi; 2008.

75. İşbilir Ş. Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi (Tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü;2008.

76. Sener G, Sener E, Sehirli O, Oğünç AV, Cetinel S, Gedik N et al. Ginkgo biloba extract ameliorates ischemia reperfusion-induced renal injury in rats. Pharmacol Res 2005;52(3):216-22.

77. Singh D, Chander V, Chopra K. Protective effect of naringin, a bioflavonoid on glycerol-induced acute renal failure in rat kidney. Toxicology 2004;201(1-3):143-51.

78. Singh A. Chemical and biochemical aspects of superoxide radicals and related species of activated oxygen. Can J Physiol Pharmacol 1982;60(11):1330-45.

79. Bagheri F, Gol A, Dabiri S, Javadi A. Preventive effect of garlic juice on renal reperfusion ınjury. IJKD 2011;5:194-200.

80. Nakagawa T, Yokozawa T, Satoh A, Kim HY. Attenuation of renal ischemia-reperfusion injury by proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. J Nutr Sci Vitaminol 2005;51(4):283-6.

81. Yıldız F, Coban S, Terzi A, Savas M, Bitiren M, Celik H et al. Protective effects of Nigella sativa against ischemia-reperfusion injury of kidneys. Ren Fail 2010;32(1):126-31.

82. Bozkurt G. Susam Yağının Antioksidan Özellikteki Başlıca Bileşenlerinin Nitelik Ve Nicelikleri Üzerine Araştırmalar (Tez). İzmir: Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisligi Anabilim Dalı;2006.

83. Yılmaz İ. Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2010;17(2):143-53.

84. Çimen B. Flavonoidler ve Antioksidan Özellikleri. T Klin Tıp Bilimleri 1999;19:296-304.

85. Şimşek A. Değişik Kavurma Proseslerinin Bazı Fındık Çeşitlerinde Oluşturduğu Biyokimyasal Değişiklikler (Tez). Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı; 2004.

86. Tokusoglu Ö, Koçak S, Aycan Ş. The contents of sesamol and related lignans in sesame, tahina and halva as determined by a newly developed polarographic and stripping voltametric analysis. Grasas Y Aceıtes 2009;60(2):119-24.

87. Tsuruoka N, Kıdokoro A, Matsumoto I, Abe K, Yoshinobu K. Modulating effect of sesamin, a functional lignan in sesame seeds, on the transcription levels of lipid and

alcohol metabolizng enzymes in rat liver: A DNA Microarray Study Biosci Biotechnol Biochem 2005;69(1):179-188.

88. Dhar P, Chattopadhyay K, Bhattacaryya D, Ghosh S. Antioxidative Effect of Sesame Lignans in Diabetes Mellitus Blood: an in vitro study. J Oleo Sci 2005;54(1):39-43.

89. Miyawaki T, Aono H, Toyoda-Ono Y, Maeda H, Kiso Y, Moriyama K. Antihypertensive effects of sesamin in humans. J Nutr Sci Vitaminol 2009;55(1):87-91.

90. Ahmad S, Yousuf S, Ishrat T, Khan MB, Bhatia K, Fazli IS et al. Effect of dietary sesame oil as antioxidant on brain hippocampus of rat in focal cerebral ischemia. Life Sci 2006;79(20):1921-8.

91. Utsunomiya T, Shimada M, Rikimaru T, Hasegawa H, Yamashita Y, Hamatsu T et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of a diet supplemented with sesamin on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. Hepatogastroenterology 2003;50(53):1609-13.

92. ‘‘Laboratuar hayvanlarının bakım ve kullanım kılavuzu’’ NIH Publication 1985;85(23).

93. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem 2005;38:1103-11.

94. Bird JE, Milhoan K, Wilson CB, Young SG, Mundy CA, Parthasarathy S et all. Ischemic acute renal failure and antioxidant therapy in the rat. The relation between glomerular and tubular dysfunction. J Clin Invest 1988;81(5):1630-8.

95. Weinberg JM. The cell biology of ischemic renal injury. Kidney Int 1991;39(3):476-500.

96. Aylı D, Ateş K, Ertuğ E, Özcan H, Ertürk Ş, Duman N ve ark. Akut böbrek yetmezlikli hastalarda renin-anjiotensin sisteminin blokajının renal hemodinami üzerin etkisinin doppler ultrasonografi ile değerlendirilmesi. Turk Neph Dial Transpl 1995;3:168-171.

97. Li-Ming Wang, Xiao-Feng Tian, Qian-Ying Song, Zhen-Ming Gao, Fu-Wen Luo, Chun-Ming Yang. Expression and role of inducible nitric oxide synthase in ischemia-reperfusion liver in rats. Hepatobiliary Pancreat Dis Int 2003;2(2):252-8.

98. Basile DP, Donohoe D, Roethe K, Osborn JL. Renal ischemic injury results in permanent damage to peritubular capillaries and influences long-term function. Am J Physiol Renal Physiol 2001;281(5):887-99.

99. Singbartl K, Ley K. Protection from ischemia-reperfusion induced severe acute renal failure by blocking E-selectin. Crit Care Med 2000;28(7):2507-14.

100. Aktoz T, Aydogdu N, Alagol B, Yalcin O, Huseyinova G, Atakan IH. The protective effects of melatonin and vitamin E against renal ischemia-reperfusion injury in rats. Ren Fail 2007;29(5):535-42

101. Awad AS, El-Sharif AA. Curcumin immune-mediated and anti-apoptotic mechanisms protect against renal ischemia/reperfusion and distant organ induced injuries. Int Immunopharmacol 2011;11(8):992-6.

102. Roso NC, Correa RR, Castiglia YM, Carvalho LR, Scatena LM, de Souza AV et all. Caffeic acid phenethyl ester effects in the kidney during ischemia and reperfusion in rats anesthetized with isoflurane. Transplant Proc 2012;44(5):1211-3.

103. Cooney RV, Custer LJ, Okinaka L, Franke AA. Effects of dietary sesame seeds on plasma tocopherol levels. Nutr Cancer 2001;39(1):66-71.

104. Guzeloglu M, Yalcinkaya F, Atmaca S, Bagriyanik A, Oktar S, Yuksel O et al. The beneficial effects of tadalafil on renal ischemia-reperfusion injury in rats. Urol Int 2011;86(2):197-203.

105. Yesilyurt A, Aydın Erden I, Bilgiç I, Erden G, Albayrak A. The protective effect of erdosteine on radiocontrast induced nephrotoxicity in rats. Environ Toxicol 2011;26(4):395-402.

106. Ozkan G, Ulusoy S, Orem A, Ersoz S, Alkanat M, Balaban F et al. Protective Effect of the Grape Seed Proanthocyanidin Extract in a Rat Model of Contrast-Induced Nephropathy. Kidney Blood Press Res 2012;35:445–53.

107. Avlan D, Tamer L, Ayaz L, Polat A, Oztürk C, Ozturhan H et al. Effects of trapidil on renal ischemia-reperfusion injury. J Pediatr Surg 2006;41(10):1686-93.

EKLER

Ek 1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 10 **Karar Tarihi: 30.11.2011**

KARAR NO: **2011.10.05**

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mustafa Burak Sayhan'nın yaptığı tıpta uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2011/79 protokol nolu "Deneysel Olarak Oluşturulan Renal İskemi Reperfüzyon Sonrası Oluşan Böbrek Hasarına Karşı *Sesamin*'in Koruyucu Etkisinin İncelenmesi" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	**Araştırma ile İlişki**	**Toplantı Katılımı**	**İmza**
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ **var** ☐**yok**	☐ **evet** ☐ **hayır**	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ **var** ☐**yok**	☐ **evet** ☐ **hayır**	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	☐ **var** ☐**yok**	☐ **evet** ☐ **hayır**	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	☐ **var** ☐**yok**	☒ **evet** ☐ **hayır**	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	☐ **var** ☐**yok**	☐ **evet** ☐ **hayır**	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ **var** ☒**yok**	☒ **evet** ☐ **hayır**	
Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ **var** ☐**yok**	☒ **evet** ☐ **hayır**	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ **var** ☐**yok**	☐ **evet** ☐ **hayır**	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ **var** ☒**yok**	☐ **evet** ☐ **hayır**	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ **var** ☐**yok**	☐ **evet** ☐ **hayır**	