Sıçanlarda Kısa Süreli Renal İskemi / Reperfüzyon' a Bağlı Uzak Doku Hasarına Karşı Geraniol' ün Koruyucu Etkisi

Işıl Tan Yılmaz

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Mart 2017

The Protective Effect of Geraniol Against Remote Tissue Injury Induced by Short Term Renal Ischemia / Reperfusion in Rats

Işıl Tan Yılmaz

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Biology

March 2017

Sıçanlarda Kısa Süreli Renal İskemi / Reperfüzyon' a Bağlı Uzak Doku Hasarına Karşı Geraniol' ün Koruyucu Etkisi

Işıl Tan Yılmaz

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Moleküler Biyoloji Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Mediha Canbek

Mart 2017

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Işıl Tan Yılmaz' ın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Sıçanlarda Kısa Süreli Renal İskemi / Reperfüzyon' a Bağlı Uzak Doku Hasarına Karşı Geraniol' ün Koruyucu Etkisi" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman **:** Prof. Dr. Mediha CANBEK

İkinci Danışman **: -**

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye : Prof. Dr. Mediha CANBEK

Üye : Prof. Dr. Ayşe Tansu KOPARAL

Üye : Doç. Dr. Mustafa UYANOĞLU

Üye : Doç. Dr. Pınar ÖZTOPÇU VATAN

Üye : Doç. Dr. Hakan ŞENTÜRK

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hürriyet ERŞAHAN
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım klavuzuna göre, Prof. Dr. Mediha CANBEK danışmanlığında hazırlamış olduğum " Sıçanlarda Kısa Süreli Renal İskemi/Reperfüzyon' a Bağlı Uzak Doku Hasarına Karşı Geraniol' ün Koruyucu Etkisi " başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallarına uygun davrandığımı, tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 10/03/2017

Işıl Tan YILMAZ

İmza

ÖZET

Bu tez çalışmasında sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan kısa süreli böbrek iskemi/reperfüzyon (İ/R)' una bağlı karaciğer hasarına karşı antioksidan özelliği bilinen geraniol' ün olası koruyucu etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Çalışmada 28 adet 3-4 aylık erkek *Wistar albino* sıçanlar kullanılmıştır (n=7). Rastgele seçimle, Grup I (Sham Grubu), Grup II (İ/R + Serum Fizyolojik), Grup III (İ/R + 50 mg/kg Geraniol), Grup IV (İ/R + 100 mg/kg Geraniol) olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur. Ksilazin (10 mg/kg) ve ketamin (70 mg/kg) anestezisi altında tüm gruplara sağ böbrek nefroktomi işlemi uygulanmıştır. Grup I haricindeki gruplara 45 dakika iskemi ve 4 saat reperfüzyon uygulanmıştır. Grup I ve II' ye 2 mL serum fizyolojik (SF), Grup III ve IV' e sırasıyla 50 mg/kg, 100 mg/kg geraniol tek doz halinde iskemiden 1 saat önce intraperitonal olarak enjekte edilmiştir. Deney sonunda kan serumunda alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) aktiviteleri ve karaciğer dokularında katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (Gpx) enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Doku kesitleri H&E ile boyanmış ve ışık mikroskobunda incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; Grup I ve Grup II' nin serumda ALT ve AST, doku örneklerinde CAT, SOD ve Gpx değerleri karşılaştırıldığında Grup II' de Grup I' e göre serum ALT ve AST değerlerinin ve karaciğer dokusuna ait SOD, Gpx aktivitelerinin arttığı, CAT aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Grup III ve IV' ün SOD ve Gpx aktiviteleri Grup II' ye göre azalırken; CAT aktiviteleri artış göstermiştir. Histopatolojik olarak Grup II karaciğer dokusunda yoğun vakuolizasyon, ileri derece nekroz, yoğun nüklear infiltrasyon ve kanama gözlenirken, Grup IV' te bu bulgulara rastlanmamıştır. Deneysel çalışmamızın histolojik bulguları biyokimyasal analizleri desteklemektedir.

Çalışma sonuçları, intraperitonal olarak uygulanan geraniol' ün 100 mg/kg dozunun böbrek İ/R hasarından etkilenen karaciğer üzerinde koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Sıçan, İskemi/Reperfüzyon, Uzak Organ, Karaciğer, Serbest Radikal, Antioksidan, Geraniol.

SUMMARY

In this thesis study, the possible protective effects of geraniol, which is known to be an atioxidant, were investigated against liver injury induced by experimentally short-term renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in rats.

In the study, three to four month old, *Wistar-albino* type *28* rats were used (n=7). Four groups were designed randomly that Group I (Sham Group), Group II (I/R+normal saline), Group III (I/R+ 50 mg/kg geraniol), Group IV (I/R+ 100 mg/kg geraniol). Right nephrectomies were performed under xylazine (10 mg/kg) and ketamine (70 mg/kg) anesthesia in all group rats. Then, 2 mL physiological saline solution was injected to Group I and Group II; 50 mg/kg geraniol was injected to Group III and 100 mg/kg geraniol was injected to Group IV intraperitoneally one hour before ischemia. 45 minutes ischemia and 4 hours reperfsion were applied to all groups expect Group I. At the end of the experiment, ALT, AST activites in the blood serum and the Catalase (CAT), Superoxide dismutases (SOD) and Glutathione peroxidase (Gpx), enzime activities in liver tissue were measured. Histological sections were stained using Hematoxylien & Eosine and investigated by light microscope. According to the study results, when Group I and Group II' s ALT and AST values were compared in serum and CAT, SOD, Gpx in tissue samples, belonging to Group II' s serum ALT and AST value and SOD, Gpx activity increased and CAT activity decreased in liver tissue. While Group III and IV' s SOD and Gpx activities decreased, CAT activity increased compared to Group II. Although histopathologically, in Group II the liver tissue was shown that intense vakuolization, advenced necrozis, intense nuclear infiltrasyon and congestion, this findings was not found in Group IV. Biochemical analyzes have supported by histological findings of our experimental study.

The results of this study have demonstrated that geraniol (100 mg/kg i.p.) prevents distant organ injury because of renal I/R injury.

Keywords: Rat, Ischemia/Reperfusion, Remote organ, Liver, Free Radical, Antioxidant, Geraniol.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince, bilimsel çalışmalarımı gerçekleştirmem için her türlü imkanı sunan sevgili danışman hocam sayın Prof. Dr. Mediha CANBEK' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimleriyle bana yardımcı olan Doç. Dr. Hakan ŞENTÜRK ve Doç. Dr. Mustafa UYANOĞLU hocalarıma teşşekkürü bir borç bilirim.

Deneysel çalışmalarımı birliklte yürüttüğüm, disiplinli çalışma ilkelerinden ödün vermeyip, sabır ile azmeden emekleri ödenemiyecek değerli arkadaşlarım Fatma YILDIZ, Seren DANIŞ, Senanur CAN ve Handan ÇİFÇİ' ye teşekkür ederim.

Eğitim öğretim hayatımın temellerini atmamda büyük emeği olan ilkokul öğretmenim babam Güngör YILMAZ' a, eğitim hayatımın önemli bir parçası olan annem Mücella YILMAZ ve ablam Betül YILMAZ' a maddi manevi desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET ……..…….vi

SUMMARY ……..…..….vii

TEŞEKKÜR …….…....viii

İÇİNDEKİLER ……....…..ix

ŞEKİLLER DİZİNİ …….……...xi

ÇİZELGELER DİZİNİ …….…..xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ …….....xiv

1. GİRİŞ VE AMAÇ …….……..…..1

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI …….…….……....3

2.1. İskemi Reperfüzyon …….....3

2.1.1. Geri dönüşümlü iskemik hasar …….…….....4

2.1.2. Geri dönüşümsüz iskemik hasar ……..……...5

2.2. Serbest Oksijen Radikalleri ……...…….…....7

2.2.1. Serbest radikallerin başlıca etkileri ……..……...…….....…..8

2.2.2. Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri …….....…….…….....10

2.2.2.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) …….…….11

2.2.2.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2) …….…….…...12

2.2.2.3. Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) ……..…....12

2.2.2.4. Singlet oksijen ($^1O_2$) …….…...….13

2.3. Polimorf Çekirdekli Lökositler …….…...13

2.4. Kompleman Sistemi …….……14

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

2.5. Endotel Hücreleri ……14
2.6. İskemi / Reperfüzyon' a Bağlı Uzak Doku Hasarı ……15
2.7. Antioksidan Savunma Sistemi ……16
2.7.1. Antioksidanların etki etme şekilleri ……16
2.7.2. Endojen kaynaklı antioksidanlar ……17
2.7.2.1. Enzim olan endojen kaynaklı antioksidanlar ……17
2.7.2.2. Enzim olmayan endojen kaynaklı antioksidanlar ……20
2.7.3. Eksojen kaynaklı antioksidanlar ……20
2.7.3.1. Vitamin olan eksojen kaynaklı antioksidanlar ……20
2.7.3.2. İlaç olarak kullanılan eksojen kaynaklı antioksidanlar ……21
2.7.3.3. Gıdalarda bulunan eksojen kaynaklı antioksidanlar ……22
2.8. Karaciğer ……22
2.8.1. Sıçan karaciğeri ……25
2.9. Terpenler Ve Geraniol ……26
2.9.1. Monoterpenler ……26
2.9.2. Geraniol ……27
3. MATERYAL VE YÖNTEM ……29
3.1. Deney Hayvanları ……29
3.2. Deney Grupları ……29
3.3. Geraniol Uygulaması ……30
3.4. Cerrahi İşlemler ……30
3.4.1. Anestezi ……31
3.4.2. Nefrektomi işlemi ……31
3.4.3. İskemi reperfüzyon işlemleri ……32
3.5. Doku Örneklerinin Alınması Ve Değerlendirilmesi ……32
3.5.1. Serum örnekleri ……33
3.5.2. Karaciğer doku örnekleri ……33
3.5.2.1. Karaciğer doku örneklerinin histolojik analizleri ……33

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.5.2.2. Karaciğer doku örneklerinin biyokimyasal analizleri ……..……..34
3.5.3. İstatistiksel değerlendirmeler ……...38
4. BULGULAR VE TARTIŞMA ……..…….39
4.1. Bulgular ……...……39
4.1.1. Biyokimyasal analizler ……..……39
4.1.1.1. Serum örneklerinin biyokimyasal analizleri ……..……39
4.1.1.2. Karaciğer doku örneklerinde elektroforetik analizler …….……..….41
4.1.2. Karaciğer doku örneklerinin histolojik analizleri ……..……44
4.1.3. Histopatolojik analizlerin istatiksel değerlendirmesi ……..…..45
4.2. Tartışma ……...……49
5. SONUÇ VE ÖNERİLER ……..……..…56
KAYNAKLAR DİZİNİ ……..……57

EK AÇIKLAMA: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı ……..……..…73

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil **Sayfa**

2.1. İskemi reperfüzyon hasarı, geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz hücre zedelenmesi mekanizmaları ……..…6

2.2. a) Bir serbest radikaldeki eşlenmemiş elektronlar, b) Atomik orbitaller ……..…7

2.3. Oksidatif stresin hücrede neden olduğu hasarlar ……...…..…9

2.4. Süperoksit radikali oluşumu ……..…..……..…11

2.5. Askorbik asidin oksidasyon reaksiyonu ……...……...…….….21

2.6. Karaciğer sağ (segment V, VI, VII,VIII) ve sol (segment I, II, III, IV) lobları segmentlerinin vasküler ilişkisinin şematik gösterimi ……..22

2.7. Karaciğerin yapısal organizasyonu ……...23

2.8. Hegzagonal karaciğer lobülü gösterimi; lobülün merkezindeki sentral ven ve lobülün periferindeki portal üçlü (Hepatik arter,Portal Ven,Safra Kanalı) …….……...24

2.9. Sıçan karaciğerinin multilobüler yapısının ve portal (mavi), arterial (kırmızı) damarlanma ile biliyer (sarı) direnajının şematik gösterimi ……..……..……....25

2.10. Geraniol' ün kimyasal yapısı ……...……..….….27

3.1. Nefroktomi işlemi a) Diseksiyon, b) Kesili alanın bağ dokudan temizlenmesi, c) Sağ böbreğin çıkartılması, d) Sağ böbreğin klemp ile tutulup, sütur ile boğumlanarak vucuttan ayrılması ……...……..…31

3.2. İskemi/Reperfüzyon İşlemi a-b) Sol renal arterin izolasyonu, c) Sol renal artere klemp takılması, d) Cerrahi bölgenin kapatılması, e) Reperfüzyon sonunda kalpten kan alınması, f) Karaciğer doku örneklerinin alınması …….……..….32

4.1. Grup I, II, III, IV ' e ait serum ALT seviyelerinin ortalama ve standart hata grafiği ….40

4.2. Grup I, II, III, IV' e ait serum AST seviyelerinin ortalama ve standart hata grafiği …...40

4.3. Grup I, II ,III ve IV' e ait CAT izoenziminin elektroforetik bandları ……41

4.4. Grup I, II, III, IV' e ait karaciğer dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan bant alanlarının ortalama değerleri (mm^2) ……...…..…42

4.5. Gruplara ait SOD izoenziminin elektroforetik bandları ……..……...…42

4.6. Grup I, II, III, IV' e ait karaciğer dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzimnaktivitesi sonucu oluşan bant alanlarının ortalama değerleri (mm^2) …….....…43

4.7. Gruplara ait Gpx izoenziminin elektroforetik bantları ……..……43

4.8. Grup I, II, III, IV' e ait karaciğer dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan bant alanlarının ortalama değerleri (mm^2) ……..…..…….44

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil **Sayfa**

4.9. Grup I' e ait karaciğer doku kesitleri (H&E) …….....……45
4.10. Grup II' ye ait karaciğer doku kesitinde kanama alanları (H&E) …...……..45
4.11. Grup II' ye ait doku kesitinde nüklear infiltrasyon (H&E) ……..……...…….46
4.12. Grup II' ye ait karaciğer doku kesitinde nekroz (H&E) …….....……..46
4.13. Grup II' ye ait karaciğer doku kesitinde vakuolizasyon (H&E) ……..…….47
4.14. Grup III' e ait karaciğer doku kesitleri (H&E) ……..……..….47
4.15. Grup IV' e ait karaciğer doku kesitleri (H&E) ……..…….……..48

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge **Sayfa**

2.1. Reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri ……...10

2.2. Antioksidan gruplar ve etki etme şekilleri ……..……17

2.3. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar ……..…...…….21

2.4. Terpenlerin sınıflandırılması ……..……..…..26

4.1. Deney gruplarına ait hayvanların kan serum örneklerinde belirlenen ALT ve AST miktarlarının Ortalama değerleri ± Standart hata değerleri …….…….....39

4.2. Karaciğer dokusu örneklerinde belirlenen CAT, SOD, Gpx enzim aktivitelerinin bant alanları ……...…..……..41

4.3. Gruplara ait histolojik değerlendirme ……..…..…….48

4.4. Histolojik aktivite indeksi ……48

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
°C	Celcius degree (santigrat derece)
n	denek sayısı (Adet)
rpm	revolition per minute (devir/dakika)
dk	dakika
sn	saniye
L	litre
mL	mililitre (10^{-3}litre)
µL	microliter (mikrolitre) =10^{-6} litre
g	gram
µg	Microgram (mikrogram)=10^{-6} gram
mg	miligram (10^{-3} gram)
kg	Kilogram
1/kg	1/kilogram
mm	milimetre

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

Simgeler	**Açıklama**
kDa	kilodalton
g/mol	molekül ağırlığı
g/cm^3	yoğunluk
mA	Miliamper
cm	santimetre
V	Volt
mM	Milimolar
N	Normal
U	Unit

Kısaltmalar	**Açıklama**
ADP	Adenozindifosfat
ATP	Adenozintrifosfat
AP	Amonyum persülfat
DNA	Deoksiribonükleik asit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

Kısaltmalar	Açıklama
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
H&E	Hematoksilin ve Eosin
HCl	Hidroklorik asit
IL-1	Interleukin-1
İ/R	İskemi/Reperfüzyon
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit
NBT	Nitroblue tetrazolium
PMS	Phenazine methosulphate
RNA	Ribonükleik asit
SOR	Serbest oksijen radikalleri
TEMED	Tetrametil etilen diamin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Atar veya toplar damarlardaki kan akımı bozukluğuna bağlı olarak doku ve organların yetersiz kanlanmasına iskemi denir. Reperfüzyon ise, iskemik doku ya da organların yeniden kanlanması ve oksijenlenmesidir (Akkoç, 2008). Bir doku ya da organın yetersiz kanlanması, o doku veya organa ait hücrelerin fonksiyon bozukluğu ile başlayan, hücre ölümüne kadar ilerleyen ve birbirini takip eden kimyasal süreçleri başlatır (Basım, 2005).

İskemi reperfüzyon sırasında mitokondrilerdeki oksijenli solunumun değişmesi, adenozintrifosfat (ATP)' ın azalması, hücre içi kalsiyum (Ca^{++}) artışı ve hücre iskeleti ile membran fosfolipidlerinin bozulmasına sebep olan proteaz ve fosfatazların aktive olması, sonucu aşırı miktarda serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşur. SOR' lar oluştuktan sonra zincirleme reaksiyon dizileri başlar ve oksidatif stres meydana gelir (Aydoğdu vd., 2005; Basım, 2005).

Patolojik koşullar altında veya normal metabolizma sırasında dokularda oluşan SOR' ların zararlı etkileri endojen ve ekzojen antioksidanlar gibi savunma mekanizmaları tarafından kontrol altında tutulur (Karadeniz, 2005). Bu mekanizmalar düşük moleküler ağırlıklı glutatyon (GSH), vitamin E, C ve β-Karoten gibi enzimatik olmayan antioksidanlar ve enzimatik olan katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi sistemleri içerir (Park vd., 2007). Sağlıklı dokularda oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki denge antioksidanların üstünlüğüyle sürdürülür (Kısaoğlu vd., 2013).

Vücut serbest radikallere karşı endojen antioksidan savunma mekanizmasına sahip olsa da, serbest radikallerin aşırı miktarda artması durumunda vücut sentetik ya da doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanlara ihtiyaç duyar. Sentetik antioksidanlar kanseri tetiklediği için nadiren kullanılırlar. Doğal antioksidanlar genelde bitki kaynaklı olup; sebze, meyve ve hububatlarda bulunurlar ve bu tür besinlerden sağlanırlar (Mustarichie vd., 2012).

Çoğu çalışma bitki esansiyel yağlarındaki fenolik bileşiklerin antioksidan aktivite gösterdiklerini ve bunun sonucu olarak da serbest radikalleri uzaklaştırma kapasitelerinin olduğunu göstermiştir (Ammar vd., 2009). Fenolik bileşiklerden mono ve sesquiterpenler esansiyel yağların temel bileşenleridirler (Taşdelen, 2013). Deneysel çalışmalar, asiklik bir monoterpen olan geraniol' ün anti kanser ve antioksidan potansiyeli dahil olmak üzere, birçok farmokolojik aktivitesinin olduğunu göstermiştir (Tiwari ve Kakkar, 2008; Veena vd., 2012).

Karaciğer ve böbrek; ilaçların ve toksik ürünlerin atılımı olmak üzere metabolizma ve vücudun homeostatik dengesinin düzenlenmesinden sorumlu organlardır (Kadkhodaee vd., 2009). Böbrekte, hipovolemik şok, renovasküler cerrahi, aortun klemplenmesi gibi durumlarda sıcak iskemi/reperfüzyon hasarı oluşabilmektedir (Önal vd., 2004). İskemi/reperfüzon (İ/R)' un, meydana geldiği organdan başka diğer uzak organlarda da hasara neden olabildiği gözlemlenmiş ve bu durum "uzak organ hasarı" olarak adlandırılmıştır (Köksal vd., 2011). Renal iskemi/reperfüzyon, akciğer, beyin ve karaciğer gibi organların hasarına neden olmaktadır (Khastar vd., 2011).

Çalışmamızda; sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş renal iskemi/reperfüzyonun karaciğerde yol açtığı hasarda antioksidan özelliği bilinen geraniol' ün koruyucu etkileri araştırılmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. İskemi Reperfüzyon

Hücrenin enerji yolaklarından oksijenli solunum, ortamdaki yeterli oksijen miktarına bağlıdır ve hücrenin kullanması gereken yeterli oksijen miktarındaki azalma hipoksi olarak tanımlanmaktadır. Hipoksinin en yaygın nedeni ise iskemidir (Baylan, 2013). İskemi terimi ilk olarak 19. yüzyılın başlarında arteriyal akışın engellenmesi ile dokulara yetersiz kan akışını ifade etmek için kullanılmıştır (Kalogeris vd., 2012). Bir organa gelen kan akımının çeşitli nedenlerle yetersiz hale gelmesi veya durması olarak tanımlanan iskemiye bağlı olarak dokunun hipokside kalması hipoksik doku hasarına neden olur. İskeminin uzun sürmesi hücresel bütünlüğün kaybolmasına ve sonuç olarak da hücresel ölüme yol açar (Ozan vd., 2004).

İskemik dokuda mitokondrial ATP üretimi durur ve hücre içerisinde bulunan ATP sırasıyla ADP, AMP, adenozin, inozin ve son olarak hipoksantine katabolize olur. Mitokondrial üretimin durması ve mevcut ATP' nin tüketilmesine bağlı enerji kaybı, hücre membranındaki enerji bağımlı iyon pompalarında fonksiyon bozukluğuna ve hücre içi metabolizmanın anaerobik faza yönelmesine yol açar. Laktat ve hidrojen birikimine bağlı olarak hücre içi pH düşer ve asidoz oluşur. Hücre içi artan hidrojen yükünü dengelemek için, sodyum-hidrojen (Na^+- H^+) pompası ile artan hidrojen hücre dışına atılırken, sodyum-kalsiyum (Na^+- Ca^{++}) pompası ile de kalsiyum hücre içine yer değiştirir (Özcan vd., 2015).

İskemik dokuya kan akımının geri sağlanmasına reperfüzyon denir. Kanın reperfüzyonunun iskemik dokuya faydasının kaçınılmaz olması beklenirken, reperfüzyon kademeli reaksiyonlar ile paradoksal olarak bizzat doku hasarına neden olur (Chamoun vd., 2000). Doku hasarının anahtar mekanizması reperfüzyona verilen aşırı yoğun inflamatuvar cevaptır (Ilmakunnas, 2008). Kan akımının tekrar sağlanması ile dokuya gelip yerleşen polimorf çekirdekli lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri dokudaki yıkımı arttırır.

Reperfüzyon sırasında serbest radikal oluşumunu arttıran nötrofil inflitrasyonu, kompleman sisteminin aktivasyonu, kalsiyum aracılı proteazların aktivasyonu, araşidonik asit metabolizması gibi pek çok sistem doku hasarına neden olmaktadır (Özkayran, 2009). Reperfüzyonda oluşan SOR' ların kalsiyum kullanan proteinlere etki etmesi doğrudan, membran lipid peroksidasyonunu indüklemesi de dolaylı yoldan hücre içinde yüklü miktarda kalsiyum birikmesine yol açar (Baylan, 2013).

Reperfüzyon ile oksijenasyonun sağlanması ayrıca iskemi sürecinde oluşan ksantin oksidazın O_2' yi kullanarak biriken hipoksantini ksantine dönüştürmesiyle aşırı serbest oksijen radikalinin oluşmasına neden olur (Süleyman, 2014). Oluşan serbest oksijen radikalleri mitokondri, lizozom ve plazma membranı üzerinde lipid perokidasyonuna neden olur ve hücre membranlarının permeabilite artışı ile birlikte hücre lizisi gerçekleşir (Selçuk vd., 1996).

Doku ya da organı perfüze eden kan akımındaki yetersizlik, geriye dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre/doku hasarına neden olmaktadır (Kandilci ve Gümüşel, 2005).

2.1.1. Geri dönüşümlü iskemik hasar

Hipoksiden ilk zarar gören yer hücrenin aerobik solunumudur. ATP oluşumu yavaşlar ve durur. Hücre zarında ATP aktivitesinin azalması, hücre zarında bulunan aktif sodyum pompasının yetersiz hale gelmesine ve hücre içinde sodyum birikimine, hücre dışına ise potasyum atılımına yol açar (Aktoz, 2004). Bunu takiben su hücre içine girer ve hücresel şişme meydana gelir. Hücresel şişmeye neden olan bir diğer etken ise yıkım ürünlerinin birikimidir (Akalın, 2014).

Hücresel ATP' nin azalması ile AMP artışı, fosfofrüktokinaz enzimini aktive ederek anaerobik glikolizin artmasına yol açar (Kayabaşı, 2011). Glikoliz, laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi sonucu oluşan inorganik fosfat birikimine yol açarak hücre içi pH' yı düşürür ve asidoza neden olur (Yıldar, 2008).

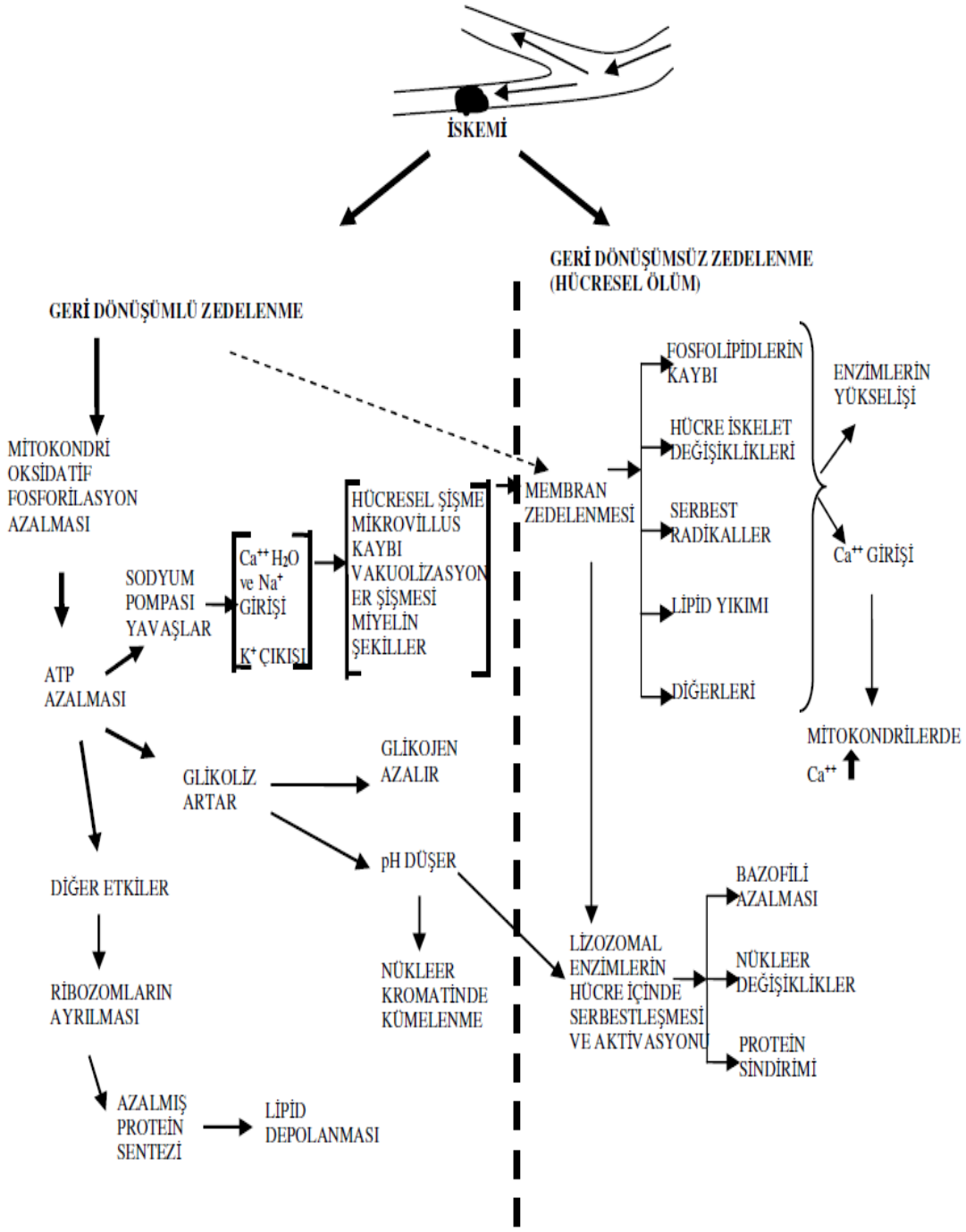
ATP bağımlı çalışan bir diğer pompa intraselüler ve ekstraselüler Ca^{++}' u dengelemeye çalışır. İntraselüler Ca^{++} artışı ile aktive olan fosfolipazlar, araşidonik asit oluşumuna neden olur. Araşidonik asit mitokondriyal enzimleri inhibe ederek serbest radikal oluşumunu artırır. Hücre içerisinde meydana gelen bu sitotoksik olaylar sonucunda, granüllü endoplazmik retikulumun ribozomları ayrılır, polizomlar monozomlara parçalanır ve protein sentezi azalır (Aygün, 2011). İskemi devam ederse, membran geçirgenliği artar ve mitokondrinin fonksiyonu yavaşlar. Bu durumda mitokondriler normal, hafif yoğunlaşmış veya şişmiş, endoplazmik retikulum ise genişlemiş durumda görülür. Buraya kadar olan değişiklikler geri dönebilir (Doğan, 2014).

2.1.2. Geri dönüşümsüz iskemik hasar

İskemi sırasında hücre ölümüne kadar geçen sürede doku ve organlarda meydana gelen değişiklikleri anlamak önemlidir. Dokunun yapısı, sıcaklık ve doku kitlesi iskemiye töleransı etkileyen faktörlerdendir. İskemik hasarın doku tarafından tölere edilebildiği ve dolaşım sağlandığında canlılığını sürdürebildiği en uzun zaman dilimi, kritik iskemi zamanı olarak ifade edilir (Özkaya ve Koçdor, 2008; Geldi, 2012).

Kritik iskemi süresi aşıldığı taktirde hücrelerde geri dönüşümsüz iskemik hasar meydana gelir. Morfolojik olarak mitokondrilerin şiddetli vakuolizasyonu, ileri derece hücre membran hasarı ve lizozomal şişme geri dönüşümsüz hasarda karakteristiktir. İskemik alanın yeniden kanlanması halinde, hücre içine yoğun kalsiyum girişi olmakta ve bu da mitokondriyal matrikste şekilsiz yoğunlaşmalara neden olmaktadır. Mitokondri tarafından daha fazla kalsiyum hücre içine alınır ki buda proteinlerin denatüre olması ve hücresel enzimlerin inhibe olmasına neden olur.

Kalsiyumun hücre içine girmesi ile mitokondri, lizozom ve diğer hücresel membranların permeabilitesi değişir. Lizozomal membran hasarı sonucu lizozomlarda bulunan asit hidrolazlar (RNAazlar, proteazlar, katepsinler) sitoplazmaya geçer. İskemiden kaynaklı hüce içi pH düşüklüğü asit hidrolazların aktive olmasını sağlayarak, deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA), proteinler ve diğer hücre elemanlarının sindirilmesi ile nekroza sebep olur (Yılmaz vd., 2001; Kaya, 2006; Geldi, 2012) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 İskemi reperfüzyon hasarı, geri dünüşümlü ve geri dönüşümsüz hücre zedelenmesi mekanizmaları (Kaya, 2006)

İskemi-reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi ile ilgili başlıca dört faktör hasarın nedenleri arasında yer almaktadır (Kıral, 2012). Bunlar:

1. Serbest oksijen radikalleri

2. Polimorf çekirdekli lökositler (PMNL)

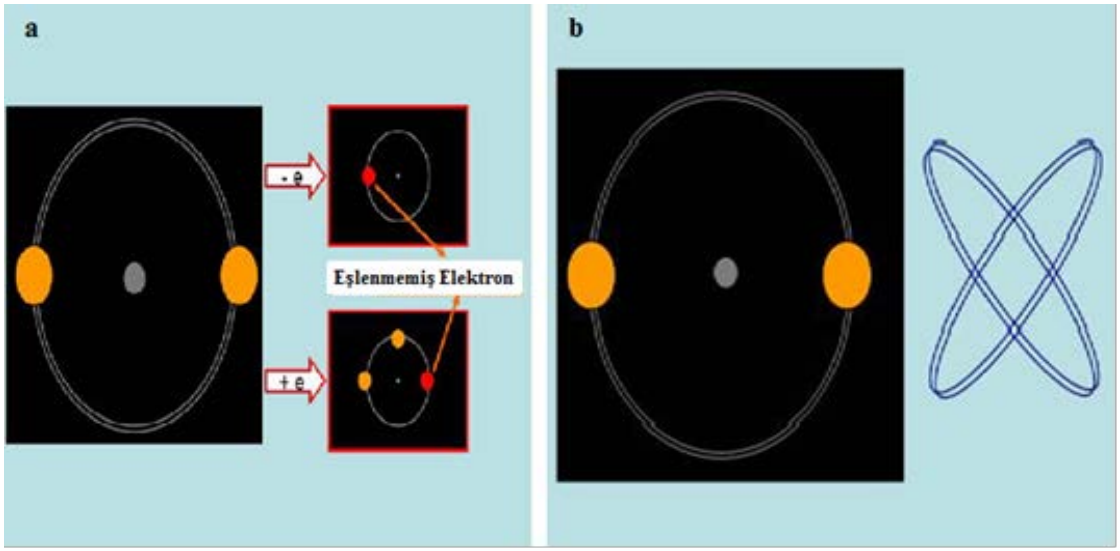
3. Kompleman sistemi

4. Endotel hücreleri

2.2. Serbest Oksijen Radikalleri

Radikal ve serbest radikal terimleri sıklıkla birbirlerinin yerine kullanılmakla beraber, radikal terimi, serbest radikalin su molekülleri tarafından tutulmuş bağlı formunu ifade etmek için kullanılmaktadır (Çakatay ve Kayalı, 2006). Bir bileşik, elektron kaybederek veya elektron alarak serbest radikal oluşturabilir (Delibaş ve Özcankaya, 1995). Atomik ya da moleküler yapılarda eşlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere serbest radikal denir (Çavdar vd., 1997) (Şekil.2.2.a).

Elektronlar atomların orbital adı verilen uzaysal bölgelerinde çiftler halinde bulunur (Şekil.2.2.b). Her bir orbitalde bulunan elektron çiftlerinin spinleri birbirlerine ters yöndedir. Bu elektronlara eşlenmemiş veya ortaklanmamış elektronlar denir (Halliwell, 1984, 1991). Serbest radikaller son yörüngelerindeki eşlenmemiş elektron açığını kapatabilmek için başka bileşiklerin elektronlarını paylaşmaya çalışır (Erbaş ve Şekerci, 2011).



Şekil.2.2 a) Bir serbest radikaldeki eşlenmemiş elektronlar, b) Atomik orbitaller (Perez ve Aguilar, 2013)

Serbest radikaller başlıca 3 yolla oluşur (Kayış, 2010).

1. Homolitik bölünen kovalent bağlar, kovalent bağlı molekülde bölünme sonrasında molekülün herbir parçasında ortak elektronlardan birinin kalmasına sebep olur (2.1).

$$X : Y \longrightarrow X^{\cdot} + Y^{\cdot} \qquad (2.1)$$

2. Radikal özellikte olmayan bir molekülün tek bir elektron kaybı, dış orbitalinde ortaklanmamış elektron kalmasına sebep olur (2.2).

$$\cdot X \longrightarrow X^{\cdot +} + e^{-} \qquad (2.2)$$

3. Radikal özellikte olmayan bir moleküle tek elektron transferi, dış orbitalinde ortaklanmamış elektron içeren radikal formun oluşmasına sebep olur (2.3).

$$X + e^{-} \longrightarrow X^{\cdot -} \qquad (2.3)$$

2.2.1. Serbest radikallerin başlıca etkileri

Pozitif ve negatif etkileri olan serbest radikallerin, sağlık için belirli miktarda üretilmesi gerekir. Bağışıklık sistemi başta olmak üzere, enzim aktivasyonlarında, kimyasal reaksiyonların seyrinde, fagositoz, kas kasılmasında, hücrelerin biyogenezinde, hücresel sinyal iletiminde görev alırlar. Birçok yararlı etkilerinin yanı sıra, fazla üretilmeleri, doku hasarına, hücre zehirlenmesine, fonksiyon bozukluğuna ve iltihaplanmaya yol açar (Öz, 2013). Serbest radikal reaksiyonları biyolojik sistemlerde önemli bir yer tutar. Yaşam süreleri çok kısa olan ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif olan serbest radikaller, hücre bileşenlerinin tümüyle etkileşme özelliği göstermekte, yararlı biyomoleküllerin (nükleik asitler, proteinler, karbohidratlar, lipidler) fonksiyonlarını yitirmesine neden olmaktadır (Gümüştaş ve Atukeren, 2008).

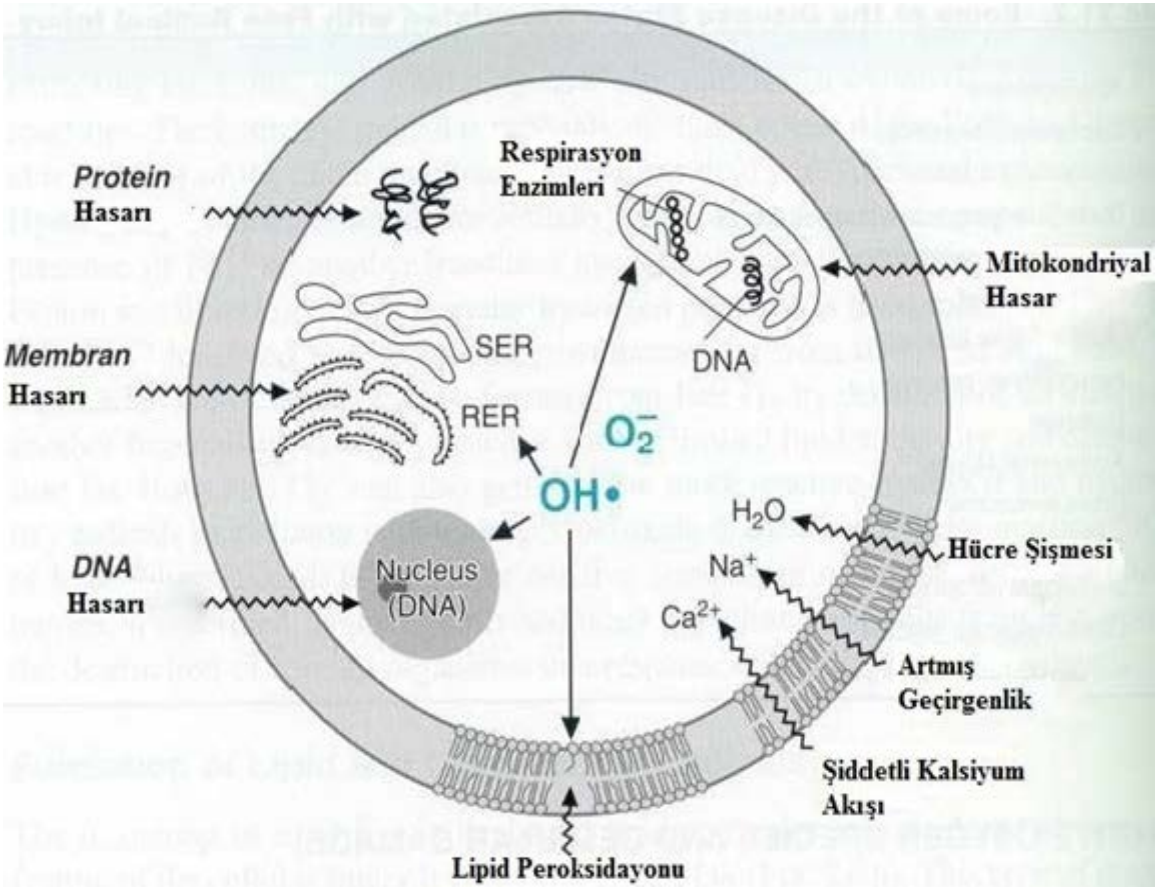
Serbest radikaller, hücre membranına zarar vererek hücre zedelenmesinde rol oynarlar. Serbest radikallerin hücrede meydana getirdiği hasarlar:

a. Lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre membranı hasarı yaparlar.

b. Proteinlere hasar vererek iyon (Na/K, Na/ Ca) pompası dengesini bozarlar.

c. DNA hasarı yaparak, yetersiz protein sentezine neden olurlar.

d. Mitokondri hasarına yol açarak, ATP yokluğuna neden olurlar (Ünal, 2012) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Oksidatif stresin hücrede neden olduğu hasarlar (Savaş, 2011)

Serbest radikallerin oluşturduğu hasarlar arasında en önemlilerinden olan lipid peroksidasyonu, membran yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksijen radikallerine maruz kalmasıyla oluşur (Gümüştaş ve Atukeren, 2008).

Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan aldehitler, hücre membranlarından iyon alış verişine etki ederek, membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanması sonucu, iyon geçirgenliğine ve enzim aktivitesi değişimine yol açarlar (Mercan, 2004).

2.2.2. Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri

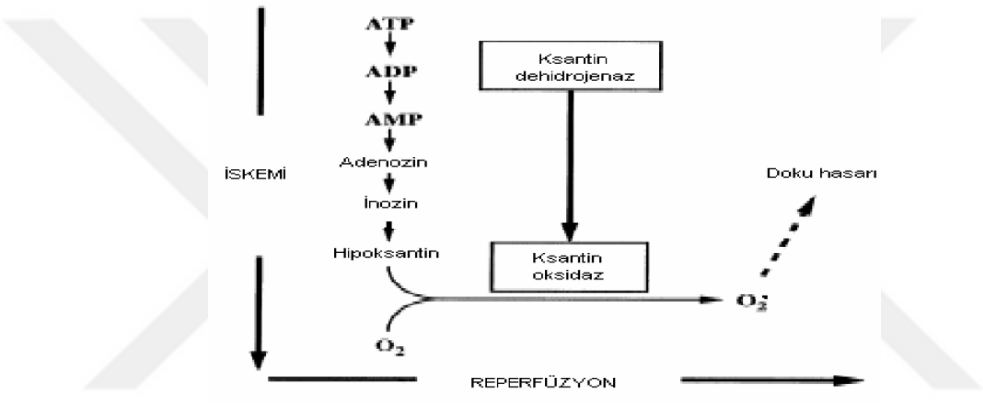
Biyolojik öneme sahip birçok atomda, eşlenmemiş elektron bulunduran sülfür, karbon, hidrojen veya nitrojen merkezli radikaller olabilir. Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin önemli çoğunluğu oksijen kaynaklıdır (Delibaş ve Özcankaya, 1995). Oksijen, canlı organizmaların yapı taşlarında bulunan moleküllerin yapısına girmesi, besin kaynağı olan maddelerde temel element olması, oksijenli solunum yapan canlılarda indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonları ve solunumda rol oynaması sebebiyle önemlidir. Oksijenin eksik indirgenmesi ile oksijen radikalleri oluşmaktadır (Kayış, 2010). Normal şartlarda biyolojik sistemlerdeki moleküler oksijen, ATP üretimi için elektron taşıma sisteminde (ETS) bir dizi reaksiyon neticesinde suya indirgenir. Bu reaksiyon dizileri sırasında bir miktar moleküler oksijen tam olarak indirgenemez (Paşaoğlu, 2011). Moleküler oksijen sahip olduğu iki ortaklanmamış elektrondan dolayı bir diradikal olarak değerlendirilmektedir (Kayış, 2010). Serbest radikaller reaktif oksijen ve nitrojen türleri olarak iki büyük gruba ayrılmaktadır. Bu iki büyük grup da kendi içinde radikal ve radikal olmayan iki grup bileşenden oluşmaktadır (Ekici ve Sağdıç, 2008) (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 Reaktif oksijen ve nitrojen çeflitleri (Ekici ve Sağdıç, 2008)

Reaktif Oksijen Çeşitleri		**Reaktif Nitrojen Çeşitleri**	
Radikaller	**Radikal Olmayanlar**	**Radikaller**	**Radikal Olmayanlar**
Süperoksit, $O_2^{\cdot -}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2	Nitrik oksit, $NO^{\cdot}$	Nitrosil, NO^+
Hidroksil, $HO^{\cdot}$	Hipokloroz asit, HOCl	Nitrigen dioksit,	Nitrikoksit, NO^-
Peroksil, $RO_2^{\cdot}$	Ozon, O_3	$NO_2^{\cdot}$	Nitroz asit, HNO_2
Alkoksil, $RO^{\cdot}$	Singlet oksijen, ($^1O_2$)		Dinitrojen trioksit, N_2O_3
Hidroperoksil,	Peroksinitrit, $ONOO^-$		Dinitrojen tetraoksit, N_2O_4
$HOO^{\cdot}$			Nitronyum iyonu, NO_2^+
			Peroksinitrit, $ONOO^-$
			Alkil peroksinitrit, ROONO

2.2.2.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Elektron konfigürasyonunda eşlenmemiş elektrona sahip olan moleküler oksijene, bir elektron eklenmesiyle süperoksit anyonu radikali oluşur. Süperoksit' in üretimi çoğunlukla hücrelerin mitokondrilerinde gerçekleşir (Valko vd., 2007). İskemi, ATP yıkımı sonucu dokuda ksantin, hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaz (XO)' a dönüşümüne neden olur. Ksantin moleküler oksijen (O_2) ve su ile birleşerek ksantin oksidaz yardımıyla ürat, $O_2^{\cdot-}$, hidrojen iyonu (H^+) oluşturur (Langseth, 1995; Şener ve Yeğen, 2009) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Süperoksit radikali oluşumu (Kıral, 2012)

Canlılarda başlıca şu mekanizmalarla üretilir:

1. Hidrokinonlar, flavinler, tiyoller, katekolaminer, ferrodoksinler, indirgenmiş nükleotitler gibi indirgeyici biyolojik moleküller, oksijene tek elektron vererek süperoksit radikali oluştururlar.

2. Dehidrogenazlar ve oksidazlar gibi enzimlerin katalitik etkisi ile süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir.

3. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında, NADH (nikotinamid adenin dinükleotit) dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağı sonucu oluşabilir.

4. Aktive olmuş fogositik lökositler antibakteriyel etki için bol miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve bulundukları ortama verirler (Kılınç, 2002).

Serbest radikal olarak belirgin bir toksik etkisi yoktur. Dismutasyon yolu ile hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metal iyonlarını indirgemesi nedeniyle önemli bir radikaldir (Yapar, 2006). Uzun bir yarı ömre sahip olması, lipofilik özellikte olmasından dolayı oluştuğu yerden uzak bölgelere difüzyonla taşınabilir (Tekkes, 2006).

2.2.2.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin iki elektron alması veya süperoksit' in bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit oluşur. Yapısında eşleşmemiş elektron içermediğinden radikal değildir (İşbilir, 2008). Membranları geçebilen, sitozole difüze olan ve uzun ömürlü bir oksidandır ve böylece süperoksit' in ulaşamadığı membranla korunmuş yapılara ulaşabilir (Karadağ, 2013).

Oksijenli solunum yapan canlılarda, süperoksitlerin, katalitik aktivitesi yüksek bir enzim olan SOD tarafından katalizlenmesi ile H_2O_2 oluşur (Büyük vd., 2012). H_2O_2 oluşumunda spontan olarak gerçekleşen dismutasyon reaksiyonu iç optimum pH: 4,8 iken, SOD enziminin katalizlediği reaksiyonlar daha geniş pH aralığında gerçekleşebilir (Kayış, 2010). Aynı zamanda in vivoda aminoasit oksidaz, XO gibi oksidaz enzimler aracılığı ile de H_2O_2 üretilir (İşbilir, 2008). Hidrojen peroksit, demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikaline öncülük yapar ve proteinlerin "hem" gruplarındaki demir ile reaksiyona girerek hücre zarında lipid peroksidasyonunun başlamasına sebep olan yüksek oksidasyon seviyesindeki reaktif demir formlarını oluşturur (Palüzar, 2013).

2.2.2.3. Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)

Moleküler oksijene üç elektron transferi ile $OH^{\cdot}$ oluşur. H_2O_2, Fe^{+2} ve diğer geçiş metalleri (Cu, Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında indirgenerek (Fenton reaksiyonu) $OH^{\cdot}$ oluştururken (2.4), $O_2^{\cdot -}$ ile Fe^{+2} ve Cu^{+2} katalizi yardımıyla (Haber-Weiss reaksiyonu) fehidroksil radikalini oluşturur (2.5) (Çaylak, 2011). Ayrıca, iyonlaştırıcı radyasyonun etkisi ile su moleküllerinin iyonlaşması sonucuda $OH^{\cdot}$ oluşur (Palabıyık, 2014) (2.6).

$$Fe^{+2} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{+3} + OH^{\cdot} + OH^{-} \quad (2.4)$$

$$Fe^{+2} + O_2^{\cdot -} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{+3} + OH^{\cdot} + OH^{-} \quad (2.5)$$

$$H_2O \xrightarrow{\text{X veya Gama Işını}} H^{\cdot} + OH^{\cdot} \quad (2.6)$$

Son derece reaktif bir oksidan olan $OH^{\cdot}$, oluştuğu yerde büyük hasara yol açar. $OH^{\cdot}$'' ın, biyolojik moleküller olan tiollerden hidrojen atomu koparması sonucu oluşan sülfür radikali, oksijenle birleşerek biyolojik moleküllerde hasar yapıcı etkiye sahip oksisülfür radikallerini meydana getirir (Uyanık, 2014). Hücrelerin hidroksil eliminasyonunda kullanabilecekleri bir enzim sistemleri bulunmadığından kolaylıkla biyolojik moleküler ile reaksiyona girebilir ve fazla miktarda üretildiğinde ise hücrelerin ölümüne neden olur (Büyük vd., 2012).

2.2.2.4. Singlet oksijen ($^1O_2$)

Moleküler oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alarak kendi dönüş yönünün (spin) tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi, süperoksit' in nitrik oksit ile reaksiyonu ve hidrojen peroksit' in hipoklorit ile reaksiyonu sonucu oluşur (Çaylak, 2011). Ortaklanmamış elektronu olmadığından ötürü radikal olmayan bir reaktif oksijen türüdür (Kayış, 2010). İlk olarak 1924 yılında belirlenmiş ve oksijenden daha rektif bir form olduğu ortaya konulmuştur (Ekici ve Sağdıç, 2007). Pigmentlerin oksijenli ortamda ışığı absorblaması, hidroperoksitlerin metaller varlığında yıkımı, spontan dismutasyon tepkimeleri, prostaglandin endoperoksit sentaz, sitokrom p450 tepkimeleri, myelo/kloro/lakto peroksidaz enzimlerinin etkileri gibi enerjetik reaksiyonlar sonucu sigma singlet oksijen (enerjisi daha fazla ve kısa ömürlü) ve delta singlet oksijen (daha uzun ömürlü) olmak üzere iki tip singlet oksijen üretilir (Özenç, 2011).

2.3. Polimorf Çekirdekli Lökositler (PMNL)

Polimorf çekirdekli lökositler iskemi/reperfüzyon hasarının patofizyolojisinde önemli role sahiptir (Süleyman, 2014). İskemi/reperfüzyonu takiben lökosit adezyonu, kemotaksis ile lökosit endotel hücre adezyonu meydana gelir (Uylaş, 2015).

Mikrovasküler oklüzyon, serbest oksijen radikalleri üretimi, vasküler permeabilite artışı ve sitokin salınımında artış gibi nedenlerden dolayı PMNL' lerin İ/R olayında doku hasarına yol açtığı düşünülmektedir (Eltzschig ve Collard, 2004).

Endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan adezyon molekülleri olan selektinler (L, E, P selektin) PMNL hücrelerinin aktivasyonu ile migrasyonunu sağlar. Aktive olan lökositler nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna (NF-kB) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF-α) sentezine yol açar ve bu maddeler lökositlerin ürettiği serbest radikallerle etkileşime girerek mast hücrelerinden adezyon moleküllerini mobilize eden inflamatuvar mediatörlerin salınmasını uyarırlar (Şener ve Yeğen, 2009).

2.4. Kompleman Sistemi

Kompleman aktivitesini sağlayan C3b ile onun metabolitleri (iC3b, C3dg, C3a, C5a) ve son ürünü olan ve aynı zamanda membran atak kompleks (MAC) olarak adlandırılan C5b-9 gibi efektör moleküller vardır.

Bu moleküller çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahiptir. C3b patojenlerin işaretlenerek fagositozlarını kolaylaştırır. C3a ve C5a lokal enflamasyon ve hücre aktivitesini başlatır ve MAC ise patojenlerin yok edilmesi ve doku hasarını kontrol eder (Peng vd., 2012). C3a ve C5a iskemi sırasında nötrofillerin iskemik alana göç etmesine neden olur ve nötrofiller bu alanda serbest oksijen radikalleri üretir (Akalın, 2014).

2.5. Endotel Hücreleri

Endotel sitokinleri ve enflamatuar olayları düzenleyen, adezyon moleküllerini üreten, trombosit aktivasyonunda etkili faktörlerin sentezlenmesi gibi damar homeostazını düzenleyen aktivitelere sahip olan bir tabakadır. (Sayın vd., 2008). Kan akışının engellenmesi ile ilk değişiklikler endotel hücrelerinde meydana gelir. İskemi/reperfüzyon' u takiben endotel hücrelerinin aktive olması ile birlikte serbest radikal üretiminde artış olur.

Serbest oksijen radikalleri etkisi ile de platelet aktive edici faktör (PAF), interlökin-1 (IL-1), prostaglandinler (PGI2, PGE2), endotelin, NO (nitrit oksit), büyüme faktörleri, tromboksan A_2, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör, lökotrien C4 ve D4, histamin, bradikinin, H_2O_2, IL-8, IL-1α ve TNF-α salgılanır (Geldi, 2012).

Endotel hücreleri SOR' ların üretim yeri ve SOR' lar için potansiyel bir hedeftir. Endotel, ayrıca damar homeostazında etkili olan Endotelin (ET) ve NO gibi maddeleri de üretir. NO atar damarlarda ET' nin damar büzücü etkisini tersine çevirir iken, toplar damarlarda bunun tam tersini gerçekleştirir. İ/R hasarında ET/NO oranı endotelin lehine bozularak atar damar büzülmesi ve toplar damar genişlemesi meydana gelir (Uylaş, 2015).

2.6. İskemi / Reperfüzyon' a Bağlı Uzak Doku Hasarı

Reperfüzyona yanıt olarak iskemi sonrası dokuda meydana gelen hasar, diğer organları da etkilemesi açısından önemlidir (Şahin, 2007). Uzak organ hasarına neden olan etkenler primer hasarlanan dokudan kaynaklanmakla birlikte, aktive lökositler ve inflamatuvar mediyatörlerden de kaynaklanabilmektedir (Özcan vd., 2015). İskemi/reperfüzyonda inflamatuvar yanıt nötrofil aktivasyonu ile karakterizedir. Aktive nötrofillerin ürettiği reaktif oksijen metabolitleri ve sitotoksik proteinler (proteazlar, miyeloperoksidazlar, laktoferrin gibi) ektra selüler sıvıya salınarak doku hasarına neden olurlar (Kaçmaz vd., 2005). Reperfüzyon sırasında dolaşıma salınan mediatörler neredeyse her organda makrofaj aktivasyonuna ve vasküler endoteli aktive edebilen inflamatuvar sitokinlerin (TNF-α gibi) üretimine neden olmaktadır (Teke vd., 2008).

Sitokinler sinyal molekülleri ailesine aittir ve immün sisteme özgün hücreler tarafından salınırlar. İnflamasyon ile ilgili olarak sitokinler proinflamatuvar (TNF-α, IL-1) ve antiinflamatuvar (IL-10) olarak iki gruba ayrılır ve her iki grupta organizmanın homeostazisini korumada önemli role sahiptir. Böbrek iskemi/reperfüzyonu hepatik TNF-α seviyesinin, miyeloperoksidaz aktivitesinin ve thiobarbütirikasit konsantrasyonunun artmasına sebep olur (Seifi vd., 2014). Tüm hücrelerde TNF-α' nın bağlanabileceği on beş' e yakın hücre mebran reseptörleri vardır ve bu reseptörlere bağlanıp aktive olduğunda spesifik hücresel cevap oluşturarak hücre ölümüne yol açar (Aydoğan, 2006).

Tübülar epitelyal hücreler tarafından üretilen TNF-α İ/R sırsında lökositleri aktive eder, endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekpresyonuna neden olur ve aynı zamanda diğer organ sistemlerine sırasıyla etki eden interlökin 6 (IL-6), IL-8 ve IL-10 gibi proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin salınımına etki eder (Golab vd., 2009). Bu süreç endotel hücreleri arasındaki kavşaklarda endotelyal hasar, hücre şişmesi, nekroz ve apoptoz ile sonuçlanırken, bunu takiben dolaşımdaki mediatörler aracılığıyla uzak organlardaki inflamatuvar hücrelerin aktivasyonu gerçekleşir (Gregova vd, 2013).

2.7. Antioksidan Savunma Sistemi

Sağlıklı bir yaşamın sürekliliğinde hem hücrelerin, hem de organizmanın oksidan-antioksidan dengesi öne çıkmaktadır. Serbest radikal oluşumundaki artışa veya antioksidan sistemlerdeki yetersizliğe bağlı olarak, organizmada oksidatif stres gelişir. Bu nedenle, serbest radikal üreten reaksiyonlar ve antioksidan savunma biyolojik sistemlerde önemli yer tutmaktadır (Karafakıoğlu, 2010).

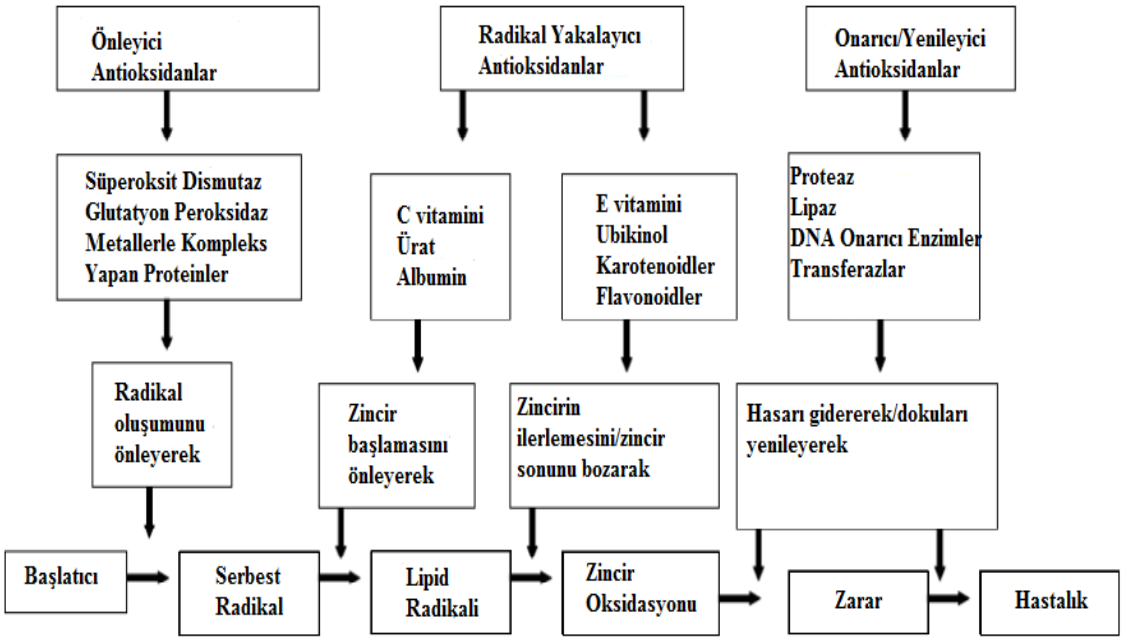
Vücudun antioksidan savunma sistemi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan bileşiklerden oluşmakta ve bu bileşiklerin antioksidan kapasiteleri vücutta üretilen serbest radikaller ve gıdalarla alınan antioksidanlar arasındaki dengeye göre değişmektedir (Koca ve Karadeniz, 2005).

2.7.1. Antioksidanların etki etme şekilleri

Antioksidanlar moleküllerdeki oksidan hasarı önleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmakta ve bu tanımla bağlantılı olarak antioksidanların etkileri farklı şekillerde olabilmektedir (Yapar, 2006).

Antioksidanlar oluşan serbest radikalleri toplayıcı etki ile kararlı hale getirerek, zincir kırıcı etki ile serbest radikal üretimine neden olan reaksiyonları durdurarak, baskılayıcı etki ile reaksiyon hızını azaltarak, onarıcı etki ile biyolojik moleküllerdeki hasarı onararak, organizmadaki antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezini arttırarak etki gösterirler (Çizelge 2.2) (Dündar ve Aslan, 2000; Özel ve Birdane, 2014).

Çizelge 2.2 Antioksidan gruplar ve etki etme şekilleri (Okcu ve Keleş, 2009)



Endojen-ekzojen veya enzimatik-enzimatik olmayan şeklinde sınıflandırılabilen antioksidan sistem, normal şartlarda serbest radikal üretimiyle dengededir (Sezer ve Keskin, 2014).

2.7.2. Endojen kaynaklı antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzim olan ve enzim olmayanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar (Aydemir ve Sarı, 2009).

2.7.2.1. Enzim olan endojen kaynaklı antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD): Hücresel SOD metallo enzimlerin bir grubudur ve organizmayı oluşturan her hücrede esansiyel bir enzimdir (Çaylak, 2011). Antioksidan enzimlerin en önelisi olan SOD, karaciğer hücreleri (hepatositler)' nin, eritrositlerin ve beyin hücrelerinin matriksinde bulunmaktadır (Usta ve Ersan, 2013). SOD enzimi H_2O_2 uzaklaştırıcı enzimlerle ortaklaşa çalışır.

SOD' un ökaryotik hücrelerde sitozolde bulunan Cu ve Zn içeren dimerik CuZnSOD, mitokondride bulunan Mn içeren tetramerik MnSOD ve hücredışı sıvılarda bulunan Cu ve Zn içeren EC-SOD (Ekstraselüller SOD) olmak üzere üç izoenzimi vardır (İşbilir, 2008). EC-SOD' u sadece fibroblast ve endotelyal hücreler sentezler (Çaylak, 2011).

Fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücrelerde süperoksit' i hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürerek süperoksit düzeyini düşürmek ve lipid peroksidasyonunu engellemektir (Özel ve Birdane, 2014). Süperoksit' in anyon ve katyon formlarının bulunduğu reaksiyonlar pH: 4,8 de kendiliğinden gerçekleşirken, fizyolojik şartlarda (Ph: 7,35-7,45) iken reaksiyon daha yavaş gerçekleşir (Memişoğulları, 2005).

Katalaz (KAT): Kanser, katarakt, diyabet, ateroskleroz, iskemi/reperfüzyon hasarı, artrit, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanma gibi patolojik şartlarda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada antioksidan sistemin öncelikli bir enzimidir (Yılmaz ve Ozan, 2003).

Yapısında 4 "hem" grubu bulunduran ve peroksizomlarda lokalize olmuş bir hemoproteindir (Özenç, 2011). İlk defa Sumner ve Dounce tarafından 1937 yılında sığır karaciğerinden izole edilmiştir. Dokulardaki aktivitesi farklılık göstermektedir (Bingöl ve Kocamış, 2010). Karaciğer ve eritrositlerde aktivitesi yüksektir (Uyumlu, 2007). Hidrojen peroksit' i (H_2O_2) su ve oksijne parçalar (Karabulut vd., 2002). Katalaz H_2O_2 yi hem elektron verici hem de alıcı substrat olarak kullanır ve H_2O_2 nin hücresel bileşiklere zarar vermesini engeller (Palüzar, 2013).

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px): İlk defa Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptanan enzim, hücrelerde oluşan H_2O_2' lerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan ve alt birimlerinde selenyum (Se) atomu içeren bir selenoenzimdir (Günaldı, 2009).

Selenyum bağımlı aktiviteye sahip olan tipi hem H_2O_2 hem de lipit peroksitleri inhibe ederken, Se' dan bağımsız olan mitokondri ve sitozolde bulunan tipi sadece lipid hidroperoksitleri metabolize eder (Şenses vd., 1999).

Hidrojenpoeroksiti GSH' ı kullanarak su (H_2O)' ya indirger (2.7). (Hekim, 2008). Glutatyonun okside formunun (GSSG) tekrar GSH' a indirgenmeside glutatyon redüktaz (GR) tarafından gerçekleştirilir (2.8) (Çaylak, 2011).

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{\text{Glutatyon peroksidaz}} GSSG + 2H_2O \qquad (2.7)$$

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{\text{Glutatyon Redüktaz}} 2GSH + NADP^+ \qquad (2.8)$$

Aktivitesinin %60-75' i ökaryot hücrelerin stoplazmasında, %25-40' ı mitokondridedir. Eritrosit ve karaciğerde en yüksek aktiviteye sahiptir (Tekkes, 2006). Fosfolipaz enziminin etkisi ile membran fosfolipidlerinden ayrılan yağ asidi hidroperoksitleri ve H_2O_2' nin zararlı etkilerini ortadan kaldırarak eritrositlerin membran yapılarının korunmasını sağlar ve hemolize karşı dayanıklılıklarını arttırır (Yegin ve Mert, 2013).

GSH-Px' in selenosistein içeren 4 izoenzimi vardır:

1. GSH-Px-1: Molekül ağırlığı 22-23 kDa olan, herbiri bir selenosistein rezidüsünden oluşan dört özdeş alt üniteden oluşan tetramerik bir proteindir. Başlangıçta glutatyon peroksidaz olarak adlandırılan enzim klasik olarak GSHPx ve genelde GSHPx-1 [EC1.11.1.9.] şeklinde adlandırılmıştır.

2. GSH-Px-2: Sitozolde oluşan, GSHPxG1 (gastrointestinal GSHPx) veya GSHPx-2 olarak adlandırılan tetramerik bir proteindir. GSHPx-1 gibi hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksidazları hızlı bir şekilde indirger.

3. GSH-Px-3: Ekstra sellüler fonksiyona sahip bir glikoproteindir.

4. GSH-Px-4: Moleküler ağırlığı 20-22 kDa olan, dört slenyum atomu içeren fosfolipid hidroperoksid GSHPx (GSH-Px-4) GSH-Px1 proteininin tersine substrat olarak fosfolipid hidroperoksid ile reaksiyona girebilir. Diğer GSH-Px lerin tetramerik yapılarından

farklı olarak GSH-Px-4 bir monomerdir. GSG-Px-1 ve GSH-Px-2' nin aksine glutatyonla birlikte ayrıca çok sayıda indirgeyici substratlar kullanır (Farahat, 2003).

2.7.2.2. Enzim olmayan endojen kaynaklı antioksidanlar

Vücut sıvıları ve organik ürünler antioksidan enzimlerin hiçbirini içermez. Transferrin, laktoferrin, haptoglobulinler, albumin, seruloplazmin, bilirubin, ürat, glikoz, hemoglobin, hemopeksin, albumin enzim olmayan temel ektraselüler antioksidanlardır (Dündar ve Aslan, 2000).

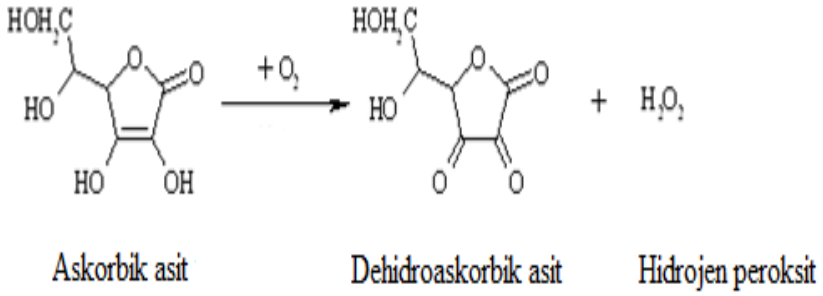
2.7.3. Eksojen kaynaklı antioksidanlar

Endojen antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda çoğunlukla gıdalarla yada bazı preparatlarla alınan ve organizmadaki antioksidan sistemi dolaylı veya doğrudan destekleyen ve bu sayede oksidatif stres oluşumunu önleyen maddelerdir (Büyüktuncel, 2013). Eksojen antioksidanlar; vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olarak sınıflandırılabilir (Özen, 2012).

2.7.3.1. Vitamin olan eksojen kaynaklı antioksidanlar

Vitamin E (α-tokoferol): E vitamini etkisi gösteren bileşikler tokoferoller olarak adlandırılan kimyasal bileşiklerdir. Tokoferoller arasında ise E vitamini aktivitesi en yüksek olan α-tokoferoldür (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015). Vitamin E $^1O_2$' yi $OH^{\cdot}$' a ya da $O_2^{\cdot -}$' ye indirgeyerek peroksidasyon zincirini kırar. Hücre zarında α-tokoferol' ün görevini Gpx üstlenir. α-Tokoferol peroksitlerin oluşumunu engelleyerek, Gpx ise oluşmuş olan peroksitleri ortadan kaldırarak birbirini tamamlayıcı antioksidan etki gösterirler (Karabulut ve Gülay, 2016). Oksidize α-tokoferol' ün indirgenmesi glutatyon ya da askorbik asit varlığında olur ve antioksidan etki için gereklidir (Preiser, 2006).

Vitamin C (askorbik asit): Etken maddesi askorbik asit olan C vitamini oksidatif hücre hasarına karşı koruyucudur (Subasree, 2014). Redoks potansiyeline sahip olması nedeniyle indirgen ajan ve serbest radikal yakalayıcı özelliğe, bir H iyonu vermesi ile de serbest radikal zincirini inhibe etme özelliğine sahiptir (Şekil.2.5) (Karasakal, 2007).



Şekil 2.5 Askorbik asidin oksidasyon reaksiyonu (Karasakal, 2007)

β-Karoten: β-Karoten bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, doğal pigmentlere sahip ve Vitamin A' nın öncüsü olan bir antioksidandır (Tabakoğlu ve Durgut, 2013). Serbest radikalleri biyolojik hedeflerle reaksiyona girmeden etkisiz hale getirebilir. Ayrıca zincir kırıcı özelliği ile peroksit radikallerin oluşmasını engeller (Kayabaşı, 2011).

2.7.3.2. İlaç olarak kullanılan eksojen kaynaklı antioksidanlar

İ/R hasarlanmasını önleyen pek çok endojen kaynaklı antioksidan mekanizması vardır ve ekzojen kaynaklı olarak da hasarı engelleyebilen birçok ilaç bilinmektedir (Çizelge 2.3) (Basım, 2005).

Çizelge 2.3 İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar (Aydemir ve Sarı, 2009)

Antioksidan	Reaksiyonu
Oksipurinol, allopurinol, pterin aldehit, tungsten	Ksantin oksidaz reaksiyonlarında süper oksit üretimini inhibe eder.
Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuarlar	NADPH oksidaz inhibitörüdürler
Trolox-C	Vitamin E analoğu olarak görev yapar.
Ebselen, asetilsistein	Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) arttırır.
Mannitol	Hidroksil radikalini toplayıcı etki gösterir.
Desferroksamin	Serbest ferri demiri (Fe^{+3}) bağlar.
Demir şalatörleri	Hücre içine girerek serbest demiri bağlayarak, fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu engeller.

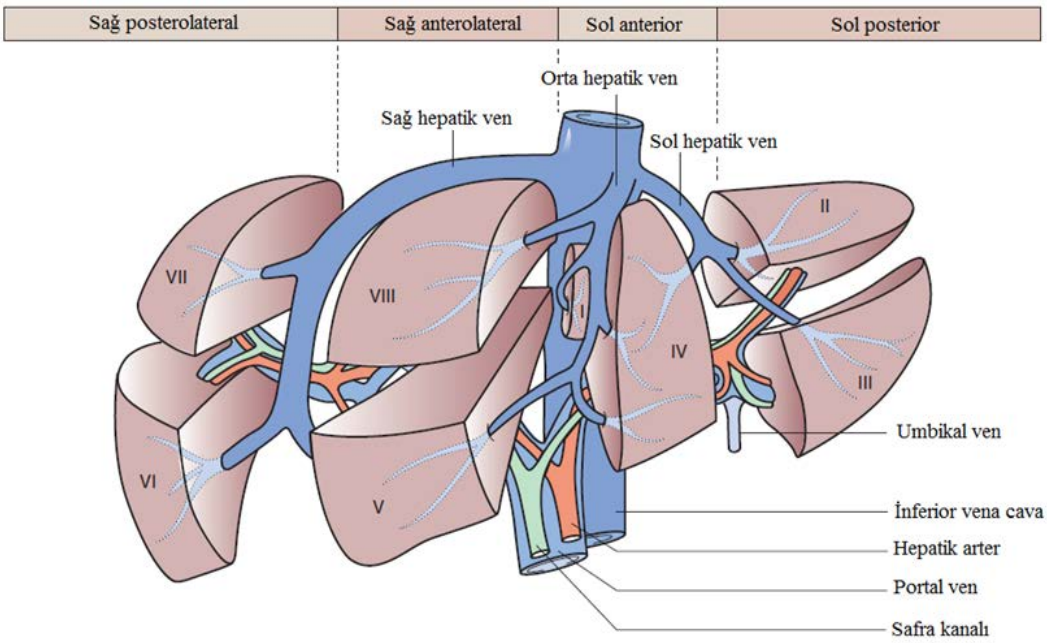
2.7.3.3. Gıdalardalarda bulunan eksojen kaynaklı antioksidanlar

Endüstriyel süreçlerde gıda maddelerinin depolama stabilitelerini arttırmak için kullanılan bütilhidroksitoluen (BHT), bütilhidroksianisol (BHA), sodyum benzoat, etoksikuin, propilgallat, demir süperoksit dismutaz olarak sayılabilir (Akkuş, 1995).

2.8. Karaciğer

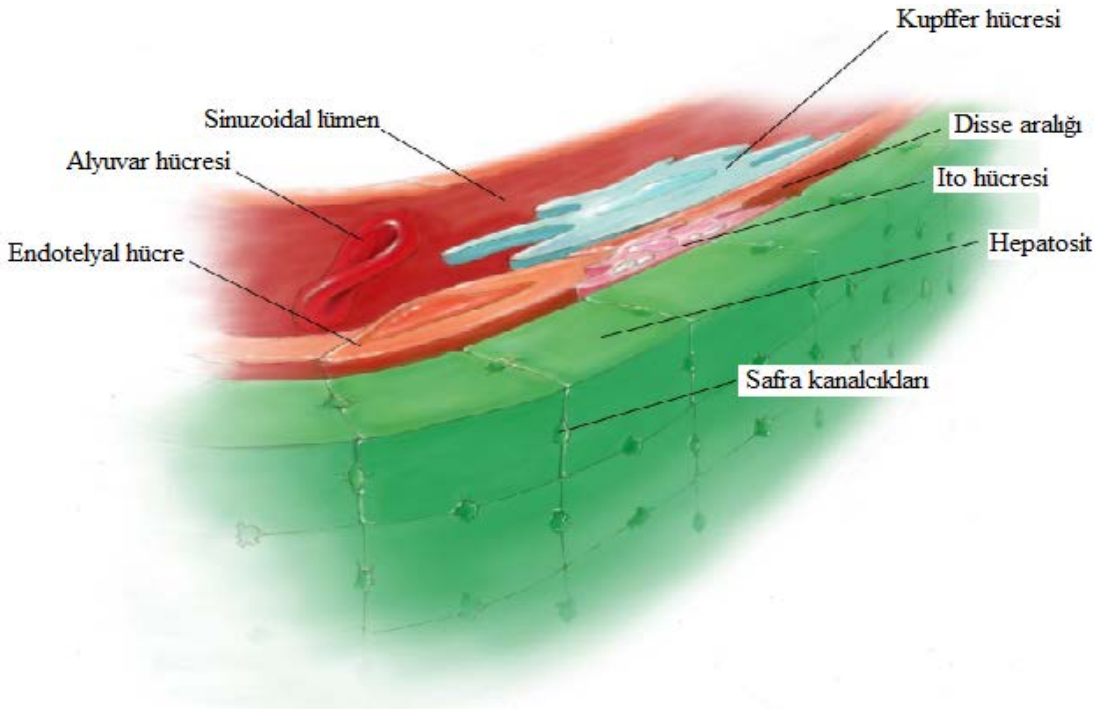
Karaciğer, karın boşluğunda sağ üst tarafta diyafragma ile sağ alt kostaların altında yerleşmiş area nuda bölgesi dışında peritonla sarılı olarak bulunur (Tanbek, 2011).

Karaciğer, parankimini loblara ve lobüllere ayıran ince bağdoku özelliğinde olan Glisson kapsülü ile çevrilidir (Petcoff vd., 2006). Basitçe anatomisi sağ lob (segment V, VI, VII ve VIII' i içerir) ve sol lob (medyal (IV) ve lateral segmantler (II, III) ve kaudat lob (I) içerir) olarak ikiye ayrılır (Şekil 2.6) (Altıntaş, 2012). İç ve dış salgı yapan vücudun en büyük bezidir (Yurdakul vd., 2005). Boyutu yaş, cinsiyet ve vücut ağırlığına göre değişiklik gösterir ve bebeklikte vücut ağırlığının %5' i kadar iken, yetişkinlikte bu oran %2' ye düşer (Patil vd., 2014).



Şekil.2.6 Karaciğer sağ (segment V, VI, VII,VIII) ve sol (segment I, II, III, IV) loblarısegmentlerinin vasküler ilişkisinin şematik gösterimi (Schıff vd., 2012)

Karaciğer, paramkimal (hepatosit) ve parankimal olmayan karaciğer sinuzoidleri arasına yerleşmiş doku makrofajları olan Kupffer hücreleri, sinusoidal endotelyal hücreler ve sinuzoidlerin dışında bulunan Disse aralığına yerleşmiş ‘‘Ito hücreleri’’ olarak adlandırılan stellat hücrelerinden oluşur (Tsutsui ve Nishiguchi, 2014) (Şekil 2.7). Disse aralığı, karaciğer parankim hücreleri ile sinüsoidler arasında yoğun madde geçişinin sağlandığı bir aralıktır ve bu aralıkta bulunan Ito hücrelerinde yağ ve yağda eriyen A vitamini depolanır (Yurdakul vd., 2005).



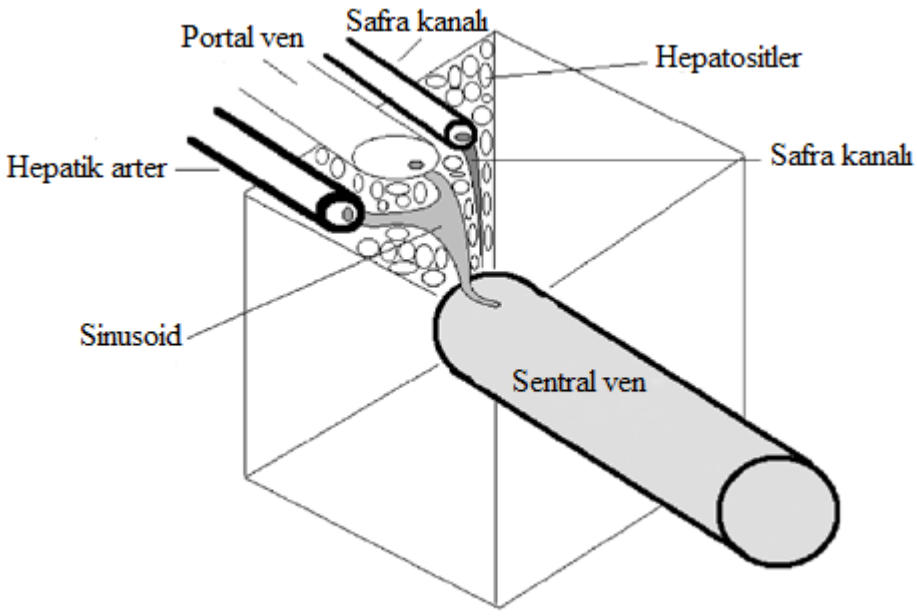
Şekil.2.7 Karaciğerin yapısal organizasyonu (Yager, 2008)

Karaciğerin sitoplazmik hacminin %70-80’ ini hepatositler oluşturur. Bu hücreler endojen ve ekzojen maddelerin, safra tuzları ve fosfolipidlerin salgılanması, modifikasyonu, detoksifikasyonu, kolesterol sentezi, karbonhidratların dönüşümü, protein sentezi ve protein depolama ile ilgilidir. Ayrıca hepatositler safra yapımını ve salınımını başlatır (Ramadorı vd., 2008).

Organ fonksiyonu bakımından geniş bir yelpazeye sahiptir ve lobül adı verilen mikroskobik fonksiyonel unitelerden oluşur (Schenk, A., 2012). Lobüllerin birbiri ile temas ettiği yerlerde üçgen şeklinde ‘‘kiernan aralığı’’ veya ‘‘porta mesafesi’’olarak adlandırılan bağ dokusu sahaları bulunur.

Bu sahalarda hepatik arter, portal ven ve safra kanallarından oluşan portal üçlü (terminal portal triad) uzanır (Karaarslan, 2012). Sentral hepatik venüller ile terminal portal triad arasında enzimatik üretim, besin üretimi ve kan oksijenizasyonu açısından birbirinden farklı 3 zon bulunur. Bunlar; oksijen ve besinden zengin zone-1 (periferal zon) ve oksijen ve besinden daha fakir olan zone-2 (intermediate zon) ile zone-3 (perivenüler zon) ‘ tür (Bilgin, 2007).

Hepatositler arasında sinuzoid olarak adlandırılan ışınsal boşluklar, hepatik arterial ve portal venöz kanı lobulün merkezinde bulunan sentral vene taşır. Kan sentral venden hepatik venler aracılığı ile inferior vena cavaya ulaşır (Şekil 2.8) (Katawala, 2008). Portal ven hepatik kanlanmanın %75' ini sağlamakta ve büyük oranda deoksijene kan taşımasına rağmen karaciğerin oksijenasyonuna katkısı %50-70 kadardır. Hepatik arter ise sistemik arteryel kan taşır ve karaciğerin kanlanmasının %25’ ini, oksijenasyonunun ise %30-50’ sini karşılamaktadır (Kınacı, 2007).



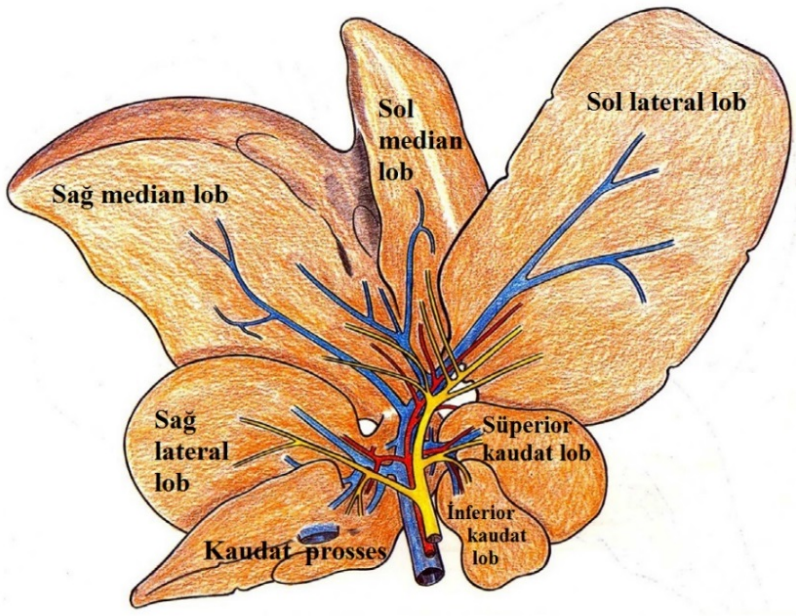
Şekil. 2.8 Hegzagonal karaciğer lobülü gösterimi; lobülün merkezindeki sentral ven ve lobülün periferindeki portal üçlü (Hepatik arter, Portal Ven, Safra Kanalı) (Katawala, 2008)

Karaciğer hastalıklarının tanısında kullanılan karaciğer fonksiyon testlerinden ALT, AST hepatoselüler hasarı belirleyen testlerdir.

ALT ve AST vücütta bir çok organ ve dokuda yaygın olarak bulunan hücre içi enzimlerdir. ALT öncelikle karaciğer ve böbreklerde bulunup, kalp ve iskelet kasında daha az miktarda mevcut iken, AST daha çok kalp kası, karaciğer ve iskelet kaslarında bulunur (Sonsuz, 2007). AST sitosolik ve mitokondriyal olabilir iken, ALT tam olarak sitosoliktir. Bu enzimler fizyolojik olarak protein metabolizmasının yoğun olduğu hepatositler ve kas hücrelerinde ekspresse edilir. Serum aminotransferaz seviyelerinin yükselişi hepatoselüler hasara yönelik sipesifik olmayan belirteçlerdir (Gines, P., 2011). Amino transferaz enzim yüksekliği spesifik karaciğer hastalığı, karaciğeri etkileyen sistemik hastalıklar, kullanılan ilaçlar ve karaciğer dışı dokulardan kaynaklanabilir (Savaş, 2014).

2.8.1. Sıçan karaciğeri

Ortalama bir sıçanda karaciğer yaklaşık 10 gram kadardır. Karaciğerin büyük bir bölümü diyafragma altında yerleşmiştir. Fareler ve sıçanlarda karaciğer median, sağ, sol ve kaudat lob olmak üzere 4 lobdan oluşur. Sol lob hariç diğer loblar iki yada daha fazla parçaya bölünmüştür (Malarkey vd., 2005). Kaudat lob, kaudat prosess, anterior ve posterior kaudat lob olarak üçe bölünür. Sağ lob, süperior ve inferior lob olarak ikiye, median lob da sağ median ve sol median lob olarak ikiye bölünmüştür (Şekil 2.9.) (Martins vd., 2007).

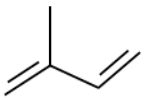


Şekil.2.9 Sıçan karaciğerinin multilobüler yapısının ve portal (mavi), arterial (kırmızı) damarlanma ile biliyer (sarı) direnajının şematik gösterimi (Aller vd., 2012)

2.9. Terpenler Ve Geraniol

İzopren adı verilen beş karbonlu ünitelerin baş kuyruk şeklinde birbirlerine bağlanması ile terpenler oluşur. Doğada terpen ihtiva eden birçok bileşik vardır. Bitkilerin kendilerine has koku ve tadları ihtiva ettikleri terpenlerden ileri gelir. (Bingöl, 1976). İçerdikleri izopren ünitelerinin sayısına göre sınıflandırılırlar (Çizelge 2.4) (Yaylı, 2013).

Çizelge 2.4 Terpenlerin sınıflandırılması (Yaylı, 2013)

Bileşik Sınıfı	Kapalı Formül	İzopren sayısı	Bağlanma Şekli	Bileşik
Hemiterpen	C_5H_8	1		İzopren
Monoterpen	$C_{10}H_{16}$	2	Baş-kuyruk	Limonen
Seskiterpen	$C_{15}H_{24}$	3	Baş-kuyruk	α-Bisabolen
Diterpen	$C_{20}H_{32}$	4	Baş-kuyruk	Fitan
Sesterterpen	$C_{25}H_{40}$	5	Baş-kuyruk	Haslen
Triterpen	$C_{30}H_{48}$	6	Baş-kuyruk	Skualen
Tetraterpen	$C_{40}H_{64}$	8	Baş-kuyruk	Karoten

Uçucu yağların büyük çoğunluğu terpenik maddelerden oluşmuştur. Terpenik maddeler ise uçucu yağların içinde monoterpen, seskiterpen ve diterpen şeklinde bulunur. Monoterpenleri, etken maddesi asiklik, monosiklik, disiklik monoterpen türevleri olanlar olarak gruplandırabiliriz. Asiklik monoterpen türevli olanlara örnek olarak ocimen, citral, citronellal, geraniol verilebilir (Kutlular, 2007).

Son yıllarda terpenler anti-inflamatuvar, anti-alerjik özelliklerinin yanısıra aynı zamanda akciğer, meme, kolon, prostat, pankreas ve kan hücrelerindeki kanser gelişimini baskılama özelliklerinden dolayı klinik öneme sahiptirler (Gisselmann vd., 2015).

2.9.1. Monoterpenler

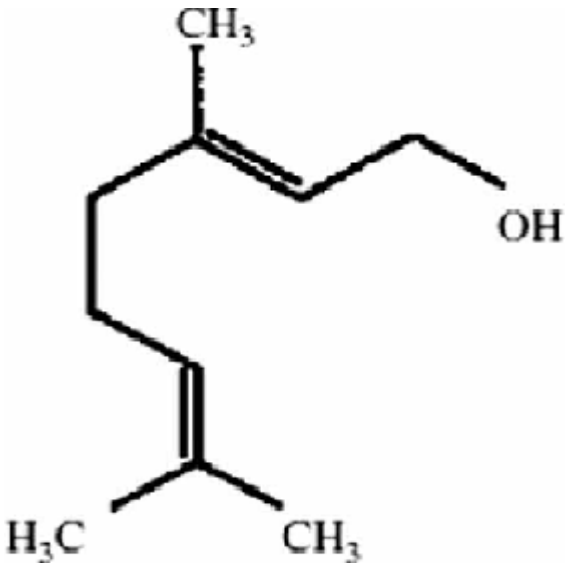
Monoterpenler bitkiler tarafından otçul böceklere ve patojenlere karşı savunma amaçlı oluşturulan renksiz, lipofilik, uçucu maddelerdir (Croteau vd., 2000). Neredeyse bütün esansiyel yağların tipik bileşenleridir ve çoğu yağda % 90 civarına ulaşırlar.

İki izopren ünitesinin bağlanması ile oluşurlar (Zuzarte ve Salgueiro, 2015). Kozmetik ve farmasötik preparatlarda, gıda endüstrisinde aynı zamanda anti-inflamatuvar aktivite ile ilgili formakolojik araştırmalarda kullanılırlar (Silveira e Sá vd., 2013). Hücre kültürü ve kemirgen modellerinde yapılan araştırmalar monoterpenlerin antikanser aktivitesi olduğunu gösterilmiştir (Polo vd., 2011).

2.9.2. Geraniol

Geraniol (3,7-dimetil-okta-trans-2,6-dien-1-ol) kimyasal formülü $C_{10}H_{18}O$ olan bir asiklik monoterpen alkoldür (Şekil 2.10) (Zanetti vd., 2015; Vinothkumar ve Manoharan, 2016). Nerol (cis) ve geraniol (tarns) olmak üzere iki cis-trans izomeri vardır. (Zanetti vd., 2015). Genellikle kozmetikte, sabunlarda, temizlik ürünlerinde koku maddesi olarak, ayrıca gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılır (Vinothkumar ve Manoharan, 2011).

Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) / Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) birleşik gıda katkıları uzmanlar komitesi, geraniol' ün tatlandırıcı olarak güvenli seviyede günlük alınımını Amerika Birleşik Devletlerinde tahmini 5,2 µg/kg vücut ağırlığı/gün, Avrupada 11 µg/ kg vücut ağırlığı/gün olarak belirtmiştir (Kakkar ve Tiwari, 2009).



Şekil 2.10 Geraniol' ün kimyasal yapısı
(Vinothkumar ve Manoharan, 2011)

Geraniol suda çözünmeyen, fakat çoğu organik çözücüde çözünen soluk sarı renkte bir yağdır (Chen ve Viljoen, 2010). Gül ve palmarosa yağının ana bileşeni olmak üzere zencefil, limon, ıhlamur, lavanta, hindistan cevizi, portakal, ve benzerlerinin uçucu yağlarının önemli bir bileşenidir (Banu vd., 2014). Geraniol hücre siklusu, hücre proliferasyonu, apoptosis, otofoji ve metabolizma gibi sinyal molekülleri ve yolakları ile ilgili biyolojik süreçleri düzenler (Cho vd., 2016).

Farmakolojik olarak geniş spektruma sahip olan geraniol, anti-oksidan, anti-inflamatuvar, anti-ülser, anti-mikrobiyal, anti-apoptotik ve nöroprotektiv aktivite gösterir (Rekha vd., 2014; Cho vd., 2016). Yapılan çalışmalar, ferrik nitrilotriasetat' a bağlı renal oksidatif stres ve tümör oluşumunu baskıladığı aynı zamanda hepatokarsinogenezi önlediği göstermiştir (Prasad ve Muralidhara, 2014).

Renal İ/R hasarında İ/R' ye maruz kalan bölge dışındaki doku ve organlarda hasar meydana geldiği bilinmektedir. Bu organlar arasında karaciğer önemli yer almaktadır. Bu nedenle çalışmamızda renal İ/R sonucu karaciğerin antioksidan enzim aktivitesi ve histolojisi değerlendirilerek geraniol' ün olası koruyucu etkisi araştırılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Deneysel çalışmamız; Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları, Moleküler Biyoloji ve Toksikoloji Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK)' nun 507/2016 sayılı izni ile yapılmıştır ve etik kurul raporu Ek Açıklama' da sunulmuştur.

3.1. Deney Hayvanlar

Deneysel çalışmamızda gruplar 3-4 aylık, 200-250 g ağırlıkta, sağlıklı, erkek *Wistar albino* sıçanlardan oluşturulmuştur. Tüm deney hayvanları T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Deney Hayvanları Üretim Laboratuvarından temin edilmiştir.

Deneysel çalışmaya başlanmadan önce sıçanların 1 hafta süre ile laboratuvar ortam koşullarına adaptasyonları sağlanılmıştır. Deney süresince 12/12 aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı (22±2^{o}C) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatılmıştır. Deney sürecinde tüm sıçanlar polikarbonat şeffaf kafeslerde standart pellet sıçan yemi ile beslenmiş olup, çeşme suyu verilmiştir.

3.2. Deney Grupları

28 deney hayvanı arasından rastgele seçimle her birinde n=7 şer sıçan olmak üzere toplam 4 grup oluşturulmuştur. Bu gruplar;

Grup 1 (Sham Grubu): Kontrol grubu olup bu grup hayvanlara sağ böbrek nefroktomi işlemi uygulanarak 15 gün iyleşmenin ardından her hayvanın batın kısmı açılıp iskemi işlemi yapılmamış, sadece cerrahi strese maruz bırakılmıştır. İşlem sonrası diseksiyonları gerçekleştirilmiştir.

Grup 2 (SF + İ/R Grubu): Hasta kontrol grubu olup her hayvana sağ böbrek nefroktomi işlemi uygulanarak 15 gün iyleşmenin ardından, her hayvana iskemiden 1 saat önce 2 mL serum fizyolojik intraperitonal olarak enjekte edilmiştir ve 45 dakikalık iskeminin ardından 4 saat reperfüzyon uygulanmıştır. Reperfüzyonun bitiminde diseksiyonları gerçekleştirilmiştir.

Grup 3 (İ/R+ 50 mg/kg geraniol): Tedavi grubu olup bu grup hayvanlara sağ böbrek nefroktomi işlemi uygulanarak 15 gün iyleşmenin ardından her hayvana iskemiden 1 saat önce 50 mg/kg tek doz garaniol intraperitonal olarak enjekte edilmiştir ve 45 dakikalık iskeminin ardından 4 saat reperfüzyon uygulanmıştır. Reperfüzyonun bitiminde diseksiyonları gerçekleştirilmiştir.

Grup 4 (İ/R+ 100 mg/kg geraniol): Tedavi grubu olup bu grup hayvanlara sağ böbrek nefroktomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin ardından her hayvana iskemiden 1 saat önce 100 mg/kg tek doz geraniol, intraperitonal olarak enjekte edilmiştir ve 45 dakikalık iskeminin ardından 4 saat reperfüzyon uygulanmıştır. Reperfüzyonun bitiminde diseksiyonları gerçekleştirilmiştir.

3.3. Geraniol Uygulaması

Ticari olarak temin edilmiş olan geraniol (Sigma, 163.333) 50 mg/kg ve 100 mg/kg olarak iskemi işleminden 1 saat önce cam enjektörle sıçanlara intraperitonal olarak tek doz enjekte edilmiştir.

3.4. Cerrahi İşlemler

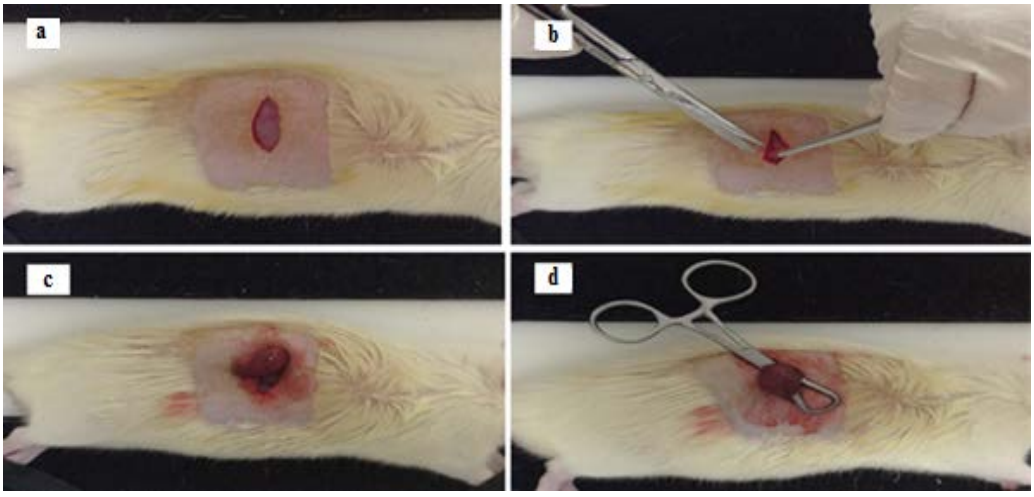
Tüm cerrahi işlemler steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Diurinal hormonal değişimlerin sıçanlar üzerine olası etkileri dikkate alınarak tüm cerrahi işlemler 09.00 ile 12.00 saatleri arasında yapılmıştır (Assy vd., 1998; Karabelyos vd., 1999; Akino vd., 2005).

3.4.1. Anestezi

Nefrektomi yapılacak deney hayvanlarına intramuskular olarak 10 mg/kg ksilazin ve 70 mg/kg ketamin anestezisi altında (Kulisic vd., 2004; Aydoğdu vd., 2005), sıcaklığı ılık ve sabit olan diseksiyon tablasına tespit edilip rektal ısı kontrolü yapılmıştır. Cerrahi uygulama bölgesinin %70' lik etil alkol ile temizliği yapılıp sağ böbrek nefrektomisi gerçekleştirilmiştir (Waynforth ve Flecknell, 1994) ve 15 gün süre ile iyileşmeleri sağlanmıştır (Sener vd., 2005).

3.4.2. Nefrektomi işlemi

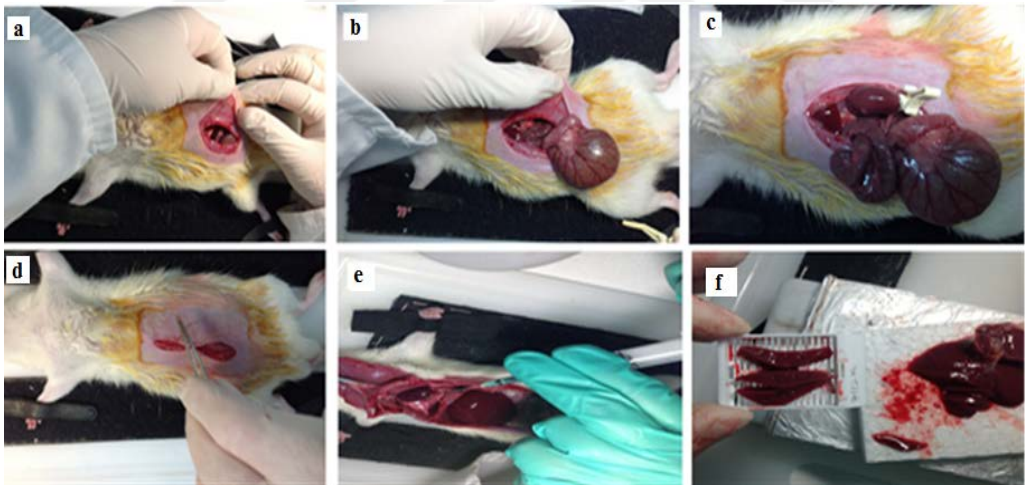
Anestezi altındaki deney hayvanlarında böbreğin yeri el muayenesi ile belirlendikten sonra kesi atılmıştır. Kesi yeri bağ dokusundan arındırıldıktan sonra, kas dokusu da kesilerek böbrek çıkartılmıştır. Çıkarılan böbrek klemp makası yardımıyla tutularak sütur ile bağlanarak vücuttan dışarı alınmıştır (Şekil 3.1). Her bir hayvana yapılan cerrahiden sonra kaybolan sıvının hipovolemik etkilerini engellemek için karın boşluğuna steril serum fizyolojik verilmiştir (Kaya vd., 2002). Bu işlemi takiben, kas ve deri kesileri ayrı ayrı fakat devamlı olarak 3/0 ipek sütürle dikilerek kapatılmıştır. Cerrahi işlem görmüş her bir deney hayvanı kimyasal sterilizasyonu yapılmış, tek bireylik, polikarbonat bileşimli ve şeffaf nitelikteki kafeslere ayrı ayrı koyularak diyet değişikliği yapılmaksızın 15 gün boyunca iyileşmesi sağlanmıştır.



Şekil 3.1 Nefroktomi işlemi a) Diseksiyon, b) Kesili alanın bağ dokudan temizlenmesi, c) Sağ böbreğin çıkartılması, d) Sağ böbreğin klemp ile tutulup, sütur ile boğumlanarak vucuttan ayrılması

3.4.3. İskemi reperfüzyon işlemleri

Sağ böbrekleri alınan ve 15 gün iyileşmeleri beklenen, İ/R yapılacak deney hayvanlarına intramuskular olarak 10 mg/kg ksilazin ve 70 mg/kg ketamin anestezisi uygulanmış (Kulisic vd., 2004; Aydoğdu vd., 2005) ve midline laporoktomi gerçekleştirilmiştir. Sol renal arter izole edilerek, antitravmatik vaskular klemp yardımıyla 45 dakika süre ile sol renal arterden kan akışı durdurulmuş ve 45 dakika iskeminin hemen ardından 4 saat reperfüzyon uygulanmıştır. Reperfüzyon süresince kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olmak için karın boşluğuna steril serum fizyolojik verilmiştir (Kaya vd., 2002). Bu işlemi takiben, kas ve deri kesileri ayrı ayrı fakat devamlı olarak 3/0 ipek sütürle dikilerek kesi bölgesi kapatılmıştır ve antiseptik solusyon ile laparoktomi bölgesi temizlenmiştir. Cerrahi işlem görmüş her bir deney hayvanı kimyasal sterilizasyonu yapılmış, tek bireylik, polikarbonat bileşimli ve şeffaf nitelikteki kafeslere ayrı ayrı yerleştirilerek 4 saatlik reperfüzyon süresi boyunca yaşatılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 İskemi/Reperfüzyon İşlemi **a-b)** Sol renal arterin izolasyonu**, c)** Sol renal artere klemp takılması, **d)** Cerrahi bölgenin kapatılması, **e)** Reperfüzyon sonunda kalpten kan alınması, **f)** Karaciğer doku örneklerinin alınması

3.5. Doku Örneklerinin Alınması Ve Değerlendirilmesi

Deney gruplarına ait hayvanlar hafif anestezisi altında intrakardiyak kan alma yoluyla sakrifiye edilmiş ve dokuları alınmıştır.

3.5.1. Serum örnekleri

Biyokimyasal analizler için alınan kan örnekleri MSE Mistral 2000 marka santrifüj cihazı ile 10 dakika, 3000 rpm devirde santrifüjlenerek serumları elde edilmiştir (Sanz vd., 1998; Aktay vd., 2000; Theocharis vd., 2001). Polietilen tüplere aktarılan serum örnekleri biyokimyasal analizler için -80^{0}C derin dondurucuda korunmuştur (Furuta vd., 2000).

Karaciğer hücrelerinin olası fonksiyon bozukluğunu tespit etmek amacıyla biyokimyasal olarak serum örneklerinde AST ve ALT enzimlerinin seviyeleri belirlenmiştir (Aoki vd., 2001; Kaya vd., 2002). AST ve ALT ölçümleri Crony Airone 200 RA Otoanalizatörü ile Human (Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Wiesbaden Germany) marka ticari kitler kullanılarak yapılmıştır.

3.5.2. Karaciğer doku örnekleri

Tüm gruplarda intrakardiyak kanın alınmasından hemen sonra her bir hayvana ait karaciğer çıkarılıp serum fizyolojik ile hızlı bir şekilde yıkanmıştır. Karaciğer dokusu iki kısma ayrılarak birinci kısım histolojik analizler için %10' luk nötral formaldehit fiksasyon sıvısına alınmıştır. İkinci kısım karaciğer örnekleri ise enzim aktivitelerinin belirlenmesi için polietilen tüplerde –80ºC derin dondurucuda saklanmıştır.

3.5.2.1. <u>Karaciğer doku örneklerinin histolojik analizleri</u>

Hızlı bir şekilde %10' luk nötral formaldehit tespit çözeltisine alınan karaciğer doku örneklerinin 24 saat süre ile fiksasyonu sağlanmıştır. Tüm gruplarda kimyasal fiksasyonu tamamlanan karaciğer dokularına histolojik takip işlemleri uygulanmış ve parafin blokları hazırlanmıştır. Etil alkol serisinde sırasıyla 1' er saat %70, %80, %90(1), %90(2), %96(1), %96(2) ve 30 dakika absolü etil alkolden geçirilmiş ve dehidratasyon sağlanmıştır. 30' ar dakika 2 kez ksilol uygulamasıyla dokuların şeffaflanması sağlanmıştır. Dokular parafinizasyon için 57°C etüvdeki 3 ayrı parafinde (paraplast plus Sigma P3683) sırasıyla 30, 60, 60 dakika sürelerle bekletilerek bloklanmıştır.

Bu bloklardan standart hematoksilen eosin (H&E) boyama yapılmak üzere mikrotom (Leica RM 2025) kullanılarak 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak Poly-L-Lysine kaplı lamlar üzerine tespit edilmiştir. Kesitlerin bir kısmı 37°C etüvde 1 gece bekletilmiştir ve daha sonra ksilolde deparafinize edilmiştir. Derecesi azalan etil alkol serilerinde hidratasyonu sağlanarak H&E boyamaları yapılmıştır. H&E boyanmış karaciğer preparatları ışık mikroskop düzeyde histopatolojik olarak incelenmiştir. Değerlendirmelerde gruplara göre skorlama yapılmıştır. Hazırlanan tüm doku kesitleri Olympus marka, CH40 model ışık mikroskobunda incelenerek Spot Insight marka, 3.2.0. model dijital kamera ve Spot advanced, 4.0.6 version program yardımıyla fotoğraflandırılmıştır.

3.5.2.2. Karaciğer doku örneklerinin biyokimyasal analizleri

Böbrek iskemisi yapılmış sıçanları bir antioksidan olan geraniol ile tedavi ettikten sonra karaciğerden homojenize ettiğimiz SOD, CAT ve Gpx izoenzimlerinin enzim aktivitesinin belirlenmesi için Doğal (Native) Jel Elektroforezi yöntemi kullanılmıştır (Jayakumar vd., 2007).

i - Homojenizasyon:

-80 ºC' de saklanan karaciğer parçaları, 1 g doku başına 2-3 hacim soğuk ekstraksiyon tamponu (KCl) ile 5 vuruşta homojenize edilmiştir. Homojenatlar +4 ºC 6030 rpm' de 60 dakika santrifüj (Ependorff Centrifuge marka ve 5804R model) edilmiştir. Süpernatant tüplere bölünerek Doğal (Native) Jel Elektroforezi' nde kullanılmak üzere -80ºC' de muhafaza edilmiştir.

ii - Protein miktar tayini:

Doğal Jel Elektroforezi kullanılarak aktiviteleri belirlenecek olan CAT, SOD ve Gpx izoenzimlerinin total protein miktarları Qubit cihazı ile belirlenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız Qubit testi, 260 nm UV absorbans da kantitatif olarak protein miktarını, boya bağlama (Bradford) yöntemi ile ölçme esasına dayanır.

Protein deneyi için bu yöntem de 3 standart protein reaktifi ve çalışma solüsyonu 1:200 oranda seyreltilerek protein tamponu oluşturulmuştur. Bu protein tamponu oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildikten sonra cihaz ile (Qubit® 2.0 Fluorometer) örrneklerdeki protein miktarları okunmuştur (Qubit® 2.0 Fluorometer, 2010).

iii - <u>Doğal jel elektroforezi:</u>

Doğal jel elektroforezi, karaciğer örnekleri üzerinde ilk olarak Laemmli tarafından 1970 yılında yapılmıştır. Doğal jel elektroforezinde kullanılan tamponlar, deterjan ve diğer denatüre edici maddeleri içermediğinden, prosedür doğal koşullarda gerçekleştirilmiştir. Tüm çözeltiler deiyonize saf su ile hazırlanmıştır. Tris içeren tamponlar 'trizma base' ile hazırlanıp pH' ları HCl ile ayarlanmıştır (Temizkan ve Arda, 2004).

A) Alt tank tamponu (63 mM Tris, 0,05 N HCl, pH 7,5)
Tris……..22,7 g
1N HCl……150 mL
H_2O……3 L' ye tamamlanmıştır.

B) Üst tank tamponu (37,6 mM Tris, 40 mM glisin, pH 8,9)
Tris……..4,56 g
Glisin……...3 g
H_2O…….1 L' ye tamamlanmıştır.

C) TBE5x (0,5 M EDTA, PH:8)
Trisma-Base……54 g
Borik Asit……27,5 g
EDTA…….20 mL
H_2O……..1000 mL' ye tamamlanmıştır.

D) %8’ lik Jel (%40’ lık Akrilamid/Bisakrilamid

H_2O…….....5,2 mL

TBE5x…….0,75 mL

Akrilamid/Bisakrilamid……..1,5 mL

AP.....50 µL

TEMED.....7,5 µL

E) %10’ luk Jel (%40’ lık Akrilamid/Bisakrilamid

H_2O.....…….....6,5 mL

TBE5x……..0,94 mL

Akrilamid/Bisakrilamid……...1,87 mL

AP.....62,5 µL

TEMED.....9,4 µL

F) Polimerizasyon başlatıcı (%10'luk amonyum persülfat çözeltisi)

%10 Amonyum Persülfat(AP)……..0,1 g

H_2O……1 mL’ ye tamamlandı.

H) Sükroz-boya Çözeltisi [% 50 sukroz, % 0,1 bromofenol mavisi (bromophenol blue)]

Sükroz……5 g

% 1 Bromofenol mavisi……..1 mL

H_2O……100 mL’ ye tamamlandı.

Jeller hazırlanırken, monomer (akrilamid) ve çapraz bağlayıcı (bisakrilamid) yüzdelerinden hesaplanan %T ve % C_{bis} oranları göz önünde bulundurularak 19:1’ lik akrilamid-bisakrilamid, tampon (TBE5x), TEMED ve su 50 mL’ lik bir erlende karıştırılmıştır. Polimerizasyon başlatıcı (G çözeltisi) eklenip hafifçe çalkalanmış ve elektroforez aletinin jel dökme aparatına, çeşitli kalınlık ve boyutta hazırlanabilmesine olanak sağlayan, iki cam (jel kaseti) arasına Pastör pipeti yardımı ile dökülmüştür (Temizkan ve Arda, 2004). Örnek uygulama kuyucuklarının oluşumunu sağlayan tarak, hava boşluğu kalmayacak şekilde, yükleme jelinin içine yerleştirilmiştir.

Jel polimerize olduktan sonra taraklar çıkarılmıştır. 10 hacim örnek ile 1 hacim sükroz boya çözeltisi karıştırılmıştır. Örnekler ve standart karışım her bir kuyucukta 15-100 µg protein olacak şekilde mikropipet yardımı ile jele uygulanmıştır. Jel kasetleri tanka yerleştirilmiş ve jel kasetlerinin altta kalan kısmına 2,5 L alt tank tamponu eklenmiştir.

Jel kasetlerinin bulunduğu üst bölme ise üst tank tamponu ile doldurulmuştur. Anot ve katot bağlantıları takılmış ve sistem çalıştırımıştır. İzleme boyası bromofenol mavisinden kaynaklanan mavi bant, jelin altına 0,5 cm kalana dek yürüdükten sonra işlem durdurulmuştur. Saptama yöntemleri kullanılarak analiz tamamlanmıştır (Temizkan ve Arda, 2004). Karaciğer doku örneği homojenatlarında Doğal Jel Elektroforez tekniğiyle Scie-Plas marka mini vertical Electrophoresis ünitesi kullanılarak CAT, SOD ve Gpx izoenzimlerinin jelde yürümesi sağlanmış ve substrat ile tepkimelerine göre aktivitesi belirlenmiştir (Jayakumar vd., 2007).

Çalışmamızda CAT aktivitesinin belirlenmesi Woodbury ve arkadaşlarının (1971) metoduna göre yapılmıştır. Proteini yürüttüğümüz % 8‘ lik jel, 5 mM H_2O_2 solusyonunda 10 dakika bekletilip yıkandıktan sonra % 1‘ lik potasyum ferrik siyanid ve % 1‘ lik ferik kloridden oluşan reaksiyon karışımına koyulup jel boyanana kadar beklenmiştir. Koyu yeşil zeminde CAT aktivitesi gösteren protein bantları beyaz renkte boyanmıştır.

Karaciğer dokusundaki SOD aktivitesinin belirlenmesi ise Beauchamp ve Fridovich (1971) metoduna göre yapılmıştır. Proteinleri yürüttüğümüz % 10’ luk jeli, içerisinde 10 mg NBT, 1 mg EDTA ve 2 mg riboflavin olan 50 mM Tris-HCl (pH: 8,0) tamponunda karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra jel beyaz ışıkla incelendiğinde mavi-menekşe zemin içerisinde SOD aktivitesi gösteren bantlar şeffaf olarak gözlenmiştir (Beauchamp ve Fridovich, 1971).

Gpx izoenziminin aktivitesinin belirlenmesinde Lin ve arkadaşlarının (2002) metodu kullanılmıştır. Proteinleri yürüttüğümüz % 10’ luk jeli, içerisinde 200 mg glutatyon ve %30 H_2O_2 50 mL, 50 mM Tris-HCl tamponunda (pH: 8,0) 30 dakika beklettikten sonra, aynı jel içerisinde 25 mg NBT ve 25 mg PMS bulunan 50 mL 50 mM Tris-HCl tamponuna (pH:8) aktarılmıştır. Gpx izoenzim aktivitesi gösteren bantlar beyaz renkte gözlenmiştir.

Bütün deney gruplarına ait hayvanların karaciğer dokularındaki CAT, SOD, Gpx enzim aktiviteleri sonucu jelde ortaya çıkan bantlar Kodak Gel Logic 1500 Imaging System Jel görüntüleme sisteminde Kodak Molecular Imaging Software paket programı kullanılarak fotoğraflandırılmıştır. Jel üzerinde enzim aktiviteleri sonucu oluşan bölgelerin alanları sayısal olarak ölçülmüştür. Bu alanlar deney grupları arasında karşılaştırılmıştır.

3.5.3. İstatistiksel değerlendirmeler

Elde ettiğimiz ALT ve AST ölçümlerinin değerlendirilmesinde ‘‘SPSS 20 for Windows’’ paket program ile One Way Annova-Tukey testi kullanılmıştır. Tüm istatistik uygulamalar sonucunda sayısal olarak ortaya çıkan değerler karşılaştırılarak gruplar arasındaki farklar $p < 0.05$ olduğunda anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

Sıçanlara ait biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.1.1. Biyokimyasal analizler

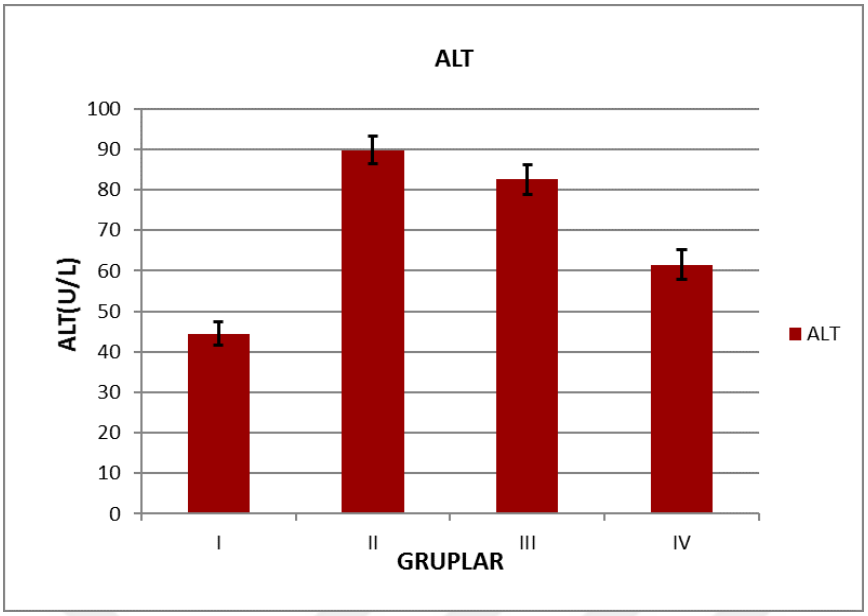
4.1.1.1. Serum örneklerinin biyokimyasal analizleri

Grup I, II, III, IV' teki deney hayvanlarına ait kan serumlarının biyokimyasal analizlerinden elde edilen AST ve ALT miktarları gruplar arasında karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.1).

Buna göre, serum ALT seviyeleri açısından Grup II, III, IV' ün Grup I' den istatiksel olarak anlamlı fark gösterdiği görülmüştür ($p<0.05$). Grup IV' ün istatiksel olarak Grup II ile III' den anlamlı fark gösterdiği görülmüştür ($p<0.05$). Grup II ile III arasında ise istatiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. (Şekil 4.1).

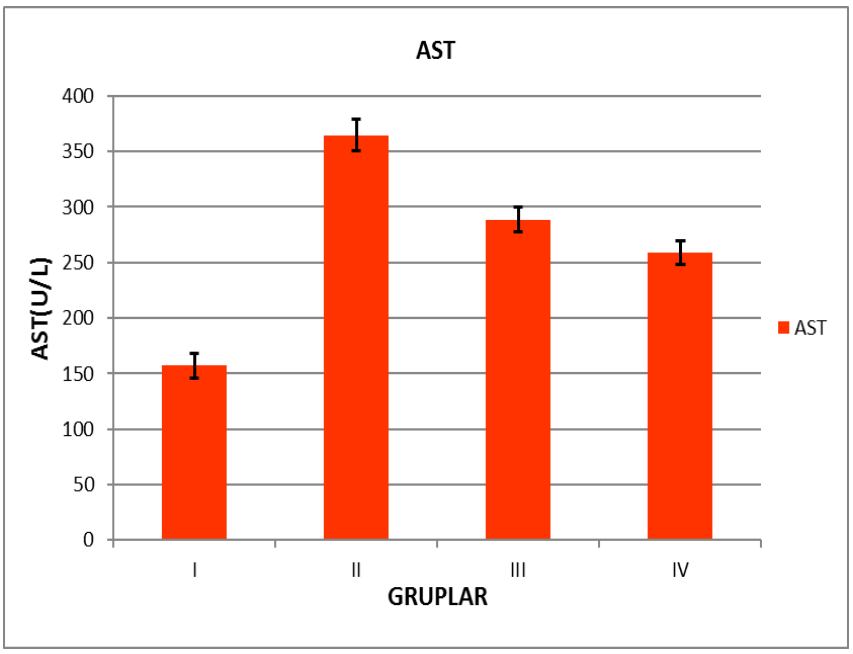
Çizelge 4.1 Deney gruplarına ait hayvanların kan serum örneklerinde belirlenen ALT ve AST miktarlarının ortalama değerleri ± standart hata değerleri (n=7) $p<0.05$ a: Grup I' den b: Grup II' den c: Grup III' den anlamlı fark vardır.

Gruplar	**n**	**ALT (U/L)**	**AST (U/L)**
I	7	44,4243 ± 2,9125	157,1900 ± 10,9727
II	7	89,7429 ± 3,4447[a]	364,5529 ± 14,0899[a]
III	7	82,5129 ± 3,7371[a]	288,7243 ± 10,5430[ab]
IV	7	61,2114 ± 3,8042[abc]	258,2629 ± 15,3531[ab]



Şekil 4.1 Grup I, II, III, IV' e ait serum ALT seviyelerinin ortalama ve standart hata grafiği

Serum AST değerleri ele alındığında Grup II, III, IV' ün Grup I' den istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği görülmüştür ($p<0.05$). Grup III ve Grup IV' ün Grup II' den istatiksel olarak anlamlı fark gösterdiği görülmüştür ($P< 0.05$). Grup III ile Grup IV arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Grup I, II, III, IV' e ait serum AST seviyelerinin ortalama ve standart hata grafiği

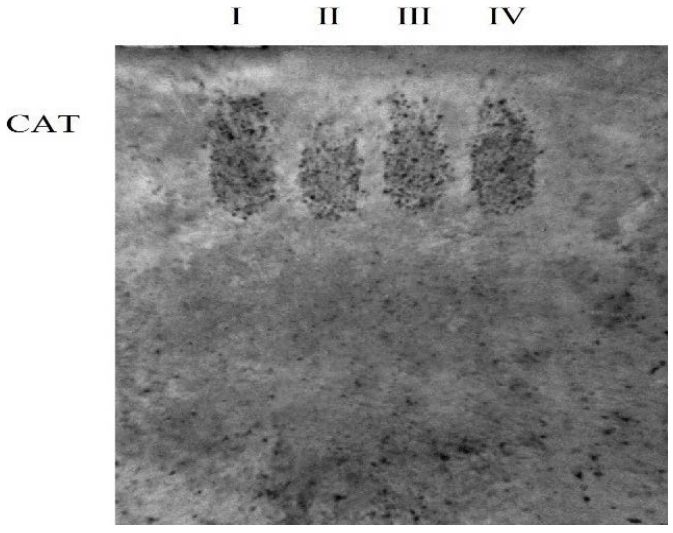
4.1.1.2. Karaciğer doku örneklerinin elektroforetik analizleri

Tüm deney gruplarına ait karaciğer doku örneklerinde Doğal Jel Elektroforez tekniğiyle tespit edilen CAT, SOD ve Gpx enzim aktiviteleri sonucu ortaya çıkan alanlar jel üzerinde görüntülenmiş ve alanların sayısal değerleri ölçülmüştür (Çizelge 4.2).

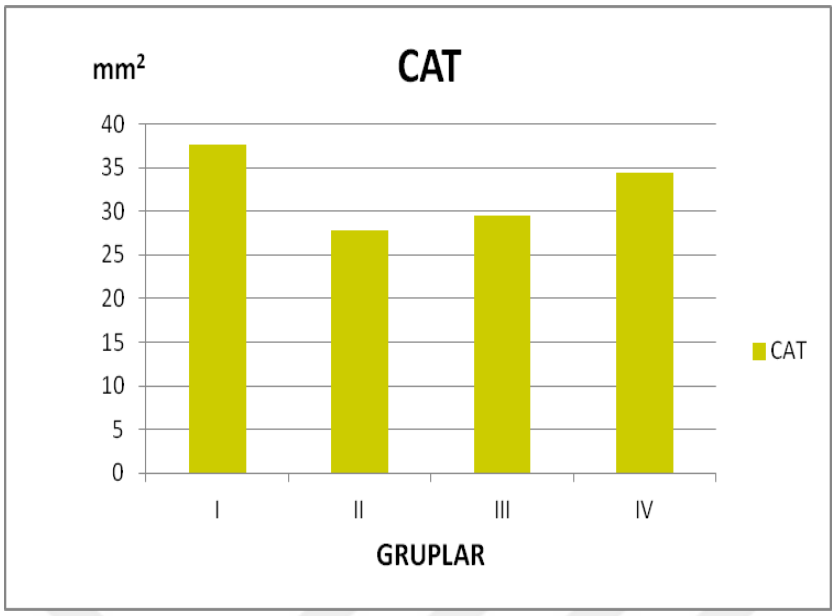
Çizelge 4.2 Karaciğer dokusu örneklerinde belirlenen CAT, SOD, Gpx enzim aktivitelerinin bant alanları

GRUPLAR	CAT (mm^2)	SOD (mm^2)		Gpx (mm^2)		
		1	2	1	2	3
I	37,5656	13,0911	9,3987	7,7093	7,0563	5,0402
II	27,7336	16,8395	12,2333	10,4419	9,0534	8,0229
III	29,5361	14,5271	11,1890	7,9059	7,1007	6,8500
IV	34,4305	14,7625	11,5713	8,9223	8,4067	7,6024

CAT enziminin elekroforetik analiz sonuçlarında tüm gruplarda tek bant görülmüştür. Grup I' e ait karaciğer dokusunda bant alanı değeri en yüksek iken, Grup II' deki bant alanı değeri en düşük bulunmuştur. Doza bağlı olarak Grup III ve IV' ün bant alanı değerlerinin Grup II' ye göre artış gösterdiği bulunmuştur. Grup IV' deki bant alanı değeri Grup I' e daha yakın bulunmuştur. (Şekil 4.3; Şekil 4.4).

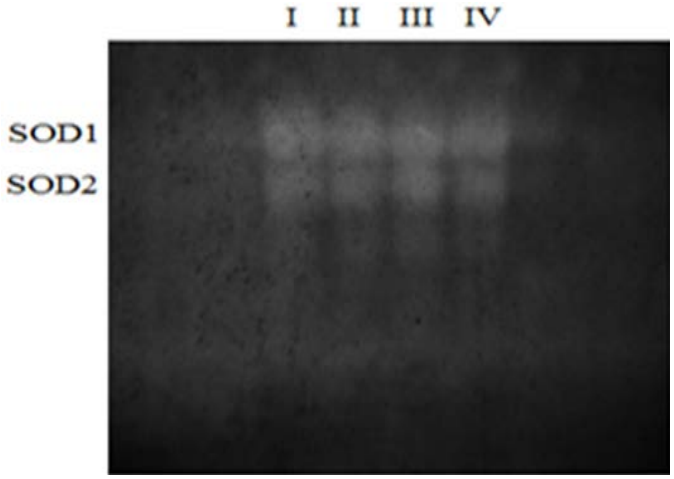


Şekil 4.3 Grup I, II ,III ve IV' e ait CAT izoenziminin elektroforetik bandları

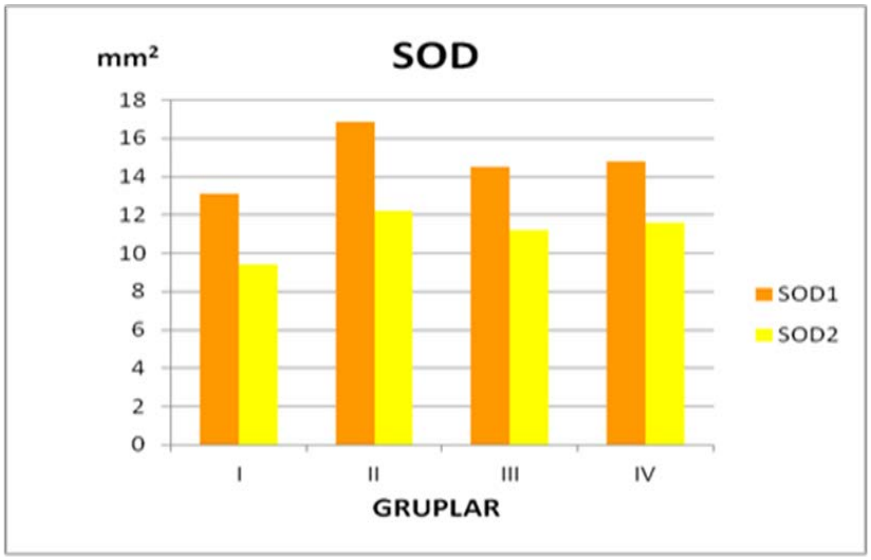


Şekil 4.4 Grup I, II, III, IV' e ait karaciğer dokusu örneklerinde belirlenen CAT enzim aktivitesi sonucu oluşan bant alanlarının ortalama değerleri (mm^2)

Karaciğer dokusunda SOD enziminin jel üzerinde belirli alan ölçülerine sahip SOD1 ve SOD2 olmak üzere iki izoenzimi görülmüştür. SOD1 izoenziminin bant alanı Grup I' de en düşük iken, Grup II' de en yüksek görülmüştür. Grup III ve IV' ün SOD1 izoenzimi bant alanlarının Grup II' den düşük oldukları görülmüştür. SOD2 izoenziminin bant alanınının Grup II' de Grup I' den daha yüksek olduğu görülmüştür. Grup III ve IV' ün bant alanlarının ise birbirine yakın ve Grup II' nin bant alanından düşük olduğu görülmüştür (Şekil 4.5; Şekil 4.6).

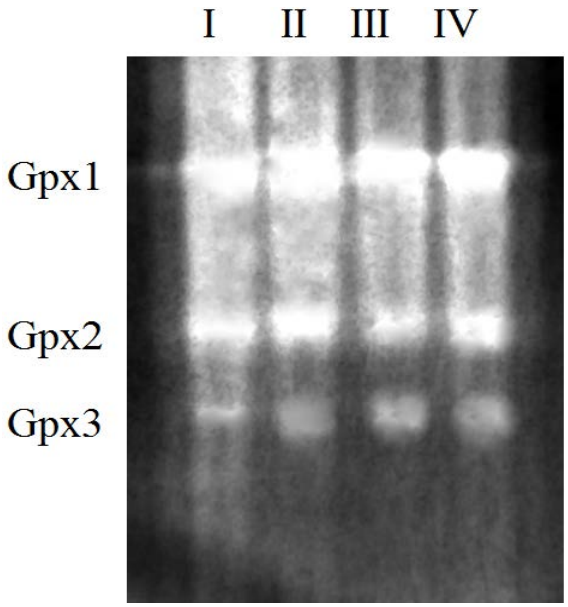


Şekil 4.5 Gruplara ait SOD izoenziminin elektroforetik bandları

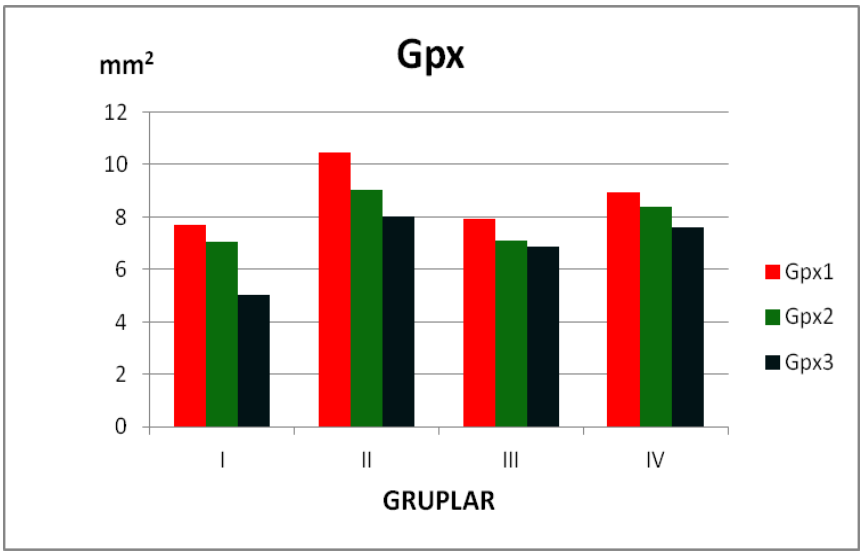


Şekil 4.6 Grup I, II, III, IV' e ait karaciğer dokusu örneklerinde belirlenen SOD enzim aktivitesi sonucu oluşan bant alanlarının ortalama değerleri (mm^2)

Karaciğer dokusunda Gpx enziminin; Gpx1, Gpx2, Gpx3 olmak üzere üç izoenzimi tespit edilmiştir. Gpx1, Gpx2, Gpx3 izoenzimlerinin bant alanı değerlerinin Grup I' de en düşük iken Grup II' de en yüksek olduğu görülmüştür. Grup III ve IV' te tüm Gpx izoenzimlerinin ise bant alanlarının Grup II' den düşük olduğu görülmüştür (Şekil 4.7; Şekil 4.8).



Şekil 4.7 Gruplara ait Gpx izoenziminin elektroforetik bantları



Şekil 4.8 Grup I, II, III, IV' e ait karaciğer dokusu örneklerinde belirlenen Gpx enzim aktivitesi sonucu oluşan bant alanlarının ortalama değerleri (mm^2)

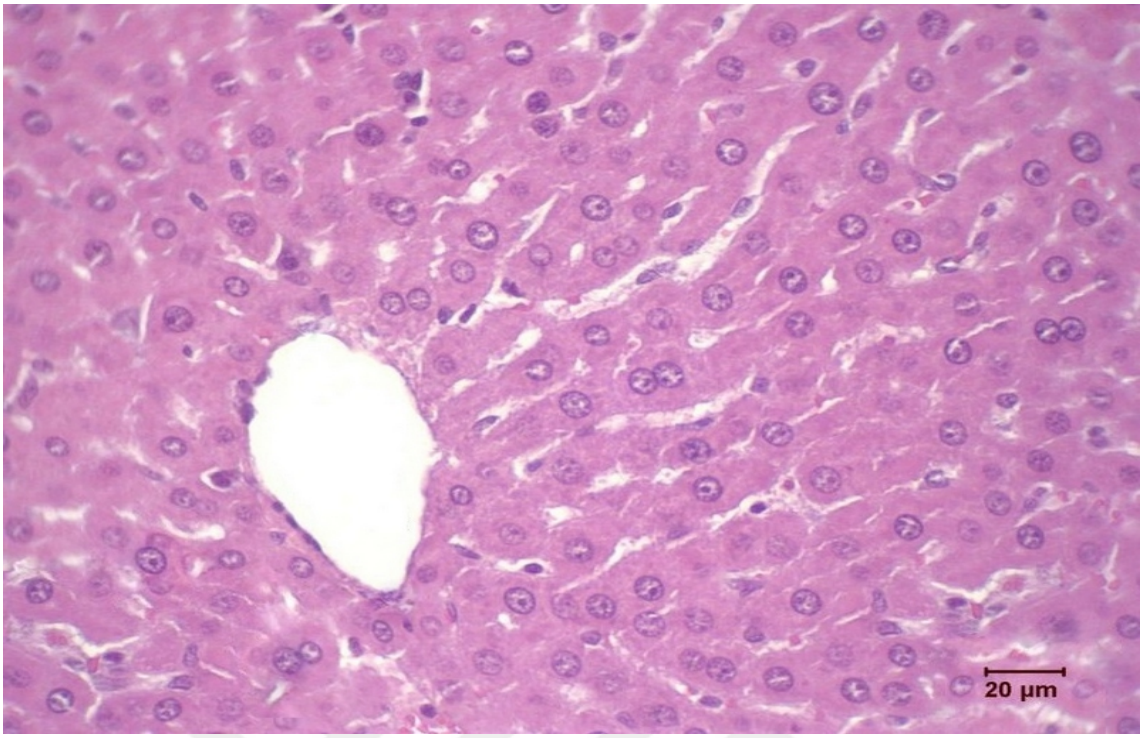
4.1.2. Karaciğer doku örneklerinin histolojik analizleri

Deneysel çalışmamızda Grup I (Sham Grubu) sıçanlarına ait karaciğer doku kesitleri incelendiğinde histolojik olarak herhangi bir doku hasarına rastlanmamıştır. Hepatositler sentral ven çevresinde ışınsal olarak dizilmiş olup portal alanlarda ve venlerde histolojik yapının korunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.9).

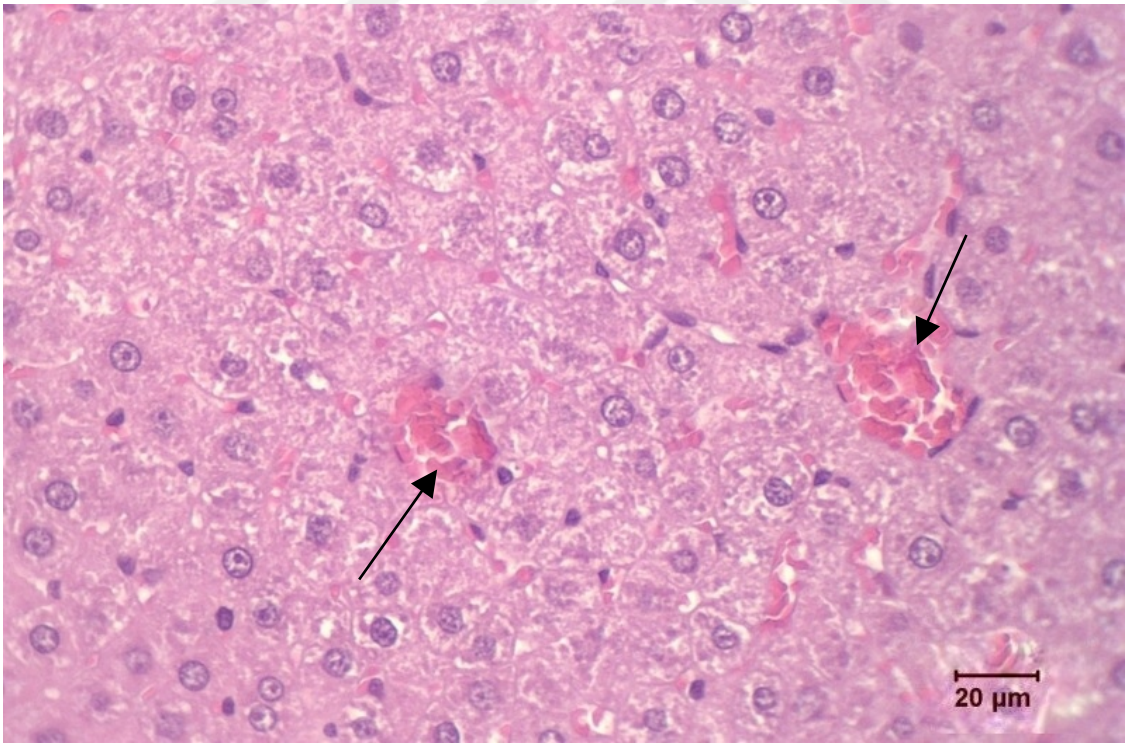
Grup II (SF + İ/R)' ye ait sıçanların karaciğer doku kesitlerinde İ/R uzak organ hasarına bağlı olarak dokuda yoğun kanama (Şekil 4.10) ve nüklear infiltrasyon (Şekil 4.11), ileri derecede nekroz (Şekil 4.12) ve yoğun bir şekilde vakuolizasyon (Şekil 4.13) saptanmıştır.

Grup III (50 mg/kg Geraniol + İ/R)' e ait sıçanların karaciğer doku kesitlerinde yapılan inceleme sonucunda yer yer kanama ve nüklear infiltrasyon gözlenmiş olup nekroz ve vakuolizasyonun kısmen yer aldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.14).

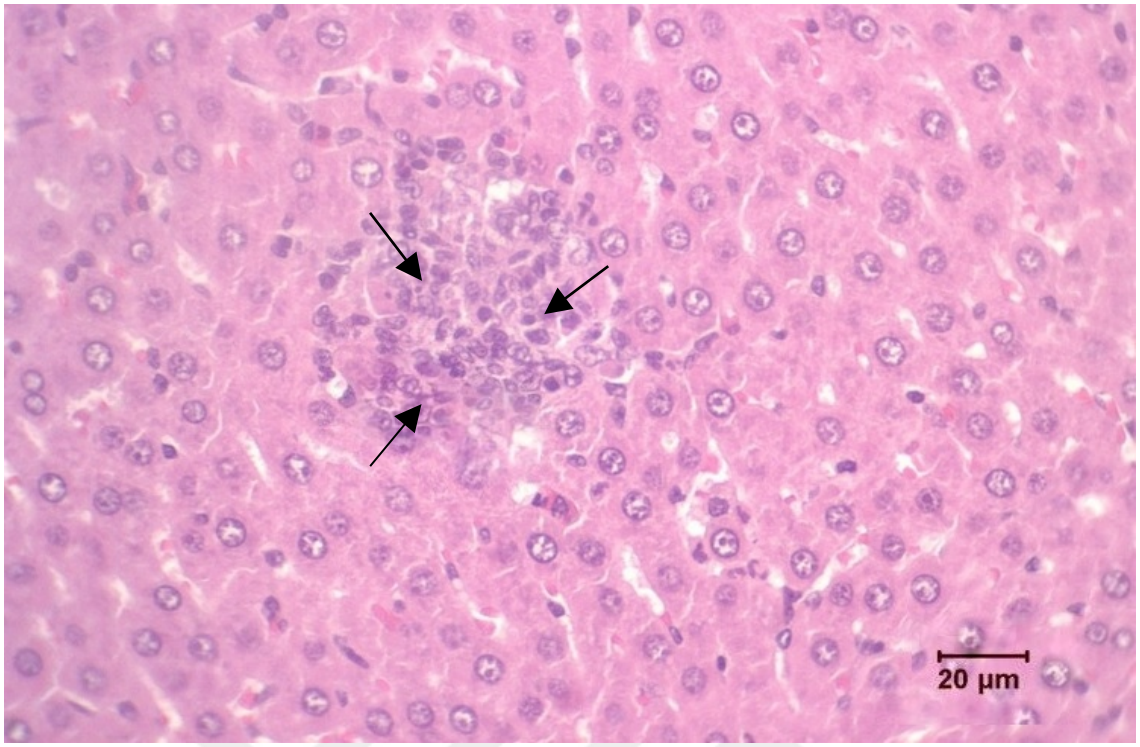
Grup IV (100 mg/kg Geraniol + İ/R)' e ait sıçanların karaciğer doku kesitleri incelendiğinde, karaciğer dokusunda belli bir koruma, kanama ve nüklear infiltrasyon da azalma görülmüştür. Nekroza nadir rastlanılırken, vokuolizasyona rastlanılmamıştır (Şekil 4.15).



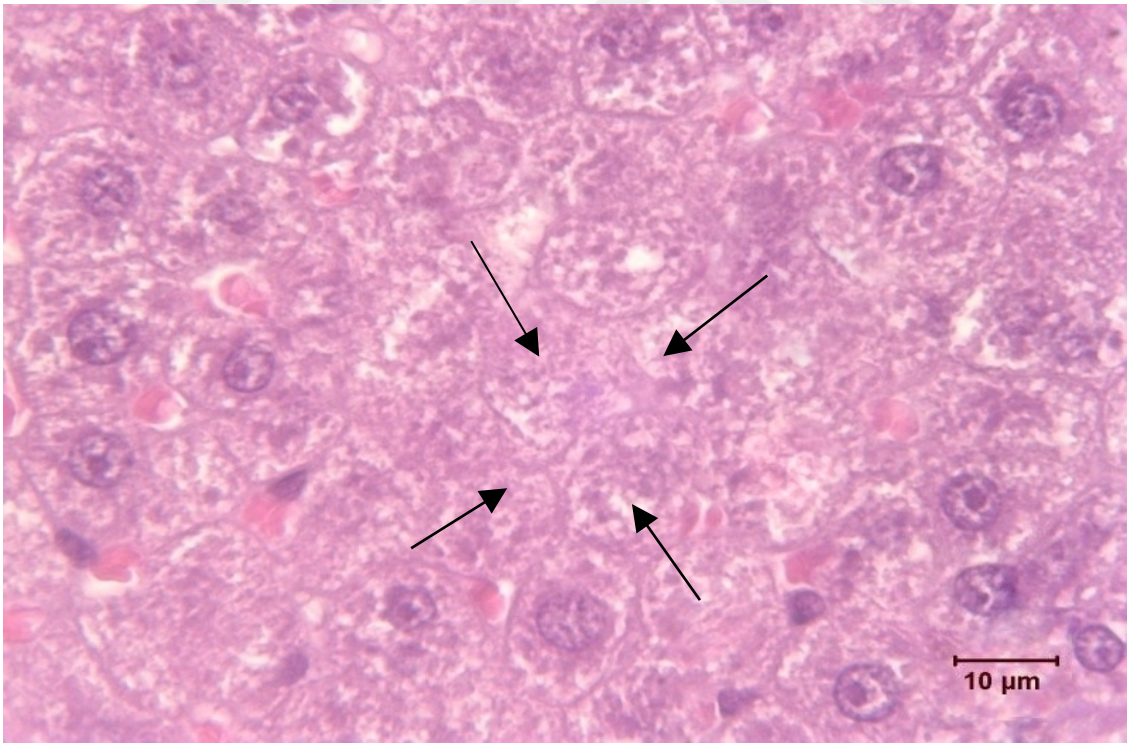
Şekil 4.9 Grup I' e ait karaciğer doku kesitleri (H&E)



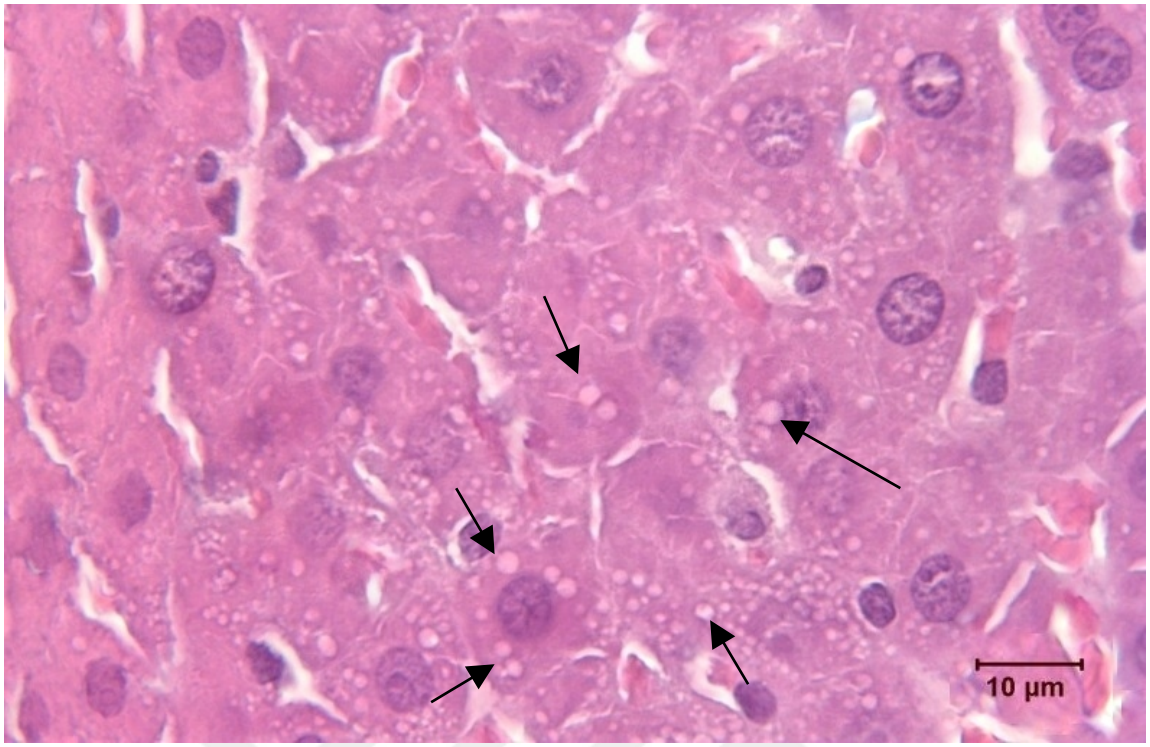
Şekil 4.10 Grup II' ye ait karaciğer doku kesitinde kanama alanları (↗) (H&E)



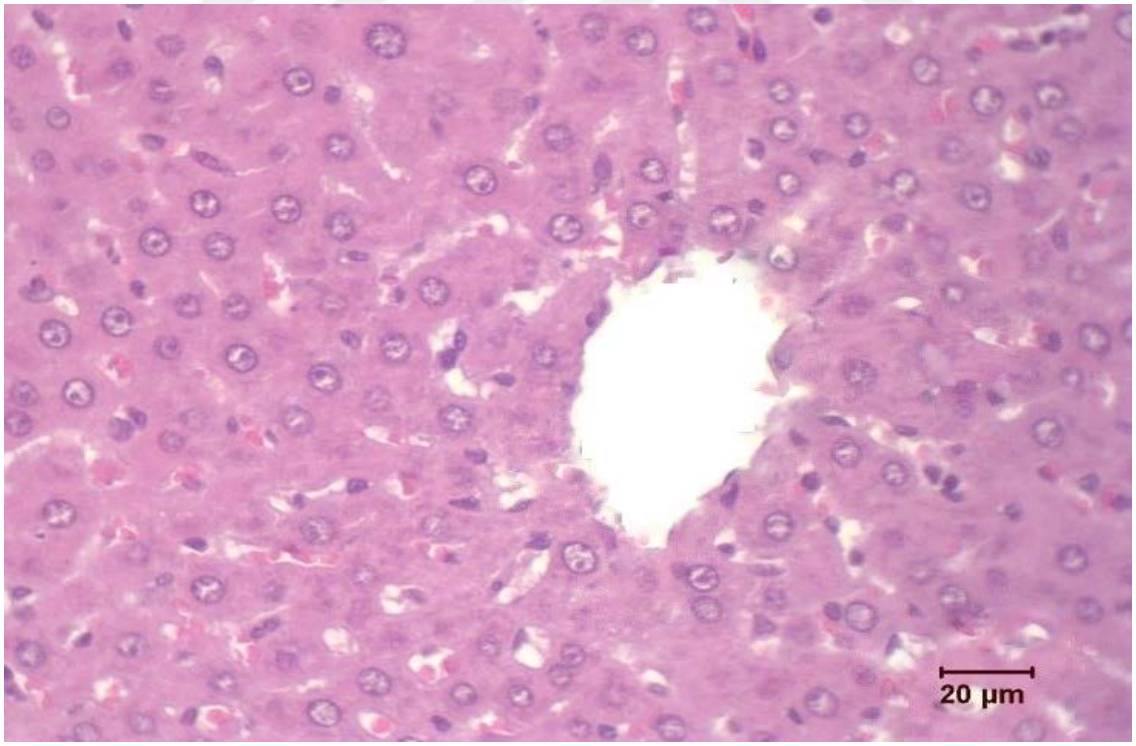
Şekil 4.11 Grup II' ye ait karaciğer doku kesitinde nüklear infiltrasyon (↗) (H&E)



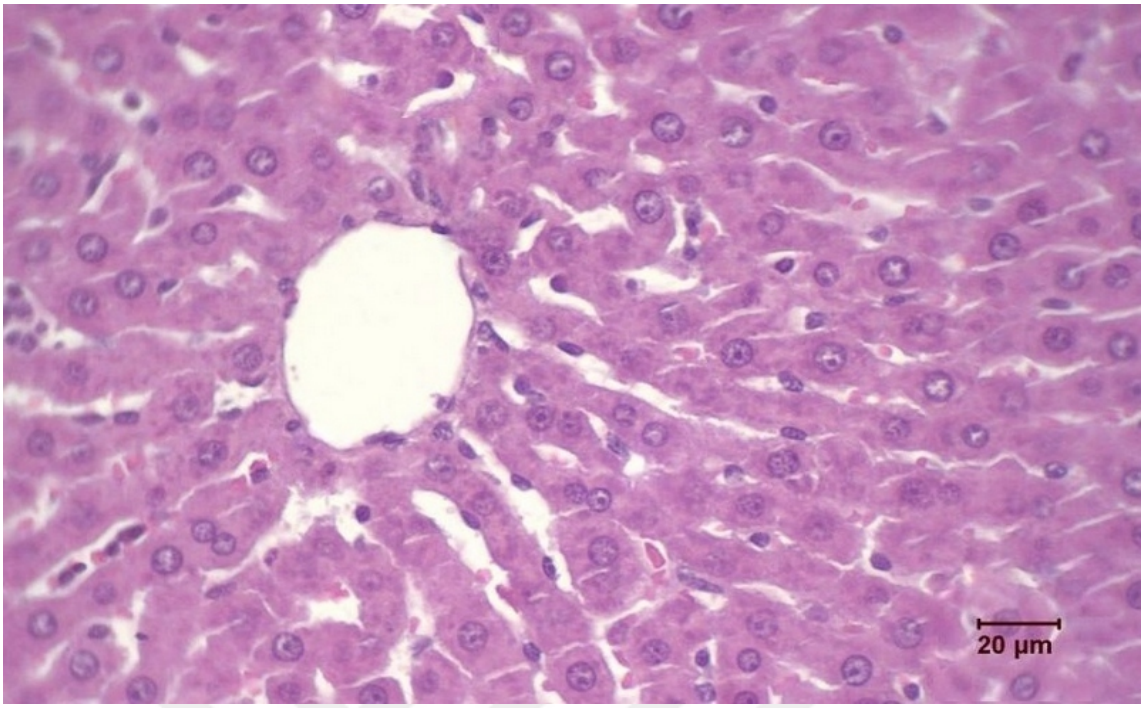
Şekil 4.12 Grup II' ye ait karaciğer doku kesitinde nekroz (↗) (H&E)



Şekil 4.13 Grup II' ye ait karaciğer doku kesitinde vokuolizasyon (↗) (H&E)



Şekil 4.14 Grup III' e ait karaciğer doku kesiti (H&E)



Şekil 4.15 Grup IV' e ait karaciğer doku kesiti (H&E)

4.1.3. Histolojik analizlerin istatiksel değerlendirmesi

Yapılan histolojik analizlerin skorlaması ve histolojik aktivite indeksi sırasıyla Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4' te verilmiştir.

Çizelge 4.3 Gruplara ait histolojik değerlendirme

Grup	Kanama	Nüklear infiltrasyon	Nekroz	Vakuolizasyon
I	0	0	0	0
II	5	6	6	5
III	3	4	4	3
IV	1	1-2	0-1	0

Çizelge 4.4 Histolojik aktivite indeksi

Kanama		Nüklear infiltrasyon		Nekroz		Vakuolizasyon	
Yok	0	Yok	0	Yok	0	Yok	0
Düşük seviye	1	Düşük seviye	1-2	Nadir	0-1	Kısmen	3
Yer yer	3	Yer yer	4	Düşük seviye	1-2	Yoğun	5
Yoğun	5	Yoğun	6	Kısmen	4		
				İleri derece	6		

4.2. Tartışma

İskemi reperfüzyon hasarında oksidatif stres, hücre içi aşırı kalsiyum artışı, nötrofil aktivasyonu gibi olayların meydana geldiği bilinmektedir (Barsotti vd., 2002). Oksijen radikalleri ve oksidantlar normal halde hücre içinde düşük seviyelerde hücresel homeosatazi, mitoz, farklılaşma ve sinyalizasyonda rol oynar. İskemi ve reperfüzyonu takiben radikal oluşumu geniş ölçüde artarak hücresel hasarı tetikler (Kim ve Ha, 2010). Reaktif oksijen türleri yükseltgeyici ve indirgeyici potansiyellerinden dolayı direkt olarak lipid peroksidasyonu ile hücre mebranlarının hasarına yol açması açısından reperfüzyon hasarında anahtar rol oynamaktadırlar (Halladin, 2015).

Serbest radikallere maruz kalan organizmalarda bir seri savunma mekanizması gelişmiştir. Bu mekanizmalardan biri de antioksidan savunma mekanizmasıdır. Bu mekanizmalar enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki gruba ayrılır. Normal şartlar altında bu iki grubun aktiviteleri ve hücre içi seviyeleri arasında bir denge olması organizmanın yaşamı ve sağlığı için önemlidir (Lone vd., 2013). Bununla birlikte, oksidatif güçler ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik hücresel hasara yol açmakta ve buna bağlı hastalıklar gelişmektedir (Anthony ve Saleh, 2013). Araştırmalar serbest radikal temizleyiciler ve antioksidanların iskemi reperfüzyonda faydalı etkilerinin olduğunu göstermiştir (Malek ve Nematbakhsh, 2015).

Yapılan çalışmalar, bitki orjinli antioksidanların serbest radikal süpürücü özelliklerinden dolayı oksidatif stresin yol açtığı çoğu hastalıkta tedavi edici ajan olarak büyük öneme sahip olduğunu göstermiştir. Bitkisel tedavi insan vücüduna uyumluluğu, yan etkilerinin azlığı ve kültürel kabul edilebilirliğinin fazla olmasından dolayı dünya nüfüsunun %70-80’ inde, çoğunlukla da gelişmiş ülkelerde sağlık hizmetlerinin başlıca dayanak noktasıdır (Sen vd., 2010). Farklı bitkilerde geniş çeşitlilikte flavonoidler, terpenoidler, ligninler, sülfürler, polifenolikler, karotinoidler, kumarinler, saponinler, bitki sterolleri, kurkuminler ve fitalidler tanımlanmıştır (Banu vd., 2014).

Çalışmamızda kullanılan Geraniol (3,7-dimetilokta-trans-2,6-dien-1-ol), doğal olarak bazı aromatik bitkilerin uçucu yağlarında bulunan antioksidan özelliğe sahip asiklik monoterpen bir alkoldür (Hassan vd., 2012; Abdallah vd.; 2015).

Böbrek iskemi/reperfüzyonu meydana geldiği organ dışında uzak organ olan karaciğerde de hasara neden olmaktadır. Literatürde, sıçanlarda böbrek İ/R (30, 45, 60 dk / 60 dk) sonrası 30 dk lık iskemi süresinde karaciğer fonksiyonunun hemen hemen değişmediği gözlenmiştir. Ancak 45 dk lık iskemi süresinde kısmen azaldığı, 60 dk lık iskemi süresinde ise önemli fonksiyon kaybı olduğu rapor edilmiştir (Kadkhodaee vd., 2009).

Deneysel çalışmamızda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarının karaciğerde erken evredeki etkilerini görmek istediğimiz için 45 dakikalık iskemi ve 4 saatlik reperfüzyon süresi literatüre uygun olarak belirlenmiştir.

Karaciğerde hepatoselüler hasarın belirlenmesinde kullanılan karaciğer fonksiyon testleri, vücutta çoğu organ ve dokuda bulunan aminotransferazlar olarak adlandırılan hücre içi enzimleri alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) miktarlarının serumda belirlenmesine dayanır. Bu testler karaciğer hasarı tespitinde tek başına yeterli olmamakla birlikte diğer laboratuvar bulguları ile desteklenmesi gerekmektedir (Sonsuz, 2007).

Çalışmamızda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarı sonrasında serum ALT ve AST değerleri incelendiğinde Grup I (Sham Grubu)' e göre bu değerlerin diğer gruplarda anlamlı derecede yükseldiği gözlenmiştir ($p<0.05$). Grup I (Sham Grubu) ile Grup II (SF + İ/R) arasında görülen anlamlı fark böbrek iskemisinin karaciğeri olumsuz etkilediğini düşündürmüştür. ALT ve AST değerlerinin Grup IV (100 mg/kg)' te Grup II (SF + İ/R)' ye göre istatiksel olarak anlamlı derecede düşüş olması geraniol' ün 100mg/kg' lık dozunun koruyucu etki gösterdiğini düşündürmüştür.

Golab ve ark. (2009) *Wistar albino* sıçanlarda yaptıkları çalışmada renal İ/R kaynaklı karaciğer uzak organ hasarında 45 dk' lık iskemiyi takiben 6 ve 24 saatlik reperfüzyon uygulamış, ALT ve AST değerlerinin İ/R gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığını gözlemlemişlerdir. Benzer şekilde Gholampour ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada 45 dk iskemiyi takiben 24 saatlik reperfüzyon sonucu ALT ve AST değerlerinin kontrol ve tedavi gruplarına göre artış gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Wang ve ark. (2010) *Sprague dawley* sıçanlarda 1 saat böbrek iskemisini takiben sırasıyla 1, 4, 8 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmada serum ALT ve AST değerlerinin tüm reperfüzyon sürelerinde önemli ölçüde yükseldiğini, fakat en yüksek değerine 8 değil de 4 saatte ulaştığını rapor etmişlerdir. Çalışmalardan elde edilen sonuçlar bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Hücrelerin evrim süresince oksidatif hasardan korunmak için geliştirdikleri savunma mekanizmalarından SOD, CAT, Gpx enzimatik antioksidanlardır. SOD ve CAT birlikte çalışan en etkili antioksidan enzimlerdir. SOD, savunmanın ilk ve en önemli enzimidir. Potansiyel olarak tehlikeli olan süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$)' ni daha az reaktif olan hidrojen peroksid (H_2O_2)' e dönüştürür. CAT ise H_2O_2' yi su (H_2O) ve moleküler oksijene dönüştürerek hücresel hasarı bertaraf eder. Bu birliktelik fark gözetmeden bütün makromoleküller ile reaksiyona girebilen en toksik ve oldukça reaktif bir oksidant olan hidroksil ($OH^{\cdot}$) radikalinin oluşumunu engeller (Scandalios, 1993; Seifi vd., 2014).

Çalışmamızda CAT aktivitesinin elektroforetik analiz sonuçlarında bütün gruplarda tek bir bant gözlenmiştir. Grup II (SF + İ/R)' de bant alanının diğer gruplara göre daha düşük olduğu görülmüştür. Grup IV (100 mg/kg Geraniol)' ün bant alanı Grup I (Sham Grubu)' e daha yakın iken, Grup III (50 mg/kg Geraniol)' ün bant alanı Grup II (SF + İ/R)' ye daha yakın bulunmuştur. Grup III (50 mg/kg Geraniol)' ün bant alanının Grup IV (100 mg/kg geraniol)' e göre daha düşük olması geraniolün 50 mg/kg dozunun koruyucu özelliğinin yeterli olmadığını ve 100 mg/kg dozunun antioksidan savunmaya destek olduğunu düşündürmüştür.

Serteser ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada erkek *Swiss* farelerde renal İ/R (30, 45, 60 dk/1 saat) sonrası tüm İ/R gruplarında karaciğer CAT aktivitesinde azalma kaydetmişlerdir. Benzer şekilde Emre ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada erkek *Sprague dawley* sıçanlarda renal İ/R (30 dk/2 saat) sonrası karaciğer CAT aktivitesinin İ/R grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma gösterdiğini bulmuşlardır. Sun ve ark. (2004), karaciğer iskemisinde iskemik son koşullanmanın koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada erkek *Wistar albino* sıçanlarda İ/R grubunda CAT aktivitelerinin kontrol grubuna göre düşüş gösterdiğini ve iskemik son koşullanma grubunda ise İ/R grubundan daha yüksek aktiviteye sahip olduklarını göstermişlerdir.

Khastar ve ark. (2011), erkek *BALB/c* farelerde yaptıkları çalışmada böbrek İ/R (60 dk/3 saat) sonrası karaciğerde CAT aktivitesinin düştüğünü rapor etmişlerdir. Canbek ve ark. (2008), erkek *Wistar albino* sıçanlarda karaciğer İ/R (45 dk/1 saat) sonrası CAT aktivitesinin sadece İ/R uygulanan grupta kontrol grubuna göre düşüş gözlemlemişlerdir. Yapılan çalışmalar böbrek iskemi reperfüzyonunun kalp, akciğer ve karaciğerde lökosit infiltrasyonunu artırdığını göstermektedir. Lökositler bu organlarda serbest radikal artışına yol açmaktadır (Kelly, 2003; Khastar, 2011). Radikallerin artışına bağlı olarak CAT gibi enzimlerin inaktivasyonunun hızlandığı rapor edilmiştir (Aydoğdu vd., 2005). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda CAT aktivitesindeki azalmayı enzim inaktivasyonuna bağlayabiliriz.

Çalışmamızda karaciğer dokusunda SOD enziminin iki izoenzimi tespit edilmiştir (SOD1 ve SOD2). SOD1 ve SOD2 bant alanları Grup II (SF+ İ/R)' de en yüksek, Grup I (Sham Grubu)' de ise en düşük bulunmuştur. Grup III (50 mg/kg) ve Grup IV (100 mg/kg)' te SOD1 ve SOD2 bant alanları birbirine yakın değerlerde olup Grup II (SF + İ/R)' den düşük bulunmuştur.

İ/R sonrası antioksidan enzimlerin arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Sizlan ve ark. (2009), *Sprague dawley* erkek sıçanlarda mezenterik İ/R modelinde uzak organ olan karaciğer, böbrek ve akciğerde SOD aktivitesinde artış olduğunu kaydetmişlerdir. Karabiga (2006), aortik İ/R uyguladığı *Wistar albino* sıçanlarda uzak organ olan böbrekte SOD değerinin İ/R grubunda kontrol ve tedavi grubuna göre yüksek olduğunu rapor etmiştir. Uyanoğlu ve ark. (2011), 45 dk böbrek iskemisini takiben 24 saat reperfüzyon uyguladıkları sıçanlarda karaciğer SOD aktivitesinin İ/R grubunda kontrol grubuna göre artış gösterdiğini, karvakrol uyguladıkları tedavi gruplarında ise İ/R grubuna göre azalma gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmalar bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.

İntrasellüler hidrojen peroksitin detoksifikasyonundan esas olarak Gpx sorumludur. Hidrojen peroksiti su ve okside glutatyon (GSSG)' a çeviren Gpx, hücreleri oksidatif ve toksik etkilere karşı korur. GSSG glutatyon redüktaz' ın katalizlediği reaksiyon ile glutatyona (GSH)' a dönüşür. Tüm hücrelerde bulunan GSH glutamik asit, sistein ve glisinden oluşur ve hücrenin protein yapısı dışındaki sülfhidril grubu içeriğinin %90' ını oluşturur.

Temel kaynağı karaciğer olan ve genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan sentezlenen GSH' ın karaciğer sitozolündeki yarı ömrü 2-4 saat iken mitokondrideki yarı ömrü yaklaşık 30 saattir (Şenses vd., 1999; Tekkes, 2006; Tekeli, 2012).

Çalışmamızda karaciğer dokusunda Gpx enziminin; Gpx1, Gpx2 ve Gpx3 olmak üzere üç izoenzimi tespit edilmiştir. Grup II (SF + İ/R)' nin bant alanları diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur. Grup III (50 mg/Kg geraniol) ve Grup IV (100mg/kg geraniol)' te Grup II (SF + İ/R)' ye göre bant alanlarında düşüş gözlenmiştir.

Sizlan ve ark. (2009), Sprague dawley erkek sıçanlarda mezenterik İ/R modelinde uzak organ olan karaciğer, böbrek ve akciğerde Gpx aktivitesinde artış olduğunu kaydetmişlerdir. Uyanoğlu ve ark. (2011), 45 dk böbrek iskemisini takiben 24 saat reperfüzyon uyguladıkları *Wistar albino* sıçanlarda karaciğer Gpx aktivitesinin İ/R grubunda kontrol grubuna göre artış gösterdiğini, karvakrol uyguladıkları tedavi gruplarında ise İ/R grubuna göre azalma gösterdiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar bu çalışmalarla paralellik göstermektedir.

İskemik barsak dokusunda yapılan çalışmalarda GSH azalışı ve GSSG artışı gözlenmektedir. Araştırmacılar bu olayı, GSH' ın serbest radikaller tarafından oksitlendiği veya artan H_2O_2' yi kullanan Gpx' in aktivitesindeki artışın GSH' ı tüketebileceği şeklinde açıklamaktadır (Karaayvaz vd., 1996). Çalışmamızda İ/R grubunda Gpx aktivitesi CAT' ın aksine artış göstermiştir. Aynı substratı kullanan fakat hücresel kompartmanları farklı olan bu iki enzimin farklı davranış göstermesi, serbest radikal artışının CAT enzimi inaktivasyonuna sebep olması ve karaciğerde üretimi fazla olan GSH' ı Gpx' in tüketmesi sonucu Gpx aktivitesindeki artışa bağlı olarak CAT' ın substratı olan H_2O_2 ile daha fazla tepkimeye girmesi şeklinde açıklayabiliriz.

Çalışmamızın biyokimyasal analizlerini histolojik bulgularla destekleyen çalışmalar mevcuttur.

Mohamed ve Mubarak (2011), *Wistar albino* sıçanlarda sırasıyla 30, 45, 60 dk böbrek iskemisi 1 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmada 45 ve 60 dk iskemi sürelerinde karaciğer histolojisinde kanama ve lökosit infiltrasyonu saptamışlardır.

Park ve ark. (2011), *C57BL/6* farelerde ayrı ayrı 20 ve 30 dk böbrek iskemisi 5 ve 24 saatlik reperfüzyon uyguladıkları çalışmada karaciğer histolojisinde hepatik nekroz ve vakuolizasyon, sitoplazmik dejenerasyon ve kanama saptamışlardır. Uyanoğlu ve ark. (2011), *Wistar albino* sıçanlarda 45 dk böbrek iskemisini takiben 24 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmada karaciğer histolojik incelemelerinde İ/R grubunda hücresel dejenerasyon, sinusoidal kanama ve sitoplazmik vakuolizasyon bulguları saptarken, tedavi gruplarında karaciğerin histolojik organizasyonunun korunduğunu ve oral yoldan verilen karvakrol' ün 25 mg/kg dozunun koruyucu özellik gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Benzer şekilde Nazmy ve ark. (2012), *Wistar albino* sıçanlarda 60 dk böbrek iskemisi 1 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmada İ/R grubunda karaciğer histolojisinde kanama, vakuolizasyon, lökosit infiltrasyonu saptarken, tek doz oral 5 mg/kg losartan uyguladıkları tedavi grubunda karaciğer histolojisinde daha az kanama, minimal vakuolizasyon gözlemlemiş, lökosit infiltrasyonu gözlemlememişlerdir. Köksal ve ark. (2011), *Wistar albino* sıçanlarda 60 dk böbrek iskemisi 24 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmada İ/R grubunda nekroz ve inflamasyon saptarken, intraperitonal 10 mg/kg melatonin uyguladıkları tedavi grubunda bu bulgulara ratslamamışlardır. Yapılan bu çalışmalar böbrek iskemi reperfüzyonunun karaciğer hasarına yol açtığını göstermesi ve çalışmamızla paralellik göstermesi açısından önemli bulunmuştur.

Çalışmamızda böbrek İ/R (45 dk/4 saat) grubunda karaciğer histolojisinde kanama, vokuolizasyon, nüklear infiltrasyon ve nekroz gözlemlenmiştir. İntraperitonal 50 mg/kg geraniol uygulanan Grup III' te kanama ve nüklear infiltrasyona yer yer rastlanırken, vakuolizasyon ve nekrozun azaldığı gözlemlenmiştir.

Tedavi amaçlı 100 mg/kg geraniol uygulanan Grup IV' te kanama ve nüklear infiltrasyonda azalmanın yanısıra nekroza nadir rastlanılırken, vakuolizasyona rastlanılmaması 100 mg/kg geraniol dozunun 50 mg/kg dozuna göre daha fazla koruyucu etki gösterdiğini düşündürmüştür.

Manoharan ve Selvan (2012), yapmış oldukları deneysel araştırmada geraniol' ün *Swiss* farelerde DMBA (7,12- dimetilbenz(a) antrasen) kaynaklı deri karsinojenezinde eritrositlerde ve deri dokusunda antioksidan enzimler üzerinde olumlu etki gösterdğini rapor etmişlerdir. Banu ve ark. (2014), *Wistar albino* sıçanlarda Dietil Nitrozodietilamin kaynaklı karaciğer karsinojenezinde karaciğer dokusunda tümör taşıyan grupta antioksidan enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre önemli derecede düştüğünü, geraniol uygulanan gruplarda ise tümör taşıyan gruba göre artış gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Benzer şekilde Veena ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada *Swiss* fareler de B(a)P (Benzo(a)piren) kaynaklı oluşturdukları deneysel akciğer kanserinde antioksidan enzim aktivitelerinin B(a)P uygulanan grupta kontrol grubuna göre düşüş gösterdiğini, geraniol uygulanan grupta ise kontrol ve B(a)P uygulanan gruba göre anlamlı derecede yükseldiğini gözlemlemişlerdir. Can ve Canbek (2014), *Wistar albino* sıçanlarda uzun süreli böbrek iskemi/reperfüzyon (60 dk/24 saat) hasarında intraperitonel olarak geraniolün 50 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarını uygulamışlar ve 100 mg/kg uygulanan dozun böbrek üzerinde koruyucu etkisi olduğunu rapor etmişlerdir. Bu rapor, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi' nde poster sunumu olarak yayınlanmıştır (http://ubk2014.ogu.edu.tr/).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Elde ettiğimiz biyokimyasal ve histolojik analiz sonuçları ışığında böbrekte 45 dk iskemi 4 saat reperfüzyon uygulamasının uzak organ karaciğer hasarına yol açtığı ve bu hasara karşı intraperitonal olarak uygulanan geraniol dozlarından 100 mg/kg dozun daha fazla olmak üzere ikisinin de koruyucu etki gösterdiği söylenebilir.

İ/R hasarında antioksidan enzim aktiviteleri benzerlik göstermekle birlikte, yapılan bazı çalışmalar bu enzimlerin farklı aktiviteye sahip olabileceğini göstermektedir (Karaayvaz vd., 1996, Emre vd., 2006). Bu durumun deneysel modelleme farklılıklarından kaynaklanabileceği düşüncesiyle, daha sonraki çalışmalarda İ/R süresince antioksidan enzim aktivitesinden sorumlu genlerin ifadeleri araştırılabilir.

Ayrıca İ/R süre farklılığı, uygulanan antioksidan maddenin İ/R öncesi ve sonrası uygulanmasına bağlı olarak organ veya dokuda meydana gelen hasarın derecesi değişkenlik göstermektedir. Bu doğrultuda, geraniol' ün farklı dozları ve uygulama zamanının belirlenmesi açısından farmakokinetik araştırmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Abdallah, D., Ibrahim, S., Denshary, E., 2015, Geraniol, alone and in combination with Pioglitazone, Ameliorates Fructose-Induced metabolic syndrome in Rats via the modulation of both ınflammatory and Oxidative Stress status, University of Catanzaro Magna Graecia, doi: 10.1371/journal.pone.0117516.

Akalın, F., 2014, Sivelestat ve Edaravone'nın Detorsiyone Sıçan Overindeki İskemi-Reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi, Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 60 s.

Akino, K., Akita, S., Mizuguchi, T., Takumi, I., Yu, R., Wang, X., Rozga, J., Demetriou, A.A., Melmed, S., Ohtsuru, A., Yamashita, S., 2005, A novel molecular marker of pituitary tumor transforming gene involves in a rat liver regeneration, The Journal of Surgical Research, 129, 142-146.

Akkoç, H., 2008, Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon hasarı, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dicle Tıp Dergisi, 35,3, 211-215.

Akkuş, İ., 1995, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları, Konya, s.45.

Aktay, G., Deliorman, D., Ergun, E., Ergun, F., Yeşilada, E., Çevik C., 2000, Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury, Journal of Ethnopharmacology 73, 121-129.

Aktoz, T., 2004, Sıçanlarda böbrek iskemi-reperfüzyon hasarına Melatonin ve E Vitamininin antioksidan etkileri ile hücresel değişiklikler, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilimdalı, 60 s.

Aller, M.A., Arias, N., Prieto, I., Agudo, S., Gilsanz, C vd., 2012, A half century (1961-2011) of applying microsurgery to experimental liver research, World Journal of Hepatology 4,7, 199-208.

Altıntaş, E., 2012, Karaciğerin sonoanatomisi "Görmek İçin Bakmak; Bilmek İçin Görmek Lazım", Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı Güncel Gastroenteroloji, 16,1, 1-75.

Ammar, R.B., Ghedira, L., Franca, M.G., 2009, Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of Rhamnus alaternus L. (Rhamnaceae) : A structure-activity relationship study, Food Chemistry, 116, 258-264.

Anthony, K.P., Saleh, M.A., 2013, Free radical scavenging and antioxidant activities of Silymarin components, Texas Southern University Department of Chemistry Antioxidants, 2, 398-407.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Aoki, T., Murakami, M., Niiya, T., Murai, N., Shimizu, Y., Kato, H. and Kusano, M., 2001, Capacity of hepatic regeneration following a second partial hepatectomy in rats, Hepatology Research, 21, 228-241.

Assy, N., Gong, Y., Zhang, M., Pettigrew, N.M., Pashniak, D. and Minuk, G.Y., 1998, Use of proliferating cell nuclear antigen as a marker of liver regeneration after partial hepatectomy in rats, Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 131, 251-256.

Aydemir, B., Sarı, E., 2009, Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kocatepe Veteriner Dergisi, 2,2, 56-60.

Aydoğan, B., 2006, Deneysel hepatik iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde iskemik sonkoşullanma ve etkinliği, Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 50. s.

Aydoğdu, N., Kaymak, K., Yalçın. Ö., 2005, Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında N-Asetilsisteinin etkileri, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Fırat Tıp Dergisi, 10,4, 151-155.

Aygün, H., 2011, Deneysel intestinal iskemi reperfüzyon modelinde reperfüzyon sonrası uygulanan Levosimendanın etkileri, Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, 46 s.

Banu, F., Dawood, N., Lakshmi Y.S., Gopalakrishnan, S., Brinda, V., 2014, Antioxidant activity of Geraniol on n-Nitrosodiethylamine-induced hepatocarcinogenesis in Wistar albino rats, Department of Biochemistry, JBAS College for Women, Chennai, India Indian Journal of Oncology Radiation Biology, 2,7, 4-9.

Barsotti, A., Caterina, R., Taccardi, A.A., Napoli, P., 2002, Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury: experimental data, Chair of Cardiology, and Laboratory of , Experimental Cardiology, Department of Clinical Sciences and Bioimaging, "G. d'Annunzio" University, Chieti, Chair of Cardiology, University of Genoa Ital Heart Journal, 2,4, 24-28.

Basım, S., 2005, Alt ekstremitede iskemi-reperfüzyon oluşturulan ratlarda Ginkgo Biloba EGB 761' in bağırsak anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Genel Cerrahi Kliniği, 50 s.

Baylan, B., 2013, Üzüm çekirdeği özütü ile tedavi edilen hipoksik iskemik ensefelopatili sıçanlarda Gyrus Dentatus' un stereolojik olarak incelenmesi, Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, 84 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Beauchamp, C., Fridovich, I., 1971, Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, Anal Biochem. 44, 276-87.

Bilgin, Ö., 2007, Lipopolisakkarit ile uyarılmış hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan deneklerde, Melatonin uygulanmasının doku (karaciğer ve böbrek) NF-kB ekspresyonu ile kan ve doku lipid peroksidasyonu üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 102 s.

Bingöl, G., 1976, Lipidler, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 41, s.20.

Bingöl, S.A., Kocamış, H., 2010, Sağlıklı ve diyabet oluşturulmuş farelerin böbrek dokusunda Katalaz enziminin RT-PCR, ile Gen ve İmmunohistokimyasal olarak protein ekspresyonu, Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 16, 5, 825-834.

Büyük, İ., Aydın, S., Aras, S., 2012, Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 69, 2, 97-110.

Büyüktuncel, E., 2013, Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler, İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analatik Kimya Anabilim Dalı Marmara Pharmaceutical Journal, 17, 93-103.

Canbek, M., Uyanoğlu, M., Bayramoğlu, G., Şentürk, H., Erkasap, N vd ., 2008, Effects of carvacrol on defects of ischemia-reperfusion in the rat liver, Phytomedicine, 15, 447-452.

Chamoun, F., Burne, M., Donnell, M., Rabb, H., 2000, Pathophysıologıc role of selectıns and theır lıgands ın ıschemıa reperfusıon ınjury, University of Minnesota Medical School Frontiers in Bioscience 5, 103-109.

Chen, W., Viljoen, A.M., 2010, Geraniol-A review of a commercially important fragrance material, Department of Pharmaceutical Sciences, Tshwane University of Technology South African Journal of Botany 76, 643-651.

Cho, M., So, I., Chun, J.G., Jeon, J.H., 2016, The antitumor effects of geraniol: Modulation of cancer hallmark pathways, Internatıonal Journal of Oncology, 48, 1772-1782.

Croteau, R.B., McConkey, M.E., Gershenzon, J., 2013, Regulation of Monoterpene Accumulation in Leaves of Peppermint, Institute of Biological Chemistry, and Department of Biochemistry and Biophysics, Washington State University American Society of Plant Physiologists, 122, 205-213.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Çakatay, U., Kayalı, R., 2006, Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi, Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 37, 162-167.

Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., 1997, Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, 3-4, 92-95.

Çaylak, E., 2011, Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar, Tıp Araştırma Dergisi, 9,1, 73-83.

Delibaş, N., Özcankaya, R., 1995, Serbest radikaller, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2,3, 11-17.

Doğan, Ç., 2014, Ratlarda testiküler torsiyon/detorsiyon modeline bağlı oluşan doku hasarında amlodipinin etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, 97 s.

Dündar, Y., Aslan, R., 2000, Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar, Afyon Kocetepe Üniversitesi Yayınları, 29, s.40.

Ekici, L., Sağdıç, O., 2008, Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu, Gıda, 33,5, 251-260.

Eltzsching, H.K., Collard, C.D, 2004, Vascular ischaemia and reperfusion injury, British Medical Bulletin, 70, 71-86.

Emre, M.H., Erdoğan, H., Fadıllıoglu, E., 2006, Effect of BQ-123 and Nitric Oxide Inhibition on Liver in Rats after Renal Ischemia-Reperfusion Injury, General Physiology and Biophysics, 25, 195-206.

Erbaş, M., Şekerci, H., 2011, Serbest radikallerin önemi ve gıda işleme sırasında oluşumu, Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda, 36, 6, 349-356.

Farahat, G.S., 2003, Phenotypıc varıatıon of glutathıone peroxıdase actıvıty ın dıfferent genotypes of chıcken and ıts correlatıon wıth some productıon traıts, Ph. D. Dissertation, Szent Istvan Unıversıty Faculty of Agrıcultural and Envıronmental Scıences, 122 p.

Furuta, K., Kakita, A., Takahashi, T., Tomiya, T. and Fujiwara, K., 2000, Experimental study on liver regeneration after simultenous partial hepatectomy and pancreatectomy, Hepatology Research, 17, 223-236.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Geldi, O., 2012, Sıçanlarda abdominal aortaya kros klemp konulmasının neden olduğu iskemi reperfüzyona bağlı miyokard hasarına Asetaminofenin etkisi, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, 45 s.

Gholampour, F., Karimifard, F., Owji, S.W., 2015, Berberine improves liver injury following renal ischemia reperfusion in rats, Iranian Journal of Science & Technology, 39, 1, 17-23.

Gines, P, Kamath, P.S., Arroyo, V., 2011, Chronic Liver Failure, e-kitap, 36, www.springer.com/cda/.../9781607618652-c1.pdf.

Gisselmann, G., Simon, A., Haussinger, D., Keitel, V., Conrad, H vd., 2015, Monoterpene (-)-citronellal affects hepatocarcinoma cell signaling via an olfactory receptor, Archives of Biochemistry and Biophysics, 556, 100-109.

Golab, F., Kadkhodaee, M., Zahmetkesh, M., Hedayati, M., Arab, H vd., 2009, Ischemic and non-ischemic acute kidney injury cause hepatic damage, International Society of Nephrology, 75, 783-792.

Grace, P.A., 1994, Ischemia-reperfusion injury, Department of Surgery, Royal Postgraduate Medical School. Hammersmith Hospita British Journal of Surgery, 81, 637-647.

Gregova, K., Cıkos, S., Czıkkova, S., Rabajdova, M., Urban, P., Vesela j., 2013, Effects of intestinal ischemia reperfusion injury on the level of specific genes in rats, JEcol Health, 17, 3.

Gümüştaş, K., Atukeren, P., 2008, Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri: Türkiyede sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar, 62, 329-340.

Günaldı, M., 2009, Kan selenyum düzeyi ve glutatyon peroksidaz aktivitesinin akut miyokart enfaktüsü gelişimi üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi, T.C Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastahanesi II. İçhastalıkları Kliniği, 71 s.

Halliwell, B., 1991, Drug antioxidant effects, Drugs; 42, 4, 569-605.

Halladin, N.L., 2015, Oxidative and inflammatory biomarkers of ischemia and reperfusion injuries, Danısh Medıcal Journal, 62,4, B5054.

Halliwell, B., 1984. Oxygen radicals, a commonsense look at their nature and medical ımportance, Med. Biol, 62, 71-77.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Hassan, M., Maarof, N.D, Alı, M.Z., Noor, N.M, Othman, R., Morı, N., 2012, Monoterpene alcohol metabolism: ıdentification, purification, and characterization of two Geraniol Dehydrogenase ısoenzymes from Polygonum minus Leaves, Biosci. Biotechnol. Biochem, 76,8, 1463-1470.

Hekim, K., 2008, Egzersizde oksidatif stres ve siyalik asit düzeyleri, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, 34 s.

Ilmakunnas, M., 2008, Ischemia-reperfusion injury in human liver transplantation mechanisms and effects on graft function, Academic Dissertation, Helsinki University Central Hospital Faculty of Medicine Transplantation and Liver Surgery Clinic, Department of Surgery ,Department of Bacteriology and Immunology, Haartman-Institute , Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, 80 p.

İşbilir, Ş.S., 2008, Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 117 s.

Jayakumar, T., Thomas, P.A., Geraldine, P., 2007, Protective effect of an extract of the oyster mushroom, Pleurotus ostreatus on antioxidants of major organs of aged rats, Exp Gerontol, 42, 183-91.

Kaçmaz, A., User, E.Y., Şehirli, A.Ö., Tılkı, M., Ozkan, S., Şener, G., 2005, Protective effect of Melatonin against ıschemia/reperfusion-ınduced oxidative remote organ ınjury in the rat, Surgey Today, 35, 744-750.

Kadkhodaee, M., Golab, F., Zahmetkesh, M., Ghaznavi, R., Hedayati, M vd., 2009, Effects of different periods of renal ischemia on liver as a remote organ, World Journal of Gastroenterology, 15, 9, 1113-1118.

Kalogeris, T., Baines, C.P., Krenz, M., Korthuis, R.J., 2012, Cell biology of ıschemia/reperfusıon ınjury, International review of cell and molecular biology, 298, 229-317.

Kandilci, H.B., Gümüşel, B., 2005, Akciğerlerde iskemi-reperfüzyon hasarı ve iskemik önkoşullanma, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 25,1, 35-49.

Karaarslan, G.T., 2012, Canlı verici karaciğer nakillerinde donörlede pretransplant dönemde çok dedektörlü bilgisayarlı tomografi (ÇDBT) ile hesaplanan greft volümünün cerrahi sonrası greft ağırlığı ile karşılaştırılması ve bulguların analizi, Uzmanlık Tezi, İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı, 75 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Karaayvaz, M., Öztürk H.S., Elgün, S., Kaçmaz, M., Canbolat, O., 1996, ince barsak iskemisi ve serbest radikal metabolizması, Türkiye Klinik Tıp Bilimleri Dergisi, 16, 437-439.

Karabelyos, C., Dpozy, O., Szalaı,C., Klenjanszkı, K., Varju, K vd., 1999, Elevated hepatic glucocorticoid receptor expression during liver regeneration in rats, Pathology Oncology Research, 5,2, 107-109.

Karabiga, M., 2006, Aprotin' in deneysel aortik iskemi reperfüzyon modelinde böbrek hasarı üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, 82 s.

Karabulut, A.B., Özerol, E., Temel, İ., Gözükara, E.M., Akyol, Ö., 2002, Yaş ve sigara içiminin eritrosit Katalaz aktivitesi ve bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9,2, 85-88.

Karabulut, H., Gülay, M.Ş., 2016, Antioksidanlar, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 1,1, 65-76.

Karadağ, F., 2013, Farklı dozlarda selenyum uygulamalarının Haşhaş (Papaver somniferum L.) yapraklarında antioksidan enzimler üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 89 s.

Karafakıoğlu, Y., 2010, Antioksidanlar ve bir antioksidan olarak Taurin, Kocatepe Veteriner Dergisi, 3,1, 56-61.

Karasakal, A., 2007, Kuşburnu bitkisinde spektrofotometrik yöntemle Askorbik asit tayini, Yüksek Lisans TeziİstanbulTeknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 67 s.

Kasnak, C., Palamutoğlu, R., 2015, Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri, Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3,5, 226-234.

Katawala, T., 2008, Liver physiology, The Journal of the World Federation of Societies of Anaesthesiologists, 24,2, 66 p.

Kaya, Y., Aral, E., Coşkun, T., Erkasap, N., and Var, A., 2002, Increased intraabdominal pressure impairs liver regeneration after partial hepatectomy in rats, Journal of Surgical Research, 108, 250-257.

Kaya, E., Minosiklin ve Nilvadipinin tekrarlayan dört damar oklüzyon yöntemiyle beyin iskemisi oluşturulan sıçanlarda davranışsal ve biyokimyasal etkileri, Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, 65 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kayabaşı, H., 2011, Kalsiyum Dobesilat' ın sıçanlarda böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı ve antioksidan sistem üzerine etkilerinin incelenmesi, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 66 s.

Kayış, T., Diazinon' un subletal konsantrasyonlarının Pimpla turionellae L.'nın eşey oranı ve bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 102 s.

Kelly, K.J., 2003, Distant effects of experimental renal ıschemia/reperfusion ınjury, Journal of the American Society of Nephrology, 14, 1549-1558.

Khastar, H., Kadkhodaee, M., Sadeghipour, H., Seifi, B., Hadjati, J vd., 2011, Liver oxidative stress after renal ıschemia-reperfusion ınjury is leukocyte dependent in ınbred mice, Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 14,6 534-539.

Kılınç, K., Kılınç, A., 2002, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri, Hacettepe Tıp Dergisi, 33,2, 110-118.

Kim, W., Ha, S.J., 2010, Mechanism of ıschemia and reperfusion ınjury to the herath: From the viewpoint of Nitric oxide and Mitochondria, Chonnam Medical Journal, 46, 3, 129-139.

Kıral, M., 2012, Turnike uygulanan ortapedi hastalarında iskemi-reperfüzyon hasarı sonucu oluşan oksidatif hasara karşı C ve E vitamininin koruyucu etkinliğinin araştırılması, Uzmanlık Tezi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortapedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 44 s.

Kisaoğlu, A., Borekci, B., Yapca, O.E., Bilen, H., Suleyman, H., 2013, Tissue damage and oxidant/antioxidant balance, The Eurasian Journal of Medicine, 45, 47-9.

Koca, N., Karadeniz, F., 2005, Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler, Gıda, 30,4, 229-236.

Köksal,M., Kurçer, Z., Oğuz, E., Baba, F., Aksoy, N., 2011, Renal iskemi-reperfüzyonda uzak organ zedelenmesi: Melatoninin karaciğer histopatolojisine etkisi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 8,1, 9-13.

Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M., 2004, Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, Food Chemistry, 85, 633-6440.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kutlular, Ö., 2007, Bazı Adaçayı ve Kekik türlerinin Uçucu yağlarının süper ısıtılmış su ile ekstraksiyonları ve GC-MS ile karakterizasyonları, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 83 s.

Langseth, L., 1995, Oxıdandts, antıoxıdants and dısease preventıon, Internatıonal Life Sciences Instıtute Europe, p.2.

Lone, A.A., Ganai, S.A., Ahanger, R.A., Bhat, H.A., Bhat, T.A., Wani, I.A., 2013, Free radicals and antioxidants: Myths, facts and mysteries, African Journal of Pure and Applied ,Chemistry, 7,3, 91-113.

Malarkey, D.E., Johnson, K., Ryan, L., Boorman, G., Maronpot, R.R., 2005, New ınsights into functional aspects of liver morphology, Toxicologic Pathology, 33, 27-34.

Malek, M., Nematbakhsh, M., 2015, Renal ischemia/reperfusion injury; from pathophysiology to treatment, Journal of Renal Injury Prevention, 4,2, 20-27.

Manoharan, S., Selvan,.M.V., 2012, Chemopreventive potential of geraniol in 7,12-dimethylbenz(a) anthracene (DMBA) induced skin carcinogenesis in Swiss albino mice, Journal of Environmental Biology, 33, 255-260.

Martins, P.N., Theruvath, T.P., Neuhaus, P., 2007, Rodent models of partial hepatectomies, Liver International: Officıal Journal of the Internatıonal Associatıon for the Study of the Liver, doi: 10.1111/j.1478-3231.2007.01628.x.

Memişoğulları, R., 2005, Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi, Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, 3, 30-39.

Mercan, U., 2004, Toksikolojide serbest radikallerin önemi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 15, 1,2, 91-96.

Mohamed, N.S., Mubarak, H.A., 2011, Effects of renal ıschemia reperfusion on Brain, Liver & Kidney tissues in adult male rats, Life Science Journal, 8,1, 204-212.

Mustarichie, R., Moektiwardoyo, M., Levita, J., Supriyatna., Muhtadi, A vd., 2012, The research evidence of antıoxidant and antı-cancer actıvıty of Genısteın content ın the Indonesıan tradıtıonal food (oncom), Ethanol extract, International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences, 2,5, 65-73.

Nazmy, W.H., Twaab, N., 2012, Effect of experımentally-ınduced renal ıschemıa/reperfusıon ınjury on rat lıver functıon: role of Angıotensın II, El-Mania Medıcal Bulletın, 23,1, 200-211.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Okcu, Z., Keleş, F., 2009, Kalp damar hastalıkları ve antioksidanlar, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 40,1, 153-160.

Ozan, E., Koyutürk, L., Sapmaz, T., 2004, Böbrek iskemi-reperfüzyon hasarında antioksidan olarak Prostoglandin E1 (PGE1) kullanımının incelenmesi: Deneysel çalışma, Fırat Tıp Dergisi, 9,3, 67-71.

Önal, A., Astarcıoğlu, H., Örmen, M., Atila, K., Sarıoğlu, S., 2004, Sıçanlardaki renal iskemi-reperfizyon hasarında L-karnitinin koruyucu etkisi, Ulus Travma Dergisi, 10,3, 160-167.

Öz, S., 2013, Deneysel böbrek iskemi reperfüzyon hasarında Pelargonıum sıdoıdensin etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, 74 s.

Özcan, O., Erdal, H., Yönden, Z., 2015, İskemi-reperfüzyon hasarı ve oksidatif stres ilişkisine biyokimyasal bakış, Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi, 6, 23, 27-33.

Özel, G.S., Birdane, Y.O., 2014, Antioksidanlar, Kocatepe Veteriner Dergisi, 7,2, 41-52.

Özen, E., 2012, 1,4-Dioksan verilen Albino farelerde yeşil çayın bazı biyokimyasal parametreler üzerine koruyucu etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 66 s.

Özenç, B., 2011, Fumaria officinalis'un antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 66 s.

Özkaya, F.C., Koçdor, H., İskem,-reperfüzyon ve kanser metastazı: Biyokimyasal bakış, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 22,2, 89-98.

Özkayran, H., 2009, Sıçanlarda deneysel intestinal iskemi reperfüzyon hasarında Dekspantenolün etkileri, Uzmanlık Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, 55 s.

Palabıyık, A.A., 2014, Experimental tiroid disfonksiyonlu rat karaciğerinde total oksidan ve total antioksidan Status parametreleri üzerine egzersizin etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 39 s.

Palüzar, H., Pestisitlerin vücut savunma sistemi enzimleri üzerine etkilerinin in vitro incelenmesi, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, 123 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Park, J.H., Jeon, S.H., Chang, S.G., 2007, Expression of antioxidant enzymes (Catalase, Superoxide Dismutase, and Glutathione Peroxidase) in human Bladder Cancer, Korean Journal Urology 48, 921-926.

Paşaoğlu, M.O., 2011, L- Name uygulanan sıçan dokularında bazı biyokimyasal parametreler üzerine Propolisin etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 58 s.

Patil, S., Sethi, M., Kakar, S., 2014, Morphologıcal study of human liver and ıts surgıcal ımportance, International Journal of Anatomy and Research, 2,2, 310-14.

Peng, Q., Li, K., Smyth, L.A., Xing, G., Wang, N vd., C3a and C5a promote renal ıschemia-reperfusion ınjury, American Society of Nephrology, 23, 1474-1485.

Perez, J.A., Aguilar, T.A., 2013, Chemistry of natural antioxidants and studies performed with different plants collected in mexico, Additional information is available at the end of the chapter, doi: 10.5772/45722.

Petcoff, GM., Diaz, A.O., Escalante, A.H, Goldemberg, A.L., 2006, Histology of the liver of Oligosarcus jenynsii (Ostariophysi, Characidae) from Los Padres Lake, Argentina, İnheringia Serie Zoologia, 96,2, 205-208.

Polo, M.P., Crespo, R., Bravo, M.G., 2011, Geraniol and simvastatin show a synergistic effect on a human hepatocarcinoma cell line, Cell Biochemistry Function, 29, 452-458.

Prasad, S.N., Muralithara., 2014, Protective effects of geraniol (a Monoterpene) in a diabetic neuropathy rat model: attenuation of behavioral ımpairments and biochemical perturbations, Journal of Neuroscience Research, 92, 1205-1216.

Preiser, J.C., Chiolero, R., Singer, P., Özel substratların kullanılması, 2006, (Çev.G.Korfalı), Yoğun Bakım Dergisi, 6,1, s. 74.

Ramadorı, G., Morıconı, F., Malık, I., Dudas, J., 2008, Physıolagy and pathophysıology of liver ınflammatıon, damage and repaır, Journal of Physıology and Pharmacology, 59,1, 107-117.

Rekha, K.R., Selvakumar, G.P., 2014, Gene expression regulation of Bcl2, Bax and cytochrome-C by geraniolon chronic MPTP/probenecid induced C57BL/6 mice model of Parkinson's disease, Chemico-Biological Interactions, 217, 57-66.

Sanz, N., Fernandez, C.D., Simon, L.F., Alvarez, A., Cascales, M., 1998, Necrogenic and regenerative responses of liver of newly weaned rats against a sublethal dose of thioacetamide, Biochimica et Biophysica Acta, 1384, 66-78.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Savaş, G., Farklı pişirme yöntemlerinin siyah pirincin fenolik bileşenleri ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendiliği Anabilim Dalı, 76 s.

Savaş, N., 2014, Karaciğer fonksiyon testi bozukluğuna yaklaşım, Turkısh Famıly Physıcıan, 5, 3, s.2.

Sayın, O., Arslan, N., Güner, G., 2008, Resveratrol ve kardiyovasküler sistem, Türk Biyokimya Dergisi, 33,3, 117-121.

Scandalios, J.G., 1993., Oxygen stress and Superoxide Dismutases, Plant Physiology, 101, 7-12.

Schenk, A., 2012, Liver segmentation and its application to hepatic ınterventions, e-kitap, 15, http://elib.suub.uni-bremen.de/edocs/00102953-1.pdf, erişim tarihi, 09.01.2017.

Schiff, E.R., Maddrey, W.C., Sorrell, M.F., 2012, Schiff' s Disseases of the Liver, A John Wiley & Sons, Ltd., Publication, p.93.

Seifi, B., Kadkhodaee, M., Najafi, A., Mahmoudi, A., 2014, Protection of Liver as a remote organ after renal ıschemia-reperfusion ınjury by renal ıschemic postconditioning, Hindawi Publishing Corporation International Journal of Nephrology, doi: 10.1155/2014/120391.

Selçuk, N.Y., Yakan, B., San, A., Başoğlu, M., Tonbul, Z vd., 1996, Deneysel sıcak renal iskemi ve reperfüzyonda lipid peroksidasyonu ve Alpha- Tocopherol tedavisinin değerlendirilmesi, Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergis, 1, 5-10.

Sen S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S., De, B., 2010, Free radicals, antioxidants dıseases and phytomedıcınes: Current status and future prospect, International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 3, 1, 91-99.

Sener, G., Sener, E., Sehirli, O., Ogunc, A.V., Cetinel, S., Gedık, N vd., 2005, Ginkgo biloba extract ameliorates ischemia-reperfüsion-induced renal injury in rats, Pharmacological Research,; 52; 216-22.

Serteser, M., Koken, T., Kahraman, A., Yılmaz, K., Akbulut, G vd., 2002, Changes in hepatic TNF-α levels, antioxidant status, and oxidation products after renal ıschemia/reperfusion ınjury in mice, Journal of Surgical Research, 107, 234-240.

Sezer, K., Keskin, M., 2014, Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Dergisi, 28,1, 49-56.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Silveira, R., Andrade L.N., Sousa, D.P., 2013, A review on anti-ınflammatory activity of monoterpenes, Molecules, 18, 1227-1254.

Sizlan, A., Guven, A., Uysal, B., Yanarates, O., Atim, A vd., 2009, Proanthocyanidin protects ıntestine and remote organs against mesenteric ıschemia/reperfusion ınjury, World Journal of Surgery, 33, 1384-1391.

Sonsuz, A., 2007, Karaciğer fonksiyon bozukluklarına klinik yaklaşım, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 58, 69-78.

Sunasre, S., 2014, Role of Vitamin C and Vitamin E in health and disease, Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 6,1, 52-55.

Sun, K., Liu, Z.S., Sun, Q., 2004, Role of mitochondria in cell apoptosis during hepatic ischemia-reperfusion injury and protective effect of ischemic postconditioning, World Journal of Gastroenterology, 10,13, 1934-1938.

Süleyman,B., 2014, Etorikoksibin sıçanlarrda böbrek iskemi-reperfüzyon hasarına etkisi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, 72 s.

Şahin, E., 2007, Karaciğerin reperfüzyon hasarında uzak iskemik önkoşullanma ve direkt iskemik önkoşullanmanın etkinliği, Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, 45 s.

Şener, G., Yeğen, B.Ç., 2009, İskemi reperfüzyon hasarı, Klinik Gelişim, 22, 3, 5-13.

Şenses, S.V., Özyazgan, S., Akkan, A.G., 1999, Serbest oksijen radikalleri - I:Vücuttaki antioksidan sistemler, Türk Aile Hekimleri Dergisi, 3,1,2, 5-11.

Tabakoğlu, E., Durgut, R., 2013, Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri, Avkae Dergisi, 3,1, 69-75.

Tanbek, K., 2011, Ratlarda tiyoasetamidle indüklenen karaciğer hasarına karşı Nigella sativa (Çörek otu) yağının etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 93 s.

Taşdelen, G., 2013, Onopordum anatolicum (Boiss.) Boiss. & Heldr. ex Eig endemik türünün antioksidan aktivitesi, antibakteriyal ve sitotoksik etkilerinin araştırıması, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 64 s.

Teke, Z., Kabay, B., Özden, A., 2008, İskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojisi, Pamukkale Tıp Dergisi, 1, 65-72.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Tekeli, H., 2012, Karbon tetraklorür ile oluşturulan karaciğer hasarında glutatyon (GSH) ve glutatyon s-trasferaz (GST) aktivitesi üzerine N-Asetil Sisteinin etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, 77 s.

Tekkes, Y., 2006, Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde Asprin ve E Vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Kahraman Maraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 66 s.

Temizkan, G., Arda, N., 2004, Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi.

Theocharis, S.E., Margeli, A.P., Skaltsas, S.D., Spiliopoulou, C.A., Koutselinis S., 2001, Induction of metallothionein in the liver of carbon tetrachloride intoxicated rats: an immunohistochemical study, Toxicology 161, 129-138.

Tiwari, M., Kakkar, P., 2009, Plant derived antioxidants - Geraniol and camphene protect rat alveolar macrophages against t-BHP induced oxidative stress, Toxicology in Vitro, 23, 295-301.

Tsutsui, H., Nishiguchi, S., 2014, Importance of Kupffer Cells in the development of acute liver ınjuries in mice, International Journal of Molecular Sciences, 15, 7711-7730.

Usta, B., Ersan, L., 2013, Sütün antioksidan enzimleri ve biyolojik etkileri, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 27, 2, 123-130.

Uyanık, S., 2004, Likenlerden izole edilen usnik asidin gastroprotektif özellikleri üzerine zeytinyağının etkisinin biyokimyasal mekanizmalarının belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı, 96 s.

Uyanoğlu, M., Canbek, M., Ceyhan, E., Şentürk, H., Bayramoğlu, G., 2011, Preventing organ injury with carvacrol after renal ischemia/reperfusion, Journal of Medicinal Plants Research, 5,1 72-80.

Uylaş, M.U., 2015, Karaciğer iskemi ve reperfüzyonda Quercetin' in koruyucu etkisi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 53 s.

Uyumlu, A.B., 2007, Tüm vücut radyoterapisinin farklı yaş gruplarındaki ratlarda beyin dokusu lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem parametreleri üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, 76 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Ünal, T., 2012, Hücre zedelenmesi, adaptasyon ve ölüm, Diş Hekimliği Öğrencileri İçin Temel Patoloji Bölüm II, Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, s.6.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cornin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39, 44-84.

Vascular Dısease Foundation, 2012, What you need to know about symptoms, risk factors and treatment, Focus on Ischemıa, 26, p.1.

Veena, M.S.P., Mourisha, P., Nithya, G., Dhivya, S., Ilakkia, A., Sakthisekaran, D., 2012, Biochemical studies on the cytoprotective efficacy of Geraniol in Benzo(a)pyrene ınduced experimental lung cancer, Amerıcan Journal of Pharmtech Research, 2, 4, 2249-3387.

Vinothkumar, V., Manoharan, S., 2011, Chemopreventive efficacy of geraniol against 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis, Communications in Free Radical Research, 16, 3, 91-100.

Wang, B., Bai, M., Bai, Y., Li, Q., 2010, Liver ınjury following renal ıschemia reperfusion in rats, Transplantation Proceedings, 42, 3422-3426.

Waynforth, H.B., Flecknell, P.A., 1994, Experimental and surgical technique in the rat, second edition, Chapter 29, 174-175.

Yager, J.D., 2008, Hepato and renal toxicology, http://ocw.jhsph.edu/courses/publichealthtoxicology/PDFs/Lecture6_Yager.pdf, erişim tarihi: 09.01.2017.

Yapar, S.B., 2006, Alfa lipoik asidin rat karaciğer homojenatlarında indüklenmiş lipid peroksidasyonuna etkisi, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabikim Dalı, 73 s.

Yaylı, N., 2013, Uçucu yağlar ve tıbbi kullanımları, http://kimyakongreleri.org/ilac2013/ILAC2013-021.pdf, erişim tarihi: 09.01.2017.

Yegin, S., Mert, N., 2013, Deneysel olarak diyabet oluşturulmuş şıçanlarda Hba1c, Mda, Gsh-Px ve Sod miktarının tayini, Yüzüncüyıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 24,2, 51-54.

Yıldar, M., 2008, Dneysel renal iskemi/reperfüzyon hasarında splenektomi ve Gadolinium Chloride (GdCl3)' in koruyucu etkisi, Uzmanlık Tezi ,T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Hastanesi 1. Genel Cerrahi Kliniği, 72 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Yılmaz, T., Çelebi, S., Bal, A., Yıldırım, N., Kükner, A.Ş., 2001, Kobay retinasının iskemi-reperfüzyon hasarından Melatonin ile korunması, Retina-Vitreus, 9, 106-114.

Yılmaz, S., Ozan, S., 2003, Meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki, Türk Biyokimya Dergisi, 28,4, 252-256.

Yurdakul, U., Uçankuş, N.L., Ömeroğlu, S., Hatipoğlu, M.T., 2005, Değişik yaş gruplarındaki sıçan karaciğer dokusunda bağ dokusu liflerinin dağılımı, Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, 3, 15-20.

Zannetti, M., Ternus, Z., Dalcanton, F., Mello, M.M.J., Oliveira, D vd., 2015, Microbiological characterizaation of pure Geraniol and comparison with bacericidal activity of the Cinnamic Acid in Gram-Positive and Gram-Negative bacteria, Microbial & Biochemical Technology, 7,4, 186-193.

Zuzarte, M., Salgueiro, L., 2015, Esential oil chemistry, Springer, Bioactive Essential Oil and Cancer, Chapter 2, p.25.

EK AÇIKLAMA

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	**: 11. 02. 2016**
TOPLANTI SAYISI	**: 92**
DOSYA KAYIT NUMARASI	**: 507**
KARAR NUMARASI	**: 507**
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	**: Doç. Dr. Mediha CANBEK**
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	**: Yüksek Lisans Öğr. Işıl Tan YILMAZ** **Doç. Dr. Hakan ŞENTÜRK**
HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	**: Wistar Albino (28 erkek)**

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü / Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi **Doç. Dr. Mediha CANBEK'**in araştırma yürütücüsü olduğu 507/2016 kayıt numaralı ve " **Sıçanlarda Kısa Süreli Böbrek İskemi / Reperfüzyon'a Bağlı Uzak Doku Hasarına Karşı Geraniol'ün Koruyucu Etkisi "** konulu çalışma; Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesi'ne göre değerlendirilmiş ve gerekçede belirtildiği şekilde yapılması uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Kevser EROL (Başkan)

Prof. Dr. Kubilay UZUNER (Üye)

Prof. Dr. Hasan V. GÜNEŞ (Üye)

Prof. Dr. Emel ULUPINAR. (Üye)

Doç. Dr. Engin YILDIRIM (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Ünal ÖZELMAS (Üye)

Yrd.Doç.Dr.Nurdan KIRIMLIOĞLU (Üye)

Vet.Hek .Yrd.Doç.Dr.Oya ERALP İNAN (Üye)

Vet. Hek. Refik ARTAN (Üye)

Avukat Şükrü KIRDEMİR (Üye)

Adres: Meşelik Kampüsü 26480 Eskişehir
Telefon: 0 222 239 29 79 / (45 63)