

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

BORİK ASİTİN ERKEK RATLARDA TESTİS
TORSİYON/DETORSİYONU SONRASI BÖBREK DOKUSU VE
OKSİDATİF STRES ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Uğur Musa ADAM

ANKARA
MART 2022

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

BORİK ASİTİN ERKEK RATLARDA TESTİS
TORSİYON/DETORSİYONU SONRASI BÖBREK DOKUSU VE
OKSİDATİF STRES ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Uğur Musa ADAM

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Metin ALKAN

ANKARA
MART 2022

KABUL VE ONAY

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Uğur Musa ADAM
Baba Adı	
Doğum Yeri/Tarihi	ÇİTİT
Diploma Tarihi/Diploma No	
Mezun Olduğu Fakülte	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD.
İhtisas Süresi	Yıl: 5 Ay: 0
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

Uzmanlık Tezinin Adı: “Borik Asitin Erkek Ratlarda Testis Torsiyon/Detorsiyonu Sonrası Böbrek Dokusu ve Oksidatif Stres Üzerindeki Koruyucu Etkisi ”

JÜRİ KARARI:

04.03.2022 tarihinde saat 11⁰⁰ da toplanan Sınav Jürisi, adayın yapmış “**Borik Asitin Erkek Ratlarda Testis Torsiyon/Detorsiyonu Sonrası Böbrek Dokusu ve Oksidatif Stres Üzerindeki Koruyucu Etkisi**” isimli uzmanlık tezi başarılı bulunmuştur ve uzmanlık sınavına girmeye hak kazanmıştır.

JÜRİ ÜYELERİ

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR	v
TABLolar DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. İskemi	5
2.2. Reperfüzyon.....	8
2.3. İskemi/Reperfüzyon Hasarı Mekanizması.....	10
2.3.1. Kalsiyum yüklenmesi	17
2.3.2. Oksidatif stres-serbest radikal üretimi.....	18
2.3.3. Kompleman sistemi	21
2.3.4. Endotelyal disfonksiyon	22
2.3.5. Vasküler ve mikrovasküler disfonksiyon	22
2.3.6. Araşidonik asit bozunma ürünleri	23
2.3.7. Lipit peroksidasyonu ve malondialdehit	23
2.4. Reperfüzyon Hasarının Biyokimyasal Özellikleri.....	25
2.5. Serbest Oksijen-Nitrojen Radikalleri.....	25
2.5.1. Süperoksit.....	28
2.5.2. Hidrojen peroksit.....	29
2.5.3. Hidroksil.....	30
2.5.4. Nitrik oksit.....	30

2.6.	Antioksidan Mekanizmalar.....	31
2.6.1.	Süperoksit dismutaz	33
2.6.2.	Katalaz.....	34
2.6.3.	Glutasyon peroksidaz-glutasyon redüktaz	34
2.6.4.	Paraoksonaz.....	35
2.6.5.	Glutasyon S-transferaz.....	36
2.7.	İskemi/Reperfüzyon Sonrası Uzak Organ Hasarı.....	37
2.8.	Testis Anatomisi-Fizyolojisi.....	40
2.9.	Testis İskemi/Reperfüzyon (Torsiyon/Detorsiyon) Hasarı.....	42
2.10.	Böbrek Anatomisi-Histolojisi	46
2.11.	Böbrek Fizyolojisi.....	49
2.12.	Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarı.....	53
2.12.1.	Morfolojideki değişiklikler	56
2.12.2.	Tübül dinamiğindeki değişiklikler.....	57
2.12.3.	Mikrovasküler değişiklikler	58
2.12.4.	Hücre iskeletindeki değişiklikler	59
2.13.	Bor-Borik asit.....	59
2.13.1.	Borik asitin kimyasal özellikleri.....	60
2.13.2.	Borun tıpta kullanım alanları	61
2.13.3.	Bor etki mekanizmaları.....	63
2.13.4.	Bor toksik etkileri	66
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	68
3.1.	Deney Hayvanları	68
3.2.	Deney Grupları	68
3.3.	Deney Proserüdü.....	68

3.4.	Dokuların Saklanması.....	70
3.5.	Kullanılan İlaçlar	71
3.6.	Histopatolojik İnceleme.....	71
3.7.	Biyokimyasal İnceleme	72
3.7.1.	MDA (TBARS) Analizi	72
3.7.2.	Glutasyon S-Transferaz tayini	73
3.7.3.	CAT Aktivitesi ölçümü	74
3.7.4.	Paraoksanaz (PON) Aktivitesi ölçümü.....	74
3.8.	İstatiksel Değerlendirme	75
4.	BULGULAR	76
5.	TARTIŞMA.....	83
6.	SONUÇ	100
7.	KAYNAKLAR.....	102
8.	ÖZET.....	133
9.	SUMMARY	136
10.	EKLER	139
11.	ÖZGEÇMİŞ.....	141

KISALTMALAR

ABH	: Akut böbrek hasarı
ATP	: Adenozin 5'-trifosfat
B	: Bor
BA	: Borik asit
BSD	: Bowman aralık dilatasyonu
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon (İndirgenmiş)
GSSG	: Glutasyon (Yükseltgenmiş)
GV	: Glomerüler vakuolizasyon
GST	: Glutasyon S-transferaz
GÜDAM	: Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi
H	: Hidrojen
H&E	: Hematoksilen & Eozin
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HIF	: Hipoksi ile indüklenebilir faktör
HOCl	: Hipokloröz asit
ICAM-1	: Hücre içi adhezyon molekülü-1
IL	: İnterlökin
İ/R	: İskemi/reperfüzyon
i.p.	: İntraperitonel
MDA	: Malondialdehit
MODS	: Çoklu organ yetmezliği sendromu

NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
LFA-1	: Lenfosit fonksiyonuyla ilişkili antijen-1
Lİ	: Lenfosit infiltrasyonu
NO	: Nitrik oksit
Na	: Sodyum
NF-κB	: Nükleer faktör-Kb
NOS	: Nitrik oksit sentaz
O₂	: Moleküler oksijen
O₂⁻	: Süperoksit
OH⁻	: Hidroksil
ONOO⁻	: Peroksinitrit
PAF	: Platelet aktive edici faktör
PON	: Paraoksanaz
PHD	: Prolilhidroksilaz
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SPSS	: Statistic Program for Social and Science
TBA	: Tiyoarbitürik asit
TD	: Tübüler dilatasyon
THD	: Tübüler hücre dökülmesi
THDN	: Tübüler hücre dejenerasyonu ve nekroz
THS	: Tübüler hyalin silindirler
TNF-α	: Tümör nekroz faktör-alfa
TxA₂	: Tromboksan A ₂
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VVH	: Vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi
XD	: Ksantin Dehidrojenaz
XO	: Ksantin Oksidaz

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. İskeminin hücresel etkileri	8
Tablo 2. İskemi ve reperfüzyon hasarı örnekleri.....	13
Tablo 3. Serbest radikal saldırılarına karşı başlıca antioksidan savunma mekanizmaları	33
Tablo 4. Borik asitin kimyasal özellikleri	61
Tablo 5. Böbrek dokusu histopatolojik bulgular [Ortalama $\pm$ SH]	77
Tablo 6. Antioksidan/Oksidan durum parametreleri [Ortalama $\pm$ SH]	82

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kontrol grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, a: Arter) (H&E, X40)	77
Resim 2. Kontrol grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, a:Arter, ^: Bowman aralığı, ok: Dilate tübül) (H&E, X100)	78
Resim 3. Borik asit grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, inf: İnflamasyon, vc: Vasküler konjesyon) (H&E, X40)	78
Resim 4. Borik asit grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, ^:Bowman aralığı, vc: vasküler konjesyon) (H&E, X100).....	79
Resim 5. İskemi reperfüzyon grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, inf: İnflamasyon, a: Arter, *: Dejenere glomerül, conj: Konjesyon (H&E, X40).....	79
Resim 6. İskemi reperfüzyon grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, inf: İnflamasyon, a: Arter, *: Dejenere glomerül, v: Vakuolizasyon) (H&E, X100).....	80
Resim 7. Borik asit-İskemi reperfüzyon grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, ok: Dilate tübül) (H&E, X40)	80
Resim 8. Borik asit-İskemi reperfüzyon grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, ^: Bowman aralığı, *: Dejenere glomerül, v: vakuolizasyon, ok: Dilate tübül) (H&E, X100)	81

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İskemi reperfüzyon hasarı mekanizmaları [41].....	12
Şekil 2. Ksantin oksidaz-dehidrogenaz yolağı	19
Şekil 3. Vücuttaki başlıca serbest radikal kaynakları ve serbest radikal hasarının sonuçları [76].....	28
Şekil 4. Süperoksit dismutaz ve katalaz enzim yolakları	34
Şekil 5. Glutasyon redüktaz ve glutasyon peroksidaz yolakları.....	35
Şekil 6. Testis anatomisi [142]	41
Şekil 7. Testis torsiyonu gelişimi a) Normal anatomi, (b) Çan tokmağı deformitesi, (c) Anormal mezorkium ve (d) İntravajinal torsiyon [146]	44
Şekil 8. Böbrek anatomisi [158].....	47
Şekil 9. Nefronun yapısı [162]	51
Şekil 10. Akut iskeminin yapısal sonuçları ve böbrek tübül hücrelerinde reperfüzyon hasarı [183]	57
Şekil 11. Borik asitin kimyasal formülü.....	61
Şekil 12. TBA-MDA kompleksi oluşumu.....	73

1. GİRİŞ

İnsan vücudunda herhangi bir dokuda İskemi reperfüzyon hasarı (İ/R) oluşması akut böbrek hasarına neden olabilir [1-3]. Bu durum klinik ve deneysel çalışmalarda yüksek mortalite oranlarına yol açar. İskemi, çeşitli nedenlerle bir organa kan akışının yetersiz hale geldiği veya bir pıhtı veya mekanik bir ajan (özellikle vasküler cerrahi ve organ nakli sırasında) tarafından kan akışının durduğu bir durumdur. Reperfüzyon ise, dokuya kan akışının restorasyonudur. Şu anda, net tedavi seçenekleri yoktur, çünkü İ/R'nin zararlı etkileri belirsiz, birbiriyle ilişkili ve karmaşık olayların sonucunda gelişir. Önceki çalışmalar apoptoz, inflamasyon ve oksidatif stresin renal İ/R ile ilişkili olduğunu göstermiştir.

Reaktif oksijen türleri (SOR), iskemik dokularda reperfüzyon görüldüğünde artan oksidatif stres, pro-apoptotik aracı ekspresyonu ve inflamatuvar sitokinlerden sorumludur [4].

Borik asitin (BA) karakteristik elemanı olan eser element borun (B) organizmada çeşitli metabolik ve fizyolojik sistemler üzerinde önemli etkileri olabilir. Borik asitin vitamin, hormon, enzim, enerji ve mineral metabolizması üzerindeki etkileri bazı çalışmalarda gösterilmiştir [5]. Bununla birlikte, B ve BA'nın biyokimyasal mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Araştırmacılar borik asitin biyolojik etkilerini iki farklı hipotezle açıklıyor. İlk hipotezde, B ve BA'nın anahtar enzim reaksiyonlarında rekabetçi inhibisyon

yolunu etkileyen negatif düzenleyiciler olduğu öne sürülmektedir. İkinci hipotezde borun hücre zarı fonksiyonu, yapısı ve stabilitesinde önemli bir rol oynadığı öne sürülmektedir [6]. Bu nedenle, son zamanlarda birçok hastalığın patogenezinde çok yönlü etkileri nedeniyle araştırmacıların dikkatini çekmiştir. BA'nın renal İ/R hasarı üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar sınırlıdır. Ayrıca farklı deneysel ve klinik çalışmalarda BA'nın antioksidan, antiinflamatuvar ve anti-apoptotik etkilerini gösteren çeşitli çalışmalar vardır. Ancak sonuçlarda tutarsızlık gözlenmektedir.

Testis dokusunda oluşan İ/R durumu oksidatif strese ve inflamatuvar yanıt oluşumuna neden olabilir [7]. Bu oksidan durum ve inflamatuvar yanıt vücutta sistemik etkiler oluşturabilmektedir [8]. Doğrudan iskemiye maruz kalmayan organlarda da hasar oluşabileceği bildirilmiştir. Ancak literatürde testis iskemi reperfüzyonu sonrasında böbrekte hasar oluştuğunu gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Yapılan diğer çalışmalardan yola çıkarak iskemi reperfüzyon hasarına karşı duyarlı olduğu bilinen böbrek dokusunun testiste oluşan bu iskemi reperfüzyon durumundan olumsuz yönde etkilenebileceğini varsaydık.

Bu çalışmanın temel amacı testis torsiyon/detorsiyon modeli oluşturulan erkek Wistar ratlarda oluşan oksidan ve inflamatuvar sürecin böbrek dokusunda yarattığı hasarın borik asit ile değişiminin histopatolojik değişiklikler ile birlikte oksidatif stres durumu ve biyokimyasal parametreler üzerindeki etkilerini değerlendirmektir.

Dünyada birçok alanda kullanılan bu maddeyi İ/R hasarı sonrası kullanarak böbrek dokusunda irreversibl hasarı önlemeyi amaçladık. Bu sayede böbrek hasarı oranlarını ve bu yükün insan hayatı üzerindeki olumsuz etkilerini de azaltabileceğimizi düşünüyoruz.



2. GENEL BİLGİLER

İskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı tüm organ ve sistemleri ilgilendiren son yıllarda üzerinde en çok araştırma yapılan konulardan biridir. İskemi reperfüzyon hasarı, organ fonksiyonunun kötüleşmesine ve hatta kaybına neden olabilen en sık nedenlerden biridir [9]. Bu durum, organ nakli, kardiyotorasik, vasküler ve genel cerrahi operasyonları sırasında ortaya çıkabilen büyük bir problemdir. İskemik organ içindeki metabolik arz ve talepteki dengesizlik, doku hipoksisi ve mikrovasküler disfonksiyon ile sonuçlanır. İskemi reperfüzyonun karmaşıklığına ışık tutmak ve sürecin bütünsel bir anlayışını elde etmek için İ/R hasarını farklı bakış açılarından ve farklı seviyelerde incelemek önemlidir.

İskemi reperfüzyon sırasında, etkilenen organda oluşan metabolitler dolaşıma salınır, böylece böbrek ve akciğerler gibi iskemik olmayan organlar, birincil olarak etkilenmeseler bile inflamasyona dahil olurlar [10, 11]. Nihayetinde, oluşan kontrolsüz bir post-iskemik reaksiyon, çoklu organ yetmezliğine ve hatta ölüme bile yol açabilir. İnflamasyon tüm organizmada meydana gelir ve kompleman kaskadının genelleştirilmiş bir aktivasyonunu başlatır. Bu süreçler, sıklıkla artan oksijen radikalleri üretimi ile ilişkilidir.

Bazı organlar diğerlerinden daha sık etkilenir. Reperfüzyon sırasında ciddi bir komplikasyon böbreğin hasar görmesidir. Bu etki hipovolemi ve asidüri ile daha da şiddetlenir [10].

İskemi reperfüzyon kaynaklı böbrek hasarını önlemek için, anti-inflamatuar ve antiapoptotik fonksiyonlara sahip antioksidan ajanların kullanımı

önerilmiştir [12]. Son zamanlarda borik asitin koruyucu ve antioksidan etkilere sahip olduğu birkaç çalışmada gösterilmiştir. [13, 14] Borik asitin lokal organ hasarı üzerindeki koruyucu etkisi deneysel olarak gösterilmiş olmasına rağmen, İ/R hasarında uzak organ üzerindeki etkileri yeterince araştırılmamıştır.

Çeşitli organlardaki iskemi reperfüzyon hasarının mekanizmalarının açıklanması ve yeni tedavilerin geliştirilmesinde deney hayvanları ile yapılan çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Biz de bu çalışmamızda sıçanlarda oluşturulan testis torsiyon/detorsiyonu ile birlikte ortaya çıkan iskemi reperfüzyon hasarının böbrek üzerine etkilerini ve intraperitoneal olarak verilen borik asitin böbrekteki muhtemel hasar üzerine etkilerini araştırmayı hedefledik.

2.1. İskemi

İskemi, kan akışının belirli bir süre için kısıtlanması veya kesilmesi sürecidir ve dokuya giden oksijen miktarının azalması sonucunda oluşan doku hasarıdır [15]. Akut iskemi yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahip bir klinik problemdir [16]. Bu patoloji genellikle şok, doku nakli, miyokard enfarktüsü, felç, belirli enfeksiyonlar ve arter hastalığı ve travma durumlarında ortaya çıkar.

Dokunun normal işlevi için ihtiyacı olandan daha az kan ile beslenmesi patolojik süreci başlatır. İskemi süresinin artması etkilenen dokularda yapısal bütünlük kaybı ile karakterize geri dönüşü olmayan hasar oluşturabilir ve hücrelerin ölümü gerçekleşir. Bunun olmaması için kan akımının hızla yeniden

sağlanması gereklidir. İskemik dokuya kan akımının hızla geri dönmesinin hücre hasarının ilerlemesini durdurduğu gösterilmiştir [17].

İskemik hasarın şiddeti hipoperfüzyonun süresi ve miktarı ile orantılıdır ve hücre tipine, duyarlılığa, kan ihtiyacına ve metabolizmaya göre değişir. İskemik yaralanmadan sonra oluşan geçici hasarlanma paterni, büyük ölçüde etkilenen dokunun temel metabolik taleplerine bağlıdır. Örneğin, jejunumdaki iskemik hasar sadece 30 dakika sonra oluşurken, insan iskelet kası 2 saatin ötesindeki iskemik süreleri tolere edebilir [18]. Beyin ve böbrek dokuları iskemiye en hassas dokulardır [19]. Açık böbrek cerrahisinde, 30 dakika veya daha kısa normotermik iskemi sonrasında kalıcı organ hasarı oluşmadığı tespit edilmiştir.

İskemide oksijen eksikliği, anaerobik metabolizmaya geçişe neden olarak metabolik atık ürünlerin uzaklaştırılmasında bozulmaya yol açar [20]. Hücresel oksidatif fosforilasyonda iskeminin neden olduğu azalmalar, enerji açısından zengin fosfatların yeniden sentezlenmesinin başarısızlıkla sonuçlanmasına sebep olur. Bunlar adenosin 5'-trifosfat (ATP) ve fosfokreatindir. Anaerobik metabolizmada laktat ve inorganik fosfat düzeyleri artarken, pH düzeyleri azalır. ATP azalması, artan glikolitik hız ve muhtemelen hidrojenin (H^+) hasarlı lizozomdan serbest kalması nedeniyle sitozolik pH doğrudan düşer [21]. Böylece membrandaki ATP'ye bağlı iyonik pompa işlevi bozulur ve hücreye kalsiyum (Ca), sodyum (Na) ve suyun girişini kolaylaştırır. Bu da hücre içi sodyum ve kalsiyum düzeylerini yükselterek hücresel ödeme yol açar. İskemi sırasındaki yetersiz oksijen, mitokondride oksidatif fosforilasyonun bozulmasına neden olur. Bu durum doğrudan veya metabolitleri ile hücresel hasar meydana getiren

mediyatörlerin birikmesine neden olur. İskeminin devam etmesi ise biriken bu mediyatörlerin etkisiyle nekroza kadar giden hücresel değişikliklere yol açar. Eğer kalıcı değişiklikler meydana gelmeden önce iskemi ortadan kalkarsa, enerji metabolizması normale döner. Bunun sonucunda toksik ürünler ortamdan uzaklaşarak hücre normal fonksiyonlarına hızla geri döner [22, 23].

İskemik dokudaki kan akışı, hücre yenilenmesi ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için eski haline getirilmelidir. Bununla birlikte, iskemik dokunun reperfüzyonu, paradoksal olarak doku hasarına neden olarak bir dizi olayın başlamasına neden olur [24].

Uzun süreli iskemi, çeşitli hücresel metabolik ve yapısal değişikliklerle sonuçlanır [24]. İskemiye cevap olarak; hücrede enzim aktiviteleri, mitokondrial fonksiyon, hücre yapısı, antioksidan savunma sistemi ve membran transportunda çeşitli değişiklikler meydana gelir [25]. Ayrıca, iskemi sırasında adenin nükleotid katabolizması, hipoksantin hücre içi birikimine neden olur ve daha sonra toksik reaktif oksijen türlerine dönüştürülür. Hipoksik stres, Ksantin Dehidrojenaz (XD) enziminin oksijen radikallerini üreten Ksantin Oksidaz'a (XO) dönüşümünü tetikler [26]. Endotelde iskemi, diğer "koruyucu" gen ürünlerini (örneğin, yapısal nitrik oksit sentaz, trombomodulin) ve biyoaktif maddeleri (örneğin, prostasiklin, nitrik oksit) baskımlarken, belirli proinflamatuvar gen ürünlerinin (örneğin, lökosit adezyon molekülleri, sitokinler) ve biyoaktif maddelerin (örneğin, endotelin, tromboksan A2) ekspresyonunu destekler [20, 27].

İskemi, polimorfonükleer lökositlerin ve trombositlerin iskemik dokuya göçünü uyarır, böylece inflamatuvar sitokinlerin ve serbest oksijen radikallerinin oluşumunu artırır. Buna karşılık, serbest oksijen radikalleri hücre zarlarında ve mitokondride lipidlerin peroksidasyonuna neden olur, sonuçta lökositlerin ve reaktif oksijen metabolitlerinin aktivasyonu yoluyla iskemik dokularda hasara yol açar [28]. Böylece iskeminin oluşturduğu proinflamatuvar durum, doku yaralanmasını daha da artırır [22, 29].

Tablo 1. İskeminin hücresel etkileri

Membran potansiyelinde değişim
İyon dağılımında değişim (İntraselüler Ca^{+2}/Na^{+})
Hücresel şişme
Hücre iskeleti düzensizliği
Hipoksantin artışı
Adenozin 5'-trifosfat azalışı (ATP)
Fosfokreatinin azalışı
Glutatyon azalışı
Hücresel asidoz

2.2. Reperfüzyon

Reperfüzyon, iskemi sonrasında kan akışının yeniden sağlandığı ve oksijenin dokuya ulaştığı süreçtir [30, 31]. Reperfüzyon sırasında hücre işlevi için gerekli olan oksijen ve besin tekrar sağlanır ve dokudaki oluşmuş metabolitler uzaklaştırılır. Ancak bu süreç hasarlı hücrelerdeki yaralanmayı daha da şiddetlendirebilir ve yeni hücrelerde hasar oluşturabilir. Bu süreç kalp, böbrek, beyin, akciğer bağırsak gibi hayati önem taşıyan organlarda ciddi problemler oluşturabilir. Oluşan metabolitlerin kan yoluyla ulaşması ile uzak organlar da

zarar görebilir. Sonuçta sadece iskemik kalan organın kendisi hasar görmez, tüm vücutta sistemik bir hasar ve ardından çoklu organ yetmezliğine yol açabilir. Bu durum kesintisiz bir kan tedarikine ihtiyaç duyan ve oksijene bağımlı olan tüm hücreleri etkiler [32]. Organın yeniden kanlandığı dönemde oluşan bu hasara da iskemi reperfüzyon hasarı denir.

Kan akımının yeniden sağlanması hücre fonksiyonlarının geri dönmesi için gereklidir. Reperfüzyon sırasında oluşan hasarda, hücre içine hızla giren oksijen molekülü ile oluşan serbest oksijen radikalleri en önemli rolü oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en duyarlı hücresel yapılar; zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir [22, 33].

Literatür, İ/R hasarının iskemik hasardan daha zararlı olabileceğini göstermektedir [34]. Ayrıca, İ/R hasarı hem lokal hem de sistemik etkilere yol açar ve bunların lokal etkileri etkilenen organda, sistemik etkileri ise ağırlıklı olarak kalp, beyin, akciğer ve böbrekte gözlenebilir [10]. İskemi reperfüzyon hasarının uzak organ etkileri septik şok ve çoklu organ disfonksiyon sendromu (MODS) ve ölüme yol açabilir.

Anestezi pratiği sırasında sıklıkla karşılaşılan bir durum olan abdominal aortanın ve alt ekstremitate arterlerinin cerrahi girişimler sırasında klempenmesi daha distalde iskemiye neden olmakta, klempin açılarak kan akımının tekrar sağlanması ile lokal ve uzak organlarda reperfüzyon hasarıyla sonuçlanmaktadır [35].

2.3. İskemi/Reperfüzyon Hasarı Mekanizması

İskemi reperfüzyon hasarı patojenik tetikleyici olmadan inflamatuvar bir immün yanıtın oluştuğu, steril inflamasyon olarak adlandırılan bir süreçtir [36]. İskemi reperfüzyon hasarı, reperfüzyonun iskemi/hipoksinin neden olduğu doku hasarını daha da şiddetlendirdiği paradoksal bir kavramdır. Sepsis, akut koroner sendrom, serebral enfarktüs, organ nakli ve ekstremiteler yaralanmaları gibi örnekler sık karşılaşılan ve bu duruma bağlı ortaya çıkan patolojilerden bazılarıdır (Bkz. Tablo-2). Masif kan kaybı, trombüs veya emboli durumlarında da reperfüzyon hasarı görülebilmektedir. Reperfüzyon sonrası ani kanlanma ve oksijenizasyon artışı dokuda inflamatuvar süreçleri tetikleyerek hücre hasarına neden olmaktadır [37].

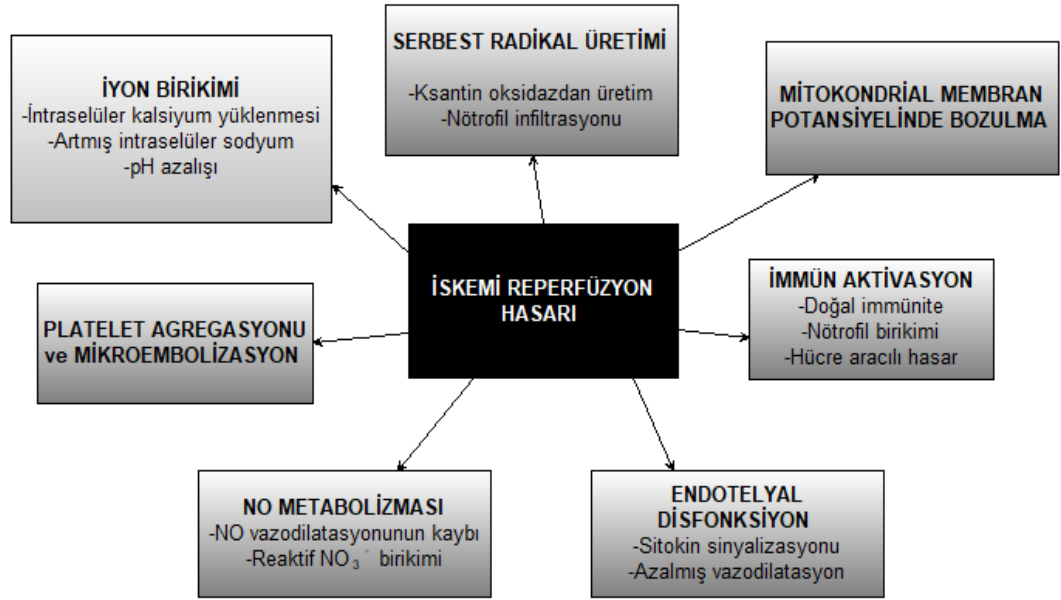
İskemi-reperfüzyon oldukça karmaşık bir reaksiyon olup insan organizmasında pek çok patofizyolojik sürecin başlangıcında önemli rol alır (Bkz. Şekil-1). Kan temini yeniden sağlandığında, lokal inflamasyon ve SOR üretimi artarak ikincil hasarlanmaya yol açar [4].

Uzamış iskemi sırasında, anaerobik metabolizma ve laktat birikiminin bir sonucu olarak ATP seviyeleri ve hücre içi pH düşer. Asidotik pH, iskemide genel olarak koruyucu olmasına rağmen reperfüzyonu takiben normalize edilir ve hücre içi pH seviyesindeki bu hızlı değişimin de paradoksal olarak sitotoksiteyi arttırdığı düşünülmektedir [38]. Sonuç olarak, ATPaz'a bağlı iyon taşıma mekanizmaları işlevsiz hale gelir [19]. Hücrelerde hidrojen, sodyum ve kalsiyum iyonlarının birikmesi hiperosmolariteye neden olur, bu da sitoplazmaya su akışına

ve hücre şişmesine neden olur [4]. Ardından nekrotik, nekroptotik, apoptotik ve otofajik mekanizmalarla hücre ölümüne katkıda bulunur.

Bu inflamatuvar yanıtta makrofajlar, endotelial hücreler, nötrofiller, lenfositler, trombositler, parankimal hücreler, kompleman sistemi, kan pıhtılaşma kaskadı, reaktif oksijen türleri, nitrik oksit, pro ve antiinflamatuvar sitokinler ve mikrovasküler perfüzyondaki bozulma rol oynar [21]. İnflamatuvar yanıt, hasarlı hücrelerin bileşenleri veya bozulan doku matrisi tarafından tetiklenebilir. Reaktif oksijen türleri aktive makrofajlar, nötrofiller, endotel hücreleri ve trombositler tarafından oluşturulabilir ve ayrıca yaralı ve hatta ölü hücreler tarafından da salınabilir.

Reperfüzyon, endotel hücrelerinin yüzeyinde adezyon faktörü ekspresyonu yoluyla inflamatuvar hücre göçünü destekleyen mikrovasküler hasarı indükler [39]. Ayrıca oksidatif strese neden olarak reaktif oksijen türlerini artırır ve antioksidan enzim aktivitesini azaltır. Serbest oksijen radikallerinin üretimi, adezyon moleküllerinin lokal ekspresyonunu artırır ve erken reperfüzyon sırasında nötrofil kemotaksisini destekler [40].



Şekil 1. İskemi reperfüzyon hasarı mekanizmaları [41]

Dokulardaki makrofajların aktivasyonu ile birlikte reperfüzyon proinflatuar sitokin düzeylerinde artışa neden olur. Reperfüzyon hasarında önemli rol oynayan proinflatuar sitokinler olan interökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) seviyelerindeki artışlar, hem reperfüze hem de uzak organlarda hasara yol açar [42]. TNF- α ve diğer sitokinler, reperfüzyon periyodu sırasında kaspaz-3 ve 8 gibi birçok proteazı aktive eder. Sonraki olaylar dizisi, sonuçta DNA yıkımı ve apoptotik hücre ölümünün artmasına yol açar [43].

Hücrel iske mi ayrıca glutatyon tükenmesine yol açar. Glutatyon (GSH), başlıca hücre içi non-protein sülfidridir ve hücrel proteinlerin ve lipidlerin fonksiyonel durumlarının korunmasında önemli bir rol oynar [27]. Glutatyon, öncelikle bu önemli yapıları aerobik bir ortamda her zaman mevcut olan

oksidasyon tehdidine karşı korumak için hareket eder. GSH daha sonra, kendisi pentoz yolunda glikoz kullanımından kaynaklanan indirgeyici eşdeğerlerin bir deposu olan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) tarafından yeniden üretilir [44]. Glutasyon, hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi çeşitli hücre içi oksidanların detoksifikasyonu, ilaç metabolizmasının toksik ara ürünleri ve lipid peroksitler ve askorbatın dehidroaskorbattan, okside edilmiş formundan rejenerasyonu dahil olmak üzere bir dizi önemli role sahiptir. Bu nedenle glutasyon, hücre içi antioksidan işlevinde çok önemli bir rol oynar ve dolaylı olarak zarlarda ve hücre dışı sıvılarda antioksidan durumunu etkiler [27].

Tablo 2. İskemi ve reperfüzyon hasarı örnekleri

Tek organ iskemi ve reperfüzyonu	
Kalp	Akut koroner sendrom
Böbrek	Akut böbrek hasarı
Barsak	İntestinal iskemi ve reperfüzyon
Beyin	İnme
Çoklu organ iskemi ve reperfüzyonu	
Travma ve resüsitasyon	Çoklu organ yetmezliği
Dolaşım arrest	Hipoksik beyin hasarı
Orak hücreli anemi	
Uyku apnesi	
Major cerrahi sırasında iskemi reperfüzyon	
Kardiyak cerrahi	Kardiyopulmoner bypass sonrası akut kalp yetmezliği
Torasik cerrahi	Akut akciğer hasarı
Major vasküler cerrahi	Akut böbrek hasarı
Periferik vasküler cerrahi	Kompartman sendromu
Solid organ transplantasyonu	Akut greft yetmezliği, erken greft reddi

İskemik dönem sırasında meydana gelen sınırlı oksijen mevcudiyeti, adenilat siklaz aktivitesindeki ve hücre içi cAMP seviyelerindeki azalmaya ve buna eşlik eden vasküler geçirgenlik ve sızıntıdaki bir artışa bağlı olarak bozulmuş endotelial hücre bariyer fonksiyonu ile ilişkilidir [45]. Ek olarak, iskemi ve reperfüzyon, apoptoz (nükleer parçalanma, plazma membran kabarması, hücre büzülmesi ve mitokondriyal membran potansiyeli ve bütünlüğünün kaybı), otofaji ile ilişkili hücre ölümü (sitoplazmik vakuolizasyon, organel kaybı ve vakuollerin membran kıvrımları ile birikmesi) ve nekrozla ilişkilidir (ilerleyen hücre ve organel şişmesi, hücre zarı yırtılması ve proteazların ve lizozomların ekstra selüler kompartmana sızması) [46]. Hasarlı veya gereksiz protein ve organellerin yıkımıyla ilişkili hücresel bir süreç olan otofaji de İ/R hasarına katkıda bulunur [38].

Nekroz, membran bütünlüğünün kaybı, sitoplazmik şişme ve hücresel parçalanma ile karakterize patlayıcı, kaotik bir süreçtir. Apoptoz, sitoplazmik ve nükleer büzülme, DNA parçalanması ve hücrenin zara bağlı apoptotik cisimlere parçalanması ile karakterize edilen sessiz, düzenli bir ölümdür [47]. Apoptoz genellikle hasarlı hücreleri uzaklaştıran fizyolojik bir süreç olarak kabul edilir ve bu nedenle organ ve organizma için faydalı olabilir [47].

Özellikle iskemik dönem, gen ekspresyonunun transkripsiyonel kontrolünde (transkripsiyonel yeniden programlama) önemli değişikliklerle ilişkilidir. Örneğin iskemi, oksijene duyarlı prolinhidroksilaz (PHD) enzimlerinin inhibisyonu ile ilişkilidir, çünkü bunlar bir kofaktör olarak oksijene ihtiyaç duyarlar [12]. PHD enzimlerinin hipoksi ile ilişkili inhibisyonu, sırasıyla hipoksi

ile indüklenabilir faktör (HIF) ve nükleer faktör- κ B (NF- κ B) transkripsiyon faktörlerinin stabilitesini kontrol eden hipoksi ve inflamatuvar sinyalleşme kaskadlarının translasyon sonrası aktivasyonuna yol açar [48].

NF-Kb, İ/R hasarının meydana gelmesinde ve gerilemesinde önemli fonksiyon olarak rol oynuyor gözükmemektedir. NF-Kb sitoplazmada latent formda korunur ve belirli koşullar altında nükleusa transloke olur ve çekirdekte transkripsiyonu düzenler [49]. NF- κ B aktivasyonu, proinflamatuvar sitokinler, adezyon molekülleri, kemokinler, büyüme faktörleri ve siklooksijenaz-2, indüklenabilir niktir oksit sentaz gibi indüklenabilir enzimler dahil olmak üzere, mediatör sentezinde yer alan proteinleri kodlayan birçok genin koordineli ekspresyonuna ve inflamatuvar yanıtın daha da amplifikasyonuna ve sürdürülmesine yol açar [50].

Ayrıca, reperfüzyon hasarı, neoantijenlerin doğal antikor tanınması ve ardından kompleman sisteminin aktivasyonu (otoimmünite) dahil olmak üzere otoimmün tepkilere sebep olur [51].

İskemi ve reperfüzyon, bağışıklık sisteminin patolojik aktivasyonu ile ilişkilidir. Tipik olarak steril bir ortamda meydana gelmesine rağmen, doğuştan gelen ve adaptif immün yanıtların aktivasyonu meydana gelir ve toll like reseptörler gibi patern tanıma reseptörlerinin aktivasyonu ve hastalıklı organa inflamatuvar hücre akışı yaralanmaya katkıda bulunur [36]. Bağırsak İ/R'den sonra ortaya çıkan bakteriyel translokasyon gibi birkaç istisna dışında, iskemi ve reperfüzyon tipik olarak steril bir ortamda gerçekleşir. Bununla birlikte, iskemi ve

reperfüzyonun sonuçları, istilacı mikroorganizmalara yönelik olarak oluşan konakçı bağışıklık tepkisinin aktivasyonu ile birçok fenotipik paralelliği paylaşır [36]. Hem interferon- γ (IFN- γ) hem de diğer yardımcı uyarıcı moleküller aracılığıyla çalışan CD4⁺ T hücreleri, İ/R'nin önemli modulatorleri gibi görünmektedir [52]. Bu yanıtların olumsuz sonuçları olabileceğinden, immün aktivasyonun hedeflenmesi, iskemi ve reperfüzyon tedavisinde ortaya çıkan bir terapötik kavramdır.

İskemi sırasında, enerji metabolizması yağ asidi oksidasyonu açısından daha verimli glikolize geçerek dokuların iskemi sırasında hücre canlılığı daha uzun süre sürdürmesine izin verir. Bu metabolik anahtar, oksijen seviyeleri düştüğünde stabilizasyonu glikolitik enzimlerin transkripsiyonel indüksiyonundan sorumlu olan HIF transkripsiyon faktörünün doğrudan kontrolü altındadır [48].

İskemi ve reperfüzyon endojen hasar iyileşme mekanizmalarını da aktive eder. Doku hipoksisi, oksijen algılayıcı PHD enzimlerinin inhibisyonu ve HIF transkripsiyon faktörünün stabilizasyonu ile sonuçlanır. ADORA2B gibi reseptörler aracılığıyla sinyal veren hücre dışı adenosin üretimi dahil olmak üzere, yaralanmanın çözülmesinde yer alan çok çeşitli transkripsiyonel programları aktive eder [12]. Ek olarak, PHD'lerin hipoksi ile tetiklenen inhibisyonu, apoptozu önleyerek iyileşme fazına katkıda bulunan NF- κ B aktivasyonu ile sonuçlanır. Düzenleyici T hücreleri ve dendritik hücreler, iltihaplanmayı azaltmada ve reaktif oksijen üretimini azaltmada çok önemli bir rolü olan IL-10'un önemli kaynaklarıdır. Adaptif bağışıklık tepkisinin bazı yönleri, özellikle düzenleyici T

hücrelerinin (Treg hücreleri) toplanması ve çoğaltılması hasarın azaltılmasında faydalı olabilir [53].

NF- κ B inhibisyonu, sistemik inflamasyonun önlenmesi, ancak lokal hasarın artmasıyla ilişkili olması bakımından 'iki ucu keskin bir kılıç' olarak görülebilir [12]. HIF-1 hücrelerin vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), eritropoetin ve glikoz taşıyıcı-1 gibi diğer genlerin transkripsiyonunu etkinleştirerek hipoksiye adaptif yanıtta önemli bir rol oynamaktadır.

Otofajinin ölümcül olmayan strese karşı uyarlanabilir bir yanıt olduğu fikrini destekleyen güçlü kanıtlar vardır ve anahtar otofajik genlerin silinmesi hücre ölümünü engellemekten çok hızlandırır [46]. Mitokondriyal otofaji süreci, hipoksi tarafından indüklenir ve HIF'ye bağlı otofajik gen ekspresyonunu gerektirir; bu, sınırlı oksijen koşulları sırasında hipoksik veya iskemik dokuların metabolik adaptasyonunda HIF için çok önemli bir rol olduğunu gösterir [12].

2.3.1. Kalsiyum yüklenmesi

Uzun süreli iskemi sırasında sitozolik kalsiyum konsantrasyonu artar ve bu genellikle reperfüzyondan sonra şiddetlenir [54]. Bu nedenle, iç mitokondriyal membranda ve sarkoplazmik retikulumda kalsiyum taşıma sistemlerinin aktivasyonunun, reperfüzyon sırasında artan enerji harcamasına katkıda bulunabileceği beklenmelidir [55]. Serbest radikaller, aşağıdaki yollarla aşırı kalsiyum yüklenmesini destekleyebilir; sarkoplazmik retikulumda veya hücre zarında kalsiyum taşınmasına müdahale ederek; oksidatif fosforilasyonu bozarak

ve gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenazı doğrudan inhibe ederek; ve geri dönüşümsüz olarak anaerobik glikolizi inhibe ederek [27]. Kalsiyumun birikmesi, elektron taşıma zincirine zarar vererek ve ksantin oksidazın aktivasyonuna yol açan kalsiyum bağımlı proteazları aktive ederek serbest radikal üretimini teşvik edebilir [27].

2.3.2. Oksidatif stres-serbest radikal üretimi

İskemi reperfüzyon serbest radikal üreten bir durum olup, reperfüzyon durumundaki mitokondriyal hasar ve elektrolit dengesizliği üç ana sistemden oksidatif strese sebep olmaktadır: Ksantin oksidaz sistemi, NADPH oksidaz sistemi, nitrik oksit sentaz sistemi [4].

Ksantin oksidaz-ksantin dehidrojenaz

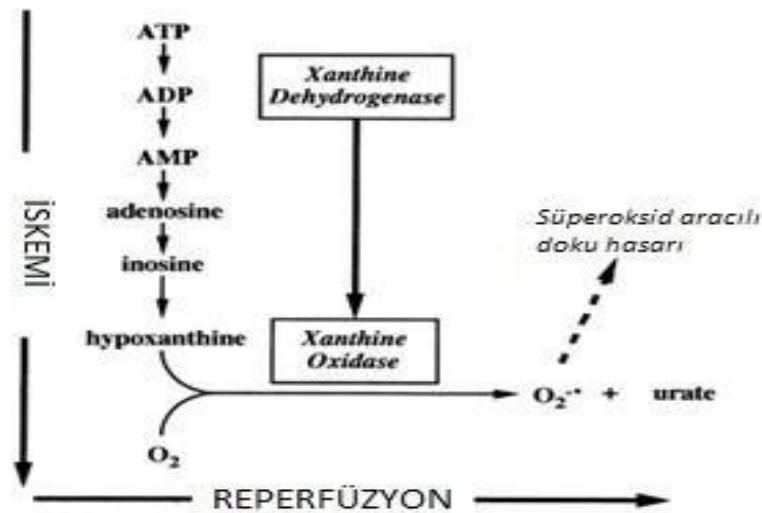
İskemik ve reperfüze dokulardaki reaktif oksijen kaynaklı serbest radikallerin potansiyel bir kaynağı, ksantin dehidrojenaz/oksidaz enzimidir. Ksantin oksidaz (Tip O), moleküler oksijeni (O_2) indirgeyerek hem süperoksit hem de hidrojen peroksit oluşturma kapasitesine sahiptir [56].

Enzim, sağlıklı dokulardaki enzimin %90'ını oluşturan ksantin dehidrojenaz (Tip D) olarak sentezlenir [57]. Bu form, ksantin oksidasyonu sırasında elektron alıcısı olarak nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD) kullanır. Alternatif olarak enzim, süperoksit radikalini üretmek için bir elektron alıcısı olarak moleküler oksijeni kullanan oksidaz olarak var olabilir.

$\text{Ksantin} + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ürik asit} + \text{NADH} + \text{H}^+$ (Ksantin dehidrojenaz)

$\text{Ksantin} + 2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ürik asit} + 2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+$ (Ksantin oksidaz)

Enzimin D-formundan O-formuna dönüşümü doku iskemisinin bir sonucu olarak meydana gelir [58]. Bu, ATP'nin tükenmesi ve ardından membran kalsiyum gradientleri üzerindeki kontrolün kaybı ile hızlanabilir. Artan sitozolik kalsiyum konsantrasyonu, kalsiyuma bağımlı proteazları aktive eder ve bu da dehidrojenaz D-formunu bir oksidaza dönüştürür [27]. Oksidatif fosforilasyonun kesintiye uğraması nedeniyle ATP'nin yeniden sentezlenmemesi, AMP gibi adenin nükleotitlerinin ve ardından adenosin, inozin, hipoksantin ve ksantine parçalanmasını teşvik eder. Son iki madde, ksantin oksidaz için oksitlenebilir substratlardır ve iskemik dokularda birikirler [59]. Moleküler oksijen ile, reperfüzyon sırasında, süperoksit radikallerinin hızlı üretimi meydana gelir.



Şekil 2. Ksantin oksidaz-dehidrojenaz yolağı

Demirle ilgili serbest radikal üretimi

Serbest metal iyonları, serbest radikalleri içeren elektron transfer reaksiyonları için ideal bir kalıp görevi görür. Özellikle, daha az zararlı süperoksit radikalinden aşırı derecede toksik hidroksil radikalinin üretimini kolaylaştırır (Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları) [60]. Normal biyolojide demir bağlama mekanizmaları iyi gelişmiş olmasına rağmen, iskemik ve kısmen hasarlı dokularda bu koruma kaybolur [61].

Mitokondriyal elektron taşıma zinciri

Arteriyel kan akışının tıkanması hipoksiye neden olur ve mitokondride elektron taşıma zincirinin işlev bozukluğuna yol açar [4]. Mitokondriyal elektron taşıma zincirinin yalnızca kısmen indirgenmiş oksijen türlerini, özellikle de süperoksiti sızdırma potansiyeli iyi bilinmektedir [62]. Oksijen konsantrasyonu arttığında veya solunum zinciri büyük ölçüde azaldığında, örneğin iskemi sırasında süperoksit üretimi baskın hale gelir [63].

Polimorfonükleer lökositler

Fagosit hücre zarlarında bulunan NADPH oksidaz sistemi, uyarımı takiben hızla oksijen tüketen (solunum patlaması) ve onu süperoksit radikaline ve ardından hidrojen peroksite dönüştüren önemli bir serbest radikal kaynağıdır [64]. Lökositlerde bulunan myeloperoksidaz enziminin kataliz ettiği reaksiyon ile hidrojen peroksit ve klorürden, güçlü oksidan bir ajan olan sodyum hipoklorit meydana gelir [65].

Nötrofil yapışmasının monoklonal antikorlarla bloke edildiği veya reperfüzyon sırasında nötrofillerin tükendiği hayvanlarda yapılan çalışmalar, infarkt boyutunun azaldığını göstermektedir [66]. İskemi reperfüzyona maruz kalan dokularda yapılan mikroskopik çalışmalar, postkapiller venüllerde lökosit adezyon ve emigrasyon artışı ile karakterize akut inflamatuvar cevap meydana getirdiğini göstermiştir [67]. Lökositler çeşitli proteolitik enzimler; elastaz, hidrolaz, myeloperoksidaz ve proteazlar salınımı ile doku hasarına, inflamatuvar cevabın aktivasyonuna neden olurlar. Akut inflamasyondaki iki ana sitokin; TNF- α ve interlökinler (İL-1, İL-6 ve İL-8) önemli endojen adhezyon moleküllerine sahiptir. Bu sitokinlerin etkisi altında nötrofiller aktive olur. TNF- α tarafından indüklenen nötrofillerin degranülasyonu ile salınan kollajenaz ve elastaz gibi proteolitik enzimlerin salınımı damar endotelinde yıkıma yol açar [22].

2.3.3. Kompleman sistemi

Kompleman sisteminin, İ/R kaynaklı lezyonların patogenezinde fonksiyonu vardır. Kompleman fragmentleri, en etkili kemotaktik ajanlar arasındadır. Kompleman aktivasyonu; klasik yol, alternatif yol veya lektin ile meydana gelebilir. Her üç yolak da C3 ve ürünleri ile hücre lizisi, kemotaksi, opsonizasyon ve damarsal değişikliklere yol açar. C3a ve C5a fragmentleri, nötrofil aktivasyonu ile İL-8 üretiminin önemli başlatıcısıdır. Çeşitli çalışmalar ile kompleman inhibisyonunun İ/R doku hasarını azalttığı gösterilmiştir [22, 68].

2.3.4. Endotelyal disfonksiyon

Önemli deneysel kanıtlar, reperfüzyon hasarında endotel disfonksiyonuna işaret ediyor [69]. Bazı çalışmalar ayrıca oksijene bağımlı mekanizmalar nedeniyle reperfüzyonun ardından endotel hücre hasarının meydana geldiğini göstermektedir [70]. Endotel hücreleri yeniden oksijenlendiğinde süperoksit üretildiğinden dolayı endotel hücrelerinin kendileri aslında reperfüzyon sırasında bir süperoksit radikalleri kaynağı olabilir [71]. Endotel hücreleri yalnızca serbest oksijen radikallerinin kaynağı değil aynı zamanda bir hedeftir. Özellikle kalsiyum kanal blokerlerinin, bu serbest radikalleri temizleyerek reperfüzyonla ilişkili endotelyal hasarı önlediği gösterilmiştir [72].

2.3.5. Vasküler ve mikrovasküler disfonksiyon

Deneysel reperfüzyon hasarı modellerinin çoğunda, vasküler oklüzyonun serbest bırakılması, iskemik bölgeye kan akışının tam olarak restorasyonuna yol açmaz. Bunun yerine, başlangıçtaki reaktif hiperemiyi takiben akış sıklıkla azalır [70]. “Yeniden akış olmaması (no flow)” fenomeninin olası nedenleri endotelyal hücre şişmesi, bozulmuş nitrik oksit salınımı ve trombositler/nötrofiller ile oluşan kapiller tıkanıklıktır [73]. Kompleman aktivasyonu, artan endotelyal geçirgenlik, süperoksit radikal üretimi, mikroemboli, sitokin salınımı ve serotonin ve ADP salınımı ile trombositlerin aktivasyonu dahil olmak üzere çeşitli ilişkili prosesler de söz konusudur [27]. Sonuç olarak, kan beslemesi yeniden sağlandığında, çok sayıda kılcal damar reperfüze olmaz [74].

2.3.6. Araşidonik asit bozunma ürünleri

Hücre içi kalsiyum seviyelerinin artması, Fosfolipaz A enzimini aktive ederek araşidonik asit ürünleri meydana gelmesine yol açar. Prostaglandinlerin, tromboksanların ve lökotrienlerin üretimi, ara nesil oksitleyici türlerin dahil olduğu siklooksijenaz ve lipoksijenaz yolları yoluyla araşidonik asit metabolizmasını içerir. Araşidonik asit metabolitlerinin kemotaktik ajan ve inflamasyonun kimyasal mediatörü olarak önemli rolleri vardır. Örneğin, Basu ve ark. [75] tarafından yapılan çalışma, membran lipidlerinin peroksidasyonundan kaynaklanabilen hücre içi esterleşmemiş araşidonik asit birikiminin, eksojen serbest radikallerin neden olduğu doku hasarını arttırdığını ileri sürmektedir. Siklooksijenaz enzimi tarafından prostosiklin ve Tromboksan A₂ (TxA₂) oluşturulur. Prostosiklin; vazodilatasyona ve trombosit agregasyonunun inhibisyonuna neden olurken, TxA₂; trombositlerde sentezlenir, vazokonstrüksiyona ve güçlü trombosit agregasyonuna yol açmaktadır. TxA₂, nötrofiller için güçlü kemotaktiktir ve endotele yapışmasına, aktivasyonlarına yol açar [22].

2.3.7. Lipit peroksidasyonu ve malondialdehit

Serbest radikaller hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları ile kolayca reaksiyona girerek lipit peroksidasyonunu meydana getirir. Lipid peroksidasyonu yağ asidi zincirlerinden hidrojen atomlarının koparılması sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipid radikali özelliği kazanması ile

başlar. Lipid radikali daha sonra bir dizi değişikliğe uğrar. Lipid radikallerinin moleküler oksijenle reaksiyona girmesi sonucu lipid peroksit radikalleri oluşur. Lipid peroksid radikalleri membran yapısındaki diğer yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikalleri oluşumuna neden olur. Bu reaksiyonda açığa çıkan hidrojeni lipid peroksit bağlayarak lipid peroksitlerine dönüştürler. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Lipid peroksitler yıkıldığında açığa çıkan yıkım ürünleri (acrolein, malondialdehit, hidroksinonenal) biyolojik olarak aktiftir. Bunlar ya hücrede metabolize edilir ya da hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayar [76-78].

Lipid peroksidasyonu hücre membran hasarına ve mitokondiral şişmeye neden olan zar geçirgenliğini arttırır. Lipid peroksidasyon son ürünleri protein disfonksiyonuna yol açabilir [15]. Bu ürünler oksidatif stres belirteçleri olarak da anılmaktadır.

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonu yoluyla meydana gelen oksidatif stresin önemli bir belirteçidir ve hücre hasarını ölçmek için kullanılır [15]. Malondialdehit, araşidonik asidin ve daha büyük çoklu doymamış yağ asitlerinin enzimatik veya enzimatik olmayan yolla ayrışması sonucu oluşan ana son üründür. Malondialdehit yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir göstergesi olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir [78].

2.4. Reperfüzyon Hasarının Biyokimyasal Özellikleri

İskemi sırasında glutatyon ve mitokondriyal fonksiyondaki değişiklikler tarif edilmiştir ve bu değişiklikler reperfüzyonla daha da şiddetlenmektedir [79]. Serbest radikallerin yüksek reaktiviteleri ve kısa yarı ömürleri nedeniyle doğrudan in vivo ölçülmesi zordur. Daha uygun bir yöntem, çoklu doymamış lipidlere serbest radikal saldırısının yarattığı daha kararlı ürünlerin saptanmasıdır [80]. Bu yüzden, lipid peroksidasyonu, reperfüzyon süreci sırasında serbest radikallerin aktivitesinin birincil kanıtı haline gelmiştir. Bunlar ya doğrudan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), konjuge dienler tarafından oluşturulan absorpsiyon spektrumları veya malondialdehit oluşumu ile ölçülebilir [81, 82].

2.5. Serbest Oksijen-Nitrojen Radikalleri

"Serbest radikal" terimi, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronla bağımsız olarak var olabilen bir atom veya molekülü tanımlamak için kullanılır. Eşlenmemiş elektronları sayesinde serbest radikaller tipik olarak kararsız, oldukça reaktif ve kısa ömürlüdür [83]. Radikallerin kaynağı eksojen ve endojen sebeplere bağlı olabilir (Bkz. Şekil-3). Hem metabolik süreçler (hücresel solunum) hem de çevresel oksidanların (ilaç toksisitesi, sigara dumanı, ultraviyole radyasyon, hava kirliliği, yoğun fiziksel aktivite ve alkol gibi) etkisi ile sürekli olarak üretilir [84].

Oksijen türevli serbest radikaller ve oksidanlar, hücrelerin normal metabolizması sırasında sürekli olarak küçük miktarlarda oluşur ve normalde endojen süpürücü mekanizmalar tarafından inaktive edilir. Dengenin SOR lehine

bozulması yani hücrede oksijen radikallerinin birikmesi ya da endojen savunma sistemlerinin yetersiz kalması oksidatif stres olarak tanımlanır [85]. Oksidatif stres durumunda SOR'un aşırı üretimi sebebiyle, lipidler ve membranlar, proteinler ve DNA dahil olmak üzere hücre yapılarına verilen hasarın önemli bir aracısı olabilen zararlı bir süreç başlar [86]. Oksidatif saldırının sonuçları, oksidatif stresin kaynakları haline gelir ve oksidatif bozulmayı artıran bir kısır döngü oluşur [87].

Düşük seviyelerde oksijen radikalleri hücresel homeostaz, mitoz, farklılaşma ve sinyalleşmede önemli roller oynarken, iskemi ve reperfüzyon durumunda radikal oluşumu büyük ölçüde artar ve bu da hücresel hasarı tetikler [83]. Serbest oksijen radikalleri başka bir radikalle veya radikal olmayan bir ajanla birleşir. Böylece organizmada moleküler düzeyde birçok biyolojik etkiye neden olur [78]. Membran lipidlerinin peroksidasyonuna, enzimler ve iyon kanalları dahil proteinlerin denatürasyonuna ve DNA'da zincir kopmalarına neden olarak hücrelere zarar verebilir [83]. Lipid peroksidasyonu tek başına, membran bütünlüğünün kaybını, nekrozu ve hücre ölümünü tetikleyebilir [88].

İskemi reperfüzyon hasarının ana araçlarından biri olan SOR'daki artışın, reperfüzyondan sonra makrofajları uyararak proinflamatuvar sitokinlerin salınımına neden olduğu gösterilmiştir [89]. Oksijen radikallerinin nötrofillerin kemotaksisine neden olduğu ve bunun da kapiller damarların lökositler tarafından tıkanmasına ve mikrovasküler kompresyona yol açabileceği de öne sürülmüştür [83].

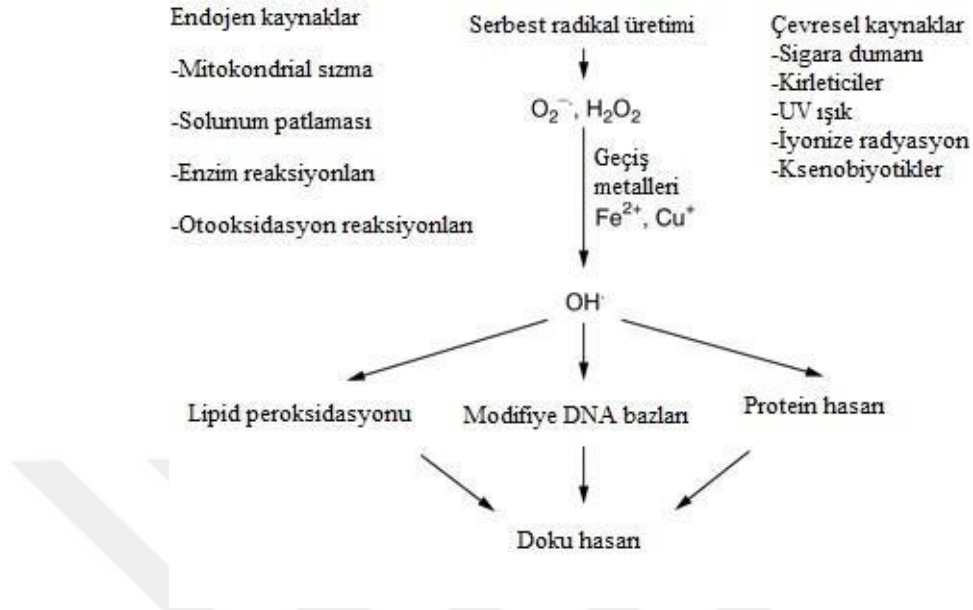
Üç ana enzim yolu, radikal oluşumunun önemli kaynakları olarak doğrudan tanımlanmıştır:

- (1) ksantin oksidaz (XO), esas olarak endotelial hücreler içinde;
- (2) mitokondriyal elektron taşıma zinciri;
- (3) başlıca lökositlerde NADPH oksidaz [83]

En yaygın SOR türevleri, hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH^-), nitrik oksit (NO^-), peroksinitriti ($ONOO^-$) içerir [90].

Moleküler oksijenin eksik indirgenmesi, süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalının oluşumuna yol açar. Hem O_2^- hem de H_2O_2 , daha güçlü oksitleyicilerin üretimi için öncülerdir [91]. İskemide artan pürin bazları ve reperfüzyonda ise oksijen miktarındaki artış H_2O_2 ve O_2^- oluşumunu tetikleyen iki önemli mekanizmadır [15].

Mitokondriyal elektron taşıma zinciri özellikle kompleks I, III ve ubiquinon komponentleri aracılığıyla ciddi miktarda oksijen radikali üretebilir [92]. Mitokondride ATP sentezinin bozulması veya ATP hidrolizinin artması, Ca^{+2} homeostazında bozulma, SOR oluşumu ve proapoptotik proteinlerin salınması ve geri dönüşü olmayan hasarın oluşumunda anahtar faktör olarak kabul edilir [93]. Mitokondriyal geçirgenlik artışı SOR tarafından indüklenir ve mitokondriyal SOR oluşumunu tetikler [83].



Şekil 3. Vücuttaki başlıca serbest radikal kaynakları ve serbest radikal hasarının sonuçları [76]

2.5.1. Süperoksit

Süperoksit, oksijene tek bir elektron eklenmesiyle üretilir ve süperoksitin *invivo* olarak üretilebileceği çeşitli mekanizmalar mevcuttur [94]. Hipoksik endotel hücrelerinde ATP, ADP, AMP, adenosin, inozine metabolize edilir ve son olarak XO substratları olarak bilinen hipoksantin ve ksantin oluşur. Reoksijenasyon ve yeniden sağlanan kan akışı sonrasında hipoksantin ile reaksiyona girer ve O_2^- üretimi ile sonuçlanır [95].

İndirgenmiş geçiş metallerinin (Fe^{+2} , Cu^{+}) otooksidasyonu da süperoksit radikali meydana getirebilir [15].

Süperoksit radikali yüksek derecede reaktif değildir ve direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır [78].

Süperoksit radikali çoğunlukla mitokondride oluşur. Mitokondride enerji dönüşümü sırasında meydana gelen az miktarda elektron kaçakları oksijenin süperoksite dönüşümüne neden olur [96]. Polimorfonükleer nötrofillerde bulunan NADP oksidaz tek biyolojik işlevi kasıtlı olarak O_2^- üretmek olarak bilinen tek enzimlerdir [97].

2.5.2. Hidrojen peroksit

Hidrojen peroksit serbest radikal değildir. Ancak SOR kapsamına girer ve serbest radikal oluşumunda önemli rol oynar [78]. Çünkü hidrojen peroksit, geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu ile ve süperoksit radikallerinin varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucunda hidroksil radikalini oluşturur [78].

Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksinin üretimi süperoksinin dismutasyonu ile gerçekleşir. Bu reaksiyonda iki tane süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluşturur. Süperoksit dismutaz enzimi bu reaksiyonu katalizler ya da spontan olarak gerçekleşir [78, 98].

2.5.3. Hidroksil

Hidroksil radikali, DNA, proteinler, lipitler, aminoasitler, glikoz ve metallerle etkileşime girebilen en güçlü oksitleyici radikal olarak tespit edilmiştir [76]. Ayrıca membranlardan geçiş özelliğine bağlı olarak uzak hedeflerde de hasara yol açabilir.

2.5.4. Nitrik oksit

Serbest radikaller nitrojen kaynaklı olabilir. Reaktif nitrojen türleri (RNS) nitrik oksit ve nitrojen dioksittir [78]. Nitrik oksit, nispeten kararlı bir serbest radikaldir ve sinyal molekülü olarak da işlev görür. Çeşitli fizyolojik ve patolojik eylemlere sahiptir [83]. Nitrik oksit, L-arjininin nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri tarafından sentezlenmesiyle oluşur ve vazodilatör bir etkiye sahiptir. İmmün sistem reaksiyonu sonucunda monositler, makrofajlar ve nötrofiller tarafından salınır. Nitrik oksit süperoksit radikali ile reaksiyona girerek yüksek oranda reaktif, zarar verici ve oldukça güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturur [78]. Peroksinitrit, doğrudan oksidatif reaksiyonlar veya dolaylı, radikal aracılı mekanizmalar yoluyla lipidler, DNA ve proteinlerle etkileşime girer [15]. Peroksinitrit, lipid peroksidasyonu oluşturmak için hücre zarındaki sülfhidril gruplarıyla doğrudan reaksiyona girer. Ayrıca peroksinitrit, DNA'daki guanin bazlarıyla etkileşerek DNA hasarına neden olur [99].

Nitrik oksit, farklı NO sentaz izoformları tarafından sentezlenir ve nitrik oksit sentaz böbrek fonksiyonunda hem fizyolojik hem de patofizyolojik koşullarda önemli rol oynar. Enzim, endotelial NOS (eNOS), nöronal NOS (nNOS) ve indükleyici NOS (iNOS) olmak üzere üç izoformdan biri tarafından oluşturulur. Birçok çalışmada iNOS aktivitesinin inhibisyonunun renal İ/R hasarını azalttığı, buna karşın artan eNOS aktivitesinin böbrekte İ/R hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir [100].

2.6. Antioksidan Mekanizmalar

Hücrede lipid, protein ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önleyebilen veya geciktirebilen maddelere antioksidan, bu mekanizmalara ise antioksidan savunma sistemleri denir [78]. Antioksidanlar serbest radikallere elektron transferi yaparak hücresel düzeydeki hasarı engellemektedir.

Antioksidanların dört farklı mekanizması vardır;

(1) Temizleme etkisi; serbest oksijen radikallerini etkileyerek onların tutulması ya da oksidanları daha zayıf bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir.

(2) Baskılama etkisi; Oksidanlara bir hidrojen aktararak onları etkisiz hale getirme ya da etkilerinin veya reaksiyon hızlarının azaltılması. Vitaminler ve flavonoidler etkilerini bu yolla gösterirler.

(3) Onarma etkisi; serbest radikallerin lipid, protein ve DNA gibi yapılarda oluşturdıkları biyolojik hasarın onarılması.

(4) Zincir koparma etkisi; serbest oksijen radikallerini bağlayarak, zincirlerini kırıp işlevlerinin engellenmesi.[78, 86]

Antioksidanlar üç ana gruba ayrılabilir: antioksidan enzimler, zincir kırıcı antioksidanlar ve geçiş metali bağlayıcı proteinler [101].

Zincir kıran antioksidanlar, bir radikalden elektron alarak veya bir radikale bir elektron bağışlayarak kararlı yan ürünlerin oluşturan küçük moleküllerdir [102]. Vitamin E ve vitamin C buna bir örnektir.

Geçiş metali bağlayıcı proteinler (ferritin, transferrin, laktoferrin ve seruloplazmin), demir ve bakırı sekestre ederek antioksidan savunma sisteminin önemli bir bileşeni olarak işlev görür. Böylece hidroksil radikalının oluşumunu sağlamak için gerekli şartlar oluşmaz [103].

Antioksidanların bir kısmını vücut diyetle alırken (enzimatik olmayan) bir kısmını kendisi hücresel düzeyde (enzimatik olarak) üretir. Enzimatik olmayan antioksidanlar, askorbik asit (C Vitamini), a-tokoferol (E Vitamini), glutatyon, karotenoidler, flavonoidler ve diğer antioksidanlar ile temsil edilir [86].

Enzimatik antioksidan savunmalar arasında bulunan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) hücrede serbest radikallere karşı temel savunma hattını oluştururlar [42]. Özellikle SOD, SOR'un etkilerini azaltarak antioksidan savunma mekanizmalarında önemli bir rol oynar [104].

Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi hücrelerin endojen serbest radikal süpürücü enzimleri iskemi ve reperfüzyondan sonra yetersiz kalır [83].

Tablo 3. Serbest radikal saldırılarına karşı başlıca antioksidan savunma mekanizmaları

Enzimler	Radikal Tutucular
Süperoksit dismutaz	E vitamini
Katalaz	β karoten
Glutatyon peroksidaz	C vitamini
Glutatyon redüktaz	Bilirubin
Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz	Ubikinol
Sitokrom oksidaz	Flavonoidler
Metal iyonlarını bağlayan proteinler	Melatonin
Ferritin	Glutatyon
Transferrin	Sistein
Haptoglobulin	
Hemopeksin	
Seruloplazmin	

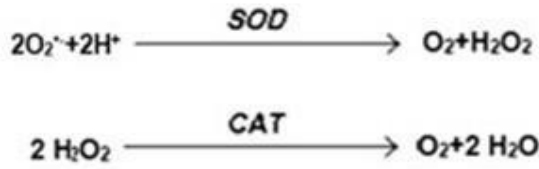
2.6.1. Süperoksit dismutaz

Süperoksit dismutazlar, süperoksitin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eder [76]. Hidrojen peroksit daha sonra katalaz veya glutatyon peroksidaz ile uzaklaştırılmalıdır (Bkz. Şekil-4).

Bu enzimin oluşturduğu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücresel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır [105].

2.6.2. Katalaz

Katalaz, hidrojen peroksitin su ve oksijene iki aşamalı dönüşümünü katalize eder [76]. En büyük aktivitesi karaciğer ve eritrositlerde bulunur, ancak tüm dokularda bir miktar katalaz bulunur. Peroksizomlardan sentezlenen CAT, glutatyon peroksidaza göre daha yüksek kararlı durumdaki H₂O₂ konsantrasyonlarını temizler [106].

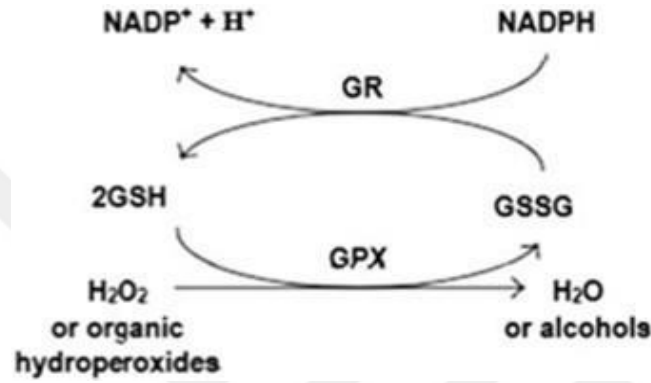


Şekil 4. Süperoksit dismutaz ve katalaz enzim yolları

2.6.3. Glutatyon peroksidaz-glutatyon redüktaz

Glutatyon peroksidaz, H₂O₂'nin suya ayrışmasını ve lipid peroksitlerin karşılık gelen alkollere parçalanmasını katalize eden, öncelikle mitokondride ve bazen de sitozolde etki eden hücre içi bir enzimdir [87]. Glutatyon peroksidaz, hücrelerdeki hidrojen peroksitin ana temizleyicisidir [76]. Hem mitokondriyal hem de sitozolik GPx, yardımcı substrat olarak glutatyon kullanarak H₂O₂ ve yağ asidi hidroperoksitlerini azaltır [107]. Enzimin aktivitesi, indirgenmiş glutatyonun sürekli mevcudiyetine bağlıdır [108]. Bu enzimin indirgenmiş glutatyon tedarikini yenilemek için ihtiyaç duyduğu NADPH, pentoz fosfat yolu tarafından sağlanır

[109]. Glutasyon peroksidaz hemen hemen tüm dokularda yaygın olarak dağılmış olmasına rağmen, hücreler içinde en yüksek konsantrasyonları karaciğerde bulunur.



Şekil 5. Glutasyon redüktaz ve glutasyon peroksidaz yolları

Glutasyon büyük ölçüde indirgenmiş formunda bulunur. Tamamen oksitlenmiş durumda sadece küçük bir miktarı mevcut bulunur (Glutasyon disülfür [GSSG]). Glutasyon redüktaz (GR), glutasyon disülfidi indirgenmiş hale getirmek için flavin prostetik grubunu ve NADPH'yi kullanabilir. Sonuçta indirgenmiş, antioksidan aktif, glutasyon formu oluşur [110].

2.6.4. Paraoksonaz

Paraoksanazlar (PON), plazmadaki düşük yoğunluklu lipoproteinlerdeki organofosfatlar, oksitlenmiş lipidler gibi toksik ajanlardan kaynaklanan hücresel hasara karşı önemli koruyucular olarak görev yapar. Paraoksanazın lipid metabolizmasında ve dolayısıyla kardiyovasküler hastalık ve aterosklerozda

önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca PON'un lipidleri toksik oksidatif modifikasyonlardan koruma rolünü yerine getirdiği saptanmıştır. PON1'in çeşitli antioksidatif fonksiyonları aydınlatılmıştır ve bunlar arasında biyolojik olarak aktif oksitlenmiş fosfolipitleri hidrolize eden fosfolipaz A2 benzeri aktivite ve lipid hidroperoksitleri ve H₂O₂'yi yok eden peroksidaz benzeri aktivitesi bulunur [111-113].

Paraoksonaz ailesi üç antioksidan izoenzimden oluşur. PON1 ve PON3 başlıca karaciğer ve böbreklerde eksprese edilir ve dolaşımda HDL'lere bağlı olarak bulunur. Plazmadaki LDL ve HDL partiküllerinin lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. PON2, çeşitli dokularda bulunan daha yaygın olan ve zara bağlı formdur [114]. PON-1, antioksidan etkileri olan yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkili bir enzimdir ve PON-1 seviyeleri antioksidan savunma sisteminin izlenmesinde kullanılabilir [115].

2.6.5. Glutasyon S-transferaz

Glutasyonun substratlarından biri olduğu önemli bir enzim grubu, glutasyon S-transferazlardır (GST). Farklı GST enzimleri, endojen olarak ve çevrede üretilen çok sayıda zararlı kimyasala karşı hücre savunmasının bir parçası olarak görülmüştür. Glutasyonun seviyesi ve moleküler formu oksidatif strese hücresel yanıtın temel bir belirleyicisidir [116]. Glutasyon seviyesini etkileyen çok önemli bir faktör, GST yoluyla kullanımıdır [117]. Glutasyon S-transferazlar, indirgenmiş GSH'yi konjuge ederek ve yabancı bileşik veya oksidatif stres

ürünlerine saldırıyı katalize ederek işlev görür, genellikle kolayca atılabilen daha az reaktif ürünler oluşturur [118]. Sonuç olarak, GST'nin SOR üretimine yanıt olarak hücresel glutatyon seviyelerini değiştirme yeteneği, hücrelerin SOR indükleyen ajanlardan korunmasında rol oynar [119].

2.7. İskemi/Reperfüzyon Sonrası Uzak Organ Hasarı

İskemi reperfüzyon hasarı öncelikle lokal olarak meydana gelir, ancak revaskülarizasyon sonrası iskemik dokudan salınan aracılar sistemik dolaşıma sızabilir ve diğer uzak iskemik olmayan organ sistemlerini etkileyebilir. Örneğin, plazmanın SOR'a maruz kalması, başlangıçtaki iskemik yaralanma bölgesi dışındaki organlarda inflamatuvar aktivasyonların sekestrasyonuna neden olabilecek ve sonunda çoklu organ yetmezliğine yol açabilecek kemotaktik faktörler üretebilir [120]. Sistemik inflamasyon, birincil hasar ile pıhtılaşma ve inflamasyonun aktivasyonu arasındaki karmaşık bir ilişkiden gelişir. Sistemik etkiler ağırlıklı olarak kalp, beyin, akciğer ve böbrekte gözlenir [121].

İskemi reperfüzyon hasarının merkezinde, reperfüzyon sırasında dokunun oksijenlenmesinden kaynaklanan serbest oksijen radikalleri bulunur. Ayrıca lökosit aktivasyonu ile karakterize edilen inflamatuvar yanıt, uzak organ hasarında en önemli rolü oynar [122, 123]. Hasarlanma sırasında dokunun oksidatif stresi tetikleyen aşırı miktarda serbest radikal ürettiği iyi bilinmektedir [124]. Belirli bir organdaki İ/R hasarı aracılı oksidatif stres, birçok uzak organın işlevini etkiler ve çoklu organ disfonksiyonu sendromuna yol açabilir. Kontrolsüz sistemik

inflamasyondan kaynaklanan ve son nokta olan MODS, önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir [125]. Bu durum barsak, karaciğer ve iskelet kası reperfüzyonu, yanısıra aortik oklüzyon reperfüzyon ve hipovolemik şoka bağlı olarak gelişmektedir [126].

Uzak organ hasarının altında yatan mekanizmaların incelenmesi sonucunda, İ/R tarafından üretilen lokal organ disfonksiyonunda rol oynayan faktörlerin aynıları bulunmuştur: SOR, lökositler ve inflamatuvar mediatörler [19, 127]. Bu faktörler doğrudan birincil hasarlı dokudan veya dolaylı olarak aktive edilmiş lökositlerden veya diğer inflamatuvar hücrelerden salınabilir [19]. Bu sadece polimorfonükleer hücre aktivasyonunu değil, aynı zamanda endotelial yapışma moleküllerinin artan yüzey ekspresyonu ile karakterize edilen uzak dokulardaki endotel hücrelerinin aktivasyonunu da içerir [19]. Bunun sonucunda, vasküler yatakta nötrofil endotel hücre etkileşimleri gelişmektedir [126]. İskemik dokularla karşılaşmış lökositler, reperfüzyon sonrası aktive olmuş bir halde tekrar sistemik dolaşıma girebilir. Aktive olmuş nötrofiller, endotelial bazal membran bileşenlerini ve endotelial bariyer fonksiyonunu sürdüren bileşke proteinlerini parçalayabilen güçlü proteazlar da üretir [11].

Çeşitli organların reperfüzyonu, kompleman kaskadını aktive ederek mikrovasküler sistemde yaygın biçimde kompleman fragmanlarının birikimine yol açar [128]. Kompleman aktivasyon ürünleri yalnız lökositler için kemotaktik olmayıp, aynı zamanda nötrofil aktivasyonu, oksidan üretimi ve adezyon molekül üretimine de sebep olur [129].

Nörokinin bağımlı sinyallemenin, platelet aktive edici faktör (PAF) gibi lipid araçlarının ilk salınımı yoluyla İ/R ile indüklenen inflamatuvar yanıtların başlamasına veya mevcut bir inflamatuvar durumun amplifikasyonuna katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür [130-132].

İskemi reperfüzyona maruz kalan doku kütlesi büyükse proinflamatuvar mediatörlerin (örn. tromboksan, sitokinler) önemli plazma konsantrasyonlarına ulaşılması mümkündür. Sonuç olarak bu ajanlar direkt olarak uzak organlardaki endoteli aktive ederek nötrofiller için adheziv hale getirir [133]. TNF- α ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler, polimorfonükleer lökosit aktivasyonunu ve infiltrasyonunu indükleyerek hem dokuda hem de uzak organlarda gelişen İ/R hasarında önemli bir rol oynar [134].

Uzamış iskemi ve ardından reperfüzyon ile ilişkili morfolojik değişiklikler, hücresel şişme, membran depolarizasyonu, pinositotik veziküllerin kaybı, endotelyal bazal membran ayrılması ve aktif lökositlerin endotel hücre yüzeyine yapışmasını içerir. Ayrıca, hacim kontrollü anyon kanalı disfonksiyonu, İ/R yaralanmasına bağlı hacim şişmesini etkileyen en önemli faktör olarak bildirilmektedir [135].

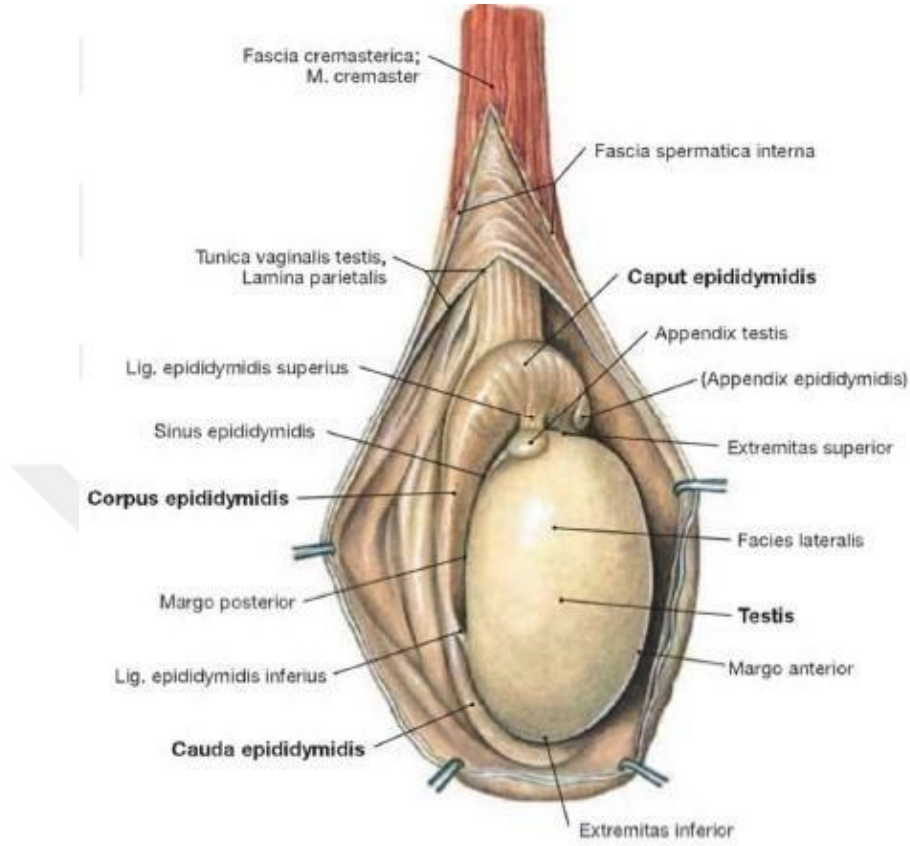
Plazma ksantin oksidaz aktivitesi, aortik oklüzyon-reperfüzyon, hepatik veya intestinal İ/R'ü takiben dramatik bir biçimde artar. Bu artış akciğer, karaciğer ve miyokard gibi uzak organ hasarları ile ilişkilidir [136, 137].

Nitrik oksitin tükenmesi ve/veya inaktivasyonu da İ/R'a bağlı uzak organ hasarının patogenezinin katkıda bulunan bir faktör olarak görülmüştür [138]. Bu

yüzden, İ/R’u takiben NO’nun azalması, nötrofil-endotel hücre etkileşimlerini kolaylaştırarak ve uzak organlarda oksidatif stres başlatarak MODS’un patogenezeine katkıda bulunabilir [139].

2.8. Testis Anatomisi-Fizyolojisi

Testislerin boyutları, yetişkinlerde yaklaşık olarak 4-5 cm uzunluğunda, 2-3 cm genişliğinde ve ön arka çapı 3-4 cm; ağırlıkları ise 12 ila 20 gram arasında değişmektedir. Testis hacmi ortalama 15-25 ml arasında değişir [140]. Testisler skrotum içerisinde funiculus spermaticus vasıtasıyla asılı durumda bulunur. Sol testis genellikle sağ testisten daha aşağıda yer almaktadır. Her iki testis skrotum içerisinde oblik pozisyonda konumlanmıştır; üst tarafta yer alan uç anterolaterale, alt uç ise anteromediale bakar. Testislerin skrotum içerisindeki konumları, skrotal derinin karakteristiği ve plexus pampiniformis’in ısı değişim mekanizması ile birleştiğinde; testisler vücut ısısından yaklaşık 3-4oC daha düşük sıcaklıkta tutulur [141]. Testisler üç tabakadan oluşan bir kapsül yapısına sahiptir: en içte tunica vasculosa, ara tabakada tunica albuginea, en dışta ise tunica vaginalis bulunur [141] (Bkz. Şekil-6).



Şekil 6. Testis anatomisi [142]

Erkek üreme organı olan testisin sperm üretimi ve testosteron üretimi olmak üzere iki temel fonksiyonu vardır. Testis parankimi tunika albuginea adı verilen koruyucu bir fibröz kapsülle çevrilidir. Koruyucu işlevinin yanı sıra bu kapsül testiküler kan akışı, testiküler sıcaklık, intatestiküler basınç ve sperm hareketlerinin düzenlenmesinde de rol oynar. Testis parankimi ise tübüler ve intertübüler kompartmanlardan oluşur. Tübüler alandaki seminifer epitel, germ hücreleri ve onları destekleyen sertoli hücreleriyle ilişki içindedir ve hiçbir kan damarı ya da sinirsel yapı bulundurmaz. İntertübüler alanda ise en sık bulunan hücre tipi Leydig hücreleridir. Bunun yanında kan ve lenfatik damarlar, sinir

hücreleri, immün sisteme ait hücreler gibi çok sayıda eleman yer alır [143]. Seminifer tübüllere FSH etki ederek spermatogenezi uyarırken, LH etkisiyle Leydig hücrelerinden testosteron sentezlenir [144].

Sertoli hücreleri aralarındaki sıkı bağlantılar sayesinde seminifer tübüller ile interstisyum arasında fiziksel bir bariyer oluşturulur. Buna sertoli hücre bariyeri ya da kan testis bariyeri adı verilir. Bu mekanik engel sayesinde germ hücreleri ile immün sistem hücrelerinin karşılaşması engellenerek spermatojenik süreçler otoimmün hasardan korunur [143].

2.9. Testis İskemi/Reperfüzyon (Torsiyon/Detorsiyon) Hasarı

Torsiyon, testisin rotasyonu ve spermatik kordun bükülmesiyle testise kan akışının kısıtlanmasıyla oluşur. Spermatik kordun torsiyonu, infant ve adölesanlar arasında yaygın bir ürolojik acil durumdur. Subfertilite ve infertiliteyi önlemek için erken tanı ve cerrahi müdahale gerektirir [145]. Testis torsiyonu herhangi bir yaşta ortaya çıkabilir, ancak en yüksek insidans on dört yaşında görülür, sıklık olarak ikinci sırada ise yaşamın ilk yılında görülmektedir [146]. Testis hacminin artması, testiküler travma, tümör, testisin yatay konuma gelmesi, kriptorşidizm hikayesi ve spermatik kordun uzun olması da testis torsiyonuna neden olur [147].

Testise giden damarların torsiyone olması, testis arteriyel kan akımını ve venöz drenajı bloke eder (Bkz. Şekil-7). Bu durum testiste ödem, konjesyon, şişme, hemoraji, ekimoz ve sellülite neden olur. İlerleyen dönemde oluşan ödem; testis kan akımının bozulmasına, arteriyel blokajın şiddetlenmesine, hipoksiye,

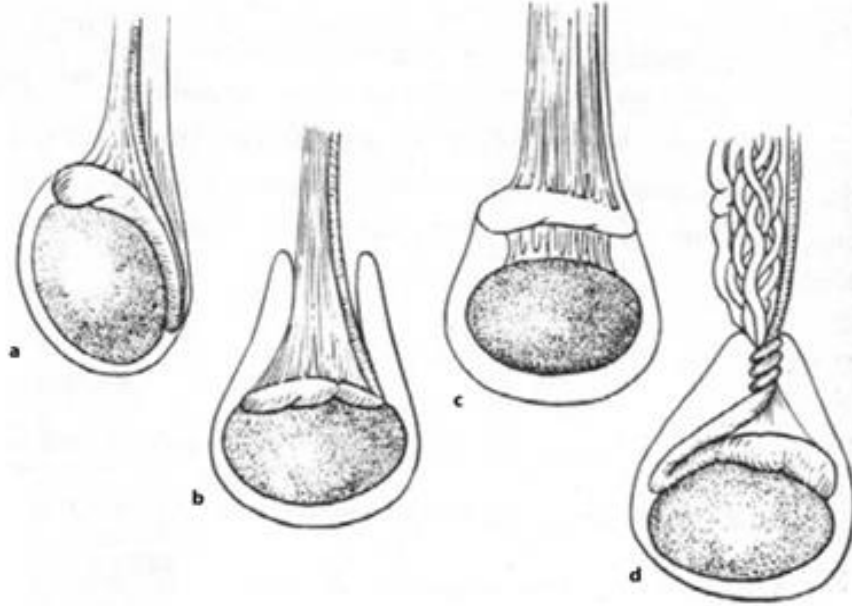
dejenerasyona, enfarktüse, nekroza, apoptozise ve testiste gangren gelişmesine neden olur [146].

Testisin anterior yüzünü saran tunika vajinalis ile ilişkisi açısından iki tip testis torsiyonu tanımlanmaktadır. Pubertal dönemde ve genç yetişkin erkeklerde testis tunika vajinalis içinde serbest hareket etmekte ve intravajinal torsiyon sık görülmektedir. Testis, epididim ve tunika vajinalisin spermatik kordun üst düzeyinde vertikal aksta torsiyona maruz kalmasına ise ekstravajinal torsiyon adı verilmektedir ve bunların çoğu prenatal dönemde ortaya çıkmaktadır [148]. İskemi derecesi torsiyonun süresine ve spermatik kord rotasyonunun derecesine bağlıdır. İskemi torsiyondan sonraki 4 saat içinde belirginleşir ve 24 saat içinde nerdeyse kesindir. Detorsiyonla testis kurtarma oranı torsiyondan sonraki 6 saate kadar %90, 12 saate kadar %50, 24 saat sonra ise <%10 olarak bildirilmiştir [147].

Testiküler torsiyon-detorsiyonun ana patofizyolojisinin testis iskemi-reperfüzyon hasarı olduğu görülmektedir [149]. Testiküler iskemi ve reperfüzyon sırasında reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi testis hasarının ana başlatıcı bileşenidir [150]. Testisin İ/R'si, testis endotel hücrelerinde nötrofil toplanması, intratestiküler reaktif oksijen türlerinde bir artış ve nihai olarak germ hücresine özgü apoptoz ile sonuçlanan hücre içi bir sinyalleşme kaskadını uyarır [151]. Testis torsiyon-detorsiyonu malondialdehit düzeyinde önemli bir artışa neden olur ve ipsilateral testislerde süperoksit dismutaz, katalaz aktiviteleri ve spermatogenezde önemli düşüşler ortaya çıkar [149].

İlk faz reperfüzyondan hemen sonra meydana gelir, birkaç saat sürer ve tipik bir oksidatif stres durumudur, hücresel hasar açısından geri dönüşümlüdür. İkinci aşama, oksidatif stres hasarının sürdürülmesine bağlı olarak saatler veya günler sürer. Bu aşama, nötrofil infiltrasyonu ve makrofaj alımı ile geri dönüşü olmayan doku hasarı ve iltihabının ortaya çıkmasıyla ilişkilidir [152].

Testis iskemisini takip eden reperfüzyon sendromunun iki bileşeni vardır. Reperfüzyonu izleyen yerel yanıt ve çoklu organ yetmezliği, ölümle sonuçlanan sistemik yanıtı oluşturur. Hücresel hasar ne kadar şiddetli olursa, mikrovasküler değişiklikler o kadar büyük olur ve doku ölümüyle birlikte mikrovasküler akış birkaç saat içinde durur.



Şekil 7. Testis torsiyonu gelişimi a) Normal anatomi, (b) Çan tokmağı deformitesi, (c) Anormal mezorkium ve (d) İntravajinal torsiyon [146]

Memeli testisleri, membranlarında yüksek oranda çoklu doymamış yağ asiti içerdiği için oksidatif strese ve özellikle lipid peroksidasyonuna oldukça hassastır [7]. Yapılan çalışmalarda, İ/R olayı tek bir testiste meydana gelse de diğer testise giden kan akımının da azalmasına neden olduğu gösterilmiştir. Testiste iskemi nedeniyle ortaya çıkan hasar kan-testis bariyerinin de bozulmasına neden olur [7]. Ayrıca İ/R hasarında nötrofil aktivasyonu, inflamatuvar sitokinler ve trombojenitesi artmış adhezyon molekülleri, hücre içine çok miktarda Ca^{2+} salınmasında ve reaktif oksijen ve nitrojen türleri de hasar oluşmasında rol alır. Apoptoz, spermatogenezin sağlıklı ve dengeli olabilmesi için majör role sahip fizyolojik bir mekanizmadır. Ancak reperfüzyona bağlı aşırı SOR üretimi ve tetiklenen inflamasyon zincirleri nedeniyle apoptoz yolları da hiperaktifte olmakta ve patolojik doku hasarı oluşmaktadır [153].

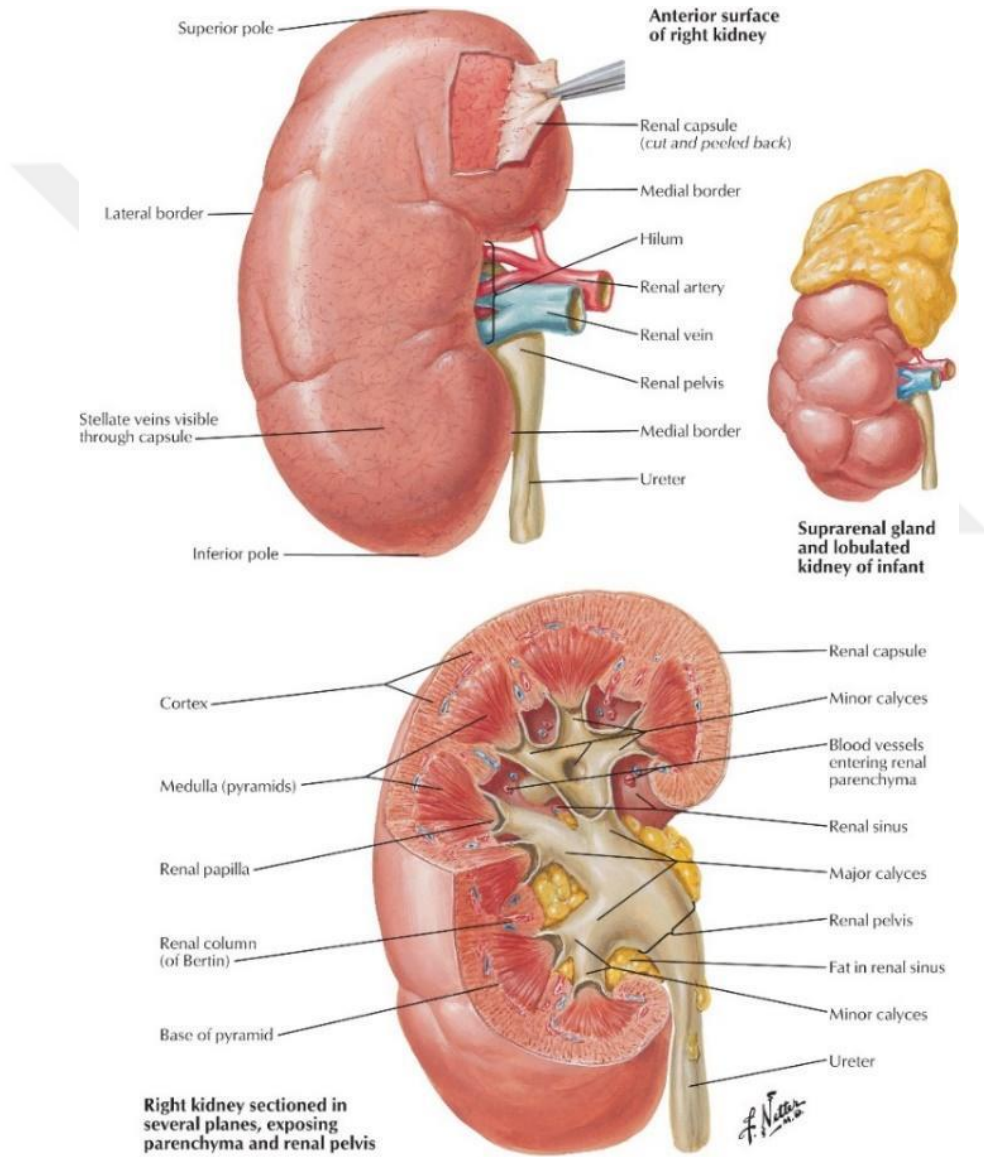
Öykü ve fizik muayene, hastada testis torsiyonu olduğunu kuvvetle düşündürürse acil cerrahi müdahale gereklidir. Testis torsiyonu genellikle iç rotasyonla yapıldığından, öncelikle dış rotasyonda manuel detorsiyon denenmelidir. Sonuç olarak, bu sadece geçici bir önlemdir ve kesin tedavi için hastanın ameliyata gitmesini geciktirmemelidir. Testis İ/R hasarının tedavisi manuel olarak torsiyonun düzeltilmesi ve cerrahi müdahaleden geçer [146]. Ancak kalıcı hasar oluşuktan sonra bu hasarı azaltmak için çeşitli terapötik ajanlar önerilmiştir.

2.10. Böbrek Anatomisi-Histolojisi

Böbrekler kolumna vertebralisin her iki tarafında ve karın arka duvarının üst kısmında bulunurlar. Böbreklerin etrafını gevşek bağ dokusu ve yağ dokusu sarar. Ön yüzünü periton zarı örter [154]. Üst uçları 12. torakal vertebranın üst kenarı, alt uçları 3. lumbal vertebra seviyesinde bulunur. Her böbrek insanlarda yaklaşık 11,5 cm uzunluğunda, 5-7 cm genişliğinde ve 2,5 cm kalınlıktadır (Bkz. Şekil-8). Böbreği içten dışa doğru capsula fibroza, capsula adipoza ve fascia renalis olmak üzere üç kılıf sarar. Böbrekleri yerlerinde tutan en önemli yapılar böbrek damarları ve fascia renalistir [155].

Renal arterler, kalp debisinin yaklaşık %20'sini alır, yani yaklaşık 1200 ml/dk kan akımına sahiptir. Aorttan lateral olarak, L2 vertebral seviyesinde superior mezenterik arterin orijininin hemen altında dallanırlar [156]. Renal hilumun yakınında, renal arter, üreterin yanından böbreğe girer ve beş segmental artere ayrılır. Segmental arterler ve dalları arasında anastomoz bulunmaz. Bu nedenle bu arterlerden birinde kan akımının kesilmesi, beslediği segmentin dolaşımını durdurur. Segmental arterler daha sonra interlober arter, arkuat arter, interlobüler arter ve afferent arteriyolü oluşturur. Afferent arteriyol birçok dala ayrılarak glomerüler kılcal damarları oluşturur. Glomerüler kılcal damarlar birleşerek efferent arteriyolü, efferent arteriyol ise nefronlara kan sağlayan peritübüler kılcal damarları oluşturur. Reabsorbsiyon ve sekresyon işlemleri tübüller ve peritübüler kılcal damarlar arasında gerçekleşir. Peritübüler kılcal damarlardaki kan arteriyel sisteme paralel seyreden venöz sisteme boşalır. Venöz

sistemin damarları sırasıyla interlobüler ven, arkuat ven, interlober ven ve böbrek venini oluşturur [157]. Renal venler, renal arterlerin önünde yer alır ve hemen hemen dik açılarda inferior vena cavaya açılır.



Şekil 8. Böbrek anatomisi [158]

Her böbreğin medial veya içbükey yüzeyinde yer alan renal hilus, renal pelvis, renal arter ve ven, lenfatikler ve bir sinir pleksusunun böbreğin sinüsüne geçtiği bir girintidir [159].

Böbrekler fonksiyon olarak iki farklı bölümden oluşur. Dış bölüme korteks, iç tarafta yer alan bölüme medulla denir. Orta bölümdeki boşluğa sinus renalis adı verilir. Korteks, renal korpüsküller, kıvrımlı ve düz tübülleri, toplama tübüllerini ve kanallarını bulundurmaz. Medulla renal korpüskül bulundurmaz; düz tübülleri ve toplayıcı kanalları içerir.

İnsanlarda medulla renal piramitlerden oluşur. Her piramidin tabanı kortikomedüller sınırda olan konik doku kütlelerinden ve apeks ise renal pelvise doğru uzanan ve bir papilla oluşturan konik doku kütlelerinden oluşur. Her papillanın ucunda, toplama kanallarının distal uçlarının renal pelvise açıldığı area cribrosa bulunur. Tek bir böbrek piramidi ve onu çevreleyen korteks, bir böbrek lobunu içerir. İnsanlarda renal korteks yaklaşık 1 cm kalınlığındadır, her renal piramidin tabanı üzerinde bir başlık oluşturur ve Bertin sütunlarını oluşturmak için ayrı piramitler arasında aşağı doğru uzanır. İnsan böbreğinde yaklaşık olarak 8-18 piramid bulunur [160]. Kortikomedüller kavşakta renal piramidin tabanından “medüller kolonlar” kortekse uzanır. Medüller kolonlar, kortikal toplayıcı kanallar, proksimal tübüllerin düz segmentleri ve Henle kulpunun kortikal kalın çıkan kolu birlikte hizalanarak oluşturulur. Bu düz bölümler kıvrımlı tübüller arasında yer alır ve medulladan kortekse doğru yayılır gibi görünür [159].

Renal pelvis, üst idrar yolunun genişlemiş kısmını temsil eder. Epitel dokusu, çok sayıda hücre katmanından oluşan geçiş epiteli veya ürotelyum olarak adlandırılır.

Renal pelvisin iki ve bazen üç uzantısı, majör kaliksler, pelvisin üst dilate kısmından dışa doğru uzanır ve birkaç minör kalikse bölünür. Bunlar, her böbrek piramidinin area cribrosa'sında boşaltılan idrarı alır [159]. Genelde her bir böbrekte iki major kaliks, 10-12 adet minör kaliks mevcuttur. Minör kalikslerin uç bölümleri papilla olarak adlandırılır.

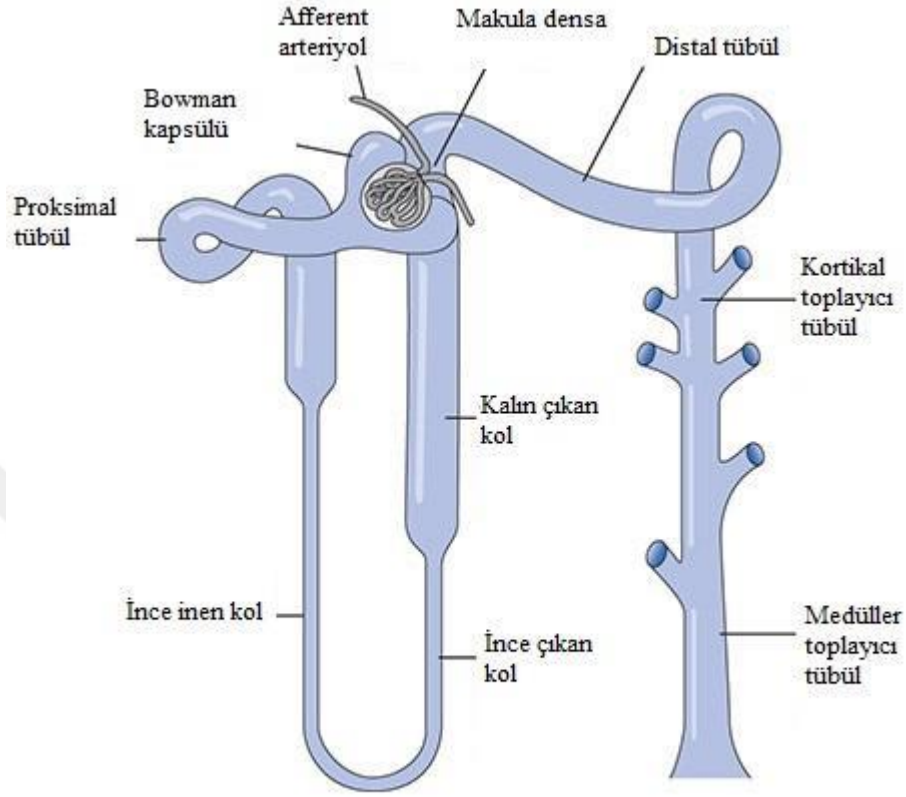
2.11. Böbrek Fizyolojisi

Nefron, renal korpüskül (renal veya malpigi cisimciği terimi, glomerül ve bowman kapsülünü içerir) ve proksimal tübülden toplayıcı tübüllere kadar devam eden tübüllerden oluşan böbreğin fonksiyonel birimidir (Bkz. Şekil-9). Yetişkin insanlarda ortalama nefron sayısı böbrek başına yaklaşık 900.000 ila 1 milyondur [159]. Korteks içindeki renal korpüsküllerin konumuna bağlı olarak, üç tip nefron bulunur: yüzeysel; orta kortikal; ve jukstamedüller nefronlar.

Nefron, afferent ve efferent arteriyollerden meydana gelen bir kapiller yumağı olan glomerül ile başlamaktadır. Glomerüller özelleşmiş bir kılcal damar ağından oluşmuştur. Glomerül, renal tübülün genişlemiş ucu tarafından oluşturulan Bowman kapsülü ile sarılmıştır. Bowman kapsülü proksimal kıvrımlı tübülün başlangıcını oluşturur. Proksimal tübül nefronun metabolik olarak en aktif bölümü olup, glomerüler filtrat hacminin %60-80'inin; filtre edilmiş sodyum ve

klorun %70'inin; böbrekten atılan hidrojenin %90'ının; sülfat, fosfat, bikarbonat, glukoz ve potasyumun büyük bir bölümünün geri emilimini sağlar. Proksimal tübül önce henle kulpunun aşağı doğru inen ince kulpuna boşalır ve yukarı doğru uzanan ilk ince kol, sonra da yukarı doğru çıkan kalın kolu oluşturur. Henle kulpunun ana görevi hipotonik ve konsantre idrar üretimini sağlamaktır. Distal tübül yukarı doğru çıkan henle kulpunu toplayıcı tübülle birleştirir. Sodyum, potasyum, klor, hidrojen atılımında ve geri emiliminde görev alır [161].

Glomerülden filtre edilen sıvı sırasıyla proksimal tübül, henle kulpu, distal tübül ve toplayıcı kanallardan geçer, renal papillaların içinden renal kalikse oradan renal pelvis ve üretere geçer. Distal tübülün başlangıcı her nefronda, afferent ve efferent arteriyoller ile temas halindedir ve bu üç yapı jukstaglomerüler aparat denilen yapıyı oluşturur. Jukstaglomerüler aparatın görevi renin salgılamak, glomerüler filtrasyon ve renal kan akımının regülasyonunu idare etmektir. Jukstaglomerüler aparatın distal tübüldeki değişiklik gösteren hücrelerine makula densa denir ve distal tübüldeki sıvının bileşimine göre jukstaglomerüler aparatın aktivitesini ayarlar. Makula densa tübüldeki sodyum klorür değişikliklerini algılar ve jukstaglomerüler hücrelerden renin salgılanmasını ve afferent arteriyol direncinin düzenlenmesine yardım ederek glomerüler hidrostatik basıncı düzenler, böylelikle glomerüler filtrasyon hızının (GFR) normale dönmesine yardım eder [161].



Şekil 9. Nefronun yapısı [162]

Böbrekler vücut ağırlığının %0,5'i olmasına rağmen, fonksiyonları sebebiyle en yoğun çalışan düzenleyici organlardan biridir. Böbrek vücut sıvı osmolaritesi ve hacminin düzenlenmesi, su ve elektrolit dengesi, asit baz dengesi, kan basıncının düzenlenmesi, metabolik artıklar ve yabancı maddelerin atılması, bazı hormonların üretilmesi ve salgılanması işlemlerini gerçekleştirerek metabolizmanın düzenlenmesinde rol oynar [15].

Vücut sıvılarının ozmolarite ve hacminin düzenlenmesi, dokularda normal hücre hacminin sürdürülmesi ve dolaşım sisteminin normal fonksiyonu için gereklidir. Homeostazın devamı için de elektrolitlerin ve suyun atılan miktarı ile

alınan miktarı dengede olmalıdır. Elektrolit ve su dengesi böbrekler tarafından günlük atılımın günlük alımla dengelenmesi ile sağlanır. Vücudun metabolik fonksiyonlarının çoğu pH'a duyarlıdır. Bu yüzden vücut sıvılarının pH'ı çok dar sınırlar içinde tutulmalıdır. Bu düzenlemede akciğerler ve böbrekler rol oynar. Böbrekler üre, ürik asit, kreatinin, hemoglobin yıkım son ürünleri, hormon metabolitleri gibi çok sayıda metabolik son ürünü atar. Ayrıca, ilaçlar ve yiyeceklerle alınan besin katkı maddeleri gibi yabancı maddelerin de vücuttan atılmasını sağlar. Böbrekler bu maddelerin atılmasını günlük üretim hızına bağlı olarak gerçekleştirir. Eritropoetin, renin, 1-25 dihidroksi vitamin D3, böbrek tarafından üretilerek salgılanan hormonlardır. Eritropoetin, korteksteki peritübüler kılcal damarların endotel hücreleri tarafından yapılır ve kemik iliğinde eritrosit yapımını uyarır. Renin jukstaglomerüler hücrelerden salınır, sodyum ve potasyum dengesini sağlayarak kan basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynayan renin-anjiotensin-aldosteron sistemini aktive eder. Proksimal tübüllerde bulunan 1 alfa hidroksilaz enzimi, 25-hidroksikolekalsiferolün 1 numaralı karbonuna bir hidroksil grubu ekleyerek 1,25 dihidroksivitamin D3, üretir. 1,25 dihidroksivitamin D3, kalsiyumun sindirim kanalından emilimi ve kemikte depolanması için gereklidir. Ayrıca, 1,25 dihidroksivitamin D3, ultrafiltrattaki kalsiyum ve fosfatın böbrek tübül hücreleri tarafından geri emilimini arttırarak kalsiyum ve fosfat atılımını düzenler [15, 157].

2.12. Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarı

Akut böbrek hasarı (ABH), son dönem böbrek hastalığına ilerleyebilen geri dönüşümlü bir durumdur [163]. Akut böbrek yetmezliği, böbrek fonksiyonunun saatler veya günler içinde bozulmasıyla karakterizedir, bu da böbreğin azotlu atık ürünleri atamaması ve sıvı ve elektrolit homeostazını sürdürememesi ile sonuçlanır [164].

Renal düzeyde, oksidatif stres, renal iskemiye, glomerül lezyonlarına, hücre ölümüne ve apoptoza yol açabilen ve halihazırda sürmekte olan ciddi inflamatuvar süreçleri şiddetlendiren ilerleyici böbrek hasarından sorumludur [91]. Spesifik olarak, SOR (özellikle O₂⁻) birikimi, renal kan akışını artırarak, basınç natriürezisini artırarak, tübüloglomerüler fonksiyonu düzenleyerek ve sıvı ve elektrolit homeostazını koruyarak böbrek fonksiyonunu koruyan kritik bir antioksidan olan NO'nun eksikliğine veya etkisizleşmesine yol açar [91]. Nitrik oksit ayrıca böbrek hastalığı ve oksidatif stres sırasında endotelde kritik bir rol oynar. Düşük nitrik oksit seviyeleri (endotelial nitrik oksit sentaz [eNOS] tarafından üretilir) antioksidatif genlerin ekspresyonunu indükler, renal endotelial ve mezangial hücreleri apoptoz ve fibrozdan korur ve normal renal hemodinamikleri destekler [165]. NO eksikliği ve yüksek plazma O₂⁻ seviyeleri, oksidatif stresin kritik destekleyicileri olarak kabul edilir. Antioksidan tedaviler oksidatif stresi azaltmada, üremik kardiyovasküler toksisiteyi düşürmede ve sağkalımı iyileştirmede faydalı olabilir [166].

Reaktif oksijen radikali üretimi ve sinyalizasyonu, nefron boyunca tübüler hücrelerde Na^+ 'nın yeniden emilimini etkilerken, artmış renal vasküler direnç ile renal damarlardaki vazoreaktivite üzerinde doğrudan etkileri vardır [167]. Vasküler oksidatif stres, hastalık sırasında böbrek hasarının ilerlemesinde kritik bir rol oynar. Endotel oksidatif strese karşı özellikle hassastır ve kan damarlarındaki ve çevresindeki SOR seviyeleri orta ila şiddetli hale geldikçe fenotipte bir değişikliğe uğrar [165]. Endotel üzerindeki bu olumsuz etki, artmış sitokin üretimi ve vasküler yeniden şekillenmeyi etkin bir şekilde teşvik eden yüzey yapışma moleküllerinin ekspresyonu (ICAM-1) dahil olmak üzere enflamasyonu destekler [168]. Eksprese edilen ICAM-1, nötrofillerin endotelial hücrelere bağlanması, nötrofil infiltrasyonu ve nötrofiller tarafından inflamatuvar sitokinlerin salgılanması ile sonuçlanan lenfosit fonksiyonuyla ilişkili antijen-1 (LFA-1) yoluyla nötrofillerle bağlanır [47]. Hasarlı bir bölgede nötrofiller ortaya çıktıktan sonra, makrofaj infiltrasyonu meydana gelir. Makrofajlar, zamana ve çevreye bağlı olarak proinflamatuvar M1 ve antiinflamatuvar M2 fenotiplerine farklılaşır. M1 makrofajları, İ/R'nin neden olduğu böbrek hasarı ile ilişkili proinflamatuvar sitokinler ($\text{IL-1}\beta$, $\text{TNF-}\alpha$ ve IL6) salgımlarken, M2 makrofajları anti-inflamatuvar sitokinler ($\text{TGF-}\beta$, IL-10 ve IL-22) salgılar [151, 169]. Makrofajlar ayrıca CD4^+ T hücre aktivasyonunu da uyarır. Aktive edilmiş T hücreleri, M1 makrofaj aktivasyonu yoluyla bağışıklık tepkisini güçlendiren interferon-gamayı ($\text{IFN-}\gamma$) sentezler [170]. İnfiltrat lökositler, glomerül ve perivasküler segmentleri istila eder, ve sonuçta miyeloperoksidazla güçlendirilmiş süperoksit salınımını (öncelikle NADPH oksidaz tarafından) ve hipokloröz asit

(HOCl), hidrojen peroksit, nitrik oksit (uyarılabilir nitrik oksit sentaz [iNOS] aracılığıyla) ve nitrojen dioksiti içeren bir solunum patlaması başlar [171].

Orta derecede artan mitokondri kaynaklı SOR, endotel hücrelerinde HIF stabilizasyonu ve nükleer faktör E2 ile ilişkili faktörün uyarılmasıyla sonuçlanır, bu etkiler hem oksidatif strese karşı koruyucu hem de renoprotektif etki oluşturur [172]. Reaktif oksijen radikali üretimi sürdükçe, mitokondriyal oksidatif stres artar [173].

İskemi reperfüzyon tarafından indüklenen böbrek hasarı, geleneksel olarak hızla azalan böbrek fonksiyonu ile karakterize edilir [174]. Böbrek fonksiyonu, glomerüler filtre fonksiyonunu gösteren azotlu metabolik son ürünler olan kan üre nitrojeni ve serum kreatinin değerleri kullanılarak tahmin edilebilir [175]. Azalmış böbrek fonksiyonu, glomerüler süzütünün tübüler epitel boyunca geri sızmasının neden olduğu glomerüler filtrasyon problemlerini gösterir; bu, İ/R tarafından en ciddi şekilde yaralanan bölgeyi temsil eder [176]. İskemi reperfüzyon hasarı, renal tübül üzerinde lümen artıkları ve tübüler epitel hücrelerinde çökmüş lümen boşlukları ile kendisini gösterir. Hasar şiddetli olduğunda, hasarlı hücreler patofizyolojik bir hücre ölümü mekanizması olan apoptotik yoldan temizlenir [177].

İskemi reperfüzyon hasarı ayrıca renal kapiller damar kaybına neden olur. Endotel hücrelerinde patohistolojik değişikliklerle sonuçlanır. Korunan vasküler yapılar, devamlı bir kan akışı sağlayarak İ/R tarafından hasar görmüş dokulara ve hücrelere oksijen ve besinler ileterek, böbreğin fonksiyonel ve histolojik

iyileşmesine yardımcı olabilir. Reperfüzyon, hasarlı hücrelerin oksijenle beslemesini tekrar sağlar. Bu da oksidatif stresle ilgili enzimlerin ekspresyonunu tetikleyebilir ve oksijeni SOR'a dönüştürür [178].

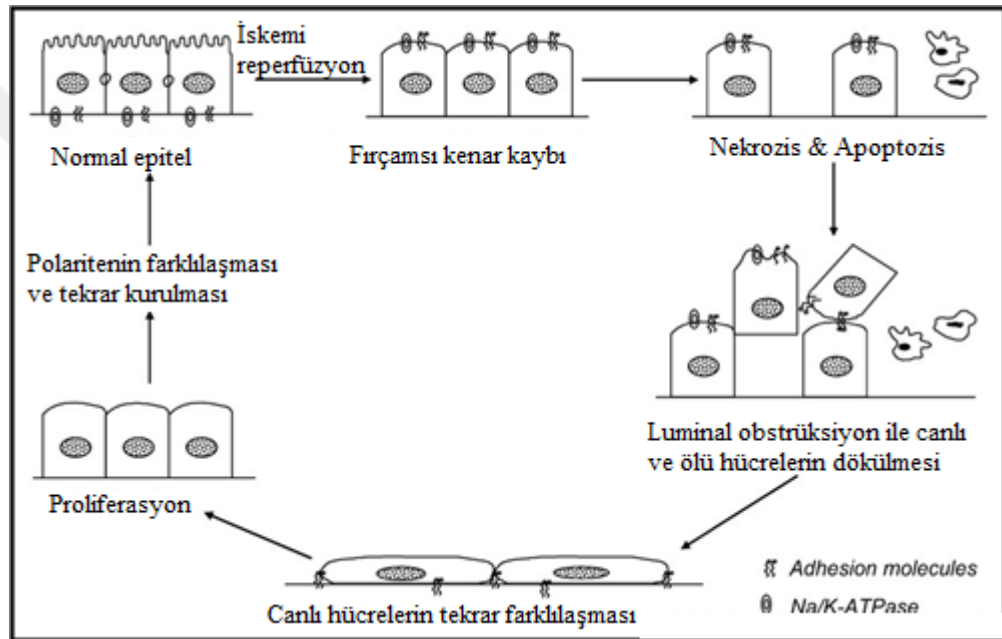
Renal İ/R hasarının altında yatan mekanizmalarının, kalsiyuma bağımlı fosfolipaz, nükleaz ve proteaz aktivasyonu nedeniyle meydana gelen hücre apoptozunu içerdiği bilinmektedir [164]. Bu nedenle, bu aktivasyonu önlemeyi amaçlayan tedavi modaliteleri oksidatif stres, apoptoz ve böbrek hasarını iyileştirmektedir [179]. Akut böbrek yetmezliğinde yeni terapötik yaklaşımlar, hücre ölümünün önlenmesini ve endojen iyileşme sürecinin hızlandırılmasını hedeflemiştir.

İskemik böbrek hasarından sonra, hücre ölüm şekli, öncelikle hasarın ciddiyetine ve hücre tipinin direncine bağlıdır. Nekroz genellikle daha şiddetli yaralanmadan sonra ve daha duyarlı nefron segmentlerinde ortaya çıkarken, apoptoz daha az şiddetli yaralanmadan sonra ve özellikle iskemiye dirençli distal nefron segmentlerinde baskındır [47].

2.12.1. Morfolojideki değişiklikler

İnsanlarda iskemik akut böbrek hasarının belirgin morfolojik özellikleri; proksimal tübül fırça sınırının silinmesi ve kaybı, hücre polaritesinin kaybı, tübül hücrelerinin yamalı kaybı, proksimal tübüllerde dilatasyon ve distal tübüler döküntüler ve hücresel rejenerasyon alanlarını içerir [180] (Bkz. Şekil-10). Nekroz göze çarpmaz ve oldukça hassas olan dış medüller bölgelerle sınırlıdır.

Primer bir glomerüler hastalık akut böbrek hasarına neden olmadıkça, glomerüller genellikle etkilenmemiştir. Bununla birlikte, insan akut böbrek hasarının hem iskemik hem de nefrotoksik formlarında hem distal hem de proksimal tübüllerde apoptotik hücre ölümü görülmektedir [181]. Ek olarak, peritübüler kapillerlerde damar tıkanıklığı, endotel hasarı ve lökosit birikimi bulunabilir [182].



Şekil 10. Akut iskeminin yapısal sonuçları ve böbrek tübül hücrelerinde reperfüzyon hasarı [183]

2.12.2. Tübül dinamiğindeki değişiklikler

Tübül dinamiğindeki belgelenmiş düzensizlikler arasında tıkanma, geri sızma ve tübüloglomerüler geribildirim aktivasyonu yer alır. İnsan biyopsilerinde proksimal tübüler dilatasyon ve distal tübüler silendirlerin tutarlı histolojik bulguları, iskemik ABH'de tübüler sıvı akışında obstrüksiyonun kesinlikle meydana geldiğini göstermektedir. İntraluminal dökümler, normalde

kalın çıkan uzuv tarafından bir monomer olarak salgılanan Tamm-Horsfall proteini için güçlü bir şekilde boyanır [47].

2.12.3. Mikrovasküler değişiklikler

Mikrovasküler değişikliklerdeki olası mekanizmalar, trombositlerin endotelyuma yapışmasını, ardından lökosit yapışmasını ve trombositlerin nötrofillere yapışmasını ve bunun sonucunda agregat oluşumu ve dar peritübüler kılcal damarlarda tutulmasını içerir [184].

Özellikle, iskemik bir hasardan sonra reperfüzyon sırasında kortikal kan akışı düzelse bile dış medullada belirgin bir tıkanıklık ve hipoperfüzyon vardır [185]. Normal koşullar altında bile, medullar bölge, paradoksal olarak çok yüksek enerji gereksinimleri olan nefron segmentlerini barındırmasına rağmen, düşük kan akışı ve ters akım oksijen değişiminin bir sonucu olarak hipoksik bir durumda varlığını sürdürür. Karakteristik postiskemik tıkanıklık, göreceli hipoksiyi kötüleştirir. Bu yatkın tübül segmentlerinde uzun süreli hücresel hasara ve hücre ölümüne yol açar [47]. Bu hemodinamik değişikliklerin altında yatan mekanizmalar esas olarak endotelial hücre hasarı ile ilgilidir [186]. Bu, endotelin gibi vazokonstriktörlerin salınımının artması ve endotelden türetilen nitrik oksit gibi vazodilatörlerin azalması ile vazoaktif maddelerin lokal dengesizliği ile sonuçlanır [187].

2.12.4. Hücre iskeletindeki değişiklikler

Hücresel ATP tükenmesi, apikal aktin hücre iskeletinin hızlı bir şekilde bozulmasına ve aktinin apikal alandan ve mikrovilliden sitoplazmaya yeniden dağılımına yol açar [185]. Sıkı bağlantı bariyer fonksiyonunun kaybı, obstrüksiyon tarafından indüklenen glomerüler filtratın transtübüler geri sızıntısını potansiyel olarak büyütebilir [188]. İskemi, en az iki bazolateral polarize proteinin, yani Na-K-ATPaz ve integrinlerin erken bozulmasına neden olur. Bazolateral Na-K-ATPaz kaybının fizyolojik sonucu, proksimal tübüler sodyum yeniden emiliminde bir bozulma ve buna bağlı olarak intrinsik ABH'nin tanısallık işaretleri olan fraksiyonel sodyum atılımında bir artıştır [47].

2.13. Bor-Borik asit

Bor toprakta, suda, kayalarda ve havada bulunan atom numarası 5 olan bir eser elementtir [189]. Elemental bor 1808'de izole edilmiştir. Bor, elemental formunda dünyada mevcut değildir. Tipik olarak doğada değişen miktarlarda su ile hidratlanmış boratlar halinde bulunur. Önemli bileşikler borik asit, boraks, kernit, üleksit ve kolemanittir [190].

İnsanların bora maruz kalmasının başlıca kaynakları diyet ve sudur [191]. Bordan zengin besin kaynakları arasında meyveler, kuruyemişler, baklagiller, sebzeler ve şarap bulunur [192]. İnsan vücudundaki toplam bor içeriğinin 3 ila 20 mg arasında değiştiği ve en yüksek konsantrasyonlarının kemik, tırnak ve saçta

bulunduğu tahmin edilmektedir [193]. Bor elementi, gastrointestinal kanalda içme suyu ve bitki kaynaklı gıdalardan neredeyse tamamen emilir ve kanda borik asit (BA) olarak dolaşır [194].

Borik asit olarak bor, oldukça hızlı bir şekilde emilir ve idrar yoluyla vücuttan atılır. Borik asitin insanlarda yarı ömrü bir gün mertebesinde [193]. Hem hayvan hem de insan verileri, bor alımının >1.0 mg/gün olması gerektiğini göstermektedir [5].

Metabolizmadaki bor, kalsiyum, magnezyum ve fosfor dengesini ayarlamakta olup sağlıklı kemiklerin oluşumuna, kasların ve beyin fonksiyonlarının gelişimine yardım eder. Osteoporoz tedavisinde, alerjik hastalıklarda, psikiyatrik hastalıklarda, artiritte, menopoz tedavisinde ve kanser tedavisinde (Bor Nötron Yakalama Tedavisi, BNCT, bortezomib) kullanılmaktadır [195].

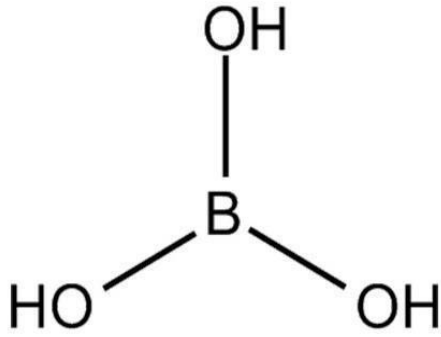
Bor, oksijen için yüksek bir afiniteye sahiptir ve pH'a bağlı olarak sulu çözeltide borik asit ($B(OH)_3$) veya borat ($B(OH)_4^-$) olarak bulunur [196].

2.13.1. Borik asitin kimyasal özellikleri

Bor, doğada oksijene bağlıdır ve fizyolojik sıvılarda %98,4'ü borik asit ve %1,6'sı borat şeklinde bulunur [197].

Tablo 4. Borik asitin kimyasal özellikleri

Kimyasal formül: H₃BO₃ / B(OH)₃
Görünüm: Beyaz katı kristal
Molekül kütlesi: 61,83 g/mol
Yoğunluk: 1,435 g/cm³
Erime noktası: 171°C
Kaynama noktası: 300°C



Şekil 11. Borik asitin kimyasal formülü

2.13.2. Borun tıpta kullanım alanları

In vitro, hayvan ve insan deneyleri borun rapor edilen faydalı eylemleri arasında artrit alevlenmesini baskılama, kemik gelişimi ve korunması, merkezi sinir sistemi fonksiyonunun korunması, kanser riskini azaltma, hormonların etkilerini kolaylaştırma ve bağışıklık tepkisi, iltihaplanma ile oksidatif stres modülasyonu yer alır [5]. Bor içeren ürünlerin oral antidiyabetiklere, antikoagülanlara ve antienfektif ilaçlara kadar tıbbın birçok farklı alanında kullanılmasına yönelik çalışmalar bulunmaktadır [198].

Borik asitin, yara iyileşmesine katkıda bulunduğu da bilinen bir faydasıdır [189]. Borik asit kesiklerde ve küçük yanıklarda antiseptik olarak kullanılırken,

bununla beraber seyreltik çözeltileri göz yıkama çözeltisi olarak kullanılmaktadır [199].

Bor, organizmalar için temel bir mikro besindir ve osteogeneziste ve kemiğin korunmasında çok önemli bir rol oynar [200]. Bor, steroid hormonları ile etkileşime girebilir ve kalsiyum kaybının ve kemik demineralizasyonunun önlenmesine dahil olabilir [201]. Yüksek düzeyde bir bor alımının östrojen eksikliği olan postmenopozal dönemle ilişkili kemik kaybını azaltabileceğini öne süren çalışmalar da bulunmaktadır [200]. Bor ayrıca, D vitamini eksikliği olan hayvanlarda büyümeyi uyararak ve D vitamini eksikliğin özelliği olan mineral metabolizmasındaki bozulmaları hafifleterek D vitamini işleviyle de ilişkilendirilmiştir [201].

Borik asitin insan prostat kanseri hücre dizilerinin çoğalmasını doza bağlı bir şekilde engellediğini bilinmektedir [197, 202]. Multipl miyelom ve mantle hücreli lenfomada kullanılan bortezomib şu anda piyasada bulunan ve onkologlar tarafından yaygın olarak reçete edilen tek bor bazlı terapötiktir [203].

Seyreltik borik asit, aşırı alkaliliğe bağlı bakteriyel vajinozun yanı sıra albicans dışı kandida nedeniyle kandidiyazis tedavisinde vajinal duş olarak kullanılabilir. Antibakteriyel bir bileşik olarak borik asit, akne tedavisi olarak da kullanılabilir. Hem insanlarda hem de hayvanlarda bazı otitis eksterna türlerini tedavi etmek için çeşitli müstahzarları kullanılmaktadır.

2.13.3. Bor etki mekanizmaları

Borik asitin dokular üzerindeki hem faydalı hem de toksik etkileri mekanizmaları ile birlikte tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak borik asit, in vivo yara iyileşmesinin uyarılması, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin salınımı ve hücre dışı matris döngüsünün artması gibi iyi tanımlanmış biyolojik etkilere sahiptir [201].

Borik asit, ATP, NADH (nikotinamid adenin dinükleotit), NADPH (nikotinamid adenin dinükleotit fosfat) ve RNA dahil olmak üzere birçok temel biyolojik molekülün bir bileşeni olan riboz için yüksek bir afiniteye sahip olan bordan türetilir [204].

Bor, hücre zarlarının yapısının ve fonksiyonunun korunması için gereklidir ancak fazla bor, zar fonksiyonunu, bütünlüğünü, konformasyonunu ve taşıma kapasitesini bozar [205]. Bor bileşikleri hücre zarında bulunan cis-hidroksil gruplarına bağlanarak insan ve hayvanlar üzerinde biyolojik etkiler gösterirler [206]. Ayrıca hücre zarı bütünlüğünü ve fonksiyonunu etkileyen fosfoinosititler, glikoproteinler ve glikolipidler ile boroester kompleksleri oluşturabilir [6]. Borun hayvan hücresi replikasyonu ve gelişimi için önemli olduğu biliniyor, ancak altta yatan mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır. Hayvanlarda embriyonik gelişmeyi uyardığı da saptanmıştır [207, 208].

Son bulgular, borun çeşitli faydalı etkilerinin, adenosin içeren veya adenosin öncülerinden oluşan biyomoleküllerin varlığını veya etkisini etkileyerek meydana geldiğini göstermektedir. Bu biyomoleküller, bora hayvan dokularında bilinen diğer bor ligandlarından daha yüksek afiniteye sahip olan S-

adenosilmetiyonin ve diadenozin fosfatları içerir [209]. Diadenozin fosfatlar tüm hayvan hücrelerinde bulunur ve nöronal yanıtla ilgili sinyal nükleotidleri olarak işlev görür. S-adenosilmetiyonin vücutta en sık kullanılan enzim substratlarından biridir [6]. S-adenosilmetiyoninin yaklaşık %95'i DNA, RNA, proteinler, fosfolipidler, hormonlar ve vericilerin aktivitesini etkileyen metilasyon reaksiyonlarında kullanılır. Tükenmiş S-adenosilmetiyonin, artrit, osteoporoz, kanser, diyabet ve bozulmuş beyin fonksiyonu dahil olmak üzere, bor içeren besin alımlarından etkilenebilecek birçok bozuklukta rol oynar [5].

Bor ayrıca oksitlenmiş nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD⁺) güçlü bir şekilde bağlar ve bu nedenle dahil olduğu reaksiyonları etkileyebilir [209]. Hücre kültürü çalışmaları, borun siklik ADP ribozuna bağlandığını ve bunun geri dönüşümlü bir inhibitörü olduğunu göstermektedir [197]. Siklik ADP riboz hücre içinde salınır ve endoplazmik retikulumdan kalsiyum iyonlarının salınmasını indükleyen ryandodin reseptörünü bağlar. Bor, NAD⁺ ve/veya siklik ADP ribozu bağlayarak ve insülin salınımı, kemik oluşumu, bağışıklık tepkisi ve beyin fonksiyonu dahil olmak üzere bordan etkilenen birçok süreç için bir sinyal iyonu olan Ca²⁺ salınımını inhibe ederek biyoaktif etkisini gösterir [197].

Bir dizi makale, borun kanda ve hücrelerde antioksidan enzim olan SOD, CAT, GST ve GPx düzeylerini yükselterek serbest radikal temizlemeyi desteklediğini göstermiştir [210-212]. Borun ayrıca inflamatuvar biyobelirteç düzeylerini azalttığı gösterilmiştir [210]. Bir bor bileşiği olan kalsiyum fruktoboratın hücre içinde süperoksit inhibisyonu yapmasının yanı sıra; kültür ortamında IL-1, IL-6 ve nitrik oksit salınımının inhibisyonu mekanizmalarını

harekete geçirdiği saptanmıştır [213]. Başka bir çalışmada ise, borik asitin, THP-1 monositlerinde lipopolisakarit kaynaklı TNF- α oluşumunu inhibe ettiğini bildirdi [214]. Yapılan bir çalışmada, bordan fakir diyetle beslenen (0,25 mg/gün) erkek ve kadınlarda bor takviyesinin (3 mg/gün) eritrosit süperoksit dismutaz konsantrasyonunu önemli ölçüde artırdığı saptanmıştır [215].

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmaların sonuçlarına dayanarak, araştırmacılar, borun anti-inflamatuar etkilerinin, lökositler tarafından oksidatif patlamanın inhibisyonundan ve nötrofiller ve istilacılar tarafından oluşturulan aşırı aktivitenin baskılanmasından kaynaklandığını varsaydılar [216]. Bor, enflamatuar mediatörlerin makrofaj tarafından üretimini etkileyebilir, sitokin üretiminin baskılanması için faydalı olabilir [213]. Borun diğer antiinflamatuar mekanizmaları, inflamasyonla aktive olan beyaz kan hücreleri tarafından salınan serin proteazların baskılanmasını, lökotrien sentezinin inhibisyonunu, nötrofilin solunum patlaması sırasında üretilen reaktif oksijen türlerinin azalmasını ve T-hücresi aktivitesinin ve antikor konsantrasyonunun baskılanmasını içerir [217].

Borik asit uygulanmasının renal İ/R'den sonra apoptotik aktiviteyi inhibe ettiği de gösterilmiştir [218]. Son olarak, borik asitin NO'nun inhibisyonunu indüklediği gösterilmiştir [219, 220]. Tüm bu etkiler borik asitin doku üzerinde İ/R hasarının oluşturduğu zararlı etkileri azaltma yönünde kuvvetli kanıtlar sunmaktadır.

2.13.4. Bor toksik etkileri

Bor ve bileşiklerinin klinik olarak farklı dozlarda uzun süreli etkileri ile ilgili literatürde az sayıda çalışma bulunmaktadır. Borun ürogenital sistem ve gastrointestinal sistem üzerinde istenmeyen etkilerinin olabileceği gösterilmiştir [221]. İnsanlarda zehirlenmenin bor içeren maddelerin kazara yutulması veya yanık tedavisinde büyük miktarlarda kullanılması sonucu olduğu rapor edilmiştir [193]. Borik asitin diğer bor bileşikleriyle karşılaştırıldığında daha az toksik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Diyetteki borun %90'ından fazlasının absorbe edilerek borik asit şeklinde dokulara dağıldığı ve 120 saat sonra %98'inin idrarla elemine edildiği rapor edilmiştir [199, 222].

Bununla birlikte, büyük miktarlarda bor, canlı hücreler için toksiktir. Bor eksikliği ve toksisite arasındaki aralık, tüm canlı organizmalar için oldukça küçüktür [223]. Yüksek bor konsantrasyonları, çeşitli mekanizmalarla toksik etkiler gösterir. Aşırı miktarda bor, protein sentezini ve mikroorganizmada mitokondriyal disfonksiyona neden olan ve hücre bölünmesini ve gelişimini bozan enzimler olan serin-proteaz, β -laktamaz ve amino-açıl tRNA sentetaz aktivitelerini bozabilir [205].

ABD Tıp Enstitüsü, Gıda ve Beslenme Kurulu, bor için 20 mg/gün'lük tolere edilebilir bir üst alım seviyesi belirlemiştir [224]. Oral yoldan tek seferde alınan borun ölümcül olması pek olası değildir; bununla birlikte, birkaç gün sonrasında böbrek hasarı, dolaşım kollapsı veya şok sebebiyle ölüm meydana gelebilir [225]. Borun tam olarak hangi mekanizmalarla ölüme neden olduğu

belirsizliğini korumaktadır. Bor toksisitesinin klinik semptomları pellagra semptomlarına benzer [226]. Toksik dozda borun vücuda alınması mide bulantısı, kusma ve ishale neden olabilir. Kusmuk ve dışkı mavi-yeşil renkte görünebilir ve böbrek hasarı, hipotermi, eritem, huzursuzluk ve yorgunluk oluşabilir [225].

Borun , erkek kemirgenlerde fertilitenin azalmasına katkıda bulunabildiğini gösteren yayınlar da mevcuttur [193].

Yapılan başka bir çalışmada sıçanlarda oral yoldan verilen borik asitin LD50'si 2660 mg/kg bulunmuştur. Bu miktar LD50'si 3000 mg/kg olarak saptanan normal sofratuzusu dozuna yakındır [198]. 1904 yılında Wiley, 50 gün boyunca 500 mg/gün (günde 77 mg bor) üzerindeki borik asitin iştah ve sindirim bozukluklarına yol açtığını bildirmiştir. 4000 mg/gün (günde 699 mg bor) ve üzerindeki borik asitin insanlara bir zararın oluşabileceği sınır olduğu sonucuna varmıştır [227].

Yüksek dozlarda borik asit tavşan, sıçan ve fare fetüslerinde önemli gelişimsel toksisite ve teratojenisitenin yanı sıra kardiyovasküler defektler, iskelet varyasyonları ve hafif böbrek lezyonları gösterdiği saptanmıştır [228].

Göz yıkama olarak veya aşınmış cilt üzerinde kullanılan borik asit solüsyonlarının, özellikle tekrarlanan kullanımlardan sonra özellikle bebekler için toksik olduğu bilinmektedir; bunun nedeni yavaş eliminasyon hızıdır [229].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tüm deneysel prosedürler uluslararası etik yönergelerine göre gerçekleştirildi. Çalışma öncesinde Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 09.07.2020 tarih, G.Ü.ET-20.036 kod numaralı etik kurul onayı alındı.

3.1. Deney Hayvanları

Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (GÜDAM) Laboratuvarında gerçekleştirilen bu çalışmada, ağırlıkları 250-350 g arasında değişen 24 adet, erkek Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Ratlar 20-21°C sıcaklıkta, 12 saat gece 12 saat gündüz periyotları sağlanan özel çelik tel kafeslerde saklandı. Beslenme ve su ihtiyaçları çalışma başlangıcından 2 saat öncesine kadar izin verilecek şekilde serbest beslenme ile sağlandı.

3.2. Deney Grupları

Hayvanlar rastgele olarak her grupta 6 adet rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Gruplar; Kontrol grubu (K), Borik asit (BA), Torsiyon/detorsiyon grubu (İ/R), Borik asit torsiyon/detorsiyon grubu (BA-İ/R) olarak adlandırılmıştır.

3.3. Deney Prosedürü

İşlem öncesinde tüm ratlara anestezi ve analjezi için intraperitoneal (i.p.) yoldan ketamin (50 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) uygulandı. Deney süresinde lüzum halinde ek anestezik ilaç dozları uygulandı. İşlem, bir ısıtma lambası

altında, ratlar supin pozisyonunda iken gerçekleştirildi. Deney gruplarındaki hayvanlarda skrotal bölge povidon iyot çözeltisi ile antisepsi sağlandı. Daha sonra ratların skrotumuna orta hat üzerinde iki cm uzunluğunda uzunlamasına kesi uygulandı. Skrotal boşluğa ulaşıldıktan sonra künt diseksiyonla testis ve funiculus spermaticus etrafındaki dokular ayrıştırıldı. Ardından K, BA, İ/R, BA-İ/R gruplarındaki ratların skrotal boşlukta bulunan sol testisleri tunika vaginalis ve spermatik kord ile birlikte gubernakulumdan künt diseksiyonla ayrılıp, dışarı alındı. Grup K ve BA’de bulunan deneklerin testislerine hiçbir işlem yapılmadan tekrar skrotuma yerleştirildi. İ/R ve BA-İ/R, grubundaki hayvanların testisleri 720° döndürülerek torsiyone edildi ve 6/0 ipek emilemeyen dikiş ipliği ile torsiyon pozisyonunda sabitlendi. 4 saat torsiyon devam ettirildi. Ardından testisler detorsiyone edilerek 12 saat boyunca detorsiyonda kaldı. Bu süreçte testis ıslak gazlı bez yardımıyla nemli tutuldu. Reperfüzyon döneminin sonrasında K, BA, İ/R ve BA-İ/R gruplarındaki hayvanlar sakrifiye edildi. Sakrifikasyon sonrasında böbrek dokuları bütünlük bozulmayacak ve travmatize edilmeyecek şekilde alındı.

Konrol grubu (Grup K, n=6): Anestezi altında sol skrotum uzunlamasına kesilip testis diseke edildi. Torsiyon ve detorsiyon işlemi uygulanmadı. Herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Çalışmanın sonunda böbrek dokusu histokimyasal ve biyokimyasal değerlendirme için alındı.

Borik asit grubu (Grup BA, n=6): Bu gruba 50 mg/kg i.p. borik asit işleminden yarım saat önce verildi. Anestezi altında sol skrotum uzunlamasına kesilip testis diseke edildi. Torsiyon ve detorsiyon işlemi uygulanmadı.

Çalışmanın sonunda böbrek dokusu histokimyasal ve biyokimyasal değerlendirme için alındı.

Testis torsiyon/detorsiyon grubu (Grup İ/R, n=6): Anestezi altında sol skrotum uzunlamasına kesilip testis diseke edildi. Daha sonra, sol testis saat yönünün tersine 720° döndürüldü ve 6/0 ipek emilemeyen dikiş ipliği ile torsiyon pozisyonunda skrotuma sabitlendi. Sol testiste torsiyon 4 saat sürdürüldü ve daha sonra 12 saat detorsiyonda kaldı. Reperfüzyon periyodunun sonunda hayvanlara ketamin-ksilazin anestezisi uygulanıp histokimyasal ve biyokimyasal değerlendirme için böbrek dokusu alındı.

Borik asit testis detorsiyon grubu (Grup BA-İ/R, n=6): Bu gruptaki tüm sıçanlara 50 mg/kg i.p. borik asit verildi. İşlemden yarım saat sonra hayvanlara anestezi altında cerrahi işlem uygulandı. Sol skrotum uzunlamasına kesilip testis diseke edildi. Daha sonra, sol testis saat yönünün tersine 720° döndürüldü ve 6/0 ipek emilemeyen dikiş ipliği ile torsiyon pozisyonunda skrotuma sabitlendi. Sol testiste torsiyon 4 saat sürdürüldü ve daha sonra 12 saat detorsiyonda kaldı. Reperfüzyon periyodunun sonunda, hayvanlara ketamin-ksilazin ile anestezi uygulanıp histokimyasal ve biyokimyasal değerlendirme için böbrek dokusu alındı.

3.4. Dokuların Saklanması

Böbrek dokuları histopatolojik inceleme ve biyokimyasal analizler için sıvı nitrojende donduruldu ve -80oC derin dondurucuda saklandı.

3.5. Kullanılan İlaçlar

Borik asit, 100 mL distile su ile çözündürüldü. Sonrasında çözelti 50 mg/kg konsantrasyonda seyreltilti. Borik asit dozları Kar ve ark. [218] tarafından yapılan çalışma esas alınarak belirlendi.

3.6. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik inceleme Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilimdalında yapıldı. Rutin tespit işlemleri yapılan böbrekler, parafin bloklara alınıp 5 µ'luk kesitleri yapıldıktan sonra Hematoksilen □ Eozin (H□E) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi. Histopatolojik değerlendirme için skorlama tablosu kullanıldı [230]. Her böbrek preparatı Glomerüler vakuolizasyon (GV), Tübüler dilatasyon (TD), Vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi (VVH), Tübüler hücre dejenerasyonu ve nekroz (THDN), Bowman aralık dilatasyonu (BSD), Tübüler hiyalin silindirler (THS), Lenfosit infiltrasyonu (Lİ), Tübüler hücre dökülmesi (THD) için benzer şekilde hasar kriterleri açısından değerlendirildi. 4 nokta skorlama sistemi kullanıldı. 0: değişiklik yok. +1: minimal değişiklik. +2: orta şiddette değişiklik. +3: ciddi değişiklik olarak puan verildi.

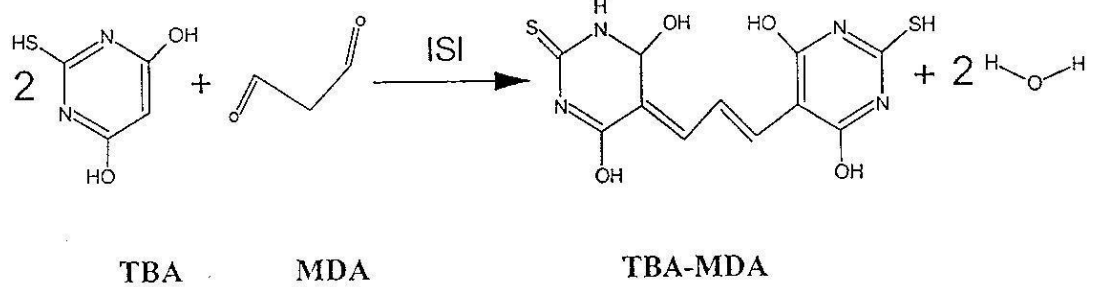
3.7. Biyokimyasal İnceleme

Biyokimyasal inceleme Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Böbrek dokularındaki oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunu araştırmak için MDA seviyesi ve serbest radikal metabolizmasında etkin olan enzimlerden CAT, GST, PON enzim aktiviteleri ölçülmüştür.

Deneyde kullanılacak böbrek dokuları 1/7 oranında serum fizyolojik içerisinde 1-2 dakika 4000 devirde Heidolph DIAX900 marka homojenizatör ile homojenize edildi. Ham homojenat 5000xg de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar alındı. Süpernatantlar enzim analizleri ve diğer analizler için ayrı ayrı eppendorf tüplerine konularak derin dondurucuda -80 °C' de analiz gününe dek saklandı. Tüm analizler bir hafta içerisinde gerçekleştirildi.

3.7.1. MDA (TBARS) Analizi

Malondialdehit analizleri Van Ye TM ve ark.'nın [231] tarif ettiği metoda göre çalışıldı. Metodun prensibi: İki mol TBA (tiyobarbitürik asit) asidik ortamda ve 85-100 °C sıcaklıkta bir mol MDA ile birleşerek mor renkli TBA-MDA kompleksini oluşturur ve bu kompleksin verdiği absorbans 532 nm 'de spektrofotometrik olarak ölçülür.

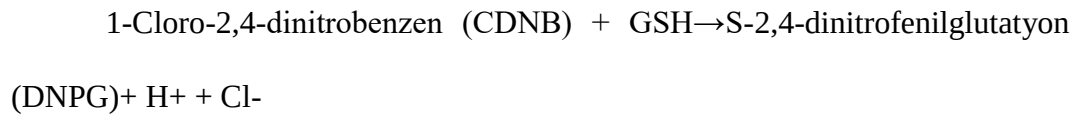


Şekil 12. TBA-MDA kompleksi oluşumu

MDA miktarı, MDA standardı olarak kullanılan 1,1,3,3-Tetraetoksi propanla çizilen standart grafiğin eğiminden yararlanılarak; Absorbans = f (Konsantrasyon) grafiğinin eğiminden de numunelerdeki MDA miktarları hesaplanarak sonuçlar nmol/mg. protein olarak verildi.

3.7.2. Glutasyon S-Transferaz tayini

GST aktivitesi tayini Habig ve ark.'nın [232] nın tarif ettiği metoda göre çalışıldı.



Bu reaksiyon sırasında oluşan DNPG bileşiği 340 nm'de absorbans artışına neden olmaktadır.

GST aktivitesi DNPG' un ϵ katsayısından yararlanılarak hesaplandı (ϵ : 10 M-1.cm-1). Sonuçlar spesifik aktivite (SA), IU/mg.protein olarak verildi.

3.7.3. CAT Aktivitesi ölçümü

Numunelerdeki CAT aktivitesi ölçümü Aebi [233] metoduna göre yapıldı. Metodun prensibi; CAT enziminin katalizlediği $H_2O_2 \rightarrow O_2 + H_2O$ reaksiyonu gereği parçalanmış H_2O_2 'nin 240 nm'deki absorbans azalması spektrofotometrik olarak 1-5 dakika boyunca takip edilir. CAT aktivitesi H_2O_2 'nin ϵ değerinden (ϵ : 0.04098 litre/mmol.cm) hesaplandı. Sonuçlar spesifik aktivite (SA), IU/mg protein olarak verildi.

3.7.4. Paraoksanaz (PON) Aktivitesi ölçümü

PON-1 enzimi aktivitesinin ölçümü Clement ve ark.'nın [234] tarif ettiği metoda göre çalışıldı. Metodun prensibi: PON, paraoksonun p-nitrofenol ve asetik asite parçalanmasını katalizlemektedir. Reaksiyon sonucunda oluşan p-nitrofenol 405 nm' de maksimum absorbans verir. Bu özellikten yararlanılarak PON aktivitesi spektrofotometrik olarak ölçüldü.

PON aktivitesi deney sonucu oluşan p-nitrofenolün ϵ katsayısından yararlanılarak hesaplandı (ϵ : 17,000 L/mol. cm). Sonuçlar spesifik aktivite (SA), IU/mg, protein olarak verildi.

Süpernatantlardaki protein miktarı Lowry metoduna göre yapıldı [235]. Metodun prensibi; alkali ortamda proteinler Cu^{2+} ile Cu^{++} -protein kompleksi oluşturarak fosfo molibdat-fosfo tungstat reaktifini (Folin-Ciocalteu-Phenol

reaktifini) indirgeyerek mavi-mor renkli ürün oluşturması esasına dayanmaktadır. Rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonuyla doğru orantılıdır.

Örneklerdeki protein miktarı protein standardı olarak BSA kullanılarak çizilen standart grafiğin eğiminden yararlanılarak hesaplandı.

3.8. İstatiksel Değerlendirme

Çalışma verileri SPSS (Statistic Program for Social and Science) istatistik programı kullanılarak analiz edildi. İstatistiksel değerlendirme SPSS 20.0 bilgisayar programında aşağıda sıralanan testler kullanılarak gerçekleştirildi ve $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. Veriler [ortalama $\pm$ standart sapma, ortanca, (%25-%75) olarak sunuldu. Ölçülebilen parametrelere Kolmogorov-Smirnov testi uygulanarak dağılımın normal ya da anormal olup olmadığı belirlendi. Normal dağılım gösteren veriler ortalama $\pm$ standart sapma, diğerleri ise ortanca, (%25-%75) olarak belirtildi. Gruplar arasında fark olup olmadığını belirlemede bağımsız gruplarda Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Farklılık olması durumunda gruplar arası Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılma yapıldı.

4. BULGULAR

Işık mikroskopisinde; GV düzeyi gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.003$). İ/R ve BA-İ/R gruplarında kontrol ve BA gruplarına göre GV daha fazla görülmüştür (K-İ/R: $p=0.0001$; BA-İ/R: $p=0.004$; K-BA-İ/R: $p=0.012$; BA-BA-İ/R: $p=0.040$), (Bkz. Tablo-5, Resim-1,8).

TD gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.001$). İ/R grubunda kontrol ve BA gruplarına göre TD daha fazla görülmüştür ($p=0.001$, $p<0.0001$, sırasıyla). Ayrıca BA-İ/R grubunda, İ/R grubuna göre TD anlamlı olarak düşük tespit edilmiştir ($p=0.006$), (Bkz. Tablo-5, Resim-1,8).

VVH gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p<0.010$). İ/R grubunda kontrol ve BA gruplarına göre VVH daha fazla görülmüştür ($p=0.003$, $p=0.003$, sırasıyla). Ayrıca BA-İ/R grubunda, İ/R grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit edilmiştir ($p=0.037$), (Bkz. Tablo-5, Resim-1,8).

THDN gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.001$). İ/R grubunda kontrol ve BA gruplarına göre THDN daha fazla görülmüştür ($p<0.0001$, $p=0.005$, sırasıyla), (Bkz. Tablo-5, Resim-1,8).

Lİ, THS, BSD ve THD gruplar arasında benzer bulunmuştur ($p=0.107$, $p=0.105$, $p=0.335$, $p=0.368$, sırasıyla), (Bkz. Tablo-5, Resim-1,8).

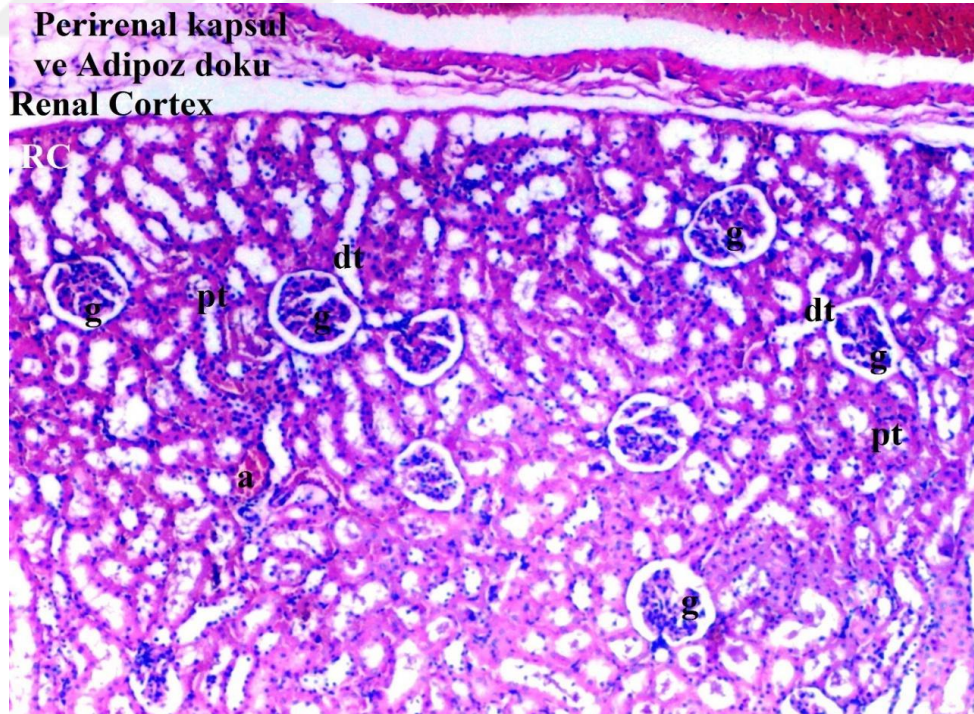
Tablo 5. Böbrek dokusu histopatolojik bulgular [Ortalama $\pm$ SH]

	Grup K (n=6)	Grup BA (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup BA-İ/R (n=6)	P**
Glomerüller vakuolizasyon (GV)	0.17 $\pm$ 0.17	0.33 $\pm$ 0.21	1.33 $\pm$ 0.21*,&	1.00 $\pm$ 0.26*,&	0.003
Tübüler dilatasyon (TD)	0.50 $\pm$ 0.22	0.33 $\pm$ 0.21	1.83 $\pm$ 0.17*,&	0.83 $\pm$ 0.31?	0.001
Vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi (VVH)	0.33 $\pm$ 0.21	0.33 $\pm$ 0.21	1.33 $\pm$ 0.21*,&	0.67 $\pm$ 0.21?	0.010
Tübüler hücre dejenerasyonu ve nekroz (THDN)	0.00 $\pm$ 0.00	0.33 $\pm$ 0.21	1.00 $\pm$ 0.00*,&	0.50 $\pm$ 0.21	0.001
Bowman aralık dilatasyonu (BSD)	0.33 $\pm$ 0.21	0.50 $\pm$ 0.22	1.00 $\pm$ 0.26	0.50 $\pm$ 0.34	0.335
Tübüler hyalin silindirler (THS)	0.33 $\pm$ 0.21	0.50 $\pm$ 0.22	1.00 $\pm$ 0.00	0.67 $\pm$ 0.21	0.105
Lenfosit infiltrasyonu (Lİ)	0.50 $\pm$ 0.22	0.50 $\pm$ 0.22	1.17 $\pm$ 0.17	0.67 $\pm$ 0.21	0.107
Tübüler hücre dökülmesi (THD)	0.33 $\pm$ 0.21	0.50 $\pm$ 0.22	0.83 $\pm$ 0.17	0.67 $\pm$ 0.21	0.368

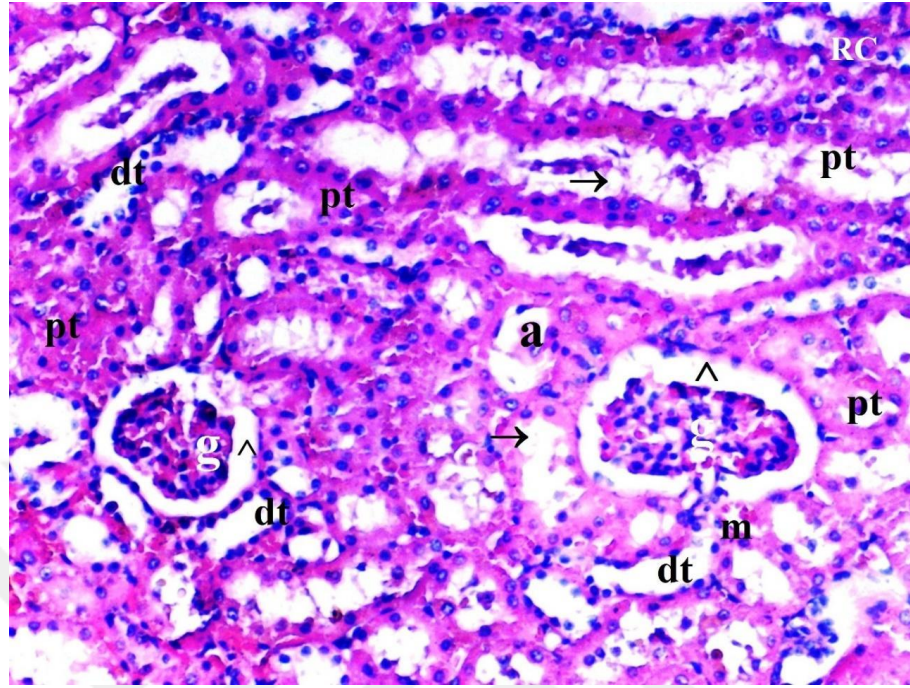
P**: Kruskal-Wallis testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup K ile karşılaştırıldığında; & $p < 0.05$: Grup BA ile karşılaştırıldığında;

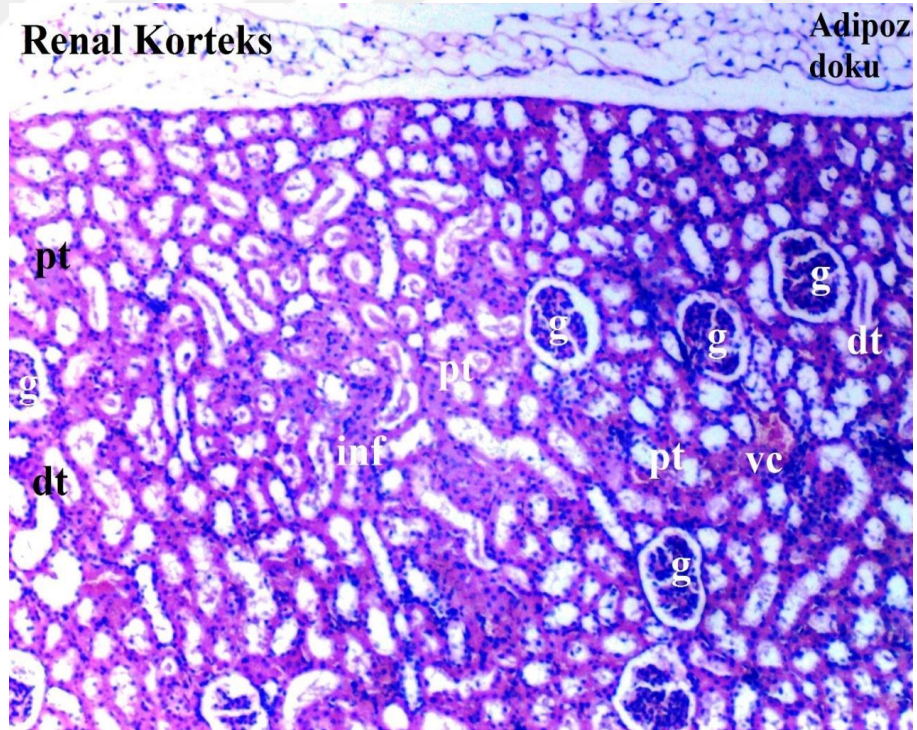
? $p < 0.05$: Grup İ/R ile karşılaştırıldığında



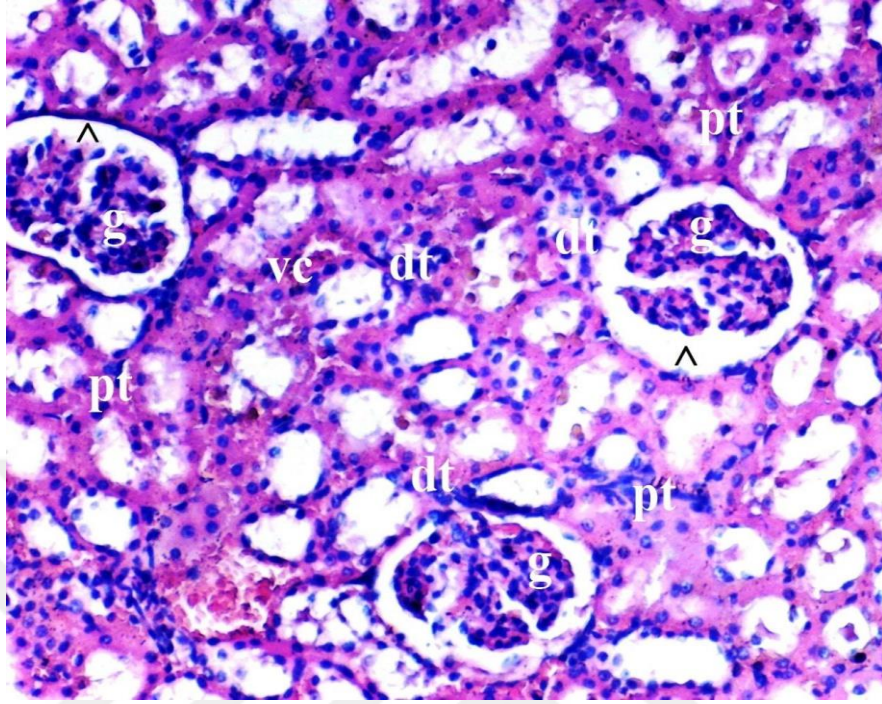
Resim 1. Kontrol grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, a: Arter) (H&E, X40)



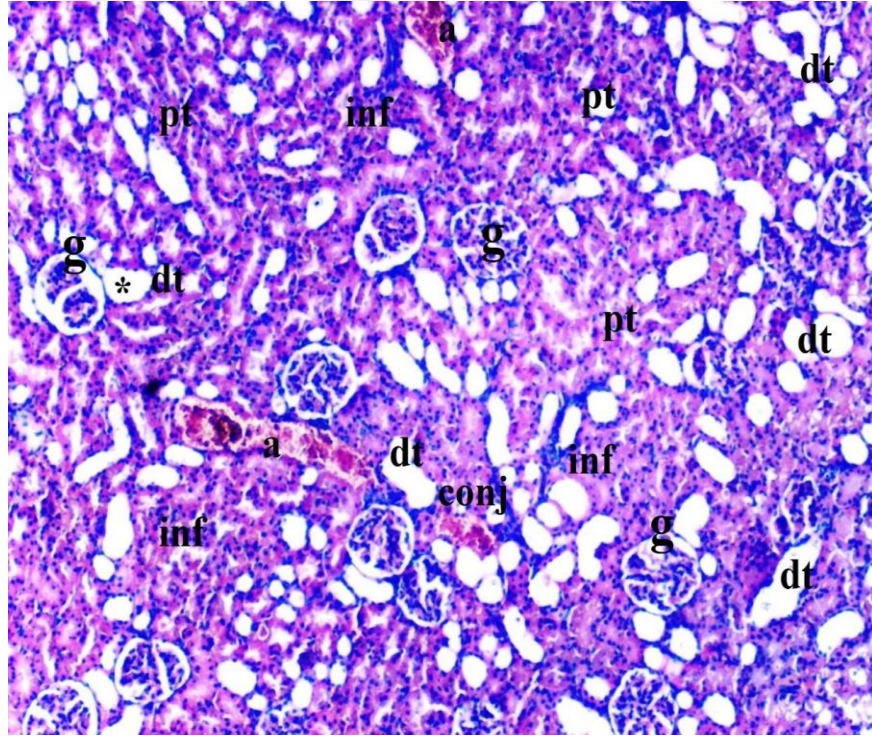
Resim 2. Kontrol grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, a:Arter, ^: Bowman aralığı, ok: Dilate tübül) (H&E, X100)



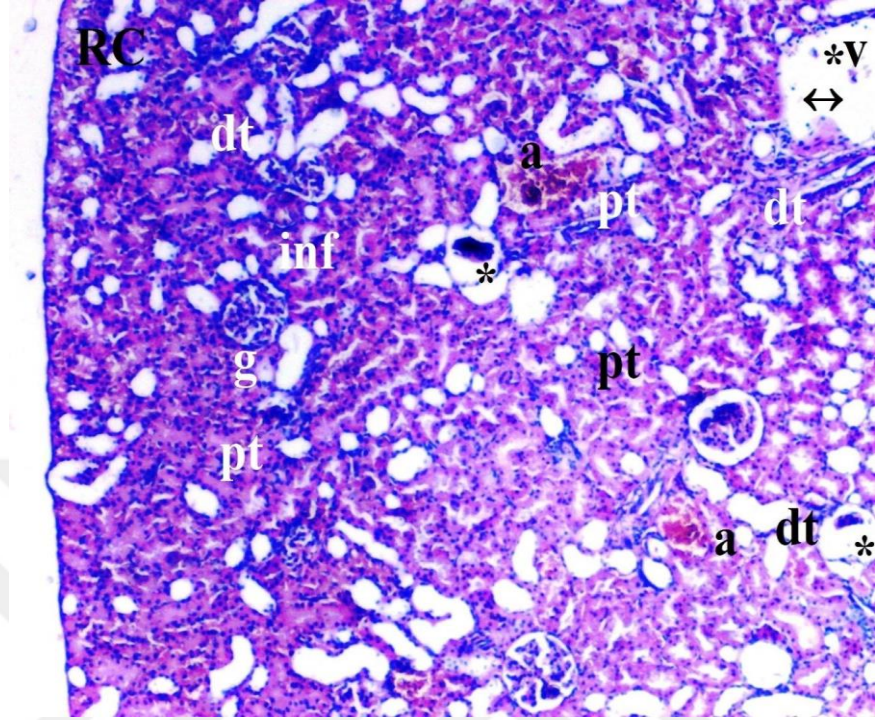
Resim 3. Borik asit grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, inf: İnflamasyon, vc: Vasküler konjesyon) (H&E, X40)



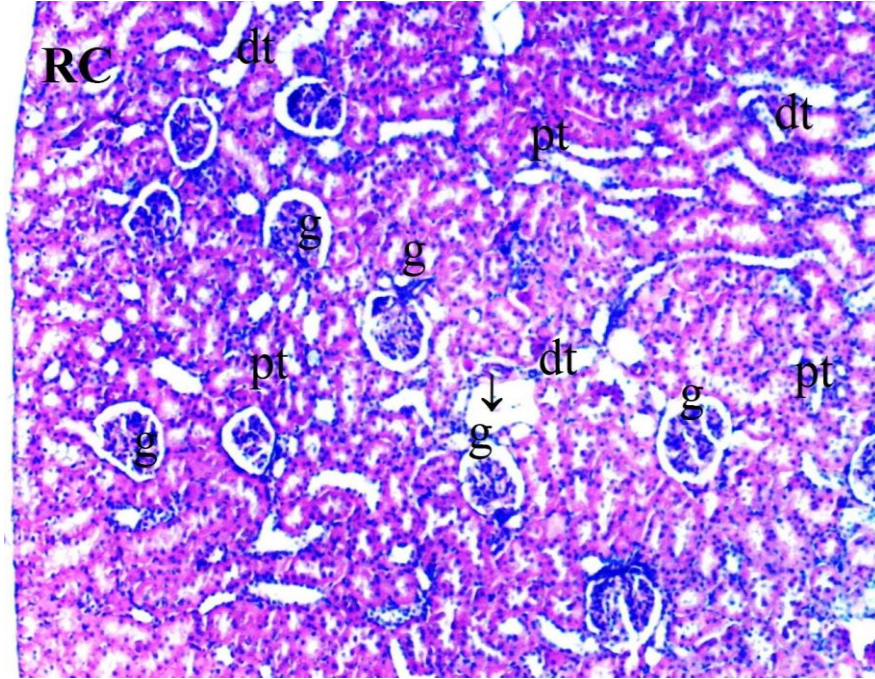
Resim 4. Borik asit grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: glomerül, ^:Bowman aralığı, vc: vasküler konjesyon) (H&E, X100)



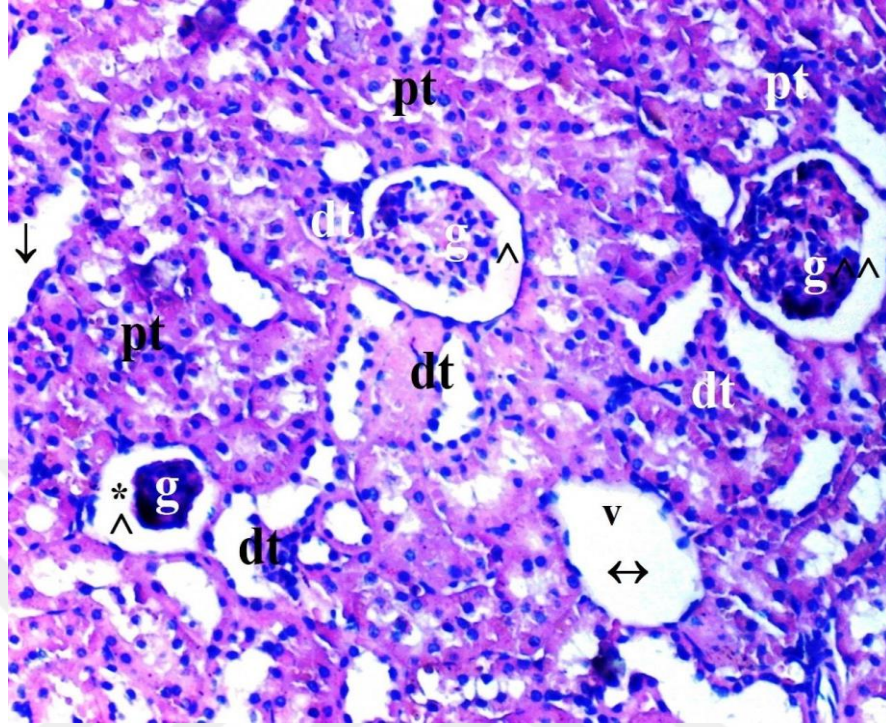
Resim 5. İskemi reperfüzyon grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, inf: İnflamasyon, a: Arter, *: Dejenere glomerül, conj: Konjesyon (H&E, X40)



Resim 6. İskemi reperfüzyon grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, inf: İnflamasyon, a: Arter, *: Dejenere glomerül, v: Vakuolizasyon) (H&E, X100)



Resim 7. Borik asit-İskemi reperfüzyon grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, ok: Dilate tübül) (H&E, X40)



Resim 8. Borik asit-İskemi reperfüzyon grubu böbrek dokusu (pt: Proksimal tübül, dt: Distal tübül, g: Glomerül, ^: Bowman aralığı, *: Dejenere glomerül, v: vakuolizasyon, ok: Dilate tübül) (H&E, X100)

Gruplar MDA düzeyi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü. MDA düzeyi İ/R grubunda kontrol ve BA gruplarına göre anlamlı yüksek olarak bulundu ($p<0.0001$, $p=0.003$, sırasıyla). Ayrıca MDA düzeyi BA-İ/R grubunda İ/R grubuna göre anlamlı düşük olarak bulundu ($p=0.006$), (Bkz. Tablo-6).

Gruplar PON enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı. PON enzim aktivitesi İ/R grubunda kontrol ve BA gruplarına göre anlamlı düşük olarak bulundu ($p<0.0001$, $p=0.004$, sırasıyla). Ayrıca, BA-İ/R grubunda İ/R grubuna göre anlamlı olarak yüksek olarak bulundu ($p=0.031$), (Bkz. Tablo-6).

Gruplar arasında GST ve CAT enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.354$, $p=0.817$, sırasıyla), (Bkz. Tablo-6).

Tablo 6. Antioksidan/Oksidan durum parametreleri [Ortalama $\pm$ SH]

	Grup K (n=6)	Grup BA (n=6)	Grup İ/R (n=6)	Grup BA-İ/R (n=6)	P**
GST(IU/ mg.protein)	1.90 $\pm$ 0.44	2.04 $\pm$ 0.08	1.45 $\pm$ 0.13	1.62 $\pm$ 0.18	0.354
CAT (IU/mg.protein)	4192. $\pm$ 276	3797 $\pm$ 558	3610 $\pm$ 432	3810. $\pm$ 438	0.817
PON (U/ mg protein)	2.74 $\pm$ 0.24	2.50 $\pm$ 0.13	1.69 $\pm$ 0.13*,&	2.25 $\pm$ 0.17?	0.003
MDA (nmol/ mg.protein)	4.78 $\pm$ 0.30	5.17 $\pm$ 0.32	7.98 $\pm$ 0.60*,&	5.90 $\pm$ 0.59?	<0.0001

P** : Kruskal-Wallis testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup K ile karşılaştırıldığında; & $p < 0.05$: Grup BA ile karşılaştırıldığında;

? $p < 0.05$: Grup İ/R ile karşılaştırıldığında

5. TARTIŞMA

Testiküler torsiyon-detorsiyon, testisin iskemi-reperfüzyon sürecidir. Cerrahi detorsiyondan sonra, serbest radikallerin aşırı üretimi ve TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin aşırı ekspresyonu meydana gelir [236]. Testis iskemi reperfüzyon yaralanmasını takiben uzak organ yaralanmasını araştıran sadece bir rapor bulunmaktadır [237]. Ancak Bozlu ve ark.'nın yapmış olduğu bu çalışmada testis İ/R hasarı sonrasında uzak organ olan böbrekte herhangi bir hasar olduğu saptanmamıştır. Bildiğimiz kadarıyla yaptığımız bu çalışma testis iskemi reperfüzyonuna bağlı böbrek hasarını gösteren ilk çalışmadır.

Testis torsiyonu sonrası etkili tedavi, iskemi-reperfüzyonun tehlikeli etkilerine karşı koruma sağlayabilir. Cerrahi onarımın yanında testis İ/R hasarını azaltmaya yönelik çeşitli terapötik ajanlar önerilmiştir. Bu kimyasallar genellikle anti-inflamatuvar, antioksidan veya SOR süpürücü özelliklere sahiptir. Bunlar fosfodiesteraz inhibitörleri (vardenafil, sildenafil [238], dipiridamol, modafinil [236]), vitaminler (C ve E Vitaminleri), selenyum, hormonlar ve hormon reseptörleri (eritropoietin [238], melatonin), çeşitli bitki özleri (luteolin, apigenin, galangin, kateşin, kersetin, rutin [149] ve ternatin), verapamil ve çeşitli anesteziik ilaçları (propofol, deksmedetomidin) içerir [153]. Ayrıca N-asetilsistein [239], α -lipok asit [240], deksametazon [241], poly (adenozin difosfat-riboz) polimeraz inhibitörleri [237] de testis İ/R hasarına karşı koruyucu ajanlar olarak araştırılmıştır.

Testis İ/R'si sadece ipsilateral testiste değil kontralateral testis dokusunda da hasar meydana getirir. Bunu açıklamak için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir; otoimmünizasyon, refleks sempatik yanıtın neden olduğu testis kan akışında azalma, detorsiyon sonrası serbest oksijen radikal oluşumu ve aşırı nitrik oksit üretimi [241]. Hacıselimoviç ve ark. [242] çalışmalarında torsiyon veya subtorsiyon sırasında hasarlı kan-testis bariyerinden sitokinlerin salındığını ve bunun karşı testiste apoptozu indüklediğini varsaymıştır. Çalışmamızda doğrudan iskemiye maruz kalmayan testiste de oluşan bu hasar mekanizmalarından yola çıkarak, testis İ/R'sinin, İ/R hasarına en duyarlı organlardan birisi olan böbrekte oluşturabileceği etkileri gözlemledik.

İskemi reperfüzyon hasarı hem lokal hem de sistemik etkilere yol açmakta olup, lokal etkileri etkilenen organda, sistemik etkileri ise ağırlıklı olarak kalp, beyin, akciğer, karaciğer ve böbrekte gözlenebilir [2, 121, 243]. Bozlu ve ark.'nın [237] yapmış olduğu hayvan çalışmasında testiküler torsiyon-detorsiyon, aynı taraftaki testislerde lipid peroksidasyon ürünlerinde, nitrik oksit içeriğinde ve miyeloperoksidaz aktivitesinde önemli bir artışa neden olduğu görülmüştür. Ancak kontralateral testislerde ve bizim çalışmamızın tersine böbreklerde ciddi bir değişim saptanmamıştır.

Serbest oksijen radikallerinin nötralize edilmesi sürecinde antioksidan aktiviteye sahip birkaç enzim yer alır; bunların arasında süperoksit dismutaz, γ -glutamiltransferaz, glutatyon, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz ve katalaz enzimleri yer alır [244].

İskemi reperfüzyon hasarının ana araçlarından biri olan SOR'daki artış hem hücre hem de organel zarlarında lipid peroksidasyonuna yol açar. Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve post-iskemik dokuda artan serbest radikal oluşumunu belirlemek için iyi bilinen bir parametredir [150]. Yapılan çalışmalarda aşırı MDA üretimi oksidatif stresin bir göstergesi olarak alzheimer hastalığı, kanser, kardiovasküler hastalıklar, diyabet, karaciğer hastalıkları ve parkinson gibi farklı patolojik durumlarla da ilişkilendirilmiştir [78]. Toksik oksijen metabolitlerindeki artışlara uygun olarak, renal MDA seviyeleri de önemli ölçüde artar, bu da İ/R'ye bağlı gelişmiş lipid peroksidasyonunun varlığını gösterir [245].

Çalışmamızda böbrek dokusunda MDA düzeyi İ/R durumu oluşturulan ratlarda artmış olarak saptandı. Ayrıca MDA düzeyinin borik asit verilen deneklerde iskemi reperfüzyon sonrasında düştüğü gözlemlendi. İskemi reperfüzyon oluşturulan ratlarda borik asit verilmesiyle birlikte lipid peroksidasyonu ve MDA düzeyindeki düşüşün literatürde yer alan benzer çalışmalardaki sonuçlarla uyumlu olduğu görüldü.

Paraoksonaz, lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, reaktif serbest radikallerin temizlenmesi, ilaçların biyoaktivasyonu, endoplazmik retikulum stresinin azaltılması ve hücre proliferasyonu/apoptozunun kontrolü dahil olmak üzere çeşitli biyokimyasal yollarda yer alır [246]. Ayrıca henüz belirlenmemiş bir mekanizma ile plazma lipoproteinlerinde oksitlenmiş fosfolipidlerin birikmesini de engeller [111].

Paraoksanaz-1 enzimi oksidatif strese karşı özellikle hassastır ve oksidatif ortamda enzim inaktivasyonu en olası senaryodur [247]. İskemi reperfüzyonda bu enzim aktivitesinin azalması, artan serbest radikal üretimine bağlı olabilir. Bu enzim, İ/R'da çekici bir biyobelirteç adaydır, dokudaki hasarlanma ile miktarı azalır. Paraoksonaz-1, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu önleyebilen yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile yakından ilişkili, kalsiyuma bağımlı bir esterazdır [2]. Serum PON1 aktivitesi ile lipid peroksidasyonu arasında ters bir ilişki olduğu gösterilmiştir [248].

Bizim çalışmamızda literatürle uyumlu olarak PON enzim aktivitesi İ/R grubunda kontrol ve BA gruplarına göre anlamlı düşük olarak bulundu. Ayrıca, BA-İ/R grubunda İ/R grubuna göre anlamlı olarak yüksek olarak bulundu.

Katalaz, aerobik hücrelerin çoğunda bulunan bir enzimdir, hidrojen peroksitin hızlı ayrışmasını katalize ederek onları oksidatif stresten korur. H₂O₂'yi oksijen ve suya detoksifiye eder. Yüksek konsantrasyonda bulunduğu H₂O₂'yi verimli bir şekilde temizler [249]. Katalaz enzimi İ/R hasarını inceleyen çalışmalarda yaygın şekilde kullanılmıştır ve hasar sırasında seviyesinin düşük olarak saptanması İ/R hasarının göstergesi olarak kullanılmaktadır.

Antioksidan glutatyon S-transferaz, elektrofilik bileşiklerin ve toksik substratların yüksek kapasiteli metabolik inaktivasyonundan sorumludur. Glutatyon S-transferaz, İ/R hasarında mitojenle aktive olan protein kinaz yollarının düzenleyicisi olarak da önemli bir rol oynar [118]. Glutatyon homeostazı esasen GST aktivitesi tarafından düzenlenir ve glutatyon redoks

durumu çeşitli biyolojik olaylar için kritiktir. Son yıllarda GST enzimi, İ/R gelişiminin önemli belirleyicilerinden birisi olarak vurgulanmaktadır. Bu enzimin inhibisyonunun, oksidatif hasar ve İ/R'nin bir sonucu olarak apoptozu arttırdığı gösterilmiştir [118].

Mevcut çalışmamızda gruplar arasında GST ve CAT enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında benzer bulundu. Her ne kadar gruplar arasında anlamlı fark bulunamamış olsa da İ/R oluşturulan grupta bu enzim aktivitelerinin azalmış olduğu ve borik asit verilen İ/R grubundaki hayvanlarda ise bu enzim seviyelerinde İ/R grubuna göre bir miktar artış olduğu göze çarpmıştır.

Litaretürde böbrek tutulumu ile seyreden uzak organ iskemi reperfüzyon hasarının gösterildiği çalışmalar mevcuttur [1-3, 250, 251]. Böbrekler özellikle iskemiye karşı hassas organlardır [252]. İ/R kaynaklı böbrek hasarına yol açan patofizyolojik mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır ve şu anda klinik böbrek İ/R hasarını önleyecek veya tersine çevirecek etkili bir tedavi yoktur. LaNoue ve ark. [3] intestinal İ/R'nin renal kan akışında derin bir azalma ile ilişkili olduğunu ve bu renal hipoperfüzyonun geçici olarak azalmış renal doku ATP seviyeleri ve böbreklerden artan Na kaybı ile kendini gösteren akut tübüler disfonksiyon ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Rothenbach ve ark. [250] splanknik İ/R'nin böbrek fonksiyonunun azalmasına katkıda bulunduğunu gösterdiler. Mutlu ve ark.'nın [251] yaptığı çalışma böbrek hasarının İ/R'yi takiben lipid peroksidasyonu yoluyla da meydana geldiğini göstermiştir.

Morfolojik bulgular, kapiller damarların endotel hücrelerinin, mitokondriyal hasar ile karakterize enerji metabolizmasının olası bozulmasının meydana geldiği erken iskemik dönemde en duyarlı hücreler olduğunu göstermektedir. Endotel fonksiyonundaki bozulma polimorfonükleer lökosit göçüne neden olabilir. Bu hasar glomerüllerin epitel hücrelerinde ve tübüler epitelde de mevcut olarak saptanmıştır. Özellikle azalmış perfüzyon, hücresel ATP'nin tükenmesi ve renal tübüler disfonksiyon, İ/R'ye bağlı akut böbrek hastalığının patofizyolojisinde erken olaylar olarak tanımlanmıştır [3]. Muhtemelen, İ/R'nin neden olduğu renal hipoperfüzyonla sonuçlanan çoklu patofizyolojik olaylar vardır. Renal perfüzyonu potansiyel olarak etkileyen dış faktörler, bozulmuş kardiyak performans ve intravasküler hacim azalması gibi sistemik hemodinamideki değişiklikleri de içerir.

Akut böbrek hasarının histopatolojik değerlendirmesinde yaygın vasküler dilatasyon, hafif interstisyel ödem, tübüler dilatasyon, tübüler hücre şişmesi, fırça sınırı ve nükleer kayıp tespit edilir [253]. Proksimal tübüler epitel hücreleri, akut böbrek hasarı patogeneğinde çok önemli bir rol oynayan akut tübüler nekroza yol açan İ/R hasarına özellikle duyarlıdır [252]. Bununla birlikte, distal tübüllerin İ/R'ye daha az duyarlı hücrelerinin koruyucu bir role sahip olabileceği, hasarlı tübüllerin yeniden epitelizasyonuna yol açabileceği ve kronik böbrek hastalığına ilerlemesini engelleyebileceği düşünülmektedir [254].

Kendi çalışmamızda ise böbrek dokusu üzerinde yapılan histopatolojik incelemelerde İ/R grubunda glomerüler vakualizasyon, tübüler dilatasyon, vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi, son olarak tübüler hücre dejenerasyonu ve

nekroz seviyeleri yüksek olarak tespit edilmiştir. Bu parametrelerin yüksekliği akut böbrek hasarında böbrekteki morfolojik değişimlerle uyumludur. Ancak incelenen parametrelerden bowman aralığı dilatasyonu, tübüler hyalin silindirler, lenfosit infiltrasyonu, tübüler hücre dökülmesi bulgularında anlamlı olarak değişme görülmemesi testis iskemi reperfüzyonundan sonra oluşabilecek olan böbrek hasarının ciddiyetini sorgulamamıza neden olmuştur. Borik asitle ön tedavi uygulanan testis torsiyon/detorsiyon grubunda ise İ/R grubuna göre tübüler dilatasyon, vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi değerlerinde anlamlı düzelme saptanmıştır. Bu sonuçlar testis iskemi reperfüzyonu sonrasında böbrek dokusunda borik asitin faydalı etkiler gösterebildiği sonucunu elde etmemizi sağlamıştır. Ayrıca anlamlı farklılık saptanmamış olsa da İ/R grubuna göre BA-İ/R grubunda GV, THDN, BSD, THS, Lİ, THD değerlerinde bir miktar azalma görülmüştür.

Renal iskemi-reperfüzyon hasarı, akut böbrek hasarının başlıca nedenidir [255]. Bir çeşit akut böbrek hasarı geçiren bir hastaların 10-15 yıl içinde kronik böbrek hastalığı geliştirme riski yüksektir. Böbrekte İ/R hasarına yol açan yaygın tıbbi durumlar arasında kardiyovasküler hastalık, inme, travma, dehidrasyon ve cerrahi prosedürler bulunur [256]. Akut böbrek fonksiyon bozukluğunun önlenmesi ve böbrek hastalığı olan bireylerde böbrek disfonksiyon boyutunun azaltılmasına yönelik çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Antioksidan tedaviler oksidatif stresi azaltmada, üremik kardiyovasküler toksisiteyi düşürmede ve sağkalımı iyileştirmede faydalı olabilir [166]. Onarımın moleküler

mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, renal İ/R hasarını takiben iyileşmeyi hızlandırmaya yönelik ipuçları sağlayabilir.

Akut böbrek hasarını erken evreleri, başlatılması ve yayılması sırasında özellikle kortikomedüller bileşke alanında klinik biyopsi verilerinin olmaması önemli bir sorundur. Bu, iskemik ABH'nın insan ve hayvan modellerini doğrudan karşılaştırma yeteneğini sınırlamıştır.

Serbest radikaller ve nitrik oksit, İ/R ile oluşturulan akut böbrek hasarının patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır [257]. Çok sayıda çalışma, çeşitli farmakolojik müdahaleler kullanarak iskemi-reperfüzyonun neden olduğu oksidan üretiminin zararlı etkilerini araştırmıştır. Oksidatif stres, böbrek hasarının ana nedenlerinden biri olarak tanımlanmıştır. Onaylanmış oksidatif stres sonuçları; renal iskemi, glomerüler lezyonlar, hücre ölüm ve apoptozun yanı sıra halihazırda mevcut olan inflamasyonun kötüleşmesidir [87]. Yüksek plazma süperoksit konsantrasyonları seviyeleri ve NO azalması böbrek fonksiyonu için zararlıdır. NO renal kan akışını artırır, basınç natriürezini artırır, tübüloglomerüler fonksiyonu düzenler ve elektrolit homeostazını korur [91]. Nitrik oksit tipik olarak Na^+ ve sıvı geri emilimini destekler, bu nedenle ya eNOS ayrışması ya da süperoksit ile NO reaksiyonu nedeniyle NO mevcudiyetinin azalması, proksimal tübülde Na^+ yeniden emiliminin azalmasına neden olur [165]. Bununla birlikte, mikrovasküler değişikliklerin önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Nötrofiller ise iskemik alana göç ettiklerinde, tümü doku hasarına dahil olan SOR, proteazlar, elastaz, myeloperoksidaz, sitokinler ve çeşitli diğer araçları serbest bırakırlar [258].

Özellikle dış medüller bölgenin peritübüler kılcal damarlarında (vasa recta) böbrek mikrosirkülasyonunun tıkanması, böbrek perfüzyonundaki azalmalara katkıda bulunur [185]. Hayvan iskemik ABH modellerinde renal vazokonstriksiyon ve renal vazodilatasyon araçları arasındaki bir dengesizliğin rol oynadığı öne sürülmüştür. Bunu desteklemek için, hayvan modellerinde endojen vazokonstriktörlere karşı antagonistlerin renal iskemik hasarı iyileştirdiği gösterilmiştir [259]. Çeşitli vazoreaktif araçların iskemik hasarı takiben renal vasküler tonusu kontrol etmede oynayabileceği düşünülmektedir.

İskemi reperfüzyon hasarının sonuçlarıyla mücadele etmek için araştırmacılar, serbest radikal süpürücülerin ve antioksidanların sağlıklı etkilerinden yararlanmaya odaklandılar. İnflamatuar yanıtı modüle eden stratejiler, iskemik ABH'da önemli faydalı etkiler sağlayabilir. Reaktif oksijen molekülü temizleyicilerinin (örn. süperoksit dismutaz, katalaz, N-asetilsistein) hayvanlarda iskemik ABH'ye karşı koruma sağladığı tespit edilmiştir. Bu hipoksik ve inflammatuar kaskadın amplifikasyonunu kesintiye uğratmanın önemli terapötik etkileri vardır. Mannitol ayrıca güçlü bir oksijen serbest radikal temizleyicisidir ve bu nedenle böbrekleri koruyabilir ve oksijen paradoksunu antagonize ederek reperfüzyonun neden olduğu hasarı azaltabilir [260, 261]. Hayatta kalan renal tübül hücreleri, iskemik ABH'den sonra kayda değer bir yenilenme ve çoğalma yeteneğine sahiptir [256]. Bu da hastalara uygulanacak olan renal iyileşmeyi sağlama potansiyeli olan ilaçları klinik kullanıma sunmak için araştırmacıları daha hevesli olmaya itmektedir.

Deneysel çalışmalarda renal İ/R yaralanmalarının tedavisine yönelik çeşitli yaklaşımlar denenmiştir. Bunlar, nötrofil aktivasyonunu ve spesifik monoklonal antikorlarla infiltrasyonu bloke ederek, spesifik antikorlarla fosfolipaz A2 aktivasyonunu bloke ederek veya bir antagonist ile kalsiyumu bloke ederek ve oksijen tutucularla SOR'un etkilerinin azaltılmasını içerir [43]. Bu tür terapiler, organ nakli sırasında veya iskemi ve reperfüzyonla ilişkili diğer büyük ameliyat türleri sırasında veya kan akışının ve reperfüzyonun yeniden sağlanmasını amaçlayan bir müdahale sırasında hastalarda iskemik yaralanmadan sonra önleyici bir şekilde kullanılabilir [262].

Anti-inflamatuar ve antioksidan aktiviteye sahip doğal maddeler hem in vitro hem de in vivo olarak böbrek hasarının tedavisinde olumlu sonuçlar göstermiştir. Bu bileşiklerin birçoğunun, NF-κB'ye bağlı yolun modülasyonu yoluyla inflammatuar durumu azalttığı, sitokinlerin ve proinflammatuar enzimlerin seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir [91]. Diğer bileşikler, hem doğrudan SOR temizleme özelliklerinden dolayı, hem de moleküler yapıları veya antioksidan enzimlerin artışına aracılık etmesinden dolayı antioksidan etkiye sahiptir. (örneğin, E vitamini, C vitamini, kurkumin, resveratrol, yeşil çay ve diğer metabolitler, flavonoidler ve bitki türlerinden elde edilen polifenoller) [91]. Sonuç olarak, bu moleküllerin hiçbirisi henüz klinik uygulamaya girmemiştir. Bu nedenle, farklı anti-inflamatuarların ve antioksidanların birlikte uygulanmasını analiz eden ileriye dönük ve karşılaştırmalı çalışmalar ile uzun süreli takip gereklidir.

Bor dünya sağlık örgütüne göre insanlar için esansiyel bir besin maddesidir [263]. Hayvan hücrelerinin üremesinde ve gelişmesinde önemli rol

oynadığı için bazı gelişmiş organizmaların yaşam döngüsünün tamamlanması için gereklidir. Bor, sanayi, tarım başta olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır [264]. Bor, inflamatuvar hastalıkların insidansını ve etkisini azaltır. Düşük bor alımı beyin fonksiyonlarını, kemik sağlığını ve bağışıklığı olumsuz etkiler [265]. Bor bileşikleri, zayıf antimikrobiyal ve antifungal etkiler [189], yara iyileştirme yetenekleri [220], kanser hücresi inhibisyonu [197], nöroprotektif etkiler [13], osteoartritte iyileşme [219], antioksidatif etkiler dahil olmak üzere birçok biyolojik etki gösterir. Ağır metallerin toksik etkilerini azaltır, oksidatif stresi önler, lipid peroksidasyonunu azaltır ve mitokondriyal membranı düzenler [266]. Bordan yoksun bırakılan hem hayvanlar hem de insanlar, bitki kaynaklı gıdaların tüketilmesi kaynaklı bor alımı ile birlikte sağlık açısından olumlu etkiler sergilerler [6].

Son yıllarda borik asitin koruyucu ve antioksidan etkilere sahip olduğu gösterilmiştir [13, 14, 212, 267-269]. Bileşik, nitrik oksit üretim seviyesini azaltır ve önemli inflamatuvar ajan genlerini baskılar ve antioksidan aktiviteye sahiptir [220]. Borun kendisi bir antioksidan olmayıp ancak dokunun antioksidan savunma sistemini güçlendirdiği de bildirilmektedir [267]. İskemi reperfüzyonun kritik bir sonucu uzak organ hasarıdır. Borik asitin lokal organ hasarı üzerindeki koruyucu etkisi deneysel olarak gösterilmiş olmasına rağmen, İ/R hasarında uzak organlar üzerindeki etkileri son zamanlarda araştırılmaya başlanmıştır [14, 124]. Lokal organ hasarının BA tarafından azaltıldığı örnekler; karaciğerde [270-274], beyinde [13], böbrekte [218, 275-280], pankreasta [281] gösterilmiştir. Ancak

bildiğimiz kadarıyla şu ana kadar testis İ/R hasarı üzerine BA etkisi ile ilgili henüz bir çalışma yapılmamıştır.

Uzak organ iskemi reperfüzyonu üzerine hapılan çalışmalardan Özek ve ark.'nın [124] yaptığı çalışmaya göre, borik asitin, renal İ/R ile oluşan karaciğer hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edildi. Başka bir çalışmada renal İ/R modeli oluşturulduktan sonra pankreas üzerine borik asitin koruyucu etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır [14]. Sonuçta BA uygulamasının, pankreas fonksiyonlarını düzenleyerek İ/R hasarına karşı koruyabildiği gösterilmiştir.

Borun, bitki kaynaklı kalsiyum ile birlikte kalsiyum fruktoborat olarak insanlarda önemli inflamatuvar belirteçlerden olan CRP, plazma fibrinojen ve eritrosit sedimantasyon hızını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir [282]. Kalsiyum fruktoborat bir kalsiyum, fruktoz ve bor kompleksidir ve doğal olarak taze ve kuru meyveler, sebzeler, otlar ve şarapta bulunur. Scorei ve ark.'nın [219] çalışmasında kültür ortamında salınan IL-1 β , IL-6 ve NO'nun inhibisyonunu indüklediği gösterilmiştir. Ancak aynı çalışmada inflamasyon oluşumunda katkısı bulunan TNF- α 'nın üretiminin artmış olduğunun saptanması borun anti-inflamatuvar etkileri ile ters düşmektedir.

Sağlıklı erkek gönüllüleri içeren bir insan çalışmasında, bor verilmesinin ardından CRP ve TNF- α seviyelerinde önemli düşüşler meydana geldiği görülmüştür [283].

Türkez ve ark.'nın [212] yaptığı bir çalışmada periferik kan kültürleri çeşitli dozlarda bor bileşiklerine maruz bırakılmıştır. Sonuçta insan kan

kültürlerinde düşük dozlarda çeşitli bor bileşiklerinin (5-20 mg/L) antioksidan enzim aktivitelerini desteklemede faydalı olduğu bulunmuştur. Bu bileşiklerin SOD, CAT, GST, GSH-Px, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitelerini arttırdığı kanıtlanmıştır. Ayrıca bu bileşikler düşük dozlarda kanın MDA seviyesini arttırmamıştır. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise MDA seviyelerinin önemli ölçüde arttığı ve oksidatif stres olduğu saptanmıştır. Yüksek dozlarda bu bileşiklerin GST, GPx, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimlerinin aktiviteleri ve glutatyon seviyeleri üzerinde olumsuz etkiler göstermiş olduğu da bulunmuştur.

İnce ve ark.'nın [269] yaptığı hayvan çalışmasında diyetteki borik asit takviyesinin kandaki lipid peroksidasyonunu, MDA konsantrasyonunu ve DNA hasarını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca plazmadaki C vitamini seviyesini arttırdığı saptanmıştır. MDA konsantrasyonunun karaciğerde ve kalpte sayısal olarak azalırken, böbrekte arttığı saptanmıştır. Bu bulgu bizim çalışmamızda bulduğumuz böbrekteki MDA değerindeki iyileşme ile uyumsuz olarak görülmüştür. Çalışmada böbrekteki artmış lipid peroksidasyonunun, bor öncelikli olarak idrarla atıldığı için artan fazla enerji kullanımına bağlı olabileceği düşünülmüş. Eritrosit ve karaciğer SOD ve CAT aktiviteleri etkilenmemiş, ancak böbrekte azaldığı görülmüş. Bu çalışmadaki antioksidan enzim seviyelerinde artış olmaması, Türkez ve ark.'nın [212] yaptığı çalışmanın sonuçları ile çelişmektedir.

Böbrek İ/R hasarı oluşturulan bir hayvan deneyi modelinde, BA ile ön tedavi, İ/R grubu ile karşılaştırıldığında böbrekte SOD düzeylerini önemli ölçüde artırırken, böbrekteki GSH düzeyini etkilemediği gösterilmiş. Ayrıca, İ/R grubuna

kıyasla böbrekte BA-İ/R grubunda lipid peroksidasyonu ve TNF- α düzeylerinde azalma olduğu saptanmış [279].

Borik asitin, böbrek İ/R hasarına etkisinin incelendiği başka bir çalışmada sonuçlar, borik asitin hücredeki apoptoz ile nekrozu azalttığını, inflamasyon ve oksidatif stresi hafifleterek böbreği iskemi/reperfüzyon hasarından koruyabildiğini göstermiştir. DNA oksidasyonunu gösteren belirteçlerden biri olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin oluşumunu önleyerek oksidatif strese bağlı DNA hasarına engel olabileceğini göstermiştir [199].

Küçükkurt ve ark.'nın [274] yaptığı bir çalışmada gentamisin ile indüklenen doku hasarına karşı borik asitin koruyucu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Borik asit verilen grupta karaciğer MDA düzeylerinin düştüğü gösterilmiş. GSH, SOD ve CAT seviyelerinde ise artış gözlenmiştir. Ayrıca BA verilen gruplarda, karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve testis dokularında gentamisin grubuna kıyasla daha az histopatolojik değişim gözlenmiştir.

Kar ve ark. [218] tarafından yapılan çalışmada renal İ/R'u sonrası BA ile tedavi edilen gruplarda MDA seviyeleri, İ/R grubuna kıyasla önemli bir düşüş göstermiştir. Ek olarak, BA ile tedavi edilen gruplarda İ/R grupları ile karşılaştırıldığında SOD, CAT ve GSH seviyeleri önemli ölçüde artmış bulunmuştur. 50 mg/kg BA ve 100 mg/kg BA tedavi gruplarında TNF- α ve IL-6 seviyeleri, İ/R grubuna göre önemli ölçüde düşük saptanmış. İ/R grubu ile karşılaştırıldığında sırasıyla tübüler hasar ve dilatasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma fark edilmiş. Farklı dozlarda BA tedavileri ile renal

iskemi/reperfüzyon hasarı sonrası oksidatif stres, inflamasyon ve apoptozun azaltılabileceği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmadaki sonuçlardan CAT değerinin artması, çalışmamızdaki BA-İ/R grubundaki değerde anlamlı artış olmaması ile çelişmektedir.

Ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada sonuçlar BA'nın siklofosfamid kaynaklı nefrotoksisite, apoptoz ve oksidatif stresin neden olduğu böbrek hasarı üzerine koruyucu etkileri olduğunu göstermektedir [276]. Yine başka bir çalışmada cisplatin toksikasyonu ve nefrotoksisite geliştirilen deney hayvanlarında artan oksidatif stres, inflamasyon ve apoptozun farklı dozlarda BA tedavileri ile azaltılabileceği gösterildi [277].

Kronik etanol kullanımının neden olduğu renal tübül hasarına karşı BA ile tedavi edilen ratlarda BA'nın antioksidan görevi gördüğü gösterilmiştir. Borik asit, oksidatif hasarı azaltarak renal tübüllerini apoptoza karşı korumuştur. Ayrıca renal tübüllerde epitel hücre kaybının azaldığı, bazı bölgelerde böbrek parankiminin genel morfolojisi korunduğu ve epitel hücre döküntüsünün azaldığı saptanmıştır [280].

Yetişkinler tarafından doğal kaynaklardan alınan ortalama günlük bor alımının 1-4 mg olduğu tahmin edilmektedir [284]. Yüksek borik asit miktarları konsantrasyona bağlı olarak oksidatif stresi, apoptotik yolları ve morfolojik değişiklikleri tetikler [196]. Artan dozlarda bor bileşiklerinin ana toksik etkileri, antioksidan enzim seviyelerinin azalmasını içerir [212]. Borik asit, boraks, üleksit ve kolemanitin artan dozlarda oksidatif stres oluşturmalarına rağmen genotoksik

etki göstermediği görülmüştür [212]. Laboratuvar hayvanlarında BA'nın aşırı dozlarda üreme ve gelişme üzerine toksik etkili olduğu daha önce rapor edilmiştir [285, 286]. Aktaş ve ark. [287] tarafından borik asitin fertilite üzerine etkileri ve toksik etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, borik asitin uzun süreli alımında (4-6 hafta) farelerde testis dokusunda kontrol grubuna göre doz arttıkça MDA düzeylerinin yükseldiği, SOD enzim aktivitesinin azaldığı, GSH aktivitesinin ise oldukça düşük olduğu belirlenmiştir.

Boraksın yüksek dozlarının ratlardaki etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada verilen dozlar artırılırsa, karaciğer ve kolonda klinik belirti olmaksızın hafif inflamatuvar hücre göçü artışına sebep olabileceği gösteriştir. Bununla birlikte, tek bir dozda çok yüksek miktarda boraks verildiğinde, çok yüksek ödem, inflamatuvar hücre göçü artışı ve neovaskülarizasyon artışı gözlenmiş ve klinik olarak 6 sıçandan 2'si 5 saat içinde öldüğü görülmüş [288].

Sonuç olarak bor bileşikleri güvenle kullanılabilir, ancak yüksek dozlarda kullanıldığında oksidatif strese bağlı olarak gelişebilecek hücre hasarlarının da göz önünde bulundurulması yararlı olacaktır.

Daha önceki yapılan çalışmalarda görüldüğü üzere borik asitin uygun dozlarda kullanılması gerektiği ortaya çıktı. Farklı dozlarda borik asit uygulamalarının oksidatif stres ve antioksidan durum üzerinde farklı etkileri olduğu anlaşılmıştır. Hatta yüksek dozdaki borik asit düzeylerinin dokularda faydadan çok zarar oluşturduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre İ/R grubunda kontrol grubuna göre GV, TD, VVH, THDN değerlerindeki artışın testis torsiyon/detorsiyonu ile oluşan iskemi reperfüzyon durumunun böbrek hasarı oluşturduğu sonucuna varılabilir. Ayrıca böbrek dokusunda oksidan durum parametrelerinden MDA'daki artış ve PON düzeyindeki azalışın bu sonucu desteklediği düşünülebilir.

Elde edilen verilere göre borik asit uygulamasının iskemi reperfüzyon sonrası böbrekte artan hasarı azalttığı sonucuna ulaşılabilir. İncelenen parametrelerden TD, VVH değerlerinde düzelme, MDA seviyesinde azalış ve PON enzim aktivitesinde artış olması hipotezimizi desteklemektedir. Ancak GST ve CAT enzim aktivitelerinin anlamlı şekilde artmaması, daha önce yapılan bazı çalışmaların sonuçlarından farklı oluşu, deney koşulları veya metodolojiden kaynaklanabilen bir durum olacağı kanaatini taşımaktadır. Bu yüzden, bu tür araştırmaların daha fazla örnek sayısı ve benzer koşullarda gerçekleştirerek daha doğru ve aydınlatıcı sonuçların elde edilebileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

İskemi reperfüzyondan sonra oluşan uzak organ hasarı bilinen bir fenomendir. Çeşitli organlarda bu hasar önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Böbrek dokusunun iskemi reperfüzyon sonrasında oluşan hasara karşı en duyarlı organlardan biri olduğu da bilinmektedir. Literatürde testis iskemi reperfüzyon hasarı sonrasında böbrekte oluşan hasarı gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın sonucunda testis torsiyon-detorsiyon modeli uygulanan ratlarda böbrek hasarı oluşumunu gösterdik. Bu hasarın meydana geliş sebepleri henüz net olarak bilinmemesine karşın literatürdeki çalışmalardan esinlenerek çeşitli mekanizmalar önerilebilir. Bu mekanizmaların aydınlatılması ileride geliştirilebilecek olan potansiyel ilaçların üretilebilmesi için önemlidir. Bu sebeple daha ileri araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Geliştirilecek olan potansiyel ilaçlar etkili bir şekilde doku hasarını azaltır ve iyileşme sağlayabilir. Bu bileşiklerin İ/R dahil olmak üzere etkilerinin ayrıntılı olarak incelenmesi gerekmektedir. Ortaya çıkan sonuçlar, bor bileşiklerinin olası yan etkilerini veya tedavi protokollerindeki etkinliklerini açıklamak için önemli olabilir. Yapılan bu çalışma ile borik asitin etkilerinin saptanması ile literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Çalışmalar, İ/R hasarı ile vücutta meydana gelen olumsuz tablonun, borik asitin antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri ile nispeten giderilebileceği gerçeğini desteklemektedir. Borik asitin bu etkisinin, antioksidan kapasiteyi artırma, lipid

peroksidasyonunu azaltma, DNA hasarını inhibe etme ve sitokin salgılanmasını azaltma üzerinden oluşturduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu alandaki en büyük zorluk, bu tedavilerden bir veya daha fazlasını klinik kullanıma getirmektir. Bununla birlikte, büyük olasılıkla torsiyonun hızlı ilerlemesi ve acil cerrahi müdahale ihtiyacı nedeniyle, bugüne kadar insanlarda iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı varsayılan ajanların ve müdahalelerin etkinliğini araştıran hiçbir klinik çalışma yapılmamıştır. Testisi torsiyonun yıkıcı etkisine karşı korumak ve oluşan böbrek hasarlanmasının etkisini azalabilmek için bu yöntemleri kullanma imkânı olsa da tedavi sonrası biyopsi yapılmasının etik sorunları nedeniyle tedavinin organ histopatolojisine etkilerini değerlendirmek kolay değildir.

Çalışmamızda oksidatif stres belirteçleri, antioksidan enzim seviyeleri ve ışık mikroskopisi bulguları ile araştırma sonuçlarımıza dayanarak, borik asitin testis iskemi reperfüzyonu kaynaklı oluşan böbrek hasarını ve oksidatif stresi önemli ölçüde azalttığı sonucuna vardık.

7. KAYNAKLAR

1. Yurdakan, G., et al., The presence of oxidized low-density lipoprotein and inducible nitric oxide synthase expression in renal damage after intestinal ischemia reperfusion. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 2012. 28(1): p. 16-22.
2. Tüfek, A., et al., The protective effects of dexmedetomidine on the liver and remote organs against hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *International Journal of Surgery*, 2013. 11(1): p. 96-100.
3. LaNoue Jr, J.L., et al., The effect of intestinal reperfusion on renal function and perfusion. *Journal of Surgical Research*, 1996. 64(1): p. 19-25.
4. Wu, M.Y., et al., Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018. 46(4): p. 1650-1667.
5. Nielsen, F.H. and S.L. Meacham, Growing Evidence for Human Health Benefits of Boron. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 2011. 16(3): p. 169-180.
6. Nielsen, F.H., Update on human health effects of boron. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2014. 28(4): p. 383-387.
7. Filho, D.W., et al., Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia–reperfusion injury. *Molecular Aspects of Medicine*, 2004. 25(1): p. 199-210.
8. Park, S.W., et al., Paneth cell-derived interleukin-17A causes multiorgan dysfunction after hepatic ischemia and reperfusion injury. *Hepatology*, 2011. 53(5): p. 1662-1675.
9. Ysebaert, D.K., et al., T cells as mediators in renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int*, 2004. 66(2): p. 491-6.

10. Haimovici, H., Metabolic complications of acute arterial occlusions. The Journal of cardiovascular surgery, 1979. 20(4): p. 349-357.
11. Carden, D., et al., Neutrophil elastase promotes lung microvascular injury and proteolysis of endothelial cadherins. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 1998. 275(2): p. H385-H392.
12. Eltzschig, H.K. and T. Eckle, Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. Nature medicine, 2011. 17(11): p. 1391-1401.
13. Çolak, S., et al., The neuroprotective role of boric acid on aluminum chloride-induced neurotoxicity. Toxicology and Industrial Health, 2011. 27(8): p. 700-710.
14. ŞENTÜRK, H., et al., Renal İskemi-Reperfüzyon ile İndüklenmiş Oksidatif Stres Hasarının Pankreas Üzerine Etkisi: Doza Bağımlı Borik Asitin Rolü. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 2018. 21(6): p. 944-949.
15. A. Küçük, M.A., Deneysel İskemi Reperfüzyon Modelleri. 2021: Akademisyen Kitabevi. 51-87.
16. Siemionow, M. and E. Arslan, Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. Microsurgery: Official Journal of the International Microsurgical Society and the European Federation of Societies for Microsurgery, 2004. 24(6): p. 468-475.
17. Gutteridge, J.M. and B. Halliwell, Reoxygenation injury and antioxidant protection: a tale of two paradoxes. Archives of biochemistry and biophysics, 1990. 283(2): p. 223-226.
18. Robert J. Beaulieu, J.C.G.a.H.T.H., Ischemia-Reperfusion, in Rutherford's Vascular Surgery and Endovascular Therapy, A.N. Sidawy, MD, MPH, Editor. 2019. p. 64-71.

19. Kalogeris, T., et al., Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury, in International Review of Cell and Molecular Biology Volume 298. 2012, Elsevier. p. 229-317.
20. Carden, D.L. and D.N. Granger, Pathophysiology of ischaemia–reperfusion injury. The Journal of pathology, 2000. 190(3): p. 255-266.
21. de Groot, H. and U. Rauen, Ischemia-Reperfusion Injury: Processes in Pathogenetic Networks: A Review. Transplantation Proceedings, 2007. 39(2): p. 481-484.
22. BAYRAM, S., İntestinal İskemi ve Reperfüzyon. ODÜ Tıp Dergisi. 2(3): p. 166-171.
23. Mallick, I.H., et al., Ischemia—reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. Digestive diseases and sciences, 2004. 49(9): p. 1359-1377.
24. Collard, C.D. and S. Gelman, Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. The Journal of the American Society of Anesthesiologists, 2001. 94(6): p. 1133-1138.
25. Matalon, S., D.J. Benos, and R.M. Jackson, Biophysical and molecular properties of amiloride-inhibitable Na⁺ channels in alveolar epithelial cells. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 1996. 271(1): p. L1-L22.
26. Harrison, R., Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? Free Radical Biology and Medicine, 2002. 33(6): p. 774-797.
27. Maxwell, S.R. and G.Y. Lip, Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. International journal of cardiology, 1997. 58(2): p. 95-117.
28. Abakay, U., et al., Role of pentoxifylline and iloprost in the prevention of ischemia-reperfusion injury in an experimental model of intestine

ischemia-reperfusion in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 2018. 24(5): p. 398-404.

29. Fan-Wei, M., et al., Reconstruction of central lacteals in the murine jejunum following ischemia-reperfusion injury. *Archives of histology and cytology*, 2007. 70(2): p. 135-146.
30. Menger, M.D., D. Steiner, and K. Messmer, Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "no reflow". *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1992. 263(6): p. H1892-H1900.
31. Kerrigan, C.L. and M.A. Stotland, Ischemia reperfusion injury: a review. *Microsurgery*, 1993. 14(3): p. 165-175.
32. De Groot, H. and U. Rauen. Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review. in *Transplantation proceedings*. 2007. Elsevier.
33. Wilhelm, J., Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Universitatis Carolinae. Medica. Monographia*, 1990. 137: p. 1-53.
34. Cevirme, D., et al., Comparison between iloprost and alprostadil for protection against ischemia/reperfusion injury in a rat model. *Turkish journal of medical sciences*, 2018. 48(3): p. 661-669.
35. GÖKŞİN, İ., et al., Normovolemik hemodilüsyonun alt ekstremité iskemireperfüzyonu sonrası oluşan akciğer hasarı üzerine olan etkisi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, 2006. 14(1): p. 54-58.
36. Chen, G.Y. and G. Nuñez, Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nature Reviews Immunology*, 2010. 10(12): p. 826-837.
37. Ikhlas, M. and N.S. Atherton, Vascular Reperfusion Injury. *StatPearls [Internet]*, 2020.

38. Naito, H., et al., Therapeutic strategies for ischemia reperfusion injury in emergency medicine. *Acute Medicine & Surgery*, 2020. 7(1): p. e501.
39. Park, S.W., et al., Paneth cell-derived interleukin-17A causes multiorgan dysfunction after hepatic ischemia and reperfusion injury. *Hepatology*, 2011. 53(5): p. 1662-1675.
40. Yang, B.I.N., et al., Inflammation and caspase activation in long-term renal ischemia/reperfusion injury and immunosuppression in rats. *Kidney International*, 2005. 68(5): p. 2050-2067.
41. Halladin, N.L., Oxidative and inflammatory biomarkers of ischemia and reperfusion injuries. *Dan Med J*, 2015. 62(4): p. B5054.
42. Yildar, M., et al., Protective effect of 2-aminoethyl diphenylborinate on acute ischemia–reperfusion injury in the rat kidney. *Journal of Surgical Research*, 2014. 187(2): p. 683-689.
43. Arumugam, T.V., et al., The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *shock*, 2004. 21(5): p. 401-409.
44. Patterson, C.E. and R.A. Rhoades, Protective role of sulfhydryl reagents in oxidant lung injury. *Experimental lung research*, 1988. 14(sup1): p. 1005-1019.
45. Ogawa, S., et al., Hypoxia-induced increased permeability of endothelial monolayers occurs through lowering of cellular cAMP levels. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 1992. 262(3): p. C546-C554.
46. Hotchkiss, R.S., et al., Cell Death. *New England Journal of Medicine*, 2009. 361(16): p. 1570-1583.
47. Devarajan, P., Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2006. 17(6): p. 1503-1520.

48. Eltzschig, H.K. and P. Carmeliet, Hypoxia and inflammation. *New England Journal of Medicine*, 2011. 364(7): p. 656-665.
49. Janssen-Heininger, Y.M., M.E. Poynter, and P.A. Baeuerle, Recent advances towards understanding redox mechanisms in the activation of nuclear factor κ b. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000. 28(9): p. 1317-1327.
50. Ghosh, S. and M. Karin, Missing pieces in the NF- κ B puzzle. *cell*, 2002. 109(2): p. S81-S96.
51. Carroll, M.C. and V.M. Holers, Innate autoimmunity. *Advances in immunology*, 2005. 86: p. 137-157.
52. De Ramon, L., et al., The Costimulatory Pathways and T Regulatory Cells in Ischemia-Reperfusion Injury: A Strong Arm in the Inflammatory Response? *International journal of molecular sciences*, 2018. 19(5): p. 1283.
53. Iadecola, C. and J. Anrather, The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nat Med*, 2011. 17(7): p. 796-808.
54. Marban, E., et al., Quantification of $[Ca^{2+}]_i$ in perfused hearts. Critical evaluation of the 5F-BAPTA and nuclear magnetic resonance method as applied to the study of ischemia and reperfusion. *Circulation research*, 1990. 66(5): p. 1255-1267.
55. Kusuoka, H., et al., Excitation-contraction coupling in postischemic myocardium. Does failure of activator Ca^{2+} transients underlie stunning? *Circulation research*, 1990. 66(5): p. 1268-1276.
56. Parks, D.A. and D.N. Granger, Xanthine oxidase: biochemistry, distribution and physiology. *Acta physiologica Scandinavica. Supplementum*, 1986. 548: p. 87-99.

57. McCord, J.M., Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *New England Journal of Medicine*, 1985. 312(3): p. 159-163.
58. Roy, R., Superoxide and ischemia: conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. *Oxyradicals and their scavenger systems*, 1983. 2: p. 145-153.
59. DeWall, R.A., et al., Responses of the ischemic myocardium to allopurinol. *American heart journal*, 1971. 82(3): p. 362-370.
60. Halliwell, B., Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron chelates: Is it a mechanism for hydroxyl radical production in biochemical systems? *FEBS letters*, 1978. 92(2): p. 321-326.
61. Healing, G., et al., Intracellular iron redistribution: An important determinant of reperfusion damage to rabbit kidneys. *Biochemical pharmacology*, 1990. 39(7): p. 1239-1245.
62. WATANABE, F., T. HASHIMOTO, and K. TAGAWA, Energy-independent protection of the oxidative phosphorylation capacity of mitochondria against anoxic damage by ATP and its non-metabolizable analogs. *The Journal of Biochemistry*, 1985. 97(4): p. 1229-1234.
63. Piper, H., Energy deficiency, calcium overload or oxidative stress: possible causes of irreversible ischemic myocardial injury. *Klinische Wochenschrift*, 1989. 67(9): p. 465-476.
64. Edwards, S.W., M.B. Hallett, and A.K. Campbell, Oxygen-radical production during inflammation may be limited by oxygen concentration. *Biochemical Journal*, 1984. 217(3): p. 851-854.
65. Kirschner, R.E. and G.A. Fantini, Role of iron and oxygen-derived free radicals in ischemia-reperfusion injury. *Journal of the American College of Surgeons*, 1994. 179(1): p. 103-117.

66. Simpson, P.J., et al., Identification of a time window for therapy to reduce experimental canine myocardial injury: suppression of neutrophil activation during 72 hours of reperfusion. *Circulation research*, 1988. 63(6): p. 1070-1079.
67. Granger, D.N. and R.J. Korthuis, Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. *Annual review of physiology*, 1995. 57(1): p. 311-332.
68. Maroko, P.R., et al., Reduction by cobra venom factor of myocardial necrosis after coronary artery occlusion. *The Journal of clinical investigation*, 1978. 61(3): p. 661-670.
69. Lum, H., et al., Reoxygenation of endothelial cells increases permeability by oxidant-dependent mechanisms. *Circulation research*, 1992. 70(5): p. 991-998.
70. Forman, M.B., D.W. Puett, and R. Virmani, Endothelial and myocardial injury during ischemia and reperfusion: pathogenesis and therapeutic implications. *Journal of the American College of Cardiology*, 1989. 13(2): p. 450-459.
71. Arroyo, C., et al., Endothelial Cells as A Source of Oxygen-Free Radicals An Esr Study. *Free radical research communications*, 1990. 9(3-6): p. 287-296.
72. Mak, I.T., P. Boehme, and W.B. Weglicki, Antioxidant effects of calcium channel blockers against free radical injury in endothelial cells. Correlation of protection with preservation of glutathione levels. *Circulation research*, 1992. 70(6): p. 1099-1103.
73. Engler, R.L., et al., Role of leukocytes in response to acute myocardial ischemia and reflow in dogs. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1986. 251(2): p. H314-H323.
74. Gute, D.C., et al., Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. *Mol Cell Biochem*, 1998. 179(1-2): p. 169-87.

75. Basu, D. and M. Karmazyn, Injury to rat hearts produced by an exogenous free radical generating system. Study into the role of arachidonic acid and eicosanoids. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1987. 242(2): p. 673-685.
76. Young, I. and J. Woodside, Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 2001. 54(3): p. 176-186.
77. Ayala, A., M.F. Muñoz, and S. Argüelles, Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014. 2014.
78. ASLANKOÇ, R., et al., Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2019. 26(3): p. 362-369.
79. Ferrari, R., et al., Oxygen free radical-mediated heart injury in animal models and during bypass surgery in humans. Effects of alpha-tocopherol. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1989. 570: p. 237-253.
80. Aceto, A., et al., Effect of ischaemia-reperfusion on glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione transferase activities in human heart protected by hypothermic cardioplegia. *Free radical research communications*, 1990. 8(2): p. 85-91.
81. Recknagel, R.O. and E.A. Glende Jr, [40] Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. *Methods in enzymology*, 1984. 105: p. 331-337.
82. Yagi, K., [39] Assay for blood plasma or serum. *Methods in enzymology*, 1984. 105: p. 328-331.
83. Zweier, J.L. and M.A.H. Talukder, The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovascular Research*, 2006. 70(2): p. 181-190.

84. Poljsak, B., D. Šuput, and I. Milisav, Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013. 2013.
85. Sies, H. and E. Cadenas, Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 1985. 311(1152): p. 617-631.
86. Valko, M., et al., Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2007. 39(1): p. 44-84.
87. Pisoschi, A.M., et al., Oxidative stress mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2021. 209: p. 112891.
88. Park, J.L. and B.R. Lucchesi, Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *The Annals of thoracic surgery*, 1999. 68(5): p. 1905-1912.
89. Pompermayer, K., et al., The ATP-sensitive potassium channel blocker glibenclamide prevents renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Kidney International*, 2005. 67(5): p. 1785-1796.
90. Prasad, A., et al., Reactive oxygen species as a response to wounding: In vivo imaging in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in plant science*, 2020. 10: p. 1660.
91. Rapa, S.F., et al., Inflammation and Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease—Potential Therapeutic Role of Minerals, Vitamins and Plant-Derived Metabolites. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020. 21(1): p. 263.
92. Gutierrez, J., et al., Free radicals, mitochondria, and oxidized lipids: the emerging role in signal transduction in vascular cells. *Circulation research*, 2006. 99(9): p. 924-932.

93. Honda, H.M., P. Korge, and J.N. Weiss, Mitochondria and ischemia/reperfusion injury. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2005. 1047(1): p. 248-258.
94. Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge, Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation An update. *FEBS Letters*, 1992. 307(1): p. 108-112.
95. Xia, Y., G. Khatchikian, and J.L. Zweier, Adenosine Deaminase Inhibition Prevents Free Radical-mediated Injury in the Postischemic Heart (*). *Journal of Biological Chemistry*, 1996. 271(17): p. 10096-10102.
96. Valko, M., et al., Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular biochemistry*, 2004. 266(1): p. 37-56.
97. Matsushima, S., H. Tsutsui, and J. Sadoshima, Physiological and pathological functions of NADPH oxidases during myocardial ischemia–reperfusion. *Trends in cardiovascular medicine*, 2014. 24(5): p. 202-205.
98. Miao, L. and D.K.S. Clair, Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 2009. 47(4): p. 344-356.
99. Mansour, M.A., et al., Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by cisplatin in normal rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2002. 132(2): p. 123-128.
100. Chatterjee, P.K., et al., Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney international*, 2002. 61(3): p. 862-871.
101. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*. 1985, Pergamon.

102. Halliwell, B. How to characterize an antioxidant: an update. in Biochemical Society Symposium. 1995.
103. Atanasiu, R.L., et al., Direct evidence of caeruloplasmin antioxidant properties. Molecular and cellular biochemistry, 1998. 189(1): p. 127-135.
104. Abu-Amara, M., et al., Liver ischemia/reperfusion injury: processes in inflammatory networks—a review. Liver Transplantation, 2010. 16(9): p. 1016-1032.
105. Wijnberger, L.D., et al., Early neonatal antioxidant capacity after preexisting impaired placental function. Early human development, 2003. 71(2): p. 111-116.
106. Radi, R., et al., Detection of catalase in rat heart mitochondria. Journal of Biological Chemistry, 1991. 266(32): p. 22028-22034.
107. Esworthy, R.S., Y.-S. Ho, and F.-F. Chu, TheGpx1Gene encodes mitochondrial glutathione peroxidase in the mouse liver. Archives of biochemistry and biophysics, 1997. 340(1): p. 59-63.
108. Holben, D.H. and A.M. Smith, The Diverse Role of Selenium within Selenoproteins: A Review. Journal of the American Dietetic Association, 1999. 99(7): p. 836-843.
109. Gibson, D.D., J. Hawrylko, and P.B. McCay, GSH-dependent inhibition of lipid peroxidation: properties of a potent cytosolic system which protects cell membranes. Lipids, 1985. 20(10): p. 704-711.
110. Berkholz, D.S., et al., Catalytic cycle of human glutathione reductase near 1 Å resolution. Journal of molecular biology, 2008. 382(2): p. 371-384.
111. Ahmed, Z., et al., Multiple substrates for paraoxonase-1 during oxidation of phosphatidylcholine by peroxynitrite. Biochemical and biophysical research communications, 2002. 290(1): p. 391-396.

112. Jarvik, G.P., et al., Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2002. 22(8): p. 1329-1333.
113. Li, H.-L., D.-P. Liu, and C.-C. Liang, Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. *Journal of molecular medicine*, 2003. 81(12): p. 766-779.
114. Ruiz-Ojeda, F.J., et al., Chapter 1 - Oxidative Stress and Inflammation in Obesity and Metabolic Syndrome, in *Obesity*, A.M. del Moral and C.M. Aguilera García, Editors. 2018, Academic Press. p. 1-15.
115. Topsakal, C., et al., Effects of prostaglandin E1, melatonin, and oxytetracycline on lipid peroxidation, antioxidant defense system, paraoxonase (PON1) activities, and homocysteine levels in an animal model of spinal cord injury. *Spine*, 2003. 28(15): p. 1643-1652.
116. Yin, Z., et al., Glutathione S-transferase p elicits protection against H₂O₂-induced cell death via coordinated regulation of stress kinases. *Cancer Res*, 2000. 60(15): p. 4053-7.
117. Hayes, J.D. and L.I. McLellan, Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radical Research*, 1999. 31(4): p. 273-300.
118. Röth, E., et al., Effect of a glutathione S-transferase inhibitor on oxidative stress and ischemia-reperfusion-induced apoptotic signalling of cultured cardiomyocytes. *Experimental and clinical cardiology*, 2011. 16(3): p. 92-96.
119. Tew, K.D. and Z.e. Ronai, GST function in drug and stress response. *Drug Resistance Updates*, 1999. 2(3): p. 143-147.
120. Petrone, W.F., et al., Free radicals and inflammation: superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma.

Proceedings of the National Academy of Sciences, 1980. 77(2): p. 1159-1163.

121. Haimovici, H., Metabolic complications of acute arterial occlusions and skeletal muscle ischemia: myonephropatic metabolic syndrome. Haimovici's Vascular Surgery Principal and Techniques, 1996.
122. Blaisdell, F.W., The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. Cardiovascular surgery, 2002. 10(6): p. 620-630.
123. Tassiopoulos, A.K., et al., Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by ischemia/reperfusion of the lower extremities. Journal of vascular surgery, 1997. 26(4): p. 647-656.
124. Ozek, N.S., B.K. Yardımcı, and S. Yildirim, Hepatoprotective Role of Boric Acid Supplementation on Liver Injury Induced by Renal Ischemia-Reperfusion. ISASE2018, 2018: p. 26.
125. Balk, R.A., Pathogenesis and management of multiple organ dysfunction or failure in severe sepsis and septic shock. Critical care clinics, 2000. 16(2): p. 337-352.
126. Zafer, T., B. KABAY, and A. ÖZDEN, İskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojisi. Pamukkale Tıp Dergisi, 2008(1): p. 65-72.
127. Xiao, F., et al., Lung neutrophil retention and injury after intestinal ischemia/reperfusion. Microcirculation, 1997. 4(3): p. 359-367.
128. Xiao, F., et al., Complement-mediated lung injury and neutrophil retention after intestinal ischemia-reperfusion. Journal of Applied Physiology, 1997. 82(5): p. 1459-1465.
129. Witthaut, R., et al., Complement and tumor necrosis factor- α contribute to Mac-1 (CD11b/CD18) up-regulation and systemic neutrophil activation

during endotoxemia in vivo. *Journal of leukocyte biology*, 1994. 55(1): p. 105-111.

130. Souza, D.G., et al., Role of tachykinin NK receptors on the local and remote injuries following ischaemia and reperfusion of the superior mesenteric artery in the rat. *Br J Pharmacol*, 2002. 135(2): p. 303-12.
131. Zingarelli, B., et al., Platelet activating factor interaction with tumor necrosis factor and myocardial depressant factor in splanchnic artery occlusion shock. *European journal of pharmacology*, 1992. 222(1): p. 13-19.
132. Korthuis, R.J., et al., Cellular mechanisms of acute versus delayed preconditioning. *Pathophysiology*, 1998. 5(1): p. 35-48.
133. Gute, D.C., et al., *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1998. 179(1/2): p. 169-187.
134. Rezende-Neto, J.B., et al., Systemic inflammatory response secondary to abdominal compartment syndrome: Stage for multiple organ failure. *Journal of Trauma - Injury, Infection and Critical Care*, 2002. 53(6): p. 1121-1128.
135. Romanenko, V.G., P.F. Davies, and I. Levitan, Dual effect of fluid shear stress on volume-regulated anion current in bovine aortic endothelial cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2002. 282(4): p. C708-C718.
136. Nielsen, V.G., et al., Gastric intramucosal pH and multiple organ injury: impact of ischemia-reperfusion and xanthine oxidase. *Critical care medicine*, 1996. 24(8): p. 1339-1344.
137. Weinbroum, A., et al., Liver ischemia-reperfusion increases pulmonary permeability in rat: role of circulating xanthine oxidase. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 1995. 268(6): p. G988-G996.

138. Liu, P., et al., Role of nitric oxide in hepatic ischemia-reperfusion with endotoxemia. *Journal of inflammation*, 1995. 46(3): p. 144-154.
139. Niu, X., C.W. Smith, and P. Kubes, Intracellular oxidative stress induced by nitric oxide synthesis inhibition increases endothelial cell adhesion to neutrophils. *Circulation research*, 1994. 74(6): p. 1133-1140.
140. Prader, A., Testicular size: assessment and clinical importance. *Triangle*, 1966. 7: p. 240-243.
141. Standring, S., *Gray's anatomy e-book: the anatomical basis of clinical practice*. 2020: Elsevier Health Sciences.
142. Paulsen, F. and J. Waschke, *Sobotta Atlas of Human Anatomy, Vol. 3, English: Head, Neck and Neuroanatomy*. 2013: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH.
143. Lara, N.L., et al., Testis physiology—overview and histology. *Encyclopedia of Reproduction*; Skinner, MK, Ed.; Academic Press: New York, NY, USA, 2018: p. 105-116.
144. Weinbauer, G.F., et al., Physiology of testicular function, in *Andrology*. 2010, Springer. p. 11-59.
145. Akgür, F.M., K. Kiliç, and T. Aktuğ, Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urological research*, 1993. 21(6): p. 395-399.
146. Heyns, C. and A. Visser, Testicular torsion, in *Andrology for the Clinician*. 2006, Springer. p. 134-161.
147. Ringdahl, E.N. and L. Teague, Testicular torsion. *American family physician*, 2006. 74(10): p. 1739-1743.
148. Mäkelä, E.P., R.P. Roine, and S. Taskinen, Paternity, erectile function, and health-related quality of life in patients operated for pediatric testicular torsion. *Journal of pediatric urology*, 2020. 16(1): p. 44. e1-44. e4.

149. Wei, S.-M., Z.-Z. Yan, and J. Zhou, Protective effect of rutin on testicular ischemia-reperfusion injury. *Journal of Pediatric Surgery*, 2011. 46(7): p. 1419-1424.
150. Turner, T., et al., Acute testicular ischemia results in germ cell-specific apoptosis in the rat. *Biology of reproduction*, 1997. 57(6): p. 1267-1274.
151. Lysiak, J.J., et al., Ischemia-reperfusion of the murine testis stimulates the expression of proinflammatory cytokines and activation of c-jun N-terminal kinase in a pathway to E-selectin expression. *Biology of reproduction*, 2003. 69(1): p. 202-210.
152. Cutr n, J.C., et al., In situ determination by surface chemiluminescence of temporal relationships between evolving warm ischemia-reperfusion injury in rat liver and phagocyte activation and recruitment. *Hepatology*, 2000. 31(3): p. 622-632.
153. Karaguzel, E., M. Kadihasanoglu, and O. Kutlu, Mechanisms of testicular torsion and potential protective agents. *Nature Reviews Urology*, 2014. 11(7): p. 391-399.
154. Moore, K.a.A.A., *Temel klinik anatomi*. 2006. 165-168.
155. Chung, K.W. and H.M. Chung, *Gross anatomy*. 2008: Lippincott Williams & Wilkins.
156. Standring, S., S. Wiseman, and P. Brennan, *Gray's surgical anatomy*. 2019: Elsevier.
157. K yl , H., *Klinik Anlatımlı Tıbbi Fizyoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri, 2014: p. 283-285.
158. Netter, F.H., MD, *Atlas of Human Anatomy, Seventh Edition*. 275-366.
159. Verlander, J.W. and W.L. Clapp, *Anatomy of the Kidney*, in Brenner and Rector's *The Kidney*, A.S.L.M.B.B. Yu, et al., Editors. 2020. p. 38-79.e12.
160. E refo lu, M., *Genel Histoloji*. Medipres yayıncılık.

161. Aydın, M.E., Streptozosin ile diyabet oluşturulan ratlarda alt ekstremitte iskemi/reperfüzyon hasarında sevofluran ve desfluranın böbrek üzerine etkileri.
162. Eaton, D.C. and J.P. Pooler, Vander's renal physiology. 2009: Mc Graw Hil Medically.
163. Zuk, A. and J.V. Bonventre, Acute Kidney Injury. Annual Review of Medicine, 2016. 67(1): p. 293-307.
164. Thadhani, R., M. Pascual, and J.V. Bonventre, Acute renal failure. New England Journal of Medicine, 1996. 334(22): p. 1448-1460.
165. Brian B. Ratliff, W.A., Oxidant Mechanisms in Renal Injury and Disease. Antioxidants & Redox Signaling, 2016. 25(3): p. 119-146.
166. Modaresi, A., M. Nafar, and Z. Sahraei, Oxidative stress in chronic kidney disease. Iranian journal of kidney diseases, 2015. 9(3): p. 165.
167. Welch, W.J., et al., Nephron pO₂ and renal oxygen usage in the hypertensive rat kidney. Kidney international, 2001. 59(1): p. 230-237.
168. Li, J.-M. and A.M. Shah, Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular pathophysiology. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2004. 287(5): p. R1014-R1030.
169. Kwan, T., H. Wu, and S.J. Chadban, Macrophages in renal transplantation: roles and therapeutic implications. Cellular Immunology, 2014. 291(1-2): p. 58-64.
170. Chalasani, G., et al., The allograft defines the type of rejection (acute versus chronic) in the face of an established effector immune response. The journal of Immunology, 2004. 172(12): p. 7813-7820.
171. Rosen, H., J.R. Crowley, and J.W. Heinecke, Human neutrophils use the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride system to chlorinate but not

nitrate bacterial proteins during phagocytosis. *Journal of Biological Chemistry*, 2002. 277(34): p. 30463-30468.

172. Higgins, D.F., et al., Hypoxia promotes fibrogenesis in vivo via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. *The Journal of clinical investigation*, 2007. 117(12): p. 3810-3820.
173. Bhaskaran, M., et al., Angiotensin II induces apoptosis in renal proximal tubular cells. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 2003. 284(5): p. F955-F965.
174. Bonventre, J.V. and L. Yang, Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *The Journal of clinical investigation*, 2011. 121(11): p. 4210-4221.
175. Walker, H.K., W.D. Hall, and J.W. Hurst, *Clinical methods: the history, physical, and laboratory examinations*. 1990.
176. Lieberthal, W. and S.K. Nigam, Acute renal failure. I. Relative importance of proximal vs. distal tubular injury. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 1998. 275(5): p. F623-F632.
177. Kumar, S., Cellular and molecular pathways of renal repair after acute kidney injury. *Kidney International*, 2018. 93(1): p. 27-40.
178. Lee, S.-o., et al., Renal Protective Effect of Beluga Lentil Pretreatment for Ischemia-Reperfusion Injury. *BioMed Research International*, 2021. 2021.
179. Huang, C., Z. Zhang, and F. Qiu, Effects of 2-APB on store-operated Ca²⁺ channel currents of hepatocytes after hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Journal of Huazhong University of Science and Technology. Medical sciences = Hua zhong ke ji da xue xue bao. Yi xue Ying De wen ban = Huazhong keji daxue xuebao. Yixue Yingdewen ban*, 2005. 25(1): p. 39-41.

180. Racusen, L., The morphologic basis of acute renal failure. *Acute Renal Failure*, 2001: p. 1-12.
181. Safirstein, R.L., Acute renal failure: From renal physiology to the renal transcriptome. *Kidney International*, 2004. 66: p. S62-S66.
182. Bonventre, J.V. and A. Zuk, Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? *Kidney international*, 2004. 66(2): p. 480-485.
183. Devarajan, P., Cellular and molecular derangements in acute tubular necrosis. *Current opinion in pediatrics*, 2005. 17(2): p. 193-199.
184. Singbartl, K. and K. Ley, Leukocyte recruitment and acute renal failure. *Journal of molecular medicine*, 2004. 82(2): p. 91-101.
185. Molitoris, B.A., Actin cytoskeleton in ischemic acute renal failure. *Kidney international*, 2004. 66(2): p. 871-883.
186. Goligorsky, M.S., Whispers and shouts in the pathogenesis of acute renal ischaemia. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2005. 20(2): p. 261-266.
187. Schrier, R.W., et al., Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. *The Journal of clinical investigation*, 2004. 114(1): p. 5-14.
188. Kwon, O., et al., Backleak, tight junctions, and cell-cell adhesion in postischemic injury to the renal allograft. *The Journal of clinical investigation*, 1998. 101(10): p. 2054-2064.
189. Sayin, Z., U.S. Ucan, and A. Sakmanoglu, Antibacterial and Antibiofilm Effects of Boron on Different Bacteria. *Biological Trace Element Research*, 2016. 173(1): p. 241-246.
190. Scorei, R., Is Boron a Prebiotic Element? A Mini-review of the Essentiality of Boron for the Appearance of Life on Earth. *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 2012. 42(1): p. 3-17.

191. Rainey, C. and L. Nyquist, Multicountry estimation of dietary boron intake. *Biological Trace Element Research*, 1998. 66(1): p. 79-86.
192. Cui, Y., et al., Dietary boron intake and prostate cancer risk. *Oncology reports*, 2004. 11(4): p. 887-892.
193. Moseman, R.F., Chemical disposition of boron in animals and humans. *Environmental health perspectives*, 1994. 102(suppl 7): p. 113-117.
194. Price, C.J., et al., Blood boron concentrations in pregnant rats fed boric acid throughout gestation. *Reproductive Toxicology*, 1997. 11(6): p. 833-842.
195. Gündoğmuş, M., Farklı bor bileşiklerinin dozimetrik özelliklerinin belirlenmesi ve retrospektif dozimetri alanında kullanımının incelenmesi. 2015, Nükleer Bilimler Enstitüsü.
196. Barranco, W.T. and C.D. Eckhert, Cellular changes in boric acid-treated DU-145 prostate cancer cells. *British Journal of Cancer*, 2006. 94(6): p. 884-890.
197. Henderson, K., et al., Receptor activated Ca^{2+} release is inhibited by boric acid in prostate cancer cells. *PloS one*, 2009. 4(6): p. e6009.
198. Baker, S.J., et al., Therapeutic potential of boron-containing compounds. *Future Medicinal Chemistry*, 2009. 1(7): p. 1275-1288.
199. Çakmak, Ö., Sıçan böbreğinde iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine borik asitin etkileri, in *Fen Bilimleri Enstitüsü*. 2020, Atatürk Üniversitesi.
200. Gallardo-Williams, M.T., et al., Effects of boric acid supplementation on bone histomorphometry, metabolism, and biomechanical properties in aged female F-344 rats. *Biological Trace Element Research*, 2003. 93(1): p. 155-169.

201. Hakki, S.S., B.S. Bozkurt, and E.E. Hakki, Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2010. 24(4): p. 243-250.
202. Barranco, W.T. and C.D. Eckhert, Boric acid inhibits human prostate cancer cell proliferation. *Cancer Letters*, 2004. 216(1): p. 21-29.
203. Bortezomib. 30/01/2022]; Available from: <https://www.drugs.com/monograph/bortezomib.html>.
204. Chen, X., et al., Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. *Nature*, 2002. 415(6871): p. 545-549.
205. Adriztina, I., L.I. Adenin, and Y.M. Lubis, Efficacy of Boric Acid as a Treatment of Choice for Chronic Suppurative Otitis Media and Its Ototoxicity. *Korean journal of family medicine*, 2018. 39(1): p. 2-9.
206. Kabu, M., et al., The role of boron in animal health. *Journal of Elementology*, 2015. 20(2).
207. Eckhert, C.D., Boron stimulates embryonic trout growth. *The Journal of nutrition*, 1998. 128(12): p. 2488-2493.
208. Rowe, R.I. and C.D. Eckhert, Boron is required for zebrafish embryogenesis. *Journal of experimental biology*, 1999. 202(12): p. 1649-1654.
209. Ralston, N.V. and C.D. Hunt, Diadenosine phosphates and S-adenosylmethionine: novel boron binding biomolecules detected by capillary electrophoresis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2001. 1527(1-2): p. 20-30.
210. Pizzorno, L., Nothing Boring About Boron. *Integrative medicine (Encinitas, Calif.)*, 2015. 14(4): p. 35-48.

211. Nielsen, F.H., Biochemical and physiologic consequences of boron deprivation in humans. *Environ Health Perspect*, 1994. 102 Suppl 7(Suppl 7): p. 59-63.
212. Türkeç, H., et al., Effects of some boron compounds on peripheral human blood. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 2007. 62(11-12): p. 889-896.
213. Scorei, R.I. and P. Rotaru, Calcium Fructoborate—Potential Anti-inflammatory Agent. *Biological Trace Element Research*, 2011. 143(3): p. 1223-1238.
214. Cao, J., et al., Boric acid inhibits LPS-induced TNF- α formation through a thiol-dependent mechanism in THP-1 cells. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2008. 22(3): p. 189-195.
215. Nielsen, F.H., Evidence for the nutritional essentiality of boron. 1996.
216. Scorei, R.I., et al., In vitro effects of calcium fructoborate upon production of inflammatory mediators by LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Biological trace element research*, 2010. 135(1): p. 334-344.
217. Hunt, C.D., Regulation of enzymatic activity. *Biological trace element research*, 1998. 66(1): p. 205-225.
218. Kar, F., et al., The Role of Oxidative Stress, Renal Inflammation, and Apoptosis in Post Ischemic Reperfusion Injury of Kidney Tissue: the Protective Effect of Dose-Dependent Boric Acid Administration. *Biological Trace Element Research*, 2020. 195(1): p. 150-158.
219. Scorei, R., et al., A double-blind, placebo-controlled pilot study to evaluate the effect of calcium fructoborate on systemic inflammation and dyslipidemia markers for middle-aged people with primary osteoarthritis. *Biological trace element research*, 2011. 144(1): p. 253-263.
220. Demirci, S., et al., Boron promotes streptozotocin-induced diabetic wound healing: roles in cell proliferation and migration, growth factor expression,

and inflammation. *Molecular and cellular biochemistry*, 2016. 417(1): p. 119-133.

221. Bustos Obregón, E. and R. Hartley Belmar, Ecotoxicology and testicular damage (Environmental chemical pollution). A Review. 2008.
222. Jansen, J.A., J. Andersen, and J.S. Schou, Boric acid single dose pharmacokinetics after intravenous administration to man. *Archives of toxicology*, 1984. 55(1): p. 64-67.
223. Yilmaz, M.T., Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of boron compounds against several bacterial strains. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 2012. 42(Sup. 2): p. 1423-1429.
224. Trumbo, P., et al., Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. *Journal of the American Dietetic Association*, 2001. 101(3): p. 294-301.
225. Von Burg, R. and T. Stout, Toxicology update. *Journal of Applied Toxicology*, 1992. 12(2): p. 153-156.
226. Devirian, T.A. and S.L. Volpe, The physiological effects of dietary boron. 2003.
227. Wiley, H.W., Influence of food preservatives and artificial colors on digestion and health. I. Boric acid and borax. 1904.
228. CLH Report For Boric Acid. 2008 15.02.2022]; Available from: https://echa.europa.eu/documents/10162/23665416/clh_rep_boric_acid_55_21_en.pdf/ee39f026-9d2d-28f7-5d90-63a424112162.
229. Harvey, S.C., Antiseptics and disinfectants; fungicides; ectoparasiticides. Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics, 1980. 6: p. 964-987.
230. Junqueira, L.C., et al, Histologie. Vol. 7. 2005. Springer Heidelberg, S.

231. Van Ye, T.M., et al., Inhibition of intestinal lipid peroxidation does not minimize morphologic damage. *Journal of Surgical Research*, 1993. 55(5): p. 553-558.
232. Habig, W.H., M.J. Pabst, and W.B. Jakoby, Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 1974. 249(22): p. 7130-7139.
233. Svensson, L.G., et al., Appraisal of adjuncts to prevent acute renal failure after surgery on the thoracic or thoracoabdominal aorta. *Journal of vascular surgery*, 1989. 10(3): p. 230-239.
234. Furlong, C.E., et al., Spectrophotometric assays for the enzymatic hydrolysis of the active metabolites of chlorpyrifos and parathion by plasma paraoxonase/arylesterase. *Analytical biochemistry*, 1989. 180(2): p. 242-247.
235. Lowry, O., et al., Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 1951. 193(1): p. 265-275.
236. Yousefi-Manesh, H., et al., Protective effects of modafinil administration on testicular torsion/detorsion damage in rats. *Experimental and molecular pathology*, 2019. 111: p. 104305.
237. Bozlu, M., et al., The effect of poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase inhibitors on biochemical changes in testicular ischemia-reperfusion injury. *J Urol*, 2003. 169(5): p. 1870-3.
238. Kostakis, I.D., et al., Erythropoietin and sildenafil protect against ischemia/reperfusion injury following testicular torsion in adult rats. *Experimental and therapeutic medicine*, 2017. 13(6): p. 3341-3347.
239. Takhtfooladi, M.A., et al., The antioxidant role of N-acetylcysteine on the testicular remote injury after skeletal muscle ischemia and reperfusion in rats. *Polish Journal of Pathology*, 2013. 64(3): p. 204-209.

240. Ozbal, S., et al., The effects of α -lipoic acid against testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *The Scientific World Journal*, 2012. 2012.
241. Mogilner, J.G., et al., Effect of dexamethasone on germ cell apoptosis in the contralateral testis after testicular ischemia-reperfusion injury in the rat. *Fertility and Sterility*, 2006. 85: p. 1111-1117.
242. Hadziselimovic, F., R. Geneto, and L. Emmons, Increased apoptosis in the contralateral testes of patients with testicular torsion as a factor for infertility. *The Journal of urology*, 1998. 160(3 Part 2): p. 1158-1160.
243. Hekimoglu, A.T., et al., Protective effect of 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly (ADP-ribose) polymerase in distant liver injury induced by renal ischemia-reperfusion in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014. 18(1): p. 34-38.
244. Limón-Pacheco, J. and M.E. Gonsebatt, The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2009. 674(1-2): p. 137-147.
245. Annuk, M., et al., Oxidative stress and endothelial function in chronic renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2001. 12(12): p. 2747-2752.
246. Ceron, J.J., F. Tecles, and A. Tvarijonaviciute, Serum paraoxonase 1 (PON1) measurement: an update. *BMC veterinary research*, 2014. 10(1): p. 1-11.
247. Jarvik, G.P., et al., Paraoxonase (PON1) phenotype is a better predictor of vascular disease than is PON1(192) or PON1(55) genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000. 20(11): p. 2441-7.
248. Malin, R., et al., Lipid peroxidation is increased in paraoxonase L55 homozygotes compared with M-allele carriers. *Free Radical Research*, 2001. 34(5): p. 477-484.

249. Thimraj, T.A., et al., Chapter 7 - Oxidative Signaling in Chronic Obstructive Airway Diseases, in *Immunity and Inflammation in Health and Disease*, S. Chatterjee, W. Jungraithmayr, and D. Bagchi, Editors. 2018, Academic Press. p. 79-98.
250. Rothenbach, P., et al., Downstream effects of splanchnic ischemia-reperfusion injury on renal function and eicosanoid release. *Journal of Applied Physiology*, 1997. 83(2): p. 530-536.
251. Mutlu, G., et al., Morphologic changes and lipid peroxidation in renal tissues of young rats following intestinal ischemia-reperfusion. *Pediatric surgery international*, 2002. 18(5-6): p. 337-340.
252. Tirapelli, L., et al. Comparison of two models for evaluation histopathology of experimental renal ischemia. in *Transplantation proceedings*. 2009. Elsevier.
253. Chu, C., et al., Celastrol protects kidney against ischemia–reperfusion-induced injury in rats. *Journal of surgical research*, 2014. 186(1): p. 398-407.
254. Gobe, G.C. and D.W. Johnson, Distal tubular epithelial cells of the kidney: Potential support for proximal tubular cell survival after renal injury. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2007. 39(9): p. 1551-1561.
255. Edelstein, C.L., H. Ling, and R.W. Schrier, The nature of renal cell injury. *Kidney international*, 1997. 51(5): p. 1341-1351.
256. Devarajan, P., et al., Gene expression in early ischemic renal injury: clues towards pathogenesis, biomarker discovery, and novel therapeutics. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2003. 80(4): p. 365-376.
257. Yun, Y., et al. Ischemic postconditioning modified renal oxidative stress and lipid peroxidation caused by ischemic reperfusion injury in rats. in *Transplantation proceedings*. 2009. Elsevier.

258. Tuğtepe, H., et al., The protective effect of oxytocin on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Regulatory peptides*, 2007. 140(3): p. 101-108.
259. Kelly, K., et al., An oral platelet-activating factor antagonist, Ro-24-4736, protects the rat kidney from ischemic injury. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 1996. 271(5): p. F1061-F1067.
260. Freeman, B.A. and J.D. Crapo, *Biology of disease: free radicals and tissue injury. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1982. 47(5): p. 412-426.
261. Lee, K.R., et al., Effect of superoxide dismutase plus catalase on Ca^{2+} transport in ischemic and reperfused skeletal muscle. *Journal of Surgical Research*, 1987. 42(1): p. 24-32.
262. Uludağ, Ö., et al., Effects of Prostaglandin Analogue Iloprost Treatment on Distant Organ Damage Following Ovarian Ischemia/Reperfusion Injury in Rats: An Experimental Study. *Cureus*, 2020. 12(6): p. e8695-e8695.
263. Coughlin, J.R. and F.H. Nielsen, *Advances in boron essentiality research: symposium summary. New aspects of trace elements research*, 1999: p. 33-41.
264. Murray, F.J., A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans. *Biological trace element research*, 1998. 66(1): p. 331-341.
265. Comba, A., et al., EFFECTS OF BORIC ACID ON PROINFLAMMATION CYTOKINES, TOTAL OXIDATIVE/ANTIOXIDATIVE STATUS AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN RATS APPLIED BENZO (a) PYRENE. *FEB FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN*, 2020: p. 3599.

266. Sogut, I., et al., Effect of boric acid on oxidative stress in rats with fetal alcohol syndrome. *Experimental and therapeutic medicine*, 2015. 9(3): p. 1023-1027.
267. Hunt, C.D. and J.P. Idso, Dietary boron as a physiological regulator of the normal inflammatory response: a review and current research progress. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine: The Official Publication of the International Society for Trace Element Research in Humans*, 1999. 12(3): p. 221-233.
268. Griffith, O.W., R.J. Bridges, and A. Meister, Evidence that the gamma-glutamyl cycle functions in vivo using intracellular glutathione: effects of amino acids and selective inhibition of enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1978. 75(11): p. 5405-5408.
269. Ince, S., et al., The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2010. 24(3): p. 161-164.
270. Güler, S., et al., The protective effect of boric acid on cholestatic rat liver ischemia reperfusion injury. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 2021. 51(5): p. 2716-2726.
271. TÜRKEZ, H., F. GEYİKOĞLU, and S. Colak, The protective effect of boric acid on aluminum-induced hepatotoxicity and genotoxicity in rats. *Turkish Journal of Biology*, 2011. 35(3): p. 293-301.
272. Pawa, S. and S. Ali, Boron ameliorates fulminant hepatic failure by counteracting the changes associated with the oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions*, 2006. 160(2): p. 89-98.
273. Başbuğ, M., et al., Effects of boric acid in an experimental rat model of hepatic ischemia-reperfusion injury. 2015.

274. KÜÇÜKKURT, İ., et al., Potential protective effect of boron against gentamicin-induced oxidative stress on rat tissues. *Kocatepe Veterinary Journal*, 2017. 10(3): p. 172-179.
275. Coban, F.K., et al., Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 2015. 38(4): p. 391-399.
276. Cengiz, M., Boric acid protects against cyclophosphamide-induced oxidative stress and renal damage in rats. *Cellular and Molecular Biology*, 2018. 64(12): p. 11-14.
277. Hazman, Ö., et al., The Effect of Boric Acid and Borax on Oxidative Stress, Inflammation, ER Stress and Apoptosis in Cisplatin Toxication and Nephrotoxicity Developing as a Result of Toxication. *Inflammation*, 2018. 41(3): p. 1032-1048.
278. Ince, S., et al., Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. *Chemosphere*, 2014. 108: p. 197-204.
279. Geyikoglu, F., et al., Propolis and Its Combination with Boric Acid Protect Against Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Kidney Injury by Inhibiting Oxidative Stress, Inflammation, DNA Damage, and Apoptosis in Rats. *Biological Trace Element Research*, 2019. 192(2): p. 214-221.
280. Cikler-Dulger, E. and I. Sogut, Investigation of the protective effects of boric acid on ethanol induced kidney injury. *Biotechnic & Histochemistry*, 2020. 95(3): p. 186-193.
281. Coban, F.K., et al., The antioxidant effect of boron on oxidative stress and DNA damage in diabetic rats. *Fresen. Environ. Bull*, 2015. 24: p. 4059-4066.
282. Miljkovic, D., et al., Calcium fructoborate: plant-based dietary boron for human nutrition. *Journal of dietary supplements*, 2009. 6(3): p. 211-226.

283. Naghii, M.R., et al., Comparative effects of daily and weekly boron supplementation on plasma steroid hormones and proinflammatory cytokines. *J Trace Elem Med Biol*, 2011. 25(1): p. 54-8.
284. D HUNT, C. and S.L. Meacham, Aluminum, boron, calcium, copper, iron, magnesium, manganese, molybdenum, phosphorus, potassium, sodium, and zinc: concentrations in common western foods and estimated daily intakes by infants; toddlers; and male and female adolescents, adults, and seniors in the United States. *Journal of the American Dietetic Association*, 2001. 101(9): p. 1058-1060.
285. Heindel, J.J., et al., Developmental toxicity of boric acid in mice and rats. *Fundamental and applied toxicology*, 1992. 18(2): p. 266-277.
286. Price, C.J., et al., The Developmental Toxicity of Boric Acid in Rabbits. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1996. 34(2): p. 176-187.
287. Aktaş, S., Farelerde borik asidin testis dokusunda oksidatif stres ve spermatozoon dna hasarına olan etkisinin saptanması. 2017.
288. Kabu, M., et al., Histological evaluation of the effects of borax obtained from various sources in different rat organs. *International Journal of Morphology*, 2015. 33(1).

8. ÖZET

BORİK ASİTİN ERKEK RATLARDA TESTİS TORSİYON/DETORSİYONU SONRASI BÖBREK DOKUSU VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİ

Amaç: Testis torsiyonu, şiddetli skrotal ağrı ve iskemiye yol açan patolojik bir durumdur. Detorsiyon sonrası perfüzyon geri gelir. Ancak reperfüzyon sonrasında iskemi reperfüzyon hasarı denilen patolojik durum ortaya çıkar. Bu durum çeşitli mekanizmalarla iskemide oluşan hasardan daha fazla zarara yol açabilir. Bu süreçte oksidatif stres faktörleri ve inflamatuvar yanıt aracılığıyla vücutta sistemik bir inflamasyon oluşur. Tek bir organın iskemi ve reperfüzyona maruz kalması daha sonra diğer organlarda inflamatuvar aktivasyona neden olabilir ve sonunda çoklu organ yetmezliğine yol açabilir. Doğrudan iskemiye maruz kalmayan organlarda dahi hasar olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda bu sistemik inflamasyon ve serbest radikal üretiminin böbrek dokusu üzerindeki etkilerini biyokimyasal ve histopatolojik açıdan inceledik. Borik asitin organizmalarda tümör inhibisyonu, enerji metabolizması, hormonlar üzerinde faydalı etkileri olduğu bilinmektedir. Son yıllarda borik asitin antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri olduğu da gösterilmiştir. Amacımız, rat testis torsiyonu/detorsiyonu modelinde reperfüzyon oluşturduktan sonra böbrekte oluşacak olan potansiyel hasarın borik asit uygulanması yoluyla azaltılabileceğini saptamaktır.

Metod: Çalışmada 24 adet, 12 aydan büyük, 250-350 gram aralığında erkek Wistar albino ratlar kullanıldı. Etik komite onayı alındıktan sonra erkek wistar ratlar dört gruba ayrıldı ve her grupta 6 hayvan vardı. Gruplar; kontrol grubu (Grup K), borik asit grubu (Grup BA), torsiyon/detorsiyon grubu (Grup İ/R), borik asit torsiyon/detorsiyon grubu (Grup BA-İ/R) olarak adlandırılmıştır. Tüm ratlara anestezi ve analjezi için 50 mg/kg, i.p. ketamin ve 10 mg/kg i.p. ksilazin uygulandı. Bütün gruplarda skrotum uzunlamasına kesilip testis diseke edildi. Grup K ve İ/R’de herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Grup BA ve BA-İ/R’ye cerrahi işlemden yarım saat önce i.p. yoldan 50 mg/kg borik asit uygulandı. Grup İ/R ve BA-İ/R’de testis torsiyon/detorsiyon modeli uygulandı. Bu iki grupta testis 4 saat boyunca torsiyone kaldıktan sonra 12 saat detorsiyonda kaldı. İşlem sonunda hayvanlara sakrifikasyon uygulandı. Ardından tüm hayvanların böbrek dokuları histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirme için alındı. İskemi reperfüzyon hasarının neden olduğu oksidatif stres ve borik asitin antioksidan etkilerini araştırmak için böbrek dokusunda MDA, CAT, GST ve PON seviyeleri ölçüldü. Histopatolojik inceleme için alınan kesitler histokimyasal olarak Hematoksilen Eozin ile boyandı ve değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmamızda böbrek dokusu üzerinde yapılan ışık mikroskopisi incelemesinde elde edilen bulgulara göre İ/R grubunda kontrol grubuna göre GV, TD, VVH, THDN değerlerinde artış görülmüştür. Ayrıca böbrek dokusunda oksidan durum parametrelerinden MDA’da artış ve PON düzeyinde azalış tespit edilmiştir. Borik asit ile tedavi edilen İ/R grubunda VVH, TD değerleri İ/R grubuna göre azalmış olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasında

Lİ, THS, BSD ve THD açısından anlamlı fark bulunmamıştır. MDA düzeyi, BA-İ/R grubunda İ/R grubuna göre anlamlı düşük olarak bulunmuştur. PON enzim aktivitesi ise BA-İ/R grubunda İ/R grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Gruplar serum GST ve CAT enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında benzer bulunmuştur.

Sonuç: Buradan elde edilen verilere göre, testis torsiyon/detorsiyon modeli oluşturulan ratlarda oluşan iskemi reperfüzyon durumunun böbrek hasarına yol açtığı ve borik asit uygulamasının böbrekte artan hasarı azalttığı sonucuna ulaştık.

Anahtar kelimeler: İskemi reperfüzyon, torsiyon detorsiyon, testis, böbrek, borik asit, MDA, PON, CAT, GST, histopatoloji, antioksidan aktivite

9. SUMMARY

PROTECTIVE EFFECT OF BORIC ACID ON RENAL TISSUE AND OXIDATIVE STRESS AFTER TESTICULAR TORSION/DETORSION IN MALE RATS

Objective: Testicular torsion is a pathological condition that causes severe scrotal pain and ischemia. Perfusion returns after detorsion. However, this leads to a pathological condition called ischemia-reperfusion injury. This situation may cause more harm than ischemia by various mechanisms. In this process, a systemic inflammation occurs in the body through oxidative stress factors and inflammatory response. Exposure to ischemia and reperfusion of a single organ can subsequently cause inflammatory activation in other organs and eventually lead to multi-organ failure. It is known that damage occurs even in organs that are not directly exposed to ischemia. In our study, we examined the effects of this systemic inflammation and free radical production on kidney tissue from a biochemical and histopathological point of view. It is known that boric acid has beneficial effects on tumor inhibition, energy metabolism and hormones in organisms. In recent years, boric acid has also been shown to have anti-inflammatory and antioxidant effects. Our aim is to determine that the potential damage to the kidney after creating reperfusion in the rat testicular torsion/detorsion model can be reduced by the administration of boric acid.

Method: In the study, 24 male Wistar albino rats, older than 12 months and weighing 250-350 grams, were used. After ethics committee approval, male

wistar rats were divided into four groups and each group included 6 animals. Groups named; control group (Group K), boric acid group (Group BA), torsion/detorsion group (Group I/R), boric acid torsion/detorsion group (Group BA-I/R). All rats were administered 50 mg/kg i.p. ketamine and 10 mg/kg i.p. xylazine for anesthesia and analgesia. In all groups, the scrotum was cut longitudinally and the testis was dissected. No drug administration was performed in Group K and I/R. Group BA and BA-I/R were administered 50 mg/kg boric acid by i.p. route half an hour before the surgical procedure. Testicular torsion/detorsion model was applied in Group I/R and BA-I/R. In these two groups, the testis remained in torsion for 4 hours and then detorsioned for 12 hours. At the end of the procedure, animals were sacrificed. Then, kidney tissues of all animals were taken for histopathological and biochemical evaluation. To investigate the oxidative stress caused by ischemia-reperfusion injury and the antioxidant effects of boric acid, MDA, CAT, GST and PON levels were measured in kidney tissue. Sections taken for histopathological examination were histochemically stained with Hematoxylin Eosin and evaluated.

Results: According to the findings obtained in the light microscopy examination on kidney tissue in our study, GV, TD, VVH, THDN values were increased in the I/R group compared to the control group. In addition, an increase in MDA, which is one of the oxidant status parameters, and a decrease in PON levels were detected in kidney tissue. In the I/R group treated with boric acid, VVH and TD values were found to be decreased compared to the I/R group. There was no significant difference between the groups in terms of LI, THS, BSD

and THD. MDA level was found to be significantly lower in the BA-I/R group compared to the I/R group. PON enzyme activity was found to be significantly higher in the BA-I/R group compared to the I/R group. When the groups were compared among themselves in terms of serum GST and CAT enzyme activity, they were found to be similar.

Conclusion: According to the data obtained here, we concluded that the ischemia-reperfusion state that occurred in rats with testicular torsion/detorsion model caused kidney damage and boric acid administration reduced the increasing damage in the kidney.

Key words: Ischemia reperfusion, torsion detorsion, testis, kidney, boric acid, MDA, PON, CAT, GST, histopathology, antioxidant activity

10.EKLER

Ek -1: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 09.07.2020-E.72417



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Doç. Dr. Metin ALKAN
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Metin ALKAN, Uğur Musa ADAM, Şaban Cem SEZEN, Mustafa KAVUTÇU ve Mustafa ARSLAN'dan oluşan G.Ü.ET-20.036 kod numaralı ve "*Borik Asidin Erkek Sıçanlarda Torsiyon/Detorsiyon Sonrası Böbrek Dokusu ve Oksidatif Stres Üzerindeki Koruyucu Etkisi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-20.036 and entitled "*Protective Effect of Boric Acide on Renal Tissue and Oxidative Stress After Torsion/Detorsion in Male Rat*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Rat Wistar Albino
Hayvan Sayısı : 24

Ek: 1 Liste



Emniyet Mahallesi Bandırma Caddesi No: 6/1 06560 Yenimahalle/ANKARA
Tel: 0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks: 0 (312) 202 38 76
e-Posta: hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi: http://hadyek.gazi.edu.tr/

Bilgi için: Burak Çıtırak
Genel Evrak Sorumlusu

Evrak Tarih ve Sayısı: 09.07.2020-E.72417

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ :26/06/2020		TOPLANTI SAYISI : 04	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)			
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU			
Prof.Dr.Tuncay PEKER			
Prof.Dr.Fatma AKAR			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ			
Doç.Dr.Emre BARIŞ			
Doç.Dr.İpek SÜNTAR			
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR		KATILAMADI	
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER			
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ		KATILAMADI	

Bu belge güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır

11.ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı: Uğur Musa Adam

Görev yeri: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon
Anabilim Dalı

İletişim bilgileri:

EĞİTİM BİLGİLERİ

Mezun olduğu Üniversite/Fakülte: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (2009-2016)

Akademik unvan: Araştırma Görevlisi Doktor (2017-)

ÇALIŞTIĞI KURUMLAR

Bulanık Toplum Sağlığı Merkezi, Muş (2016-2017)

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı,
Ankara (2017-...)

YABANCI DİL: İngilizce

YAYINLAR: Çalışma konusu ya da alanındaki başlıca eserleri

Premedikasyonun Geç Etkisi: Bir olgu nedeniyle (TARK 2019 poster sunumu)

KATILDIĞI KURSLAR ve TOPLANTILAR:

Vasküler Kateterizasyon Kursu, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 15 Şubat
2019

TARD 5. Transplantasyon Anestezisi Kursu, Başkent Üniversitesi, 18 – 19 Nisan
2019

22nd International Intensive Care Symposium, İstanbul, 3 – 4 Mayıs 2019

53. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi, Antalya, 7 – 10 Kasım 2019

TARD 8. Asistan Okulu, Antalya, 13 – 15 Aralık 2019

Anestezi Uygulamalarında Ultrasonografi Kursu, Gazi Üniversitesi, 10 Ocak 2020

Deneyisel İskemi / Reperfüzyon Kursu, Ankara, 25-26 Eylül 2021