



**BENZO(A)PİREN (BAP)' İN BÖBREK DOKUSU ÜSTÜNE ETKİSİ VE
CURCUMİN' İN OLASI KORUYUCU ÖZELLİĞİNİN ÇEŞİTLİ MİKROSKOBİK
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

Dila ŞENER

**DOKTORA TEZİ
HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

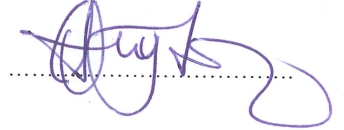
EKİM 2014

Dila ŞENER tarafından hazırlanan “Benzo(a)piren (BAP)’ ın Böbrek Dokusu Üstüne Etkisi ve Curcumin’in Olası Koruyucu Özelliğinin Çeşitli Mikroskopik Yöntemlerle İncelenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Çiğdem ELMAS

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

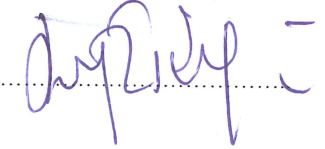
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Başkan : Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye : Doç. Dr. Pergin ATİLLA

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye : Prof. Dr. Celal ILGAZ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

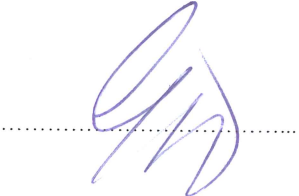
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye : Doç. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi: 01/10/2014

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Dila ŞENER

BENZO(A)PİREN (BAP)' İN BÖBREK DOKUSU ÜSTÜNE ETKİSİ VE CURCUMİN' İN OLASI KORUYUCU ÖZELLİĞİNİN ÇEŞİTLİ MİKROSKOBİK YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

(Doktora Tezi)

Dila ŞENER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ekim 2014

ÖZET

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar endüstriyel işlemler ve organik maddelerin yanma sürecinde ortaya çıkan, toksik çevresel kirleticiler sınıfında yer alan bileşiklerdir. Benzo(a)piren DNA üzerinde hasar yapıcı etkisi ve kanserojen erki kanıtlanmış bir polisiklik aromatik hidrokarbondur. Curcuma longa bitkisinin köklerinden elde edilen ve zerdeçalın esas sarı pigmenti olan curcumin, hidrofobik bir polifenoldür. Güçlü antioksidan özelliği ile birlikte geniş ölçüde biyolojik ve farmakolojik etkinlikler de içerir. Çalışmamızda, son günlerde artan düzeyde etkin kalınan ve çevrede yaygın bulunan benzo(a)piren' in sıçan böbrek dokusunda oluşturabileceği hasarlara karşı güçlü antioksidan özellikte olan curcumin' in olası koruyucu etkilerinin elektron mikroskopik yöntemlerle incelenmesi amaçlandı. Bu erekle 36 adet, erkek, Wistar Albino sıçan; kontrol, mısır yağı, DMSO, benzo(a)piren, curcumin, curcumin+benzo(a)piren olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. Uygulamalar 6 hafta süresince gavaj yolu ile yapıldı. Elde edilen bulgulara kontrol, mısır yağı ve DMSO gruplarına ait böbrek dokusunda glomerül ve tübül yapılarının normal inceyapısal özellik sergilediği gözlemlendi. Benzo(a)piren grubuna ait değerlendirmelerde glomerül kapillerlerinde genişleme, bazal membranda yer yer kalınlaşma ve kıvrılma, hücre sitoplazmaları organel içeriklerinde bozulma ve vakuol benzeri yapıların oluşturduğu boşluğu alanlar ayırt edildi. Podosit sitoplazmasında intramembranöz ve mezengiyal hücre sitoplazmasında elektron yoğun cisimciklerin varlığı, tübüler bazal katlantıların yapısal değişime uğradığı, mitokondriyonların uzun şekillerini yitirerek yuvarlaklaştığı dikkati çekti. Bu gruba ait en belirgin dejeneratif bulgular podosit hücre gövdeleri ve pedisellerin silinmesi, glomerül yüzeyinin normal görüntüsünden uzak süngerimsi bir görünüm kazanması olarak belirlendi. Curcumin grubunda yapının korunduğu, tüm ince yapısal özelliklerin belirgin olarak ortaya çıktığı, podosit uzantıları kapiller ilişkisi, kontrol ve mısır yağı uygulanan gruplara eşdeğer, podosit gövdelerinin belirgin ve pedisellerin normal ve düzenli yapıda olduğu izlendi. Curcumin+benzo(a)piren grubunda heterokromatikliğin kontrole karşı sürdürüldüğü ancak glomerüler bazal membranın normal yapısına döndüğü, proksimal tübüler yapıların kontrol grubuyla eşdeğer olduğu ayırdedildi. Elde edilen bulguların sonucunda benzo(a)piren uygulaması ile gözlenen anomaliler bu ajanın nefrotoksik olduğunu ortaya koymakta buna karşı BAP ve curcumin çözücülerinde yapının normal olması, bu çözücülerin zararlı madde içermediğinin göstergesi olduğunu düşündürdü. BAP' ın nefrotoksik etkisine karşı curcumin' in etkili bir koruyucu ajan olduğu kanısına varıldı.

Bilim Kodu	: 1033
Anahtar Kelimeler	: Benzo(a)piren, curcumin, böbrek, inceyapı
Sayfa adedi	: 176
Danışman	: Doç. Dr. Çiğdem ELMAS

INVESTIGATION OF THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF CURCUMIN AGAINST THE EFFECTS OF BENZO(A)PYRENE IN KIDNEY TISSUE

(Ph.D. Thesis)

Dila ŞENER

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

October 2014

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons are compounds classified as toxic environmental pollutants that occur during the industrial process and combustion period of organic materials. Benzo(a)pyrene is a polycyclic hydrocarbon that exhibit DNA damaging and carcinogenic properties. Curcumin is the major yellow pigment in turmeric and derived from the root of *Curcuma longa* plant. This hydrophobic polyphenol broadly includes biological and pharmacological activities in conjunction with its strong antioxidant competence. Our aim is to investigate the possible protective effects of curcumin against the benzo(a)pyrene damage in rat kidney tissue by using electron microscopic methods. 36 male Wistar albino rats are divided into 6 groups as follows control, corn oil, DMSO, benzo(a)pyrene, curcumin and curcumin+benzo(a)pyrene. Agents were daily and orally administered for six weeks. According to the results of control, corn oil and DMSO groups, the glomerular and tubular structures were exhibited normal ultrastructural features. Glomerular capillary dilation, thickening of basement membrane, disturbance of the content of organelles and vacuole like space formations in the cytoplasm were distinguished in the benzo(a)pyrene treated group. The intramembranous electron dense bodies in podocyte cytoplasm and electron dense bodies in mesangial cell cytoplasm, structurally changed tubular basal foldings, circular shaped mitochondria were also detected in the same group. The degenerative findings of this group were identified as the deletion of the podocyte cell and pedicels and also the sponge like appearance of the glomerular surface. The overall tissue components and the ultrastructural features were detected to protect in curcumin treated group. Podocyte cell process and the capillary interaction was similar to that of control, corn oil and DMSO groups. The normally arranged pedicels and distinct podocyte cells were detected in the same group. Heterochromatic appearance of the nucleus was still continuous in the curcumin+benzo(a)pyrene treated group however, glomerular basement membrane and proximal tubular structures were detected to have normal features similar with control. In conclusion, administrations of corn oil and DMSO as a benzo(a)pyrene and curcumin solvent, respectively, resulted in no significant changes suggesting that the harmless content of these agents. However, the abnormalities that occur after the benzo(a)pyrene administration strongly revealed that the nephrotoxicity of this agent. Hence, there is a strong evidence that curcumin is an effective protective agent against benzo(a)pyrene nephrotoxicity.

Science Code	: 1033
Key Words	: Benzo(a)pyrene, curcumin, kidney, ultrastructure
Page Number	: 176
Advisor	: Assoc.Prof. Dr. Çiğdem ELMAS

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve engin deneyimleriyle bana yol gösteren, gelişimime katkıda bulunan, tezimin hazırlanması, düzenlenmesi ve deneylerim süresince değerli bilgilerini paylaşan, yanında öğrenim görmekten her zaman onur duyduğum Anabilim Dalı Başkanımız sevgili hocam Sayın Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN başta olmak üzere; güler yüzü, sabrı, hoşgörüsü, bilgi ve deneyimleriyle hep yanımda olan, desteğini her zaman hissettiğim, her zaman yanımda olmaktan haz aldığım güzel insan, çok sevgili hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Çiğdem ELMAS' a ve hem eğitimim hem de yetişmemde emekleri geçen değerli hocalarım Prof. Dr. Celal ILGAZ' a, Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU' na, Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL' a yardım, destek ve güler yüzünü hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU' na;

Tezimin deney aşamasını birlikte yürüttüğüm ve tezimi yazmama bitmeyen sabırları ile destek olan, yardımlarını hiç esirgemeyen, değerli ablalarım Güleser GÖKTAŞ' a ve Fatma HELVACIOĞLU' na, yardımlarını ve güler yüzünü benden esirgemeyen Anabilim Dalımız personeli sevgili Recep ORHAN' a, birlikte olmaktan mutluluk duyduğum, yardımlarını ve güler yüzlerini hiç esirgemeyen Doktora dönem arkadaşım Neslihan COŞKUN başta olmak üzere sevgili Seda AKYOL, Özen AKARCA, Sanem SARIBAŞ, Perihan COŞKUN ve tüm güzel arkadaşlarıma,

Bana verdiği tüm destek ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan, yardımlarını ve güler yüzünü esirgemeyen Doğu Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı sevgili hocam Prof. Dr. Nahide GÖKÇORA' ya, tüm zorluklara birlikte göğüs gerdiğimiz anlayış, sabır ve desteklerini her zaman hissettiğim değerli meslektaşlarım, ablalarım ve arkadaşlarım Yard. Doç. Dr. Canan ZAIMOĞLU ve Yard. Doç. Dr. Ayşe ÜLGİN' e, tez sürecimde ve her zaman yanımda olan, destek ve yardımlarını hiç esirgemeyen, iyi ki tanıdığım dediğim çok değerli arkadaşlarım Mesut YAKUP ve Fezile BEYLER' e, beni bugünlere getiren, eğitim hayatımda ve her zaman maddi manevi desteklerini, anlayış ve sabırlarını hiçbir zaman esirgemeyen, varlığı beni her zaman mutlu eden canım annem İpek ÖZKUT SAMUR' a, canım anneannem Fahrinnisa ÖZKUT' a ve sevgili kardeşim Ahmet Bican ŞENER' e, sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dila Şener
Ekim 2014

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	ix
RESİMLERİN LİSTESİ	x
GRAFİKLER LİSTESİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvi
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Böbreklerin Gelişimi	5
2. 2. Böbreklerin Anatomisi	10
2.2.1. Böbrek' in yüzleri	10
2.2.2. Böbrek' in kenarları	11
2.2.3. Böbrek uçları	12
2.2.4. Böbrek kılıfları	12
2.2.5. Böbrek' in damarları ve sinirleri	13
2.3. Böbrek Histolojisi	15
2.3.1. Nefron.....	16
2.3.2. Jukstaglomerüler aparat.....	24
2.3.3. Böbrek ara dokusu (intersitisyum)	25
2.4. Böbrek Fizyolojisi	25
2.4.1. Böbrek' in işlevleri	26
2.4.2. İdrar oluşumu	27
2.4.3. Böbrek kan akımı	28
2.4.4. Glomerüler filtrasyon hızını (GFR) belirleyen faktörler ve GFR' nin fizyolojik denetimi	29
2.4.5. Böbrek tübüllerinde geri emilim ve salgılama	30
2.4.6. Tübüler geri emilim denetimi ve düzenlenmesi.....	31

2.5. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH)	32
2.6. Benzo(a)piren (BAP)	36
2.6.1. BAP' ın böbrek üzerine etkileri	39
2.7. Curcumin	40
2.7.1. Curcumin' in farmakolojisi.....	42
2.7.2. Curcumin' in biyolojik etkileri	47
2.8. Dimetilsülfoksit (DMSO)	58
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	61
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	61
3.2. Geçirgen Elektron Mikroskop (TEM) Yöntemi	62
3.3. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Yöntemi	64
3.4. İstatiksel Yöntem.....	65
4. BULGULAR.....	67
5. TARTIŞMA	103
6. SONUÇ	135
KAYNAKLAR.....	137
Ek 1 Etik Kurul Kararı.....	154
ÖZGEÇMİŞ	156

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Önemli polisiklik aromatik hidrokarbon bileşikleri ve kimyasal yapıları .	33
Şekil 2.2. Benzo(a)piren' in kimyasal yapısı	37
Şekil 2.3. Curcumin' in kimyasal yapısı	41
Şekil 2.4. Curcumin metabolitleri	44
Şekil 2.5. Curcumin' in biyolojik etkilerinde rol alan sinyal yolları.....	46
Şekil 2.6. Dimetilsülfoksid' in kimyasal yapısı	58

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Kontrol grubunda geçirgen elektron mikroskop ile yapılan değerlendirmede, küçük büyültmeli resimde normal ince yapıda izlenen böbrek glomerülü görülüyor. Kapiller (K), endotel hücresi (E), mezengiyal hücreler (M) ve podosit hücreleri (P) belirgin olarak izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)	72
Resim 4.2. Kontrol grubuna ait büyük büyültmeli resimde normal ince yapıda izlenen böbrek glomerülü görülüyor. Kapiller (K), endotel hücresi (E), endotel hücre fenestraları ($\Rightarrow$), mezengiyal hücre (M), podosit hücresi (P), pediseller ($\rightarrow$), idrar aralığı ($\blacktriangleleft$) ve glomerüler bazal membran ($\star$) belirgin olarak gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)	73
Resim 4.3. Kontrol grubunda geçirgen elektron mikroskop ile yapılan değerlendirmede, büyük büyültmeli resimde normal ince yapıda izlenen böbrek tübülü görülüyor. Fırçamsı kenar mikrovilluslar ($\blacktriangleright$), lizozomlar (L), mitokondriyonlar ($\blacklozenge$), hücre çekirdeği (Ç), çekirdekçik (Çk) ve tübül bazal membranı (BM) belirgin olarak ayırt ediliyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)	74
Resim 4.4 A,4.4B. Kontrol grubunda taramalı elektron mikroskop ile yapılan değerlendirmede normal yapıda izlenen böbrek glomerülü görülüyor. 4A resminde pedisel ve süzülme yarıkları ($\star$), 4B resminde podosit hücre gövdesi (P), birincil ($\rightarrow$) ve ikincil uzantılar ($\Rightarrow$) belirgin olarak izleniyor (Altın-Paladyum)	75
Resim 4.5. Mısır yağı uygulanan grupta böbrek dokusunun küçük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde endotel hücresi (E), mezengiyal hücreler (M) ve podosit hücresi (P) ve pediseller ($\rightarrow$) gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)	76
Resim 4.6 A, 4.6B Mısır yağı uygulanan grupta böbrek dokusunun büyük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde kapiller (K), endotel hücre fenestraları ($\Rightarrow$), podosit hücresi (P) ve idrar aralığı ($\blacktriangleleft$) ve glomerüler bazal membran ($\star$) izleniyor (6A). 6B	

Resim	Sayfa
resminde pediseller ($\rightarrow$), mezengiyal hücre (M) ve glomerüler bazal membran ($\star$) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrata)	77
Resim 4.7. Mısır yağı uygulanan grupta, böbrek tübülünün büyük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde fırçamsı kenar mikrovilluslar ($\blacktriangleright$), lizozomlar (L), hücre çekirdeği (Ç) ve tübül bazal membranı (BM) ayırt ediliyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrata)	78
Resim 4.8. Mısır yağı uygulanan grupta taramalı elektron mikroskop ile yapılan değerlendirmede böbrek glomerülü görülüyor. 8A resminde podosit hücre gövdesi (P), birincil ($\rightarrow$) ve ikincil uzantılar ($\Rightarrow$), 8B resminde pedisel ve süzülme yarıkları ($\star$) belirgin olarak izleniyor (Altın-Paladyum)	79
Resim 4.9. DMSO uygulanan gruba ait böbrek dokusu küçük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde endotel hücresi (E), endotel hücre fenestraları ($\Rightarrow$), mezengiyal hücreler (M) ve pediseller ($\rightarrow$) ayırt ediliyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrata)	80
Resim 4.10. DMSO uygulanan grupta böbrek dokusunun büyük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde endotel hücresi (E), endotel hücre fenestraları ($\Rightarrow$), podosit hücresi (P), pediseller ($\rightarrow$) ve glomerüler bazal membran ($\star$) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrata)	81
Resim 4.11. DMSO uygulanan grupta, böbrek tübülünün büyük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde fırçamsı kenar mikrovilluslar ($\blacktriangleright$), lizozom (L), mitokondriyonlar ($\blacklozenge$), hücre çekirdeği (Ç) ve tübül bazal membranı (BM) gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrata)	82
Resim 4.12. DMSO uygulanan gruba ait küçük büyültmeli taramalı elektron mikroskop resminde podosit hücre gövdeleri (P) ve birincil ($\rightarrow$) uzantılar izleniyor (Altın-Paladyum)	83
Resim 4.13. DMSO uygulanan gruba ait büyük büyültmeli taramalı elektron mikroskop resminde podosit hücre gövdesi (P), birincil ($\rightarrow$) ve ikincil ($\Rightarrow$) uzantılar, pedisel ve süzülme yarıkları ($\star$) ayırt ediliyor (Altın-Paladyum)	84

Resim**Sayfa**

- Resim 4.14. BAP uygulanan grupta geçirgen elektron mikroskop ile yapılan değerlendirmede küçük byltmeli resimde endotel hcreti (E), mezengiyal hücreler (M), podosit hcreti (P), pediseller (→), glomerüler bazal membran (★), vakuoller (V), mezengiyal hücre sitoplazmasında elektron yoğun cisimler (⊕) ve podosit sitoplazmasında intramembranöz elektron yoğun cisimler (⊕⊕) dikkati çekiyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat) 85
- Resim 4.15. BAP uygulanan grupta böbrek dokusunun büyük byltmeli geçirgen elekton mikroskop resminde kapiller (K), endotel hücre fenestraları (⇌), podosit hcreti (P), apoptotik hücreler (A), pediseller (→) belirgin olarak izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat) 86
- Resim 4.16. BAP uygulanan grupta, böbrek tübülünün büyük byltmeli geçirgen elekton mikroskop resminde fıramcı kenar mikrovilluslar (➤), lizozomlar (L), mitokondriyonlar (◆), hücre çekirdekleri (Ç) ve bazal katlantılar (✕) belirgin olarak gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat) 87
- Resim 4.17. BAP uygulanan gruba ait küçük byltmeli taramalı elekton mikroskop resminde endotel hcreti (E) ve podosit hücre gövdesi (P) izleniyor (Altın-Paladyum) 88
- Resim 4.18. BAP uygulanan gruba ait büyük byltmeli taramalı elekton mikroskop resminde podosit hücre gövdeleri (P) ve birincil (→) uzantılar, ayırt ediliyor (Altın-Paladyum) 89
- Resim 4.19. BAP uygulanan gruba ait büyük byltmeli taramalı elekton mikroskop resminde süngerimsi görünüm kazanan glomerüler yapılarından podosit hücre gövdesi (P), birincil (→) uzantılar, pedisel ve szlme yarıkları (★) dikkati çekiyor (Altın-Paladyum) 90
- Resim 4.20. Curcumin uygulanan gruba ait geçirgen elekton mikroskop ile yapılan değerlendirmede küçük byltmeli resimde endotel hcreti (E), endotel hücre fenestraları (⇌), mezengiyal hücre (M), podosit hücreleri (P) podosit hücreleri (P), pediseller (→) ve

Resim	Sayfa
glomerüler bazal membran (★) gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)	91
Resim 4.21. Curcumin uygulanan gruba ait büyük büyültmeli resimde endotel hücresi (E), endotel hücre fenestraları ($\Rightarrow$), podosit hücresi (P), pediseller ($\rightarrow$) ve glomerüler bazal membran (★) ayırt ediliyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)	92
Resim 4.22. Curcumin uygulanan grupta, böbrek tübülünün büyük büyültmeli geçirgen elekton mikroskop resminde fırçamsı kenar mikrovilluslar ($\blacktriangleright$), lizozom (L), mitokondriyon ($\blacklozenge$), hücre çekirdeği (Ç), bazal katlantı (✕) ve tübül bazal membran (BM) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)	93
Resim 4.23. Curcumin uygulanan gruba ait küçük büyültmeli taramalı elekton mikroskop resminde podosit hücre gövdesi (P), birincil ($\rightarrow$) uzantı, pedisel ve süzülme yarıkları (★) belirgin olarak gözleniyor (Altın-Paladyum)	94
Resim 4.24. Curcumin uygulanan gruba ait büyük büyültmeli taramalı elekton mikroskop resminde podosit hücre gövdesi (P) ve birincil ($\rightarrow$) ve ikincil ($\Rightarrow$) uzantılar, pedisel ve süzülme yarıkları (★) belirgin olarak izleniyor (Altın-Paladyum)	95
Resim 4.25. Curcumin+BAP uygulanan grupta glomerülün küçük büyültmeli geçirgen elekton mikroskop resminde endotel hücreleri (E), endotel hücre fenestraları ($\Rightarrow$), mezengiyal hücre (M), podosit hücreleri (P) ve pediseller ($\rightarrow$) gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)	96
Resim 4.26. Curcumin+BAP uygulanan grupta glomerülün büyük büyültmeli resminde endotel hücresi (E), endotel hücre fenestraları ($\Rightarrow$), mezengiyal hücre (M), pediseller ($\rightarrow$) ve glomerüler bazal membran (★) belirgin olarak ayırt ediliyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)	97
Resim 4.27. Curcumin+BAP uygulanan grupta böbrek tübülünün büyük büyültmeli geçirgen elekton mikroskop resminde fırçamsı kenar mikrovilluslar ($\blacktriangleright$), lizozomlar (L), mitokondriyonlar ($\blacklozenge$), hücre	

Resim**Sayfa**

çekirdeği (Ç), bazal katlantılar (✕) ve tübül bazal membranı (BM) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat) 98

Resim 4.28. Curcumin+BAP uygulanan gruba ait küçük büyütmeli taramalı elektron mikroskop resminde podosit hücre gövdesi (P), birincil (→) ve ikincil (⇨) uzantı, pedisel ve süzülme yarıkları (★) belirgin olarak gözleniyor (Altın-Paladyum) 99

Resim 4.29. Curcumin+BAP uygulanan gruba ait büyük büyütmeli taramalı elektron mikroskop resminde podosit hücre gövdesi (P) ve birincil (→) ve ikincil (⇨) uzantılar, pedisel ve süzülme yarıkları (★) belirgin olarak izleniyor (Altın-Paladyum) 100

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik	Sayfa
Grafik 4.1. Mısır yağı, DMSO, Benzoapiren ve Curcumin uygulaması yapılan gruplar arası TEM dejenerasyon analizi	101
Grafik 4.2. Mısır yağı, DMSO, Benzoapiren ve Curcumin uygulaması yapılan gruplar arası SEM dejenerasyon analizi	101
Grafik 4.3. Gruplar arası glomerüler bazal membran kalınlık ölçümleri.....	102

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
k	Kapiller
e	Endotel Hücresi
m	Mezengiyal hücre
p	Podosit hücresi
⇒	Endotel hücre fenestrası (TEM), ikincil uzantı (SEM)
→	Pedisel (TEM), birincil uzantı (SEM)
←	İdrar aralığı
*	Glomerüler bazal membran
➤	Fırçamsı kenar mikrovillus
l	Lizozom
◆	Mitokondriyon
ç	Hücre çekirdeği
çk	Çekirdekçik
bm	Tübül bazal membranı
+	İntramezengiyal elektron yoğun cisim
++	İntramembranöz elektron yoğun cisim
a	Apoptotik hücre
★	Pedisel ve süzülme yarıkları
×	Bazal katlantı
ace	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ahh	Aril hidrokarbon hidroksilaz
ap-1	Aktivatör protein-1
are	Nrf-2/Antioksidan Yanıt Elemanı
ATSDR	Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Kurumu
AuPd	Altın-Paladyum
bap	Benzo(a)piren
bdma	Benzil dimetil amin
bmp7	Kemik morfojenik proteini 7

Simgeler	Açıklama
bpde	(7R,8S)-dihidroksi-(9S,10R)-epoksi-7,8,9,10 tetrahidrobenzo(a)piren
bpde-2	BAP diol epoksit-2
CagA	Sitotoksin İlişkini Gen A Suşu
Cl⁻	Klorür iyonu
cox-2	Siklooksijenaz-2
cPLA2	Sitoplazmik fosfolipaz
cyp	Sitokrom P450
dbp	Di-bütil fitalat
ddsa	Dodesenil süksinik anhidrat
dmba	Dimetil Benzantrasen
dmso	Dimetilsülfoksid
EBV	Epstein-Barr Virüsü
ecm	Hücre dışı Matriks
eh	Epoksit hidroksilaz
erk	Ekstraselüler-Sinyal-Regüle Kinaz
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
fgf2	Fibroblast büyüme faktörü 2
gbm	Glomerüler bazal membran
gdnf	Glial kökenli nörotrofik faktör
gfr	Glomerüler filtrasyon hızı
gst	Glutasyonin S-Transferaz
GÜDAM	Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi
hgf	Hepatosit büyüme faktörleri
hhc	Hekzahidrocurcumin
ho-1	Hem-Oksijenaz-1
hsp	Isı şok proteini
hTERT	İnsan Telomeraz Reverse Transkriptaz
HUVEC	İnsan Umbilikal Ven Endotel Hücresi
IARC	Uluslararası Kanseri Araştırma Kurumu
IL-1α	İnterlökin-1 α

Simgeler	Açıklama
IL-1β	İnterlökin-1 β
iso	İsoprenalin
jak/stat	Janus Kinaz-Sinyal Dönüştürücü ve Aktive Edici
jg	Jukstaglomerüler
K⁺	Potasyum İyonu
kf	Glomerüler Kapiller Sabiti
KH₂PO₄	Potasyum fosfat monobazik
lox	5-lipoksijenaz
lps	Lipopolisakkarit
mapkkk	Mitojen-Aktive Edici Protein Kinazkinazkinaz
mmp	Metalloproteinaz
Na⁺	Sodyum iyonu
Na₂HPO₄.2H₂O	Sodyum fosfat dibazik
NF-kB	Nüklear faktör- Kb
NTP	Ulusal Toksikoloji Programı
OsO₄	Osmiyum tetroksit
pac	Polisiklik Aromatik Bileşikler
PAH	Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
pkc	Protein kinaz C
ros	Reaktif oksijen radikalleri
sem	Taramalı elektron mikroskop
slf	Skleroderma Akciğer Fibroblast Hücresi
tem	Geçirgen elektron mikroskop
tgf-β1	Transforme Edici Büyüme Faktörü
thc	Tetrahidrocurcumin
tnf-α	Tümör nekrozis faktor- α
tpa	12-O-tetradekanoil-forbol-13-a setat
USEPA	Çevre Koruma Kurumu
vegf	Vasküler endoteliyal büyüme faktörü
wt1	Wilms' tümör supressor 1

1.GİRİŞ

İnsan uğraşları, sanayileşme ve teknolojinin çağın gereksinimlerine koşut artışı ile çevresel ve kimyasal kirlilik ortaya çıkmaktadır. Bunlara neden olan 100 farklı tür bileşiğin başında polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) gelmektedir. PAH' lar partiküller ve organik materyallere yüksek ilgi gösterirler. Lipofilik yapıda olduklarından organik çözücülerde çözünebilirler. Endüstriyel işlemler ve organik maddelerin yanma sürecinde ortaya çıkarlar. Akut toksik etki gösterirler ve toksik çevresel kirleticiler sınıfında yer alırlar. Teratojenik, mutajenik ya da karsinojenik etkiler içerirler. Moleküler boyut artışına koşut çevredeki kalıcılıkları artmaktadır [1,2].

Benzo(a)piren (3,4- benzopiren, BAP) Dünya genelinde polisiklik aromatik hidrokarbon öntipi olarak kabul edilen, DNA üzerinde hasar yapıcı etkisi ve kanserojen erki kanıtlanmış bir birleşiktir. Organizmaya alımını izleyerek doğrudan ya da dolaylı olarak karaciğer dokusunda oldukça reaktif serbest radikallere metabolize edildiği bilinmektedir. Akciğer, karaciğer ve böbrekte kanser ile birlikte birçok hastalığın oluşumuna neden olacak düzeyde serbest radikal oluşumunu sağladığı çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Benzo(a)piren kapalı çalışma ortamlarında, diyetle, sigara dumanında ve çevrede yaygın olarak bulunur. İmmun sistemi baskılayıcı, toksik etkili, ve canlıların farklı dokularında güçlü kanser yapabilme yeteneğine sahiptir. Kaynaklarda BAP' ın membran lipidleriyle tepkimeye girerek lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve kanserli dokularda lipid peroksidasyonunda önemli artış izlenebildiği belirtilmiştir. Lipid peroksidasyonu sonucu gerçekleşen serbest radikal artışına koşut MDA düzeylerinde de önemli artışa neden olduğu saptanmıştır. Kömür, petrol, odun, sigara dumanında ve mangalda pişirilen etler gibi organik maddelerin yanması sırasında piroliz süreci ile şekillenirler. Başlıca kaynakları orman yangınları, petrol rafineri etkinlikleri, hayvansal atıkların yanması, sigara dumanı, alüminyum ve asfalt üretimi, pestisit, boya ve ilaç sentezi, araçlardan yayılan egzoz gazı ve enerji üretimi aşamalarıdır [3,4].

BAP' ın doğrudan salınım alanı hava yuvarıdır. Bireyler kirli havada ve özellikle kapalı ortamda sigara dumanı ile partiküllerin solunması, bu bileşik ile kontamine olmuş kirli gıda ve suların alımı aracılığıyla BAP' a etkin kalırlar. Bir çalışmada insanların aromatik hidrokarbonlara kronik etkin kalmasının böbrek işlev bozukluğu ve böbrek kanser oluşumu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Mesleki olarak BAP' a etkin kalma oranı 0.1 ila 48 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ arasında değişirken, sigara kullananlarda, 2.5 mg ila 19.9 mg aralığındadır. Bu değerler pişmiş ette 4 ng/g, kızarmış tavukta 5 ng/g ve özellikle kömür ateşinde çok pişmiş et örneklerinde 62 ng/g' dır [5].

BAP biyolojik sistemlerde etkilerini gösterebilmek için epoksit hidroksilaz ve sitokrom P450 enzimlerince, reaktif ara ürünleri oluşturmak üzere metabolik uyarılmaya gereksinim duyan bir önkanserojendir. Enzimatik tepkimeleri izleyerek oluşan son karsinojen şekil benzo(a)piren 7,8 diol-9,10-epoksit' tir. DNA' ya kovalent bağlanarak çift sarmallı yapıyı bozar ve DNA kopyalanmasını etkiler. Prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde mutasyon ve sitotoksik etkilere neden olur ve bu mutasyonlar transkripsiyon ve translasyona uğradıklarında protein yapı ve işlevinin değişimine ve sonuçta kansere yol açarlar [6-9].

Yapılan çalışmalarda BAP' ın akciğer, deri, meme, özafagus, pankreas, kolon, mide, safra kesesi, serviks ve prostat kanserlerine neden olduğu gösterilmiştir. BAP' ın kansere karşı koruyucu, hücre döngüsünü düzenleyici etkisi olduğu bilinen tümör baskılayıcı P53 genini etkilediği de ortaya konulmuştur. Kanserojen özelliğini içermeyen ve yalnızca toksik erkinin araştırıldığı çalışmalarda BAP' ın birincil etkilerinin karaciğer, hematopoietik ve üreme sistemleri ile böbrekte belirdiği bildirilmiştir. Böbrek dokusunda çeşitli anomaliler oluşturarak böbrek işlevini bozduğu, lipid peroksidasyonunu artırdığı, serbest radikal oluşumuna ve böbrek hücre metabolizması üzerinde mutajenik ve kanserojenik etkilere neden olduğu belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada BAP' ın böbrekte 8-hidroksideoksiguanozin ve DNA parçacıkları oluşumunu uyardığı, glutatyon homeostazisine hasar verdiği ve antioksidan etkinlikleri değiştirdiği ortaya konulmuştur [5,9,10].

Bitkisel kökenli doğal bileşenler düşük düzeyde toksisite ve yüksek tolere gibi erkleri nedeniyle çalışmalarda kanser koruyucu ajanlar olarak yeğlenmektedirler.

Curcumin (1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) zingiberaceae ailesine ait *Curcuma longa* bitkisinin köklerinden elde edilen ve zerdeçalın esas sarı pigmenti olan hidrofobik polifenoldür. E ve C vitaminleri ile karşılaştırılabilecek ölçüde güçlü antioksidan özelliği ile birlikte geniş ölçüde biyolojik ve farmakolojik etkinlikler de içerirler. Antioksidan özelliğinde işlevsel olan keto ve enol şekilleri vardır. Esas metabolitlerinden biri olan tetrahidrocurcumin de (THC), curcumin' in biyolojik etkileri üzerinde önemli işleve sahiptir [11,12].

Curcumin, yapısındaki diferulometen ile köri baharatına sarı rengini verir. Yemek sanayinde renk verici, koruyucu, katkı maddesi ve genellikle baharat olarak kullanılır. Krem ve sabun gibi kozmetik ürünlerin içine cildi yumuşatmak ve nemlendirmek için eklenir. Geçmiş yıllarda bitkinin kökleri kurutularak Asya tıbbında yaygın olarak geleneksel yöntemlerle tedavi edici ereklerle kullanılmıştır [11,12].

Günümüzde kanser ve tümör gelişimi üzerinde, inflamasyonda, fibrozis ve denetimsiz damar oluşumunda, yara iyileşmesinde, lipid metabolizmasında, zehirlenmede, mikrobiyal hastalıklarda koruyucu etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bir çalışmada metabolik uyarım sonucunda BAP' ın son kanserojen türevi olarak şekillenen (1)-anti-BaPDE' nin, daha az zararlı bir şekle dönüşmesi ve bu nedenle DNA ile kovalent bağlanmanın curcumin' ce engellenerek DNA' nın korunduğu bildirilmiştir. Faz I klinik çalışmalarda curcumin' in günde 12 gr' lık yüksek dozunun alınması halinde bile güvenli ve tolere edilebilen bir ajan olduğu gözlemlenmiştir. Curcumin' in güvenilirliği ve etkinliği üzerine yapılan birçok farmakolojik çalışma sonucunda da, yine tedavi edici bir ajan olarak ve bazı hastalıkları engellemede kullanılabileceği kanıtlanmıştır [13,14].

Çalışmamızda, son günlerde artan düzeyde etkin kalınan ve çevrede yaygın olarak bulunan bir kirletici olan benzo(a)piren' in sıçan böbrek dokusunda oluşturabileceği hasarlara karşı güçlü antioksidan özellikte olduğu bilinen curcumin' in olası koruyucu etkilerinin mikroskopik yöntemlerle incelenmesi amaçlandı. Bu erekle ince yapı düzeyindeki değişimleri incelemek için taramalı ve geçirgen elektron mikroskopik yöntemler kullanıldı. Böbrek dokusundaki yozlaşma

aşamaları belirlenerek gruplara göre farklılıklar istatistiksel olarak değeriendirildi. Elde edilen veriler kaynak bulguları ile karşılaştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbreklerin Gelişimi

Ürogenital sistem, birbirinden farklı işlevleri olan üriner ve genital sistemleri kapsar. Embriyolojik ve anatomik olarak iç içe olan bu iki sistem, karın boşluğunun arka duvarında yer alan ortak bir mezodermal şişkinlikten (ara mezodermden) gelişir. Embriyonun lateral katlanması sırasında, ara mezoderm öne doğru çekilerek somitlerle olan bağlantısını yitirir. Bunun sonucunda dorsal aortanın her iki yanında ürogenital sırt denilen uzunlamasına mezoderm kabartıları oluşur. Bu kısımdan daha sonra üriner ve genital sistemler gelişir. Üriner sistemi oluşturacak olan ürogenital sırt nefrojenik kordon ya da kabartı ismini alırken, genital sistemi oluşturacak kısım gonadal sırt olarak adlandırılır [15-17].

Intrauterin yaşamda kraniyalden kaudale doğru; pronefroz, mezonefroz ve metanefroz olarak birbirinden farklı üç tip böbrek birbirini izleyerek gelişir. Pronefroz ilk oluşan böbrektir ve diğerlerine karşın en kraniyalde yer alır. Pronefroz gerileyen yapıdır ve işlevsel özelliği yoktur. Mezonefroz ikinci oluşan böbrek sistemidir ve kısa bir süre işlev görür. Pronefrozlara karşın daha iyi gelişmiştir. Kalıcı böbrekleri oluşturan metanefroz ise en son gelişen böbrek sistemidir [15,16].

Pronefroz 4. haftanın başlarında ara mezodermin kraniyal ucunda gelişir. Servikal bölgedeki 7-10 adet solid hücre kümesi ve kıvrılmış durumda bulunan pronefrik kanallar ile özelleşmiştir. Bu kanallar kaudal yönde uzanarak kloakaya açılırlar. Kaudaldekiler oluşmadan gerileyen hücre kümelerinden, işlevi olmayan boşaltım birimleri, nefrotomlar oluşur. Dördüncü haftanın sonunda pronefrozlarda dejenerasyona uğrar ancak pronefrik kanalların büyük bir kısmı kalır. Bu kanal bir sonraki böbrek sisteminde, mezonefrik kanalın kraniyal uç kısmını oluşturur [15,16].

Mezonefroz ve mezonefrik kanallar, artık yapılar olan pronefrozlarda kaudalinde, üst torasik ve lumbal (L3) segmentlerin ara mezoderminden gelişir. Daha gelişkin yapılardır. Kalıcı böbrekler oluşuncaya değin yaklaşık 4 hafta süresince işlev görürler. Mezonefrozlarda, glomerül ve mezonefrik tübüllerden oluşurlar. Pronefrik

kanaldan köken alan mezonefroza ait ilk boşaltım tübüleri, 4. haftanın başlarında belirir. Bunların boyları hızla uzar ve kıvrılarak S şeklini alırlar. Glomerulus olarak adlandırılan kapiller yumak, medial uzantılarının ucunda oluşur. Glomerulusun çevresindeki mezonefrik tübüller Bowman kapsülünü yaparlar. Bowman kapsülü ve glomerulusların birlikte oluşturduğu yapıya böbrek cisimciği denir. Mezonefrik tübüller, Wolffian ya da mezonefrik kanal olarak bilinen uzunlamasına toplayıcı kanala açılırlar. Mezonefrik kanallar da kloakaya açılır. Mezonefroz ikinci ayın ortasında, orta çizginin her iki yanında büyük ve oval şekilli organlar olarak izlenir. Gelişen gonad bu sırada mezonefrozun medialinde yerleşiktir. Gonad ve mezonefrozun birlikte oluşturduğu doku kabarıklığı, ürogenital sırt olarak isimlendirilir. İkinci ayın sonuna doğru kaudaldeki tübüller farklanmayı sürdürürken, kraniyal tübüller ile glomerüllerin çoğunluğu geriler. Kaudaldeki mezonefrik tübüller, erkeklerde testislerin efferent kanallarına dönüşür. Mezonefrik kanal, genital sistem oluşumuna katılmak için kalır ve yetişkin erkek bireylerde önemli yapılara dönüşür. Kızlarda ise bu yapılar tümüyle ortadan kalkar [15-17].

Kalıcı böbreklerin primordiyumu olan metanefrozlar, 5. haftanın başında farklılaşırlar ve bundan yaklaşık dört hafta sonra işlev görmeye başlarlar. Mezonefrik sisteme benzer olarak bu sistemin boşaltım birimi de metanefrik mezoderm kökenlidir. Kalıcı böbrekler iki farklı kaynaktan gelişirler. Bunlar toplayıcı sistemi oluşturan metanefrik divertikül (üreter tomurcuğu) ve boşaltım sistemini yapan metanefrojenik blastem ya da mezenşimin metanefrik kitlesidir. Gelişimin ileri evresinde üreter tomurcuğundan; üreterler, renal pelvis, büyük ve küçük kaliksler, toplayıcı kanallar ve sayıca yaklaşık 1-3 milyon arasında değişen toplayıcı tübüller gelişir. Metanefrojenik blastemden ise proksimal ve distal kıvrıntılı tübüller, Henle kulpu ve Bowman kapsülü oluşur. Toplayıcı kanallar, mezonefrik kanalın kloakaya girdiği yere yakın bir bölgede oluşan bir çıkıntı olan üreter tomurcuğundan gelişir. Metanefrojenik blastem ise nefrojenik kordonun kaudalinden köken alır. Üreter tomurcuğu, distal ucuna bitişik olan metanefrik dokuya penetre olur. Penetrasyonun ardından genişleyen üreter tomurcuğu, ilkel renal pelvisi oluşturur. Renal pelvis kraniyal ve kaudal parçalara ayrılır, genişleyen ve birleşen ilk dört toplayıcı tübül jenerasyonu gelecekteki büyük kaliksleri yapar. Kalikslerin her biri metanefrik dokuya penetre olurken iki yeni tomurcuk biçimlendirir. Bu tomurcuklar oniki ve daha fazla sayıda tübül oluşturana değin

bölünmeyi sürdürür. Bir miktar tübül ise periferde 5. ayın sonuna değin oluşur. İkinci jenerasyon tübüller birleşir ve minör kaliksleri yapar. Her bir toplayıcı tübülün ark oluşturan distal ucu metanefrik doku kılıfı ile örtülüdür. Tübüllerin uyarıcı etkisi ile metanefrik mezoderm kitlesi içerisinde bulunan mezenşimal hücre kümesi uyarılır. Renal vezikül olarak adlandırılan küçük kesecikler oluşur. Bu keseciklerin uzaması sonucunda metanefrik tübül olarak adlandırılan S biçimli küçük tübüller biçimlenir. Bu tübüllerin bir ucundaki cebin içine doğru büyüyen kapiller damarlar glomerüllere farklanır. Tübüller ve glomerüller bir arada boşaltım birimini ya da nefronu oluştururlar. Nefronun proksimal ucunda, glomerülü saran Bowman kapsülü biçimlenir. Tübülün distal ucu toplayıcı kanallarla bağlantı kurar. Boşaltıcı tübüller uzamayı sürdürerek proksimal ve distal kıvrıntılı tübüller ve Henle kulpuna farklanır. Her distal kıvrıntılı tübülün kavis oluşturan bir toplayıcı tübül ile ilişki kurması ile tübüller birleşirler [15-17].

Nefron oluşumu doğuma değin sürer. Doğumda her böbrekte yaklaşık 1 milyon kadar nefron bulunur. Gebeliğin onuncu haftasından başlayarak böbrekler idrar üretirler. Böbrekler, doğumda lobüllü görünümde dirler. Gelişim sürecine koşut olarak nefronların büyümeyi sürdürmesiyle süt çocukluğu evresinde lobüllü görünüm kaybolurken nefron sayısında artış olaylanmaz [15].

Böbrek farklanmasında mezonefrozdaki ayrılan üreter tomurcuğu ile metanefrik blastem mezenşimi arasında karşılıklı etkileşim olaylanır. Mezenşimal dokudan ifade olan ve bir transkripsiyon faktörü olan Wilms' tümör supressor 1 (WT1), metanefrik blastemin üreter tomurcuğunun uyarısına yanıt verebilecek durumuna gelmesine olanak verir. WT1 bununla birlikte mezenşim dokusundan üreter tomurcuğunun büyümesini sağlayan Glial Kökenli Nörotrofik Faktör (GDNF) ve Hepatosit Büyüme Faktörlerinin (HGF) yapımının denetimini sağlar. Üreter tomurcuğu epiteline yapılan GDNF için RET ve HGF için MET isimli tirozin kinaz reseptörleri epitel ve mezenşimal dokular arasındaki etkileşimi gerçekleştirecek sinyal yollarını oluşturur. Üreter tomurcukları da mezenşimal dokuyu Fibroblast Büyüme Faktörü 2 (FGF2) ve Kemik Morfojenik Proteini 7 (BMP7) aracılığıyla uyarır. Her iki büyüme faktörü de WT1 yapımının sürekliliğini sağlar, apoptozisi baskılar ve metanefrik mezenşimin çoğalmasını uyarır. Üreter tomurcuğu, nefron oluşturmak ereğiyle mezenşimal dokunun epitele dönüşmesini denetler. Bu

nedenle tomurcuktan WNT9B ve WNT6 ifadelenir ve metanefrik mezenşimde PAX2 ve WNT4 yapımı artar. Mezenşimi tübül oluşumuna hazırlamak için PAX2' yi yoğunlaştırır. WNT4 ise yoğunlaşan mezenşimal dokunun epitelize olup tübül oluşturmada işlev görür. Bu gibi etkileşimler sonucunda hücre dışı matrikste bazı değişimler olaylanır. Epitele ait bazal laminada bulunan fibronektin, tip I ve tip III kollajenin yerini; laminin ve tip IV kollajen alır. Mezenşimal dokunun yoğunlaşarak epitele dönüşmesi için gerekli olan hücre adezyon moleküllerinden syndecan ve E-cadherin de sentezlenir. Bu süreç PAX 2 ve WNT-4 genlerince baskılanır. Ürogenital sırt oluşumunda Steroidojenik Faktör-1 ve DAX 1 genleri önemlidir. Bu genlerde olaylanan mutasyonlar, X'e bağlı doğumsal adrenal hipoplazi ile sonuçlanır [15,16].

Böbrekler başlangıçta pelvis içinde, sakrumun ventralinde, birbirine yakın konumda bulunurlar. Gelişim süresince vücudun dikleşmesi, lomber ve sakral bölgelerdeki büyüme sonucunda yavaş yavaş karnın daha yukarı bölgelerine doğru hareket ederler. Buna böbreğin yükselişi denir. Böbrekler yetişkindeki konumlarını dokuzuncu haftada alırlar. Damar ve sinirlerin girip çıktığı yer olan hilus (hilum) bölgesi başlangıçta ventrale bakar. Böbreklerin yükselmesiyle hilus medial hatta doğru 90°'lik dönüş yapar. Dokuzuncu haftada hilus ön-orta hatta yönelmiştir. Yükseliş sonunda böbrekler karın arka duvarında retroperitoneal yerleşimlidir. Metanefrozlar pelvis içerisindeyken arteriyel kan dolaşımını aortanın pelvik bir dalından alır. Böbreğin arteriyel dolaşımı, karın boşluğundaki yükselişi sırasında da daha yukarı kesimlerinden ayrılan arterlerce sağlanmaya devam eder. Yükseliş süresince bir altta kalan önceki arterler, genelde dejenere olup ortadan kalkarlar. Böbrekler en kraniyal arter dallarını, abdominal aortadan alırlar. Bu dallar kalıcı böbrek arterlerini oluşturur. Sağdaki renal arter soldakinden daha uzun olup, daha üst konumdadır [15,16].

Yükselişleri sırasında umbilikal arterlerce oluşturulan bir çatal içinden geçen böbreklerden biri, bu çatal içerisinden geçmeyi başaramazsa, pelvis içerisinde arteria iliaca communis yakınında kalır. Bu duruma pelvik böbrek denir. Bazı olgularda arteriyel çataldan geçen böbrekler birbirlerine doğru itilir ve alt kutupları birbirine yapışır. Buna at nalı böbrek adı verilir. Bu tip anomalide böbreğin yükselişi inferior mezenterik arter köküne engellendiğinden, genellikle en alt

lumbar vertebra düzeyinde yerleşir. Böbreğin yükselişi sürecinde oluşmuş ve dejenere olmayarak kalan embriyonik damarları simgeleyen aksesuar renal arterlere de sıkça rastlanmaktadır. Genellikle aortadan dallanan bu damarlar böbreğe üst ya da alt kutuplardan girerler [15,17].

WT 1 geninde 11p13 mutasyonlarına bağlı olarak ortaya çıkan Wilms tümörü, genelde 5 yaşlardaki çocuklarda görülür. Bazı olgularda fetusta da izlenebilen bir böbrek kanseridir. Bu olgu WAGR sendromu ve Denys-Drash sendromu gibi başka anomaliler ve sendromlar ile birlikte görülebilir. Böbreğin gelişimsel anomalileri olan renal displazi ve agenezi yaşamın ilk yılı içerisinde diyaliz ve ardından böbrek nakli yapılmasını gerektiren malformasyonlardır. Bu grup anomaliler içinde yer alan multikistik displastik böbrekte, etrafı farkanmamış hücreler ile çevrili birçok kanal bulunur. Bu olguda nefronlar gelişememiş ve üreter tomurcuğuda dallanamamış olduğundan toplayıcı kanallar oluşamamıştır. Bazı olgularda böbreklerin kendiliğinden gerilemesi sonucunda ya da üreter tomurcuğunun metanefrik mezenşimle karşılıklı etkileşime girememesi durumunda renal agenezis olaylanabilir. Üreter tomurcuğunun dallanıp büyümesini sağlayan GDNF ifadenmesini düzenleyen genlerde oluşan mutasyonlar renal agenezis ile sonuçlanır. Tek taraflı renal agenezis oldukça yaygındır ve genellikle sol böbrek oluşmamıştır. İki taraflı renal agenezis olgularında böbrek yetmezliği vardır. Bununla birlikte böyle bebeklerde yüzün yassılması (Potter yüzü), oligohidramniyoz (amniyon sıvısının normalden az olması) ve buna bağlı akciğer hipoplazisi görülür. Olguların birçoğunda vagina, uterus, duktus deferens ve seminal vezikül ile ilgili ek anomalilerde bulunabilir. Aynı zamanda kalp anomalileri, trakeal ve duodenal atrezi, yarık damak ve dudak ve beyin anomalileri gibi diğer sistemlerle ilgili anomalilerde sıkça görülür. Otozomal dominant ya da resesif geçiş gösterebilen ve diğer etkenlere bağlı ortaya çıkabilen kongenital polikistik böbrekte, böbrek dokusunda çok sayıda kist bulunur. Otozomal resesif geçişli olguda toplayıcı kanallar kistleşir ve böbrekler oldukça büyüktür. Bebeklik ya da erken çocukluk evresinde böbrek yetmezliği olaylanır. Otozomal dominant geçişli polikistik böbrek hastalığında ise kistler nefron kökenli olabilir ve erişkin döneme değin böbrek yetmezliği izlenmez [15,16].

Metanefrozdan oluşan kalıcı böbrek, gelişimin 12. haftasında işlev görmeye başlar. Amniyon boşluğuna dolmaya başlayan idrar amniyon sıvısı ile karışır. Fötusce yutulan bu karışım sindirim sistemine geçer. Burada emilerek kan dolaşımına iletilir ve böbrek işlevi sonucunda yeniden amniyon sıvısına atılır. Fötal yaşam süresince yıkım ürünlerinin atılımı işlevini böbrekler üstlenmez. Bu işlevi plasenta sürdürür [15].

2. 2. Böbreklerin Anatomisi

Böbrekler karın boşluğunun üst ve arka tarafında, columna vertebralis'in iki yanında yerleşik bir çift organdır. Böbrekleri gevşek bağ dokusu ve yağ dokusu çevreler. Ön yüzünü periton örterken arka yüzde yoktur. Bu nedenle retroperitoneal bir organdır. Üst uç kısımları 12. torakal (göğüs) vertebranın üst kenarında, alt uçları ise 3. lumbal (bel) vertebra düzeyinde bulunur. Alt uçları crista iliaca'dan 25 cm yukarıda yerleşiktir. Karaciğerin karın boşluğunun sağ üst kısmında yerleşimi nedeniyle sol böbreğe karşı sağ böbrek daha aşağıdadır. Her bir erişkin böbrek kırmızı-kahverengi renkli olup; 11,5 cm uzunluğunda, 5-7 cm genişliğinde ve 2,5 cm kalınlığındadır. Böbreklerin ağırlığı erişkin erkeklerde 125 ile 170 gr arasında, kadınlarda ise 115 ile 155 gr kadardır. İki böbreğin toplam ağırlığı vücut ağırlığının yaklaşık 1/240' ını oluşturur. Sağ böbreğe karşı sol böbrek, biraz daha uzun ve dar görünümlüdür. Böbreklerin şekli fasülyeye benzer. Ön ve dışa bakan facies anterior, arka ve içe bakan facies posterior olarak iki yüzleri, margo medialis ve margo lateralis olarak iki kenarları, extremitas superior ve extremitas inferior olarak iki uçları bulunur [18-23].

2.2.1. Böbrek' in yüzleri

Facies anterior: Böbreklerin ön yüzleri konveks şekilli olup, öne ve biraz dışa doğru bakar. Bu yüzün komşuluğu sağ ve sol böbrek için farklıdır. Sağ böbrek üst medialinde glandula suprarenalis dextra, aşağısında kalan geniş kısımda ise karaciğerin sağ lob alt yüzü ile komşuluktadır. Alt ucun dış yarısı flexura coli dextra, medial yarısı ise duodenumun ikinci parçası ile komşuluktadır. Alt ucun medial bölümü genelde ince bağırsak kıvrımlarıyla komşuluk yapar. Sağ böbreğin karaciğer ve ince bağırsak kıvrımları ile olan komşuluğu periton aracılığıyla sağlanır. Diğer yapılar ile komşuluğunda fascia renalis aracılık eder. Sol böbreğin

ön yüzünün üst medialinde glandula suprarenalis sinistra ile, dış kenara yakın geniş bir alan dalak ile, hilum renale' den laterale değin pankreas ile, alt ucun lateral yarısı flexura coli sinistra ile, medial yarısı da jejunum kıvrımları ile komşuluk yapar. Sol böbreğin ön yüzü mide, dalak ve ince bağırsaklarla peritoneum aracılığı ile komşuluktur. Diğer oluşumlar ile aralarında periton bulunmaz, bu yapılar fascia renalis' e yapışık durumdadır [18,19].

Facies posterior: Böbreklerin arka yüzü arkaya ve biraz iç kısma bakar ve konvekstir. Gevşek bağ ve yağ dokudan oluşan bir yastık içerisine oturmuş durumdadır. Arka yüzde retroperitoneal organlar bulunması nedeniyle, böbreklerin arka yüzleri peritonla kaplı değildir. Her iki böbreğin de arka yüzleri üst yarıda diyafram, alt yarıda hilum renale boyunca m. psoas major, orta kısmı m. quadratus lumborum ve dış kısmı m. transversus abdominis ile komşuluktur. Böbreklerin arka yüzü ile bu kaslar arasında, yukarıdan aşağıya sırasıyla n. subcostalis, n. iliohypogastricus ve n. ilioinguinalis yerleşiktir. Sağ böbrek sol böbreğe karşın biraz daha aşağıda olduğu için sağ böbreğin üst ucu diyafram aracılığıyla recessus costodiaphragmaticus ve 12. kosta ile komşuluktur. Sol böbreğin üst ucu ise 11. ve 12. kostalar ile komşuluk yapar [18-20].

2.2.2. Böbrek' in kenarları

Margo lateralis: Karın duvarının arka dış kısmına yönelmiştir. Biraz arkaya, dışa ve yukarı bakar. Sağ böbreğin dış kenarı periton ile karaciğerin sağ lobundan ayrılır. Sol böbreğin dış kenarı üstte periton ile örtülü ve dalak ile komşudur. Margo medialis karşın margo lateralis daha kalındır [21,23].

Margo medialis: Böbreğin her iki ucu konveks, iç kenarının orta kısmı ise konkavdır. Bu kenarın orta bölümünde vertikal uzanan yarığa hilum renale denir. Buradan damarlar, sinirler ve pelvis renalis geçer. Hilum renale' den böbreğin içerisindeki sinus renalis olarak adlandırılan boşluğa geçilir. Margo medialis, böbrek hilusunun yukarısında gl. suprarenalis ile aşağısında ise üreter ile komşuluktur. Hilum renale' de bulunan yapılar önden arkaya doğru sırayla v. renalis, a. renalis' in 2-3 dalı, üreter ve a. renalis' in bir dalıdır [21,23].

2.2.3. Böbrek uçları

Extramitas superior: Alt uca karşın daha kalın ve yuvarlaktır. Birbirlerine daha yakındırlar. Gl. suprarenalis üst uca ve biraz ön yüze doğru yerleşiktir.

Extramitas inferior: Üst uca karşın daha ince ve küçüktür. Birbirlerine göre daha uzaktadırlar. Alt uç, crista iliaca' dan yaklaşık 5 cm yukarıda bulunur [20].

2.2.4. Böbrek kılıfları

Böbreği içten dışa doğru üç kılıf çevreler. Bunlar;

a) Capsula fibrosa: Böbreği dıştan saran, kollajen liflerden yapılı, ince ve sağlam fibröz bir kılıftır. Böbreğe parlak bir görüntü verir. Kollajen liflerin uzama erkinin çok sınırlı olması nedeniyle, bazı böbrek hastalıklarında capsula fibrosa genişleyemez ve bu nedenle de çıkarılması gerekebilir. Capsula fibrosa, hilum renale' ye giriş yaptığıında iki yaprağa ayrılır. Dış yaprak hilum renale'deki yapıları çevreler ve adventisya katmanının yapısına katılır. İç yaprak ise papilla renalis dışında sinus renalis' in iç yüzünü örter ve kaliks duvarları ile devam eder. Böbrek dokusu ile capsula fibrosa arasında tunica subfibrosa adı verilen ince bir katman bulunur. Tunica fibrosa sinus renalis' in iç yüzünü döşer ve düz kas lifleri içerir. Sinus renalis' i döşediği kısımda düz kas lifleri daha fazladır ve genelde papillalar çevresinde yoğunlaşarak kas halkaları oluşturur. Tunica subfibrosa böbrek dokusuna sıkıca yapışık, capsula fibrosa' ya ise gevşek olarak tutunur. Bu nedenle capsula fibrosa, kesi yapılarak kolayca böbrekten uzaklaştırılabilir. Böbrek hilusundaki yapılara yapışık olması nedeniyle, bu bölgede capsula fibrosa' yı kesmek gerekir. Tunica subfibrosa' daki düz kas lifleri kasıldığında böbreği küçültecek kadar kuvvetli değillerdir. Böbrekte herhangi bir nedenle basınç arttığında kasılarak, capsula fibrosa' nın gerilmesini belirli ölçüde önleyebilirler [18-23].

b) Capsula adiposa: Capsula fibrosa' yı dışarıdan sarar. Bu yağ katmanının kalınlığı kişinin şişmanlık durumuna göre değişir. Böbreğin arka ve yan yüzlerinde daha zengindir. Ön yüzde ise diğer bölgelerine karşın daha az miktarda bulunur.

Yağ dokusu böbrek hilusundan girer ve sinus renalis' te bulunan yapıların aralarını doldurur.

c) Fascia renalis (Gerota fasiası): Karın duvarındaki fascia subserosa' nın devamıdır. Capsula fibrosa ve capsula adiposa' yı dışarıdan sarar. Fascia renalis böbreğin dış kenarı yakınında iki yaprağa ayrılır. Böbreğin ön tarafından mediale doğru uzanan yapıya Fascia prerenalis denir. Fascia prerenalis medialde böbrek damarları, v.cava inferior ve aorta' nın önünden geçerek karşı tarafın aynı yaprağı ile birleşir. Böbreği arkadan saran yaprak fascia retrorenalis' tir. Arka yaprak fascia prevertebralis ve m. psoas major' un fasiası ile kaynaşır. Fascia renalis' in iki yaprağı yukarı kısımda kaynaşarak diyaframın fasciasına, lateralde fascia transversalis' e tutunur. Aşağıda, daha gevşek olarak kaynaşan bu yapraklar, fascia iliaca ile devam ederler. Fascia renalis' ten çıkan fibröz lifler, corpus adiposum' dan geçerek capsula fibrosa' ya tutunur. Fascia renalis' in arkasında bir miktar yağ katmanı bulunur. Bu katmana corpus adiposum pararenale denir. Böbrekler, bazı durumlarda biraz aşağı-yukarı yönde hareket edebilir. Üst yarılarının diyaframa yaslanması nedeniyle, derin inspirasyonda 1-2 cm aşağı inerler. Böbrek damarları ve fascia renalis, böbrekleri yerinde tutan önemli yapılardır. Bu işleve pararenal yağ katmanı ve capsula adiposa da yardımcı olur [18-23].

2.2.5. Böbrek' in damarları ve sinirleri

Damarlar

Böbreğin işlevsel ve besleyici damarları a. renalis' lerdir. A. renalis' ler her iki tarafta L1-L2 vertebralar arası discus intervertebralis düzeyinde dik açı ile aorta' dan ayrılır. Böbreklerin konumu nedeniyle, sol arter sağdakinden biraz daha yukarıda bulunur. A. renalis' ler kalın damarlardır. Bu nedenle böbreklerden kısa sürede fazla miktarda kan geçer. A. renalis' ler hilum renalis' e gelince 5 segmental dala ayrılırlar. A. segmentalis denilen bu dalların çoğu, pelvis renalisin ön tarafından geçerken, birisi pelvis renalisin arkasından geçer. A. segmentalis' ler sinus renalis' te yeniden dallara ayrılırlar. Böbrek lobları arasında uzanan bu dallara a. interlobaris denir ve calix renalis minor' ların çevresinde columna

renalise girerler. A. interlobaris' ler kortikomedullar birleşim yerine değin ilerler ve yan tarafa kıvrılarak iki katman arasında bir kavis şeklinde uzanırlar. Birbirleriyle anastomoz yapmayan bu arterlere a. arcuata denir. A. arcuata' lardan dik olarak çıkan ince dallar böbrek lobçukları arasında uzanır. Bunlara a. interlobularis adı verilir. A. interlobularis' lerden yan tarafa uzanan ince dallara arteriola glomerularis afferens denir. Bunlar capsula glomerularis' in (Bowman Kapsülü) damar kutbundan girerek içerde rete capillare glomerulare denilen kılcal damar yumağını oluşturur. Bu kapiller yumak, yeniden birleşerek arteriola glomerularis efferens' i yapar. Arteriola glomerularis efferens kortikal bölgeye gelince idrar kanalları arasında peritubular kapiller ağı oluşturur. Ağdaki kan, yoğun olup yavaş seyreder. İdrar kanalcığındaki idrar ise suludur. Bu nedenle kan, idrar kanalındaki suyu yeniden emer. Glomerulustan süzülerek Bowman kapsülü' ne geçen suyun büyük bir kısmı bu ağ ile yeniden emilmiş olur. Emilme sırasında bazı maddeler kan dolaşımına geri döner. Bu kapiller ağdan sonra venöz dönüş başlar. Arterin girdiği kutuptan çıkarak ilk olarak v. interlobularis' e açılır. V. İnterlobularis' ler arterleri izleyerek sırasıyla v. arcuata, v. interlobularis, v. segmentalis ve v. renalis olarak v. cava inferior' a açılırlar [21-23].

Böbreğin medulla bölgesini besleyen damarlar (Fasciculus vascularis= Vasa recta), kısmen arteriola glomerularis efferens' ten, kısmen de a. arcuata' dan ayrılır. Medullar bölgeyi besleyen bu damarlar venula recta denilen venler ile yeniden dönüş yaparak v. arcuata' ya açılırlar. A. interlobularis' lerin uç kısmından ayrılan ince dallara a. capsularis denir ve böbreğin dış yüzüne doğru uzanırlar. Böbrek dokusundan çıkan bu dalcıklar capsula fibrosa içinde bir plexus oluştururlar. Capsula fibrosa, böbrekten ayrıldığında bu damarlar kopar. Capsula fibrosa ve capsula adiposa' yı besleyen bu dalcıklar a. lumbalis, a. suprarenalis ve a. testicularis' den gelen dalcıklarla anastomoz yapar. Bu dalcıklar ile gelen kanı drene eden venlere v. capsularis denir. Bu venler venula stellata' lara, venula stellata' lar da v. interlobularis' e açılırlar [23].

Lenfatikler

Böbreğin lenf damarları üç tane plexus oluşturur. Bunlar tubulus renalis' lerin çevresinde, fascia renalis'in altında, corpus adiposum pararenale' de yerleşiktir.

Tubulus renalis' in çevresindeki damarlar birleşerek üç-dört esas dal oluştururlar. Hilum renale' den çıkarken diğer iki pleksusa ait damarlar ile birleşirler. Böbrekten çıkan lenf damarları v. renalis' i izleyerek aorta'nın yan tarafındaki nodi lymphatici lumbales (nodi aortici laterales)' e açılırlar [18].

Sinirler

Böbrekler otonom sinir sisteminin etkisindedir. Sempatik liflerini n. splanchnicus minor, n. splanchnicus minimus ve truncus sympathicus' un lumbal bölümünden alırlar. Parasempatik lifler ise n. vagus' tan gelir. Bu lifler önce plexus coeliacus, daha sonra a. renalis çevresindeki plexus renalis ile böbreğe gelir. Pleksusta birçok gangliyon bulunur. Bunlardan en büyüğü a. renalis' in başlangıç kısmının ön tarafında bulunan ggl. aorticorenale' dir. Bu lifler kan damarları ile tubulus renalis' in hücrelerine gider. Sempatikler damarları daraltarak damardan geçen kanın miktarını ve kandan süzülen idrar kapsamını düşürürler. A. renalis' in dalları ile koştut dağılan postganglionik liflerin damar gevşetici erke sahip olduğu düşünülmektedir [22,23].

2.3. Böbrek Histolojisi

Böbreklerin dış yüzleri bağ dokusu kılıfı ile çevrelenmiştir. Bu kılıf dış ve içte iki katmandan oluşur. Dış katmanda fibroblast ve kollajen lifler yer alırken, iç katman miyofibroblastlardan yapıldır. Miyofibroblastlar böbrekte basınç ve oylum değişimlerinin düzenlenmesinde işlevseldir. Böbrekler dışta korteks (Corteks renalis-kabuk) içte medulla (Medulla renalis-öz) katmanlarını içerirler. Korteks iç ve dış bölgelere ayrılmıştır. Kortekste 1-4 milyon nefron yer alır. Korteks katmanı, içeriği nedeniyle medullaya karşın daha koyu ve granüler görünümdedir. Granüler görünümün nedeni, farklı düzeylerde yerleşik çok sayıdaki proksimal ve distal tübüllerdir. Medulla katmanı 10-18 adet piramidal ya da konik şekilli medulla piramitlerinden (Pyramis renalis, malpighi Piramitleri) oluşur. Bu piramitlerin basis pyramidis olarak adlandırılan taban kısımları böbreğin dış yüzüne, papilla renalis adını alan tepe kısımları ise böbrek kalikslerinin içerisine yönelmiştir. Medulla piramitleri birbirlerine değmeyecek şekilde sinus renalis çevresinde dizilmişlerdir. Bunların aralarında Bertini sütunları (columna renalis) denilen kortikal doku

uzantıları bulunur. Papilla renalis kısmı dışında bir medulla piramidinin diğer yüzleri tümüyle korteks bölgesi ile sarılıdır. Her medulla piramidinin çevresini saran korteks dokusu böbrek lobunu (lobus renalis) oluşturur. Bu nedenle bir böbrekte piramit sayısı ile böbrek lobu sayısı eşdeştir [24-28].

Her medulla piramidinin taban kısımlarından kortekse parmak gibi uzanan birbirine koşt tübül demetleri girer. Bu demetlere medullar ışınlar (pars radiata, medulla uzantıları= Ferrein piramitleri) denir. Medullar ışınlar böbreğin işlevsel birimi olan birkaç nefron ile toplayıcı kanallardan oluşur. Korteksin dış bölgesi böbreği bir kabuk gibi sarar. Bu bölüm, Kapsula fibrosa ile medulla piramitlerinin taban kısımları arasında bulunur. İç bölgesi ise medulla piramitlerinin arasındadır. Bu bölüm sinus renalis'e değin uzanır ve kesitlerde piramitler arasında sütun şeklinde görülür. Bu nedenle Bertini sütunları (columna renalis) olarak isimlendirilirler [24,26].

Böbrekler gevşek bağ dokusu, kan ve lenf damarları ve sinirleri içeren stroma ile çevrelenmiş nefron ve toplayıcı kanallardan oluşur.

2.3.1. Nefron

Böbrek parankimasının en küçük yapısal ve işlevsel birimidir. İdrar üretimiyle yükümlüdürler. Her bir böbrek 1-4 milyon nefron içerir. Nefronlar yerleşimlerine göre düz ya da kıvrımlı uzanırlar ve subkapsüler (kortikal), jukstamedullar ve intermediate nefronlar olarak üçe ayrılırlar.

1. Kortikal (subkapsüler) nefronlar: Nefronların %85' ini oluştururlar. Bunların böbrek cisimcikleri korteksin dış bölgesinde yerleşiktir. Henle kulbunun inen ince kolları çok kısa olup medullanın dış kısmına doğru genişler. Çıkan ince kol ise bulunmaz.

2. Jukstamedullar nefronlar: Böbrek cisimcikleri medulla piramitlerinin taban kısmında yerleşiktir. Henle kulpu çok uzundur ve medulla piramitlerinin iç bölgesinde uzanır. Nefronların %15' ini oluştururlar. Jukstamedullar nefronlar, medulla intersitisyumunda hipertonic gradiyenti ayarlama da önemlidir. Medulla interstisyumundaki hipertonic ortam, böbreğin hipertonic idrar üretmesini sağlar.

3. Intermediate nefronlar: Böbrek cisimcikleri korteksin orta bölgesinde yerleşiktir. Henle kulbu medullanın ortasına değin uzanır [26, 28-30].

Nefronlar böbrek cisimciği ve uzun bir böbrek tübülü olarak iki kısımdan oluşurlar. Nefronun başlangıç bölümünde özel kapiller yumağını saran, 300 µm çapında, ampül şekilli bir genişleme bulunur. Burası böbrek cisimciği (corpusculum renale Malpighi, renal cisimcik, malpighi cisimciği) olarak isimlendirilir. Bunu izleyen böbrek tübülü ise birçok bölümden oluşur. Bunlar; proksimal kıvrıntılı tübül, proksimal düz tübül, ince (ara) parça, distal düz tübüller, distal kıvrıntılı tübüller, toplayıcı tübül ve kanallardır. Proksimal düz tübül, distal düz tübül ve ince parça Henle kulp' u olarak isimlendirilir. Toplayıcı tübül, kortikal bölüm ile dış ve iç medullar toplayıcı tübüller olarak üç bölüm içerir: Henle Kulpu'nun kalın inen ve kalın çıkan kolları sırasıyla proksimal ve distal kıvrıntılı tübülleri, Henle Kulpu'nun ince koluna bağlar. Toplayıcı kanallar ise nefronda oluşturulan idrarı toplayarak pelvise iletir [26-28].

Böbrek cisimciği

Böbrek cisimcikleri özel kapiller damar yumağı olan glomerüller ve onu saran çift katlı epitel örtüsü olan Bowman kapsülü' nden oluşur. Kapsülün iç katmanı glomerül kapillerlerini örten visseral kattır (paries internus). Böbrek cisimciğinin dış sınırını oluşturan dış katman, bağ dokusu stroma ile birliktedir ve pariyetal kat (paries externus) ismini alır. İki katman arasında, kapiller duvarından ve visseral kattan süzülen sıvının toplandığı bir glomerül boşluğu (idrar boşluğu, üriner boşluk, Bowman Boşluğu) bulunur [24,25].

Her böbrek cisimciğinde, getirici (afferent) arteriyollerin girdiği ve götürücü (efferent) arteriyollerin çıktığı bir damar kutbu (polus vascularis) ile proksimal kıvrıntılı tübüllerin başladığı bir idrar kutbu (polus tubularis) bulunur. Afferent arteriyol böbrek cisimciğine girdikten sonra genelde 2-5 ana dala ayrılarak kapiller ağ (rete capillare glomerulare) oluşturur ve glomerüller şekillenir. Bowman kapsülünün pariyetal katmanı ince bir retiküler lif ağı ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. Bu epitel idrar kutbunda tek katlı kübik ya da prizmatik epitele dönüşür. Visseral katman kapiler yumağını oluşturan tüm

kapillerleri çevreler ve dış yüzlerini örter. Bu katman podosit olarak isimlendirilen, ileri derecede yassılaşıp, uzantılı epitel hücrelerinden oluşur. Sitoplazmanın ince olması nedeniyle çekirdekleri glomerül boşluğuna doğru çıkıntı yapar. Podosit hücre sitoplazmasında bol miktarda serbest ribozomlar bulunur. Buna ek olarak belirgin bir Golgi kompleksi, az sayıda mitokondriyon, granüllü endoplazmik retikulum tubulusları, vezikül ve mikrofilamanlar kapsar. Podosit hücrelerinin gövdesinden birkaç birincil uzantı şekillenir ve bunlar kısa bir uzanımdan sonra pedisel olarak isimlendirilen çok sayıda ikincil uzantı oluşur. Pediseller glomerül kapillerlerini çevreler. Çok az ya da hiç organel bulunmamasına karşın bol mikrotübül ve mikrofilaman içerirler. Pediseller arasında 25 nm'lik sabit aralıkla, podosit ve kapiller endotel hücrelerinin bazal laminası ile doğrudan değini halindedir. Bazal laminayı kaplamak için birbirlerinin içine geçerler ve bazal laminaya $\alpha\beta 1$ integrin ile tutunurlar. Podosit hücre gövdesi ve birincil uzantıları bazal lamina ile değinmez. Bir podositte uzanan pediseller birden fazla kapillerlere kenetlenir. Pedisellerin sabit aralıkları süzülme (filtrasyon) yarıkları olarak isimlendirilir. Podositlerin sitoplazmasında aktin filamanları bulunur. Bu nedenle kasıldıklarında süzülme yarıklarını daraltıp genişletebilirler. Süzülme yarıkları 6 nm kalınlığında membranöz materyal olan, filtrasyon yarığı diyaframı ile birbirlerine bağlanır. Bu diyafram aktin filamanlarına CD2AP proteini ile tutunan nefrin proteininden oluşur. Nefrin bazal laminadan ve endotel pencerelerinden moleküllerin geçişini geciktirir. Podositler, glomerüllerdeki pencereli endotel hücreleri ve bu yapıların ilişkili olduğu bazal lamina bir arada glomerüler süzme (filtrasyon) bariyerini oluşturur. Bariyer, plazma ultrafiltratındaki moleküllerin geçişini denetler. Denetimi sağlayan diğer sınırlayıcı etkenler ise boyut ve elektrik yüküdür. Pozitif yüklü ya da nötr ve 3,5 nm' den daha küçük olan moleküller, daha kolay süzülürler. Buna karşın 3.6 nm boyutunda ve negatif yüklü albumin ise zor geçer [24-27, 30].

Kan glomerulusa arteria kortikalis radiata' dan gelir. Bu damardan her bir böbrek cisimciğine ulaşan küçük dallar (arteriola afferens) çıkar. Damar kutbundan böbrek cisimciğine giren arteriola afferens dallanır ve birbirleriyle anastomoz yapmayan kapiller damarlar oluşturur. Kıvrıntılı bir uzanımın ardından her biri yumakçık oluşturan bu damarlar diğer uçları ile yeniden birleşir ve arteriola efferensi yaparlar. Olağan kapiller dolaşımında, kapiller ağları bir arter ve ven arasında

oluşmaktadır. Böbrekte normalden ayrıcalı olan bu yapılanmaya plexus mirabilis ismi verilir. Bu glomerül içi kan basıncının daha yüksek olmasını sağlar. İdrar (ultrafiltrat) miktarı glomerüler kan basıncının yüksek olması ile artar. Filtrasyon ise kan basıncına bağlıdır [24,26,27].

Glomerül kapillerleri oldukça geniştir ve ince bir endotel hücre katmanı ile döşelidir. Endotel hücre sitoplazması incedir ve organeller çekirdek çevresinde yoğunlaşmıştır. Sitoplazmanın kenar bölümü pencerelidir ancak pencereci kapillerlerin açıklıklarını kaplayan diyafram içermezler. Glomerül kapillerindeki pencereci endotel hücreleriyle, dış yüzeylerini örten podositler arasında 320 nm genişliğinde kalın bir bazal membran vardır. Bu membran idrar boşluğu ile kapillerdeki kanı birbirinden ayıran bir engeldir ve podositlerin bazal laminası ile endotel hücreleri bazal laminasının kaynaşmasıyla oluşur. Bazal lamina seçici bir filtre işlevi görür. Elektron mikroskopuyla incelendiğinde bazal membranda, lamina densa denilen elektron yoğun bir orta katman ve bu katmanın her iki yanında elektron geçirgen lamina rara bulunur. Lamina densa negatif yüklü bir proteoglikan olan ve katyonik moleküllerin geçişini engelleyen heparan sülfat içeren bir matriks içinde Tip IV kollajen ve lamininin oluşturduğu ağ şeklinde bir yapıdır. Fiziksel bir filtre olarak işlev görür. Lamina rara katmanında ise hücrelerin tutunmasında işlev gören fibronektin bulunur. Anyonik bölgelerin elektriksel engel oluşturması nedeniyle, seçici bir makromoleküler filtredir. Bazal laminadan 10 nm'den daha büyük partiküller geçemez. Molekül ağırlığı albumin molekül ağırlığından (69 kDa) fazla olan negatif yüklü proteinler ise membrandan eser miktarda geçerler [25-27, 29].

Erişkin bir kişide her iki böbreğe gelen kan, dakikada 1,2-1,3 L' dir. Bu vücutta dolaşan tüm kanın her dört-beş dakikada bir böbrekten geçmesi anlamına gelmektedir. Glomerül süzüntüsü, kanın hidrostatik basıncına yanıt olarak oluşur. Bu basınç, kolloidlerin oluşturduğu onkotik basınç ve Bowman kapsülü içindeki sıvıların hidrostatik basıncı ile dengelenir. İdrar (ultrafiltratın) bileşimi kan plazmasına benzer ancak glomerül duvarından makromoleküller geçemediğinden hemen hiç protein içermez [26,27].

Glomerül; Bowman kapsülü'nün visseral katını oluşturan podositler, pencereleli endotel hücreleriyle döşeli ancak diyafram kapsamayan glomerüler kapillerler ve mezengiyal matrikse gömülü mezengiyal hücrelerce oluşturulan mezangiyum olarak üç bileşenden oluşur.

Mezangiyum, glomerüler kapillerler arasında bulunan mezengiyal hücreler ve mezengiyal matriksten oluşan glomerül içi (intraglomerüler) bir yapıdır. Mezengiyal hücreler, makula densa ile afferent ve efferent arteriyollerle sınırlandırılan glomerül dışı bir bölgede de toplanırlar. Bunlara ekstraglomerüler mezengiyal hücreler denir. İntraglomerüler mezangiyal hücreler, ekstraglomerüler mezangiyal hücrelerle devam edebilirler [24,26-28].

Intraglomerüler mezengiyal hücreler, makrofajlar ve düz kas hücrelerinin özelliklerine sahip özelleşmiş perisitlerdir. Bazal membranı desteklerler ve bazal membran bileşenlerinin korunmasına yardım etmek için fagositik işlevleri vardır. Bu hücreler; kasılma, fagositoz yapma, çoğalabilme, matriks ve kollajen lif sentezleme, prostaglandinler ve endotelinler gibi biyolojik olarak aktif maddeleri salgılama erklerine sahiptirler. Endotelinler, afferent ve efferent glomerüler arteriyollerin kasılmasını uyarırlar. Mezengiyal hücreler, glomerüler süzme sürecine katılırlar ve bu süreçte; kasılabilme erkleriyle kan akışını düzenlerler, prostaglandin ve endotelinleri salgırlar, glomerüler kapiller için mekanik destek sağlarlar, fagositik erkleri ile glomerüler bazal lamina gereçlerinin dönüşümünü denetlerler ve anjiyotensin II' ye yanıt vererek glomerül içerisindeki kan akımını azaltırlar [26,29,30].

Glomerüler süzücü membranın her bölgesi kapillerle çevrelenmez. Süzme bariyerini geçemeyen komplement molekül ve immünoglobulinler, mezengiyal matrikse girebilirler. Matrikste immünoglobulin bileşikleri birikir ve mezangiyal hücrelerce glomerülusun tıkanmasına neden olan immün yanıt tetikleyici sitokinlerin üretimini artırır.

Böbrek tübülü

a) Proksimal kıvrıntılı tübül (Tubulus contortus proximalis, Pars kontorta)

Kortekste yerleşiktir. Böbrek cisimciğinin idrar kutbunda, pariyetal yaprağın tek katlı yassı epiteli proksimal kıvrıntılı tübül epiteli olan tek katlı kübik ya da prizmatik epitel ile sürer. Epitelin boyu lümendeki idrarın gerginlik derecesine ve hücrelerin işlev durumuna göre değişir. Bu kısım distal kıvrıntılı tübüllere karşın daha uzun olduğundan böbrek cisimciklerinin çevresinde daha sık görülür. Tübül epitel hücreleri çok sayıda mitokondriyon içerdiğinden sitoplazma asidofiliktir. Hücrelerin apikal yüzünde çok sayıda ki mikrovilluslar, fırçamsı kenar oluştururlar. Mikrovillusların tabanları arasında çok sayıda kanalcık bulunur ve bu kanalcıklar makromoleküllerin emiliminde etkin görev alırlar. Tübül lümeni genelde dar, yıldız şeklinde kıvrıntılı ya da uzundur. Lümeni çevreleyen 5-6 epitel hücresi birbirlerine interdigitasyonlarla tutunmuşlardır. Hücrelerin apikal sitoplazmasında uç zarların içe doğru yaptığı girintiler pinositotik vezikülleri oluşturur ve bu veziküllerin içinde glomerül süzgecinden geçen makromoleküller bulunur. Lizozomlarda makromoleküller parçalanarak pinositoz vezikülleriyle kaynaşırlar ve oluşan monomerler dolaşıma geri döner. Golgi kompleksi çekirdeğin üst ve yan kısmında yerleşiktir. Hücre çekirdeği merkeze yakın durur ve yuvarlak şekillidir [24-27].

Proksimal kıvrıntılı tübül hücrelerinde mitokondriyonlar gelişkin ve çok sayıdadır. Bazal sitoplazmada bazal hücre zarına dik olarak birbirine koştur sıralanmış uzun mitokondriyonlar bölgenin ince çizgili görünmesine neden olurlar. Na^+/K^+ ATPaz (sodyum potasyum pompası) Na^+ iyonlarının aktif olarak hücre dışına atılmasıyla yükümlüdür ve bazolateral zarlarda bulunur. Elektron mikroskop ile bazal hücre zarının sitoplazma içine doğru, intrasitoplazmik membranlar olarak adlandırılan katlantılar yaptığı görülür. Bu membranlar anastomoz yaparak, bazal sitoplazmayı içerisinde mitokondriyonlar bulunan bölmelere ayırırlar. Bölmeler ve mitokondriyonlar işlevsel birim oluştururlar. Bu düzenlenme aynı zamanda hücrenin tabanında yüzey alanını arttırır [25,26,29,30].

Proksimal kıvrıntılı tübülden; idrar boşluğundaki plazma ultrafiltratı, su, glukoz ve aminoasitlerin tamamı, sodyum klorürün (NaCl) %85' i, kalsiyum (Ca) ve fosfat (P)

emilir. Üre ve glukoz, taşıyıcı bir protein ile hücre zarını geçer. Su osmozis ile pasif olarak sıkı bağlantılar arasından yan hücrelerarası boşluğa iletilir. Süzüntüdeki glikoz miktarı proksimal tübülün emme yeteneğini aştığında idrar miktarı artar ve idrar glikoz içerir. Ek olarak, proksimal kıvrıntılı tübüller paraaminohippurik asit, penisilin gibi vücuda yabancı maddeleri ve kreatinin gibi maddeleri idrara geçirirler. Bu maddelerin salgılanma hızlarının incelenmesi, böbrek işlevinin klinik yönden değerlendirilmesinde önemlidir. Geri emilen maddenin önce hücrelerarası ortama ve oradan da peritübüler kapiller ağa girişi, bölme ve mitokondriyonlarca oluşturulan işlevsel birim ile gerçekleşir. Proksimal kıvrıntılı tübüller emilim işlevine uygun olarak bazı yapısal özellikler içerirler. Bunlar; iyi gelişmiş fırçamsı kenarlı bir üst apikal bölge, apikal tübüloveziküller ve lizozomlar, yoğun hücre zarı kıvrımları ve interdigitasyonları içeren bir bazolateral bölge, hücre zarı kıvrımları arasına yerleşik uzun mitokondriyonların varlığıdır [25,26,28,29].

b) Proksimal düz tübül (Tubulus rectus proximalis, Pars rekta)

Medullar uzantılar içinde ve dış meduller bölgede bulunan proksimal düz tübüller, Henle kulpu' nun inen kolunun başlangıç bölgesidirler. Proksimal kıvrıntılı tübüle karşın lümenleri daha geniştir. Lümeni çevreleyen epitel hücreleri kübik şekillidir ve apikal yüzdeki mikrovilluslar seyrelmiştir. Bazal kısımda intrastoplazmik membranlar neredeyse kaybolmuştur. Bu bölgede mitokondriyonlar yuvarlak şekilli ve az sayıdadır [24,28].

c) İnce parça (ara parça):

İnce parça, proksimal düz tübülü izler ve çapı diğer tübüllere karşın dardır. Henle kulpu' nun inen kolunun pars rektasından, distal tübülün düz parçasına kadar olan bölümü oluşturur. Böbreğin medulla katmanında bulunur. Lümeni tek katlı yassı epitelle döşelidir. Lümen geniştir. Epitel hücre sitoplazması çok ince olup sadece çekirdek içeren kısım lümene doğru kabarmıştır. Hücrelerde apikal yüzde kısa, düzensiz yerleşimli mikrovilluslar vardır. Mitokondriyonlar az sayıda ve yuvarlak şekillidir. Bazal intrastoplazmik membran içermez [24-26, 29].

d) Distal düz tübüller (Tubulus rectus distalis, Pars rekta):

Henle kulpu' nun çıkan kolunu oluşturur. Dış medullar bölge ve medullar uzantılarda bulunur. Duvarı tek katlı kübik epitelle döşelidir. Apikal sitoplazmada bol miktarda vezikül ve yuvarlak mitokondriyonlar vardır. Fırçamsı kenar içermez. Mikrovilluslar küçük olup seyrek dizilimlidir. Bazal intrasitoplazmik membran ve mitokondriyonlar belirgindir [24,28].

e) Distal kıvrıntılı tübül (Tubulus contortus distalis, Pars kontorta):

Henle kulpu'nun çıkan kalın kolu korteks katmanına girer, belli bir yolu kat eder, kıvrımlar oluşturur ve tek katlı kübik epitel ile döşeli distal kıvrıntılı tübül oluşur. Proksimal tübüle karşın daha kısa ve az kıvrıntılıdır. Lümeni geniş ve düzgündür. Distal ve proksimal kıvrıntılı tübüller kortekste bulunmalarına karşın, distal kıvrıntılı tübüller apikal yüzlerinde fırçamsı kenar ve apikal kanal içermezler. Apikal veziküller azdır. Hücreleri daha küçüktür ve açık renk boyanır. Distal tübül hücreleri proksimal tübül hücrelerine karşın daha küçük ve düz olduğundan distal tübülde daha fazla sayıda çekirdek görülür. Distal kıvrıntılı tübül hücreleri iyon geçişinde işlev gösterdiğinden daha ince intrasitoplazmik membranlara ve bunlara eşlik eden iyi gelişmiş, koşut dizilimli mitokondriyonlara sahiptirler [24,29,30].

Distal kıvrıntılı tübüller korteks katmanında izledikleri yol boyunca kendi nefronlarına ait böbrek cisimciğinin damar kutbu ile değinirler. Bu bölgede distal tübül ve afferent arteriyol yapısal olarak farklılaşır. Distal kıvrımlı tübül epitel hücreleri sık olarak dizilen dar ve yüksek boylu hücrelerden oluşan prizmatik epitele dönüşür ve çekirdekleri bir araya toplanır. Bu kısım hücrelerin yüksekliği ve çok sayıda hücre çekirdeği olması nedeniyle lümene çıkıntı yapan yoğun bir plak oluşturur. Golgi kompleksi hücrenin bazal bölümünde yerleşiktir. Hücre çekirdeklerinin yakın yerleşimi nedeniyle daha koyu görünen bu distal tübül segmenti "makula densa" olarak isimlendirilir. Makula densa hücreleri tübül içi sıvıda klorür iyon (Cl⁻) içeriğine ve su oylumuna duyarlıdır. Dolaşıma renin salgılanmasını başlatan moleküler sinyaller üretirler [24-26].

Distal kıvrıntılı tübüllerde aldosteron yoğunluğu yüksek olduğunda sodyum iyonu (Na^+) emilir ve potasyum iyonları (K^+) dışarı verilir. Bu düzenek vücudun toplam tuz ve su içeriğini etkiler. İdrara hidrojen ve amonyum iyon salınımı distal tübülde gerçekleşir. Bu işlev kandaki asit-baz dengesinin korunmasında oldukça önemlidir [26,27].

f) Toplayıcı tübül ve kanallar:

Distal kıvrıntılı tübüller toplayıcı tübüllere, bunlar da birbirlerine bağlanarak daha büyük ve düz şekilli toplayıcı kanallara açılırlar. Bertini papiller kanalları olarak isimlendirilen bu kanallar medulla piramitlerinin uçlarına doğru gittikçe genişler. Küçük toplayıcı tübüller, yaklaşık 40 μm çapında kübik epitel hücrelerinden oluşur. Medullanın derinliklerine indikçe toplayıcı tübül hücrelerinin boyları uzar ve çapları 200 μm ' ye varan prizmatik epitel hücreleri bulunur. Medulla piramitlerinin ucuna yakın toplayıcı kanalların çapı artar, dar açılar oluşturarak birleşirler ve duktus papillarisleri oluştururlar. Bu yapılar da kalikslere ve pelvis renalise açılır. Toplayıcı tübül ve kanal hücreleri açık renk boyanırlar. Sitoplazmalarında organel kapsamı azdır [26,28,30].

Toplayıcı tübül esas hücreler ve interkalat hücreler olarak iki hücre tipinden oluşur. Esas hücrelerin organel içeriği az olduğundan sitoplazmaları daha soluk renklidir. Oval ve merkezi yerleşimli çekirdekleri, seyrek mikrovillus, az sayıda katlantı ve mitokondriyon içeren bazolateral yüzü vardır. Na^+ ve suyu geri emerler ve Na-K ATPaz pompasına bağımlı durumdaki K^+ u salgırlar. İnterkalat hücreler H^+ iyonu ya da HCO_3^- ı salgılayarak, asit-baz dengesinin önemli düzenleyicileridir. Bu hücreler daha fazla organelle sahip olup yoğun sitoplazmalıdır. Sayıları esas hücrelere karşı azdır. Apikal hücre zarında küçük mikropalakalar, apikal kısımda 50-200 nm çapında çok sayıda vezikül ve oldukça fazla mitokondriyon içerirler. Hücre çekirdekleri yuvarlak ve merkezi yerleşimlidir [29,30].

2.3.2. Jukstaglomerüler aparat

Böbrek cisimciğinin hemen bitişiğinde, afferent arteriyolün tunika media katmanında değişmiş düz kas hücreleri bulunur. Bu hücrelere jukstaglomerüler (JG) hücreler denir. Bu hücrelerin bulunduğu yerde afferent arteriyolün membrana

elastika internası görülmez. JG hücre çekirdeği oval şekillidir. Sitoplazmalarında PAS (+) boyanan salgı granülleri bulunur ve kan basıncının korunmasında işlevsel bir enzim olan renin salgırlarlar. Distal kıvrıntılı tübüllerde bulunan makula densa, JG hücrelerin bulunduğu afferent arteriyole oldukça yakındır. Jukstaglomerüler hücreler ve makula densa bir arada jukstaglomerüler aparatı oluşturur. Jukstaglomerüler aparatta ayrıca açık renk sitoplazmalı ve glomerül dışı mezengiyal hücreler (Lacis hücreleri ya da Polkissen hücreleri) olarak adlandırılan hücreler bulunur. JG hücreler elektron mikroskopta incelendiğinde sitoplazmalarında iyi gelişmiş Golgi kompleksi, bol miktarda gelişkin granüllü endoplazmik retikulum tubulusları ve 10-40 nm çaplı renin içeren salgı granülleri bulunur [24,26,27,29].

JG hücrelerce salgılanan renin, karaciğerde üretilen bir plazma proteini olan Anjiyotensinojen' i inaktif dekaeptit olan Anjiyotensin I' e dönüştürür. Anjiyotensin I, akciğer endotel hücrelerinde yüksek yoğunlukta bulunan dönüştürücü bir enzimin (ACE) etkisiyle, iki aminoasitini yitirir ve etkin vazopresif bir oktaeptit olan Anjiyotensin II' ye dönüşür. Anjiyotensin II üretimi ile arteriyoller daraltılır ve aldosteron salgısı artarak kan basıncının düşmemesi sağlanır. Aldosteron böbrek tübül hücrelerine etki ederek sodyum ve klor iyon geri emilimini artırır. Bu durumda sıvı oylumu artar ve kan basıncı yükselerek hipotansiyon düzenlenir [25,26,29].

2.3.3. Böbrek ara dokusu (intersitisyum)

Korteks ve medulla katmanlarında idrar tübüleriyle kan ve lenf damarları arasındaki boşlukları doldurur. Bu bölgelerde özelleşmiş intersitisyel hücreler bulunur. Kortekste kan damarlarının çevresinde izlenirler. Medulla katmanında daha yoğundurlar. Medulladaki hücreler tübül eksenine koşut yerleşmiş olup, ara madde ve prostoglandin üretirler [24,28].

2.4. Böbrek Fizyolojisi

Böbreklerin işlevi vücudu, dışarıdan alınan ya da içeride metabolizma sonucu oluşan atıklardan arındırmaktır. Bu işlevini gerçekleştirirken iç ortam kimyasal bileşenlerini denetleyerek homeostazisi sağlar [31].

Başlıca aktif ve pasif emilim, filtrasyon ve salgılama gibi bir dizi işlem aracılığıyla vücut sıvılarının bileşim ve oylumunu denetlerler. Vücuda alınan ve vücutta açığa çıkan su ve elektrolit miktarları arasındaki denge, önemli ölçüde böbreklerce sağlanır.

Böbreğin en önemli işlevi filtrasyondur. Vücudun gereksinimine göre maddeleri filtrat ile değişik hızda uzaklaştırır. Filtrasyon, kan plazması ultrafiltratının süzülmesiyle gerçekleşir. Nefronun tübül kısımlarından özellikle proksimal kıvrımlı tübüller, filtrat içindeki vücut metabolizmasına yararlı olan maddeleri emer. Bu şekilde iç ortamdaki homeostazisin sürekliliğini sağlar. Uzun süreli açlıkta, glukoneogenez de yaparak kan glukoz düzeyine katkıda bulunur [31-34].

2.4.1. Böbrek' in işlevleri

a) Yabancı maddelerin ve metabolik yıkım ürünlerinin atılması: Metabolizma sonucu oluşan kreatinin, ürik asit, üre, bilirubin gibi atık ürünlerin ve hormon metabolitlerinin hızlı bir şekilde organizmadan uzaklaştırılmasını sağlar. Böbrekler ayrıca toksinleri ve organizmada yapılan ya da ilaç, pestisit ve besin katkı maddeleri gibi dışarıdan alınan yabancı maddeleri de atar. Vücut için zararlı olan ve idrarla atılan maddelerin kandan tübül lümenine geçmesini sağlayan tübüller, homeostazise önemli ölçüde katkı sağlarlar [32,33].

b) Su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi: Böbreklerin esas işlevi, vücuttaki su ve inorganik maddeleri dengede tutarak bunların hücre dışı sıvıdaki yoğunluklarını sabit tutmaktır. Homeostazisin sürekliliği için elektrolitlerin ve suyun atılması ile alınan miktarları arasında tam uyum olmalıdır [32].

c) Asit-Baz dengesinin düzenlenmesi: Böbrekler H^+ iyonunun uzaklaştırılması ve HCO_3 yoğunluğunun denetiminde önemli işlev görür. Vücut sıvılarının tampon stoklarını düzenler ve akciğer ile birlikte asit-baz dengesinin ayarlanmasına katkıda bulunur. Protein metabolizmasından türeyen fosforik ve sülfürik asit gibi uçucu olmayan toksik asitlerin de uzaklaştırılmasında önemlidir [31-33].

d) Arteriyel kan basıncının düzenlenmesi: Böbrekler, arteriyel kan basıncını H_2O ve Na^+ dengesini sağlayarak ayarlar. Sodyum dengesi, kalp atımının ve uzun

evrede arteriyel direncin kritik belirleyicisidir. Böbrekler ayrıca kan basıncının düzenlenmesinde protein, enzim ve peptitlerden oluşan bir hormon bileşkesi olan renin-angiotensin sisteminde endokrin bir organ gibi işlev görürler [32].

e) Hormon üretimi ve salgılama: Böbrekler renin, eritropoietinin üretim ve salınımını yapan önemli endokrin organlardır. Renin salgısıyla, renin-angiotensin sistemini uyararak, kan basıncını düzenlerler. Eritropoietin salgılayarak kemik iliğinde eritrosit yapımını uyarırlar. Kronik böbrek yetersizliğinde eritropoietin üretiminin azalması ve kemik iliği erkinin düşmesi önemli anemi nedenlerinden biridir [31,32].

f) 1,25-Dihidroksi vitamin D3 yapımının düzenlenmesi: Böbrekler, bu vitaminin birinci şekline bir hidroksil ekleyerek vitamin D' nin aktif şekli olan 1,25-dihidroksi vitamin D3' ü (kalsitriol) oluştururlar. Kalsitriol kemiklerde normal kalsiyum depolanması ve mide-bağırsak sisteminden kalsiyum emilimi için gereklidir. Buna ek olarak, kalsiyum ve fosfat iyonlarının düzenlenmesinde önemli işlevi vardır. Böbrek yetmezliğinde kalsitriol yapımı düşeceğinden, kalsiyum emiliminin azalışına koşut olarak, anormal kemik oluşumu görülür [32].

g) Glikoz üretimi: Karaciğer ve böbrek hücreleri, glukoneogenesis için gerekli işlevsel erke sahiptir. Bu hücrelerin mitokondriyonlarında başlayan süreç, hücre sitoplazmasında sonlanır. Uzun süreli açlıkta, böbreklerin kana glikoz ekleme erki neredeyse karaciğer ile eşdeştir. Akut böbrek yetersizliğinde ya da kronik böbrek hastalıklarında bu işlev bozulmakla birlikte vücut sıvı oylumu ve bileşiminde şiddetli bozukluklar oluşur [31,32].

2.4.2. İdrar oluşumu

Plazmadaki maddelerin idrarla atılma hızları; glomerüler filtrasyon, maddelerin böbrek tübüllerinden geri emilimi, kandan maddelerin böbrek tübüllerine salınma işlemlerinin tamamını kapsar. İdrarla atılma hızı = Filtrasyon hızı –Geri emilim hızı + Salınım hızı formülü ile hesaplanır. Bir maddenin idrarla atılma hızı bu üç esas böbrek işlevinin hızlarına bağlıdır [31,32].

İdrar oluşumu, fazla miktarda proteinsiz sıvının glomerüler kapillerden Bowman kapsülü içine süzülmesi ile başlar. Proteinler dışında plazmada bulunan çoğu madde serbestçe Bowman kapsülü içine süzüldüğü için, glomerüler filtrattaki madde yoğunluğu plazmadaki ile eşdeştir. Süzülen sıvı Bowman kapsülünden çıkıp, tübüller boyunca ilerlerken içindeki bazı çözünmüş maddelerin ve suyun emilerek kana geri geçmesi ya da atık maddelerin peritübüler kapillerden tübül içine salgılanması nedeni ile değişikliğe uğrar.

İdrar oluşumunda tübüler geri emilim çok seçici ve önemlidir. Glikoz ve aminoasitler gibi yapıtaşları bazı maddelerin tümüne yakını tübüllerden geri emilir, idrarla atılma hızları sıfırdır. Tübüler geri emilimde pasif ve aktif düzenekler yer alır. Plazmadaki sodyum, klorür ve bikarbonat gibi birçok iyon da, oldukça yüksek geri emilime uğrasa da geri emilim ve idrarla atılma hızları vücudun gereksinimine göre düzenlenir. Buna karşın üre, ürik asit ve kreatinin gibi yıkım ürünleri tübüllerden çok az emilir ve fazla oranda atılırlar. Maddelerin birçoğunun süzülme ve geri emilim hızları, atılma hızlarından fazladır. Süzülme ya da geri emilimde çok küçük bir değişiklik maddelerin uzaklaştırılmasında büyük değişimlere neden olabileceğinden, birbirleri ile uyumlu çalışırlar.

Glomerüler kapillerler proteinlere geçirimsiz olduğundan glomerüler filtrat denen filtrasyon sıvısı esas olarak proteinsizdir ve eritrositleri de kapsayarak hücresel yapı içermez. Kalsiyum ve yağ asitleri gibi bazı küçük molekül ağırlıklı maddelerde, proteinlere kısmen bağlı olduklarından serbestçe süzülemezler [32,33].

2.4.3. Böbrek kan akımı

Ortalama 70 kg'lık bir insanda iki böbreğin toplam ağırlığı, vücut ağırlığının %0,4' ünü oluşturur ve diğer organlara karşın oldukça fazla kanlanırlar. Böbreğin kan akımı kalp debisinin %22' si kadardır ve yaklaşık dakikada 1200 ml' dir. Kan akımının bu kadar fazla olmasının nedeni, vücut sıvı oylumunu ve madde yoğunluklarını tam olarak ayarlama gereken yüksek glomerüler filtrasyon hızı için gerekli plazmayı sağlamaktır [31,32].

Böbrek kan dolaşımı, glomerül ve tübüler kapiller yataklarını içeren özel bir dolaşımdır. Hidrostatik basıncın ayarlanmasında etkin olan efferent arteriyol ile birbirlerinden ayrılırlar. Glomerül kapillerindeki yüksek hidrostatik basınç, sıvının hızlı süzülmesine neden olur. Peritübüler kapillerde çok düşük olan hidrostatik basınç, sıvının hızlı geri emilimini sağlar. Böbrekler afferent ve efferent arteriyollerin direncini düzenleyerek, glomerüler ve peritübüler kapillerde hidrostatik basıncı ayarlar. Bunun sonucunda vücudun gereksinimine göre glomerüler süzüş hızını ya da tübüler geri emilimi değiştirirler [33].

2.4.4. Glomerüler filtrasyon hızını (GFR) belirleyen faktörler ve GFR' nin fizyolojik denetimi

Fizyolojik denetim ereğiyle kullanılan ve en değişken olan GFR belirleyicileri glomerüler hidrostatik basınç ve glomerüler kapiller kolloid osmotik basınçtır. Bu değişkenler ise sempatik sinir sistemi, hormonlar, otokoidler (böbreklerden salgılanan ve yerel olarak etki eden vazoaaktif maddeler) ve böbrek içindeki farklı geri bildirim denetiminden de etkilenirler [32].

Glomerüler kapiller yatağın sıvı geçirgenliğini ve yüzey genişliğini ölçen değer olan glomerüler kapiller sabitinin (Kf) artması, filtrasyon hızını artırır. Hipertansiyon ya da diabetes mellitusta glomerüler kapiller membran kalınlığı artar, sıvı geçirgenliği ve Kf değeri de azalır. Bunun sonucunda kapillerlerde şiddetli hasar oluşur ve kapiller işlevinde tümüyle ya da önemli ölçüde yitim görülür. Bowman kapsülünde hidrostatik basınç artışı ise GFR' yi azaltır. İdrar yolları tıkanıklığı ile ilişkili bazı patolojik koşullarda, Bowman kapsül basıncı artarak GFR' nin düşmesine neden olur. Glomerüler kapillere giren plazmanın normal kolloid osmotik basıncın artması, GFR' yi düşürür. Buna ek olarak arter basıncı, afferent ve efferent arteriyol direnç gibi değişkenler kapiller hidrostatik basıncı düzenler. Bu basıncın artışı ise GFR' ni artırır [32].

Böbrek damarları sempatik sinir liflerinden zengindir. Bu sinirlerin kuvvetli uyarımı böbrek arteriyollerini daraltarak böbrek kan akımı ve GFR' yi düşürür. GFR ve böbrek kan akımına etki edebilen birçok hormon ve otokoid vardır. Böbreküstü bezi medullasından salgılanan norepinefrin, afferent ve efferent arteriyolleri

daraltır, GFR ve böbrek kan akımında düşüşe neden olur. Damar daraltıcı erke sahip olan endotelin, diğer dokular gibi böbrek damarlarının hasar görmüş endotel hücrelerinden salgılanan bir peptiddir. Anjiyotensin II' de güçlü bir damar daraltıcıdır. Yerel olarak üretilen bir otokoid olduğu kadar dolaşan bir hormon olarak da kabul edilir. Anjiyotensin II efferent arteriyolleri daralttığı için, artan anjiyotensin II düzeyleri glomerüler hidrostatik basıncı artırır, GFR' nin azalmasını önler ve böbrek kan akımını azaltır. Endotelden kaynaklanan nitrik oksit, tüm vücut damarlarının endotelinden salgılanan, damar direncini azaltan ve GFR' yi artıran bir otokoiddir. Prostaglandinler (PGE2 ve PGI2) ve bradikinin, damar genişletici, böbrek kan akımını ve GFR' yi arttıran diğer hormonlar ve otokoidler arasında yer alır. İlaçlar ya da ağır metallerle oluşan proksimal tübül hasarlarında, tübülün geri emme erki azalır ve böbrek damarları daralır [32-34].

2.4.5. Böbrek tübüllerinde geri emilim ve salgılama

a) Proksimal tübülde geri emilim ve salgılama: Süzülen glikoz ve amino asitlerin tümü, su ve sodyumun yaklaşık %65' i ve klorür, bikarbonat ve potasyumun daha az miktarı proksimal tübülden geri emilir. Safra tuzları, okzalat, ürat gibi organik asitler, bazlar ve hidrojen iyonları geri emilmeyerek proksimal tübülden lümene salgılanır ve idrarla hızla atılırlar [31,32].

b) Henle kulpundan geri emilim ve salgılama: Henle kulpunun inen kolu suya çok fazla, üre ve sodyuma orta derecede geçirgendir. Filtre olan suyun %20' si henle kulpundan geri emilir. Çıkan ince ve kalın henle kolları suya geçirgen olmadıklarından, idrarın yoğunlaştırılmasında önem kazanırlar. Henle kulpu' nun çıkan kalın kolunda sodyum, klorür ve potasyumun %25' i aktif olarak geri emilir.

c) Distal tübülde geri emilim ve salgılama: Geri emilim özellikleri henle kıvrımının çıkan kalın kolu ile oldukça benzerdir. Distal tübüller sodyum, potasyum ve klorür gibi iyonları geri emerken, su ve üreye karşı geçirgen değildir. Tübüler sıvı burada seyreltildiği için seyreltici bölge adını alır.

d) Distal tübülün son kısmı ve kortikal toplayıcı tübülde geri emilim ve salgılama: Distal tübülün ikinci yarısı ve onu izleyen toplayıcı tübülün işlevsel özellikleri eşdeğştir. Esas hücreler lümenden sodyum ve suyu geri emerken, lümene

potasyum salgırlarlar. İnterkalat hücreler potasyum iyonunu geri emer ve hidrojen iyonlarını salgılar.

e) Medüller toplayıcı kanalda geri emilim ve salgılama: Medüller toplayıcı kanallar süzülen su ve sodyumun %10' dan az miktarını geri emerler. Suya karşı geçirgenlikleri antidiüretik hormon ile denetlenir. Üreye geçirgendir ve idrarı yoğunlaştırma erkine katkıda bulunurlar. Hidrojen iyonlarını salgılama yeteneğine sahiptirler. Asit-baz dengesinin düzenlemesinde önemli işlev görürler [31,32].

2.4.6. Tübüler geri emilim denetimi ve düzenlenmesi

Glomerüler filtrasyon ile tübüler geri emilim arasında var olan dengenin korunması gerekir. Bu nedenle tübüler geri emilimi düzenleyen sinirsel, hormonal ve bölgesel yollar vardır. Bazı maddelerin geri emiliminin hormonal denetimle bağımsız düzenlenebilmesi, tübüler geri emilimin önemli bir özelliğidir.

Böbreküstü bezi korteksi zona glomerüloza hücrelerinden salgılanan aldosteron hormonu, henle kulpu' nun çıkan kolunda, distal kıvrıntılı ve toplayıcı tübülde sodyum geri emilimini uyarır. Potasyum salgılanmasının önemli düzenleyicisidir. Aldosteron salınımı anjiyotensin II ve K^{+} un plazma yoğunluğundaki artışı ile uyarılır. Bu hormon kortikal toplayıcı tübüllerin esas hücrelerine etki eder. Anjiyotensin II en güçlü sodyum tutucu hormondur. Kan basıncı düşmesi ya da hücre dışı sıvının azalması ile birlikte olan hemoraji (kanama), vücut sıvılarından su ve tuz yitimi gibi koşullarda renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi uyarılır ve anjiyotensin II yapımı artar. Artan anjiyotensin II, üç esas etki ile proksimal kıvrıntılı tübüllerden su ve sodyum geri emilimini artırır ve kan basıncı ile hücre dışı sıvı miktarının normale dönmesini sağlar. Bu etkilerden biri aldosteron salgısını uyararak, sodyum geri emilimini artırmaktır. İkincisi, efferent arteriyolları daraltarak sodyum ve su geri emilimini artıran peritübüler kapiller dinamiğini etkilemek ve sonuncu olarak proksimal tübülden doğrudan sodyum geri emilimini uyarmaktır. Buna ek olarak distal tübül, toplayıcı tübül ve toplayıcı kanal epitellerinde suya karşı geçirgenliği artırır. Atrial natriüretik peptid düzeylerinin artması özellikle toplayıcı kanallardan olmak üzere böbrek tübüllerinden sodyum ve su geri emilimini baskılar. Sodyum ve su geri emiliminde düşüş, idrar miktarını artırarak

kan oylumunun normale dönmesine yardımcı olur. Bu hormon ayrıca nörohipofizden ADH (vazopressin) salınımını engeller. Ürodilatin, atriyal natriüretik faktör ile aynı genle kodlanır ve benzer aminoasit dizilimi kapsar. Distal kıvrıntılı tübül ve toplayıcı tübülün medulladaki kısmından NaCl ve suyun geri emilimini engeller. Ürodilatin, natriüretik faktör' e karşın daha kuvvetli bir natriüretik ve diüretik hormondur. Antidiüretik hormon (ADH, vazopressin), su dengesinin düzenlenmesinde önemlidir. ADH, hipotalamus' un supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerinde yerleşik nöroendokrin hücrelerden sentezlenir. Hücre dışı sıvı oylumu azaldığında, toplayıcı tübülün suya geçirgenliğini artırır. ADH hormonu eksikliğinde, toplayıcı tübül suya geçirgen değildir. Paratiroid hormonun böbreklere başlıca etkisi, tübüllerden kalsiyum geri emilimini artırmaktır [26, 31-34].

Sempatik sinir sistemi uyarımı ile efferent ve afferent arteriyoller daralır ve GFR' nın düşmesi ile sodyum ve su atılımı azalır. Sempatik uyarım, proksimal tübülde ve Henle kolunun çıkan kalın bölümünden sodyum geri emilimini artırır. Sempatik sinir sistemi uyarılması, renin ve anjiyotensin II yapımını artırır [32].

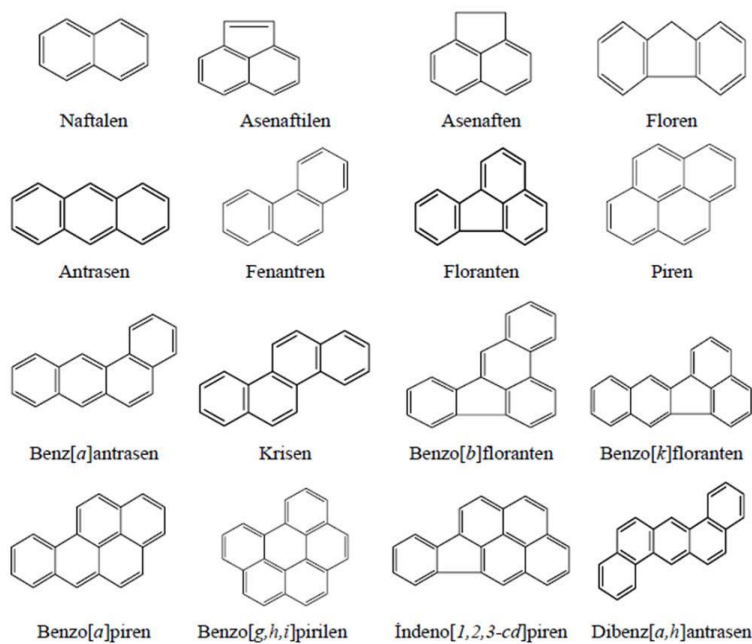
2.5. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH)

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) hidrojen ve karbon atomlarının oluşturduğu iki ya da daha fazla kaynaşmış halkalı yapıda zincir içeren organik bileşiklerdir. Kömür, petrol, odun ve sigara dumanında ve mangalda pişirilen etler gibi organik maddelerin yanma sürecinde şekillenirler. PAH grubu bileşiklerden molekül ağırlığı en düşük olanı iki benzen halkasının birleşmesi ile oluşan naftalindir. PAH' ların benzen, naftalen ve piren olarak üç ailesi tanımlanmıştır [35].

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar renksiz, beyaz ya da sarı-yeşil renklidir. PAH' lar yüksek erime ($66-439^{\circ}\text{C}$) ve kaynama ($96-218^{\circ}\text{C}$) noktaları içerirler. Fiziksel halleri yapılarındaki aromatik halka sayısına göre değişir ve oda sıcaklığında katı maddelerdir. Sudaki çözünürlükleri çok azdır ve molekül ağırlığının artmasına koşut olarak sudaki çözünürlükleri azalır. Bu nedenle molekül ağırlığı düşük olan PAH' ların biyolojik sistemler üzerindeki etkileri daha fazladır. Molekül ağırlığı yüksek

olan PAH' ların uçuculuğu oldukça azdır. PAH' lar partiküller ve organik materyallere yüksek çekicilik gösterirler. Lipofilik yapıdadırlar. Bu nedenle çoğu organik çözücülerde çözünebilirler ve aynı zamanda, besinsel taşınma sürecinde biyoçözünürlük için yüksek erktedirler [36].

PAH' lar ilk olarak Londra' lı bir cerrah olan Percival Pott' un baca temizlikçilerinde görülen deri kanseri olgularını araştırdığı 1775 yılında tanımlanmıştır. On dokuzuncu yüzyılın ikinci yarısı ve yirminci yüzyılın başlarında, farklı iş yeri koşullarında is nedeniyle deri kanseri oluşumunun PAH bileşiklerinden kaynaklandığı doğrulanmıştır. Yamagiwa ve Ichikawa 1915' te insan bulgularını deney hayvanları üzerinde oluşturmuş ve tavşanlara kömür katranı bileşenleri uygulamışlardır. Tavşan kulakları epitel hücrelerinde kötücül urlar oluşturmayı başardıkları bu çalışma PAH' lara ilişkin modern kanser araştırmalarının başlangıcı olmuştur. Bu tarihten günümüze değin PAH' lar ve içerikleri ile ilgili bir çok çalışma gerçekleştirilmiş olup, araştırmalar halen sürdürülmektedir. PAH' ların akut toksik etkiler gösterdikleri ve teratojenik, mutajenik ya da karsinojenik özelliklere sahip oldukları bilinmektedir. Çevredeki kalıcılıkları moleküler boyut artışına koşut olarak artmaktadır [1].



Şekil 2.1. Önemli polisiklik aromatik hidrokarbon bileşikleri ve kimyasal yapıları

PAH' ların genotoksisitesi en az dört beş benzen halkalı bazı örneklerde artar. Üç halkalı penantreninin tortulardaki yarı ömrü 16 günden 126 güne değin değişim gösterirken, beş halkalı benzo(a)piren' in toprak ve tortulardaki yarı ömrü 14 ay ila 10 yıl arasında değişim gösterebilir [37].

Polisiklik aromatik hidrokarbon kaynakları doğal ve yapay olarak ikiye ayrılır. Çevrede geniş ölçüde ve aynı anda her yerde bulunması nedeniyle, kaynağına göre PAH' ları saptamak oldukça güçtür. PAH kaynaklarını sınıflandırmak için kabul edilen diğer bir yöntemeye göre petrol, biyolojik ve yangın kaynaklı PAH' lar olarak üçe ayrılırlar. Petrol kaynaklı PAH' lar petrolden elde edilir ve genelde su, hava ve ham petrol gibi çözünmüş organik maddelerden sucul ortama geçer. Biyolojik kökenli PAH' lar bitkilerin oluşum sürecinden başlayarak doğal biyolojik olaylar sonucunda oluşur. Volkanik patlamalar, orman yangınları ve çürümüş bitki atıklarından oluşan yangınlar doğal PAH kaynakları olarak bilinmektedir. Kendiliğinden oluşan ham petrol yangınları da bu grupta değerlendirilebilir. Doğal kaynaklar bu gibi süreçlerde büyük miktarda PAH üretirler. Geniş çapta PAH üretimi, insan uğraşları sonucunda ortaya çıkar. Bunlar hareketli ve durağan kaynaklar olarak iki kısımda incelenirler. Hareketli kaynaklar araç yakıtları ve dizel motorların ürettiği kirliliktir. Durağan kaynaklar ise konut ısınmaları, alüminyum ve kömür imalatı gibi endüstriyel erkler, fırınlama ve enerji üretimi gibi uğraşlar sonucunda atmosfere karışır. Atmosferdeki PAH kaynaklarının dağılımı coğrafik konum, nüfus, yerel iklim koşulları, yayılım hızı gibi etkenlere bağlıdır. Yangın kökenli PAH' lar yakıtların tam yanmaması sonucunda, is gibi yanma ürünleriyle birlikte oluşur ve tanecik olarak çevreye yayılır. Yangın kökenli oluşan PAH' ların başında antrasen ve benzo(a)piren gelir [38,39].

İnsanlar bu bileşiklere tam yanmamış bitki ve canlı atıkları, hayvansal atıkların yanması, sigara dumanı, petrol rafinerileri, atık su depoları, asfalt, metalürji, alüminyum üretimi, ham petrolün katalitik bozunması, termik santraller, fosil ve katı yakıt fırınları aracılığı ile etkin kalır. Pestisit, boya ve ilaçların sentezinde ise endüstriyel erekli olarak, düşük miktarlarda üretilirler. Bu ürünler arasında antrasen, naftalen, karbazol, fenantren ve piren gibi kimyasallar yer alır. En yüksek atmosferik PAH tanecik derişimi, araç trafiğinin ve atmosferik kirleticilerin yoğun olduğu kent merkezlerindedir. Araçlardan salınan partiküller, kömürden salınanlara

karşın daha küçüktür ve bu nedenle solunum yoluyla bunlara daha sık etkin kalınır. Kent atmosferinde oldukça bol miktarda bulunan gaz halindeki PAH bileşenlerinin kanser oluşturma ya da mutajen etkisi düşük olsa da, diğer kirlilik yapıcı maddelerle tepkimeye girerek daha toksik türevlere dönüşürler. Böylelikle insanlar tek bir PAH bileşeni yerine birçok maddeye birden etkin kalırlar [40,41].

Uzun süreli kapalı ortamlarda bulunan insanlar havadaki partiküler maddelere etkin kalır. İnsan sağlığı ile ilgili partiküllerin çapı 2,5 μm ' den daha küçüktür. Bu ince partiküllerin üzerine kimyasal reaktivitelere ve atmosferik koşullara koşut olarak birçok PAH bileşiği yavaşça emilir. Bu şekilde uzak yerlere taşınıp kirlilik oluşturabilir. Yanmanın bir sonucu olarak PAH partikülleri 1 μm ' den daha küçük boyutlarda olabilir. İki ve üç halkalı bileşikler atmosferde gaz halinde bulunurken, beş halkalılar katı partiküller halinde, dört halkalı PAH' lar ise atmosfer sıcaklığına da koşut olarak gaz ve katı partikül arası bir evrede bulunur [41].

Lipofilik özellikte olmaları nedeniyle akciğer, mide-bağırsak sistemi ve deri epiteli ile emilir ve kan dolaşımı ile dokulara yayılırlar. Dokularda faz I metabolik enzimleri ile kimyasal reaktif araçılara değişimleri olaylanır. PAH' lar ilk aşamada epoksit, fenol ve dihidrodiol' lerin şekillenmesi için oksitlenirler. Bu metabolitler daha sonra faz II enzimlerince glutasyon, sülfat ya da glükoronik asitlere bağlanarak daha kutuplaşmış bir yapı kazanır ve suda çözünebilen metabolitlere dönüşürler. Bu yolak ile metabolize olan birçok PAH birleşliği etkinliğini yitirmesine karşın, bazıları DNA' ya bağlanan türleri uyararak kanser oluşumuna neden olabilirler. PAH' ların karsinogenik erkleri, geçirdikleri metabolik tepkimeler ve aynı zamanda bunlara etkin kalan kişinin genetik yapısı ile ilişkilidir. PAH metabolitleri ve onların konjugatları idrar ve dışkı ile vücuttan hemen uzaklaştırılır. Esas olarak dışkı ile uzaklaştırılan PAH' ların sadece %10'u idrar ile atılır. Vücuttaki depolanma bölgeleri yağ doku, böbrekler ve karaciğerdir [40].

PAH ve bu bileşikleri içeren karışımların tümör ve kanser oluşumuna etkisi hakkında deney hayvanlarına yapılan birçok çalışma bulunmasına karşın insanlarla ilgili çalışma sayısı oldukça azdır. Çalışmalar sonucunda özgül PAH' ların bazılarının kanserojen olduğu, bazılarının ise bu etkiye sahip olmadığı bildirilmiştir. Çeşitli bileşiklerin yüksek ve tek dozda, kemirgenler üzerinde öldürücü

etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Mesleki koşullar nedeniyle PAH' lara kısa süreli etkin kalmanın öldürücü olduğuna ait veri bulunmamasına karşın gözlerde iritasyon, ışığa duyarlılık, dermatid gibi deri toksisitelerine neden oldukları bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda çeşitli PAH' lara akut olarak ağız yolu ile etkin kalma sonucunda mide-bağırsak tümör mukozalarındaki enzimlerde değişiklik ve akciğer ağırlığında azalma rapor edilmiştir. Kanserojenik PAH' ların kemirgenlerde immün sistemi baskıladığı, oksidatif strese neden olduğu, endokrin düzenleme ve gelişimi etkilediği bildirilmiştir. PAH' lar aril hidrokarbon hidroksilaz (AHH) sisteminde metabolize edildiğinde diol epoksitler oluşur. Bunlar DNA ile etkileşerek genotoksik hasarı uyarırlar. Bu yolak ile metabolize edilen PAH' lar genotoksik olarak kabul edilirler. Kanseri oluşumu sürecinde genotoksik olay gerekli bir aşama olup çeşitli gelişimsel toksisitede rol alır [40,41].

PAH' lara uzun süreli (kronik) etkin kalma kanser, katarakt, böbrek ve karaciğerde hasar ve sarılığa neden olabilir. PAH' ların neden olduğu sağlık sorunları Uluslararası Kanseri Araştırma Kurumu (IARC), evre Koruma Kurumu (USEPA), Ulusal Toksikoloji Programı (NTP) ve Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Kurumu (ATSDR) gibi çeşitli sağlık ve evre koruma temsilciliklerince değerlendirilmiştir. IARC ve USEPA tarafından çeşitli PAH' ların hayvanlarda ve benzo(a)piren gibi bazı zengin PAH karışımlarının insanlarda kanserojenik olduğu bildirilmiştir [2].

2.6. Benzo(a)piren (BAP)

Benzo(a)piren (3,4- benzopiren, BAP) beş halkalı polisiklik aromatik hidrokarbondur. Kimyasal formülü $C_{20}H_{12}$, moleküler ağırlığı 252,31 g/mol, kaynama noktası 495 °C, erime noktası 179 °C, yoğunluğu 1,24 g/cm³ dür. Açık sarı renkli, kokusuz, toz ya da kristal halindedir. Benzo(a)piren benzen, tolüen ve ksilende çözünür; alkol ve metanolde kısmen çözünür, ancak suda özünmez. Yarı ömrü atmosferde 1-6, suda 1-8 saat, toprakta 14-16 aydan daha fazla, ökeltelerde ise 5-10 yıldır [42]



Şekil 2.2. Benzo(a)piren' in kimyasal yapısı

BAP fosil yakıtların tam olarak yanmaması ve organik maddelerin yanma süreçleri sonucunda oluşur. Başlıca kaynakları orman yangınları, volkanik patlamalar gibi doğal biyolojik olaylar, petrol rafinerileri, hayvansal atıkların yanması, sigara dumanı, atık su depoları, alüminyum ve asfalt üretimi, pestisit, boya ve ilaç sentezi, araçlardan yayılan egzoz gazı, fırınlama ve enerji üretimi aşamalarıdır. Bu kaynaklar arasında BAP' in başlıca oluşum nedeni yangınlardır. Partiküller halinde ilk olarak havaya salınan BAP, oksidasyon ile atmosferden toprak ve suya yayılarak çöker. Havada, içme ve yeraltı sularında, atık sularda, ızgarada pişen yiyeceklerde bulunur. Buna ek olarak, besinlerin uygun olmayan koşullarda işlenme ve pişirilmesi sırasında gerçekleşen piroliz sonucunda duman aracılığıyla da bulaşır [40,41].

İnsanlar BAP' in karıştığı gıda ve suların alımı, kirli havada ve özellikle kapalı ortamda sigara dumanı ile partiküllerin solunması aracılığıyla etkin kalırlar. Mesleki olarak BAP' a etkin kalma oranı endüstriyel erklerin yoğunluğu ve mesleklerdeki farklılar göz önüne alınarak 0,1 ila 48 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ arasında değişir. Sigara kullananlarda, dumanın her ciğerlere çekilişinde 0,5 mg/100 ila 7,8 mg/ 100 sigaraya aralığında değişim gösterir. Buna sigaradan çıkan dumanda eklendiğinde 2,5 mg/100 ila 19,9 mg/100 sigara aralığında olduğu belirtilmiştir. Pasif sigara içicilerindeki BAP düzeyinin 2,8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ile 0,76 mg/m³ aralığında değişim gösterdiği rapor edilmiştir. Bir çalışmada pişmiş ette 4 ng/g, kızarmış tavukta 5 ng/g ve özellikle kömür ateşinde (mangalda) çok pişmiş et örneklerinde 62 ng/g BAP bulunduğu saptanmıştır. Sudaki miktarı 13 mg/L olarak bildirilmiştir [5].

Günlük yaşamda besinlerde, çalışma ortamlarında ve çevrede bulunabilen çevresel bir kirletici olan BAP, epoksit hidroksilaz ve sitokrom P450 enzimlerince metabolik aktivasyona gereksinim duyan bir önkanserojendir. Biyolojik sistemlerde mutajen ve karsinojen etkilerini göstermek için reaktif ara ürünleri oluşturmak için oksidazlar aracılığıyla metabolik aktivasyona uğrar ve benzo(a)piren-diolepoksitler ortaya çıkar. Enzimatik üç tepkimenin ardından son karsinojen şekil, benzo(a)piren 7,8 diol-9,10-epoksit oluşur. Tepkimeleri ilk aşaması sitokrom P450 enzimleri ile katalizlenir ve bu adımda (+/-)-benzo(a)piren-7,8-oksit biçimlenir. İkinci aşama epoksit hidroksilaz (EH) enzimince katalizlenir ve ilk adım sonucunda oluşan ürün, (+/-)-benzo(a)piren-7,8 dihidrodiol' e dönüşür. Son tepkimede sitokrom P450 enzimlerince katalizlenir ve sonuçta 7,8-diol-9,10-epoksit' in dört izomerini oluşur. Bunların en önemlisi (7R,8S)-dihidroksi-(9S,10R)-epoksi-7,8,9,10- tetrahidrobenzo(a)piren' dir (BPDE). BPDE guanidin artıklarının nükleofilik olan N2 konumu ile DNA'ya kovalent bağlanan son karsinojendir. Bu bağlanma çift sarmallı DNA yapısını bozarak DNA kopyalanmasını etkiler. Pro ve ökaryotik hücrelerde mutasyon ve sitotoksik etkilere neden olan oldukça reaktif bir BAP metabolitidir. Oluşan mutasyonların bazıları kansere yol açar. Yapılan çalışmalarda PAH' lara etkin kalan sigara içicileri ve maden işçilerindeki PAH düzeyleri ve PAH-DNA eklentileri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak BAP' ın radikal katyonik şekilleri metabolizma ve metabolik aktivasyonda yer alabilir. Bu tümör başlangıcının düzenlenmesinde esas işleve sahip DNA eklentilerinin oluşumuna neden olur. DNA eşleşmesinden önce onarılmadıklarında nükleotid eksilmeleri, nükleotid değişimleri ve kromozomlarında yapı değişikliği oluştururlar. Benzer şekilde bu mutasyonlar transkripsiyon ve translasyona uğradıklarında protein yapısı ve işlevinin değişimine ve sonuçta kansere yol açarlar [6-9].

Yapılan bir çalışma ile yeni doğan farelere dört enantiyometrik diol epoksitlerinden biri olan BAP diol epoksit-2 (BDPE-2), intraperitoneal enjeksiyon ile uygulanmış ve akciğer kanserinin uyarımında saf hidrokarbonlardan daha etkili olduğu gösterilmiştir. Bir çalışmada BAP uygulaması sonrasında metabolik olarak şekillenen ve uygulamadan sonra DNA' ya bağlandığı gösterilen BPDE-2, deriye topikal olarak uygulanmış ve epidermal tümör oluşumunda BAP' dan daha etkili olduğu belirlenmiştir [9].

Benzo(a)piren' in diğer PAH bileşikleri arasında mutajenik ve kuvvetli karsinojenik özellikte olduğu bilinmektedir. Çalışmalarda BAP' in insan ve hayvanlarda akciğer, meme, deri, özafagus, pankreas, kolon, mide, safra kesesi, prostat ve serviks kanserlerine neden olduğu gösterilmiştir. BAP' in kansere karşı koruyucu, hücre döngüsünü düzenleyici etkisi olduğu bilinen tümör baskılayıcı P53 genini etkilediği ortaya konulmuştur. İnsanların BAP' a günlük olarak besinler aracılığıyla 0,12-2,8 µg/kişi dozunda etkin kaldığı bildirilmiştir. BAP içeren besinlerin düzenli alınımı, kanser olasılığını önemli oranda arttırmaktadır [5,9,10].

Deneyssel çalışmalarda BAP' a ağız yoluyla etkin kalma sonucunda lösemi, mide ve akciğer tümörlerine, solunum yoluyla etkin kalma ile de solunum sisteminde tümör oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir. Bir çalışmada A vitamini eksikliğinin anfizem ile ilişkili olduğu ve A vitamini eksikliğinin BAP kökenli olabileceği bildirilmiştir. BAP' in üreme sistemi üzerinde de etkili olduğu bilinmektedir. Gebeliğin erken evrelerinde PAH' lara etkin kalmanın yavrulamayı ve gelişimsel etkileri baskılayıcı sonuçlara neden olabileceği saptanmıştır. Ağız yoluyla BAP uygulamasının gebelik yinelenmesini ve döllenme oranını azalttığı gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada, ağız yoluyla BAP uygulaması sonucunda bir kerede doğan yavru sayısının ve bunların vücut ağırlıklarının azaldığı bildirilmiştir [2,42,43].

2.6.1. BAP' ın böbrek üzerine etkileri

Kaynak incelemelerinde BAP' ın böbrek üzerinde etkilerinin elektron mikroskop ile doğrudan incelendiği çalışmalar kısıtlıdır. Bir çalışmada, benzo(a)piren uyarımlı oksidatif hasarın lipid peroksidasyonunu artırdığı buna karşın enzim olan ve olmayan antioksidan düzeylerini düşürdüğü ve bu nedenle böbrek ve karaciğer dokularının toksisite yanıtında oluşan oksidatif strese daha yatkın olduklarını ortaya konmuştur. Benzo(a) piren uygulaması ile oluşan lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim düzeyleri üzerinde ortaya çıkan kanserojen etkiler, selenyum ve E vitaminlerinin birlikte uygulanması ile azalır ve hasar geri döndürülebilir [44,45].

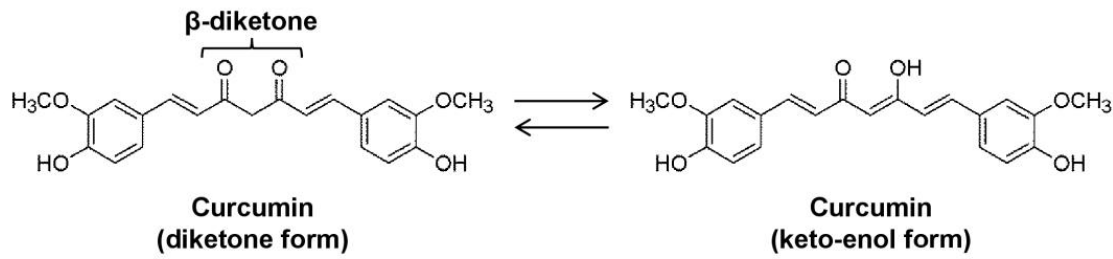
Bir çalışmada BAP' ın akut ve subkronik toksisitesinin düşük olduğu, uygulamadan bazı kan elemanları ve organların etkilendiği bildirilmiştir. BAP dişilere karşın erkek

denekler üzerinde daha etkindir. Erkek deneklerde BAP uygulaması ile oluşan karsinogen olmayan böbrek doku anomalileri, böbrek işlev bozukluğunun belirticidir. Böbrek dokusunda BAP uygulamasından sonra DNA, protein ve antioksidan düzeyleri üzerinde serbest radikal oluşumuna ve BAP' ın oluşturduğu karsinogeniteye bağlı olarak oksidatif hasar olaylanır. Benzo(a)piren ve 2-asetilaminofluoren (AAF) gibi kimyasal karsinogenler insan ve sıçan böbrek hücre metabolizmaları üzerinde mutajenik ve kanserojenik etkilere neden olur. Uygulanan kimyasalın sınıfına göre böbrek hücre metabolizması değişkenlik gösterir [3,4,46].

2.7. Curcumin

Curcumin zerdeçalın (*curcuma longa*, zerdeçöp, safran kökü, hint safranı, sarıboya) esas bileşeni olan hidrofobik bir polifenoldür. Zingiberaceae ailesine ait *Curcuma longa* bitkisinin köklerinden elde edilir. *Curcuma longa* büyük yapraklı, sarı çiçekli, kısa gövdeli ve rizomlu çok yıllık otsu bir bitkidir. Toprak altındaki esas rizomları yumurta ya da armut şeklindedir. Başta Hindistan, Pakistan, Bangladeş ve Çin olarak özellikle güneydoğu Asya' da yetişir [11-14,47].

Rizomların iç yüzü ise sarı renkli olup, üst yüzü sarımsıdır. Yapısındaki diferulometen, köri baharatına sarı rengini verir. Toz ve parmak şeklinde bulunur, tadı acımsıdır. İçerisinde birçok madde bulunmasına karşın aktif maddesi curcumindir. Curcumin su içinde neredeyse hiç çözünmeyen, turuncu-sarı renkli kristale benzer bir tozdur. Yemek sanayinde koruyucu, katkı maddesi ve genellikle baharat (köri) olarak kullanılır. Krem ve sabun gibi kozmetik ürünlerin içine cildi yumuşatmak ve nemlendirmek için eklenir. Gıda ve kozmetikte renk verici olarak da kullanıldığı gibi, halk arasında yaygın olarak tedavi edici amaçlarla kullanılmaktadır. Yüzyıllardır çeşitli antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özellikleri ile ezilme, burkulma, kesik ve yaralanma gibi ev kazalarında tedavi için yeğlenmektedir. Hindistan' da safra hastalıkları, anoreksiya, nezle, öksürük, diyabetik yaraları, karaciğer hastalıkları,



Şekil 2.3. Curcumin' in kimyasal yapısı

sinüzit ve romatizmanın alışılacelmış tedavisinde, Çin' de ise karın ağrılarına karşı kullanılmaktadır [11, 47-49].

Bitkinin rizomlarından elde edilen zerdeçal tozunun yaklaşık 1:30-1:100' ünü curcumin oluşturur. Bir tatlı kaşığı zerdeçal 3 gr olup, yaklaşık 30-90 mg curcumin içerir. 2-4 tatlı kaşığı toz miktarında bulunan 200 mg/gün' lük doz, tedavi edici etkidir. Curcumin, E ve C vitaminleri ile karşılaştırılabilecek ölçüde güçlü antioksidan özelliğe sahiptir [12,14,50].

Zerdeçal %6,3 protein, %5,1 yağ, %3,5 mineral, %69,4 karbonhidrat, ve %13,1 nem içerir. Rizomun distilasyonu ile elde edilen % 5,8 oranındaki yağı ise; %1 α -fellandran, %0,6 sabinen, %1 sineol, %0,5 borneol, %25 zingiberen ve %53 seskiterpen kapsar. Curcumin (1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione), ilk olarak 1815 yılında izole edilmiş ve kimyasal yapısı ise 1973 yılında tanımlanmıştır. Polifenolik bir bileşik olan curcumin, kimyasal olarak bis- α , β - çözünmemiş β -diketondur. β konumunda bağlı iki keton grubu içerir. Antioksidan özelliğinde önemli olan keto ve enol şekilleri vardır. Keto şekli asidiktir ve nötral sıvı ve hücre zarlarında bulunur. Curcumin pH 3-7 aralığında güçlü bir H atom donörüdür. Buna karşın pH 8' in üzerinde enol şekli hakimdir ve elektron donörü gibi hareket eder. Bu erkler fenolik antioksidanların süpürücü erki için özgündür. Curcumin bazik pH' a karşı dayanıksızdır. Bazik ortamda 30 dk içerisinde trans-6-(4'-hidroksi-3'metoksifenil)-2-4-diokso-5-hekzanal, feruloilmetan, ferulik asit ve vanilline indirgenir. pH 7' nin üzerinde rengi sarıdan kırmızımsı kahverengiye değişir ve bazik tuz oluşturur. Moleküler ağırlığı 368,37 g/mol ve erime noktası 176-177 °C'dır. Curcumin suda çözünmez buna karşın aseton,

etanol, keton, asetik asit, kloroform ve dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde çözünebilen bir moleküldür [11,12,51,52].

2.7.1. Curcumin' in farmakolojisi

Curcumin uzun süredir gıdalarda baharat olarak günde 100 mg kullanılmaktadır. Yapılan klinik çalışmalar ile günlük 8 gramına tolere edilebildiği gösterilmiştir. Sıçanlara ağız yoluyla 5 gr/kg verildiğinde, köpekler ve maymunlarda 3,5 gr/kg üzerindeki doz kullanımında yan etkisi saptanmamıştır. Güneydoğu Asya' da diyetle kişi başına günde 1,5 gr alınır, tedavi amaçlı ise daha düşük düzeylerde kullanılır. Son yıllarda Fransa' da da kullanımı artmıştır. İnsanlarda günde 12 gr alındığında herhangi bir yan etki göstermez. Çalışmalara göre curcuminin doza bağlı toksisite ve yan etkisi bulunmamaktadır [50,53,54-56].

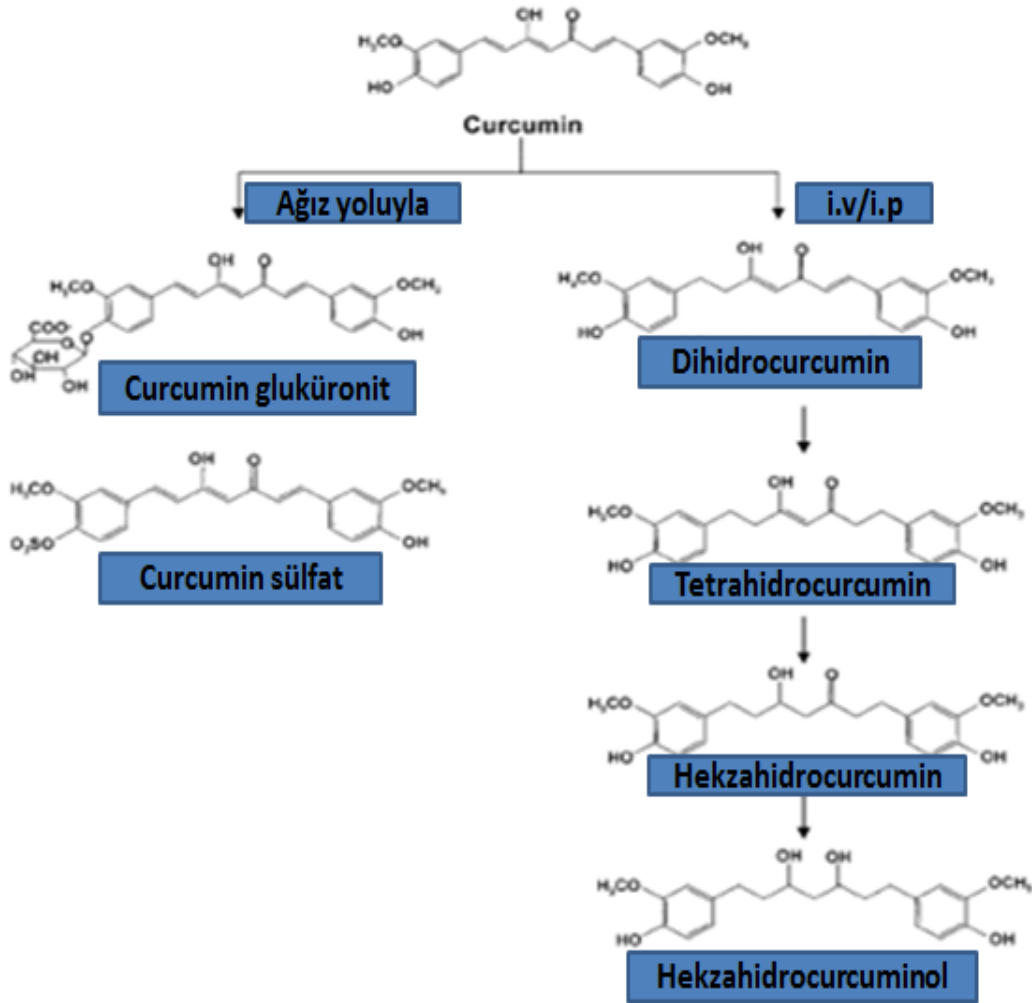
Curcuma longa bitkisinde bulunan doğal curcuminler kimyasal yapı özelliklerine göre 3 grupta incelenirler. Bunlar curcumin I (curcumin), curcumin II (demetoksicurcumin) ve curcumin III (bisdemetoksicurcumin)' dür. Zerdeçal tüberlerinde % 4-8 oranında curcumin I bulunur. Kuru ağırlığında bulunma oranı sırasıyla %77 curcumin I, %17 ile curcumin II ve %3 ile curcumin III' dür [14,51].

Dimetile edilen curcumin türevleri lipid peroksidasyonuna karşı daha kuvvetli etkiye sahiptirler. Yapılan çalışmalarda curcumin' in dimetilasyonu ile oluşan ve doğal curcuminler arasında en yüksek biyolojik erke sahip curcumin III' ün antioksidan ve antitümör etkilerinin oldukça kuvvetli olduğu bildirilmiştir. Curcuminlerin doğal maddelerden ayrıştırılması ekonomik olmadığı için, daha ekonomik ve doğal curcumin kadar etkili olan curcumin III' ün sentetiğinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Doğal curcuminlerin tümü kuvvetli hidroksil radikal temizleyicisi ve süperoksit radikal tutucusudur. Bu nedenle üç curcumin de kemopreventif ve antioksidan etkilere sahiptir [57].

Sentetik üretilen curcuminler doğal curcuminlerin ekonomik olmaması nedeniyle kullanılmaktadır. Doğallarına benzer yapıya sahip olan sentetik curcuminlere eklenen gruplar farklıdır. Salisil curcumin, curcumin III' ün orto izomeridir ve bu grup bileşikler arasında en aktif olan sentetik curcumindir [50,58].

Curcumin' in metabolitleri

Curcumin, barsaklardan emilerek, kana ve dokulara dağılır ve safra ile atılır. Curcumin metabolitlerinin oluşumu, değişik doku bölgelerinde sülfasyon ve gluküronidasyon gibi mikrozomal enzimatik tepkimelere bağlıdır ve bu şekilde metabolik erk gösterebilir. Çeşitli çalışmalarla curcumin' in esas metabolize edildiği organın karaciğer olduğu belirlenmiştir. Curcumin' in esas safra metaboliteri tetrahidrocurcumin (THC) ve hekzahidrocurcumin (HHC) gluküronitleridir. THC şekli curcumin' in biyolojik etkileri üzerinde önemli işleve sahiptir. Safra metabolitleri ise iz miktarda ferulik asit ile birlikte, dihidroferulik asittir. Yapılan bir çalışmada, plazma örneklerinin gluküronidaz ile hidrolizinde, curcumin' in plazmada %99 oranında gluküronit konjugatı olarak bulunduğu saptanmıştır. İntraperitoneal uygulanan 0.1 gr/kg curcumin' in farelerde ilk olarak dihidro ve THC' e biotransforme olduğu daha sonra dakikalar içerisinde monoglukurinit ürünlerine dönüştüğü gösterilmiştir. Curcumin' in in vivo esas metabolitlerinin; curcumin-gluküronosit, dihidrocurcumin-gluküronosit, THC-gluküronosit ve THC olduğu bildirilmiştir. Curcumin' in gluküronidasyon ve sülfasyonu için karaciğer, böbrek ve bağırsak mukozasında, konjugat enzim erki vardır. Bu enzim etkinliği, sindirim sisteminden curcumin' in emildiğini ve genel kan dolaşımında gluküronit/sülfat konjugatı olarak varlığını ortaya koymaktadır. Curcumin indirgenmeye büyük oranda mikrozomal enzimatik tepkimelerden sonra etkin kalır. Yapılan çalışmalarla curcumin gluküronitleri ve THC metabolitlerinin, curcumine karşı aktif oldukları belirtilmiştir. Tip 2 diyabetik sıçanlarda THC curcumine karşı daha kuvvetli antidiyabetik ve antioksidan erke sahiptir [11,14,53,54,59-69].



Şekil 2.4. Curcumin metabolitleri

Curcumin' in serum miktarı

Curcuminin serum düzeyleri oldukça düşüktür. Yapılan bir çalışmada ağız yolu ile 400 mg curcumin verildikten sonra, kalbe giden kanda curcumin saptanmamıştır. Uygulamayı izleyen 15 dakika ile 24 saat aralığında 5 mikrogramdan az olarak iz miktarda portal kanda gözlemlenmiştir. Bir diğer çalışmada tritum işaretli curcumin kullanılmıştır. Curcumin' in uygulandığı grupta 10-400 mg doz aralığında, kanda saptanabilir düzeyde olduğu belirlenmiştir. Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda, ağız yoluyla 1-2 gr curcumin uygulaması sonrasında bir saat içerisinde curcumin' in serumdaki miktarının saptanabilir düzeyde olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşın insanlarda curcumin' in 4-8 gr ağızdan alınan dozunun plazmada en yüksek miktara ulaştığı (0,41-1,75 μ M) belirlenmiştir. En

yüksek miktara 1 saat sonra ulaşılmaktadır. İnsanlarda en yüksek miktarının, serum düzeyi deney hayvanlarına karşın oldukça düşüktür. Çalışmalar sonucunda, sıçanlarda ağız yoluyla verilen 1 gr/kg dozunun bile, en yüksek serum-curcumin düzeyini ortaya çıkardığı belirlenmiştir. Bu nedenle insan ve sıçanlarda serum-curcumin düzeyleri doğrudan karşılaştırılamamaktadır [62,70].

Curcumin' in emilim ve atılımı

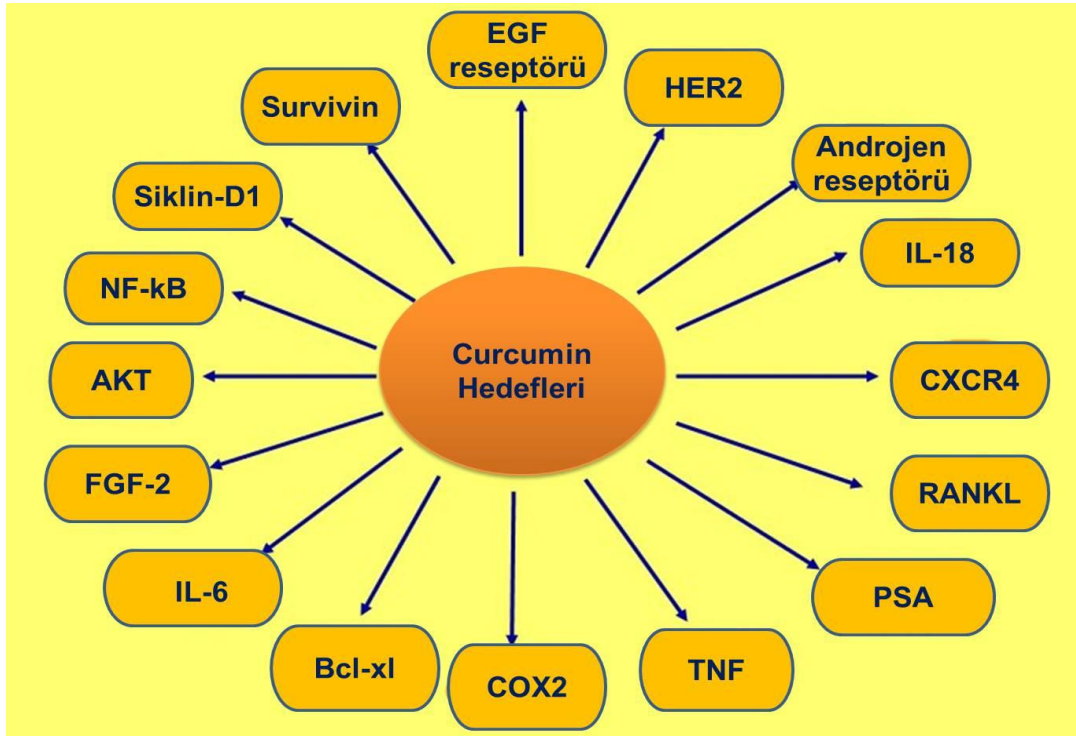
Curcumin' in emilimi, atılımı ya da vücuttan geçişi, biyolojik erkini belirleyen önemli bir faktördür. Ağız yoluyla verilen 1 gr/kg curcumin' in kan plazmasındaki düşük miktarı, bağırsaklardan zayıf emildiğini gösterir. Emilen curcumin miktarı, verilen dozun %60-66' sıdır. Bu nedenle sıçanlarda curcumin' in biyoyararlanımında doz bağımlı sınırlama vardır. Yapılan bir çalışmada sıçanlara 1 gr/kg curcumin ağız yoluyla verildiğinde, %75' inin gaytadan atıldığı ve çok az miktarının da idrarda bulunduğu ortaya konulmuştur. İntraperitoneal olarak verildiğinde benzer oranda gaytadan atılır ve %11 oranında safrada gözlenir. Curcumin intravenöz ve intraperitoneal uygulandığında kendisi ve metabolitlerine %50' nin üzerinde safrada rastlanır [12].

Curcumin' in dokulara taşınımı

Curcumin' in vücut dokularına dağılımı, biyolojik yetisini belirleyen önemli faktörlerden biridir. Yapılan bir çalışmada, sıçanlara ağız yoluyla 400 mg curcumin verilmesinin ardından, karaciğer ve böbrek dokularında iz miktarda bulunmuştur. Uygulamayı izleyen 30 dakika içerisinde, %90 oranında curcumin mide ve ince bağırsakta saptanmıştır. Buna karşın, uygulama sonrası 24. saatte %1 oranında curcumin belirlenmiştir. En yüksek curcumin uygulamaları sonrasında, dokulardaki genel miktarı %3 den daha azdır. Tritum ile işaretlenmiş radyoaktif curcumin' in doku dağılımının incelendiği bir çalışmada, 10, 80 ve 400 mg' lık doz uygulamalarından sonra radyoaktivitenin kan, karaciğer ve böbrek dokularında saptanabilir olduğu bulunmuştur. 400 mg doz uygulamasından sonra radyoaktif ürünler, uygulamayı izleyen 12. günde de dokularda varlığını sürdürmüştür. Farelere 0,1 gr/kg dozunda intraperitoneal curcumin uygulamasından bir saat sonra, yüksek düzeyleri bağırsaklarda gözlemlenmiştir. Dalak, karaciğer ve böbrek

dokularında orta düzeyde curcumin miktarına karşın, beyin dokusunda iz miktardadır. Bir diğer çalışmada deneklere başlangıçta bir hafta süresince diyetlerinin içerisinde %0,2 curcumin verilmiştir ve bunu izleyen süreçte curcumin içermeyen diyet ile beslenmişlerdir. Diyetin sonlandırılmasını izleyerek 3 ila 6 saat aralığında doku curcumin düzeyi ölçülememiştir. Elde edilen bulguların sonucunda dokularda gözlemlenen curcumin miktarı intraperitoneal uygulama ile gavaj ve diyetsetel alım sonrasında farklıdır [12].

Curcumin' in yüksek dozlarının dahi koruyucu erke sahip olduğu birçok çalışmada kanıtlanmıştır. Yapılan üç farklı faz I klinik deneyde, günlük alınan 12 gr dozunun da tolere edildiğı bildirilmiştir. Bu önemli polifenolik bileşenin farmakolojik özellikleri incelendiğinde; emilimi zayıf, metabolizma ve atılımı hızlı, serum düzeyi düşük, doku dağılımı sınırlı olduğu için biyoyararlanımı da zayıf olarak nitelendirilir. Curcumin' in biyoyararlanımını artırma için yeni formülasyonlar olan nanopartiküller, lipozomlar, miseller, fosfolipit kompleksleri kullanılabilir. Bu destek maddeler curcumin' in daha uzun dolaşım, daha iyi geçirgenliğini ve metabolizma süreçlerine daha dayanıklı olmasını sağlayabilirler [12,48].



Şekil 2.5. Curcumin' in biyolojik etkilerinde rol alan sinyal yolları

2.7.2. Curcumin' in biyolojik etkileri

Antioksidan etki

Curcumin' in antioksidan erki ilk olarak 1975 yılında bildirilmiş ve ileri çalışmalarda in vivo ve in vitro kanıtlanmıştır. Curcumin metaboliti olan THC' nin antioksidan düzeneği, β -diketon türevinden kaynaklanır. E ve C vitaminleri ile de karşılaştırıldığında curcumin' in güçlü antioksidan erki vardır. Anti enflamatuvar ve antioksidan özellikleri nedeniyle tedavi edici ajan olarak kullanılır. Süperoksit anyon, hidroksil ve nitrojen dioksit radikalleri gibi reaktif oksijen türlerini (ROS) süpürücü erke sahiptir ve bu nedenle DNA' yı oksidatif hasarlardan korur. Lipit peroksidasyonunu baskıladığı birçok deneysel çalışma ile gösterilmiştir. Sıçanlarda karaciğer mikrozomları, eritrosit membranları ve beyin homojenatlarında lipid peroksidasyonunu düşürür. Antioksidan enzimlerden sürperoksit dismutaz, katalaz, ve glutatyon peroksidaz' ın aktivitelerini koruması sonucu bu erkleri ortaya çıkar. Böbrek hücrelerinde lipid degradasyonu, lipid peroksidasyonu kristolizisi baskıladığı ve oksidatif hücre hasarını önlediği gösterilmiştir. Kalp dokusunda iskemi-uyarımlı biyokimyasal değişimleri azalttığı bildirilmiştir. Curcumin damar endotel hücrelerinde, hem-oksijenaz üretiminin artışına koşut oluşan oksidan aracılı hasarı önler. Hemogloblin molekülünü oksidasyona karşı korur [14, 71-79].

Bir çalışmada curcumin' in serbest radikal oluşumunu baskıladığı ve miyokardiyumu isoprenalin (ISO) uyarımlı miyokardiyal iskemik hasardan koruduğu belirtilmiştir. Bu etkiler curcumin' in serbest radikal süpürücü ve lizozomal enzim salınımını baskılayıcı erkleri ile ortaya çıkmaktadır. Apoptozisle ilişkili genlerden Fas ve Fas-L' nin ifadenmesini baskılar ve böbrek hasarı üzerinde olumlu etki gösterir. Bir diğer çalışmada kan yitimi durumunda, curcumin ön tedavisi ile transkripsiyon faktörlerinin baskılandığı ve sitokin düzeylerinin önemli ölçüde düzenlendiği bildirilmiştir [14].

Diyet ile verilen curcumin, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda etkilidir. Sıçanlarda fokal-serabral iskemi modelinde, lipid peroksidasyonunun baskılanması

ve peroksinitrit oluşumunun azalması sürecinde curcumin' in önemli düzeyde koruma sağladığı rapor edilmiştir [14].

Antikanser etki

Çalışmalarda curcumin' in güçlü bir kanser önleyici ajan olduğu, kanser başlangıcının baskılanması sürecine katıldığı ve tümör dokusu oluşumunu azalttığı bildirilmektedir. Deri, meme bezi, ağız, özofagus, kolon, duodenum, mide, bağırsak, kolon, böbrek, prostat, akciğer ve karaciğer dokularında tümör oluşumunu baskılamaktadır. Curcumin' in kanserden koruyucu yetisi doz bağımlıdır. Klinik deneylerde curcumin kanserin erken evresindeki hastalara 12 gr/gün dozunda uygulanmaktadır. Bu tedavi 8 gr/gün dozuna değin sitotoksikite göstermez buna karşın, 8 gr ve üzerinde ise ilaç oylumu hastalar için kabul edilemez duruma ulaşır [49,54,59,80].

Çalışmalarda curcumin' in, benzo(a)piren ve 7, 12 dimetil benzo(a)antrasen uyarımlı tümör oluşumunu baskıladığı fare derisinde forbol esterleri uyarımlı tümör geçişini azalttığı, mide ve duodenumda kanserojen ajan uyarımlı tümör oluşumunu düşürdüğü gösterilmiştir. Hint mutfağında turmeriğin sıkça kullanımına koşut olarak bağırsak kanseri dağılımı düşüktür. Curcumin bakır uyarımlı karaciğer ya da böbrek tümörü dağılımını azaltmasada, belirgin bakır iletici ATPaz geni olması nedeniyle bakır biriktiren mutantlarda kanser oluşumu ve metastazı azalttığı bildirilmiştir. C. Longa bitkisiden ayrıştırılan Curcumin I, II ve III' ün tümör indirgeyici, sitotoksik ve antioksidan etkileri karşılaştırılmıştır. Curcumin III' ün etkili bir sitotoksik ajan olduğu ve farede Ehrlich ascites tümörünü önemli ölçüde baskıladığı bildirilmiştir. MCF-7 hücre çoğalması üzerinde curcuminoidlerin etkileri karşılaştırıldığında, önemli ayrımlar ortaya çıkmıştır. Curcumin insan telomeraz reverse transkriptaz (hTERT) ifadenmesini baskılar ve MCF-7 hücrelerindeki telomeraz erkini azaltır. Kolon tümörü oluşumunu başlangıç ve başlangıç sonrası evrelerde uygulandığında önemli ölçüde baskılar. Ek olarak, sentetik curcumin diyet ile ilerleme evresindeyken uygulandığında, kolonda non-invaziv adenokarsinomların dağılımı ve çokluğunu da baskılar. Curcumin östrojen varlığında göğüs kanser hücrelerindeki potansiyel antikanser etkiye sahiptir ve östrojen reseptörünün etkisindeki genleri baskılar. Ovaryum kanser hücrelerinin

sisplatine karşı duyarlanmasını sağlayarak, kemoterapötik tedavinin etkisini artırır. Curcumin' in hepatositler, epitel, endotel, kas hücreleri ve osteoklastlar, T lenfosit hücrelerinin de çoğalmasını engellediği bildirilmiştir [49, 81-88].

Curcumin' in antikanser etkilerinin moleküler esası transkripsiyon faktörleri, büyüme düzenleyicileri, adezyon molekülleri, apoptotik genler, kan damar oluşumu düzenleyicileri ve hücre sinyal molekülleri gibi birçok hedefin düzeneklerinde yer alması ile açıklanır. Curcumin' in tümör nekrosis faktor- α (TNF- α) ve interlekin-1 β (IL-1 β) gibi pro-inflamatuvar sitokinleri ve nüklear faktor-kB (NF-kB) ile aktivatör protein-1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörlerinin erklerini baskıladığı bildirilmiştir. Curcumin, I-kB kinaz kompleksinin inaktivasyonu aracılığıyla I-Kb fosforilasyonunu bloke eder ve NF-kB aktivasyonunu baskılar. Curcumin AP-1' in DNA bağlayıcısı ile doğrudan etkileşir. Bunun sonucunda AP-1 bileşenleri olan c-Jun ve c-Fos bloke edilerek, AP-1 baskılanır. Ek olarak, sitokrom P450 ve siklooksijenaz-2 (COX-2) enzim erklerini baskıladığı bildirilmiştir. Bir çalışmada, lenfosit hücrelerinde radyasyon ile oluşan DNA hasarını azalttığı ve bu erki nedeniyle antimutajenik gücü olduğu saptanmıştır. Siklofosamid uyarımlı kromozomal anomalilerde 100 ve 200 mg/kg dozlarında uygulanan curcumin' in anormal hücre sayısını düşürdüğü rapor edilmiştir. Curcumin damar oluşumunu engelleyen güçlü bir ajandır. Bu erki nedeniyle tümör ilerlemesini denetim altına alır. Bu olgu NIH 3T3 hücrelerinde vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve anjiopietin 1' in, HUVEC hücrelerinde VEGF reseptör-2' nin ve EAT hücrelerinde VEGF ve anjiyopietin 1 ve 2' nin baskılanması ile açıklanır [49,59,72,80, 89-95].

Curcumin kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstermez ve apoptozisi uyarır. Kaspazlar, Bcl-2 ailesi, TNF reseptör ailesi ve diğer adaptör proteinler apoptozisin esas düzenleyicileri olarak bilinir. Curcumin' in prostat kanser hücreleri ve birçok kanser hücresinde apoptozisi artırdığı bildirilmiştir. HL- 60, K562, MCF -7, HeLa hücre hatlarında apoptozisi etkin olarak uyardığı gösterilmiştir. Curcumin aynı zamanda normal karaciğer fibroblast hücrelerini etkilemeksizin skleroderma akciğer fibroblast hücrelerinde (SLF) apoptozise neden olur. Bu etki, SLF' de zayıf düzeyde protein kinaz C (PKC) düzeyinin, glutatyonin S-transferaz (GST) P1-1 düzeyini düşürmesine koşut oluşur. DU145 hücre hattına curcumin uygulandığında NF-kB ve AP-1 uyarımları azalır ve sırayla endojen Bcl-2 ve Bax gen ifadenmesi

de baskılanır. Yapılan çalışmalarda curcumin uyarımı ile gerçekleşen apoptoziste p53 geninin varlığı saptanmıştır. Curcumin aracılı kaspaz 8 ve 9 aktivasyonu ısı şok proteinince (HSP) bloke edilir. Bu protein, sitokrom C salınımına etki etmez. JNK etkinliğini ve mitokondriyal sitokrom C salınımını doz bağımlı olarak baskılar. Curcumin' in COX, PKC ve protein tirozin kinaz enzim erklerini etkilediği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda curcumin' in sitoplazmik fosfolipaz (cPLA(2)) fosforilasyonunu bloke ettiği ve COX-2 ifadenmesini düşürdüğü ve bunun sonucunda araşidonik asit düzeneğini etkilediği bildirilmiştir. Curcumin 5-lipoksijenaz (LOX)' in katalitik yetilerini de baskılar. Antioksidan ve faz II enzim erkleri de curcumince artırılır [49, 96-99].

Antifibrotik etki

Curcumin sıçanlara ağız yoluyla 300 mg/kg uygulandığında bleomisin uyarımlı hücre sayısı artışını, inflamatuvar yanıtlardaki belirteçlerin artışını ve pulmoner fibrozisi baskılar. Buna ek olarak bleomisin-uyarımı ile alveolar makrofajlarca üretilen TNF- α , superoksit ve nitrik oksiti baskılar. Bu nedenle curcumin potansiyel antiinflamatuvar ve antifibrotik ajan olarak işlev görmektedir [12,14]

Döllenme üzerine etkisi

Zerdeçal rizomlarının sıvı özütleri ve petrol eterleri ağız yoluyla alındığında, sıçanlarda döllenmeyi engelleyici etkileri olduğu ortaya konulmuştur. Bu özütlerin uygulandığı bir çalışmada implantasyonun tümüyle baskılandığı bildirilmiştir. Curcumin, testosteronu 5 α -dihidrofestosterona çeviren 5 α -redüktaz enzimini baskılar. İnsan spermiyum hareketini baskılayan curcumin' in, vajina içi yeni kontraseptive geliştirilmesinde potansiyel bir ajan olduğu düşünülmektedir [12].

Anjiyogenezis üzerine etkisi

Anjiyogenezis olgusu, var olan damarlardan yeni kapillerlerin oluşumudur. Embriyonik gelişim, üreme, yara iyileşmesi ve kemik onarımı gibi fizyolojik süreçlerde oldukça büyük önemi vardır. Denetim altına alınamayan damar oluşumu ise patolojik olup genelde tümör gelişimi, romatizmal eklem yangısı,

diyabetik retinopati ve hemanjiyom ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda birincil tümör yayılması ve diğer organlara metastazında angiogenezinin rol aldığı kanıtlanmıştır [14].

Curcumin uygulaması ile insan umbilikal ven endotel hücre hattında (HUVEC) anjiogenik farklanmanın baskılandığı ve matrijel tıkaçında endotel hücre infiltrasyonu nedeniyle damar oluşumunun baskılandığı bildirilmiştir. Daha ileri bir çalışmada, fare korneasında fibroblast büyüme faktörü (FGF) uyarımlı korneal damar oluşumunu baskıladığı da gösterilmiştir. Yapılan birçok çalışma ile curcumin eşdeşlerinin, angiogenezin baskılayıcı erki olduğu ortaya konulmuştur. Curcumin eşdeşlerinin bu etkisinin, angiogenezis ile ilişkili gen, VEGF ve MMP-9 ifadenmesini baskılamaları sonucunda ortaya çıktığı bildirilmiştir. Metalloproteinazlar (MMPs) ve bunların özgül baskılayıcılarının, matriks düzenlenmesinde ve angiogenezin başlamasında esas düzenleyici işlevleri olduğu, yapılan birçok çalışma ile kanıtlanmıştır [100-105].

Antimikrobiyal etki

Curcumin ve yağ bileşeni streptokok, stafilokok ve laktobasil gibi bakterilerin büyümesini baskılar. Zerdeçal rizomlarının sıvı özütlerinin de antibakteriyel etkileri vardır. Curcumin in vitro olarak *Helikobakter pilori*'nin sitotoksin ilişkili gen A suşu (CagA+)'nin gelişimini engeller. *C. longa* bitkisinin eter, kloroform özütleri ve yağının antimantar etkileri vardır. Bu etki ham etanol özütünde daha fazladır. Zerdeçal yağı ise *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium moniliforme* ve *Penicillium digitatum*'a karşı aktiftir. Rizomların etanol özütünün anti-entamoeba histolititika erki vardır. Curcumin' in in vitro, *Leishmania*'ya karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak *Plasmodium falciparum* ve *L. major* gibi protozoanlara karşı baskılayıcı etkilerinin olduğu bilinmektedir. Curcumin' in antiviral etki gösterdiği de yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur. DR-LUC hücrelerinde, Epstein-Barr virüsünün (EBV) esas uyarıcı olan BZLF1 protein transkripsiyonunu etkili olarak baskılar. En önemlisi ise, curcumin HIV hastalığını önleyici yetiye sahiptir. Bu işlevi, viral replikasyon için gerekli olan HIV-1 integrasyonu baskılaması aracılığıyla gerçekleşir. Curcumin ayrıca UV ışığı-uyarımlı HIV gen

ifadelenmesini baskılar. Bu nedenle curcumin ve eşdeşleri HIV2' ye karşı yeni ilaç geliştirilmesinde potansiyel ajan olarak düşünülmektedir [106-108].

İnflamasyon önleyici etki

Curcumin' in NF-kB aktivasyonunu baskılayarak inflamasyon önleyici etki gösterdiği saptanmıştır. Bu baskılanma sürecinde aynı zamanda, iNOS ifadelenmesini azaltıcı ve inflamasyonda yer alan iki önemli enzimden COX-2 ve LOX' u baskılayıcı erkleri de inflamasyonun önlenmesine katkı sağlar. Akut inflamasyon sürecinde sitokin-uyarımli COX-2, araşidonik asidi prostoglandinlere dönüştürür. Kronik inflamasyonlarda COX-2 yaygın bir izoformdur. Curcumin sıçan ve farelerde ödem oluşumunu azaltır. Curcumin' in doğal eşdeşleri olan THM ve BHM de aynı zamanda inflamasyon önleyici etkiye sahip potansiyel ajanlardandır. C. longa bitkisinin uçucu özütü, petrol eteri, alkol ve su özütleri de bu etkiyi gösterirler. Curcumin H₂O₂ uyarımlı hasarlarda keratinosit ve fibroblast hücrelerini korur. Alzheimer hastalarında oksidatif ve inflamatuvar stresin azaltılmasında işlev görür. Bir çalışmada glaktoz-uyarımli katarakt olgusunda hiperglisemik sıçanlarda düşük dozda curcumin' in (%0,01) oksidatif stresi artırabileceği belirtilmiştir. Curcumin' in romatizma önleyici etkisi de bildirilmiştir. Stres proteinlerinin ifadelenmesini uyarır ve endometasin ile salisilatla benzer şekilde etki gösteri [109-113].

Curcumin' in sistemler üzerine koruyucu etkileri

a) Kalp-damar sistemleri üzerine koruyucu etkileri

Curcumin patolojik değişimlerin şiddetini düşürür ve bu nedenle kalp krizi kökenli hasara karşı koruyucu etki gösterir. Kalsiyumun taşınımını ve kalp kası sarkoplazmik retikulumuna geçişini artırarak, kalp kasında kalsiyum homeostazını sağlar [114,115].

b) Mide-bağırsak sistemi üzerine etkileri

Zerdeçal tozunun mide üzerinde yararlı etkileri olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada tavşanlarda musin salgılanmasını arttırarak irritanlara karşı koruyucu

olarak rol oynadığı bildirilmiştir. Curcumin' in ülser önleyici ve anti-ülserojenik etkileri önceki çalışmalarda bildirilmiştir. Kobaylara 50 mg/kg dozunda curcumin uygulandığında fenilbütazon' un ülserojen etkilerine karşı mideyi koruduğu ve 20mg/kg dozunda da ülser oluşumuna karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Buna karşın %0,5 dozunda curcumin' in histamin-uyarımli ülser oluşumunda koruyucu erke sahip olmadığı belirlenmiştir. Bir çalışmada 50 mg/kg ve 100 mg/kg' lık yüksek dozlarının sıçanda ülser oluşumuna neden olduğu bildirilmiş ve mide asidi ve pepsin salınımındaki artış ve musin içeriğindeki düşüş nedeniyle mide ülserine neden olabileceği belirtilmiştir. Curcumin' in reaktif oksijen türlerini süpürücü etkisi aracılığıyla anti ülser etki gerçekleştirdiği ortaya konulmuştur [66-69,116-119].

Sıçanlarda in vivo ve in vitro çalışmalarda gaz giderici erki saptanmıştır. Yapılan bir çalışma ile ileumda sodyum curcuminat' in antispazm erki bildirilmiştir. Curcumin bağırsak lipaz, süpraz, ve maltaz yetisini artırır. Curcumin ve eşdeğerlerinin kültüre edilmiş sıçan hepatosit hücre toksisitesi üzerinde koruyucu etkisi belirlenmiştir. Curcumin ve C. longa bitkisinden elde edilen yağ safra üretimini çoğaltır. Buna ek olarak curcumin pankreatik lipaz, amilaz, tripsin ve kimotripsin enzimlerinin erkini uyarır [120-123].

Lipid metabolizması üzerine etkileri

Curcumin LDL ve VLDL plazma düzeylerini önemli ölçüde azaltır ve plazmada α -tokoferol düzeyini artırarak karaciğerde toplam kolesterol düzeyini düşürür. α -tokoferol ve curcumin' in in vivo etkileşimi vitamin E' nin biyoyararlanımını artırıp kolesterol düzeylerini azaltır. Bir çalışmada etanol uyarımlı karaciğer hasarında yağ asidi içeriğinin artışı curcumin uygulamasını izleyerek önemli ölçüde azalmıştır [124,125].

Yara iyileşmesi üzerine etkileri

Doku onarımı ve yara iyileşmesi karmaşık bir süreçtir. Bu süreçte inflamasyon, granülasyon ve doku yenilenmesi yer alır. Hasar oluşumu ile birçok hücre tipinin, sitokinlerin, büyüme faktörlerinin ve aracılarının hücre dışı matriks ile (ECM)

etkileşimi gibi bir seri olgu başlar. Curcumin' in Hindistan' da deri hastalıkları, böcek ısırıkları ve su çiçeği gibi hastalıklarda yerel uygulanması alışlagelmiş bir tedavidir. Curcumin uygulanan yara biyopsilerinde makrofaj, nötrofil ve fibroblast hücrelerine ek olarak miyofibroblast hücrelerinin görülmesi, yaranın daha hızlı küçüldüğünü ortaya koymaktadır. Yara iyileşmesindeki biyolojik sürecin düzenlenmesinde, göç eden birçok hücre aslında kendilerinin büyüme faktörlerinin kaynağı olduklarını işaret etmektedir. Transforme edici büyüme faktörü (TGF- β 1)' de fibroblastlarca fibronektin ve kollajen ifadenmesini uyardığı ve granülasyon dokusu oluşum oranını artırdığı için yara iyileşmesinde önemlidir. Curcumin uygulaması sonucunda fibronektin ve kollajen ifadenmeleri artar. Curcumin yara iyileşmesi sırasında TGF- β 1, TGF- β 1 reseptörü ve nitrik oksit sentazın ifadenmelerini düzenleyerek, hücresel içeriği yoğun olan granülasyon doku oluşumunun artmasına, yeni damar oluşumuna ve epitel dokunun daha hızlı yenilenmesine neden olur. Bir çalışmada curcumin' in NF- κ B uyarılmasını değiştirdiği ve travma sonrası kas yenilenmesini artırdığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda curcumin' in, insan keratinosit ve fibroblast hücrelerinde hidrojen peroksit kaynaklı hasarı baskıladığı bildirilmiştir. Curcumin kollajen matriks ile birlikte uygulandığında, yaranın küçüldüğü ve hücre çoğalmasının arttığı gösterilmiştir. Curcumin' in ön uygulaması sonucunda kollajen, heksosamin, DNA ve nitrit sentezinin arttığı ve bununla birlikte yara biyopsi örneklerinin histolojik değerlendirilmesinde kollajen birikiminin düzeldiği, fibroblast ve damar yoğunluğun arttığı gözlemlenmiştir. Curcumin' in radyasyon uyarımı ile geciken yara tedavisinde iyileştirici erki olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak curcumin yaraların erken kapanmasında, granülasyon doku oluşumunun denetiminde ve büyüme faktörlerinin uyarımında işlev görür [126-128].

Nüklear faktör kappa B (NF- κ B), aktive edici protein 1 (AP1) ve transkripsiyon faktörleri üzerine etkisi

Curcumin NF- κ B ve AP1 olmak üzere iki esas transkripsiyon faktör uyarımını baskılar. K562 lösemi hücrelerinde TNF- α uyarımlı NF- κ B ve TPA uyarımlı AP1 bağlanmasını güçlü olarak baskılar. Yapılan birçok çalışma ile curcumin' in interlökin-1 α (IL-1 α), TNF- α , TPA-, lipopolisakkarit (LPS-) ve trombin uyarımlı NF- κ B aktivasyonunu baskıladığı bildirilmiştir. Bu baskılayıcı etkisi ile birçok

antikanser ilaç ve kemoterapötik tedavi geliştirilmiştir. Süperoksit ve hidroksil radikalleri, H_2O_2 ve benzo(a)piren gibi birçok kanserojen ajanı içeren sigara kullanımı ile NF-kB aktive olur, apoptozis baskılanır ve hücre çoğalması uyarılarak kanser oluşumu başlar. Curcumin NF-kB 'nin uyarılarak DNA' ya bağlanmasını engeller, IKK aktivasyonunu bloke eder, NF-kB p65 translokasyonu ve I κ Ba fosforilasyon ve degradasyonunu baskılar. NF-kB' nin curcumince baskılanması alkole bağlı karaciğer hastalığının patolojisinde önemlidir. Bunun nedeni, hastalık sürecinde NF-kB' nin aktif olmasıdır. Curcumin, mitoz aktive edici protein kinazkinazkinaz (MAPKKK)' ın sinyal düzenleyici yolağını baskılayarak, JNK aktivasyonuna neden olur. Curcumin' in hücre dışı-sinyal-düzenleyen kinaz (ERK) ve JNK' yı baskılaması sonucunda, c-Fos transkripsiyon faktör aktivasyonu baskılanır. Curcumin 12-O-tetradekanoil-forbol-13-asetat (TPA) uyarımlı c-Jun ve c-Fos aktivasyonunu engeller. NIH 3T3 fare fibroblast hücrelerinde TPA uyarımlı PKC, curcumince bloke edilir. Bir çalışmada curcumin' in AP1 dimer yapısını değiştirdiği ortaya konulmuştur. Curcumin' in Janus kinaz-sinyal dönüştürücü ve aktive edici (JAK/STAT) yolak üzerine de etki ettiği bildirilmiştir. Deneysel alerjik ensefalomyelit olgusunda curcumin JAK2, tirozinkinaz 2, STAT 3 ve STAT 4' ü bloke ederek, IL-12 aktivasyonunu baskılamıştır. Curcumin böbrek epitel hücrelerinde Nrf-2/antioksidan yanıt elemanı (ARE) yolağında yer alan hem-oksijenaz (HO)-1' in aktivatörüdür. Böbrek hücrelerinde curcumin aracılığı ile I κ Ba fosforilasyonu baskılanır ve HO-1 uyarımı azalır [129-134].

Detoksifikasyon enzim ifadelenmesi üzerine etkileri

Sitokrom P450 (CYP) kanserojen aktivasyonunda yer alan faz-1 enzimidir. Bu enzimin baskılanması, kansere karşı hücre sel korunmanın belirtecidir. Curcumin sıçan karaciğerinde CYP 1A1, 1A2 ve 2B1' ce katalizlenen etoksiresofurin, metoksirezofurin ve pentaoksirezofurinin alkilasyon tepkimesini baskılar. CYP sistemi ile katalizlenen aflatoksin-DNA türevlerinin oluşumu da curcumince baskılanır. MCF-7 hücrelerine dimetil benzantrasen (DMBA) uygulandığında curcumince CYP aktivitesi düşürülmüş ve curcumin doğrudan arilhidrokarbon reseptörüne bağlanmıştır. Yapılan klinik çalışmalarda curcumin' in kanserojen biyoaktivasyonunu baskılayıcı erki ile ağız boşluğunda kanser koruyucu ajan olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Bir çalışmada curcumin' in erkek farelerde karaciğer

ve böbrek dokularında faz 2 ilaç metabolize edici enzimler olan GST ve kinon redüktaz erkini uyardığı gösterilmiştir. Bu etkinin doza bağımlı olduğu ve sıçanlarda düşük dozlarının GST' yi uyardığı buna karşın, yüksek dozlarının ise GST erkini baskıladığı belirtilmiştir. Bir diğer çalışmada insan melanom hücrelerinde curcumin' in güçlü bir GST baskılayıcısı olarak işlev gördüğü gösterilmiştir. Curcumin K562 ve Jurkat lösemi hücrelerinde NF-kB ve AP1 sinyal yollarını baskılayarak, GSTF1-1 ifadenmesini önemli ölçüde azaltır [135-137].

Zehir karşıtı etki

C. longa bitkisinden ayrıştırılan ar-turmerone, Bothrops zehrinin hemorajik etkisini ve farede Crotalus zehrinin %70 oranındaki öldürücü etkisini nötralize eder. Curcumin, proteolitik erki ile zehir enzimlerinin baskılayıcısı olarak işlev görür [11,13].

Curcumin' in böbrek üzerine etkileri

Böbrekler organizmaya dışarıdan verilen bileşenlere karşı duyarlıdır. Kaynak incelemelerinde curcumin' in böbrek üzerinde etkilerinin elektron mikroskop ile doğrudan incelendiği çalışmalar kısıtlıdır. Bir çalışmada curcumin' in güçlü bir kanser önleyici ajan olduğu, kanser başlangıcını baskılama sürecine katıldığı ve tümör dokusu oluşumunu azalttığı ortaya konulmuştur. Deri, meme bezi, ağız, özofagus, kolon, duodenum, mide, bağırsak, kolon, böbrek, prostat, akciğer ve karaciğer dokularında tümör oluşumunu baskıladığı kanıtlanmıştır. Curcumin bakır uyarımlı böbrek tümörü dağılımını azaltmasa da, bakır iletilici ATPaz geni olması nedeniyle bakır biriktiren mutantlarda kanser oluşumu ve metastazı azaltır. Erkek farelerde böbrek dokusunda faz 2 ilaç metabolize edici enzimler olan GST ve kinon redüktaz aktivitesini doz bağımlı olarak uyarır [11,47,49,54].

Böbrek hücrelerinde lipid birikimi, lipid peroksidasyonu, kristolizisi baskılar ve oksidatif hücre hasarını önler. Curcumin böbrek epitel hücrelerinde Nrf-2/antioksidan yanıt elemanı (ARE) yolağında yer alan hem-oksijenaz (HO)-1 aktivatörüdür. Böbrek hücrelerinde curcumin aracılığıyla IκBa fosforilasyonu

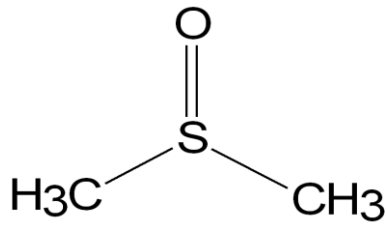
baskılanır ve HO-1 uyarımı azalır. Apoptozisle ilişkili genlerden Fas ve Fas-L' nin ifadenmesini baskılayarak böbrek hasarında olumlu etki gösterir [14,134].

Curcumin uygulaması patolojik değişimlere karşı koruyucu etki gösterir, iskemiye azaltır ve üremik sıçanlarda reaktif oksijen türleri ve oksidatif stres belirteçlerinin üretimini azaltarak, antioksidan yanıtı artırır. Curcumin ön uygulaması ile böbrek dokusunda ortaya çıkan I/R hasarı üzerinde olumlu etkiler ortaya çıkmıştır. Bir çalışmada curcumin' in metotreksate nefrotoksitesinde glutatyonin peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzimlerini koruduğu, COX-2 üretimini baskıladığı ve antioksidan, anti inflamatuvar etkileri ile koruyucu özellik gösterdiği ortaya konulmuştur. Curcumin' in böbrek hastalıklarında, hasar oluşumunun önlenmesinde potansiyel bir ajan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Böbrekte LPS uyarımlı inflamasyonda NF-kB aktivitesi ile MCP-1 mRNA ifadenmesini baskılayarak, MCP-1 ifadenmesi ve makrofaj infiltrasyonunu baskılar ve böylece koruyucu etki gösterir. Curcumin parasetamol' ün oluşturduğu toksik etkileri aza indirir, böbrek işlevlerini normalleştirir ve yine parasetamol aracılı oluşan oksidatif hasarı baskılar [138-142].

Curcumin' in toksisite çalışmalarında sıklıkla kullanılan ajanlardan biri olduğu bilinmektedir. Selenyum ile oluşturulan toksisitede curcumin böbrek dokusundaki iNOS ifadenmesini baskılayarak koruyucu etki gösterir. Curcumin uygulamasıyla arsenik zehirlenmesi sonucu oluşan oksidatif hasar azalır ve zehirlenmede antagonistik etki sahiptir. Bu etkisinin serbest radikal süpürücü antioksidan özelliği ve metal tutucu özelliğinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Curcumin böbrek dokusunda gentamisin ile uyarılan MDA ve LOOH oluşumunu azaltır ve oksidatif hasara karşı koruma sağlar. Diyabette curcumin etki yolağı, diyabetik nefropatinin gelişim ve ilerlemesinde önemli araçlar olan transkripsiyonel koaktivatör p300 ve transkripsiyonel faktör NF-kB üzerinden gerçekleşir. Bilinen bu etkisi, diyabet kökenli böbrek yaralarında curcumin' in iyileştirici etkiye sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Curcumin' in sepsis üzerindeki etkisi; koagülasyon homeostazını düzenlemesi ve ardından organlarda fibrin birikimini azaltması ile ortaya çıkar. Üreteral tıkanma ile oluşan renal intersitisiyal inflamasyon ve fibroziste curcumin koruyucu etkiye sahiptir [143-150].

2.8. Dimetilsülfoksit (DMSO)

DMSO geniş ölçüde biyolojik etkilere sahip olan ve yaygın kullanılan bir polar çözücüdür. Bir polar ve iki apolar grup taşıdığı için amfipatik bir moleküldür. DMSO, bu özelliği nedeniyle sulu ve organik ortamda çözünebilir. DMSO suda çözünmeyen bileşikler için kullanılan etkili bir çözücüdür. Biyolojik ve deneysel çalışmalarda sıklıkla çözücü olarak kullanılır. DMSO sıklıkla insektisit çözücüsü olarak yeğlenmektedir. Buna ek olarak hücre farklılaştırıcı, hidrojen bağlanmasını bozucu, kriyoprotektan, elektron mikroskopunda örnek hazırlanmasında kullanılan çözücü ve lokal anestezik olarak kullanıldığı bilinmektedir [151-153].



Şekil 2.6. Dimetilsülfoksit' in kimyasal yapısı

DMSO' nun biyolojik erki 1960 yılında bulunmuş ve ilk kez 1961 yılında organ transplantlarını koruma ereğiyle kullanılmıştır. Köpek ve atlarda iskelet ve kas sistemi bozuklukları için 1970 yılında Amerikan gıda ve ilaç dairesinden (FDA) onay almıştır. Antiinflamatuvar, analjezik, kas gevşetici, ilaç penetrasyonunu artırıcı etkileri bilinmektedir. DMSO, serbest oksijen radikali bağlayıcılarından biridir, hücre büyümesini baskılar ve hücre fenotip değişikliklerini uyarır. İnflamasyon ve sepsis ile ilgili deneysel modellerde DMSO' nun inflamasyon oluşumunda yer alan NF-kB ailesi üzerinde baskılayıcı etkisi gösterilmiştir. Bu etkiyi kritik adhezyon moleküllerinin transkripsiyon aktivasyonunu önleyerek ve TNF-a oluşumunu azaltarak gerçekleştirdiği bildirilmiştir. Deri altı uygulamalarından 2 saat sonra sıçanlara ait tüm dokularda DMSO saptanmıştır. DMSO ile karıştırılan birçok maddenin, sudaki solüsyonlarına karşın membran geçişlerinin daha hızlı olduğu gösterilmiştir [152-156].

DMSO insanlarda çeşitli ereklerle kullanılmıştır. Kan-beyin bariyerini geçebilme erki nedeniyle travmatik beyin ödeminde yeğlenmiştir. Klinik olarak pulmoner

adenokarsinom, iskelet-kas sistemi bozuklukları, romatolojik hastalıklar, dermatolojik hastalıklar, kronik prostatit, lokal anestezi ve şizofrenide kullanılmaktadır. Başlıca antiinflamatuar ve antioksidan etkinliği nedeniyle çeşitli mide-bağırsak hastalıklarında kullanıldığı bildirilmiştir [153].

DMSO hücre kültürlerinde soğuk koruyucu (kriyoprotektif) etkisi ve hidrofobik maddelerin sulu çözeltilere eklenmesinde taşıyıcı olması nedeniyle yaygın olarak yeğlenmektedir. Trombosit süspansiyonlarının saklanması DMSO' nun kriyoprotektan etkisinden yararlanır. DMSO ile dondurulmuş trombosit süspansiyonunun oda sıcaklığında saklanması ile kanama zamanını kısaltma ve trombositopenik hastalardaki hemorajiyi engellemede daha etkili olduğu bildirilmiştir. DMSO' nun kollajeni çözerek bağ dokusunu azaltıcı etkisi bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda sıçanlarda cerrahi uygulama sonucunda gelişen intraperitoneal adhezyonların DMSO ile %80 oranında azaldığı gösterilmiştir. Topikal DMSO uygulaması yapılmış sklerodermalı hastalarda idrar hidroksiprolin düzeyleri arttığı ve topikal DMSO' ya etkin kalan tavşan derisinde kollajen kırılmalarının azaldığı saptanmıştır. DMSO' nun alerjik ekzema, kontakt dermatit ve sıçan derisinde oluşturulan kalsifikasyon sonrasındaki tepkimeleri %70 azaltıcı etkiye sahip olduğu belirlenmiştir [153,157].

Lösemi ve malign hücrelerin işlev ve farklılaşmasını uyarır. Yağ hücre farklılaşmasını doz bağımlı olarak baskıladığı ve bu etkinin %2 oranında DMSO kullanımı ile gerçekleştiği belirtilmiştir. Lenfoma hücre hattında DMSO mitokondriyal yolaklar üzerinden apoptotik değişimleri uyarır. Apoptozis üzerindeki etkisini p53 protein modifikasyonu ve koloni uyaran faktör-1 düzeyini azaltarak gösterdiği saptanmıştır. Bir çalışmada sıçan hepatoma hücre hattında toplam metabolik etkinliği azalttığı gösterilmiştir. Buna ek olarak, iskemi-reperfüzyonun böbrek dokusunda oluşturduğu hasarda DMSO' nun 24 saat içerisinde dokuyu normale yakın yapıya döndürdüğü belirtilmiştir [158-161].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)' nden sağlanan Wistar Albino cinsi, 36 adet, ortalama 200-250 gr ağırlığında erkek sıçan kullanıldı.

Deney süresince deneklerin 21-23 °C ısı ve ışık/zaman ayarı 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde bakımları sağlandı. İçme suyu olarak çeşme suyu verilen denekler standart yem ile beslendi.

Çalışmada kullanılan sıçanlar 6 gruba ayrıldı:

1. Grup: Kontrol grubu (n=6)
2. Grup: Mısır yağı (sham kontrol grubu, 1ml/kg/gün) (n=6)
3. Grup: DMSO (sham kontrol grubu, 1ml/kg/gün) (n=6)
4. Grup: BAP grubu (10 mg/kg/gün) (n=6)
5. Grup: Curcumin grubu (100 mg/kg/gün) (n=6)
6. Grup: Curcumin + BAP grubu (100 ml/kg/gün + 10 ml/kg/gün) (n=6).

100 mg/kg/gün dozunda curcumin, 15 ml DMSO içerisinde 0,6 gr curcumin çözdürülerek, 10 mg/kg/gün dozunda benzo(a)piren (BAP), 15 ml mısır yağında 0,06 gr BAP çözdürülerek hazırlandı. Uygulamalar gavaj yolu ile yapıldı.

Uygulamaların tümü 6 hafta süresince, günde tek doz ve aynı saatlerde yapıldı. Deneklerin vücut ağırlıkları deney süresince günlük olarak kaydedildi. Deney süresi bitiminde denekler anestezi altında feda edildi. Deneklerin karın bölgeleri açılarak sol böbrek dokuları alındı.

Elektron mikroskopik inceleme için 1 mm³ lük parçalara ayrılan böbrek doku örnekleri pH 7,4' de 1/15 µ fosfat tamponlu % 2,5' luk gluteraldehit tespit solüsyonu içine konuldular. Dokulara daha sonra geçirgen elektron mikroskop (TEM) ve taramalı elektron mikroskop (SEM) yöntemleri uygulandı.

3.2. Geçirgen Elektron Mikroskop (TEM) Yöntemi

Tespit:

Sorenson' un fosfat solüsyonu:

Sol. A: Potasyum fosfat monobazik (KH₂PO₄).....0.908 g
 Distile su:.....100 ml
 Sol. B: Sodyum fosfat dibazik (Na₂HPO₄.2H₂O).....1.188 g
 Distile su:.....100 ml
 18,2 ml Sol. A+81,8 ml Sol. B = 100 ml (pH: 7,4)

Gluteraldehit tespit solüsyonunun hazırlanması:

9.2 cc Sorenson fosfat tamponu+0.8 cc Gluteraldehit= 10 cc

Dokular, bu solüsyona 30 dakika etkin bırakılıp sertleşmeleri sağlandıktan sonra, bir çift bistüri yardımıyla 1 mm³ parçalar halinde ayrıldı. Bir saat daha gluteraldehit solüsyonunda bekletilerek ilk tespitleri sağlandı. Dokular daha sonra fosfat tamponunda yıkanarak 2. Tespit solüsyonuna kondular.

Osmiyum Tetroksit tespiti:

Osmiyum tetroksit (OsO₄).....0,1 gr
 Distile su.....5 cc
 1 kısım Soranson fosfat tamponu + 1 kısım osmiyum tetroksit

Dokular bu şekilde hazırlanmış %1' lik osmiyum tetroksit solüsyonuna 1 saat etkin bırakıldı. Böylece tespit ve boyanmaları sağlandı.

Dehidratasyon ve blok oluşturulması:

Dokular osmiyum ile ikinci kez tespit edildikten sonra, doku içindeki fazla suyun uzaklaştırılması için, artan derecelerdeki alkol serilerinden geçirildiler.

%50' lik alkol.....10 dakika

%60' lik alkol.....10 dakika

%70' lik alkol.....10 dakika

Uranil asetat.....30 dakika (1 gr uranil asetat+50 ml %80' lik alkol karışımı hazırlandıktan sonra süzülerek 10 dakika bekletilip süzülerek uygulandı).

%80' lik alkol.....2 kez yıkandı ve 10 dakika bekletildi.

%90' lik alkol.....10 dakika

%96' lik alkol.....10 dakika

%100' lük alkol.....15 dakika

Propilen oksit.....30 dakika

Propilen oksit+1.gömme materyali.....30 dakika (gömme materyalinin doku içine geçişi sağlandı).

Birinci gömme materyali:

Araldit CY 212.....10 cc

DDSA (Dodesenil süksinik anhidrat).....10 cc

Dokular bu karışımda 1 gece oda ısısında 40 °C' lik etüvde bekletildiler.

İkinci gömme materyali:

Araldit CY 212.....10 cc

DDSA.....	10 cc
BDMA (Benzil dimetil amin).....	0,4 cc
DBP (Di-bütil fitalat).....	1 cc

Dokular bu karışımda 2 saat oda ısısında rotatörde, 2 saat süreyle de 40 °C' lik etüvde tutuldular.

Daha sonra dokular, içinde aynı gömme materyali bulunan 00 numara jelatin kapsüle gömüldü. Blok içindeki havanın çıkması için 1 saat oda ısısında bekletilen dokular, polimerizasyon işlemi için 24 saat 45 °C' de, 48 saat 60 °C' de etüvde bekletildiler. Süre sonunda etüv kapatılarak dokular etüv içinde kendi hallerinde soğumaya bırakıldı.

Hazırlanan bloklardan LKB Leica Ultramikrotom (Dechert Supernova) ile 1µ kalınlığında yarı ince kesitler alındı ve istenilen bölgeler işaretlenerek formvar kaplı bakır gridler üzerine 0,2-0,5 µ' luk ince kesitleri alındı. Kontrast sağlamak ereğiyle, alınan kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EVO LS 10+ED transmission elektron mikroskopta (TEM) değerlendirilerek resimlendirildi.

3.3. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Yöntemi

Doku örnekleri, % 2,5 'luk tamponlu gluteraldehit solusyonuna alınarak bekletildi. Daha sonra aseton içerisinde bekletilerek dehidrate edilen dokular, Leica EM CPD030 kritik nokta kurutma cihazında kurutuldu. Kurutma sonrasında, alüminyum taşıma haznelerine sıvı gümüş ile yapıştırılarak; Denton vacuum, LLC Desk V sputter / etch unit kaplama cihazında, altın- paladyum (AuPd) ile kaplandı. Zeiss EVO LS 10 SEM mikroskopta hızlanan 10 kV voltajda incelendi, değerlendirildi ve fotoğraflandı.

3.4. İstatiksel Yöntem

İstatistiksel yöntem için, gruplarda böbrek dokusunun 6 farklı bölge değerlendirmesi ve glomerüler bazal membran kalınlık ölçümleri Carl Zeiss EVO LS 10+ED transmission elektron mikroskop kullanılarak yapıldı. Elde edilen verilerin analizleri ve tablo oluşturulmasında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 15 programı kullanıldı. Verilerin sunumu için ortalama ve standart sapma değerler belirlendi. Ele alınan her bir özelliğe (değişken) göre gruplar arasında istatistiksel fark **Kruskal-Wallis H testi** ile değerlendirildi. Yapılan Kruskal-Wallis H testinin anlamlı bulunması durumunda farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için **Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi** kullanıldı. Tüm analizlerde $p < 0.05$ değeri için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Kontrol grubuna ait küçük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resimlerinde podosit sitoplazmasının genelde açık renk boyandığı, çekirdeğin hücre şekline koşut oval biçimli olduğu ve ökromatik çekirdeklerinin heterokromatin kapsamlarının çekirdek zarı altında toplanmış olduğu ilgiyi çekti. Kromatin yapısı podosit çekirdeklerinin orta bölümlerinde granüler dağılım gösteriyordu. Düzensiz şekilli kapillerler içerisinde eritrosit profilleri izleniyordu. Endotel hücreleri yassı biçimli ancak çekirdek içeren kısım lümene doğru çıkıntılı olarak ayırt edildi. Çekirdek, endotel hücre şekline uygun ve düzensiz loplular olarak izleniyordu. Endotel hücrelerinin çekirdek heterokromatini, podosit çekirdeklerine benzer şekilde çekirdek zarı altında kümeler halindeydi. Mezengiyal hücreler glomerül parankiminde yaygındı ve diğer hücrelere karşın yoğun sitoplazmaları ile özelleşmişlerdi. Mezengiyal hücrelerde çekirdekler yine düzensiz şekilli, hücre şekline koşut ve heterokromatin kapsamı yine çekirdek zarı altında kümelenmiş olarak dikkati çekiyordu. Podosit hücrelerinde birincil ve ikincil uzantılar ve onların dallanması sonucu oluşan pediseller normal histolojik yapılarında izleniyorlardı (Resim 4.1). Büyük büyültmeli resimlerde tüm hücre tipleri normal organel yapılarıyla izlenirken, glomerüler bazal membran (GBM), endotel hücre fenestraları (delikler), pediseller ve idrar aralığı normal ince yapı özellikleriyle izlendi (Resim 4.2). Böbrek tübüllerinde tübül lümeni uzun fırçası kenar yapılı mikrovilluslar nedeniyle kapalı durumda izlenirken, tübül hücrelerinde bazal katlantılar ve bunlara koşut yerleşimli mitokondriyonlar belirgin olarak ayırt ediliyordu. Bu bölümde mitokondriyonlar uzun şekilli ve oldukça yoğun matriksli olarak dikkati çekiyordu. Mitokondriyonlarda kristolizis izlenmezken, tüm hücre organelleri normal histolojik yapılarında ayırt ediliyordu. Apikal sitoplazmada mitokondriyonların genelde yuvarlak şekilli olduğu gözlemleniyordu. Yuvarlak hücre çekirdekleri, hücre şekline uygun biçimde hücrenin ortasında yerleşikti. Ökromatik görünümlü bu çekirdeklerin de heterokromatin kapsamının çekirdek zarı altında ve orta bölümlerde ise ince tanecikler şeklinde dağıldığı gözlemlendi. Bu tübüllere özgün sayıca çok lizozomlar sitoplazmada irili ufaklı ve normal yapılarında izleniyordu. Bazı hücre çekirdeklerinde çekirdekçik belirgindi (Resim 4.3). Yapılan taramalı elektron mikroskop incelemelerinde ise, kontrol grubunda glomerül yapıları kapillerlerinin kıvrıntılı dağılımları ve bunlara uzanmış

podositlerin büyük hücre gövdeleri, birincil-ikincil uzantıları ve bunların dallanması sonucu şekillenen pediseller ve süzülme yarıkları normal yapılarında ayırt ediliyordu (Resim 4.4).

Mısır yağı uygulanan sham grubunda küçük büyütmeli geçirgen elektron mikroskop resimlerinde glomerül yapısının kontrol grubuna eşdeş olduğu, kapiller podosit ilişkilerinin düzenli dağılım gösterdiği, endotel hücrelerinin, mezengiyal hücrelerin ve podositlerin normal ince yapı özellikleri sergiledikleri dikkati çekiyordu (Resim 4.5, 4.6A). Aynı gruba ait büyük büyütmeli resimlerde ise GBM, endotel hücre fenestraları, pediseller, idrar aralığı, mezengiyal hücreler ve endotel hücreleri tüm organel yapılarıyla normal ince yapısal özellikteydi (Resim 4.6B). Aynı grubun tübüler yapılarında kontrole eşdeş olduğu bazal katlantılar, mitokondriyonlar, çekirdek yapıları, fırçamsı kenar özelliğindeki mikrovillusların kontrolle eşdeş yapı gösterdiği ayırt ediliyordu. Lizozomlar ise doku genelinde kontrolle eşdeş olmalarına karşın, bazı tübüllerin, özellikle bazal bölgelerinde uzun mitokondriyonlar arasında, daha iri ve düzensiz yapıda oldukları dikkati çekiyordu. Tübüler bazal membran normal yapısındaydı (Resim 4.7). Bu gruba ait taramalı elektron mikroskop incelemelerinde ise glomerüllerde podosit gövdelerinin birincil ve ikincil uzantılarının, pedisellerin ve süzülme yarıklarının kontrol grubuyla eşdeş olduğu ayırt ediliyordu (Resim 4.8A, B).

DMSO uygulanan gruba ait geçirgen elektron mikroskop incelemelerinde böbrek dokusunun kontrole benzer olduğu, podosit hücreleri ile kapiller endotel hücre ilişkileri, birincil ikincil uzantılar ile pedisel dağılımlarının ve mezengiyal hücrelerin normal yapılarında olduğu dikkati çekiyordu (Resim 4.9). Büyük büyütmeli resimlerde GBM' nin de kontrol ve mısır yağı gruplarına benzer yapıda olduğu ilgiyi çekiyordu (Resim 4.10). Aynı gruba ait böbrek tübüler yapılarının da ilk iki gruba benzer biçimde normal ince yapı özellikleri sergiledikleri izlendi (Resim 4.11). Küçük büyütmeli taramalı elektron mikroskop resimlerinde glomerüle ait yapılar belirgin ve kontrol grubuyla benzerken (Resim 4.12), büyük büyütmeli resimlerde podosit gövdeleri, sitoplazmik uzantıları ve pediseller belirgindi (Resim 4.13).

Benzo(a)piren uygulanan gruba ait geçirgen elektron mikroskop incelemelerinde glomerül kapillerlerinde genişleme, bazal membranda yer yer ve orantısız kalınlaşma ve kıvrılma, podosit çekirdeklerinde özellikle çekirdek zarı altı ve içinde kümeler halinde heterokromatin artışı ve sitoplazmanın elektron yoğun görünümü gözlemleniyordu. Mezengiyal hücre çekirdeklerinde de heterokromatin artışı yaygın olarak izleniyordu. Tüm hücre tipleri sitoplazmasında organel içeriklerinde bozulma ve vakuol benzeri yapıların oluşturduğu boşluğu alanlar ayırt ediliyordu (Resim 4.14). Bazı mezengiyal hücrelerde çekirdeğin tümüyle heterokromatikleştiği, sitoplazmada yaygın lipid depolanması olduğu ayırt ediliyordu. Bunların apoptozise giden hücreler olabileceği düşünülürdü (Resim 4.15). Yine podosit uzantılarının yer yer düzensizleştiği, kütleştiği ve bazı bölgelerde kaybolduğu gözlemleniyordu. Pedisellerin silinmesi ile birlikte, bu gruba ait en dramatik dejeneratif bulgu, podosit sitoplazmasında intramembranöz ve mezengiyal hücre sitoplazmasında elektron yoğun cisimciklerin varlığı olarak dikkati çekti (Resim 4.14). Böbrek tübül hücrelerinde çekirdek heterokromatininin kontrole karşın yoğun olduğu dikkati çekiyordu. Bazal katlantıların yapısal değişime uğradığı, yer yer silinip ortadan kalktığı, mitokondriyonların uzun şekillerini yitirerek yuvarlaklaştığı ve orjinal bazal yerleşimlerini terk ederek tüm sitoplazmaya dağıldıkları dikkati çekiyordu. Tübüler bazal membranın kalınlaştığı ve hücrelerdeki lizozomların bazılarının birleşerek düzensiz lizozomal yapılar oluşturdukları ayırt ediliyordu (Resim 4.16). Bu grubun taramalı elektron mikroskopik resimlerinde küçük ve büyük büyültmelerde, en belirgin dejeneratif bulgular podosit hücre gövdeleri, birincil ikincil podosit uzantıları ve pedisel yapılanmasında belirgin bozulmaların varlığı olarak belirlendi. Bazı glomerüler yapılarda podosit gövdeleri ve pedisel ayrımların ayırt edilemediği (Resim 4.17), bu yapıların silinerek glomerül yüzeyinin normal taramalı mikroskop görüntüsünden uzak bir yapısal özellik kazandığı saptandı (Resim 4.18). Bu gruba ait diğer glomerüler yapıların ise, süngerimsi bir görünüm kazandığı özellikle podosit hücre gövdelerinin krater benzeri oyuklarla ay yüzeyini andıran görünüm sergilediği ayırt edildi (Resim 4.19).

Curcumin uygulanan gruba ait geçirgen elektron mikroskop incelemelerinde yapının korunduğu, tüm ince yapısal özelliklerin belirgin olarak ortaya çıktığı gözlemlendi. Podosit uzantıları kapiller ilişkisi, kontrol ve mısır yağı uygulanan

gruplara eşdeşti (Resim 4.20). Yine büyük büyültmeli resimlerde GBM' de belirgin olarak ve normal ince yapı özelliği ile ayırt ediliyordu (Resim 4.21). Tübüllerde de yapı genelde korunmuştu (Resim 4.22). Aynı gruba ait taramalı elektron mikroskop resimlerinde de yapının korunmuştu. Podosit gövdeleri belirgin ve pediseller normal ve düzenli yapıdaydı (Resim 4.23, 4.24).

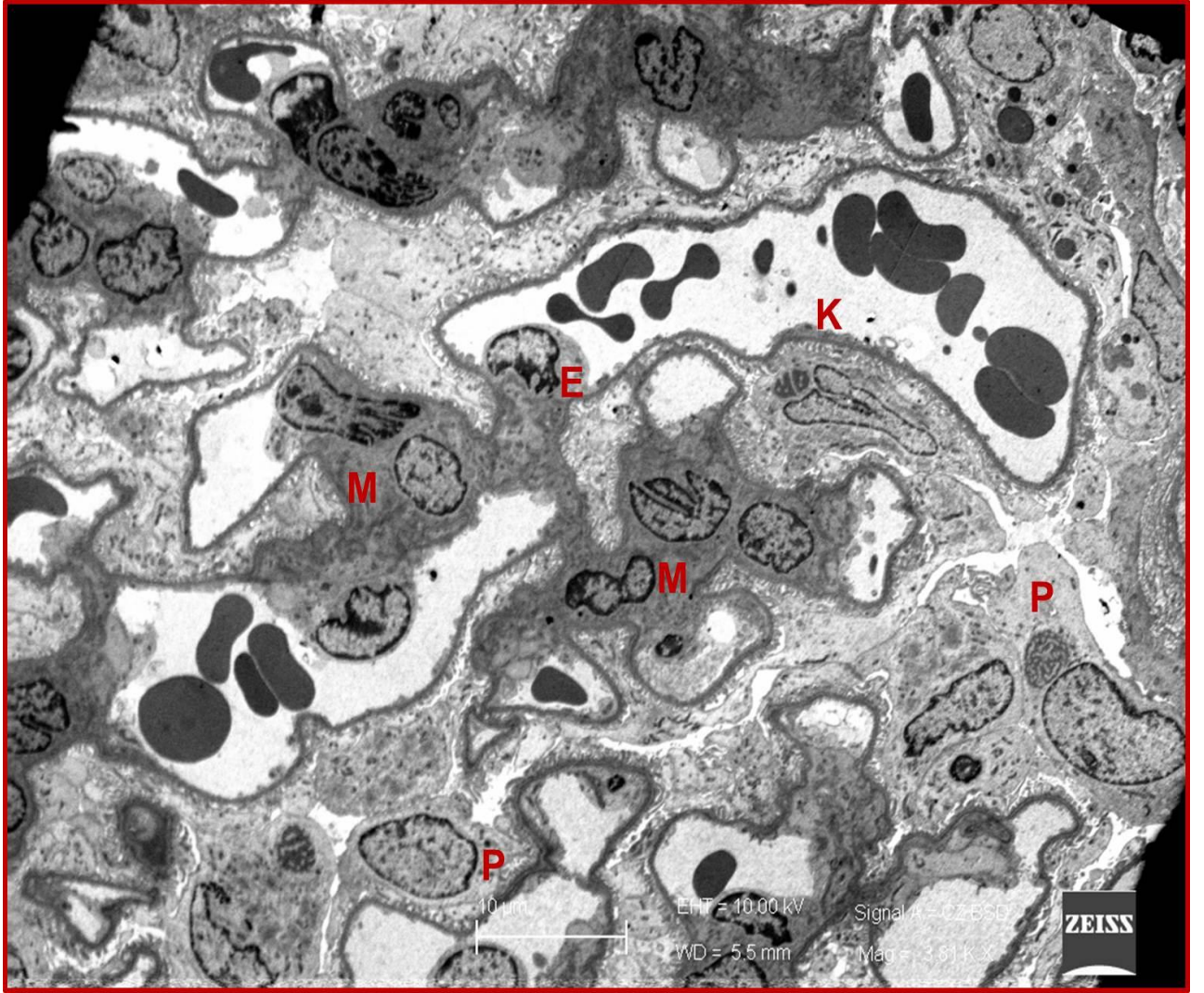
BAP+ Curcumin uygulanan gruba ait geçirgen elektron mikroskop incelemelerinde heterokromatikliğin kontrole karşın sürdüğü, geri kalan tüm yapıların kontrole benzediği izleniyordu (Resim 4.25). Küçük ve büyük büyültmeli resimlerde GBM' nin normal yapısına döndüğü dikkati çekti (Resim 4.25, 4.26). Apoptotik cisim gözlenmedi (Resim 4.25, 4.26). Bu gruba ait proksimal tübüler yapıların kontrol grubuyla eşdeş ince yapı özellikleri sergiledikleri saptandı (Resim 4.27). Aynı gruba ait taramalı elektron mikroskop resimlerinde genel yapının kontrole eşdeş olduğu gözlemleniyordu (Resim 4.28, 4.29).

Çalışmamızda TEM dejenerasyon kriterleri podosit sitoplazmalarında elektron yoğun intramembranöz cisimciklerin, mezengiyal hücre sitoplazmalarında da elektron yoğun cisimciklerin varlığı, pedisellerin silinmesi, büyük vakuoler oluşumların varlığı ve glomerüler bazal membranda katlanma olarak belirlendi ve gruplara göre istatistiksel değerlendirilmesi yapıldı. Benzo(a)piren uygulanan grupta, podosit sitoplazmasında elektron yoğun intramembranöz ve mezengiyal hücre sitoplazmasında elektron yoğun cisimciklerin varlığı diğer grupların değerlerine karşın artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. DMSO ile Curcumin+BAP uygulanan gruplarda pedisellerin silinme değerleri birbirleriyle benzer ve kontrol, mısır yağı, curcumin gruplarına karşın artmış olduğu, bu artışın BAP grubunda ise önemli düzeyde olduğu belirlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur. Büyük vakuoler oluşumlar ve glomerüler bazal membranda katlanma kriterlerinin DMSO ve Cucumin+BAP grubunda diğer gruplarla karşılaştırıldığında artmış olduğu görülmüştür. Aynı kriterlerin BAP uygulanan grupta diğer tüm gruplara karşın arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir (Grafik 4.1).

Pedisellerin silinmesi, podosit hücre gövdelerinde şekilsel bozukluklar, birincil ve ikincil podosit uzantılarında bozulmalar SEM dejenerasyon kriterleri olarak

saptandı ve gruplara göre istatistiksel değeriendirilmesi yapıldı. DMSO ile Curcumin+BAP uygulanan gruplarda pedisellerin silinme değeri birbiriyle benzer ve kontrol, mısır yağı, curcumin gruplarına karşı artmış olduğı, bu artışın BAP grubunda ise önemli düzeyde olduğı belirlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur. Podosit hücre gövdelerindeki şekilsel bozuklukların varlığı DMSO, BAP ve curcumin+BAP grubunda gözlenmiştir. Bozukluklar DMSO grubuna karşı, curcumin +BAP grubunda artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) kabul edilmiştir. BAP uygulanan grubun değeri, diğeri gruplar ile karşılaştırıldığında artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur. Birincil ve ikincil podosit uzantılarında bozulmalar diğeri gruplara karşı, DMSO ve curcumin+BAP uygulanan gruplarda artmış, bu artışın BAP grubunda ise önemli düzeyde olduğı belirlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur.

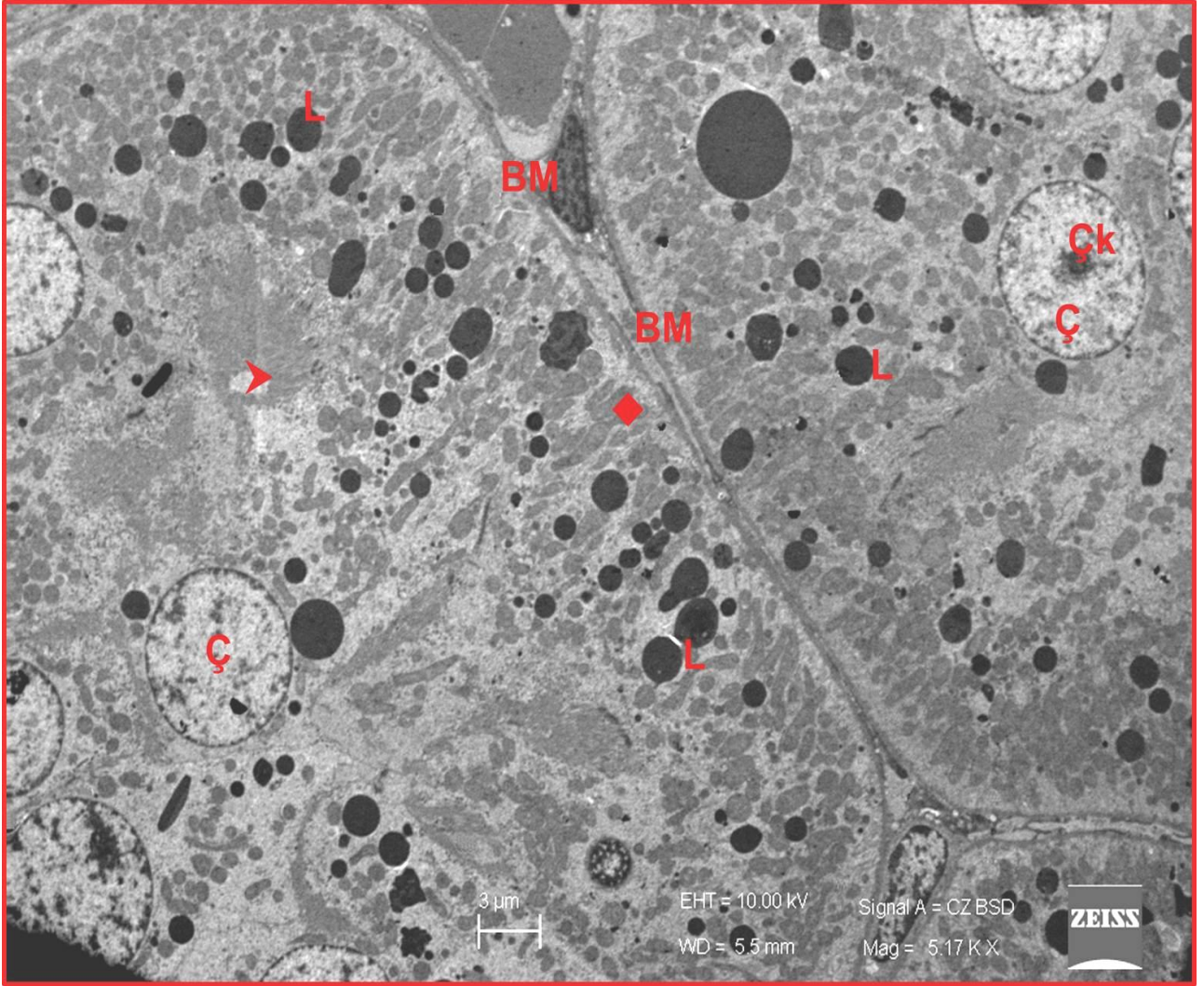
Gruplara göre glomerüler bazal membran kalınlık ölçümleri yapıldığında, mısır yağı uygulanan gruba ait kalınlığın kontrol grubu ile eşdeğeri olduğı bulunmuştur. DMSO uygulanan gruba ait glomerüler bazal membran kalınlığı, mısır yağı uygulanan gruba karşı azalmış ve bu azalış istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur. BAP uygulanan gruba ait glomerüler bazal membran kalınlığı, DMSO uygulanan gruba karşı azalmış ve bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) olduğı gözlemlenmiştir. Curcumin uygulanan gruba ait glomerüler bazal membran kalınlığı, DMSO ve BAP uygulanan gruplara karşı artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur. Curcumin+BAP uygulanan gruba ait glomerüler bazal membran kalınlığı, sadece curcumin uygulanan gruba karşı azalmıştır. Bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) olduğı görülmüştür.



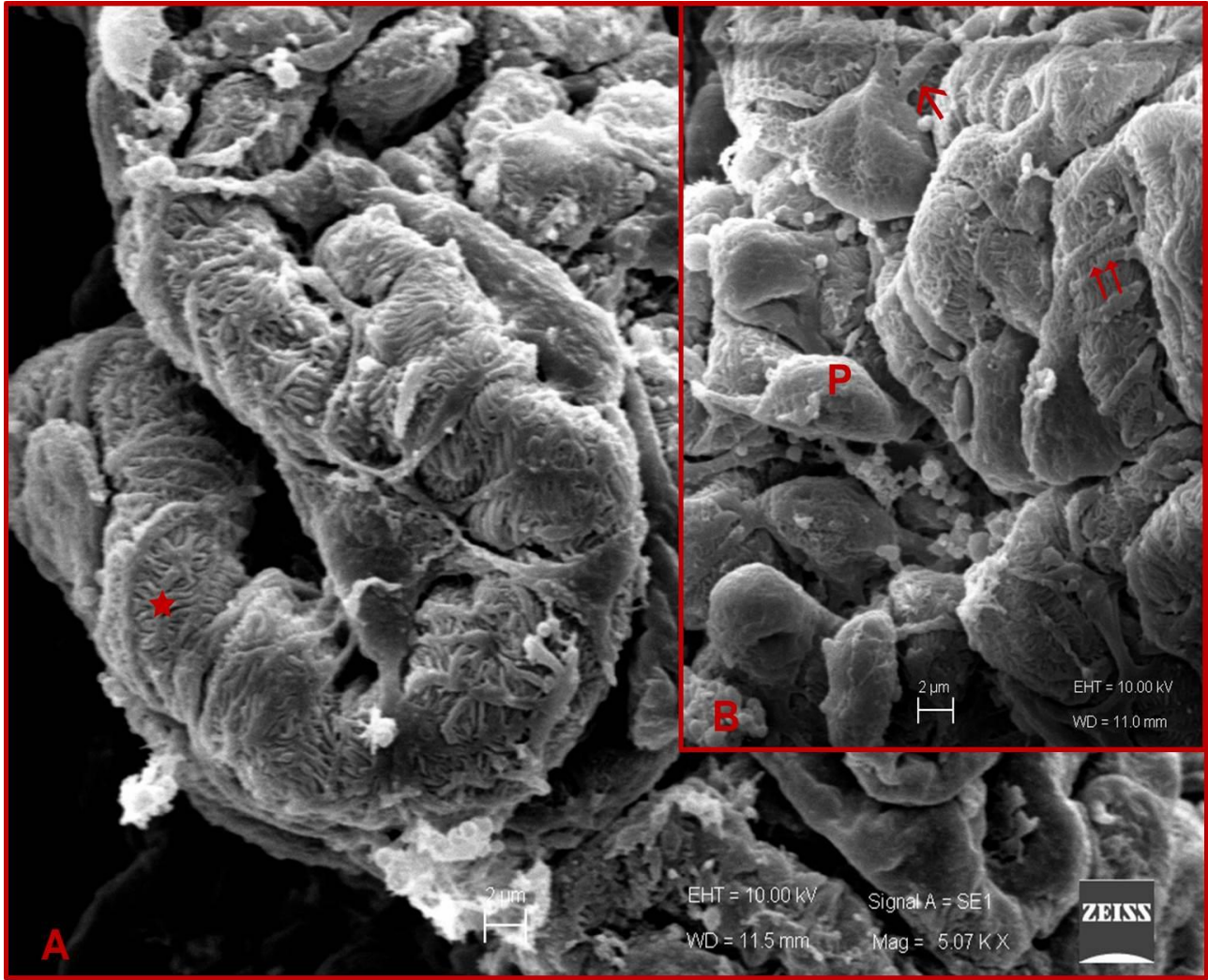
Resim 4.1. Kontrol grubunda geçirgen elektron mikroskop ile yapılan değerlendirmede, küçük büyütmeli resimde normal ince yapıda izlenen böbrek glomerülü görölüyor. Kapiller (K), endotel hücresi (E), mezengiyal hücreler (M) ve podosit hücreleri (P) belirgin olarak izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



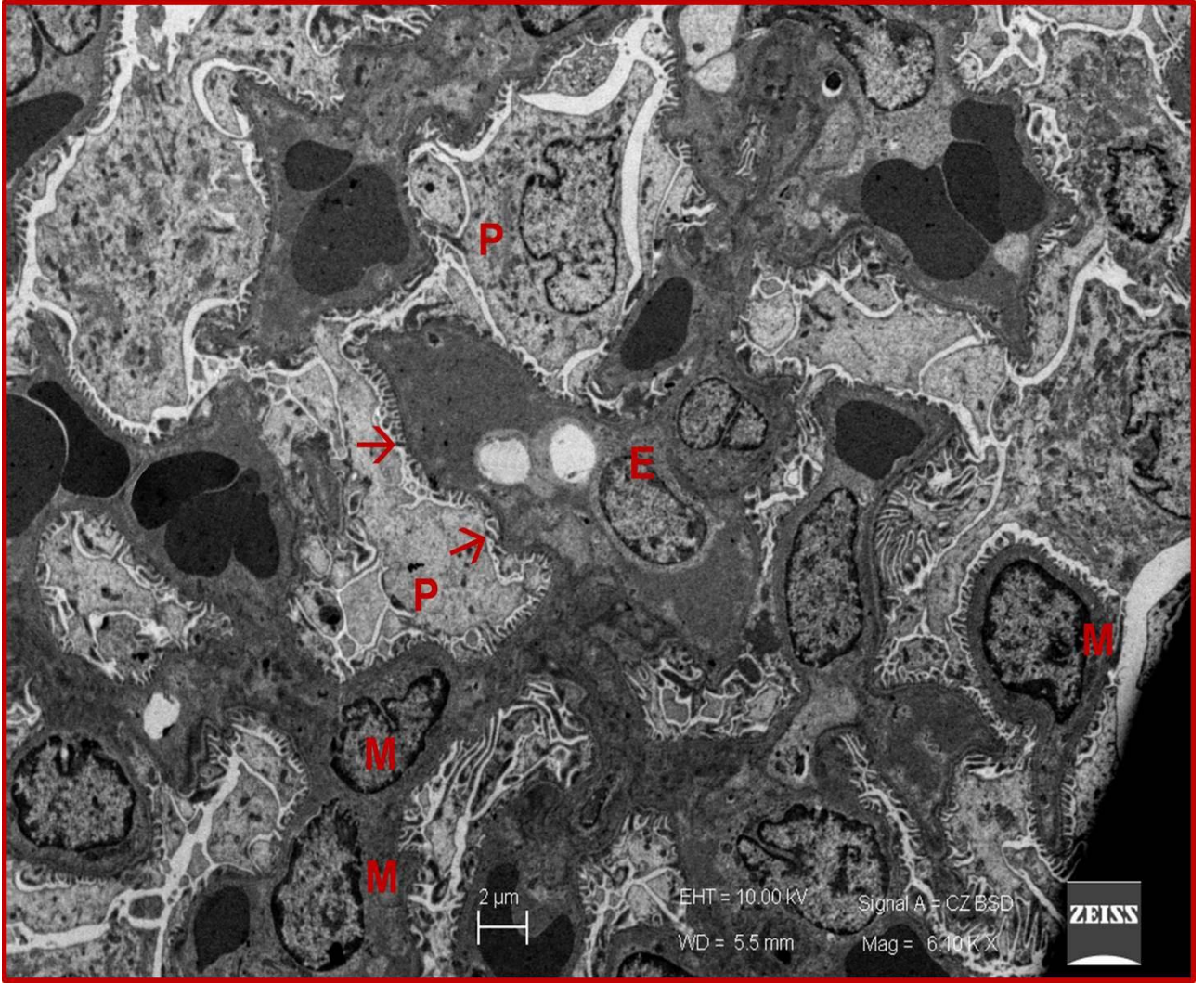
Resim 4.2. Kontrol grubuna ait büyük büyültmeli resimde normal ince yapıda izlenen böbrek glomerülü görülüyor. Kapiller (K), endotel hücresi (E), endotel hücre fenestraları (⇨), mezengiyal hücre (M), podosit hücresi (P), pediseller (→), idrar aralığı (↔) ve glomerüler bazal membran (*) belirgin olarak gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



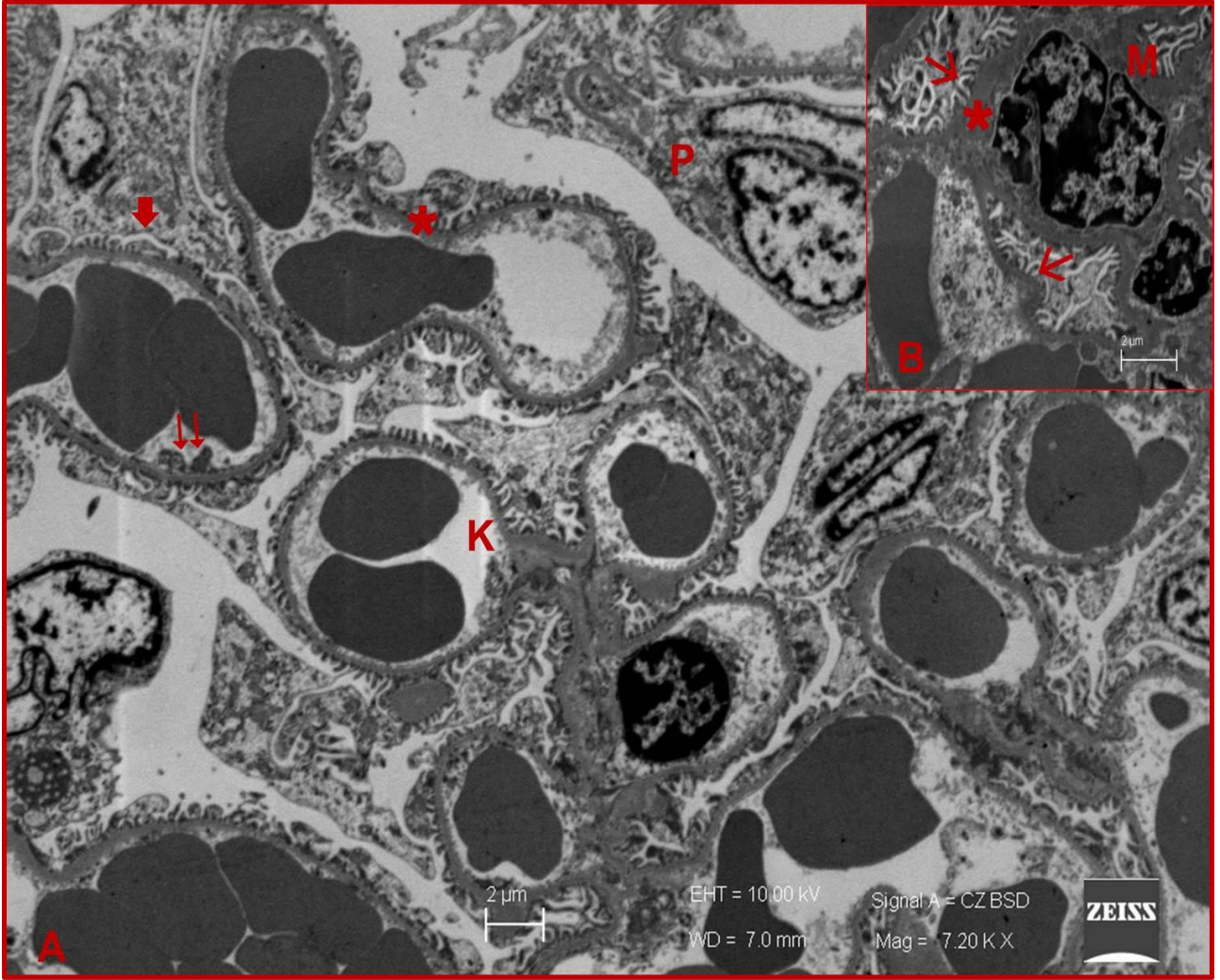
Resim 4.3. Kontrol grubunda geçirgen elektron mikroskop ile yapılan değerlendirmede, büyük büyültmeli resimde normal ince yapıda izlenen böbrek tübülü görülüyor. Fırçamsı kenar mikrovilluslar (►), lizozomlar (L), mitokondriyonlar (♦), hücre çekirdeği (Ç), çekirdekçik (Çk) ve tübül bazal membranı (BM) belirgin olarak ayırt ediliyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



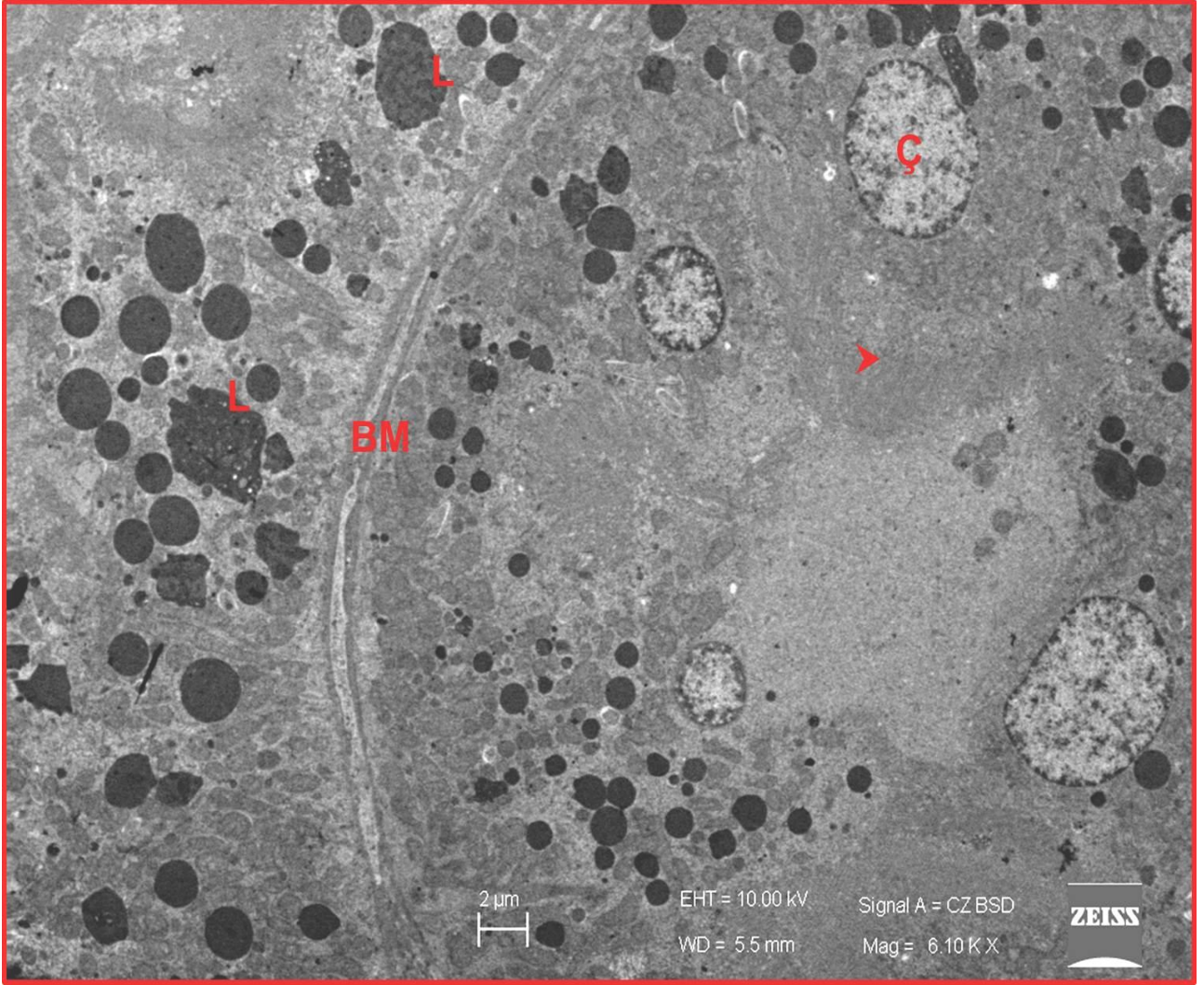
Resim 4.4A, 4.4B. Kontrol grubunda taramalı elektron mikroskop ile yapılan değerlendirmede normal yapıda izlenen böbrek glomerülü görülüyor. 4A resminde pedisel ve süzülme yarıkları (★), 4B resminde podosit hücre gövdesi (P), birincil (→) ve ikincil uzantılar (⇨) belirgin olarak izleniyor (Altın-Paladyum)



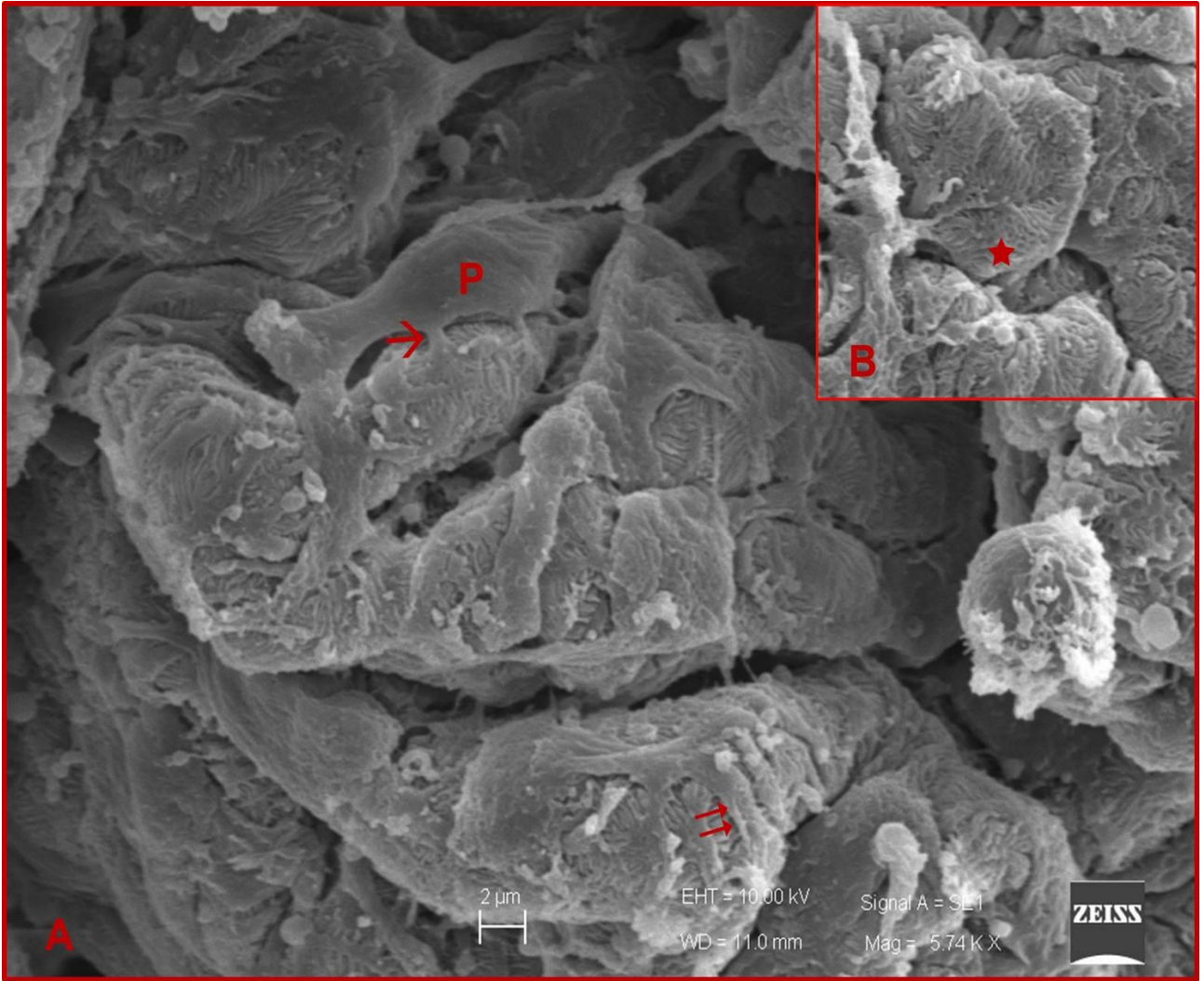
Resim 4.5. Mısır yağı uygulanan grupta böbrek dokusunun küçük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde endotel hücresi (E), mezengiyal hücreler (M) ve podosit hücresi (P) ve pediseller (→) gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



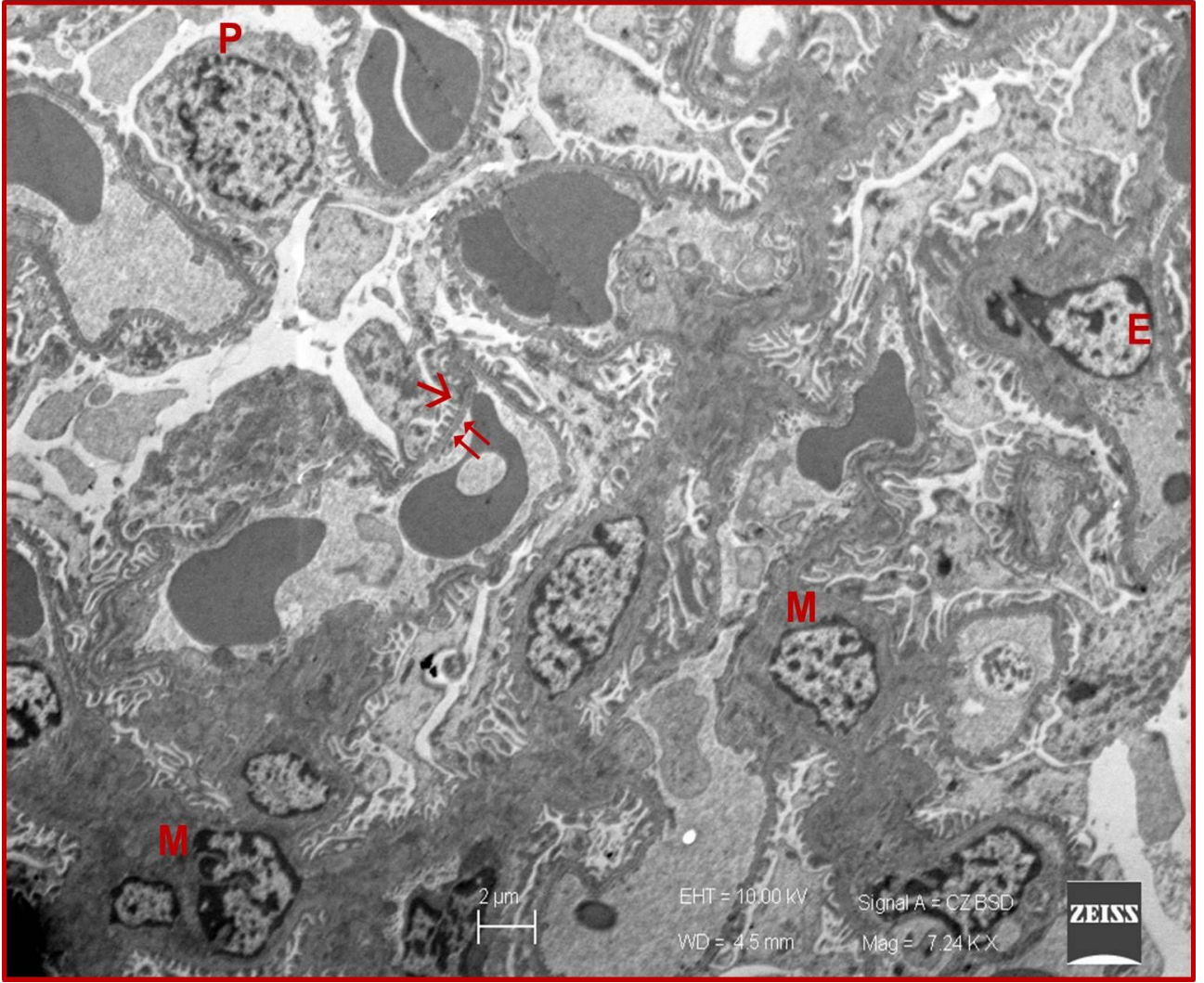
Resim 4.6 A, 4.6B Mısır yağı uygulanan grupta böbrek dokusunun büyük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde kapiller (K), endotel hücre fenestraları ($\rightleftharpoons$), podosit hücresi (P) ve idrar aralığı ($\blacktriangleleft$) ve glomerüler bazal membran (*) izleniyor (6A). 6B resminde pediseller ($\rightarrow$), mezengiyal hücre (M) ve glomerüler bazal membran (*) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



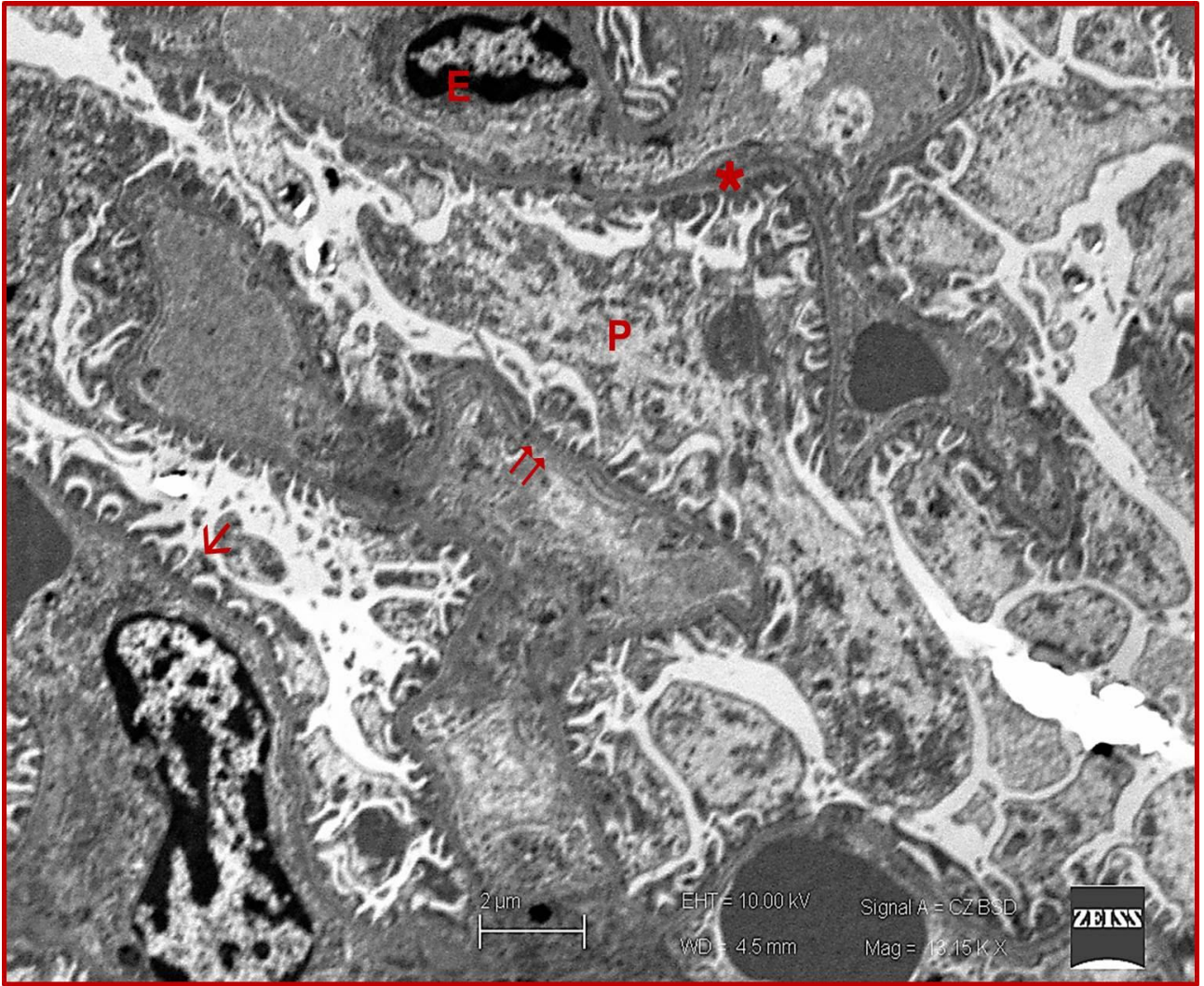
Resim 4.7. Mısır yağı uygulanan grupta, böbrek tübülünün büyük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde fırçamsı kenar mikrovilluslar (➤), lizozomlar (L), hücre çekirdeği (Ç) ve tübül bazal membranı (BM) ayırt ediliyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



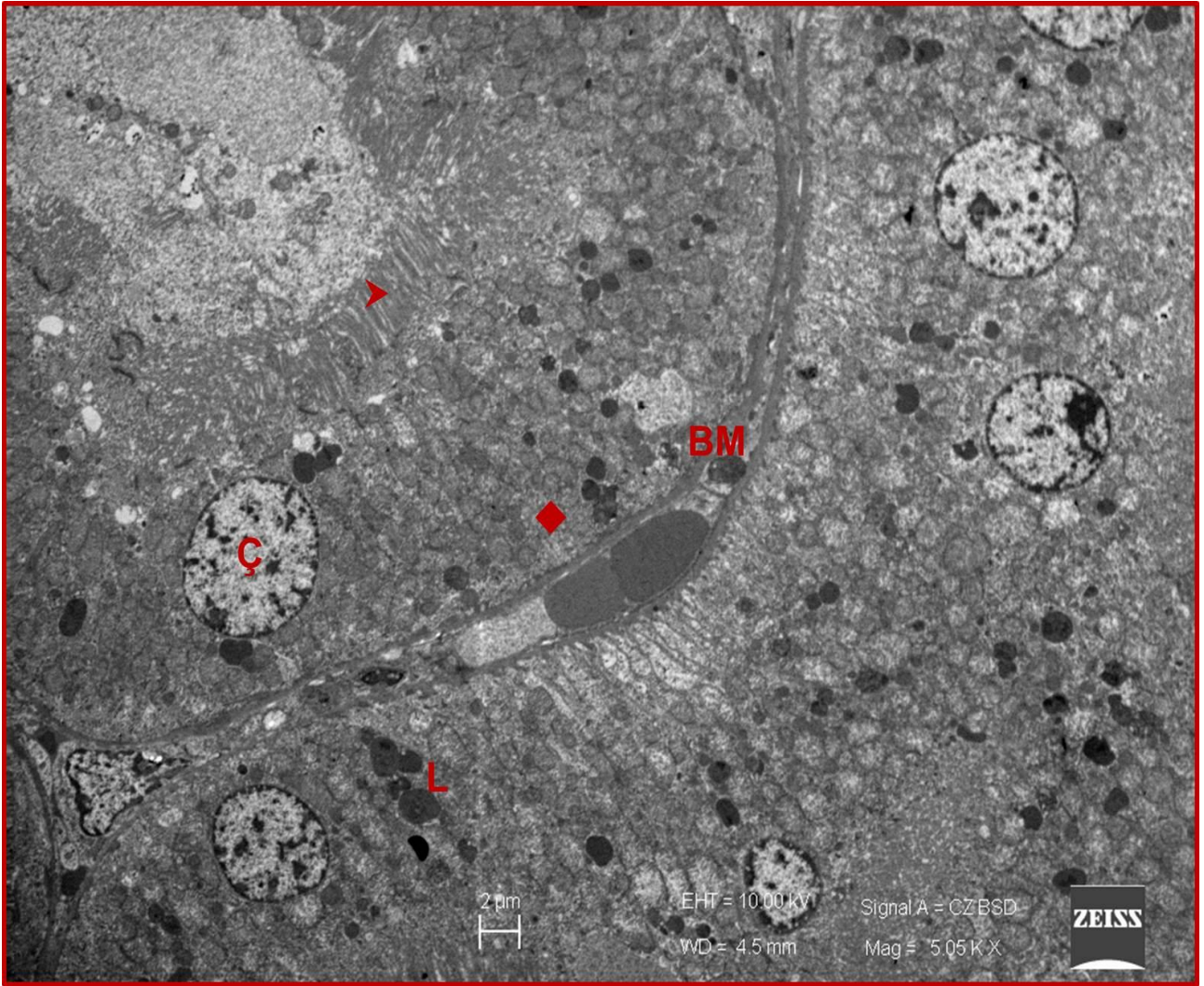
Resim 4.8. Mısır yağı uygulanan grupta taramalı elektron mikroskop ile yapılan değerlendirmede böbrek glomerülü görülüyor. 8A resminde podosit hücre gövdesi (P), birincil (→) ve ikincil uzantılar (⇔), 8B resminde pedisel ve süzülme yarıkları (★) belirgin olarak izleniyor (Altın-Paladyum)



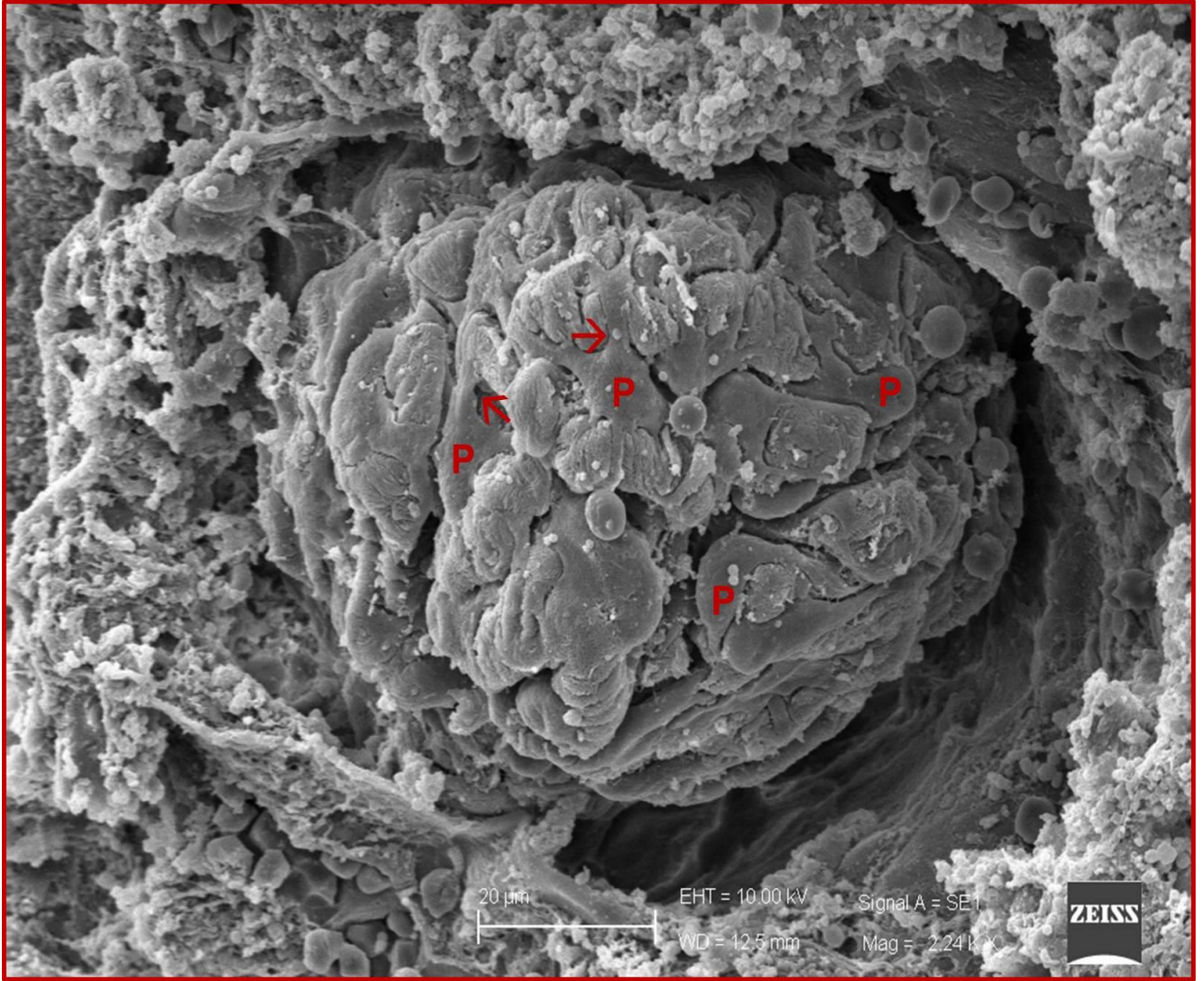
Resim 4.9. DMSO uygulanan gruba ait böbrek dokusu küçük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde endotel hücresi (E), endotel hücre fenestraları (⇔), mezengiyal hücreler (M) ve pediseller (→) ayırt ediliyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



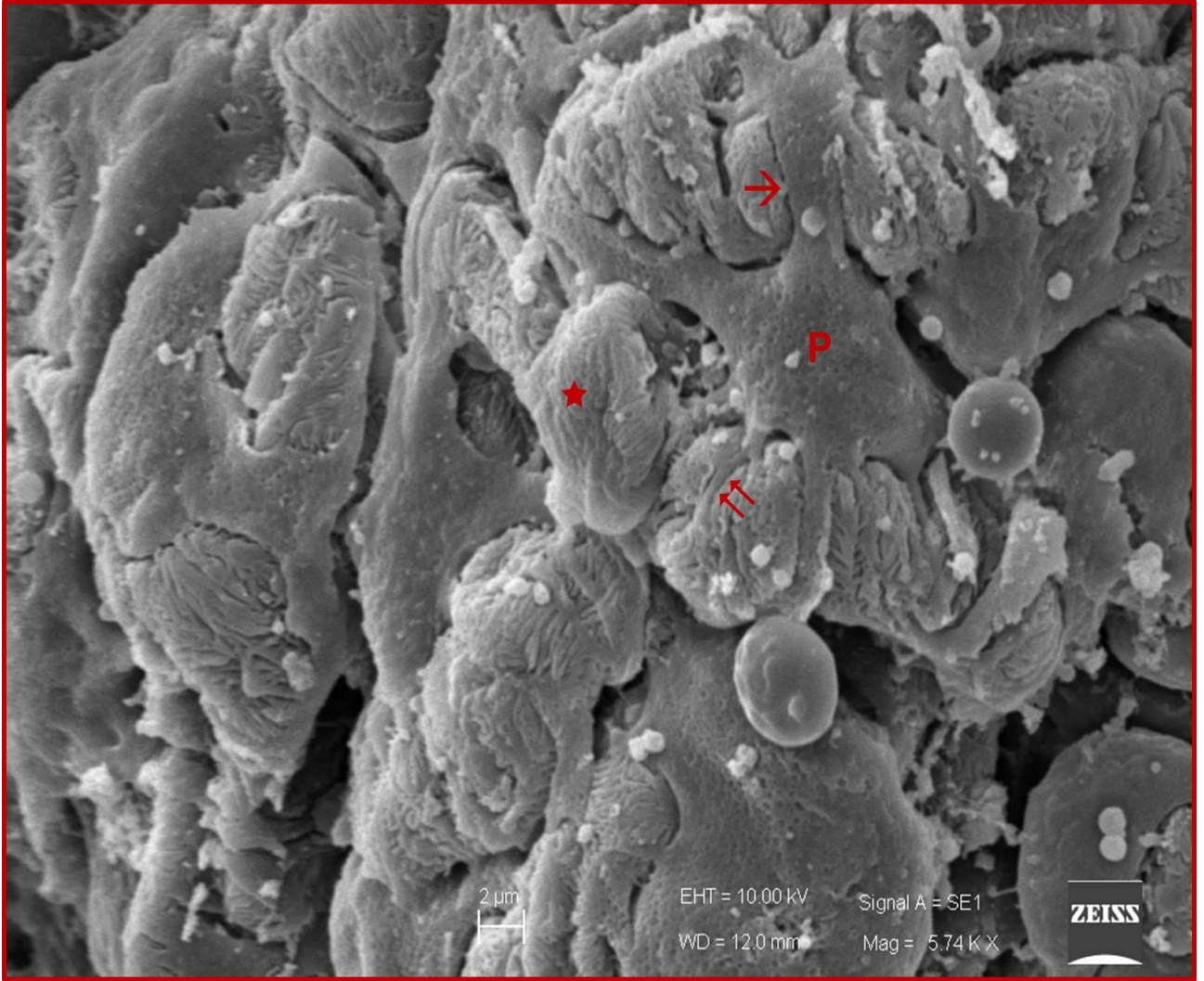
Resim 4.10. DMSO uygulanan grupta böbrek dokusunun büyük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde endotel hücresi (E), endotel hücre fenestraları (⇔), podosit hücresi (P), pediseller (→) ve glomerüler bazal membran (*) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



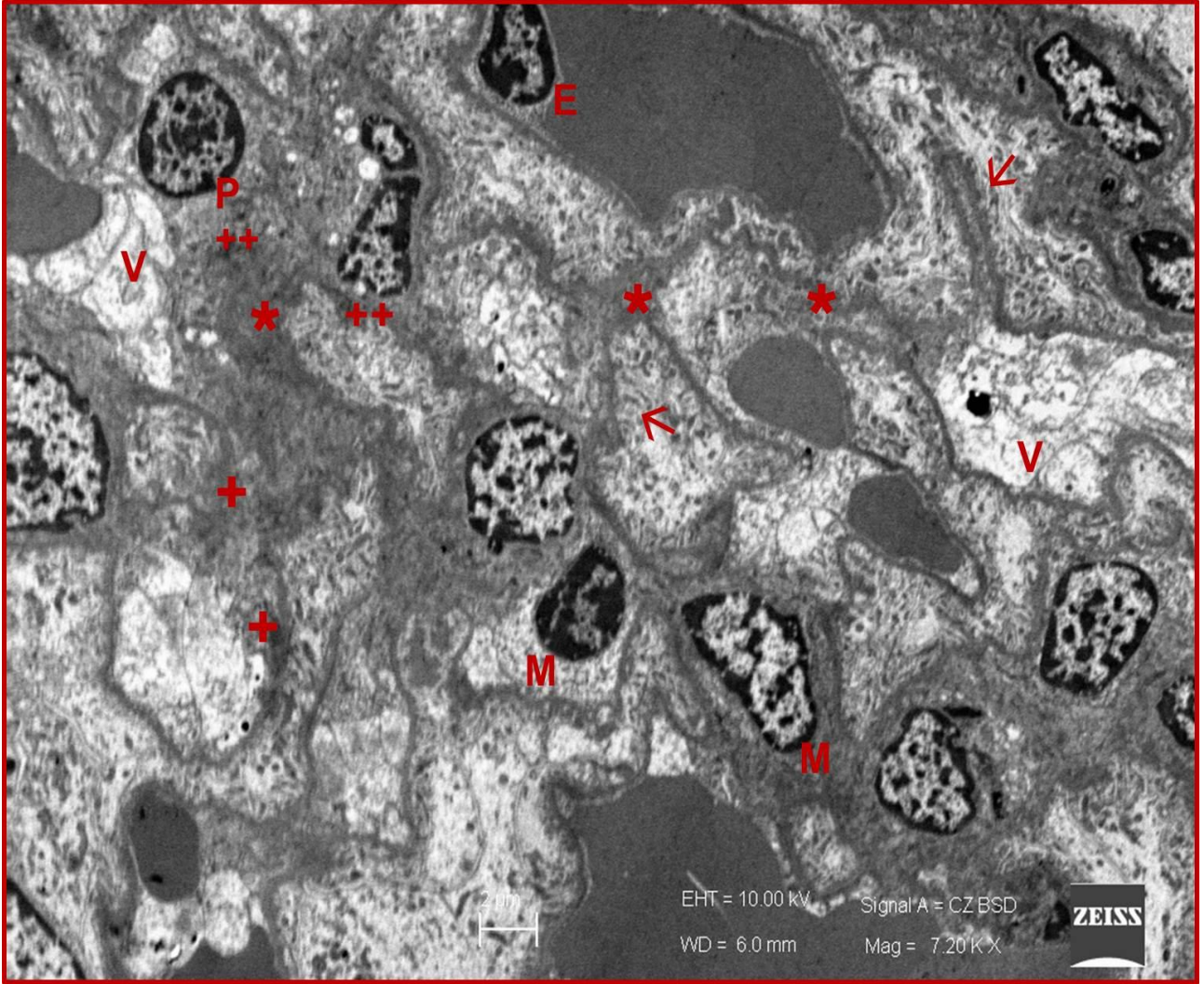
Resim 4.11. DMSO uygulanan grupta, böbrek tübülünün büyük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde fırçamsı kenar mikrovilluslar (►), lizozom (L), mitokondriyonlar (◆), hücre çekirdeği (Ç) ve tübül bazal membranı (BM) gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



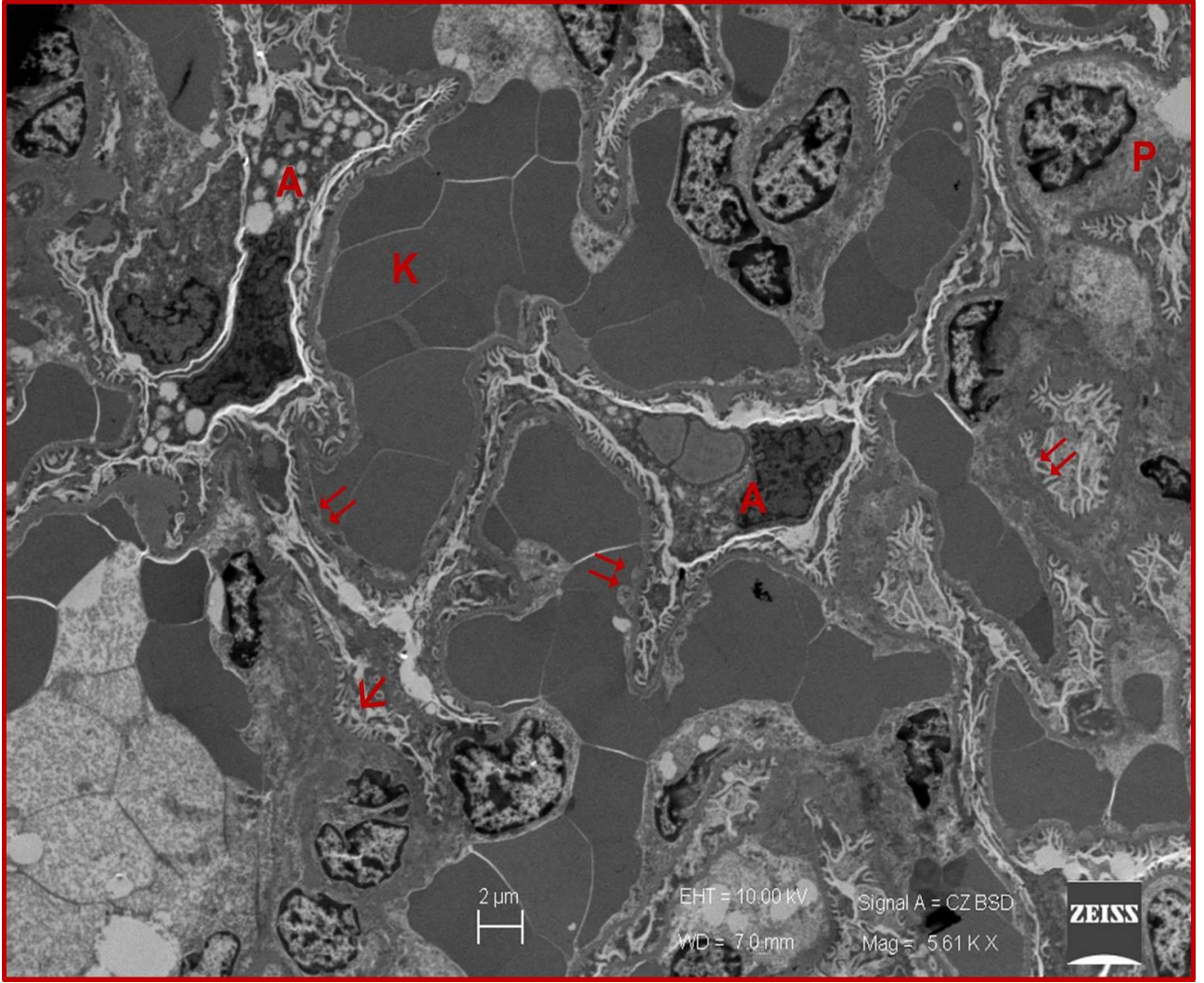
Resim 4.12. DMSO uygulanan gruba ait küçük büyütmeli taramalı elektron mikroskop resminde podosit hücre gövdeleri (P) ve birincil (→) uzantılar izleniyor (Altın-Paladyum)



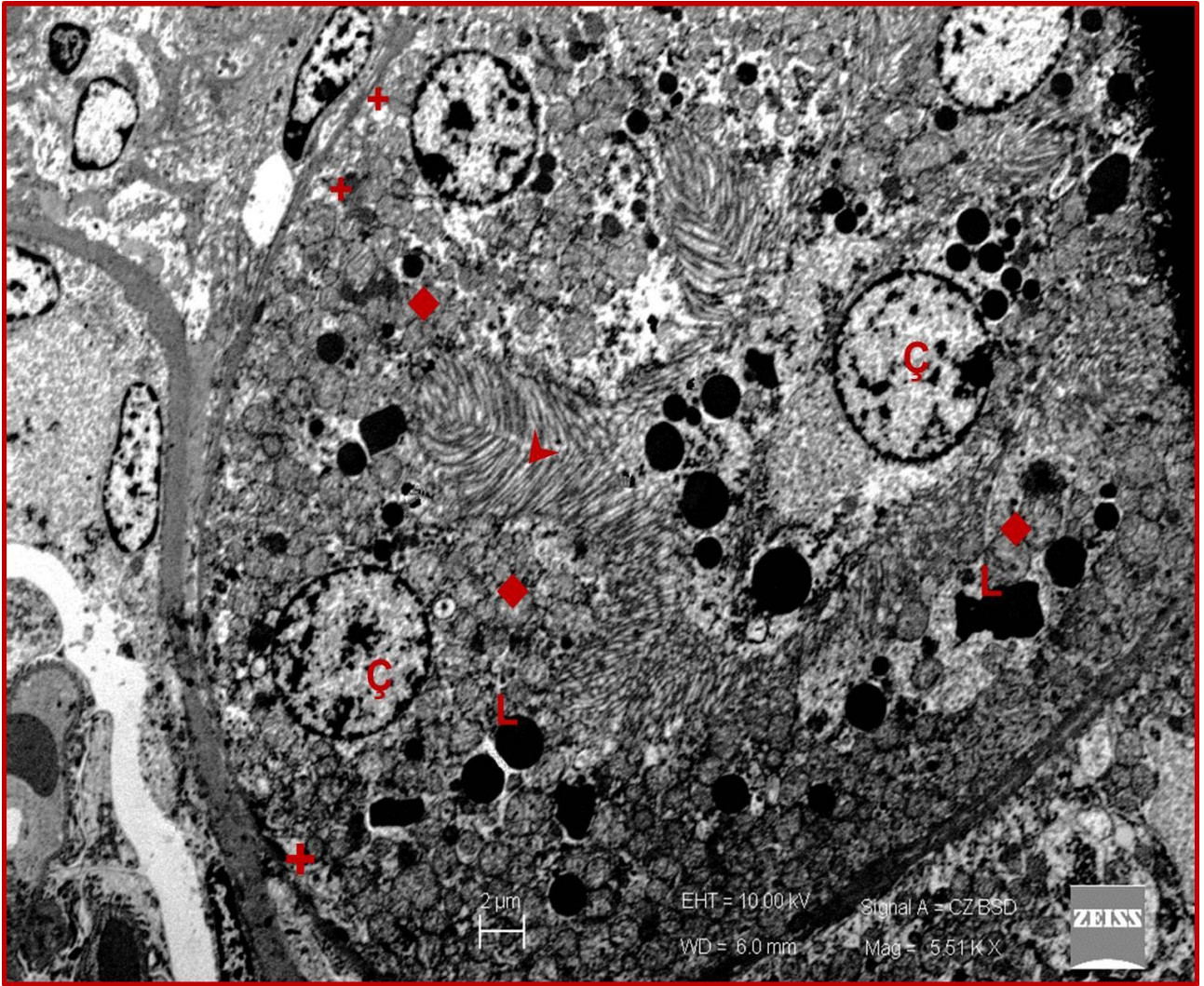
Resim 4.13. DMSO uygulanan gruba ait büyük büyütmeli taramalı elektron mikroskop resminde podosit hücre gövdesi (P), birincil (→) ve ikincil (⇨) uzantılar, pedisel ve süzülme yarıkları (★) ayırt ediliyor (Altın-Paladyum)



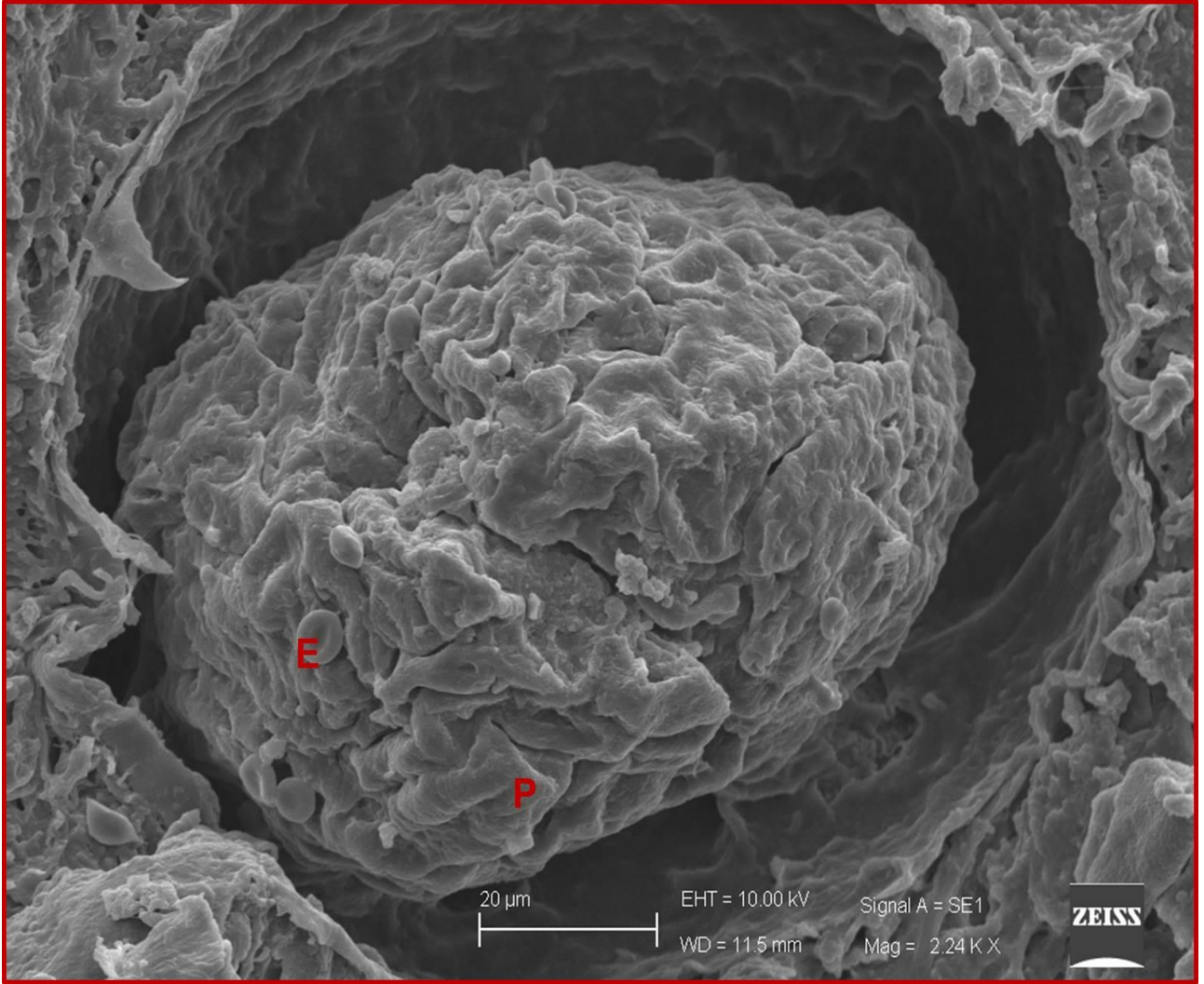
Resim 4.14. BAP uygulanan grupta geçirgen elektron mikroskop ile yapılan değerlendirmede küçük bltmeli resimde endotel hresi (E), mezengiyal hücreler (M), podosit hresi (P), pediseller (→), glomerüler bazal membran (*), vakuoller (V), mezengiyal hücre sitoplazmasında elektron yoğun cisimler (+) ve podosit sitoplazmasında intramembranöz elektron yoğun cisimler (++) dikkati çekiyor (Uranil Asetat-Kuręun Sitrata)



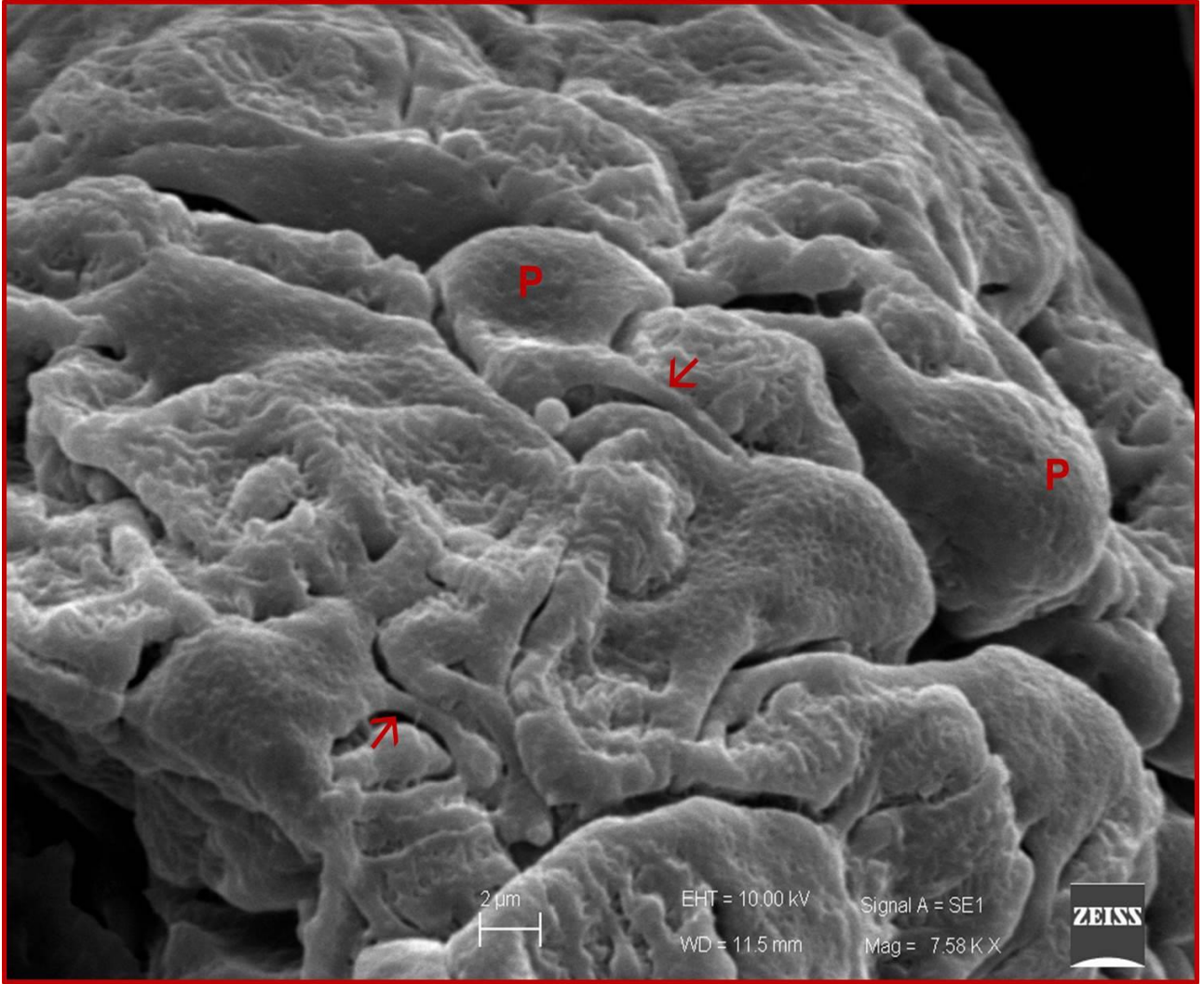
Resim 4.15. BAP uygulanan grupta böbrek dokusunun büyük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde kapiller (K), endotel hücre fenestraları (⇔), podosit hücresi (P), apoptotik hücreler (A), pediseller (→) belirgin olarak izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



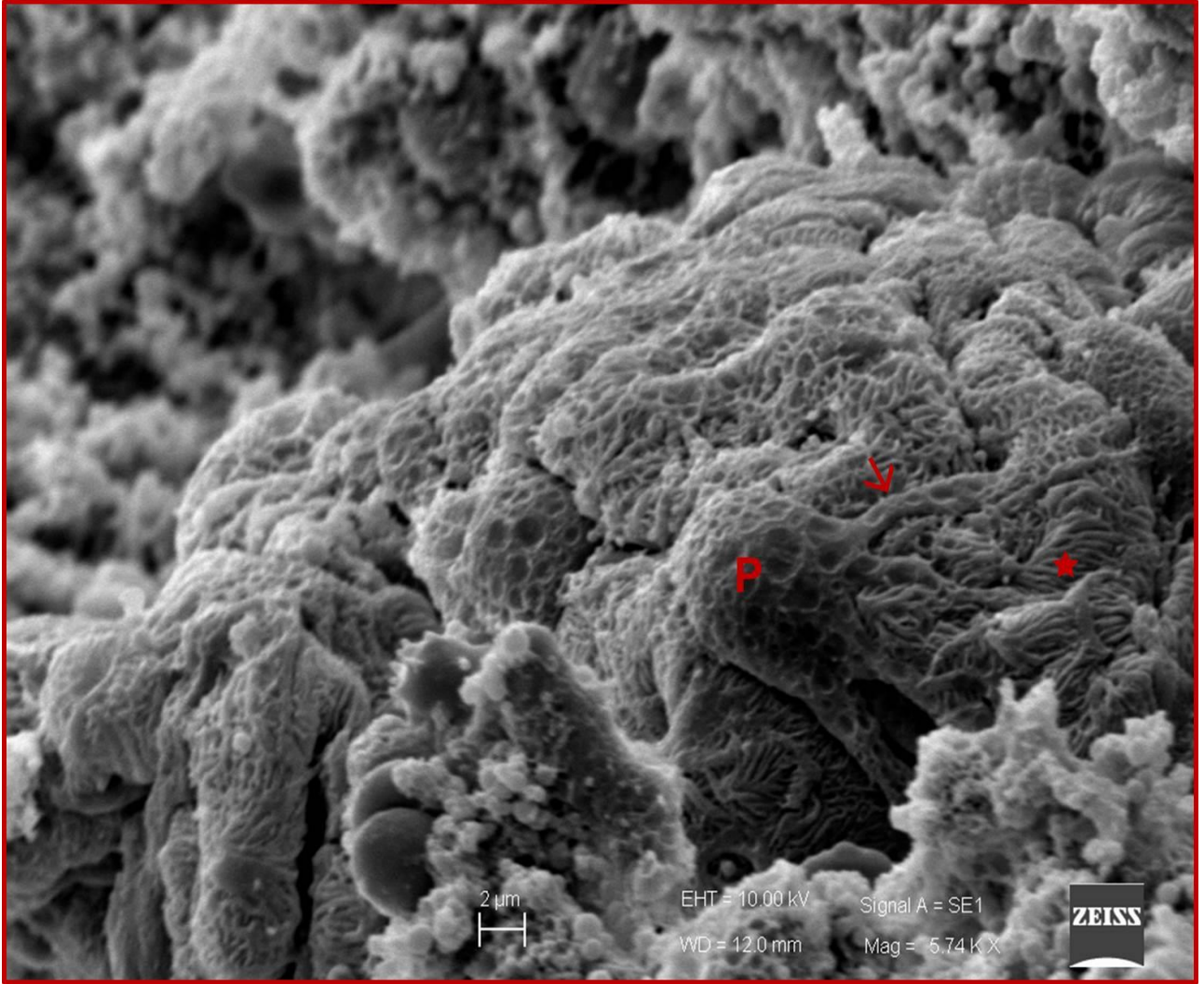
Resim 4.16. BAP uygulanan grupta, böbrek tübülünün büyük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde fırçamsı kenar mikrovilluslar (➤), lizozomlar (L), mitokondriyonlar (◆), hücre çekirdekleri (Ç) ve bazal katlantılar (×) belirgin olarak gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



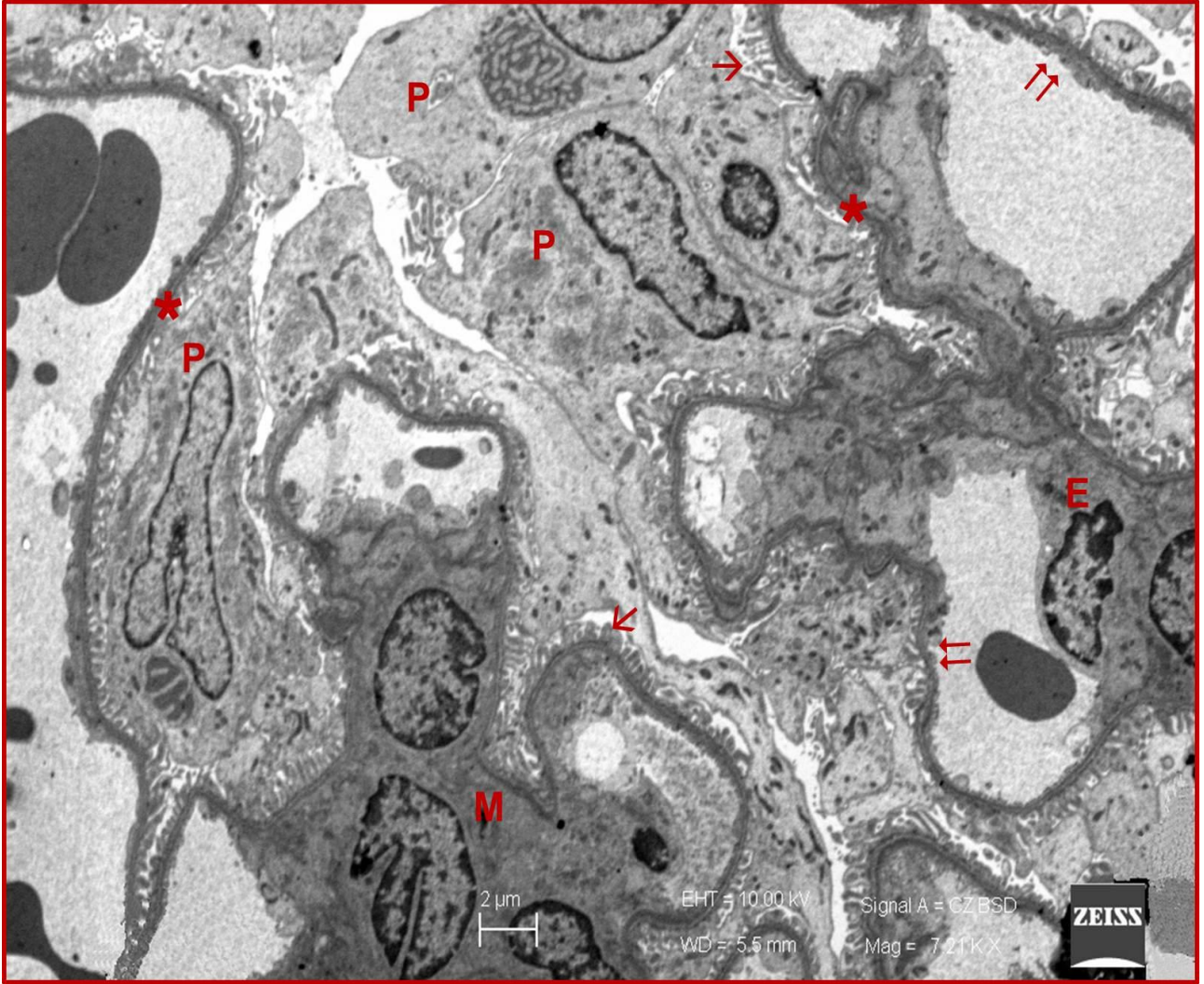
Resim 4.17. BAP uygulanan gruba ait küçük büyütmeli taramalı elektron mikroskop resminde endotel hücresi (E) ve podosit hücre gövdesi (P) izleniyor (Altın-Paladyum)



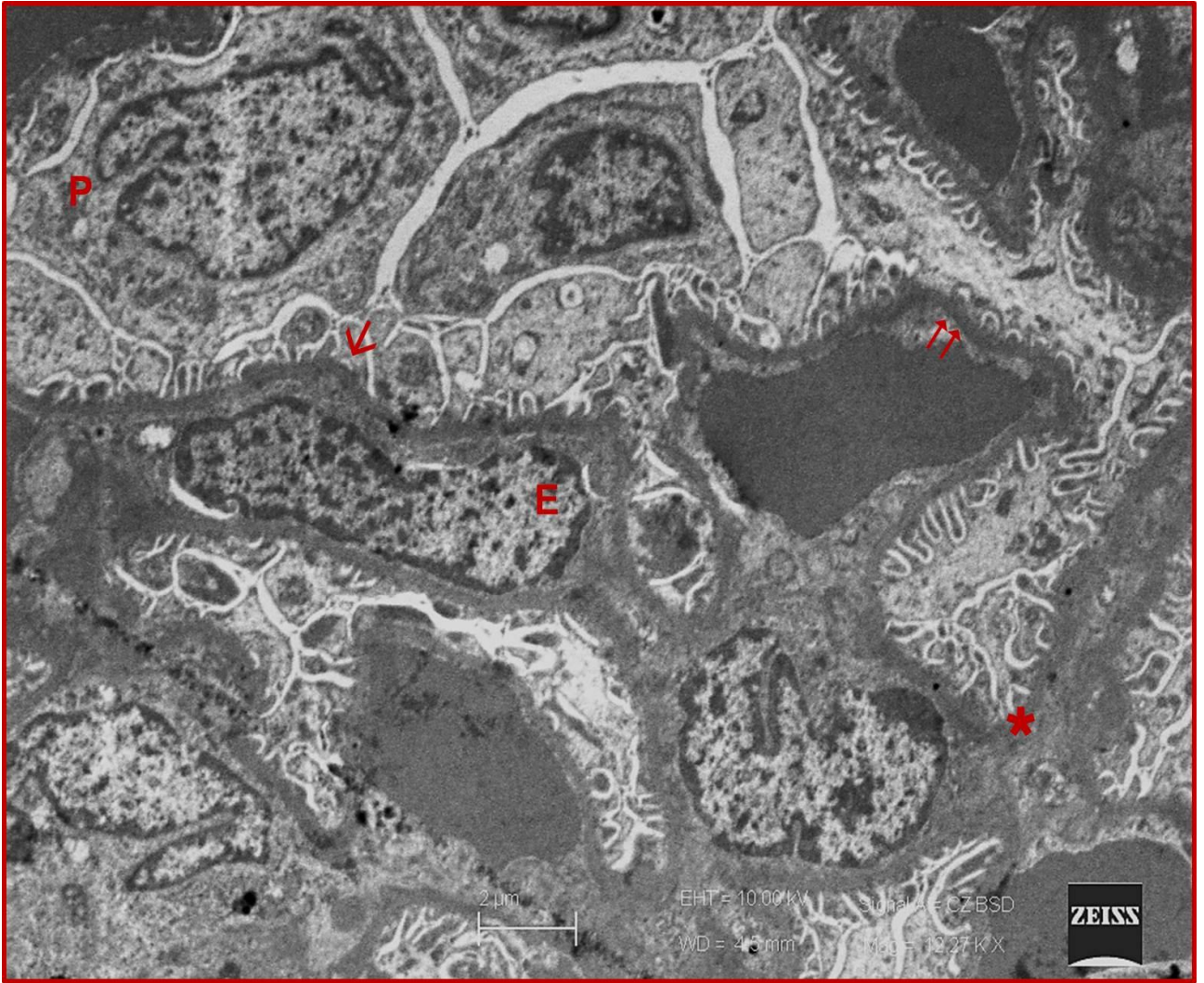
Resim 4.18. BAP uygulanan gruba ait büyük büyöltmeli taramalı elekton mikroskop resminde podosit hücre gövdeleri (P) ve birincil (→) uzantılar, ayırt ediliyor (Altın-Paladyum)



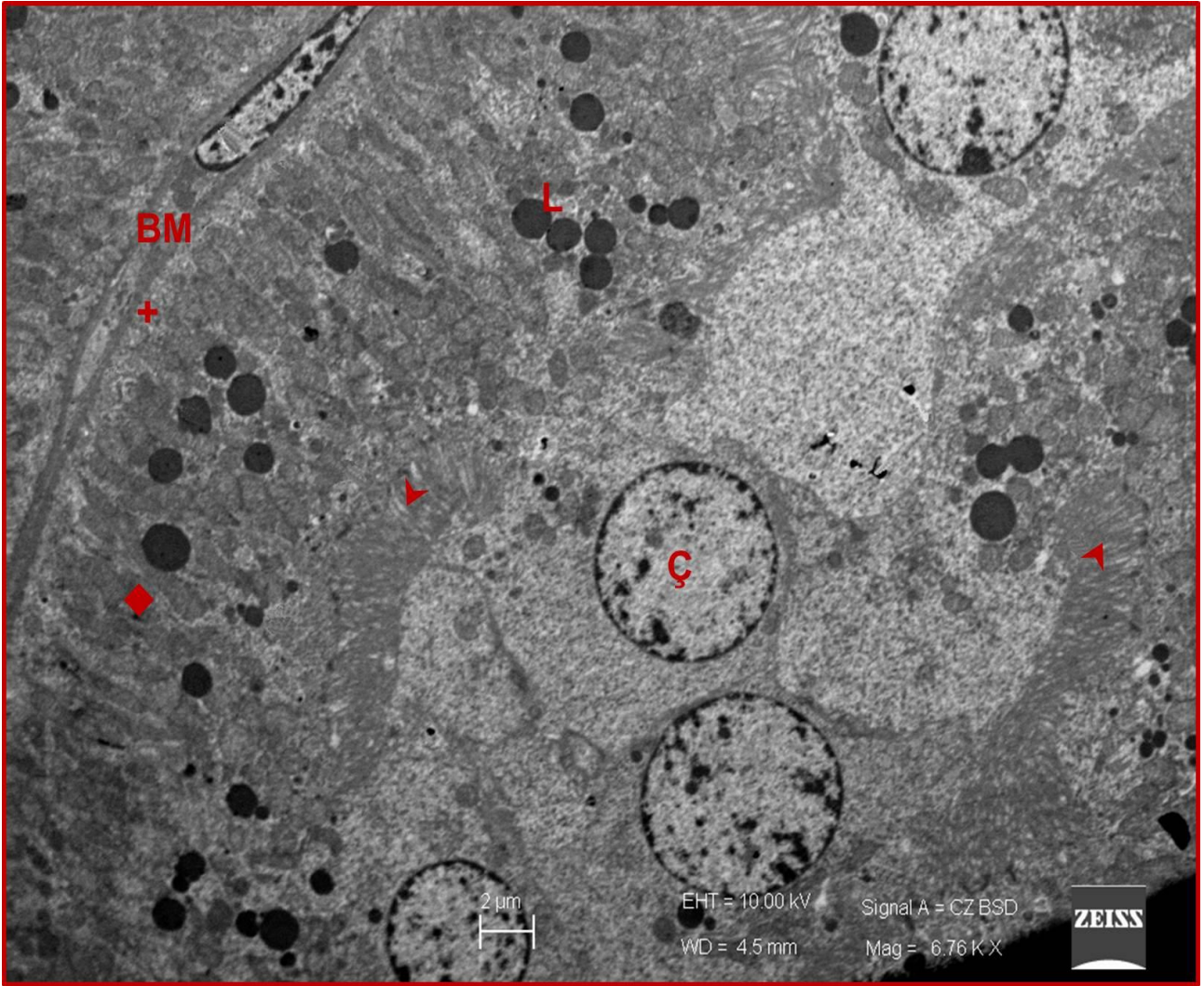
Resim 4.19. BAP uygulanan gruba ait büyük büyöltmeli taramalı elekton mikroskop resminde süngerimsi görünum kazanan glomerüler yapılardan podosit hücre gövdesi (P), birincil (→) uzantılar, pedisel ve süzölme yarıkları (★) dikkati çekiyor (Altın-Paladyum)



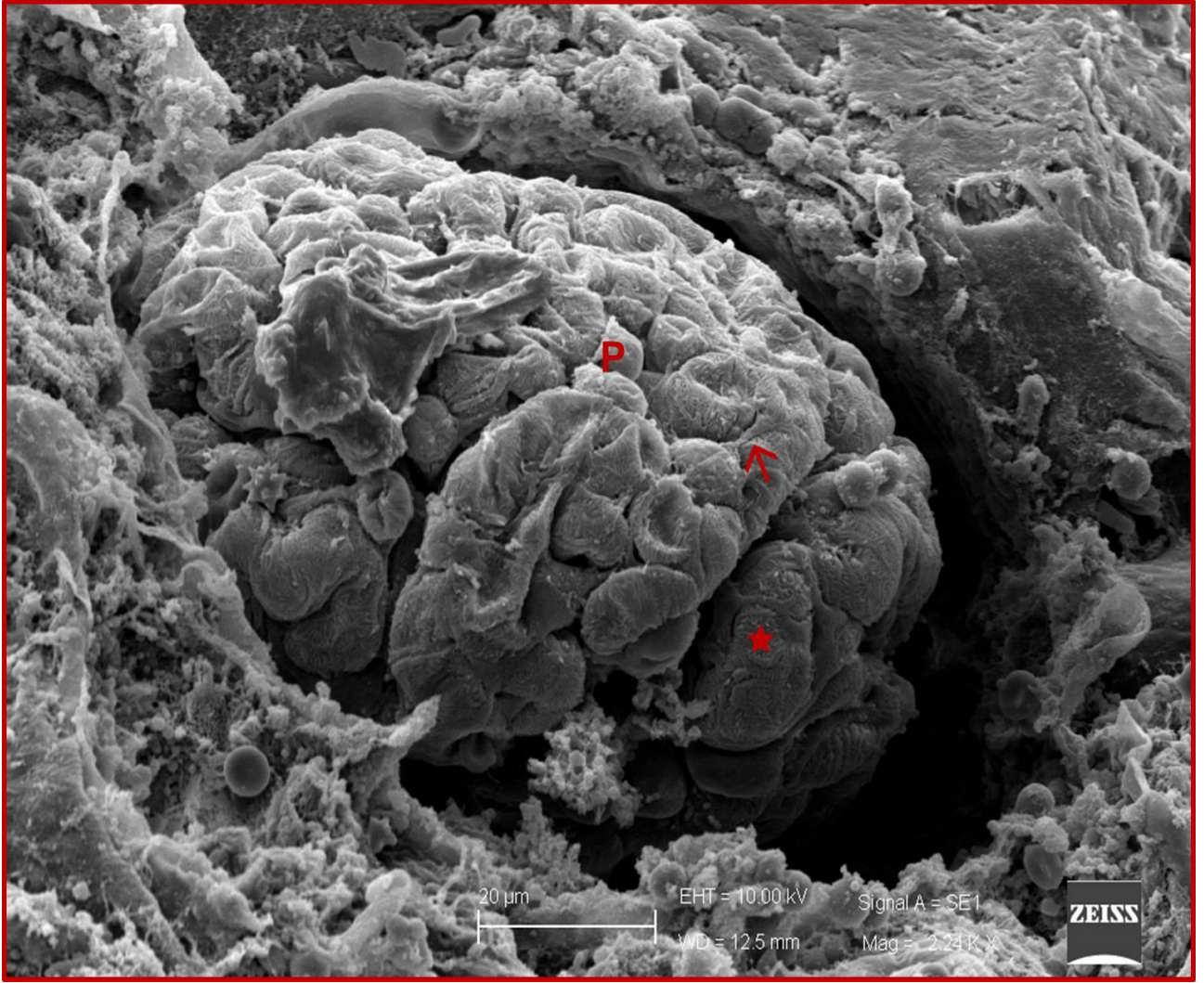
Resim 4.20. Curcumin uygulanan gruba ait geçirgen elektron mikroskop ile yapılan değerlendirmede küçük büyütmeli resimde endotel hücresi (E), endotel hücre fenestraları ($\Rightarrow$), mezengiyal hücre (M), podosit hücreleri (P) podosit hücreleri (P), pediseller ($\rightarrow$) ve glomerüler bazal membran (*) gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



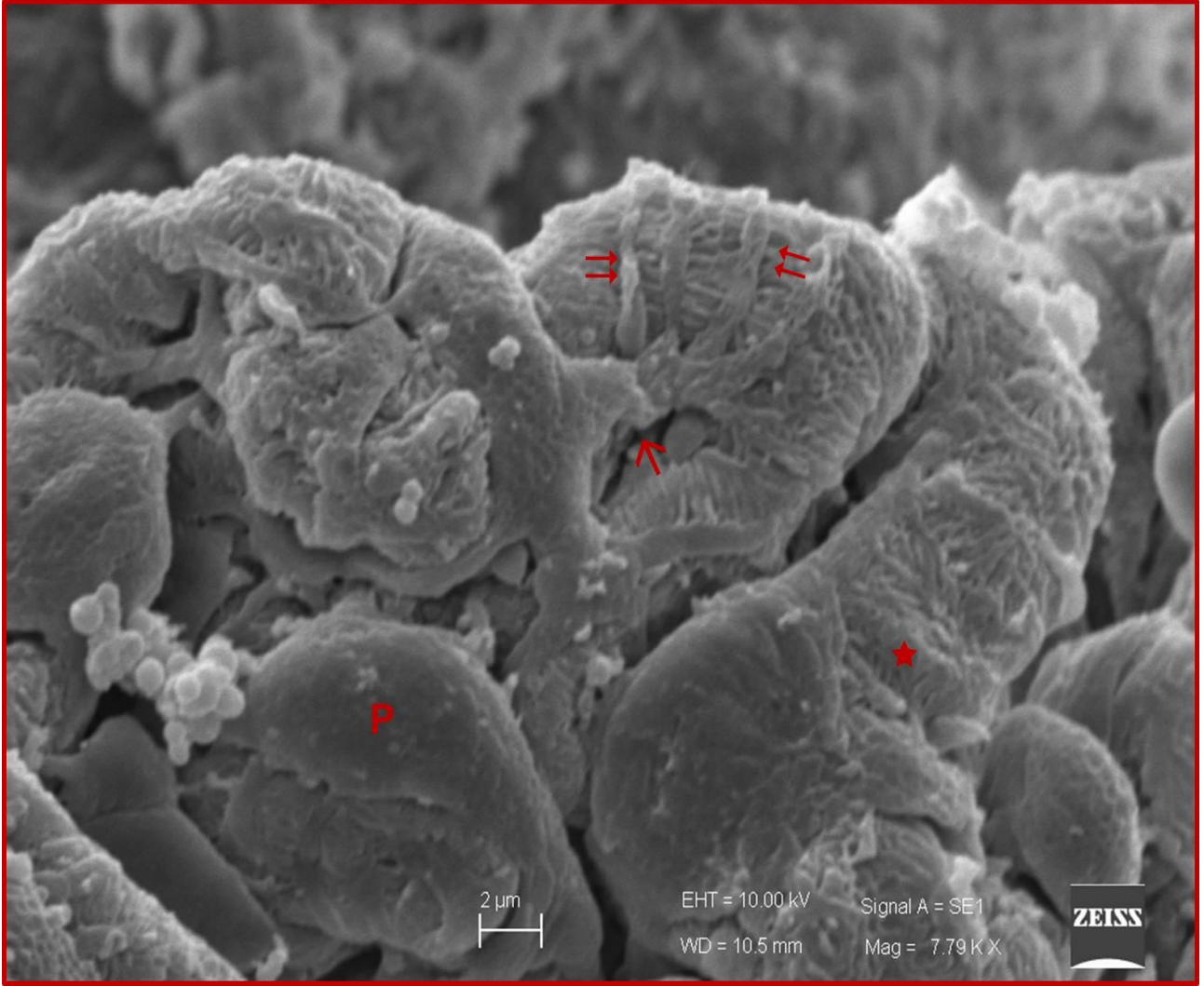
Resim 4.21. Curcumin uygulanan gruba ait büyük büyütmeli resimde endotel hücresi (E), endotel hücre fenestraları ($\Rightarrow$), podosit hücresi (P), pediseller ($\rightarrow$) ve glomerüler bazal membran ($\star$) ayırt ediliyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



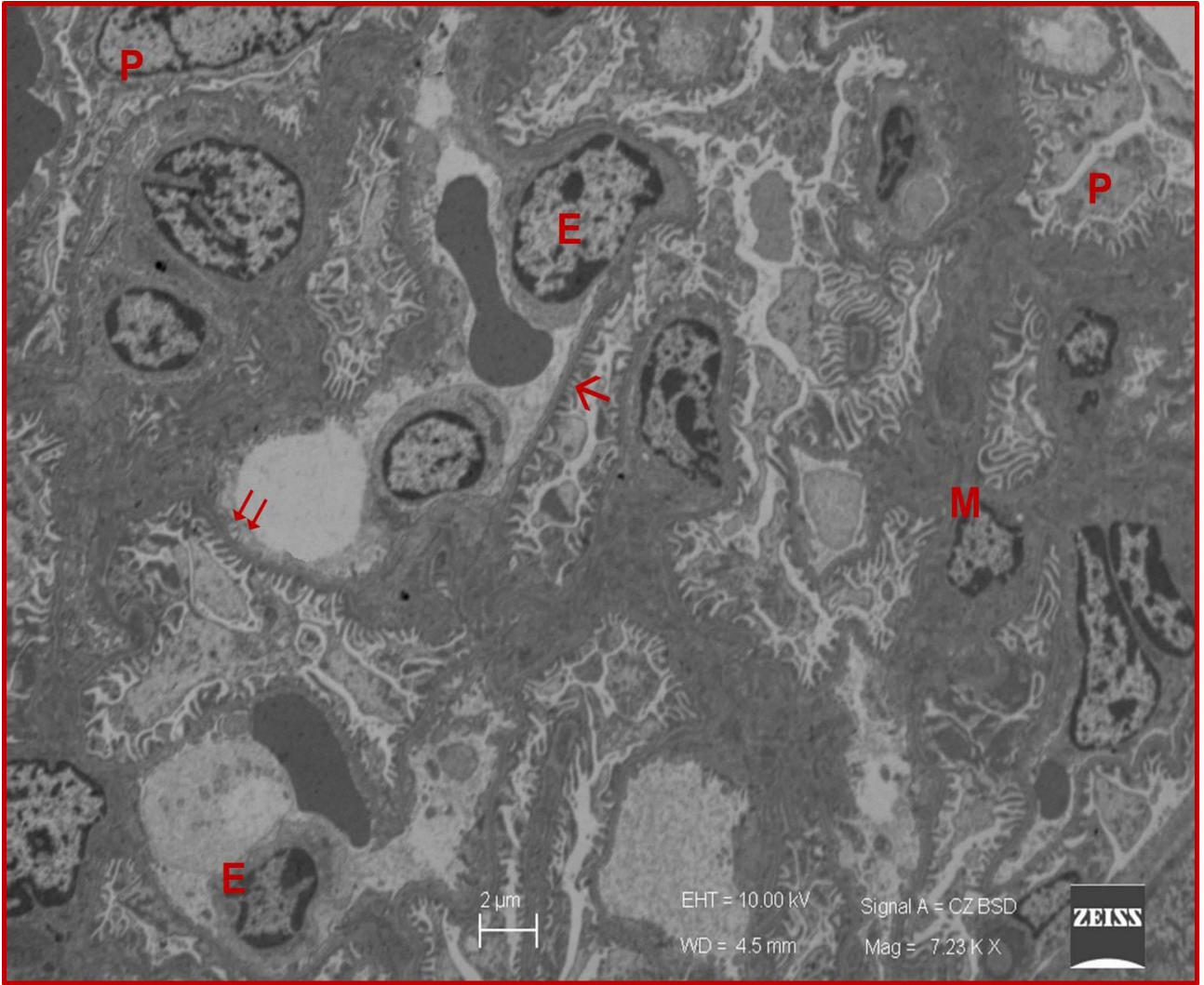
Resim 4.22. Curcumin uygulanan grupta, böbrek tübülünün büyük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde fırçamsı kenar mikrovilluslar (➤), lizozom (L), mitokondriyon (◆), hücre çekirdeği (Ç), bazal katlantı (x) ve tübül bazal membran (BM) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



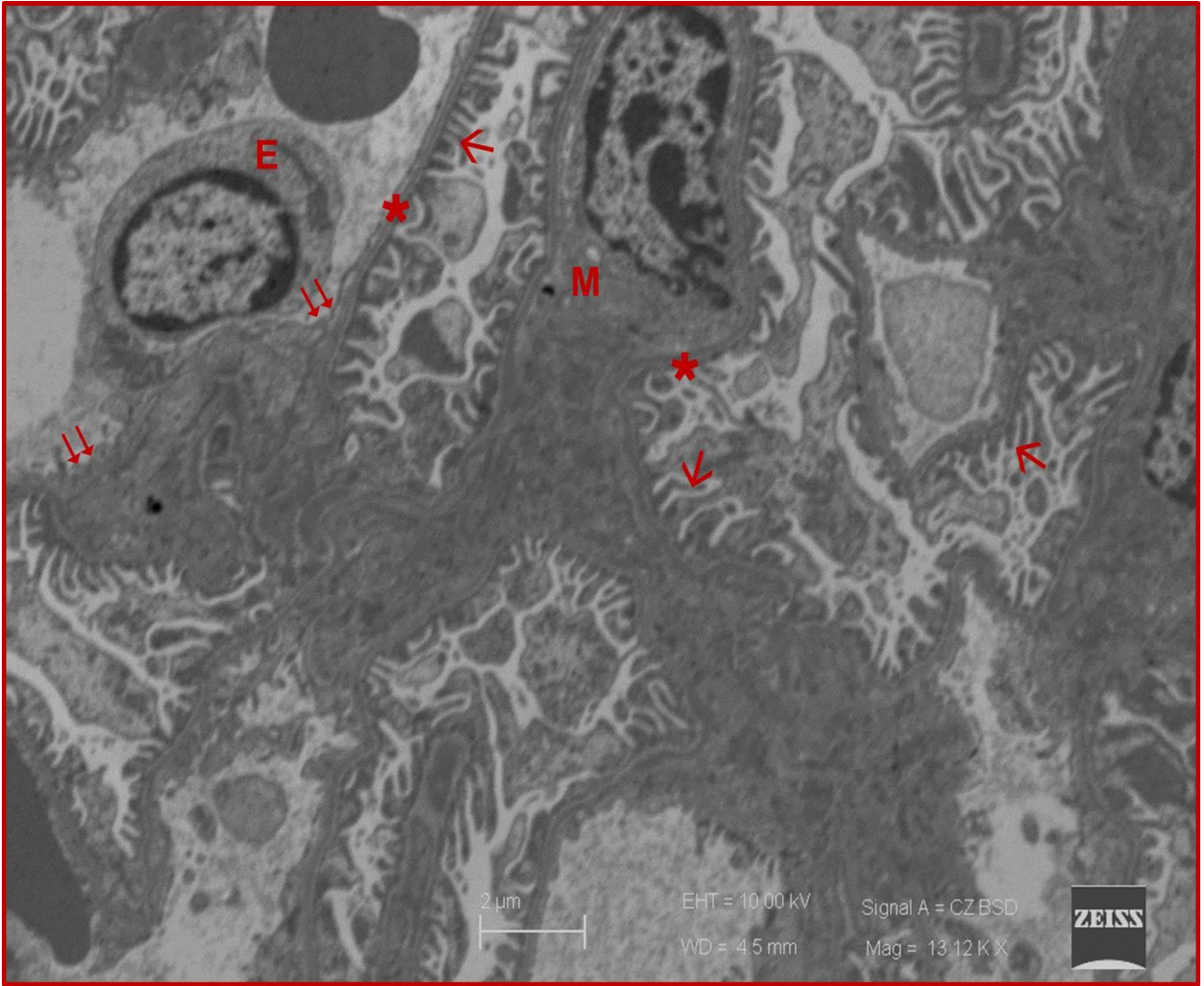
Resim 4.23. Curcumin uygulanan gruba ait küçük büyütmeli taramalı elektron mikroskop resminde podosit hücre gövdesi (P), birincil (→) uzantı, pedisel ve süzülme yarıkları (★) belirgin olarak gözleniyor (Altın-Paladyum)



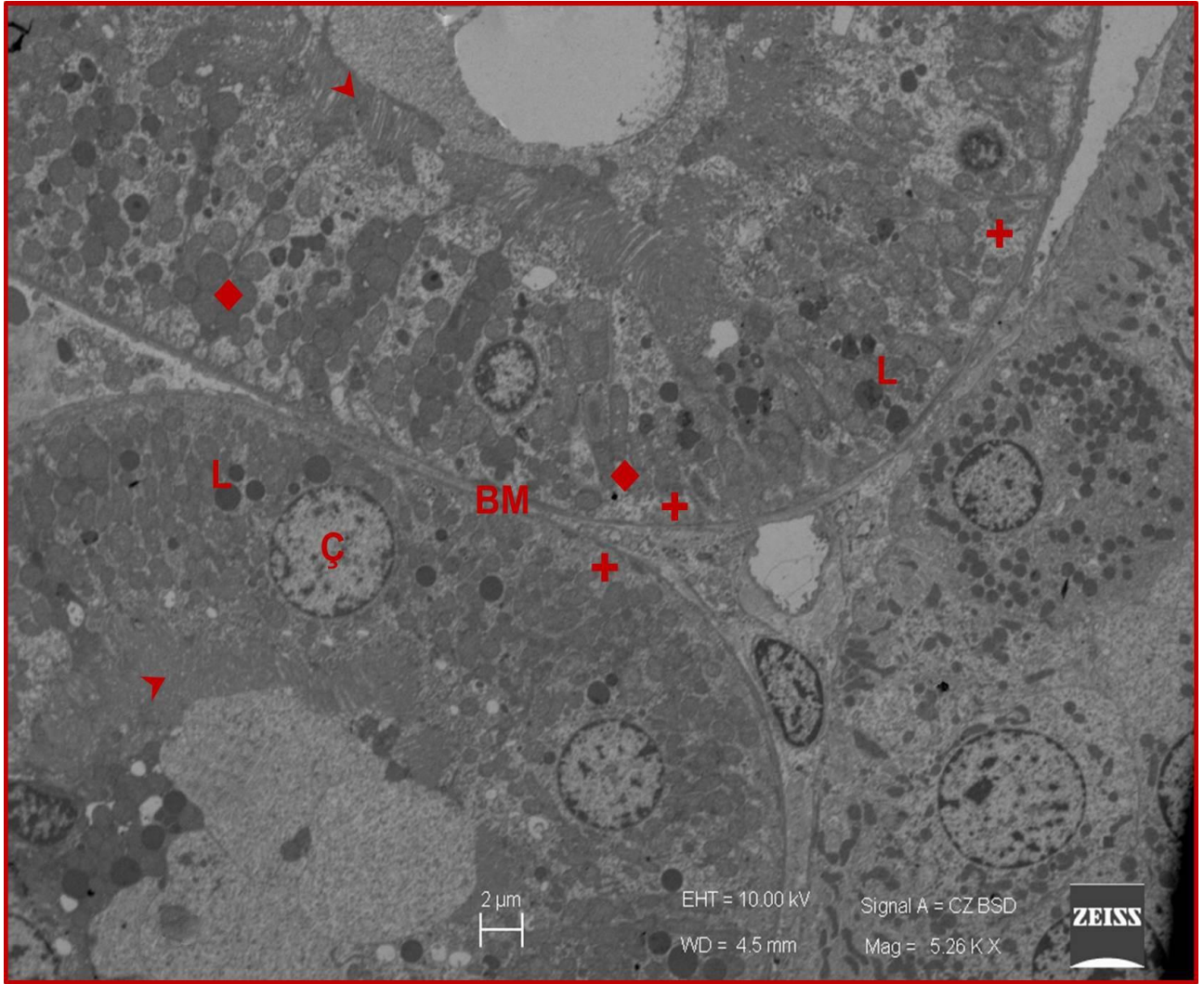
Resim 4.24. Curcumin uygulanan gruba ait büyük büyültmeli taramalı elektron mikroskop resminde podosit hücre gövdesi (P) ve birincil (→) ve ikincil (⇌) uzantılar, pedisel ve süzülme yarıkları (★) belirgin olarak izleniyor (Altın-Paladyum)



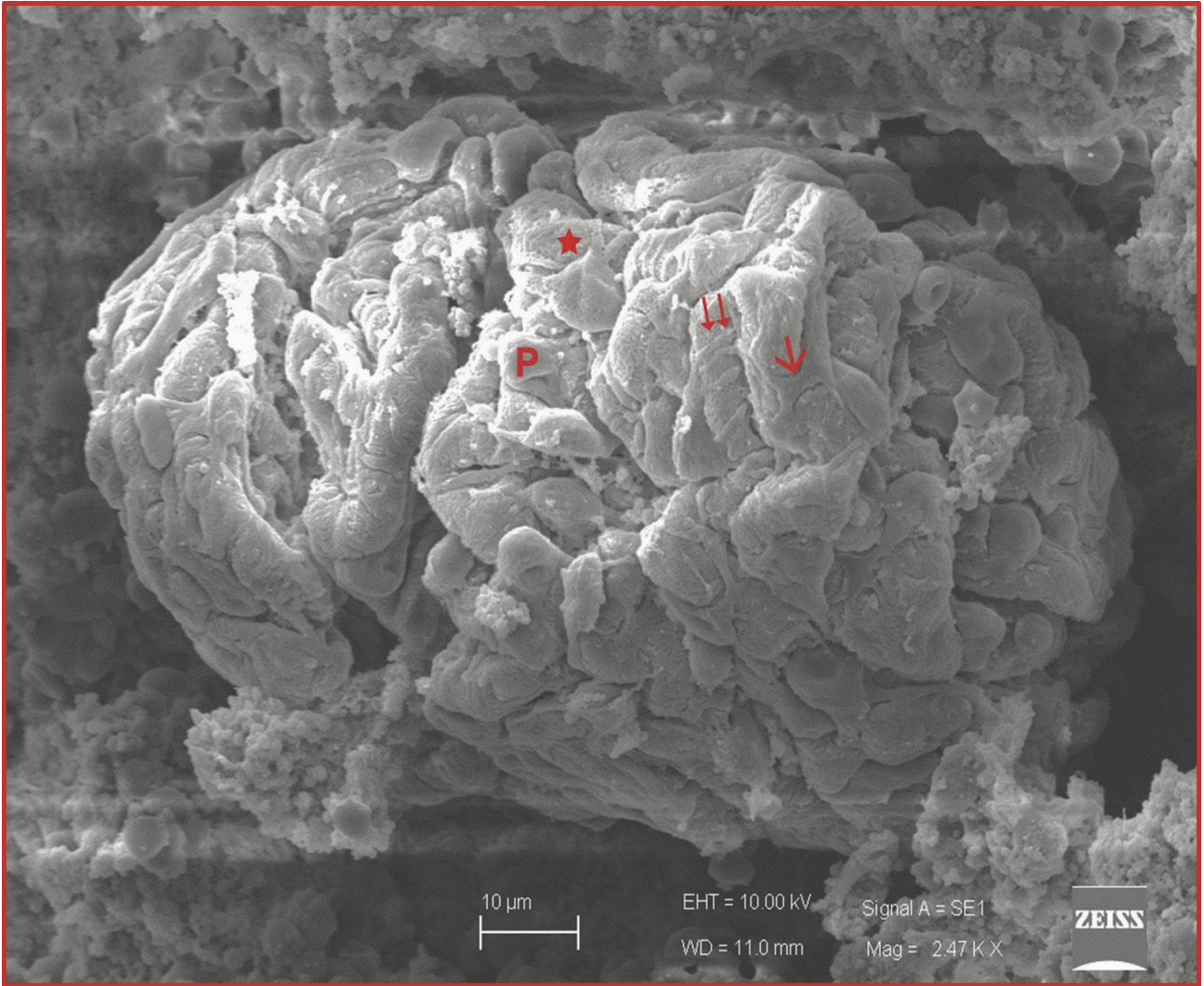
Resim 4.25. Curcumin+BAP uygulanan grupta glomerülün küçük büyültmeli geçirgen elektron mikroskop resminde endotel hücreleri (E), endotel hücre fenestraları ($\Rightarrow$), mezengiyal hücre (M), podosit hücreleri (P) ve pediseller ($\rightarrow$) gözleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



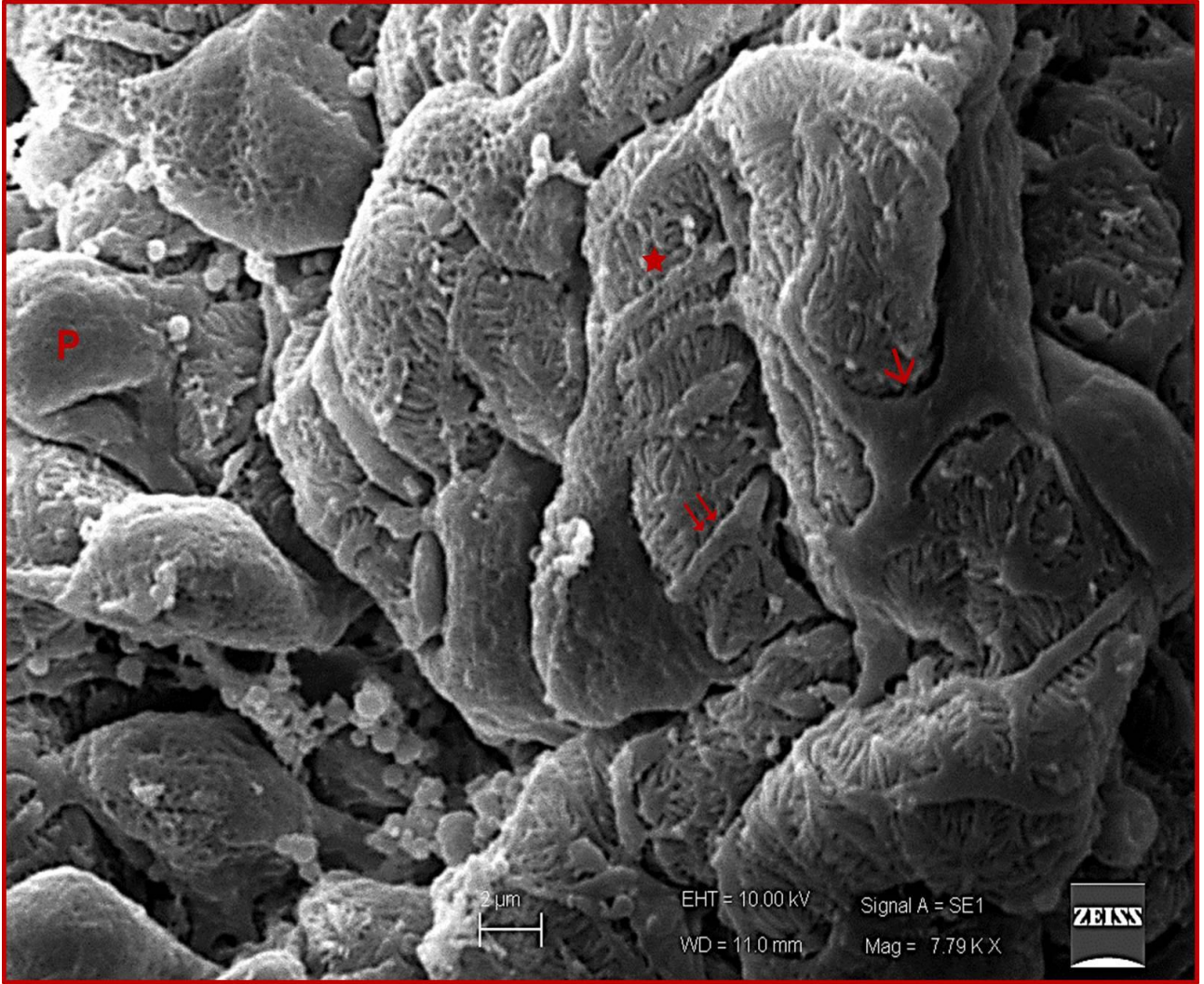
Resim 4.26. Curcumin+BAP uygulanan grupta glomerülün büyük büyültmeli resminde endotel hücresi (E), endotel hücre fenestraları ($\Rightarrow$), mezengiyal hücre (M), pediseller ($\rightarrow$) ve glomerüler bazal membran (*) belirgin olarak ayırt ediliyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrat)



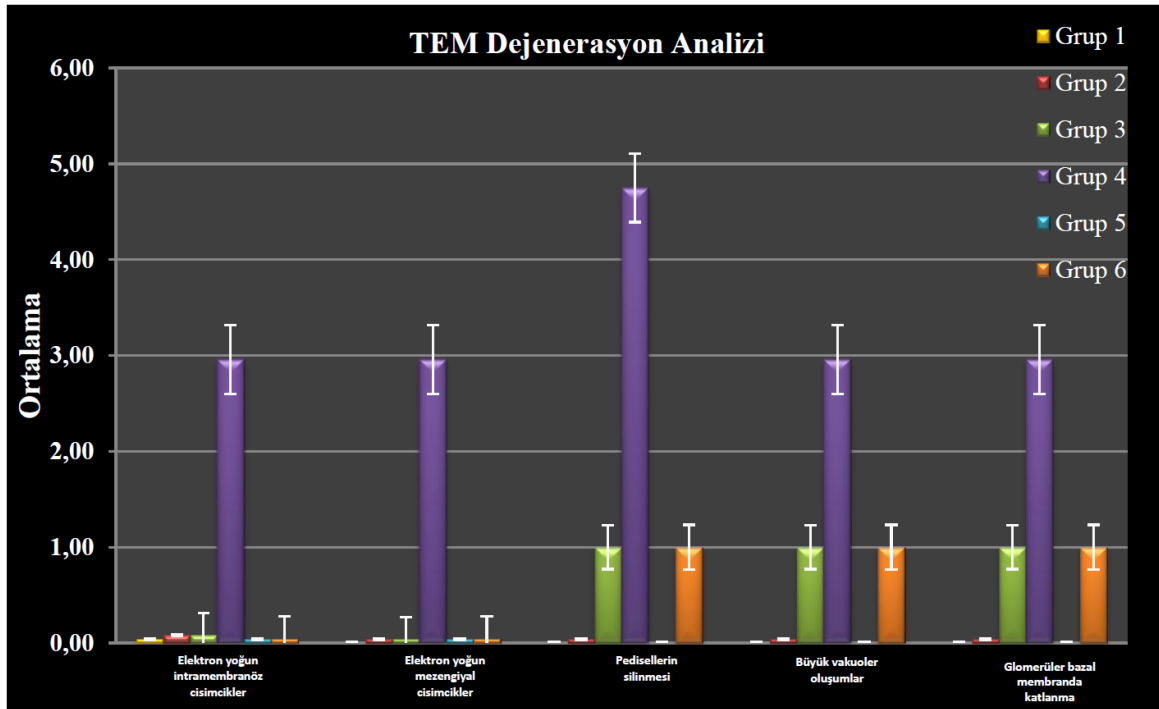
Resim 4.27. Curcumin+BAP uygulanan grupta böbrek tübülünün büyük büyütmeli geçirgen elektron mikroskop resminde fırçası kenar mikrovilluslar (➤), lizozomlar (L), mitokondriyonlar (◆), hücre çekirdeği (Ç), bazal katlantılar (✕) ve tübül bazal membranı (BM) izleniyor (Uranil Asetat-Kurşun Sitrata)



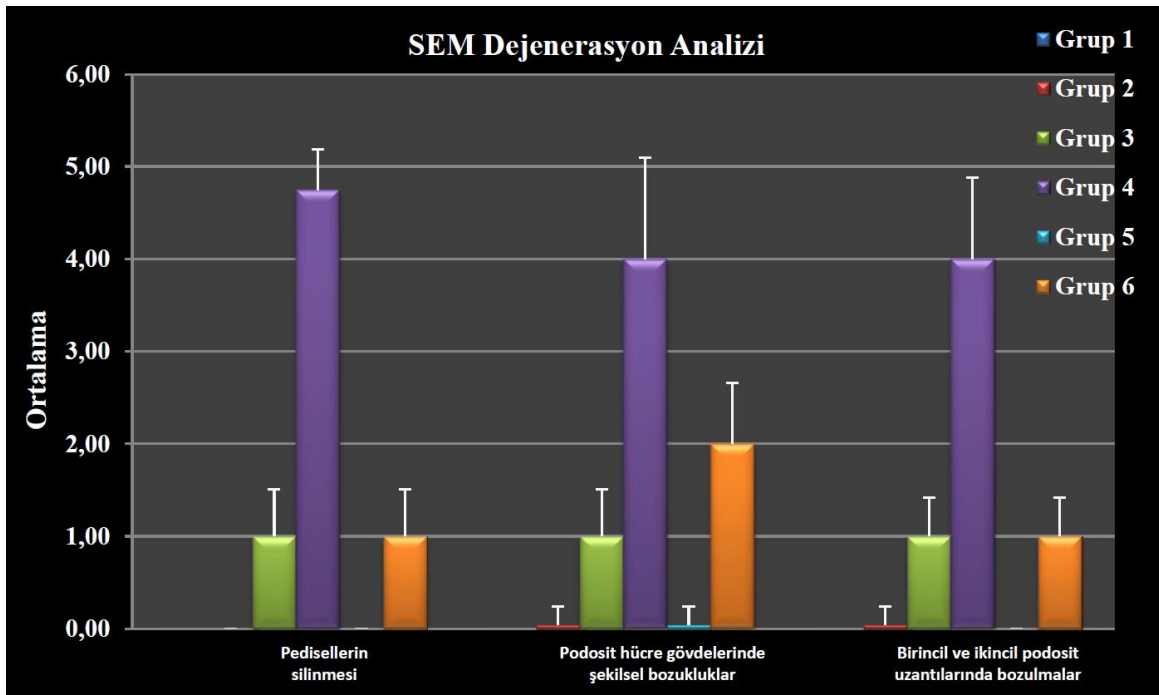
Resim 4.28. Curcumin+BAP uygulanan gruba ait küçük büyütmeli taramalı elektron mikroskop resminde podosit hücre gövdesi (P), birincil ($\rightarrow$) ve ikincil ($\Rightarrow$) uzantı, pedisel ve süzölme yarıkları (★) belirgin olarak gözleniyor (Altın-Paladyum)



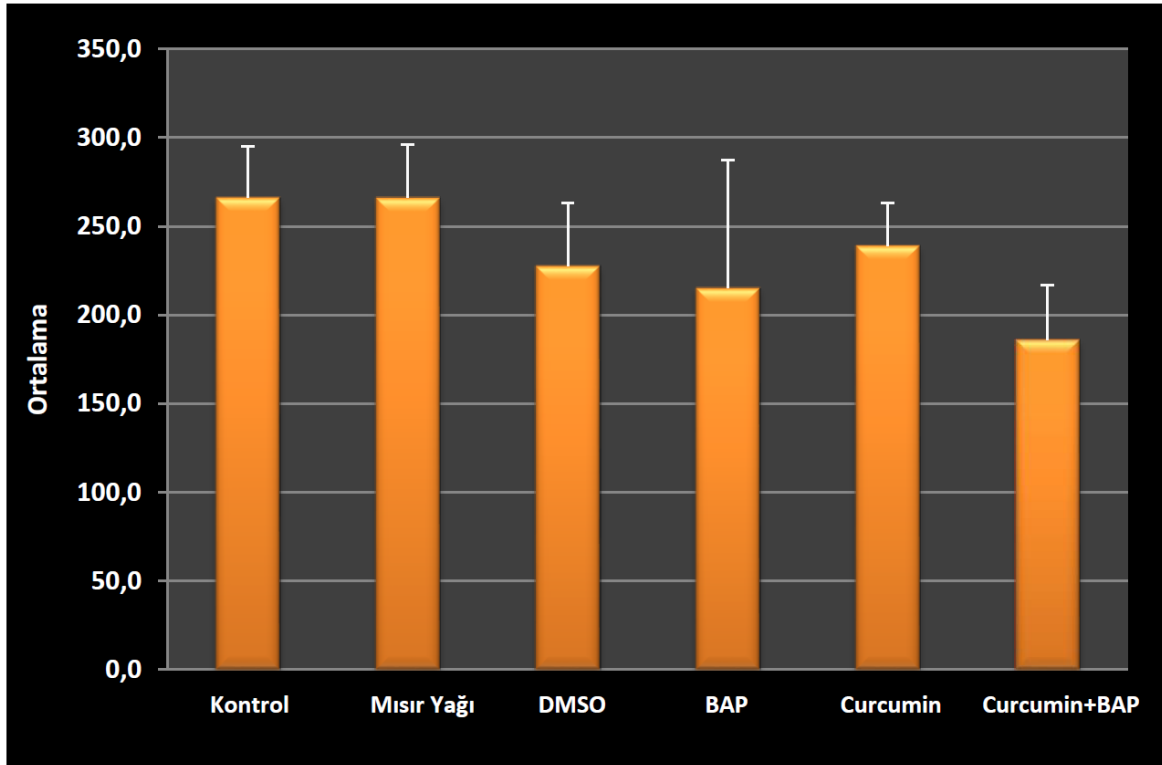
Resim 4.29. Curcumin+BAP uygulanan gruba ait büyük büyütmeli taramalı elektron mikroskop resminde podosit hücre gövdesi (P) ve birincil ($\rightarrow$) ve ikincil ($\Rightarrow$) uzantılar, pedisel ve süzülme yarıkları (★) belirgin olarak izleniyor (Altın-Paladyum)



Grafik 4.1. Mısır yağı, DMSO, Benzo(a)piren ve Curcumin uygulaması yapılan gruplar arası TEM dejenerasyon analizi



Grafik 4.2. Mısır yağı, DMSO, Benzo(a)piren ve Curcumin uygulaması yapılan gruplar arası SEM dejenerasyon analizi



Grafik 4.3. Gruplar arası glomerüler bazal membran kalınlık ölçümleri

5. TARTIŞMA

Benzo(a)piren (3,4- benzopiren, BAP) polisiklik aromatik hidrokarbon sınıfında yer alan beş halkalı, çevresel kirlenici ve bir önkanserojendir. Organik maddelerin yanma süreçleri ve fosil yakıtların tam olarak yanmaması sonucunda oluşur. Başlıca kaynakları orman yangınları, petrol rafinerileri, hayvansal atıkların yanması, sigara dumanı, alüminyum ve asfalt üretimi, pestisit, boya ve ilaç sentezi, araçlardan yayılan egzoz gazı, fırınlama ve enerji üretimi aşamalarıdır [42].

Havaya partiküller halinde salınan BAP, oksidasyon ile atmosferden toprak ve suya yayılarak çöker. Havada, içme ve yeraltı sularında, atık sularda, ızgarada pişen yiyeceklerde bulunur. İnsanlar BAP' ın karıştığı gıda ve suların alımı, kirli havada ve özellikle kapalı ortamda sigara dumanı ile partiküllerin solunması aracılığıyla etkin kalırlar [6,40,41].

BAP biyolojik sistemlerde etkilerini gösterebilmek için epoksit hidroksilaz ve sitokrom P450 enzimlerince, reaktif ara ürünleri oluşturmak üzere metabolik aktivasyona gereksinim duyan bir önkanserojendir. Son karsinojen şekli DNA' ya kovalent bağlanarak çift sarmallı yapıyı bozar ve DNA kopyalanmasını etkiler. Mutajen ve sitotoksik etkilere neden olur. Bu mutasyonlar transkripsiyon ve translasyona uğradıklarında protein yapı ve işlev değişimine ve sonuçta kansere yol açarlar [[6-9].

Yapılan çalışmalarda BAP' ın akciğer, deri, meme, özafagus, pankreas, kolon, mide, safra kesesi, serviks ve prostat kanserlerine neden olduğu gösterilmiştir. BAP' ın kansere karşı koruyucu, hücre döngüsünü düzenleyici etkisi olduğu bilinen tümör baskılayıcı P53 genini etkilediği ortaya konmuştur. Böbrek dokusunda ise çeşitli anomaliler oluşturarak böbrek işlevini bozduğu, lipid peroksidasyonunu artırdığı, serbest radikal oluşumuna ve böbrek hücre metabolizması üzerinde mutajenik ve kanserojenik etkilere neden olduğu belirtilmiştir [5,9,10,46].

Vernier ve arkadaşları, çalışmalarında glomerül epitel hücrelerinde aminonükleosid uyarımlı inceyapısal değişimleri araştırmışlardır. Bu erekle insanda nefrozis olgularında ortaya çıkan anomaliler deney hayvanları ile

karşılaştırması ve proteinüri ile inceyapısal lezyon gelişimleri ilişkilendirilmiştir. Bu erekle erişkin erkek sıçanlar 3 gruba ayrılmış ve 1. grupta aminonükleosid enjeksiyonu ile hastalık gelişimi sağlanmıştır. 2. grupta böbrek dokusunun yapısal değişimleri, kan değerleri ve idrar protein atılım düzeyleri araştırılmıştır. 3. grupta günlük üriner protein atılımı saptanmış ve bu şekilde proteinüri ile böbrek yara gelişimi arasındaki ilişkinin belirlenmesi sağlanmıştır. Deney süresince vücut ağırlıkları kaydedilmiş ve ödem oluşumu günlük olarak denetlenmiştir. Süre sonunda kan örnekleri alınmış ve böbrek dokuları elektron mikroskopik incelemeye alınmıştır. Kontrol grubuna ait glomerül yapısının glomerüller kapiler duvardaki endotel hücreleri, bazal membran ve podositlerin normal görünüm sergilediği, bazal membranın homojen olduğu podosit sitoplazmasının birincil ve ikincil uzantılarının normal yapıda olduğu izlenmiştir. Günlük 4-6 doz aminonükleosid enjeksiyonu yapılan grupta glomerül yapısının kontrol grubuna eşdeğer olduğu, endotel ve epitel hücre mitokondriyonlarında olağandışı görünüm saptanmamıştır. Günlük 7-10 doz aminonükleosid enjeksiyonu yapılan grubun epitel hücrelerinin birincil ve ikincil uzantılarında şişme, genişleme izlenmiş ve bu yapıların bazal membran düzeyinde birbirleriyle kaynaştığı, bitişik iki çıkıntı arasındaki boşluğun izlenmediği ve bu bulgunun 9 ya da daha fazla gün aminonükleosid uygulanan gruplarda daha belirgin olduğu saptanmıştır. Glomerül epitel hücrelerinde daha geniş ve fazla sayıda sitoplazmik vezikül ve oldukça fazla miktarda granüler madde izlenmesine karşın mitokondriyon yapısının normal olduğu gözlemlenmiştir. Günlük 11-18 doz aminonükleosid enjeksiyonu ile sitoplazmada yoğun birikimler ve bunların bazal membrana değin uzandığı, sitoplazmada vakuol oluşumu ve granüler madde artışı izlenmiştir. 14. günde glomerül yapısında görülen hiperselüleritenin endotel hücre artışından kaynaklandığı ve bu artışın yoğun homojen madde birikimiyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Kontrol grubuna ait tübüler yapı değerlendirmesinde proksimal ve distal tübüllerin normal yapı sergilediği, proksimal tübül hücrelerinin lümene bakan zarlarının mikrovilluslar ile sınırlandığı, hücrelerin bazalındaki sınırlandırıcı hücre zarının sitoplazmayı değişik şekil ve boyutlarda bölmelere ayırdığı izlenmiştir. Bazal membranın normal yapıda ve belirgin olduğu görülmüştür. Hücre sitoplazmasında çok sayıda bazal yerleşimli oval ve silindirik şekilli mitokondriyon olduğu, çekirdeğin oval biçimli ve belirgin granüler nükleoplazma içerdiği belirlenmiştir. Distal tübül hücresinin bazal hücre zarındaki katlantıların belirgin ve çizgili görünüme neden olduğu gözlemlenmiştir.

Bazal membran yapısının proksimal tübüle eşdeş olduğu, hücre zarının parmak benzeri çıkıntılar oluşturmak için katlantı yaparak distal tübül hücrelerini sınırlandırdığı, mitokondriyonların daha silindirik olduğu izlenmiştir. Günlük 1-6 doz aminonükleosid uygulanan gruba ait tübüllerde yapısal bir değişim saptanmamıştır. Günlük 7 enjeksiyonun yapıldığı grupta ise distal tübüldeki lezyonun mitokondriyonda beligin vakuol oluşumuna neden olduğu ve bu oluşumun kristaların fokal şişkinliği nedeniyle ortaya çıktığı belirlenmiştir. Bu anomalinin hastalığın ilerleyen aşamasında proksimal tübüllerde belirgin olduğu saptanmıştır. 12. ve 16. günlerde feda edilen deneklerde anomalinin ilerlemesi sonucunda artan mitokondriyon genişlemeleri ve bazı tübüllerde krista kırılmaları gözlenmiştir. Günlük 10 doz aminonükleosid enjeksiyonu yapılan deneklerin proksimal ve distal tübül hücre sitoplazmalarında sitoplazma yoğunluklarının azaldığı ve bunun şişme ve hücre sitoplazmasının su içeriğindeki artıştan (hidrofik değişim) kaynaklandığı belirlenmiştir. Tübül hücrelerde izlenen geniş, yuvarlak ve yoğun ozmofilik madde (hiyalin damlacıkları) birikimlerinin geri emilmiş protein ya da yağ olduğu düşünülmüştür. Son aminonükleosid enjeksiyonundan 9 – 18 gün sonra incelenen glomerüllerde normal epitel hücre uzantıları izlenirken glomerüler kapillerin bazı kısımlarının kesintisiz epitel hücre sitoplazması ile çevrelendiği saptanmıştır. Glomerül içindeki kapillerlerde normal ve anormal yapıda epitel hücreleri yer yer gözlenmiştir. 11. günde değerlendirilen glomerüllerdeki endotel hücre çoğalması ve yoğun, bazal membran benzeri maddenin üremia gelişimiyle ilişkili olduğu ve bu nedenle üremianın kapiler lümen alanını azaltarak, kan akışında azalma nedeniyle ortaya çıktığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, üremianın oluşum nedeni hakkında aminonükleosidin sitotoksik etkileri üzerine sıçanların diğer dokularında ve böbrek işlevinin fizyolojik olarak değerlendirileceği ileri çalışmalara gereksinim olduğu bildirilmiştir [162].

Vernier ve arkadaşlarının aminonükleosid uyarımlı böbrek doku hasarını değerlendirdikleri çalışmaya benzer şekilde bizde çalışmamızda BAP' in neden olduğu böbrek hasarını değerlendirdik. Vernier ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer şekilde özellikle glomerül yapılarında podosit uzantıları ve pedisellerin silinmeleri şeklinde etkilendiklerini ancak tübül yapılarında ise Vernier' in çalışmasının aksine proksimal tübüllerde mitokondriyonlarda yapısal değişimlerin

olduğunu, özellikle uzun-oval görünümlerini yitirerek yuvarlaklaştıklarını ve bazal yerleşimlerini terk ederek tüm sitoplazmaya eşit dağıldıklarını gözlemledik.

Houghton ve arkadaşları, Fisher 344 cinsi sıçanlarda gentamisin sülfat uygulamasından sonra böbrek dokusu proksimal tübüllerindeki hasar ve iyileşmeyi araştırmışlardır. Bu erekle erişkin olmayan sıçanlara 14 gün süresince 40 mg/kg/gün dozunda gentamisin sülfat uygulanmış ve bunu izleyen 7 – 10 – 12 – 14. günlerde böbrek dokuları alınarak ışık ve taramalı elektron mikroskobunda incelenmişlerdir. Gentamisin uygulamasının 7. gününde böbrek dokusundaki ışık mikroskopik değişimlerin az düzeyde olduğu, korteksde proksimal tübül epitelinde vakuol oluşumu, birçok proksimal tübül hücre çekirdeklerinin kromatininin kümelendiği belirgin bölgeler içerdiği, genişlediği ve mitoz bölünmenin ender olduğu saptanmıştır. Proksimal kıvrımlı tübüllerin ince yapısında artan sayıda geniş, düzensiz ve yoğun lizozomlar ve belirgin multisentrik ve miyoloit cisimcikler saptanmıştır. Multisentrik cisimler küçük ve sıkıca birleşmiş, kümelenmiş halde proksimal tübülde gözlenmişlerdir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında mitokondriyonların şişkin ve yuvarlak şekilde olduğu, vakuollerin genişlediği ve hücrenin bazal yarısında yerleştiği, granüllü endoplazmik retikulum tubuluslarının belirgin şekilde genişlediği izlenmiştir. Gentamisin uygulamasından 10 gün sonra daha geniş çaplı hasar saptanmıştır. Kortekste proksimal tübül epitel hücrelerinde düzensiz nekrozis ve dökülme izlenmiştir. Çoğunlukla dış kortekste proksimal tübül epitelinin hasar gördüğü belirlenmiştir. Buna ek olarak, birçok epitel hücrelerinin vakuollü olduğu ve ayrışma sürecine girdiği saptanmıştır. Dejeneratif tübüllerde hasarlı ve düzenli olmayan sitoplazmik birikimlere sahip hücre kalıntıları olduğu ve bunların ender olarak bazal membrana tutunduğu görülmüştür. Mitokondriyonların krista yapısının bozulduğu, matriks yapısının yitildiği ve şiştiği izlenmiştir. Miyeloid cisimciklerin 7. güne karşın, 10. günde daha az belirgin olduğu belirlenmiştir. Bu düzeydeki hasarlı hücrelerde mitokondriyonların şişmesi, sitoplazmada vakuolüzyon, bazal membran katlantılarının yitmesi ve mikrovillus sınırlarının düzensizliği belirgin olarak ayırdedilmiştir. Proksimal ve distal tübüllerin miyeloid cisimciklerden oluşan sitoplazmik debris barındıran, parlak eozinofilik ve granüler materyal ile dolduğu gözlemlenmiştir. Gentamisin uygulamasından 12 gün sonra dış kortekste tübüllerin yarısından çoğunda nekroz izlenmiştir. Epitel hücrelerinde ince yapı düzeyinde şiddetli hasar olduğu görülmüştür. Bazı tübüllerin

epitel hücreleri içermediği buna karşın bazılarının yassı epitelle çevrelendiği ve genelde rejenere olan hücreleri içerdiği saptanmıştır. Tübül hücrelerindeki mitotik figürlerin oldukça yoğun olduğu ayırdedilmiştir. Epitel kalıntısı içeren proksimal tübül hücrelerinin, vakuollü ve granüler sitoplazma, düzensiz lümen sınırları ve belirsiz fırçamsı kenarlar içerdiği bulunmuştur. Distal kıvrıntılı ve kortikal toplayıcı tübüllerdeki bazı hücrelerin az sayıda düzensiz yerleşimli lizozom ve myeloid cisimler içerdiği saptanmıştır. Glomerül idrar boşluğunda kalıntılar dışında, diğer bir anomali izlenmemiştir. 14. günde proksimal kıvrıntılı tübülde kalıntı yapılar izlenmezken, kapsamlı bir yenilenme görülmüştür. Bazofilik hücrelerin boylarının uzadığı ve birçok mitotik şeklin olaylandığı saptanmıştır. Yenilenen epitel hücrelerinde kısa mikrovilluslar, artan sayıda mitokondriyon, düz endoplazmik retikulum ve rudimenter bazal katlantılar belirlenmiştir. Bazal membranın kalınlaştığı ve kıvrıntılı yapı sergilediği yerel bölgeler gözlemlenmiştir. Araştırmacılar artan sitoplazmik gentamisin düzeyine koşut oluşan hücresel hasarda geri dönüşümsüz yanıtların oluşabileceğini ve gentamisin uygulamasından sonra oluşan miyeloid cisim gibi lizozomal anomalilerin ve bunun ilacın toksik etkisi ile olan ilişkisinin daha ileri çalışmalarla ortaya konulması gerektiğini vurgulamışlardır [163].

Houghton ve arkadaşlarının proksimal kıvrıntılı tübüller üzerinde yoğunlaştıkları ve gentamisin sülfatın toksik etkisini araştırdıkları çalışmalarına benzer şekilde BAP' ın toksik etkisini araştırdığımız çalışmamızda glomerül yapıları ve proksimal tübüller üzerinde yoğunlaştık. Houghton' un taramalı elektron mikroskopik bulgularına eşdeğer olarak proksimal tübüllerde bizde BAP uygulamasına koşut, tübül hücre sitoplazmalarında artan sayıda geniş düzensiz ve yoğun lizozomlar gözlemledik. Yine bu çalışmayla benzer şekilde proksimal tübül hücre mitokondriyonlarının şişkin ve yuvarlak şekilde olduğunu hücre sitoplazmalarında vakuoler yapıların genişlediğini, bazal katlantıların yer yer yittiğini, mikrovillus fırçamsı kenar yapısında bozulmaların oluştuğunu ve tübüller bazal membranın kalınlaştığını saptadık.

Avasthi ve arkadaşları, uranil nitrat uyarımlı akut böbrek yetmezliğinde glomerüler süzülme katsayısının (Kf) bilinmeyen nedenlerle azaldığı, glomerüler kapiller duvarından su geçişinin hücre dışı endotel hücre pencerelerinden

gerçekleştüğinden beri pencerenin çapı ya da yoğunluğunun azalması ile hücre dışı süzülme alanı ve glomerüler Kf' nin azaldığı varsayımından yola çıkarak endotel hücrelerini taramalı elektron mikroskopik yöntemlerle incelemişlerdir. Bu erekle erişkin dişi sıçanlardan iki çalışma grubu oluşturulmuştur. İlk grupta uranil nitratın böbrek işlev ve yapısı üzerine etkileri araştırılmıştır. Düşük (15 mg/kg) ve yüksek (25 mg/kg) dozlarda damar içi uranil nitrat uygulaması ile akut böbrek yetmezliği oluşturulmuş vebunu izleyerek 2, 7 ve 17 saat sonra çıkarılan böbrek dokuları incelenmiştir. İkinci çalışma grubunda sodyum yüklenen ve yüklenmeyen sıçanlarda 15 mg/kg uranil nitratın damar içi uygulanması sonrasındaki etkilerine bakılmıştır. Kontrol grubunda normal yapıda pencereci endotel hücreleri izlenirken uranil nitrat uygulamasından 2 saat sonra bu yapının yoğunluğu ve boyutunda azalma bununla birlikte endotel hücre yüzeyindeki mikrovilluslarda yapısal anormallikler gözlemlenmiştir. Değişimler lümen yüzeyinin küçük ve belli bölgelerinde izlenmiş buna karşın epitel hücrelerinin normal yapı sergilediği belirlenmiştir. Uranil nitrat uygulamasından 7 saat sonra, bazı bölgelerde pedisellerde şişkinlik, endoteliyal değişimlerin sürdüğü, endotel hücreleri pencere yoğunluk ve çapının iki saate karşın önemli ölçüde değiştiği bulunmuştur. Düşük ve yüksek doz gruplarındaki değişimlerin eşdeş olduğu belirlenmiştir. Uranil nitrat uygulamasından 17 saat sonra epitel ve endotel hücrelerindeki değişimlerin daha geniş ölçüde ve belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşın ölçülen endotel pencere yoğunluk ve çaplarının, 7 saat grubundan elde edilenlerle eşdeş olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında, sodyum yüklenen sıçanlara yapılan uranil nitrat uygulamasının glomerüler süzülme hızını önemli düzeyde azaltmadığı gözlemlenmiştir. Bu sıçanlarda endotel hücre yapısının normal izlenmesine karşın epitel hücrelerinin sitoplazmik uzantılarının bazı bölgelerde interdijitasyonlarını yitirdiği bulunmuştur. Sodyum yüklenmeyen sıçanlardaki glomerüler süzüntü hızının önemli düzeyde düştüğü saptanmıştır. Düşük doz uranil nitratın sodyum yüklü sıçanlara uygulanması böbrek işlevi ve endotel hücre yapısında değişikliğe neden olmamıştır. Araştırmacılar endotel hücrelerinin glomerüler kapillerlerde süzülmenin düzenlenmesinde önemli işleve sahip olduğunu ve uranil nitrat uyarımlı akut böbrek yetmezliğinde endotel hücrelerinde olaylanan yapısal değişimlerin, glomerül kapillerlerinin süzülme alanını azaltarak, ultrafiltrat katsayısını azalttığını vurgulamışlardır [164].

Avasthi ve arkadaşlarının uranil nitrat uyarımlı akut böbrek yetmezliğinde endotel hücreleri üzerinde yoğunlaştıkları elektron mikroskopik çalışmalarına karşın, biz çalışmamızda tüm glomerüler yapıları ve proksimal tübüleri taramalı elektron mikroskopta değerlendirmeye çalıştık. Ancak bizim çalışmamızda da Avasthi' nin çalışmasına benzer şekilde BAP uygulamasının ardından endotel hücre fenestralarında belirgin bozulma, podositlerin birincil ve ikincil uzantılarında şişkinlik ve pedisellerde de silinme izledik. Bu çalışmaya eşdeğer şekilde uranil nitrat gibi BAP' ında glomerüler kapillerlerin süzülme alanını azaltarak ultrafiltrat katsayısını azaltabileceğini düşündük.

Andrews, sıçanlarda aminonükleosid ile uyarılan nefrozis olgusunda, böbrek dokusunu taramalı (SEM) ve geçirgen (TEM) elektron mikroskop ve ışık mikroskop ile incelemiştir. Bu erekle erişkin erkek ve dişi sıçanlardan 7' sine günlük 1,5 mg/100gr dozunda puromusin aminonükleosid deri altı enjeksiyonla uygulanmış ve 3 denekten oluşan kontrol grubunu eşit oylumda serum fizyolojik enjekte edilmiştir. 14 günlük deney süresi sonunda denekler feda edilerek böbrek dokuları alınmıştır. Yapılan SEM değerlendirmesinde aminonükleosid nefrozuna yanıt olarak visseral epitelde hücre içi vakuol oluşumu ve podosit hücrelerinin şiştiği gözlenmiştir. Podositlerin birçoğunun pedisel ve slit por yapılarını yitirerek bitişik podositlerle yakın bağlantılar oluşturduğu saptanmıştır. Visseral epitelde idrar boşluğuna açılan deliklerin belirgin olmadığı izlenirken, podosit vakuollerinde bozulma ve bu nedenle proteinin idrar boşluğuna salındığı belirlenmiştir. Birçok pariyetal hücrenin boyutunun arttığı, hücre içi vakuol birikimi içerdiği ve visseral epitele yakın aralığa yerleştiği gözlemlenmiştir. Tübüllerin lümeninin PAS-pozitif ve elektron yoğun materyal ile dolu olduğu izlenmiştir. Proksimal tübüllerde fırçamsı kenarların önemli ölçüde yitildiği izlenirken, sil gibi diğer apikal oluşumlarda önemli değişimler olmadığı belirlenmiştir. Yapılan geçirgen elektron mikroskop ve ışık mikroskop incelemelerinde, proksimal ve distal tübüllerde mitokondriyon sayısında, hücre boyunda, sitoplazmik matriksin elektron yoğunluğunda, lateral ve bazal hücre zarı katlantılarında azalma izlenmiştir. Buna ek olarak, ökromatik hücre çekirdeklerinin irileştiği ve lümenin genişlediği saptanmıştır. Sonuç olarak, proteinürili hastalardan elde edilen böbrek doku biyopsilerinin SEM ile incelenmesinin tanıda ve glomerüler değişimleri değerlendirmede önemli olduğu vurgulanmıştır [165].

Siegel ve arkadaşları civa klorür uyarımlı akut tübüler nekroziste böbrek dokusundaki yapısal değişimleri taramalı ve geçirgen elektron mikroskopik yöntemlerle incelemişlerdir. Bu erekle erkek sıçanlara yüksek dozlarda (4, 8, 16 mg/kg) civa klorür deri altı enjeksiyon ile uygulanmıştır. Deney süresini izleyen 1. ve 6. saatlerde feda edilen deneklerin, böbrek dokuları alınmıştır. Proksimal tübüllerde belirgin yapısal değişimler birinci saatte geçirgen elektron mikroskobu ile, altıncı saatte ise taramalı ve geçirgen elektron mikroskopları ile saptanmıştır. Araştırmacılar hasar bulgusunun, yapılan önceki çalışmalara karşın daha erken ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Hücre boylarında azalma olduğunu saptanmışlardır. Taramalı elektron mikroskobunda yapılan incelemede proksimal tübül hücrelerinde erken hasar oluşumuna karşın verilen hasar yanıtının nekrozis ile süreklilik gösterdiği bildirilmiştir [166].

Andrews ve Siegel' in, sırasıyla aminonükleosid ve civa klorürün zararlı etkilerini böbrek dokusunda TEM ve SEM ile araştırdıkları çalışmalarına benzer şekilde bizde çalışmamızda BAP' in olası zararlı etkilerini TEM ve SEM ile aynı dokuda değerlendirmeye çalıştık. Andrews' in çalışmasında olduğu gibi, SEM ile yaptığımız değerlendirmelerde podosit hücre gövdelerinde şişme, pedisellerde silinme izledik. Andrews ve Seigel' in çalışmalarına eşdeğer şekilde proksimal tübül hücrelerinde, mikrovillus ve mitokondriyon yapılarında değişimler ve çekirdek heretokromatininde artma saptadık.

Kızıl ve arkadaşları, benzo(a)piren uygulanmasında sıçanlarda selenyum ve E vitamininin karaciğer dokusunda ve kanda lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzimler üzerindeki olası koruyucu etkilerini incelemişlerdir. Bu erekle dişi sıçanlar kontrol, BAP, BAP+E vitamini, BAP+selenyum, BAP+E vitamin+selenyum uygulananlar olarak gruplandırılmıştır. Deney gruplarına deri altı 10,08 mg dozunda BAP, periton içi 100 mg/kg E vitamin ve 8 mg/kg selenyum 12 hafta süresince uygulanmıştır. Süre sonunda çıkarılan karaciğer dokusu ve alınan kan örneklerinde MDA, GSH, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve CAT düzeyleri değerlendirilmiştir. Benzo(a)piren uygulamasının karaciğer ve plazmada lipid peroksidasyonunu artırmasına karşın karaciğer dokusu ve eritrosit antioksidan enzim düzeylerini azalttığı belirlenmiştir. E vitamin ve selenyum uygulamaları sonucunda benzer olarak MDA düzeylerinin karaciğer dokusu ve plazma

örneklerinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında azaldığı buna karşın; GSH, GSH-Px ve katalaz düzeylerinin karaciğer dokusu ve eritrosit hücrelerinde arttığı saptanmıştır. Araştırmacılar, BAP' ın lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim düzeyleri üzerinde ortaya çıkardığı kanserojen etkileri, selenyum ve E vitaminlerinin birlikte uygulanması aracılığıyla koruyucu etkinin arttığını ve hasarın geri döndürülebileceğini belirtmişlerdir [45].

Kızıl ve arkadaşlarının BAP' ın toksik erki ve selenyum ile E vitamininin antioksidan etkilerini gözlemledikleri çalışmalarında, araştırmacılar fizyolojik değerleri inceleyerek BAP' ın toksik, selenyum ve E vitamininin böbrek dokusu üzerinde antioksidan etkileri olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da BAP' ın olası toksik etkilerini inceleme düzeyinde araştırdık ve bu ajanın nefrotoksisiteye neden olabileceğine ve çalışmamızda araştırdığımız curcumin' in de selenyum ve E vitamini gibi bu doku üzerinde BAP' ın toksik etkilerini geri döndürücü bir antioksidan özelliği sergilediğini gözlemledik.

Karkabounas ve arkadaşları, polisiklik aromatik hidrokarbonların onkojen özelliklerinin 10,08 mg/kg benzo(a)piren uygulaması ile oluşacağı bilgisinden yola çıkarak, benzo(a)piren uyarımı ile oluşturulan kimyasal karsinogenezis üzerinde askorbik asidin tek başına ya da α - tokoferol ile birlikte oluşturacağı etkiyi araştırmışlardır. Bu erekle erişkin erkek sıçanlar BAP (10,08 mg/kg), C vitamini (550 mg/kg), C vitamin+ E vitamini (440 mg/kg) uygulanan gruplar olarak ayrılmışlardır. Deney süresi sonunda akciğer, karaciğer, mide, bağırsak ve böbrek dokuları alınarak histolojik yöntemlerle incelenmişlerdir. Kullanılan maddelerin kanserojen özellikleri, deneklerin ortalama yaşam süresi hesaplanarak değerlendirilmiştir. BAP uygulaması ile oluşan malign tümörü C vitamininin baskıladığı ve malign oluşum yerine neoplastik olmayan kist ve yağ kitlesi oluşumu saptanmıştır. Herhangi bir kimyasal uygulaması yapılmayan deneklerin yaşam süresi 800-900 gün arasında izlenirken, tek doz BAP enjeksiyonu yapılan deneklerde bu sürenin 100-250 güne indirildiği belirlenmiştir. Histolojik değerlendirmede BAP enjeksiyonu yapılan bölgelerde sarkom gelişimi ve yaygın olarak fibrosarkomlar gözlemlenmiş buna karşın rabdomiyosarkom, farklanmamış sarkom ve karışık tümörlerin daha az sayıda olduğu gözlemlenmiştir. Askorbik asidin kanser karşıtı etkinliğinin 7,2 birim ve α - tokoferol ile birlikte

uygulanmalarında bu etkinliğin 20,1 birime kadar yükseldiği saptanmıştır. Sonuç olarak, askorbik asit ve α -tokoferol gibi antioksidanların kullanımı ile benzo(a)piren kökenli karsinogenitenin baskılanabileceği ya da düzenlenebileceği bildirilmiştir [167].

Bizim çalışmamızda ise BAP ağız yoluyla, Karkabounas ve arkadaşlarının çalışmaları ile aynı dozda uygulanmış ve böbrek dokusunda bir maliniteye neden olmadığı görülmüştür. BAP'ın damar içi ve/ ya da periton içi uygulanmasının ve kana hızlı geçişinin çeşitli dokularda tümör oluşumuna neden olduğunu gösteren, Karkabounas'ın çalışmasına benzer araştırmalar bulunmaktadır. Böbrek dokusu üzerinde ve birçok dokuda hasar oluşturunca etkisi bilinen bir önkanserojen olan BAP, hasar oluşturunca erki nedeniyle çalışmamızda kullanıldı. Ancak çalışmamızda ağız yoluyla uygulama sonucunda, inceyapı düzeyinde böbrek dokusunda belirgin dejeneratif bulgular saptanmasına karşın, bir malinite göstergesine rastlanmamıştır.

Knuckles ve arkadaşları, benzo(a)piren' in F-344 sıçanlarına ait organ, doku, kan üzerinde doz bağımlı oluşturuncağı akut ve subkronik toksisiteyi incelemişlerdir. Çalışma akut ve subkronik olarak iki şekilde planlanmıştır. Bu erekle erişkin dişi ve erkek sıçanlara akut olarak 0, 100, 600 ve 1000 mg/kg dozlarında ve subkronik olarak 0, 5, 50, 100 mg/kg dozlarında BAP yer fıstığı yağında çözülerek 90 gün süresince ağız yoluyla uygulanmıştır. Çalışmada önemli toksikolojik belirteçler olan vücut ağırlığı ölçümü, çalışılacak doku ağırlıkları ve dokuların histopatolojik incelemesi gerçekleştirilmiştir. Buna ek olarak; önemli kan ve idrar bileşenleri değerlendirilmiştir. Yapılan akut çalışma sonucu erkek deneklerde lökosit sayısının azaldığı buna karşın ortalama hücre-hemoglobin miktarının arttığı ve incelenen kan ve idrar bileşenlerinin gruplar arasında belirgin düzeyde değişmediği saptanmıştır. Dişi ve erkek deneklerde karaciğer doku ağırlığının önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. Yapılan subkronik çalışma sonucu erkek deneklerde vücut ağırlığının önemli ölçüde azaldığı buna karşın, karaciğer doku ağırlığının arttığı saptanmıştır. Kan bileşenlerinin erkek ve dişi deneklerde 90 günlük uygulamayı izleyerek önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur. Subkronik gruba yapılan histopatolojik değerlendirmede yüksek doz BAP (50 ve 100 mg/kg) uygulanan erkek deneklere ait böbrek dokularında tübüler döküntüler izlenmiştir. Sonuç

olarak, BAP' ın akut ve subkronik toksisitesinin düşük olduğu, uygulamadan bazı kan elemanları ve organların etkilendiği ve BAP' ın dişilere karşın erkek denekler üzerinde daha etkin olduğu bildirilmiştir. Araştırıcılar erkek deneklerde karsinogen olmayan böbrek doku anomalilerinin, böbrek işlev bozukluğunun belirtici olabileceğini vurgulamışlardır [3].

Rivedal ve arkadaşları, benzo(a)piren uyarımı ile embriyon hücrelerini invitro yapısal transformasyonunda metal tuzlarının süreci başlatıcı işlevini araştırmışlardır. Bu erekle gebeliğin 14. günündeki embriyonlar hazırlanmış, kültüre edilmiş ve hücrelerde transformasyon analizi gerçekleştirilmiştir. BAP, N-hidroksi-2-asetilaminofluoren ve 4-nitroquinurin 1-oksit gibi organik karsinogenler, nikel sülfat, kadmiyum asetat ve potasyum kromatın birlikte uygulanması ile gerçekleşen transformasyon sıklığında artış olduğu belirlenmiştir. Kromik ve çinko klorid' in tek başlarına uygulandıklarında transformasyonu uyarıcı erke sahip olmadıkları ve BAP ile birlikte uygulandıklarında ise transformasyon sıklığında da etki oluşturmadıkları saptanmıştır. Hücrelere BAP ve nikel sülfat ya da BAP ve kadmiyum asetat uygulandığında kimyasalların sinerjik etkili olduğu belirlenmiştir. Hücreler ilkin BAP' a etkin kaldığında, nikel sülfat ve kadmiyum asetatın tümör başlatıcı 12-O-tetradekanoilforbol-13-asetata benzer olarak başlatıcı etki gösterdiği ortaya konulmuştur. Başlatıcı ajan olarak BAP kullanıldığında, nikel sülfat ve kadmiyum asetatın yapısal transformasyonu başlatabileceği saptanmıştır. Sonuç olarak, metal tuzlarının düzenleyici özelliklerinin, başlatıcı özelliğe karşın daha ön planda olduğu belirlenmiştir. Araştırıcılar yapılan çalışma ile elde edilen bulguların, metal bileşenlerinin insanlar üzerinde oluşturacağı karsinogen etki ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir [168].

Rudo ve arkadaşları, benzo(a)piren ve 2-asetilaminofluoren (AAF)' in insan ve sıçan böbrek hücre metabolizmaları üzerinde mutajenik ve kanserojenik etkilerini araştırmışlardır. Bu erekle, insandan cerrahi işlem aracılığıyla ve erişkin erkek sıçanlardan çıkarılan böbrek doku örneklerinden, böbrek hücreleri izole edilmiştir. Bu hücrelerde AAF ve BAP metabolizmasını değerlendirme ereğiyle HPLC analizleri ve mutajenik erklerinin değerlendirilmesi ereğiyle Salmonella typimurium analizi gerçekleştirilmiştir. BAP metabolizmasının insan ve sıçan hücrelerinde eşdeş olduğu buna karşın, oluşan metabolitlerin türlere göre değerkenlik gösterdiği

belirlenmiştir. İnsana ait böbrek hücrelerinde BAP-9,10-diol, BAP-4,5-diol, BAP-7,8-diol, BAP-3,6-quinone ve BAP-9-fenol gibi organik maddelerde çözünebilen metabolitlerin üretildiği saptanmıştır. Sıçana ait böbrek hücrelerinde ise BAP-pre9,10-dioller, BAP-9,10-diol, BAP-4,5-diol ve BAP-6,12-quinone gibi organik maddelerde çözünebilen metabolitlerin üretildiği görülmüştür. Uygulanan iki maddenin glukuronid ve sülfat konjugatlarının her iki türde ürettildiği ortaya konulmuştur. Sıçan ile karşılaştırıldığında, insan böbrek hücrelerinin AAF toplam metabolitlerini 4 kez ürettiği belirlemiştir. Organik maddelerde çözünebilen metabolitlerin her iki türde de eşdeğer olduğu ve 1,3,5/9 ve 8 konumlarında 2-aminofluoren (AF), N-hidroksi-AAF ve halkalı-hidroksile ürünler içerdiği saptanmıştır. İnsanda toplam AAF metabolizmasının bireylerarası 2,5 kat ve herbir AAF metabolitlerinin 6 kat kadar değişken olduğu bulunmuştur. BAP metabolizmasının bireyler arası farklılığını daha düşük olduğu buna karşın özgül metaboliklerinin 4 kat kadar değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Sıçan böbrek hücreleri ile karşılaştırıldığında, AAF ve AF hücre aracılı *Salmonella typhimurium* mutojenitesinin insan hücrelerinde önemli düzeyde yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmacılar kimyasal karsinojen uygulamasında insan ve kemirgen böbrek hücre metabolizmasının, uygulanan kimyasalın sınıfına göre değişkenlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak, değerler arasındaki bu farkı anlamının, kemirgen ve insan karsinojenite verileri arasındaki ilişkiyi belirlemede önemli olacağı bildirilmiştir [46].

Benzo(a)piren uygulamasıyla böbrek dokusu ve çeşitli dokularda oluşabilecek olası hasarı araştıran Knuckles, Rivedal ve Rudo' ya benzer olarak bizim çalışmamızda hasar yapıcı ajan olarak BAP kullanıldı. Knuckles' ten farklı olarak çalışmamızda BAP çözücüsü olarak mısır yağı yeğlendi. İnceyapı düzeyinde karsinojenik etki izlenmezken, glomerüler yapılarda tüm hücre tiplerinde sitoplazmik bileşenlerde dejeneratif değişimler, çekirdek heterokromatininde artış, apoptotik cisimciklerin oluşumu, pedisellerde silinme ve tübüler yapılarda da yine benzer şekilde çekirdek ve hücre organelleri bazında dejeneratif bulgular saptandı.

Kim ve arkadaşları, metabolik süreçlerde serbest radikal ürettiği bilinen benzo(a)piren uygulamasının oluşturacağı oksidatif DNA hasarı, proteinlerin karbonil içeriği, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz aktivitelerini araştırmışlardır.

Bu erekle dişi sıçanlara mısır yağında çözülen 75 mg/kg BAP ağız yoluyla uygulanmıştır. Denekler uygulamaları izleyen 0, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde feda edilmişlerdir. Elde dilen karaciğer, böbrek ve akciğer dokularından DNA izole edilerek oksidatif stres incelenmiş, organlardan elde edilen sitosöl proteinlerinde karbonil içeriğı, süperoksit dismutaz ve katalaz araştırılmıştır. BAP uygulaması ile karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında oksidatif streste artış izlenmesine karşın bu artışın diğerk dokularla karşılaştırıldığında karaciğerde 3,5 kat ve böbrekte iki kat fazla olduğu belirlenmiştir. Karaciğerde bu değerin uygulamayı izleyen 12. saatte en yüksek düzeyde ve 24. saatte ise kontrol durumuna eşdeğ olmasına karşın böbrekte bu değerin durağan olduğu saptanmıştır. Protein oksidasyonunun belirteci olan karbonil içeriğinin yalnızca karaciğer dokusunda uygulamayı izleyen 6. saatte oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Artış oranının, oksidatif stres ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu bulunmuştur. Dokularda DNA ve protein hasarında görülen artış ile ters orantılı olarak SOD ve katalaz aktivitelerinin uygulama sonrasında düştüğü ve kontrol grubuna karşın daha yüksek oldukları bulunmuştur. Elde edilen bulguların sonucunda araştırmacılar, BAP uygulamasının DNA, protein ve antioksidanlar üzerinde serbest radikal oluşumuna bağılı olarak oksidatif hasara neden olduğu ve bunun BAP karsinogenitesi ile ilişkili olabileceğini vurgulamışlardır [4].

Asha ve arkadaşları, böbrek ve karaciğer dokularında benzo(a)piren uyarımlı oksidatif hasarın kanserojenik etkisini araştırmışlardır. Bu erekle erişkin erkek Swiss albino cinsi farelere mısır yağı içerisinde çözülmüş 50 mg/kg dozunda BAP, 60 ile 90 gün sürecinde haftada iki kez uygulanmıştır. Gruplar, ağız yoluyla mısır yağı uygulanan kontrol, 60 gün süresince 50 mg/kg BAP ve 90 gün süresince 50 mg/kg BAP olarak belirlenmiştir. Lipid peroksidasyon (LPO) düzeyleri, enzimatik antioksidan erkleri ve enzimatik olmayan antioksidan düzeyleri incelenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 60 ve 90 gün BAP gruplarında LPO düzeylerinin böbrek ve karaciğer dokularında önemli ölçüde arttığı saptanmıştır. Deney gruplarının glutatyon peroksidaz antioksidan enzim aktivitesinin böbrekte arttığı buna karşın, karaciğer dokusunda azaldığı belirlenmiştir. Süperoksit dismutaz ve katalaz enzim erklerinin tüm deney gruplarında ve dokularda azaldığı saptanmıştır. Araştırmacılar, benzo(a)piren uyarımlı oksidatif hasarın lipid peroksidasyonunu artırdığı buna karşın enzim olan ve olmayan antioksidan

düzeylerini düşürdüğünü ve bu nedenle böbrek ve karaciğer dokularının toksisite yanıtında oluşan oksidatif strese daha yatkın olduklarını vurgulamışlardır [44].

Topçu ve arkadaşları, sisplatin uyarımlı böbrek dokusu hasarında, antioksidan özellikte olan C vitamininin kronik kullanımının olası koruyucu etkisini ışık ve elektron mikroskopik yöntemlerle incelemişlerdir. Bu erekle erişkin erkek sıçanlar 4 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna 3 ay süresince günlük, kas içi serum fizyolojik ve diğer gruba 5 mg/kg dozunda sisplatin damar içi uygulanmıştır. Sisplatin+C vitamini (8 mg/kg) grubunda sisplatinin ilk uygulanmasını izleyerek C vitamini kas içi verilmiştir. Süre sonunda böbrek dokuları alınmış, ışık mikroskop ve geçirgen elektron mikroskopi yöntemleri ile incelenmiştir. Kontrol grubuna ait dokularda glomerül ve böbrek tübülleri normal yapıda izlenmiştir. Sisplatin grubunun ışık mikroskopik incelemesinde birçok tübüler nekroz odakları oluşumu, tübülde genişleme olduğu ve bu genişlemelerin iç ve dış korteksi kapsayacak şekilde yayıldığı gözlemlenmiştir. Bazı tübül epitel hücrelerinde hücre metabolizması artışına koşut olarak sitoplazmanın bazofilik yapıda ve çekirdeğin büyümüş olduğu izlenmiştir. Bazı glomerüllerin zor ayırt edildiği ve bazılarının çevresinde genişlemiş glomerül çevresi boşlukların bulunduğu saptanmıştır. Böbrek tübülleri ve Bowman kapsülünün bazal membranlarının kalınlaştığı izlenmiştir. Buna ek olarak, fokal mononükleer hücre infiltrasyonu esas olarak korteks katmanında ve bazı tübüller ile glomerül çevresi bölgelerde gözlemlenmiştir. Sisplatin grubuna ait elektron mikroskopik değerlendirmede birçok sitoplazmik vakuol, yuvarlak şekilli ve düzensiz kristal mitokondriyonlar, bazal katlantılarda kısalma ve yitim, sitoplazma ve mikrovilluslarda kısmi kayıp ayırdedilmiştir. Sisplatin+C vitamini uygulanan grubun ışık mikroskopik incelemesinde, sisplatin grubunda glomerül ve özellikle kortikal tübüllerde gözlemlenen şiddetli dejeneratif değişikliklerin gerilediği saptanmıştır. Epitel hücre dejenerasyonu ve tübüler genişlemenin azalmasına karşın mononükleer hücre infiltrasyonunun halen izlendiği belirlenmiştir. Aynı grubun tübüler hücrelerinde yapılan elektron mikroskop değerlendirmesinde hasar görmüş hücre yapısı ile ilgili fazla bulgu saptanmamıştır. Böbrek dokularındaki glomerül ve tübüllerin çapları değerlendirildiğinde kontrol grubuna karşın sisplatin uygulaması glomerül çapını azaltırken, böbrek tübül çaplarını artırmıştır. Sisplatin grubuna karşın C vitamini uygulaması ise glomerül çapını önemli ölçüde artırmış buna karşın tübül çapını ise azaltmıştır. Sonuç olarak, sisplatin uyarımlı şiddetli

histopatolojik ve yapısal değişimlerin C vitamini uygulaması ile geri döndürüldüğü belirlenmiştir. Buna bağlı olarak kronik C vitamini uygulamasının böbrek doku uygulamasında koruyucu etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar bu etki yolağında C vitamininin antioksidan artırıcı etkinin önemli olabileceğini vurgulamışlardır [169].

Kurgu olarak bizim çalışmamızla en çok örtüşen Topçu ve arkadaşlarının çalışmasında, böbrek dokusunda sisplatin uyarımlı hasarda, antioksidan özellikte olan C vitamininin olası koruyucu etkisi elektron mikroskopik yöntemlerle araştırılmıştır. Sisplatinle benzer şekilde benzo(a)piren' in glomerül kapillerlerinde genişlemeye, glomeruler bazal membranda yer yer ve orantısız kalınlaşma ve kıvrılmaya, tüm hücre tipleri sitoplazmasında organel içeriklerinde bozulma ve vakuol benzeri yapıların oluşumuna neden olduğu görülmüştür. Ek olarak, SEM' le yaptığımız incelemelerde ise glomerül yüzeyinin süngerimsi bir görünüm kazandığını ve özellikle podosit hücre gövdelerinin krater benzeri oyuklarla ay yüzeyini andıran bir görünüm aldığını saptadık.

Curcumin zerdeçalın esas bileşeni olan, antioksidan özelliği güçlü bir hidrofobik bir polifenoldür. Curcumin, kimyasal olarak bis- α , β - çözünmemiş β -diketondur. β konumunda bağlı iki keton grubu içerir. Antioksidan özelliğinde önemli olan keto ve enol şekilleri vardır. Curcuma longa bitkisinin köklerinden elde edilir. Yüzyıllardır çeşitli antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özellikleri ile ezilme, burkulma, kesik ve yaralanma gibi ev kazalarında tedavi için yeğlenmektedir. Hindistan' da safra hastalıkları, anoreksiya, nezle, öksürük, diyabetik yaraları, karaciğer hastalıkları, sinüzit ve romatizmanın geleneksel tedavisinde, Çin' de ise karın ağrılarının tedavisinde kullanılmaktadır [11].

Bir tatlı kaşığı zerdeçal yaklaşık 30-90 mg curcumin içerir. 2-4 tatlı kaşığı toz miktarında bulunan 200 mg/gün' lük doz, tedavi edici etkidir. Curcumin uzun süredir gıdalarda baharat olarak günde 100 mg kullanılır. Yapılan klinik çalışmalar ile günlük 8 gramın tolere edilebildiği gösterilmiştir. Son yıllarda Fransa' da da kullanımı artmıştır. İnsanlarda günde 12 gr alındığında belirgin bir yan etki göstermez. Çalışmalara göre curcuminin doza bağlı toksisite ve yan etkisi bulunmamaktadır [11,14].

Vücuda ağız yoluyla alınan curcumin, bağırsaklardan emilerek, kana ve dokulara dağılır ve safra ile atılır. Curcumin metabolitleri karaciğerde olaylanan sülfasyon ve gluküronidasyon gibi mikrozomal enzimatik tepkimelerde oluşur. Esas metaboliteri tetrahidrocurcumin (THC) ve hekzahidrocurcumin (HHC) gluküronitleridir. THC şekli curcuminin biyolojik etkileri üzerinde önemli işleve sahiptir [12].

Organizma için öncelikli antioksidan etkileri belirlenen curcumin' in biyolojik olarak kanser karşıtı, antifibrotik, antimikrobiyal, inflamasyon önleyici, zehir karşıtı etkileri ve dölleme, anjiyogenezis, lipid metabolizması, yara iyileşmesi, detoksifikasyon enzim ifadeleneşmesi, NF-kB ile aktive edici protein 1 (AP1) ve bunların transkripsiyon faktörleri üzerine etkileri belirlenmiştir [13,14].

Akın ve arkadaşları, mezenter iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarında açığa çıkan zararlı maddelerin akciğer, karaciğer ve böbrek gibi uzak organları etkilemesi ve bu hasarın sistemik yanıtı uyarmasından yola çıkarak curcumin' in iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Bu erekle her grupta 10 denek olacak şekilde 4 grup oluşturulmuştur. Gruplar sham (laparotomi uygulaması), kontrol (laparotomi ve 200mg/kg curcumin), I/R ve I/R+curcumin olarak belirlenmiştir. I/R gruplarına 30 dk süresince mezenter arter iskemisi ve bunu izleyen 1 saat süresince reperfüzyon uygulanmıştır. Curcumin hasar oluşturulmadan 15 dk önce, tek doz ve ağız yoluyla verilmiştir. Serum MDA düzeyi, total antioksidan yeti (TAC), oksidatif stres dizini ve histopatolojik değışikliklerin incelenmesi için süre sonunda akciğer, karaciğer, incebağırsak, böbrek dokuları ve kan örnekleri alınmıştır. İnce bağırsak ve diğere organların histopatolojik incelemesi sonucunda I/R grubunda hasar skorlarının anlamlı olarak yüksek olduğı ve curcumin uygulaması ile hasarın gerilediğı saptanmıştır. Lipid peroksidasyon içeriğini belirten MDA düzeylerinin reperfüzyon uygulamasından sonra arttığı ve curcumin uygulamasının bu artışı önlediğı belirlenmiştir. TAC düzeylerinin curcumin uygulaması ile önemli oranda arttığı izlenmiştir. Araştırmacılar bağırsak histopatolojik skorları ile diğere organlara ait histopatolojik ve biyokimyasal bulgular arasında benzerlik olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak, akciğer, karaciğer ve böbrek dokularının mezenterik I/R hasarından etkilendiğı ve curcumin ön uygulamasının hasar üzerinde olumlu etkilere neden olduğı saptanmıştır [141].

Fatma ve arkadaşları sodyum arsenit uyarımı ile organlar ve plazmada oluşan oksidatif hasarda curcumin' in antioksidan etkisini incelemişlerdir. Bu erekle erkek sıçanlar kontrol, curcumin (15 mg/kg), sodyum arsenit (Sa, 5 mg/kg), sodyum arsenit (5 mg/kg) + curcumin (15 mg/kg) olarak gruplandırılmıştır. Tüm uygulamalar 30 gün süresince ağız yoluyla yapılmıştır. Süre sonunda feda edilen deneklerin beyin, karaciğer, akciğer, böbrek, testis dokuları çıkarılmış, tüm organların ağırlığı kaydedilmiş ve kan örneklerini alınmıştır. Plazma ve dokularda glutatyon S-transferaz (GST), katalaz (CAT), süper oksit dismutaz (SOD) aktiviteleri değerlendirilmiş, tiobarbiturik asit-reaktif madde (TBARS) ve total sülfidril grup (SH) analizi gerçekleştirilmiştir. Sa uygulaması plazma, beyin, karaciğer, akciğer, böbrek ve testiste TBARS' ı artırmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Sa uygulanan grupta plazma ve organlarda GST, SOD, CAT ve SH düzeyleri önemli ölçüde azalmıştır. Curcumin uygulanan grupta TBARS azalmış buna karşın, antioksidan enzimler ve SH düzeyleri artmıştır. Curcumin ve Sa' nın birlikte uygulandığı grupta TBARS düzeyi azalmış ve antioksidan enzim erki ile SH düzeyleri düşmüştür. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Sa uygulanan gruba ait vücut ağırlıklarının azaldığı buna karşın karaciğer doku ağırlığının arttığı belirlenmiştir. Curcumin uygulanan gruba ait organ ağırlıklarının kontrol grubuna eşdeğer olduğu belirlenmiştir. Sonuçta, arsenik zehirlenmesi sonucu oluşan oksidatif hasarın, curcumin uygulamasıyla azaldığı ve zehirlenmede antagonistik erke sahip olduğu ortaya konmuştur. Bu etkisinin ise serbest radikal süpürücü antioksidan özelliği ve metal tutucu özelliğinden kaynaklandığı bildirilmiştir [145].

Mokhtar ve arkadaşları, parasetamol-uyarımli, karaciğer ve böbrek doku hasarlarında curcumin ve quercetin' in olası koruyucu rolünü araştırmışlardır. Erişkin erkek sıçanlar kontrol, N-asetilsistein (distile suda çözünmüş, 150 mg/kg), Curcumin (mısır yağında çözünmüş, 50 mg/kg), quercetin (serumda çözünmüş, 20mg/kg), parasetamol (distile suda çözünmüş, 650 mg/kg), N-asetilsistein+curcumin+quercetin olarak gruplanmıştır. N-asetilsistein, quercetin ve curcumin' in etkilerinin değerlendirilmesi ve karşılaştırılması için kullanılmıştır. Tüm uygulamalar 15 gün süresince ağız yoluyla yapılmıştır. Deney süresi sonunda alınan doku ve kan örneklerinde histolojik inceleme ve biyokimyasal analizler uygulanmıştır. Parasetamol uygulaması ile plazma total protein, albümin, globulin

ve tiobarbiturik asit-reaktif madde (TBARS) düzeyleri azalmış buna karşın bilirubin, üre ve kreatininde önemli artış saptanmıştır. Yine alanin transaminaz (ALT), alkalın fosfataz (AIP), ve laktat dehidrogenaz (LDH) plazma aktiviteleri kontrol gurubuna karşın artarken, karaciğer dokusundaki erkleri önemli ölçüde azalmıştır. Plazma ve organlarda antioksidan enzim aktiviteleri önemli ölçüde baskılanmıştır. Ajanların ayrı ayrı uygulandığı gruplarda (N-asetilsistein, curcumin, quercetin) bu değerlerin etkilenmediği saptanırken, ajanların birlikte uygulandığı gruplarda antioksidan düzeyleri azalmış buna karşın biyokimyasal parametrelerdeki bozulma ile karaciğer ve böbrek doku hasarı iyileşmiştir. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda normal histolojik yapı izlenirken, ajanların ayrı ayrı uygulandığı gruplarda da normal histolojik yapının korunduğu belirlenmiştir. Parasetamol uygulanan grupta hepatoselüler nekroz, hepatositlerde şişme, sitoplazmik vakuolizasyon ve piknoik çekirdek, sinüzoidlerde oblitere görünüm izlenmiştir. Ajanların birlikte uygulandığı gruplarda, uygulanan maddelerin nekrotik değişimler üzerinde koruyucu etki gösterdikleri, hepatositlerin normal yapıda olduğu, bazı hücrelerde sitoplazmik vakuollerin halen izlendiği, Kupffer hücre sayısında artış olduğu, hepatik lobüllerin kısmi değişim göstererek normal yapılarını korudukları belirlenmiştir. Sonuç olarak, curcumin ve quercetin' in parasetamol' ün oluşturduğu toksik etkileri en aza düşürdüğü, karaciğer işlev ve yapısını iyileştirdikleri, böbrek işlevlerini normalleştirdikleri ve yine parasetamol ile ortaya çıkan oksidatif hasarı baskıladıkları gözlemlenmiştir. Diğer ajanlar ile karşılaştırıldığında curcumin' in karaciğer yapısı üzerinde daha yüksek düzeyde koruyucu etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar parasetamol ile birlikte curcumin ya da quercetin uygulamasının ilaç toksisitesini azaltabileceği ancak bu bitkisel kimyasalların uygun dozajlarının belirlenmesi için daha ileri çalışmalara gereksinim olduğunu vurgulamışlardır [142].

Ramar ve arkadaşları, yüksek dozunun toksik etkili olduğu bilinen selenyum uyarımı ile oluşan toksisitede curcumin' in karaciğer ve böbrek dokuları üzerinde olası koruyucu etkisini araştırmışlardır. Bu erekle erişkin olmayan sıçanlar; kontrol, selenyum (periton içi tek doz 15 µg/kg), selenyum+curcumin (ağız yoluyla tek doz, 75 mg/kg), selenyum+curcumin (selenyum uygulamasını izleyen 24 saat sonra curcumin) ve selenyum+curcumin (selenyum uygulamasından 24 saat önce curcumin) olarak gruplandırılmıştır. 16. günde feda edilen sıçanların böbrek ve

karaciğer dokuları alınmıştır. Dokulara H&E boyaması uygulanmış ve iNOS antikor ifadenmesi immünohistokimyasal yöntemlerle araştırılmıştır. Böbrek dokusunda yapılan ışık mikroskopik değerlendirmede kontrol grubuna ait glomerül ve tübüllerin normal yapı sergilediği izlenmiştir. Selenyum grubu epitel hücrelerinde vakuoler dejeneratif değişimler, fibrozis ile birlikte hücre çoğalması, kapiller duvarlarında kalınlaşma ve glomerülde atrofi gözlemlenmiştir. Selenyum uygulamasını izleyen 24 saat sonra curcumin uygulanan grupta değişimlerin az düzeyde olduğu buna karşın selenyumdan 24 saat önce curcumin uygulanan grupta glomerül ve tübüllerin normal yapı sergilediği saptanmıştır. Selenyum uygulanan gruba ait karaciğer ve böbrek dokularında kuvvetli iNOS tutulumu izlenmiştir. 24 saat sonra curcumin uygulanan grupta benzer bölgelerde ancak daha zayıf tutulum görülmüştür. 24 saat önce curcumin uygulanan grubun karaciğer ve böbrek dokularında kontrol grubuyla eşdeğer olarak, iNOS ifadenmesi belirlenememiştir. Sonuç olarak, selenyum uyarımlı toksisitede böbrek ve karaciğer dokularında curcumin' in koruyucu etki gösterdiği ve bu etkinin dokulardaki iNOS ifadenmesini düzenlemesi aracılığı ile gerçekleştiği bildirilmiştir. Araştırmacılar curcumin' in karaciğer ve böbrek toksisitesinde, iNOS aktivitesi üzerindeki baskılayıcı etkisi nedeniyle olası koruyucu ajan olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir [143].

Francisco ve arkadaşları, kronik böbrek hastalığı olan hastalarda curcumin' in kardiyovasküler komplikasyonları baskılayabileceği seçici tedavi yaklaşımı varsayımından yola çıkarak sıçan modelinde curcumin ön uygulamasının kalp işlevini koruyucu etki düzeneğini ve bunun mitokondriyal işlev üzerine etkisini araştırmışlardır. Erişkin erkek sıçanlar üç gruba ayrılmıştır. Sham grubuna ventral laparotomi ve böbreklere manipülasyon yapılmıştır (n=20). 5/6Nx grubuna subtotal nefrektomi uygulanmış ve 60 gün sonra feda edilmişlerdir (n=20). 5/6Nx + curcumin grubuna subtotal nefrektomiden önce 7 gün süresince ve nefrektomi sonrasında 60 gün süresince ağız yoluyla 120mg/kg/gün curcumin (%0,05 CMC' nin içinde çözülerek) uygulanmıştır (n=20). Böbrek işlevindeki bozukluk nefrektomiden birkaç gün sonra saptanmış buna karşın kalp işlevindeki değişiklikler deneysel protokolün sonunda gözlemlenmiştir. Subtotal nefrektomi için sağ böbrek çıkarılmış ve sol böbreğin 2/3' ünde ligasyon ile renal arterin 2 ya da 3 dalında damar tıkanıklığı oluşturulmuştur. Nefrektomi uygulanan sıçanların

sistolik kan basıncı bazal koşullarda ve her 15 dk' da bir ölçülmüştür. Kalp işlevleri izole kalp sistemi ile değerlendirilmiştir. Aynı grupta kalp hemojenatlarından ROS üretimi ölçülmüş, MDA ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) değerleri saptanmıştır. Nefrektomi uygulanan sıçan kalp dokusunda nekrotik doku değerlendirmesi yapılmıştır. Curcumin uygulanan grubun kalp dokusunda katalaz ve glutatyonin S-transferaz (GST) erki değerlendirilmiş ve aynı grubun kalp dokusunda PHO-Nrf2 içeriği incelenmiştir. Nefrektomi uygulanan grupta curcumin' in proteinkinaz C erki değerlendirilmiştir. Kalp dokusundan mitokondriyon izolasyonu yapılarak, mitokondriyal bütünlük belirlenmiş ve mitokondriyal akonitaz erki ölçülmüştür. Curcumin uygulamasının patolojik değişimlere karşı koruyucu etki gösterdiği, iskemiyi azalttığı ve üremik sıçanlarda kalp işlevini koruduğu belirlenmiştir. Curcumin' in kalp koruyucu işlevi reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltması, oksidatif stres belirteçlerini azaltması, antioksidan yanıtı artırması, aktif metalloproteinaz-2' yi azaltması ile ilişkilendirilmiştir. Bu etkinin mitokondriyal işlevin koruması ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Akonitaz erkinin nefrektomi grubuna karşın, curcumin uygulanan grupta önemli düzeyde yükseldiği ve aynı gruba ait mitokondriyonlarda oksidatif fosforilasyon yetisinin arttığı izlenmiştir. Curcumin' in kalp koruyucu etkisinde yer alan tüm düzenekler, antioksidan erkiyle ve dolaylı etkileri ise protein kinaz C' nin aktive ettiği sinyal yolağının azalması ile ilişkilendirilmiştir. Sonuç olarak; kronik böbrek yetmezliği hastalarında ortaya çıkabilecek ağır kalp-damar yakınmalarının curcumince iyileştirebileceği ortaya konulmuştur [138].

Ataie ve arkadaşları oksidatif stresin nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinde yer aldığı, nöron hasarına neden olduğu, hücre içi sinyalleşmeyi değiştirerek nekroz ve apoptozis ile hücre ölümüne neden olduğu gerekçelerinden yola çıkarak curcumin' in homosistein (Hcy) uyarımlı nörotoksisite üzerindeki olası antioksidan ve sinir koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Bu erekle erişkin sıçanlar kontrol, sham, Hcy (10 gün süresince damar içi 0,2 $\mu\text{mol}/\mu\text{l}$ Hcy ve periton içi etil oleat) olarak gruplandırılmıştır. Curcumin gruplarına ayrı ayrı 5, 15, 45 mg/kg dozlarında curcumin, Hcy enjeksiyonunun başlamasından 5 gün önce ve 10 gün süresince günlük olarak uygulanmıştır. Son uygulamadan 24 saat sonra, lipid peroksidasyonu, MDA, süperoksit anyonları (SOA) ölçümü için biyokimyasal analizler ve buna ek olarak öğrenme ve lokomotor aktiviteleri içeren davranışsal

analizler yapılmıştır. Hipokampüsteki hücre yoğunluğu ve apoptozisin değerlendirilmesi ereğiyle caspaz-3 antikor tutulumu immünohistokimyasal yöntemler ile incelenmiştir. Hcy' nin beyin dokusunda lipid peroksidasyonunu uyardığı, MDA ve SOA düzeylerini artırdığı ve belleği bozduğu saptanmıştır. Curcumin uygulaması ile MDA ve SOA düzeylerinin önemli ölçüde düştüğü, öğrenme ve belleğin güçlendiği belirlenmiştir. Kontrol grubuna ait dentat girusta apoptotik değişimler izlenmemiş buna karşın Hcy grubunda kuvvetli caspaz-3 antikor ifadelenmesi saptanmıştır. En yüksek doz (45 mg/kg) curcumin uygulaması yapılan grupta, caspaz 3 tutulumunun negatif olduğu ve bu nedenle curcumin uygulaması ile apoptozisin baskılandığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, Hcy' nin beyin dokusunda lipid peroksidasyonunu uyardığı buna karşın curcumin' in lipid peroksidasyonunu baskılayarak sinir sistemini oksidatif stresten koruduğu ve Hcy ile azalan öğrenme ve bellek işlevlerinin kuvvetlendirilerek korunmasında etkili bir ajan olduğu bildirilmiştir [144].

Kalpna ve arkadaşları, curcumin' in lipid peroksidasyonunda düzenleyici etkilerini ve nikotin uyarımlı akciğer toksisitesinde oksidan ve antioksidan dengeleri üzerindeki olası koruyucu erkini incelemişlerdir. Bu erekle erkek sıçanlar kontrol, 2,5 mg/kg nikotin, nikotin+ 80 mg/kg curcumin ve 80 mg/kg curcumin uygulananlar olarak gruplandırılmıştır. Akciğer toksisitesi 2,5 mg/kg dozunda nikotinin deri altı uygulanmasıyla oluşturulmuştur. Curcumin ise % 5 DMSO içerisinde çözölmüş ve ağız yoluyla verilmiştir. 22 haftalık deney süresi sonunda karaciğer, akciğer ve böbrek dokuları çıkarılmış ve kan örnekleri alınmıştır. Nikotin grubuna ait tüm dokularda TBARS düzeyi, kontrole karşın önemli ölçüde artmış ve curcumin uygulaması ile TBARS düzeyinin geri döndüğü saptanmıştır. Nikotin grubuna ait tüm dokularda GSH, E ve C vitamin düzeyleri ve SOD ile CAT erklerinin, kontrole karşın önemli ölçüde azaldığı ve curcumin uygulaması ile etkinliklerinin artarak normale döndüğü belirlenmiştir. Sonuç olarak, curcumin' in nikotin uyarımlı toksisitede koruyucu işlevinin lipid peroksidasyonunun engellenmesi ve antioksidan savunma sisteminin arttırılması ile ortaya çıktığı saptanmıştır. Araştırmacılar sigara kullanan kişilerin nikotin uyarımlı oksidatif stresi önlemek ereğiyle, curcumini besinsel takviye olarak almalarının uygun olacağını vurgulamışlardır [170].

Akın, Mohtar, Ramar, Francisco ve arkadaşlarının çalışmalarında olduğu gibi daha birçok çalışmada, günümüzde farklı otoriteler tarafından güçlü bir antioksidan olduğu kabul edilen curcumin' in farklı dokularda olası koruyucu etkileri fizyolojik ve biyokimyasal parametreler ile bakılmış ve sözü edilen tüm değerlerin curcumin uygulaması sonucunda fizyolojik ve biyokimyasal açıdan sağlıklı kan ve doku değerlerine ulaşması nedeniyle bu çalışmalarda da curcumin' in güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Mohamed ve arkadaşları, etkili bir antikanser ve immün baskılayıcı ajan olan metotreksate uyarımı ile oluşan nefrotoksisitede curcumin' in çeşitli yollar üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Böbrek işlevinin değerlendirilmesi ereğiyle oksidatif stres (malondialdehid, nitrik oksit, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz) ve inflamatuvar parametreleri (TNF-a ve COX-2) ölçülmüştür. İmmünohistokimyasal olarak böbrek korteks ve medulla katmanlarında COX-2 antikor tutulumu değerlendirilmiştir. Nefrotoksisite uyarımı 10 haftalık erkek sıçanlara 7 mg/kg/gün dozunda metotreksatin üç ardışık günlük periton içi uygulanması ile gerçekleştirilmiştir. Gruplar her birinde 6 ila 8 sıçan olacak şekilde; kontrol, pozitif kontrol (3 gün süresince %1 sıvı CMC' de çözülmüş 200 mg/kg curcumin), metotreksate (3 gün süresince periton içi 7mg/kg metotreksate uygulaması) ve metotreksate+200 mg/kg curcumin olarak belirlenmiştir. Son metotreksate uygulamasından 24 saat sonra sıçanlar feda edilmiş ve kan örnekleri toplanmıştır. Sol böbrek immünohistokimyasal değerlendirme için alınmış, korteks katmanının bir kısmı sıvı nitrojene alınarak -80 derecede korunmuş ve biyokimyasal analizler için soğuk potasyum fosfat tamponunda homojenize edilmiştir. Histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmede kullanılmak için böbrek dokusu değişimleri zayıf, orta ve şiddetli olarak skorlanmıştır. Curcumin uygulanan grupta metotreksate toksisite düzeyinin düştüğü, lipid peroksidasyonunun ve nitrik oksit düzeylerindeki artışın baskılandığı, glutatyonin peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzimlerinin önemli düzeyde arttığı saptanmış buna karşın yalnızca metotreksate uygulanan grupta aynı etkiler gözlenmemiştir. Yapılan histopatolojik değerlendirmelerde kontrol ve yalnızca curcumin uygulanan böbrek dokularında normal histolojik yapı gözlemlenmiştir. Metotreksate grubuna ait böbrek tübüllerinde yozlaşma, tübüller arası bazal membran yapılarında bozulma, kistik lümen genişlemeleri ve tübül hücrelerinin düzleştiği izlenmiştir.

Aynı grubun glomerül yapılarında da izlenen yozlaşmanın, curcumin' in de uygulandığı grupta önemli ölçüde iyileşme sağladığı ve böbrek dokusunun kontrole eşdeğer görünüm sergilediği saptanmıştır. Böbrek korteks ve medulla katmanında yapılan immünohistokimyasal değerlendirmede kontrol ve yalnızca curcumin uygulanan gruplarda makula densa hücrelerinde COX-2 ifadenmesi saptanmış buna karşın medullar tübüllerde izlenmemiştir. Metotreksate grubunda yozlaşan kortikal tübüllerde, tübül hücre çekirdeklerinde ve medullar tübüllerin genelinde yüksek düzeyde COX-2 ifadenmesi gözlemlenmiştir. Metotreksate+curcumin grubunda orta düzeyde ifadenme proksimal ve distal kortikal tübüllerde izlenmiştir. Sonuç olarak; curcumin' in metotreksate nefrotoksisitesinde glutatyonin peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzimlerini koruduğu, COX-2 üretimini baskıladığı ve antioksidan, anti inflamatuvar etkileri ile koruyucu özellik gösterdiği ortaya konulmuştur [139].

Bizim çalışmamızda da, antikanser özellikli methotreksate' ye karşın kanserojen etkili BAP' ın nefrotoksik erki böbrek dokusunda araştırılmıştır. Methotreksate gibi BAP' ın da nefrotoksisiteye neden olduğu gösterilmiş ve bu çalışma ile eşdeğer olarak bizim çalışmamızda da curcumin' in koruyucu etkileri gözlemlenmiştir.

Fang ve arkadaşları, curcumin' in potansiyel anti inflamatuvar özelliğinden yola çıkarak fare böbrek dokusu ve kültüre edilmiş böbrek tübül epitel hücrelerinde (HK-2), lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılan inflamasyon yolağını araştırmışlardır. Çalışmada in vitro model olarak böbrek inflamasyonunda önemli erki olduğu bilinen insan proksimal tübül hücre hattı (HK-2 hücreleri) yeğlenmiştir. Kunming fareleri, her grupta 3 denek olacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır. Bunlar; kontrol (periton içi salin enjeksiyonu) , LPS (1 mg/kg ya da 5 mg/kg periton içi LPS uygulaması), Curcumin+LPS (3 gün süresince 5 mg/kg curcumin uygulaması ve ardından 1 mg/kg ya da 5 mg/kg periton içi LPS enjeksiyonu) olarak belirlenmiştir. Denekler son LPS uygulamasından 6 saat sonra feda edilmiştir. Alınan böbrek dokularında inflamasyon değerlendirmesi için immünohistokimyasal olarak makrofaj infiltrasyonu ve monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) antikoru kullanılmış ve real-time polimeraz zincir tepkimesi (PCR) ile MCP-1 ve interlökin-8 (IL-8) mRNA ifadenmesine bakılmıştır. MCP-1 ve IL-8 proteinlerinin süpernatant içerisindeki ifadenmeleri, enzim-bağımlı immünoabsorbent analiziyle (ELISA)

ölçülmüş ve NF-kB erki elektroforetik mobilite şift analizi (EMSA) ile saptanmıştır. LPS uygulamasından 6 saat sonra olaylanan makrofaj infiltrasyonu esas olarak tübül çevresi medullada izlenmiş ancak kortekste glomerul çevresinde az olduğu belirtilmiştir. 5 mg/kg curcumin' in ön uygulanması ile makrofaj birikiminin önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır. LPS grubuna ait böbrek dokusunda MCP-1 ifadenmesi, uygulamadan 6 saat sonra tübüllerin çevresinde ve 72 saat sonra glomerül çevresinde izlenmiştir. Curcumin uygulanan grupta MCP-1 ifadenmesi önceki gruba karşın önemli düzeyde azalmıştır. MCP-1 mRNA ifadenmesi kontrol grubuna karşın LPS uygulanan grupta önemli düzeyde artmıştır. Ancak curcumin ve LPS' nin bir arada uygulandığı grupta ifadenmenin önemli düzeyde azaldığı belirtilmiştir. Curcumin aynı zamanda HK-2 hücrelerinde MCP-1 ve IL-2 mRNA ifadenmesini tümüyle, MCP-1 ve IL-8 salgılanmasını da kısmi olarak baskılamıştır. Curcumin NF-kB' nin DNA bağlayıcı erkini de durdurmuştur. Sonuç olarak; curcumin' in LPS uyarımlı inflamasyonda NF-kB erki ile MCP-1 mRNA ifadenmesini baskılayarak, MCP-1 ifadenmesi ve makrofaj infiltrasyonunu baskıladığı ve böylece koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir. Böbrek hastalıklarında, oluşacak hasarın önlenmesinde curcumin' in girişimsel bir ajan olarak kullanılabileceği ortaya konulmuştur [140].

Chiu ve arkadaşları, diyabetik nefropatide yapısal lezyon oluşumunu önleyebileceği varsayımından yola çıkarak curcumin' in p300 ve NF-kB üzerinden olası etki yollarını ve bununla ilişkili fibronektin ve ekstra domain içeren fibronektin gibi ECM protein molekülleri, vazoaktif faktörler, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS), ET-1 ve TGF- β 1' nin etkilerini incelemişlerdir. Erişkin erkek sıçanlar kontrol, diyabetik ve curcumin uygulanan (periton içi, 150 mg/kg)+diyabetik olarak gruplandırılmışlardır. Diyabet Streptozotosin' in tek doz damar içi uygulamasıyla gerçekleştirilmiştir. Kan glükoz düzeyleri ve vücut ağırlık ölçümleri düzenli olarak kaydedilen denekler uygulamayı izleyen 4. haftanın sonunda feda edilmiş ve böbrek dokuları alınmıştır. Dokulara gen ifadenme analizi ve immünohistokimyasal yöntemler uygulanmıştır. Diyabetik sıçanların vücut ağırlığında önemli bir azalma ve kan glükoz değerlerinde önemli bir artış saptanmış ve curcumin uygulamasının bu parametrelere etki etmediği belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabetik grubun böbrek dokusunda ENOS, ET1, TGF- β 1 mRNA ifadenmelerinin arttığı izlenmiştir.

Curcumin uygulaması ile ENOS ve TGF- β 1 düzeylerinin korunduğu, ET1 düzeyinin ise oldukça azaldığı saptanmıştır. Diyabetik grubun böbrek dokusunda PAS tepkimesiyle izlenen mezangiyal genişleme, kontrol ve curcumin uygulanan gruplarda izlenmemiştir. Araştırmacılar curcumin' in diyabet uygulanan böbrek dokusundaki anomalileri önleyebileceğini belirtmişlerdir. Yapılan immünohistokimyasal incelemede moleküler analizler ve PAS tepkimesine koşut olarak curcumin' in 8-OHdG ve NT-pozitif hücreleri azaltarak, diyabet uyarımlı oksidatif stresi gerilettiği ortaya konulmuştur. Curcumin+diyabet grubu glomerüllerinde p300 tutulumunun arttığı izlenmiştir. NF-kB P65 translokasyonu immünofloresans mikroskopunda incelendiğinde diyabetik grubun glomerüllerinde çekirdek proteinin arttığı buna karşın diğer gruplarda bu bulgunun izlenmediği görülmüştür. Bu nedenle curcumin' in, diyabetik gruptaki etkisini transkripsiyonel koaktivatör p300 ve transkripsiyonel faktör NF-kB üzerinden gerçekleştirdiği ortaya konulmuştur. Araştırmacılar buradan yola çıkarak diyabetik nefropatinin gelişim ve ilerlemesinde p300 ve NF-kB' nin önemli araçlar olduğu ve vazoaktif faktörler ile ECM proteinleri düzenlediklerini belirtmişlerdir. Sonuç olarak, diyabet kökenli böbrek yaralarında curcumin' in yararlı etkilere sahip olduğu bildirilmiştir [146].

Chen ve arkadaşları, curcumin' in LPS-uyarımı sonucunda TNF-a salınımı ve PMA- uyarımlı süperoksit oluşumunu baskıladığı varsayımından yola çıkarak, lipopolisakkarit (LPS) uyarımlı endotoksemiye ile oluşan böbrek hasarı ve pıhtılaşma bozukluğunda curcumin' in etkisini araştırmışlardır. Bu erekle erkek sıçanlar kontrol, LPS, curcumin + LPS ve curcumin uygulananlar olarak gruplandırılmıştır. 40 mg/ml zeytin yağı içerisinde çözölen 60mg/kg curcumin, LPS uygulamasından 3 saat önce periton içi uygulanmıştır. Curcumin uygulaması öncesi ve LPS infüzyonu sonrası tüm kan ve plazma örnekleri toplanmış ve trombosit hücre sayımı yapılmıştır. Süre sonunda alınan böbrek doku örneklerine histopatolojik inceleme için Hematoksilen-Eozin ve Masson' un üçlü boyamaları uygulanmıştır. Glomerüler fibrin birikim yüzdesi mikroskop altında hesaplanmıştır. LPS uygulanan grup denekleri uygulamayı izleyen 12 – 14 saat içerisinde ölmüşlerdir. Diğer grupların yaşam süresinin, bu gruba karşın 5 gün fazla olduğu izlenmiş ve bu nedenle araştırmacılar curcumin uygulamasının LPS uyarımlı ölümü engellediğini düşünmüşlerdir. Kontrol ve curcumin uygulanan gruplarda deneysel sürecin önce ve sonrasındaki trombosit sayım oranları arasında belirgin fark

izlenmezken, LPS grubunda trombosit sayısında %53 düşüş saptanmıştır. Curcumin+LPS grubunda ise bu oran %10 olarak belirlenmiştir. Kontrol ve curcumin gruplarında fibrinojen miktarının eşdeğer olduğu buna karşın, kontrol ile karşılaştırıldığında LPS grubunda %82 ve curcumin+LPS grubunda ise %45 oranında azaldığı saptanmıştır. Curcumin uygulamasının LPS uyarımı ile oluşan fibrinojeni azalttığı düşünülmüştür. Yapılan patolojik incelemelerde curcumin+LPS grubuna ait glomerüllerde düşük sayıda kırmızı kan hücresi izlenirken, LPS grubunda sayının önemli derecede arttığı izlenmiştir. Glomerüler fibrin birikiminin LPS grubunda %84, curcumin+LPS grubunda ise %6 olduğu belirlenmiştir. Plazmadaki TNF- α düzeylerinin kontrol grubuna karşın LPS grubunda önemli ölçüde yükseldiği, curcumin+LPS grubunda ise gerilediği gösterilmiştir. Sonuç olarak, anti inflamatuvar ve anti oksidatif etkilerinin yanında curcumin' in sepsis üzerindeki etkisinin koagülasyon homeostazını sabitlemesi ve ardından organlarda fibrin birikimini azaltması ile ortaya çıktığı belirlenmiştir. Curcumin içeren yiyecek tüketim sıklığının artması ile enfeksiyon hastalıklarından korunulabileceği kanısına varılmıştır [147].

Farombi ve arkadaşları gentamisin uyarımlı böbrek dokusu oksidatif hasarı üzerine curcumin' in etkisini araştırmışlardır. Bu erekle erkek sıçanlar kontrol, gentamisin (100 mg/kg/gün), curcumin (200 mg/kg/gün), gentamisin+curcumin (gentamisin uygulamasından 14 gün önce 200mg/kg/gün curcumin ve bunu izleyen 7 gün süresince gentamisin) uygulananlar olarak gruplandırılmıştır. Curcumin ağız yoluyla verilmiş ve gentamisin periton içi uygulanmıştır. Deney süresi sonunda böbrek dokuları alınarak tübüler nekroz skorlaması ve Hematoksilen-Eozin boyaması yapılmıştır. Buna ek olarak protein, kreatinin, glukoz ve gama glutamil transferaz ve kan üre nitrojen (BUN) düzeyleri incelenmiştir. Gentamisin uygulamasından sonra serum kreatinin ve BUN düzeylerinin kontrol grubuna karşın önemli ölçüde arttığı, buna karşın curcumin+gentamisin uygulanan grupta bu artışın engellendiği görülmüştür. Yalnızca gentamisin uygulanan grubun böbrek dokusu incelendiğinde, birçok tübülde protein döküntüsü ile birlikte tübüler nekroz izlenmiştir. Gentamisin+curcumin grubunda tübüller arası bağ dokuda orta düzeyli infiltrasyon izlenirken tübüllerin genelde normal yapı sergilediği belirlenmiştir. Sonuç olarak, curcumin' in kan ve böbrek dokusunda gentamisin ile uyarılan MDA ve LOOH oluşumunu azalttığı ve oksidatif hasara karşı koruyucu etki gösterdiği

saptanmıştır. Curcumin ve gentamisin' in ortak uygulaması lipid peroksidasyon hasarında azalma antioksidan düzeylerinin iyileşmesi ve böbrek hasar belirteç düzeylerinin düzenlenmesi ile sonuçlanmıştır. Araştırmacılar gentamisin uyarımlı böbrek hasarı üzerinde curcumin' in önemli tedavi edici etkilerinin olduğunu ve bu hasarı iyileştirmeye yönelik en uygun ajan olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir [148].

Kuwabara ve arkadaşları, intersitisiyel inflamasyon ve obstrüktif nefropatide renal fibrozis gelişiminde curcumin' in koruyucu etkisini ve etki düzeneğinde NF-kB ve AP-1 baskılanmasının işlevini araştırmışlardır. Erişkin erkek sıçanlar tek taraflı üreteri bağlanan, tek taraflı üreteri bağlı+curcumin (200 mg/kg/gün, ağız yoluyla 7 gün), tek taraflı üreteri bağlı+curcumin (800 mg/kg/gün, ağız yoluyla 7 gün), tek taraflı üreteri bağlı+PDTC uygulanan (200 mg/kg/gün pirrolidin ditiokarbamat, operasyondan 1 saat önce ve günlük) ve sham (kontrol) olarak gruplandırılmıştır. NF-kB baskılayıcısı olarak kullanılan PDTC, ağız yolu ile uygulanmıştır. Anestezi altındaki sıçanların sol üreterleri insizyon ile 3 noktadan bağlanmış ve distal bağlar arasından kesilmiştir. Sham grubuna üreter bağı uygulanmamıştır. Tek taraflı üreter tıkanıklığından (UUO) 7 gün sonra korteks katmanındaki çekirdek protein özütleri kullanılarak elektroforetik mobilite şift analizi ile NF-kB ve AP-1 erkleri incelenmiştir. Kemokinler ve profibrotik moleküllerin gen ifadenmeleri RT-PCR ile incelenmiştir. Kortikal intersitisiyumda makrofaj infiltrasyonu ve tip 3 kollajen birikimi immünohistokimyasal yöntemle incelenmiştir. UUO uygulanan kortikal dokuda NF-kB ve DNA bağlanma erkinin arttığı, düşük ve yüksek dozdaki curcumin' in bu artışı azalttığı, PDTC uygulamasının ise curcumin' e karşın şiddetli olarak baskıladığı saptanmıştır. UUO uygulanan kortikal dokuda AP-1 ve DNA bağlanma erkini arttığı, buna karşın curcumin ve PDTC' nin bu artışı azaltamadıkları bulunmuştur. UUO uygulaması ile monosit-makrofaj infiltrasyonunun arttığı ve bu artışın hasar gören tübüllerin çevresinde yoğun olduğu izlenmiştir. Curcumin ve PDTC' nin monosit-makrofaj infiltrasyonunu azalttığı izlense de, PDTC' nin daha büyük ölçekte bloke ettiği belirlenmiştir. UUO grubu böbrek dokusunda tip 3 kollajen pozitif bölgelerin yüzdesi, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde artmıştır. Obstrükte edilmiş böbrek dokusuna ait intersitisiyel boşlukta tip 3 kollajen ifadenmesinin yoğun olduğu buna karşın, curcumin ve PDTC gruplarında tip 3 kollajen pozitif alanların önemli ölçüde

azaldığı gözlemlenmiştir. Çalışmanın sonucunda, UUU' dan sonra yapılan curcumin uygulamasının renal kortikal NF-kB aktivasyonu ve makrofaj infiltrasyonunu iyileştirdiği belirlenmiştir. Curcumin' in AP-1 aktivasyonu üzerinde etkisi olmadığı, tip 3 kollajen gen ve protein ifadenmesini baskıladığı bulgulanmıştır. Araştırmacılar üreteral tıkanma ile oluşan böbrek intersitisiyal inflamasyon ve fibroziste curcumin' in koruyucu etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir [149].

Tirkey ve arkadaşları, siklosporinin kronik uygulaması sonucunda oluşan akut böbrek yetmezliği ve bununla ilişkili oksidatif stres üzerinde curcumin' in koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Bu erekle sıçanlar zeytinyağı+% 0,5 CMC, siklosporin (20 mg/kg/gün, pozitif kontrol), siklosporin+5 mg/kg curcumin, siklosporin+10 mg/kg curcumin, siklosporin+15 mg/kg curcumin ve 15 mg/kg/gün curcumin uygulananlar olarak gruplandırılmıştır. Zeytinyağı siklosporin çözücüsü ve CMC ise curcumin çözücüsü olarak kullanılmıştır. Zeytinyağı ve siklosporin deri altı enjeksiyon, curcumin ise ağız yoluyla uygulanmış ve tüm uygulamalar 21 gün sürmüştür. Son uygulamadan 24 saat sonra feda edilen deneklerin böbrek dokuları alınmıştır. Doku homojenatlarında oksidatif stresin belirlenmesi ereğiyle TBARS, GSH, SOD ve CAT düzeyleri ölçülmüştür. Doku örnekleri histopatolojik yöntemlerle incelenmiştir. Siklosporin uygulamasında serum kreatinin ve kan üre nitrojeninin (BUN), kontrollere karşı önemli ölçüde arttırdığı buna karşı kronik curcumin uygulamasının bu artışları doz bağımlı olarak önemli ölçüde engellediği belirlenmiştir. Siklosporin ile serum ve doku nitrit düzeylerinin önemli ölçüde artmasına karşı curcumin' in bu artışları ilerlettiği ancak 15 mg/kg dozunun etkili olmadığı saptanmıştır. Siklosporin uyarımlı lipid peroksidasyonu değerlendirildiğinde TBARS düzeylerinin önemli ölçüde arttığı, curcumin uygulamasının bu artışı düşürdüğü belirtilmiştir. Siklosporinin GSH, SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerini baskıladığı buna karşı curcumin' in bu düşüşü geriletteği belirlenmiştir. Kontrol grubunda glomerül, afferent arteriyol ve tübüler hücre yapıları normal izlenirken, siklosporin uygulanan grubun korteks ve dış medulla katmanlarında belirgin intersitisiyal fibrozis, hiyalin döküntüler ve glomerüler bazal membran kalınlaşması gibi dejeneratif histolojik değişimler saptanmıştır. Curcumin uygulaması ile dokunun normal görünümüne döndüğü buna karşı tübüler hücrelerde az miktarda ödemin sürdüğü saptanmıştır. Sonuç olarak, antioksidan

ve iyileştirici hemodinamik etkileri kanıtlanan curcumin' in siklosporin ile oluşan böbrek toksisitesinde koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir [150].

Antunes ve arkadaşları, böbrek dokusunda sisplatin uyarımının lipid peroksidasyonunu arttığından yola çıkarak, sisplatin uyarımlı nefrotoksisite ve lipid peroksidasyonu üzerine curcumin ve selenyum' un etkilerini araştırmışlardır. Erişkin sıçanlar kontrol, curcumin (8 mg/kg), selenyum (1 mg/kg),sisplatin (5 mg/kg), curcumin+sisplatin ve selenyum+sisplatin uygulananlar olarak gruplandırılmıştır. Tüm antioksidan uygulamaları iki doz olarak sisplatinin periton içi ilk doz enjeksiyonundan 24 saat, ikincisinden 10 dakika önce ağız yoluyla yapılmıştır. Sisplatin uygulamasını izleyen 3. günde denekler feda edilmiş ve böbrek dokuları alınarak çeşitli biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Sisplatin uygulaması ile vücut ağırlığının azaldığı ve üriner oylumun arttığı saptanmıştır. Aynı grupta glitasyon düzeyinin azaldığı buna karşın lipid peroksidasyonu ve serum kreatinin düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. Curcumin ve selenyumun tek başına uygulandığı gruplarda lipid peroksidasyonunda artış belirlenmemiştir. Curcumin+sisplatin ve selenyum+sisplatin gruplarında sisplatinin 3 günlük uygulanması sonucunda oluşan böbrek hasarının, kullanılan antioksidan maddelere karşın önemli ölçüde gerilemediği bulunmuştur. Araştırmacılar, doğal antioksidanlar olan selenyum ve curcumin' in, sisplatin uyarımlı nefrotoksisite ile lipid peroksidasyonu üzerinde önemli düzeyde koruyucu etki oluşturmadıklarını belirtmişlerdir. Curcumin' in tek başına ve selenyum' un ise selenometiyanin ve selenosistin gibi formları ile yapılacak ileri çalışmalara gereksinim olduğunu bildirmişlerdir [171].

Kapturczak ve arkadaşları, insan böbrek proksimal tübül hücrelerinde heme oksijenaz-1 (HO-1) gen uyarımı üzerine curcumin' in etkisini ve bu etki yolağında yer alabilecek N-asetilsistein (NAC), deferoksamin (DFO), tirozin kinaz baskılayıcıları, aktinomisin D, sikloheksimid ve HO-1' in curcumince uyarımı sırasında NF-kB yolağı baskılayıcısının etkilerini araştırmışlardır. Bu erekle HK-2 hücre hattı 1, 2, 4 ve 8 μ M curcumin' e etkin bırakılarak HO-1 gen uyarımı sağlanmış ve hücrelere Northern ve Immunblot analizleri uygulanmıştır. Curcumin uygulamasının HO-1 mRNA ve protein ifadenmesini doz ve süre artışına koşut olarak uyardığı ve bu süreçte RNA sentezinde gerekli olduğu saptanmıştır. Yine

curcumin etkisi ile HK-2 hücrelerinde uyarılan ferritin protein ifadenmesinin de HO-1 uyarımı için önemli olduğu belirtilmiştir. Curcumin ve aktinomisin D' nin birlikte inkübasyonu sonucunda, HO-1 mRNA ifadenmesi bloke edilmiştir. IkBa fosforilasyon baskılayıcısınınca NF-kB durdurulmuş ve HO-1 mRNA ifadenmesinin arttığı belirlenmiştir. Araştırmacılar curcumin' in HO-1 mRNA, protein ve ferritin protein ifadenmesini uyardığını ve bu uyarıcı etkiye aracılık eden düzenekte NF-kB yolağının yer aldığını bildirmişlerdir. Curcumin aracılı HO-1 gen ifadenmesi artışının ileri çalışmalarda böbrek hasar modellerinde çalışılması gerektiği ortaya konulmuştur [172].

Venkatesan ve arkadaşları, adriamisin' in (ADR) oluşturduğu nefrotoksisite üzerinde curcuminin koruyucu erkini araştırmışlardır. Bu erekle erişkin erkek sıçanlar kontrol, curcumin (200 mg/kg), adriamisin (7.5 mg/kg/gün) ve curcumin+adriamisin uygulananlar olarak gruplandırılmıştır. Curcumin uygulaması ağız yoluyla ve adriamisin uygulaması tek doz damar içi enjeksiyon ile yapılmıştır. Curcumin+adriamisin grubuna yapılan curcumin uygulaması, ADR uygulamasından 7 gün önce başlamış ve deney süresince devam etmiştir. Deneklerin vücut ağırlığı, besin alımları ve üre oylumları günlük olarak kaydedilmiştir. 30 günlük sürenin sonunda kan ve idrar örnekleri alınmıştır. In vitro lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi ereğiyle ayrı bir deney dzeneği oluşturulmuş ve çıkarılan böbrek dokularından mikrozom ve mitokondriyon organelleri izole edilmiştir. ADR-uyarımli böbrek hasarında curcumin uygulaması ile proteinüri, albüminüri, hipoalbüminemi ve hiperlipidemiye karşın korunma sağlandığı belirlenmiştir. Curcumin, böbrek tübüler hasar belirteci olan N-asetil-β-D-glikozaminidaz, fibronektin, glikozaminoglikan ve kolesterolün idrarla atılımında oluşan artışı baskılamıştır. Bununla birlikte, glomerüler süzölme hızındaki artışı sağlayarak, oksidatif stresi baskılayarak, glutatyon içeriğini ve glutatyon peroksidaz erkini arttırarak böbrek işlevini iyileştirdiği belirlenmiştir. Araştırmacılar ADR kökenli nefrozise tedavisel yaklaşımda curcumin uygulamasının yeni bir bakış açısı oluşturacağını vurgulamışlardır [173].

Garg ve arkadaşları, deneysel düzeneklerde kimyasal uygulamalarında hasar etkisinin başlatılması ve düzenlenmesi üzerinde baskılayıcı etkisi bilinen curcumin' in, benzo(a)piren uygulamasında transkripsiyonel düzenleyicilerden olan faz I ve

faz II enzim düzenlenmesi üzerindeki etki yolağını araştırmışlardır. Erişkin erkek farelere mısır yağında çözülmüş BAP 1 mg dozunda ağız yoluyla verilmiş ve uygulamadan 24 saat sonra karaciğer ve akciğer dokuları çıkarılmıştır. Curcumin ise % 0,01 ve % 0,05 dozlarında diyetsetel olarak uygulanmıştır. Elde edilen dokularda faz I ve II enzim erki, protein analizi, RT-PCR, elektroforetik mobilite şift analizi, immünopresipitasyon ve ligand bağlanma analizleri gerçekleştirilmiştir. Curcumin' in kemopreventif dozlarda diyetsetel ön uygulamasının karaciğer ve akciğer dokularında, benzo(a)piren uyarımlı enzim erki, sitokrom P450 1A1/1A2 protein ve mRNA düzeylerini baskıladığı saptanmıştır. Curcumin uygulamasının tek başına aril hidrokarbon reseptörünün (AhR) bazal düzeylerini değıştirmedeğı buna karşın, BAP uyarımlı AhR protein düzeylerini; bunun fosforilasyonu, nüklear translokasyonu ve DNA' ya bağlanmasını önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir. Buna bağılı olarak, CY-P1A transaktivasyonunu da azalttığı belirlenmiştir. Besinsel curcumin' in NF-E2-ilışkili faktör-2 (Nrf2) protein düzeylerini artırdığı ve kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında karaciğer ve akciğer dokularındaki nüklear translokasyonunu arttırdığı bulunmuştur. Karaciğer ve akciğer dokularının nüklear özütlerinde Nrf2' nin antioksidan yanıtlı elemanlara bağlanmasının besinsel curcumin ön uygulaması ile arttığı belirlenmiştir. Curcumin aracılı Nrf2 aktivasyonuna koşut glutatyon S-transferaz erk, protein ve mRNA düzeylerinin de uyarılarak, BAP detoksifikasyonunun artırıldığı gözlemlenmiştir. Araştırmacılar BAP uyarımlı faz I ve faz II enzim uyarımının curcumin uygulaması ile azalması sonucunda, BAP uyarımlı DNA parçacık oluşumu, oksidatif hasar ve inflamasyonun önemli düzeyde azaldığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak, curcumin uygulamasının transkripsiyonel düzenleyicilerden faz I ve II enzimlerini değıştirerek, hasar başlangıcı etkinin ortadan kaldırılmasına aracılık ettiğı bildirilmiştir [174].

Singh ve arkadaşları, benzo(a)piren uyarımlı mide kanserinde besinsel olarak tüketilen curcumin' in baskılayıcı düzeneğini araştırmışlardır. Bu erekle erişkin dişı sıçanlara % 2 oranında 14 gün süresince besinsel curcumin uygulanmıştır. BAP' ın karsinojenik metabolitine dönüşümünde önemli işleve sahip sitokrom P450 1A1 (CYP1A1) izoformunun düzeyleri incelenmiştir. Besinler olarak % 2 oranında uygulanan curcumin' in BAP-uyarımlı tümör oluşumunu baskıladığı saptanmıştır. CYP1A1 düzeylerinin belirteci olan EROD erki üzerinde curcumin' in orta düzeyli

azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Curcumin uygulamasının hepatik epoksit hidrolaz (EH) ve GST aktivitelerinde artışa neden olduğu saptanırken bu erklerin midedeki düzeyinde herhangi bir değişim olmadığı gözlemlenmiştir. Curcumin uygulanması sürecinde arttığı bilinen birçok hepatik GST izoenzimlerinden biri olan mGSTP1-1' in yüksek düzeyde uyarıldığı ve aktif BAP şekli olan anti-BaPDE' nin detoksifikasyonunda etkili olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, curcumin' in farede BAP uyarımlı mide tümör oluşumunu baskılayabileceğini ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak; curcumin' in bu süreçte yer alan tüm aktivasyon yolları ve karaciğerde BAP metabolizmasını inaktive edici yollar üzerinde etki gösterdiği bildirilmiştir [175].

Görüldüğü gibi birçok çalışmada, BAP' a ek olarak farklı zararlı maddelerin kullanılması yolağı ile böbrek dokusu üzerinde hasar/nefrotoksisite oluşturulması amaçlanmış ve bu etkilerin curcumin ile tedavi edilmesi ya da önlenmesi yoluna gidilmiştir. Yapılan çalışmaların çoğunda fizyolojik ve biyokimyasal parametreler, gerek kan gerekse böbrek dokusunda çalışılarak curcumin' in koruyucu etkileri gösterilmiştir. Ağız yolu ile BAP uygulanmasının, damar ya da periton içi uygulamalara karşın daha az nefrotoksisiteye neden olduğu bu çalışmalarda söylenmektedir. Bizim çalışmamızda da BAP ağız yoluyla uygulanmış ve tedavi edici dozda ağız yoluyla uygulanan curcumin' in, BAP' ın neden olduğu nefrotoksisiteyi önemli ölçüde geri döndürdüğü TEM ve SEM ile gösterilmiştir. Tartışmada kullanılan tüm makalelerin istatistiksel bulguları ile eşdeğer olarak bizim çalışmamızda da BAP' ın neden olduğu dejeneratif etkiler gruplar arası karşılaştırıldığında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuştur.

6. SONUÇ

Organik maddelerin yanması sırasında ve endüstriyel işlemler sürecinde ortaya çıkan toksik çevresel kirleticiler sınıfında yer alan ve bununla birlikte organizmada teratojenik, mutajenik ya da karsinojenik etkileri olduğu bilinen BAP uygulamasına ait taramalı ve geçirgen elektron mikroskop verilerinden yola çıkarak, bu uygulamanın böbrek glomerül ve genelde proksimal tübüllerini yapısal düzeyde etkilediği belirgin olarak ayırt edildi. Glomerüllerde etkilerinin genelde bazal membran, podosit hücre sitoplazması ile uzantıları, çekirdeği ve mezengiyal hücre yapısında olduğunu ortaya koyuyordu. Hatta özellikle mezengiyal hücrelerde bu uyarıma koşut apoptotik cisim ve hücrelerin görünmesi dikkat çekiciydi. Podosit uzantılarının tümüyle yitmesi, yer yer düzensiz şekil alması ve birleşik bazal laminalardaki anomaliler bu ajanın nefrotoksik olduğunu ortaya koymaktadır. Tüm bu veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı ($p<0.05$) bulundu. Ancak BAP ve curcumin çözücülerinde yapının normal olduğu, bu çözücülerin zararlı madde içermediğinin de göstergesi olduğunu düşündürdü. BAP' ın nefrotoksik etkisine karşın curcumin' in etkili bir koruyucu ajan olduğu kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Luch, A. (2005). *The Carcinogenic Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (First edition). USA: Imperial College Press, 21-50.
2. Public Health Service. (1995). Toxicology Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 1-9.
3. Knuckles, M. E., Inyang, F., Ramesh, A. (2001, March). Acute and subchronic oral toxicities of benzo[a]pyrene in F-344 rats. *Toxicological Sciences*, 382-83.
4. Kim, K. B., Lee, B. M. (1997, February). Oxidative stress to DNA, protein and antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) in rats treated with benzo(a)pyrene. *Cancer Letters*, 205-12.
5. Marchand, M. L., Hankin, J. H., Pierce, L. M., Sinha, R., ve Nerurkar, P. V. (2002). Well-done red meat, metabolic phenotypes and colorectal cancer in Hawaii. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 506, 205-14.
6. Lee, C. M., Chen, S. Y., Lee, Y. C. G., Huang, C. Y. F., Chen, Y. M. A. (2006). Benzo[a]pyrene and glycine N-methyltransferase interactions: Gene expression profiles of the liver detoxification pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 214(2), 126-35.
7. Kim, H. S., Kwack, S. J., Lee, B. M. (2000). Lipid peroxidation, antioxidant enzymes and Benzo[a]pyrene quiones in the blood of rats treated with Benzo[a]pyrene. *Chemico-Biological Interactions*, 127(2), 139-50.
8. Raisa, S. (2003). *Mechanism Of benzo(a)pyrene-induced accumulation of P53 tumour suppressor protein in mouse* (Doctoral dissertation, Oulu University, 2003). Dissertation Abstracts International, 731.
9. Rubin, H. (2001). Synergistic mechanism in carcinogenesis by polycyclic aromatic hydrocarbons and by tobacco smoke: a bio-historical perspective with updates. *Carcinogenesis*, 22(12), 1903-30.
10. Ramet, M., Castren, K., Jarvinen, K., Pekkala, K., Turpeenniemi, T., ve Soini, Y. (1995). p53 protein expression is correlated with benzo(a)pyrene-DNA adducts in carcinoma cell lines. *Carcinogenesis*, 16(9), 2117-24.
11. Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U., Banerjee, R. (2004). Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Current science*, 87(1), 44-53.
12. Anand, P., Kunnumakkara, A., Newman, R. A., Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: Problems and promises. *Molecular pharmaceutics*, 4(6), 807-18

13. Araújo, C. C., Leon, L. L. (2001). Biological activities of *Curcuma longa*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 96(5), 723-8.
14. Maheshwari, R. K., Singh, A.K., Gaddipati, J., Srimal, R. C. (2006, March). Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sciences*, 2081-7.
15. Sadler, T. W (2011). *Langman' s Medikal Embriyoloji*. (Çev. A. C. Başaklar). Ankara: Palme Yayınevi. 235-45.
16. Moore, L. K., Persaud, T. V. N. (2002). *Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi*. (Çev. M. Yıldırı, İ. Okar, H. Dalçık). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. 243-56.
17. Schoenwolf, G. C., Bleyl, S. B., Brauer, P. R., Francis-West, P. H. (2008). *Larsen's Human Embryology* (Fourth Edition). England: Churchill Livingstone. 261-301.
18. Arıncı, K., Elhan, A. (2001). *Anatomi* (Birinci Baskı). Ankara: Güneş Kitapevi.
19. Sancak, B., Cumhur, M. (2012). *Fonksiyonel Anatomi: Baş, boyun ve iç organlar* (Üçüncü Baskı), Ankara: Güneş Kitapevi. 261-65.
20. Moore, L. K., Dalley, F.A. (2007). *Kliniğe Yönelik Anatomi*. (Çev. K. Şahinoğlu). İstanbul: Nobel Kitapevleri. 279-88.
21. Snell, S. R. (2004). *Klinik Anatomi*. (Çev. M. Yıldırım). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi. 51-7.
22. Aktümsek, A. (2006). *Anatomi ve Fizyoloji İnsan Biyolojisi* (Üçüncü Baskı). Ankara: Nobel Kitapevleri. 345-70.
23. Drake, L. R., Vogl, W., Mitchell, M. W. A. (2011). *Gray's Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Anatomi*. (Çev. M. Yıldırım). Ankara: Güneş Kitapevi.
24. Erdoğan, D., Görgün, M., Hatipoğlu, T., Ilgaz, C. (2007). *Özel Histoloji* (İkinci Baskı). Ankara: Hatipoğlu Yayınevi. 105-17.
25. Junqueira, L. C., Carneiro, J. (2009). *Temel Histoloji: Text ve Atlas*. (Çev. S. Solakoğlu, Y. Aytekin). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi. 332-42.
26. Abraham, L., Kierszenbaum, M. D. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi: Patolojiye Giriş*. (Çev. R. Demir). Ankara: Palme Yayıncılık. 365-90.
27. Abraham, L., Kierszenbaum, M. D. (2011). *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology* (Third Edition). USA: Elsevier/Mosby. 415-40.
28. Ross, M. H., Pawlina, W. (2011). *Histology a Text and Atlas, with Correlated Cell and Molecular Biology* (Sixth Edition). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 699-721.

29. Ovalle, W. K., Nahirney, P. C. (2009) *Netter Temel Histoloji*. (Çev. S. Müftüoğlu, F. Kaymaz, P. Atilla). Ankara: Güneş Kitabevi. 353-72.
30. Gartner, L. P., Hiatt, J. L. (2001). *Color Textbook of Histology* (Third Edition). USA: WB Saunders. 435-60.
31. Noyan, A. (2008). *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji* (Onyedinci Baskı). Ankara: Palme Yayınevi. 591-654.
32. Guyton, A. C., Hall, J. E. (2003) *Tıbbi Fizyoloji*. (Çev. Z. Solakoğlu). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 367-81.
33. Ganong, W.F. (2002). *Tıbbi Fizyoloji*. (Çev. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri. 671-711.
34. Tanagho, E. A. McAninch J. W. (2004). *Smith Genel Üroloji*. (Çev. G. Kazancı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 1-570.
35. Siegmann, K., Sattler, K. (2000). Formation mechanism for polycyclic aromatic hydrocarbons in methane flames. *Journal of Chemical Physics*, 112(2), 698-709.
36. Hylland, K. (2006). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) ecotoxicology in marine ecosystems. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 69(1-2), 109-23.
37. Kanaly, R. A, Harayama, S. (2000). Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *Journal of Bacteriology*, 182:8, 2059-67.
38. Page, D. S., Boehm, P. D., Douglas, G. S., Bence, A. E., Burns, W. A., ve Mankiewicz, P. J. (1997). An estimate of annual input of natural petroleum hydrocarbon to seafloor sediments in Prince William Sound, Alaska. *Marine Pollution Bulletin*, 34(9), 744-49.
39. Neff, J. M., (1980). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 65(6), 898.
40. Cioroiu, M. E., Tarcau, D., Man, S. C., Cioroiu, B. I., Chisalita, R. I. (2011). Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on some clinical parameters in case of patients with lung cancer and associated diagnostics. *Romanian Review of Laboratory Medicine*, 19(1), 55-64.
41. Park, S. S., Kim, Y. J., Kang, C. H. (2002, June). Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in Seoul, Korea. *Atmospheric Environment*, 2917–24.
42. İnternet: Toxicology Review of Benzo[a]pyrene (2013, August). Web: http://cfpub.epa.gov/ncea/iris_drafts/recorddisplay.cfm?deid=66193 adresinden 22 Mart 2014’ de alınmıştır.

43. Schaffer, M., Roy, S. S., Mukherjee, S., Das, S. K. (2013) Vitamin A, vitamin E, lutein and β -carotene in lung tissues from subjects with chronic obstructive pulmonary disease and emphysema. *Journal of respiratory diseases*, 3, 44-51.
44. Asha, S., Girija, D. (2011). Benzo[a]pyrene induced liver and kidney cancer in Swiss albino mice. *Research in Pharmacy*, 1(4), 22-27.
45. Kızıl, M., Çay, M. (2010). Benzo(A) piren uygulanan ratlarda E vitamin ve Selenyumun kan ve dokularda lipit peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzimler üzerine koruyucu etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 24(2), 81-85.
46. Rudo, K. M., Dauterman, W. C., Langerbach, R. (1989). Human and rat kidney cell metabolism of 2-acetylaminofluorene and benzo(a)pyrene. *Cancer research*, 49(5), 1187-92.
47. Joe, B., Vijaykumar, M., Lokesh, B. R. (2004). Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(2), 97-111.
48. Jager, R., Lowary, R. P., Calvanese, A. V., Joy, J. M., Purpura, M., and Wilson, J. M. (2014). Comparative absorption of curcumin formulations. *Nutrition Journal*, 13(1), 1-8.
49. Duvoix, A., Blasius, R., Delhalle, S., Schnekenburger, M., Morceau, F., Henry, E., and Dicato, M. (2005). Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer letters*, 223, 181-90.
50. Aggarwal, B. B., Kumar, A., Aggarwal, M.S., Shishodia, S. (2007). Curcumin Derived from Turmeric: a Spice for All Seasons. The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease, 349-78.
51. Priyadarsini, K. I., Maity, D.K., Naik, G.H., Kumar, M. S., ve Unnikrishnan, M. K. (2003). Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(5), 475-84.
52. Roughley, P. J., Whiting, D. A. (1973). Experiments in the biosynthesis of curcumin. *Journal of Chemical Society*, 20, 2379-88.
53. Jacob, A., Wu, R., Zhou, M., Wang, P. (2007). Mechanism of the anti-inflammatory effect of curcumin: PPAR-gamma activation. *PPAR Research*, 1-5
54. Sharma, R. A., Gescher, A. J., Steward, W.P. (2005). Curcumin: the story so far. *European Journal of Cancer*, 41(13), 1955-68.
55. Scharstuhl, A., Mutsaers, H. A, Pennings, S. W., Szarek, W. A., Russel, F. G, Wagener, F. A. (2009). Curcumin-induced fibroblast apoptosis and in vitro wound contraction are regulated by antioxidants and heme oxygenase:

- Implications for scar formation. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 4, 712-25.
56. Priyadarsini, K. I. (1997). Free radical reactions of curcumin in membrane models. *Free Radical Biology and Medicine*, 23, 838-43.
 57. Shishodia, S., Singh, T., Chaturvedi, M. M. (2007). Modulation of transcription factors by curcumin. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 595, 127-48.
 58. Jagetia, G. C. (2007). Radioprotection and radiosensitization by curcumin. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 595, 301-20.
 59. Aggarwal, B. B., Kumar, A., Bharti, A. C. (2003). Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Research*, 23(1A), 363-98.
 60. Ruby, A. J., Kuttan, G., Babu, K. D., Rajasekharan, K. N., Kuttan, R. (1995). Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoids. *Cancer Letters*, 94(1), 79–83.
 61. Sugiyama, Y., Kawakishi, S., Osawa, T. (1996). Involvement of the -diketone moiety in the antioxidative mechanism of tetrahydrocurcumin. *Biochemical Pharmacology*, 52(4), 519–25.
 62. Wahlstrom, B., Blennow, G. (1978). A study on the fate of curcumin in the rat. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 43(2), 86–92.
 63. Garcea, G., Jones, D. J., Singh, R., Dennison, A. R., Farmer, P. B., Sharma, R. A., Steward, W. P., Gescher, A. J., Berry, D. P. (2004). Detection of curcumin and its metabolites in hepatic tissue and portal blood of patients following oral administration. *British Journal of Cancer*, 90(5), 1011–5.
 64. Hoehle, S. I., Pfeiffer, E., Solyom, A. M., Metzler, M. (2006). Metabolism of curcuminoids in tissue slices and subcellular fractions from rat liver. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(3), 756–64.
 65. Pfeiffer, E., Hoehle, S. I., Walch, S. G., Riess, A., Solyom, A. M., Metzler, M. (2007). Curcuminoids form reactive glucuronides in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(2), 538–44.
 66. Kim, J. M., Araki, S., Kim, D. J., Park, C. B., Takasuka, N., ve Baba-Toriyama, H. (1998). Chemopreventive effects of carotenoids and curcumins on mouse colon carcinogenesis after 1,2-dimethylhydrazine initiation. *Carcinogenesis*, 19(1), 81–5.
 67. Okada, K., Wangpoengtrakul, C., Tanaka, T., Toyokuni, S., Uchida, K., Osawa, T. (2001). Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stress-induced renal injury in mice. *Journal of Nutrition*, 131(8), 2090–5.

68. Naito, M., Wu, X., Nomura, H., Kodama, M., Kato, Y., Osawa, T. (2002). The protective effects of tetrahydrocurcumin on oxidative stress in cholesterol-fed rabbits. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 9(5), 243–50.
69. Murugan, P., Pari, L. (2006). Effect of tetrahydrocurcumin on plasma antioxidants in streptozotocin nicotinamide experimental diabetes. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 17(4), 231–44.
70. Ravindranath, V., Chandrasekhara, N. (1981). Metabolism of curcumin studies with [³H] curcumin. *Toxicology*, 22(4), 337–44.
71. Jagetia, G. C., Aggarwal, B. B. (2007). "Spicing up" of the immune system by curcumin. *Journal of Clinical Immunology*, 27(1), 19-35.
72. Farombi, E. O., Abarikwu, S. O., Adedara, I. A., Oyeyemi, M. O. (2007). Curcumin and kolaviron ameliorate di-n-butylphthalate-induced testicular damage in rats. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 100(1), 43-8.
73. Das, K. C., Das, C. K. Curcumin (diferuloylmethane), a singlet oxygen ((1)O(2)) quencher. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 295(1), 62-6.
74. Reddy, R. C., Vatsala, P. G., Keshamouni, V. G., Padmanaban, G., Rangarajan, P. N. (2005). Curcumin for malaria therapy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 326(2), 472-4.
75. Shoba, G, Joy, D, Joseph, T, Majeed, M, Rajendran, R, Srinivas, P. S. (1998). Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Medica*, 64(4), 353–6.
76. Thompson, K. H., Bohmerle, K., Polishchuk, E., Martins, C., Toleikis, P., ve Tse, J. (2004). Complementary inhibition of synoviocyte, smooth muscle cell or mouse lymphoma cell proliferation by a vanadyl curcumin complex compared to curcumin alone. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 98(12), 2063–70.
77. Sui, Z., Salto, R., Li, J., Craik, C., Montellano, P. R. (1993). Inhibition of the HIV-1 and HIV-2 proteases by curcumin and curcumin boron complexes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 1(6), 415–22.
78. Eybl, V., Kotyzova, D., Leseticky, L., Bludovska, M., Koutensky, J. (2006). The influence of curcumin and manganese complex of curcumin on cadmium-induced oxidative damage and trace elements status in tissues of mice. *Jornal of Applied Toxicology*, 26(3), 207–12.
79. Vajragupta, O., Boonchoong, P., Watanabe, H., Tohda, M., Kummasud, N., Sumanont, Y. (2003). Manganese complexes of curcumin and its derivatives: evaluation for the radical scavenging ability and neuroprotective activity. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(12), 1632–44.

80. Steward, W. P., Gescher, A. J. (2008). Curcumin in cancer management: recent results of analogue design and clinical studies and desirable future research. *Molecular Nutrition and Food Research*, 52(9), 1005-9.
81. Mohandas, K. M., Desai, D. C. (1999). Epidemiology of digestive tract cancers in India. V. Large and small bowel. *Indian Journal of Gastroenterology*, 18(3), 118–121.
82. Singh, S. V., Hu, X., Srivastava, S. K., Singh, M., Xia, H., Orchard, J. L., Zaren, H. A. (1998). Mechanism of inhibition of benzo[a]pyrene-induced forestomach cancer in mice by dietary curcumin. *Carcinogenesis*, 19(8), 1357–60.
83. Deshpande, S. S., Ingle, A. D., Maru, G. B. (1997). Inhibitory effects of curcumin free aqueous turmeric extract on benzo[a]pyrene-induced forestomach papillomas in mice. *Cancer Letters*, 118(1), 79–85.
84. Azuine, M. A., Bhide, S. V. (1992). Chemopreventive effect of turmeric against stomach and skin tumors induced by chemical carcinogens in Swiss mice. *Nutrition and Cancer*, 17(1), 77–83.
85. Huang, M. T., Lou, Y. R., Ma, W., Newmark, H. L., Reuhl, K. R., Conney, A. H. (1994). Inhibitory effects of dietary curcumin on forestomach, duodenal, and colon carcinogenesis in mice. *Cancer Research*, 54(22), 5841–47.
86. Ruby, A. J., Kuttan, G., Babu, K. D., Rajasekharan, K. N., Kuttan, R. (1995). Antitumour and antioxidant activity of natural curcuminoids. *Cancer Letters*, 94(1), 79–83.
87. Simon, A., Allais, D. P., Duroux, J. L., Basly, J. P., Durand-Fontanier, S., Delage, C. (1998). Inhibitory effect of curcuminoids on MCF-7 cell proliferation and structure-activity relationships. *Cancer Letters*, 129(1), 111–16.
88. Kawamori, T., Lubet, R., Steele, V. E., Kelloff, G. J., Kaskey, R. B., ve Rao, C. V. Chemopreventive effect of curcumin, a naturally occurring anti-inflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer. *Cancer Research*, 59(3), 597–601.
89. Inano, H., Onoda, M., Inafuku, N., Kubota, M., Kamada, Y., Osawa, T. (2000). Potent preventive action of curcumin on radiation-induced initiation of mammary tumorigenesis in rats. *Carcinogenesis*, 21, 1835-41.
90. López-Lázaro, M. (2008). Anticancer and carcinogenic properties of curcumin: considerations for its clinical development as a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent. *Molecular Nutrition and Food Research*, 52(1):103-27.
91. Chan, M. M. (1995). Inhibition of tumor necrosis factor by curcumin, a phytochemical. *Biochemical Pharmacology*, 49(11), 1551–56.

92. Surh, Y., Han, S. S., Keum, Y. S., Seo, H. J., Lee, S. S. (2000). Inhibitory effects of curcumin and capsaicin on phorbol ester-induced activation of eukaryotic transcription factors, NF-kappaB and AP-1. *Biofactors*, 12(1–4), 107–112.
93. Park, S., Lee, D. K., Yang, C. H. (1998). Inhibition of fos–jun–DNA complex formation by dihydroguaiaretic acid and in vitro cytotoxic effects on cancer cells. *Cancer Letters*, 127(1–2), 23–8.
94. Leu, T. H., Maa, M. C. (2002). The molecular mechanisms for the antitumorigenic effect of curcumin. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 2(3), 357–70.
95. Shukla, Y., Arora, A., Taneja, P. (2002). Antimutagenic potential of curcumin on chromosomal aberrations in Wistar rats. *Mutation Research*, 515(1–2), 197–202.
96. Dorai, T., Cao, Y. C., Dorai, B., Buttyan, R., Katz, A. E. (2001). Therapeutic potential of curcumin in human prostate cancer. III. Curcumin inhibits proliferation, induces apoptosis, and inhibits angiogenesis of LNCaP prostate cancer cells in vivo. *Prostate*, 47(4), 293–303.
97. Choudhuri, T., Pal, S., Agwarwal, M. L., Das, T., Sa, G. (2002). Curcumin induces apoptosis in human breast cancer cells through p53-dependent Bax induction. *FEBS Letters*, 512(1–3), 334–40.
98. Zhang, F., Altorki, N. K., Mestre, J. R., Subbaramaiah, K., Dannenberg, A. J. (1999). Curcumin inhibits cyclooxygenase-2 transcription in bile acid- and phorbol ester-treated human gastrointestinal epithelial cells. *Carcinogenesis*, 20(3), 445–51.
99. Hong, J., Bose, M., Ju, J., Ryu, J. H., Chen, X., Sang, S., Lee, M. J., Yang, C. S. (2004). Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related beta-diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A(2), cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Carcinogenesis*, 25(9), 1671–79.
100. Shankar, T. N., Shantha, N. V., Ramesh, H. P., Murthy, I. A., Murthy, V. S. (1980). Toxicity studies on turmeric (*Curcuma longa*): acute toxicity studies in rats, guineapigs & monkeys. *Indian Journal of Experimental Biology*, 18(1), 73–5.
101. Thaloor, D., Singh, A. K., Sidhu, G. S., Prasad, P. V., Kleinman, H. K., Maheshwari, R. K. (1998). Inhibition of angiogenic differentiation of human umbilical vein endothelial cells by curcumin. *Cell Growth and Differentiation*, 9(4), 305–12.
102. Arbiser, J. L., Klauber, N., Rohan, R., Van Leeuwen, R., Huang, M. T., ve Fisher, C. (1998). Curcumin is an in vivo inhibitor of angiogenesis. *Molecular Medicine*, 4(6), 376–83.
103. Shim, J. S., Kim, D. H., Jung, H. J., Kim, J. H., Lim, D., ve Lee, S. K. (2002). Hydrazinocurcumin, a novel synthetic curcumin derivative, is a potent

- inhibitor of endothelial cell proliferation. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 10(9), 2987–92.
104. Hahm, E. R., Gho, Y. S., Park, S., Park, C., Kim, K. W., Yang, C. H. (2004). Synthetic curcumin analogs inhibit activator protein-1 transcription and tumor-induced angiogenesis. *Biochemical Biophysical Research Communication*, 321(2), 337–44.
 105. Schnaper, H. W., Grant, D. S., Stetler-Stevenson, W. G., Friedman, R., D'orazi, G., ve Murphy, A. N. (1993). Type IV collagenase(s) and TIMPs modulate endothelial cell morphogenesis in vitro. *Journal of Cellular Physiology*, 156(2), 235–46.
 106. Dikshit, M., Rastogi, L., Shukla, R., Srimal, R. C. (1995). Prevention of ischaemia-induced biochemical changes by curcumin & quinidine in the cat heart. *Indian Journal of Medical Research*, 101, 31–5.
 107. Sugiyama, Y., Kawakishi, S., Osawa, T. (1996). Involvement of the -diketone moiety in the antioxidative mechanism of tetrahydrocurcumin. *Biochemical Pharmacology*, 52(4), 519–25.
 108. Cheng, A. L., Hsu, C. H., Lin, J. K., Hsu, M. M., Ho, Y. F., ve Shen, T. S. (2001). Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Research*, 21(4B), 2895–900.
 109. Letchford, K., Liggins, R., Burt, H. (2007). Solubilization of hydrophobic drugs by methoxy poly(ethylene glycol)-block-polycaprolactone diblock copolymer micelles: Theoretical and experimental data and correlations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(3), 1179–90.
 110. Shen, L., Ji, H. F. (2007). Theoretical study on physicochemical properties of curcumin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Biomolecular Spectroscopy*, 67(3–4), 619–23.
 111. Mosley, C. A., Liotta, D. C., Snyder, J. P. (2007). Highly active anticancer curcumin analogues. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 595, 77–103.
 112. Preetha, A., Banerjee, R., Huilgol, N. (2007). Tensiometric profiles and their modulation by cholesterol: implications in cervical cancer. *Cancer Investigation*, 25(3), 172–81.
 113. Pan, M. H., Huang, T. M., Lin, J. K. (1999). Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metabolism and Disposition*, 27(4), 486–94.
 114. Arun, N., Nalini, N. (2002). Efficacy of turmeric on blood sugar and polyol pathway in diabetic albino rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 57(1), 41–52.

115. Karikar, C., Maitra, A., Bisht, S., Feldmann, G., Soni, S., Ravi, R. (2007). Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin ("nanocurcumin"): a novel strategy for human cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 5, 3.
116. Venkatesan, N. (1998). Curcumin attenuation of acute adriamycin myocardial toxicity in rats. *British Journal of Pharmacology*, 124(3), 425–7.
117. Pfeiffer, E., Hoehle, S. I., Walch, S. G., Riess, A., Solyom, A. M., Metzler, M. (2007). Curcuminoids form reactive glucuronides in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(2), 538–44.
118. Pari, L., Amali, D. R. (2005). Protective role of tetrahydrocurcumin (THC) an active principle of turmeric on chloroquine induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 115–23.
119. Sharma, R. A., McLelland, H. R., Hill, K. A., Ireson, C. R., Euden, S. A., ve Manson, M. M. (2001). Pharmacodynamic and pharmacokinetic study of oral Curcuma extract in patients with colorectal cancer. *Clinical Cancer Research*, 7(7), 1894–900.
120. Srivastava, R., Dikshit, M., Srimal, R. C., Dhawan, B. N. (1985). Antithrombotic effect of curcumin. *Thrombosis Research*, 40(3), 413–7.
121. Dikshit, M., Rastogi, L., Shukla, R., Srimal, R. C. (1995). Prevention of ischaemia-induced biochemical changes by curcumin & quinidine in the cat heart. *Indian Journal of Medical Research*, 101, 31–5.
122. Ryu, E. K., Choe, Y. S., Lee, K. H., Choi, Y., Kim, B. T. (2006). Curcumin and dehydrozingerone derivatives: synthesis, radiolabeling, and evaluation for -amyloid plaque imaging. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(20), 6111–9.
123. Babu, P. S., Srinivasan, K. (1995). Influence of dietary curcumin and cholesterol on the progression of experimentally induced diabetes in albino rat. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 152(1), 13–21.
124. Kunwar, A., Barik, A., Pandey, R., Priyadarsini, K. I. (2006). Transport of liposomal and albumin loaded curcumin to living cells: an absorption and fluorescence spectroscopic study. *Biochim. Biophys. Acta*, 1760(10), 1513–20.
125. Ma, Z., Shayeganpour, A., Brocks, D. R., Lavasanifar, A., Samuel, J. (2007). High-performance liquid chromatography analysis of curcumin in rat plasma: application to pharmacokinetics of polymeric micellar formulation of curcumin. *Biomedical Chromatography*, 21(5), 546–52.
126. Sidhu, G. S., Singh, A. K., Thaloor, D., Banaudha, K. K., Patnaik, G. K., Srimal, R. C., Maheshwari, R. K. (1998). Enhancement of wound healing by curcumin in animals. *Wound Repair and Regeneration*, 6(2), 167–77.

127. Mani, H., Sidhu, G. S., Kumari, R., Gaddipati, J. P., Seth, P. (2002). Curcumin differentially regulates TGF- β 1, its receptors and nitric oxide synthase during impaired wound healing. *BioFactors*, 16, 29–43.
128. Jagetia, G. C., Rajanikant, G. K. (2005). Curcumin treatment enhances the repair and regeneration of wounds in mice exposed to hemibody gamma irradiation. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 115(2), 515–28.
129. Pendurthi, U. R., Williams, J. T., Rao, L. V. (1997). Inhibition of tissue factor gene activation in cultured endothelial cells by curcumin. Suppression of activation of transcription factors Egr-1, AP-1, and NF-kappa B. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 17, 3406–13.
130. Chuang, S. E., Yeh, P. Y., Lu, Y. S., Lai, G. M., Liao, C. M., Gao, M. (2002). Basal levels and patterns of anticancer drug-induced activation of nuclear factor-kappaB (NF-kappaB), and its attenuation by tamoxifen, dexamethasone, and curcumin in carcinoma cells. *Biochemical Pharmacology*, 63, 1709–16.
131. Nanji, A. A., Jokelainen, K., Tipoe, G. L., Rahemtulla, A., Thomas, P., Dannenberg, A. J. (2003). Curcumin prevents alcohol induced liver disease in rats by inhibiting the expression of NF-kappa B-dependent genes. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal Liver Physiology*, 284(2): 321–27.
132. Salh, B., Assi, K., Templeman, V., Parhar, K., Owen, D., Gomez-Munoz, A., Jacobson, K. (2003). Curcumin attenuates DNB-induced murine colitis. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal Liver Physiology*, 285, 235–43.
133. Natarajan, C., Bright, J. J. (2002). Curcumin inhibits experimental allergic encephalomyelitis by blocking IL-12 signaling through Janus kinase-STAT pathway in T lymphocytes. *The Journal of Immunology*, 168, 6506–13.
134. Hill-Kapturczak, N., Thamilselvan, V., Liu, F., Nick, H. S., Agarwal, A. (2001). Mechanism of heme oxygenase-1 gene induction by curcumin in human renal proximal tubule cells. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 281, 851–59.
135. Ciolino, H. P., Daschner, P. J., Wang, T.T., Yeh, G. C. (1998). Effect of curcumin on the aryl hydrocarbon receptor and cytochrome P450 1A1 in MCF-7 human breast carcinoma cells, *Biochemical Pharmacology*, 56, 197–206.
136. Rinaldi, A. L., Morse, M. A., Fields, H. W., Rothas, D. A., Pei, P., Rodrigo, K. A. (2002). Curcumin activates the aryl hydrocarbon receptor yet significantly inhibits (K)-benzo(a)pyrene-7Rtrans-7,8-dihydrodiol bioactivation in oral squamous cell carcinoma cells and oral mucosa. *Cancer Research*, 62, 5451–56.
137. Iqbal, M., Sharma, S. D., Okazaki, Y., Fujisawa, M., Okada, S. (2003). Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II

metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacology and Toxicology*, 92, 33–8.

138. Correa, F., Chontal, M. B., Resendiz, S. H., Nino, W. R. G., Roldan, F. J., Soto, V. (2013). Curcumin maintains cardiac and mitochondrial function in chronic kidney disease. *Free radical Biology and Medicine*, 61, 119-29.
139. Morsy, M. A., Ibrahim, S. A., Entesar, F. A., Kamel, M. Y., Rifaai, R. A., Hassan, M. K. (2013). Curcumin ameliorates methotrexate-induced nephrotoxicity in rats. *Advances in Pharmacological Sciences*, 1-7.
140. Zhong, F., Chen, H., Han, L., Jin, Y., Wang, W. (2011). Curcumin attenuates lipopolysaccharide-induced renal inflammation. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34(2), 226-32.
141. Önder, A., Kapan, M., Gümüş, M., Yüksel, H., Büyük, A., Alp, H. (2012). The protective effects of curcumin on intestine and remote organs against mesenteric ischemia/reperfusion injury. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 23(2), 141-47.
142. Yousef, M. I., Omar, S. A. M., El-Guendi, M. I., Abdelmegid, M. A. (2010). Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 3246-61.
143. Manikandan, R., Thiagarajan, R., Beulaja, S., Sudhandiran, G., Arumugam, M. (2010). Curcumin protects against hepatic and renal injuries mediated by inducible nitric oxide synthase during selenium-induced toxicity in Wistar rats. *Microscopy research and technique*, 73, 631-37.
144. Ataie, A., Sabetkasaei, M., Haghparast, A., Hajizadeh, M. A., Ataie, R., Nasiraei, M. S. (2010). An investigation of the neuroprotective effects of curcumin in a model of homocysteine-induced oxidative stress in the rat's brain. *Daru*. 18(2): 128-36.
145. Demerdash, F. M., Yousef, M. I., Radwan, F. M. E. (2009). Ameliorating effect of curcumin on sodium arsenite-induced oxidative damage and lipid peroxidation in different rat organs. *Food and chemical toxicology*, 47, 249-54.
146. Chiu, J., Khan, Z. A., Farhangkhoei, H., Chakrabarti, S. (2009). Curcumin prevents diabetes-associated abnormalities in the kidneys by inhibiting p300 and nuclear factor-k B. *Nutrition*, 25, 964-72.
147. Chen, H. W., Kuo, H. T., Chai, C. Y., Ou, J. L., Yang, R. C. (2007). Pretreatment of curcumin attenuates coagulopathy and renal injury in LPS-induced endotoxemia. *Journal of Endotoxin Research*, 13(1), 15-23.

148. Farombi, E. O., Ekor, M. (2006). Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1443-48.
149. Kuwabara, N., Tamada, S., Iwai, T., Teramoto, K., Kaneda, N., Yukimura, T., Nakatani, T., Miura, K. (2006). Attenuation of renal fibrosis by curcumin in rat obstructive nephropathy. *Urology*, 67, 440-6.
150. Tirkey, N., Kaur, G., Vij, G., Chopra, K. (2005). Curcumin, a diferuloylmethane, attenuates cyclosporine-induced renal dysfunction and oxidative stress in rat kidneys. *Pharmacology*, 15(5), 1-10.
151. Bordat, P., Sacristan, J., Reith, D., Girard, S., Muller, F. (2003). An improved dimethyl sulfoxide force for molecular dynamics simulations. *Chemical Physics Letters*, 374, 201-205.
152. Santos, N. C., Figueira, J. C., Silva, J. M., Saldanha, C. (2003). Multidisciplinary utilization of dimethyl sulfoxide: Pharmacological, cellular, and molecular aspects. *Biochemical Pharmacology*, 65, 1035-104.
153. Jacob, S. W., Herschler, R. (1986). Pharmacology of DMSO. *Cryobiology*, 23(1), 14-27.
154. Kelly, K. A., Hill, M. R., Youkhana, K., Wanker, F., Gimble, J. M. (1994). Dimethyl sulfoxide (DMSO) modulates NF-kappa B and cytokine activation in lipopolysaccharide murine macrophages. *Infection and Immunity*, 62, 3122-28.
155. Wang, L., Zhang, J. (2002). An initio study of reaction of dimethyl sulfoxide (DMSO) with OH radical. *Chemical Physics Letters*, 356, 490-96.
156. Chang, C. K., Albarillo, M. V., Schumer, W. (2001). Therapeutic effect of dimethyl sulfoxide on ICAM-1 gene expression and activation of NF-kappa B and AP-1 in septic rats. *Journal of Surgical Research*, 95, 181-87.
157. Xiao, H., Harvey, K., Labarrere, C. A., Kovacs, R. (2000). Platelet Cryopreservation Using a Combination of Epinephrine and Dimethyl Sulfoxide as Cryoprotectants. *Cryobiology*, 41, 97-105.
158. Wang, H., Scott, R. E. (1993). Inhibition of distinct steps in the adipocyte differentiation pathway in 3T3 T mesenchymal stem cells by dimethyl sulphoxide (DMSO). *Cell proliferation*, 26, 55-66.
159. Liu, J., Yoshikawa, H., Nakajima, Y., Tasaka, K. (2001). Involvement of mitochondrial permeability transition and caspase-9 activation in dimethyl sulfoxide-induced apoptosis of EL-4 lymphoma cells. *International Immunopharmacology*, 1, 63-64.
160. Xie, Y., Yang, Q., DePierre, J. W., Nässberger, L. (2003). Heat output as a biomarker of the dimethyl sulfoxide-induced decrease in rat hepatoma cell metabolism in vitro. *Thermochimica Acta*, 400, 247-52.

161. Kedar, I., Jacob, E. T., Natan, N., Ravid, M. (1983). Dimethyl sulphoxide in acute ischemia in the kidney. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 411, 131-4.
162. Vernier, R. L., Papermaster, B. W., Good, R. A. (1959). Aminonucleoside nephrosis. *Journal of Experimental Medicine*, 109, 115-126.
163. Houghton, H. C., Hartnett, M., Boswell M. C., Porter, G., Bennett, W. (1976). A Light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats. *American Journal of Pathology*, 82, 589-612.
164. Avasthi, P. S., Evan, A. P. (1978). Glomerular endothelial cells in uranyl nitrate-induced acute renal failure in rats. *American Society of Nephrology*, 11, 121-27.
165. Andrews, P. M. (1975). Scanning electron microscopy of the nephrotic kidney. *Virchows Archiv B Cell Pathol*, 17(3), 195-211.
166. Siegel, F. L., Bulger, R. L. (1975). Scanning and transmission electron microscopy of mercuric chloride-induced acute tubular necrosis in rat kidney. *Virchows Archiv B Cell Pathol*, 18(3), 243-62.
167. Karkabounas, S., Binolis, J., Zelovitis, J., Kotsis, N., Charalabopoulos, A. (2002). Inhibition and modification of benzo(a)pyrene induced chemical carcinogenesis by ascorbic acid alone or in combination with α -tocopherol in wistar rats. *Experimental Oncology*, 24, 274-78.
168. Rivedal, E., Sanner, T. (1981). Metal salts as promoters of in vitro morphological transformation of hamster embryo cells initiated by benzo(a)pyrene. *Cancer Research*, 41, 2950-53.
169. Topçu, Y., Kanter, M., Uygun M. (2008). Protective effects of vitamin C on cisplatin-induced renal damage: A light and electron microscopic study. *Renal Failure*, 30, 1-8.
170. Kalpana, C., Menon, V. P. (2004). Modulatory effects of curcumin on lipid peroxidation and antioxidant status during nicotine-induced toxicity. *Polish Journal of Pharmacology*, 56, 581-6.
171. Antunes, L. G., Darin, J. D., Bianchi, M. L. P. (2014). Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacological Research*, 3(2), 145-150.
172. Kapturczak, N. H., Thamilselvan, V., Liu, F., Nick, H. S., Agarwal, A. (2001). Mechanism of Heme Oxygenase-1 Gene Induction by Curcumin in human renal proximal tubule cells. *American Journal of Renal Physiology*, 28, 581-89.
173. Venkatesan, N., Punithavathi, D., Arumugam, V. (2000). Curcumin prevents adriamycin nephrotoxicity in rats. *British Journal of Pharmacology*, 129, 231-34.

174. Garg, R., Gupta, S, Maru, G. B. (2008). Dietary curcumin modulates transcriptional regulators phase I and phase II enzymes in benzo(a)pyrene-treated mice: mechanism of its anti-initiating action. *Carcinogenesis*, 29(5), 1022-32.
175. Singh, S. V., Hu, X., Srivastava, S. K., Singh, M., Xia, H., Orchard, J. L., Zaren, H. A. (1998). Mechanism of inhibition of benzo(a)pyrene-induced forestomach cancer in mice by dietary curcumin. *Carcinogenesis*, 19(8), 1357-60.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Kararı



T.C

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

03.04.2013

GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI'NA,

Prof.Dr.Deniz Erdoğan'ın proje yürütücüsü olarak bulunduğu G.Ü.ET-12.011 kodlu "Benzoapiren uygulamasında dişi ve erkek sıçanların genital sistemlerinde meydana gelen değişikliklere bir antioksidan olarak curcumin rolü" başlıklı araştırmamızla ilgili olarak yapılan literatür incelemeleri sonucunda; çalışma sonuçlarına beyin, beyincik, kalp, akciğer, karaciğer, böbrek ile ilgili parametrelerin de eklenmesinin çalışmaya anlamlı katkı sağlayacağı görülmüştür. Adı geçen bu organların da çalışmaya eklenebilmesi için gereğinin yapılmasını saygılarımla arz ederim.

Prof.Dr.Deniz Erdoğan

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Anabilim Dalı Başkanı/Öğretim Üyesi



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

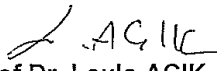
SAYI : 66332047-604.01.02/ ~~13~~ 8298
KONU :

12/04/2013

Sayın

Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Daha önce onay alan, G.Ü.ET-12.011 kod numaralı "**Benzoapiren Uygulamasında Dişi ve Erkek Sıçanların Genital Sistemlerinde Meydana Gelen Değişikliklere Bir Antioksidan Olarak Curcuminin Rolü**" adlı çalışmanız hakkında vermiş olduğunuz 03.04.2013 tarihli dilekçeniz incelenmiş olup, talebiniz Başkanlığımızca uygun görülmüştür.


Prof.Dr. Leyla AÇIK
Gazi Üniversitesi

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ŞENER, Dila
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 01/10/1986 Manisa
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (312)326 04 65
 e-posta : dila.sener@emu.edu.tr/dila.senerr@gmail.com



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi/ Histoloji ve Embriyoloji	Devam ediyor
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi/ Histoloji ve Embriyoloji	2011
Lisans	Hacettepe Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2008
Lise	Hacı Ömer Tarman Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı yer	Görev
2012-devam ediyor	Doğu Akdeniz Üniversitesi	Öğretim Görevlisi

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

1. Elmas, C., Erdoğan, D., Göktaş, G., Uluoğlu, C., Güney, Y., Özbey, G., Hiçsönmez, A., Yücel, B., Özkan, S., Şener, D. (2013). İyonize radyasyon uygulamasında rat pineal bezi üzerine melatoninin koruyucu etkisi var mıdır? Kronobiyolojik ve Elektron Mikroskobik Çalışma. *Kafkas Üniviversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(1), 153-160.
2. Elmas, C., Bahcelioglu, M., Erdoğan, D., Gözil, R., Take, G., Çalgüner, E., Şener, D. (2012). Immunohistochemical and Ultrastructural Changes Related to Methylphenidate in rat Pituitary and Pineal Glands. *Journal of Neurological Sciences*, 29(3), 476-493.



Gazi Gelecektir...