T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAKROLİMUS NEFROTOKSİSİTESİNDE CURCUMİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN RATLARDA HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

Merve TUNA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı

Prof. Dr. M. Kemal ÇİFTÇİ

Konya - 2016

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAKROLİMUS NEFROTOKSİSİTESİNDE CURCUMİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN RATLARDA HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

Merve TUNA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı

Prof. Dr. M. Kemal ÇİFTÇİ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 14202031proje numarası ile desteklenmiştir.

Konya - 2016

İçindekiler Tablosu

ÖNSÖZ ..... …
1.GİRİŞ .....
1.1. Böbreğin Yapısı .....
1.2. Böbrek Hasarı Belirteçleri 4
1.2.1. Üre 5
1.2.2. Kreatin 5
1.2.3. Glomeruler Filtrasyon hızı 5
1.3. Serbest Radikaller, Oksidanlar ve Oksidatif Stres 6
1.4. Antioksidanlar 8
1.4.1. Hücre Dışı Sıvılardaki Antioksidanlar 9
1.4.2. Enzimatik Antioksidanlar 9
1.4.3. Non-Enzimatik Antioksidanlar 10
1.5. Curcumin 12
1.6. Tacrolimus 16
2. GEREÇ ve YÖNTEM 19
2.1.Gereç 19
2.2. Yöntem 19
2.2.1. Deney Hayvanları Uygulama Planı 19
2.2.2. İstatistiksel Analiz 20
3.BULGULAR 22
3.1. Patolojik Bulgular 22
3.1.1 Makroskobik Bulgular 22
3.1.2. Mikroskobik Bulgular 22
3.1.3 Mikroskobik Histopatolojik Bulguların İstatistiksel Analizi: 23
3.1.4 Mikroskobik Resimler 27
3.2. Biyokimyasal Bulgular: 36
3.2.1. Biyokimyasal analiz: 36
3.2.2. Biyokimyasal analiz istatistik sonuçları: 37
4.TARTIŞMA ve SONUÇ 41
5. KAYNAKLAR 44
6. EKLER 48
7. ÖZGEÇMİŞ 49

SİMGELER VE KISALTMALAR

A.	İnterlobularis: Arteria interlobularis
Na:	Sodyum
K:	Potasyum
Cl:	Klor
FK 506:	TAC: Tacrolimus
KC:	Karaciğer
Ca:	Kalsiyum
GFR:	Glomeruler Filtrasyon Hızı
BUN:	Blood Urea Nitrojen (Kandaki üre azotu)
GİS:	Gastro intestinal sistem
CUR:	Curcumin
ATP:	Adenozintrifosfat
XO:	Ksantin Oksidaz
THC:	Tetrahidrocurcumin
FDA:	Food and Drug Administration

ÖNSÖZ

Tez çalışmamda zaman sınırlaması olmadan her türlü desteği sağlayan katkı ve yönlendirmelerinden yararlandığım danışman öğretmenim Prof. Dr. M. Kemal ÇİFTÇİ'ye, eğitimime devam edebilmem için bana sonsuz güvenen sadece okul eğitimi değil hayata dair de çok şey öğrendiğim değerli öğretmenim Prof. Dr. Erkan Karadaş'a, bilgilerinden faydalandığım Prof. Dr. Hüdaverdi Erer, Prof. Dr. Mustafa Ortatatlı, Prof. Dr. Fatih Hatipoğlu, Doç. Dr. Özgür Özdemir ve her ihtiyacım olduğunda yanımda hissettiğim canım arkadaşım Araş. Gör. Funda Terzi'ye, yine yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Burak Ateş'e, burada olmasalar bile her daim yanımda hissettiğim Doç. Dr. Hikmet Keleş, Yar. Doç. Dr. Mehmet Fatih Bozkurt ve Doç. Dr. Alper Sevimli hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca benden desteklerini esirgemeyen canım annem Fetiye Tuna ve sevgili babam Nahit Tuna ile biricik kardeşim Tuğba'ya teşekkürlerimi sunarım.

Merve TUNA

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAKROLİMUS NEFROTOKSİSİTESİNDE CURCUMİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN RATLARDA HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

Merve Tuna
Patoloji Anabilim Dalı
YÜKSEKLİSANS TEZİ/KONYA-2016

Günümüz hekimliğinde organ nakilleri artık daha sık yapılmaktadır. Organ transplantasyonu takiben kullanılan immünsupresif ajanların transplante organa, hatta diğer organlara da zarar verebilecek düzeyde ciddi yan etkileri olduğu bilinmektedir. Bu çalışma ile sık kullanılan immunsupressif ajanlardan tacrolimusa ilgili oluşan nefrotoksik etkinin azaltılması için önemli bir antioksidan madde olan curcumin kullanılmış ve histopatolojik, biyokimyasal incelemelerle curcuminin nefroprotektif etkisi araştırılmıştır. Ayrıca curcuminin karaciğer, beyin ve kalp dokusuna ilgili koruyucu etkileri de incelenmiştir.

Ortalama 12-16 haftalık, 30 adet Wistar rat kullanılan çalışmada 1.Kontrol Grubu (n: 6) ratlar 21 gün boyunca pelet yem verildi. 2.Curcumin Grubu (n: 8) ratlara 21 gün boyunca curcumin 300mg\kg\gün dozunda oral gavaj yoluyla verildi. 3.Tacrolimus Grubu (n: 8) bu grupta bulunan ratlara çalışmanın 8. gününden itibaren 14 gün boyunca tacrolimus 2mg\kg\gün dozunda intraperiotenal yolla verildi. 4.Tacrolimus+Curcumin Grubu (n: 8) **r**atlara çalışmanın başlangıcından itibaren curcumin 300mg\kg\gün dozunda oral gavaj yoluyla, 8. gününde ise tacrolimus intraperitoneal yolla verildi. Çalışmanın sonunda biyokimyasal analizler için kan alındıktan sonra, ötenazi yapılan ratların nekropsileri yapılarak böbrek, karaciğer, kalp ve beyinden örnekler alınıp histopatolojik incelemeler yapıldı.

Çalışmanın sonucunda ratlarda tacrolimus ile oluşturulan toksik hasara karşı curcuminin böbreklerde koruyucu ve onarıcı bir etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca curcuminin koruyucu etkisi karaciğer, beyin ve kalp dokularında da belirlenmiştir. Bu etkilerin daha net histopatolojik bulgularla desteklenmesi için daha uzun süreli çalışmalar yapılmasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Sözcükler:Curcumin,Tacrolimus, Histopatoloji, Nefrotoksisite, Rat.

SUMMARY
REPUBLIC of TURKEY

SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Abstract
HİSTOPATHLOGİCAL EXAMİNATİONS on PROTECTIVE EFFECT of CURCUMIN on TACROLIMUS INDUCED NEPHROTOXICITY in RATS.

.

Merve Tuna
Department of Pathology
MASTER THESIS/KONYA-2016

In today's medical science, organ transplantations are performed more often. It is even known that immunosuppressive agents used after organ transplantation have serious side effects on the transplanted organ, which can even cause damage to other organs. In this study, curcumin which is an important antioxidant on reducing nephrotoxic effects of tacrolimus, and its nephroprotective effect was investigated by histopathlogical and biochemical examinations.Moreover, the possible protective effects of curcumin on the liver, brain and heart tissue were investigated.

In the study in which 30 Wistar rats were used for average 12-16 weeks, 1. Control group (n: 6); rats were fed with pellets for 21 days. 2. Curcumin group (n: 8); rats were given 300 mg dose of curcumin/kg/day by oral gavage for 21 days. 3. Tacrolimus group (n: 8); in this group, 2 mg/kg/day dose of tacrolimus was given to rats with intraperitoneal injection method, for 14 days beginning from the 8th day of experiment. 4. Tacrolimus+Curcumin group (n: 8); this group's rats were respectively given curcumin dose of 300 mg/kg/day from the beginning of study by oral gavage methot and tacrolimus for 14 days after 8^{th} day of experiment intraperitoneally. At the end of the experiment, blood samples were taken and accumulated for biochemical analyses, and then rats were euthanatized and necropsied. Then, histopathological investigations were performed by taking tissue samples from kidneys, livers, hearts and brains.

As a result of the study, it has been understood that curcumin has protective and restorative effects against the toxic effects induced by tacrolimus in the kidneys of rats. Furthermore, the protective effect of curcumin was observed on the liver, brain and heart tissues. It has been surmised that longer-term studies will be beneficial to support these effects with clearer histopathological findings.

This thesis study was supported by the Coordinatorship of Selçuk University Research projects.

Keywords: Curcumin, Tacrolimus, Histopathology, Nephrotoxicity, Rat.

1.GİRİŞ

Günümüzde organ nakilleri her geçen gün daha da yaygınlaşmakta, bu nedenle de oldukça önem arz etmektedir. Organ nakillerinin yaşam süresi üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinmekte ve uygun vericilerden (donör) yapılan nakillerin yaşam kalitesinin artmasına da katkı sağlamaktadır. Ancak nakilden sonraki dönemde tedavi sürecinde gereken hassasiyet gösterilmez ise alınan organın kaybına ve hatta nakledilen kişide hayati tehlike de söz konusu olabilmektedir. Bu nedenlerle organ nakillerinden sonra organ reddi riskini azaltmaya yönelik birçok tedavi yöntemi araştırılmıştır. Günümüzde bu yöntemlerden en sık kullanılanı immünsupresif ajanlar ile tedavi yöntemidir. Organ nakillerinde en yaygın kullanılan immünsupresif ajan takrolimus preparatlarıdır. Bu immünsupresif ajanlardan birisi olan "tacrolimus" (FK506) ilk kez 1984 yılında Streptomyces tsukabaensis isimli toprak mantarından üretilmiştir. Tacrolimus esas olarak T hücrelerinin aktivasyonu ile etkileşime girerek immünsupresif etkisini gösterir ve kalsinörin isimli mediatörü inhibe ederek immün ve inflamatuvar cevapta rol oynayan sitokinlerin, lenfokinlerin ve adhezyon moleküllerin oluşumunu baskılar. Bu etken maddenin ana avantajı diğer hızlı çoğalan hücreleri etkilemeden immün sistem üzerinde seçiçi davranmasıdır. Tacrolimusun bu tedavi edici etkisinin yanı sıra nefrotoksisite, nörotoksisite, kardiyomyopati, anemi, kronik diyare, diyabet, alerjik reaksiyonlar, lenfoproliferatif hastalıklar ve enfeksiyonlar gibi olumsuz etkileri de bildirilmiştir. Bahsedilen bu toksik ve yan etkilerini önlenmeye veya azaltmaya yönelik çeşitli deneysel ve klinik çalışmalar halen devam etmektedir. Bu maksatla kullanılmak üzere çeşitli antioksidan ajanlar önerilmekte ve kullanılmaktadır. "Curcumin" isimli etken maddenin önceden beri antiinflamatuvar, antioksidan ve yara iyileştirici etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Lipofilik özelliği sayesinde hücre zarından kolaylıkla geçebilmektedir. Fenil halkası üzerindeki hidroksil gruplarının varlığı sayesinde de birçok reaktif oksijen radikallerini özellikle de süperoksit ve hidroksil radikallerini tutma ve vücuttan atılışını kolaylaştırma özelliğine sahiptir(Tisher 2007, Erek ve Süleymanlar 2003, Ganong 1995). Curcuminin bu antioksidan aktivitesini antioksidan enzimler aracılığıyla gerçekleştirdiği düşünülmektedir(Tisher 2007, Erek ve Süleymanlar 2003, Ganong 1995). Curcumin çeşitli hayvan deneylerinde lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Curcuminin böbrek hücrelerini, oksidatif strese karşı lipit

peroksidasyonu, lipit degredasyonu ve sitolizi önleyici etkisiyle koruduğu gösterilmiştir(Yarsan 1998,Yeşildağ 2009).

Bu özelliklerinden yola çıkarak bu etken maddenin tacrolimusun neden olduğu böbrek hasarı üzerinde antioksidan etkinliğinin koruyucu rolünün olabileceği düşünülmüş ve bu düşünceden yola çıkarak curcumin takviyesinin ratlarda tacrolimus nefrotoksisitesine karşı olası koruyucu etkisinin belirlenmesine ve etkin bir tedavi yöntemi oluşturmaya yönelik biyokimyasal ve histopatolojik testler içeren bu tez çalışması yapılmıştır.

1.1. Böbreğin Yapısı

Üriner sistem böbrekler, üreter, mesane ve üretradan oluşur ve asıl fonksiyonel organları böbreklerdir(König ve Liebich 2007,Dursun 1996). Üriner sistem, genital sistemle birlikte mezodermal kabarıklıktan gelişir. İnsanlarda intrauterin dönemde üç böbrek sistemi gelişir: Bunlar sırasıyla pronefroz, mezonefroz ve metanefrozdur(Mitil 2013).

-Pronefroz: İntrauterin dönemin dördüncü haftasında oluşmaya başlayan bu yapı gelişmemiş ve fonsiyonel değildir. İnsan embriyosunda oluşan ilk böbrek sistemidir (Kasırga 2015).

-Mezonefroz: Dördüncü haftanın sonuna doğru, ikincil yapı olarak oluşur. Pronefrozların kaudalinde büyük bir organ olarak dikkati çeken bu yapı kalıcı böbrekler oluşuncaya kadar intermedier (ara) böbrekler olarak, embriyoda görev yapar (Kasırga 2015).

-Metanefroz: Böbreğin yapısındaki nefronların oluşmasında görevli metanefrik mezodermin oluştuğu dönemdir. İnsan embriyosunda gelişmeye 5. hafta başlarında başlayıp ve 5 hafta sonra da işlev görmeye başlayan kalıcı böbreklerdir. Metanefrik divertikül veya üreter tomurcuğu, renal pelvis, üreter, major ve minor kaliksleri ve toplayıcı kanalları meydana getirir. Metanefrik mezoderm; nefrojenik kordonun kaudal parçasından köken almaktadır(Kasırga 2015).

Böbrekler karın boşluğunun üst kısmında retroperitoneal bölgede yerleşmiş 12. torakal vertebra ile 2. lomber vertebra arasında bulunan, ağırlıkları 120-150g arasında değişen organlardır(Akpolat ve ark. 2007, Dere 1996). Sağ böbrek sol böbreğe göre karaciğer (KC) nedeniyle daha aşağıda yer alır(Dursun 1996, Akpolat ve ark. 2003,

Alan 2011,Yokota ve ark. 2005). Böbreklerin dış kısmında korteks; iç tarafında medulla, internal pelvis ve kaliksler bulunur(Tanagho ve Mc Aninch 2004).

Böbreklerin kanlanmasını birinci lomber vertebra hizasında aortadan çıkan tek arteria renalis başlatır. Bu arter dallanarak sırasıyla segmental, interlobar, arcuat, interlobular, afferent ve efferent arteriollere uzanır. A.interlobularislerden glomerüluslara kanı taşıyan afferent arteriyoller çıkarak glomerülus ve bowman kapsülü içinde bir kapiller ağ oluştururlar. Böbreklere gelen kanın süzülmesi kapiller ağdaki yüksek basınç nedeniyledir. Daha sonra efferent arteriyoller glomerüluslardan çıkarak peritubüler kapiller ağına açılır. Burada bulunan basınç doku kapillerlerinin venal uçlarındaki basınca yakın olması sebebiyle böbreklerdeki sıvı devamlı bir şekilde bu kapillerler vasıtasıyla geri emilir ve venöz sistem yoluyla inferior vena kavaya dökülür (Mitil 2013,Kasırga 2015).

Böbreklerin temel fonksiyonu fazla su ve elektrolitlerin idrar yoluyla vücut dışına atılmasıdır. Vücuttaki elektrolitlerin plazma düzeylerinin ayarlanmasında etkilidir. Bunlara örnek sodyum (Na), potasyum (K), sodyumbikarbonat(NaHCO3), klor (Cl), kalsiyum (Ca) örnek olarak verilebilir. Böbrekler su-elektrolit dengesi ayarlamak dışında metabolik atıkların, yabancı atıkların, solit yüklerin vücut dışına idrar yoluyla atılmasından da görevlidir. Bu sayede plazma hacmi, elektrolit dengesi, kan basıncı dengelenmiş olur (Eralp 2013). Nefronlar böbrekte görevli en küçük birimlerdir. Her böbrekte 1-4 milyon arasında nefron bulunur. İdrarı meydana getiren en küçük yapı olan nefronlar, bowman kapsülü içine yerleşmiş kapiller damarların oluşturduğu glomerüler yumak ve tubüluslardan oluşmaktadır. Kan glomerüler yumakta süzülürken, tubüluslarda idrar oluşturulur(Guyton ve Hall 2001). Glomerulus ve bunu saran bowman kapsülü renal korpüskülü oluşturur. Renal korpüskül, proksimal tubül, henle kulpu ve distal tubül nefronu oluşturan yapılardır. Distal tubüller toplayıcı kanallara açılırlar. Toplayıcı kanallar da idrarı toplayarak minor kalikslere ve böylece böbrek pelvisine ulaştırırlar(Dere 1996, Eralp 2013). İdrar böbreklerin kanı süzmesiyle oluşur. Pürin bazlarının yıkımıyla ürik asit, proteinlerin yıkımıyla oluşan ürün ise amonyaktır. Amonyak hücreler için oldukça toksik bir madde olduğundan karaciğerde üre haline dönüştürülür. Vücutta oluşan bu toksik metabolik atıklar da idrar ile birlikte dışarı atılır. İdrar üreterler aracılığı ile mesanede

toplanır, üretra yoluyla vücut dışına atılır (Thadhani ve ark. 1996). Böbrek bu işlevleri filtrasyon, reabsorbsiyon, sekresyon yoluyla gerçekleştirir (Eralp 2013).

-Glomerüler filtrasyon: Glomerüldeki kanın yaklaşık 1/5'ini glomerüler membrandan tubüler sistem içine filtre edilmesi görevini üstlenir.

-Tubüler absorbsiyon: Filtre edilen sıvı tubüllerden geçerken vücut için gerekli maddeler kapiller ağdaki plazma içine tekrar emilir. Bu emilimden arda kalan sıvı da idrar olarak dışarı atılır.

-Tubüler sekresyon: İstenmeyen vücut için zararlı maddelerin atılmasını sağlayan önemli bir mekanizmadır. Bazı maddeler epitel hücrelerince tubüler sıvı içine sekresyon yoluyla emilir(Akpolat ve ark. 2007).

İnsanlarda sayıları 10-18 arasında değişen konik veya piramidal şekilli medullar piramitler renal medullayı oluşturur ve her bir medullar piramidin alt kısmında kortekse kadar uzanan tubülus demetleri ve medullar ışınlar çıkar (Mitil 2013).

Kan, vücut sıvıları ve dokuların metabolik faaliyetlerinin kontrolü için kan ve idrardan biyokimyasal incelemeler yapılarak doku veya organın genel işleyişi hakkında önemli veriler elde edilmektedir. Bu veriler sayesinde doku veya organda patolojik bir değişimin başlangıcı veya varlığı büyük oranda anlaşılabilmektedir.

Böbrek yapısında ve fonksiyonlarındaki değişikliklerin belirlenmesi için etkin çalışmalar hem idrar, hemde kanda yapılacak birtakım testleri içermektedir. İdrar tahlili testinin sağlayacağı yarar, böbreklerin idrarı konsantre etme yeteneğinin bozulması ve proteinürinin belirlenmesinde, kan testlerinin ise glomeruler filtrasyon hızının (GFR) indirekt göstergesinin tespitinde etkilidir(Köse ve Maden 2015). Böbrek fonksiyonun değerlendirmede ayrıca renal plazma ve kan akımı, glomerular filtrasyon hızı, filtrasyon fraksiyonu gibi yöntemler de kullanılmaktadır. Biyokimyasal ve kan muayeneleri sonucu fonksiyonel değişiklikler gözlenen olgularda çoğu zaman histopatolojik incelemelerle böbrek hasarının net tablosu ortaya konulabilmektedir (Köse ve Maden 2015).

1.2. Böbrek Hasarı Belirteçleri

İskemik böbrek hasarında perfüzyon azalmasına bağlı böbrek fonksiyonlarının bozulmasında tubüler hasar rol oynar. Bununla birlikte reperfüzyon sonrası üretilen serbest radikaller de böbrek hasarında oldukça etkilidir(Eralp 2013).

1.2.1. Üre (CH_4N_2O)

Üre mol kütlesi 60 g/mol olan, vücutta protein metabolizması sonucunda çıkan amonyaktan, karaciğer tarafından sentezlenir. Glomerüllerden serbestçe filtre edilir(Stickle 1998). Üre içindeki nitrojen değeri BUN olarak değerlendirilir. BUN değerlerinde değişikliğe sebep olan bazı nedenler arasında aminoasit infizyonu, fazla protein alımı, GİS kanaması ve bazı ilaçların kullanımı sayılabilir. Tubüler reabsorbsiyonu olduğu için renal bozukluk olmadan da kan BUN oranlarında değişimler olabilir(Reiser ve Porush 2001, Anderson 2001).

1.2.2. Kreatin

Kreatin, kas ve diğer dokular tarafından dolaşımdan elde edilip vücutta karaciğer tarafından sentez edilir(Sticle ve ark. 1998). Yapım oranı kas kitlesi ile ilişkilidir(Reiser ve Porush 2001, Kasiske ve Keane 2000). 1 mg kreatinin yaklaşık 20 mg kasın günlük metabolizması sonucunda üretilmektedir(Anderson 2001). Glomerüllerden serbestçe filtre edilir, proteine bağlanmaz, böbreklerde metabolize olmaz, sekresyona uğrar, bazen tubüllerden geri emilir(Stickle ve ark. 1998). Sağlıklı bir insanda kreatin tubüler sekresyonu % 10-15'tir ve ilerlemiş böbrek fonksiyon bozukluklarında bu oran % 40 a kadar çıkabilir. Tıpda serum kreatinin düzeyi üre testlerinde çıkan sonuçlara göre daha değerli sonuçlar verir. Serum kreatinin düzeyi böbrekle ilişkili olmadan da yükselebilir, bu sebepler arasında ağır egzersiz veya travmalardan bahsedilebilir(Reiser ve Porush 2001, Kasiske ve Keane 2000).

Kreatin klirensi ise 24 saatlik idrar toplanmasının ardından idrar kreatin düzeyi ve serum kreatin düzeyinin dakika idrar volümüne dönüştürülerek klirens formülüne uyarlanması ile bulunur (Stickle ve ark. 1998).

Böbrek yetmezliğinin derecesinin saptanması, ilaç dozunun ayarlanması, tedaviye yanıtın değerlendirilmesi ve kronik diyaliz ihtiyacı GFR ölçülmesinde kullanılan en sık yöntem kreatin klirensidir(Akpolat ve ark. 2007).

1.2.3. Glomeruler Filtrasyon hızı

Her iki böbreğin tüm nefronlarında birim zamanda üretilen glomeruler filtrat miktarı glomeruler filtrasyon hızı olarak tanımlanır. Normal bireyde yaklaşık 125 ml/dk dır, bu da 24 saatlik dilimde üretilen glomeruler filtrat yaklaşık 150-180 lt

olması anlamına gelir. Ultrafiltrat denilen bu sıvının %99 u resorbe edilip geri kalan kısım idrar olarak atılır(Akpolat ve ark. 2007).

1.3. Serbest Radikaller, Oksidanlar ve Oksidatif Stres

Dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunduran bir atom veya molekül serbest radikal olarak ifade edilir(Eralp 2013). Serbest radikallerin kaynağı moleküler oksijendir. Serbest oksijen radikalleri, vücudumuzda gerçekleştirilecek olan enzimatik reaksiyon ve biyolojik fonksiyonlar için son derece gerekli olup, reperfüzyon gibi bazı patolojik durumlarda aşırı miktarlarda ortaya çıkarak hücrelere zararlı etkilerde bulunurlar(Eralp 2013). Yarı ömürleri mili veya nanosaniye gibi oldukça kısa olan serbest radikaller son derece kararsız ve reaktif moleküllerdir ve bu nedenle diğer moleküllere kendilerinde fazla olan elektronu vermeye çalışırlar. Diğer radikal veya moleküllerle etkileşerek yeni radikaller oluşturabilirler(Altuğ 2009). Oksijenin indirgenmesi ile süperoksid radikalleri ortaya çıkar. Bu radikallerden spontan ya da enzimatik dismutasyon ile ikinci bir ara ürün olan hidrojen peroksid ve yine bir dizi olay sonucunda hidroksil radikali meydana gelir(Eralp 2013). Süperoksitler canlı dokuda bazı reaksiyonlar için gerekli moleküller olmalarının yanı sıra, kontrolsüz üretilmeleri canlı doku için nekroz ve diğer zararlı etkilere sebep olabilir.

Serbest radikaller bir moleküle elektron eklenmesi, bir molekülden tek bir elektron eksilmesi, bir molekülün kovalent bağının homolitik bölünmesi veya bir molekülün kovalent bağındaki iki elektronun bir atomda kalacak şekilde heterolitik bölünmesi gibi yüksek enerji transferi gerektiren üç grup tepkime sonucunda üretilirler (Altuğ 2009).

Oksijenin metabolize edildiği canlılarda ortamda oksijen varlığında çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlerle oksijen radikalleri oluşturulabilir (Eralp 2013).

Lipit peroksidasyon serbest oksijen gruplarının dokulara yönelik olarak meydana getirecekleri zararla ilişkili olması sebebiyle son yıllarda üzerinde önemle durulan bir konudur. Hayati işlevler için gerekli olan oksijen, serbest oksijen grubuna yol açarak toksik etki oluşturabilmekte ve çoğu hastalığın patogenezinde serbest oksijen grupları ortaya çıkmaktadır(Yarsan 1998).

Serbest radikaller doku ve hücrede DNA hasarı, enzim inaktivasyonu, lipit peroksidasyonu, yaşlılık pigmentlerinin birikimi vezar yapılarının ve fonksiyonlarının etkilenmesi gibi hasarlara sebep olur(Altuğ 2009).

Vücudumuz lipit peroksidasyonun zararlı etkilerine karşı hücrelerini kurtarabilmek için savunma sistemleri oluşturmuştur, hücre içi-hücre dışı olmak üzere sınıflandırılan bu sistemlere antioksidan sistemler adı verilir (Altuğ 2009).

Aminoasitlerin serbest oksijen gruplarına duyarlılıkları farklıdır. Oksijen metabolitleri arasında süperoksit grubunun aminoasitler üzerinde etkisi daha sınırlıdır. Serbest oksijen gruplarının etkisi sonucunda proteinlerde çeşitli yapısal bozukluklar ortaya çıkar(Comporti 1993).

Bağ dokunun dayanıklılığının sağlanmasında etkin rol oynayan hiyaluronik asittir ve bu asit özellikle süperoksit grubundan etkilenerek bağ dokuda deformelere neden olur (Comporti 1993).

DNA üzerinde de etki gösteren serbest oksijen radikalleri nükleik asitlerin yapısal değişikliklerine, DNA hasarına ve mutasyonlara neden olur(Comporti 1993).

Lipit peroksidasyon serbest oksijen gruplarının en önemli etkilerindendir ve hücrelerdeki zar fosfolipitlerinin yükseltgenerek peroksit türevlerine dönüşmesi olayı şeklinde tanımlanır (Comporti 1993).

Lipit peroksidasyon çok zincirli doymamış yağ asitlerine RH veya oksi köklerinin girmesiyle ya da molekülden çıkmasıyla ortasında karbon atomu bulunan lipit grupları meydana gelerek ilk aşama başlamış olur. Başlangıç aşamasını takip eden ikinci dönem gelişme aşaması olarak adlandırılır ve zincirleme reaksiyonlar içerir. Birinci aşamada meydana gelen lipit grubu moleküler oksijen ile birleşerek hızla peroksi grubuna dönüşür. Tepkimeye devam ederek peroksi grubu hidroperoksi grubunu şekillendirir ve sonuçta diğer yağ asitleri de tepkimeye girerek başlangıç aşamasında olduğu gibi ortasında karbon atomu bulunan lipit gruplarını meydana getirir. Oluşan bu gruplarda yeni peroksi gruplarını oluşturur. Gelişme aşamasındaki tepkimeler birbirinin tekrarı şekilde devam eder. Doymamış yağ asitlerinin miktarına bağlı olarak hidroperoksitlerin şekillenmesi sürer. Bu tepkimeler peroksit gruplarının toplanarak tepkimeye girmesi ve etkisiz ürünler oluşturmasına kadar devam eder.

Son aşama yıkımlanma aşamasıdır. Son aşamada iki önemli durum vardır; ya ortamdaki antioksidan maddelerle etkileşime girerek tepkime sonlanır ya da gruplar birbirleri ile tepkimeye girerek etkisiz ürünlere dönüşürler(Comporti 1993).

Tubüler hasar iskemik böbrek hasarında perfüzyon azalmasına bağlı böbrek fonksiyonlarının bozulmasında rol oynar. Buna ilgili reperfüzyon sonrası üretilen serbest radikaller de böbrek hasarında oldukça etkilidir(Eralp 2013).

1.4. Antioksidanlar

Vücutta bulunan lipit, DNA, protein, karbonhidrat gibi bileşikleri oksidatif stresten koruyan maddelere antioksidan ve bu mekanizmaya ise antioksidan savunma mekanizması adı verilir(Altuğ 2009).

Antioksidanlar etki mekanizması dört farklı şekilde ortaya çıkar:
1. Enzimler tarafından oksidanları zayıf bir moleküle çevirerek temizler (toplayıcı etki)
2.Vitaminler ve doğal bitkisel ajanlar aracılığıyla oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirerek baskılar (bastırıcı etki)
3.Zarar görmüş doku ve hücreleri onarır (onarıcı etki)
4. Hemoglobin, seruloplazmin, E vitamini tarafından oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engeller (zincir kırıcı etki) (Yeşildağ 2009).

Serbest radikaller vücudun işlevlerini görebilmesi ve hastalıklardan korunabilmesi çok hassas bir dengeyle kontrol edilir ancak aşırı yüklenme vücut için tehlike oluşturur.

Enzimatik olanlar	**Enzimatik olmayanlar**
Süperoksit dismutaz (SOD) Glutatyon redüktaz Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) Katalaz (CAT)	E vitamini C vitamini

Tablo 1:Hücre içi antioksidan ajanlardan bazıları

Bilim adamları N-asestilsistein, sistein, melotonin gibi natürel maddenin antioksidan ajan olduklarını çalışmalarla göstermişlerdir(Yeşildağ 2009).

1.4.1. Hücre Dışı Sıvılardaki Antioksidanlar

E vitamini, C vitamini, transferrin, serüloplazmin, karoten, albümin, bilüribin gibi maddeler hücre dışı sıvılarda enzimatik antioksidan sistemin aktivitesinin sınırlı olması sebebiyle antioksidan özellik gösterirler(Yeşildağ 2009).

1.4.2. Enzimatik Antioksidanlar

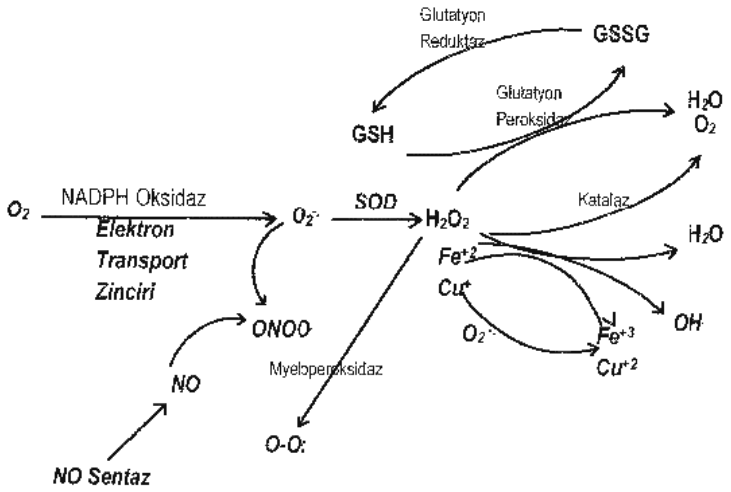
Süperoksit Dismutaz (SOD)

Oksidatif strese karşı savunmanın ilk basamağını oluştururan bakır (Zn) içeren enzim radikallerden korunmada ana mekanizmadır. İnsanlarda mitokondride bulunur.

Hücre hasarına etkin olarak sebep olan süperoksit grubu, SOD aracılığıyla H2O2 ve oksijene çevrilir. Daha az toksik bir yapıya sahip olan H2O2, dokularda bulunan peroksidaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi hücre içi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz hale getirilir(Yeşildağ 2009).

Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz detoksifikasyonla görevlidir. Bunun için ortamda indirgenmiş glutatyon bulunmalıdır. Daha az zararlı hale gelebilmesi için hidroksil radikali veya hidrojen peroksitle birleşerek peroksitten su oluşumunu ve hidrojen çıkartmasını sağlayan tepkimeyi katalize etmelidir(Altuğ 2009,Yeşildağ 2009).



Sekil1.Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu

Katalaz (CAT)

Hidrojen peroksiti suya ayrıştırarak hidroksil radikallerinin oluşumuna engel olarak ya da yok ederek hidroksil serbest radikali (OH) oluşumunu önler(Altuğ 2009). Kanserli dokularda katalaz sağlıklı dokulara göre daha yüksek bulunup bunun tümör hücrelerinde enzim ekspresyonundaki artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir (Yeşildağ 2009).

Mitokondriyal Sitokrom oksidaz

Solunum işlemindeki son enzimi olan mitokondriyal sitokrom oksidaz, süperoksidin toksik etkisini nötralize eder ve bu işlemler normal şartlarda sürekli devam eder. Sonucunda bol miktarda enerji üretimi (ATP) ortaya çıkar (Altuğ 2009).

Ksantin oksidaz(XO)

Süperoksit anyon radikalinin en önemli kaynaklarından birisi ksantin oksidazdır (Altuğ 2009). Yoğun egzersiz sonrasında vücuttaki ürik asit artar, XO buradaki radikaller üzerinde antioksidan etki göstererek kasları oksidasyona karşı korur(Altuğ 2009).

1.4.3. Non-Enzimatik Antioksidanlar

Glutatyon (GSH)

Hem endojen hem de eksojen bir antioksidan olup, DNA hasarını önleme ve onarma, metabolik artıklarının inaktif hale getirilmesinde ve vücudu serbest radikallere karşı korumakla görevlidir(Altuğ 2009,Yeşildağ 2009). Karaciğerde iki havuzu bulunan GSH'ın biri sitozolik diğer mitokondriyaldir ve eksikliği nekrozlara sebep olabilir(Yeşildağ 2009).

Vitamin C (Askorbik Asit)

Askorbik asit suda eriyen ve dolayısıyla sulu ortamda süperoksit ve hidroksil radikallerini temizleyerek etkinlik gösteren bir vitamindir. Sıvılarda bazı radikalleri parçalayarak görev yapar. Bunun dışında ateroskleroza karşı korur ve LDL kolesterolün oksidasyonunu önler. Yokluğunda E vitamini ve GSH yenilenemez (Eralp 2013, Altuğ 2009,Yeşildağ 2009).

Vitamin E (α-tokoferol)

E vitamini askorbik asitin tersine yağda çözünmesiyle hücre membranında ve lipoproteinlerde bulunup oksijen radikallerinin zincir kırıcısı olarak ana temizleyicisi olarak görev yapar(Altuğ 2009,Yeşildağ 2009).

Vitamin A

A vitamini varlığında görme, üreme, büyüme ve epitel dokusunun sağlamlığı devam eder ve α-tokoferole göre zayıf bir antioksidandır, α-tokoferol bittikten sonra kullanılır (Yeşildağ 2009).

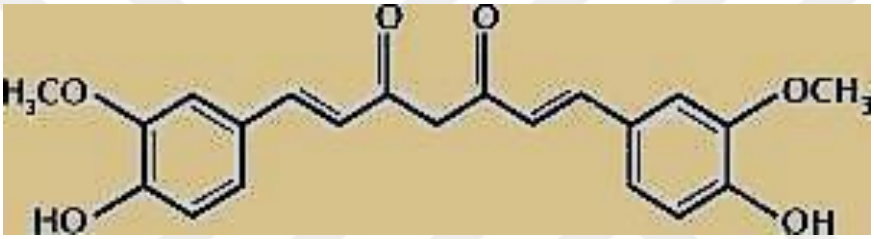
Diğer non-Enzimatik Antioksidanlar tablo 2 de verilmiştir.

Antioksidanlar	**Görevleri**
Askorbik asit	O^2 VE OH^{-} ın direk yakalayıcısıdır.
Haptoglobülin	Ortamdaki serbest hemoglobini bağlar.
Hemopeksin	Serbest Hemoglobin'i bağlar.
Transferin	Radikal oluşumunu demir iyonlarını bağlayarak engeller.
Ürik asit	lipit peroksidasyonu inhibe eder veradikaltutucudur.
α-tokoferol	Zincir kırıcı olarak peroksi radikallerini engeller.
Glukoz	OH radikallerini tutar.
Bilirubin	Albümine bağlanarak yağ asitlerini peroksidasyona karşı korur.
Albümin	Cu^{+2} gibi geçiş metallerini bağlar.
Serüloplazmin	Demirin transferrine bağlanmasını kolaylaştırır.

Tablo 2. Antioksidan sisteme yardımcı olan enzim olmayan maddeler ve görevleri (Altuğ 2009).

1.5. Curcumin (Kurkumin)

Zerdeçal (Curcuma longa) Asya'nın tropik bölgelerinde, özellikle Pakistan, Hindistan, Çin ve Bangladeş de yetişen odunsu bitki olup bu rizozomlarından elde edilen tozunun yaklaşık %1 ile %3'nü curcumin isimli etken maddesi oluşturmaktadır. Bir tatlı kaşığı zerdeçal da yaklaşık 30-90 mg curcumin bulunur(Akpolat ve ark. 2007). Zerdeçalın yabani türüne caromatica, yerel türüne ise curcuma longa ismi verilmiştir(Warunyoupalin 2007). Curcuma longanın ana bileşeni olan curcumin ilk kez Vogel ve Pelletier tarafından 1815 yılında izole edilmiştir. Daha sonra 1870 yılında Daube tarafından kristalize edilmiş, 1910 yılında da Lampe ve ark. tarafından curcuminin biyokimyasal yapısı ortaya konmuştur(Warunyoupalin 2007).



Sekil 2.Curcuminin kimyasal formülü (merdan orunoğlu)

Tıbben 6000 yıldır Ayurveda adı verilen Hint Tıp Sisteminde zerdeçal kullanıldığı bilinmektedir (Aggarwal ve ark. 2003). Geniş bir etki skalasına sahip olan curcumin antioksidan, antidiyabetik, antikansorejen, antimutojenik, antibakteriyel, antiviral, antienflamatuvar, antinosiseptif olarak görev yapar(Somavawat ve ark. 2013,Tamaddonfard ve ark. 2008). Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü Korunma Bölümü yapılan çalışmalarda çeşitli deney hayvanlarında 3.5 g/kg a kadar olan dozlarda üç aydan uzun kullanımda herhangi bir yan etki bildirilmemiştir (Maheshwari ve ark. 2006, Sharma ve ark. 2005).

Curcumin bağırsaktan emilerek kana ve dokulara dağılmakta ve metabolize edildikten sonra safra ve idrar yolu ile atılmaktadır. Karaciğer ve bağırsakta curcumin glukuronid ve curcumin sülfata dönüştürülür ya da hekzahidrocurcumine indirgenir. Bağırsaklarda hidrojenasyon ile tetrahidrocurcumin'e (THC) dönüştürülür, geri kalan metabolitler curcumin ile aynı biyolojik özelliğe sahip değildir. Safrada ise fenulik asit ve dehidrofenulikasit formlarında bulunmaktadır (Pan ve ark. 1998,Anand ve ark. 2007). Ratlarda yapılan bir çalışmada oral yoldan

verilen curcuminin %60 oranında emildiği ve kalan büyük kısmının ise gaita ile glukuronid ve sülfat konjugatları halinde idrarla atıldığı gösterilmiştir(Sharma ve ark. 2005). Oral alımın ardından kan curcumin konsantrasyonları 1-2 saat sonra en yüksek düzeyde olduğu ve 12 saat içinde azaldığı gösterilmiştir(Maheshwari 2006, Sharma ve ark. 2005).

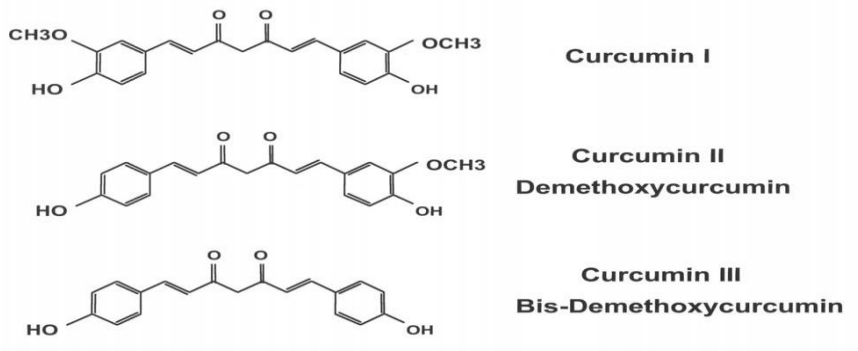
Curcuminin aktif bileşenleri curcuminoidlerdir ve zerdeçalın içerisinde demetoksicurcumin, bisdemetoksicurcumin ve diferuloylmethaneolmak üzere üç önemli curcuminoid bulunmaktadır(Aggarwal ve ark. 2003). Curcuminoidlerde atlantane, tumerone ve zingiberone dahil olmak üzere birtakım ester yağlar bulunmaktadır(Norris 2013, Hasima 2013).

Molekül formülü : $C_{21}H_{20}O_6$

Molar Kitle : 368,38 g/mol

Erime Noktası : 183 C°

IUPAC Kimliği : (1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione



Şekil 3.curcuminoidler (Aggarwal 2003)

Curcuminin asıl rengi pH 7’ nin üstünde iken sarıdan kırmızıya döner. Suda çözünmez(Çıkrıkcı 2008, Mehdawi 2010, Sharma ve ark. 2005). Ancak etanol, dimetil sülfoksit(DMSO), asetilaseton, kloroform, asedikasit, benzen toluen ve aseton gibi solventlerde çözünebilen bir molekül olarak bilinir(Norris 2013, Li ve ark. 2013).

Hücre zarından kolaylıkla geçerek sitoplazmaya ulaşması lipofilik özelliği sayesindedir ve yine lipofilik özelliğinden dolayı çekirdek zarı, endoplazmik retikulum ve plazma membranı gibi membranöz yapıları kolayca geçebilmektedir. Curcumin dolaşımda eser miktarda yer almakta veya görülmemektedir(Mehdawi 2010).

Fenolik antioksidanların toplanmasında curcuminin elektron donörü gibi davranması etkilidir(Aggarwal 2003). Barnabe-Pineda ve ark. 2004 curcuminin pH'ı değişen ortamlardaki durumlarını araştırarak keto ve enol olmak üzere iki taumerik formu olduğunu kaydetmişlerdir. Keto formu asidik olup pH 3-7 arasındadır ve bu formda curcumin çok etkili bir H atomu donörüdür. Enol formu ise pH 8'in üstündedir ve bu formu bir elektron vericisi gibi hareket etmektedir. Bu durum doğal bitkisel antioksidanların bağlanma aktivitesi için gerekli bir durumdur. Curcumin bazik pH' ya karşı dayanıksız olup yarım saat içinde trans-6-(4'hidroksi-3'metoksifenil)-2-4-diokso-5-hekzanal, ferulik asit, vanillin ve feruloilmetana indirgenir(Çıkrıkcı 2008, Mehdawi 2010, Sharma ve ark. 2005). İki keton grubu curcumine β posizyonunda bağlanmıştır. Fenil halkası üzerindeki hidroksil gruplarının varlığı tipik bir radikal tutma özelliği göstererek antioksidan olmasında rol oynar. Birçok reaktif oksijen radikallerini özellikle de nitrojen dioksit radikallerinin, süperoksit anyon radikallerinin ve hidroksil radikallerinin vücuttan atılımını kolaylaştırır. Genel olarak oksijen radikali reaksiyonunda ikili etkiye sahiptir. Hidroksil radikallerini tutar veya hidroksil radikali oluşumunu engeller(Pan 1998, Pandev 2011, Uzer 2007).

Curcuminin antioksidan aktivitesini süperoksit dismütaz, katalazlar ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimler aracılığıyla gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca bu etken madde antioksidan özelliğini oksidatif enzimlerin inhibisyonunda oksidatif kaskad ile etkileşime girerek ve demir gibi metal iyonlarına bağlanarak ya da bu iyonları devreden çıkararak sürdürmektedir(Pan 1998, Pandev 2011, Uzer 2007). Ayrıca bu etken madde serbest radikalleri tutma özelliğinden dolayı hücre DNA' sını da oksidatif hasardan korur.

Curcuminin börekler üzerinde de koruyucu etkili olduğu bildirilmektedir (Reddy 1992, Cohly 1998). Sharma ve ark.(2006) deneysel olarak diabetes mellitus oluşturdukları ratlara 2 hafta süreyle 15 ve 30 mg/kg dozunda curcumin vererek yaptıkları çalışmada curcuminin poliüriyi azalttığı, kreatin ve üre değerlerini normale

döndürdüğünü buna ilgili olarak da curcuminin böbrekler üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğunu kaydetmişlerdir.

.

Curcuminin antioksidan özelliği nedeniyle radyasyona karşı da koruyucu etkilidir(Pan 1998, Pandva 2000, Scartezzini 2000). Akpolat (2007) radyasyon verilen sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada curcuminin radyasyona karşı intestinal mukozayı koruduğu, bu nedenle de radyoterapi uygulamalarında kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Somanawat K. ve ark. (2013) farelere yüksek dozda parasetamol vererek yaptıkları çalışmada parasetamole ilgili hepatositlerde oluşan nekrotik değişiklikleri curcuminin azaltığı veya kısmen önlediğini kaydetmişlerdir. Gülçiçek (2008) sarılık oluşturulan sıçanlarda yaptıkları çalışmada sarılığa ilgili karaciğerde oluşan fibrozisi ve oksidatif hasarı curcuminin anlamlı olarak azalttığını bildirmişlerdir.

Serbest oksijen gruplarının dokulara yönelik meydana getirecekleri hasarın en önemli sonuçlarından biri olan lipit peroksidasyon olayı son yıllarda üzerinde durulup çalışmalar yapılan önemli konulardan biridir. Hücre sağlığının korunabilmesi için gerekli olan oksijen, bazı durumlarda toksik etkili serbest oksijen grubu oluşumuna sebep olabilir. Bu sebeple çoğu hastalığın patojenitesinde serbest oksijen gruplarıyla karşılaşmaktayız(Yarsan 1998, Erenel G ve ark. 1992, Comporti 1993, Drapper 1990, Şanlı 1994). Serbest oksijen grupları tekli elektron içeren ve etkin kimyasal bileşiklerdir. Ortamda kalma süreleri çok kısa olmasına karşın çeşitli yapılarla etkileşime girerek hücrenin yapı ve işlevlerinde önemli değişikliklere neden olurlar. Bunlar nükleik asitler, nükleotidler, proteinler ve protein yapısında olmayan tiyoller (tiyoloksidasyonu) gibi maddelerle tepkime, hücre zarı bileşenleri (protein, lipit, enzim, reseptör ve taşıma sistemleri) ile kolavent bağlanma, lipit peroksidasyonu başlatıcı gibi etkilerdir. Curcuminin çeşitli hayvan deneylerinde lipit peroksidasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Reddy 1992 ve Cohly 1998 nin ratlarda yaptığı deneysel çalışmalarda 100 mg' a kadar verdikleri curcuminin böbrek tubül epitellerini oksidatif strese karşı lipit peroksidasyonu, lipit degredasyonu ve sitolizi önleyici özellikleri sayesinde koruduğunu göstermişlerdir.

Oksijen dokuda iki şekilde indirgenir; birinci olarak %95 oranında 4 elektron olarak suya indirgenir, ikinci olarak ise oksijen %5 oranında basamak basamak tek değerli indirgenmeye uğrar. İkinci şekilde basamaklı indirgenme sonucunda serbest

oksijen grupları ortaya çıkar. Süperoksit, hidrojenperoksit, hidroksil ve singlet oksijen biyolojik sistemlerde şekillenen en önemli serbest oksijen gruplarıdır (Yarsan 1998). Belviranlı ve ark. (2013), gıda yoluyla curcumin takviyesinin beyin dokusunda lipit peroksidasyonu azaltarak koruyucu etki oluşturduğunu bildirmişlerdir.

1.6. Tacrolimus

Tacrolimus (FK506) ilk kez 1984 yılında Streptomyces tsukabaensis isimli toprak mantarından üretilmiştir (Lan 2005). Tacrolimus genellikle transplantasyon sonrası tedavide kullanılan 822 daltonluk (monohidrat) yüksek lipofilik karakterde makrolid grubu doğal bir antimikrobiyaldir(Hooks 1994). Kimyasal formülü $C_{44}H_{69}NO_{12}H_2O$ dur(Venkataramanan 1991).

Farmakokinetik özelliği kişideki yağ dokusu oranına göre değişir ve oral kullanımlarda emilimi %22 olup en yüksek konsantrasyona 4 saatte ulaşır (Venkataramanan 1990). Pediatrik hastalarda klirensi fazla olduğu için daha yüksek dozlarda verilmesi gerekebilir(Jain 1991). İlacın dokulara geçişi yüksektir, bu nedenle plasenta ve süte de geçebilir(Piekoszewski 1993). Tacrolimus bağırsaktan emilimi takiben kana geçtikten sonra öncelikli olarak albümin gibi plazma proteinine bağlanır, eritrositler ve lenfositlere dağılır. Bu nedenle kan konsantrasyonu plazmadan daha yüksektir. Vücuttan atılmadan önce nerdeyse tamamen metabolize edilir (Venkataramanan 1995). Tacrolimus karaciğer metabolik sisteminde sitokrom-P-450 enzim ailesi ile ilk eliminasyonuna uğrar ve kalan kısım safra ile atılır. Ancak % 1-3 kadarı idrarda bulunur(Undre 1999, Şhen 1997). Ana metabolizma ürünü olan 31-O-demethyl-tacrolimus immünsupresif etkiye sahiptir(Alak 1997). Tacrolimus esas olarak T hücrelerinin aktivasyonu ile etkileşime girerek immünsupresif etkisini gösterir. T hücrelerine girdikten sonra "FK506 binding protein" e bağlanır ve sitozolik hedef proteini FKBP ve FKBP12' ye yüksek affinite gösterip bunun üzerinden kalsinörini bloke eder. Tacrolimusun kalsinörini inhibe etmesi immün ve inflamatuvar cevapta rol oynayan sitokinlerin, lenfokinlerin ve adhezyon moleküllerin oluşumunu baskılar(Plosker 2000, Kincaid 1991). Kalsinörin fosfataz T hücrelerinin nükleer faktörünün aktivasyonunda görev alır. T hücrelerinin nükleer faktörü T hücrelerinden sitokin üretilmesi için gerekli transkripsiyon faktörüdür ve kalsinörinin tacrolimus tarafından bloke edilmesi DL-2-3-4-5 interferon-γ, TNF-d,

granülosit makrofaj koloni stimülan faktör, DL-2 ve DL-7 gibi T hücresi kaynaklı sitokinlerin üretiminin tamamen durmasına neden olur(Miyata 2005). Kalsinörin inhibitörlerinin en önemli avantajı diğer hızlı çoğalan hücreleri etkilemeden immün sistem üzerinde seçiçi davranmalarıdır(Reem 1992, Klee 1998, Tepperman 2010).

Yukarıda bahsedilen farmakokinetik etkileri nedeni ile tacrolimus esas olarak karaciğer ve böbrek gibi solit organ transplantasyonlarında immünsupresif ajan olarak kullanılmakta olup özellikle steroide dirençli doku reddi reaksiyonlarında etkilidir(Miyata 2005). Amerika Birleşik Devletlerinde "Food and Drug Administration (FDA)" kuruluşu tarafından 1994 yılında ilacın karaciğer transplantasyonu sonrası organ grefti reddini önlemeye yönelik kullanımı onaylanmıştır(Adalı 2007). Tacrolimus bugün allogenik karaciğer, böbrek veya kalp transplantasyonu yapılan hastalarda organ naklinin profilaksisi için endikedir. Tacrolimus ayrıca mystenia gravis, artrit ve atopik dermatit gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde de başarılı bir şekilde kullanılmaktadır(Iwasakı 2007). Tacrolimusun kapsül formu (prograf) ve intravenöz (İ.V) steril solüsyon formu mevcuttur. Kapsül formu 0.5 mg, 1 mg yada 5 mg anhidröz tacrolimus içermektedir. İnaktif bileşenleri ise laktaz, hidroksipropil, metilselüloz, kroskormeloz sodyum ve magnezyum stearattır. Steril solüsyon ise 1 ml de 5 mg anhidröz tacrolimus içerir. Tacrolimus injeksiyonu izotonik sodyum klorür yada %5 dekstroz solüsyonu ile seyreltilerek kullanılmaktadır(Plosker 2000).

Tacrolimus tedavisi sırasında ortaya çıkan yan etkiler dozla ilişkili olup bu yan etkiler genelde nefrotoksisite, nörotoksisite, kardiyomyopati, anemi, kronik diyare, diyabet, alerjik reaksiyonlar, lenfoproliferatif hastalıklar ve enfeksiyonlar şeklinde bildirilmiştir(Mayer 1997, Pirsch 1997, Gummert 1999). Nörotoksisite %8-20 oranında tremor, baş ağrısı, uykusuzluk daha nadiren afazi, konfüzyon ve psikoz biçiminde ortaya çıkar(Weir ve Fink 1999). Diabetes mellitus (DM) ve/veya glukoz intoleransı %10-20 oranında görülür(Mayer 1997,Pirsch 1997). Filler ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada pankreas adacık hücrelerinde vakuolizasyon, degranülasyon gibi morfolojik değişikliklerin tacrolimus alımının kesilmesinden sonra düzeldiği görülmüştür(Weir 1999). İmmun yetmezlikli fare ve rat deneylerinde tacrolimusun tümöral metastaz, anjiogenez ve DNA tamir inhibisyonuna katkıda bulunduğu ve doza bağımlı tümör başlatıcı etkisi olduğu da saptanmıştır(Dworkin

2009, Durandu 2005). Tacrolimusa bağlı nefrotoksisitenin nedeni afferent arteriollerin vazospazmına bağlı renal kan akımında azalmadır. Nefrotoksisitenin ilk evrelerinde vazokonstrüksiyon ve oksidatif hasardan dolayı glomeruler filtrasyon hızında azalma oluşmakta ve bu durumda idrardan protein (mikroalbümin) atılımı artmaktadır. Ancak daha ileri evrelerde tubülus epitelinde hasar oluşmakta ve bu hasarların şiddetine bağlı olarak serum kreatinin ve BUN düzeylerinde de artış görülmeye başlamaktadır(Vaidya 2008). Kronik tacrolimus nefrotoksisitesinde serum kreatinin ve BUN düzeylerinin artışı uzun süreli ve şiddetli bir oluşumun habercisi olabilmektedir(Li 2009). Tacrolimus kullanımı sırasında oluşan nefrotoksisitede görülen bazı patolojik değişimler aşağıda sıralanmıştır:

Akut gelişen nefrotoksisitede daha çok arteriollerde ve glomerüllerde patolojik değişiklikler görülmekte olup bu lezyonlar damar endotelinde şişme, vakuolizasyon ve nekroz ile karakterize akut arteriopatidir. Bu lezyonlara ilişkin ilave trombotik mikroanjiopati de gelişebilir. Ayrıca özellikle proksimal tubül epitellerinde izometrik vakuolizasyon, intertisiyel ödem ve nekroz oluşur(Naesens 2009).

Kronik tacrolimus nefrotoksisitesinde patolojik değişimler daha çok tubülüslerde görülür ve bu değişimler genellikle tubüler atrofi ile tubüler mikrokalsifikasyondur. Ayrıca intertisiyel fibrozis, arterioler hiyalinozis ve fokal segmental glomeruloskleroz (FSGS) da oluşur(Naesens 2009).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1.Gereç

Çalışmada S Ü Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, ortalama 12-16 haftalık, ağırlıkları 200-400 gr arasında değişen, 30 adet Wistar albino rat kullanıldı. Çalışma S Ü Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Çalışmada ratlar 23±2 C° sıcaklıkta, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda, yem ve suyun eşit şartlar ve miktarda adlibitum olarak verildiği kafeslerde (kontrol grubu 6, diğerleri 8'erli rat olmak üzere 4 grup halinde) tutuldu. Çalışmanın başlangıcından itibaren ratların canlı ağırlıkları haftalık olarak ve nekropsiden hemen önce tartıldı.

Hayvan deneyleri için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AKÜHADYEK)'nun 23.07.2014 tarih ve 49533702/100 sayılı kararı ile izin alınmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Deney Hayvanları Uygulama Planı

Deney hayvanları canlı ağırlıkları esas alınarak gruplara ayrıldı, gruplar ve uygulamalar aşağıda listelendi:

1-Kontrol Grubu (n:6): Bu grupta bulunan ratlara 21 gün boyunca pelet yemle adlibitum olarak beslendi.

2-Curcumin Grubu (n:8): Bu grupta bulunan ratlara 21 gün boyunca curcumin(sigma-china) uygun çözücüde çözülerek 300mg\kg\gün dozunda oral gavaj yoluyla verildi.

3-Tacrolimus Grubu (n:8): Bu grupta bulunan ratlara çalışmanın 8. Gününden itibaren 14 gün boyunca tacrolimus(Prograf, Astellas-İrlanda) 2mg\kg\gün dozunda intraperiotenal yolla verildi.

4-Tacrolimus + Curcumin (TAC+CUR) Grubu (n:8): Bu grupta bulunan ratlara 21 gün boyunca 300mg\kg\gün dozunda curcumin oral gavaj yoluyla, çalışmanın 8. gününden itibaren 14 gün boyunca 2mg\kg\gün dozunda tacrolimus intraperiotenal yolla uygulandı.

Çalışmanın başlangıcında, (0, 7, 14 ve 21 günlerinde) her hafta ve çalışma sonunda bütün ratların canlı ağırlık ölçümleri yapıldı.

Çalışmada son tacrolimus ve curcumin uygulamasından 24 saat sonra ratlara 10mg\kg ksilazin subcutan ve 40mg\kg thiopental intramüsküler yolla verilerek uyutuldu ve biyokimyasal analizler için ratların kuyruk venasından 1 cc kan alındıktan sonra tüm ratlar servikal dislokasyonla sakrifiye edildi. Ötenazi işlemini takiben aynı gün içerisinde bütün ratların nekropsileri yapılarak böbrek, karaciğer, kalp ve beyinden doku örnekleri alınıp %10 luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Tespit işlemini takiben dokular ksilol, dereceli alkoller ve parafin serilerinden geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Parafin bloklardan 5µm kalınlığında kesitler alınarak rutin H&E (hematoksilen-eozin) boyama yöntemiyle (Luna 1968) boyandı ve kesitler ışık mikroskobunda incelendi. Dokuların örnek lezyonlarından da ışık mikroskobik resimler(Olympus BX51, Tokyo, Japan) alındı.

Biyokimyasal analizler için içerisinde jel bulunan serum sesaparatör biyokimya tüplerine kan örnekleri alındıktan sonra +4 C°'de 30 dk. bekletildi ve takibinde 3200 rpm'de 15 dk santrifüj edilerek serumların ayrılması sağlandı. Elde edilen serumlar 30 dk içerisinde dondurulmadan, BT-3000 plus-İtalya test analiz cihazında AST, ALT, GGT, Kreatin, Albümin ve Total Bilüribin değerlendirildi.

2.2.2. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen tüm sayısal veriler ve skorlar "Statistical Packages for the Social Science" (SPSS) 20.0 kullanılarak istatistiksel yönden analiz edildi. Tanımlayıcı istatistiksel analizler (frekans, yüzde dağılımı, ortalama±standart sapma) yapıldı. Etik kural gereği istatistiksel analiz yapılmasına izin verebilecek minimum sayıda deney hayvanı kullanılması amaçlanmış olduğundan her gruba ait örneklem sayısı küçük tutuldu.

Doku ve organlarda şekillenen histopatolojik bulguların değerlendirilmesinde aşağıda tabloda belirtilen kriterlere göre skorlama yapıldı(Tablo 3).

Skor no	Böbrek
0	Belirgin bir patolojik bulgu gözlenmedi.
1	Proksimal tubül epitellerinde şişkinlik.
2	Proksimal tubül epitellerinde dejenerasyon ve çekirdeklerinde piknoz ile yer yer dökülmeler.
3	Tubül epitellerinde nekrozlar ve yaygın dökülmeler ile bazı tubül lümenlerinde hiyalini kitleler. Tubüllerde dilatasyonlar.
	Karaciğer
0	Belirgin bir patolojik bulgu gözlenmedi
1	Hepatositlerde sınırlı alanlarda şişkinlik.
2	Hepatositlerde hidrobik dejenerasyon ve bazılarında vakuol oluşumu ile sinüzoitlerde daralmalar.
3	Hepatositlerde yaygın vakuoler dejenerasyon ve yağlanma.
	Beyin
0	Belirgin bir patolojik bulgu gözlenmedi.
1	Perivasküler alanlarda hafif dereceli ödemler.
2	Perivasküler alanlarda ödemler ile bazı nöronlarda şişkinlik.
3	Perivasküler alanlarda şiddetli ödem ve bazı nöronlarda iskemik değişiklikler.
	Kalp
0	Belirgin bir patolojik bulgu gözlenmedi.
1	Miyositler şişkin ve sitoplazmaları kısmen eozifilik, hiperemi.
2	Miyositler şişkin, sitoplazmaları eozifilik ve striasyon kaybı.
3	Miyositler şişkin, sitoplazmaları eozinofilik ve çekirdeklerde piknoz.

Tablo 3. Bulguların skorlamasında kullanılan kriterler Histopatolojik değerlendirme için skorlama tablosu

3.BULGULAR

Deney hayvanı olarak kullanılan ratların çalışma boyunca yapılan canlı ağırlık ölçümleri ve başlangıçtaki ağırlıkları ile çalışmanın sonundaki ağırlık farklarına ilgili sonuçlar tablo 4'de verilmiştir.

	Başlangıç	**1.hafta**	**2.hafta**	**Son**	**Fark(g.)**
Kontrol	225g	238g	251g	269g	+44
Curcumin	213g	215g	236g	238g	+15
Tacrolimus	235g	235g	234g	226g	-9
TAC+CUR	218g	220g	225g	227g	+9

Tablo 4.Ratların çalışma gruplarına göre haftalık canlı ağırlık ortalamaları.

3.1. Patolojik Bulgular

3.1.1 Makroskobik Bulgular

Ratların nekropsilerinde genel olarak belirgin bir makroskobik lezyon gözlenmedi. Yalnız curcumin grubu bir ratın akciğerlerinde 4-5 mm çapında bir apse oluşumuna rastlandı.

3.1.2. Mikroskobik Bulgular

Çalışmada kullanılan ratlardan alınan doku örneklerinin mikroskobik incelemelerinde hücre ve dokularda belirgin değişiklikler özellikle böbrek ve karaciğerlerde gözlendi. Böbreklerde özellikle proksimal tubül epitellerinde olmak üzere dejenerasyon ve nekrozlar, karaciğerde ise hepatositlerde şişkinlik ve vakuol oluşumlarının belirgin olduğu değişiklikler gözlendi. Daha hafif düzeyde olmak üzere kalp ve beyinde de değişiklikler dikkati çekti. Beyin ile ilgili bulgular genelde ödem ve nöronlarda kromatoliz şeklinde idi. Diğer organlarda kayda değer bulgulara pek rastlanmadı. Belirlenen bu histopatolojik bulgular yöntemde belirtilen kriterler esas alınarak 0, 1, 2 ve 3 rakamları ile skorlandı. Elde edilen bu skorlar tablo haline getirilerek mikroskobik bulgular olarak sunuldu (Tablo 5). Mikroskobik incelemeler sırasında böbrek, karaciğer, kalp ve beyin kesitlerinden histopatolojik tabloyu yansıtan

resimler de alındı (Şekil 1, 2, 3, 4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

	rat	böbrek	karaciğer	Kalp	Beyin
Kontrol	1	1	1	0	0
	2	1	0	0	0
	3	1	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
	6	0	0	0	0
Curcumin	1	1	2	0	0
	2	1	2	1	0
	3	1	1	1	0
	4	1	1	0	0
	5	1	1	0	0
Tacrolimus	1	2	2	1	1
	2	2	2	0	1
	3	2	2	1	1
	4	2	2	1	1
	5	2	2	1	2
	6	2	2	1	1
	7	2	2	1	1
TAC+CUR	1	1	1	1	0
	2	1	1	1	1
	3	1	1	1	0
	4	1	1	1	0
	5	1	1	1	0
	6	1	1	1	0
	7	2	2	1	1
	8	1	1	1	1

Tablo 5: Mikroskobik incelemeler sonucu dokuların skorları.

3.1.3 Mikroskobik Histopatolojik Bulguların İstatistiksel Analizi:

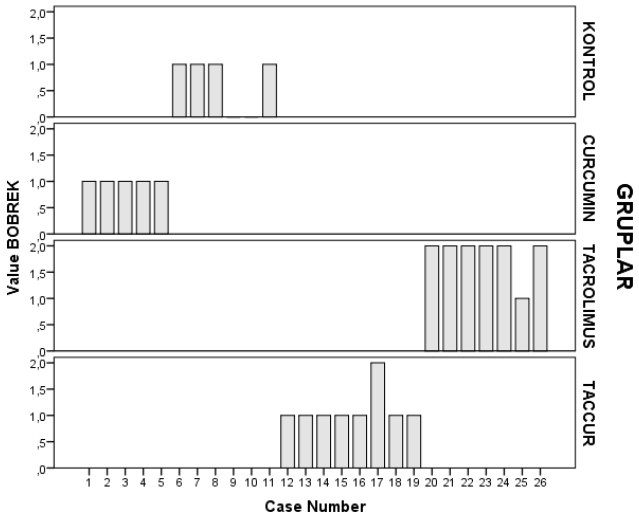
Histopatolojik incelemelerde belirlenen skorlara ilgili elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında böbrek(X^2=15.900, p=0.001), KC(X^2=17.327, p=0.001), kalp(X^2=16.643, p=0.001) ve beyin (X^2=17.308, p=0.001) dokularında histopatolojik skorlama düzeyleri açısından istatistiksel anlamlı farklılık tespit edildi(Tablo 6, 7).

Değişken	Grup	N	Minimum	Maksimum	Medyan	SD
Böbrek	KONTROL	6	0	1	1.00	0.52
	CURCUMIN	5	1	1	1.00	0.00
	TACROLİMUS	7	1	2	2.00	0.38
	TACCUR	8	1	2	1.00	0.35
KC	KONTROL	6	0	1	0.00	0.41
	CURCUMIN	5	1	2	1.00	0.55
	TACROLİMUS	7	1	2	2.00	0.38
	TACCUR	8	1	2	1.00	0.354
Kalp	KONTROL	6	0	0	0.00	0.00
	CURCUMIN	5	0	1	0.00	0.55
	TACROLİMUS	7	0	1	1.00	0.38
	TACCUR	8	1	1	1.00	0.00
Beyin	KONTROL	6	0	0	0.00	0.00
	CURCUMIN	5	0	0	0.00	0.00
	TACROLİMUS	7	1	2	1.00	0.38
	TACCUR	8	0	1	0.50	0.54

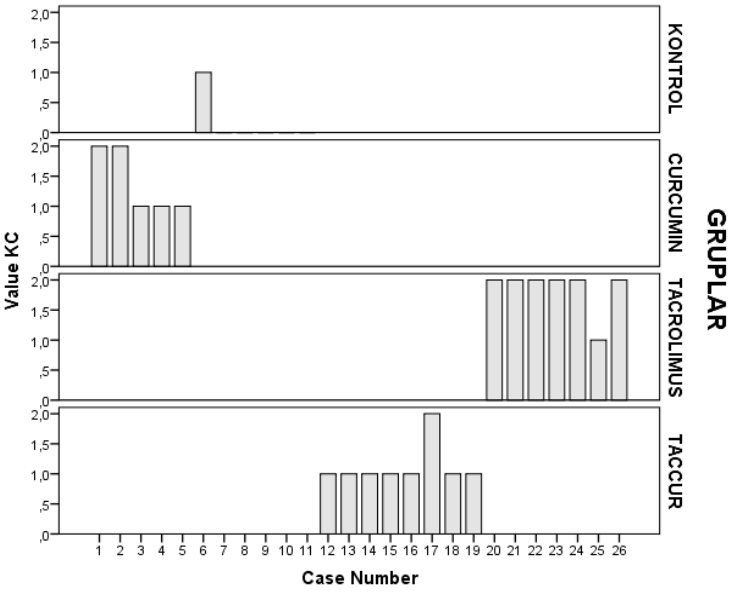
Tablo 6. Histopatolojik bulguların istatistiksel olarak karşılaştırılması.

Böbrek, karaciğer, beyin ve kalple ilgili histopatolojik bulguların istatistiksel analizleri sonucu her bir organa ait bulguların gruplar arası dağılımı grafik halinde verilmiştir(Grafik 1, 2, 3 ve 4).

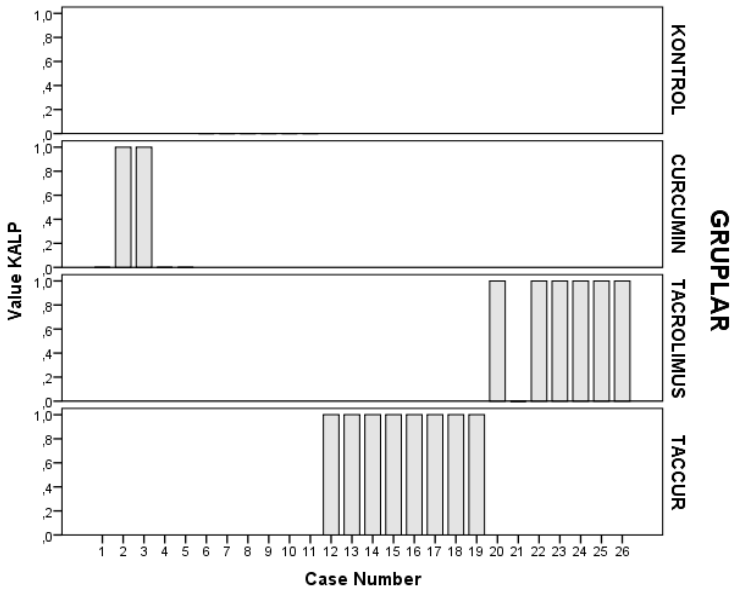
Grafik 1. Böbrekle ilgili histopatolojik bulguların gruplar arası dağılımı.



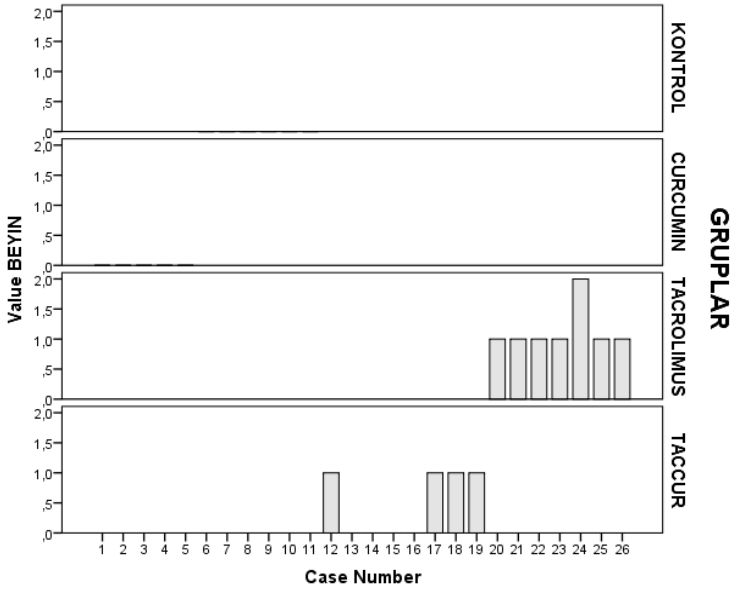
Grafik 2. Karaciğere ilgili histopatolojik bulguların gruplar arası dağılımı.



Grafik 3. Kalbe ilgili histopatolojik bulguların gruplar arası dağılımı.



Grafik 4. Beyinle ilgili histopatolojik bulguların gruplar arası dağılımı.



Değişken	Z	p
BOBREK	15.990	**0.001**
KC	17.327	**0.001**
KALP	16.643	**0.001**
BEYIN	17.308	**0.001**

Tablo7. Histo-mann whitney u bonferroni düzeltme testi (p<0.0083)

Gruplar arası ikili karşılaştırmada böbrek için histopatolojik evreleme düzeylerinin KONTROL/TACROLIMUS (Z=-2.951, p=0.003), CURCUMIN/TACROLIMUS (Z=-2.803, p=0.005) ve TACROLIMUS / TAC+CUR(Z=-2.739, p=0.006) grupları arasında farklı olduğu gözlenmiştir.

KC için histopatolojik evreleme düzeylerinin KONTROL/CURCUMIN (Z=-2.659, p=0.008), KONTROL/TACROLIMUS (Z=-3.184, p=0.001), KONTROL/ TAC+CUR (Z=-3.013, p=0.003) ve TACROLIMUS/TAC+CUR(Z=-2.739, p=0.006) grupları arasında farklı olduğu gözlenmiştir.

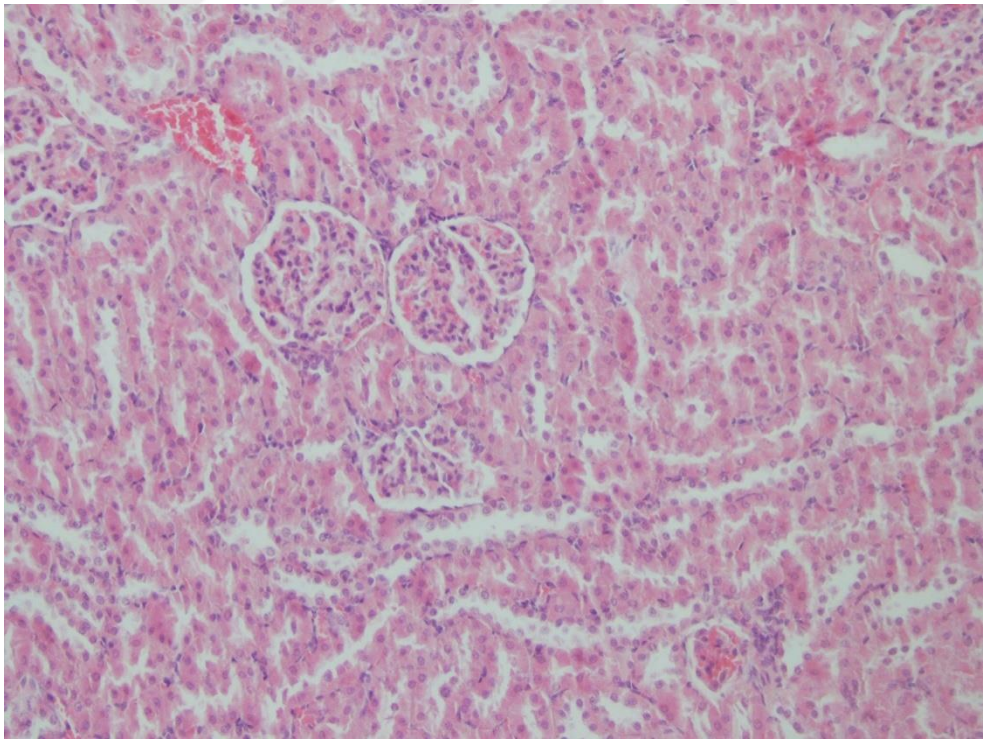
Öte yandan kalp için histopatolojik evreleme düzeylerinin KONTROL/ TACROLIMUS (Z=-2.969, p=0.003) ve KONTROL/TAC+CUR (Z=-3.606, p<0.001)grupları arasında farklı olduğu da gözlenmiştir.

Beyin için histopatolojik evreleme düzeylerinin KONTROL/ TACROLIMUS (Z=-3.338, p=0.001) ve CURCUMIN/ TACROLIMUS (Z=-3.162, p=0.002)grupları arasında farklı olduğu da gözlenmiştir(Tablo8).

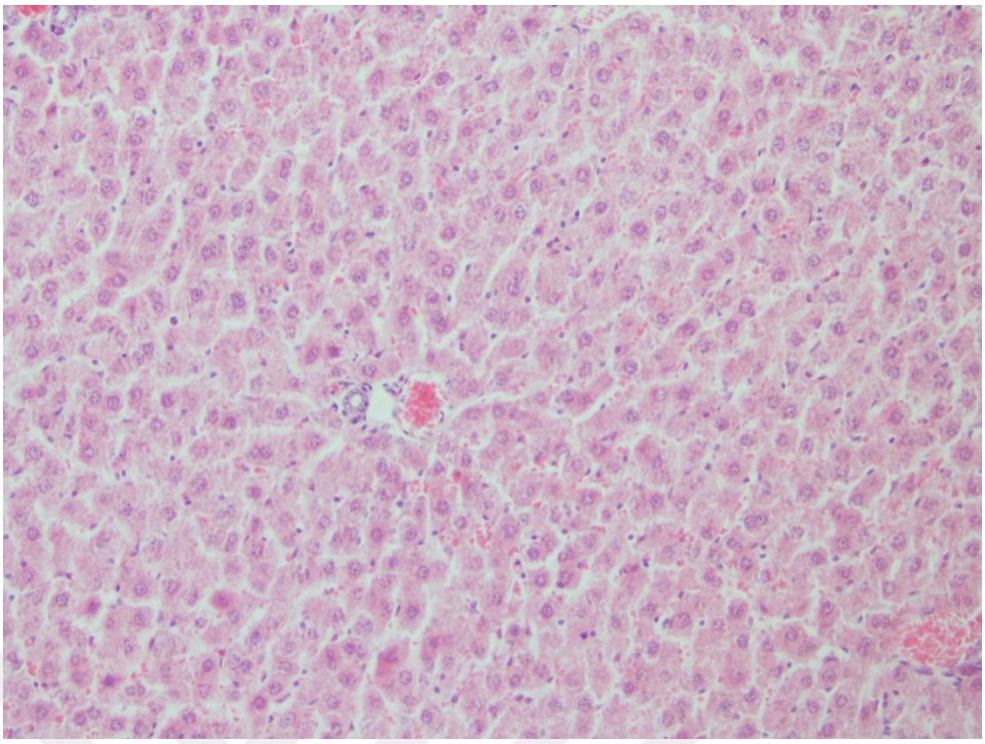
	Böbrek		**KC**		**Kalp**		**Beyin**	
Gruplar	**Z**	**p**	**Z**	**p**	**Z**	**p**	**Z**	**p**
KONTROL/ CURCUMIN	-1.361	0.174	-2.659	**0.008**	-1.633	0.102	0.001	1.000
KONTROL/ TACROLIMUS	-2.951	**0.003**	-3.184	**0.001**	-2.969	**0.003**	-3.338	**0.001**
KONTROL/TAC+CUR	-1.800	0.072	-3.013	**0.003**	-3.606	**<0.001**	-1.975	0.048
CURCUMIN/ TACROLIMUS	-2.803	**0.005**	-1.586	0.113	-1.586	0.113	-3.162	**0.002**
CURCUMIN/ TAC+CUR	-0.791	0.429	-1.100	0.271	-2.400	0.016	-1.826	0.068
TACROLIMUS/ TAC+CUR	-2.739	**0.006**	-2.739	**0.006**	-1.069	0.285	-2.233	0.026

Tablo 8.Histo- mann whitney u test ve Bonferroni düzeltme testi (p<0.0083)

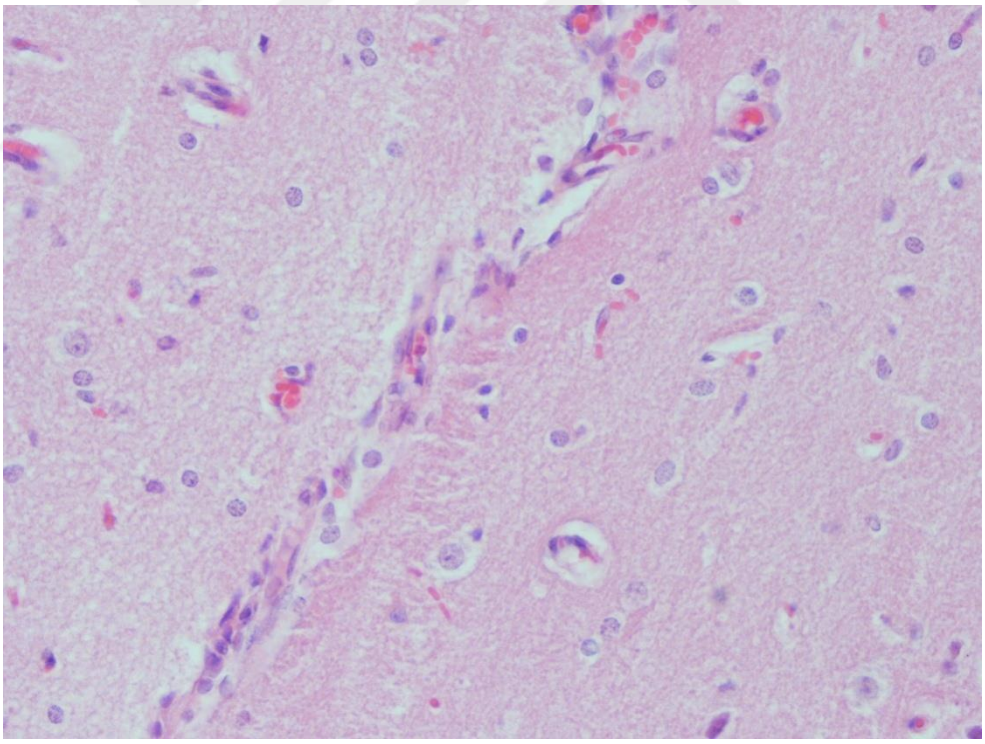
3.1.4 Mikroskobik Resimler



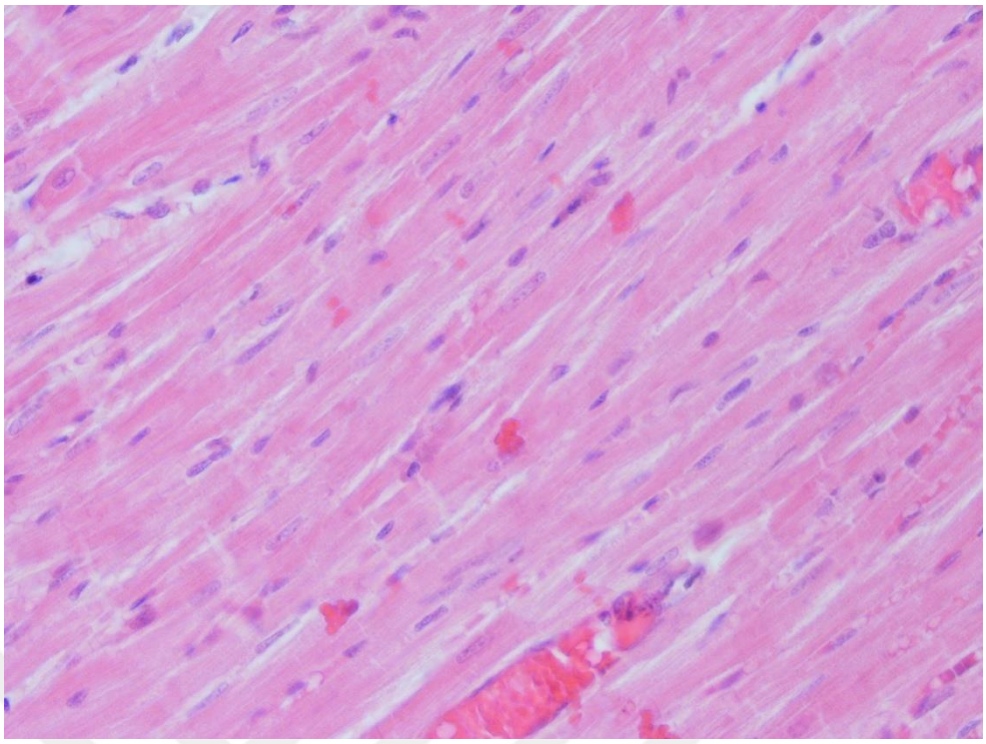
Şekil 1. Kontrol grubu. Böbrek. Glomerulus ve tubülüsler (Skor 0). H&E, X200



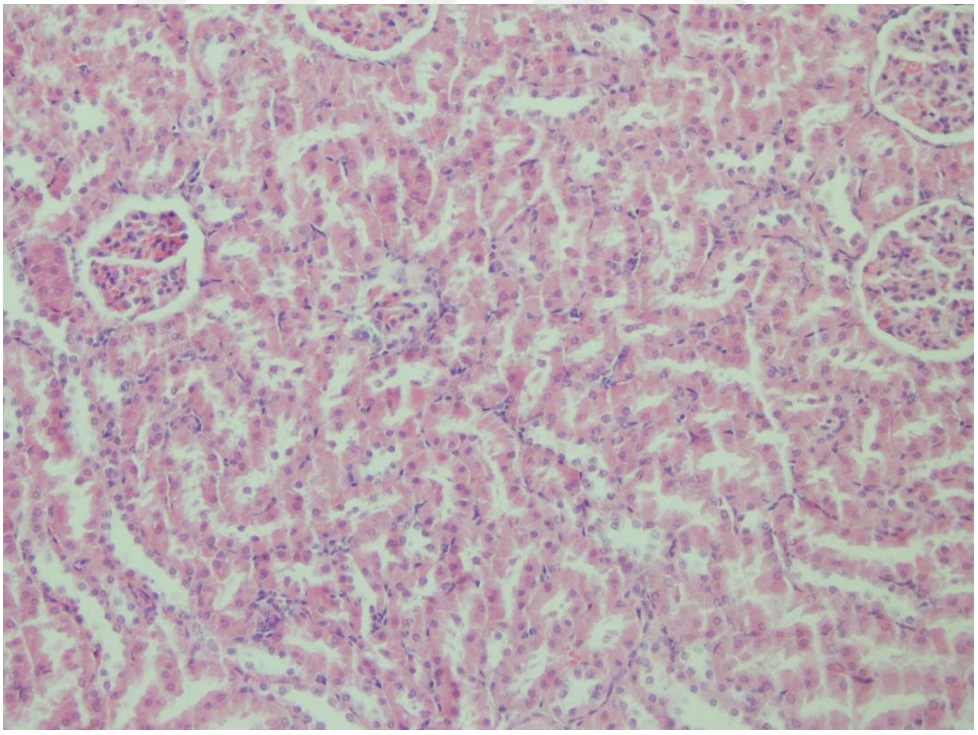
Şekil 2. Kontrol grubu. Karaciğer. Portal alan ve hepatositler(skor 0). H&E, X400.



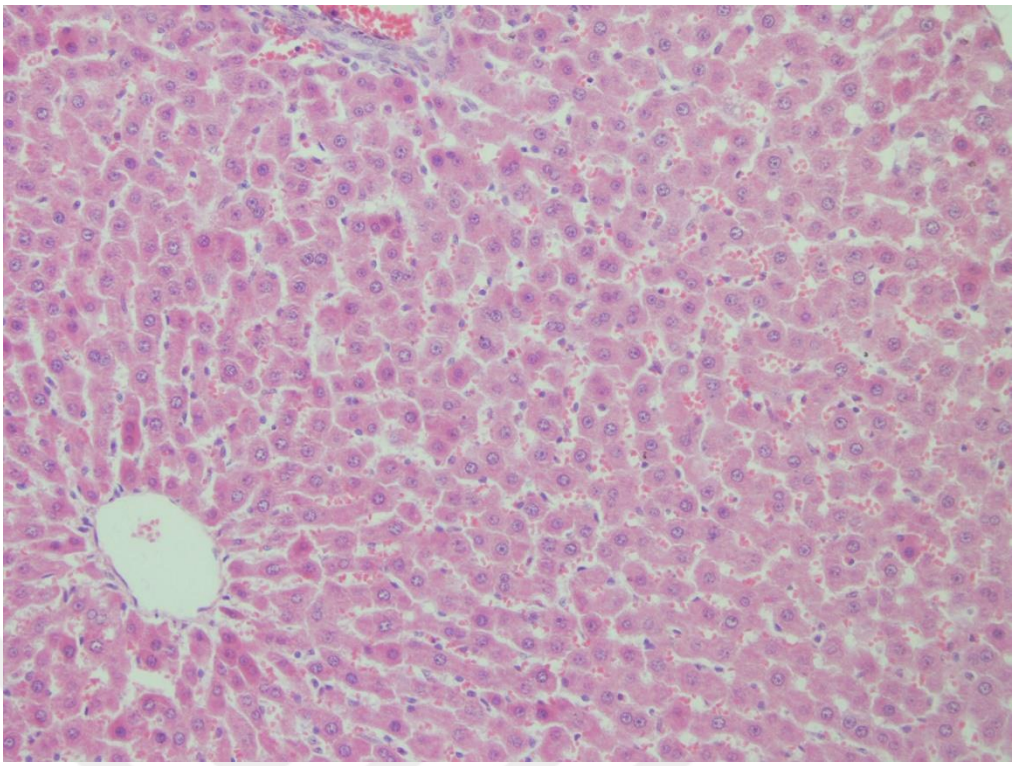
Şekil 3. Kontrol grubu. Beyin. Nöropil doku ve kan damarları(skor 0). H&E, X400



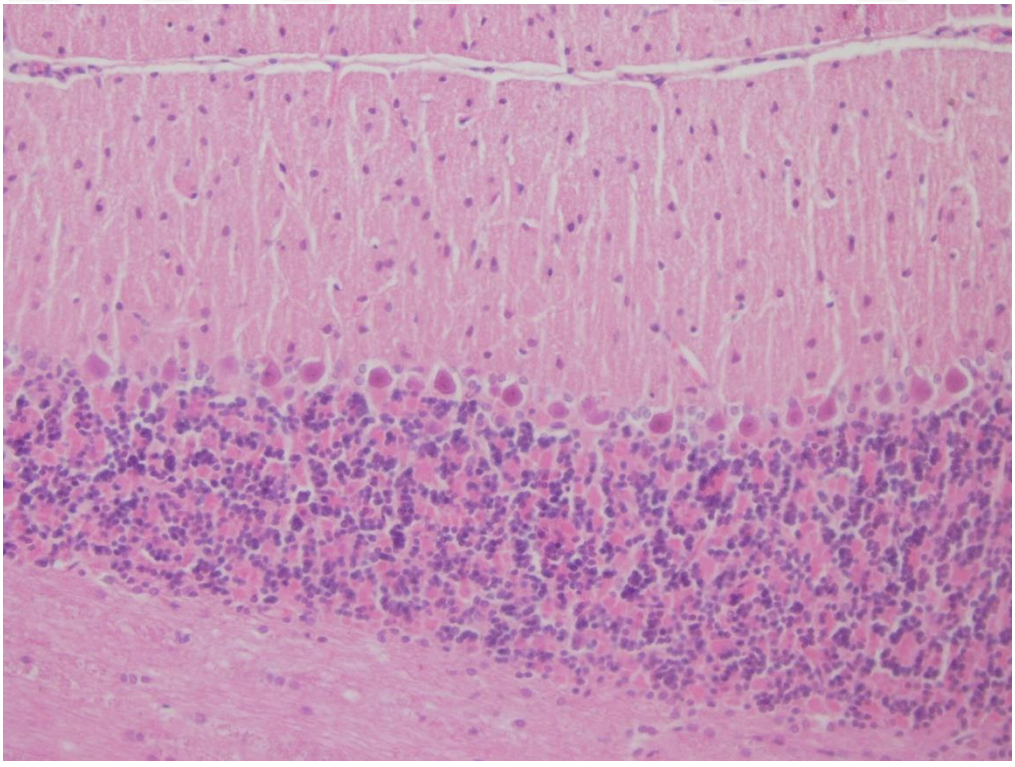
Şekil 4. Kontrol grubu. Kalp. Miyositler ve kan damarları(skor 0). H&E, X400.



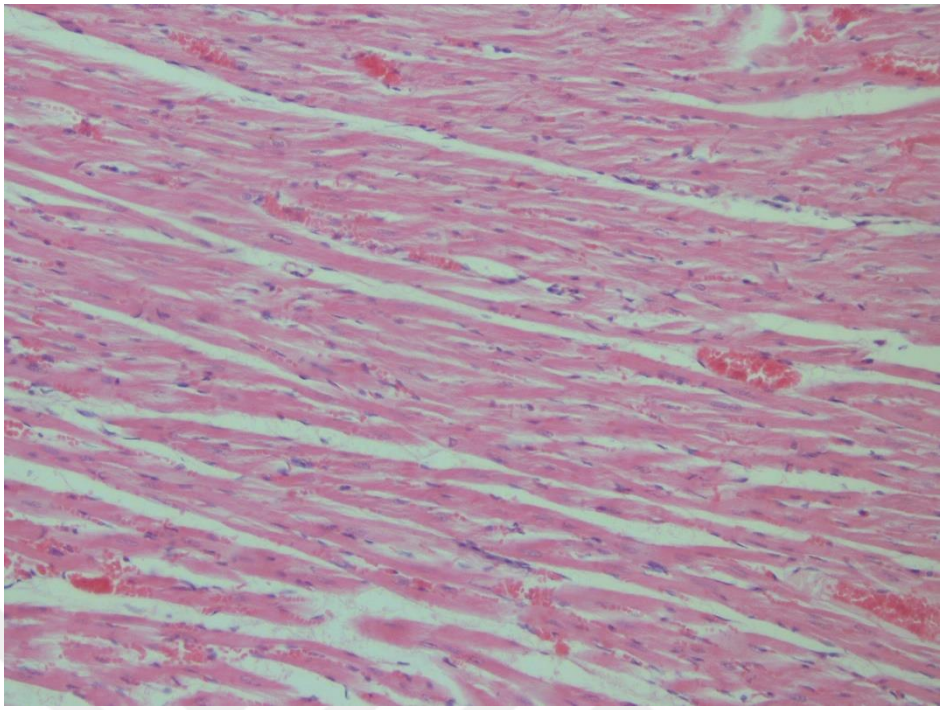
Şekil 5:Curcumin grubu.Böbrek. Tubül epitellerinde hafif dereceli dejenerasyonlar (skor 1). H&E, X200.



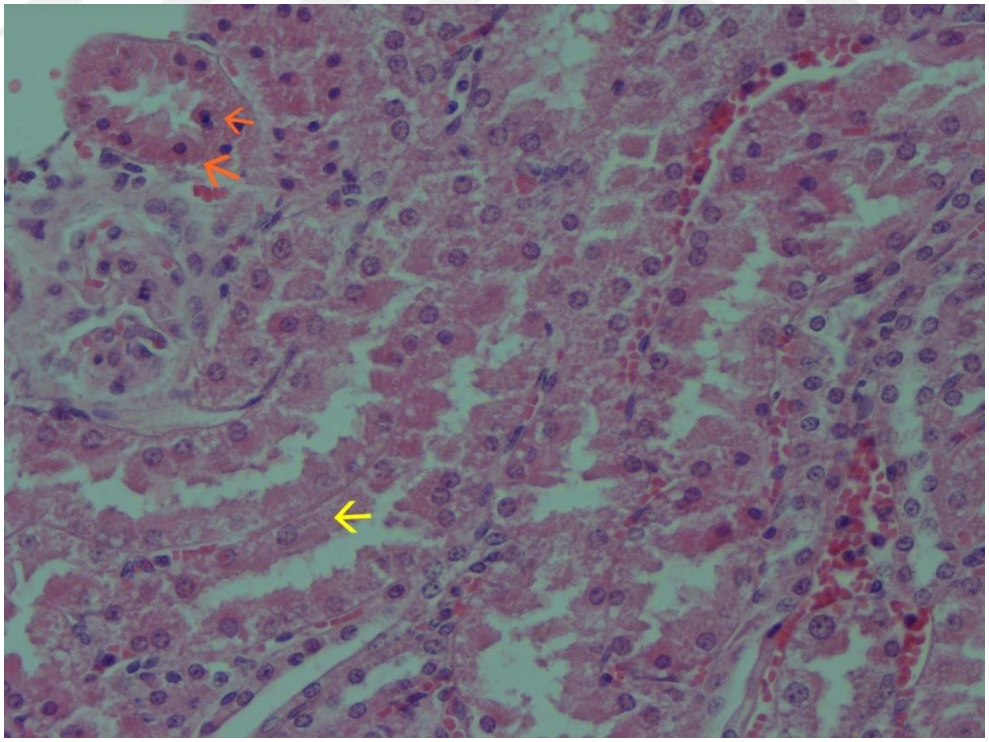
Şekil 6. Curcumin grubu. Karaciğer. Hepatosilerde hafif dereceli şişkinlik(skor 1). H&E, X200.



Şekil 7.Curcumin Grubu.Beyin. Serebellum, nöropil doku ve kan damarları. (skor 0). H&E, X200.

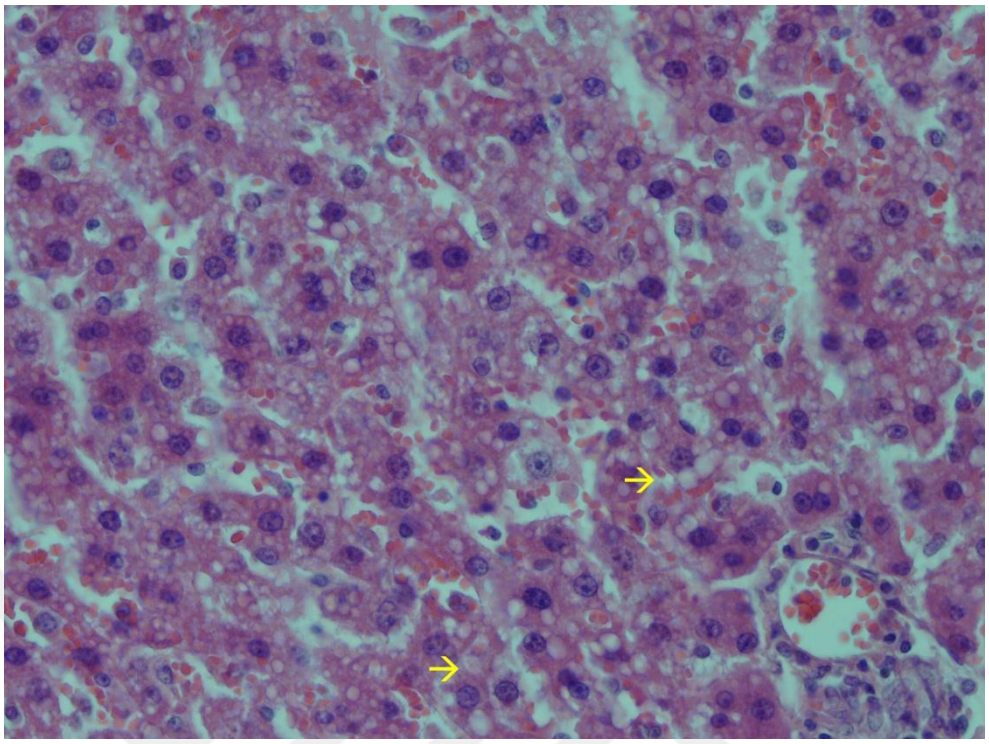


Şekil 8. Curcumin Grubu. Kalp. Miyositler. (skor 0). H&E, X200.

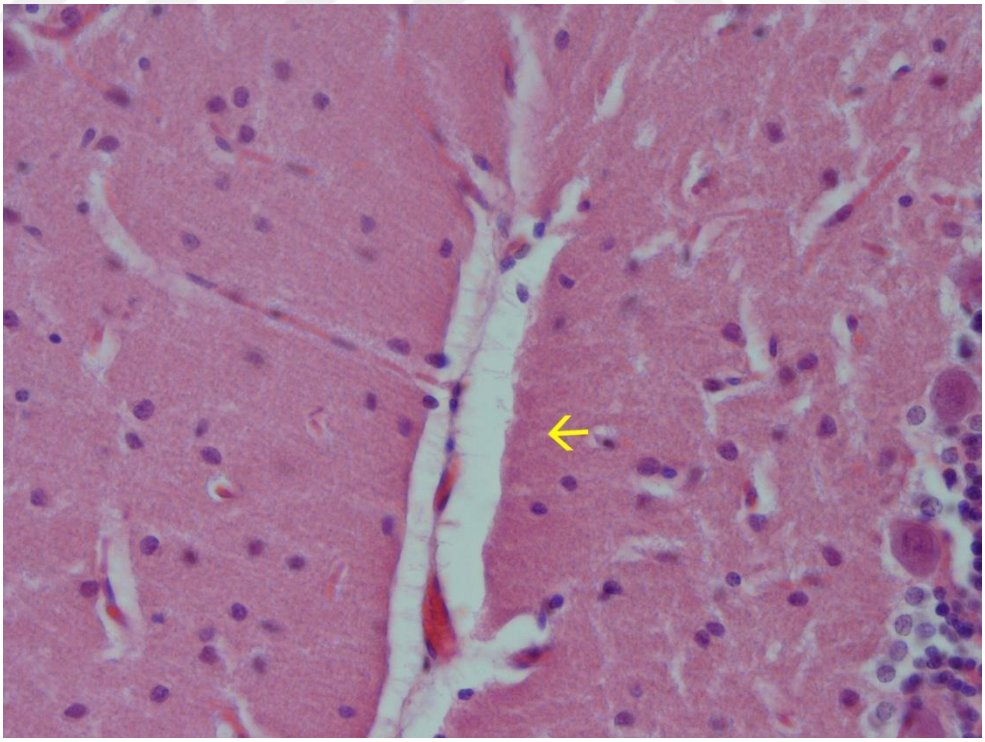


Şekil 9. Tacrolimus Grubu. Böbrek. Proksimal tubül epitellerinde dejenerasyon.

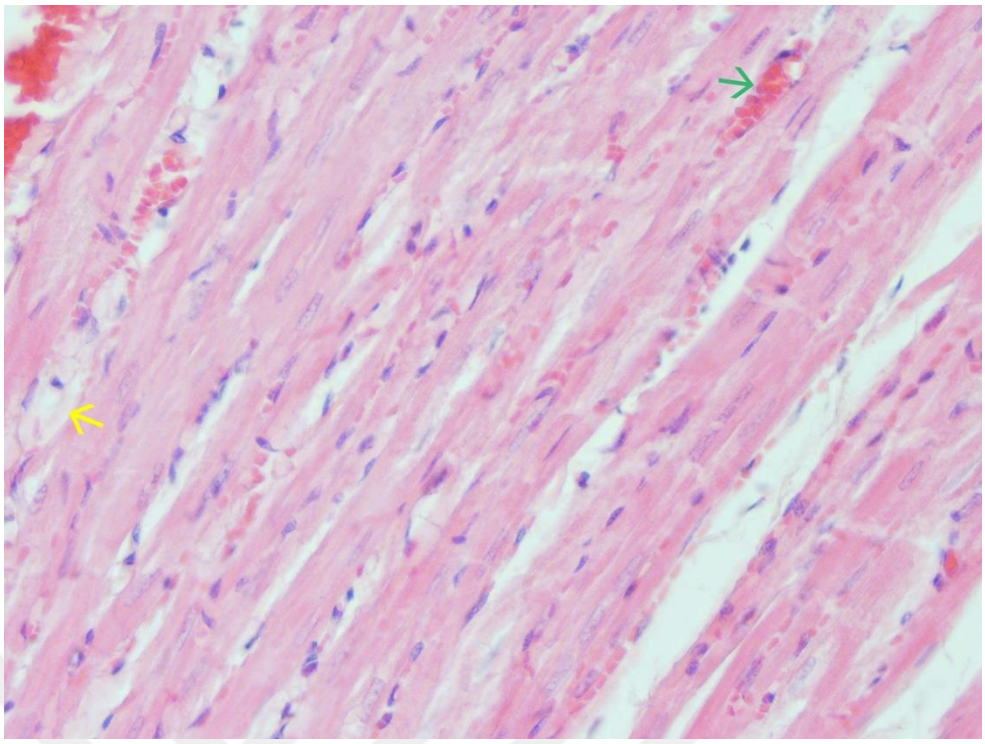
(sarı ok) ile bazı epitellerde nekroz(turuncu ok).(skor 2). H&E, X400.



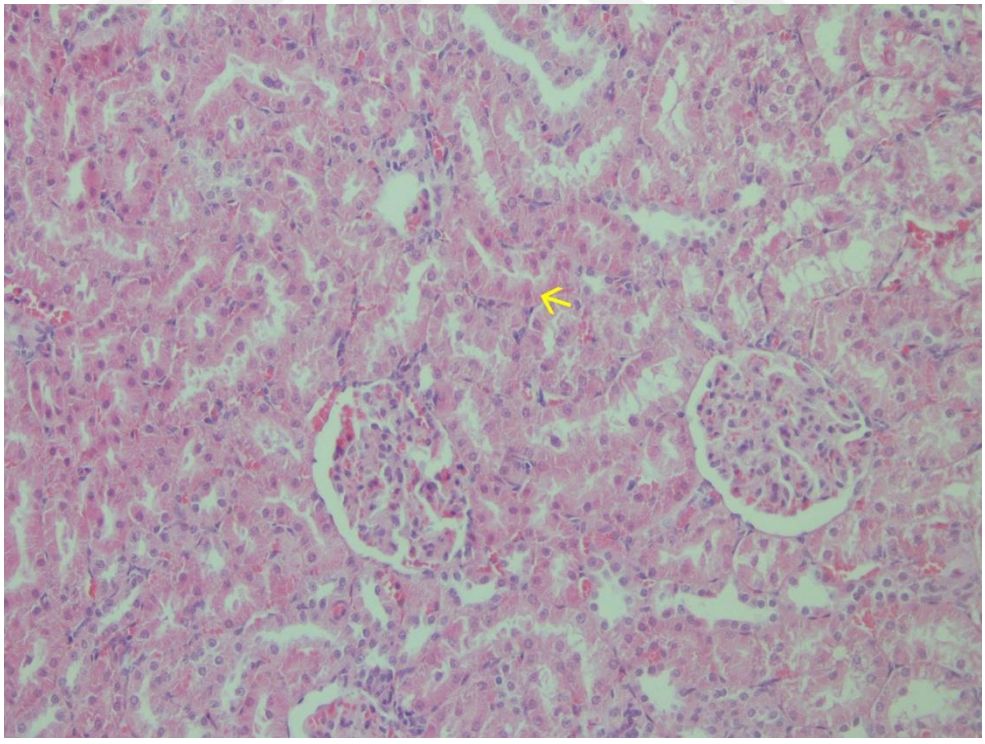
Şekil 10.Tacrolimus Grubu. Karaciğer. Hepatositlerde küçük damlacıklı vakuoller(sarı ok)(skor 2). H&E, X400.



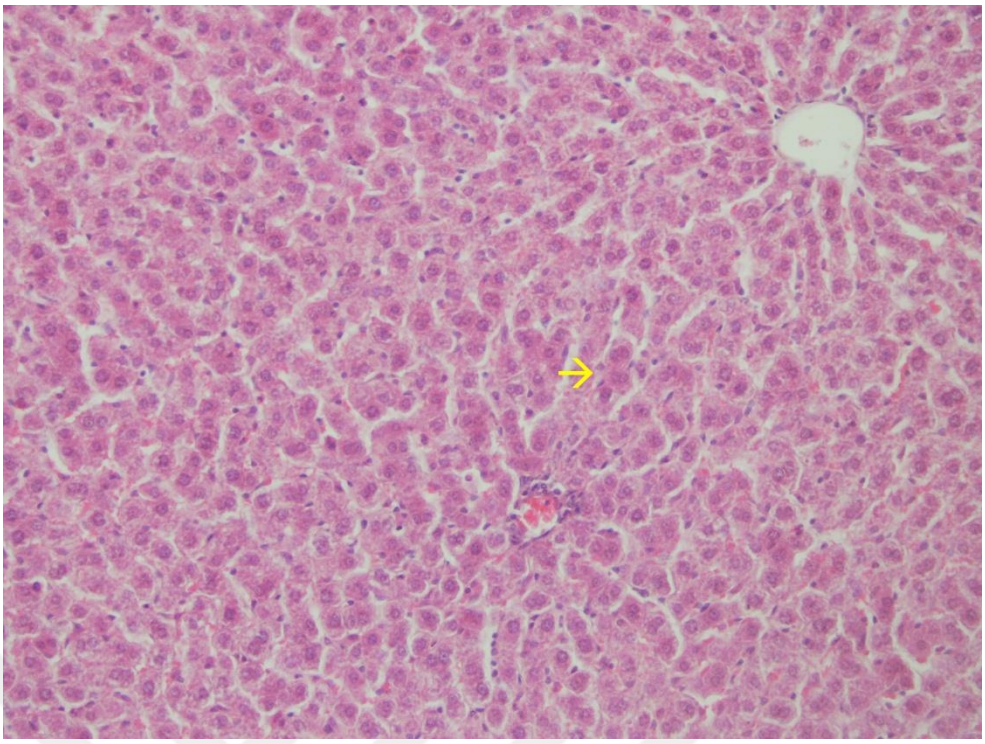
Şekil 11. Tacrolimus Grubu. Beyin. Perivasküler ödem.(Skor 1). H&E, X400.



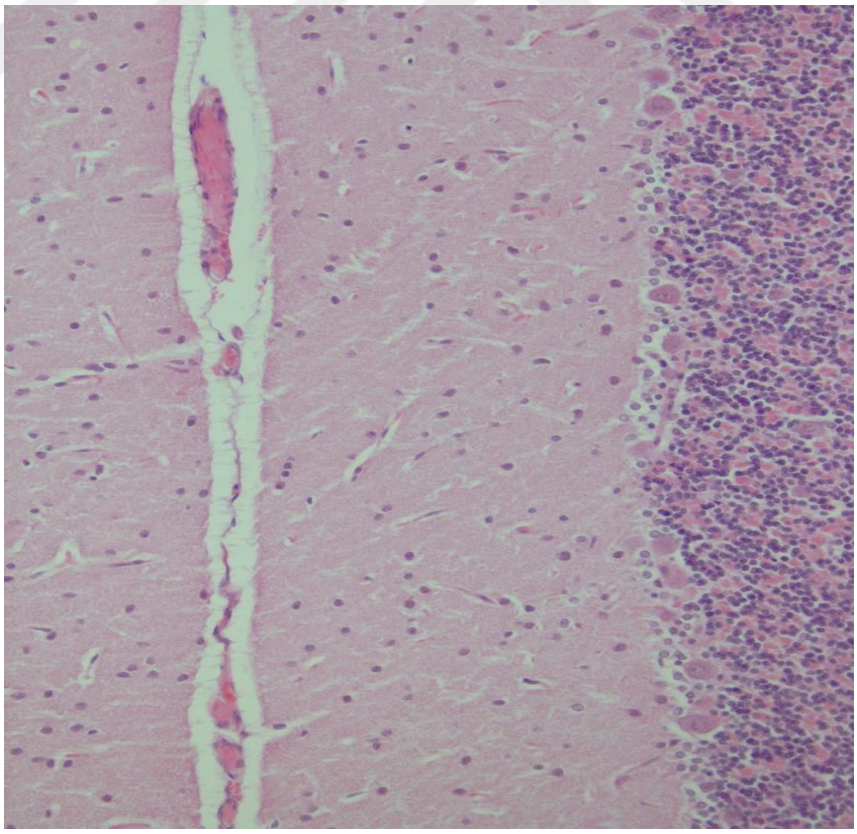
Şekil 12.Tacrolimus Grubu.Kalp. Hiperemi (yeşil ok)ve ödem(sarı ok). (skor 1).H&E, X400.



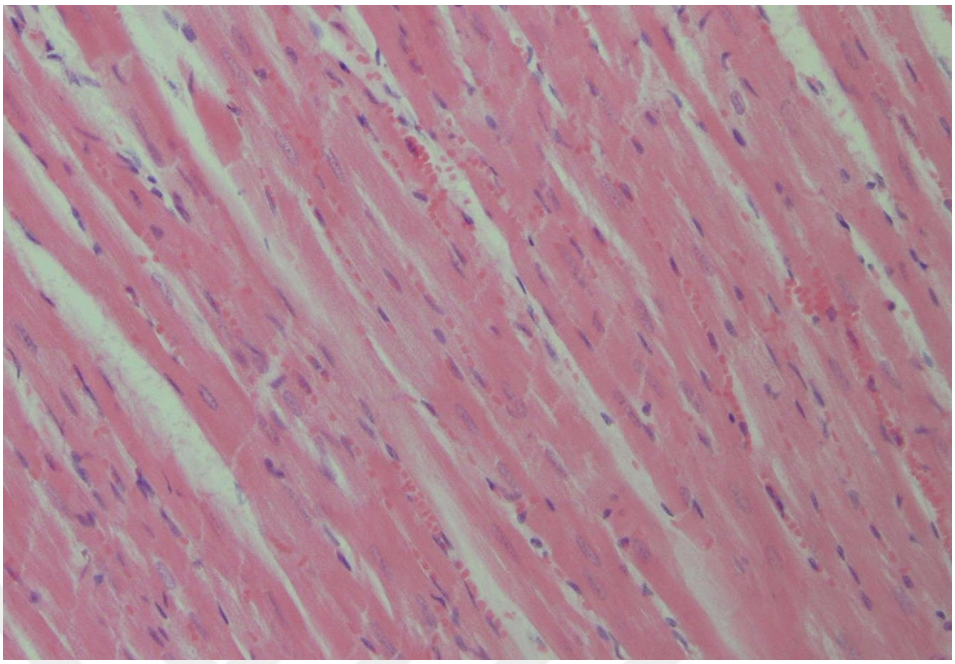
Şekil 13.Tacrolimus+Curcumin Grubu. Böbrek. Tubül epitellerinde sitoplazma eozinofilik, çekirdek piknotik (sarı ok)(skor 1).H&E,X200.



Şekil 14. Tacrolimus+Curcumin Grubu. Karaciğer. Hepatositlerde hafif dereceli bir şişkinlik. (skor 1). H&E, X200.



Şekil 15.Tacrolimus+Curcumin grubu. Beyin. Perivasküler ödem.(skor 1). H&E, X200.



Şekil 16.Tacrolimus+Curcumin Grubu. Kalp. Miyositlerde hafif şişkinlik (skor 1). H&E, X200.

3.2. Biyokimyasal Bulgular:

Ratlardan alınan kan biyokimyasal örneklerinden Kreatin, AST, ALT, Albümin, GGT ve Total Bilirubine ilgili elde edilen sonuçlar tablo 9'da verilmiştir.

ANALİZLER		KREATİN	AST	ALT	ALBÜMİN	GGT	TOTAL BİLİRUBİN
KONTROL	1	0,5	72	64	4,0	2	0,4
	2	0,5	72	60	3,8	2	1,1
	3	0,5	84	52	4,0	2	2,9
	4	0,4	58	44	3,6	2	0,4
	5	0,4	62	46	3,4	1	0,5
TAKROLİMUS	1	0,5	93	28	3,2	5	0,6
	2	0,5	98	53	3,8	1	0,9
	3	0,5	70	45	3,5	3	0,4
	4	0,4	86	45	3,5	1	0,5
	5	0,5	78	78	3,3	2	0,4
	6	0,5	108	63	3,5	2	0,9
CURCUMİN	1	0,4	86	89	3,1	2	0,6
	2	0,4	54	52	3,4	2	0,6
	3	0,3	62	61	3,2	3	0,5
	4	0,3	55	55	3,0	1	0,5
	5	0,4	57	50	3,1	2	0,5
TAKROLİMUS + CURCUMİN	1	0,6	74	38	3,3	2	0,4
	2	0,5	68	59	3,5	2	0,6
	3	0,5	89	66	3,2	3	0,2
	4	0,5	65	41	3,6	2	0,5
	5	0,5	71	35	3,7	1	0,9
	6	0,5	70	25	3,0	5	0,5
	7	0,5	63	50	3,5	1	0,6
	8	0,8	65	48	3,5	0	0,7
NORMAL DEĞERLER		0.800-1.800	10.00-80.00	10.00-80.00	2.10-3.90	1.00-10.00	0.100-0.600

Tablo 9. Deneklerin her birinin kan kreatin, AST, ALT, Albümin, GGT ve Total Bilüribin düzeyleri.

3.2.1. Biyokimyasal analiz:

Biyokimyasal analiz sonucu elde edilen kreatin, albümin, total billirubin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmasında verilerin normal dağılmadığı gözlendi (*Kolmogorov-Smirnov* test, $p<0.05$). Buna karşılık kreatin, albümin ve GGT değerlerinin homojen dağılmadığı tespit edildi (*Levene's test*, $p<0.05$). Bu nedenlerle tüm bu değişkenlerin gruplar arası istatistiksel anlamlılık karşılaştırmalarında *Kruskal Wallis* testi kullanıldı ve $p<0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi. Grupların ikili karşılaştırmalarında *Mann Whitney U* testi ve *Bonferroni* düzeltme testi kullanıldı ve $p<0.0083$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

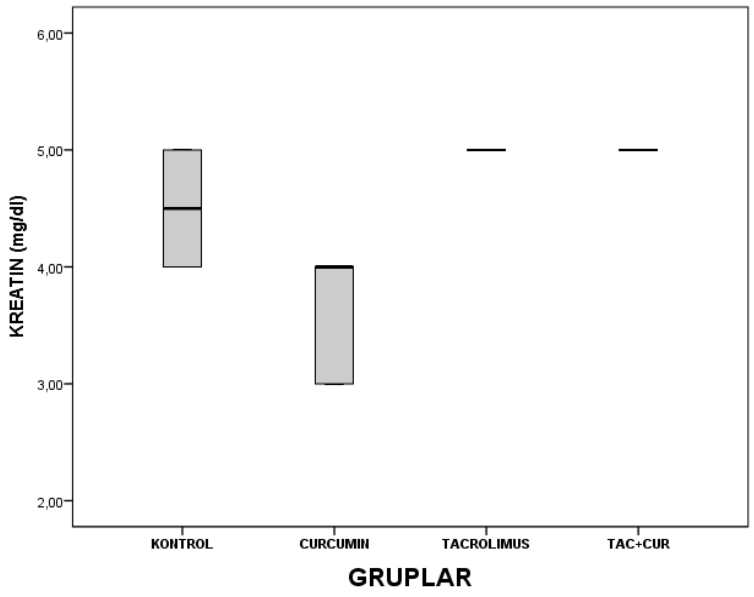
3.2.2. Biyokimyasal analiz istatistik sonuçları:

Biyokimyasal analizler sonrası elde edilen kreatin, ALT, albümin, GGT, total billirubin düzeyleri aşağıda tablo halinde (Tablo 10) ve kreatin, ALT, albümin, GGT ve total bilirubin değerlerinin gruplar arası dağılımı grafik halinde verilmiştir(Grafik 5, 6, 7, 8 ve 9)

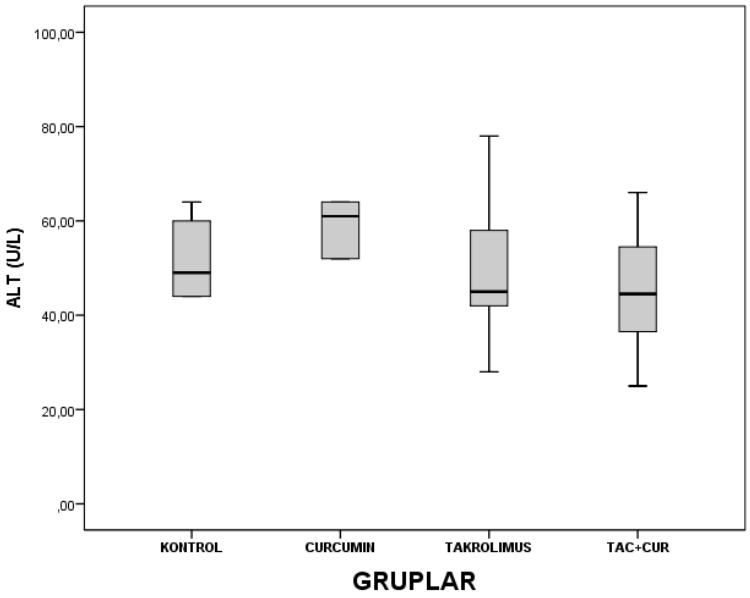
Değişken	Grup	N	Minimum	Maksimum	Medyan	SD
KRE	KONTROL	6	0.00	5.00	4.50	1.94
	CURCUMIN	5	0.00	4.00	4.00	1.73
	TACROLİMUS	7	4.00	5.00	5.00	0.38
	TAC+CUR	8	5.00	6.00	5.00	0.35
ALT	KONTROL	6	0.00	64.00	49.00	23.06
	CURCUMIN	5	0.00	89.00	61.00	32.75
	TACROLIMUS	7	28.00	78.00	45.00	16.42
	TAC+CUR	8	25.00	66.00	44.50	13.29
ALB	KONTROL	6	0.00	40.00	37.00	15.53
	CURCUMIN	5	0.00	34.00	32.00	14.46
	TACROLIMUS	7	32.00	38.00	35.00	1.90
	TAC+CUR	8	30.00	37.00	35.00	2.30
GGT	KONTROL	6	0.00	2.00	2.00	0.84
	CURCUMIN	5	0.00	3.00	2.00	1.10
	TACROLIMUS	7	1.00	5.00	2.00	1.46
	TAC+CUR	8	0.00	5.00	2.00	1.51
TBIL	KONTROL	6	0.00	5.00	2.00	2.04
	CURCUMIN	5	0.00	7.00	6.00	2.77
	TACROLIMUS	7	4.00	9.00	6.00	2.12
	TAC+CUR	8	2.00	9.00	5.50	2.07

Tablo 10: biyokimya-tanımlayıcı

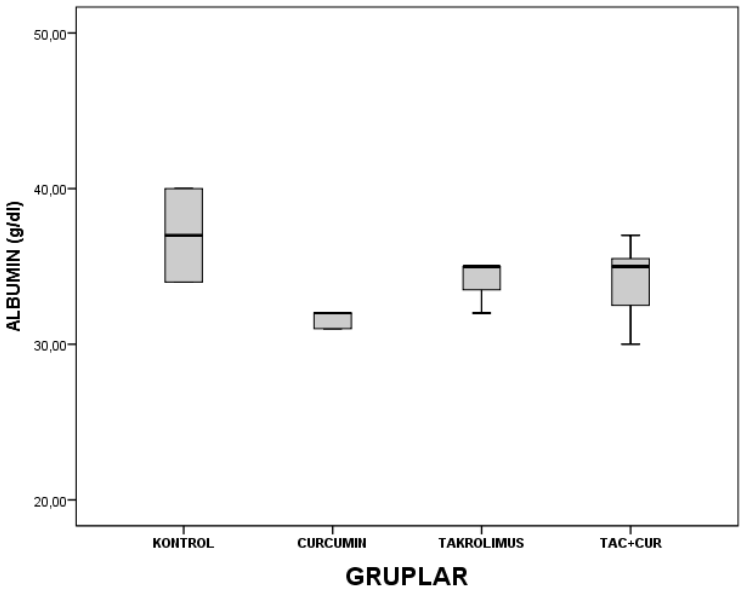
Grafik 5. Gruplar arası Kreatin değerlerinin dağılımı.



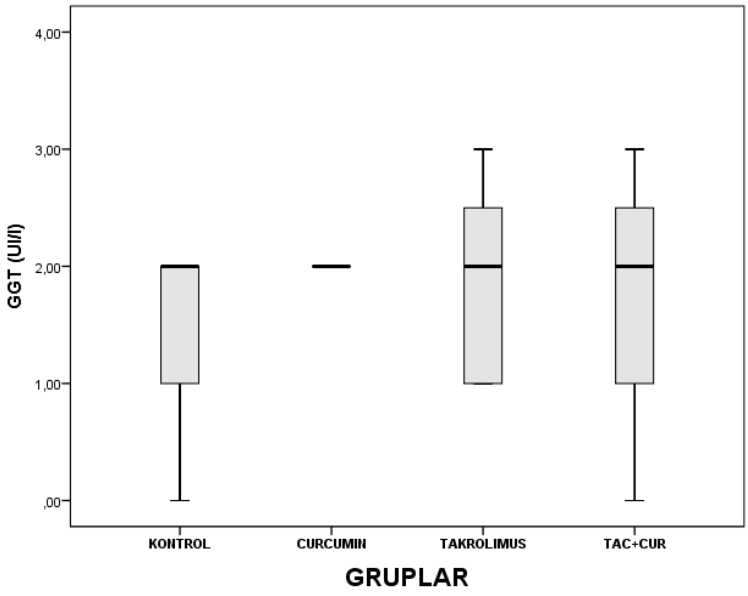
Grafik 6. Gruplar arası ALT değerlerinin dağılımı.



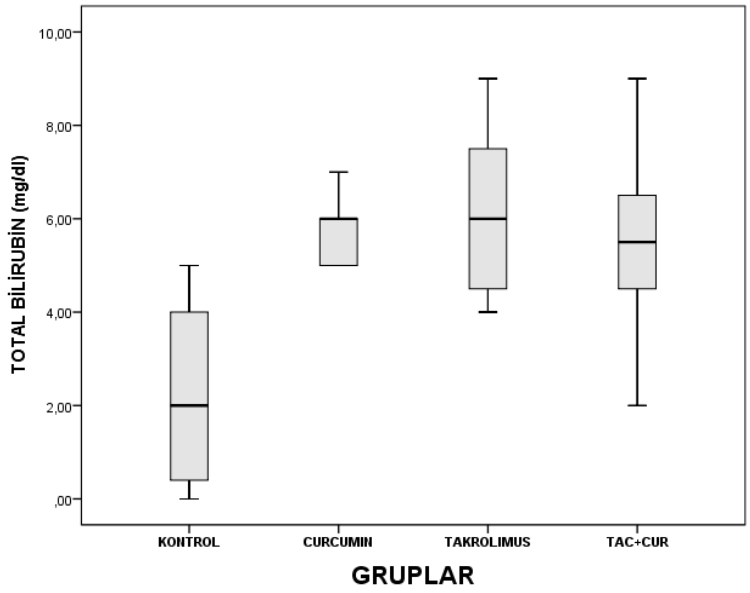
Grafik 7. Gruplar arası Albümin değerlerinin dağılımı.



Grafik 8. Gruplar arası GGT değerlerinin dağılımı.



Grafik 9. Gruplar arası Total Bilirubin değerlerinin dağılımı.



Biyokimyasal analiz sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında kreatin(X^2=14.881, p=0.002) ve total bilirubin (X^2=7.888, p=0.048) düzeyleri açısından istatistiksel anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 11).

Değişken	**X^2**	**Df**	**P**
KRETIN	14.881	3	**0.002**
ALT	1.735	3	0.629
ALBÜMİN	7.088	3	0.069
GGT	0.457	3	0.928
TOTAL BILIRUBIN	7.888	3	**0.048**

Tablo 11. biyokimya-kruskall wallis test

Gruplar arası ikili karşılaştırmada kreatinin düzeylerinin CURCUMIN/ TACROLIMUS (Z=-2.831, p=0.005) ve CURCUMIN/ TAC+CUR(Z=-3.204, p=0.001) grupları arasında farklı olduğu gözlenmiştir(Tablo 12). Ancak total bilirubin düzeylerinin gruplar arasında farklı olmadığı saptanmıştır.

	Kreatinin		**TBilirubin**	
Gruplar	**Z**	**p**	**Z**	**p**
KONTROL/ CURCUMIN	-1.4	0.146	-1.654	0.098
KONTROL/ TACROLIMUS	-1.407	0.159	-2.524	0.012
KONTROL/TACCUR	-2.187	0.029	-2.404	0.016
CURCUMIN/ TACROLIMUS	-2.831	**0.005**	-0.332	0.740
CURCUMIN/ TACCUR	-3.204	**0.001**	-0.075	0.940
TACROLIMUS/ TACCUR	-1.369	0.171	-0.354	0.723

Tablo 12. bio- mann whitney u test ve Bonferroni düzeltme testi (p<0.0083)

4.TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmada kullanılan ratların canlı ağırlıklarındaki değişimler değerlendirildiğinde kontrol grubu ratlarda görülen %19,5'lik artış, çalışma boyunca ratların uygun bir rasyonla beslendiğinin ifadesidir. Buna karşın takrolimus grubundaki %3,9'luk kilo kaybı da tacrolimusun toksik etkisinin oluştuğunun bir göstergesidir. TAC+CUR grubundaki %4,1'lik kilo artışı ise curcuminin tacrolimusun toksik etkisini azalttığı olarak yorumlanmıştır. Curcumin grubundaki canlı ağırlık artışı ise kontrol grubundan düşük çıkması ilk bakışta beklentileri karşılamamaktadır. Fakat curcumin uygulamasının her gün gavaj yoluyla yapılmış olmasının ratlarda önemli bir strese sebep olarak beklenen kilo artışının gerçekleşmemesine neden olduğu kanısına varılmıştır.

Ratların nekropsilerinde makroskobik lezyon olarak sadece curcumin grubu bir ratın akciğerlerinde 4-5 mm çapında makroskobik apse oluşumu dışında başka bir lezyonun görülmemiş olması dokularda lezyona neden olabilecek maddenin(tacrolimus) 14 gün gibi kısa bir süre verilmiş olmasına yani çalışmanın kısa süreli olmasına ilgilidir.

Histopatolojik sonuçlar değerlendirildiğinde kontrol grubu ratlarda histopatolojik bir lezyon belirlenememesi çalışmada lezyon oluşumuna neden olabilecek sekonder bir etkenin rol oynamadığını ifade etmektedir.

Çalışma özellikle tacrolimusun nefrotoksisitesi üzerine yapılmış olması nedeniyle böbrekle ilgili sonuçlar, değerlendirmeler daha öne çıkmaktadır. Böbreğin histopatolojik bulguları skorlar üzerinden değerlendirildiğinde takrolimus grubu ratlarda proksimal tubül epitellerinde dejenerasyon ve nekroz ile dökülmelerin belirgin olduğu dikkati çekmektedir. Buna karşın TAC+CUR grubu ratlarda ise epitellerde nekrozların oluşmadığı, sadece sınırlı düzeyde epitel dejenerasyonlarını geliştiği dikkati çekmektedir. Bu durum da curcuminin tacrolimusun nefrotoksik etkisini azalttığına bir işarettir. Yalnız daha uzun süreli çalışmalarla bu etkinin daha belirgin olarak ortaya konulmasına da ihtiyaç vardır. Böbreklerin histopatolojik bulgularına ilgili istatistiki analiz sonuçlarıda [(KONTROL/TACROLIMUS (Z=-2.951, p=0.003), CURCUMIN/TACROLIMUS (Z=-2.803, p=0.005) ve TACROLIMUS / TAC+CUR (Z=-2.739, p=0.006)] bu değerlendirmeleri

desteklemektedir. Bu bulgular Reddy (1992) ve Cohly (1998)'nin curcuminin böbrek tubül epitellerini oksidatif strese karşı lipit peroksidasyonu, lipit degredasyonu ve sitolizi önleyici özellikleri sayesinde koruduğu görüşü ile de uyumludur.

Karaciğere ilgili histopatolojik bulgular değerlendirildiğinde tacrolimus grubu ratların hepatositlerinde akut hücre şişkinliğinden damlalı vakuol oluşuna kadar varan dejenerasyonlar belirlenmiş olması(skor 2) tacrolimusun hepatositler için de toksik etkili olduğunun bir belirtisidir. Buna karşın TAC+CUR gurubu ratların hepatositlerindeki dejenerasyonların daha hafif düzeyde(skor 1) olması da curcuminin takrolimusun toksik etkisini azalttığına işaret etmektedir. Bu değerlendirmeleri istatistiki analiz sonuçları da [(KONTROL/TACROLIMUS (Z=-3.184, p=0.001), KONTROL/ TACCUR (Z=-3.013, p=0.003) ve TACROLIMUS / TAC+CUR (Z=-2.739, p=0.006)] desteklemektedir. Ayrıca Somanawat K. ve ark. (2013)'nın parasetamole ilgili hepatositlerde oluşan nekrotik değişiklikleri curcuminin azaltığı veya kısmen önlediği verileri de bu çalışmada elde edilen sonuçlarla uyumludur. Yine Gülçiçek(2008) tarafından bildirilen sarılık oluşturulan sıçanlarda yaptıkları çalışmada sarılığa ilgili karaciğerde oluşan fibrozisi ve oksidatif hasarı curcuminin anlamlı olarak azaldığı görüşü de bu çalışmada da olduğu gibi curcuminin karaciğer üzerinde koruyucu etkisine işaret etmektedir.

Tacrolimus grubu ratların beyinlerinin histopatolojik incelemelerinde ödemin belirgin olarak görülmesi ve bazı nöronlarda kromatoliz gelişimleri takrolimusun nörotoksik etkisinin de önemli olduğuna işaret etmektedir. Daha önceki çalışmalarda da tacrolimusun nörotoksik etkili olduğu vurgulanmıştır(Mayer 1997, Pirsch 1997, Gummert 1999). Weir ve Fink (1999) takrolimus uygulamalarında %8-20 oranında tremor, baş ağrısı, uykusuzluk daha nadiren afazi, konfüzyon ve psikoz biçiminde klinik belirtilere görüldüğünü de kaydetmişlerdir. Histopatolojik inecelemelerde tacrolimus grubunda gözlenen ödemin TAC+CUR grubunda daha hafif düzeyde gözlenmiş olması curcuminin sinir sistemi üzerinde koruyucu etkisini ifade etmektedir. Bu bulgular da Belviranlı ve ark. (2013) curcumin takviyesinin beyin dokusunda lipit peroksidasyonu azaltarak koruyucu etki oluşturduğu verilerini destekler özelliktedir.

Kalple ilgili bulgular incelendiğinde ise bu organlar arasında kalbin daha az etkilendiği anlaşılmaktadır. Beyin ve kalbe ilgili histopatolojik bulguların istatistiksel

analizlerinden de tacrolimusun her iki organ için de daha düşük düzeyde de olsa toksik etkili olduğu anlaşılmaktadır.

Biyokimyasal verilerin istatistiksel analizinde değerlerin normal ve homojen dağılmadığı gözlenmiş ve bu nedenle gruplar arası ikili karşılaştırmada sadece kreatinin düzeylerinin CURCUMIN/ TACROLIMUS (Z=-2.831, p=0.005) ve CURCUMIN/ TAC+CUR (Z=-3.204, p=0.001) grupları arasında farklı olduğu tespit edilmiştir.

Biyokimyasal değerler incelendiğinde bütün biyokimyasal değerler genelde normal sınırlar içinde kaldığı dikkati çekmektedir. Bu durumun çalışmanın 2 hafta gibi kısa süreli olmasına ilgili tacrolimusun neden olduğu değişikliklerin başlangıç aşamasında olmasına yorumlanabilir. Histopatolojik değerlendirmelerde de sadece parankim hücrelerinde dejenerasyon ve sınırlı alanlardaki nekrozların olması, bağ doku hücrelerinin hiç görülmemiş olması olayların başlangıç aşamasında olduğunun göstergesidir.

Sonuç olarak ratlarda tacrolimus ile oluşturulan toksik etkilere karşı curcuminin böbreklerde koruyucu ve onarıcı bir etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca curcuminin koruyucu etkisi karaciğer, beyin ve kalp dokularında da belirlenmiştir. Bu etkilerin daha net histopatolojik bulgularla desteklenmesi için daha uzun süreli uzun süreli çalışmalar yapılmasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

5. KAYNAKLAR

1.Adalı A, 2007. Farklı immünsupresan ajanların gingival büyüme üzerine olan etkisinin değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Doktora tezi;26-43.

2.Aggarwal BB, Kumar B, Bharti A,2003. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies.Anticancer Res; 23: 363–398.

3.Akpolat T, Utaş C, Suleymanlar G, 2007. Nefroloji el kitabı. 4. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.

4.Akpolat M,2007. Gamma radyasyonun ileum kadehsi hücrelerinde oluşturduğu hasarlara karşı curcumin ve C vitamininin koruyucu etkilerinin ışık ve elektron mikroskobik düzeylerde incelenmesi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Edirne, Doktora Tezi

5.Alak AM, Moy S,1997. Biological activity of tacrolimus (FK506) and its metabolites from whole blood of kidney transplant patients. Transplant Proc; 29: 2487-2490.

6.Alan A,2011. Beyaz deney farelerinde böbrek ve böbrek üstü bezinin arterial vaskulerizasyonun, makroanatomik, subgros ve scanning elektron misroskobik olarak araştırılması. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, Doktora tezi. 14-15.

7.Altuğ M, 2009. Sağlıklı erişkinlerde fiziksel aktivitenin eritrosit ve plazmadaki oksidan/ antioksidan parametreler üzerine olan etkilerinin belirlenmesi ve yüksek antioksidan özelliği olduğu bilinen nar suyunun bu parametreler üzerine olan etkilerinin araştırılması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Doktora tezi; 5-10

8.Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal B B, 2007. Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises. Molecular Pharmaceutics; 807-818.

9.Anderson S,200. Proteinuria. In: Greenberg A, Coffman T, ed. Primer on Kidney Diseases. Academic Press 3rd ed. San Diego, CA; 42-46

10.Belviranlı M, Okudan N, Atalık KE, Öz M,2013. Curcumin improves spatial memory and decreases oxidative damage in aged female rats. Biogerontology. 14(2): 187/96

11. Cohly HH, Taylor A, Angel MF, Salahudeen AK,1998.Effect of turmeric, turmerin and curcumin on H2O2-induced renal epithelial (LLC-PK1) cell injury. Free Radic Biol Med; 24: 49-54

12.Comporti M, 1993. Lipitperoxidation biopatalogical significance. Aspect med; V:14:199-207

13.Çıkrıkçı S, Mozioğlu E, Yılmaz H,2008. Biological Activity of Curcuminoids Isolated from Curcuma longa, Records of Naural Productions; 2(1):19-24.

14.Dere F,1996. Anatomi. 4. Baskı, Adana: Aydogdu Ofset, 655–674.

15.Draper H, 1990. Nutritional modulation of oxygen radical pathology. In: Advences in Nutritional\ Research. Vol 8. Edited by, Drapper H.H. PleNum Press. New York. 119-145 .

16.Durando B, Reichel J,2005. The relative effects of different systemic immünosuppressives on skin cancer development in organ transplant patients. Dermatol Theraphy.18:1-11.

17.Dursun N, Veteriner 2000. Anatomi II. 6. Baskı. Medisan Yayın Serisi. Ankara.

18.Dursun N. 1996. Veteriner Anatomi II . 11. baskı, Medisan, Ankara,: 128-263.

19.Dworkin AM, Tober KL, Duncan FJ, Yu L, VanBuskirk AM, Oberyszyn TM. Toland E. 2009. Chromosomal aberrations in UVB-Induced tumors of immünosuppressed Genus. Chromosomes Cancer. 48(6):490-501

20.Eralp O,2013. Deneysel olarak oluşturulan böbrek iskemi reperfüzyon sonrası oluşan böbrek hasarına karşı carnosol'un koruyucu etkisinin araştırılması, uzmanlık tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Anabilim Dalı. Edirne; 4-9

21.Erek E, Süleymanlar G. 2003. Böbregin yapısı ve fonksiyonları. İliçin G,Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. İç Hastalıkları.2. baskı. Günes Kitabevi, Ankara,1211–1228

22.Erenel G, Erbaş D, Arıcıoğlu A, 1992. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. Gazi Tıp Dergisi. Ankara. 3: 243-250

23.Ganong WF, 1995. Tıbbi Fizyoloji. 16. Baskı, Çeviri Ed. Doğan A, Barış Kitabevi-Appleton&Lange İstanbul

24.Gummert JF, Ikonen T, Morris R E, 1999. Newer immünosupressive drugs: a review. Journal American Society Nephrol; 10: 1366-1380.

25.Guyton AC , Hall JE . 2001. Tıbbi Fizyoloji, Türkçe 1. baskı, Tavaslı Matbacılık, İstanbul

26.Gülçiçek OB, 2008. Deneysel tıkanma ikterinde curcuminin oksidatif stres ve hepatik hasar ilişkisi, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2.Genel Cerrahi Kliniği

27.Hasima N, 2013. Targeting protesomal pathways by dietary curcumin for cancer prevention and treatment. Current Medicinal Chemistry.

28.Hooks MA. 1994. Tacrolimus, anew immünosupresant- A review of the literature. Ann Pharmacy;28:501–510

30.Iwasakı K. 2007. Metabolism of tacrolimus (FK506) and recent topics in clinical pharmacokinetics. Drug Metabolism Pharmacokinetic.22(5):328-335.

31.Jain AB, Fung JJ, Tzakis AG, Venkataramanan R, Abu Elmaqd K, 1991. Comparative study of cyclosporine and FK 506 dosage requirements in adult and pediatric orthotopic liver transplant patients. Transplant Proc; 23: 2763-2773.

32.Jaruga E, Salvioli S, Dobrucki J, 1998. Apoptosis like, reversible changes in plasma membrane asymmetry and permeability, and transient modifications in mitochondrial membrane potential induced by curcumin in rat thymocytes. FEBS Lett, 433,287-93

33.Kasırga Z. 2015.Sağlıklı böbreklerde korteks, medulla, sinüs hacimleri ve böbrek boyutları ile vücut komposizyonu arasındaki ilişkinin tespiti. Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yükseklisans tezi. Tekirdağ . 2-8

34.Kasiske BL, Keane WF, 2000. Laboratory assessment of renal disease. In Brenner BM, ed. The Kidney 6th ed. Philadelphia, WB Saunders Co. 1129-1170

35.Kincaid R, Higuchi S, Tamura J, Giri P, Polli JW, 1991. Calmodulin-dependent protein phosphatase from neurospora crassa. Molecular cloning and expression of recombinant catalytic subunit.Journal of Biological Chemistry;226:18104– 112

36.Klee C B, Ren H, Wang X, 1998. Regulation of the calmodulin-stimulated protein phosphatase, calcineurin. J Biological Chemistry.; 29;273.

37.König H E. Liebich H G. Veterinary Anatomy of Domestic Mammals . 2007. Germany, 391-405.

38.Köse Sİ. Maden M.2015. Üriner biyobelirteçler. Türkiye Klinikleri. J Vet Sci; 7-18

39.Lan CC, Yu HS, Wu CS, 2005. FK 506 inhibits tumour necrosis factoralpha secretion in human keratinocytes via regulation of nuclear factor-kappaB. Br J Dermatol; 153(4):725-32.

40.Li B, Konecke S, Wegiel L A, Taylor L S, Edgar K J,2013. Both solubility and chemical stability of curcumin are enhanced by solid dispersion in cellulose derivative matrices.

41.Li J, Liu B, Yan L N, Wang L L, Lau W Y, Li B, Wang W T, Xu M Q, Yang J Y, Li F G,2009. Microproteinuria for detecting calcineurin inhibitor-related nephrotoxicity after liver transplantation. World Journal of Gastroenterology. 15(23):2913-2917.

42.Luna LG. 1968. Manuel of histologic staining methots of the armed forces ınstitue of pathology. Mc Graw-Hill Book company. 3 rd ed, New York

43.Maheshwari R K, Singh A K, Gaddipati J, 2006. Multiple biological activities of curcumin. Life Sci; 78:2081-2087

44.Mayer AD, Dmitrewski J, Squifflet J, Besse T, 1997. Multicenter randomized trail comparing tacrolimus(FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: A report of the European tacrolimus multicenter renal study grup. Transplantation;64: 436-443

45.Mehdawi NAR, 2010. Curcumın based diazoles and oxazoles with potential antibacterial activities, An-Najah National University Faculty of Graduate Studies.

46.Mitil HA. Rat modelinde kadaverik donörden alınacak böbreklerin fonksiyonlarının dinamik böbrek sintigrafisi ile gösterilmesi. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı. Elazığ. Uzmanlık Tezi. 2013.11-18

47.Miyata S, Ohkuba Y, Mutoh S, 2005. A review of the action of tacrolimus (FK506) on experimental models of rheumatoid arthritis. Inflamm Resue; 54: 1-9.

48.Naesens M, Kuypers D R J, Sarwl M, (2009). Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 4:481-508.

49.Norris L, 2013. The role of canser stem cells in the anti – carsinogenicity of curucmin. Mol Nutr Food Res. :57(9): 1630-7

50.Pan MH, Huang TM, Lın AK, 1998. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidatıin in mice, Drug Metabolism And Disposition Vol. 27.

51.Pandey A, Gupta R K, Srivastava R, 2011. Curcumin-the yellow magic, Asian Journal ofApplied Sciences; 4(4):343-354.

52. Pandya U, Saini M K, Jin G F, Awasthi S, Godley B F, Awasthi Y C, 2000. Dietary curcumin prevents ocular toxicity of napthalane in rats. Toxicology Letters, 115:195-204

53.Plosker GL, Foster RH. 2000. Tacrolimus: a further update of its pharmacology and therapeutic use in the management of organ transplantation. Drugs, 59(2):323-389.

54.Piekoszewski W, Jusko WJ, 1993. Plasma protein binding of tacrolimus in humans. Journal of Pharmacology Society. 82:340-344.

55.Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo R S, 1997. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immünosuppression after cadaveric renal transplantation. FK506 kidney transplant study group. Transplantation,63: 977-983

56.Reddy AC, Lokesh BR, 1992. Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipit peroxidation of rat liver microsomes. Molecular Cell Biochemistry; 111: 117- 124.

57.Reem GH, 1992. Molecular mode of action of cyclosporin and FK506 in human thymocytes. J Autoimmün.;5 Suppl A:159-165.

58.Reiser IW. Porush JG. 2001. Evaluation of renal function. In Massry SG, Glassock RJ, ed. Textbook of Nephrology, 4th ed, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 1793-1802

59.Scartezzini P, Speroni E, 2000. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity, Journal of Ethnopharmacology, 70:23 – 43.

60.Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP, 2005. Curcumin: The story so far, European Journal of Cancer, 41: 1955–1968

61.Sharma S, Kulkarni SK, Chopra K, 2006.Curcumın, the actıve prıncıple of *turmerıc (*curcuma longa*)*, amelıorates dıabetıc nephropathy ın rats. Clinical and experimental pharmacology and physiology, 33(10): 940–945

62.Shen WW. 1997. The metabolism of psychoactive drugs: A revirw of enzymatic biotransformation and inhibition. Biological Psychiatry;41: 814-826

63.Somavawat K, Thong-Ngam D, Klaikeaw N, 2013. Curcumin attenuated paracetamol overdose induced hepatitis, World Journal of Gastroenterology 28;19(12):1962-1967.

64.Stickle D. Cole B. Hock K, 1998. Correlation of plasma concentrations of cystation C and creatinine to inulin clearance in a pediatric population. Clin Chem; 44: 1334-1338

65.Şanlı Y, Kaya S.1994. Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağıtım Seçenekleri. 2nci Baskı. Ankara.Medisan Yayınevi. Yayın No: 15.

66.Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV, 1996. Acute renal failure. N Engl J Med; 334:1448-1460

67.Tanagho EA, McAninch JW, 2004.Smith genel uroloji. 16.Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.

68.Tamaddonfard E, Tajık H, Hamzeh-Gooshchı N, 2008. Effects of curcumin and vitamin C on visceral nociception induced by acetic acid in rats, Medycyna Wet. 64

69.Tepperman E, Ramzy D, Prodger J, Sheshgiri R, Badiwala M, Ross H, Rao V, 2010. Surgical biology for the clinician: vascular effects of immünosuppression. Can J Surg; 53(1):57-63.

70.Tisher CC, 2007.Structure and functions of the kidneys. In: Goldman L, Ausiello DA, Arend W eds. Cecil textbook of medicine, 23rd ed. Saunders, Philadelphia: 813-820

71.Undre N A, Stevenson P, Schafer A, 1999. Pharmacokinetics of tacrolimus: Clinically relevant aspects. Transplant Proc; 31:21-24

72.Uzer N, 2007. Sıçanlarda deri fleplerinin yaşayabilirliğinde curcumin kullanımının etkilerinin araştırılması, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik, Rekonstruktif ve Estetik Cerrahi Kliniği. İstanbul

73.Vaidya VS, Ferguson MA, Bonventre JV,2008. Biomarkers of acute kidney injury. Annual Review of Pharmacology & Toxicology. 48:463-493.

74.Venkataramanan R, Jain A, Warty VW, Abu-Elmaqd K, Furakawa H, Imventerza O, 1991. Pharmacokinetics of FK 506 following oral administration: a comparison of FK 506 andcyclosporine. Transplant Proc; 23: 931-933.

75.Venkataraman R, Jain A, Cadoff E, Warty W, Iwasaki K. 1990. Pharmacokinetics of FK506: Preclinical and clinical studies. Trasnplant Proc. 22:52-56

76.Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, 1995. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. Clin Pharmacokinetic; 29: 404-430

77.Warunyoupalin R,2007.Study on the complex formation between curcumin and metal ions by spectrophotometric method.

78.Weir M R, Fink J C,1999. Risk for posttransplant diabetes mellitus with current immünosupressive medications. Am J Kidney Diseases;34:1-13

79.Yaman K, 1999. Fizyoloji, 3. Baskı, Ceren Basım Yayıncılık, Bursa.

80.Yarsan E,1998. Lipit peroksidasyon ve önlenmesini yönelik uygulamalar. Y. Y. U Vet. Fak. Derg., 9 (1-2): 89-95

81.Yeşildağ A, 2009. Ratlarda gadobutrolün, farklı kümülatif dozlara ve uygulama şekline bağımlı böbrek yan etkilerinin, kan ve böbrekte oksidan - antioksidan durumlar üzerine etkilerinin araştırılması. uzmanlık tezi. Isparta

82.Yokota E, Kawashima T, Ohkubo F, Sasaki H,2005. Comparative anatomical study of the kidney position in amniotes using the origin of the renal artery as a landmark. Okajimas Folia Anat Japan; 8: 135-142.

83.http://tr.wikipedia.org/w/index.php?title=Zerdeçal&oldid=12939390 Zerdeçal (01.06.2015)

6. EKLER

7. ÖZGEÇMİŞ

Merve Tuna 1990 yılında Balıkesir/Edremit'te doğdu. İlk, orta ve lise öğretimini Edremit'te tamamladı. Uşak Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulundan 2011 yılında mezun oldu. 2013 yılındaAfyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim dalında yükseklisans eğitimine başlayıp Konya Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim dalına yatay geçiş yaptı. 2014 yılında Kırıkkale Tıp Fakültesinde göreve başlayan Merve Tuna eğitimine Konya'da devam edip Kırıkkale de yaşamaktadır.