TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

LİTYUM KARBONATIN RAT BÖBREK VE KARACİĞER DOKULARINDA OLUŞTURACAĞI OLASI OKSİDATİF STRES ÜZERİNE QUERCETİN'İN ANTİOKSİDAN KAPASİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Tuğba ÖZDEMİR

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Aslıhan GÜRBÜZ BOLKAN

ANKARA
2025

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

LİTYUM KARBONATIN RAT BÖBREK VE KARACİĞER DOKULARINDA OLUŞTURACAĞI OLASI OKSİDATİF STRES ÜZERİNE QUERCETİN'İN ANTİOKSİDAN KAPASİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Tuğba ÖZDEMİR

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Aslıhan GÜRBÜZ BOLKAN

Bu tez, Ankara üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2023-2548 proje kodu ile desteklenmiştir.

ANKARA
2025

Ankara Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum "Lityum Karbonatın Rat Böbrek ve Karaciğer Dokularında Oluşturacağı Olası Oksidatif Stres Üzerine Quercetin'in Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması" başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımca yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından, 30/03/2022 tarihinde, 2022-7-71 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı:
Tarih:
İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU

Tıpta Uzmanlık Tezi

Yazar Tuğba Özdemir

Gönderim Tarihi: 04-Haz-2025 03:41PM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 2691997799
Dosya adı: Tez_Tuğba_Özdemir_4.6.2025.pdf (2.83M)
Kelime sayısı: 19538
Karakter sayısı: 134910

Lityum Karbonatın Rat Böbrek ve Karaciğer Dokularında Oluşturacağı Olası Oksidatif Stres Üzerine Kuersetin'in Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması

ORİJİNALLİK RAPORU

%11	%9	%8	%5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

KABUL ONAY SAYFASI

TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

Tez Adı	Lityum Karbonatın Rat Böbrek ve Karaciğer Dokularında Oluşturacağı Olası Oksidatif Stres Üzerine Quercetin'in Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması.
Uzmanlık Öğrencisi Adı Soyadı	Tuğba ÖZDEMİR
Eğitim Kurumu	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Savunması Tarihi	25.06.2025
1.Jüri üyesi değerlendirmesi	(✓) BAŞARILI (.....) BAŞARISIZ — Tez değerlendirme formu eklenecek
2.Jüri üyesi değerlendirmesi	(✓) BAŞARILI (.....) BAŞARISIZ — Tez değerlendirme formu eklenecek
3.Jüri üyesi değerlendirmesi	(✓) BAŞARILI (.....) BAŞARISIZ — Tez değerlendirme formu eklenecek
Tez Savunmasının Sınav Sonucu	(✓) BAŞARILI (.....) BAŞARISIZ

*Karar oy çokluğuna göre alınır.

1.JÜRİ ÜYESİ ADI SOYADI	2.JÜRİ ÜYESİ ADI SOYADI	3.JÜRİ ÜYESİ ADI SOYADI
Prof. Dr. H. Serdar ÖZTÜRK	Prof. Dr. Aslıhan GÜRBÜZ BOLKAN	Prof. Dr. Erdinç DEVRİM

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim ve tez sürecim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana her zaman rehberlik eden, anlayışı ve sabrıyla motivasyonumu artıran, mesleki gelişimime ışık tutan çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Aslıhan GÜRBÜZ BOLKAN'a sonsuz şükranlarımı sunuyorum. Kendisinden öğrendiklerim, sadece meslek hayatımda değil, hayata bakış açımda da yol gösterici olacaktır.

Eğitim hayatım boyunca bilgi birikimlerini ve deneyimlerini benimle cömertçe paylaşan, her zaman desteklerini hissettiren, bana ilham veren kıymetli hocalarım Prof. Dr. Hasan Serdar ÖZTÜRK'e, Prof. Dr. Serenay Elgün ÜLKAR'a, Prof. Dr. Erdinç Devrim'e, Prof. Dr. B. İmge ERGÜDER'e, Doç. Dr. Özlem DOĞAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm Feyza TÜRKEŞ'e değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim. Her birinizin akademik yaklaşımı ve hekimlik anlayışı, bana ideal bir uzman olmanın yolunu göstermiştir.

Tez sürecimin tüm aşamalarında desteğini esirgemeyen, özellikle histolojik değerlendirmelerde bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Oya Evirgen'e ve değerli araştırma görevlisi arkadaşım Dr. Fatma Mert'e minnettarım. Onlarla çalışmak, bu süreci çok daha güzel ve öğretici hale getirmiştir.

Birlikte yorulduğumuz, güldüğümüz, birbirimize güç verdiğimiz değerli asistan arkadaşlarıma ve anabilim dalımızın özverili çalışanlarına,

Hayatımın her köşesinde varlıklarıyla bana güç veren, her koşulda yanımda olup moralimi yükselten, kahkahalarıyla ve dostluklarıyla zor süreçleri benim için katlanılır kılan canım arkadaşlarım Ezgi Oğuz ve Eda Gül'e,

Beni ben yapan, her zaman koşulsuz sevgisini ve desteğini hissettiren anneciğim, babacığım, canım kardeşim ve sevgili geniş aileme sonsuz teşekkür ederim. İyi ki varsınız. Varlığınız, bana her zaman güç verdi.

Dr. Tuğba ÖZDEMİR

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan ii
Özgünlük Raporu iii
Kabul Onay Sayfası iv
Önsöz v
İçindekiler vi
Simgeler ve Kısaltmalar viii
Şekiller Dizini ix
Tablolar Dizini x

1. ÖZET 1
2. ABSTRACT 3
3. GİRİŞ ve AMAÇ 5
4. GENEL BİLGİLER 6
4.1. Lityum 6
4.1.1. Lityum Farmakolojisi 6
4.1.2. Lityum Etki Mekanizması 6
4.1.3. Lityum Kullanım Alanları 8
4.1.4. Lityum Farmakokinetiği 10
4.1.5. Lityumun Yan Etkileri 11
4.1.6. Lityum Nefrotoksisitesi 13
4.1.7. Lityum Zehirlenmesi 15
4.2. Karaciğer 16
4.2.1. Karaciğerin Mikroskopik Anatomisi 16
4.2.2. Detoksifikasyon ve İlaç Metabolizması 16
4.2.3. Karaciğer Fonksiyon Testleri 17
4.3. Böbrek 17
4.3.1. Böbrek Histofizyolojisi 17
4.3.2. Böbrek İşlevlerinin Biyokimyasal Değerlendirilmesi 19
4.4. Flavonoidler 20
4.4.1. Flavonoidler: Yapıları, Kaynakları ve Antioksidan Etki Mekanizmaları 20
4.4.2. Kuersetinin Kimyasal Yapısı ve Diğer Flavonoidlerle Karşılaştırılması 23
4.5. Kuersetin 24
4.5.1. Kuersetin: Kaynakları ve Kimyasal Özellikleri 24
4.5.2. Kuersetinin Klinik Etkileri 24

4.5.3. Kuersetin Metabolizması **26**
4.5.4. Kuersetinin Böbrek ve Karaciğer Üzerine Koruyucu Etkiler **27**
4.5.5. Kuersetinin Antioksidan Özellikleri **28**
4.6. Oksidatif Stres ve Biyobelirteçler **31**
4.6.1. Lipid Peroksidasyonu: Hücresel Hasarın Temel Mekanizması **31**
4.6.2. İkincil Lipit Peroksidasyonu Ürünü: MDA **32**
4.6.3. Ksantin Oksidaz **33**
4.6.4. Reaktif Oksijen Türleri **34**
4.6.5. Antioksidan Savunma Sistemleri **36**
4.6.6. Süperoksit Dismutaz (SOD) **37**
4.6.7. Katalaz **38**
4.6.8. Glutatyon Peroksidaz **38**
5. GEREÇ ve YÖNTEM **40**
5.1. Deney Hayvanları ve Deney Süreci **40**
5.2. Böbrek ve Karaciğer Dokularının Alınması **41**
5.3. Biyokimyasal Analizler **42**
5.3.1. Protein Miktarı Ölçüm Yöntemi (Lowry Yöntemi) **42**
5.3.2. Katalaz (KAT) Aktivitesi Ölçümü **43**
5.3.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçüm Yöntemi **44**
5.3.4. MDA Ölçüm Yöntemi **45**
5.3.5. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivite Ölçüm Yöntemi **46**
5.3.6. Ksantin Oksidaz (XO) Aktivitesinin Ölçüm Yöntemi **47**
5.4. Böbrek ve Karaciğer Dokularının Histolojik Takibi ve Analizi **48**
5.5. İstatistiksel Analiz **49**
6. BULGULAR **51**
6.1. Karaciğer Dokusu Histolojik Değerlendirme **57**
6.2. Böbrek Dokusu Histolojik Değerlendirme **59**
7. TARTIŞMA **62**
8. SONUÇ ve ÖNERİLER **70**
9. KAYNAKLAR **72**

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABH : Akut Böbrek Hasarı

ADH : Antidiüretik Hormon

AG : Atrofik Glomerül

AQP2 : Akuaporin-2

BCA : Biochanin A

BDNF : Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör

CREB : cAMP Yanıt Elemanı Bağlayıcı Protein

ENaC : Epitelyal Sodyum Kanalı

ESRD : Son Dönem Böbrek Yetmezliği

FSGS : Fokal Segmental Glomerüloskleroz

GSK-3β : Glikojen Sentaz Kinaz 3 Beta

GSSG : Oksitlenmiş Glutatyon

HNE : 4-Hidroksi-2-nonenal

LC : Lityum Karbonat

MARCKS : Miyristoil-alanin açısından zengin C kinaz substratı

NAG : N-Asetil-β-D-glukozaminidaz

NBT : Nitroblue Tetrazolium

NDI : Nefrojenik Diabetes İnsipidus

NMDA : N-Metil-D-Aspartat

PKC : Protein Kinaz C

RCF : Göreli Santrifüj Kuvveti

Q : Kuersetin

TBA : Tiyobarbitürik Asit

TCA : Triklorasetik Asit

TEP : Toplam Eşdeğer Protein

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Lityumun kullanım alanlarına göre dağılımı.....9
Şekil 4.2. Toplayıcı kanal hücresinde lityumun elektrolit ve su taşınımına etkisi.....14
Şekil 4.3. Şematize glomerül yapısı.....18
Şekil 4.4. Flavan iskeletine dayanan temel flavonoid alt sınıfları. 21
Şekil 4.5. Oksidatif stres altında lipit peroksidasyonu ve antioksidan savunma mekanizması.....32
Şekil 4.6. Çeşitli reaktif oksijen türleri 34
Şekil 5.1. Oral gavaj ile kuersetin uygulaması.....41
Şekil 5.2. Sakrifikasyon sonrası böbrek dokularının çıkarılması.....42
Şekil 6.1. Gruplara ait serum BUN düzeylerinin ortalama ± standart sapma (SD) değerleri. .52
Şekil 6.2. Serum ortalama MDA düzeyleri ve standart sapmaları 53
Şekil 6.3. Serum ortalama GSH-Px düzeyleri ve standart sapmaları.....53
Şekil 6.4. Böbrek dokusu ortalama MDA düzeyleri ve standart sapmaları 55
Şekil 6.5. Böbrek dokusu ortalama SOD düzeyleri ve standart sapmaları.....55
Şekil 6.6. Böbrek dokusunda GSH-Px düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması. 56
Şekil 6.7. Gruplar arası karaciğer GSH-Px düzeylerinin karşılaştırılması.....57
Şekil 6.8. Karaciğer dokusu HE kesitleri. 58
Şekil 6.9. Böbrek dokusu HE kesitleri. 60
Şekil 6.10. Böbrek dokusu PAS kesitleri. 61

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. Flavonoidlerin ana grupları, bireysel bileşikler ve besin kaynakları 21
Tablo 5.1. Protein miktarı ölçüm yöntem protokolü 43
Tablo 5.2. SOD aktivitesi ölçüm yöntem protokolü 44
Tablo 5.3. MDA ölçüm yöntem protokolü 46
Tablo 5.4. Glutatyon Peroksidaz aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü 47
Tablo 5.5. Ksantin Oksidaz aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü 48
Tablo 5.6. Böbrek dokusu hasar parametrelerinin skorlanması 49
Tablo 6.1. Grupların serum biyokimyasal parametreleri açısından karşılaştırılması 51
Tablo 6.2. Grupların serum oksidatif stres parametreleri açısından karşılaştırılması 52
Tablo 6.3. Grupların böbrek oksidatif stres parametreleri açısından karşılaştırılması 54
Tablo 6.4. Grupların karaciğer oksidatif stres parametreleri açısından karşılaştırılması 56
Tablo 6.5. Grupların böbrek dokusu hasar parametreleri açısından karşılaştırılması 59

1. ÖZET

Lityum Karbonatın Rat Böbrek ve Karaciğer Dokularında Oluşturacağı Olası Oksidatif Stres Üzerine Kuersetin'in Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması

Amaç: Lityum karbonat, bipolar bozukluk başta olmak üzere çeşitli nöropsikiyatrik hastalıkların tedavisinde uzun süredir kullanılan bir ajandır. Ancak dar terapötik aralığı ve kronik kullanımı, özellikle böbrek ve karaciğer gibi yaşamsal organlar üzerinde toksik etkilere yol açabilmektedir. Bu toksik etkilerin temelinde oksidatif stresin etkili olabileceği yönünde çeşitli bulgular mevcuttur. Son yıllarda doğal antioksidanların oksidatif hasarı azaltıcı etkileri yoğun olarak araştırılmaktadır. Flavonoid ailesine ait kuersetin, güçlü antioksidan ve antiinflamatuar özellikleri sayesinde dikkat çekmekte olup farklı organ sistemleri üzerinde doku koruyucu etkiler göstermektedir. Bu çalışmada, lityum karbonatın rat böbrek ve karaciğer dokularında oluşturduğu olası oksidatif stres ve histopatolojik hasar üzerine kuersetinin koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada toplam 37 adet erişkin erkek Wistar Albino rat, rastgele dört gruba ayrılmıştır: I- Kontrol (n=8), II- Lityum karbonat (n=10), III- Kuersetin (n=10) ve IV- Lityum karbonat + Kuersetin (n=9). Kontrol grubuna (I. Grup) 35 gün boyunca oral yoldan günde 1 cc serum fizyolojik verilmiştir. Lityum Karbonat ve Lityum karbonat +Kuersetin gruplarına (II. ve IV. gruplar) 35 gün boyunca oral yoldan 45mg/kg/gün Lityum karbonat verilmiştir. Kuersetin ve Lityum karbonat+Kuersetin (III.ve IV. gruplar) gruplarına 35 gün boyunca oral yoldan 50 mg/kg/gün dozda Kuersetin verilmiştir. Deney sonunda ratlardan alınan kan örneklerinde ALT, AST, BUN ve kreatinin düzeyleri ölçülmüştür. Böbrek ve karaciğer dokularında katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), ksantin oksidaz (XO), glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri ve malondialdehit (MDA) düzeyleri değerlendirilmiştir. Ayrıca, karaciğer doku örnekleri histopatolojik olarak incelenmiş ve morfolojik değişiklikler değerlendirilmiştir. Böbrek dokularında ise histopatolojik bulgular yarı kantitatif olarak değerlendirilmiş ve skorlama yapılmıştır.

Bulgular: Lityum karbonat uygulanan rat grubunda, serum biyokimyasal parametrelerden BUN düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır (p=0,019). Kreatinin ve ALT düzeylerinde de artış eğilimi izlenmiş, ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Böbrek dokusunda oksidatif stres belirteci olan MDA düzeyleri, Lityum karbonat grubunda Lityum karbonat+Kuersetin grubuna kıyasla anlamlı şekilde artmıştır (p=0,022). Antioksidan savunma parametrelerinden GSH-Px düzeyleri

Lityum verilen grupta Lityum karbonat+Kuersetin verilen gruba göre anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır (p=0,022). Böbrek SOD düzeyleri lityum verilen grupta kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır (p=0,045). Karaciğer dokusunda GSH-Px düzeyinde lityum uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı azalma gözlenmiştir (p=0,025). Yarı kantitatif skorlama sonuçlarına göre, lityum verilen grupta böbrek dokusundaki hiyalen silindir oluşumu diğer tüm gruplara göre anlamlı derecede artmıştır (p<0,001). Ayrıca apoptoz/nekroz skorları, lityum grubunda kuersetin ve lityum+kuersetin verilen gruplara kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur (Grup 2–3: p=0,042; Grup 2–4: p=0,017). Karaciğer dokusunda ise lityuma bağlı olarak hepatositlerde vakuolizasyon, hücre içi dejenerasyon ve inflamasyon gözlenmiş; kuersetin uygulanan gruplarda bu değişikliklerin daha hafif düzeyde olduğu ve doku bütünlüğünün daha iyi korunduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu tez çalışmasında, lityum karbonatın böbrek ve karaciğer dokularında oksidatif stres ve yapısal hasara yol açtığı; kuersetin uygulamasının ise bu zararlı etkileri azaltmada iyileştirici bir etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Kuersetin, antioksidan savunma sistemini destekleyerek doku düzeyinde hem biyokimyasal parametreleri hem de histopatolojik yapıyı olumlu yönde etkilemiştir. Elde edilen bulgular, kuersetinin lityuma bağlı nefrotoksisite ve hepatotoksisiteye karşı potansiyel bir koruyucu ajan olabileceğini düşündürmektedir. Kuersetinin olası koruyucu etkisinin daha net anlaşılabilmesi için farklı doz ve sürelerde uygulanacağı daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Lityum karbonat, kuersetin, oksidatif stres, lityum toksisitesi, flavonoid, antioksidan

2. ABSTRACT

Investigation of the Antioxidant Capacity of Quercetin Against Potential Oxidative Stress Induced by Lithium Carbonate in Rat Kidney and Liver Tissues

Aim: Lithium carbonate is a well-established therapeutic agent commonly used in the treatment of neuropsychiatric disorders, particularly bipolar disorder. However, due to its narrow therapeutic index and long-term use, it can exert toxic effects on vital organs such as the kidneys and liver. Various findings suggest that oxidative stress may be involved in the development of these toxic effects. In recent years, the protective effects of natural antioxidants against oxidative damage have been intensively studied. Quercetin, a flavonoid compound, has gained attention for its potent antioxidant and anti-inflammatory properties, demonstrating tissue-protective effects across various organ systems. This study aimed to investigate the potential protective effects of quercetin against oxidative stress and histopathological damage caused by lithium carbonate in rat kidney and liver tissues.

Materials and Methods: A total of 37 adult male Wistar Albino rats were randomly divided into four groups: Control (Group 1) (n=8), Lithium Carbonate (Group 2) (n=10), Quercetin (Group 3) (n=10), and Lithium Carbonate + Quercetin (Group 4) (n=9). The control group (Group 1) received 1 cc of physiological saline orally once daily for 35 days. The Lithium Carbonate and Lithium Carbonate + Quercetin groups (Groups 2 and 4) received 45 mg/kg/day of Lithium Carbonate orally for 35 days. The Quercetin and Lithium Carbonate + Quercetin groups (Groups 3 and 4) received 50 mg/kg/day of Quercetin orally for 35 days. At the end of the experimental period, serum levels of ALT, AST, BUN, and creatinine were measured. In kidney and liver tissues, the activities of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), xanthine oxidase (XO), and glutathione peroxidase (GPx), as well as malondialdehyde (MDA) levels, were assessed. Additionally, liver tissue samples were examined histopathologically and morphological alterations were evaluated. In kidney tissues, histopathological findings were semi-quantitatively assessed and scored

Results: In the lithium carbonate-treated rat group, a statistically significant increase in serum BUN levels was observed compared to the control group (p=0.019). Although there was a trend toward increased serum creatinine and ALT levels, these differences were not statistically significant. In kidney tissue, the level of malondialdehyde (MDA), a marker of oxidative stress, was significantly higher in the lithium carbonate group compared to the lithium carbonate + quercetin group (p=0.022). Among antioxidant defense parameters, GSH-Px levels

were significantly lower in the lithium-treated group compared to the lithium carbonate + quercetin group (p=0.022). Renal SOD levels were also significantly decreased in the lithium group compared to the control group (p=0.045). In liver tissue, a significant reduction in GSH-Px levels was observed in the lithium-treated group compared to the control group (p=0.025). According to the semi-quantitative scoring results, hyaline cast formation in the kidney tissue was significantly increased in the lithium-treated group compared to all other groups (p<0.001). Additionally, apoptosis/necrosis scores were significantly higher in the lithium group compared to the groups treated with quercetin and lithium+quercetin (Group 2–3: p=0.042; Group 2–4: p=0.017). In the liver tissue, lithium exposure led to hepatocellular vacuolization, intracellular degeneration, and inflammation, while these alterations were milder and tissue integrity was better preserved in the quercetin-treated groups.

Conclusion: This study demonstrated that lithium carbonate induces oxidative stress and structural damage in rat kidney and liver tissues. Quercetin exerted a mitigating effect on these adverse outcomes by enhancing the antioxidant defense system and improving both biochemical parameters and histopathological architecture. These findings suggest that quercetin may serve as a potential protective agent against lithium-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity. Further studies using varying doses and durations are recommended to better elucidate its protective mechanisms.

Key Words: Lithium carbonate, quercetin, oxidative stress, lithium toxicity, flavonoid, antioxidant

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Böbrekler ve karaciğer, vücudun homeostazının sürdürülmesinde kritik rol oynayan, metabolik atıkların uzaklaştırılmasından detoksifikasyon süreçlerine kadar geniş bir yelpazede fizyolojik işlevleri yerine getiren hayati organlardır. Bununla birlikte, çeşitli endojen ve eksojen faktörlere bağlı olarak bu organlarda meydana gelen hasarlar, fonksiyonlarını ciddi şekilde bozarak akut veya kronik böbrek ve karaciğer yetmezliği gibi klinik tabloların ortaya çıkmasına neden olabilir. Böbrek ve karaciğer hasarı, oksidatif stres, inflamasyon ve apoptotik süreçlerin tetiklenmesiyle progresif bir seyir izlemekte olup, özellikle bazı farmakolojik ajanlara bağlı nefro- ve hepatotoksisite günümüzde önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir.

Lityum, psikiyatrik hastalıkların tedavisinde uzun yıllardır yaygın olarak kullanılan bir ajan olup, duygu durum dengeleyici etkisi nedeniyle bipolar bozukluk başta olmak üzere çeşitli nöropsikiyatrik hastalıkların yönetiminde tercih edilmektedir. Ancak terapötik aralığının dar olması ve uzun süreli kullanımı, böbrek ve karaciğer fonksiyonları üzerinde potansiyel advers etkiler yaratabilmektedir. Lityumun proksimal tübül epitel hücreleri ve hepatositler üzerindeki toksik etkileri, oksidatif stres ve inflamatuar yanıtların artışı ile ilişkilendirilmekte olup bu durum organ fonksiyonlarında kalıcı hasarlara yol açabilmektedir.

Son yıllarda, doğal bileşiklerin farmakolojik etkileri ve olası koruyucu mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalar giderek artmaktadır. Flavonoidler, güçlü antioksidan ve antiinflamatuar özelliklere sahip doğal bileşikler olup çeşitli hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde umut verici ajanlar olarak değerlendirilmektedir. Kuersetin, yaygın olarak sebze ve meyvelerde bulunan bir flavonoiddir ve oksidatif stresin azaltılması, inflamatuar yanıtın modülasyonu, apoptotik süreçlerin düzenlenmesi gibi çok yönlü biyolojik etkileri ile dikkat çekmektedir. Önceki çalışmalar, kuersetinin farklı organ sistemleri üzerindeki koruyucu etkilerini ortaya koymuş olmakla birlikte lityum kaynaklı böbrek ve karaciğer hasarı üzerindeki etkilerine dair literatürde sınırlı sayıda veri bulunmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, lityumun böbrek ve karaciğer dokuları üzerindeki toksik etkilerini değerlendirmek ve kuersetinin olası koruyucu rolünü araştırmaktır. Çalışmada, lityum ile indüklenen böbrek ve karaciğer hasarı modelinde oksidatif stres belirteçleri ve histopatolojik değişimler incelenerek kuersetinin bu süreçler üzerindeki etkisi ortaya konulacaktır. Elde edilen bulguların, lityum tedavisi ile ilişkili nefro- ve hepatotoksisite mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunacağı ve farmakolojik yaklaşımlara ışık tutabileceği düşünülmektedir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Lityum

4.1.1. Lityum Farmakolojisi

Lityum, tıp tarihinde uzun bir geçmişe sahiptir ve özellikle ruh sağlığı hastalıklarının tedavisinde önemli bir yer edinmiştir. İlk olarak M.S. 200'lerde Yunan hekimler, alkali suyun sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden bahsetmiştir. 19. yüzyılda James Parkinson, ürik asit birikiminin depresyon ve maniye neden olduğunu ileri sürmüş, bu kapsamda lityumun ürik asit birikimlerini çözme özelliği keşfedilmiştir. 1949 yılında Cade, lityumun mani tedavisindeki faydalarını tespit etmiş, 1954'te Schou ise lityumun bipolar bozuklukta ruh hali dengeleyici etkilerini randomize kontrollü çalışmalarla doğrulamıştır. Günümüzde lityum, bipolar bozuklukların uzun dönemli tedavisinde hem atakları önlemede hem de intihar riskini azaltmada en etkili seçeneklerden biri olarak değerlendirilmektedir(1).

Lityum, periyodik tabloda alkali metaller grubunda yer alan ve atom numarası 3 olan en hafif katı elementtir. Farklı tuz formlarına sahiptir; bunlar arasında en yaygın olarak bilinenler lityum sitrat, karbonat ve sülfattır. Tıbbi kullanımda en sık tercih edilen formu lityum karbonattır. Doğal ortamda serbest halde bulunmayan lityum, genellikle pegmatit minerallerinde bulunur. Diğer alkali metaller gibi dış yörüngesinde bir değerlikli elektron taşır ve bu elektronu kaybederek pozitif bir iyon oluşturur. Gümüşi beyaz renkte ve yumuşak bir metal özelliği taşır(2).

4.1.2. Lityum Etki Mekanizması

Lityumun etkileri, makroskopik ve mikroskobik düzeylerde incelenmiştir. Makroskopik olarak ruh hali ve biliş üzerinde değişiklikler yaparken beyin yapısını da etkileyebilir. Mikroskobik düzeyde ise hücresel, hücre içi ve moleküler süreçleri düzenler, tüm bunlar lityumun karmaşık bir etki mekanizmasına sahip olduğunu gösterir. Lityum, glutamat ve dopamin yoluyla gerçekleşen uyarıcı nörotransmisyonu azaltırken, GABA aracılığıyla inhibitör nörotransmisyonu artırır. Ayrıca, hücre içi düzeyde inositol, DAG, PKC, hücre içi kalsiyum ve MARCKS gibi ikincil haberci sistemleri değiştirerek sinir iletimini ve hücresel canlılığı destekler(3).

Dopamin, bipolar bozukluğun patofizyolojisinde önemli bir rol oynayan uyarıcı bir nörotransmitterdir. Sinaps sonrası etkileri, G-protein bağlı reseptörler aracılığıyla gerçekleşir ve bu reseptörler adenil siklaz (AC) ve cAMP gibi ikincil haberci sistemleri aktive ederek nörotransmisyonu düzenler. Kronik lityum tedavisinin, bu alt birimlerin aktif ve inaktif durumları arasındaki dengeyi etkilediği gösterilmiştir(4).

Glutamat, manide artan bir nörotransmitter olup duygu durum dengeleyici tedaviler için önemli bir hedeftir. Lityum, NMDA reseptörüne bağlanarak akut dönemde glutamat seviyesini artırırken, kronik kullanımda bu reseptörün aktivitesini azaltır ve glutamat geri alımını düzenler. Bu etkiler, lityumun uzun vadeli anti-manik ve nöroprotektif özelliklerine katkıda bulunur(5).

GABA, dopamin ve glutamat nörotransmisyonunu düzenleyen inhibitör bir nörotransmitter olup duygu durum stabilizasyonunda önemli bir rol oynar. Bipolar bozuklukta GABAnerjik aktivitenin azaldığı bildirilmiştir ve düşük GABA seviyelerinin bu bozukluğun biyolojik bir belirteci olabileceği öne sürülmektedir(6). Lityum plazma ve beyin omurilik sıvısındaki GABA düzeylerini artırır.

Lityum, hücresel sinyal yollarını düzenleyerek nöroprotektif ve duygu durum dengeleyici etkiler gösterir. Lityum, adenil siklaz/cAMP sistemini stabilize ederek cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB) aktivasyonunu artırır ve bu sayede beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) ve bcl-2 gibi nöroprotektif proteinlerin üretimini destekler. Fosfoinosid döngüsünde inositol tükenmesine yol açarak hücre içi kalsiyum dengesini etkiler ve otofajiyi tetikler. Protein kinaz C (PKC) ve miyristoil-alanin açısından zengin C kinaz substratını (MARCKS) inhibe ederek uyarıcı nörotransmisyonu azaltır ve anti-manik etkiler sağlar. Bunun yanı sıra, hücre zarından kalsiyum girişini engelleyerek eksitatör toksisiteyi önler ve nöroprotektif etkilerini güçlendirir(3).

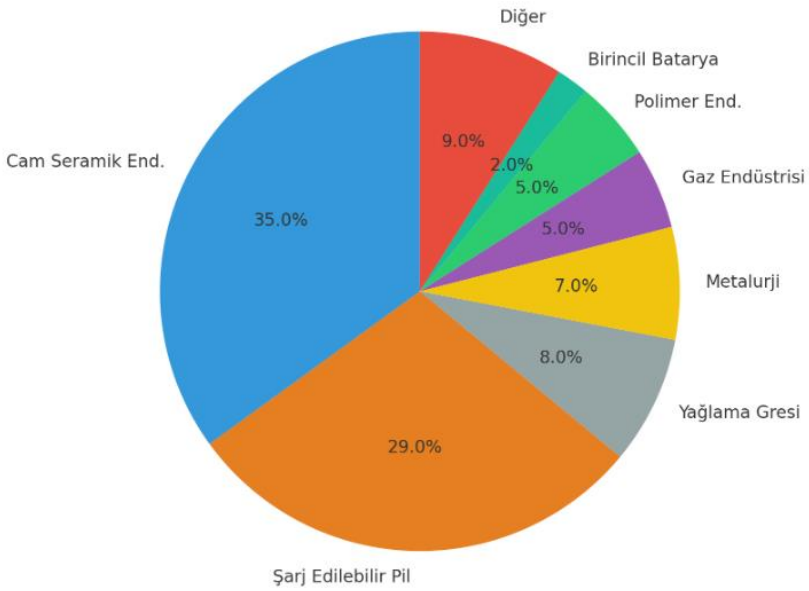
Lityumun hücresel düzeydeki başlıca hedeflerinden biri glikojen sentaz kinaz-3 beta (GSK-3β) enzimidir. Lityumun nöropsikiyatrik ve nöroprotektif etkilerinin, GSK-3β ve GSK-3α izoformlarının inhibisyonuyla ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur. GSK-3'ün farmakolojik ya da genetik yollarla baskılanması, hayvan modellerinde lityumun davranışsal ve hücresel etkilerini taklit edebilmiştir. Lityum, GSK-3β'yi doğrudan inhibe ederek Wnt/β-katenin sinyal yolunu aktive eder ve hücre içinde β-katenin birikimini artırır. Bu durum, hücre büyümesi ve yaşamsal işlevleri destekleyen genlerin ekspresyonunu artırarak nöroprotektif etki sağlar. Ayrıca PI3K/Akt yolunu da uyararak Akt aracılığıyla GSK-3β'nin

baskılanmasına, buna bağlı olarak CREB ve BDNF düzeylerinin yükselmesine katkıda bulunur(7, 8). Sonuç olarak, GSK-3β başta olmak üzere çeşitli sinyal yolaklarını etkileyerek nörodejeneratif süreçlere karşı koruyucu bir rol üstlenebilir.

Lityum tedavisi böbrek ve karaciğer dokularında oksidatif stres düzeylerinde artışlara neden olmaktadır. Bu durum, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi, lipid peroksidasyonu düzeylerinde yükselme ve endojen antioksidan savunma mekanizmalarının zayıflaması ile karakterizedir. Bu biyokimyasal değişiklikler, hücre içi redoks dengesinin bozulmasına ve mitokondriyal fonksiyonların zayıflamasına yol açarak ATP üretiminde azalma ve hücresel enerji yetersizliği ile sonuçlanır. Artmış lipid peroksidasyonu ise hücre membranlarının yapısal bütünlüğünü bozarak hücre hasarını daha da derinleştirir. Dolayısıyla, lityuma bağlı toksik etkilerin altında yatan patofizyolojik mekanizmalardan biri de oksidatif stres olup bu süreç hem biyokimyasal parametrelerde hem de histomorfolojik düzeyde bozulmalarla ilişkilidir (9, 10).

4.1.3. Lityum Kullanım Alanları

Lityum, fiziksel ve kimyasal özellikleri sayesinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. İlk dönemlerde daha çok sakinleştirici ilaçların üretiminde kullanılan lityumun, 1994 yılında ilaç sektöründeki tüketimi %13 seviyesindeyken bu oran 2016'da %1'e kadar düşmüştür. Günümüzde ise teknolojik gelişmeler ve yeni nesil enerji kaynaklarının ortaya çıkmasıyla özellikle batarya üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. En yaygın kullanım alanlarından biri, yüksek enerji yoğunluğu ve düşük ağırlığı sayesinde lityum iyon bataryaların üretimidir. Özellikle elektrikli ve hibrit araçların yaygınlaşmasıyla lityuma olan talep artmaktadır. Dünya genelinde lityumun büyük bir kısmı lityum karbonat ($Li_2\ CO_3$) formunda bataryalarda, seramik ve alüminyum üretiminde kullanılmakta; geri kalanı ise lityum hidroksit (LiOH), lityum klorür (LiCl) ve metalik lityum gibi ara ürünlerin üretimine ayrılmaktadır. Bu çeşitlilik, lityumun farklı sektörlerdeki vazgeçilmezliğini ve artan talebini açıklamaktadır(11).



Şekil 4.1. Lityumun kullanım alanlarına göre dağılımı (12)

1949 yılında Avustralyalı psikiyatrist John Cade, lityumun mani hastalarındaki etkisini ortaya koyan bir makale yayımladı; bu çalışmadan esinlenerek bipolar bozukluk hastalarında yapılan araştırmalar, lityum tedavisinin etkinliğini kanıtladı ve 1974 yılında FDA onayı alındı(13).

Lityum, bipolar bozukluk tedavisinde en etkili yöntemlerden biri olarak kabul edilmekte ve genellikle diğer tedavilere göre daha uzun süre kullanılmaktadır. Temel kullanım alanı bipolar bozukluk olmakla birlikte dirençli unipolar depresyonda, şizofrenide ve dürtüsellik ya da saldırganlıkla ilişkili bozukluklarda da etkili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, intihar riskini azaltmada önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir(14).

Lityum, manik ve depresif semptomları hafifletme kapasitesine sahip etkili bir anti-manik ilaç olarak bilinir ve duygu durum dengeleyici tedavilerde altın standart olarak kabul edilmektedir. Bipolar bozukluk tedavisinde, lityumun duygu durum dengeleyici özellikleri önemlidir, çünkü akut semptomlar için reçete edilen tedaviler genellikle uzun süreli olarak kullanılmaktadır. Lityuma iyi yanıt alınmasını öngören faktörler; iyileşme dönemleriyle ayrılmış mani ve depresyon epizodları, hızlı döngü veya karışık ruh hali ile psikoz belirtilerinin olmaması, bipolar bozukluk aile öyküsü, kısa hastalık süresi, geç başlangıç yaşı ve düşük vücut kitle indeksi olarak sıralanabilir(15).

4.1.4. Lityum Farmakokinetiği

Lityum genellikle lityum karbonat veya lityum sitrat formunda oral olarak alınır. Lityum iyonunu üst gastrointestinal sistemde çözünerek serbest kalır ve iyon, pasif difüzyon yoluyla hızlı bir şekilde emilir. Midedeki yiyeceklerin varlığı emilim hızını bir miktar azaltabilir, bu da yemek sonrasında alınan lityumun gastrointestinal yan etkileri hafifletmesinin olası bir açıklaması olarak görülmektedir. Hızlı salınımlı preparatlar 1–2 saat içinde, yavaş salınımlı olanlar ise 5–6 saat içinde maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır(16, 17).

Lityum, doğadaki en küçük elementlerden biri olan alkali bir metal olarak toplam vücut sıvısında hızlı ve kolay bir şekilde dağılma özelliğine sahiptir. Dağılımın ardından lityum, böbrekler yoluyla yavaşça elimine edilmeye başlar ve zamanla hücre içi ve dışı bölmeler arasında bir denge oluşur. Lityumun başlangıç dağılım süresi yaklaşık 6 saat sürmekte olup bu süre tamamlanmadan serum konsantrasyonunun doğru bir şekilde değerlendirilmesi mümkün değildir. Serum seviyelerinin doğru şekilde ölçülebilmesi için lityum alımından sonra 12 saat beklenmesi önerilmektedir. Lityumun dağılımı karmaşıktır ve tiroid ve böbrek gibi bazı bölgelere öncelikli olarak alınır. Beyindeki lityum konsantrasyonu genellikle plazma seviyelerine benzerlik gösterse de beyine dağılım süreci yaklaşık 24 saatlik bir gecikme ile gerçekleşir(18).

Lityum, metabolize edilmeden böbrekler aracılığıyla atılır ve plazma düzeyleri yaş, dehidrasyon, sodyum dengesi gibi böbrek fonksiyonlarını etkileyen fizyolojik faktörlerden kolayca etkilenir. Glomerüllerde tamamen filtrelendikten sonra, lityumun %75'i böbrek tübüllerinde yeniden emilir ve klirens hızı glomerüler filtrasyon hızının yaklaşık dörtte biri kadardır. Sağlıklı genç bireylerde serum yarı ömrü 24 saat civarındayken, yaşlılarda veya böbrek yetmezliği olan hastalarda bu süre 48 saatten uzun olabilir. Merkezi kompartmanda denge konsantrasyonlarına sağlıklı bireylerde genellikle 3–4 günde, böbrek fonksiyonu bozulmuş hastalarda ise bir haftayı aşan sürede ulaşılır(16).

Lityum tedavisine verilen yanıt bireyler arasında farklılık gösterebilir ve bu durum genetik altyapıyla ilişkilidir. Bipolar bozukluk hastalarında bu farklılıkları açıklamak amacıyla yapılan çalışmalarda; serotonin taşıyıcı gen, BDNF ve GSK-3β gibi bazı gen varyantlarının, lityum yanıtı ya da yan etki riski ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Ancak bugüne kadar elde edilen sonuçlar genellikle tutarsızdır ve klinik kullanıma uygun, güvenilir bir genetik belirteç henüz tanımlanamamıştır. Geniş katılımlı genom düzeyi çalışmalar (GWAS) bu alanda gelecek vadetse de farmakogenetik uygulamalar hâlen araştırma aşamasındadır(19).

4.1.5. Lityumun Yan Etkileri

Lityumun yan etkileri böbrek, gastrointestinal, nörolojik, tiroid, metabolik, dermatolojik ve kardiyolojik olarak organ ve sistemlere göre kategorize edilebilir. Bazı yan etkiler tedavinin başlangıç aşamasında görülmekle birlikte uzun süreli kullanımda hafifleyebilir. Ancak, lityum idame tedavisi sırasında herhangi bir aşamada ortaya çıkabilecek yan etkiler de bulunmaktadır ve bunlardan bazıları tedavinin başarısını ciddi şekilde etkileyebilir(20).

Terapötik etkinlik gösterebilmesi için serumda belirli bir konsantrasyon aralığında tutulması zorunludur. Ancak lityumun terapötik indeksi oldukça dardır. Klinik tedavilerde önerilen terapötik serum düzeyleri, genellikle 0,6 ila 0,8 mmol/L arasında sınırlandırılmıştır. Akut manik epizodların tedavisinde bu sınır 1,2 mmol/L'ye kadar çıkabilmektedir. Bununla birlikte 1,5 mmol/L'yi aşan serum düzeylerinde toksik etkilerin ortaya çıkma riski belirgin olarak artar. Literatürde, 1,0 mmol/L üzerindeki lityum konsantrasyonlarının, bireysel hassasiyetlere bağlı olarak toksisite bulguları oluşturabileceği bildirilmiştir(21).

Gastrointestinal yan etkiler: Lityum tedavisinin başlangıç aşamasında hastaların %10–20'sinde bulantı görülebilir ve bu durum genellikle lityumun pik plazma düzeyleriyle ilişkilendirilir. Bu semptom genellikle hastalar tarafından tolere edilebilir ve tedavi sürecinin ilerlemesiyle birlikte azalma eğilimi gösterir. Kusma ise nadiren görülen bir yan etki olup lityum seviyeleri terapötik aralıkta tutulduğunda genellikle ortaya çıkmaz. Ancak kusma meydana gelirse dozun azaltılması önerilebilir. Tedavinin ilk aylarında hastaların yaklaşık %10'unda ishal görülebilir ve bu genellikle yüksek lityum seviyeleriyle ilişkilidir. Dozun azaltılması bu semptomların hafifletilmesine katkı sağlayabilir. Ayrıca, hem kusma hem de ishal lityum toksisitesinin belirtileri olabilir(20).

Nörolojik yan etkiler: Lityum tedavisinin en yaygın yan etkisi, hastaların %20–25'inde görülen el tremorudur. Genellikle tedavinin ilk birkaç haftasında ortaya çıkan bu tremor sıklıkla planlı el hareketleri sırasında belirginleşir. Bunun yanı sıra, lityum tedavisi sırasında parkinsonizm, tardiv diskinezi, akatizi gibi ekstrapiramidal semptomlar görülebilir. Bu semptomlar doz azaltımı ile düzelmediği takdirde lityum tedavisinin kesilmesi düşünülebilir(20).

Endokrin yan etkiler: Lityum, tiroid bezinde plazmaya göre 3-4 kat daha yüksek konsantrasyonlarda birikerek tiroid hormonlarının üretimini ve salınımını baskılar. Uzun süreli lityum tedavisinin en yaygın tiroid yan etkileri hipotiroidizm ve guatrdır. Hipotiroidizm sıklığı

%6–50 arasında değişmekte olup genellikle tedavinin ilk yıllarında ve ailede tiroid disfonksiyonu öyküsü olan hastalarda daha sık görülür. Guatr, lityum tedavisi gören hastaların %30–59'unda bildirilmiştir. Lityum tedavisi sırasında tiroid fonksiyonlarının düzenli olarak izlenmesi önerilir. TSH yüksekliği, hipotiroidizm veya guatr gelişimi tedavinin sonlandırılmasını gerektirmez, bu durumlar genellikle tiroksin tedavisi ile yönetilebilir(20, 22).

Böbrek üzerine etkileri: Lityum tedavisi, uzun süreli kullanımlarda böbrekler üzerinde belirgin toksik etkiler oluşturabilir. En sık görülen renal yan etkilerden biri, nefrojenik diabetes insipidus (NDI) gelişimidir. Lityum, toplayıcı tübül hücrelerinde epitelyal sodyum kanalları (ENaC) aracılığıyla hücre içine alınır. Ancak Na+/K+ ATPaz pompası lityumu hücre dışına etkin biçimde taşıyamaz ve hücre içi birikim meydana gelir. Bu durum, antidiüretik hormon (ADH) sinyalinin bozulmasına ve akuaporin-2 (AQP2) kanallarının membrana taşınmasının azalmasına yol açar. Sonuç olarak, idrar konsantrasyon yeteneği kaybolur; poliüri ve polidipsi gelişir. Uzun süreli veya yüksek doz maruziyetinde tubulointerstisyel inflamasyon ve fibrozis ortaya çıkar. Bu süreç tübüler atrofi, interstisyel fibrozis ve lenfosit infiltrasyonu ile karakterizedir. Klinik olarak serum kreatinin düzeylerinde yükselme ve glomerüler filtrasyon hızında azalma ile ilerleyici kronik böbrek hastalığı (KBH) gelişebilir. Lityuma bağlı NDI genellikle geri döndürülebilirken, gelişen tubulointerstisyel hasar kalıcı olabilmektedir. Bu nedenle, lityum tedavisi süresince renal fonksiyonların yakından izlenmesi ve hidrasyon durumunun korunması büyük önem taşır(21, 23).

Metabolik yan etkiler: Lityum tedavisi sırasında kilo alımı yaygın bir yan etki olarak görülmekte ve tedaviye uyumu zorlaştırabilmektedir. Bu durum lityumun karbonhidrat ve yağ metabolizması üzerindeki insülin sinyal yolaklarını dolaylı olarak etkilemesi ile sodyum tutulumu gibi mekanizmalarla ilişkilendirilmektedir. Lityum, böbreklerde kalsiyum geri alımını artırabilir, parathormon salgısını uyarabilir ve kalsiyum-fosfat dengesini bozarak primer lityum kaynaklı hiperparatiroidizme neden olabilir. Bu nedenle, uzun süreli lityum tedavisi gören bireylerde serum kalsiyum düzeylerinin düzenli olarak izlenmesi ve herhangi bir artış durumunda PTH seviyelerinin değerlendirilmesi önerilmektedir(20, 24).

Dermatolojik yan etkiler: Lityumun dermatolojik etkileri arasında akne ve psoriasisin şiddetlenmesi ya da ilk kez ortaya çıkması bulunabilir. Özellikle orta veya ciddi şiddetteki psoriasis lityum tedavisi için bir kontrendikasyon olarak değerlendirilebilir. Dermatolojik belirtilerin genellikle lityum dozuyla ilişkili olması nedeniyle semptomların hafifletilmesi için doz azaltımı önerilmektedir(20).

Kardiyolojik yan etkiler: Lityumun kardiyolojik yan etkileri arasında en önemlisi sinüs bradikardisi olup, T dalgası inversiyonu, sinüs düğüm disfonksiyonu, sinoatriyal bloklar, PR ve QT uzaması gibi EKG değişiklikleri tedavi süresi ve serum düzeyleriyle ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, uzun süreli lityum tedavisi gören hastalarda düzenli EKG takibi yapılması ve ciddi aritmilerde kardiyolojik değerlendirme önerilmektedir(20).

Histopatolojik değişiklikler: Lityumun uzun süreli kullanımı, bazı doku ve organlarda mikroskobik düzeyde yapısal değişikliklere neden olabilir. Özellikle böbreklerde, kronik kullanıma bağlı olarak tubulointerstisyel nefrit, tübüler atrofi ve toplayıcı kanallarda mikrokist oluşumu gibi bulgular gözlenmiştir. İleri olgularda odaklı segmental glomerüloskleroz da gelişebilir. Bu değişiklikler klinikte genellikle poliüri ve ilerleyici böbrek yetmezliğiyle ortaya çıkar(25). Tiroid bezinde koloid birikimi ve diffüz büyüme hipotiroidiye, paratiroid bezinde hücre hiperplazisi ise hiperkalsemiye yol açabilir(26). Merkezi sinir sisteminde lityum toksisitesine bağlı olarak nöronal şişme gibi akut, genellikle geri dönüşlü değişiklikler rapor edilmiştir. Kalıcı hasar ise nadirdir(27). Lityumun nöroprotektif etkileri bulunmakla birlikte özellikle böbrek ve endokrin sistemde yapısal zarar oluşturabileceği için uzun süreli tedavilerde hastaların düzenli takibi önemlidir.

Uzun dönem lityum kullanımında kronik böbrek hastalığı, nefrojenik diabetes insipidus, hipotiroidi, hiperparatiroidizm, hiperkalsemi, kilo artışı, cilt döküntüleri ve kardiyak ileti bozuklukları riskinde artış gözlenir. Bu nedenle tedavi süresince böbrek fonksiyonları, tiroid ve paratiroid hormon düzeyleri, serum kalsiyumu, kilo değişimi ve EKG bulguları düzenli olarak izlenmelidir(26).

4.1.6. Lityum Nefrotoksisitesi

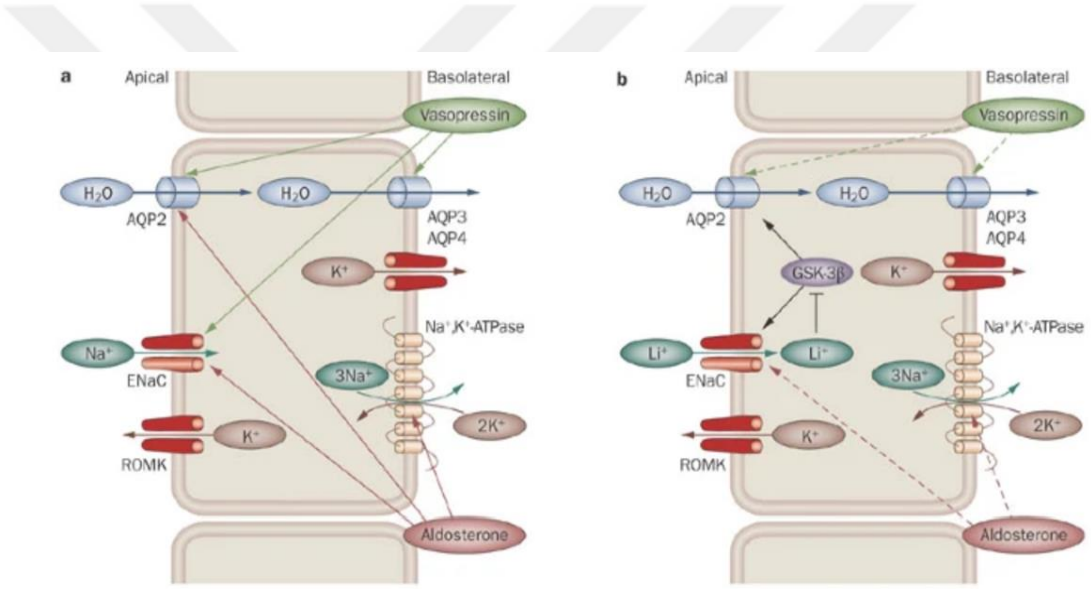
Lityum, glomerüllerden serbestçe filtrelenir ve %80 kadarı proksimal tübüllerde, bir kısmı ise distal nefronlarda epiteliyal sodyum kanalı (ENaC) yoluyla geri emilir. Glomerüler filtrasyon hızının azalması, hipovolemi, NSAID kullanımı veya düşük tuz alımı gibi durumlar lityumun serum düzeylerini artırabilir. Uzun süreli lityum kullanımı, idrar konsantrasyon kapasitesinde azalma ve kronik böbrek hastalığı ile ilişkilidir(28).

Nefrojenik Diabetes İnsipidus: Lityum tedavisi, hastaların %40'ına kadarında nefrojenik diabetes insipidus (NDI) gelişimiyle ilişkilidir. Rat modellerinde 25 günlük lityum maruziyeti belirgin diüreze ve aquaporin-2 (AQP2) su kanalı ekspresyonunda %70'e varan bir azalmaya neden olmuştur(29). İlk iki hafta içinde toplayıcı kanallarda AQP2'nin apikal membrana

taşınmasında ve ekspresyonunda bozulmalar gözlenmiştir. İki haftayı takiben ise toplayıcı kanalda hücresel yapıda değişiklikler meydana gelmiş, esas hücreler ile interkale hücreler arasındaki oran değişmiştir.

Natriürez: Lityum kaynaklı natriürezin mekanizmaları tam olarak anlaşılamamış olsa da ratlarla yapılan araştırmalarda poliüri, artmış sodyum atılımı ve plazma aldosteron seviyelerinde yükselme ile ilişkilendirilmiştir. Bu değişiklikler toplayıcı kanalda ENaC alt birimlerinin bölgesel baskılanmasıyla açıklanabilir(30).

Metabolik asidoz: Uzun süreli lityum tedavisi, hiperkloremik metabolik asidoza neden olabilir. Bu durum toplayıcı kanalda azalmış proton sekresyonu veya artmış asit geri difüzyonu ile ilişkilendirilmiştir(28).



Şekil 4.2. Toplayıcı kanal hücresinde lityumun elektrolit ve su taşınımına etkisi.

Fizyolojik koşullarda(**a**) Na, ENaC kanalı yoluyla apikal membranı geçerek hücre içine alınır ve Na^+ /K^+ -ATPaz ile bazolateralden dışarı atılır. Su geçişi ise AQP2 ve AQP4 aracılığıyla olur. Bu süreçlerde aldosteron ve vazopressin etkilidir. Potasyumun hücre dışına taşınması ROMK ile gerçekleşir. Lityum varlığında(**b)** ise bu fizyolojik mekanizma bozulur. Hücreye ENaC üzerinden giren sodyum miktarı azalır; bu da Na^+ /K^+ -ATPaz'ın işlevsel olarak aktif kalmasına rağmen sodyum yükünün yeterince sağlanamamasına neden olur. Ayrıca lityum, glikojen sentaz kinaz-3 beta (GSK-3β) enzimini inhibe ederek hücre içi sinyal yollarını etkiler. GSK-3β inhibisyonu, AQP2 ekspresyonunu azaltır; bu durum vazopressin tarafından düzenlenen su taşınımını sekteye uğratır. Sonuç olarak hücreler, vazopressinin etkilerine daha az yanıt verir hale gelir ve suyun geri emiliminde belirgin bir azalma görülür(28).

Lityum kaynaklı nefropati: Lityum kaynaklı nefropati, genellikle kronik tubulointerstisyel hasar ile karakterizedir ve ilk kez 1977 yılında, 2-15 yıl arasında lityum tedavisi gören hastalardan alınan böbrek biyopsilerinde tanımlanmıştır. Daha sonraki çalışmalar, bu hasarın interstisyel fibrozis ile ilişkili olduğunu ve tedavinin başlangıcından itibaren 5 yıl gibi kısa bir sürede gelişebileceğini göstermiştir. Tubulointerstisyel değişiklikler sıklıkla fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS) lezyonları ile birlikte görülmektedir. Bunun

yanında, distal tübül ve toplayıcı kanaldan kaynaklanan böbrek kistleri de hem biyopsi örneklerinde hem de MRI görüntülemelerinde yaygın olarak tespit edilmiştir. Lityum kaynaklı nefropati genellikle belirti vermeden ilerler ve yıllar içinde son dönem böbrek yetmezliğine (ESRD) yol açabilir. GSK-3β ve inositol monofosfatazın inhibisyonu, inositol seviyelerinin azalmasına ve hücre döngüsünün bozulmasına yol açarak nefrotoksisiteyi tetikleyebilir(28).

4.1.7. Lityum Zehirlenmesi

Lityum intoksikasyonu, akut veya kronik formda görülebilir. Akut toksisite, genellikle kasıtlı ya da kazara aşırı doz alımı ile ortaya çıkarken, kronik toksisite birkaç gün ila hafta içerisinde gelişir. Zehirlenme genellikle artmış alım veya azalmış atılımla ilişkilidir. Böbrek fonksiyon bozukluğu veya lityum atılımını etkileyen ilaçlar bu durumu tetikleyebilir. Yüksek lityum içeren su kaynakları veya pil atıklarına maruziyet sonucu nadiren çevresel kaynaklı lityum zehirlenmesi rapor edilmiştir. Lityum, sodyum ve potasyum taşıyan proteinler aracılığıyla hücre içine alınır; ancak sınırlı hücre dışı taşıma mekanizmaları nedeniyle hücre içinde birikim ve dengesizlik oluşturabilir(31).

Lityumun dar terapötik aralığı ve toksisite riski, terapötik izlemenin tedavi sürecindeki önemini artırmaktadır. Dağılım fazının uzunluğu nedeniyle plazma örneklerinin son dozdan en az 10 saat sonra alınması tavsiye edilmektedir. Terapötik plazma konsantrasyonu için önerilen aralık kılavuzlar arasında farklılık göstermekle birlikte, genellikle 0.6–1.5 mEq/L olarak kabul edilir. Avrupa kılavuzları 0.6–0.8 mEq/L gibi daha dar bir aralığı önerirken, ABD kılavuzları 0.5–1.2 mEq/L arasında doz ayarlaması yapılmasını önermektedir(16).

Akut zehirlenme, genellikle yüksek doz lityum alımıyla meydana gelir ve en sık bulantı, kusma, ishal gibi gastrointestinal semptomlarla seyreder. Nörolojik etkiler genellikle geç ortaya çıkar. Kronik zehirlenme ise uzun süreli lityum kullanımı sonucu oluşur ve özellikle nörolojik sistem üzerinde daha ciddi hasarlara yol açar. Tremor, ataksi, bilinç bulanıklığı ve kalıcı serebellar hasar gibi bulgular öne çıkar. Kardiyak belirtiler olan QT uzaması, ST segment değişiklikleri ve aritmilerin akut miyokard infarktüsünden ayırt edilmesi gerekir. Renal sistemde ise akut böbrek yetmezliği sık görülürken nadiren interstisyel nefrit oluşabilir ancak glomerüler fonksiyonlar genellikle korunur(32).

Tedavide öncelikli olarak intravenöz sıvı desteği ile hidrasyon sağlanarak lityum eliminasyonu artırılır. Şiddetli vakalarda ise lityumun hızla atılması için hemodiyaliz tercih

edilir. Akut doz alımlarında mide boşaltma gibi dekontaminasyon yöntemleri uygulanabilir(32).

4.2. Karaciğer

Vücudun en büyük organı olan karaciğer, sağlıklı bir yetişkinde yaklaşık 1400 gram ağırlığındadır ve diyaframın altında konumlanmıştır. Glisson kapsülü adı verilen bağ dokusundan oluşmuş yapı organın içine uzanarak karaciğeri lobüllere ayırır(33). Hepatik arter, oksijen yönünden zengin kanı kalpten karaciğere taşır ve karaciğere gelen kan akışının yaklaşık %25'ini oluşturur. Portal ven ise sindirim sisteminden gelen besinlerle zenginleşmiş kanı karaciğere getirir ve toplam kanın %75'ini sağlar. Bu iki farklı kan kaynağı, hepatositlerle çevrili sinüzoidlerde birleşir. Kan, sinüzoidlerden geçerek lobüllerin santral kanalına doğru ilerler ve buradan toplayıcı ven sistemi aracılığıyla hepatik venlere boşaltılır(34).

4.2.1. Karaciğerin Mikroskopik Anatomisi

Karaciğer, fonksiyonel birimler olan lobüller halinde organize olmuştur. Klasik karaciğer lobülü, altıgen bir yapıya sahiptir; merkezinde santral ven, köşelerinde ise portal triad yer alır. Bu yapı içerisinde kan akışı, lobülde periferden merkeze doğru ilerlerken, safra akışı tam ters yönde, merkezden perifere doğru gerçekleşir(35). Karaciğer iki ana tip hücreden oluşur. Bunlar hepatositler ve Kupffer hücreleridir. Santral venden lobülün dışına doğru ışınsal yayılım gösteren hepatositler karaciğerin rejeneratif foksiyonlarını üstlenir. Sinüzoidleri kaplayan kupffer hücreleri ise aktif makrofajlardır(34, 36).

4.2.2. Detoksifikasyon ve İlaç Metabolizması

Karaciğer, gastrointestinal sistemden emilen maddeleri filtreleyerek faydalı olanları dolaşıma geçirir, zararlıları ise engeller. Bu süreç ilk geçiş olarak adlandırılır ve toksik maddeler için koruyucu bir bariyer sağlar. Karaciğer, vücuda alınan toksinler, ilaçlar ve metabolik atıkları temizlemek için iki temel mekanizma kullanır. İlk olarak, bu maddeleri geçici olarak bağlayarak etkisizleştirir. İkinci olarak, kimyasal yapısını değiştirerek atılabilir hale getirir. Bu süreçte karaciğerin enzim sistemi kritik bir rol oynar. Özellikle sitokrom P450 enzimleri, oksidasyon, indirgenme, hidroliz ve diğer kimyasal reaksiyonlarla ilaçları dönüştürerek vücuttan atılmasını sağlar(34).

4.2.3. Karaciğer Fonksiyon Testleri

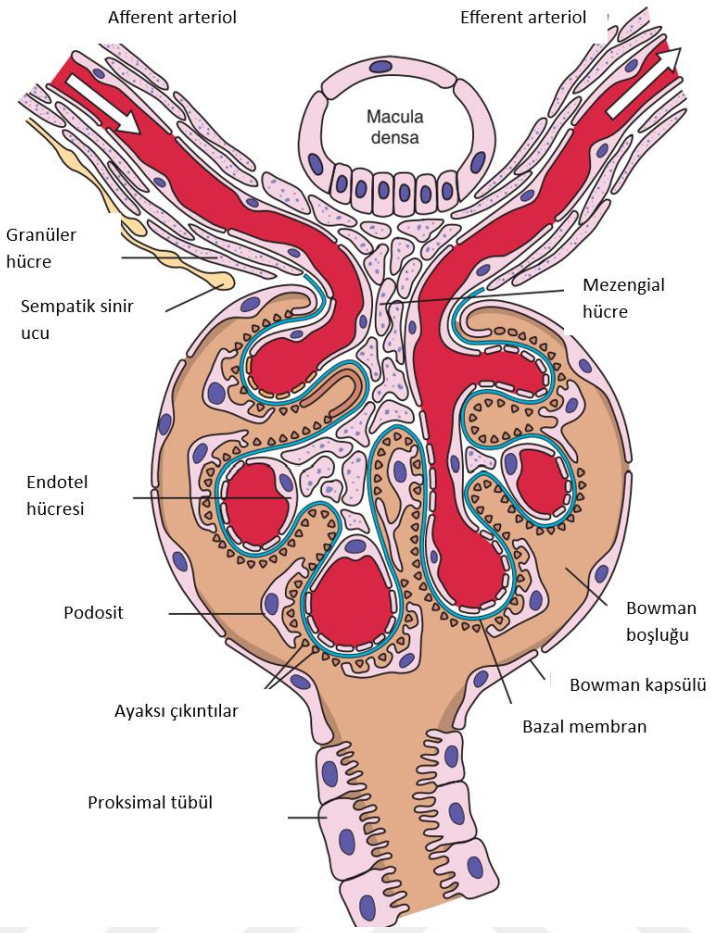
Karaciğer enzimleri, karaciğer fonksiyonlarının değerlendirilmesinde önemli bir yere sahiptir çünkü karaciğer hasarı sonucunda, özellikle sitoliz veya nekroz meydana geldiğinde, bu enzimler dolaşıma salınır. Klinik laboratuvarlarda en sık ölçülen iki aminotransferaz enzimi AST ve ALT'dir. Bu enzimler, karaciğerde meydana gelen hepatoselüler hasarın tespitinde yararlı göstergelerdir. AST ve ALT, en yüksek düzeylerine genellikle viral hepatit, ilaç veya toksin kaynaklı karaciğer nekrozu ve karaciğer iskemisi gibi akut durumlarda ulaşır(37).

4.3. Böbrek

Böbrekler, fasulye şeklinde olup retroperitoneal bölgede konumlanır. Enine kesitlerinde, iki ana yapı olan korteks ve medulla ayırt edilir. Korteks tabakası glomerülleri; medulla tabakası piramitleri barındırır. Piramitlerin tepe noktaları, papilla adı verilen yapılar aracılığıyla kalikslere açılır. Oluşan idrar, kalikslerden böbrek pelvisine geçer(38). Her böbrekte yaklaşık 1 milyon tane bulunan nefron beş temel bölümden oluşan kompleks bir aparattır. Bu bölümler, Bowman kapsülüyle çevrelenmiş kapiller yumak olan glomerül, proksimal tübül, Henle kulpu, distal tübül ve toplayıcı kanaldan oluşur(34).

4.3.1. Böbrek Histofizyolojisi

İdrar oluşumu glomerüllerde plazmanın filtrasyonu, tübüler reabsorpsiyon ve bazı maddelerin salgılanması olmak üzere üç süreçten oluşur. Glomerüler filtrasyon bariyeri dört bileşen içerir: Mezangium, düz kas kökenli mezangial hücreler ve matristen oluşup fagositoz ve pinositozla büyük molekülleri temizler. Fenestreli endotel hücreleri, kılcal damarların geçirgen endotel tabakasıdır. Podositler, Bowman kapsülünün visseral epitel hücreleridir ve bariyerin seçiciliğini sağlar. Bazal membran, podositler ile endotel hücreleri bulunan üç katmanlı özel bir yapıdır. Bu bileşenler birlikte filtrasyon sürecini düzenler(39).



Şekil 4.3. Şematize glomerül yapısı(38)

Glomerüler filtrasyon bariyerinin ilk katmanını oluşturan kılcal damar endotel hücreleri geniş gözeneklere sahiptir. Bu fenestreli yapı endotel tabakasına süzgeç benzeri bir görünüm kazandırır. Bazal membran, glomerüler kılcal damarları Bowman kapsülünden ayıran üç katmanlı bir yapıdır. Bu katmanlar; kılcal damarların endotel hücrelerine komşu olan lamina rara interna, merkezde yer alan lamina densa ve Bowman kapsülü epitel hücrelerine yakın olan lamina rara externa'dır. Özellikle negatif yüklü heparan sülfat sayesinde moleküllerin seçici filtrasyonunu sağlar(38).

Podositler, Bowman kapsülünün iç kısmını kaplayan ve bazal membrana bağlı olan hücrelerdir. Glomerüler kılcal damarların yüzeyini ayak benzeri uzantılarıyla sarar. Bu uzantılar arasında 20-30 nm genişliğinde boşluklar bulunur ve bu yapılar filtrasyon yarığı olarak adlandırılır(40).

Böbrek tübülleri, glomerüler ultrafiltratın Bowman kapsülünden başlayarak ilerlediği ve farklı bölümlerde farklı işlemlerin gerçekleştiği yapısal bölgelerdir. Proksimal tübül metabolik olarak aktif hücrelere sahip olup mikrovilüslerden oluşan geniş bir fırçamsı kenar sayesinde filtratın büyük kısmını emer. Henle kulpu, ince inen ve çıkan dallarıyla filtrasyon sürecini

devam ettirir; hücre yapısı, nefron uzunluğuna ve konumuna göre değişir. Distal tübül, mitokondri bakımından zengin hücrelerle iyon taşınımında rol alır ve kolektör kanallara bağlanır. Toplayıcı kanal, idrarın son konsantrasyonunun yapıldığı yerdir; hücreler ADH'ye yanıt olarak su geçirgenliğini ayarlayarak idrar yoğunluğunu belirler(38).

4.3.2. Böbrek İşlevlerinin Biyokimyasal Değerlendirilmesi

Böbrekler, insan vücudunda kritik öneme sahip organlardır. Ana işlevleri arasında metabolik atıkların vücuttan uzaklaştırılması, sıvı ve elektrolit dengesinin sağlanması, asit-baz dengesinin düzenlenmesi ve kan basıncının kontrolünde etkili olan renin-anjiyotensin sistemi gibi mekanizmaların yönetimi yer alır. Ayrıca böbrekler, eritropoietin ve D vitamini metabolizması gibi hormonal işlevleriyle hematopoez ve kemik sağlığını destekler. Böbrek işlevlerinin biyokimyasal değerlendirilmesi, erken tanı, hastalık yönetimi ve prognoz açısından son derece değerlidir(38).

Kreatininin öncüsü olan kreatin, böbrekler, karaciğer ve pankreas tarafından iki ayrı enzimatik reaksiyon aracılığıyla sentezlenir. Sentezlenen kreatin, kan yoluyla kas ve beyin gibi çeşitli organlara iletilir ve burada enerji deposu olarak işlev gören fosfokreatin formuna dönüştürülür. Fosfokreatin ile kreatin arasındaki dönüşüm, kas kasılmasında önemli bir rol oynar. Günlük kreatinin üretimi bireylerde oldukça sabit olup doğrudan kas kitlesiyle bağlantılıdır. Kreatinin tüm vücut sıvılarında bulunur ve glomerüllerden serbestçe filtre edilir ayrıca az miktarda da tübüler sekresyona uğrar(41, 42). Kreatinin ölçümünde kullanılan kimyasal yöntemler alkali pikrat ile gerçekleştirilen reaksiyona dayanır. Bu reaksiyon, 1886 yılında Jaffe tarafından tanımlanmış olup kreatininin alkali ortamda pikrat iyonu ile birleşerek turuncu-kırmızı bir kompleks oluşturur(43). Kreatinin ölçümünde özgüllüğü artırmak için iki temel yöntem kullanılmaktadır: kinetik Jaffe yöntemi ve eşleştirilmiş enzimatik yöntemler. Kinetik Jaffe yöntemi, bilirubin, α-ketoasitler ve sefalosporinler gibi maddelerle girişime duyarlıdır. Ancak, bu dezavantajlara rağmen, düşük maliyeti ve uygulama kolaylığı nedeniyle rutin laboratuvar uygulamalarında yaygın olarak tercih edilmektedir(44). Kuru slayt analizörler için uyarlanmış olan enzimatik tepkimeler serisinde kreatininaz, kreatinaz, sarkozin oksidaz ve peroksidaz enzimleri kullanılır(34).

Üre, protein metabolizmasının temel atık ürünüdür ve böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde önemli bir parametredir. Karaciğerde, amino gruplarından ve protein yıkımı sırasında açığa çıkan serbest amonyaktan sentezlenir(45). Enzimatik yöntemler üre ölçümünde klinik laboratuvarlarda en sık kullanılan yöntemlerdir. En sık kullanılan yöntem

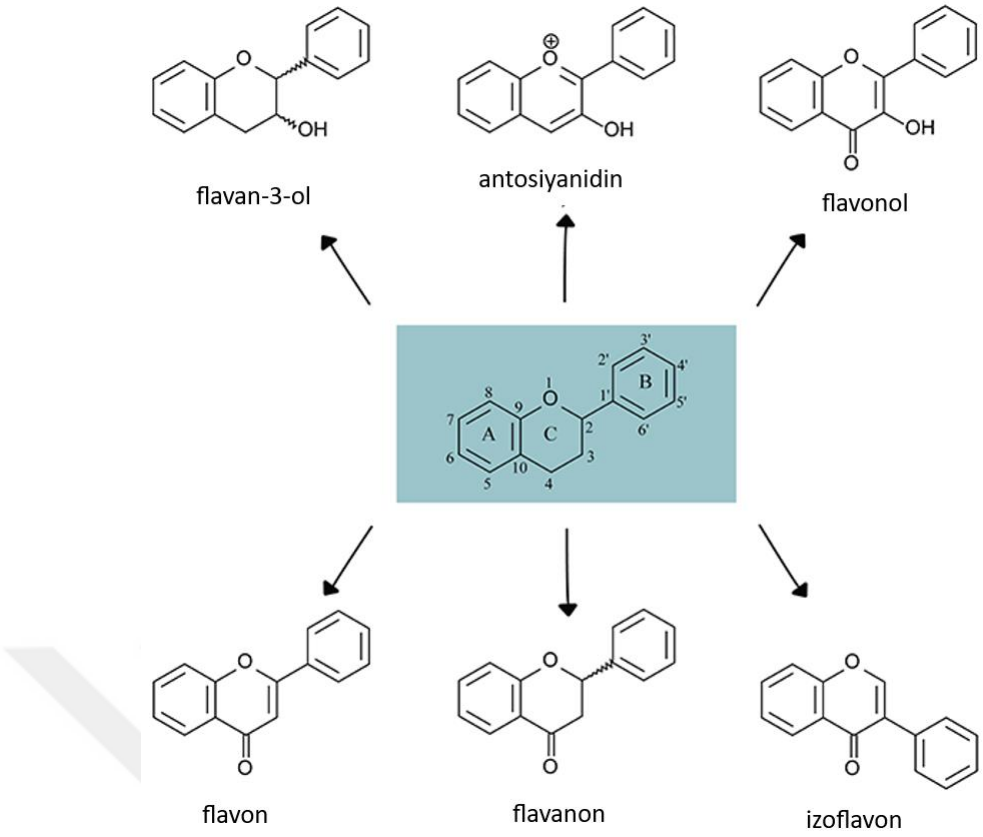
üreaz tepkimesini glutamat dehidrojenaz ile eşleştirerek 340nm'de nikotinamid adenin dinükleotidin azalma hızını ölçmektir(34).

4.4. Flavonoidler

4.4.1. Flavonoidler: Yapıları, Kaynakları ve Antioksidan Etki Mekanizmaları

Tıbbi bitkiler, terapötik moleküllerin keşfi ve ilaç geliştirme süreçlerinde önemli bir kaynak olarak değerlendirilmiştir. Son yıllarda, bitkisel metabolitlere yönelik çalışmalar belirgin şekilde artış göstermiştir(46). Flavonoidler, fenolik bileşikler grubuna ait doğal maddeler olup meyve, sebze, çiçek, çay gibi pek çok kaynağa yayılmaktadır. Bu bileşiklerin sağlık üzerindeki faydaları flavonoidler izole edilmeden önce de bilinmekteydi. Şu ana kadar 4000'den fazla flavonoid türü tanımlanmış olup bunların çoğu çiçeklerin, meyvelerin ve yaprakların göz alıcı renklerinden sorumludur. 1930 yılında portakalda keşfedilen bir bileşik, başlangıçta yeni bir vitamin olarak tanımlanmış ve vitamin P olarak adlandırılmıştır. Bu bileşiğin flavonoid olduğu anlaşılınca flavonoidlerin izolasyonu ve etki mekanizmalarının incelenmesi amacıyla yoğun araştırmalar yapılmaya başlanmıştır(47).

Flavonoidler polifenolik yapıya sahip biyoaktif bileşiklerdir. Temel yapıları iki aromatik halka (A ve B halkaları) ile bunları bağlayan üç karbonlu bir köprü (C halkası) içerir, bu yapı C6-C3-C6 formunda düzenlenir. A ve B halkaları genellikle hidrojen veya hidroksil gruplarıyla modifiye olabilirken C halkası oksijen atomu ile bağlanarak flavonoidin merkezini oluşturur. İçerdikleri hidroksil grupları aracılığıyla flavonoidler, reaktif oksijen türlerinden özellikle süperoksit ve peroksinitriti doğrudan etkisizleştirir ve böylece hücresel düzeyde oksidatif zararı önleyici rol oynarlar. Flavonoidlerin, geçiş metalleri olan bakır ve demiri şelatlayarak Fenton tipi reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan serbest radikal oluşumunu engellediği ve böylece hücresel düzeyde oksidatif yükü azalttığı bildirilmiştir. Bu bileşiklerin antioksidan etkinliği, yapılarındaki hidroksil grubu sayısı ve bu grupların molekül üzerindeki konumlarına bağlı olarak değişmektedir. Özellikle çok sayıda hidroksil grubu içeren flavonoidlerin antioksidan kapasitelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir(48). Flavonoidler, moleküler yapı özelliklerine göre farklı sınıflara ayrılmaktadır. Flavonoidlerin dört temel grubu, bu gruplara ait en bilinen bileşenler ve bunların bulunduğu gıda kaynaklarıyla birlikte Tablo 4.1.'de özetlenmiştir.



Şekil 4.4. Flavan iskeletine dayanan temel flavonoid alt sınıfları.

Orta kısımda yer alan C6-C3-C6 karbon iskeleti yapısına bağlı olarak flavon, flavanon, flavonol, flavan-3-ol, izoflavon ve antosiyanidin gibi bileşikler oluşur (49).

Tablo 4.1. Flavonoidlerin ana grupları, bireysel bileşikler ve besin kaynakları(47)

Grup	Bileşen	Gıda Kaynakları
Flavonlar	Apigenin	Elma kabuğu
	Chrysin	Meyveler
	Luteolin	Kereviz
Flavonoller	Kaempferol	Brokoli
	Myricetin	Meyve kabukları
	Rutin	Turna yemişi
	Sibelin	Üzüm
	Quercetin	Marul, zeytin, soğan, maydanoz, domates
	Fisetin	Çilek
Flavanonlar	Hesperetin	Narenciye meyveleri
	Narigin, Naringenin, Taxifolin	Turunçgiller
Flavan-3-oller	Catechin, Epicatechin	Çay
	Epigallocatechin gallate	Yeşil çay
Antosiyanidinler	Cyanidin	Meyveler
	Delphinidin	Kiraz
	Malvidin	Üzüm
	Pelargonidin	Ahududu
	Peonidin	Kırmızı üzüm
	Petunidin	Çilek, koyu pigmentli meyve kabukları

Flavonoller, keton grubu içeren ve proantosiyaninlerin yapı taşı olan flavonoid bileşikleridir. Bu bileşikler özellikle soğan, lahana, marul, domates, elma, üzüm ve böğürtlen gibi meyve ve sebzelerde bolca bulunur. En çok araştırılan flavonoller kaempferol, quercetin, myricetin ve fisetindir. Flavonol alımının, antioksidan etkiler ve damar hastalıkları riskinde azalma gibi sağlık yararları sağladığı bilinmektedir. Flavonoller, C halkasında hidroksil grubu içerir ve bu grup glikozilasyona uğrayabilir. Metilasyon ve hidroksilasyon desenlerinde geniş bir çeşitlilik gösteren flavonoller, meyve ve sebzelerdeki en yaygın flavonoid gruplarından biridir. Örneğin, quercetin birçok bitkisel gıdada bulunur(48).

Flavonoidlerin çalışma mekanizmaları, özellikle güçlü antioksidan özellikleriyle öne çıkmaktadır. Bu bileşikler serbest radikallerin yol açtığı oksidatif hasarı engelleyerek hücrelerin zarar görmesini önler. Flavonoidler, vücudun oksijen metabolizması sırasında veya dış etmenler nedeniyle oluşan reaktif oksijen türlerine karşı savunma mekanizmaları geliştirir. Bu bileşiklerin etkisi, serbest radikalleri doğrudan temizlemek ve vücudun doğal antioksidan sistemlerinin etkinliğini artırmak şeklinde görülmektedir. Flavonoidlerin bu antioksidan etkisi özellikle hücre zarlarındaki lipit peroksidasyonunu inhibe ederek hücrelerin korunmasına yardımcı olur. Flavonoidler, serbest radikalleri inaktive ederek daha stabil ve daha az reaktif formlarına dönüştürür. Bu süreçte, flavonoidler reaktif oksijen türleriyle etkileşime girer ve onları stabilize eder. Özellikle flavonoidlerin hidroksil grupları yüksek reaktivite gösterir, bu sayede serbest radikalleri etkisiz hale getirirler. Bu mekanizma şu şekilde açıklanabilir:

$$\text{Flavonoid(OH)} + \text{R}\cdot > \text{Flavonoid(O}\cdot\text{)} + \text{RH}$$

Bu denklemde $R\cdot$ bir serbest radikali, $O\cdot$ ise oksijen kaynaklı serbest bir radikali temsil etmektedir (47).

Bazı flavonoidler, nitrik oksit üretimini inhibe ederek iskemi-reperfüzyon hasarını azaltabilir. İskemi ve reperfüzyon sırasında aşırı nitrik oksit üretimi, serbest radikallerle birleşerek peroksinitrit oluşturur. Bu da hücresel zarara yol açar. Flavonoidler, bu süreci engelleyerek hasarı azaltır. Ayrıca, flavonoidlerin nitrik oksidi doğrudan temizleyebilmesi, terapötik etkilerinin bir parçası olabilir(47).

Ksantin oksidaz yolu da flavonoidlerin etki gösterdiği bir başka önemli mekanizmadır. Ksantin oksidaz özellikle iskemi sonrası dokularda oksidatif hasara yol açan bir enzimdir. Flavonoidler, bu enzimi inhibe ederek oksidatif hasarı ve iltihaplanmayı azaltır. Quercetin ve

silibin gibi flavonoidler ksantin oksidazın aktivitesini inhibe ederek dokularda oksidatif hasarı engeller(47).

Flavonoidler, lökositlerin damar duvarlarına yapışmasını engeller, bu da inflamasyon ve oksidan salınımını azaltır. Böylece reperfüzyon hasarı gibi durumlarda iltihaplanmayı engelleyebilirler. Flavonoidler, lökositlerin degranülasyonunu inhibe ederek inflamatuar yanıtları kontrol eder(47).

Özellikle flavonoidler, demir şelatlama yoluyla serbest radikal üretimini engelleyebilir ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek hücrelerin zarar görmesini önler. Kuersetin gibi flavonoidlerin demir bağlama özellikleri oksidatif hasarı azaltmada önemli bir rol oynamaktadır(47).

4.4.2. Kuersetinin Kimyasal Yapısı ve Diğer Flavonoidlerle Karşılaştırılması

Kuersetin, flavonoidlerin flavonoller grubunda yer alan, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve biyolojik açıdan oldukça aktif bir bileşiktir. Temel kimyasal yapısı, iki aromatik halka (A ve B halkası) ile bunları birbirine bağlayan üç karbonlu bir heterosiklik C halkasından oluşur. Flavonoidlerin karakteristik C6-C3-C6 iskeleti kuersetinde de mevcuttur. Kuersetinin B halkasında 3′ ve 4′ pozisyonlarında orto-dihidroksil grupları, A halkasında ise 5 ve 7 pozisyonlarında hidroksil grupları bulunmaktadır. Ayrıca, C halkasının 3. pozisyonunda ek bir hidroksil grubu, 2,3 çift bağı ve 4-keton grubu yer alır. Bu yapısal özellikler, kuersetinin serbest radikalleri nötralize etme kapasitesini artırmakta ve metal iyon şelasyonu gibi önemli biyokimyasal etkilere olanak sağlamaktadır. Kuersetin, flavonoidler arasında yüksek hidroksilasyon derecesine sahip olması ve konjuge çift bağ sistemi sayesinde dikkat çekmektedir. Bu yapı, onun antioksidan ve antiinflamatuar aktivitelerinin güçlü olmasını sağlamaktadır. Özellikle B halkasında bulunan orto-dihidroksil grubu (katekol grubu), serbest radikallere karşı etkili bir savunma oluştururken, C halkasındaki çift bağ ve 4-keton grubu, radikal stabilizasyon kapasitesini artırmaktadır. Diğer flavonoid gruplarıyla kıyaslandığında, kuersetinin ayırt edici özellikleri belirginleşmektedir. Flavonlar (örneğin apigenin ve luteolin), C halkasında 3-hidroksil grubu içermemekte olup, bu durum onların antioksidan potansiyelini kuersetine kıyasla sınırlamaktadır. Flavanonlar (örneğin naringenin ve hesperetin), C halkasında doymuş bir yapıya sahiptir ve 2,3 bağında çift bağ bulunmaz; bu da onların reaktivitesini kuersetine göre azaltmaktadır. Flavanoller (kateşinler ve epikateşinler), çift bağ ve 4-keton grubu içermemekte, ancak 3-hidroksil grubu taşımaktadırlar; bu yapı, kuersetinin radikal temizleme kapasitesinden daha sınırlı bir antioksidan etkinlik sunar. İzoflavonlar ise

(örneğin genistein), B halkasını C halkasının 3. karbonunda taşır ve genellikle fitoöstrojenik etkilere sahiptir; kuersetin ise hormon benzeri aktivite göstermez. Antosiyaninler, suya daha fazla çözünen, pH duyarlılığı olan ve pozitif yüklü flavylium iyonu içeren bileşiklerdir; kuersetin ise daha stabil ve nötr bir moleküldür. Kuersetin, flavonoidlerin flavonoller alt sınıfında, yüksek derecede hidroksilasyona sahip, antioksidan özellikleri güçlü ve biyolojik olarak oldukça aktif bir molekül olarak diğer flavonoidlerden ayrılmaktadır(50).

4.5. Kuersetin

4.5.1. Kuersetin: Kaynakları ve Kimyasal Özellikleri

Quercetin(3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon), Latince "Quercetum" kelimesinden türetilmiş olup, meşe ormanı anlamına gelmektedir. Flavonoller sınıfına ait olan bu bileşik, insan vücudu tarafından sentezlenememektedir. Sarı renkte olup sıcak suya düşük çözünürlük gösterirken, alkol ve lipitlerde yüksek çözünürlük sergilemektedir. Bu bileşik başta narenciye meyveleri olmak üzere, yeşil çay, yaban mersini, kırmızı üzüm, zeytinyağı, brokoli, elma, soğan, fındık, karabuğday ve yeşil yapraklı sebzeler gibi birçok bitkisel kaynakta yoğun olarak bulunur(45). Bu besinlerde kuersetin, genellikle glikozit formlarında bulunur ve glikozidik bağ ile şeker moleküllerine bağlıdır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, Batı tipi diyetle günlük kuersetin alımının ortalama 25-50 mg/gün arasında değiştiğini göstermiştir. Ancak Akdeniz tipi diyet uygulayan popülasyonlarda bu miktar daha yüksek olabilmektedir. Kapari bitkisinin, diğer besin kaynaklarına kıyasla çok daha yüksek miktarda kuersetin içerdiği bildirilmektedir(51).

4.5.2. Kuersetinin Klinik Etkileri

Kuersetin, inflamasyonu düzenleme özelliği ile dikkat çeken önemli bir flavonoiddir. Kuersetin, siklooksijenaz (COX) ve lipoooksijenaz gibi inflamatuvar enzimleri inhibe ederek prostaglandin ve lökotrien üretimini azaltır. Hücre kültürü çalışmaları kuersetinin NO sentaz, COX-2 ve CRP gibi inflamatuvar belirteçleri anlamlı düzeyde azalttığını göstermiştir. Bununla birlikte kuersetinin ksantin oksidazı inhibe ederek ürik asit birikimini önlemesi, gut hastaları için faydalı olabileceğini göstermektedir. Bu bulgular, kuersetinin inflamasyon ve buna bağlı hastalıkların tedavisinde etkili bir doğal bileşik olabileceğini desteklemektedir(45).

Doz Aralığı ve Toksisite Profili: Kuersetin üzerine yapılan faz I klinik çalışmalar, oral uygulamalarda güvenli doz aralığının 500 mg ile 1000 mg/gün arasında olduğunu ortaya koymuştur. Bu doz aralığında kısa süreli kullanımlarda anlamlı advers etki bildirilmemiştir.

Bununla birlikte, intravenöz yolla uygulanan yüksek doz kuersetin (1 g/m²'ye kadar), bazı çalışmalarda nefrotoksisite ve genotoksisite gibi yan etkilerle ilişkilendirilmiştir. Özellikle böbrek fonksiyonları üzerinde olumsuz etkileri olduğu bildirilmiş, renal tübüler hasar ve glomerüler filtrasyon hızında azalma tespit edilmiştir. Bu nedenle, yüksek doz ve uzun süreli kuersetin kullanımının böbrek sağlığı üzerinde yaratabileceği olası yan etkiler göz önünde bulundurulmalıdır(51). Kuersetin, karaciğerde UGT enzimleriyle metabolize olduğundan, çok yüksek dozlarda veya başka ilaçlarla birlikte alındığında farmakokinetik etkileşim potansiyeli de teorik olarak mevcuttur (örneğin bazı ilaçların karaciğer metabolizmasını yavaşlatabilir). Yine de geniş terapötik penceresi ve düşük toksisite profili ile kuersetin, güvenli bir doğal bileşik olarak değerlendirilmektedir(52).

Kuersetin gibi flavonoidler, kardiyovasküler hastalıklar üzerinde olumlu etkiler sağlar. Kuersetin, trombosit agregasyonunu inhibe ederek LDL oksidasyonunu engeller, kan basıncını düşürür ve kalp hipertrofisini önler. Ayrıca yağ hücrelerinde lipid birikimini engeller, apoptozu tetikler ve glikoz alımını inhibe eder(45). Endotelyal fonksiyonları iyileştirerek, damar duvarında nitrik oksit (NO) biyosentezini artırır ve böylece damar genişlemesini destekler. Antihipertansif etkileri, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini baskılaması ve arteriyel sertliği azaltmasıyla ilişkilidir. Ayrıca düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu önleyerek aterosklerotik plak oluşumunu engeller ve vasküler inflamasyonu azaltır. Trombosit agregasyonunu baskılayarak antitrombotik etki sağlar ve bu sayede iskemik kalp hastalıklarına karşı koruma sunar. Çoklu moleküler yolaklara müdahale ederek, hem oksidatif stresin hem de inflamatuar yanıtların kontrol altına alınmasında etkili olur(53).

Nörodejeneratif hastalıklar merkezi sinir sisteminde nöroinflamasyon ile ilişkilidir. Flavonoidler, serebrovasküler kan akışını düzenleyerek nörojenez ve anjiyogenez süreçlerini teşvik eder ve nörotoksinlere karşı nöronları korur. Bu bileşikler, oksidatif hasarı engelleyerek Alzheimer ve diğer nörolojik hastalıkların gelişimini önler. Ayrıca nöroinflamasyonu baskılayarak hafıza, öğrenme ve bilişsel fonksiyonları iyileştirir. Flavonoid açısından zengin gıdalar bilişsel performansı artırır, mevcut nöronları korur ve nöronal yenilenmeyi destekler, özellikle yaşa bağlı nörodejenerasyon ve inme gibi durumlarla ilişkili hastalıkların önlenmesinde etkili olabilir(45).

Sebze ve meyve açısından zengin bir diyetin kanser üzerinde koruyucu etkiler sağladığı gösterilmiştir. Kuersetin, antiproliferatif ve antioksidan özellikleri ile kanserin gelişimini engeller, tümör büyümesini ve kötü huylu hücrelerin yayılmasını inhibe eder. Kuersetin,

kanserojen kimyasalların yol açtığı hücre dönüşümünü inhibe eder ve oksidatif stresi engeller. Prostat kanserine karşı da faydalı etkiler gösterdiği bildirilmiştir(45). Kuersetin, kanser hücrelerinde hücre döngüsünü düzenleyerek büyümeyi engelleyen doğal bir flavonoiddir. Özellikle hücre döngüsünün G2/M fazında duraksamaya yol açtığı ve bu etkiyi CDK1, CDK2 ve siklin D1 gibi düzenleyici proteinlerin baskılanmasıyla gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Ayrıca, p53 aktivasyonunu artırarak p21 ekspresyonunu indükler ve hücresel proliferasyonu sınırlar. Farklı kanser hücre hatlarında yapılan çalışmalar, kuersetinin proliferasyonu azalttığını, apoptozu teşvik ettiğini, anjiyogenezi ve tümör invazyonunu engellediğini ortaya koymuştur. Özellikle MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde hücre büyümesini baskıladığı, HT-29 kolon kanseri hücrelerinde ise DNA sentezini inhibe ettiği saptanmıştır. Prostat kanseri hücrelerinde PSA düzeylerini azaltarak antiandrojenik etki gösterdiği de rapor edilmiştir. Bu bulgular, kuersetinin kanser tedavisinde destekleyici ajan olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir(51).

Kuersetin, güçlü antioksidan ve iltihap karşıtı özellikleriyle tip 2 diyabetin kontrolünde ve hastalığa bağlı komplikasyonların azaltılmasında potansiyel faydalar sunmaktadır. İnsülin hassasiyetini artırarak glukoz metabolizmasını düzenlediği gösterilmiştir. Bu etkisini, özellikle AMPK ve PI3K/Akt sinyal yollarını aktive ederek gerçekleştirmekte, böylece hücre içine glukoz alımını kolaylaştırmaktadır. Aynı zamanda pankreatik β hücrelerini oksidatif hasara karşı koruyarak insülin üretimini desteklediği bildirilmiştir. Kuersetin, reaktif oksijen türlerinin seviyesini azaltmakta ve antioksidan enzim aktivitelerini (SOD, CAT, GPx) artırarak doku hasarını sınırlamaktadır. Bu mekanizmalar doğrultusunda, kuersetinin diyabet ve buna bağlı komplikasyonların önlenmesi ve tedavisinde tamamlayıcı bir seçenek olabileceği düşünülmektedir(54).

4.5.3. Kuersetin Metabolizması

Flavonoidlerin emilimi, metabolizması ve toksisitesi üzerine yapılan çalışmalar, biyoyararlanım ve etkileri konusunda çelişkili bilgiler sunmaktadır. Flavonoidlerin doğal formu, özellikle glikozile edilmiş yapısı emilim hızını etkileyebilir. Bazı çalışmalar glikozile edilmiş kuersetinin daha iyi emildiğini belirtirken, bu görüş tüm araştırmalar tarafından desteklenmemektedir. Flavonoidlerin metabolizmasında konjugasyon süreci bağırsak hücrelerinde glukuronid bağlanmasıyla başlar ve albümin aracılığıyla karaciğere taşınır. Karaciğerde flavonoide sülfat, metil grubu veya her ikisinin eklenmesi dolaşımdaki yarı ömrünü uzatırken toksisitesini azaltır. Konjugasyon türü ve konjugatın flavonoid iskeletindeki

lokalizasyonu bileşiğin enzim inhibisyon kapasitesini ve antioksidan aktivitesini doğrudan etkiler. Düzenli flavonoid tüketimi biyolojik olarak daha aktif konjugatların oluşumunu artırabilir. Kuersetin, karaciğerde metabolize olduktan sonra çoğunlukla böbrekler aracılığıyla idrarla atılır. Karaciğer, kuersetini glukuronidasyon ve sülfatlama gibi işlemlerle suda çözünebilen konjugatlara dönüştürür. Ayrıca, safra yoluyla atılım da mümkündür, ancak bu yol daha sınırlıdır(47).

Kuersetinin terapötik potansiyeli yüksek olmakla birlikte, ağızdan alındığında düşük çözünürlüğü ve sınırlı emilimi klinik etkilerini kısıtlayan önemli bir engeldir. Son yıllarda, bu sorunu aşmak amacıyla çeşitli ilaç taşıyıcı sistemler ve nanoformülasyon teknikleri geliştirilmiştir. Bu yaklaşımlar sayesinde, kuersetinin dokulara ulaşımı kolaylaşmakta ve biyolojik etkileri daha belirgin hale gelmektedir. Bu bulgular, kuersetinin modern tedavi yaklaşımlarında değerlendirilebilecek güçlü bir aday olduğunu ortaya koymaktadır(55).

4.5.4. Kuersetinin Böbrek ve Karaciğer Üzerine Koruyucu Etkiler

Kuersetinin antioksidan ve antiinflamatuar özellikleri, özellikle böbrek ve karaciğer gibi hayati organlarda belirgin hücresel koruma sağlamaktadır. Yapılan deneysel çalışmalar ve çeşitli hayvan modelleri, kuersetinin böbrek dokusu üzerindeki koruyucu etkilerini tutarlı biçimde ortaya koymuştur. İlaç toksisitesi, diyabetik nefropati ve iskemik hasar gibi farklı böbrek hasarı modellerinde uygulanan kuersetin tedavisinin, böbrek fonksiyon kaybını önleyebildiği bildirilmiştir. Bu koruyucu etki, temel olarak oksidatif stresin azaltılması, inflamatuar süreçlerin baskılanması ve apoptozun sınırlandırılması yoluyla sağlanmaktadır. Yapılan bazı derleme çalışmalar kuersetinin nefrotoksisite, fibrozis ve inflamasyonu azalttığını; bu sayede kronik böbrek hastalığının ilerleyişini yavaşlatabileceğini ortaya koymaktadır(56).

Kuersetin, karaciğer üzerinde de dikkat çekici düzeyde koruyucu etkilere sahip bir flavonoiddir. Hepatoprotektif özellikleri sayesinde karaciğer hücrelerini hem toksik maddelere hem de inflamatuar süreçlere karşı koruduğu gösterilmiştir. Deneysel modellerde, hepatotoksik ajanlara maruz bırakılan hayvanlara kuersetin verildiğinde, karaciğer hasarı ile ilişkili biyokimyasal göstergelerde anlamlı iyileşmeler gözlemlenmiştir. Özellikle ALT ve AST gibi serum transaminaz düzeylerinin düştüğü, oksidatif stres göstergelerinden biri olan malondialdehit seviyesinin azaldığı ve endojen antioksidan enzim aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir(57). Klinik gözlemler de bu sonuçları destekler niteliktedir. Özellikle kronik hepatit veya alkole bağlı karaciğer yağlanması olan bireylerde kuersetin takviyesinin, karaciğer enzimlerini düşürdüğü ve antioksidan kapasiteyi artırdığına dair ön bulgular mevcuttur. Tüm

bu veriler, kuersetinin karaciğer dokusu üzerinde de önemli bir koruyucu bariyer oluşturduğunu ve toksik hasara karşı savunucu bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır(55).

Akut böbrek hasarı (ABH) hayvan modellerinde kuersetin uygulamasının, kan üre nitrojeni (BUN) ve serum kreatinin düzeylerini düşürdüğü, böbrek fonksiyonlarının korunmasına katkı sağladığı bildirilmiştir. Bu etkiler, oksidatif stresin baskılanması ve antioksidan savunma sistemlerinin (ör. süperoksit dismutaz, glutatyon, katalaz) desteklenmesiyle ilişkilendirilmektedir. Ayrıca malondialdehit gibi oksidatif hasar belirteçlerinin düzeylerinde azalma gözlemlenmiştir(58). Bu bulgular, kuersetinin ABH'de böbrek fonksiyonlarının korunmasında önemli bir role sahip olabileceğini göstermektedir.

Ferroz sülfat ($FeSO_4$) ile oluşturulan toksisite modellerinde de kuersetinin benzer etkiler gösterdiği, karaciğer ve böbrek dokularında oluşan oksidatif stres ve histolojik hasarın azaldığı, karaciğer enzim aktivitelerinin düzenlendiği ve böbrek fonksiyonlarını gösteren biyobelirteçlerde iyileşmeler olduğu rapor edilmiştir. Kuersetinin demir birikimini sınırlayarak damar yapılarında oluşabilecek bozulmaları önlediği de belirtilmiştir(59).

Deneysel çalışmalarda kuersetinin karaciğer dokusu üzerinde koruyucu etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Toksik ajanlar ya da radyasyonla oluşturulan karaciğer hasarı modellerinde, kuersetin uygulamasıyla karaciğer enzim düzeylerinde azalma, oksidatif stresin hafiflemesi ve histolojik bulguların iyileştiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, antioksidan savunma sistemlerinin dengelendiği ve dokuya ait yapısal bozulmaların kuersetin tedavisiyle azaldığı belirtilmiştir(60, 61).

Genel olarak, bu deneysel bulgular kuersetinin böbrek ve karaciğer gibi organlarda oksidatif stres ve inflamasyonun neden olduğu yapısal ve işlevsel bozulmaları sınırlandırabileceğini göstermektedir. Bu özellikleri nedeniyle kuersetin, deneysel düzeyde organ koruyucu potansiyeli bulunan bir bileşik olarak değerlendirilmektedir.

4.5.5. Kuersetinin Antioksidan Özellikleri

Kuersetin, inflamasyonu birçok düzeyde baskılayan doğal bir flavonoiddir. TNF-α ve IL-1β gibi pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini azaltarak bağışıklık sisteminin aşırı yanıtını dengeler. Bu etkilerini, başta NF-κB ve MAPK gibi sinyal yollarını baskılayarak gösterir. Ayrıca, iNOS ve COX-2 enzimlerinin ifadesini azaltarak nitrik oksit ve prostaglandin üretimini sınırlar; bu da inflamasyona bağlı doku hasarını azaltır(62). Kuersetin, LPS ile uyarılan

makrofajlarda NO üretimini engelleyerek doku koruyucu etki sağlarken, endotelyal hücrelerde NO biyoyararlanımını artırarak damar gevşemesine katkıda bulunur. Endotelin-1 reseptörlerini baskılayarak endojen NO salınımını artırdığı da gösterilmiştir(52). Bu etkiler sayesinde kuersetin, inflamasyona bağlı ödem, hücre göçü ve ağrı gibi belirtileri hafifletebilir. Aynı zamanda hücre ölümünü azaltarak antiapoptotik etki de gösterir. Kuersetin, hem inflamatuar hem de oksidatif stres yanıtlarını baskılayan, hücre ve dokuları koruyabilen çok yönlü bir bileşiktir(57).

Kuersetin, yalnızca serbest radikalleri doğrudan etkisizleştirmekle sınırlı kalmaz; aynı zamanda hücrenin içsel savunma mekanizmalarını düzenleyerek oksidatif stres düzeyini düşürür. Bu etkisinin merkezinde, KEAP1–NRF2 sinyal yolunun aktivasyonu yer almaktadır. Normal koşullarda KEAP1, NRF2'yi sitoplazmada tutarak proteazomal yıkıma yönlendirir ve bu yolla antioksidan yanıtı baskılar. Ancak oksidatif stres varlığında veya kuersetin uygulandığında, KEAP1–NRF2 etkileşimi bozulur ve NRF2'nin çekirdeğe taşınması kolaylaşır. Nükleer translokasyon sonrası NRF2, başta SOD ve GSH olmak üzere çeşitli antioksidan enzimlerin gen düzeyinde ifadesini artırarak hücresel redoks dengesinin yeniden sağlanmasına katkıda bulunur. Bu mekanizma, kuersetinin endojen antioksidan sistemleri destekleyici ve koruyucu etkilerini açıklamaktadır(63).

1. Glutatyon Düzeylerinin Düzenlenmesi

Kuersetin, hücresel düzeyde antioksidan savunma mekanizmalarını destekleyen önemli bileşiklerden biridir. Özellikle glutatyon (GSH) düzeylerinin korunmasında ve artırılmasında etkili rol oynar. Glutatyon, serbest radikallere karşı hücreyi savunan başlıca antioksidan moleküllerden biridir ve kuersetin, glutatyon redüktaz enziminin aktivitesini artırarak oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş formuna dönüşümünü kolaylaştırır. Bu süreç, hücre içi redoks dengesinin sağlanmasına katkıda bulunur. Bununla birlikte, yüksek konsantrasyonlarda kuersetin uygulandığında, glutatyon düzeylerinde azalma gözlenebileceği ve hücresel redoks homeostazının bozulabileceği bildirilmiştir. Bu durum, kuersetinin doz bağımlı etkileri olduğuna işaret etmektedir(64).

2. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Temizlenmesi

Kuersetin, oksidatif stresin temel nedeni olan reaktif oksijen türlerini (ROS) doğrudan nötralize ederek hücreleri koruma altına alır. Çevresel faktörlere bağlı olarak artan ROS düzeyleri, hücresel yapıları bozarak mitokondriyal hasara ve hücre ölümü süreçlerine yol

açabilir. Kuersetin, bu oksidan molekülleri etkisiz hale getirerek hücre zarının stabilitesini korur, mitokondriyal membran potansiyelinin kaybını önler ve böylece apoptoz süreçlerini sınırlar. Ayrıca ultraviyole ışınım (UVB), ince partikül madde (PM2.5) ve iyonize radyasyon gibi çevresel stres faktörlerinin neden olduğu oksidatif hasarı baskıladığı gösterilmiştir. Bu etkisi sayesinde kuersetin, hücresel enerji üretim mekanizmalarının korunmasına ve oksidatif strese bağlı hücre hasarının azaltılmasına katkıda bulunur(64).

3. Antioksidan Enzim Aktivasyonunun Desteklenmesi

Endojen antioksidan sistemlerin güçlendirilmesi, kuersetinin temel etkileri arasında yer almaktadır. Kuersetin, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu ve aktivitesini artırarak oksidatif hasara karşı hücresel koruma sağlar. Bu enzimler, serbest radikalleri ve peroksitleri nötralize ederek lipid peroksidasyonunu engeller ve hücre zarında stabiliteyi sürdürür. Kuersetin uygulamasının, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeylerini azalttığı, böylece hücre membran bütünlüğünü koruduğu raporlanmıştır. Dolayısıyla kuersetin hem direkt serbest radikal temizleyici etkisi hem de enzimatik antioksidan savunmayı güçlendirme potansiyeliyle öne çıkmaktadır(64).

4. Doz Bağımlılığı ve Prooksidan Etkiler

Kuersetin, antioksidan etkilerinin yanı sıra, belirli koşullar altında pro-oksidan özellikler de sergileyebilir. Özellikle yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında, reaktif oksijen türlerinin üretimini artırarak hücre içi oksidatif yükü yükseltebilir. Bu etki, kanser hücrelerinde kontrollü hücre ölümünü (apoptoz) indüklemek amacıyla terapötik bir avantaj sağlasa da, normal hücreler üzerinde olumsuz etkiler oluşturma riskini taşır. Bu nedenle kuersetinin antioksidan ve pro-oksidan etkileri arasındaki denge, kullanılan doz ve hedef hücre tipine göre dikkatle değerlendirilmelidir(64).

5. Mitokondriyal Fonksiyonlar

Kuersetin, yalnızca serbest radikalleri doğrudan temizleme kapasitesi değil özellikle mitokondriyal düzeyde gösterdiği koruyucu etkiler de dikkat çekicidir. Elektron taşıma zincirindeki kompleks I aktivitesini stabilize ederek oksijen kullanımını daha verimli hâle getirir ve mitokondriyal oksijen tüketimini artırarak ATP sentezini destekler. İç mitokondri zarında oluşabilecek proton sızıntılarını azaltarak enerji kaybını önlerken, aynı zamanda

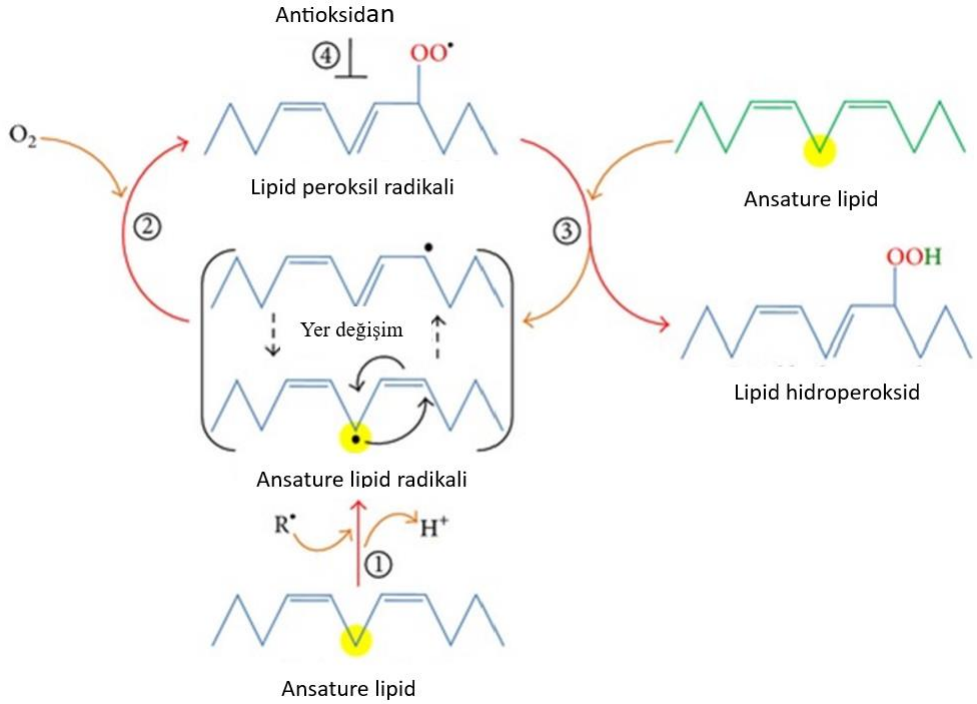
NAD^+ /NADH oranını dengede tutarak metabolik esnekliği artırır. Mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin (mPTP) açılımını engelleyerek sitokrom c salınımını ve kaspaz aktivasyonunu baskılar; bu sayede mitokondri kaynaklı apoptoz süreçlerini sınırlar. Endojen antioksidan sistemleri aktive ederek mitokondri içindeki redoks dengesini korur ve lipid peroksidasyonu gibi oksidatif süreçleri azaltır(65).

4.6. Oksidatif Stres ve Biyobelirteçler

4.6.1. Lipid Peroksidasyonu: Hücresel Hasarın Temel Mekanizması

Oksidatif stres, pek çok kronik hastalığın gelişimiyle bağlantılıdır ve yaşlanma sürecinde kritik bir rol oynar. Oksidatif stresin etkilediği biyolojik hedeflerden biri lipidlerdir. Lipidlerin oksidasyonu, çeşitli ikincil bileşiklerin oluşumuna yol açar. Bu bileşikler genellikle aldehitler olup, oksidatif hasarın şiddetini artırma potansiyeline sahiptir. Yüksek reaktiviteye sahip ve uzun ömürlü olan bu moleküller hücre içindeki ve dışındaki biyomoleküllerle etkileşime girerek genellikle hücre fonksiyonlarını sürdüren hassas mekanizmaları geri dönüşümsüz şekilde bozar(66).

Lipid peroksidasyonu, hücre zarlarındaki poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu meydana gelen bir süreçtir ve oksidatif stresin temel mekanizmalarından biridir. Bu süreç serbest radikallerin yağ asidi çift bağlarına saldırarak başladığı bir zincir reaksiyonudur. Serbest radikal, yağ asidindeki bir hidrojen atomunu alır, bu da peroksit radikalinin oluşmasına yol açar. Peroksit radikali, başka bir lipid molekülüyle etkileşerek yeni bir serbest radikal üretir ve bu süreç bir zincir reaksiyonu başlatır. Bu zincir reaksiyonu sırasında, lipid hidroperoksitleri gibi ilk yan ürünler oluşur. Lipid hidroperoksitleri, başlangıç ürünleri olarak zararlı olmasa da bu ürünlerin daha ileri aşamalarda parçalanması çeşitli ikincil ürünlerin, özellikle de reaktif aldehitlerin oluşmasına neden olur. Bu ikincil ürünler arasında, malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) gibi aldehitler bulunur. Bu aldehitler, lipid peroksidasyonunun tipik bileşenleri olup, yüksek reaktiviteye sahiplerdir ve hücre içindeki biyomoleküllerle etkileşime girerek kalıcı hasarlara yol açabilirler. MDA, en yaygın aldehitlerden biri olup, hücre zarlarındaki fosfolipid yapılarını bozarak hücre fonksiyonlarını bozar(67).



Şekil 4.5. Oksidatif stres altında lipit peroksidasyonu ve antioksidan savunma mekanizması (68)

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan reaktif aldehitler, hücre zarına zarar vermenin ötesinde, hücre içi sinyal yollarını etkileyerek apoptozu tetikleyebilir. Bu sürecin önemli bir ürünü olan 4-hidroksinonenal (4-HNE), proteinler, DNA ve lipitlerle etkileşime girerek hücresel işlev bozukluklarına neden olur. 4-HNE, bazı kinazlar ve transkripsiyon faktörlerini değiştirerek stres yanıtlarını artırır. Mitokondri zarında kardiolipin oksidasyonu, sitokrom c salınımını kolaylaştırarak kaspaz aracılı hücre ölümünü başlatır. Bu mekanizma, lipid peroksidasyonunun yalnızca yapısal bir hasar değil, aynı zamanda apoptoz için tetikleyici bir sinyal olduğunu göstermektedir(68).

4.6.2. İkincil Lipit Peroksidasyonu Ürünü: MDA

MDA, araşidonik asit ve diğer poliansatüre yağ asitlerinin enzimatik veya enzimatik olmayan reaksiyonlarla parçalanması sonucu oluşan bir son üründür. MDA, serbest oksijen radikallerine kıyasla daha stabil ve membranlardan geçişi daha kolaydır, ayrıca 4-HNE ve metilglikozal gibi bileşiklere göre daha az toksiktir(68).

Lipid peroksidasyonu sırasında, poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin birikmesine yol açar. Bu hidroperoksitlerin peroksil radikalleri, moleküldeki cis-çift bağla etkileşime girerek siklik yapılar oluşturur. Bu reaksiyonlar, bisiklik endoperoksitlerin oluşmasına neden olur, bu yapılar daha sonra parçalanarak malondialdehit (MDA) üretir. Oksijen radikalleri tarafından başlatılan bu enzimatik olmayan süreç, özellikle

araşidonik asit gibi yağ asitlerinin peroksidasyonu ile MDA'nın oluşumuna katkı sağlar. Ayrıca, bu süreçte üretilen diğer eikosanoidler de MDA'nın oluşumunda rol oynayabilir(68).

Malondialdehit (MDA), üç karbonlu bir bileşik olup yapısında iki aldehit (-CHO) grubu barındırır. Molekülün temel yapısal özelliği, merkezi karbon atomunun bir metilen ($-CH_2-$) grubu taşıması ve her iki uçta birer aldehit fonksiyonel grubu (-CHO) bulundurmasıdır. Bu yapı, MDA'nın yüksek reaktivitesine yol açarak özellikle DNA ve proteinlerle etkileşime girmesine ve kalıcı bağlar oluşturmasına neden olur. MDA, lipid peroksidasyonu sırasında oluşan ikincil bir ürün olup yüksek kimyasal reaktiviteye sahip bir bileşik olarak bilinir ve genetik materyal ile protein yapılarına zarar vererek toksik etkiler oluşturabilir(68).

Plazma, serum, idrar, ekshale edilen hava kondensatı ve çeşitli doku örneklerinde MDA düzeyleri ölçülebilir. Ölçümde en sık kullanılan yöntem tiobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) testidir; ancak bu yöntemin özgüllüğü sınırlı olduğundan HPLC ve GC-MS gibi daha duyarlı teknikler de tercih edilmektedir. Yapılan çalışmalarda, MDA düzeylerinin kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar, diyabet ve karaciğer hastalıkları gibi pek çok kronik hastalıkta arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle MDA hem patofizyolojik süreçlerin izlenmesinde hem de hastalık riskinin değerlendirilmesinde önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir(66).

4.6.3. Ksantin Oksidaz

Ksantin oksidaz (XO), purin metabolizmasında önemli bir rol oynayan çok fonksiyonlu bir enzimdir. XO, ksantin dehidrogenaz (XDH) ve ksantin oksidaz (XO) formunda faaliyet gösterir ve bu iki form oksidatif stresin düzenlenmesinde, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminde önemli bir etkiye sahiptir. XO, özellikle oksijenle reaksiyona girerek süperoksit anyonu ($O_2 \bullet^-$) ve hidrojen peroksit ($H_2 O_2$) gibi zararlı oksidanları üretir. Bu reaksiyonlar, oksidatif stresin artmasına ve hücresel hasarın artmasına yol açabilir. XO'nun bu reaktif oksijen türleri üretme kapasitesi, hücresel fizyolojiyi etkileyerek iltihaplanma ve bağışıklık yanıtları gibi önemli süreçlerde rol oynamaktadır(69).

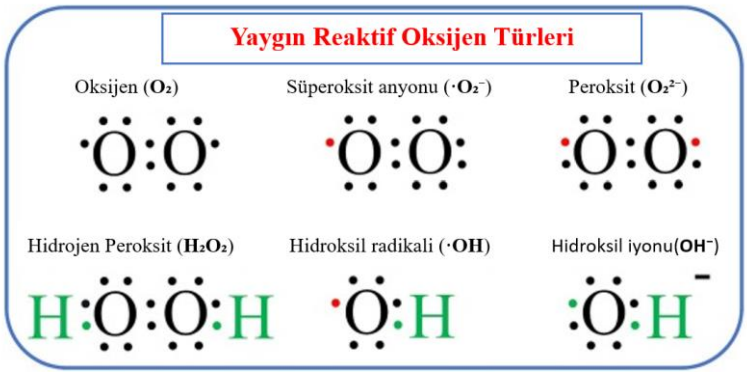
Ksantin oksidoreduktaz, purin metabolizmasında önemli bir enzim olup, hipoksantini ksantine ve ksantini ürik asite dönüştüren son iki adımı katalize eder. Bu süreç, purin katabolizmasının tamamlanmasında yer alırken XOR'un bu aktivitesi, nükleotit geri kazanımını sınırlayan bir etkiye sahiptir. XOR'un fonksiyonu yalnızca purin metabolizması ile sınırlı değildir. XOR, farklı koşullara bağlı olarak değişik enzimatik aktiviteler sergiler; bunlar

arasında NAD+ bağımlı dehidrojenaz, moleküler oksijen (O_2)-bağımlı oksidaz, indirgenmiş NADH oksidaz ve nitrat, nitrit gibi bileşiklerin redüksiyonunu gerçekleştiren bir redüktaz bulunur(70).

XOR'un ROS üretimi, hücre içindeki redoks dengesinin bozulmasına yol açabilir. Süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit gibi moleküller, DNA, proteinler ve lipidlerle etkileşime girerek oksidatif hasara neden olabilir. Ayrıca, XOR'un ürettiği ROS, fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu aracılığıyla, son derece sitotoksik olan hidroksil radikali (HO•) gibi reaktif türlere dönüşebilir. Bu süreçler, hücresel yapıları hedef alarak hücre ölümüne neden olabilir(70).

4.6.4. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen, elektron yapısı ve iki tekli elektronu nedeniyle radikal oluşumuna yatkındır. Bu bağlamda, reaktif oksijen türleri (ROS), oksijenden türetilen reaktif moleküller olarak tanımlanır. ROS üyeleri, kalan valans elektronları nedeniyle kısa ömürlü ve yüksek reaktiviteye sahip olma özellikleriyle bilinirler. Oksijenin elektron eklenerek indirgenmesiyle çeşitli ROS türleri meydana gelebilir (Şekil 4.6.). Tüm ROS türleri arasında, hidroksil radikali (·OH) en yüksek reaktiviteye sahip olup, sitotoksik etki yaratma potansiyeli nedeniyle öne çıkar(71).



Şekil 4.6. Çeşitli reaktif oksijen türleri (72)

Hücre içi reaktif oksijen türleri (ROS), dışsal ve içsel kaynaklardan üretilir. Dışsal kaynaklar arasında iyonize radyasyon ve ROS üretimini etki mekanizması olarak kullanan farmasötikler yer alırken, çevresel kimyasalların metabolizması sonucu da ROS oluşabilir. İçsel kaynaklar ise mitokondriyal ve mitokondri dışı ROS üreten enzimleri içerir. ROS, hücresel solunumda elektron taşıma zincirinden ayrılan bir elektronun oksijene bağlanarak süperoksit anyonları (O2−) üretmesiyle oluşur. Mitokondri, ROS üretiminin başlıca kaynağı olup tüketilen oksijenin yaklaşık %2'si bu amaçla kullanılır. Normal hücrelerde ROS'un %90'ı bu yolla

üretilir. Elektron taşıma zincirindeki ilk üç kompleks süperoksit anyonlarının üretiminden sorumludur(71).

Oksijen, karbon ve hidrojen içeren biyomolekülleri oksitleyerek enerji üretmek amacıyla hücresel solunumda kullanılan moleküler oksijen, bu süreç sırasında bir dizi ara ürün üretir. Bu ara ürünler arasında hidroperoksil radikali, süperoksit radikal anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil anyonu ve hidroksil radikali yer alır. Süperoksit radikal anyonunun oluşumu, oksijenin bir elektron kazanması ile gerçekleşir(73).

$$O_2 + e^- + H^+ \rightarrow HO_2 \cdot$$
$$HO_2 \cdot \rightarrow H^+ + O_2^-$$
$$O_2^{\cdot -} + 2H^+ + e^- \rightarrow H_2O_2$$
$$H_2O_2 + e^- \rightarrow HO^- + HO\cdot$$
$$HO\cdot + H^+ + e^- \rightarrow H_2O$$

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit radikal anyonunun kendi kendine ayrışması sonucu üretilebilir. Oksidazlar (örneğin ürat oksidaz, glukoz oksidaz) H_2O_2 'nin doğrudan üretimine yol açabilir. H_2O_2, metal iyonlarıyla etkileşime girerek son derece reaktif radikaller oluşturabilir. Hidrojen peroksit (H_2O_2), protein yapılarındaki demir iyonlarını serbest bırakarak enzim inaktivasyonuna, ayrıca DNA, lipidler, -SH grupları ve keto-asitlerin oksidatif hasarına neden olabilir(73).

Hidroksil radikali ($OH\cdot$), biyomoleküllere yüksek derecede oksidatif hasar veren güçlü bir radikaldir ve reaksiyonları difüzyonla sınırlıdır. Fenton reaksiyonları veya suyun radyoliyozu ile oluşan bu radikaller, organik ve inorganik moleküllerle güçlü oksidasyon yaratır. Bu, hidroksil radikalinin yüksek reaktivitesini ve kısa ömrünü açıklar(73).

Reaktif oksijen türleri (ROS), hücrede hem zararlı hem de düzenleyici rollere sahip çift yönlü moleküllerdir. Yüksek konsantrasyonlarda protein, lipit ve DNA gibi yapıları hedef alarak oksidatif strese yol açarken; düşük düzeylerde sinyal iletiminde ve immün yanıtın düzenlenmesinde görev alırlar. Örneğin, hidrojen peroksit (H_2O_2) hücre içinde ikinci haberci olarak çeşitli sinyal yollarını modüle edebilir. Ayrıca, bağışıklık hücrelerinde NADPH oksidaz aracılığıyla üretilen ROS, patojenlerin yok edilmesinde ve immün yanıtın şekillenmesinde rol oynar. ROS'un temel kaynağı mitokondriler olsa da NADPH oksidaz enzimleri (NOX ailesi) enzim ailesi ve peroksizomlar gibi diğer hücresel yapıların da süperoksit ve H_2O_2 üretimine

katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bu yönüyle ROS, hem hücresel hasarın aracıları hem de fizyolojik dengeyi sağlayan sinyal moleküllerdir(74).

4.6.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek hücreleri oksidatif stresten koruyan ve biyolojik sistemlerde dengeyi sağlayan moleküllerdir. Antioksidanlar temel olarak hücre içi, hücre dışı ve hücre zarındaki bileşenler olarak üç ana kategoride sınıflandırılabilir.

Hücre içi antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz ve glutatyon redüktaz gibi enzimlerden oluşur. Bu enzimler, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücrenin oksidatif strese karşı korunmasını sağlar. Hücre dışındaki antioksidanlar arasında transferrin, laktoferrin, haptoglobin, hemopeksin, albumin ve seruloplazmin bulunur. Ayrıca, ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC-SOD) ve glutatyon peroksidaz (EC-GPx) gibi enzimler, hücre dışındaki oksidatif hasarı azaltarak savunmayı güçlendirir. Zar üzerindeki antioksidanlar, lipid peroksidasyonunu engelleyerek oksidatif zararı önler. E vitamini, β-karoten ve koenzim Q (ubikinon) gibi bileşikler hücre zarını koruyarak serbest radikallerin neden olduğu hasarı sınırlamaya yardımcı olur(75).

1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Vitaminler: E vitamini, özellikle α-tokoferol formuyla, en yaygın ve biyolojik açıdan en aktif antioksidandır. Tokoferoller, lipid peroksidasyonunu engelleyerek hücre zarlarını korur. C vitamini (askorbik asit), suda çözünür ve kolajen ile karnitin sentezinde rol oynar. Ayrıca, askorbik asit serbest radikal temizleme kapasitesine sahip olup, E vitamini ile etkileşimde bulunarak lipid peroksidasyonunu engeller ve damar sağlığını destekler(76).

Flavonoidler: Bitkilerde önemli bir grup antioksidan olan flavonoidler, UV ışınlarına karşı koruma sağlamak, bitki hormonlarını desteklemek ve fotosentezde rol almak gibi işlevlere sahiptir. Bu bileşikler kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve nörolojik bozuklukların önlenmesinde etkilidir. Flavonoidlerin antioksidan etkinliği, yapılarına bağlı olarak hidroksil gruplarının varlığıyla artar(76).

Glutatyon: Glutatyon (GSH), hücre içi antioksidan savunmanın temel bileşiğidir. Tiol grubu içerdiğinden, proteinlerin stabilitesini sağlayan disülfid bağları oluşturur. Glutatyon, glutatyon peroksidaz enzimi aracılığıyla peroksitleri indirger, böylece hücre zarlarını ve diğer

hücresel bileşenleri oksidatif hasardan korur(76). Hücre içindeki redoks dengesi, özellikle glutatyon gibi düşük moleküler ağırlıklı antioksidanların indirgenmiş (GSH) ve oksitlenmiş (GSSG) formları arasındaki oran temel alınarak belirlenir. Bu dengenin bozulması, proteinlerdeki sülfhidril gruplarının oksidatif modifikasyonuna yol açarak enzim fonksiyonlarını ve genel hücresel işleyişi olumsuz etkiler. Dolayısıyla, GSH/GSSG oranının stabil tutulması, hücresel bütünlük ve homeostazın sürdürülmesi açısından hayati önem taşır(77).

2. Enzimatik Antioksidanlar

Canlı organizmalarda reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimi, hücresel yapılar üzerinde zararlı etkilere yol açarak oksidatif stres oluşumuna neden olur. Bu süreci dengelemek amacıyla geliştirilen antioksidan savunma sistemlerinin temelini enzimatik mekanizmalar oluşturur. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimler, bu sistemin başlıca bileşenleri arasında yer alır. SOD, süperoksit radikallerini hidrojen peroksite dönüştürerek ilk savunmayı sağlarken; oluşan hidrojen peroksit, katalaz ve GPx tarafından zararsız bileşiklere indirgenir. Bu enzimlerin koordineli çalışması, hücre içi oksidatif dengenin korunmasında ve ROS kaynaklı hasarın önlenmesinde kritik rol oynar(78).

4.6.6. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD (süperoksit: süperoksit oksidoredüktaz ya da süperoksit dismutaz olarak bilinen EC 1.15.1.1), endojen bir antioksidan metalloenzimidir. Bu enzim, vücudu peroksitlerin zararlı etkilerinden korur. Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikal anyonunun ($O_2 \bullet^-$) eş zamanlı indirgenme ve yükseltgenme yoluyla daha az reaktif bileşiklere dönüşümünü katalizleyen temel bir antioksidan enzimdir. Bu reaksiyon sonucunda oluşan hidrojen peroksit ($H_2 O_2$), hücrede birikmesini önlemek amacıyla katalaz veya glutatyon peroksidaz gibi enzimler tarafından detoksifiye edilir.

$$O_2 \bullet^- + O_2 \bullet^- + 2H^+ \rightarrow H_2 O_2 + O_2$$

SOD izoformları subünit sayısı, koenzimler, enzim aktif bölgesinde bulunan metaller ve amino asit bileşimi açısından farklılık gösterir. SOD, üç ana izoformda bulunur: sitoplazmik, mitokondriyal ve ekstrasellüler. Sitoplazmik SOD (SOD1), bakır ve çinko içerir ve sitoplazmada bulunan süperoksit radikallerini nötralize eder. Bu izoform, hücrelerin oksidatif stresle başa çıkmasına yardımcı olur. Mitokondriyal SOD (SOD2) ise manganez içerir ve

özellikle mitokondrilerdeki oksidatif stresle mücadelede önemli bir rol oynar. Mitokondriyal solunum zincirinde üretilen süperoksit radikallerini etkili bir şekilde nötralize ederek mitokondriyal fonksiyonları korur. Ekstrasellüler SOD (SOD3), bakır ve çinko içerir ve hücre dışı ortamda süperoksit radikallerini etkisiz hale getirerek doku sağlığını ve hücreler arası etkileşimi destekler(76).

4.6.7. Katalaz

Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6), dört özdeş alt birimden oluşan ve her bir alt biriminde ferriprotoporfirin grubu barındıran, yaklaşık 240 kDa moleküler ağırlığa sahip bir tetramerik enzimdir. Katalaz hidrojen peroksit ($H_2\ O_2$) ile reaksiyona girerek su ve oksijen üretirken, aynı zamanda metanol, etanol, formik asit ve fenoller gibi H vericileriyle de peroksidaz aktivitesi sergiler. Hayvanlarda, özellikle hücre içi hidrojen peroksitin detoksifikasyonu için katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPX) gibi enzimler önemli bir rol üstlenir. Hücrelerde hidrojen peroksit birikimini engelleyerek oksidatif hasarın önlenmesine yardımcı olur. Tepkimenin başında hidrojen peroksit, katalazın aktif bölgesindeki heme grubu ile etkileşime girer ve birinci indirgeme aşamasında bir hidrojen peroksit molekülü suya dönüştürülür, aynı zamanda serbest bir oksijen radikali ($O_2\ \bullet-$) açığa çıkar. Bu radikal, ikinci aşamada tekrar hidrojen peroksit ile etkileşerek su ve moleküler oksijen üretir(79).

$$H_2\ O_2\ \rightarrow H_2\ O + O_2\ \bullet-$$
$$O_2\ \bullet- + H_2\ O_2\ \rightarrow H_2\ O + O_2$$

Katalaz, ayrıca düşük $H_2\ O_2$ düzeylerinde peroksidaz aktivitesi göstererek bazı organik bileşikleri oksitleyebilir. Bu çift fonksiyon, hücresel redoks dengesinin sürdürülmesinde ve yaşlanma süreçlerinin düzenlenmesinde kritik rol oynar. Araştırmalar, katalaz aktivitesinin yaşla değişebileceğini ve eksikliğinin yaşlanma belirtilerini hızlandırabileceğini göstermektedir(80).

4.6.8. Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (GPX), her bir alt biriminde bir selenosistein (Sec) kalıntısı içeren selenyum temelli bir enzimdir ve bu kalıntı, enzim aktivitesinin gerçekleşebilmesi için gereklidir. GPX, glutatyon (GSH) kullanarak hidroperoksitleri indirger, böylece hücreleri oksidatif hasardan korur. Memelilerde beş farklı GPX izoenzimi bulunmaktadır ve bunlar vücudun farklı bölgelerinde değişik seviyelerde ifade edilir. Sitoplazmik ve mitokondriyal

GPX1, yağ asidi hidroperoksitleri ve hidrojen peroksiti indirgerken, GPX4, fosfolipid ve yağ asidi hidroperoksitlerini membranlarda indirger ve böylece hücresel yapıları korur. GPX1, eritrositlerde, karaciğer ve böbreklerde yaygınken, GPX4 özellikle böbrek epitel hücreleri ve testislerde yüksek oranda ifade edilir. Diğer izoenzimler, GPX2 ve GPX3, gastrointestinal sistem ve böbrek dışında çoğunlukla düşük seviyelerde bulunur(79). GPx ailesi içinde özellikle GPx4, fosfolipid hidroperoksitleri doğrudan indirgeme kapasitesiyle öne çıkar. Hücre zarına yerleşmiş lipid hidroperoksitleri nötralize ederek zincirleme lipid peroksidasyonunu durdurur ve böylece membran bütünlüğünü korur. GPx4'ün bu özgün özelliği, lipid oksidasyonuna bağlı hücre ölüm yollarının önlenmesinde hayati rol oynar(81).

GPX, hidrojen peroksit ve diğer organik hidroperoksitlerle etkili bir şekilde reaksiyona girer. Bu reaksiyonla hidrojen peroksit, glutatyon peroksidaz enzimi tarafından suya indirgenirken, glutatyon (GSH) oksitlenir ve glutatyon disülfid (GSSG) oluşturur. Böylece, hidrojen peroksit hücrelerden temizlenmiş olur ve hücrelerin oksidatif hasara karşı korunmasına yardımcı olunur.

$$H_2O_2 + 2\,GSH \rightarrow H_2O + GSSG + H^+$$

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Deney Hayvanları ve Deney Süreci

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 30/03/2022 tarihli 2022-7-71 numaralı kararı ile gerçekleştirilmiş, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma ProjeleriKoordinatörlüğü'nün TTU-2023-2548 proje numarası ile desteklenmiştir.

Çalışmada kullanılan hayvanlar, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi ve çalışma, aynı laboratuvarın kontrol ve denetiminde gerçekleştirildi. Deney hayvanları, deney öncesi ve sırasında 22 °C sabit sıcaklıkta, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsüyle düzenlenmiş bir ortamda kafeslerde tutuldu. Hayvanlar, standart rat yemi ve su ile beslendi.

Çalışmamızda, 12 haftalık ve 250-350 gram ağırlığında toplam 40 adet erkek Wistar rat kullanıldı. Güç analizi ve örneklem büyüklüğü hesaplamaları sonucunda oral gavaj sırasında meydana gelebilecek olası kayıplar dikkate alınarak her grup için 10 hayvan belirlenmiştir. Deney öncesinde ratlar rastgele yöntemle 10'ar hayvan içeren 4 eşit gruba ayrılmıştır. Çalışmanın ilk haftasında, 2. grupta (Lityum Karbonat) bir rat ve 4. grupta (Lityum Karbonat + Kuersetin) iki rat, oral gavaj uygulamasına bağlı komplikasyonlar (perforasyon, peritonit) nedeniyle kaybedilmiştir. Grup dengesi ve homojenitesinin sağlanabilmesi amacıyla 6.günde kontrol grubundan birer rat, randomizasyon esaslarına göre 2. ve 4. gruplara aktarılmıştır. Deney protokolünde uygulanan dozlar literatürde lityum için böbrek üzerinde toksik etki oluşturduğu(82-85) , kuersetinin ise antioksidan etki(58, 86, 87) gösterdiği dozlar esas alınarak hesaplanmış ve uygulanmıştır. Gruplar aşağıda verilen şekildedir:

Kontrol grubu (G1) (n=8): Ratlara 35 gün boyunca günde 1 kere 1 cc oral yolla SF verildi.

Lityum Karbonat grubu (G2) (n=10): Ratlara 35 gün boyunca 45 mg/kg/gün lityum karbonat (Lithuril® 300mg/100kapsül) 1 cc SF içerisinde çözdürülerek oral olarak verildi.

Quercetin (G3) (n=10): Ratlara 35 gün boyunca 50mg/kg/gün kuersetin (Ocean Liposomal Quercetin, ORZAX) 1 cc SF içerisinde çözdürülerek oral olarak verildi.

Lityum Karbonat + Quercetin grubu (G4) (n=9): Ratlara 35 gün boyunca 45 mg/kg/gün lityum karbonat (Lithuril® 300mg/100kapsül) ve 50mg/kg/gün kuersetin (Ocean Liposomal Quercetin, ORZAX) birer cc SF içerisinde çözdürülerek oral olarak verildi.



Şekil 5.1. Oral gavaj ile kuersetin uygulaması

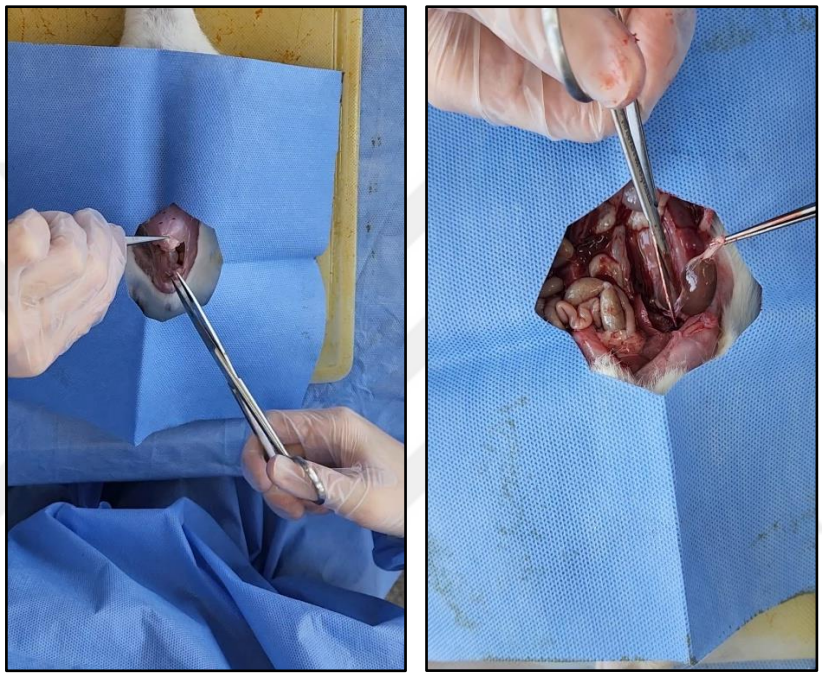
Deney sonunda verilen son ilaç dozlarından 24 saat sonra ratlara intramuskuler (IM) 90 mg/kg ketaminofen (Keta-Control/Doğa ilaç), 10 mg/kg xylazinum (XYLAZİNBİO%2/Bioveta) uygulandı. Ardından serum biyokimyasal analiz için intrakardiak kan alınarak ötenazi uygulandı.

Serum parametreleri için her bir rattan 1 adet kırmızı kapaklı seperatör jel içeren tüpe 5ml intrakardiyak kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri 4000 devirde (RCF: 1790 x g) 10 dakika süreyle santrifüj edilerek serum elde edildi. Elde edilen serum örnekleri AST, ALT, Kreatinin, BUN parametrelerinin ölçümü ve malondialdehit (MDA), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) analizi amacıyla eppendorf tüplere paylaştırılarak analiz edilene kadar -80 °C'de dondurulup saklandı. AST, ALT, Kreatinin, BUN düzeyleri Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Merkez laboratuvarında Roche Cobas 8000 modüler analiz sistemi kullanılarak çeşitli spektrofotometrik yöntemlerle analiz edildi.

5.2. Böbrek ve Karaciğer Dokularının Alınması

Anestezi sonrası ötenazisi gerçekleşen ratlar sakrifiye edildikten sonra sağ ve sol böbrek, karaciğer dokuları çıkarıldı. Sol böbrek histolojik değerlendirmeler için Bouin's solüsyonuna

alındı. Sağ böbrek ve karaciğer ise doku düzeyinde oksidatif stres belirteçleri (malondialdehit (MDA), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px)) bakılmak üzere alüminyum folyo ile kaplanıp sıvı azot yardımıyla -80'de saklanmak üzere laboratuvara taşındı. Çalışmada, tüm dokuların protein miktarı tayinleri Lowry yöntemiyle gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar, doku protein miktarına oranlanarak raporlanmıştır. Dokuların ağırlıkları ölçülmüş ve 1:10 (w/v) oranında serum fizyolojik ile seyreltilerek homojenize edilmiştir. Daha sonra, hazırlanan homojenat 4000 rpm hızda 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısmı ayrılmıştır.



Şekil 5.2. Sakrifikasyon sonrası böbrek dokularının çıkarılması

5.3. Biyokimyasal Analizler

5.3.1. Protein Miktarı Ölçüm Yöntemi (Lowry Yöntemi)

Doku homojenatlarından elde edilen süpernatanların protein miktarları, Lowry yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir(88). Lowry yöntemi, biüret reaksiyonuna eklenen çeşitli adımlar ve reaktifler ile hassasiyeti artırılmış, güvenilir bir analiz yöntemidir. Lowry yönteminde ilk olarak protein zincirlerinde yer alan peptid bağlarının azot grupları, alkali ortamda bakır (II) iyonlarıyla etkileşerek mor renkli bir kompleks oluşturur. Bu reaksiyonu takiben eklenen Folin–Ciocalteu reaktifi (içeriğinde fosfomolibdik ve fosfotungstik asit bulunur) hem bu kompleksle hem de proteinin tirozin, triptofan ve sistein gibi indirgen özellik gösteren amino asit yan zincirleriyle reaksiyona girerek 650–750 nm aralığında absorbans veren karakteristik bir mavi-

yeşil renk meydana getirir. Oluşan renk yoğunluğu, protein konsantrasyonuyla doğru orantılıdır ve tayinlerin kantitatif doğruluğunu sağlar.

Analizde kullanılan reaktiflerin hazırlanışı:

A Reaktifi: 0.5 gr $CuSO_4.5H_2O$ ve 1 gr sodyum sitrat 100 ml distile suda çözülür.
B Reaktifi: 20 gr Na_2CO_3 1 L 0,1 N NaOH içinde çözülür.
C Reaktifi: 50 ml B reaktifine 1 ml A reaktifi eklenir.
D Reaktifi: 10 ml Folin-Ciocalteu reaktifine 10 ml distile su eklenir.
Deneyin yapılışında aşağıdaki protokol kullanıldı.

Tablo 5.1. Protein miktarı ölçüm yöntem protokolü

	KÖR	NUMUNE (Nm)
SÜPERNATAN	-	10 µl
DİSTİLE SU	500 µl	490 µl
C REAKTİFİ	2,5 ml	2,5 ml

Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilen hem kör hem de numune tüplerine 0,25 ml D reaktifi ilave edilmiştir. Ardından, oda sıcaklığında 30 dakika daha bekletilen tüplerin her ikisinin de absorbansı, distile suya karşı 700 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Protein konsantrasyonunun hesaplanmasında albümin standardı referans olarak kullanılmıştır. Hesaplamalar, faktör değeri 20 olarak belirlenmiş ve aşağıdaki formül esas alınarak gerçekleştirilmiştir.

Protein konsantrasyonu (mg/ml) = $(OD_{Nm}-OD_{KÖR})$ x 20 (F)

5.3.2. Katalaz (KAT) Aktivitesi Ölçümü

Katalaz enzimi, substrat olarak hidrojen peroksiti (H_2O_2) kullanır ve bu deneyin prensibi, katalazın H_2O_2'yi parçalaması sırasında oluşan absorbans azalmasının 240 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak izlenmesine dayanmaktadır (89).

Deneyde kullanılan reaktiflerin hazırlanışı:

Fosfat tamponu: KH_2PO_4 ve Na_2HPO_4 kullanılarak 50 mM, pH 7'de fosfat tamponu hazırlanmıştır.

H_2O_2 çözeltisi: %30 (v/v) stok H_2O_2 çözeltisinden 0,2 ml alınarak 100 ml fosfat tamponu ile seyreltilmiştir.

Deney sırasında, 2,99 ml H_2O_2 çözeltisi, 0,01 ml serum veya doku süpernatanı ve 0,01 ml fosfat tamponu kuvartz küvete eklenmiştir. Bu karışım, spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda 1 dakika boyunca izlenmiştir. Absorbans farkı (ΔOD) hesaplandıktan sonra katalaz aktivitesi, H_2O_2 'nin molar absorpsiyon katsayısı temel alınarak belirlenmiştir. Hesaplamalar sonucunda, faktör değeri 7320 olarak tespit edilmiştir.

Hesaplama aşağıdaki şekilde yapılır.

KAT doku aktivitesi (IU/mg) = (ΔOD/dk) x F / [Protein konsant. (mg /mL)]
KAT serum aktivitesi (IU/ml) = (ΔOD/dk) x F

5.3.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçüm Yöntemi

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi, SOD enziminin süperoksit radikallerini ortamdan uzaklaştırması ve nitroblue tetrazolium (NBT) bileşiğinin süperoksit tarafından indirgenmesini engellemesi prensibine dayalı bir yöntemle ölçülmüştür. Bu yöntem, SOD aktivitesinin süperoksit radikalleriyle etkileşim miktarıyla doğru orantılı olarak belirlenmesine olanak sağlamaktadır(90).

SOD Aktivitesinin Ölçüm Protokolü:

Tablo 5.2. SOD aktivitesi ölçüm yöntem protokolü

	Numune(N)	Kör
Reaktif 1	2,75 ml	2,75 ml
Süpernatan	100 µl	-
XO	50 µl	50 µl

Tüpler oda sıcaklığında 20 dk. bekletilir.

$CuCl_2$	100 µl	100 µl
Süpernatan	-	100 µl

Reaktif 1'in hazırlanışı: 9,1 mg ksantin, birkaç damla 1 N NaOH ve distile su ile çözüldükten sonra 200 ml'ye tamamlanmıştır. 25 mg EDTA, 100 ml distile suda çözülmüştür. 12,3 mg NBT, 100 ml distile suda çözülmüştür. 30 mg sığır albümini, 30 ml distile suda çözülmüştür.

2,54 g $Na_2\ CO_3$, 60 ml distile suda çözülmüştür. Tüm çözeltiler birleştirilerek toplam hacmi 490 ml olan Reaktif 1 hazırlanmıştır.

Ksantin Oksidaz (XO) çözeltisinin hazırlanışı: 10 µL XO, 1 ml 3,2 M amonyum sülfat içinde çözülmüştür.

$CuCl_2$ çözeltisinin hazırlanışı: 108 mg $CuCl_2$, 100 ml distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

Bir SOD birimi (U), NBT'nin indirgenmesini %50 oranında inhibe eden enzim aktivitesi olarak tanımlanmıştır. Kör ve numune tüplerine ait absorbanslar, distile suya karşı 560 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülmüştür. SOD aktivitesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır(91):

Doku SOD aktivitesi (U/mg) = [(OD $_{Kör}$- OD_N) / OD $_{Kör}$] x F / Protein kons. (mg/ml)
Serum SOD aktivitesi (U/mL) = [(OD $_{Kör}$- OD_N) / OD $_{Kör}$] x F
Bu çalışmada F=20 alınmıştır.

5.3.4. MDA Ölçüm Yöntemi

Malondialdehit (MDA) düzeyleri, tiyobarbitürik asitle (TBA) asidik ortamda reaksiyona girerek pembe renkli bir bileşik oluşturması prensibine dayanan spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir (92).

MDA ölçümünde kullanılan reaktiflerin hazırlanışı:

Fosfat tamponu (pH 6; 100 mM): 2,13 g $Na_2\ HPO_4$ ve 11,56 g $KH_2\ PO_4$ tartılarak distile suda çözülmüş, ardından hacim 1 litreye tamamlanmıştır.

Trikloroasetik asit (TCA; %20 w/v): 500 mL 0,6 N HCl içinde 100 g TCA çözülerek hazırlanmıştır.

TBA çözeltisi (%2 w/v): 200 mg TBA, 10 mL distile suda çözülmüştür.

Etil alkol (%95 v/v): Analiz için hazır halde kullanılmıştır.

Tablo 5.3. MDA ölçüm yöntem protokolü

	Numune	**Kör**
Süpernatan	100 µl	100 µl
Etil alkol	1 ml	1 ml
Fosfat tamponu	1 ml	1 ml
TCA	1 ml	1 ml
TBA	1 ml	-

Deney sırasında, tüpler kaynar suda 30 dakika inkübe edilmiş ve ardından 4000 devirde 20 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Spektrofotometrik ölçümler için kör tüplere 1 mL TBA çözeltisi eklenmiş, tüm numune ve kör çözeltilerinin absorbansları 532 nm dalga boyunda distile suya karşı ölçülmüştür. Bu ölçümde MDA standardı olarak tetraetoksipropan (TEP) kullanılmıştır (%96; d=0,92; MA= 220,3). Ölçüm sonuçları, TEP standardına göre belirlenen 161.3 sabit faktörü esas alınarak aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

Doku MDA (nmol/mg protein) = ΔOD_N x 161,3 / Protein kons. (mg/ml)
Serum MDA (nmol/mL) = ΔOD_N x 161,3

5.3.5. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivite Ölçüm Yöntemi

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitesi, enzimin katalizlediği reaksiyon sırasında oluşan okside glutatyonun (GSSG) indirgenmesi sürecinde, NADPH'nin $NADP^+$ 'a dönüşmesiyle ilişkilidir. Bu yöntem, NADPH'nin absorbansındaki azalmanın spektrofotometrik olarak izlenmesine dayanmaktadır. NADPH absorbansındaki düşüş, glutatyon peroksidaz aktivitesinin dolaylı bir göstergesi olarak değerlendirilir(93).

Reaktif Hazırlama Protokolü

Fosfat Tamponu (pH 7; 50 mM fosfat, 5,6 mM EDTA): 2,08 g EDTA, 4,2 g $Na_2\ HPO_4$ ve 2,72 g $KH_2\ PO_4$ 1 litre distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

Glutatyon Çözeltisi: 250 mg glutatyon, 5 mL fosfat tamponunda çözülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

NADPH Çözeltisi: 15 mg NADPH, 2,5 mL fosfat tamponunda çözülmüştür.

Glutatyon Redüktaz Enzimi: 3,2 M amonyum sülfat içerisinde 10 µL glutatyon redüktaz enzimi, 1 mL çözelti olacak şekilde seyreltilmiştir.

Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Çözeltisi: 15 µL %30 (v/v) stok H_2O_2 çözeltisi, 5 mL fosfat tamponuna ilave edilerek hazırlanmıştır.

Sodyum Azid Çözeltisi: 65 mg sodyum azid, 5 mL fosfat tamponunda çözülerek deneyde kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

Tablo 5.4. Glutatyon Peroksidaz aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü

Fosfat Tamponu	2,5 ml
GSH	100 µl
NADPH	50 µl
GSH Redüktaz	100 µl
Sodyum Azid	100 µl
Süpernatan	100 µl

Spektrofotometre 340 nm dalga boyuna ayarlanarak fosfat tamponu ile sıfırlama işlemi gerçekleştirildi. Protokolde belirtilen reaktifler küvete eklendikten sonra, absorbans değişimi 1 dakika boyunca izlenerek kör değer kaydedildi. Aynı işlem, 100 µL H_2O_2 çözeltisinin eklenmesiyle tekrarlandı ve bu kez numune değeri belirlendi. Numune için elde edilen 1 dakikalık absorbans değişim değeri (ΔOD), kör değer için hesaplanan ΔOD'den çıkarılarak toplam absorbans farkı hesaplandı. GSH-Px aktivitesi, NADPH'ın molar absorpsiyon katsayısı (ε) kullanılarak analiz edildi. Yapılan hesaplamalar sonucunda faktör değeri 4800 olarak belirlendi.

GSH-Px aktivitesi (mIU/mg) =

$\Delta OD \times (1/\varepsilon_{NADPH}) \times (V_{toplam}/V_{numune}) \times (1/\text{zaman (dk)}) \times \text{Seyreltme Faktörü}$

GSH-Px aktivitesi (mIU/mg) = (ΔOD/dk) x 4800/ Protein kons. (mg/ml)

5.3.6. Ksantin Oksidaz (XO) Aktivitesinin Ölçüm Yöntemi

Ksantin Oksidaz (XO), ksantin molekülünü parçalayarak ürik asit sentezleyen önemli bir enzimdir. Bu yöntemde, ksantin substratından oluşan ürik asidin, 293 nm dalga boyunda gösterdiği absorbsiyon artışı esas alınarak enzim aktivitesi ölçülmektedir. Birim zamanda

meydana gelen ürik asit miktarı, ksantin oksidaz enzim aktivitesinin göstergesi olarak kabul edilmiştir (94).

Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışı

Fosfat Tamponu (pH7,5; 50mM fosfat, 0,5mM EDTA): 93 mg Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) disodyum tuzu, dihidrat formu; 3 g sodyum hidrojen fosfat (Na_2 HPO_4) ve 0,5 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2 PO_4), distile su içerisinde çözülmüş ve toplam hacim 500 mL olacak şekilde tamamlanmıştır.

Ksantin Çözeltisi (2mM): 7,6 mg ksantin, 25 mL fosfat tamponu içinde çözülerek hazırlanmıştır. Çözünürlüğü artırmak için hafif ısı uygulanmıştır.

Her bir deney tüpüne, ilk olarak 2,8 mL fosfat tamponu eklenmiştir. Ardından 0,1 mL ksantin çözeltisi ilave edilmiştir. Son olarak, 0,1 mL doku süpernatanı eklenerek reaksiyon karışımı tamamlanmıştır.

Tablo 5.5. Ksantin Oksidaz aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü

Reaktif	Hacim (mL)
Fosfat Tamponu	2.8
Ksantin Çözeltisi	0.1
Süpernatan	0.1

Hazırlanan numuneler, oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve absorbansları 293 nm dalga boyunda, başlangıçta (1. saat) ve 21. saatin sonunda ölçülmüştür. Ölçümler arasında elde edilen absorbans farkı (ΔOD) hesaplanmış ve ve ürik asitin molar absorbsiyon katsayısından faydalanılarak enzim aktivitesi belirlenmiştir:

Ksantin Oksidaz Aktivitesi (mIU/mg protein) = (ΔOD /dakika) × 3000 / Protein konsantrasyonu (mg/mL)

5.4. Böbrek ve Karaciğer Dokularının Histolojik Takibi ve Analizi

Anestezi uygulandıktan sonra ötenazi gerçekleştirilen ratlar sakrifiye edilerek sağ ve sol böbrekler ile karaciğer dokuları çıkarılmıştır. Sol böbrek ve karaciğer dokularının bir kısmı histolojik değerlendirmeler için tamponlu formalin solüsyonuna (pH 7,3-7,4) alınarak fikse

edilmiştir. Fiksasyon işleminin ardından doku örnekleri, sırasıyla dereceli alkol serilerinden (%75, %96 ve %100) geçirilerek dehidrate edilmiş, ardından ksilol ile şeffaflandırılarak parafine gömülmüştür. Elde edilen parafin bloklardan mikrotom (Leica RM 2125RT) kullanılarak 5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Böbrek ve karaciğer dokularının genel histolojik değerlendirme ve skorlama işlemleri için Hematoksilin-Eozin (HE) boyama, böbrek dokusunda ise bazal membranın değerlendirilmesi amacıyla Periyodik Asit Schiff (PAS) boyama yöntemi uygulanmıştır.

Böbrek kesitlerinin genel histolojik analizi ve skorlama işlemleri HE boyalı preparatlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kontrol ve deney gruplarındaki her hayvandan alınan böbrek kesitlerinde rastgele seçilen 5 farklı alandan, x20 büyütme ile dijital fotoğraflar çekilmiştir (Zeiss Axioscope A1). Her bir dijital görüntü üzerine %1'lik 100 alana bölünmüş transparan bir ölçek yerleştirilerek glomerüler atrofi, hiyalen silindir, interstisyel nefrit, hiperemi ve inflamatuar hücre infiltrasyonu gibi hasar parametreleri yarı-kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Hasar parametrelerinin yüzde değeri hesaplanarak her parametrenin skor değeri (0-4) toplanarak kontrol ve deney gruplarında belirlenmiştir (95).

Tablo 5.6. Böbrek dokusu hasar parametrelerinin skorlanması

Skor değeri	0	1 Minimal	2 Mild/hafif şiddette	3 Modarate/orta şiddette	4 Ağır şiddette
Glomerüler atrofi	Hasar yok	(%0-5 tutulum)	(%5-25 tutulum)	(%25-75 tutulum)	(%75-100 tutulum)
Hyalen silendir	Hasar yok	(%0-5 tutulum)	(%5-25 tutulum)	(%25-75 tutulum)	(%75-100 tutulum)
Apoptoz/nekroz	Hasar yok	(%0-5 tutulum)	(%5-25 tutulum)	(%25-75 tutulum)	(%75-100 tutulum)
Hiperemi	Hasar yok	(%0-5 tutulum)	(%5-25 tutulum)	(%25-75 tutulum)	(%75-100 tutulum)
İnflamatuar hücre infiltrasyonu	Hasar yok	(%0-5 tutulum)	(%5-25 tutulum)	(%25-75 tutulum)	(%75-100 tutulum)

Karaciğer hasarı durumunu değerlendirmek için kontrol ve deney gruplarında her hayvandan karaciğer kesitlerinde rastgele seçilen 5 farklı alandan x20 büyütme ile fotoğraflar alınmıştır(Zeiss Axioscope A1) ve dijital fotoğraflar modifiye histomorfolojik parametreler açısından değerlendirilmiştir (96).

5.5. İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk Testi kullanılarak incelenmiştir. Normal dağılıma uygunluk durumuna göre ortalama ± standart sapma veya ortanca (minimum-maksimum) olarak sunulmuştur. İkiden fazla kategoriye sahip nicel değişkenin kategorileri

arasında fark olup olmadığını değerlendirmek amacıyla normal dağılım varsayımları sağlanıyorsa One Way ANOVA; normal dağılım varsayımları sağlanmıyorsa Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğunda ikili grupların karşılaştırılmasında post-hoc testler uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edilip analizlerin gerçekleştirilmesinde Statistical Package for Social Sciences (SPSS, Versiyon 15.0, Chicago,IL.) kullanıldı.

6. BULGULAR

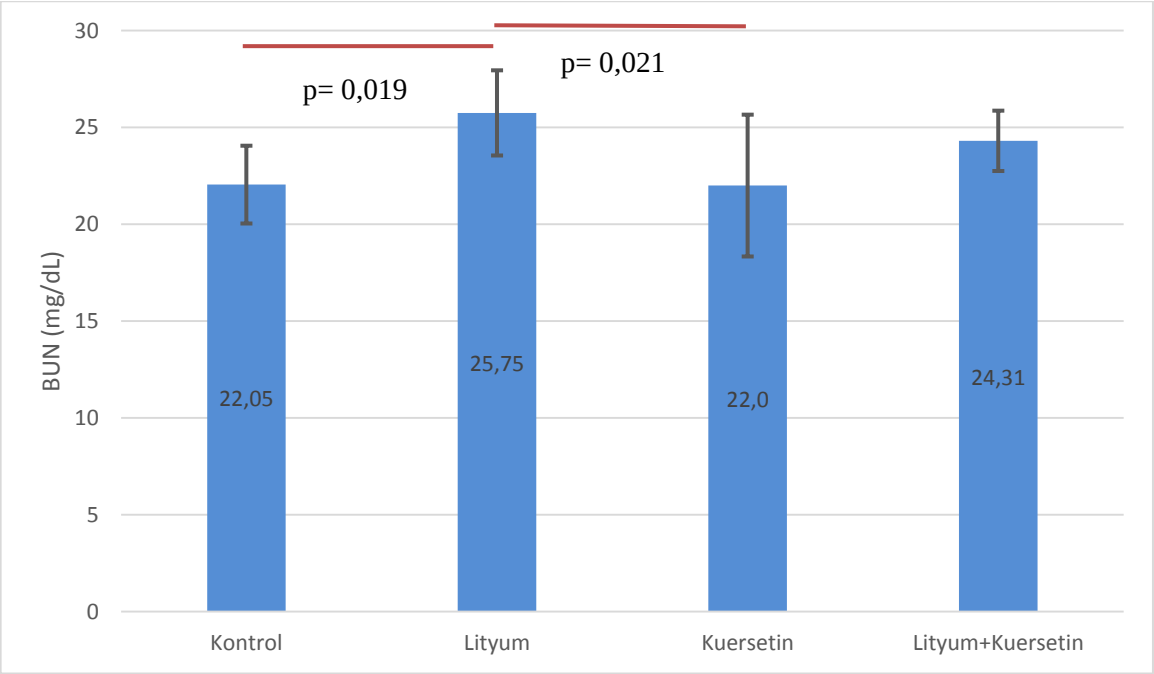
Çalışmaya dahil edilen kontrol, lityum, kuersetin ve lityum + kuersetin uygulanan grupların serum biyokimyasal parametreleri (ALT, AST, kreatinin ve BUN) karşılaştırılmıştır. Parametrelerin dağılım özelliklerine göre uygun istatistiksel testler (ANOVA, Kruskal-Wallis vb.) uygulanmıştır. Elde edilen verilere ait ortalama ± standart sapma (Ort ± SS), minimum–maksimum (min–maks) değerleri ve anlamlılık düzeyleri Tablo 6.1'de sunulmuştur. Anlamlı istatistiksel farklılık gösteren biyokimyasal parametrelerin grup dağılımları, bulguların daha anlaşılır olması için grafiksel olarak da ifade edilmiştir. Bu kapsamda, serum BUN düzeylerine ilişkin karşılaştırmalı veriler Şekil 6.1'de görsel olarak sunulmuştur.

Tablo 6.1. Grupların serum biyokimyasal parametreleri açısından karşılaştırılması

	Kontrol (n=8) Grup 1	Lityum (n=10) Grup 2	Kuersetin (n=10) Grup 3	Li+Ku (n=9) Grup 4	p *
ALT (U/L) Median (min-maks) IQR	67 (58-107) 36	73 (57-116) 24	65 (54-93) 32	76 (66-274) 109	0,279
AST (U/L) Median (min-maks) IQR	130 (94-225) 110	126 (111-272) 122	122 (89-207) 45	129 (80-194) 69	0,665
Kreatinin (mg/dL) Ortalama ± SD (min-maks)	0,29±0,03 (0,24-0,33)	0,33±0,09 (0,14-0,42)	0,29±0,03 (0,24-0,34)	0,32±0,42 (0,25-0,38)	0,195
BUN (mg/dL) Ortalama ± SD (min-maks)	22,05±2,01 (20-25,7)	25,75±2,2 (23-29,6)	22±3,66 (17-29,2)	24,31±1,56 (22,1-26,7)	0,006 Grup1-2: p=0,019 Grup2-3: p=0,021

*Verilerin dağılımı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiş; normal dağılıma uymayan parametreler için median (min–maks, IQR), normal dağılım gösteren parametreler için ise ortalama ± SD (min–maks) olarak raporlanmıştır.

Kontrol ve model grupları serum biyokimyasal parametreleri açısından karşılaştırıldığında (Tablo 6.1.); serum ALT, AST ve kreatinin düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir. BUN değerleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p=0,006). BUN değerleri istatistiksel anlamlı olarak lityum grubunda kontrol ve kuersetin gruplarından daha yüksek olarak izlenmiştir (p=0,019 ve p=0,021). Ratların kreatinin değerleri incelendiğinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamakla birlikte en yüksek değerlerin lityum grubunda olduğu gözlenmiştir.



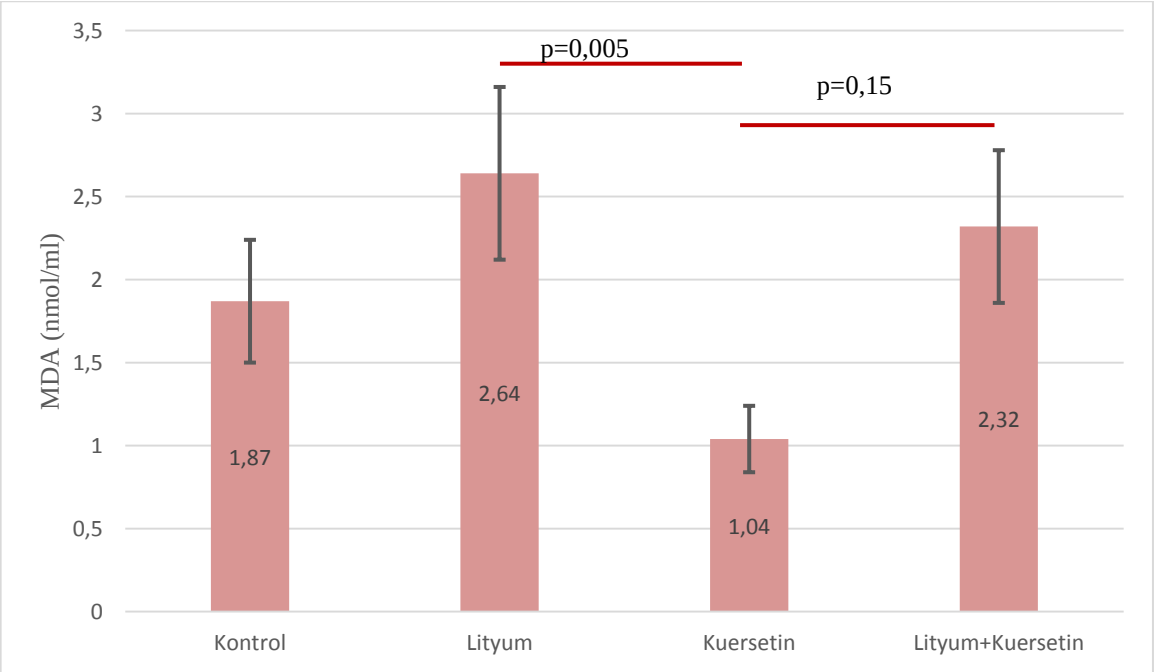
Şekil 6.1. Gruplara ait serum BUN düzeylerinin ortalama ± standart sapma (SD) değerleri.

Tablo 6.2. Grupların serum oksidatif stres parametreleri açısından karşılaştırılması

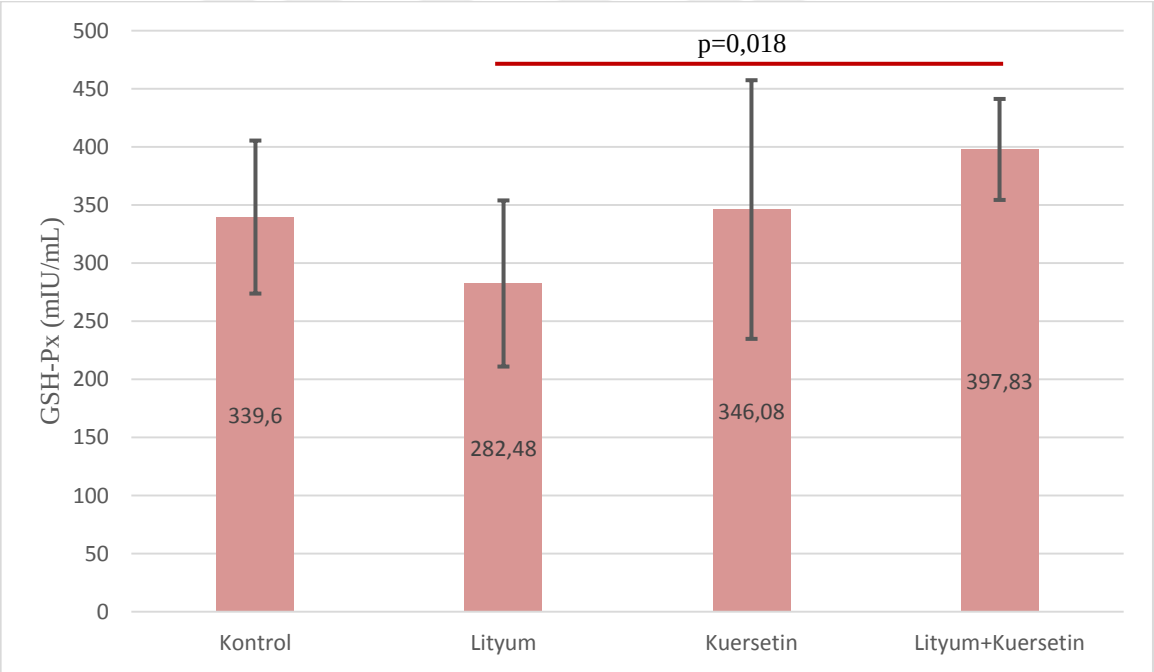
	Kontrol (n=8) Grup 1	Lityum (n=10) Grup 2	Kuersetin (n=10) Grup 3	Li+Ku (n=9) Grup 4	p
SOD (U/mL) Ortalama ± SD (min-maks)	10,14 ± 0,64 (8.96-11,06)	9,57 ± 0,80 (8.56-10,70)	10,49 ± 1,04 (8,66-12,05)	9,78 ± 0,73 (8,76-10,71)	0,081
KAT (IU/mL) Ortalama ± SD (min-maks)	24,40±8,90 (7,32-58,56)	21,96±5,18 (7,32-51,24)	32,42±4,75 (14,64-51,24)	17,86±4,07 (7,32-43,92)	0,202
GSH-Px (mIU/mL) Ortalama ± SD (min-maks)	339,60±65,80 (264-480)	282,48 ±71,46 (172,8-369,6)	346,08 ± 111,27 (201,6-499,2)	397,82±43,40 (316-446,4)	0,028 Grup2-4: p=0,018
MDA (nmol/ml) Ortalama ± SD (min-maks)	1,87±0,37 (1,13-2,61)	2,64 ± 0,52 (1,61-3,70)	1,04 ± 0,20 (0,62-1,14)	2,32 ± 0,46 (1,40-3,20)	0,033 Grup2-3 p=0,005 Grup3-4 p=0,015

Ratların serum antioksidan marker değerleri incelendiğinde SOD ve KAT değerleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir. Serum GSH-Px değerleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p=0,028). Post-hoc analizde, Lityum+Kuersetin grubunun GSH-Px düzeylerinin Lityum grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu izlenmiştir (p=0,018).

Serum MDA değerleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p=0,033). MDA değerleri incelendiğinde Kuersetin grubunun MDA düzeylerinin Lityum ve Lityum+Kuersetin gruplarına göre anlamlı derecede daha düşük olduğu izlenmiştir (p=0,005 ve p=0,015).



Şekil 6.2. Serum ortalama MDA düzeyleri ve standart sapmaları



Şekil 6.3. Serum ortalama GSH-Px düzeyleri ve standart sapmaları

Tablo 6.3. Grupların böbrek oksidatif stres parametreleri açısından karşılaştırılması

	Kontrol (n=8) Grup 1	Lityum (n=10) Grup 2	Kuersetin(n=10) Grup 3	Li+Ku (n=9) Grup 4	p*
SOD (U/mg) Ortalama± SD (min-maks)	1,62±0,03 (1,22-1,78)	1,43±0,03 (1,18-1,67)	1,68±0,03 (1,35-1,83)	1,54±0,04 (1,21-1,79)	0,031 Grup1-2: p=0,045 Grup2-3: p=0,005
KAT(IU/mg) Ortalama ± SD (min-maks)	186,37±28,18 (157,57-227,38)	193,77±8,86 (173,53-204,44)	196,16±36,29 (114,69-229,37)	187,6±13,78 (165,55-209,4)	0,793
GSH-Px(mIU/mg) Median (min-maks) IQR	63,43 (22,24-91,44) 26,25	12,42 (5,23-20,27) 5,72	33,35 (14,39-80,44) 34,66	25,27 (17,66-64,74) 22,56	<0,001 Grup1-2: p<0,001 Grup2-3: p=0,014 Grup2-4: p=0,022
XO (mIU/mg) Ortalama± SD (min-maks)	0,25±0,06 (0,17-0,34)	0,29±0,05 (0,20-0,35)	0,25±0,03 (0,19-0,29)	0,26±0,04 (0,19-0,34)	0,190
MDA (nmol/mg) Ortalama ± SD (min-maks)	0,58±0,10 (0,13-1,04)	0,74±0,04 (0,54-0,95)	0,38 ± 0,04 (0,17-0,76)	0,51 ± 0,04 (0,19-0,81)	0,012 Grup2-3: p<0,001 Grup2-4: p=0,022

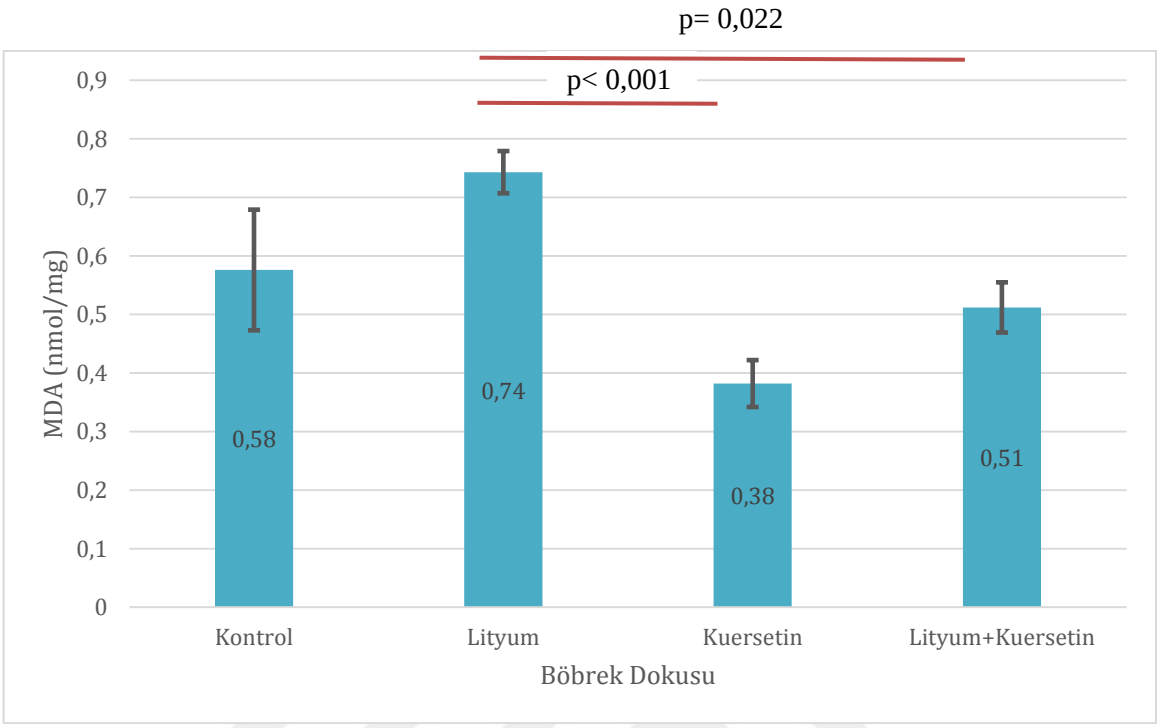
*Veriler normal dağılıma uyum gösteren parametreler için ortalama ± SD, normal dağılmayanlar için median (min-maks) ve IQR olarak raporlanmıştır.

Gruplar böbrek oksidatif stres parametreleri açısından karşılaştırıldığında (Tablo 6.3.); katalaz ve ksantin oksidaz düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir. Ratların böbrek doku GSH-Px değerleri değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık izlenmiştir (p<0,001). Gruplar değerlendirildiğinde en yüksek değer kontrol grubunda izlenmişken en düşük değer lityum grubunda görülmüştür. Gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde kontrol, kuersetin ve kuersetin+lityum gruplarının istatistiksel anlamlı olarak lityum grubundan daha yüksek olduğu izlenmiştir (p<0,001; p=0,014; p=0,022).

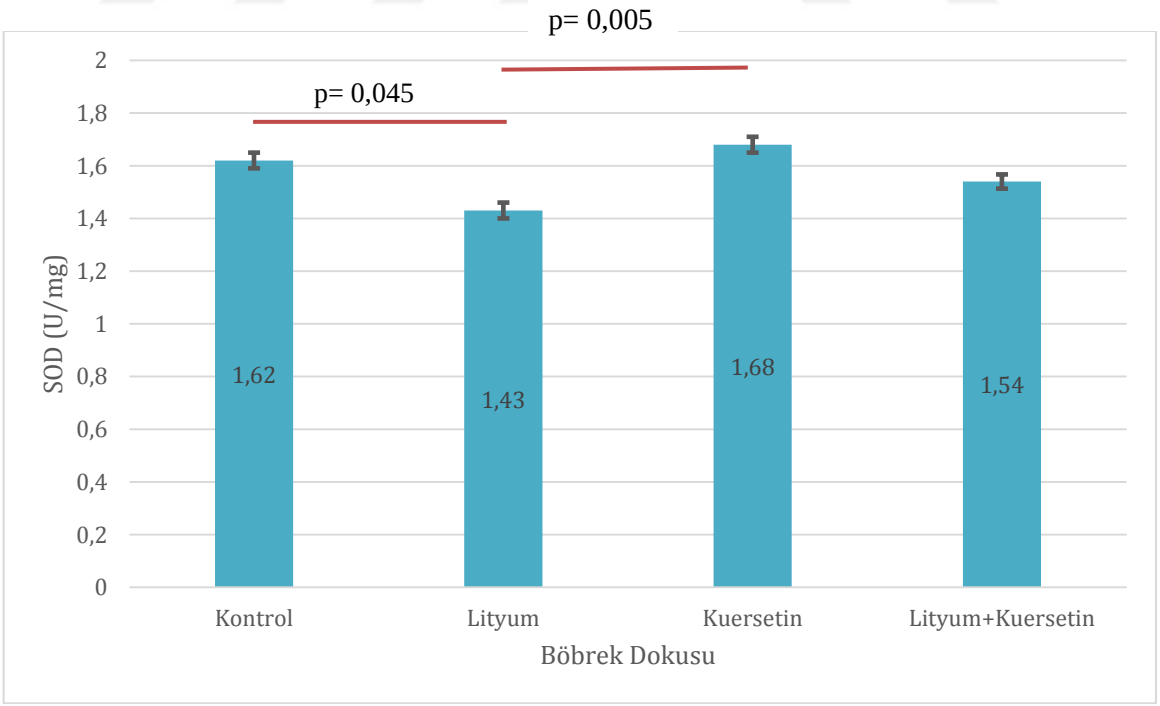
Ratların böbrek doku SOD değerleri değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık izlenmiştir (p<0,031). Gruplar değerlendirildiğinde en yüksek değerler kuersetin grubunda izlenmişken en düşük değerler lityum grubunda görülmüştür. Gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde kontrol ve kuersetin gruplarının istatistiksel anlamlı olarak lityum grubundan daha yüksek olduğu izlenmiştir (p=0,045; p=0,005).

Ratların böbrek doku MDA düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p= 0.012). Gruplar değerlendirildiğinde en yüksek değerler lityum grubunda izlenmişken en düşük değerler kuersetin grubunda görülmüştür. Gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde kuersetin ve kontrol+kuersetin gruplarında istatistiksel anlamlı olarak lityum grubundan daha düşük MDA düzeyleri izlenmiştir (p<0,001; p=0,022).

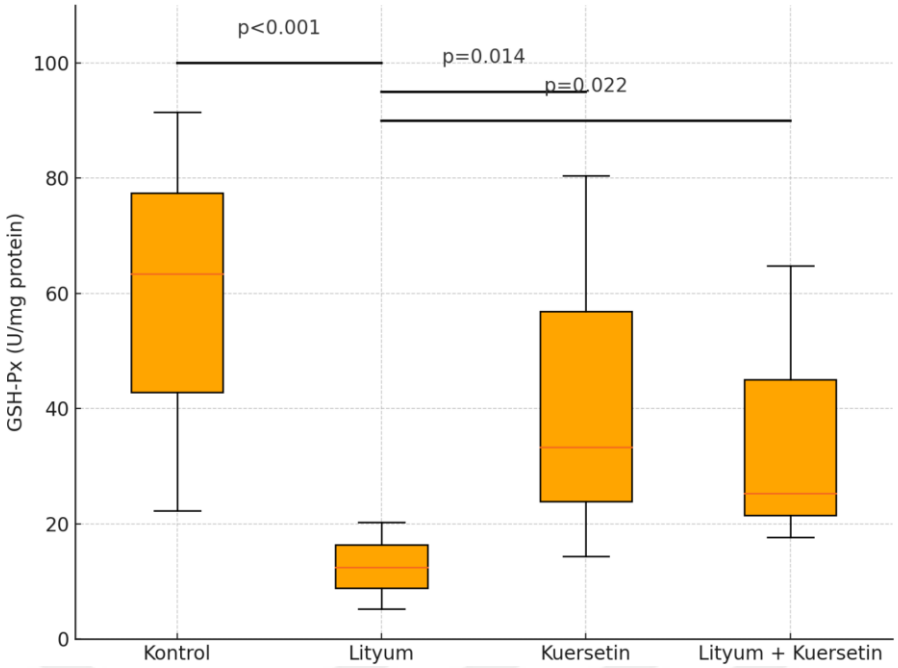
Ratların XO düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış olmasına rağmen gruplar değerlendirildiğinde en yüksek değerler lityum grubunda izlenmiştir.



Şekil 6.4. Böbrek dokusu ortalama MDA düzeyleri ve standart sapmaları



Şekil 6.5. Böbrek dokusu ortalama SOD düzeyleri ve standart sapmaları



Şekil 6.6. Böbrek dokusunda GSH-Px düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.

Veriler kutu grafiği ile gösterilmiştir. Ortanca değer kırmızı çizgi ile belirtilmiştir.

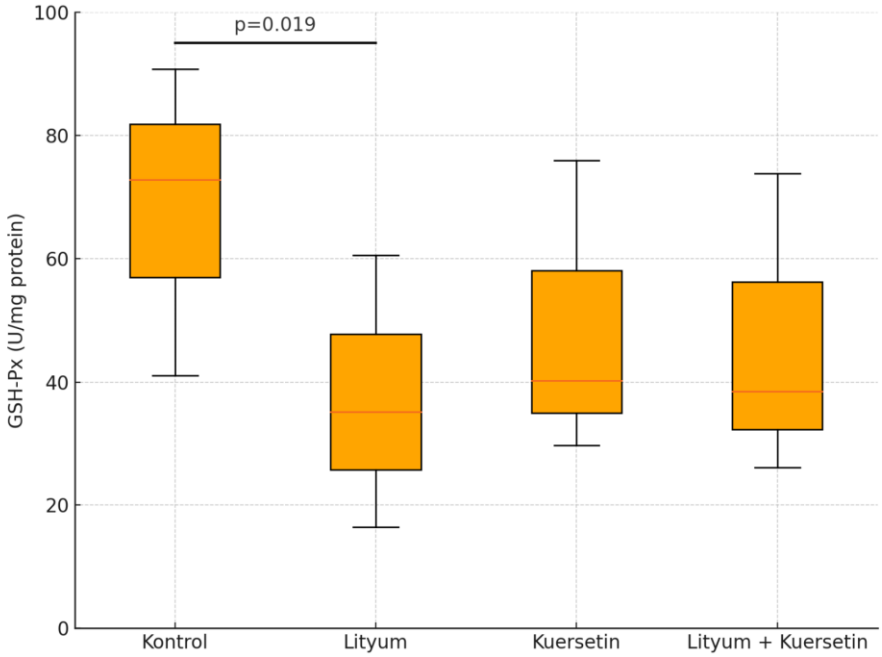
Tablo 6.4. Grupların karaciğer oksidatif stres parametreleri açısından karşılaştırılması

	Kontrol (n=8) Grup 1	Lityum (n=10) Grup 2	Kuersetin (n=10) Grup 3	Li+Ku (n=9) Grup 4	p*
SOD (U/mg) Median (min-maks) IQR	0,59 (0,54-1,17) 0,39	0,50 (0,42-0,75) 0,11	0,59 (0,49-0,69) 0,11	0,56 (0,45-0,68) 0,07	0,166
KAT(IU/mg) Median (min-maks) IQR	325,73 (298,74-624,04) 55,53	314,39 (228,36-352,71) 56,69	323,77 (172,83-362,09) 64,91	321,81 (258,08-358,96) 58,65	0,793
GSH-Px(mIU/mg) Median (min-maks) IQR	72,82 (41,03-90,77) 36,41	35,13 (16,41-60,51) 28,46	40,26 (29,74-75,89) 12,95	38,46 (26,15-73,87) 34,87	0,025 Grup1-2: p=0,019
XO (mIU/mg) Median (min-maks) IQR	1,82 (1,54-2,04) 0,27	2,02 (1,78-2,32) 0,34	1,88 (1,52-2,09) 0,20	1,84 (1,47-2,37) 0,50	0,230
MDA (nmol/mg) Median (min-maks) IQR	0,83 (0,46-2,62) 1,03	1,68 (0,69-2,36) 1,11	0,58 (0,18-2,88) 1,30	0,87 (0,65-2,49) 0,72	0,351

Karaciğer dokusundaki oksidatif stres parametreleri gruplar arasında karşılaştırıldığında SOD ve KAT aktiviteleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir (p=0,166 ve p=0,793). GSH-Px düzeyleri genel olarak anlamlı farklılık sergilemiş (p=0,025), ancak yalnızca

Lityum grubunda Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir (p=0,019).

XO ve MDA düzeyleri de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir; buna rağmen her iki parametrede de en yüksek medyan değerlerin Lityum grubunda izlenmiş olması dikkat çekicidir.



Şekil 6.7. Gruplar arası karaciğer GSH-Px düzeylerinin karşılaştırılması.
Veriler kutu grafiği ile gösterilmiştir. Ortanca değer kırmızı çizgi ile belirtilmiştir.

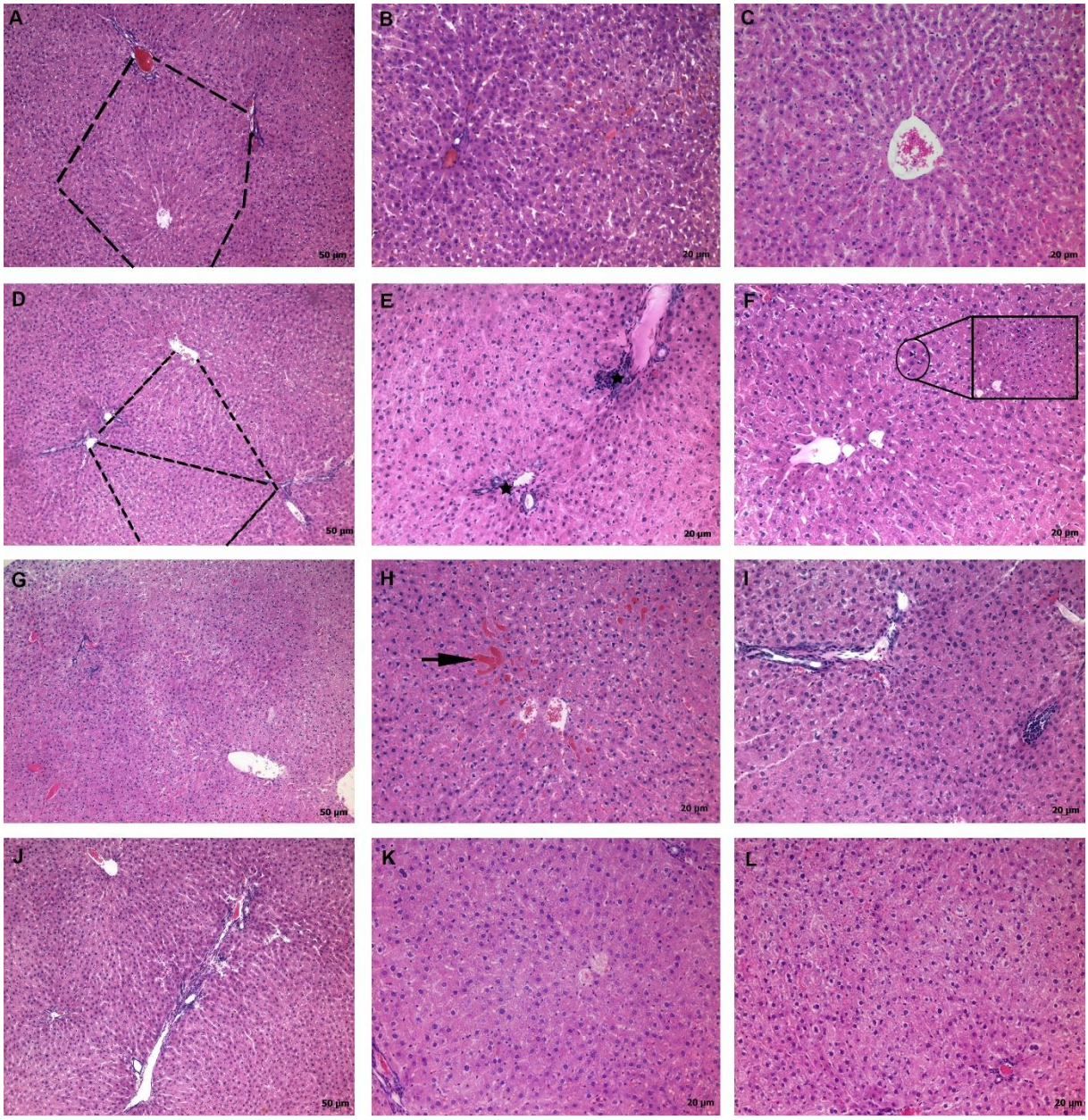
6.1. Karaciğer Dokusu Histolojik Değerlendirme

Karaciğer dokusunda hasarı belirlemek için yapılan değerlendirmede kontrol grubu normal hepatik lobüller ve portal alanlar sergilediği görüldü (Şekil 6.8. A, B, C).

Lityum karbonat (LC) grubunda hepatik asinüsün periportal ve zon 1 alanlarında fokal inflamatuar hücre infiltrasyonları izlendi fakat kuersetin ve lityum+kuersetin gruplarında hücre infiltrasyonu minimaldi veya hiç yoktu (Şekil 6.8. E).

Lityum karbonat (LC) ve lityum karbonat+kuersetin (LC+Q) grubunda hepatik asinüsün santral vene yakın zon 3 alanlarında hepatositlerde nükleer piknoz ve sitoplazmik hipereozinofili gözlendi (Şekil 6.8. F). Kontrol ve kuersetin gruplarında hepatosit kordonlarında parçalanma izlenmedi.

Kuercetin grubundaki hayvanların bazılarında sinüzoidal dilatasyon ve staz gözlendi Şekil 6.8. H).



Şekil 6.8. Karaciğer dokusu HE kesitleri.

A'da kesik çizgi ile sınırlandırılan alan klasik karaciğer lobülü, D'de kesik çizgi ile sınırlandırılan alan ile karaciğer asinüsü gösterilmekte. F'de daire ile çevrelenmiş alanda sitoplazmik hipereozinofili gösteren hepatositler izlenmekte. Yıldız: inflamatuar hücre infiltrasyonu, ok: sinüzoidal dilatasyon ve staz. A (x10), B ve C (x20), HE: Kontrol. D (x10), E ve F (x20), HE: Lityum karbonat (LC). G(x10), H ve J (x20), HE: Kuersetin (Q). J(x10), K ve L (x20), HE: Lityum karbonat + Kuersetin (LC+Q).

6.2. Böbrek Dokusu Histolojik Değerlendirme

Tablo 6.5. Grupların böbrek dokusu hasar parametreleri açısından karşılaştırılması

	Kontrol (n=8)	Lityum (n=10)	Kuersetin (n=10)	Li+Ku (n=9)	p
Glomeruler atrofi % Ortalama ± SD (min-maks) Skor	22,01±11,04 (6,18-40,94) 2	25±9,97 (14-43,66) 2	16,35±5,45 (10-22,66) 2	21,81±11,31 (5,71-39,66) 2	0,429
Hiyalen silendir % Median (min-maks) Skor	0,25 (0-0,6) 0	1,3 (0,4-1,4) 1	0,31 (0-0,6) 0	0 (0-0,02) 0	<0,001 Grup1-2: p<0,001 Grup2-3: p<0,001 Grup2-4: p<0,001
Hiperemi % Ortalama ± SD (min-maks) Skor	4,0±2,13 (2,04-6,8) 2	3,02±1,2 (1,8-5,6) 1	4,29±2,13 (2-8,8) 1	3,48±1,17 (1,8-8,8) 1	0,257
İnflamatuar hücre infiltrasyonu % Ortalama ± SD (min-maks) Skor	0 (0-0) 0	0,05±0,07 (0-0,2) 0	0,02±0,07 (0-0,2) 0	0,07±0,10 (0-0,3) 0	0,054
Apoptoz/nekroz % Ortalama ± SD (min-maks) Skor	1,85±1,22 (1-3,6) 1	2,66± 0,51 (1,8-3,4) 1	1,54±0,27 (1,2-2) 1	1,4±0,4 (1-2,2) 1	0,008 Grup2-3: p=0,042 Grup2-4: p=0,017

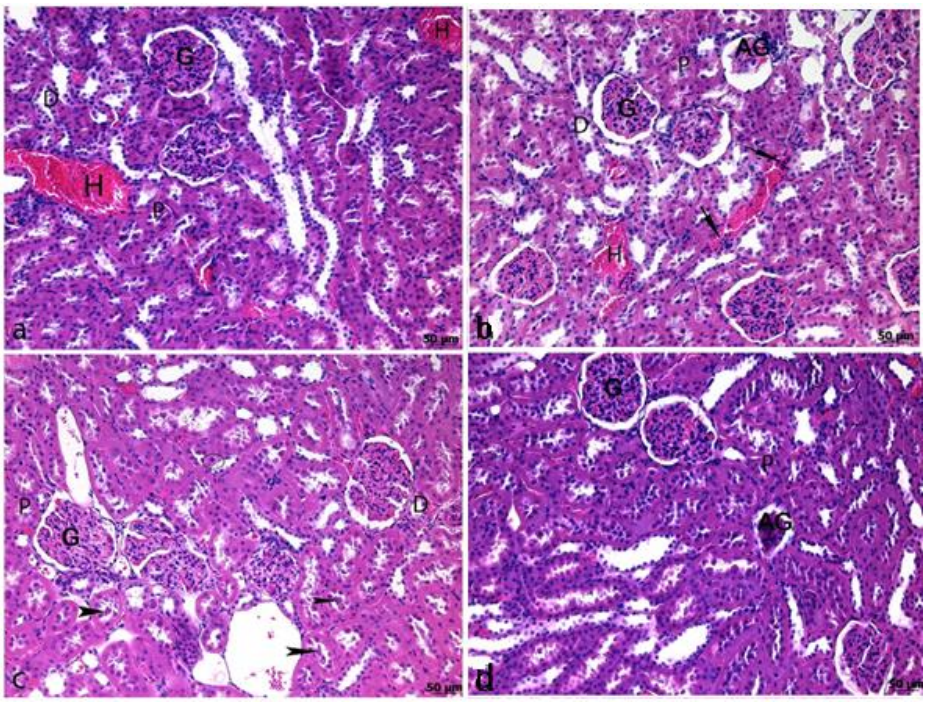
Böbrek dokusu hasar parametreleri (glomerüler atrofi, hiyalen silendir, interstisyel nefrit, hiperemi, apoptozis/ nekroz) açısından değerlendirildiğinde glomerüler atrofi açısından tutulum oranı lityum karbonat grubunda kontrol ve diğer deney gruplarından yüksek bulunmuştur fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildir (p:0,429).

Hiyalen silendir tutulum oranı lityum karbonat grubunda yüksektir ve bu yükseklik kontrol ve deney gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,001).

Damar duvarı çevresi inflamatuar hücre infiltrasyonu tutulum oranı deney gruplarında kontrol grubuna göre hafif yüksek gözlenmiştir fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p:0,054).

Hiperemi için tutulum oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (0,257).

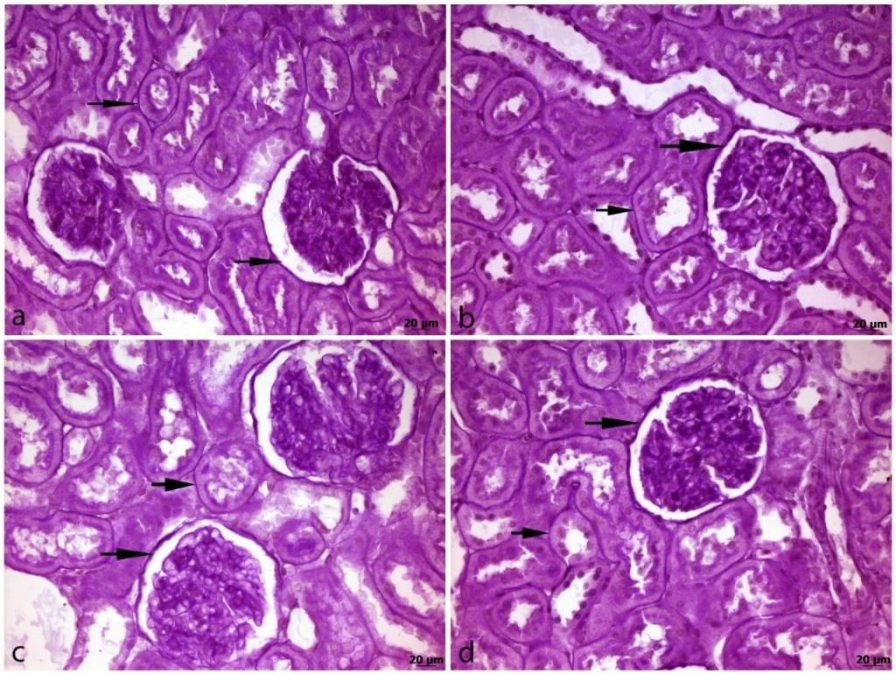
Apoptozis ve nekrozis tutulum oranı kontrol ve deney gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,008). Lityum grubu tutulum oranı kuersetin ve kuersetin+lityum gruplarından anlamlı ölçüde yüksek izlenmiştir (sırasıyla p=0,042, p=0,017).



Şekil 6.9. Böbrek dokusu HE kesitleri.

a: Kontrol, b: Lityum karbonat, c: Kuersetin, d: Lityum karbonat+Kuercetin. G: glomerül, AG: atrofik glomerül, H: hiperemi, P: proksimal tübül, D: distal tübül, ok başları: hyalen silendir, oklar: inflamatuar hücre infiltrasyonu, daireler: tübüler epitelinde düzensizlik, dökülme ve apoptotik görünüm. x20 HE.

Böbrek dokusunda PAS boyalı preperatlarda yapılan bazal membran değerlendirmesinde tüm gruplarda Bowman kapsülü ve tübül epiteli bazal membranı normal kalınlıkta izlenmiştir (Şekil 6.10.)



Şekil 6.10. Böbrek dokusu PAS kesitleri.

a: Kontrol, b: Lityum karbonat, c: Kuersetin, d: Lityum karbonat+ Kuersetin. Bazal membran PAS ile boyalı preperatlarda daha koyu boyanmış alanlar olarak görülmektedir (oklar). X40, PAS.

7. TARTIŞMA

Lityum, fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle geniş bir kullanım alanına sahiptir ve tarihsel olarak da yıllarca ilaç sanayinde önemli bir yerde bulunmuştur. Günümüzde ise özellikle enerji depolama teknolojilerinde, özellikle de lityum iyon batarya üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Elektrikli ve hibrit araçların artan kullanımı lityuma olan talebi önemli ölçüde artırmıştır. Psikiyatri alanında lityum, özellikle bipolar bozukluk tedavisinde etkin bir duygu durum dengeleyici olarak kabul edilmektedir. Manik ve depresif semptomların kontrol altına alınmasında etkili olduğu gösterilmiş olup altın standart tedavi yaklaşımı olarak değerlendirilmektedir (14, 15).

Lityum, bipolar bozukluk tedavisinde yaygın olarak kullanılan ve duygu durum dengeleyici etkisi kanıtlanmış bir ajandır. Ancak, dar terapötik aralığı nedeniyle uzun süreli kullanımı düzenli klinik izlem gerektirir. Başlıca yan etkileri böbrek, endokrin, nörolojik ve kardiyovasküler sistemleri etkileyebilir. Böbrek fonksiyonlarında azalma, idrarı konsantre etme yetisinin bozulması ve kronik nefropati gelişebilir (97). Lityumun karaciğer üzerinde belirgin bir hepatotoksisiteye neden olma riski düşük olmakla birlikte bazı olgularda karaciğer enzim düzeylerinde hafif artış gözlenebilmektedir. Hepatotoksik potansiyele sahip valproat ve karbamazepin gibi ajanlarla birlikte kullanımı durumunda, karaciğer fonksiyonlarının düzenli olarak izlenmesi klinik açıdan önem arz etmektedir(98).

Kuersetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon), flavonoller grubuna ait güçlü bir doğal antioksidandır ve geniş farmakolojik etkileri nedeniyle bilimsel araştırmalarda önemli bir yer tutmaktadır. Pek çok toksik ilaç oksidatif stres, inflamasyon ve hücresel fonksiyon bozuklukları yoluyla çeşitli advers etkilere neden olmaktadır. Kuersetin antioksidan, antiinflamatuvar ve hücre koruyucu özellikleri sayesinde bu zararlı süreçleri modüle etme potansiyeline sahip olup toksik ajanların yol açtığı hücresel hasarı azaltmada umut verici bir bileşik olarak değerlendirilmektedir (45).

Kuersetin, böbrek ve karaciğer üzerinde koruyucu etkiler gösteren güçlü bir flavonoiddir. Yapılan çalışmalar, farklı toksik ajanlara maruz bırakılan rat modellerinde, kuersetin uygulamasının böbrek fonksiyonlarını iyileştirdiğini, serum kreatinin ve üre düzeylerini düşürdüğünü ortaya koymuştur. Karaciğer üzerinde ise oksidatif stresin azalmasına, lipid peroksidasyonunun önlenmesine ve enzim seviyelerinin düzenlenmesine katkı sağladığı gösterilmiştir (58, 59, 99). Kuersetinin, bu koruyucu etkilerini antioksidan savunma

mekanizmalarını güçlendirerek ve inflamasyonu baskılayarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir.

Preklinik çalışmalar, kuersetinin farklı akut böbrek hasarı (AKI) modellerinde belirgin renoprotektif etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. İskemi-reperfüzyon, lipopolisakkarit (LPS), gentamisin ve cisplatin gibi çeşitli nefrotoksik ajanlarla oluşturulan deneysel hayvan modellerinde, kuersetin uygulaması renal fonksiyon belirteçleri üzerinde olumlu etkiler sağlamıştır. Özellikle serum BUN ve kreatinin düzeylerinde anlamlı azalmalar gözlenmiş, bu durum kuersetinin glomerüler filtrasyonun korunmasına katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (56, 58). Ayrıca, kuersetin güçlü antioksidan özellikleri sayesinde yapılan çalışmalarda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) seviyelerini artırmış, buna karşılık lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeylerini düşürmüştür. Bu etkiler, böbrek dokusundaki oksidatif hasarın azaltılmasında kuersetinin rolünü desteklemektedir. Bununla birlikte, proinflamatuar sitokin düzeylerinin (TNF-α, IL-1β, IL-6) kuersetin tedavisiyle gerilediği, bu etkinin özellikle NF-κB ve TLR4 gibi sinyal yolaklarının inhibisyonu yoluyla gerçekleştiği bildirilmiştir (62). Histopatolojik değerlendirmelerde, kuersetin tedavisiyle renal tübül nekrozu, inflamatuar hücre infiltrasyonu ve apoptoz oranlarında azalma kaydedilmiştir. Böbrek dokusunda yapısal bütünlüğün korunması ve doku morfolojisinde iyileşme sağlanması, kuersetinin hücresel düzeyde koruyucu etkilerini desteklemektedir. Daha düşük dozlarda (20–50 mg/kg) etkili olduğu gözlenen kuersetinin, uygulama yoluna bağlı olarak benzer koruyucu etkiler gösterdiği rapor edilmiştir (58). Mevcut preklinik veriler, kuersetinin akut böbrek hasarında antioksidan, antiinflamatuar ve antiapoptotik etkileriyle potansiyel bir renoprotektif ajan olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular, kuersetinin lityum karbonat gibi nefrotoksik ajanlarla oluşturulan modellerde de doku koruyucu etkiler gösterebileceğini destekler niteliktedir.

Bu çalışmada, deneysel rat modelinde, lityum ile indüklenen toksisiteye karşı kuersetinin potansiyel koruyucu etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik düzeyde araştırılmıştır. Çalışmada, oksidatif stresin değerlendirilmesi için malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), ksantin oksidaz (XO) ve glutatyon peroksidaz (GPx) düzeyleri analiz edilmiştir. Ayrıca, lityumun böbrek ve karaciğer fonksiyonları üzerindeki olası toksik etkilerini değerlendirmek amacıyla serum kreatinin ve BUN düzeyleri ile AST ve ALT enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Biyokimyasal analizlere ek olarak lityumun organ düzeyindeki morfolojik etkilerini ortaya koymak için böbrek ve karaciğer dokularında histopatolojik incelemeler gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, lityumun neden olduğu oksidatif stres ve doku hasarı üzerinde

kuersetinin koruyucu etkilerinin araştırılması hedeflenmiş; bu kapsamda kuersetinin, lityuma bağlı biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri azaltıcı potansiyeli değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda, böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacıyla biyokimyasal parametrelerden kan üre nitrojeni (BUN) ve serum kreatinin düzeyleri ölçülmüştür. Elde edilen bulgulara göre, lityum verilen grupta BUN düzeyleri, kontrol ve kuersetin gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (p <0.05). Bu durum, lityumun böbrek dokusu üzerinde oluşturduğu olası nefrotoksik etkileri desteklemektedir. Serum kreatinin düzeyleri de lityum grubunda diğer gruplardan daha yüksek saptanmış olmakla birlikte istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (p>0.05). Ahmad ve ark. tarafından oluşturulan rat modelinde, lityum uygulamasının kan biyokimyası ve oksidatif stres belirteçleri üzerindeki etkileri incelendiği bir çalışmada bizim çalışmamızla uyumlu olarak lityumun üre seviyelerini belirgin şekilde artırdığı gösterilmiştir (100).

Çalışmamızda, karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla serum alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri analiz edilmiştir. Serum ALT ve AST düzeyleri, tüm çalışma gruplarında benzer düzeylerde saptanmış olup, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir (ALT için p = 0,279; AST için p = 0,665). Bununla birlikte lityum verilen grupta, kontrol grubuna kıyasla ALT düzeylerinde artış eğilimi gözlenmiş, ancak bu artış istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır. Lityum karbonatın neden olduğu hepatotoksisite ve oksidatif stres üzerine yapılan Anouar ve ark. tarafından yürütülen bir rat modelinde Opuntia ficus-indica (L.) Mill. cladode ekstraktının (CCE) koruyucu etkileri araştırılmıştır. Lityum uygulamasının ALT, AST, ALP ve LDH seviyelerinde belirgin bir artışa neden olduğu, bunun da hepatosit hasarına işaret ettiği tespit edilmiştir. Diğer yandan, CCE uygulamasının bu biyokimyasal bozulmaları önemli ölçüde düzelttiği gösterilmiştir (101). Bununla birlikte, Olayinka ve arkadaşlarının melphalan kaynaklı hepatotoksisite modelinde de serum ALT ve AST düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı bildirilmiş; kuersetin tedavisi ile bu artışların önlendiği ve karaciğer fonksiyonlarının korunduğu belirtilmiştir. Olayinka ve ark.'nın bulguları, bizim çalışmamızda kuersetinin ALT ve AST düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş sağlamaması ile kısmen farklılık göstermektedir(87).

Çalışmamızda, serum düzeyinde oksidatif stres mekanizmalarının değerlendirilmesi amacıyla malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri analiz edilmiştir. Elde edilen veriler ışığında, MDA düzeyleri,

gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir (p = 0,033). Lityum uygulanan grupta serum MDA düzeyleri, kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Öte yandan, kuersetin verilen grupta MDA düzeylerinin hem lityum grubuna hem de lityum + kuersetin grubuna kıyasla anlamlı şekilde daha düşük olduğu belirlenmiştir (p = 0,015 ve p = 0,005). Bu durum, kuersetinin serbest radikal oluşumunu engelleyerek lipid peroksidasyonunu azalttığını ve hücre membranlarını oksidatif hasardan koruduğunu desteklemektedir. Serum GSH-Px düzeyleri incelendiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p= 0,028). Özellikle lityum grubunda GSH-Px düzeylerinin, lityum + kuersetin grubuna göre daha düşük olduğu görülmüş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p = 0,018). Serum SOD ve CAT düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (SOD için p = 0,081; CAT için p = 0,202). Chang ve arkadaşlarının adeninle oluşturduğu kronik böbrek yetmezliği modelinde kuersetin tedavisinin benzer şekilde serum MDA düzeylerini azalttığını göstermiştir. Ancak bizim çalışmamızdan farklı olarak, bu çalışmada kuersetin SOD aktivitesini de artırmıştır ve serum GSH-Px düzeylerinde anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (102).

Çalışmamızda, böbrek dokularında oksidatif stresin değerlendirilmesi amacıyla MDA, SOD, CAT, XO ve GSH-Px düzeyleri analiz edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, MDA düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir (p = 0,025). Lityum verilen grupta MDA düzeyleri, kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde artış göstermiştir. GSH-Px düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, lityum grubunda anlamlı bir azalma saptanmıştır (p = 0,031). Kuersetin uygulanan grupta ise GSH-Px düzeylerinde artış eğilimi gözlenmiş, ancak bu artış istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. SOD düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, lityum grubunda anlamlı bir azalma saptanmıştır, kuersetin uygulanan grupta ise SOD düzeylerinde artış eğilimi gözlenmiştir. Öte yandan katalaz ve ksantin oksidaz düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ancak katalaz düzeylerinin kuersetin grubunda hafifçe arttığı, ksantin oksidaz düzeylerinin ise lityum grubunda en yüksek ortalama değere ulaştığı belirlenmiştir. Alamri ve ark. tarafından yürütülen rat modelinde Lityum karbonatın neden olduğu nefrotoksisite ve oksidatif stres üzerine yapılan bu çalışmada, biochanin A (BCA) adlı doğal bir izoflavonoidin koruyucu ve tedavi edici etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızda, lityum karbonat uygulanan grupta böbrek dokusunda MDA düzeylerindeki anlamlı bir artış Alamri ve arkadaşlarının benzer modelde rapor ettiği belirgin MDA yükselişi ile örtüşmektedir. Ayrıca, kuersetin tedavisinin MDA seviyelerinde sağladığı anlamlı azalma, söz konusu çalışmada Biochanin A uygulanan grupta gözlenen düşüşle paralellik göstermektedir. Bununla birlikte, Alamri ve ark.'nın çalışmasında lityum grubundaki

SOD aktivitesinde, bizim bulgularımıza kıyasla daha belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bildirilmiş; Biochanin A tedavisi sonrasında ise SOD seviyelerinde belirgin iyileşme sağlandığı rapor edilmiştir. Katalaz aktivitesine yönelik değerlendirmede ise, çalışmamızda gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamışken (p = 0,793), lityum uygulanan ratlarda Alamri ve ark. tarafından katalaz seviyelerinde anlamlı bir düşüş ve antioksidan tedavi sonrası toparlanma bildirilmiştir. Bulgular arasındaki farklılıkların, kullanılan antioksidan ajanların (kuersetin ve Biochanin A), uygulama süresi, dozaj protokolleri ve metodolojik yaklaşımlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir(83). Oktem ve ark. tarafından yapılan ve lityum kaynaklı böbrek hasarında kafeik asit fenetil ester (CAPE) kullanımını inceleyen çalışmada da benzer şekilde lityum verilen ratlarda böbrek dokusunda malondialdehit (MDA) düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı ve SOD, CAT, GPx gibi antioksidan enzim aktivitelerinde belirgin azalma olduğu rapor edilmişti. Farklı olarak, Öktem ve arkadaşlarının çalışmasında idrar N-asetil-β-D-glukozaminidaz (NAG) aktivitesi de ölçülmüş ve lityumun proksimal tübüler hasarı artırdığı, CAPE'nin ise bu hasarı hafiflettiği gösterilmiştir (103). Toplan ve ark. tarafından yürütülen çalışmada da lityum karbonatın farklı dozlarda uygulanması sonucunda böbrek dokusunda MDA ve GSH seviyelerinde anlamlı farklılık saptanmamış; ancak SOD aktivitesinde her iki deney grubunda belirgin artış rapor edilmiştir(104).

Çalışmamızda, karaciğer dokusundaki oksidatif stresin değerlendirilmesi amacıyla MDA, SOD, CAT, XO ve GSH-Px düzeyleri analiz edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, gruplar arasında SOD, CAT, XO ve MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p > 0.05). Ancak, GSH-Px düzeyleri, kontrol grubunda lityum grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (p = 0,019). Çalışmamızda kuersetin uygulanan gruplarda, lityum grubuna kıyasla GSH-Px düzeylerinde artış eğilimi gözlenmiş, ancak bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Ayrıca, MDA düzeylerinde lityum grubunda kontrol grubuna göre artış izlenmişse de bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır, bu durum karaciğer dokusunda lityumun oksidatif stres oluşturma etkisinin sınırlı olabileceğini düşündürmektedir. Anouar ve arkadaşları tarafından yürütülen rat modelinde gerçekleştirilen bir çalışmada da lityum uygulanan grupta, çalışmamızla uyumlu olarak, glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinin anlamlı düzeyde azaldığı bildirilmiştir. Ancak söz konusu çalışmada, süperoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivitelerinde de belirgin bir azalma saptanmış olup bu bulgu çalışmamızdan farklılık göstermektedir (101). Çalışmamızda, kuersetin uygulanan gruplarda, lityum karbonatın neden olduğu karaciğer oksidatif stresine karşı GSH-Px düzeylerinde artış eğilimi gözlenmiş; ancak MDA, SOD ve CAT düzeylerinde anlamlı iyileşme sağlanamamıştır. Buna karşın, Olayinka ve arkadaşlarının

melphalan ile oluşturulan hepatotoksisite modelinde, kuersetin tedavisi sonrası MDA düzeylerinde anlamlı azalma, SOD, CAT ve GST aktivitelerinde ise anlamlı artış rapor edilmiştir. Bu farklılık, çalışmalardaki toksik ajan farklılığı (lityum karbonat vs. melphalan) ve kuersetin etki mekanizmasının, oksidatif stres şiddeti ve modeline bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini düşündürmektedir (87). Benzer şekilde, Toplan ve ark. tarafından yürütülen çalışmada da lityum karbonatın farklı dozlarda uygulanması sonucunda, karaciğer dokusunda MDA seviyelerinde anlamlı artış, GSH seviyelerinde ise belirgin azalma saptanmıştır. Özellikle karaciğer dokusunda yüksek doz lityum uygulamasında MDA düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı ve GSH düzeylerinin düştüğü belirtilmiştir, SOD aktivitesinde ise sadece yüksek doz lityum grubunda artış gözlenmiştir (104).

Çalışmamızda, lityum karbonat uygulanan grupta böbrek dokusunda belirgin histopatolojik değişiklikler saptanmıştır. Özellikle glomerüler atrofi, hiyalen silendir oluşumu, inflamatuar hücre infiltrasyonu ve apoptozis/nekroz oranlarının artışı dikkat çekmiştir. Kuersetin tedavisi, bu bulgularda iyileşme sağlamış; inflamasyon ve hücresel hasarın hafiflemesine katkıda bulunmuştur. Benzer şekilde, Alamri ve ark., lityumun böbrekte glomerüler konjesyon, Bowman boşluğu genişlemesi ve tübüler hasara yol açtığını rapor etmiş; Biochanin A uygulaması ile bu hasarın azaldığını göstermiştir. Farklı olarak, bizim çalışmamızda hiyalen silindir ve apoptozis ön planda iken, Alamri ve ark.'da tübüler vakuolizasyon ve epitel kaybı belirgindir (83). Benzer şekilde, Ossani ve ark. çalışmasında, 1 ve 3 aylık lityum tedavisi sonrası Wistar ratların böbrek dokusunda lityumun uzun süreli kullanımına bağlı olarak böbrek dokusunda glomerüler yapı bozulmaları, tubüler dejenerasyon ve inflamatuar hücre infiltrasyonunun arttığı bildirilmiştir (105). Toplan ve ark. çalışmasında da lityum karbonat uygulanan ratların böbrek dokularında mezangial matriks artışı, glomerüler ve tübüler yapılarında dejenerasyonlar rapor edilmiştir. Ayrıca, lityumun dozuna bağlı olarak histopatolojik hasarın arttığı belirtilmiştir. Bu bulgular, bizim çalışmamızdaki glomerüler yapı bozulmaları ve hücresel hasar bulgularıyla uyumludur (104).

Çalışmamızda, karaciğer dokusunun histopatolojik değerlendirilmesinde, lityum karbonat grubunda hepatik asinüsün periportal ve zon 1 alanlarında fokal inflamatuar hücre infiltrasyonları, zon 3 alanlarında ise hepatositlerde nükleer piknoz ve sitoplazmik hipereozinofili gözlenmiştir. Buna karşın, kuersetin ve lityum + kuersetin uygulanan gruplarda bu bulguların minimal düzeyde olduğu veya hiç bulunmadığı izlenmiştir. Benzer şekilde, Olayinka ve arkadaşlarının melphalan ile oluşturdukları hepatotoksisite modelinde de melphalan verilen grupta karaciğer dokusunda belirgin hücresel hasar gözlemlenmiştir.

Spesifik olarak, hepatositlerde yaygın nekroz, sitoplazmik vakuolizasyon, inflamatuar hücre infiltrasyonu, sinüzoidal konjesyon ve lobüler yapı kaybı rapor edilmiştir. Kuersetin uygulaması ise bu histopatolojik hasarları belirgin şekilde azaltmış; hepatosit morfolojisinin korunmasına, inflamasyonun ve nekrozun azalmasına katkı sağlamıştır (87). Benzer şekilde, Anouar ve arkadaşları, lityum karbonat ile oluşturdukları hepatotoksisite modelinde sinüzoidal dilatasyon, santral ven konjesyonu, hepatosit vakuolizasyonu ve inflamatuar hücre infiltrasyonu rapor etmişlerdir. CCE tedavisiyle bu histolojik hasarın anlamlı ölçüde azaldığı belirtilmiştir. Ancak, iki çalışma arasında bazı farklılıklar mevcuttur. Anouar ve ark. çalışmasında sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon daha belirgin iken, bizim çalışmamızda nükleer piknoz ve sitoplazmik hipereozinofili ön plandadır (101). Toplan ve ark. tarafından yapılan çalışmada da benzer şekilde hepatik kordlarda düzensizlik, hepatositlerde vakuolizasyon ve kollajen birikimi rapor edilmiştir. Ayrıca, Sirius Red boyama ile fibrozis skorlarının arttığı gösterilmiştir. Bulgular arasındaki benzerlikler, lityum karbonatın hepatotoksik etkilerinin doz bağımlı geliştiğini ve oksidatif stres ile inflamatuar yanıtın bu süreçte rol aldığını düşündürmektedir (104).

Kuersetinin akut böbrek hasarı (ABH) üzerindeki reno-protektif etkilerinin değerlendirildiği Yi-Fan Zeng ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir meta-analizde 19 farklı hayvan çalışmasını incelenerek kuersetinin böbrek fonksiyonlarını koruyucu etkileri istatistiksel olarak değerlendirmiştir. Meta-analizde, kuersetinin kan üre nitrojeni (BUN) ve serum kreatinin (sCr) seviyelerini anlamlı şekilde düşürdüğü gösterilmiştir. Ayrıca malondialdehit seviyelerinin azaldığı, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon seviyelerinin arttığı belirlenmiştir. Meta-analiz verilerinde en belirgin değişimlerin BUN azalması, MDA düşüşü ve SOD artışı gibi parametrelerde ortaya çıktığı görülmektedir. Bu bulgular, çalışmamızdaki eğilimle yüksek oranda örtüşmektedir. Histopatolojik olarak incelendiğinde, kuersetin uygulanan hayvan gruplarında böbrek dokusunda inflamatuar hücre infiltrasyonunun azaldığı, glomerüler yapıların daha iyi korunduğu ve tübüler hasarın hafiflediği gözlemlenmiştir. Meta-analiz sonuçları, kuersetinin farklı akut böbrek hasarı modellerinde (ilaç kaynaklı, iskemi/reperfüzyon ile indüklenen modeller) benzer koruyucu etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur (106).

Yakut ve ark. tarafından yapılan çalışmada, lityum kaynaklı nefrojenik diabetes insipidus modelinde, vitamin C ve flavonolignan yapısında bir bileşik olan silymarinin böbrek hasarı üzerine etkisi araştırılmış ve oksidatif stres, AQP2 ekspresyonu ve histopatolojik değişiklikler değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, lityum uygulaması sonrası MDA düzeyinin anlamlı olarak arttığı, GSH, SOD ve total antioksidan düzeylerinin ise azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca AQP2

ekspresyonu baskılanmış, böbrek dokusunda belirgin hidropik dejenerasyon, vakuolizasyon, bazal membran kalınlaşması ve interstisyel fibrozis gözlenmiştir. Silymarin tedavisi bu parametrelerde anlamlı iyileşme sağlarken, buna karşın vitamin C tedavisinin özellikle AQP2 ekspresyonu ve doku hasarı üzerinde sınırlı etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde, çalışmamızda da lityum uygulanan ratlarda hem serum hem de böbrek dokusunda oksidatif stres göstergelerinde anlamlı değişiklikler saptanmıştır. Serum MDA düzeyleri ve böbrek dokusu MDA düzeyleri lityum grubunda kontrol ve kuersetin gruplarına kıyasla yüksek bulunmuştur. GSH-Px ve SOD gibi antioksidan enzim düzeyleri de lityum grubunda anlamlı şekilde düşük, kuersetin ve kuersetin+lityum gruplarında ise belirgin şekilde yüksek bulunmuştur. Histopatolojik olarak değerlendirildiğinde ise Yakut ve ark.'nın çalışmasında lityuma bağlı tübüler ve interstisyel düzeyde daha kapsamlı yapısal hasarların ortaya çıktığı görülmüştür (107).

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Lityum karbonat, bipolar bozukluk tedavisinde etkili bir ajan olmasına rağmen, uzun dönem kullanımı başta böbrek ve karaciğer olmak üzere çeşitli organ sistemlerinde toksisiteye neden olabilmektedir. Bu çalışmada, deneysel rat modelinde lityum karbonatın neden olduğu olası böbrek ve karaciğer toksisiteleri biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerle değerlendirilmiş; kuersetinin olası koruyucu etkileri araştırılmıştır.

Böbrek dokusu üzerinde elde edilen bulgular, lityum karbonat uygulanan grupta belirgin nefrotoksisite geliştiğini göstermektedir. Serum BUN düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmiş olup, serum kreatinin düzeylerinde de artış eğilimi izlenmiştir. Bununla birlikte, kreatinin düzeylerindeki farklılık istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Oksidatif stres parametreleri değerlendirildiğinde, böbrek dokusunda MDA düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı ve bu durumun artmış lipid peroksidasyonunu yansıttığı düşünülmektedir. GSH-Px düzeylerinde ise anlamlı bir azalma saptanmış, SOD ve CAT düzeylerinde ise gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir. 2. grup ile 4. grup karşılaştırıldığında, özellikle GSH-Px aktivitesindeki anlamlı artış ve MDA düzeylerindeki belirgin azalma, kuersetinin lityumun indüklediği oksidatif stres üzerinde koruyucu bir etki oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular, kuersetinin antioksidan savunma mekanizmalarını aktive ederek oksidatif dengeyi yeniden sağladığını, aynı zamanda lipid peroksidasyonunu azaltarak hücresel düzeydeki yapısal hasarı hafiflettiğini düşündürmektedir. Histopatolojik değerlendirme sonucunda, lityum karbonat verilen grupta glomerüler atrofi, tübüler dejenerasyon, hiyalen silindir oluşumu ve inflamatuar hücre infiltrasyonu gözlemlenmiştir. Kuersetin uygulaması, bu parametrelerde kısmi iyileşme sağlamış; özellikle MDA düzeylerinde anlamlı düşüş ve histopatolojik hasar skorlarında azalma elde edilmiştir. Ancak, antioksidan enzim aktivitelerinde sağlanan iyileşme, tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır.

Karaciğer dokusunda ise lityum karbonatın neden olduğu toksisite, böbrek dokusuna kıyasla daha sınırlı düzeyde gözlenmiştir. Serum ALT ve AST düzeylerinde lityum uygulanan grupta artış eğilimi izlenmiş; ancak bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Oksidatif stres parametrelerine bakıldığında, karaciğer dokusunda MDA düzeylerinde lityum grubunda artış gözlenmişse de bu farklılık istatistiksel anlamlılık göstermemiştir. GSH-Px düzeylerinde ise kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma saptanmıştır. SOD ve CAT düzeylerinde ise gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. Histopatolojik incelemede, lityum karbonat verilen grupta hepatositlerde nükleer piknoz, sitoplazmik hipereozinofili ve

fokal inflamatuar hücre infiltrasyonları belirginleşmiş; buna karşın kuersetin uygulaması, bu histopatolojik bulguları belirgin şekilde hafifletmiştir. Kuersetin verilen gruplarda toplam karaciğer hasar skorları daha düşük saptanmıştır. Ancak biyokimyasal parametreler açısından kuersetin uygulamasının tüm oksidatif stres göstergelerinde anlamlı iyileşme sağladığı söylenemez.

Genel olarak, lityum karbonat uygulaması, böbrek dokusunda belirgin nefrotoksisiteye ve oksidatif stres artışına yol açarken, karaciğer dokusunda daha sınırlı düzeyde hepatotoksisite geliştiği gözlemlenmiştir. Kuersetin, her iki organ üzerinde de yapısal hasarı azaltıcı ve oksidatif stres belirteçlerinde iyileştirici potansiyele sahip olmakla birlikte, etkileri doz ve uygulama süresine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.

Bu bulgular doğrultusunda, lityum karbonat kullanımına bağlı gelişebilecek organ toksisitelerine karşı kuersetin gibi doğal antioksidan ajanların koruyucu veya destekleyici tedavi stratejileri içerisinde değerlendirilmesi önerilmektedir. Bununla birlikte, kuersetinin optimal dozlarının belirlenmesi, uygulama sürelerinin optimize edilmesi ve farmakokinetik özelliklerinin daha ayrıntılı olarak araştırılması gerekmektedir. Ayrıca, bu preklinik verilerin klinik çalışmalara taşınması ve insan modellerinde doğrulanması, lityum tedavisi gören hastalarda gelişebilecek uzun dönem yan etkilerin önlenmesi açısından önem taşımaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda, yalnızca oksidatif stres göstergeleri değil, aynı zamanda inflamasyon, apoptoz ve fibrozis gibi patolojik süreçlerin de moleküler düzeyde değerlendirilmesi önerilmektedir.

9. KAYNAKLAR

1. Rissardo JP, Caprara ALF, Durante Í, Rauber A. Lithium-associated movement disorder: A literature review. Brain Circ. 2022;8(2):76-86.

2. Ünal İ. Lityum Metali Kullanım Alanları Ve Geleceği2015.

3. Malhi GS, Tanious M, Das P, Coulston CM, Berk M. Potential mechanisms of action of lithium in bipolar disorder. Current understanding. CNS Drugs. 2013;27(2):135-53.

4. Manji HK, Lenox RH. Signaling: cellular insights into the pathophysiology of bipolar disorder. Biol Psychiatry. 2000;48(6):518-30.

5. Ghasemi M, Dehpour AR. The NMDA receptor/nitric oxide pathway: a target for the therapeutic and toxic effects of lithium. Trends Pharmacol Sci. 2011;32(7):420-34.

6. Petty F. Plasma concentrations of gamma-aminobutyric acid (GABA) and mood disorders: a blood test for manic depressive disease? Clin Chem. 1994;40(2):296-302.

7. Chatterjee D, Beaulieu JM. Inhibition of glycogen synthase kinase 3 by lithium, a mechanism in search of specificity. Front Mol Neurosci. 2022;15:1028963.

8. Ghanaatfar F, Ghanaatfar A, Isapour P, Farokhi N, Bozorgniahosseini S, Javadi M, et al. Is lithium neuroprotective? An updated mechanistic illustrated review. Fundam Clin Pharmacol. 2023;37(1):4-30.

9. Ommati MM, Niknahad H, Farshad O, Azarpira N, Heidari R. In Vitro and In Vivo Evidence on the Role of Mitochondrial Impairment as a Mechanism of Lithium-Induced Nephrotoxicity. Biol Trace Elem Res. 2021;199(5):1908-18.

10. Samareh Fekri H, Pishnamaz SF, Jafari E, Ansari M, Doostmohammadi M, Mohajeri M, et al. Investigating the protective role of metformin on lithium-induced hypothyroidism. J Biochem Mol Toxicol. 2022;36(3):e22977.

11. Ertürk MA, Yalçın C. Geleceğin Enerji Kaynağı: Lityum.

12. Ulusoy M. Geleceğin petrolü lityum mu. Metalurji. 2016;178:45-8.

13. Shorter E. The history of lithium therapy. Bipolar Disord. 2009;11 Suppl 2(Suppl 2):4-9.

14. Fountoulakis KN, Tohen M, Zarate CA, Jr. Lithium treatment of Bipolar disorder in adults: A systematic review of randomized trials and meta-analyses. Eur Neuropsychopharmacol. 2022;54:100-15.

15. McIntyre RS, Berk M, Brietzke E, Goldstein BI, López-Jaramillo C, Kessing LV, et al. Bipolar disorders. Lancet. 2020;396(10265):1841-56.

16. Finley PR. Drug Interactions with Lithium: An Update. Clin Pharmacokinet. 2016;55(8):925-41.

17. Wen J, Sawmiller D, Wheeldon B, Tan J. A Review for Lithium: Pharmacokinetics, Drug Design, and Toxicity. CNS Neurol Disord Drug Targets. 2019;18(10):769-78.

18. Murphy N, Redahan L, Lally J. Management of lithium intoxication. BJPsych Advances. 2023;29(2):82-91.

19. Pagani R, Gasparini A, Ielmini M, Caselli I, Poloni N, Ferrari M, et al. Twenty years of Lithium pharmacogenetics: A systematic review. Psychiatry Res. 2019;278:42-50.

20. Ferensztajn-Rochowiak E, Rybakowski JK. Long-Term Lithium Therapy: Side Effects and Interactions. Pharmaceuticals (Basel). 2023;16(1).

21. Allagui MS, Hfaiedh N, Croute F, Guermazi F, Vincent C, Soleilhavoup JP, et al. [Side effects of low serum lithium concentrations on renal, thyroid, and sexual functions in male and female rats]. C R Biol. 2005;328(10-11):900-11.

22. Lazarus JH. Lithium and thyroid. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2009;23(6):723-33.

23. Davis J, Desmond M, Berk M. Lithium and nephrotoxicity: Unravelling the complex pathophysiological threads of the lightest metal. Nephrology (Carlton). 2018;23(10):897-903.

24. Vandermeulen L, Van Melkebeke L, Sienaert P. Lithium-associated hypercalcemia and hyperparathyroidism: A systematic review and meta-analysis. World J Biol Psychiatry. 2024;25(8):417-29.

25. Gong R, Wang P, Dworkin L. What we need to know about the effect of lithium on the kidney. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 2016;311(6):F1168-F71.

26. Shine B, McKnight RF, Leaver L, Geddes JR. Long-term effects of lithium on renal, thyroid, and parathyroid function: a retrospective analysis of laboratory data. The Lancet. 2015;386(9992):461-8.

27. Klein M, Naffaa V, Chevillard L, Risède P, Saubaméa B, Adle-Biassette H, et al. Does lithium poisoning induce brain injuries?—A histopathological rat study. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. 2023;132(5):449-53.

28. Grünfeld JP, Rossier BC. Lithium nephrotoxicity revisited. Nat Rev Nephrol. 2009;5(5):270-6.

29. Marples D, Christensen S, Christensen EI, Ottosen PD, Nielsen S. Lithium-induced downregulation of aquaporin-2 water channel expression in rat kidney medulla. J Clin Invest. 1995;95(4):1838-45.

30. Nielsen J, Kwon TH, Praetorius J, Kim YH, Frøkiaer J, Knepper MA, et al. Segment-specific ENaC downregulation in kidney of rats with lithium-induced NDI. Am J Physiol Renal Physiol. 2003;285(6):F1198-209.

31. Kesebir S, Üstündağ MF, Kavzoğlu SÖ. Lityum zehirlenmesi. Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar. 2011;3(3).

32. Baird-Gunning J, Lea-Henry T, Hoegberg LCG, Gosselin S, Roberts DM. Lithium Poisoning. J Intensive Care Med. 2017;32(4):249-63.

33. Sancak B CM. Fonksiyonel Anatomi. Ankara: ODTÜ yayıncılık; 2004.

34. Bishop ML FE, Schoeff LE. Clinical Chemistry: Principles, Techniques, and Correlations. Wolters Kluwer Health2018.

35. AL K. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Ankara: Palme Yayıncılık; 2006.

36. Lorente S, Hautefeuille M, Sanchez-Cedillo A. The liver, a functionalized vascular structure. Sci Rep. 2020;10(1):16194.

37. Green RM, Flamm S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests. Gastroenterology. 2002;123(4):1367-84.

38. Brunzel N. İdrar ve Vücut Sıvılarının Analiz Prensipleri: Palme Yayınevi; 2019.

39. Soriano RM, Penfold D, Leslie SW. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Kidneys. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2025, StatPearls Publishing LLC.; 2025.

40. Pavenstädt H. Roles of the podocyte in glomerular function. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 2000;278(2):F173-F9.

41. Burtis CA BD, editors. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 6 ed: Elsevier; 2019.

42. Pottel H, Delanaye P, Cavalier E. Exploring Renal Function Assessment: Creatinine, Cystatin C, and Estimated Glomerular Filtration Rate Focused on the European Kidney Function Consortium Equation. Ann Lab Med. 2024;44(2):135-43.

43. Vasiliades J. Reaction of alkaline sodium picrate with creatinine: I. Kinetics and mechanism of formation of the mono-creatinine picric acid complex. Clin Chem. 1976;22(10):1664-71.

44. Bowers LD, Wong ET. Kinetic serum creatinine assays. II. A critical evaluation and review. Clin Chem. 1980;26(5):555-61.

45. Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. Pharmacogn Rev. 2016;10(20):84-9.

46. Serafim C, Araruna ME, Júnior EA, Diniz M, Hiruma-Lima C, Batista L. A Review of the Role of Flavonoids in Peptic Ulcer (2010-2020). Molecules. 2020;25(22).

47. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. Am J Clin Nutr. 2001;74(4):418-25.

48. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. J Nutr Sci. 2016;5:e47.

49. Nishiumi S, Miyamoto S, Kawabata K, Ohnishi K, Mukai R, Murakami A, et al. Dietary flavonoids as cancer-preventive and therapeutic biofactors. Front Biosci (Schol Ed). 2011;3(4):1332-62.

50. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. The scientific world journal. 2013;2013(1):162750.

51. YAlçIn AS, YIlMAz AM, AltunDAğ EM, KOçtürK S. Kurkumin, kuersetin ve çay kateşinlerinin anti-kanser etkileri. Marmara Pharmaceutical Journal. 2017;21(1):19-29.

52. Zhang Y-M, Zhang Z-Y, Wang R-X. Protective mechanisms of quercetin against myocardial ischemia reperfusion injury. Frontiers in Physiology. 2020;11:956.

53. Patel RV, Mistry BM, Shinde SK, Syed R, Singh V, Shin H-S. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. European journal of medicinal chemistry. 2018;155:889-904.

54. Dhanya R. Quercetin for managing type 2 diabetes and its complications, an insight into multitarget therapy. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2022;146:112560.

55. Tang S-M, Deng X-T, Zhou J, Li Q-P, Ge X-X, Miao L. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2020;121:109604.

56. Chen YQ, Chen HY, Tang QQ, Li YF, Liu XS, Lu FH, et al. Protective effect of quercetin on kidney diseases: From chemistry to herbal medicines. Front Pharmacol. 2022;13:968226.

57. Alharbi HOA, Alshebremi M, Babiker AY, Rahmani AH. The Role of Quercetin, a Flavonoid in the Management of Pathogenesis Through Regulation of Oxidative Stress, Inflammation, and Biological Activities. Biomolecules. 2025;15(1):151.

58. Zeng YF, Li JY, Wei XY, Ma SQ, Wang QG, Qi Z, et al. Preclinical evidence of reno-protective effect of quercetin on acute kidney injury: a meta-analysis of animal studies. Front Pharmacol. 2023;14:1310023.

59. Gholampour F, Saki N. Hepatic and renal protective effects of quercetin in ferrous sulfateinduced toxicity. Gen Physiol Biophys. 2019;38(1):27-38.

60. Jafari-Garageshlaghi F, Hashtarkhani F, Soraya H, Malekinejad H. Quercetin Protected from Aluminum Phosphide-induced Acute and Subacute Cardio- and Hepatotoxicity in Rats. Curr Pharm Des. 2022;28(43):3513-24.

61. Baran M, Yay A, Onder GO, Canturk Tan F, Yalcin B, Balcioglu E, et al. Hepatotoxicity and renal toxicity induced by radiation and the protective effect of quercetin in male albino rats. Int J Radiat Biol. 2022;98(9):1473-83.

62. Aggarwal D, Chaudhary M, Mandotra SK, Tuli HS, Chauhan R, Joshi NC, et al. Anti-Inflammatory Potential of Quercetin: From Chemistry and Mechanistic Insight to Nanoformulations. Current Research in Pharmacology and Drug Discovery. 2025:100217.

63. Luo X, Weng X, Bao X, Bai X, Lv Y, Zhang S, et al. A novel anti-atherosclerotic mechanism of quercetin: Competitive binding to KEAP1 via Arg483 to inhibit macrophage pyroptosis. Redox Biology. 2022;57:102511.

64. Qi W, Qi W, Xiong D, Long M. Quercetin: Its antioxidant mechanism, antibacterial properties and potential application in prevention and control of toxipathy. Molecules. 2022;27(19):6545.

65. Houghton MJ, Kerimi A, Tumova S, Boyle JP, Williamson G. Quercetin preserves redox status and stimulates mitochondrial function in metabolically-stressed HepG2 cells. Free Radical Biology and Medicine. 2018;129:296-309.

66. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2005;15(4):316-28.

67. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. Free Radical Biology and Medicine. 2000;28(12):1685-96.

68. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxid Med Cell Longev. 2014;2014:360438.

69. Bortolotti M, Polito L, Battelli MG, Bolognesi A. Xanthine oxidoreductase: One enzyme for multiple physiological tasks. Redox Biol. 2021;41:101882.

70. Battelli MG, Polito L, Bortolotti M, Bolognesi A. Xanthine Oxidoreductase in Drug Metabolism: Beyond a Role as a Detoxifying Enzyme. Curr Med Chem. 2016;23(35):4027-36.

71. Teleanu DM, Niculescu AG, Lungu, II, Radu CI, Vladâcenco O, Roza E, et al. An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases. Int J Mol Sci. 2022;23(11).

72. Pan X, Zhu R, Pei J, Zhang L. Lycopene: A potent antioxidant to alleviate kidney disease. International Immunopharmacology. 2025;151:114363.

73. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. Eur J Med Chem. 2015;97:55-74.

74. Sies H, Jones DP. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. Nature reviews Molecular cell biology. 2020;21(7):363-83.

75. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem. 1995;41(12 Pt 2):1819-28.

76. Parcheta M, Świsłocka R, Orzechowska S, Akimowicz M, Choińska R, Lewandowski W. Recent Developments in Effective Antioxidants: The Structure and Antioxidant Properties. Materials. 2021;14(8):1984.

77. Lu SC. Glutathione synthesis. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2013;1830(5):3143-53.

78. Jomova K, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K, Valko M. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. Arch Toxicol. 2024;98(5):1323-67.

79. Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem. 1999;32(8):595-603.

80. Dutta RK, Lee JN, Maharjan Y, Park C, Choe SK, Ho YS, et al. Catalase-deficient mice induce aging faster through lysosomal dysfunction. Cell Commun Signal. 2022;20(1):192.

81. Labrecque CL, Fuglestad B. Electrostatic drivers of GPx4 interactions with membrane, lipids, and DNA. Biochemistry. 2021;60(37):2761-72.

82. Aboulthana WM, Ibrahim NE-S. A renoprotective role of chitosan against lithium-induced renal toxicity in rats. Bulletin of the National Research Centre. 2018;42:1-11.

83. Alamri ZZ, Alfaifi SM. Biochanin A Has Protective and Therapeutic Effects against Li2CO3-induced Nephrotoxicity in Rats Model. The Indonesian Biomedical Journal. 2024;16(3):208-17.

84. Chmielnicka J, Nasiadek M. The trace elements in response to lithium intoxication in renal failure. Ecotoxicol Environ Saf. 2003;55(2):178-83.

85. Saad AB, Rjeibi I, Alimi H, Ncib S, Smida A, Zouari N, et al. Lithium induced, oxidative stress and related damages in testes and heart in male rats: The protective effects of Malva sylvestris extract. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2017;86:127-35.

86. Aldemir M, Okulu E, Kösemehmetoğlu K, Ener K, Topal F, Evirgen O, et al. Evaluation of the protective effect of quercetin against cisplatin-induced renal and testis tissue damage and sperm parameters in rats. Andrologia. 2014;46(10):1089-97.

87. Olayinka ET, Ore A, Ola OS, Adeyemo OA. Protective effect of quercetin on melphalan-induced oxidative stress and impaired renal and hepatic functions in rat. Chemother Res Pract. 2014;2014:936526.

88. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. 1951.

89. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU, editor. Methods of Enzymatic Analysis (Second Edition): Academic Press; 1974. p. 673-84.

90. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem. 1988;34(3):497-500.

91. Durak I, Canbolat O, Kavutçu M, Öztürk HS, Yurtarslani Z. Activities of total, cytoplasmic, and mitochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patients with lung cancer. Journal of clinical laboratory analysis. 1996;10(1):17-20.

92. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem. 1979;95(2):351-8.

93. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. The Journal of laboratory and clinical medicine. 1967;70(1):158-69.

94. Hashimoto S. A new spectrophotometric assay method of xanthine oxidase in crude tissue homogenate. Anal Biochem. 1974;62(2):426-35.

95. Sadat Hosseini N, Shirazpour S, Zangiabadizadeh M, Bashiri H, Dabiri S, Sepehri G, et al. High-Intensity Interval Training Ameliorates Tramadol-Induced Nephrotoxicity and Oxidative Stress in Experimental Rats. Cureus. 2024;16(6):e62518.

96. Hsu BG, Lee RP, Yang FL, Harn HJ, Chen HI. Post-treatment with N-acetylcysteine ameliorates endotoxin shock-induced organ damage in conscious rats. Life Sci. 2006;79(21):2010-6.

97. McKnight RF, Adida M, Budge K, Stockton S, Goodwin GM, Geddes JR. Lithium toxicity profile: a systematic review and meta-analysis. Lancet. 2012;379(9817):721-8.

98. Diseases NIoDaDaK. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012.

99. Rahmani AH, Alsahli MA, Khan AA, Almatroodi SA. Quercetin, a Plant Flavonol Attenuates Diabetic Complications, Renal Tissue Damage, Renal Oxidative Stress and Inflammation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Metabolites. 2023;13(1).

100. Ahmad M, Elnakady Y, Farooq M, Wadaan M. Lithium induced toxicity in rats: blood serum chemistry, antioxidative enzymes in red blood cells and histopathological studies. Biol Pharm Bull. 2011;34(2):272-7.

101. Ben Saad A, Dalel B, Rjeibi I, Smida A, Ncib S, Zouari N, et al. Phytochemical, antioxidant and protective effect of cactus cladodes extract against lithium-induced liver injury in rats. Pharm Biol. 2017;55(1):516-25.

102. Chang XY, Cui L, Wang XZ, Zhang L, Zhu D, Zhou XR, et al. Quercetin Attenuates Vascular Calcification through Suppressed Oxidative Stress in Adenine-Induced Chronic Renal Failure Rats. Biomed Res Int. 2017;2017:5716204.

103. Oktem F, Ozguner F, Sulak O, Olgar S, Akturk O, Yilmaz HR, et al. Lithium-induced renal toxicity in rats: protection by a novel antioxidant caffeic acid phenethyl ester. Mol Cell Biochem. 2005;277(1-2):109-15.

104. Toplan S, Ozdemir S, Tanriverdi G, Can Akyolcu M, Ozcelik D, Darıyerli N. The effects of lithium administration on oxidant/antioxidant status in rats: Biochemical and histomorphological evaluations. Biological trace element research. 2016;169:279-84.

105. Ossani GP, Uceda AM, Acosta JM, Lago NR, Repetto MG, Martino DJ, et al. Role of Oxidative Stress in Lithium-Induced Nephropathy. Biol Trace Elem Res. 2019;191(2):412-8.

106. Zeng Y-F, Li J-Y, Wei X-Y, Ma S-Q, Wang Q-G, Qi Z, et al. Preclinical evidence of reno-protective effect of quercetin on acute kidney injury: a meta-analysis of animal studies. Frontiers in Pharmacology. 2023;14:1310023.

107. Yakut S, Tarakçı Gençer B, Yalçın MH, Aydın S, Yüksel H. Investigation of the effects of silymarin and vitamin C on kidney damage and aquaporin-2 downregulation in lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus in rats. Drug and Chemical Toxicology. 2025:1-11.