

# Nizatidinin Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkisi

## Effect of Nizatidine on Renal Ischemia-Reperfusion Damage

Renad Mammadov\*, Bahadır Süleyman, Aslı Özbek Bilgin

Erzincan Binaliyıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzincan, Türkiye

### ÖZET

**Amaç:** İskemili dokuya yapılacak olan ilk müdahale dokunun yeniden kanlanmasını sağlamaktır. Ancak, reperfüzyonda iskemili dokuya, arteriyel kanla bol miktarda oksijen sunulmaktadır. Dokuda artan moleküler oksijen aşırı serbest oksijen radikalının oluşmasına ve oksidatif strese yol açmaktadır. Bu da iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarının azaltılmasında antioksidan tedavinin yararlı olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda, böbrek I/R hasarına etkisini araştıracağımız nizatidin, peptik ülser tedavisinde kullanılan H<sub>2</sub> reseptör antagonisti antiülser bir ilaçtır. Nizatidinin sitoprotektif etkisinin antioksidan özelliğinden kaynaklandığı bilinmektedir. Literatürlerde, nizatidinin böbrek I/R hasarı üzerindeki koruyucu etkisine dair bir çalışmaya rastlanmadı. Çalışmamızın amacı, nizatidinin sıçanlarda I/R ile oluşturulan oksidatif böbrek hasarına etkisini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmada albino Wistar türü 18 adet erkek sıçan renal iskemi-reperfüzyon (RİR), 50 mg/kg nizatidin + renal iskemi-reperfüzyon (NIR-50) ve sham operasyonu uygulanacak (SG) gruplara ayrıldı.

**Bulgular:** Biyokimyasal deney sonuçlarımız İ/R işlemi gerçekleştirilen RİR grubunun böbrek dokusunda malondialdehit (MDA) ve myeloperoksidaz (MPO) gibi oksidatif stres belirteçlerinin SG grubuna göre anlamlı ( $p < 0.0001$ ) yükseldiğini, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutasyon peroksidaz (GPO) gibi endojen antioksidanların ise anlamlı ( $p < 0.0001$ ) düştüğünü göstermiştir. Nizatidin böbrek dokusunda MDA ve MPO'nun artmasını, SOD ve GPO'nun ise azalmasını anlamlı olarak ( $p < 0.0001$ ) önlemiştir.

**Sonuç:** Deney sonuçlarımız, nizatidinin böbrek dokusunu İ/R hasarına karşı koruduğunu ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Nizatidin, böbrek, iskemi, reperfüzyon

### ABSTRACT

**Introduction:** The first intervention needed for ischaemic tissue is to restore blood flow. However, the abundant molecular oxygen that is supplied to the ischaemic tissue via arterial blood after reperfusion results in the formation of excessive free oxygen radicals and oxidative stress. This suggests a potential benefit from treatment with antioxidants for reducing the ischaemia-reperfusion (I/R) damage. In our study, we investigated the effect of nizatidine, an H<sub>2</sub> receptor antagonist antiulcer drug for the treatment of peptic ulcers, on renal I/R damage. The cytoprotective effect of nizatidine is known to originate from its antioxidant characteristics. No information was found in the literature regarding the protective effect of nizatidine on renal I/R damage. The objective of this study was to investigate the effect of nizatidine on oxidative renal damage induced in rats by I/R.

**Materials and Methods:** In this study, albino Wistar male rats were grouped into renal ischaemia-reperfusion (RIR), nizatidine 50 mg/kg + renal ischaemia-reperfusion (NIR-50), and sham surgery (SG) conditions.

**Results:** Our biochemical test results showed that oxidative stress markers, such as malondialdehyde (MDA) and myeloperoksidase (MPO), increased significantly ( $p < 0.0001$ ) in the renal tissue of the RIR group with I/R, compared with the SG group, while endogenous antioxidants, such as superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPO), decreased significantly ( $p < 0.0001$ ). Nizatidine significantly attenuated the increases in MDA and MPO in kidney tissue and the decreases in SOD and GPO ( $p < 0.0001$ ).

**Conclusion:** Our results demonstrate that nizatidine protects kidney tissue against I/R injury.

**Key Words:** Nizatidine, kidney, ischaemia, reperfusion

### Giriş

Sistemik hipotansiyon, hipovolemik şok, kardiyak arrest, aortun klempajı ve renovasküler cerrahi gibi çeşitli nedenlerle böbreklerin kan akımının kesilmesi veya azalması sonucunda böbrek dokusunda iskemi gelişmektedir (1, 2). Dokuların iskemiyeye uzun süre maruz kalması ciddi organ fonksiyon bozukluklarına ve hatta hücre ölümüne neden olmaktadır (3).

İskemiyeye bağlı hasarın, dokuda enerji depolarının boşalması ve toksik maddelerin birikiminden kaynaklandığı öne sürülmektedir (4). Bu nedenle, iskemik hasarın rejenere edilmesi için dokunun yeniden kanlanmasının sağlanması oldukça önem arz etmektedir.

Ancak reperfüzyon sonucu iskemili dokuya, arteriyel kan ile aşırı miktarda sunulan moleküler oksijen (O<sub>2</sub>), aşırı serbest oksijen radikallerinin oluşmasına ve

\*Sorumlu Yazar: Dr. Öğr. Üyesi Renad Mammadov, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzincan, Türkiye

E-mail: renad\_mamedov@hotmail.com, Tel: 0 (507) 011 59 22

Geliş Tarihi: 08.08.2018, Kabul Tarihi: 13.12.2018

**Tablo 1.** Deneyde kullanılan hayvanların demografik verileri

	Deney grupları		
	SG	RİR	NİR
Denek sayısı	6	6	6
Cinsiyet	%100 erkek	%100 erkek	%100 erkek
Ağırlık	237	242	240
Yaş	6 ay	6 ay	6 ay

oksidatif strese yol açmaktadır (5). İskemi sırasında meydana gelen hasar, reperfüzyon sırasında oluşan hasarın başlangıcı kabul edilmektedir (6). Reperfüzyon sonucu artan serbest oksijen radikalleri, hücre membran lipidlerini oksidasyona uğratarak, toksik bir ürün olan malondialdehidin (MDA) oluşmasını sağlar (7). Bu nedenle, iskemi/reperfüzyonun (I/R) yol açtığı doku hasarının önlenmesinde veya şiddetinin azaltılmasında antioksidan ilaçlarla tedavinin yararlı olabileceği düşünülmektedir (8). Bu konservatif tedavinin, tanı konulduğu andan itibaren cerrahi müdahaleye kadar olan süreç içerisinde uygulanması önemlidir.

Bu çalışmamızda, böbrek I/R hasarına etkisini araştıracağımız nizatidin, peptik ülser tedavisinde kullanılan histamin (H<sub>2</sub>) reseptör antagonisti bir ilaçtır (9). Nizatidinin antioksidan aktiviteye sahip olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Liu ve ark., nizatidinin mideyi oksidatif hasardan koruduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada nizatidinin mide dokusunda malondialdehid (MDA) ve MPO gibi oksidanların artmasını, süperoksid dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPO) gibi antioksidanların azalmasını önlediği ifade edilmiştir. Nizatidinin bu gastroprotektif etkisinin asit salgısını baskılayıcı özelliğinden ziyade, serbest oksijen radikalleri (SOR) üzerindeki inhibitor etkisinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (10). Edinilen bu bilgiler, nizatidinin böbrek I/R hasarının tedavisinde yararlı olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde, nizatidinin böbrek I/R hasarı üzerindeki koruyucu etkisine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmadı. Çalışmamızın amacı, nizatidinin sıçanlarda I/R ile oluşturulan oksidatif böbrek hasarı üzerine koruyucu etkisini araştırmaktır.

## Gereç ve Yöntem

**Deney Hayvanları:** Bu çalışmada kullanılan ve ağırlıkları 230-245 gram arasında değişen 18 adet Wistar albino türü erkek sıçan Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edildi. Deney öncesinde hayvanlar gruplar halinde oda sıcaklığında (22 °C) barındırıldı ve beslendi. Çalışmamız “Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri

Etik Kurulu (AÜHADYEK)” tarafından verilen 28.02.2017 tarih ve 77040475-000-E.1700064304 sayılı yazısı ile onaylanmıştır.

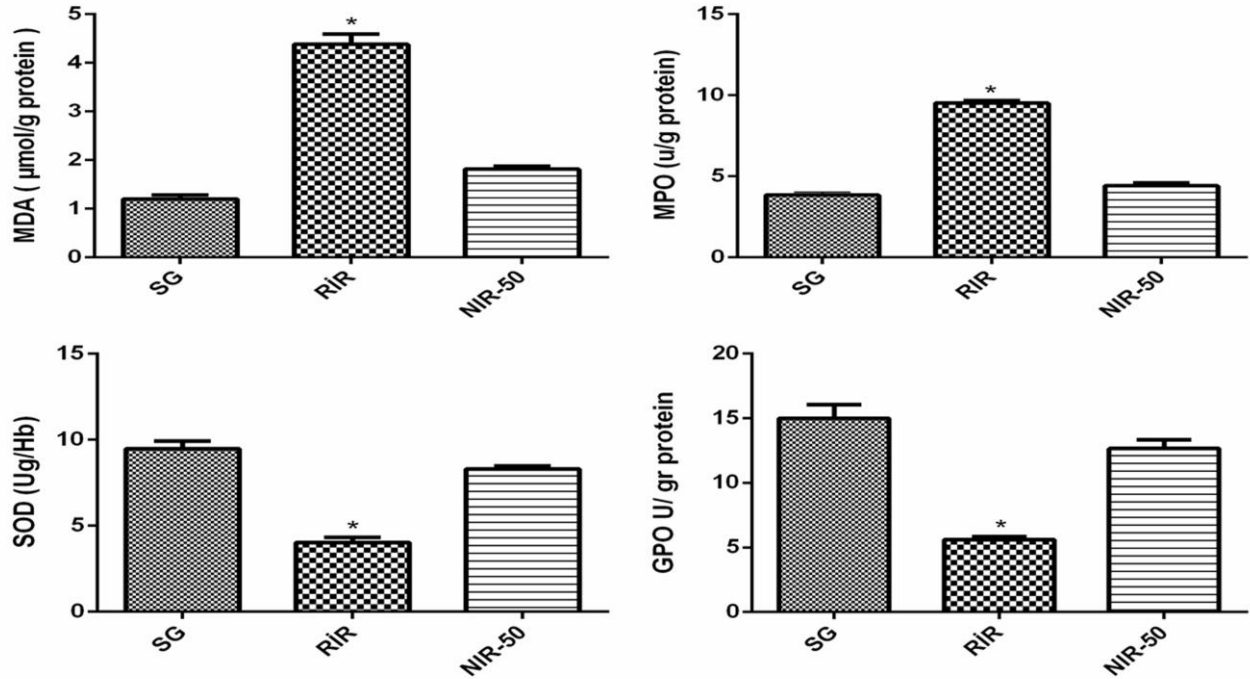
**Kimyasal Maddeler:** Deneyde kullanılan nizatidin Mefar ilaç sanayi (Türkiye), Tiyopental Na ise İE ULAGAY (Türkiye)’dan temin edildi.

**Deney Grupları:** Deney hayvanları 50 mg/kg nizatidin + renal iskemi-reperfüzyon (NİR-50), renal iskemi-reperfüzyon kontrol (RİR) ve şam operasyonu uygulanacak sağlıklı gruplara (SG) ayrıldı. Her grupta 6 adet sıçan bulunmaktadır. Deney gruplarının demografik bilgileri tablo 1’de görülmektedir.

**Cerrahi ve Farmakolojik İşlemler:** Sıçanlar üzerindeki iskemi ve iskemi sonrasındaki reperfüzyon işlemleri steril şartlar altında, 25 mg/kg intraperitoneal (i.p.) tiopental sodyum anestezisi uygulanarak yapıldı. Tiopental sodyum anestezisinden bir saat önce hayvanların NIR-50 grubuna 50 mg/kg nizatidin oral yoldan sonda ile verildi. RİR ve SG grubundaki sıçanlara ise aynı hacimde distile su aynı yolla çözücü olarak verildi. Anestezi yapıldıktan sonra tüm sıçanların sol böbreklerine tek taraflı dorsal kısımdan bir kesi açılarak ulaşıldı. Daha sonra RİR ve NIR-50 grubu sıçanlarda böbreğe gelen renal arter ve renal vene klips konularak bir saat boyunca iskemi oluşturuldu. Bu süre sonunda RİR ve NIR-50 sıçan gruplarında uygulanan klipsler çıkarılarak üç saat süreyle reperfüzyon sağlandı. Bu süre sonunda tüm sıçan grupları yüksek doz anestezisiyle öldürüldü ve böbrekleri çıkartıldı. Daha sonra, çıkartılan böbrek dokularında MDA düzeyi ve MPO, SOD, GPO aktiviteleri ölçüldü. NIR-50 ve SG gruplarının biyokimyasal sonuçları RİR grubunun sonuçları ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

## Biyokimyasal Analizler

**Numunelerin hazırlanması:** Böbrek dokuları ölçülecek olan değişken için uygun olan buz ısısındaki fosfat tamponlarında (50 mM, pH 7,4) homojenize edildi. Doku homojenatları, 20 dakika boyunca 4°C de 5000 rpm’de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlarda MDA, MPO, SOD, GPO ve protein konsantrasyonu analiz edildi. Üst fazın protein konsantrasyonu, Bradford MM tarafından tarif edilen yöntemle ölçüldü (11). Tüm doku sonuçları, g



**Şekil 1.** SG, RİR ve NIR-50 gruplarının böbrek dokusunda MDA düzeyleri ile MPO, SOD ve GPO aktiviteleri

\* p<0.0001, SG grubuna göre

\*\* p<0.0001, RİR grubuna göre

proteine bölünerek ifade edildi.

**MDA Düzeyinin Tayini:** MDA düzeyinin ölçümü Ohkawa ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı. Bu yöntem MDA'nın sıcak asidik ortamda tiyobarbitürik asitle oluşturduğu rengin 532 nm'de optik dansitesinin ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (12). 25 µL örnek üzerine, 25 µL sodyum dodesil sülfat (80 g/L), 1 mL mix karışım (200 g/L asetik asit + 1.5 mL 8 g/L 2-tiyobarbitürik asit) ilave edilerek 95°C'de 1 saat ısıtıldı. Soğutulduktan sonra 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üst tabakanın absorbansı 532 nm'de ölçüldü. Standart olarak 1,1,3,3- tetraetoksipropan kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiğinden numunedeki MDA miktarı hesaplandı.

**MPO Aktivitesinin Tayini:** MPO aktivitesinin ölçümü için kullandığımız yöntem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında MPO ile o-dianisidine'nin oksidasyonu sonucu oluşan turuncu renkli bileşimin 460 nm dalga boyunda absorbansının kinetik olarak ölçülmesine prensibine dayanmaktadır. (13). Örneklerdeki MPO aktivitesini belirlemek için, substrat olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren fosfat tamponu (50 mM, pH 6) kullanıldı. 20 µL örnek üzerine 280 µL ölçüm tamponu (7,5 mg o-dianisidine-HCl, 5 mL 0.0005% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in 40 mL fosfat tamponu) eklendi. MPO aktivitesi 460 nm'de 5 dakika boyunca kinetik olarak ölçüldü.

**SOD Aktivitesinin Tayini:** SOD aktivite ölçümü Sun ve ark.'nın kullandığı metoda göre yapıldı (14). Ksantin, ksantin oksidaz ile ürik aside

dönüştürüldüğünde, ortama nitro-blue tetrazolyum (NBT) ilave edilirse, SOD mor renkli formazan boyası üreten NBT ile reaksiyona girer. 200 µL ölçüm karışımına (0.3 mmol/L ksantantin, 0.6 mmol/L EDTA, 150 µmol/L NBT, 0.4 mol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1 mg/mL sığır serum albümini), 20 µL serum ve 10 µL ksantin oksidaz (167 U/L) eklendi. Daha sonra 20 dakika inkübe edildi. Reaksiyon sonunda oluşan mor renkli formazanın absorbansı 560 nm'de ölçüldü.

**GPO Aktivitesinin Tayini:** GPO enzimi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya indirgerken redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) yükseltgenmesi reaksiyonunu katalizler. Burada oluşan GSSG, NADPH'nin indirgeyici substrat olarak kullanıldığı glutatyon redüktaz reaksiyonuyla tekrar GSH'a indirgenir. Bu sırada NADPH'nin NADP'ye yükseltgenmesi ile oluşan absorbans azalışı 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek GPO enzim aktivitesi hesaplandı (15).

**İstatistiksel Analizler:** Gruplar arasındaki fark Varyans Analizi (ANOVA) ile test edildi. Anlamlı bulunan grup karşılaştırmaları için, farklılığı sağlayan grupların tespit edilmesi amacıyla Tukey'in çoklu karşılaştırma testlerinden yararlanıldı. Sonuçların özetlenmesi amacıyla tanımlayıcı istatistik olarak ortalama ve standart hata kullanıldı ve istatistiksel yanılma düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi.

## Bulgular

MDA düzeyi SG grubundaki hayvanların böbrek dokularında  $1.2 \pm 0.09$  iken RİR grubunda  $4,3 \pm 0.21$ 'e yükselmiştir ( $p < 0.0001$ ). NIR grubunda ise RİR grubuna göre anlamlı olarak azalarak  $1.81 \pm 0.06$ 'a düşmüştür ( $p < 0.0001$ ) (Şekil 1A). SG grubunda  $3.8 \pm 0.18$  olan MPO aktivitesi RİR grubunda  $9.5 \pm 0.15$ 'e yükselmiştir ( $p < 0.0001$ ). NIR grubunda ise RİR grubuna göre anlamlı olarak azalarak  $4.4 \pm 0.18$ 'e düşmüştür ( $p < 0.0001$ ) (Şekil 1B). SOD aktivitesi SG grubunda  $9.5 \pm 0.44$  olarak ölçülmüş ve RİR grubunda anlamlı olarak azalarak  $4 \pm 0.30$  bulunmuştur ( $p < 0.0001$ ). NIR grubunda ise RİR grubuna göre anlamlı olarak artmış ve  $8.3 \pm 0.18$ , bulunmuştur ( $p < 0.0001$ ) (Şekil 1C). GPO aktivitesi SG grubunda  $15 \pm 1.06$  iken RİR grubunda  $5.6 \pm 0.21$ 'e düşmüştür ( $p < 0.0001$ ). NIR grubunda ise RİR grubuna göre anlamlı olarak artmış ve  $12.7 \pm 0.67$  bulunmuştur ( $p < 0.0001$ ) (Şekil 1D). Deney sonuçlarımız MDA düzeyi ile MPO, SOD ve GPO aktivitelerinin SG ve NIR grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğunu göstermiştir ( $p > 0.05$ ).

## Tartışma

Böbrek iskemisi, dokuya gelen kanın azalmasına veya kan akışının kesilmesine bağlı böbreğin oksijenden yoksun kalmasıdır. Klinikte çeşitli ürolojik vasküler cerrahi girişimlerde böbrek dokusunda iskemi oluşabilir (16). Bu durumda, yapılacak olan ilk müdahale iskemili dokunun reperfüzyonunu sağlamaktır. Ancak, iskemik böbreklerin reperfüzyonu oksidan düzeylerinin artmasına, antioksidan düzeylerinin ise azalmasına yol açarak böbrek dokusunun daha fazla zedelenmesine sebep olur (17). Reperfüzyon sonucunda dokuda oluşan SOR'lar lipid peroksidasyonuna ve hücre hasarına yol açmaktadır (7). Bu nedenle İ/R hasarının şiddetini azaltmaya yönelik olarak yapılan deneysel çalışmalarda çok sayıda antioksidan ve antiinflamatuar maddenin etkisi araştırılmaktadır (18-20). Çalışmamızda böbrek İ/R hasarına karşı etkisi araştırılan nizatidinin antioksidan aktivitesinin bulunduğu daha önceki bir çalışmada rapor edilmiştir (10). Deney sonuçlarımızdan da anlaşılacağı gibi İ/R işlemi uygulanan RİR grubu hayvanların böbrek dokusunda lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA miktarı SG grubuna göre anlamlı artış göstermiştir. MDA miktarı nizatidin verilen NIR grubunda ise RİR grubuna göre anlamlı olarak düşmüştür. Bu sonuçlar, İ/R uygulanan grubun böbrek dokusunda lipid peroksidasyonunun nizatidin grubunda belirgin bir şekilde baskılandığına işaret etmektedir. Literatürde nizatidinin böbrek dokusunda İ/R ile indüklenen

oksidatif stresle ilişkili MDA artışına etkisi ile ilgili bilgilere rastlanmadı. Ancak yukarıda belirtildiği gibi, nizatidin mide dokusunda MDA üretimini baskılayarak gastroprotektif etki oluşturmuştur (10). Liu ve ark. nizatidinin lipid peroksidasyonunu inhibe ederek protektif etki oluşturduklarını bildirmişlerdir (21).

Çalışmamızda, MPO aktivitesi RİR grubu hayvanların böbrek dokusunda SG ve NIR grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. MPO üretimindeki artışın SOR'lar tarafından stimüle edildiği bilinmektedir. Aktive edilmiş polimorfonükleer lökositlerden salgılanan MPO, hem  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^\bullet$  gibi SOR'ların üretimine neden olur, hem de Cl iyonu varlığında  $H_2O_2$ 'i güçlü oksidan olan hipokloröz asit radikaline (HOCl) dönüştürür (22). Bu nedenle aşırı MPO üretimi böbrek hasarına yol açmaktadır (23). Bundan önce yapılan çalışmalarda da İ/R işleminin böbrek dokusunda MPO artışına neden olduğu belirtilmiştir (24). Nizatidin verilen NIR grubunda MPO düzeyinin SG grubuna çok yakın olması, nizatidinin SOR ve polimorfonükleer lökositler üzerinde inhibitör etki oluşturduğunu düşündürmektedir. Liu J ve ark. nizatidinin MPO aktivitesini azalttığını göstermişlerdir (10). Bir başka çalışmada ise nizatidinin MPO- $H_2O_2$ -Cl-sisteminde üretilen güçlü bir klorlayıcı oksidan olan hipokloröz asiti (HOCl) büyük ölçüde temizlediği ifade edilmektedir (25).

Yine bu çalışmamızda MDA ve MPO düzeyleri yüksek bulunan İ/R uygulanmış RİR grubu hayvanların böbrek dokusunda SOD ve GPO aktivitesi SG grubuna göre düşük bulunmuştur. SOD ve GPO aktivitesi nizatidin verilen NIR grubunda ise RİR grubuna göre anlamlı olarak yükselmiştir. SOD ve GPO enzimlerinin reperfüzyon sırasında üretimi artan SOR'ların sebep olduğu oksidatif hasarın azaltılmasında önemli antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (26, 27). Literatürde nizatidin ile ilgili bilgilere rastlanmadı. Ancak deney sonuçlarımız, nizatidinin endojen SOD ve GPO gibi antioksidanların aktivitesini artırmak suretiyle böbrek dokusunu oksidatif hasara karşı koruduğunu gösterdi. Sonuç olarak; İ/R hasarı, böbrek dokusunda oksidatif stres göstergesi olarak bilinen MDA düzeyinin ve MPO aktivitesinin artmasına, SOD ve GPO gibi endojen antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azalmasına yol açmıştır. Zıt etki olarak nizatidin ise, böbrek dokusunda oksidan parametrelerin artmasını, antioksidanların ise azalmasını önlemiştir. Deney sonuçlarımız nizatidinin böbrekte İ/R hasarına bağlı olarak gelişen oksidatif stresi önlemede yararlı olabileceğini göstermektedir.

## Kaynaklar

1. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *The Lancet* 2004; 364(9447): 1814-1827.
2. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia--reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83(2): 162-170.
3. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991; 78(6): 651-655.
4. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol* 1995; 146(1): 3-15.
5. Lindsay TF, Liauw S, Romaschin AD, Walker PM. The effect of ischemia/reperfusion on adenine nucleotide metabolism and xanthine oxidase production in skeletal muscle. *Journal of vascular surgery* 1990; 12(1): 8-15.
6. Grace P. Ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Surgery* 1994; 81(5): 637-647.
7. Del RM. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiologica Scandinavica Supplementum* 1980; 492: 153-168.
8. Hajieva P, Behl C. Antioxidants as a potential therapy against age-related neurodegenerative diseases: amyloid beta toxicity and Alzheimer's disease. *Current pharmaceutical design* 2006; 12(6): 699-704.
9. Jain A, Pandey V, Ganeshpurkar A, Dubey N, Bansal D. Formulation and characterization of floating microballoons of Nizatidine for effective treatment of gastric ulcers in murine model. *Drug delivery* 2015; 22(3): 306-311.
10. Liu J, Sun D, He J, Yang C, Hu T, Zhang L, et al. Gastroprotective effects of several H2RAs on ibuprofen-induced gastric ulcer in rats. *Life sciences* 2016; 149: 65-71.
11. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* 1976; 72(2): 248-254.
12. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry* 1979; 95(2): 351-358.
13. Bradley PP, Priebe DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *Journal of Investigative Dermatology* 1982; 78(3): 206-209.
14. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical chemistry* 1988; 34(3): 497-500.
15. 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): 158-169.
16. Ortadeveci A, Semih Ö. Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarı Üzerine Bir Derleme. *Osmangazi Tıp Dergisi* 2017; 39(3): 115-124.
17. Tok A, Sener E, Albayrak A, Cetin N, Polat B, Suleyman B, et al. Effect of mirtazapine on oxidative stress created in rat kidneys by ischemia-reperfusion. *Ren Fail* 2012; 34(1): 103-110.
18. Hong X, Zhao X, Wang G, Zhang Z, Pei H, Liu Z. Luteolin Treatment Protects against Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats 2017; 2017: 9783893.
19. Kim J, Jang H, Jeong E, Kim S, Kim Y, Lee J, et al., editors. *Crepidiastrum denticulatum Extract Ameliorates Kidney Ischemia-Reperfusion Injury in Mice. Transplantation Proceedings*; 2018: Elsevier.
20. Oguz E, Yilmaz Z, Ozbilge H, Baba F, Tabur S, Yerer MB, et al. Effects of melatonin on the serum levels of pro-inflammatory cytokines and tissue injury after renal ischemia reperfusion in rats. *Renal failure* 2015; 37(2): 318-322.
21. Liu J, Sun D, He J, Yang C, Hu T, Zhang L, et al. Gastroprotective effects of several H2RAs on ibuprofen-induced gastric ulcer in rats. *Life Sci* 2016; 149: 65-71.
22. Otamiri T. Oxygen radicals, lipid peroxidation, and neutrophil infiltration after small-intestinal ischemia and reperfusion. *Surgery* 1989; 105(5): 593-597.
23. Bolisetty S, Agarwal A. Neutrophils in acute kidney injury: not neutral any more. *Kidney international* 2009; 75(7): 674-676.
24. Suleyman Z, Sener E, Kurt N, Comez M, Yapanoglu T. The effect of nimesulide on oxidative damage inflicted by ischemia-reperfusion on the rat renal tissue. *Renal failure* 2015; 37(2): 323-331.

25. van Zyl JM, Kriegler A, van Der Walt BJ. Anti-oxidant properties of H<sub>2</sub>-receptor antagonists: Effects on myeloperoxidase-catalysed reactions and hydroxyl radical generation in a ferrous-hydrogen peroxide system. *Biochemical pharmacology* 1993; 45(12): 2389-2397.
26. Torres-González L, Cienfuegos-Pecina E, Perales-Quintana MM, Alarcon-Galvan G, Muñoz-Espinosa LE, Pérez-Rodríguez E, et al. Nephroprotective Effect of *Sonchus oleraceus* Extract against Kidney Injury Induced by Ischemia-Reperfusion in Wistar Rats. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2018; 2018.
27. Cakir M, Duzova H, Baysal I, Gül CC, Kuşcu G, Kutluk F, et al. The effect of *hypericum perforatum* on kidney ischemia/reperfusion damage. *Renal failure* 2017; 39(1): 385-391.