



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**RATLARDA RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON İLE OLUŞTURULAN
BÖBREK HASARINA KARŞI CURCUMİN VE LOXBLOCK-1'İN
POTANSİYEL ETKİLERİNİN SEMAFORİN 3A VE PLEKSİN A1
ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

FATİH KAR

DANIŞMAN

PROF. DR. SEMA USLU

**Eskişehir
2020**



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**RATLARDA RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON İLE
OLUŞTURULAN BÖBREK HASARINA KARŞI CURCUMİN VE
LOXBLOCK-1'İN POTANSİYEL ETKİLERİNİN SEMAFORİN
3A VE PLEKSİN A1 ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

FATİH KAR

DANIŞMAN

PROF. DR. SEMA USLU

**Eskişehir
2020**

Proje No: ESOGÜ BAP 2019-2344

KABUL VE ONAY SAYFASI

Fatih Kar'ın Doktora Tezi olarak hazırladığı “Ratlarda Renal İskemi Reperfüzyon ile Oluşturulan Böbrek Hasarına Karşı Curcumin ve LOXblock-1'in Potansiyel Etkilerinin Semaforin 3A ve Plexin A1 Üzerinden Araştırılması” başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek “**KABUL**” edilmiştir

11/ 11 / 2020

Üye: Prof. Dr. Sema Uslu

Üye: Prof. Dr. Güngör Kanbak

Üye: Prof. Dr. Hakan Şentürk

Üye: Prof. Dr. Harun Çiftçi

Üye: Doç. Dr. İbrahim Söğüt

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ... / ... / ... tarih ve ... / ... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Selma Metintaş

Enstitü Müdürü

ÖZET

İskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarı, böbrek fonksiyon bozukluğu ve yüksek mortalite oranlarına sahip klinik bir sendrom olan akut böbrek hasarı (AKI)'nın en önemli sebeplerindendir. AKI patofizyolojisinin daha iyi aydınlanabilmesi için yeni tanı biyobelirteçlerinin tanımlanması gerekmektedir. Semaforin ailesinden olan SEMA3A'nın, özellikle AKI'nın erken bir göstergesi ve böbrek hastalıklarında bir biyobelirteç olarak kullanılabilirliği belirlenmemiştir. Çalışmamızda, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği bilinen Curcumin ve 12/15 lipoksijenaz inhibitörü olan LOXblock-1'in böbrekte İ/R hasarına karşı protektif etkilerinin inflamatuvar süreçler, oksidatif stres, apoptoz ve semaforin-pleksin sistemi üzerinden araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla, her grupta sekiz hayvan olacak şekilde 40 Wistar albino sıçan beş gruba ayrıldı: Sham, İ/R, İ/R + DMSO, İ/R + CUR, İ/R + LOXblock-1. Sham grubuna sadece cerrahi stres prosedürü uygulandı. İ/R gruplarında sol böbreğe 45 dk iskemi ve ardından 24 saat reperfüzyon uygulandı. 100 mg/kg CUR ve 2µg/kg LOXblock-1 reperfüzyon başlangıcında intraperitoneal olarak verildi. Serum örneklerinde BUN, CREA, ALT, AST, UA, Na ve K parametreleri otoanalizör ile SEMA3A, PLXNA1, NRP1, TNF-α, IL-6, MCP1, CYCS, CASP3, TAS ve TOS parametreleri ise ELISA yöntemiyle ölçüldü. Böbrek dokusundaki oksidatif hasarı belirlemede MDA düzeyleri, MPO aktivitesi ve GSH seviyelerinin ölçümleri yapıldı. RT-PCR ile SEMA3A, PLXNA1, NRP1, TNF-α, IL-6 ve MCP1'in mRNA ekspresyon düzeylerine bakıldı. Histopatolojik incelemeler için de hematoksilin-eosin, TUNEL ve immunohistokimyasal boyamalar yapıldı.

Biyokimyasal analizler sonucunda, serumda böbrek hasar belirteçlerinin İ/R grubunda anlamlı derecede yükseldiği görülmüştür. ELISA ile ölçülen inflamatuvar, apoptotik ve oksidatif stres parametrelerinde İ/R grubunda ciddi oranda arttığı bulunmuştur. Histopatolojik analizlerde İ/R'nin böbrek dokusunda ciddi düzeyde hasar meydana getirdiği gözlenmiştir. SEMA3A'nın hem serum düzeyi hem de gen ekspresyonu İ/R hasarında arttığı tespit edilmiştir. Curcumin ve LOXblock-1'in ise semaforin-pleksin sistemi üzerinden inflamatuvar süreçleri, oksidatif stresi ve apoptozu azalttığı hem ölçümler hem de histopatolojik analizler ile gösterilmiştir. Curcumin'in antioksidan özelliği ile LOXblock-1'e göre İ/R hasarında daha etkili olduğu kanıtlanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada, renal I/R'nin sebep olduğu böbrek hasarına karşı CUR ve LOXblock-1'in semaforin-pleksin sistemi üzerinden etkileri aydınlatılarak ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Akut böbrek hasarı, İskemi/reperfüzyon, Semaforin-pleksin, Curcumin, LOXblock-1

SUMMARY

Ischemia/reperfusion (I/R) damage is one of the most important causes of acute kidney injury AKI, a clinical syndrome with kidney dysfunction and high mortality rates. New diagnostic biomarkers need to be defined to better illuminate the pathophysiology of AKI. SEMA3A, which is a member of the semaphorin family, has not been determined as an early indicator of AKI and as a biomarker in kidney diseases. In our study, it was aimed to investigate the protective effects of Curcumin, which is known for its antioxidant and anti-inflammatory properties and 12/15 lipoxygenase inhibitor LOXblock-1 against I/R damage in the kidney through inflammatory processes, oxidative stress, apoptosis and semaphorin-plexin system.

For this purpose, 40 Wistar albino rats were divided into five groups, with eight animals per group: Sham, I/R, I/R + DMSO, I/R + CUR, I/R + LOXblock-1. Only surgical stress procedure was applied to the sham group. 45 minutes of ischemia was applied to the left kidney and 24 hours of reperfusion in the I/R groups. 100 mg/kg CUR and 2 µg/kg LOXblock-1 were given intraperitoneally at the beginning of reperfusion. BUN, CREA, ALT, AST, UA, Na and K parameters were measured by auto-analyzer, while SEMA3A, PLXNA1, NRP1, TNF- α , IL-6, MCP1, CYCS, CASP3, TAS and TOS parameters were measured by ELISA method in serum samples. MDA, GSH levels and MPO activity were measured in determining oxidative damage in kidney tissue. mRNA expression levels of SEMA3A, PLXNA1, NRP1, TNF- α , IL-6 and MCP1 were evaluated by RT-PCR. Hematoxylin-eosin, TUNEL and immunohistochemical staining were performed for histopathological examinations.

As a result of biochemical analyzes, kidney damage markers in serum were significantly increased in the I/R group. It was found that the inflammatory, apoptotic and oxidative stress parameters measured by ELISA significantly increased in the I/R group. In histopathological analysis, it was observed that I/R caused serious damage to kidney tissue. SEMA3A was found to increase both serum level and mRNA expression in I/R damage. Curcumin and LOXblock-1 were shown that reduce inflammatory processes, oxidative stress and apoptosis via the semaphorin-plexin system by both measurements and histopathological analyzes. Curcumin was proved to be more effective than LOXblock-1 with its antioxidant feature in I/R damage.

Consequently, the effects of CUR and LOXblock-1 on the semaphorin-plexin system against the kidney damage caused by renal I/R were revealed.

Keywords: Acute kidney injury, Ischemia/reperfusion, Semaphorin-plexin, Curcumin, LOXblock-1

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
SUMMARY	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO DİZİNİ	ix
ŞEKİL DİZİNİ	x
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Akut Böbrek Hasarı	4
2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı	7
2.2.1. İnflamatuar süreçler	8
2.2.2. Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu	9
2.2.3. Hücre ölümü: nekroz ve apoptoz	10
2.3. Akut Böbrek Hasarında Semaforin ve Pleksinler	13
2.4. Curcumin	17
2.4.1. Antioksidan özellikleri	18
2.4.2. Antiinflamatuvar etkisi	19
2.4.3. Apoptotik etkileri	19
2.4.4. COX ve LOX'un düzenlenmesi	19
2.5. Lipoksijenazlar ve İnhibitörleri	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Deney Hayvanları	24
3.2. Grupların Oluşturulması	24
3.3. Deneysel İşlemlerde Kullanılan Sarf Malzemeler	26
3.4. Deneysel İşlemlerde Kullanılan Cihazlar	27
3.5. Anestezi ve Cerrahi İşlemler	27
3.5.1. Anestezi işlemi	27
3.5.2. Nefrektomi işlemi	27
3.5.3. İskemi/reperfüzyon işlemi	28
3.6. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması ve Değerlendirilmesi	29
3.6.1. Biyokimyasal analiz	29
3.6.2. Elisa analizleri	30
3.6.2.1 SEMA3A, PLXNA1, NRP1, MCP1, CYCS ve CASP3 parametrelerinin ölçülmesi	30

3.6.2.2 TNF- α ve IL-6 parametrelerinin ölçülmesi	32
3.6.2.3 Serumda total antioksidant durumunun ölçülmesi	34
3.6.2.4 Serumda total oksidant durumunun ölçülmesi	34
3.6.3. Real-Time PCR analizleri	35
3.6.3.1 RNA izolasyonu	35
3.6.3.2 RNA miktarının ölçülmesi	35
3.6.3.3 cDNA elde edilmesi	36
3.6.3.4 Real Time PCR işlemi	36
3.6.4. MDA analizi	38
3.6.5. MPO analizi	39
3.6.6. Glutasyon analizi	40
3.6.7. Protein analizi	41
3.6.8. Histopatolojik analiz	43
3.6.8.1 Böbrek doku örneklerinde immunohistokimyasal analizler	43
3.6.8.2 Böbrek doku örneklerinde apoptotik süreçlerin belirlenmesi	44
3.7. İstatistiksel Analiz	44
4. BULGULAR	45
4.1. Biyokimyasal Ölçüm Sonuçları	45
4.2. Elisa Analiz Sonuçları	48
4.3. Real-Time PCR Analiz Sonuçları	53
4.4. Böbrek Dokusunda MDA, MPO ve GSH Analiz Sonuçları	57
4.5. Histopatolojik Analiz Sonuçları	59
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	82
7. KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	98

TABLO DİZİNİ

Tablo 2.1	RIFLE, AKIN ve KDIGO sınıflandırması.....	5
Tablo 2.2	Böbrekte semaforin ekspresyonu.....	15
Tablo 2.3	Böbrekte pleksin ekspresyonu.....	16
Tablo 2.4	Böbrek hastalıklarında Curcumin'in hücrenel, moleküler ve biyokimyasal mekanizması.....	18
Tablo 3.1	Real-Time PCR için kullanılan primer dizileri.....	37
Tablo 3.2	RT-PCR işlem basamakları.....	37
Tablo 4.1	Deney gruplarında serum BUN, CREA, UA ve K ortalama \pm standart hata değerleri.....	45
Tablo 4.2	Deney gruplarında serum AST, ALT ve Na medyan 50(25-75) değerleri.....	45
Tablo 4.3	Deney gruplarında serum SEMA3A, PLXNA1 ve NRP1 ortalama \pm standart hata değerleri.....	48
Tablo 4.4	Deney gruplarında serum TNF- α , IL-6 ve MCP1 medyan 50(25-75) ve ortalama \pm standart hata değerleri.....	50
Tablo 4.5	Deney gruplarında serum TAS, TOS ve OSI ortalama \pm standart hata değerleri.....	51
Tablo 4.6	Deney gruplarında serum CYCS ve CASP3 ortalama \pm standart hata değerleri.....	53
Tablo 4.7	Deney gruplarına ait SEMA3A, PLXNA1 ve NRP1 gen ekspresyonu ortalama \pm standart hata değerleri.....	54
Tablo 4.8	Deney gruplarına ait IL-6 ve MCP1 gen ekspresyonu ortalama \pm standart hata değerleri.....	55
Tablo 4.9	Deney gruplarına ait böbrek dokusunda MDA, MPO ve GSH medyan 50(25-75) ve ortalama \pm standart hata değerleri.....	57
Tablo 4.10	Deney gruplarına ait böbrek kesitlerinde SEMA3A skorumlama değerleri.....	68

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1	İskemi ve reperfüzyonun patofizyolojik sonuçlarına şematik bakış.....	8
Şekil 2.2	İskemik AKI'de inflamatuvar yanıt.....	9
Şekil 2.3	İ/R sürecinde meydana gelen oksidatif stres ve inflamasyon mekanizmaları.....	10
Şekil 2.4	İ/R sürecinde hücre içi ve hücre dışı apoptotik yollar.....	12
Şekil 2.5	Memeli semaforin-pleksin sistemi.....	14
Şekil 2.6	Curcumin'in kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2.7	Lipoksijenazlar yolağı	21
Şekil 2.8	12/15 Lipoksijenaz inhibitörleri.....	23
Şekil 3.1	Nefrektomi işlem aşamaları.....	28
Şekil 3.2	İskemi ve reperfüzyon görüntüsü.....	29
Şekil 3.3	SEMA3A ve MCP1 standartlarının hazırlanışı.....	30
Şekil 3.4	PLXNA1 ve NRP1 standartlarının hazırlanışı.....	31
Şekil 3.5	CYCS ve CASP3 standartlarının hazırlanışı.....	31
Şekil 3.6	TNF- α standart hazırlanışı.....	32
Şekil 3.7	IL-6 standart hazırlanışı.....	33
Şekil 4.1	Gruplar arasında serum BUN, CREA ve UA seviyelerinin ortalama \pm standart hata grafiğı.....	46
Şekil 4.2	Gruplar arasında serum Na ve K seviyelerinin medyan 50(25-75) ve ortalama \pm standart hata grafiğı.....	47
Şekil 4.3	Gruplar arasında serum AST ve ALT aktivitelerinin medyan 50(25-75) grafiğı.....	47
Şekil 4.4	Gruplar arasında serum SEMA3A, PLXNA1 ve NRP1 ortalama \pm standart hata grafiğı.....	49
Şekil 4.5	Gruplar arasında serum TNF- α , IL-6 ve MCP1 medyan 50(25-75) ortalama \pm standart hata grafiğı.....	50
Şekil 4.6	Gruplar arasında Serum TAS, TOS ve OSI ortalama \pm standart hata grafiğı.....	52
Şekil 4.7	Gruplar arasında serum CYCS ve CASP3 düzeylerinin ortalama \pm standart hata grafiğı.....	53

Şekil 4.8	Böbrek dokusuna ait gruplar arasında SEMA3A, PLXNA1, NRP1 mRNA ekspresyon kat değişim grafiği	54
Şekil 4.9	Böbrek dokusuna ait gruplar arasında IL-6 ve MCP1 mRNA ekspresyon kat değişim grafiği.....	55
Şekil 4.10	TNF- α erime eğrisi analizi.....	56
Şekil 4.11	Gruplar arasında böbrek dokusundaki MDA, MPO ve GSH medyan 50(25-75) ve ortalama \pm standart hata değerleri grafiği.....	58
Şekil 4.12	Grup I renal doku ışık mikroskopik görüntüsü.....	59
Şekil 4.13	Grup II renal doku ışık mikroskopik görüntüsü.....	60
Şekil 4.14	Grup III renal doku ışık mikroskopik görüntüsü.....	60
Şekil 4.15	Grup IV renal doku ışık mikroskopik görüntüsü.....	61
Şekil 4.16	Grup V renal doku ışık mikroskopik görüntüsü.....	61
Şekil 4.17	Grup I renal doku TUNEL ışık mikroskopik görüntüleri.....	62
Şekil 4.18	Grup II renal doku TUNEL ışık mikroskopik görüntüleri.....	62
Şekil 4.19	Grup III renal doku TUNEL ışık mikroskopik görüntüleri.....	63
Şekil 4.20	Grup IV renal doku TUNEL ışık mikroskopik görüntüleri.....	63
Şekil 4.21	Grup V renal doku TUNEL ışık mikroskopik görüntüleri.....	64
Şekil 4.22	Grup I renal doku SEMA3A ışık mikroskopik görüntüleri.....	65
Şekil 4.23	Grup II renal doku SEMA3A ışık mikroskopik görüntüleri.....	66
Şekil 4.24	Grup III renal doku SEMA3A ışık mikroskopik görüntüleri.....	66
Şekil 4.25	Grup IV renal doku SEMA3A ışık mikroskopik görüntüleri.....	67
Şekil 4.26	Grup V renal doku SEMA3A ışık mikroskopik görüntüleri.....	67

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

AKD	Akut böbrek hastalığı
AKI	Akut böbrek hasarı
AKIN	Acute kidney injury network
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
BUN	Kan Üre Nitrojeni
Ca	Kalsiyum
CASP	Kaspaz
CAT	Katalaz
COX	Siklooksijenaz
CREA	Kreatinin
CUR	Curcumin
CYCS	Sitokrom c
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
Fe	Demir
GFR	Glomerüler filtrasyon hızı
GPCR	G proteinine bağlı reseptörler
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
H&E	Hematoksilen eosin
HpETE	Hidroperoksieikozatetraenoik asit
IL	İnterlökin
İ/R	İskemi-reperfüzyon
K	Potasyum
KBH	Kronik böbrek hastalığı
KDIGO	Kidney disease: improving global outcomes
LOX	Lipoksijenaz
LPS	Lipopolisakkarit

LT	Lökotrien
LX	Lipoksin
MCP	Monosit kemoatraktan protein
MPO	Myeloperoksidaz
MPTP	Mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözenekleri
Na	Sodyum
NF-kB	Nükleer faktör kappa b
NRP	Nörofilin
OSI	Oksidatif stress indeksi
PLXN	Pleksin
RIFLE	End-stage kidney disease
ROS	Reaktif oksijen türleri
RT-PCR	Gerçek- zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SEMA	Semaforin
SOD	Süper oksit dismutaz
TAS	Total antioksidan durum
TBA	Tiyobarbitürik asit
TEC	Tübüler epitelyal hücreler
TMB	Tetrametilbenzidin
TNF	Tümör nekroz faktör
TOS	Total oksidan durum
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling
UA	rik asit

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Böbrekler, üre, kreatinin ve ürik asit gibi metabolizma artıklarının atılması, hücre dışı sıvı hacminin düzenlenmesi, uygun asit-baz dengesinin sağlanması, serum ozmolalitesi ve elektrolit konsantrasyonlarının yanı sıra eritropoietin, 1,25-dihidroksi vitamin D ve renin gibi hormonların üretiminde hayati bir rol oynar (Wang & Garrett, 2017).

Böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi, böbrek hastalığı veya böbrek fonksiyonunu etkileyen patolojileri olan hastaların tedavisinde önemlidir. Akut böbrek hasarı (AKI) ise böbrekte oluşan ani fonksiyon kaybına bağlı olarak üre ve diğer azotlu atık ürünlerinin vücuttan atılamaması, hücre dışı sıvı hacmi ve elektrolit içeriğinin bozulmasıyla sonuçlanan klinik bir tablodur. Böbrek disfonksiyonu veya hasarı daha uzun bir süre içerisinde ortaya çıkabileceği gibi akut ve kronik böbrek hastalığı olan kişilerde altta yatan inflamatuvar süreçler sonucu hızlı bir şekilde de gelişebilir. Böbrek hasarı veya stres biyobelirteçleri risk değerlendirmesi için yeni araçlardır ve muhtemelen tedaviye rehberlik edebilir. Gerçekten de, AKI karmaşık bir sendromdur ve belki de sendromun farklı aşamalarını kapsayan çeşitli biyobelirteçlerden oluşan bir panelin kullanılması, etiyolojisini ve patofizyolojisini daha iyi anlamayı sağlayabilir ve gelecekteki tedaviler için hedefleri belirleyebilir (Marx vd., 2018). Bu nedenle, AKI'da yeni tanı biyobelirteçlerinin araştırılması hedeflenmektedir.

İ/R hasarı, bir organa kan akışının kısıtlanması, ardından kan akışının restorasyonu ve yeniden oksijenasyonu ile karakterizedir. Kaçınılmaz hasarlar infarktüs, sepsis ve organ transplantasyonundan sonra ortaya çıkabilir ve bu fenomen, reaktif oksijen türleri (ROS), sitokinler, kemokinler ve lökosit aktivasyonunu içeren inflamatuvar bir kaskad başlatarak doku hasarını şiddetlendirir (Yang vd., 2008; Gu vd., 2011). İ/R hasarı, akut böbrek yetmezliğinin en önemli nedenlerinden biridir (Friedewald & Rabb, 2004). İ/R kaynaklı böbrek hasarının tedavisi ve mekanizması ile ilgili çalışmalar popülerliğini korumaktadır. Hayvan modelleri, İ/R'nin mekanizmalarını anlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. İ/R'nin hem hastalarda hem de deney hayvanlarında ciddi histopatolojik ve biyokimyasal hasarlara yol açtığı kaydedilmiştir (Holderied & Anders, 2014; Bonventre & Zuk, 2004; Bonventre & Yang, 2011).

Semaforinler, hücre-hücre iletişiminin, farklılaşmasının, morfolojisinin ve fonksiyonunun çoklu yönlerini kontrol eden çözünür veya zara bağlı proteinlerdir. Etkilerinin çoğuna pleksinler denilen bir transmembran reseptörleri ailesi aracılık eder. Semaforinler ve pleksinler birçok organda çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerin merkezi düzenleyicileri olarak ortaya çıkmıştır. Semaforin ailesinden bazıları, hem tübüler hasarı teşvik eden inflamatuvar süreçlerde hem de böbrek fonksiyonunun restorasyonu için gerekli olan epitel onarım işlemlerinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Xia & Worzfeld, 2016). SEMA3A'nın, özellikle AKI'nın erken bir göstergesi ve böbrek hastalıklarında bir biyobelirteç olarak hizmet verme potansiyeline sahip olup olmadığını belirlemeyi hedefledik.

Curcumin, *Curcuma longa*'dan elde edilen bir polifenol bileşimidir. Sahip olduğu antioksidan özelliklerinden dolayı antiinflamatuvar, immünmodülatör, antitümöral ve antipsoriatik etkilere sahiptir. İ/R hasarının fizyopatolojisi üzerine yapılan çalışmalar, ROS'un reperfüzyondan sonra hasarlı dokudan üretildiğini ve makrofajları uyarak proinflamatuvar sitokinlerin salınımını indüklediğini bildirmiştir. Bu sitokinler, doku hasarını arttıran inflamatuvar yanıtı tetikler. Curcumin'in antioksidan özelliklerinin, oksidatif stres ve doku yıkımını, ayrıca böbrek İ/R hasarını azalttığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Thiyagarajan & Sharma, 2004). Bununla birlikte, İ/R ile indüklenen AKI'da curcumin'in koruyucu rolünün altında yatan spesifik mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır (Fan vd., 2017). Ayrıca, Curcumin'in AKI'da semaforin-pleksin sistemi üzerinde etkisi literatürde gözlenmediğinden ilk kez bu çalışmada araştırılması amaçlanmıştır.

Lipoksijenazlar, renal inflamasyon mekanizmalarının açıklanmasında önemli rollere sahiptir. Mevcut çalışmalar yeni lipoksijenaz inhibitörleri üzerinde durmaktadır. 12/15 lipojsijenaz inhibitörlerinden biri olan LOXblock-1, SEMA3A fonksiyonunun bir aracı olan 12/15 lipoksijenazı bloke ettiği ve SEMA3A ile indüklenen hasarı inhibe ettiği gösterilmiştir (Mikule vd., 2002). LOXblock-1 ile tedavi edilen SEMA3A mutant farelerde gözlemlenen bulgulara benzer şekilde, İ/R ve tübüler epitelyal hücrelerin apoptozunu azaltarak böbrek fonksiyon bozukluğunu önlediği gösterilse de mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır (Ranganathan vd., 2014).

Çalışmamızda, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği bilinen Curcumin'in ve yeni 12/15 lipoksijenaz inhibitörlerinden olan LOXblock-1'in İ/R'ye bağlı ortaya çıkan AKI'yı engellemesi yönünde bir tedavi stratejisi oluşturmada katkı sağlaması ve renal hasarın göstergesinde semaforin-pleksin sistemi üzerinden inflamatuvar süreçler, oksidatif stres ve apoptotik yollarda etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir. Ayrıca, AKI'da biyobelirteçlerin kullanımıyla ilgili sonuçların iyileştiğine dair kanıtlar hala eksiktir. Bu yüzden, SEMA3A gibi biyobelirteçlerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır. Bu bilgiler ışığında, Curcumin ve LOXblock-1'in böbrekte İ/R hasarına karşı koruyucu etkileri biyokimyasal parametreler, histopatolojik analizler ve gen ekspresyonu düzeyinde semaforin-pleksin sistemi üzerinden araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Böbrek Hasarı

Akut böbrek hasarı (AKI), çok sayıda etiyoloji ve patofizyolojik mekanizma ile ilişkili, böbrek fonksiyonunda azalma ile karakterize ciddi bir sendromdur (Hoste vd., 2018; Susantitaphong vd., 2014). Hastanede yatan hastalarda, kısa ve uzun dönem kötü sonuçlar ve artan sağlık maliyetleri ile ilişkili yaygın bir tanıdır (Chertow vd., 2005).

Son zamanlarda, Akut Hastalık Kalite Girişimi Çalışma Grubu (Acute Disease Quality Initiative Workgroup), AKI sonrası gelişen patolojik süreçleri ve olumsuz olayları yansıtmak için akut böbrek hastalığı (AKD) terimini önerdi. AKD, AKI başlangıç olayından sonra 7 günden uzun bir süre boyunca Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) birinci aşama kriterlerini sunarak tanımlanır. Bu tanım, kritik müdahalelerin böbrek hastalığının ilerlemesini potansiyel olarak değiştirdiği, bu nedenle kronik böbrek hastalığı (KBH) gelişimi, kardiyovasküler olaylar ve mortalite riski taşıyan bir popülasyonun tanındığı AKI sonrası dönemi içerir.

AKI'nın hasta prognozu üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, araştırmalar AKI gelişme riski olan hastaları değerlendirmek ve subklinik AKI teşhisi için yöntemlerin yanı sıra AKI epidemiyolojisini anlamının çok önemli olduğu önleme ve tedavi stratejilerine odaklanmıştır.

Geçen yüzyıl boyunca, AKI'nın tanımı önemli ölçüde gelişmiştir. Aslında, AKI tanısı klinik ve biyokimyasal seviyeden moleküler seviyeye değişmiş, tübüler hasar biyobelirteçlerindeki en son gelişmeler tanının doğruluğunu artırmıştır. AKI'yi tanımlamak ve sınıflandırmak için standart sınıflandırmaların kullanılması, klinik uygulama ve epidemiyolojik araştırmalarda bu hastalığın tanınmasını artırmaya yardımcı olmuştur, bu da farklı ortamlarda AKI insidansını tanımlamaya ve olumsuz sonuçlarla ilişkisini değerlendirmeye yol açmıştır (Husain-Syed & Ronco, 2018). Bu sayede, AKI'nın önlenmesi, erken teşhisi ve hızlı tedavisinin önemi vurgulanmıştır.

Son zamanlarda, KDIGO çalışma grubu, klinik uygulama ve araştırmalarda uygulanabilecek basitleştirilmiş ve entegre kriterler sağlamak için End-Stage Kidney Disease (RIFLE) ve Acute Kidney Injury Network (AKIN) sınıflandırmalarını birleştirerek Tablo 2.1'deki gibi bir sınıflandırmayı geliştirmiştir (Khwaja, 2012).

Tablo 2.1 RIFLE, AKIN ve KDIGO sınıflandırması

Sınıf/Evre	SCr/GFR			UO		
	RIFLE	AKIN	KDIGO	RIFLE	AKIN	KDIGO
Risk/1*	↑SCr X 1.5 veya ↓GFR >25%	↑SCr ≥ 26.5 μmol/L ≥0.3 mg/dL veya ↑SCr ≥150 - 200% (1.5 - 2X)	↑SCr ≥ 26.5 μmol/L ≥0.3 mg/dL veya ↑SCr ≥150 - 200% (1.5 - 2X)	<0.5 mL/kg/s (>6 s)	<0.5 mL/kg/s (>6 s)	<0.5 mL/kg/s (>6 s)
Hasar/2*	↑SCr X 2 veya ↓GFR >50%	↑SCr > 200 - 300% (>2 - 3X)	↑SCr > 200 - 300% (>2 - 3X)	<0.5 mL/kg/s (>12 s)	<0.5 mL/kg/s (>12 s)	<0.5 mL/kg/s (>12 s)
Yetmezlik/3*	↑SCr X 3 veya ↓GFR >75% SCr ≥ 353.6 μmol/L (≥ 4 mg/dL) ↑SCr > 44.2 μmol/L (>0.5mg/dL)	↑SCr > 300% (>3X) SCr ≥ 353.6 μmol/L (≥ 4 mg/dL) ↑SCr > 44.2 μmol/L (>0.5mg/dL)	↑SCr > 300% (>3X) SCr ≥ 353.6 μmol/L (≥ 4 mg/dL) veya böbrek replasman tedavisinin başlatılması	<0.5 mL/kg/s (>24 s) veya anüri (>12 s)	<0.5 mL/kg/s (24 s) veya anüri (12s)	<0.5 mL/kg/s (24 s) veya anüri (12s) veya GFR < 35 mL/dk/1.73 m ² 18 yaşından daha genç hastalarda

SCr: serum kreatinin; GFR: glomerüler filtrasyon hızı; UO: idrar çıkışı; RIFLE: Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function (en az 4 hafta diyaliz bağımlılığı), son dönem böbrek yetmezliği (ayda en az 3 kez diyaliz bağımlılığı); * Risk sınıfı (RIFLE) evre 1'e (AKIN ve KDIGO) karşılık gelir, hasar sınıfı (RIFLE) evre 2'ye (AKIN ve KDIGO) karşılık gelir ve yetmezlik sınıfı (RIFLE) aşama 3'e (AKIN ve KDIGO) karşılık gelir, ↑ artma, ↓ azalma.

Buna göre AKI, SCr'de 48 saat içinde en az 0.3 mg/dL'lik bir artış veya SCr'de, önceki yedi gün içinde meydana geldiği bilinen veya var olduğu varsayılan taban seviyesinin 1.5 katından fazla bir artış olarak tanımlanır. UO ise altı saatte 0.5 mL/kg/s'den daha az bir değere düşer.

Bu sınıflandırmaların AKI epidemiyolojisinin tanımlanmasındaki önemine rağmen, AKI tanımını ve sonuçları tahmin etmede uygulanmasını geliştirmek için yeni biyobelirteçlerin araştırılması gerektiği giderek daha fazla kabul edilmektedir. Bu

durumun en önemli sebebi, sınıflandırmaların AKI'nın sensitif ve spesifik olmayan belirteçleri olan, ayrıca süresini veya nedenini hesaba katmayan SCr, eGFR ve UO parametrelerine dayanmasıdır (Thomas vd., 2015). SCr değeri, üretimi (yaş, cinsiyet, diyet, kas kütlesi), eliminasyonu (önceki böbrek fonksiyon bozukluğu), sekresyonu (ilaçlar) ve daha da önemlisi sıvı dengesi varyasyonlarına göre konsantrasyonu değiştiren faktörlerden etkilenir. Bununla birlikte, UO'nun idrar sondası olmadan değerlendirilmesi zordur. Hipovolemik durum, diüretiklerle önemli ölçüde değiştirilebilir ve UO'nun gerçek vücut ağırlığına göre ayarlanması AKI insidans raporlarını etkiler (Macedo vd., 2011; Waikar vd., 2012; Thongprayoon vd., 2016).

Son zamanlarda, AKI'nın potansiyel biyobelirteçleri tanımlanmıştır. İdeal olarak, yeni biyobelirteçler spesifik olmalı, nedeni tanımlamalı, risk altındaki hastaları belirlemeli, erken tanı koymalı, yaralanmanın ciddiyetini sınıflandırmalı ve sonuçları tahmin etmelidir. AKI patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasıyla, glomerüller tarafından filtrelenen proteinler, yaralanma sonrası tübüler hücreler tarafından salınan enzimler ve inflamatuvar araçlar dahil olmak üzere yeni biyobelirteçler tanımlanmıştır (Ostermann, Philips & Forni, 2012). Bunlar arasında sistatin C, nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL), N-asetil-glukozaminidaz (NAG), böbrek hasarı molekülü 1 (KIM-1), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8), interlökin 18 (IL-18), karaciğer tipi yağ asidi bağlayıcı protein (L-FABP), kalprotektin, idrar anjiyotensinojen, idrar mikroRNA'ları, insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 7 (IGFBP7) ile kritik hasta ve cerrahi hastaları başta olmak üzere çoklu ortamlarda değerlendirilen doku inhibitörü metalloproteinazlar 2 (TIMP-2) yer almaktadır (Vanmassenhove vd., 2013; Kashani, Cheungpasitporn & Ronco, 2017; Lima & Macedo, 2018).

Hem serumda hem de idrarda tespit edilebilen bu biyobelirteçlerin çoğu erken AKI tahmini ile önemli ölçüde ilişkilendirilmiştir. Bu yeni biyobelirteçlerin diyaliz ihtiyacı, böbrek iyileşmesi, KBH'ye ilerleme ve mortalite ile ilişkisi de bildirilmiştir, ancak daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Yeni biyobelirteçlerin geliştirilmesindeki mevcut ilerlemeye rağmen, bazı dezavantajlar klinik uygulamada yaygın olarak uygulanabilirliklerini sınırlandırmaktadır. Örneğin, pre-renal ve renal AKI'yı güvenilir bir şekilde ayırt edememektedir; ayrıca, yaş, cinsiyet, diabetes mellitus ve kronik inflamasyon vb. çeşitli hasta özellikleri ve komorbiditeleri gibi varyasyonlar, geçerliliklerini sınırlamaktadır. Testle ilişkili artan maliyet ve doğruluğu artırmak için yapılması gereken çoklu değerlendirme ihtiyacı da etkinliği

kısıtlamaktadır. Ayrıca, bu biyobelirteçlerin kullanımıyla ilgili sonuçların iyileştiğine dair kanıtlar hala eksiktir (Vanmassenhove vd., 2013; Kashani, Cheungpasitporn & Ronco, 2017; Lima & Macedo, 2018; Gameiro vd., 2018).

Gerçekten de, AKI karmaşık bir sendromdur ve belki de sendromun farklı aşamalarını kapsayan çeşitli biyobelirteçlerden oluşan bir panelin kullanılması, etiyojisini ve patofizyolojisini daha iyi anlamayı sağlayabilir ve gelecekteki tedaviler için hedefleri belirleyebilir (Marx vd., 2018).

2.2. İskemi Reperfüzyon Hasarı

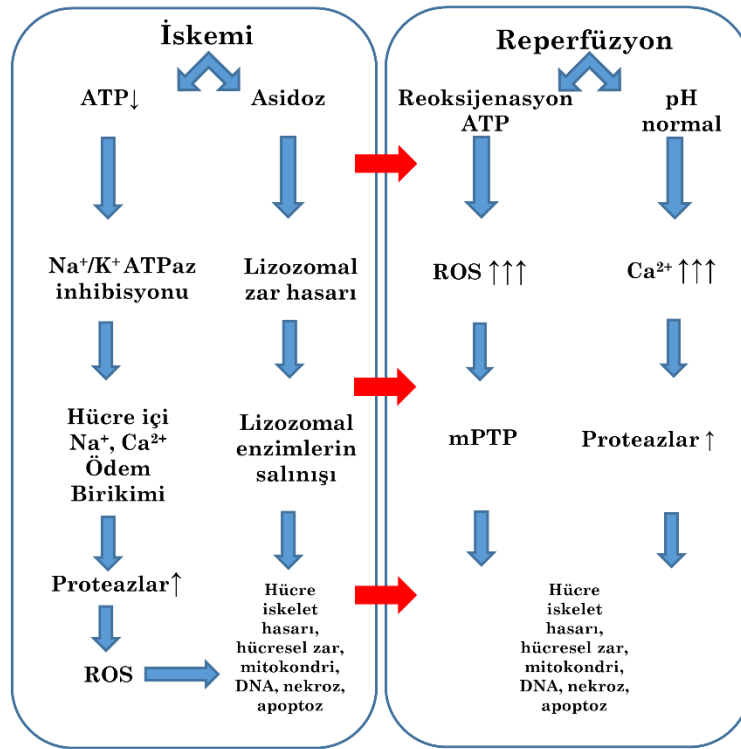
Böbrekte İskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarı, böbrek fonksiyon bozukluğu ve yüksek mortalite oranlarına sahip klinik bir sendrom olan AKI'nın en önemli sebeplerinden biridir (Hoste vd., 2006, Kellum. Unruh & Murugan, 2011).

İ/R hasarı, bir organa kan akışının kısıtlanması, ardından kan akışının restorasyonu ve yeniden oksijenasyonu ile karakterizedir. Kaçınılmaz hasarlar infarktüs, sepsis ve organ transplantasyonundan sonra ortaya çıkabilir ve bu fenomen, reaktif oksijen türleri (ROS), sitokinler, kemokinler ve lökosit aktivasyonunu içeren inflamatuvar bir kaskad başlatarak doku hasarını şiddetlendirir (Yang vd., 2008; Gu vd., 2011).

İskemik süreçte, Şekil 2.1'de gösterildiği gibi hücrelere giden oksijen miktarı azaldığında, aerobik metabolizmadan anaerobik metabolizmaya geçiş sonucu adenozin trifosfat (ATP) üretiminde azalma meydana gelir, laktat oluşumuna bağlı pH düzeyleri azalır ve hücre içi asidoz oluşur. Daha sonra, lizozomal zararın hasarlanmasına bağlı olarak lizozomal sindirim enzimleri hücre içerisine sızarak, hücre iskeletinin parçalanmasına ve membrana bağlı Na^+/K^+ ATPaz gibi önemli membran proteinlerinin inhibisyonuna neden olur (Kako vd., 1988; Sugiyama vd., 1988). İskemik dönemde, sitokrom (Cyt), nitrik oksit sentaz (NOS), ksantin oksidaz ve azalmış nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz aktivasyonuna bağlı olarak tüm İ/R sürecine kıyasla küçük miktarlarda ROS üretilir (Li & Jackson 2002; Simone vd., 2014).

Reperfüzyon sürecinde, oksijen seviyeleri artar ve daha önce iskemik hücreler için zararlı olan pH normalleşir. Hücre içi Ca^{2+} seviyesi daha da artar, bu da hücre yapısına hasar veren ve hücrenin ölümüne sebep olan kalpainleri aktive eder

(Salvadori, Rosso & Bertoni, 2015). Oksijenasyonun restorasyonu, antioksidan kapasitesinde bir azalma ile birlikte büyük miktarlarda ROS üretimine yol açar (Martin vd., 2019). Ayrıca, ROS ile birlikte mitokondriyal Ca^{2+} yükündeki artış, mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin (mPTP) açılmasına, apoptoz ve nekroz yoluyla hücre ölümünü indükleyebilen sitokrom C (CYCS), süksinat ve mitokondriyal DNA (mtDNA) gibi maddelerin salınmasına neden olur ve bağışıklık sisteminin aktivasyonunu gerektiren tehlike/hasara ilişkili moleküler paternler (DAMP) olarak hareket edebilir (Mills, Kelly & O'Neill, 2017).

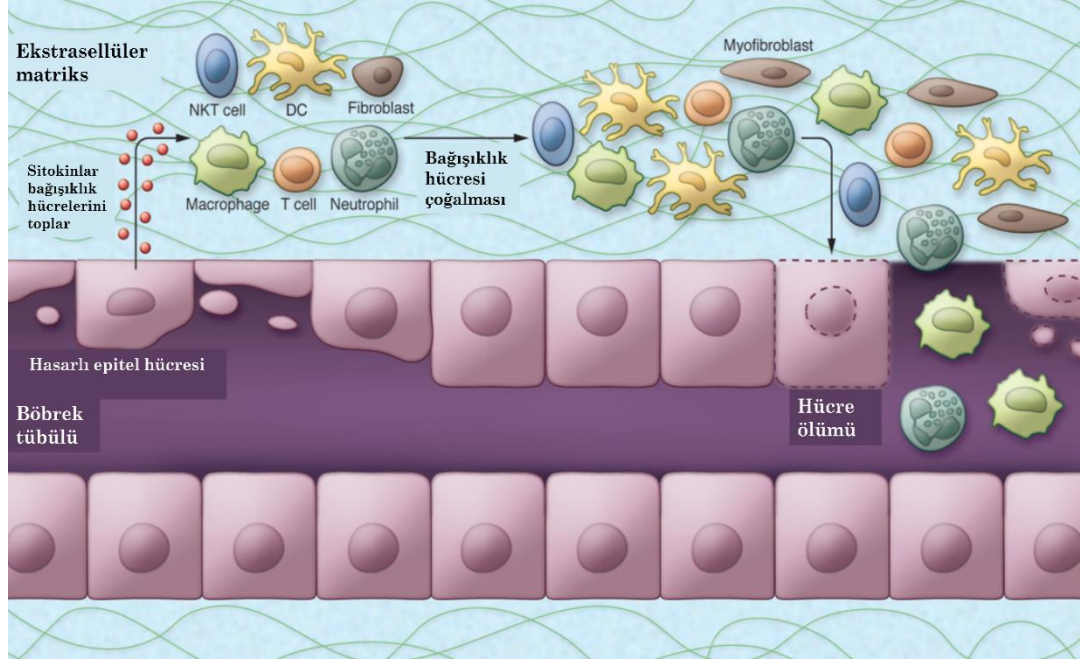


Şekil 2.1 İskemi ve reperfüzyonun patofizyolojik sonuçlarına şematik bakış

2.2.1. İnflamatuar süreçler

Böbrek İ/R hasarının ana nedenlerinden biri olan inflamasyon, çeşitli hücre tiplerini birbirine bağlar ve İ/R patofizyolojisinde önemli bir rol oynar. Renal İ/R, daha fazla böbrek hasarına neden olan bir inflamatuvar kaskadı tetikler, bu nedenle inflamatuvar yanıtların inhibisyonu böbrek dokusunu korumak için terapötik bir yaklaşımdır (Jang vd., 2009; Stroo vd., 2010). Böbrek tübüllerindeki epitel hücreleri inflamatuvar süreçte aktif olarak rol oynamaktadır. Şekil 2.2’de görüldüğü gibi tübüler hücreler tümör nekroz faktör-a (TNF- α), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1),

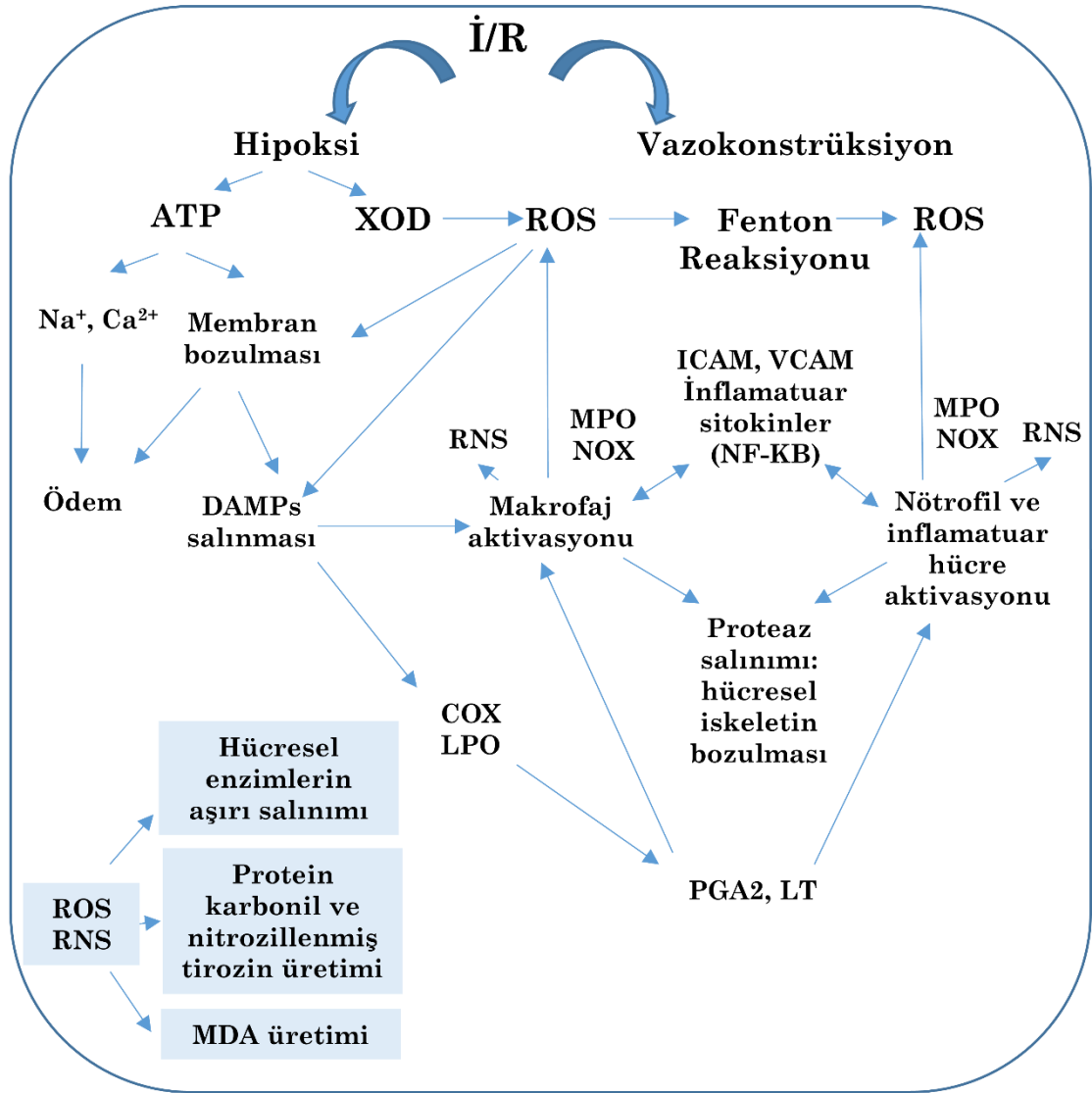
interlökin-8 (IL-8), interlökin-6 (IL-6), interlökin-1 β (IL-1 β), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), kemokin ligandı-5 (RANTES) ve epitelyal nötrofil aktive edici protein 78 (ENA-78) gibi proinflamatuvar ve kemotaktik sitokinlerin üretilmesine ek olarak, inflamatuvar hücreleri de aktive eder (Bonventre & Zuk 2004). Tübüler hücreler ayrıca T lenfosit aktivitesini düzenleyen Toll benzeri reseptörleri (TLR), kompleman ve kompleman reseptörlerini ve ko-stimülatör molekülleri ekspres eder.



Şekil 2.2 İskemik AKI'de inflamatuvar yanıt (Bonventre & Yang, 2011)

2.2.2. Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu

İnflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ROS ve reaktif azot türlerinin (RNS) üretimini tetikler. Şekil 2.3'te görüldüğü gibi İ/R sırasında hasarlı doku; mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu, ATP tükenmesini, hücre içi Ca²⁺ konsantrasyonunu ve membran fosfolipit proteazlarının aktivasyonunu değiştiren oksidatif strese neden olan aşırı miktarda ROS üretir (Malek & Nematbakhsh, 2015). İ/R hasarının reperfüzyon fazı sırasında kan akışı, serbest radikal doku yaralanmalarının ana yolu olarak lipid peroksidasyonuna yol açan serbest oksijen radikalleri üretebilir (Paller, Hoidal & Ferris, 1984). Ayrıca katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzim sisteminin baskılanması, İ/R hasarının patofizyolojisinden sorumlu olabilir (Singh vd., 1993). Bu nedenle, bu yolu inhibe etmek veya serbest radikal üretimini önlemek İ/R hasarı sırasında dokuyu koruma stratejisidir.



Şekil 2.3 İ/R sürecinde meydana gelen oksidatif stres ve inflamasyon mekanizmaları (Akbari-Kordkheyli vd, 2019)

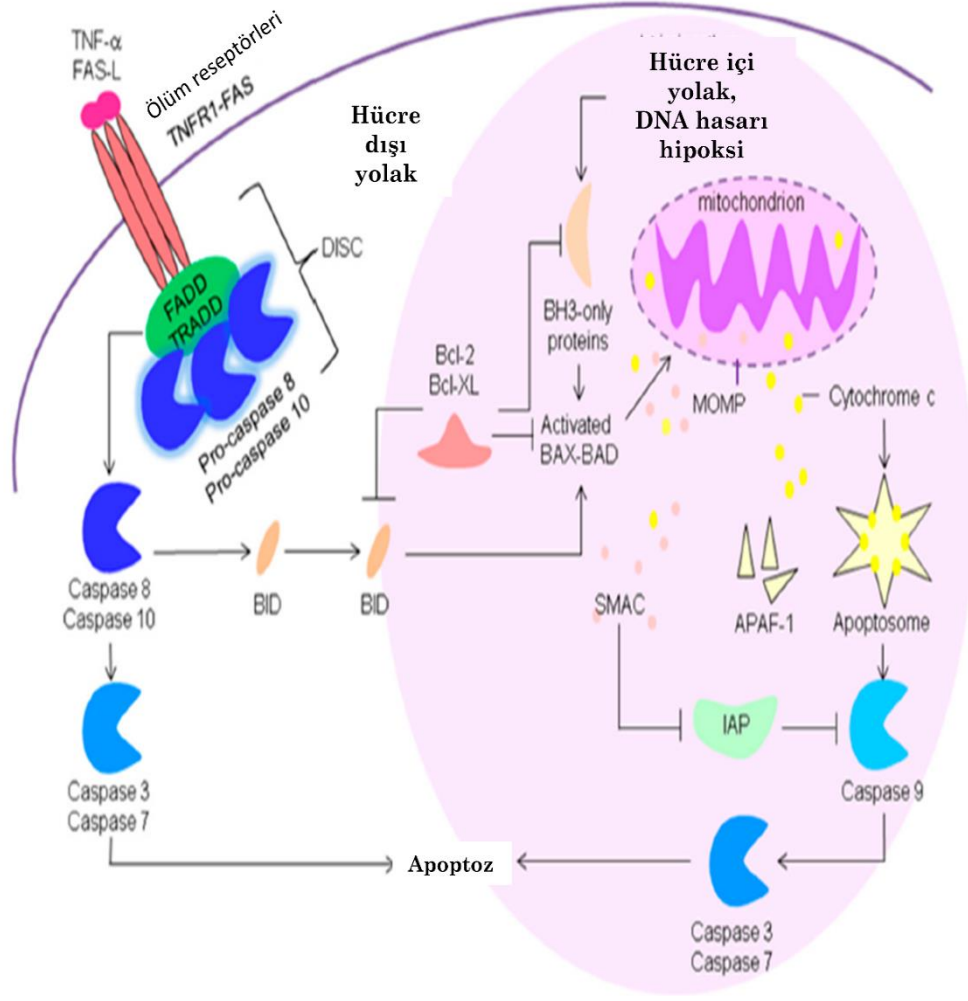
2.2.3. Hücre ölümü: nekroz ve apoptoz

İ/R hücre ölüm programlarının aktivasyonuna yol açar. Bu programlardan nekroz en kontrolsüz formdur. Hücrenin şişmesi ve ardından hücre zarını yırtılmasından kaynaklanır (Hotchkiss vd., 2009). Bu olay, hücre fragmanlarının hücre dışı boşluğa kontrolsüz bir şekilde salınmasına yol açmaktadır. Bu fragmanlar DAMP olarak görev yaparak doğal ve uyarılabilir bağışıklık sisteminin aktive edilmesi ile inflamatuvar hücrelerin dokuya sızmasını ve farklı sitokinlerin salınmasını sağlar.

Kontrolsüz nekroz sürecinin aksine, apoptoz; kaspaz sinyalleme kaskadının aktivasyonu ile kendi kendini sınırlayan programlanmış bir hücre ölümüyle sonuçlanan oldukça düzenlenmiş ve kontrollü bir süreçtir.

Ca^{2+} ve ROS oluşumunun artışı ile birlikte membran transportundaki değişiklikler, mPTP oluşumunu tetikleyebilen proapoptotik proteinleri aktive eder (Crompton, 1999). Cyt c gibi mitokondri bileşenlerinin salımı, apoptoz ve nekroza yol açan kaspaz-3 (CASP3) ve kaspaz-9 (CASP9) aktivitelerini uyarabilir (Martinou & Youle, 2011). İskemi sırasında glikolize bağlı asidoz mPTP oluşumunu önler. Bununla birlikte, reperfüzyonda, pH normalleştikten sonra mPTP mevcut olabilir. Bu nedenle, hücre ölümü genellikle reperfüzyon sırasında ortaya çıkar (Otsuki vd., 2005).

Apoptoz; DNA hasarı, p53 aktivasyonu, aşırı glikoliz, Cyt c atılımı ve ölüm reseptörleri yoluyla hücre dışı yolaklar ile olabileceği gibi hücre içi yolaklarla da olabilir. Hücre içi yolaklarda, B hücresi lösemi/lenfoma 2 (Bcl2) ailesi proteinlerinin en önemli düzenleyiciler olduğu kanıtlanmıştır. Bcl2 protein ailesi, proapoptotik elemanlardan (Bax, Bak, Bad ve Bid) ve antiapoptotik elemanlardan (Bcl-2, Bcl-Xl ve Bcl-W) oluşur. Hücre dışı yolaklarda, TNF- α ve Fas ligandı (FasL) gibi inflamatuvar sitokinler apoptozda ana role sahiptir. Şekil 2.4'teki gibi, reseptör aktivasyonu sonrasında CASP3 aktivasyonunu uyaran CASP-8 aktivitesine yol açabilir. MPTP oluşumu sırasında ATP üretimi durdurulur, bu da kaspaz aktivasyonu, plazma membranında bozulma ve nekroptoz olarak bilinen nekrotik hücre ölümünün inhibisyonu ile sonuçlanır.



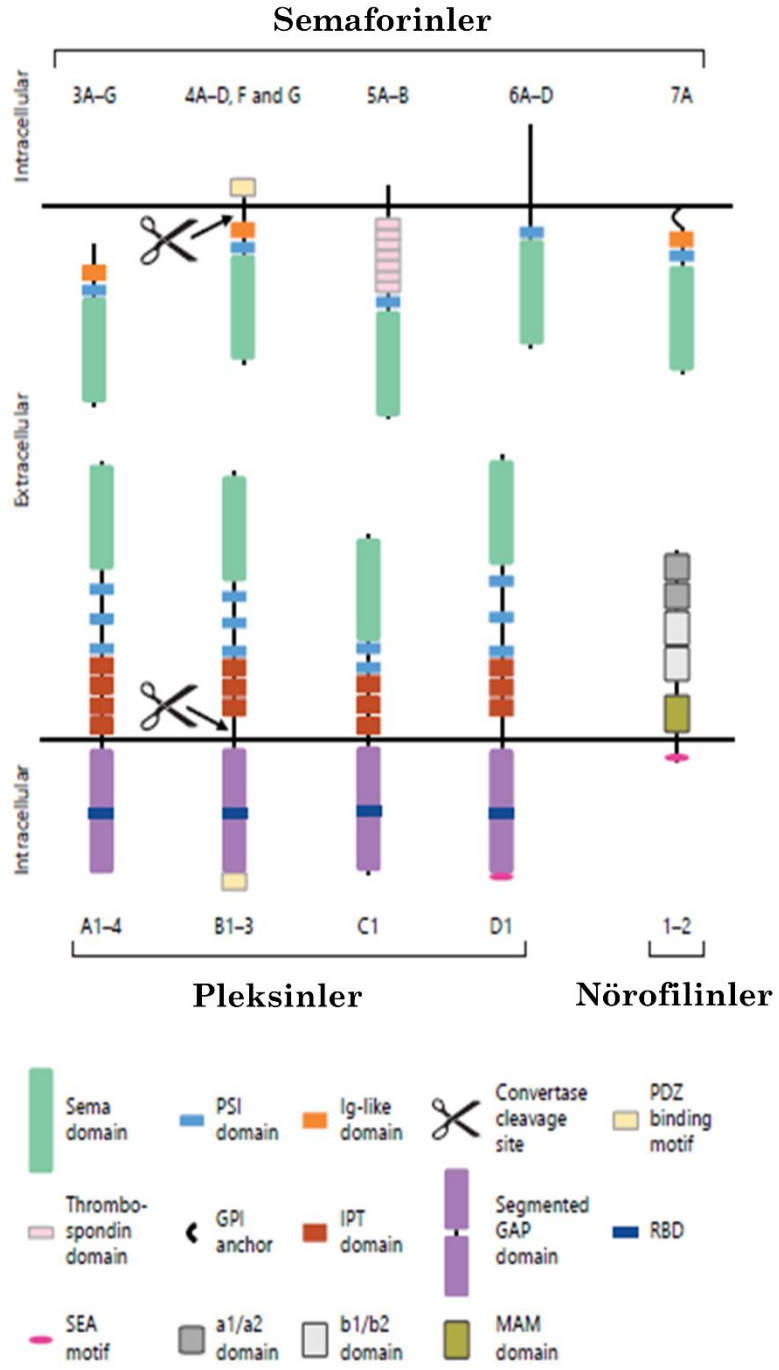
Şekil 2.4 İ/R sürecinde hücre içi ve hücre dışı apoptotik yollar (Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020)

2.3. Akut Böbrek Hasarında Semaforin ve Pleksinler

Semaforinler, “sema” adı verilen ortak bir domaini paylaşan, salgılanan ve membrana bağlı proteinleri kodlayan bir gen ailesini oluşturur. Semaforin adı, Yunanca “sinyal” anlamına gelen “sema” ve taşınmak anlamına gelen “phore” sözcüklerinden oluşur. Semaforinler, başlangıçta sinir sistemindeki akson kılavuz molekülleri olarak ortaya çıkmışken artık böbrek, bağışıklık, sinir, kemik ve kardiyovasküler sistemlerde, hem gelişim sırasında hem de yetişkin organizmada çoklu hücrel fonksiyonların anahtar düzenleyicileri olarak kabul edilmektedirler (Worzfeld & Offermanns, 2014; Jongbloets & Pasterkamp, 2014).

Şekil 2.5’te gösterildiği gibi memelilerde, yapısal özelliklere bağlı olarak üç–yedi arasında olmak üzere beş sınıfa ayrılan 20 semaforin tanımlanmıştır. Tek geçişli transmembran proteinlerinin bir ailesi olan pleksinler, ana semaforin reseptörlerini temsil eder ve dört alt aileye, A–D olarak sınıflandırılır. Semaforin ve pleksinlerin yapısal özelliği, semaforin-pleksin etkileşimine aracılık eden ~ 500-amino-asit içeren yedi kanatlı β -pervane kıvrımı olan Sema alanıdır. Bazı durumlarda, semaforinlerin pleksinlere bağlanması, pleksin (PLXN) yardımcı reseptörleri olan nörofilinlerle (NRP) stabilize edilir (Worzfeld & Offermanns, 2014).

Semaforin ve pleksinlerin, böbrek organogenezi sırasında eksprese edildiği, üreter tomurcuğunun dallanması, glomerüler filtrasyon bariyerinin oluşturulması ve renal vaskülatürün biçimlendirilmesi gibi çeşitli gelişimsel süreçleri kontrol ettiği gösterilmiştir (Perälä, Sariola & Immonen, 2012; Reidy & Tufro, 2011).



Şekil 2.5 Memeli semaforin-pleksin sistemi (Xia & Worzfeld, 2016)

Tablo 2.2 ve 2.3’de görüldüğü gibi semaforin-pleksin sinyallerinin, renal patofizyolojinin birçok yönünde yer aldığı görülmektedir (Xia & Worzfeld, 2016). Semaforin ve pleksinlerin biyolojik rolleri ve böbrek hastalığında biyobelirteç olarak potansiyellerinin aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.

Tablo 2.2 Böbrekte semaforin ekspresyonu (Xia & Worzfeld, 2016)

Semaforinler	Sağlıklı böbrekte ekspresyonu	Tür	Hastalıkta ekspresyon değişiklikleri
SEMA3A	Podositler	İnsan	Diyabetik nefropatide ↑
		Fare	STZ kaynaklı diyabet ↑
		Sıçan	Değişiklik gözlenmedi
	Distal tübüllerin ve toplama kanallarının TEC'leri	İnsan	Diyabetik nefropatide ↔
		Fare	İ/R hasarında proksimal tübüllerin TEC'lerinde ↑
Sıçan	Değişiklik gözlenmedi		
SEMA3B	Podositler (immortalize)	Fare	Değişiklik gözlenmedi
SEMA3C	Podositler (immortalize)	Fare	Değişiklik gözlenmedi
SEMA3D	Podocitler (immortalize)	Fare	Değişiklik gözlenmedi
SEMA3E	Podocitler (immortalize)	Fare	Değişiklik gözlenmedi
SEMA3F	Podositler	Fare, Sıçan	Değişiklik gözlenmedi
	Distal tübüllerin ve toplama kanallarının TEC'leri	Fare, Sıçan	Değişiklik gözlenmedi
SEMA4A	Proksimal tübüllerin TEC'leri	Fare	İ/R hasarında ↑
SEMA4B	Tüm tübüleler segmentlerin TEC'leri	Fare	İ/R hasarında ↑
SEMA4C	Glomerüler	Fare	İ/R hasarında ↔
	İnterstisyel hücreler	Fare	İ/R hasarında ↑
SEMA4D	Proksimal tübüllerin TEC'leri	Fare	İ/R hasarında ↑
SEMA4F	Tüm böbrek (lokalizasyon belirsiz); düşük seviyelerde ifade	Fare	İ/R hasarında ↔
SEMA4G	Tüm böbrek (lokalizasyon belirsiz); yüksek seviyelerde ifade	Fare	İ/R hasarında ↑ ↓ zamana göre değişim

Tablo 2.3 Böbrekte pleksin ekspresyonu (Xia & Worzfeld, 2016)

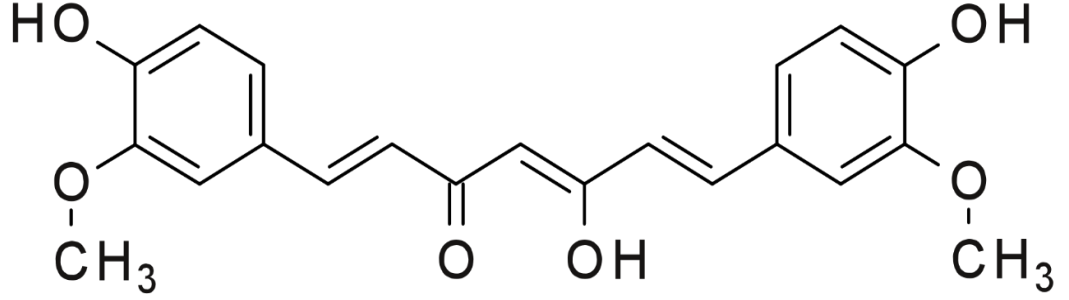
Pleksinler	Sağlıklı böbrekte ekspresyonu	Tür	Hastalıkta ekspresyon değişiklikleri
Pleksin A1	Podositler (immortalize)	Fare	Değişiklik gözlenmedi
	Tüm böbrek (lokalizasyon belirsiz)	Fare	İ/R hasarında ↑ STZ kaynaklı diyabet↔
Pleksin A2	Podositler (immortalize)	Fare	Değişiklik gözlenmedi
	Tüm böbrek (lokalizasyon belirsiz)	Fare	İ/R hasarında ↔ STZ kaynaklı diyabet ↑
Pleksin A3	Podositler (immortalize)	Fare	Değişiklik gözlenmedi
	Tüm böbrek (lokalizasyon belirsiz)	Fare	STZ kaynaklı diyabet↔ İ/R hasarında ↓
Pleksin B1	Glomerüller	Fare	Değişiklik gözlenmedi
	Distal tübüllerin ve toplama kanallarının TEC'leri	Fare	Değişiklik gözlenmedi
Pleksin B2	Podositler (immortalize)	Fare	Değişiklik gözlenmedi
	Glomerüller	Fare	Değişiklik gözlenmedi
Pleksin D1	Tüm tübüleler segmentlerin TEC'leri	Fare	İ/R hasarında ↑
	Podositler (immortalize)	Fare	Değişiklik gözlenmedi

AKI'nın bir sonucu olarak, tübüler epitelyal hücreler (TEC) nekroz veya apoptoz sonucu ölür, tübüler bütünlüğü ve işlevi geri kazanmak için hayatta kalan TEC'lerin ayırt edilmesini ve çoğalmasını tetikler. Bu onarım süreci, tübüleri çevreleyen interstisyumdaki inflamatuvar yanıtın kritik olarak etkilenir (Bonventre & Yang, 2011). Birkaç semaforin ve pleksinin hem tübüler yaralanmayı destekleyen inflamatuvar süreçlerde hem de böbrek fonksiyonunun restorasyonu için gerekli olan epitelyal onarım süreçlerinde çok önemli rol oynadığı tablolarda gösterilmiştir.

Semaforin 3A (Sema3A), podositlerin yanı sıra distal ve toplama tübüllerinde eksprese edilir. Sema3A sinyaline, bağlanma reseptörü NRP1 ve sinyal reseptörleri PLXN A1 veya A3'ün bir kompleksi aracılık eder (Xia & Worzfeld, 2016). AKI'da Sema3A'nın rolünü, epitelyal hücre apoptozunu ve inflamasyona aracılık edip etmediğini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

2.4. Curcumin

Curcumin (1E,6E)-1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion (Şekil 2.6), tumeric olarak adlandırılan, *Curcuma longa* (Zingiberaceae familyası) rizomundan türetilen biyolojik olarak aktif doğal polifenoldür (Pulido-Moran vd., 2016).



Şekil 2.6 Curcumin'in kimyasal yapısı

Curcumin, sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, sindirim sistemi, solunum sistemi, endokrin sistemi ve böbrek sisteminde görülen çeşitli rahatsızlıkları tersine çevirmektedir. Son zamanlarda yapılan ve iyi tasarlanmış klinik çalışmalara göre, curcumin tüketimi metabolik sendrom, cilt hastalıkları, kanser, bağırsak iltihabı, depresyon, artrit, yağlı karaciğer hastalığı ve premenstrüel sendromuna karşı olumlu etki göstermiştir (Mantzorou vd., 2018). Oral curcumin uygulaması üzerine önemli bir toksisite rapor edilmemiştir, ancak bazı gastrointestinal rahatsızlıklar kayıtlıdır (Soleimani, Sahebkar & Hosseinzadeh, 2018). Curcumin'in böbrek hastalıkları üzerine hüresel, biyokimyasal ve moleküler düzeyde etki mekanizması tablo 2.4'te gösterilmiştir (Patel vd., 2019).

Tablo 2.4 Böbrek hastalıklarında Curcumin'in hücrese, moleküler ve biyokimyasal mekanizması

<p>↓tübüler fibrozis, ↓oksidatif hasar, ↓inflamasyon, ↓iskemi böbrek hasarı ↓snail-1, ↓IL'ler, ↓MMP'ler, ↑Mn-SOD, ↓caspase-1, ↓NLRP3, ↑Nrf2, ↑SphK1-S1P sinyal yolağı, ↓trigliserit, ↓PKC-a, ↓PKCβ1, ↑p38MPAK-HSP25 yolağı, ↓Egr-1, ↓c-fos, ↓p-ERK, ↓p-MEK, ↓B-raf, ↓Ras, ↑Raf-1, ↑NGFI-A bağı (NAB)-2, ↓TGF-b signaling, ↓MDA, ↑GPx, ↓fibronectin, ↓COX-2, ↓TNF-α, ↓NF-kappaB p65, ↓p22-phox ve ↓p67- phox</p>

Curcumin'in böbrek hastalıkları üzerindeki etkisinin semaforin-pleksin sistemi ile ilişkisi araştırılmamış ve aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.

2.4.1. Antioksidan özellikleri

Curcumin'in moleküler yapısında zincir kırma veya H veren fenolik grupların varlığından dolayı antioksidatif özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Curcumin, demir kaynaklı lipit peroksidasyonunu, ROS oluşumunu ve demir iyonlarının oksidasyonunu inhibe eder (Reddy & Lokesh, 1996). Curcumin'in özellikle süperoksitlere ve hidroksil iyonlarına ilişkin serbest radikal süpürücü özelliğı, moleküler yapısında bulunan H verici fenolik gruplarına bağlanabilir (Masuda ve diğerleri, 2001).

2.4.2. Antiinflatuar etkisi

Curcumin'in çeşitli hastalıklardaki yararlı etkileri kısmen bağışıklık sistemini modüle etme yeteneğinden kaynaklanabilir (Jagetia & Aggarwal, 2007). Bu bulgular ile birlikte, bağışıklık bozukluklarının tedavisi için Curcumin'in daha fazla değerlendirilmesi gerektirmektedir. Curcumin'in antiinflatuar etkilerine yoğun ilgi artmaktadır. Araştırmacılar Curcumin'in çeşitli proinflatuar sitokinleri ve kemokinleri regüle eden, antikor tepkilerini arttıran, T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar, nötrofiller, doğal öldürücü hücreler ve dendritik hücrelerin aktivasyonunu modüle edebilen olası bir immün sistem stimülatörü olarak incelemektedir (Fan vd., 2017)

2.4.3. Apoptotik etkileri

Curcumin, Bcl-2 ailesinin anti-apoptotik üyelerinin ekspresyonunu azaltır ve p53, Bax ve prokaspaz -3, -8 ve -9'un ekspresyonunu yükseltir. Bcl-2, Bcl-XL, cIAP, survivin, TRAF1 ve TRAF2 dahil olmak üzere nükleer faktör kappa B (NF-kB) ile düzenlenen birkaç genin öncelikle apoptoz yolunu bloke ederek işlev gördüğü bildirilmiştir (Aggarwall, 2004). Curcumin'in, NF-kB sinyal yolunu baskıladığı ve böylece AKI'da önemli bir mekanizma olan apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Ozkok vd., 2016). Bununla birlikte, İ/R'nin neden olduğu AKI patogeneğinde spesifik renoprotektif etkisi ile hücrel ve moleküler mekanizması belirsizliğini korumaktadır.

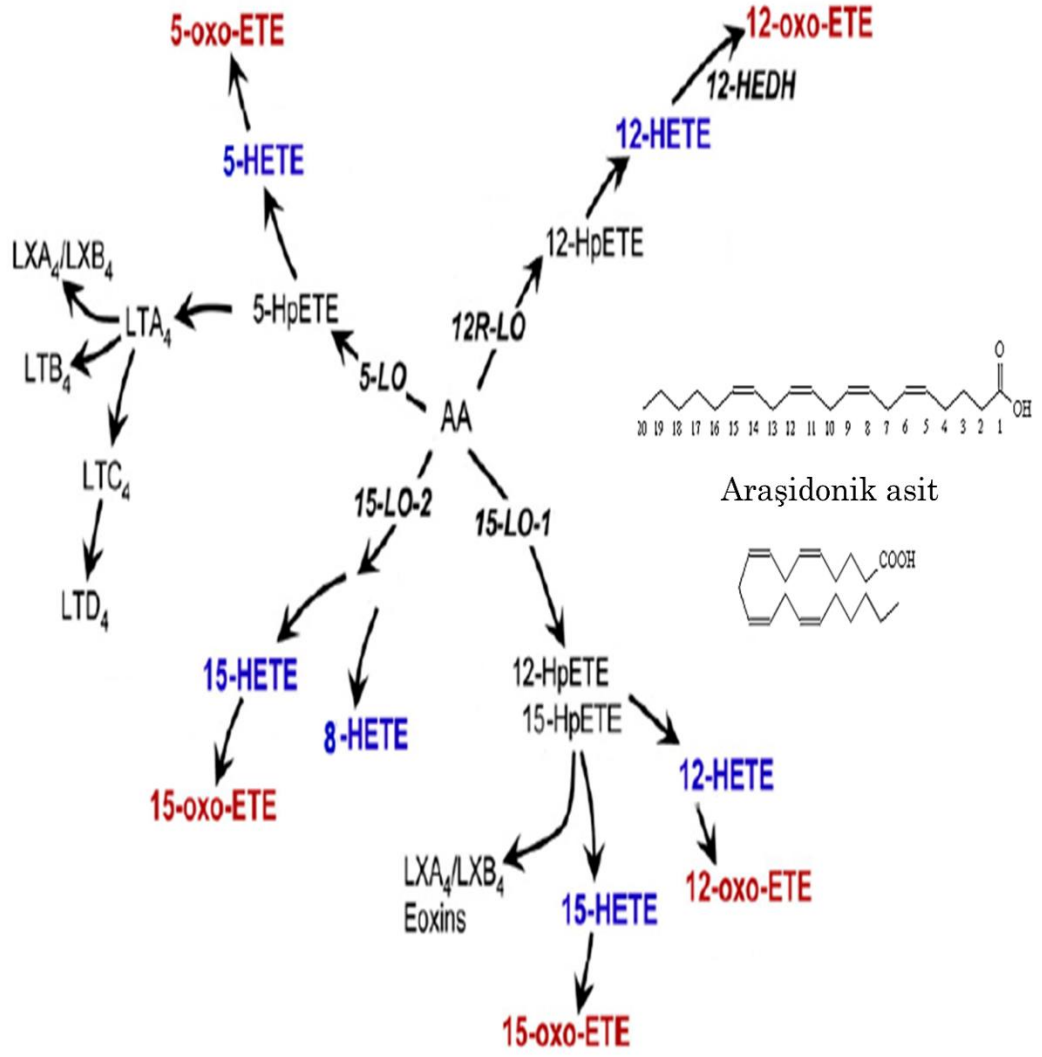
2.4.4. COX ve LOX'un düzenlenmesi

İnflamasyonla yakından ilişkili araşidonik asit türevi lipit medyatörleri, siklooksijenaz (COX) ve lipooksijenaz (LOX) enzimlerine bağımlı yollarla sentezlenir. İnflamasyonda LOX ve COX izoformlarının, özellikle COX-2'nin rolü iyi bilinmektedir. Hücrel ve moleküler seviyelerde, Curcumin'in COX ve LOX'u içeren eikozanoid yolu da dahil olmak üzere bir dizi sinyal yolunu düzenlediği gösterilmiştir (Patel vd., 2019).

2.5. Lipoksijenazlar ve İnhibitörleri

Eikoza-5,8,11,14-tetraenoik asit olarak da adlandırılan araşidonik asit (AA), bir omega-6 çoklu doymamış yağ asididir (PFA) ve esas olarak hücre zarında fosfolipitler formunda bulunur. Hücreler stres altında olduğunda AA, fosfolipaz A2 (PLA2) ve fosfolipaz C (PLC) tarafından fosfolipidlerden proinflamatuvar medyatörlerin öncüsü olan serbest araşidonik asitler olarak salınır (Van Dorp, 1975; Sperling vd., 1993; De Jonge, Dekkers & Lamers, 1996). AA ayrıca LOX yoluyla ile lökotrienlere (LT) ve lipoksinlere (LX) dönüştürülebilir (Yates, Calder & Rainger, 2014; Calder, 2015).

AA ve inflamasyon arasındaki ilişki, AA metabolizmasının böbrek inflamasyonu üzerindeki etkisine olan ilgimizi çekmektedir. Lipoksijenaz katalizinde AA, hidroperoksieikozatetraenoik aside (HpETE) metabolize edilir. Mevcut araştırmalar, en az dört enzimin, yani 5-LOX, 8-LOX, 12-LOX ve 15-LOX'un, LOX yolundaki AA metabolizmasında rol oynadığını göstermektedir. Şekil 2.7'de gösterildiği gibi, 5-, 12- ve 15-pozisyonları, AA'nın ana oksidasyon bölgeleridir, 5-LOX, 12-LOX ve 15-LOX enzimlerinin katalizine dayanan oksidasyon reaksiyonlarına yol açar (Wang vd., 2019). 5-LOX, böbrek inflamasyon mekanizmasında tübüllerden glomerüllere kadar önemli bir işlev görür. Bu yolda AA, dioksijenaz tarafından 5-HpETE oluşturur. 5-LOX, C10 hidrojen atomunu 5-HpETE'den çıkararak lökotrien A4 (LTA4) üretebilir (Green vd., 2018). LTA4 kararsızdır, hidrolize edilebilir, glutatyon ile birleştirilebilir veya biyoaktif eikozanoidler üretmek için transselüler olarak aktarılabilir. Nötrofiller ve böbrek dokusunun diğer inflamatuvar hücrelerinde LTA4, LTB4 oluşturmak için epoksit hidrolaz ile katalize edilir. LTA4 ve glutatyon (GSH), glutatyon S-transferaz (GST) kullanarak LTC4 üretimini katalize eder ve daha sonra LTE4 oluşturmak üzere dipeptidaz ile metabolize edilen γ -glutamil transferaz yoluyla LTD4 oluşturmak için glutamik asidi çıkarır. Daha sonra LTF4, γ -glutamil transferaz ile LTE4'ten sentezlenir (Baba vd., 1991).



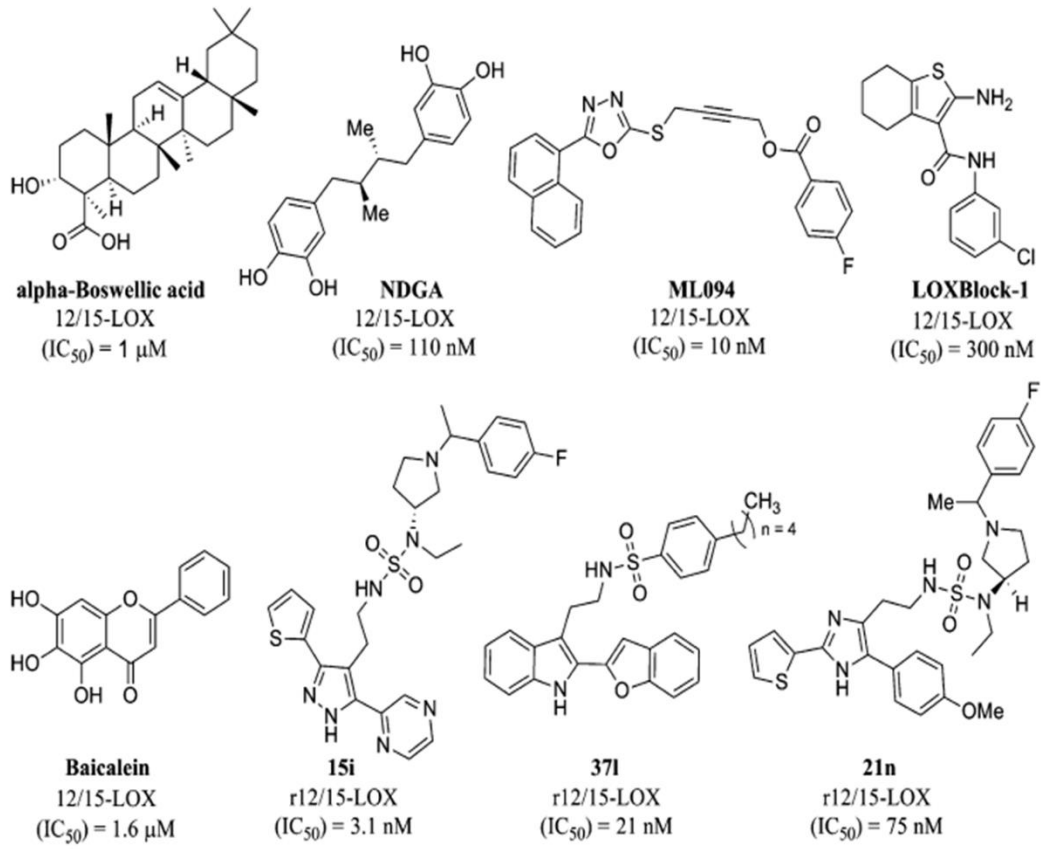
Şekil 2.7 Lipoksijenazlar yolağı

12-LOX ve 15-LOX yollarının rolleri esas olarak HETE ve LX'lerin üretimidir. AA ilk olarak 12-LOX aracılığıyla 12-HpETE ve 12-HETE asit üretir. Bu ürünler nihayetinde ekstra trombosit LTA₄'e dönüşür. LX'ler için bir başka biyosentetik yol, nötrofillerdeki 5-LOX'i ve trombositlerde 12-LOX'i içerir. 5-LOX, nötrofil içinde LTA₄ üretir daha sonra trombositte aktarılır, burada 12-LOX, LXA₄ veya LXB₄ üretir. 12-LOX yoluyla aynı şekilde, 15-LOX yolunun temel etkisi, sonuçta HETE, ETE ve LX üretmektir. Memeli hücrelerinde iki izoform vardır: 15-LOX-1 ve 15-LOX-2. Araşidonat 15 lipooksijenaz (ALOX15) geni tarafından kodlanan 15-LOX-1 (12/15-LOX), araşidonik asiti LXA₄, LXB₄ ve 15-okso-EETE'lere metabolize ederken, 15-LOX-2, araşidonik asiti 15-okso-EETE ve 8-HETE metabolize edebilir (Wang vd., 2019).

LOX yolunun ana metaboliti olan LT ve LX'lerin her ikisi de böbrekler üzerindeki inflamasyon mekanizmasında önemli roller oynar. LT'ler, lökosit göçünü ve aktivasyonunu düzenleyen güçlü bir kemotaktik molekül sınıfıdır (Moore, 1991). İskemiden sonra böbrek hasarına yol açan bir dizi inflamatuvar reaksiyona aracılık eden LT ve LX'lerin artışı çalışmalarda gösterilmiştir (Klausner vd., 1989).

12/15-LOX enzimleri ve metabolitleri böbrek hastalığında ikili bir role sahiptir ve böbrek fonksiyonunun kilit düzenleyicileridir. Bu yolun farklı böbrek patolojilerinde daha iyi anlaşılması, gelecekte hipertansiyon, kronik böbrek hastalığı ve böbrek hasarı tedavisi için daha yeni terapötik seçeneklere yol açacaktır. Bu, hedefli farmakolojik inhibitörlerin geliştirilmesinin araştırma ve terapötik araçlar olarak değerli olacağı başka bir örnektir.

AA metabolik yolağına dayalı oluşan inflamatuvar metabolitlerin inhibisyonuna dayalı bir dizi ilaç geliştirilse de böbrek hasarı tedavisi için henüz erken aşamada olup ve çalışmalar devam etmektedir. LOX ile ilişkili tedaviyle ilgili araştırmalar çoğunlukla deney hayvanları üzerinde incelenmektedir ve insan çalışmaları söz konusu olduğunda Zileuton'dan sıklıkla bahsedilmektedir. Zileuton, 5-LOX aktivitesini inhibe ederek AA'nın LTB₄'e dönüşümünü engeller ve sıklıkla inflamasyonla ilgili hastalıkların önlenmesi ve kanser tedavisi için kullanılır (Gounaris vd., 2015). Bununla birlikte, Zileuton'un insanlarda renal inflamasyonu tedavi etmek için kullanıp kullanamayacağı klinik çalışmalarla hala doğrulanması gerekmektedir. Licofelone, hem COX hem de 5-LOX'u inhibe eden, IL-18 ile indüklenen proinflamatuvar sitokin salınımını ve hücre proliferasyonunu inhibe ederek insan glomerüler inflamasyonunu hafifleten yeni bir antiinflamatuvar ilaçtır (Wu, Xue & Chen, 2012). 12/15-LOX inhibitörü olan Baicalein'in, renal 12-HETE üretiminde yükselmeyi önlediği ve streptozosin kaynaklı diyabetik farelerde böbrek inflamasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Faulkner, 2015). Mevcut sonuçlara göre, şekil 2.8'de gösterilen LOX ile ilişkili ilaçların ve inhibitörlerin iskemik modellerde ve inflamasyonun düzenlenmesindeki etkisi halen deneysel çalışma aşamasındadır. Bu nedenle, yeni 12/15-LOX inhibitörleri olan LOXBlock-1 ve ML351'in etkinliğinin araştırılması çalışmaların ilgi odağı haline gelmiştir.



Şekil 2.8 12/15 Lipoksijenaz inhibitörleri (Rai vd., 2014)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel çalışmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TICAM), Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı ve Klinik Biyokimya laboratuvarında gerçekleştirildi. ESOGÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulun (HADYEK)'dan 24.07.2018 tarihli, 126 toplantı sayılı, 674 karar numarası ile onaylanan protokole göre çalışma gerçekleştirildi.

3.1. Deneysel Hayvanları

Deneysel çalışmamızda TICAM'dan temin edilen 180-220 gram ağırlıkta, sağlıklı, 3-4 aylık, Wistar albino cinsi, 40 adet dişi sıçan kullanıldı. Deneysel hayvanları deney süresince; 12;12 aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) ve nemi (% 45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatılmıştır. Deneysel sürecinde tüm sıçanlar polikarbon şeffaf kafeslerde standart pellet sıçan yemi ile beslenmiş ve çeşme suyu verilmiştir.

3.2. Grupların Oluşturulması

Sıçanlar ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde, rastgele beş gruba ayrıldı (her bir grup n=8). Gruplar ve yapılan uygulamalar aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirildi.

Grup I (Sham Grubu): Bu grup deneysel hayvanlarına nefrektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklendi. İyileşmenin sonrasında, iskemi işlemi yapılmadan 0,5 mL serum fizyolojik (SF), reperfüzyon süresinden 10 dakika önce intraperitoneal (i.p.) olarak enjekte edildi. 24 saat reperfüzyon bitiminde anestezi altında deneysel hayvanları sakrifiye edilerek diseksiyonları gerçekleştirildi.

Grup II (İ/R Grubu): Bu grup deneysel hayvanlarına nefrektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklendi. İyileşmenin sonrasında, her bir hayvana 45 dakika iskemi uygulandı. Reperfüzyondan 10 dakika önce, 0,5 mL serum fizyolojik intraperitoneal olarak enjekte edildi. 24 saat reperfüzyon sonrasında anestezi altında deneysel hayvanları sakrifiye edilerek diseksiyonları gerçekleştirildi.

Grup III (İ/R + DMSO): Bu gruptaki deneysel hayvanlarına nefrektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklenildi. İyileşmenin sonrasında, her bir hayvana 45 dakika iskemi uygulandı. Reperfüzyondan 10 dakika önce, %1'lik Dimetil sülfoksit (DMSO) (Aydın vd., 2014) (i.p.) olarak enjekte edildi. 24 saat reperfüzyon

sonrasında anestezi altında deney hayvanları sakrifiye edilerek diseksiyonları gerçekleştirildi.

Grup IV (İ/R +100 mg/kg CUR): Bu gruptaki deney hayvanlarına nefrektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklenildi. İyileşmenin sonrasında, her bir hayvana 45 dakika iskemi uygulandı. Reperfüzyondan 10 dakika önce, 100mg/kg CUR (Fan vd., 2017), %1'lik DMSO içerisinde çözülerek (i.p.) olarak enjekte edildi. 24 saat reperfüzyon sonrasında anestezi altında deney hayvanları sakrifiye edilerek diseksiyonları gerçekleştirildi.

Grup V (İ/R +2µg/kg LOXblock-1): Bu gruptaki deney hayvanlarına nefrektomi işlemi uygulanarak 15 gün iyileşmenin olması beklenildi. İyileşmenin sonrasında, her bir hayvana 45 dakika iskemi uygulandı. Reperfüzyondan 10 dakika önce, 2µg/kg LOXblock-1 (Ranganathan vd., 2014), %1'lik DMSO içerisinde çözülerek (i.p.) olarak enjekte edildi. 24 saat reperfüzyon sonrasında anestezi altında deney hayvanları sakrifiye edilerek diseksiyonları gerçekleştirildi.

3.3. Deneysel İşlemlerde Kullanılan Sarf Malzemeler

- 1 ml (insülin), 5 ve 10 ml steril enjektör ve siyah iğne uçları
- 10 – 1000 µL hacim aralıklı pipetörler ve uçları (Nichiryo)
- 2,5 – 50 mL hacim aralıklı pipetörler ve uçları (Nichiryo)
- 3,3'-5,5'-Tetrametilbenzidin (TMB) (AL8615, Aldrich)
- Absolü etanol (Riedel de Haen)
- Bakır sülfat (CuSO₄, Merck)
- Bistüri ucu
- Bovine Serum Albumin (BSA, Sigma)
- Dimetilsülfoksit (DMSO, D8418 Sigma)
- Doku blok kaseti (Isolab)
- Eppendorf tüpler (1, 1,5 ve 2 ml)
- Ethylendiamine Tetraacetic Acid (EDTA) (SIE9884, Sigma)
- H₂O₂ (Merck)
- Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide (HETAB) (SIH5882, Sigma)
- N-N Dimetilformamid (DMF) (AL319937, Aldrich)
- Serum fizyolojik (Polifarma)
- Sodyum Hidroksit (NaOH, Merck)
- Sodyum Potasyum Tartarat (Merck)
- Thiobarbituric Acid (TBA) (Sigma)
- Curcumin (C1386, Sigma)
- Loxblock-1 (SML1353, Sigma)
- Rat MCP1 ELISA kit 96T (CSB-EL008627RA, Cloud-Clone Corp,)
- Rat IL-6 ELISA kit 96T (E-EL-R0015, Elabscience)
- Rat TNF-α ELISA kit 96T (E-EL-R0019, Elabscience)
- Rat SEMA3A ELISA kit 96T (SEL917Ra, Cloud-Clone Corp,)
- Rat PLXNA1 ELISA kit 96T (SEH354Ra, Cloud-Clone Corp,)
- Rat NRP1 ELISA kit 96T (SEA692Ra, Cloud-Clone Corp,)
- Rat CYCS ELISA kit 96T (SEA594Ra, Cloud-Clone Corp,)
- Rat CASP3 ELISA kit 96T (SEA626Ra, Cloud-Clone Corp,)
- Serum TOS kit (RL0024, Rel-Assay)
- Serum TAS kit (RL0017, Rel-Assay)
- EZ-10 DNAaway RNA Mini-Preps kit (BS88133, Bio Basic)
- OneScript® Plus cDNA Synthesis (G234, Applied Biological Materials Inc.)
- BrightGreen 2X qPCR MasterMix (Mastermix-U, Applied Biological Materials Inc)
- SEMA3A (Anti-Semaphorin 3A antibody; ab23393; Abcam)
- Apoptag Plus Peroxidase Tunel kit (S7101, Millipore)

3.4. Deneysel İşlemlerde Kullanılan Cihazlar

- Mikro plate yıkayıcı (ELx50, BIOTEK)
- ELISA okuyucu (ELx808 model, BIOTEK)
- Roche Cobas c501 otoanalizör cihazı (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)
- PCR cihazı (SimpliAmp™ Thermal Cycler)
- ThermoScientific NanoDrop cihazı
- RT-PCR cihazı (StepOne™ Real-Time PCR System, laptop)
- Mikrotom bıçağı (RM 2025, Leica)
- CH40 ışık mikroskobu (Olympus)
- 3.2.0. model dijital kamera (Spot Insight)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Derin Dondurucu, -80°C (Thermo, ULT 1386-5-V40)
- Distile su cihazı
- Etüv (Binder)
- Hassas terazi (Sartorius)
- Santrifüj (Nüve NF800)
- Santrifüj, soğutmalı (Jouan MR22)
- Shaker (WiseMax)
- Spektrofotometre (Shimadzu, UV-1601)
- Su banyosu (Nüve BM402)
- Tüplü ısıtıcı

3.5. Anestezi ve Cerrahi İşlemler

3.5.1. Anestezi işlemi

Tüm cerrahi işlemler steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirildi. Deney gruplarına ait hayvanlara intramüsküler olarak 10 mg/kg ksilazin ve 70 mg/kg ketamin anestezisi uygulandı. Deney gruplarına ait hayvanlar reperfüzyon süresinin bitiminde ketamin/ksilazin anestezisi altında diseksiyonları gerçekleştirildi, intrakardiyak olarak kalpten bütün kanın alınması (eksanguinasyon) ile yaşamları sonlandırıldı ve böbrek doku örnekleri alındı.

3.5.2. Nefrektomi işlemi

Nefrektomi uygulanan deney hayvanlarına intramüsküler yol ile 10 mg/kg ksilazin ve 70 mg/kg ketamin anestezisi uygulandı. Deney hayvanları, anestezi altında sıcaklığı sabit diseksiyon tablasına, rektal ısı takibi yapılarak sırt üstü pozisyonda yerleştirildi (Stangl vd., 2009). Cerrahi uygulama bölgesinin temizliği %70'lik etil alkol ile sağlanıp steril şartlar altında sağ böbrek nefrektomisi gerçekleştirildi (Waynforth ve Flecknell, 1994). Her bir sıçana yapılan nefrektomiden sonra kaybolan

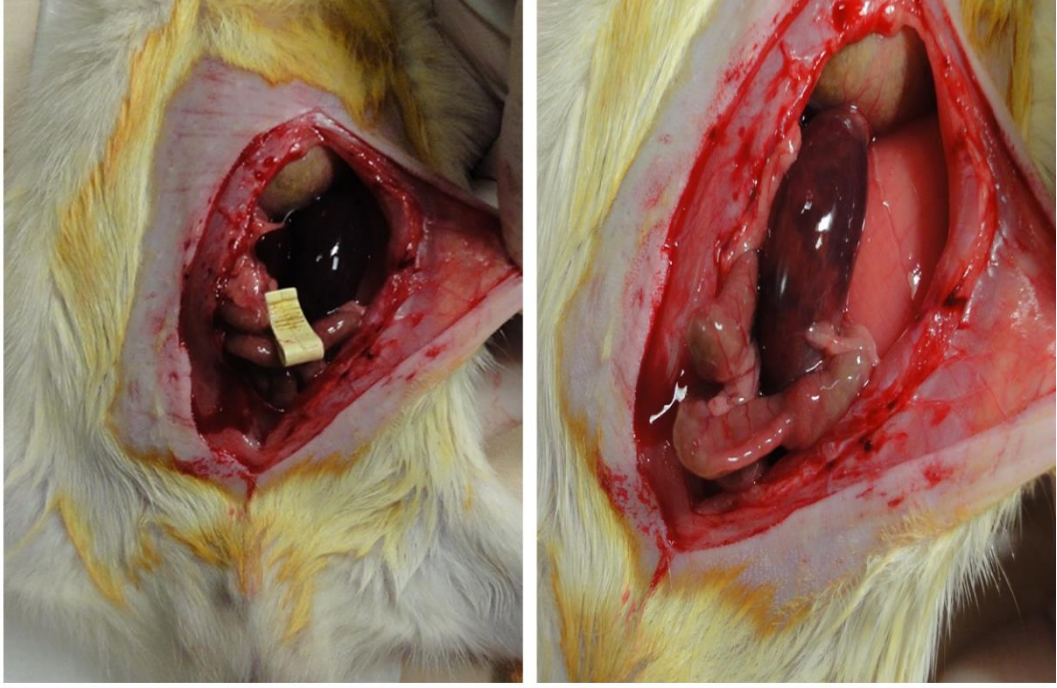
sıvının hipovolemik etkilerine engel olmak için karın boşluğuna steril SF verildi (Kaya vd., 2002). Kas ve deri kesileri ayrı ayrı fakat devamlı olarak 3/0 ipek sütürle dikilerek kesi bölgesi kapatıldı. Cerrahi işlem görmüş her bir hayvanı kimyasal sterilizasyonu yapılmış, tek bireylik, polikarbon bileşimli şeffaf kafeslere ayrı ayrı koyularak 15 gün iyileşmesi sağlandı.



şekil 3.1 Nefrektomi işlem aşamaları

3.5.3. İskemi/reperfüzyon işlemi

İ/R yapılacak sıçanlara anestezi altında midline laparotomi yapıldı. Sol renal arter izole edilerek, antitravmatik vasküler klemp yardımıyla 45 dakika süre ile kan akışı durduruldu. 45 dakika iskeminin hemen ardından 24 saat reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyon süresince kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olmak için karın boşluğuna steril SF verildi. Bu işlemin ardından kas ve deri kesileri ayrı ayrı fakat devamlı olarak 3/0 ipek sütürle dikilerek kesi bölgesi kapatıldı (şener vd., 2005; Waynforth ve Flecknell, 1994)



Şekil 3.2 İskemi ve reperfüzyon görüntüsü

3.6. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması ve Değerlendirilmesi

Doku ve kan örnekleri, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde, etik kurallar çerçevesinde, deney hayvanlarına cerrahi sırasında eksanguinasyon sonucu ötenazi işlemi yapılarak elde edildi. Analiz yapılincaya kadar kan (serum ve plazma) ve doku örnekleri -80 °C’de bekletildi.

3.6.1. *Biyokimyasal analiz*

Kalpten alınan kan, biyokimyasal analizlerin yapılması için jelli tüplere alındı. Alınan kan örnekleri MSE Mistral 2000 marka ve model santrifüj cihazında 10 dk 3500 rpm’de santrifüjlenerek serumlar elde edildi. Serum örnekleri polietilen tüplere aktarılarak analiz süresine kadar -80 °C derin dondurucuda bekletildi. Alınan kan örneklerinden elde edilen serumda, böbrek ve karaciğer fonksiyonları ile elektrolit düzeyinin belirlenmesi için kan üre azotu (BUN), kreatinin (CREA), ürik asit (UA), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), sodyum (Na) ve potasyum (K) ölçümleri Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Klinik Biyokimya Laboratuvarı’nda Roche COBAS c501 marka otoanalizörler ile yapıldı.

3.6.2. Elisa analizleri

Deney gruplarının serum SEMA3A, PLXNA1, NRP1, TNF- α , IL-6, MCP1, CYCS, CASP, TAS ve TOS parametrelerinin düzeyleri rat spesifik ELISA kitleri kullanılarak belirlendi. Çalışmalar ELISA plaka yıkayıcı (BIOTEK ELx50, ABD) ve ELISA okuyucu (BIOTEK ELx808, ABD) kullanılarak yapıldı.

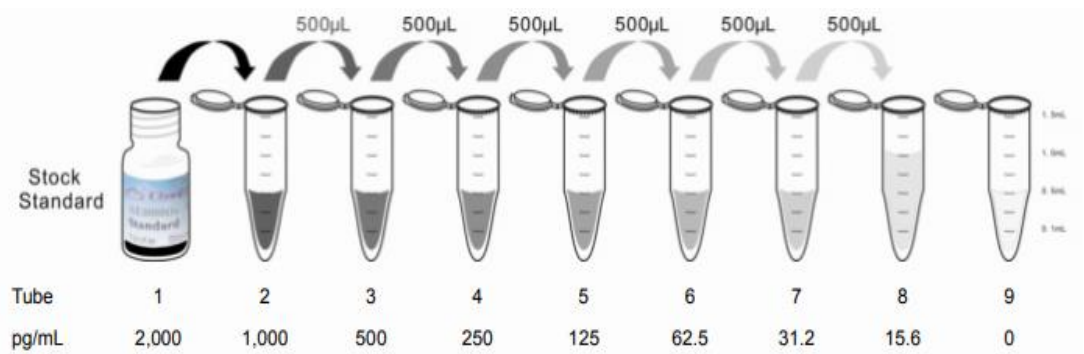
3.6.2.1 SEMA3A, PLXNA1, NRP1, MCP1, CYCS ve CASP3 parametrelerinin ölçülmesi

Grupların serum SEMA3A, PLXNA1, NRP1, MCP1, CYCS ve CASP3 parametreleri rat spesifik ELISA kitleri (SEMA3A, SEL917Ra; PLXNA1, SEH354Ra; NRP1, SEA692Ra; MCP1; SEA087Ra; CYCS; SEA594Ra, CASP3; SEA626Ra Cloud-Clone Corp, Çin) kullanılarak belirlendi. ELISA analizi kit protokolleri takip edilerek gerçekleştirildi.

3.6.2.1.1 Reaktiflerin Hazırlanması

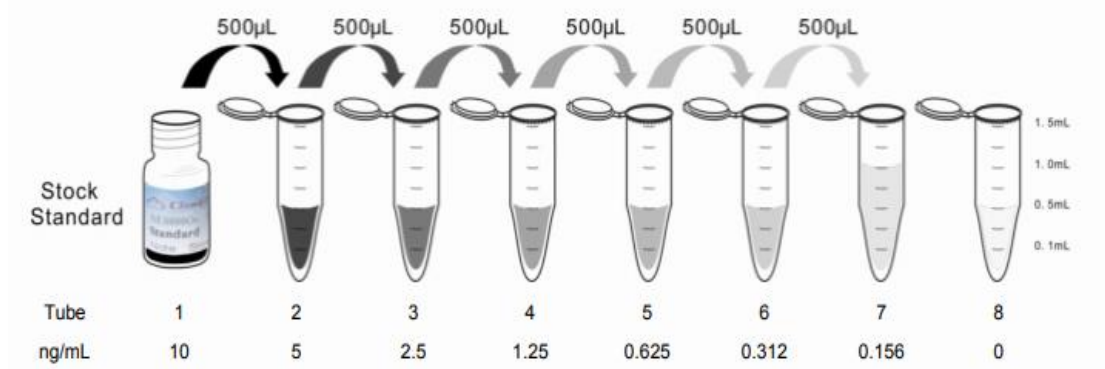
Çalışma öncesi tüm reaktifler oda sıcaklığına (25°C) getirildi. 20 mL yıkama solüsyonu konsantresini (30 x) 580 mL distile suyla seyreltilerek 600 mL yıkama solüsyonu hazırlandı. Biotin konjuge antikor ve avidin konjüge horseradish peroxidase (HRP) 1:100 oranında seyreltilerek hazırlandı.

SEMA 3A ve MCP1 ölçümü için kit içerisindeki standartlar, 1 ml standart dilüsyonu ile sulandırılıp hafifçe karıştırılarak (köpük oluşumu meydana gelmeden) hazırlandı. Böylece, 2000 pg/ml'lik stok solüsyonları hazırlandı. Daha sonra 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 0 pg/mL olacak şekilde standart seri dilüsyonları oluşturuldu.



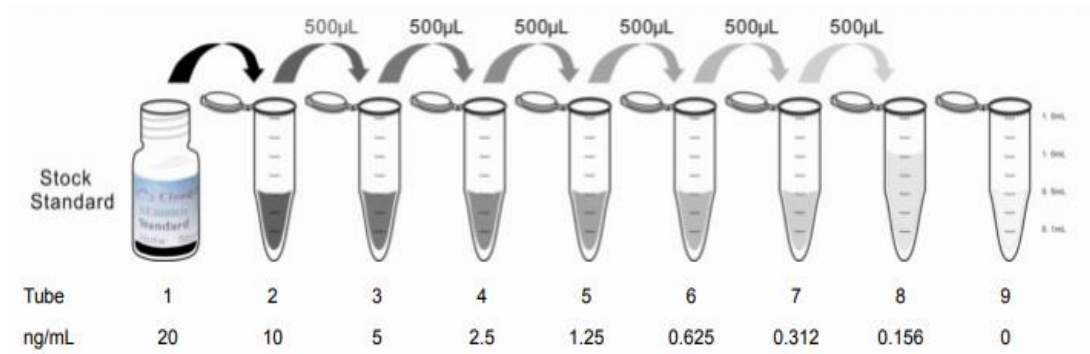
Şekil 3.3 SEMA3A ve MCP1 standartlarının hazırlanışı

PLXNA1 ve NRP1 ölçümü için kit içerisindeki standartlar, 1 ml standart dilusyonu ile sulandırılıp hafifçe karıştırılarak hazırlandı. Böylece, 10 ng/ml'lik stok solüsyonları hazırlandı. Daha sonra 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156, 0 ng/mL olacak şekilde standart seri dilüsyonları oluşturuldu.



Şekil 3.4 PLXNA1 ve NRP1 standartlarının hazırlanışı

CYCS ve CASP ölçümü için kit içerisindeki standartlar, 1 ml standart dilusyonu ile sulandırılıp hafifçe karıştırılarak hazırlandı. Böylece, 20 ng/ml'lik stok solüsyonları hazırlandı. Daha sonra 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156, 0 ng/mL olacak şekilde standart seri dilüsyonları oluşturuldu.



Şekil 3.5 CYCS ve CASP3 standartlarının hazırlanışı

3.6.2.1.2 Çalışma Prosedürü

Her bir kitte yer alan spesifik antikorla yüklenmiş plakalar kullanıldı. Standart dilüsyonlar, kör ve numunelerin her biri plakalardaki uygun oyuklara 100 µL eklendi ve adhezif film ile kaplanarak 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüm kuyucuklar boşaltıldı. Hazırlanan biyotin konjüge antikor çözeltisinden 100 µL eklenerek 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Sonra, hazırlanan yıkama solüsyonu ile 3 kez 350 µL'lik yıkama işlemi ve aspirasyon gerçekleştirildi. Hazırlanan avidin konjüge HRP çözeltisinden 100 µL eklenerek 37 °C'de 30 dk inkübe edildi. Aspirasyon ve

yıkama işlemi 5 kez tekrar edildi. Her bir kuyucuğa 90 µL substrat solüsyonu eklendi ve 37 °C’de 15 dk ışıktan koruyarak inkübasyonu sağlandı. Substrat solüsyonu eklendiğinde kuyucukların mavi renge döndüğü gözlemlendi. Enzim-substrat reaksiyonu 50 µL (stop) sülfirik asit solüsyonu eklenerek sonlandırıldı. Plakalardaki renk değişikliği 450 nm dalga boyuna ayarlanmış ELISA okuyucuda spektrofotometrik olarak optik dansiteleri okundu ve standart grafiği yardımıyla numunelerdeki parametrelerin konsantrasyonları hesaplandı.

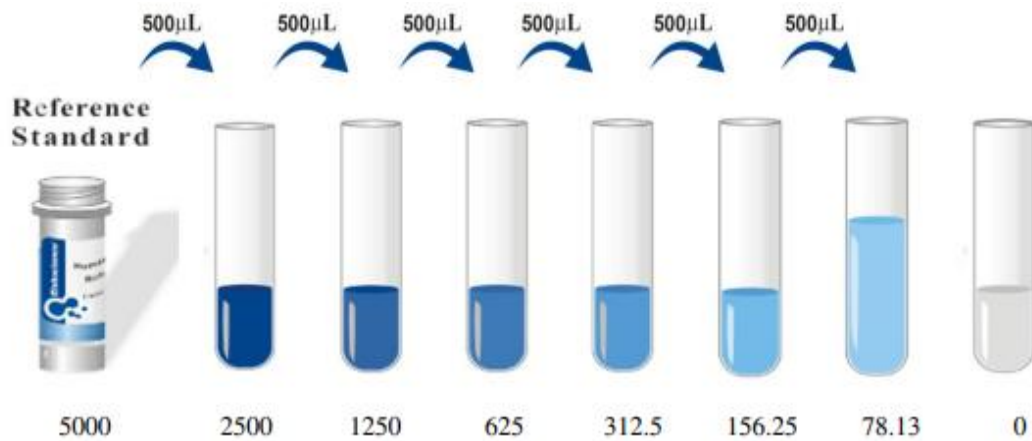
3.6.2.2 TNF-α ve IL-6 parametrelerinin ölçülmesi

Grupların serum TNF-α ve IL-6 parametreleri rat spesifik ELISA kitleri (TNF-α, E-EL-R0019; IL-6; E-EL-R0015; Elabscience, USA) kullanılarak belirlendi. ELISA analizi kit protokolleri takip edilerek gerçekleştirildi.

3.6.2.2.1 Reaktiflerin Hazırlanması

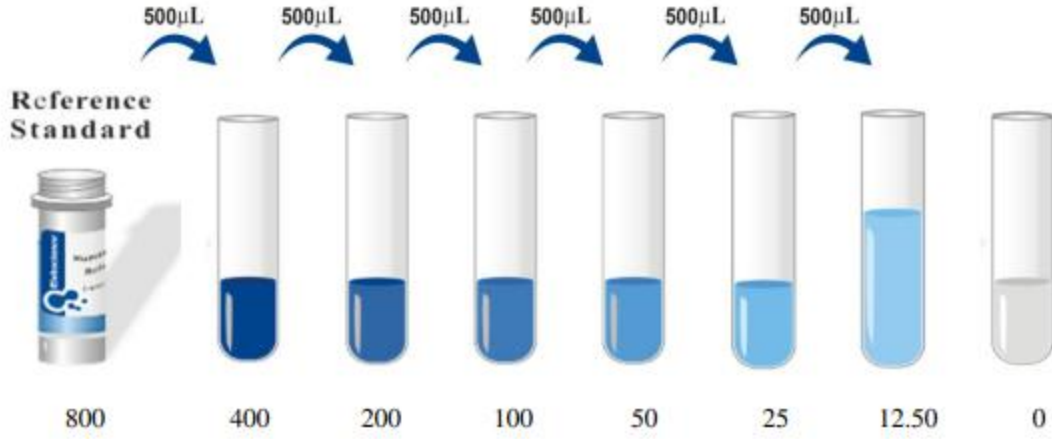
Kit ve örnekler buzdolabından çıkarılarak oda sıcaklığına (25°C) getirildi. 30 mL konsantre yıkama tamponu (25X) 720 mL distile su ile seyreltilerek 750 mL’lik yıkama tamponu (1X) hazırlandı. Biotinli tespit antikor ve konsantre HRP konjüğe çalışma solüsyonları 1:100 oranında seyreltilerek hazırlandı.

TNF-α ölçümü için kit içerisindeki standart, 1 mL standart dilüsyonu ile solüsyon halinde hafifçe karıştırılarak (köpük oluşumu meydana gelmeden) hazırlandı. Böylece, 5000 pg/ml’lik stok solüsyonu hazırlandı. Daha sonra 2500, 1250, 625, 312.5, 156.25, 78.13, 0 pg/mL olacak şekilde standart seri dilüsyonları oluşturuldu.



Şekil 3.6 TNF-α standart hazırlanışı

IL-6 ölçümü için kit içerisindeki standart, 1 mL standart dilüsyonu ile solüsyon halinde hafifçe karıştırılarak (köpük oluşumu meydana gelmeden) hazırlandı. Böylece, 800 pg/mL'lik stok solüsyonu hazırlandı. Daha sonra 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 0 pg/mL olacak şekilde standart seri dilüsyonları oluşturuldu.



Şekil 3.7 IL-6 standart hazırlanışı

3.6.2.2.2 Çalışma Prosedürü

Her bir kitte yer alan spesifik antikorla yüklenmiş plakalar kullanıldı. Standart dilüsyonlar, kör ve numunelerin her biri plakalardaki uygun oyuklara 100 µL eklendi ve adhezif film ile kaplanarak 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında kuyucuklardaki sıvı uzaklaştırıldı (yalnızca aspirasyon), yıkama yapılmadı. Her kuyucuğa hızlıca 100 µL biyotinli tespit antikorlu çalışma solüsyonu (1X) eklendi ve 37 °C'de 1 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında, kuyucuklar aspire edilerek her birine 350 µL yıkama tamponu eklendi ve 3 kez yıkama işlemi tekrar edildi. Sonra, her kuyucuğa 100 µL HRP konjugatı çalışma solüsyonu (1X) eklendi. 37 °C'de 1 saat süreyle inkübe edildi. Aspirasyon ve yıkama işlemi 5 kez tekrar edildi. Herbir kuyucuğu 90 µL substrat solüsyonu eklendi ve 37 °C'de 15 dk ışıktan koruyarak inkübasyonu sağlandı. Substrat solüsyonu eklendiğinde kuyucukların mavi renge döndüğü gözlemlendi. Enzim-substrat reaksiyonu 50 µL (stop) sülfirik asit solüsyonu eklenerek sonlandırıldı. Plakalardaki renk değişikliği 450 nm dalga boyuna ayarlanmış ELISA okuyucuda spektrofotometrik olarak optik dansiteleri okundu ve standart grafiği yardımıyla numunelerdeki parametrelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.6.2.3 Serumda total antioksidant durumunun ölçülmesi

Serum örneklerinin total antioksidan seviyeleri Total Antioxidant Status (TAS) kiti (Katalog no; RL0017, Rel Assay, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak belirlendi. Test prensibi, renkli 3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonatın (ABTS) antioksidanlar tarafından renksiz ABTS formuna indirgenmesine dayanır. Testin çalışma prosedüründe, antikor ile kaplanmamış plakalar kullanıldı. Standart, kör ve numunelerin her biri plakalardaki uygun oyuklara 18 µL eklendi. Her bir kuyuya 300 µL reaktif 1 eklendikten sonra meydana gelen karışımın ilk absorbans değeri 660 nm’de belirlendi. Daha sonra her bir kuyuya 45 µL reaktif 2 eklendi ve 5 dk 37°C’de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası son absorbans değeri 660 nm’de okunarak kaydedildi. Sonuçlar mmol Trolox Equiv/L olarak ifade edildi.

3.6.2.4 Serumda total oksidant durumunun ölçülmesi

Örneklerin total oksidant seviyeleri Rel Assay marka Total Oxidant Status (TOS) kiti (Katalog no; RL0024, Rel Assay, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak belirlendi. Test prensibi, hücrelerdeki oksidasyon işlemine dayanır. Testin çalışma prosedüründe, antikor ile kaplanmamış plakalar kullanıldı. Standart, kör ve numunelerin her biri plakalardaki uygun oyuklara 45 µL eklendi Her bir kuyuya 300 µL reaktif 1 eklendikten sonra meydana gelen karışımın ilk absorbans değeri 530 nm’de belirlendi. Daha sonra her bir kuyuya 15 µL reaktif 2 eklendi ve 5 dk 37 °C’de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası son absorbans değeri 530 nm’de okunarak kaydedildi. Sonuçlar µmol H₂O₂ Equiv/L olarak ifade edildi.

3.6.3. Real-Time PCR analizleri

Bu yöntemle; SEMA3A, PLXN A1, NRP1, MCP1, TNF- α ve IL-6 kodlayan gen bölgelerinin gen ekspresyonları ölçüldü. Yöntem RNA izolasyonu ve izole edilen RNA'nın PCR ile çoğaltılabilmesi için cDNA'ya çevrilmesi şeklinde iki aşamalı basamaklardan oluşmaktadır. PCR yönteminde kalıp olarak kullanılan RNA, revers transkriptaz enzimi ile komplementer DNA'ya çevrildi. Böylece oluşan komplementer Cdna, RT-PCR yardımıyla eş zamanlı olarak ölçüldü.

3.6.3.1 RNA izolasyonu

Böbrek dokusundan RNA izolasyonu için (EZ-10 DNAaway RNA Mini-Preps kit kat: BS88133; Bio Basic, Canada) kit protokolü kullanıldı. Kit prensibine göre, 15-30 mg arasındaki böbrek dokusu homejenize hale getirildi. 1.5 mL'lik RNase free santrifüj tüpüne transfer edildi. Üzerine 350 μ L liziz-DR tamponu eklendi. 2 mL'lik toplama tüpüne gDNA kolonu eklenerek lizat kolona transfer edildi. 1 dk oda sıcaklığında tutuldu ve ardından 1 dk 9000 x g'de oda sıcaklığında santrifüj edildi. Bu işlemden sonra, üst kısımdaki DNA uzaklaştırıldı ve alt kısımdaki RNA saflaştırılması için yeni bir RNase free tüpe aktarıldı. 250 μ L etanol eklendi ve karıştırıldı. Elde edilen karışım RZ-10 RNA kolonuna aktarıldı ve oda sıcaklığında 1 dk 9000 x g'de santrifüj edildi. Toplama tüpüne, RZ-10 RNA kolonu yerleştirilerek 500 μ L GT solüsyonu eklendi ve oda sıcaklığında 1 dk 9000 x g'de santrifüj edildi. Üstte kalan kısma 500 μ L NT solüsyonu eklendi, oda sıcaklığında 1 dk 9000 x g'de santrifüj edildi. Üzerine 70 μ L RNase free water eklendi 9000 x g'de 2 dk santrifüj yapıldı. Saflandırılmış RNA ölçüm için birkaç saat -20 °C' de bekletildi.

3.6.3.2 RNA miktarının ölçülmesi

İzole edilen RNA örneklerinin kalitesi ve konsantrasyonunun belirlenmesi için Thermoscientific NanoDrop cihazı kullanılarak ölçüm yapıldı. 260 nm DNA, 280 nm ise proteinler için maksimum absorbans alındığı dalga boyudur. RNA'nın saflığı için A260/A280 oranının 1.8-2.0 olması gerekmektedir. 1 mL'de ne kadar RNA olduğu bu yöntemle hesaplandı.

3.6.3.3 cDNA elde edilmesi

RT-PCR işlemi için gerekli olan cDNA eldesi OneScript® Plus cDNA Synthesis (Applied Biological Materials Inc., Cat. No: G234, Canada) kiti kullanılarak üretici firmanın protokolüne göre gerçekleştirildi.

- RNA örneklerinin cDNA için konsantrasyonları 100 ng'a eşitlendi.
- RNA şablonları ve tüm reaktifleri buz üzerinde çözüldü. Her çözelti hafifçe karıştırıldı. Kuyucuk başına aşağıdaki miktarlar eklendi;
- 1 µL Total RNA veya poly(A) + mRNA eklendi
- 1 µL Oligo(dT) (10 µM) eklendi
- 1 µL dNTP Mix (10 mM) eklendi
- 14.5 µL'ye kadar Nükleaz-free H₂O eklendi.
- Karışım 5 dk 65 °C ısıtıldı ve buz üzerinde 1 dk inkübe edildi.
- 4 µL 5X RT tamponu eklendi.
- 0.5 µL RibonükleazOFF Ribonuclease Inhibitor eklendi.
- 1 µL OneScript® Plus RTaz eklendi.
- Tüm bileşenler kısa bir santrifüjden sonra cDNA sentezi oluşması için 15 dk 50 °C'de inkübe edildi.
- 5 dakika 85 °C'de ısıtarak reaksiyonu durduruldu. Buz üzerinde soğutuldu. Yeni sentezlenen cDNA hemen uygulandı.

3.6.3.4 Real Time PCR işlemi

Real Time PCR analizleri için BrightGreen 2X qPCR MasterMix (Applied Biological Materials Inc., Cat. No: Mastermix-U, Canada) kiti kullanıldı. Elde edilen sonuçların analizi Step One Plus marka RT-PCR ve üretici firmanın yazılım programıyla gerçekleştirildi. Her gen için ayrı ayrı amplifikasyon sonucunda elde edilen Ct (thershold-eşik değer) değerleri kullanılarak belirtilen genlerin mRNA ekspresyon düzeyleri belirlendi.

Tablo 3.1 Real-Time PCR için kullanılan primer dizileri

Gen		İleri ve Geri Primer (5'-3')
β-aktin	F	GCA GGA GTA CGA TGA GTC CG
	R	ACG CAG CTC AGT AAC AGT CC
SEMA3A	F	GGC TCC TGC TTC GTA GTC TG
	R	GCC ATC TCC ATC GTC ATC TT
PLEXNA1	F	GCC TTG TAT CCT CAC CGT GT
	R	TTT GTA GGC GAT GAG CAC AG
NRP1	F	CAT CAG GAT CTA CCC CGA GA
	R	CCT CCT GTG AGC TGG AAG TC
MCP1	F	CCT GGG TTC TTC CTG TCA CTA
	R	GGG GAG GGG CTT GTC ACT AT
TNF-α	F	ACT GAA CTT CGG GGT GAT CG
	R	GCT TGG TGG TTT GCT ACG AC
IL-6	F	CTC TCC GCA AGA GAC TTC CA
	R	TCT CCT CTC CGG ACT TGT GAA

RT-PCR işlemi üretici firmanın protokolüne göre gerçekleştirildi.

- BrightGreen 2X qPCR MasterMix'i, template DNA, primerler ve Nükleaz free su buz üzerinde çözüldü. Kuyucuk başına aşağıdaki miktarlar koyuldu;
- 5 μ L BrightGreen 2X qPCR MasterMix eklendi
- 0.3 μ L primer Forward eklendi
- 0.3 μ L primer Reverse eklendi
- 5 μ L cDNA eklendi
- 10 μ L Nükleaz free su eklendi

Tablo 3.2 RT-PCR işlem basamakları

Basamaklar	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
Enzim Aktivasyonu	95	10 dk	1
Denatürasyon	95	15 sn	40
Annealing/Extension	60	60 sn	40
Melting Curve	Kullanılan cihaza göre yönerge kullanıldı.		

Ekspresyon seviyesi araştırılan hedef genlerin mRNA düzeylerinin nisbi değişimleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Her gen için hesaplanan bu değer uygulama örneklerinin kontrol örneklerine göre mRNA düzeyini ifade etmektedir. İnternal kontrol olan β -Aktin geni kullanılarak diğer genlerin ekspresyon düzeylerinde normalizasyon yapılmıştır (Livak & Schmittgen, 2001).

3.6.4. MDA analizi

Doku homojenatlarında malondialdehit (MDA) düzeyi Okhawa ve arkadaşlarının bildirdiği yöntemle göre yapıldı (Okhawa, Ohishi & Yagi, 1979). Bu yöntemle göre; MDA, tiyobarbitürik asit (TBA) ile 95°C’de inkübasyon sonucu pembe renkli bir kompleks oluşturur; bu kompleksin spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda ölçümü gerçekleştirilir.

3.6.4.1 Çalışma Prosedürü

1,1,3,3 tetrametoksiopropan (yoğunluk: 0,99 g/mL)’ tan günlük stok standart (100 nmol/mL) hazırlandı ve farklı konsantrasyonlarda çalışma standartları hazırlamak için seri dilüsyon yapıldı.

- Böbrek doku örnekleri, 1/10 oranında %1,15’lik pH 7,0 olan Potasyum Klorür (KCl) çözeltisi ile homojenize edildi.
- Örnekler homojenizasyon sonrası 4 °C soğutmalı santrifüjde 1000 rpm’de 15 dakika boyunca santrifüj edildi ve süpernatant kısımları alındı.
- Aşağıdaki tabloda yer alan çözeltiler ve hacimlerde numune ve kör tüpleri hazırlandı.

MADDELER	KÖR	NUMUNE
% 8,1’lik Sodyum Dodesil Sülfat(SDS)	200 μ L	200 μ L
%20’lik pH 3,5 Asetat tamponu	1500 μ L	1500 μ L
%0,8’lik pH 5,5-7 Tiyobarbitürik asit(TBA)	1500 μ L	1500 μ L
Distile su	800 μ L	600 μ L
Örnekler	-	200 μ L

- Tüm tüpler 95 °C’de 60 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon süresinin sonunda tüpler musluk suyu ile soğutuldu. 1500 x g’de 10 dakika boyunca santrifüjlendi.
- 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak absorbanslar ölçüldü.
- Seri dilüsyon ile hazırlanan standartların (100-50-25-6,25-3,125-1,562-0 nmol/ml) absorbansları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği üzerinden MDA konsantrasyonları nmol/ml olarak hesaplandı.
- Homojenatların total proteinleri ölçüldü ve örneklerin konsantrasyonları total proteinlerine oranlandı. Doku MDA sonuçları nmol/mg protein olarak verildi.

3.6.5. MPO analizi

Çalışmamızda nötrofil aktivasyonu ve inflamasyonun değerlendirilmesinde myeloperoksidaz (MPO) enzim aktiviteleri ölçülmüştür. MPO aktivitesi, Suzuki ve arkadaşlarının belirlemiş olduğu, kinetik ölçüm yöntemi ile spektrofotometrik olarak belirlendi (Suzuki vd., 1983). Yöntem asidik koşullar altında, H₂O₂ ile birlikte MPO enzimin, Tetrametilbenzidini (TMB) substrat olarak kullanarak, okside TMB oluşturması ve oluşan ürünün 655 nm’de absorbans ölçümüne dayanmaktadır.

3.6.5.1 Çalışma Prosedürü

- Böbrek doku örnekleri, homojenizatör kullanılarak 1/10 oranında soğuk 50mM pH’sı 7,4 olan Fosfat tamponu ile homojenize edildi.
- Homojenatlardan 1 ml alınarak, 4 °C’de 4650 x g’de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısımları atıldı.
- Kalan pelletler, soğuk 50mM pH’sı 6,0 olan ve içersinde %0,5’lik HETAB ve 10mM EDTA içeren Fosfat tamponu ile tekrar homojenize edildi.
- Aşağıdaki kimyasallar ve hacimlerine göre tüm örnekler için numune ve bir adet kör tüpü hazırlandı.

MADDELER	KÖR	NUMUNE
pH 5,4 Fosfat tamponu	1000 µL	1000 µL
TMB (16mM DMF içinde çözülen)	200 µL	200 µL
Örnekler	-	40 µL
Distile su	700 µL	660 µL

- Tüm reaktifler eklendikten sonra, tüpler 2 dakika 37 °C'lik su banyosunda bekletildi.
- Ölçümden hemen önce tüplere 100 µL %0,06'lık H₂O₂ eklendi.
- 655 nm'de kör tüpüne karşı sıfırlandıktan sonra, 3 dakika boyunca absorbans artışları spektrofotometrede izlendi. Hesaplamalar aşağıdaki formüle göre yapıldı.

$$U/ml = \frac{\Delta A \times VT \times DF}{e \times VH \times \Delta t}$$

ΔA = Absorbans değişimi

VT = Küvet içerisindeki toplam hacim (ml)

DF = Dilüsyon faktörü

e = Ekstinksiyon katsayısı ($M^{-1} \cdot cm^{-1}$)

VH = Homojenat hacmi (ml)

Δt = Reaksiyon süresi

- Homojenatların total proteinleri ölçüldü ve enzim aktiviteleri total proteinlerine oranlandı. Doku MPO sonuçları U/mg protein olarak verildi.

3.6.6. Glutasyon analizi

Dokuda alifatik tiyol bileşiklerinin hafif alkali ortamda 5,5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asid (DTNB, Elman reaktifi) ile tepkimesi sonucu tiyol başına oluşan p-nitrofenol anyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır. Doku homojenatındaki GSH düzeyi Beutler yöntemine göre ölçülmüştür (Beutler, 1963).

3.6.6.1 Çalışma Prosedürü

- Böbrek doku örnekleri, homojenizatör kullanılarak 1/10 oranında soğuk 0.1 M pH'sı 7,4 olan fosfat tamponu ile homojenize edildi.
- Homojenatlar 4 °C'de 1500xg'de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısmından ölçümler yapıldı.
- Aşağıdaki kimyasallar ve hacimlerine göre tüm örnekler için numune ve bir adet kör tüpü hazırlandı.

	Kör	Örnek	Standart
Süpernatant	-	0.5 ml	-
Çöktürme Çözeltisi	-	0.75 ml	-
Karıştırıldıktan sonra 1500xg'de 15 dakika santrifüj edilir. Buradaki süpernatantdan devam edilir.			
Glutasyon standardı	-	-	0.5 ml
Süpernatant	-	0.5 ml	-
Distile Su	0.5 ml	-	-
Sekonder Sodyum Fosfat	2 ml	2 ml	2 ml
DTNB	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Vorteksle iyice karıştırıldıktan sonra 5 dakika beklenir ve 412 nm dalga boyunda köre karşı absorbanı okunur.			

Çöktürme çözeltisi: 1.67 gram metafosforik asit, 0.2 gram EDTA ve 30 gram NaCl bir miktar distile suda çözülür. Bu çözeltiler birleştirilip son hacim 100 ml'ye tamamlanır. %1 Sodyum sitrat çözeltisi: 1 gram trisodyum sitrat tartılıp 100 ml distile suda çözülür. Belirtme reaktifinin hazırlanmasında kullanılır.

Sekonder sodyum fosfat çözeltisi: 10.65 gram Na₂HPO₄ distile suda çözülür ve son hacim 250 ml'ye tamamlanır.

Belirtme reaktifi: 0.8 gram DTNB önceden hazırlanmış olan %1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözülür ve son hacim 200 ml'ye tamamlanır. (Taze hazırlanmalıdır.)

Fosfat tamponu (0.1 M, pH:7.4): 3.4 gram KH₂PO₄ tartılır ve 250 ml distile suda çözülür. 4.35 gram K₂HPO₄ tartılır ve 250 ml distile suda çözülür. K₂HPO₄ üzerine azar azar KH₂PO₄ eklenmesiyle pH'sı 7.4'e ayarlanır.

GSH konsantrasyonları örnek total protein konsantrasyonlarına oranlandı. Doku GSH ölçüm sonuçları µmol/mg protein olarak verildi.

3.6.7. Protein analizi

Böbrek doku örneklerinde total protein düzeyi Gornall ve ark. tarafından bildirilen Biüret yöntemine göre gerçekleştirildi (Gornall, Bardawill & David, 1949). Bu yöntem, alkali koşullar altında Cu⁺² iyonlarının aminoasit, peptid, protein gibi amonyumlu bileşiklerle mavi-mor renkli kompleks oluşturması esasına dayanmaktadır. Oluşan renkli kompleksin absorbanı spektrofotometrik olarak 545 nm dalga boyunda ölçümleri yapıldı.

Biüret Reaktifinin Hazırlanması: 1,5 gr CuSO₄ ve 6 gr Na-K-tartarat tartılarak ayrı kaplarda az miktar distile su ile çözüldü. 30 gr NaOH da yine 300 ml de distile su ile çözüldü (2,5 N). Bu reaktifler karıştırıldı ve 1 L'ye tamamlandı.

Standartların Hazırlanması: Standart olarak Bovin Serum Albumin kullanıldı. 20mg/ml stok çözelti hazırlanarak seri dilüsyonlar ile 20-10-5-2,5-1,25-0 mg/mL hacimde standartlar hazırlandı.

Standartlar, homojenatlar ve kör için tüpler hazırlandı ve aşağıdaki tabloya göre çözeltilerin pipetlemeleri yapıldı. Biüret ölçüm prosedüründeki bileşenlerin hacimleri aşağıdaki gibidir.

	KÖR	NUMUNE	STANDARTLAR
Homojenat	-	50 µL	-
Standartlar	-	-	50 µL
Biüret Rektifi	1250 µL	1250 µL	1250 µL
Distile su	50 µL	-	-

15 dakika karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletildikten sonra 545 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümleri gerçekleştirildi.

3.6.8. Histopatolojik analiz

Histolojik çalışmalar, ESOĞÜ Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Tüm gruplarda diseksiyondan hemen sonra sol böbrek dokusu alınıp üç kısma ayrılarak orta kısım histolojik analizler için %10'luk nötral formaldehit fiksasyon sıvısına koyuldu. Histolojik incelemeler için alınan orta kısım böbrek dokularının her biri doku takip kaseti içerisinde %10 tamponlanmış nötralfomaldehit solüsyonunda 24 saat süre ile bekletildi. Kimyasal fiksasyonu tamamlanan dokular etil alkol serisinde sırasıyla 1'er saat %70, %80, %90(1), %90(2), %96(1), %96(2) ve 30 dakika absölü etil alkolden geçirilerek dehidratasyon sağlandı. Kimyasal fiksasyonu tamamlanan dokular 30'ar dakika 2 kez ksilol uygulamasıyla dokuların şeffaflanması sağlanıp, dokular parafinizasyon için 60°C etüvdeki 3 ayrı parafinde sırasıyla 30, 60, 60 dakika sürelerle bekletilerek bloklandı. Bu bloklardan standart H&E boyama uygulaması yapılmak üzere kesit alışıını kolaylaştırmak amacıyla mikrotom bıçağı ve diğer malzemeler önceki geceden -20°C de soğutuldu.

Mikrotom (Leica RM 2025) kullanılarak 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı ve su banyosunda parafin açılarak Poly-L-Lysine kaplı lamalar üzerine kapatıldı. Kesitler 37°C etüvde 1 gece bekletildikten sonra ksilolde deparafinize edildi. Derecesi azalan etil alkol serilerinde hidratasyonu sağlanarak H&E boyamaları yapıldı ve preparatlar entellan ile kapatılarak daimi hale getirildi. H&E boyanmış böbrek kesitlerinde ışık mikroskobu düzeyinde histopatolojik incelemeleri yapıldı. Hazırlanan tüm doku kesitleri Olympus marka, CH40 ışık mikroskobunda incelenerek Spot Insight marka 3.2.0. model dijital kamera ve Spot advanced, 4.0.6 version program yardımıyla fotoğraflandırıldı.

3.6.8.1 Böbrek doku örneklerinde immunohistokimyasal analizler

Doku örneklerinde SEMA3A eksprese eden hücrelerin saptanması için kesitler, 4 °C'de gece boyunca nemlendirilmiş odalarda SEMA3A (Anti-Semaphorin 3A antibody; ab23393; Abcam) primer antikorların varlığında inkübe edildi. Hazırlanan tüm doku kesitleri Olympus marka, CH40 ışık mikroskobunda incelenerek Spot Insight marka 3.2.0. model dijital kamera ve Spot advanced, 4.0.6 version program yardımıyla fotoğraflandırıldı.

3.6.8.2 Böbrek doku örneklerinde apoptotik süreçlerin belirlenmesi

Doku genelindeki apoptotik hücreleri belirlemek için ise TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) yönteminden yararlanıldı. Apoptotik hücrelere ait DNA'lar hızla parçalanmakta olduklarından, birdenbire hücre içerisindeki kromatin ağ, bütünlüğünü kaybeder ve 3'-OH içeren DNA parçacıklarının sayısı çok yükselir. Hücrede terminal deoksiniükleotidil transferaz (TdT) enzimi, ortama eklenen biotin dUTP'yi, parçalanmış DNA parçacıklarının serbest 3'-OH uçlarına transfer eder. Biotin ile işaretlenmiş DNA parçacıkları ışık mikroskopunda veya ortama floresans veren bir madde ile bağlanmış streptavidin eklendiğinde floresan mikroskopunda görünür hale gelirler. Bu yöntem tek tek hücrelerde insitu apoptozisi gösterebildiği için hücre kültürlerinde ve doku kesitlerinde çok duyarlı bir testtir. Ticari olarak satılan Apoptag Plus Peroxidase Tunel (Millipore S7101) kiti kullanıldı.

3.7. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar, Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk normalite testleri kullanılarak değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen veriler için Kruskal-Wallis testi uygulandı. Normal dağılım gösteren veriler için deney grupları arasındaki farkı tek yönlü ANOVA testi kullanılarak gösterildi. Tüm istatistik uygulamalar sonucunda sayısal değer (p) olarak ortaya çıkan deney grupları arasındaki farklar, $p < 0.05$ önem derecesinde anlamlı olarak kabul edildi. Çoklu karşılaştırmalarda Tukey ve Dunn testi kullanıldı. İstatistiksel analiz SPSS Versiyon 21.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, USA) ve Graphpad 7 Prism yazılım (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) programları kullanılarak yapıldı. Tüm gruplardan elde edilen normal dağılım gösteren veriler ortalama \pm standart hata olarak verilirken, normal dağılım göstermeyenler medyan 50(25-75) olarak verildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Ölçüm Sonuçları

Her grupta sekiz hayvandan elde edilen normal dağılım gösteren veriler tek yönlü ANOVA ile analiz edilip ortalama \pm standart hata olarak sunuldu ve ardından Tukey HSD testi ile gruplar arası karşılaştırmalar yapıldı. Normal dağılım göstermeyen veriler Kruskal-Wallis ile analiz edilip medyan 50(25-75) olarak sunuldu ve ardından Dunn's testi ile gruplar karşılaştırıldı. Tüm deney gruplarına ait kan örneklerinden elde edilen serumdaki normal dağılım gösteren BUN, CREA, UA, ve K değerleri Tablo 4.1'de, normal dağılım göstermeyen AST, ALT ve Na değerleri ise Tablo 4.2'de verilmiştir. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar ise şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.1 Deney gruplarında serum BUN, CREA, UA ve K ortalama \pm standart hata değerleri

Gruplar	BUN (mg/dl)	CREA (mg/dl)	UA (mg/dl)	K (mmol/L)
Grup I	21.61 \pm 1.09	0.47 \pm 0.01	0.82 \pm 0.06	5.03 \pm 0.15
Grup II	55.73 \pm 2.29 ^a	0.81 \pm 0.24 ^a	1.21 \pm 0.05 ^a	5.53 \pm 0.44
Grup III	56.83 \pm 1.58 ^a	0.98 \pm 0.17 ^a	1.20 \pm 0.07 ^a	5.52 \pm 0.22
Grup IV	43.51 \pm 4.94 ^{a,b}	0.70 \pm 0.15 ^{a,b}	0.93 \pm 0.05	5.23 \pm 0.14
Grup V	51.88 \pm 2.53 ^a	0.86 \pm 0.05 ^a	1.02 \pm 0.08	5.33 \pm 0.09

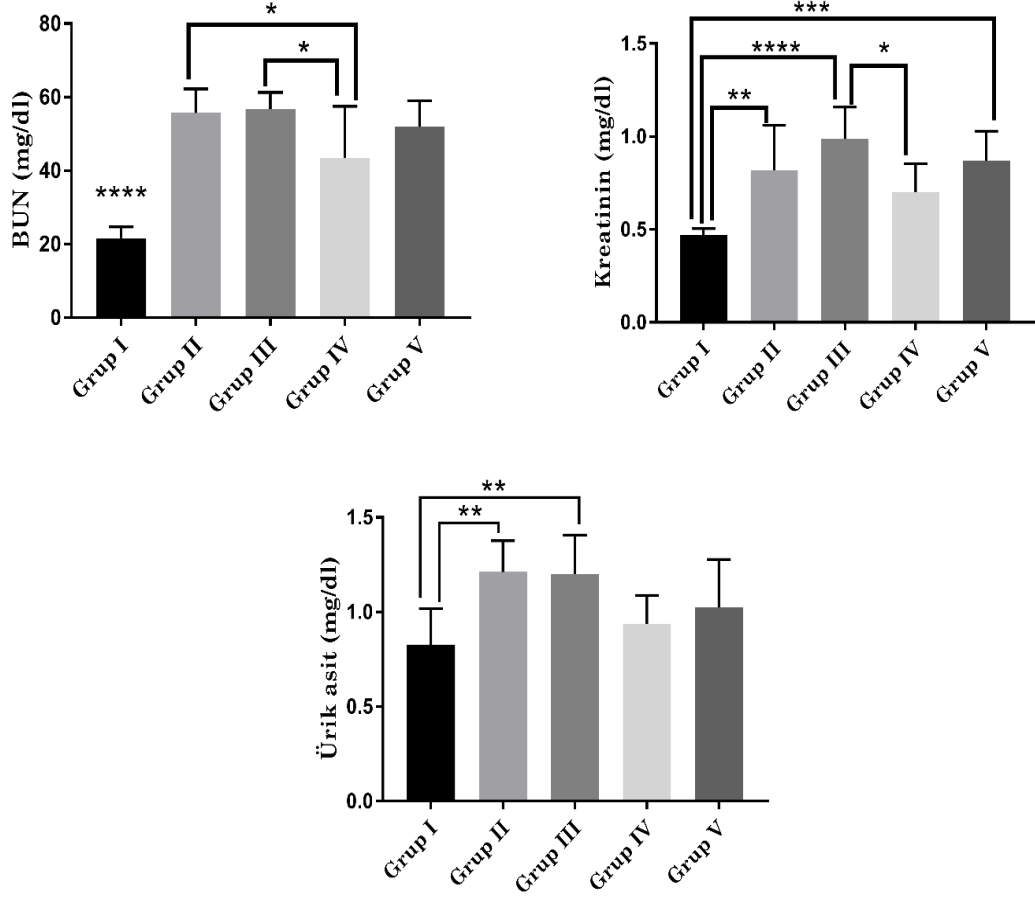
a: grup I' göre karşılaştırıldığında $p < 0.05$, b: grup II ve grup III'e göre karşılaştırıldığında $p < 0.05$.

Tablo 4.2 Deney gruplarında serum AST, ALT ve Na medyan 50(25-75) değerleri

Gruplar	Na (mmol/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)
Grup I	134 (133.3-136.3)	433 (417.3-440.5)	86 (79-93)
Grup II	141 (138.3-142) ^a	536.5 (495.8-576.8) ^a	132 (128.3-142) ^a
Grup III	138.5 (137.3-139.8)	521.5 (515-550.5) ^a	130 (118.8-141.3) ^a
Grup IV	140 (139-142) ^a	483 (474-504)	93.5 (83.5-106.5) ^b
Grup V	139 (138-140)	522.5 (509.3-542) ^a	105.5 (98.2-113.5)

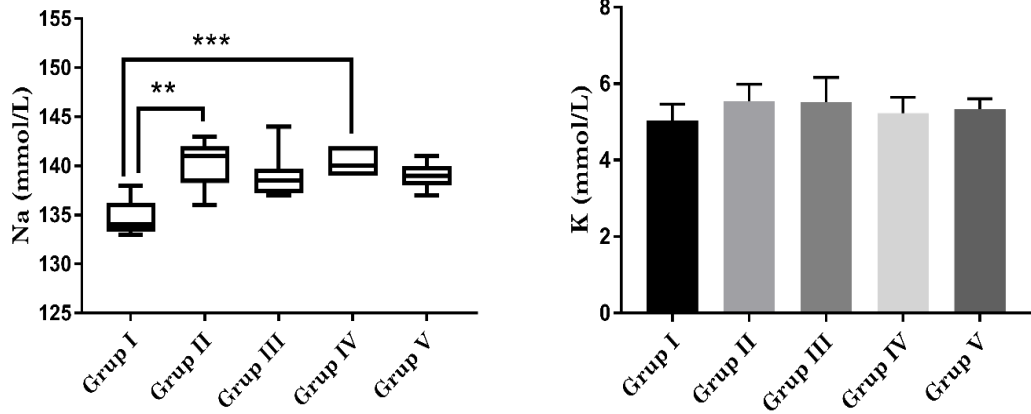
a: grup I' göre karşılaştırıldığında $p < 0.05$, b: grup II ve grup III'e göre karşılaştırıldığında $p < 0.05$.

Grup II (İ/R) ve III (İ/R + DMSO)'deki serum CREA, UA ve BUN seviyeleri Grup I (Sham)'e göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0.001$). Grup IV (İ/R +100 mg/kg CUR)'ten elde edilen verilerde ise, Grup II ve III'e göre karşılaştırıldığında serum BUN ve CREA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenirken ($p < 0.05$), Grup V (İ/R +2 μ g/kg LOXblock-1)'te serum BUN ve CREA seviyelerinde istatistiksel bir fark gözlenmedi.



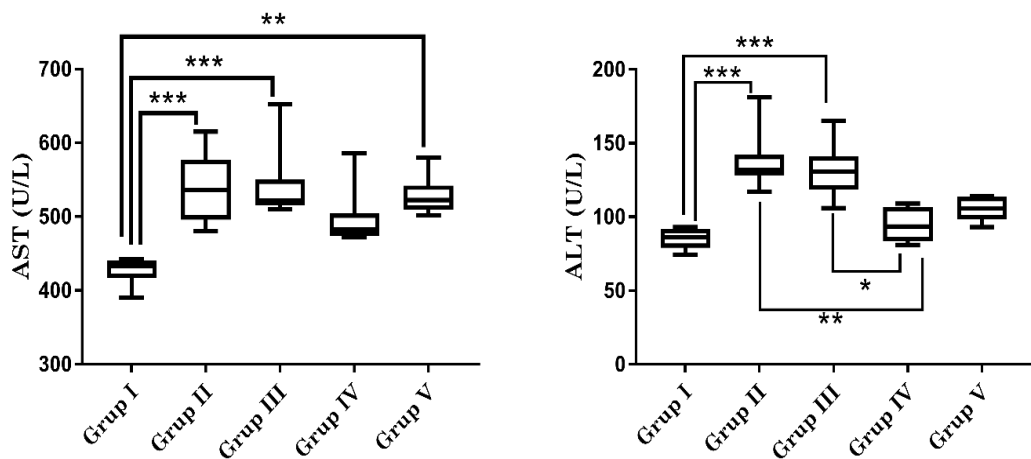
Şekil 4.1 Gruplar arasında serum BUN, CREA ve UA seviyelerinin ortalama \pm standart hata grafiği

Na düzeylerine bakıldığında, Grup II ve IV'ten elde edilen verilerde Grup I' göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir artış olduğu gözlenirken ($p < 0.05$), K düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmedi.



Şekil 4.2 Gruplar arasında serum Na ve K seviyelerinin medyan 50(25-75) ve ortalama ± standart hata grafiği

AST ve ALT enzim aktiviteleri değerlendirildiğinde, Grup I'e göre karşılaştırıldığında, diğer gruplarda istatistiksel olarak bir artış olduğu gözlemlendi ($p < 0.001$). Grup IV'te elde edilen ALT değerlerinde, Grup II ve III' göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüşken ($p < 0.05$), AST değerlerinde istatistiksel fark bulunmamıştır.



Şekil 4.3 Gruplar arasında serum AST ve ALT aktivitelerinin medyan 50(25-75) grafiği

4.2. Elisa Analiz Sonuçları

Deney gruplarının serum SEMA3A, PLXNA1, NRP1, TNF- α , IL-6, MCP1, CYCS, CASP, TAS ve TOS parametre değerleri tablolarda gösterilmiştir.

Deney gruplarında Serum SEMA3A, PLXNA1 ve NRP1 ortalama \pm standart hata değerleri Tablo 4.3'te verilmiştir. Gruplar arasındaki farkları gösteren grafikler ise Şekil 4.4'de gösterilmiştir.

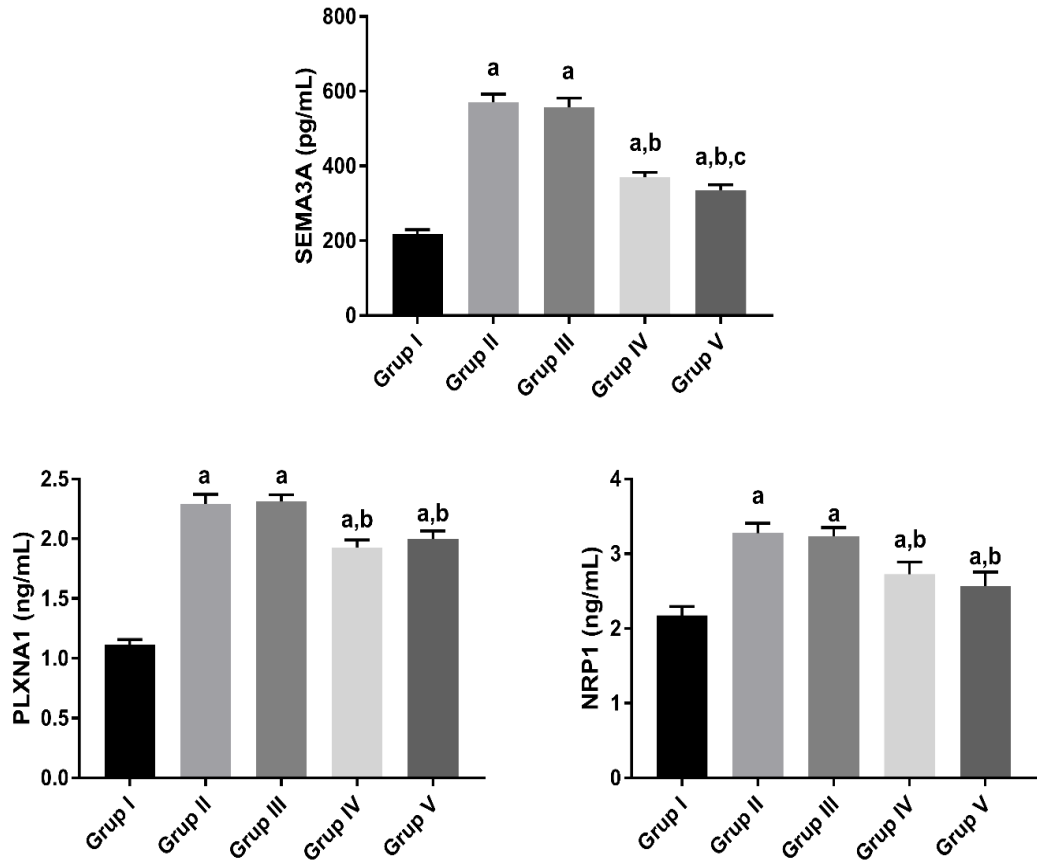
Gruplar arasında SEMA3A düzeylerine bakıldığında, Grup II ve III'te elde edilen verilerde, grup I ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir artış olduğu tespit edildi ($p < 0.001$). Grup IV ve V, grup II ile karşılaştırıldığında ise, SEMA3A düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma olduğu gözlemlendi ($p < 0.001$). Grup V'teki SEMA3A düzeyleri ise grup IV ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak daha düşüktü ($p < 0.05$).

En yüksek ortalama PLXNA1 ve NRP1 değerleri, İ/R'nin neden olduğu grup II'de tespit edildi ($p < 0.001$). Grup IV ve V arasında istatistiksel bir fark bulunmadı. Ancak, grup II ve III ile karşılaştırıldığında, bu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi ($p < 0.001$).

Tablo 4.3 Deney gruplarında serum SEMA3A, PLXNA1 ve NRP1 ortalama \pm standart hata değerleri

Gruplar	SEMA3A (pg/mL)	PLXNA1 (ng/mL)	NRP1 (ng/mL)
Grup I	217.7 \pm 4.20	1.11 \pm 0.01	2.17 \pm 0.04
Grup II	570.3 \pm 7.82 ^a	2.29 \pm 0.02 ^a	3.27 \pm 0.04 ^a
Grup III	556.8 \pm 8.80 ^a	2.31 \pm 0.01 ^a	3.23 \pm 0.04 ^a
Grup IV	369.7 \pm 4.72 ^{a,b}	1.92 \pm 0.02 ^{a,b}	2.72 \pm 0.05 ^{a,b}
Grup V	335.6 \pm 5.07 ^{a,b,c}	1.99 \pm 0.02 ^{a,b}	2.56 \pm 0.06 ^{a,b}

a: grup I' göre karşılaştırıldığında $p < 0.001$, b: grup II ve grup III'e göre karşılaştırıldığında $p < 0.001$, c: grup IV'e göre karşılaştırıldığında $p < 0.05$



Şekil 4.4 Gruplar arasında serum SEMA3A, PLXNA1 ve NRP1 ortalama \pm standart hata grafiği

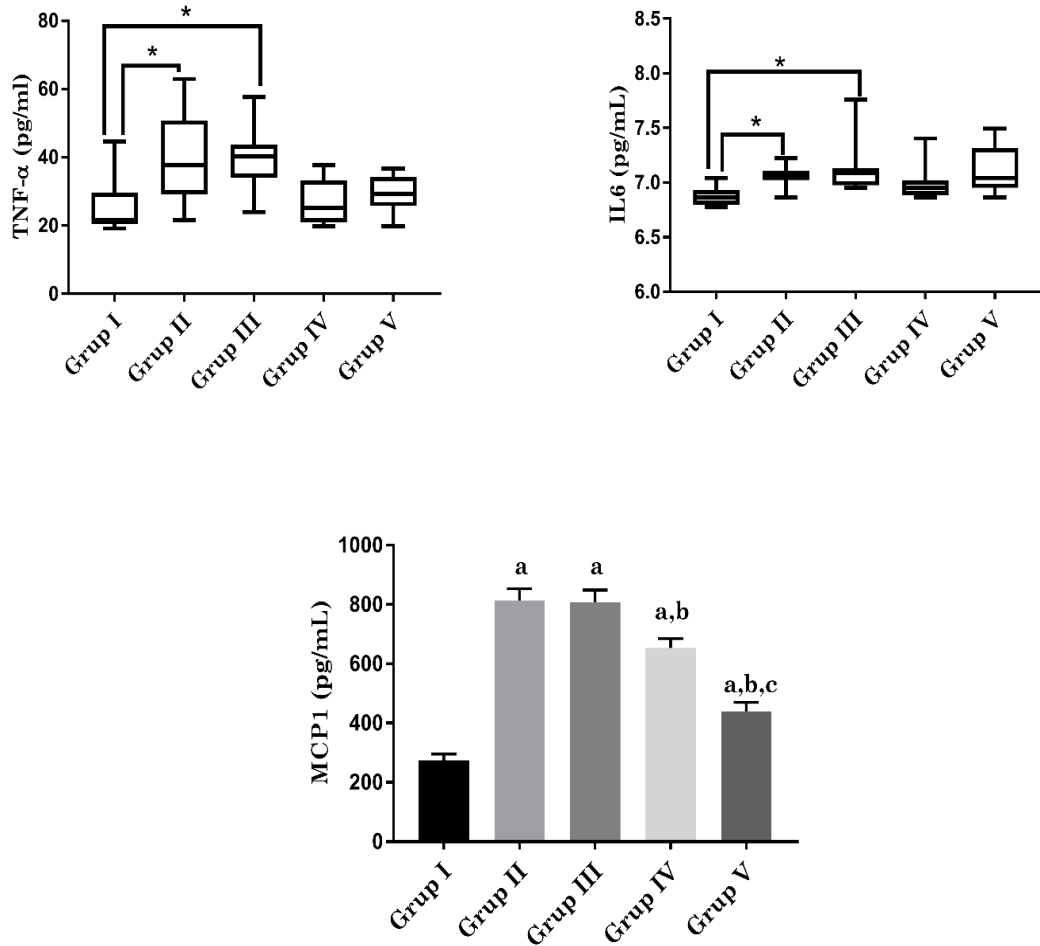
Deney gruplarında Serum TNF- α ile IL-6 ortalama \pm standart hata ve MCP1 medyan 50(%25-%75) değerleri Tablo 4.4’de verilmiştir. Gruplar arasındaki farkları gösteren grafikler ise Şekil 4.5’de gösterilmiştir.

TNF- α ve IL-6 için Grup II ve III’ten elde edilen verilerde, grup I ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$). Grup IV ve V’ten elde edilen TNF- α ve IL-6 değerlerinde bir azalma gözlemlense de grup II ve III ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi. Grup II ve III’ten elde edilen MCP1 verilerinde ise, grup I ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. Grup IV ve V’te ise, grup II ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi. Grup V’ten elde edilen verilerde ise, grup IV’e göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi.

Tablo 4.4 Deney gruplarında serum TNF- α , IL-6 ve MCP1 medyan 50(25-75) ve ortalama \pm standart hata değerleri

Gruplar	TNF- α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	MCP1 (pg/mL)
Grup I	21.60 (20.38-29.59)	6.86 (6.79-6.93)	272.7 \pm 7.88
Grup II	37.78 (29.20-50.75) ^a	7.04 (7.04-7.11) ^a	813.4 \pm 13.98 ^a
Grup III	40.24 (33.95-43.72) ^a	7.08 (6.97-7.13) ^a	808.2 \pm 14.24 ^a
Grup IV	25.10 (20.99-33.22)	6.95 (6.88-7.02)	653.2 \pm 11.12 ^{a,b}
Grup V	29.21 (25.70-34.14)	7.04 (6.95-7.31)	439.6 \pm 10.54 ^{a,b,c}

a: grup I' göre karşılaştırıldığında p<0.05, b: grup II ve grup III'e göre karşılaştırıldığında p<0.05, c: grup IV'e göre karşılaştırıldığında p<0.05



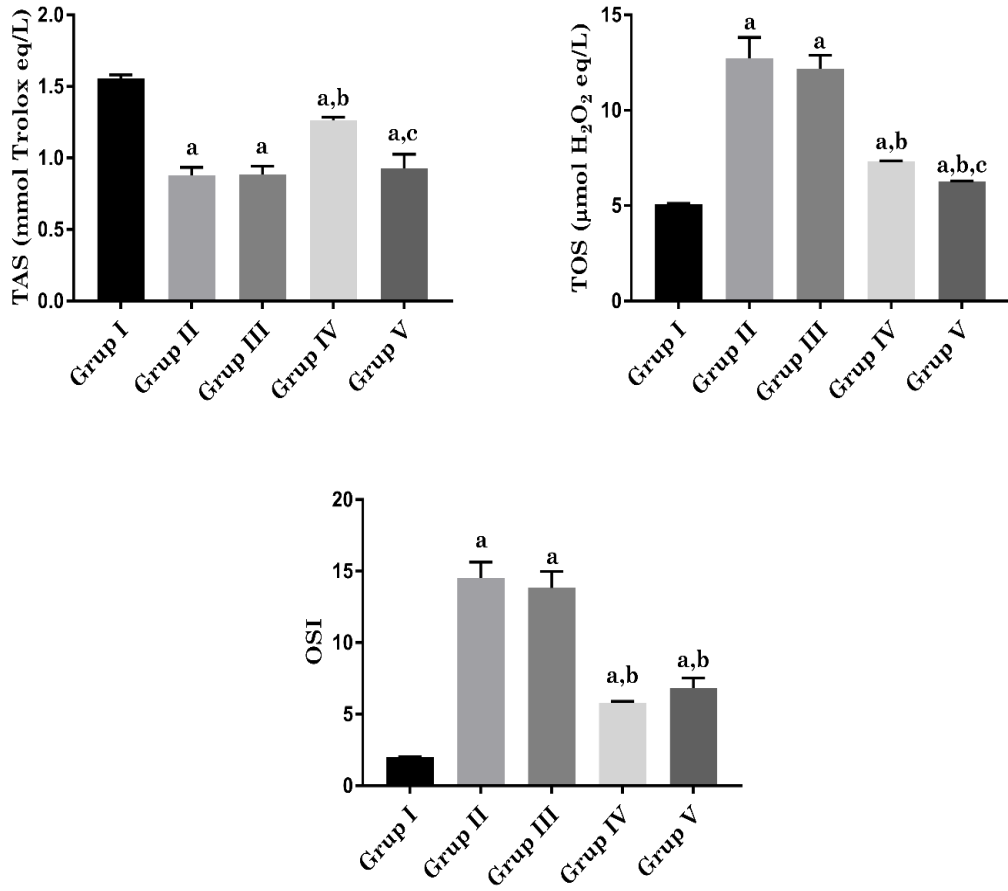
şekil 4.5 Gruplar arasında serum TNF- α , IL-6 ve MCP1 medyan 50(25-75) ortalama \pm standart hata grafiği

Deney gruplarında Serum TAS ve TOS ortalama \pm standart hata değerleri Tablo 4.5’de verilmiştir. Gruplar arasındaki farkları gösteren grafikler ise Şekil 4.6’de gösterilmiştir. En yüksek TOS değerleri, grup II’de tespit edildi. Grup IV ve V’teki TOS değerleri grup II ve III’e göre kıyasla istatistiksel olarak daha düşüktü (p<0.001). Curcumin uygulanan grup IV’te, grup II ve III’e göre kıyasla TAS seviyelerinde bir artış tespit edilmiştir (p<0.001). Ancak, Loxblock-1 uygulanan grup V’te, bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi. Grup II ve III’deki OSI değerleri, diğer gruplardan anlamlı derecede daha yüksekti. Grup IV ve V’teki OSI değerlerinde grup II ve III’e göre kıyasla istatistiksel anlamlı bir azalmanın olduğu bulunmuştur (p<0.001).

Tablo 4.5 Deney gruplarında serum TAS, TOS ve OSI ortalama \pm standart hata değerleri

Gruplar	TAS	TOS	OSI
Grup I	1,55 \pm 0.01	5.09 \pm 0.01	1.98 \pm 0.01
Grup II	0.87 \pm 0.05 ^a	12.71 \pm 0.39 ^a	14.51 \pm 0.39 ^a
Grup III	0.88 \pm 0.02 ^a	12.18 \pm 0.24 ^a	13.82 \pm 0.41 ^a
Grup IV	1.26 \pm 0.02 ^{a,b}	7.30 \pm 0.01 ^{a,b}	5.78 \pm 0.04 ^{a,b}
Grup V	0.92 \pm 0.03 ^{a,c}	6.27 \pm 0.01 ^{a,b,c}	6.84 \pm 0.24 ^{a,b}

a: grup I’ göre karşılaştırıldığında p<0.001, b: grup II ve grup III’e göre karşılaştırıldığında p<0.001, c: grup IV’e göre karşılaştırıldığında p<0.001



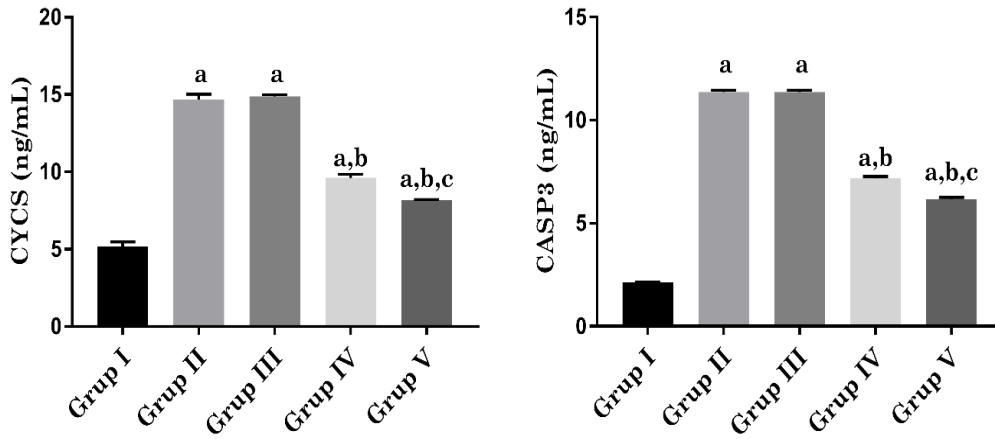
Şekil 4.6 Gruplar arasında serum TAS, TOS ve OSI ortalama \pm standart hata grafiği

Deney gruplarında Serum CYCS ve CASP3 aktiviteleri ortalama \pm standart hata değerleri Tablo 4.6’da verilmiştir. Gruplar arasındaki farkları gösteren grafikler ise Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Grup I ile grup II ve III arasında CYCS ve CASP3 aktivitesi değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Grup IV ve V, grup II ile karşılaştırıldığında CYCS ve CASP3 aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş tespit edildi ($p < 0.001$). Grup V’de elde edilen verilerde ise grup IV ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0.001$).

Tablo 4.6 Deney gruplarında serum CYCS ve CASP3 ortalama \pm standart hata değerleri

Gruplar	CYCS (ng/mL)	CASP3 (ng/mL)
Grup I	5.18 \pm 0.10	2.11 \pm 0.01
Grup II	14.68 \pm 0.11 ^a	11.37 \pm 0.03 ^a
Grup III	14.87 \pm 0.04 ^a	11.53 \pm 0.03 ^a
Grup IV	9.60 \pm 0.08 ^{a,b}	7.17 \pm 0.03 ^{a,b}
Grup V	8.17 \pm 0.01 ^{a,b,c}	6.16 \pm 0.03 ^{a,b,c}

a: grup I' göre karşılaştırıldığında $p < 0.001$, b: grup II ve grup III'e göre karşılaştırıldığında $p < 0.001$, c: grup IV'e göre karşılaştırıldığında $p < 0.001$



Şekil 4.7 Gruplar arasında serum CYCS ve CASP3 düzeylerinin ortalama \pm standart hata grafiği

4.3. Real-Time PCR Analiz Sonuçları

SEMA3A, PLXNA1, NRP1, MCP1, TNF- α ve IL6 mRNA ekspresyon değerleri sırasıyla tablo 4.7 ve 4.8'de verilmiştir. β -aktin primeri housekeeping gen olarak kullanılmıştır. Tüm gruplara ait elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerleri gruplar arasında karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmiştir.

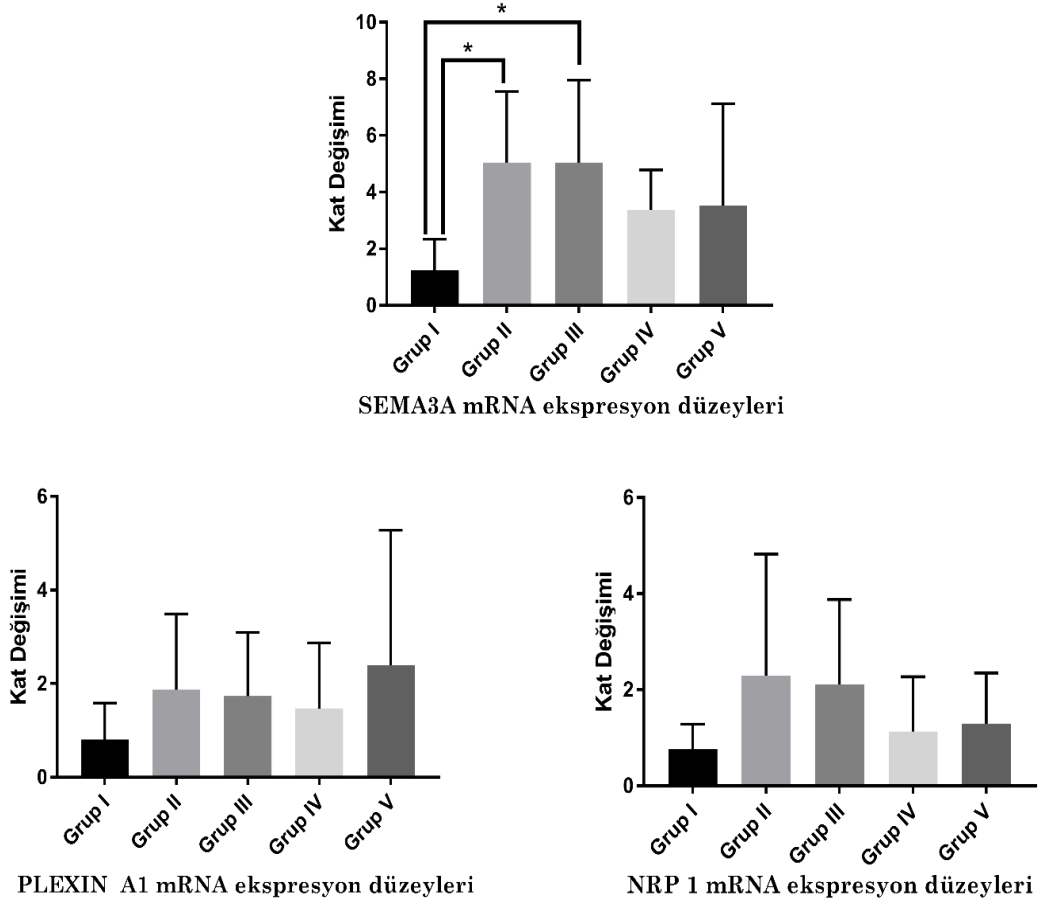
Grup II ve III, grup I ile karşılaştırıldığında SEMA3A gen ekspresyon düzeylerinde istatistiksel olarak yaklaşık dört kat anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0.05$). Tedavi grupları olan grup IV ve V'e bakıldığında ise SEMA3A gen ekspresyon düzeyleri azalmış olsada, bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildi. PLXNA1 ve NRP1 gen ekspresyon düzeylerinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 4.7 Deney gruplarına ait SEMA3A, PLXNA1 ve NRP1 gen ekspresyonu ortalama \pm standart hata değerleri

Gruplar	SEMA3A	PLXNA1	NRP1
Grup I	1,244 \pm 0,38	0.808 \pm 0.28	0.756 \pm 0.19
Grup II	5,038 \pm 0.88 ^a	1.877 \pm 0.57	2.289 \pm 0.90
Grup III	5.036 \pm 1.03 ^a	1.732 \pm 0.48	2.109 \pm 0.62
Grup IV	3.359 \pm 0.51	1.469 \pm 0.49	1.131 \pm 0.40
Grup V	3.533 \pm 1.27	2.399 \pm 1.02	1.293 \pm 0.37

a: grup I' göre karşılaştırıldığında $p < 0.05$

Gruplar arasındaki gen ekspresyon düzeyleri katlı değişim olarak Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



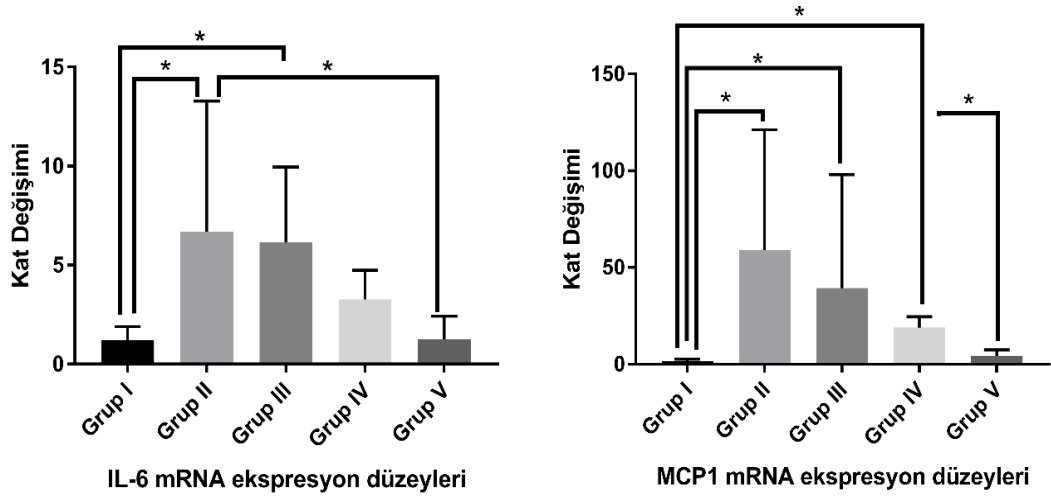
Şekil 4.8 Böbrek dokusuna ait gruplar arasında SEMA3A, PLXNA1, NRP 1 mRNA ekspresyon kat değişim grafiği

Grup II'deki IL-6 ve MCP1 gen ekspresyon düzeylerinde grup I ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). Grup III ve IV'te MCP-1 gen ekspresyon düzeyleri grup I ile kıyaslandığında daha yüksek gözlenirken, grup V'teki IL-6 ve MCP-1 gen ekspresyon düzeyleri grup II'ye göre istatistiksel olarak azaldığı tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki gen ekspresyon düzeyleri katlı değişim olarak Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4.8 Deney gruplarına ait IL-6 ve MCP1 gen ekspresyonu ortalama \pm standart hata değerleri

Gruplar	IL-6	MCP 1
Grup I	1.215 \pm 0.24	1.462 \pm 0.40
Grup II	6.689 \pm 2.33 ^a	58.97 \pm 21.99 ^a
Grup III	6.149 \pm 1.34 ^a	39.31 \pm 20.75 ^a
Grup IV	3.268 \pm 0.52	18.92 \pm 2.01 ^a
Grup V	1.253 \pm 0.41 ^b	4.31 \pm 1.17 ^b

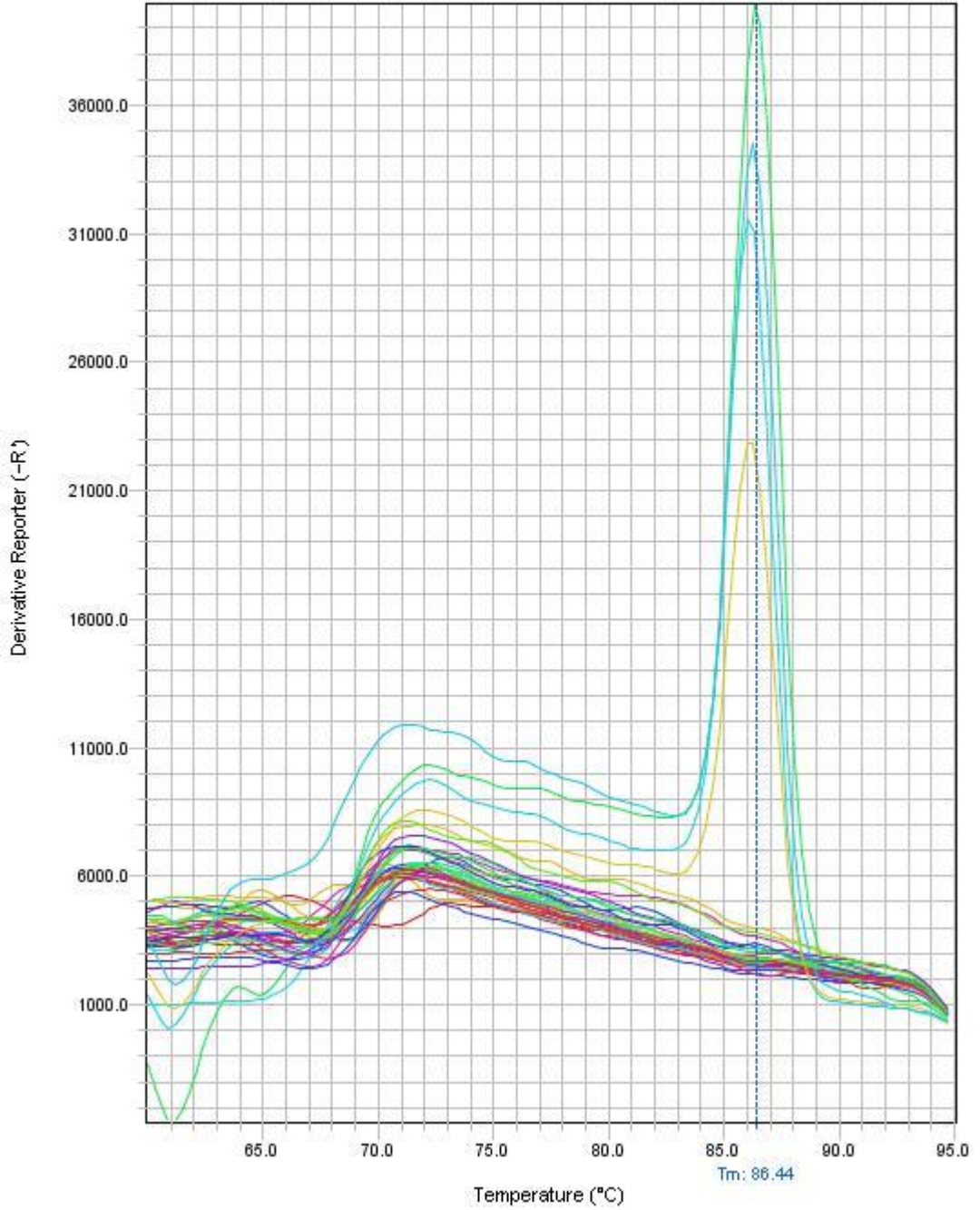
a: grup I'e göre karşılaştırıldığında $p<0.05$, b: $p<0.05$ grup II'ye göre karşılaştırıldığında



Şekil 4.9 Böbrek dokusuna ait gruplar arasında IL-6 ve MCP1 mRNA ekspresyon kat değişim grafiği

TNF- α gen ekspresyonu belirlemek için iki ayrı primer ile ölçümler gerçekleştirildi. İstatistiksel analizler için gruplardan yeteri kadar cT verileri elde edilmedi. Bu yüzden, gruplar arasında TNF- α için gen ekspresyon düzeyleri belirlenemedi. Erime eğrisi analizi, spesifik olmayan primer ve primer dimer ürünlerini tespit eder. TNF- α için erime eğrisi grafiği şekil 4.10'da gösterilmiştir.

Melt Curve



Şekil 4.10 TNF- α erime eğrisi analizi

4.4. Böbrek Dokusunda MDA, MPO ve GSH Analiz Sonuçları

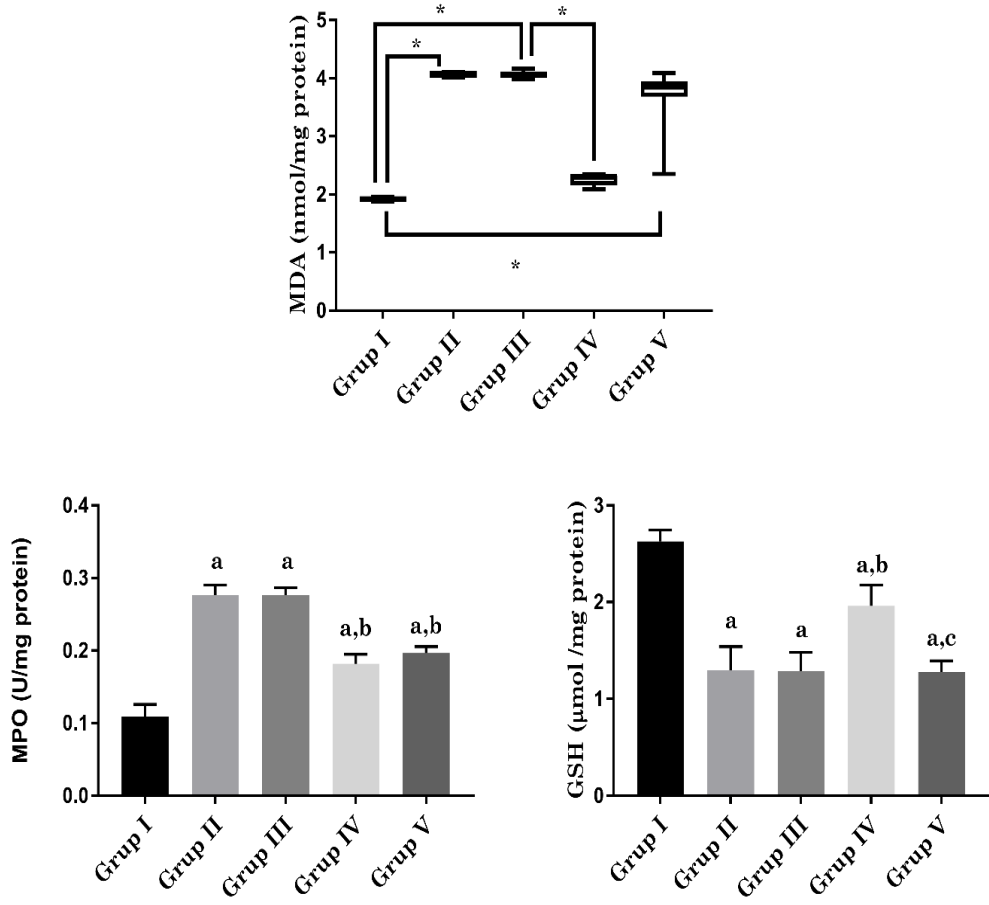
Deney gruplarından elde edilen böbrek dokusundaki MDA, MPO ve GSH medyan 50(25-75) ve ortalama \pm standart hata değerleri Tablo 4.9’da verilmiştir. Gruplar arasındaki farkları gösteren grafikler ise Şekil 4.11’de gösterilmiştir.

Grup I’e göre kıyasla, grup II, III ve V’te böbrek dokusunda MDA değerleri anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.05$). Grup IV’te ise MDA değerleri, Grup II ve III’e göre kıyasla anlamlı bir düşüş gösterdi ($p<0.05$). Böbrek dokularında GSH değerleri grup I’e göre kıyasla diğer gruplarda anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$). Grup IV, grup II ve III ile kıyaslandığında GSH değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı. Ancak, grup V, grup II ve III ile kıyaslandığında böyle bir fark gözlenmedi. Grup IV ile Grup V kıyaslandığında ise istatistiksel bir fark vardı ($p<0.05$). MPO değerleri grup I’e göre kıyasla diğer gruplarda daha yüksekti ($p<0.05$). Grup IV ve V’ten elde edilen değerler ise grup II ve III’e göre kıyasla istatistiksel olarak daha düşüktü ($p<0.05$). Grup IV ve V arasında anlamlı bir fark gözlenmedi.

Tablo 4.9 Deney gruplarına ait böbrek dokusunda MDA, MPO ve GSH medyan 50(25-75) ve ortalama \pm standart hata değerleri

Gruplar	MDA (nmol/mg protein)	MPO (U/mg protein)	GSH (μ mol/g protein)
Grup I	1.92 (1.88-1.94)	0.10 \pm 0.01	2.62 \pm 0.04
Grup II	4.06 (4.05-4.08) ^a	0.27 \pm 0.01 ^a	1.29 \pm 0.08 ^a
Grup III	4.06 (4.01-4.11) ^a	0.27 \pm 0.01 ^a	1.28 \pm 0.06 ^a
Grup IV	2.31 (2.16-2.33) ^b	0.18 \pm 0.01 ^{a,b}	1.96 \pm 0.07 ^{a,b}
Grup V	3.84 (3.68-3.94) ^a	0.19 \pm 0.01 ^{a,b}	1.27 \pm 0.04 ^{a,c}

a: grup I’e göre karşılaştırıldığında $p<0.05$, b: $p<0.05$ grup II’ye göre karşılaştırıldığında, c: $p<0.05$ grup IV’e göre karşılaştırıldığında

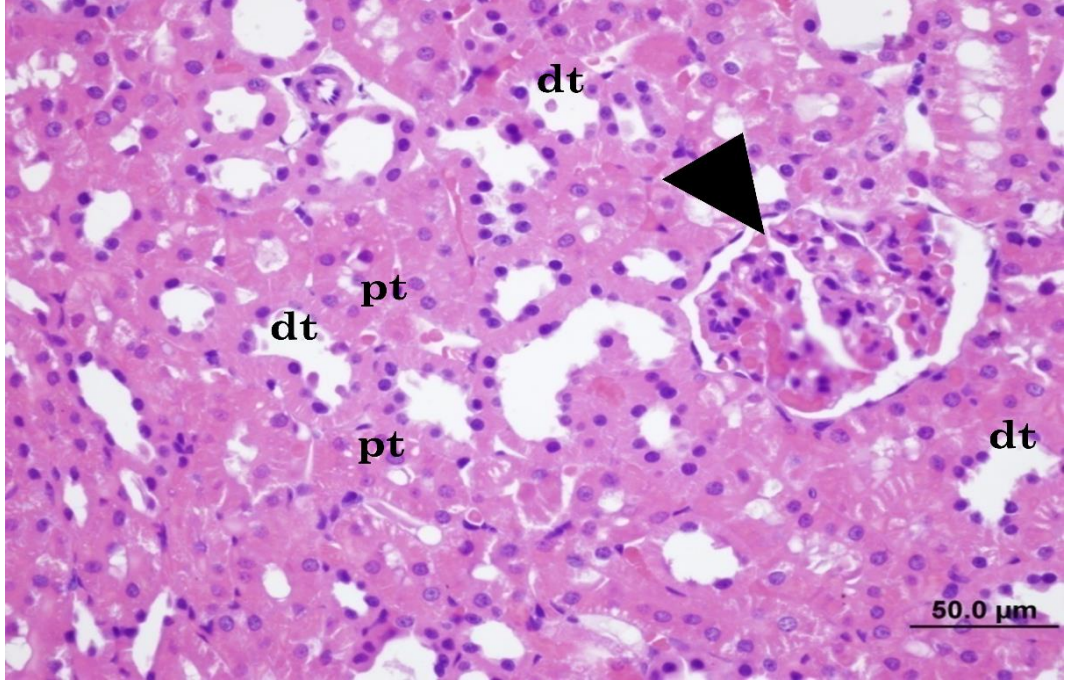


Şekil 4.11 Gruplar arasında böbrek dokusundaki MDA, MPO ve GSH medyan 50(25-75) ve ortalama \pm standart hata değerleri grafiği

4.5. Histopatolojik Analiz Sonuçları

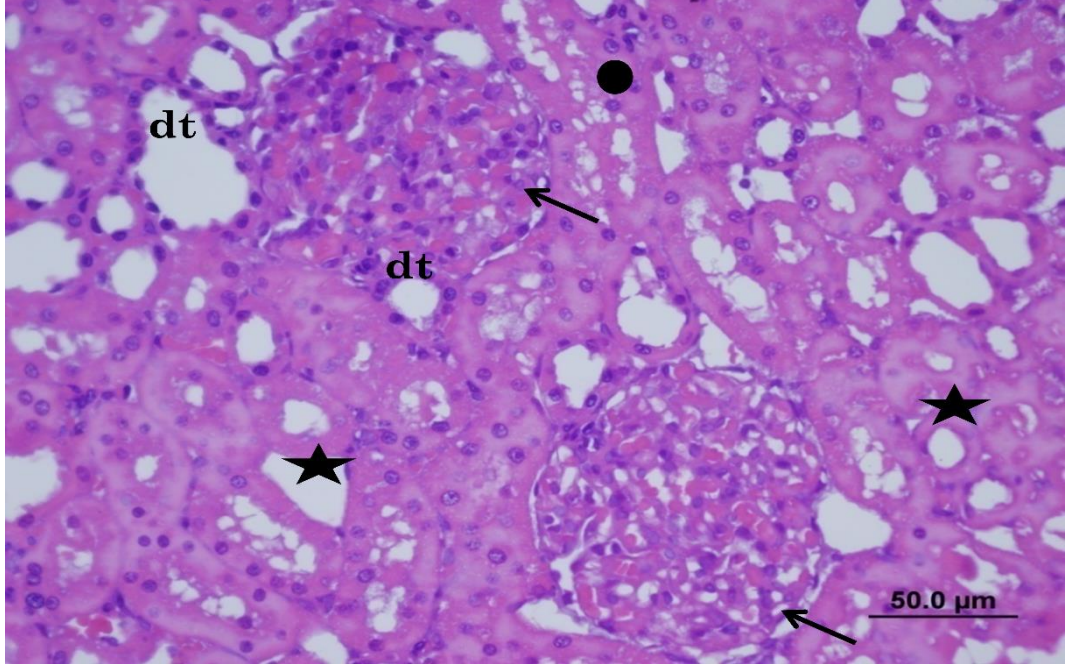
Çalışmamızdaki tüm deney gruplarının böbrek dokularına ait kesitlerden elde edilen ışık mikroskop, TUNEL ve SEMA3A immünohistokimyasal görüntüleri aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir. İmmünohistokimya skorumları Tablo 4.10'da verilmiştir.

Grup I'e ait sıçan böbrekleri malpighi cisimleri (►) ve tübül yapılarıyla normal histolojik yapıda izlendi.



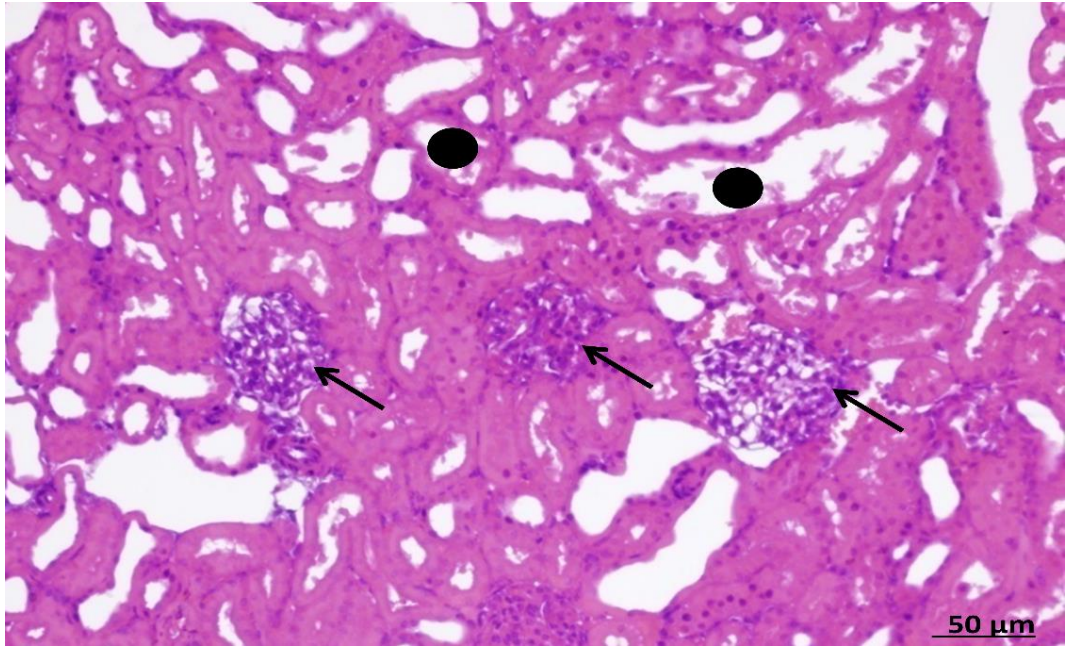
Şekil 4.12 Grup I renal doku ışık mikroskopik görüntüsü (dt; distal tübül, pt; proksimal tübül, HE, 50.0µm)

Grup II'ye ait sıçan böbreklerinde nekrotik tübüller (●), tübüler hasar, epitelde dökülmeler (★), malpighi cisimlerinde hasar ve bowman aralığında azalma (→) görüldü.



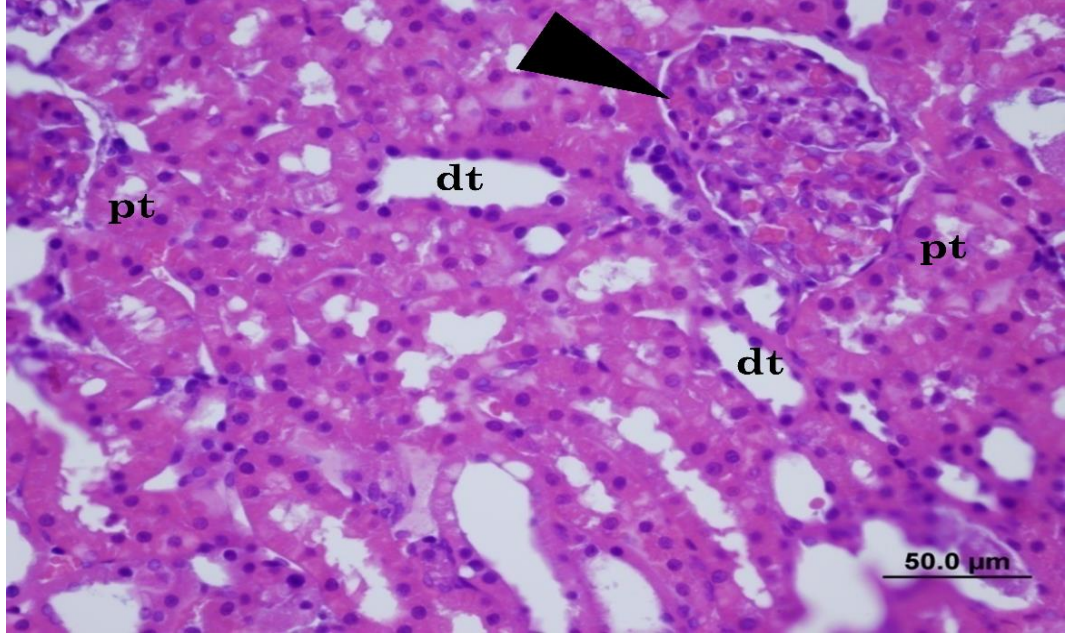
Şekil 4.13 Grup II renal doku ışık mikroskopik görüntüsü (dt; distal tübül, HE, 50.0µm)

Grup III'e ait sıçan böbreklerinde nekrotik tübüller (●), tübüler hasar, malpighi cisimlerinde hasar ve bowman aralığında azalma (→) görüldü.



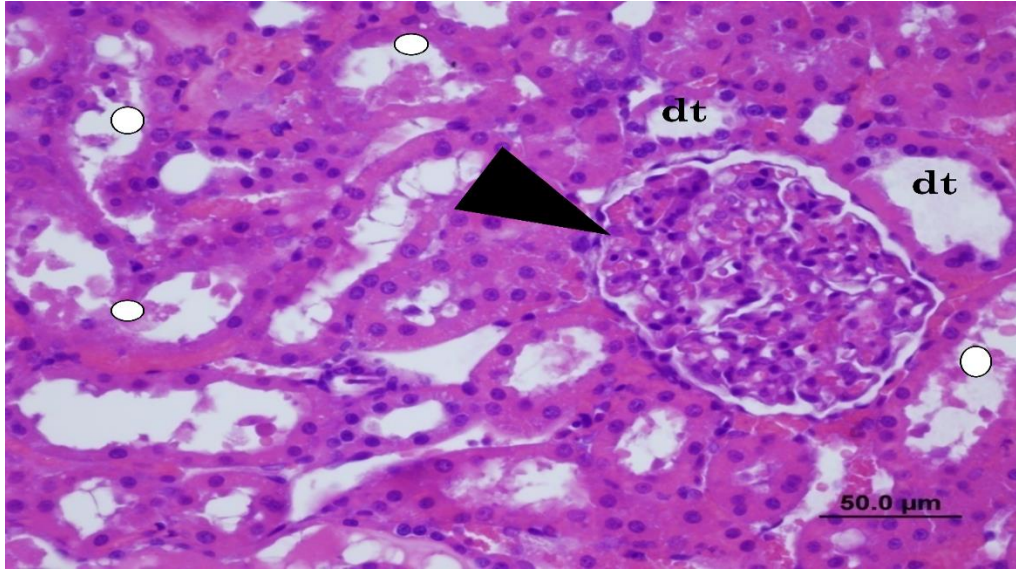
Şekil 4.14 Grup III renal doku ışık mikroskopik görüntüsü (HE, 50.0µm)

Grup IV'e ait sıçan böbreklerinde grup II'ye göre azalmış hasar izlendi. Böbrek malpighi cisimleri (►) ve tübüler yapılarıyla normale yakın histolojik yapıda gözlemlendi.



Şekil 4.15 Grup IV renal doku ışık mikroskopik görüntüsü (dt; distal tübül, pt; proksimal tübül, HE, 50.0µm)

Grup V'e ait sıçanların böbreklerinde birkaç tübülde hücresel dökülmeler izlense de (o) genel değerlendirmede böbrek malpighi cisimleri (►) ve tübüler yapılarıyla normale yakın histolojik yapıda izlendi.



Şekil 4.16 Grup V renal doku ışık mikroskopik görüntüsü (dt; distal tübül, pt; proksimal tübül, HE, 50.0µm)

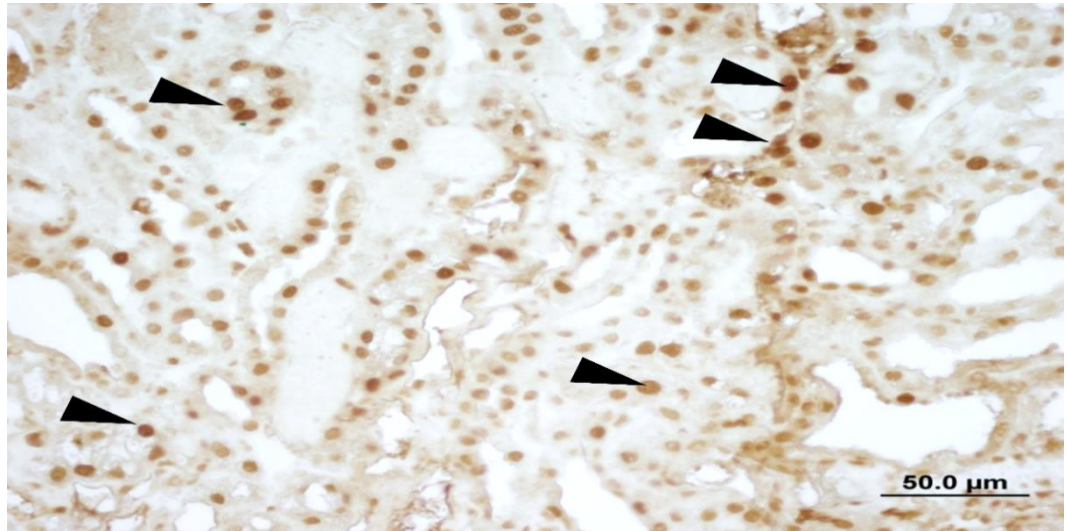
Tüm deney gruplarından elde edilen böbrek doku kesitlerinde apoptotik hücreleri belirlemek için kullanılan TUNEL görüntüleri aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.

Grup I'e ait sıçan böbreklerinde kortekste TUNEL negatif boyanma görüldü.



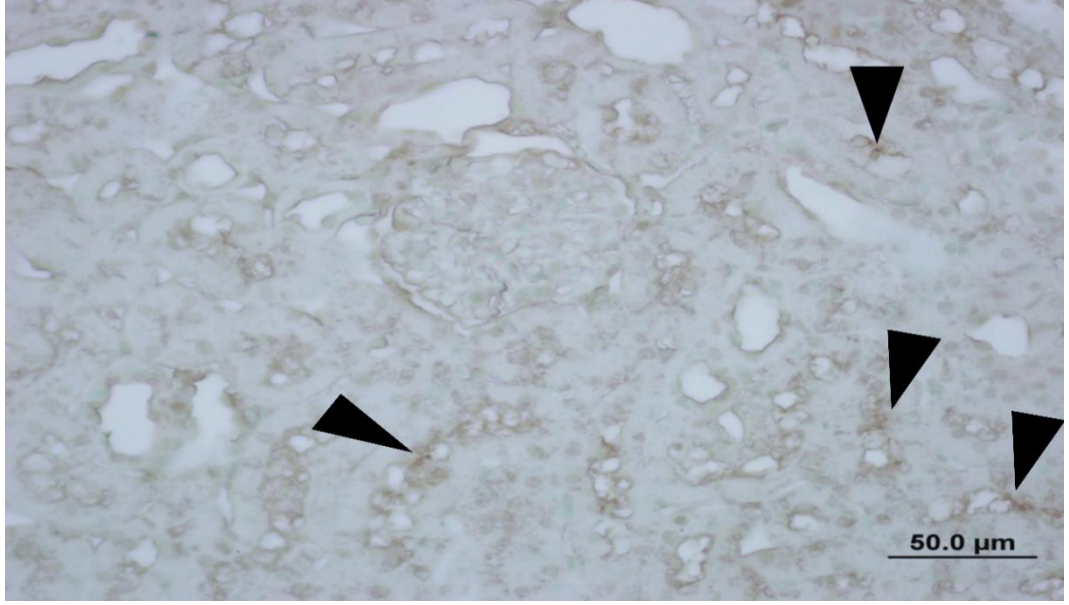
Şekil 4.17 Grup I renal doku TUNEL ışık mikroskopik görüntüleri (scale bar: 50.0µm)

Grup II'ye ait sıçan böbreklerinde özellikle distal tübül epitel hücrelerinde çok sayıda TUNEL pozitif boyanmış hücreler gözlemlendi (►).



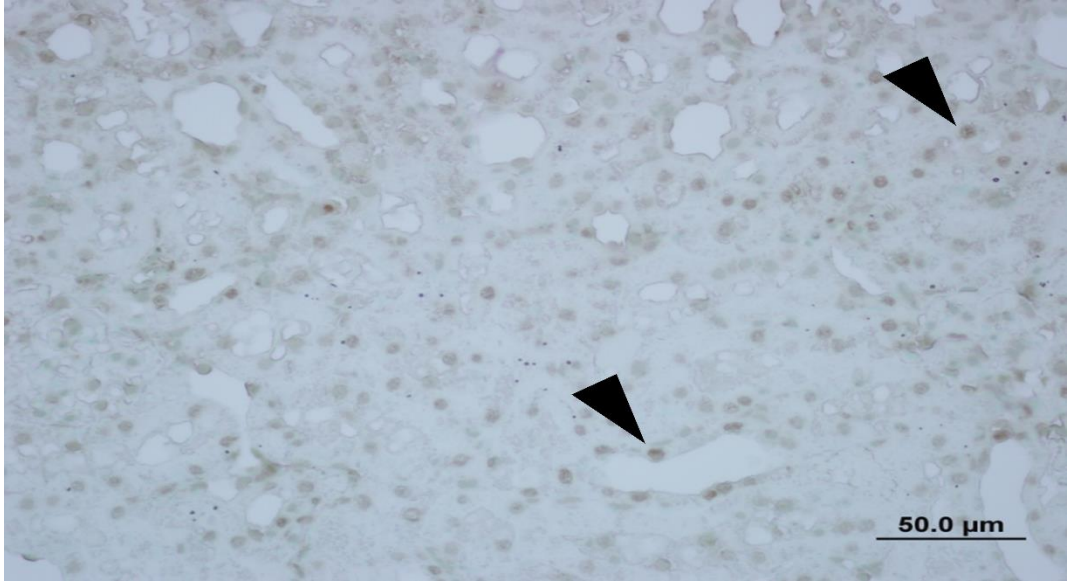
Şekil 4.18 Grup II renal doku TUNEL ışık mikroskopik görüntüleri (scale bar: 50.0µm)

Grup III'e ait sıçan böbreklerinde TUNEL pozitif boyanma görüldü.



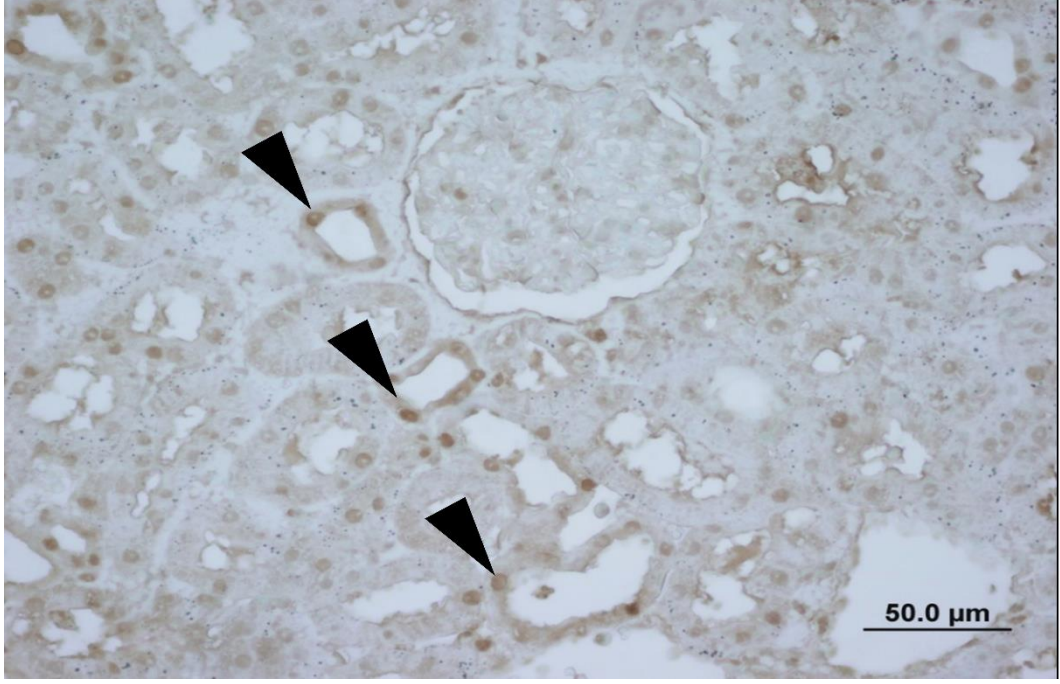
Şekil 4.19 Grup III renal doku TUNEL ışık mikroskopik görüntüleri
(scale bar: 50.0µm)

Grup IV'e ait sıçan böbreklerinde birkaç tübül epitel hücrelerinde minimal sayıda TUNEL pozitif boyanmış hücreler dikkat çekmekte (►)



Şekil 4.20 Grup IV renal doku TUNEL ışık mikroskopik görüntüleri
(scale bar: 50.0µm)

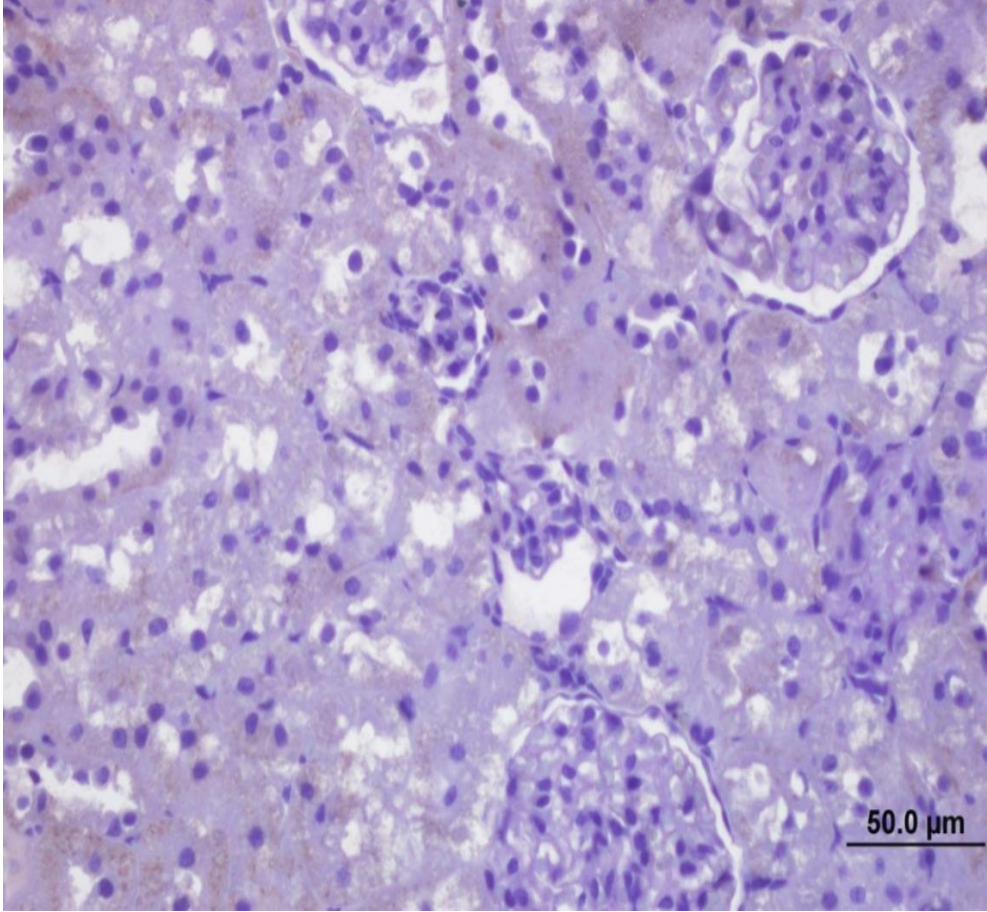
Grup V'e ait sıçan böbreklerinde birkaç tübül epitel hücresinde minimal sayıda TUNEL pozitif boyanmış hücreler dikkat çekmekte (►).



Şekil 4.21 Grup V renal doku TUNEL ışık mikroskopik görüntüleri (scale bar: 50.0µm)

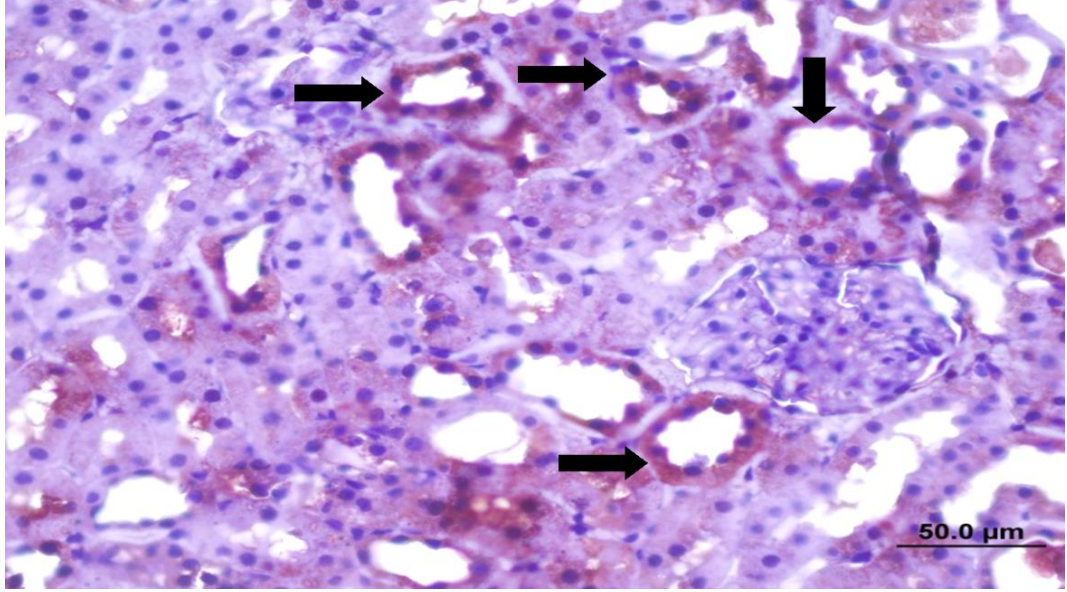
Tüm deney gruplarından elde edilen sıçan böbrek kesitlerinin SEMA3A proteini ile boyanarak ışık mikroskopik görüntüleri aşağıdaki şekillerde gösterildi (SEMA3A, scale bar: 50.0µm).

Grup I'e ait sıçan böbreklerinde Sema3A proteinin negatif boyandığı gözlemlendi.



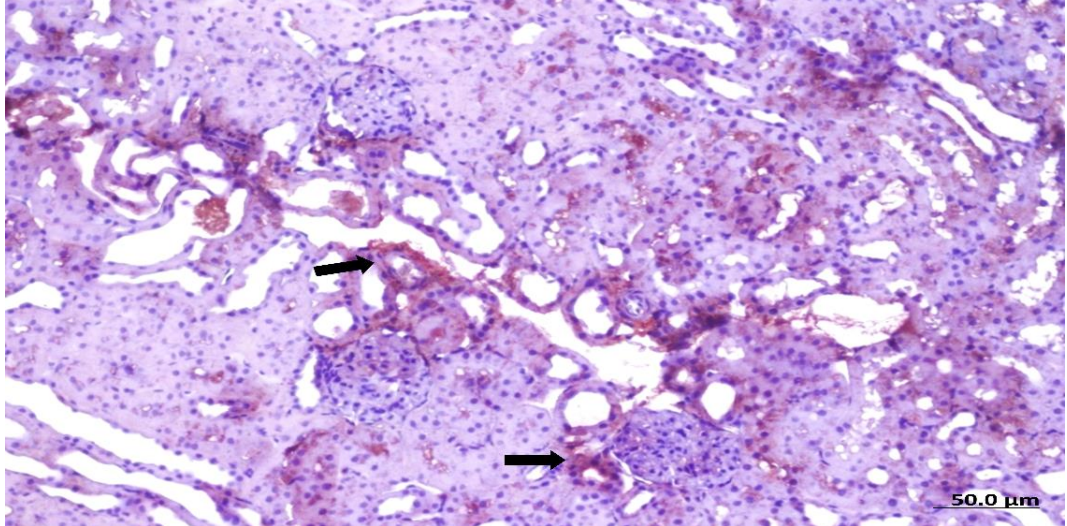
Şekil 4.22 Grup I renal doku SEMA3A ışık mikroskopik görüntüleri (scale bar: 50.0µm)

Grup II'ye ait sıçan böbreklerinde özellikle distal tübül epitel hücrelerinde (→) SEMA3A ileri düzeyde pozitif boyandığı gözlemlendi. SEMA3A proteininin, Grup I'e göre daha fazla olduğu görüldü.



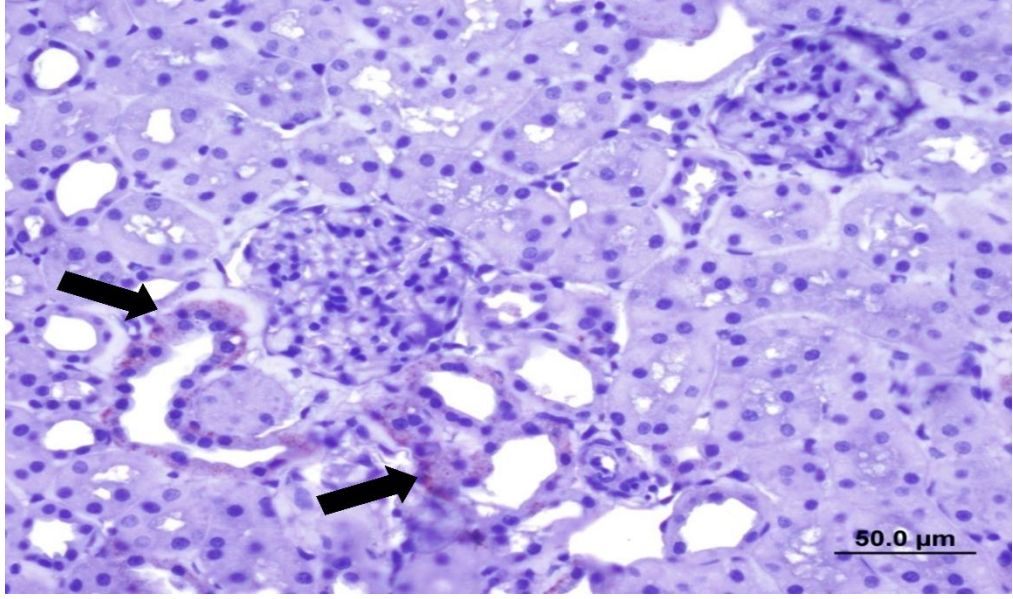
Şekil 4.23 Grup II renal doku SEMA3A ışık mikroskopik görüntüleri (scale bar: 50.0µm)

Grup III'e ait sıçan böbreklerinde özellikle distal tübül epitel hücrelerinde (→) SEMA3A ileri düzeyde pozitif boyandığı gözlemlendi. Grup II'ye göre benzer boyama gözlemlendi.



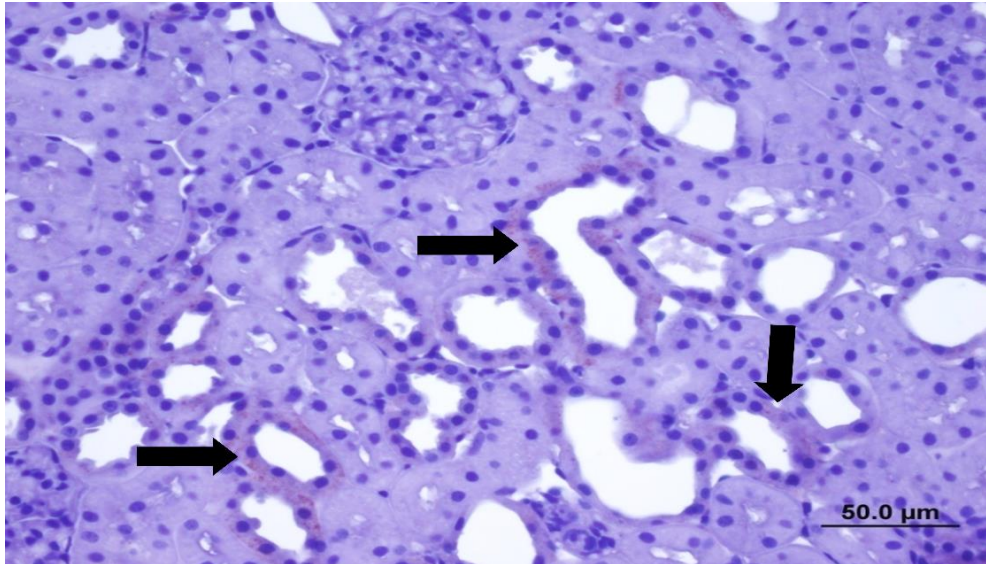
Şekil 4.24 Grup III renal doku SEMA3A ışık mikroskopik görüntüleri (scale bar: 50.0µm)

Grup IV'e ait sıçan böbreklerinde özellikle distal tübül epitel hücrelerinde (→) SEMA3A az düzeyde pozitif boyanma olduğu gözlemlendi. Curcumin verilen Grup IV'te, Grup II'ye göre SEMA3A proteinlerinin azaldığı tespit edildi.



Şekil 4.25 Grup IV renal doku SEMA3A ışık mikroskopik görüntüleri (scale bar: 50.0µm)

Grup V'e ait sıçan böbreklerinde özellikle distal tübül epitel hücrelerinde (→) Sema3a orta düzeyde pozitif boyanma olduğu gözlemlendi. Loxblock-1 verilen Grup V'te, Grup II'ye göre SEMA3A proteinlerinin azaldığı tespit edildi. Ancak, Grup IV'e göre daha fazla SEMA3A proteininin boyandığı gözlemlendi.



Şekil 4.26 Grup V renal doku SEMA3A ışık mikroskopik görüntüleri (scale bar: 50.0µm)

Tablo 4.10 Deney gruplarına ait böbrek kesitlerinde
SEMA3A skorlama değerleri

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
SEMA3A	-	+++*	+++*	+,**	+,**

-: boyanma yok +: az boyanma ++: orta boyanma +++: çok boyanma. *: grup I ile karşılaştırıldığında $p<0.001$, ** grup II ve III ile karşılaştırıldığında $p<0.001$

5.TARTIŞMA

AKI veya böbrek yetmezliği, böbreğin hızlı bir fonksiyon bozukluğu olarak tanımlanmıştır. AKI tanısında kullanılan serum CREA, BUN ve UO ise AKI'nın geç ve sensitif olmayan belirteçleridir (Ronco, Bellomo & Kellum, 2019). Bu nedenle, AKI'da yeni tanı biyobelirteçlerinin araştırılması gerekmektedir.

İ/R hasarı, akut böbrek yetmezliğinin en önemli nedenlerinden biridir (Friedewald & Rabb, 2004). İ/R kaynaklı böbrek hasarının tedavisi ve mekanizması ile ilgili çalışmalar popülerliğini korumaktadır. Hayvan modelleri, İ/R'nin mekanizmalarını anlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. İ/R'nin hem hastalarda hem de deney hayvanlarında ciddi histopatolojik ve biyokimyasal hasarlara yol açtığı kaydedilmiştir (Holderied & Anders, 2014; Bonventre & Zuk, 2004; Bonventre & Yang, 2011).

Serum BUN ve CREA seviyeleri böbrek fonksiyonunu değerlendiren en sık kullanılan belirteçlerdir. Belirgin derecede artmış BUN ve CREA seviyeleri AKI'nın tipik göstergeleridir (Star, 1998; Molina vd., 2005; Visnagri, Kandhare & Bodhankar, 2015).

İ/R hasarını oluşturmak için farklı metot ve zaman süreleri kullanılarak böbrek fonksiyonları değerlendirilmiştir. Sıçanlara 30 dk süre ile bilateral böbrek iskemisinin ardından 24 saatlik reperfüzyon uygulanmasında böbrek fonksiyon belirteçlerinden olan serum üre ve CREA seviyelerinde artış tespit edilmiştir (Hoffmann vd., 2012). Sıçanlara 45 dk iskemi ve altı saat reperfüzyon uygulanan çalışmada İ/R grubunda serum CREA düzeyinde farklılık bulunmuştur (Wang vd., 2013). Sıçanlara 60 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uygulaması ile İ/R hasarı oluşturulan çalışmada ise İ/R grubunda serum CREA, BUN ve UA seviyelerinde artış olduğu gösterilmiştir (Mousavi, 2015).

Araştırmalarda görüldüğü üzere böbreklerde en az 30 dk sürede İ/R hasarı görülebilmektedir. Sonuçlarımız, İ/R hasarı oluşturulan gruplarda kontrol grubuna karşı glomerüler filtrasyon bozukluğunun göstergesi olan serum BUN, CREA ve UA düzeyindeki yükselmenin, daha önce farklı süreler ile gerçekleştirilen böbrek İ/R çalışmalarındaki sonuçlar ile paralellik göstermiştir.

Renal İ/R modellerinde Na^+K^+ ATPaz aktivitesinin bozulmasına bağlı olarak tübüler sodyum reabsorpsiyonu ve GFR'de azalma olduğu gösterilmiştir (Kwon vd.,

2000). AKI'nın patofizyolojik etkileri arasında kanda ve hücre dışı sıvıda su, metabolik ürünler ve elektrolitlerin birikmesi yer almaktadır. Renal İ/R modeli kullanılmış bir çalışmada iskemi sonrasında Na değerlerinin azaldığı, K değerlerinin ise arttığı bulunmuştur (Pektaş vd., 2014). Çalışmamızda ise İ/R hasarı olan grupta Na düzeylerinin kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında arttığı görülmüşken, K düzeylerindeyse bir fark gözlenmemiştir.

AST hem sitozolik, hem de mitokondriyal bir enzimdir, karaciğer dışında kalp ve iskelet kası gibi diğer organlarda da bulunur. ALT ise sitozolik bir enzimdir, en fazla karaciğerde bulunur, bu nedenle karaciğer hasarını göstermede AST'den daha spesifiktir (Kantar, 2017). Yapılan çalışmalarda, iskemi sonrasında ALT ve AST enzim aktivitelerinde kontrol grubuna göre kıyasla artış olduğu bulunmuştur (Bayramoglu vd., 2014, Sagioglu vd., 2014, Yousefi vd.,2019).

Elde ettiğimiz bulguların önceki çalışmalar ile uyumlu olduğu, İ/R hasarında AST ve ALT enzim aktivitelerinde artış olduğu gözlenmiştir.

İnflamatuar yanıt, İ/R kaynaklı böbrek hasarında önemli bir patofizyolojik süreçtir (Malek & Nematbakhsh, 2015). Nötrofil infiltrasyonu, ROS üretimi ve tübüler epitel hücre aktivasyonu, doğal ve uyarılabilir bağışıklık sistemleri yoluyla inflammatuar kaskadı tetikleyebilir. Buna karşılık, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 dahil olmak üzere proinflammatuar sitokinler, nötrofil aktivasyonu ve infiltrasyonu yoluyla lokalize doku hasarını başlatır. MCP1, yakın zamanda üzerinde çalışılan, hasar ve inflamasyon bölgelerinde ifade edilen, makrofaj adhezyonu ve kemotaksisini teşvik etmek için kemokin reseptörlerine bağlanan makrofajları yönlendiren bir renal biyobelirteçtir. Progresif böbrek hastalığında MCP1'in ekspresyonu meydana gelebilir (Chen vd., 2014). Bu nedenle AKI'daki MCP1'in rolünü araştırmaya yönelik ilgi artmıştır.

Çalışmaların çoğunda böbrek İ/R hasarında TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyeleri artmıştır (Hong vd., 2017). 45 dk iskemi ve 24 saat reperfüzyon ile İ/R hasarı oluşturulan sıçanlarda, kreatinin klirensinde ve Na fraksiyonunda azalma olduğu bulunmuştur. Böbrek dokularında GSH, CAT ve SOD düzeylerinde azalış, MDA düzeylerinde ise artış gözlenmiştir. Aynı çalışmada, TNF- α mRNA ekspresyonlarında artış ve renal dokularda histolojik hasar gözlenmiştir (Gholampour vd., 2019).

Çalışmamızda, İ/R grubunda IL-6 ve MCP1 gen ekspresyon düzeyleri artmıştır. Serum TNF- α , IL-6 ve MCP1 değerleri için İ/R gruplarından elde edilen verilerde de yükselme gözlenmiştir.

Böbrek anoksiye son derece duyarlıdır, bu da onu hipoksik yaralanmaya karşı savunmasız hale getirir. Oksidatif stres, böbrek İ/R hasarının başlangıcında ve gelişiminde anahtar adım olarak kabul edilir (Rovcanin vd., 2016). Böbrek İ/R hasarından sonra MDA ve 8-OHdG seviyelerinin arttığı ve SOD ve TAC aktivitelerinin azaldığı gösterilmiştir (Hong vd., 2017). İskemik böbrekte nötrofillerin göçü ve aktivasyonu ROS, MPO ve inflamatuvar faktörleri serbest bırakır (Bolisetty & Agarwal, 2009). Reperfüzyon ile böbrekte meydana gelen ROS oluşumuna ilk maruz kalan yapının kan olduğu bilinmektedir.

Çalışmamızda, serumda en yüksek TOS ve en düşük TAS değerleri, İ/R grubunda tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak OSI değerleri de İ/R gruplarında yüksek bulunmuştur. Böbrek dokusunda ise İ/R gruplarında MDA ve MPO değerleri yüksek, GSH değerleri ise düşük bulunmuştur.

Aydemir ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, İ/R hasarını engellemek için uyguladıkları maddenin DMSO'da çözülmesinden dolayı, İ/R hasarı ile birlikte 2 mg/kg DMSO grubu oluşturmuşlardır. DMSO grubundan elde ettikleri sonuçlarda, serum BUN ve CREA ile doku MDA, SOD, CAT ve CASP3 parametrelerinde İ/R grubu ile benzer sonuçlar bulmuşlardır (Aydemir vd., 2018).

Si ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, İ/R ve İ/R + DMSO (%45) gruplarında serum CREA ve plazma üre seviyelerinde kontrol grubuna göre artış olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, histolojik bulgularda ve TUNEL görüntülerinde de İ/R ve İ/R + DMSO grubunda hasar gözlenerek benzer sonuçlar elde edilmiştir. CASP3 ve MCP1 düzeylerinde ise her iki grupta, kontrol grubuna göre artış olduğu gözlenmiştir (Si vd., 2013).

Tanyeli ve arkadaşlarının yaptığı farklı bir çalışmada ise, çözücünün etkisini belirlemek amacıyla İ/R hasar modelinden bir hafta önce başlayarak oral yolla DMSO vermişlerdir. İ/R ve İ/R+DMSO gruplarından elde edilen verilerde ise, sıçan dokularında SOD ve TAS değerlerinin sham grubuna göre azaldığını, MDA, MPO, TNF- α , IL-1 β , TOS ve OSI değerlerinin ise arttığını bulmuşlardır. İ/R ve İ/R + DMSO gruplarında ise tüm parametreler arasında fark bulunmamıştır (Tanyeli vd., 2020).

Han ve arkadaşları, İ/R hasarı yaptıkları fare modeli çalışmasında, İ/R hasarını engellemek için uyguladıkları maddeyi %0.1 DMSO içerisinde çözmüşler ve ayrı bir grup oluşturmamışlardır (Han vd., 2017). Sıçanlarda omurilik İ/R hasarı çalışmasında

ise ayrıca bir DMSO (1 mL) grubu oluşturulmamıştır (Pour vd., 2019). Zorica ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise İ/R hasarının DMSO (%10)'dan bağımsız olarak meydana geldiğini hem biyokimyasal hem de histolojik sonuçlar ile göstermişlerdir (Zorica vd., 2008).

Bazı çalışmalar DMSO'nun ROS'ları azaltarak İ/R hasarı üzerinde koruyucu etkisi olduğunu bildirmiştir. Son on yılda, DMSO'nun biyokimyasal parametrelerin yanı sıra histopatolojik bulgularla karaciğer İ/R hasarı üzerindeki koruyucu etkilerini gösteren çalışmalar yapılmıştır (Akyürek, Kafali & Muhtaroglu, 2000; Hatipoğlu vd., 2001). Bununla birlikte, bu ajanın popülaritesi nefrotoksik etkileri nedeniyle azalmıştır. Şahin ve arkadaşları ise toksik olmayan dozlarda ve yavaş salınımda İ/R hasarında DMSO etkisinin olmadığını belirtmişlerdir (Şahin vd., 2004).

Literatürde gözlenen bu araştırmalardan dolayı çalışmamızda çözücü olarak kullandığımız %1'lik DMSO'yu ayrı bir grup olarak oluşturduk. Bahsedilen çalışmalar ile sonuçlarımız paralellik göstermiştir. İ/R grubundan elde edilen hem biyokimyasal hem de histolojik sonuçlarımızda istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

Semaforin-pleksin sisteminin önemi çeşitli hastalıklarda yaygın olarak tanınmasına rağmen, böbrek İ/R hasarı sırasında ve tedavisinde ilk kez SEMA3A, PLXN A1 ve NRP1 sisteminin rollerini araştırmış olduk. Bu amaçla metodumuzda serum SEMA3A, PLXN A1 ve NRP1 ile klasik biyobelirteçlerden olan serum CREA ve BUN düzeyleri ile araştırılmıştır. Sema3A'nın İ/R ile indüklenen AKI'daki rolünü daha fazla araştırmak için iki tamamlayıcı yaklaşım kullanılmıştır. CUR ve LOXblock-1 ile inflamatuvar süreçler, oksidatif stres, apoptoz ve histolojik analizlere bakılarak iki tedavi yaklaşımının etkisi karşılaştırılmıştır.

Netrin-1 ve SEMA3A'nın karaciğer nakli hastalarında AKI tanısındaki yararlılığını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, karaciğer transplantasyonundan 48 saat sonra serum CREA'nin bir belirteç olarak kullanılması ile AKI saptanmıştır. Buna karşılık, idrar netrin-1, SEMA3A ve NGAL seviyeleri önemli ölçüde artmış ve karaciğer transplantasyonundan iki saat sonra doruğa ulaşmıştır. Ancak, transplantasyondan altı saat sonra artık anlamlı bir şekilde yükselmemiştir. Bu çalışmada SEMA3A ve netrin-1'in karaciğer transplantasyonundan sonra AKI'nın erken tanı biyobelirteçleri olabileceği gösterilmiştir (Lewandowska vd., 2014).

AKI'dan sonra SEMA3A'nın indüklenip indüklenmediğinin gösterildiği hayvan çalışmasında ve kardiyopulmoner bypass (CPB) sonrasında AKI tanısı olarak SEMA3A'nın kullanıp kullanılmayacağını değerlendirildiği insan çalışmasında, fare böbreğin distal tübüllerinde lokalize olan sema3A'nın böbrek reperfüzyonundan sonra üç saat içerisinde, serum CREA ise 24 saatte arttığı gösterilmiştir. İnsanlarda ise, CPB'den ortalama 48 saat sonra artan serum CREA değerleri ile AKI tespit edilmişken, SEMA3A'nın CPB'den iki saat sonra arttığı, altı saatte pik yaptığı ve 12 saat sonra önemli bir artışın olmadığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, SEMA3A'nın deneysel ve pediatrik AKI'da erken, öngörücü bir biyobelirteç olduğunu ve serum CREA düzeyindeki artıştan çok daha önce CPB sonrası AKI'nın güvenilir erken tanı ve prognozunda kullanılabileceğini göstermiştir (Jayakumar vd., 2013).

SEMA3A'nın genetik olarak inaktivasyonu sağlanmış ve genetiği değiştirilmemiş farelerde İ/R hasarı ile oluşturulan AKI çalışmasında, RT-PCR analizi, SEMA3A reseptörü PLXN A1 ekspresyonunun hafifçe arttığını, buna karşılık, PLXN A2 ve NRP2 ekspresyonunun, normal farelerde veya SEMA3A mutant farelerde İ/R hasarında değişmediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, PLXN A3 ekspresyonu, İ/R'den sonra önemli ölçüde baskılanmıştır. Böbrekte NRP1'in artan protein ekspresyonu normal faredelerde İ/R'den sonra sekiz kat artarken, Sema3A mutant farelerde tamamen baskılanmıştır. Reperfüzyon hasarından sonra hasarlı proksimal tübüler epitel hücrelerinde SEMA3A'nın pozitif boyandığı gösterilmiştir. Hem normal hem de SEMA3A mutant farelerde İ/R hasarından sonra serum CREA seviyeleri kontrol grubuna kıyasla artmış olmasına rağmen, SEMA3A mutant farelerde daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Normal farelerde ise İ/R hasarından sonra SEMA3A ekspresyonunun azalması çelişkili sonuçlar vermiştir (Ranganathan vd., 2014).

König ve arkadaşları hepatik İ/R modeli üzerine yaptıkları çalışmada SEMA7A ve PLXN C1 sinyal yolağı üzerinde durmuşlardır ve SEMA7A'nın, inflamatuvar bağışıklık yanıtının efektör fazı sırasında önemli bir rol oynayan nötrofiller, makrofajlar ve monositlerde sitokin üretimini indüklemeye yeteneğine sahip olduğunu belirtmişlerdir (Worzfeld & Offermanns, 2014; König vd., 2016). Ancak, bu sistemin aşırı yeniliği ve insan çalışmalarının eksikliğine dayanarak, klinik araştırmalar için çok erken olduğu ve önümüzdeki yıllarda potansiyelinin kritik olarak araştırılması gerektiği ifade etmişlerdir (Eckle, 2016).

Başka bir çalışmada ise, geçici iskemiyi veya cisplatin ile indüklenen AKI'nın ardından, SEMA3A protein ekspresyonu distal ve toplama tübüllerinde indüklendiği gösterilmiştir (Jayakumar vd., 2013; Ranganathan vd., 2014).

Fang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hem böbrekte hem de serumda SEMA3A ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur. Aynı çalışmada, renal İ/R hasarlı farelerin böbreklerinde Sema3A'nın immünohistokimyasal boyama görüntüleri elde edilmiş ve İ/R gruplarındaki dokularda SEMA3A'nın fazla boyandığı gösterilmiştir. Tüm gruplarda serum SEMA3A ile BUN ve CREA arasında pozitif korelasyon olduğu sonucuna varılmıştır (Fang vd., 2018).

Tian ve arkadaşları, LPS ile AKI oluşturdukları çalışmada, serum BUN ve CREA değerlerinin kontrol grubuna göre kıyasla arttığını tespit etmişlerdir. Histolojik görüntülerde, LPS grubunda tübül hasarının arttığı gösterilmiştir. Aynı zamanda, LPS uygulanan farelerde, SEMA3A mRNA ekspresyonunun kontrol grubuna göre arttığını ve immünohistokimyasal analizde SEMA3A'nın *in vivo* olarak tübül epitel hücre inflamasyonu ve apoptozu ile pozitif ilişkili olduğu gözlenmiştir (Tian vd., 2018).

Glomerülonefrite neden olan dolaşımdaki bağışıklık kompleksleri gibi bir dizi otoimmün anormallik gösteren fareler üzerine yapılan bir çalışmada, SEMA3A tedavisi, böbrek hasarını önemli ölçüde azaltmış, yani glomerüllerde bağışıklık komplekslerinin birikmesini önlemiştir. Ancak, kontrol farelerinde glomerüler inflamasyon ve tübül hasar hızla gelişmiş ve sağkalım oranı azalmıştır (Bejar vd., 2018).

Cr(VI) indüklü AKI sırasında mTOR yolağının aktive olmasıyla SEMA3A'nın önemli derecede arttığı gösterilmiştir. Aynı zamanda, bu hasarın oksidatif stres ve apoptoz ile ilişkili olduğu MDA ve CASP3 seviyelerinin arttığı, GSH seviyelerinin azaldığı belirtilmiştir (Song vd., 2018).

Ranganathan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, proinflamatuvar sitokinlerin mRNA ekspresyonlarına bakıldığında İ/R hasarından sonra normal ve SEMA3A mutant farelerde kontrol grubuna kıyasla TNF- α , IL-6 ve MCP-1 ekspresyonlarının arttığı gözlenmiştir. ELİSA analizlerinde ise SEMA3A mutant farelerde, İ/R hasarından sonra idrarda IL-6 ve MCP1 düzeyleri azalırken, plazma ölçümlerinde bir değişiklik olmamıştır. Normal farelerde ise İ/R hasarından sonra hem idrar hem de plazmada inflamatuvar sitokinlerin artışı gözlenmiştir. Aynı çalışmada, TUNEL görüntülerinde hem normal farelerde hemde Sema3A mutant farelerde İ/R hasarından

sonra boyanma gözlenerek apoptozun indüklendiği gösterilmiştir (Ranganathan vd., 2014).

G proteinine bağlı reseptörler (GPCR) renal fonksiyonun düzenlenmesinde yer almaktadır. GPCR ailesinin yeni tanımlı üyesi olan Gpr97 eksikliği ile İ/R hasarında SEMA3A'nın baskılandığı, bu sayede TNF- α , IL-6, MCP1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin mRNA ekspresyonlarının ve histolojik görüntülerde tübüler hasarın azaldığı sonucuna varılmıştır (Fang vd., 2018).

SEMA3A'nın düzenleyici ve antiinflamatuvar etkilerinin olduğu gösterilsede, literatürdeki çelişkili sonuçlar mekanizmalarının aydınlatılması için daha fazla çalışmaya gereksinim olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda, İ/R hasarı sonrası SEMA3A gen ekspresyon düzeylerinde istatistiksel olarak yaklaşık dört kat anlamlı bir artış gözlenmiştir ve serum SEMA3A değerlerinde de ileri düzeyde anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. PLXN A1 ve NRP1 gen ekspresyon düzeylerinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ancak, serum PLXN A1 ve NRP1 değerleri, İ/R grubunda istatistiksel olarak yüksek olduğu bulunmuştur. İmmünohistokimyasal analizlerde de İ/R gruplarında SEMA3A'nın ileri düzeyde pozitif boyandığı gözlenmiştir.

Son zamanlarda, Curcumin'in farmakolojik fonksiyonu üzerine önemli miktarda araştırma yapılmıştır, ancak bu etkilerin kesin mekanizmaları tam olarak anlaşılmamıştır. Curcumin'in antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan, antikanser vb. dahil olmak üzere çoklu terapötik etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Deng, Verron & Rohanzadeh, 2016; Rezaee vd., 2017). Curcumin'in AKI'ya karşı umut verici bir renoprotektif madde olduğunu birçok çalışmada gösterilsede, önceki çalışmaların çoğunda ilaç ve kimyasalların neden olduğu böbrek hasarı üzerine Curcumin'in renoprotektif etkisi araştırılmıştır (Antunes vd., 2001; Eybl vd., 2004; Turkey vd., 2005; Manikandan vd., 2011).

Gliserol kaynaklı AKI oluşturulan sıçanlarda, hasar oluştuktan sonra üç gün boyunca oral olarak curcumin (200 mg/kg) verilmiştir. Curcumin uygulaması, İ/R hasar grubuna karşı serum BUN ve CREA seviyelerini azatmıştır. Dokularda ise hasar sonucu artan MDA değerlerini düşürmüş, SOD ve GSH değerlerini ise arttırmıştır. Gliserol kaynaklı AKI'da artmış TNF- α , IL-6, MCP1 ekspresyonunu ise azaltmıştır. TUNEL boyamasında da curcumin ile tedavi edilen AKI oluşturulmuş sıçan

böbreklerdeki apoptotik hücrelerin belirgin şekilde azaldığı ortaya koyulmuş, CASP3 ve CASP9'un baskılandığı gösterilmiştir (Wu vd., 2017).

Curcumin, İ/R hasarlı sıçan böbreklerinde serum üre, sistatin C ve MDA seviyelerini önemli ölçüde azalttığı başka bir çalışmada gösterilmiştir (Ullah vd., 2017).

Fan ve arkadaşları, iskemiden yarım saat önce farelere curcumin (100 mg/kg) uygulamış ve 24 saat reperfüzyondan sonra, İ/R hasarı oluşturulan fare böbrekleri üzerindeki etkisini serum CREA, BUN ve patolojik hasarları inceleyerek araştırmıştır. Curcumin'in İ/R ile indüklenen AKI patogenezinde böbrek hasarını hafiflettiğini göstermiştir (Fan vd., 2017).

Bir saat iskemi ve altı saat reperfüzyon ile İ/R hasarı oluşturulan sıçanlarda, iskemi sonrası curcumin (500 mg/kg, i.p.) verilmiştir. Serum ve doku TAS düzeyleri curcumin verilen gruplarda İ/R grubuna göre kıyasla anlamlı derecede yükselmiş, histopatolojik skorlamada ise İ/R grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Aynı çalışmada, serum üre ve kreatinin düzeyleri İ/R ve CUR gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış, ancak normal referans seviyelerinde kalmıştır. Serum K⁺ seviyesi İ/R grubunda CUR grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekken, serum Ca²⁺ seviyesi CUR grubunda İ/R grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Na⁺ ve Cl⁻ düzeyleri arasında ise gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. MDA değerleri ve MPO aktiviteleri İ/R grubunda daha fazla bulunmuş, CUR grubunda ise azalmıştır (Sarıtaş vd., 2018).

Diyabetik farelere verilen curcumin'in (100 mg/kg, oral, sekiz hafta boyunca), AST ve ALT değerlerini büyük ölçüde azaltarak tedavi etmiştir (Rashid vd., 2017). Randomize plasebo kontrollü çalışmada, curcumin uygulamasının (70 mg/gün, iki ay boyunca) alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı olan hastalardaki ALT ve AST değerlerini plasebo grubuna göre önemli derecede azaltmıştır (Rahmani vd., 2016). LPS kaynaklı karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda, curcumin uygulaması, artmış AST ve ALT hepatik enzim belirteçlerini azaltmıştır (Xie vd, 2017).

60 dk iskemi ve üç saat reperfüzyon modeli uygulanan sıçan çalışmasında, İ/R hasarından önce beş gün boyunca oral olarak sırasıyla curcumin (50 mg/kg ve 100 mg/kg) verilmiştir. Reperfüzyondan sonra tedavi gruplarındaki böbrek dokusunda İ/R grubuna karşı MDA seviyelerinde azalış, SOD, CAT ve GSH seviyelerinde ise artış

olduğu tespit edilmiştir. Tedavi grupları arasında ise istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Histolojik incelemelerde ise curcumin ile tedavi edilen sıçanlarda normal histolojik yapılar gözlenmiştir (Erturk vd., 2018).

Çeşitli modeller ve dozlar kullanılmasına rağmen elde ettiğimiz verilere göre yapılan çalışmalara benzer şekilde curcumin uygulanan gruplarda, serum BUN ve CREA değerlerinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Literatürdeki araştırmalardan farklı olarak, curcumin verilen grupta elde edilen ALT değerlerinde, İ/R grubuna göre karşılaştırıldığında azalma görülmüşken, AST değerlerinde istatistiksel fark bulunmamıştır. Na ve K değerlerinde de anlamlı fark bulunmamış, yapılan bazı çalışmalardan farklı sonuçlar elde edilmiştir. İ/R gruplarına kıyasla curcumin uygulamasının TOS değerlerini düşürdüğü, TAS değerlerinin ise arttırdığı bulunmuştur. Böbrek dokusunda incelediğimiz MDA ve MPO parametrelerinin curcumin uygulaması ile İ/R hasarında azalmış olduğunu, GSH seviyelerinin ise arttığını ve bu sonuçların çalışmalar ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Histolojik incelemelerimizde ise İ/R sonucu oluşan hasarın azalmış olduğu bahsedilen çalışmalar ile benzerlik göstermiştir

İskemiden 45 dk önce curcumin (60 mg/kg i.p.) uygulanan renal İ/R hasarı oluşturulan sıçanlarda, TNF- α , IL-8 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinleri ekspresyonu azalmıştır (Zhang vd., 2018). Sıçanlar'da cisplatin kaynaklı böbrek fonksiyon bozukluğuna karşı CUR uygulaması (200 mg/kg), MPO, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , MDA ve CASP3 seviyesini önemli ölçüde azaltmıştır (Topcu-Tarladacalisir, Sapmaz-Metin & Karaca, 2016). Sıçanlarda omurilik İ/R hasarında, curcumin ön tedavisi (200 mg/kg, i.p. 7 gün boyunca), SOD ve GPx seviyelerini arttırırken MDA, NO, TNF- α , IL-1 β , CASP-3'ü önemli ölçüde azaltmıştır. Ayrıca, curcumin uygulaması, omurilikte oksidatif stresi, inflamasyonu ve apoptozu azalttığı gibi, sıçanlarda ters lokomotor eksikliğini de düzeltmiştir (Gökçe vd., 2016). CCl₄ ile indüklenen karaciğer fibrozu olan fare modelinde, curcumin uygulaması, MCP1, TNF- α ve TGF- β 1 ekspresyonunu baskılamıştır (Huang vd., 2016).

Yapılan çalışmalardan elde edilen verilerde görüldüğü gibi Curcumin'in İ/R hasarında inflamasyon yolları üzerine etkileri bazı yönlerden bulgularımız ile benzerlik göstermiştir. Çalışmamızda, curcumin verilen grupta IL-6 ve MCP1 gen ekspresyonları İ/R grubuna göre azalmış ancak istatistiksel fark bulunmamıştır. Serum

örneklerinde ise, MCP-1 düzeyinde anlamlı derecede azalma olduğu gözlenmiş ancak TNF- α ve IL-6 seviyelerinde azalma gözlenmesinde istatistiksel fark bulunmamıştır.

İlginçtir, bazı çalışmalar curcumin'in mitokondriyal yoldan apoptozu indükleyebileceğini bildirmişken (Zhang vd., 2017), bazı çalışmalarda ise Curcumin'in İ/R hasarından sonra apoptozu inhibe ederek koruyucu bir rol sağladığını göstermiştir (Wang vd., 2017; Wang vd., 2017). Bununla birlikte, İ/R ile indüklenen AKI patogeneğinde curcumin ile tedaviyi takiben apoptoz üzerindeki etki tam olarak aydınlatılamamıştır.

Yapılan çalışmada, renal tübül epitelyal hücre apoptozu İ/R ile belirgin şekilde artmış ve İ/R'nin neden olduğu AKI'lı farelerde Curcumin'in Akt sinyal yolu aktivasyonunu inhibe eden adaptör proteini PH alanı ile etkileşen fosfotirozin ve lösin zinciri (APPL1)'in ekspresyonunu artırarak böbrek apoptozunu azalttığı gösterilmiştir (Fan vd., 2017). Sıçanlarda yapılan orta serebral arter oklüzyon/reperfüzyon inme modelinde, curcumin tedavisi (50 mg/kg, i.p., beş gün boyunca), rat beyinlerinde TNF- α , IL-6, Ac-p53 ve Bax'ı baskımlarken, Bcl-2 ve SIRT1 ekspresyonunu arttırmıştır (Miao vd., 2016). Buna ek olarak, curcumin mitokondriyal sitokrom c düzeylerini, kompleks I aktivitesini ve membran potansiyelini arttırırken, beyindeki CYCS düzeylerini düşürmüştür. Düşük doz STZ ve yüksek yağlı diyetle alkolsüz steatohepatit oluşturulan farelerde, curcumin IFN γ , IL-1 ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinleri, CASP12 ve CASP3 gibi apoptotik sinyal proteinlerini azaltmıştır (Afrin vd., 2017).

Sıçanlarda adenin kaynaklı kronik böbrek hastalığında curcumin, böbrek CAT, SOD, Nrf2, GSH'yi arttırırken plazma adiponektin, sklerostin ve sistatin C'yi azaltarak böbrek fonksiyonlarını iyileştirmiştir (Ali vd., 2018). Deneysel veriler, curcumin tedavisinin TGF- β sinyalini baskıladığını ve antioksidan, antiinflamatuvar ve anti-apoptotik potansiyel sergilediğini ve böylece böbrek fonksiyonlarını iyileştirdiğini kesin olarak kanıtlamıştır.

Curcumin'in İ/R hasarında apoptotik yollar üzerine yapmış olduğu etki, çalışmamız ile benzerlik göstermiştir. Çalışmamızda, curcumin verilen grupta elde edilen CYCS ve CASP3 apoptotik sinyal proteinlerinin İ/R grubuna göre azaldığı bulunmuş ve sıçan böbreklerinde birkaç tübül epitel hücresinde minimal sayıda TUNEL pozitif boyanmış hücrelerin olduğu gözlenmiştir.

Literatürde, Curcumin'in böbrek patofizyolojisinde semaforin-pleksin sistemi üzerine etkilerini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, son dönemde yapılan *in vitro* bir çalışmada, SEMA3A'nın fare melanom modelinde tümör büyümesini ve metastazını baskıladığı gösterilmiş ve Curcumin'in nispeten düşük dozlarda aşırı Sema3A eksprese edilen hücrelerde apoptozu önemli ölçüde arttırdığı gözlenmiştir. Sema 3A'nın tek başına apoptozu indükleyemediği, curcumin gibi antikanser ajanlar ile kombinasyonu ile kanser hücrelerine karşı ilaç duyarlılığını ve apoptotik potansiyali arttırdığı belirlenmiştir (Chakraborty vd., 2012).

Çalışmamızda, curcumin verilen grupta SEMA3A gen ekspresyonları azalmış olmasına rağmen istatistiksel fark bulunmamıştır. Ancak serum değerlerine bakıldığında SEMA3A'nın azaldığı ve sıçan böbreklerinde özellikle distal tübül epitel hücrelerinde SEMA3A'nın az düzeyde pozitif boyanma olduğu gözlenmiştir.

Curcumin'in sahip olduğu antioksidan özelliklerinden dolayı, sıçan akciğer sitozolik fraksiyonundan elde edilen lipooksijenazlar üzerindeki önleyici etkisi araştırılmış ve Lineweaver-Burk analizinde curcumin'in 12/15 LOX kompetitif inhibitörü olduğu ifade edilmiştir (Bezáková vd., 2014). Yapılan çalışmaların sınırlı olması ile birlikte literatürde yeni 12/15 LOX inhibitörleri ile karşılaştırılması yapılmamıştır.

Böbrekte eikozanoid üretimi, hipertansiyon, diyabetik nefropati ve akut böbrek yetmezliği gibi çeşitli durumlarda değişmektedir. Bu nedenle AA metabolitlerinin değişen vasküler üretiminin çeşitli renal patolojik durumlarda hem neden hem de sonuç olabileceğine dair kanıtlar vardır (Dobrian vd., 2011).

Akut ve kronik böbrek hastalığında LOX enzimleri ve metabolitlerinin vazokonstriktif ve proinflamatuvar araçlar olarak işlev gördüğü gösterilmiştir. Ayrıca, lipoksin metabolit ailesinin aracılık ettiği akut böbrek yetmezliğinde 15-LOX yolunun koruyucu bir rolü olduğuna dair kanıtlar vardır (McMahon & Godson, 2004). Bu yüzden, 12/15-LOX'un ekspresyonunu veya aktivitesini azaltarak böbrek hastalıklarını tedavi etmek için spesifik LOX inhibitörlerinin geliştirilmesi gereklidir.

Hepatik İ/R hasarı üzerine yapılan bir çalışmada, 12/15 LOX inhibitörlerinden olan Baicalein reperfüzyondan 90 dk önce uygulanmıştır. Alınan TUNEL görüntülerinde, baicalein ön tedavisinden sonra hepatik hücre ölümünde önemli bir azalma olduğu bulunmuş, CASP3 düzeyleri baskılanmış, ayrıca dokuda GSH

seviyeleri yükselmiştir. Drefs ve arkadaşları 12/15-LOX inhibisyonunun yanı sıra antioksidan fonksiyonu ile hareket eden Baicalein uygulamasının, hepatik İ/R modelinde hücre ölümünü önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir (Drefs vd., 2017).

Başka bir çalışmada, baicalein tedavisi, İ/R hasarından sonra kalpte kardiyomiyosit apoptozu, inflamatuvar yanıtları ve oksidatif stresi önemli ölçüde inhibe etmiştir (Song vd., 2014).

Yeni bir 12/15-lipoksijenaz inhibitörü olan LOXBlock-1'in kullanıldığı bir doz çalışmasında, antioksidan aktivitesinden yoksun 200 nM LOXBlock-1'in HT22 nöron hücrelerini oksidatif glutamat toksisitesine karşı koruduğunu göstermiştir. Yine aynı çalışmada, iskemiden 14 gün sonra bile, LOXBlock-1 ile tedavi edilen fareler, kontrol gruplarına kıyasla hala daha küçük infarktüs boyutlarına sahip olduğu gösterilmiştir (Yiğitkanlı vd., 2013).

Çalışmamızda elde edilen bulgularda ise yapılan çalışmalardan farklı olarak İ/R hasarında LOXblock-1'in serum BUN, CREA ve UA değerlerini biraz düzeltse de istatistiksel olarak fark olmadığı gösterilmiştir. TOS değerlerinde ise azalmanın olduğu gözlemlenmiştir, TAS değerlerindeki artışın anlamlı olmadığı bulunmuştur. Curcumin uygulanan grup ile karşılaştırıldığında ise TAS değerinin daha düşük olduğu görülmüştür. Ancak yinede İ/R hasarının göstergesi olan OSI değerlerini azalttığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, MPO değerleri İ/R grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır, MDA değerleri ise azalsada fark bulunmamıştır. GSH değerleri ise curcumin verilen gruptan daha düşük seviyede tespit edilmiştir. Antioksidan mekanizma üzerinde etkisinin belirttiğimiz parametreler üzerinde göremesekte OSI değerlerine baktığımızda yapılan çalışmalar ile benzerlik gözlenmiştir.

Diğer 12/15 lipoksijenaz inhibitörleriyle benzer olarak LOXblock-1' ait sıçan böbreklerinde birkaç tübül epitel hücresinde İ/R grubuna kıyasla minimal sayıda TUNEL pozitif boyanmış hücreler gözlenmiştir. CYCS ve CASP düzeylerinde baskılandığı bulunmuştur.

SEMA3A bağımlı bir hasar yolunun iskemiden sonra aktive olup olmadığını belirlemek için yapılan bir çalışmada, striatuma rekombinant SEMA3A enjekte edilmiş ve SEMA3A tek başına normal beyinlerde yaralanmaya neden olmamıştır. Ancak iskemi sonrası beyinlere enjekte edildiğinde, SEMA3A kortikal hasarı % 79 oranında artırmıştır ve bu etki 12/15-LOX inhibisyonu ile tersine çevrilmiştir. İ/R

hasarı üzerine yapılan çalışmada, LOXblock-1 kullanılması ile serum CREA'nin değerleri azalmış ve apoptoz önlenmiştir. Araştırmacılar, LOXblock-1'in bu etkilerinin SEMA3A sinyalizasyonunu baskılaması üzerinden geręekleřtięini ifade etmişlerdir (Ranganathan vd., 2014).

Bahsedilen çalışmalara ek olarak, LOXblock-1 uygulanan gruplarımızdan elde edilen verilerde, İ/R grubuna kıyasla SEMA3A gen ekspresyonlarının azaldığı gözlenmede istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir. Serum SEMA3A, PLXN A1 ve NRP1 değerlerinde ise İ/R grubuna kıyasla anlamlı bir azalma olduğu bulunmuştur. Hatta curcumin verilen gruptan elde edilen verilere göre SEMA3A düzeyini daha da azaltmıştır. Sıçan böbreklerinde özellikle distal tübül epitel hücrelerinde SEMA3A'nın orta düzeyde pozitif boyanma olduğu gözlendi. LOXblock-1 verilen grupta, İ/R grubuna göre SEMA3A proteinlerinin azaldığı tespit edilmiştir.

LPS injeksiyonu ile oluşturulmuş böbrek hasarında, farelerde azalmış kreatinin klerensi ile böbrek hasarı belirteçlerinin arttığı gözlenmiştir. LPS injeksiyonu MCP1 atılım düzeylerini ve ayrıca renal TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve ICAM-1 mRNA ekspresyon düzeylerini artırdığı için renal oksidatif stres ve inflamasyonun artmasının bir sonucu olabileceği belirtilmiştir. Genetik manipölasyon kullanılarak 12/15-LOX inhibisyonu veya baicalein ile farmakolojik inhibisyon, LPS injeksiyonuyla ortaya çıkan inflamasyonu ve böbrek hasarını azalttığı bulunmuştur (Elmarakby vd., 2019).

Elmarakby ve arkadaşlarının kullandığı baicalein gibi LOXblock-1 uygulamamızla IL-6 ve MCP1'in mRNA ekspresyonunun İ/R grubuna kıyasla anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir. Serum TNF- α ve IL-6 değerlerinde ise İ/R grubuna nazaran bir azalma olsada istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Ancak, MCP-1 değerlerinde İ/R ve curcumin verilen grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir azalmanın olduğu gözlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gerçekten de, AKI karmaşık bir sendromdur ve belki de sendromun farklı aşamalarını kapsayan çeşitli biyobelirteçlerden oluşan bir panelin kullanılması, etiyojisini ve patofizyolojisini daha iyi anlamayı sağlayabilir ve gelecekteki tedaviler için hedefleri belirleyebilir.

Semaforin-pleksin sinyallemesinin, böbrek patofizyolojisinde olumlu ve olumsuz çeşitli roller oynadığı açıktır. Klinik öncesi fare modellerinde elde edilen veriler, semaforin-pleksin sisteminin böbrek hastalıklarında yeni ve umut verici bir farmakolojik hedefi temsil ettiğini ve gelecekte bu bulguların insanlara nasıl uygulanacağını netleştirmek zorunda kalınacağını göstermektedir. Ayrıca, elde edilen verilerde, SEMA3A'nın böbrek hastalıklarında, özellikle akut böbrek hasarının erken tanısında bir biyobelirteç olarak hizmet etme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

SEMA3A, PLXN A1, NRP1 sistemi İ/R hasarında inflamatuvar süreçler, oksidatif stres, apoptoz ve histolojik analizler ile birlikte araştırılmıştır. Bu sinyal mekanizmasının baskılanmasında ayrıca lipoksijenaz yolağı kullanılmıştır. AA metabolizmasının böbrek inflamasyonu üzerindeki etkisinin ve semaforinlerin bu yolakla ilişkisinin olabileceğini düşünmekteyiz. Bu yüzden çalışmamızdan farklı olarak LOX yolağındaki metabolitlerin de ölçülmesi gerekmektedir. Bu bakımdan, ileriki çalışmalarda LOX metabolitlerinin HPLC ile analizlerinin gerçekleştirilmesini önerebiliriz.

Curcumin'in böbrek hastalıkları üzerindeki etkisinin semaforin-pleksin sistemi ile ilişkisi ilk kez araştırılmıştır. LOXblock-1 ile karşılaştırıldığında antioksidan özelliği ön plana çıkmıştır. 12/15-LOX enzimleri ve metabolitleri böbrek hastalığında ikili bir role sahiptir ve böbrek fonksiyonunun kilit düzenleyicileridir. Bu yolun farklı böbrek patolojilerinde daha iyi anlaşılması, gelecekte hipertansiyon, kronik böbrek hastalığı ve böbrek hasarı tedavisi için yeni terapötik seçeneklerin oluşturulmasına yol açacaktır.

Sıçanların anatomik yapısından dolayı bu çalışmada idrar alınamamıştır. Dolayısıyla idrar SEMA3A düzeyi ölçümü yapılamaması bu çalışmanın başlıca limitasyonudur.

7. KAYNAKLAR

- Afrin, M. R., Arumugam, S., Rahman, M. A., Karuppagounder, V., Harima, M., Suzuki, H., ... & Watanabe, K. (2017). Curcumin reduces the risk of chronic kidney damage in mice with nonalcoholic steatohepatitis by modulating endoplasmic reticulum stress and MAPK signaling. *International immunopharmacology*, 49, 161-167.
- Aggarwall, B. B. (2004). Nuclear factor-kappaB: the enemy within cancer. *Cancer cell*, 6, 203-8.
- Akbari-Kordkheyli, V., Abbaszadeh-Goudarzi, K., Nejati-Laskokalayeh, M., Zarpou, S., & Khonakdar-Tarsi, A. (2019). The protective effects of silymarin on ischemia-reperfusion injuries: A mechanistic review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(9), 968.
- Akyürek, Kafali, & Muhtaroglu. (2000). The effects of dimethylsulfoxide on experimental hepatic ischemia. *Swiss surgery*, 6(1), 23-27.
- Ali, B. H., Al-Salam, S., Al Suleimani, Y., Al Kalbani, J., Al Bahlani, S., Ashique, M., ... & Yasin, J. (2018). Curcumin ameliorates kidney function and oxidative stress in experimental chronic kidney disease. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 122(1), 65-73.
- Antunes, L. M. G., Darin, J. D. A. C., & Maria de Lourdes, P. B. (2001). Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacological Research*, 43(2), 145-150.
- Aydemir, S., Binen, M., Parlakpınar, H., & Dilsiz, N. (2018). Calpain inhibitor AK 295 inhibits calpain-induced apoptosis and damage in rat kidney. *Biomedical Research*, 29 (12): 2516-2521
- Aydin, M. S., Caliskan, A., Kocarlan, A., Kocarlan, S., Yildiz, A., Günay, S., ... & Yalcin, F. (2014). Intraperitoneal curcumin decreased lung, renal and heart injury in abdominal aorta ischemia/reperfusion model in rat. *International Journal of Surgery*, 12(6), 601-605.
- Bayramoglu, G., Bayramoglu, A., Engur, S., Senturk, H., Ozturk, N., & Colak, S. (2014). The hepatoprotective effects of *Hypericum perforatum* L. on hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Cytotechnology*, 66(3), 443-448.
- Beutler, E. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *J. lab. clin. Med.*, 61, 882-888.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Bejar, J., Kessler, O., Sabag, A. D., Sabo, E., Itzhak, O. B., Neufeld, G., & Vadasz, Z. (2018). Semaphorin3A: a potential therapeutic tool for lupus nephritis. *Frontiers in immunology*, 9, 634.
- Bezáková, L., Košťálová, D., Obložinský, M., Hoffman, P., Pekárová, M., Kollárová, R., ... & Sturdík, E. (2014). Inhibition of 12/15 lipoxygenase by curcumin and an extract from *Curcuma longa* L. *Ceska a Slovenska farmacie: casopis Ceske farmaceuticke spolocnosti a Slovenske farmaceuticke spolocnosti*, 63(1), 26-31.
- Bolisetty, S., & Agarwal, A. (2009). Neutrophils in acute kidney injury: not neutral any more. *Kidney international*, 75(7), 674-676.
- Bonventre, J. V., & Yang, L. (2011). Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *The Journal of clinical investigation*, 121(11), 4210-4221.
- Bonventre, J. V., & Zuk, A. (2004). Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease?. *Kidney international*, 66(2), 480-485.
- Calder, P. C. (2015). Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1851(4), 469-484.
- Chakraborty, G., Kumar, S., Mishra, R., Patil, T. V., & Kundu, G. C. (2012). Semaphorin 3A suppresses tumor growth and metastasis in mice melanoma model. *PloS one*, 7(3).
- Chawla, L. S., Bellomo, R., Bihorac, A., Goldstein, S. L., Siew, E. D., Bagshaw, S. M., ... & Forni, L. (2017). Acute kidney disease and renal recovery: consensus report of the Acute Disease Quality Initiative (ADQI) 16 Workgroup. *Nature Reviews Nephrology*, 13(4), 241.
- Chertow, G. M., Burdick, E., Honour, M., Bonventre, J. V., & Bates, D. W. (2005). Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *Journal of the American Society of Nephrology*, 16(11), 3365-3370.
- Chen, H. H., Lai, P. F., Lan, Y. F., Cheng, C. F., Zhong, W. B., Lin, Y. F., ... & Lin, H. (2014). Exosomal ATF3 RNA attenuates pro-inflammatory gene MCP-1 transcription in renal ischemia-reperfusion. *Journal of cellular physiology*, 229(9), 1202-1211.
- Crompton, M. (1999). The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochemical Journal*, 341(2), 233-249.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- De Jonge, H. W., Dekkers, D. H., & Lamers, J. M. (1996). Polyunsaturated fatty acids and signalling via phospholipase C- β and A 2 in myocardium. In *Biochemistry of Signal Transduction in Myocardium* (pp. 199-210). Springer, Boston, MA.
- Deng, Y. I., Verron, E., & Rohanizadeh, R. (2016). Molecular mechanisms of anti-metastatic activity of curcumin. *Anticancer research*, 36(11), 5639-5647.
- Dobrian, A. D., Lieb, D. C., Cole, B. K., Taylor-Fishwick, D. A., Chakrabarti, S. K., & Nadler, J. L. (2011). Functional and pathological roles of the 12-and 15-lipoxygenases. *Progress in lipid research*, 50(1), 115-131.
- Drefs, M., Thomas, M. N., Guba, M., Angele, M. K., Werner, J., Conrad, M., ... & Rentsch, M. (2017). Modulation of glutathione hemostasis by inhibition of 12/15-lipoxygenase prevents ROS-mediated cell death after hepatic ischemia and reperfusion. *Oxidative medicine and cellular longevity*.
- Eckle, T. (2016). New ‘Guidance’ for the treatment of hepatic ischemia reperfusion injury through semaphorins and plexins. *Critical care medicine*, 44(8), 1623.
- Elmarakby, A. A., Ibrahim, A. S., Katary, M. A., Elsherbiny, N. M., El-Shafey, M., Abd-Elrazik, A. M., ... & Al-Shabrawey, M. (2019). A dual role of 12/15-lipoxygenase in LPS-induced acute renal inflammation and injury. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1864(11), 1669-1680.
- Erturk, N., Elbe, H., Dogan, Z., Aktas, S., Demirbilek, S., & Ozturk, F. (2018). Curcumin prevents renal oxidative stress and tissue damage induced by renal ischemia/reperfusion in rats. *International Surgery Journal*, 5(10), 3192-3197.
- Eybl, V., Kotyzová, D., & Bludovská, M. (2004). The effect of curcumin on cadmium-induced oxidative damage and trace elements level in the liver of rats and mice. *Toxicology Letters*, 151(1), 79-85.
- Fan, Y., Chen, H., Peng, H., Huang, F., Zhong, J., & Zhou, J. (2017). Molecular mechanisms of curcumin renoprotection in experimental acute renal injury. *Frontiers in pharmacology*, 8, 912.
- Fang, W., Wang, Z., Li, Q., Wang, X., Zhang, Y., Sun, Y., ... & Yi, F. (2018). Gpr97 exacerbates AKI by mediating Sema3A signaling. *Journal of the American Society of Nephrology*, 29(5), 1475-1489.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Faulkner, J., Pye, C., Al-Shabrawey, M., & Elmarakby, A. A. (2015). Inhibition of 12/15-lipoxygenase reduces renal inflammation and injury in streptozotocin-induced diabetic mice. *Journal of diabetes & metabolism*, 6(6).
- Friedewald, J. J., & Rabb, H. (2004). Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney international*, 66(2), 486-491.
- Gameiro, J., Agapito Fonseca, J., Jorge, S., & Lopes, J. A. (2018). Acute kidney injury definition and diagnosis: A narrative review. *Journal of clinical medicine*, 7(10), 307.
- Gholampour, F., Roozbeh, J., Janfeshan, S., & Karimi, Z. (2019). Remote ischemic per-conditioning protects against renal ischemia–reperfusion injury via suppressing gene expression of TLR4 and TNF- α in rat model. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 97(2), 112-119.
- Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of biological chemistry*, 177(2), 751-766.
- Gounaris, E., Heiferman, M. J., Heiferman, J. R., Shrivastav, M., Vitello, D., Blatner, N. R., ... & Khazaie, K. (2015). Zileuton, 5-lipoxygenase inhibitor, acts as a chemopreventive agent in intestinal polyposis, by modulating polyp and systemic inflammation. *PloS one*, 10(3).
- Gokce, E. C., Kahveci, R., Gokce, A., Sargon, M. F., Kisa, U., Aksoy, N., ... & Erdogan, B. (2016). Curcumin attenuates inflammation, oxidative stress, and ultrastructural damage induced by spinal cord ischemia–reperfusion injury in rats. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 25(5), 1196-1207.
- Green, A. R., Freedman, C., Tena, J., Tourdot, B. E., Liu, B., Holinstat, M., & Holman, T. R. (2018). 5 S, 15 S-Dihydroperoxyeicosatetraenoic Acid (5, 15-diHpETE) as a Lipoxin Intermediate: Reactivity and Kinetics with Human Leukocyte 5-Lipoxygenase, Platelet 12-Lipoxygenase, and Reticulocyte 15-Lipoxygenase-1. *Biochemistry*, 57(48), 6726-6734.
- Gu, J., Sun, P., Zhao, H., Watts, H. R., Sanders, R. D., Terrando, N., ... & Ma, D. (2011). Dexmedetomidine provides renoprotection against ischemia-reperfusion injury in mice. *Critical care*, 15(3), R153.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Han, P., Qin, Z., Tang, J., Xu, Z., Li, R., Jiang, X., ... & Zhang, J. (2017). RTA-408 protects kidney from ischemia-reperfusion injury in mice via activating Nrf2 and downstream GSH biosynthesis gene. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.
- Hatipoglu, A. R., Temiz, E., Yüksel, M., Hoscoskun, Z., Coskun, I., & Hüseyinova, G. (2001). The comparison of electron microscopy and scintigraphy in determining the protective effect of dimethylsulphoxide (DMSO) on ischemia/reperfusion injury through Pringle maneuver. *Hepato-gastroenterology*, 48(39), 799-802.
- Hoffmann, D., Bijol, V., Krishnamoorthy, A., Gonzalez, V. R., Frenzl, G., Zhang, Q & Vaidya, V. S. (2012). Fibrinogen excretion in the urine and immunoreactivity in the kidney serves as a translational biomarker for acute kidney injury. *The American journal of pathology*, 181(3), 818-828.
- Holderied, A., & Anders, H. J. (2014). Animal models of kidney inflammation in translational medicine. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 11, 19-27.
- Hong, J., Bose, M., Ju, J., Ryu, J. H., Chen, X., Sang, S., ... & Yang, C. S. (2004). Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related β -diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A 2, cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Carcinogenesis*, 25(9), 1671-1679.
- Hong, X., Zhao, X., Wang, G., Zhang, Z., Pei, H., & Liu, Z. (2017). Luteolin treatment protects against renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Mediators of inflammation*, 2017.
- Hoste, E. A., Clermont, G., Kersten, A., Venkataraman, R., Angus, D. C., De Bacquer, D., & Kellum, J. A. (2006). RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Critical care*, 10(3), R73.
- Hoste, E. A., Kellum, J. A., Selby, N. M., Zarbock, A., Palevsky, P. M., Bagshaw, S. M., ... & Chawla, L. S. (2018). Global epidemiology and outcomes of acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*, 14(10), 607-625.
- Hotchkiss, R. S., Strasser, A., McDunn, J. E., & Swanson, P. E. (2009). Cell death. *New England Journal of Medicine*, 361(16), 1570-1583.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Huang, R., Liu, Y., Xiong, Y., Wu, H., Wang, G., Sun, Z., ... & Zhang, Z. (2016). Curcumin protects against liver fibrosis by attenuating infiltration of Gr1hi monocytes through inhibition of monocyte chemoattractant protein-1. *Discovery medicine*, 21(118), 447-457.
- Husain-Syed, F., & Ronco, C. (2018). The odyssey of risk stratification in acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*, 14(11), 660-662.
- Jagetia, G. C., & Aggarwal, B. B. (2007). “Spicing up” of the immune system by curcumin. *Journal of clinical immunology*, 27(1), 19-35.
- Jang, H. R., Ko, G. J., Wasowska, B. A., & Rabb, H. (2009). The interaction between ischemia–reperfusion and immune responses in the kidney. *Journal of molecular medicine*, 87(9), 859-864.
- Jayakumar, C., Ranganathan, P., Devarajan, P., Krawczeski, C. D., Looney, S., & Ramesh, G. (2013). Semaphorin 3A is a new early diagnostic biomarker of experimental and pediatric acute kidney injury. *PLoS One*, 8(3).
- Jongbloets, B. C., & Pasterkamp, R. J. (2014). Semaphorin signalling during development. *Development*, 141(17), 3292-3297.
- Kako, K., Kato, M., Matsuoka, T., & Mustapha, A. (1988). Depression of membrane-bound Na⁺-K⁺-ATPase activity induced by free radicals and by ischemia of kidney. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 254(2), C330-C337.
- Kantar, F. U. (2017). Karaciğer Fonksiyon Testi Yüksekliğine Yaklaşım, *Klinik Tıp Bilimleri*, 5(2), 30-38.
- Kashani, K., Cheungpasitporn, W., & Ronco, C. (2017). Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 55(8), 1074-1089.
- Kaur, A., Kaur, T., Singh, B., Pathak, D., Singh Buttar, H., & Pal Singh, A. (2016). Curcumin alleviates ischemia reperfusion-induced acute kidney injury through NMDA receptor antagonism in rats. *Renal failure*, 38(9), 1462-1467.
- Kaya, Y., Aral, E., Coskun, T., Erkasap, N., & Var, A. (2002). Increased intraabdominal pressure impairs liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *Journal of Surgical Research*, 108(2), 250-257.
- Kellum, J. A., Unruh, M. L., & Murugan, R. (2011). Acute kidney injury. *BMJ clinical evidence*, 2011.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Khwaja, A. (2012). KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron Clinical Practice*, 120(4), c179-c184.
- Klausner, J. M., Paterson, I. S., Goldman, G., Kobzik, L. E. S. T. E. R., Rodzen, C. Y. N. T. H. I. A., Lawrence, R. I. T. A., ... & Hechtman, H. B. (1989). Postischemic renal injury is mediated by neutrophils and leukotrienes. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 256(5), F794-F802.
- König, K., Granja, T., Eckle, V. S., Mirakaj, V., Köhler, D., Schlegel, M., & Rosenberger, P. (2016). Inhibition of plexin C1 protects against hepatic ischemia-reperfusion injury. *Critical care medicine*, 44(8), e625-e632.
- Kwon, T. H., Frøkiær, J., Han, J. S., Knepper, M. A., & Nielsen, S. (2000). Decreased abundance of major Na⁺ transporters in kidneys of rats with ischemia-induced acute renal failure. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 278(6), F925-F939.
- Lewandowska, L., Matuszkiewicz-Rowińska, J., Jayakumar, C., Oldakowska-Jedynak, U., Looney, S., Galas, M., ... & Ramesh, G. (2014). Netrin-1 and semaphorin 3A predict the development of acute kidney injury in liver transplant patients. *PloS one*, 9(10).
- Li, C., & Jackson, R. M. (2002). Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 282(2), C227-C241.
- Lima, C., & Macedo, E. (2018). Urinary biochemistry in the diagnosis of acute kidney injury. *Disease markers*, 2018.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ ΔΔCT method. *methods*, 25(4), 402-408.
- Macedo, E., Malhotra, R., Claire-Del Granado, R., Fedullo, P., & Mehta, R. L. (2011). Defining urine output criterion for acute kidney injury in critically ill patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 26(2), 509-515.
- McMahon, B., & Godson, C. (2004). Lipoxins: endogenous regulators of inflammation. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 286(2), F189-F201.
- Malek, M., & Nematbakhsh, M. (2015). Renal ischemia/reperfusion injury; from pathophysiology to treatment. *Journal of renal injury prevention*, 4(2), 20.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Manikandan, R., Beulaja, M., Thiagarajan, R., Priyadarsini, A., Saravanan, R., & Arumugam, M. (2011). Ameliorative effects of curcumin against renal injuries mediated by inducible nitric oxide synthase and nuclear factor kappa B during gentamicin-induced toxicity in Wistar rats. *European journal of pharmacology*, 670(2-3), 578-585.
- Martin, J. L., Gruszczuk, A. V., Beach, T. E., Murphy, M. P., & Saeb-Parsy, K. (2019). Mitochondrial mechanisms and therapeutics in ischaemia reperfusion injury. *Pediatric Nephrology*, 34(7), 1167-1174.
- Martinou, J. C., & Youle, R. J. (2011). Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. *Developmental cell*, 21(1), 92-101.
- Marx, D., Metzger, J., Pejchinovski, M., Gil, R. B., Frantzi, M., Latosinska, A., & Klingele, M. (2018, January). Proteomics and metabolomics for AKI diagnosis. In *Seminars in nephrology* 38, 63–87.
- Miao, Y., Zhao, S., Gao, Y., Wang, R., Wu, Q., Wu, H., & Luo, T. (2016). Curcumin pretreatment attenuates inflammation and mitochondrial dysfunction in experimental stroke: The possible role of Sirt1 signaling. *Brain research bulletin*, 121, 9-15.
- Mikule, K., Gatlin, J. C., Becky, A., & Pfenninger, K. H. (2002). Growth cone collapse induced by semaphorin 3A requires 12/15-lipoxygenase. *Journal of Neuroscience*, 22(12), 4932-4941.
- Mills, E. L., Kelly, B., & O'Neill, L. A. (2017). Mitochondria are the powerhouses of immunity. *Nature immunology*, 18(5), 488.
- Molina, A., Ubeda, M., Escribese, M. M., García-Bermejo, L., Sancho, D., de Lema, G. P & Mampaso, F. (2005). Renal ischemia/reperfusion injury: functional tissue preservation by anti-activated β 1 integrin therapy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 16(2), 374-382.
- Moore, K. P., Wood, J., Gove, C., Tan, K. C., Eason, J., Taylor, G. W., & Williams, R. (1991). Synthesis and metabolism of cysteinyl leukotrienes by the isolated pig kidney. *Advances in prostaglandin, thromboxane, and leukotriene research*, 21, 697.
- Mousavi, G. (2015). Study on the effect of black cumin (*Nigella sativa* Linn.) on experimental renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Acta cirurgica brasileira*, 30(8), 542-550.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Nieuwenhuijs-Moeke, G. J., Pischke, S. E., Berger, S. P., Sanders, J. S. F., Pol, R. A., Struys, M. M., ... & Leuvenink, H. G. (2020). Ischemia and reperfusion injury in kidney transplantation: relevant mechanisms in injury and repair. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 253.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Ostermann, M., Philips, B. J., & Forni, L. G. (2012). Clinical review: biomarkers of acute kidney injury: where are we now?. *Critical care*, 16(5), 233.
- Otsuki, S., Morshed, S. R. M., Chowdhury, S. A., Takayama, F., Satoh, T., Hashimoto, K., ... & Akahane, K. (2005). Possible link between glycolysis and apoptosis induced by sodium fluoride. *Journal of dental research*, 84(10), 919-923.
- Ozkok, A., Ravichandran, K., Wang, Q., Ljubanovic, D., & Edelstein, C. L. (2016). NF-κB transcriptional inhibition ameliorates cisplatin-induced acute kidney injury (AKI). *Toxicology letters*, 240(1), 105-113.
- Paller, M. S., Hoidal, J. R., & Ferris, T. F. (1984). Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *The Journal of clinical investigation*, 74(4), 1156-1164.
- Patel, S. S., Acharya, A., Ray, R. S., Agrawal, R., Raghuwanshi, R., & Jain, P. (2019). Cellular and molecular mechanisms of curcumin in prevention and treatment of disease. *Critical reviews in food science and nutrition*, 1-53.
- Pekcec, A., Yigitkanli, K., Jung, J. E., Pallast, S., Xing, C., Antipenko, A., ... & van Leyen, K. (2013). Following experimental stroke, the recovering brain is vulnerable to lipoxygenase-dependent semaphorin signaling. *The FASEB Journal*, 27(2), 437-445.
- Pektaş, A., Gemalmaz, H., Balkaya, M., Ünsal, C., Yenisey, Ç., Kılıçarslan, N., & Çulhacı, N. (2014). The short-term protective effects of lycopene on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Turkish journal of urology*, 40(1), 46.
- Perälä, N., Sariola, H., & Immonen, T. (2012). More than nervous: the emerging roles of plexins. *Differentiation*, 83(1), 77-91.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Pour, M. M., Farjah, G. H., Karimipour, M., Pourheidar, B., & Ansari, M. H. K. (2019). Protective effect of lutein on spinal cord ischemia-reperfusion injury in rats. *Iranian journal of basic medical sciences*, 22(4), 412.
- Pulido-Moran, M., Moreno-Fernandez, J., Ramirez-Tortosa, C., & Ramirez-Tortosa, M. (2016). Curcumin and health. *Molecules*, 21(3), 264.
- Rahmani, S., Asgary, S., Askari, G., Keshvari, M., Hatamipour, M., Feizi, A., & Sahebkar, A. (2016). Treatment of non-alcoholic fatty liver disease with curcumin: A randomized placebo-controlled trial. *Phytotherapy Research*, 30(9), 1540-1548.
- Rai, G., Joshi, N., Jung, J. E., Liu, Y., Schultz, L., Yasgar, A., ... & Jadhav, A. (2014). Potent and selective inhibitors of human reticulocyte 12/15-lipoxygenase as anti-stroke therapies. *Journal of medicinal chemistry*, 57(10), 4035-4048
- Ranganathan, P., Jayakumar, C., Mohamed, R., Weintraub, N. L., & Ramesh, G. (2014). Semaphorin 3A inactivation suppresses ischemia-reperfusion-induced inflammation and acute kidney injury. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 307(2), F183-F194.
- Rashid, K., Chowdhury, S., Ghosh, S., & Sil, P. C. (2017). Curcumin attenuates oxidative stress induced NFκB mediated inflammation and endoplasmic reticulum dependent apoptosis of splenocytes in diabetes. *Biochemical pharmacology*, 143, 140-155.
- Reddy, A. C. P., & Lokesh, B. R. (1994). Effect of dietary turmeric (*Curcuma longa*) on iron-induced lipid peroxidation in the rat liver. *Food and chemical toxicology*, 32(3), 279-283.
- Reidy, K., & Tufro, A. (2011). Semaphorins in kidney development and disease: modulators of ureteric bud branching, vascular morphogenesis, and podocyte-endothelial crosstalk. *Pediatric nephrology*, 26(9), 1407-1412.
- Rezaee, R., Momtazi, A. A., Monemi, A., & Sahebkar, A. (2017). Curcumin: a potentially powerful tool to reverse cisplatin-induced toxicity. *Pharmacological research*, 117, 218-227.
- Ronco, C., Bellomo, R., & Kellum, J. A. (2019). Acute kidney injury. *The Lancet*, 394(10212), 1949-1964.
- Rovcanin, B., Medic, B., Kocic, G., Cebovic, T., Ristic, M., & Prostran, M. (2016). Molecular dissection of renal ischemia-reperfusion: oxidative stress and cellular events. *Current medicinal chemistry*, 23(19), 1965-1980.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Sahin, M., Avsar, F. M., Ozel, H., Topaloglu, S., Yılmaz, B., Pasaoglu, H., ... & Hengirmen, S. (2004, November). The effects of dimethyl sulfoxide on liver damage caused by ischemia-reperfusion. In *Transplantation proceedings*, 36 (9), 2590-2592.
- Sagiroglu, T., Sezer, A., Torun, N., Yalta, T., Yagci, M. A., Sagiroglu, G., & Copuroglu, E. (2014). Protective effect of everolimus on renal ischemia reperfusion injury in rats. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, 25(2), 294.
- Salvadori, M., Rosso, G., & Bertoni, E. (2015). Update on ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation: Pathogenesis and treatment. *World journal of transplantation*, 5(2), 52.
- Sarıtaş, Z., Sarıtaş, H., Korkmaz, M., Bozkurt, M. F., Bülbül, A., Afşar, R. E., & Sarıtaş, T. B. (2018). Effects of Curcumin on A Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 11(3), 215-222.
- Si, Y., Bao, H., Han, L., Shi, H., Zhang, Y., Xu, L., ... & Ma, D. (2013). Dexmedetomidine protects against renal ischemia and reperfusion injury by inhibiting the JAK/STAT signaling activation. *Journal of translational medicine*, 11(1), 141.
- Simone, S., Rascio, F., Castellano, G., Divella, C., Ditunno, P., Battaglia, M. & Gesualdo, L. (2014). Complement-dependent NADPH oxidase enzyme activation in renal ischemia/reperfusion injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 74, 263-273.
- Singh, I., Gulati, S., Orak, J. K., & Singh, A. K. (1993). Expression of antioxidant enzymes in rat kidney during ischemia-reperfusion injury. *Molecular and cellular biochemistry*, 125(2), 97-104.
- Soleimani, V., Sahebkar, A., & Hosseinzadeh, H. (2018). Turmeric (*Curcuma longa*) and its major constituent (curcumin) as nontoxic and safe substances. *Phytotherapy Research*, 32(6), 985-995.
- Song, L., Yang, H., Wang, H. X., Tian, C., Liu, Y., Zeng, X. J., ... & Li, H. H. (2014). Inhibition of 12/15 lipoxygenase by baicalein reduces myocardial ischemia/reperfusion injury via modulation of multiple signaling pathways. *Apoptosis*, 19(4), 567-580.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Song, M. F., Yang, Y., Yi, Z. W., Zhang, Z. Q., Shen, X. D., Hu, G. H., & Zhu, Y. F. (2018). Sema 3A as a biomarker of the activated mTOR pathway during hexavalent chromium-induced acute kidney injury. *Toxicology letters*, 299, 226-235.
- Sperling, R. I., Benincaso, A. I., Knoell, C. T., Larkin, J. K., Austen, K. F., & Robinson, D. R. (1993). Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit phosphoinositide formation and chemotaxis in neutrophils. *The Journal of clinical investigation*, 91(2), 651-660.
- Stangl, R., Sziđártó, A., Ónody, P., Tamás, J., Tátrai, M., Hegedűs, V., ... & Gerő, D. (2011). Reduction of liver ischemia-reperfusion injury via glutamine pretreatment. *Journal of Surgical Research*, 166(1), 95-103.
- Star, R. A. (1998). Treatment of acute renal failure. *Kidney international*, 54(6), 1817-1831.
- Stroo, I., Stokman, G., Teske, G. J., Raven, A., Butter, L. M., Florquin, S., & Leemans, J. C. (2010). Chemokine expression in renal ischemia/reperfusion injury is most profound during the reparative phase. *International immunology*, 22(6), 433-442.
- Sugiyama, S., Hanaki, Y., Ogawa, T., Hieda, N., Taki, K., & Ozawa, T. (1988). The effects of SUN 1165, a novel sodium channel blocker, on ischemia-induced mitochondrial dysfunction and leakage of lysosomal enzymes in canine hearts. *Biochemical and biophysical research communications*, 157(2), 433-439.
- Susantitaphong, P., Cruz, D. N., Cerda, J., Abulfaraj, M., Alqahtani, F., Koulouridis, I., & Jaber, B. L. (2014). Acute Kidney Injury Advisory Group of the American Society of Nephrology: World incidence of AKI: a meta-analysis (vol 8, pg 1482, 2013). *Clinical Journal of The American Society of Nephrology*, 9(6), 1148-1148.
- Suzuki, K., Ota, H., Sasagawa, S., Sakatani, T., & Fujikura, T. (1983). Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Analytical biochemistry*, 132(2), 345-352.
- Şener, G., Şener, E., Şehirli, Ö., Öğünç, A. V., Çetinel, Ş., Gedik, N., & Sakarcın, A. (2005). Ginkgo biloba extract ameliorates ischemia reperfusion-induced renal injury in rats. *Pharmacological research*, 52(3), 216-222.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Tanyeli, A., Guler, M. C., Eraslan, E., Akdemir, F. N. E., Topdagi, O., Polat, E., & Nacar, T. (2020). Barbaloin attenuates ischemia reperfusion-induced oxidative renal injury via antioxidant and anti-inflammatory effects. *Medicine*, 9(1), 246-50.
- Thiyagarajan, M., & Sharma, S. S. (2004). Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. *Life sciences*, 74(8), 969-985.
- Thomas, M. E., Blaine, C., Dawnay, A., Devonald, M. A., Ftouh, S., Laing, C. & Ostermann, M. (2015). The definition of acute kidney injury and its use in practice. *Kidney international*, 87(1), 62-73.
- Thongprayoon, C., Cheungpasitporn, W., Harrison, A. M., Kittanamongkolchai, W., Ungprasert, P., Srivali, N. & Kashani, K. B. (2016). The comparison of the commonly used surrogates for baseline renal function in acute kidney injury diagnosis and staging. *BMC nephrology*, 17(1), 6.
- Tian, X., Gan, H., Zeng, Y., Zhao, H., Tang, R., & Xia, Y. (2018). Inhibition of semaphorin-3a suppresses lipopolysaccharide-induced acute kidney injury. *Journal of Molecular Medicine*, 96(7), 713-724.
- Tirkey, N., Kaur, G., Vij, G., & Chopra, K. (2005). Curcumin, a diferuloylmethane, attenuates cyclosporine-induced renal dysfunction and oxidative stress in rat kidneys. *BMC pharmacology*, 5(1), 15.
- Topcu-Tarladacalisir, Y., Sapmaz-Metin, M., & Karaca, T. (2016). Curcumin counteracts cisplatin-induced nephrotoxicity by preventing renal tubular cell apoptosis. *Renal failure*, 38(10), 1741-1748.
- Ullah, F., Liang, A., Rangel, A., Gyengesi, E., Niedermayer, G., & Münch, G. (2017). High bioavailability curcumin: an anti-inflammatory and neurosupportive bioactive nutrient for neurodegenerative diseases characterized by chronic neuroinflammation. *Archives of Toxicology*, 91(4), 1623-1634.
- Van Dorp, D. A. (1975). Essential fatty acid metabolism. *Proceedings of the Nutrition Society*, 34(3), 279-286.
- Vanmassenhove, J., Vanholder, R., Nagler, E., & Van Biesen, W. (2013). Urinary and serum biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury: an in-depth review of the literature. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 28(2), 254-273.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Visnagri, A., Kandhare, A. D., & Bodhankar, S. L. (2015). Renoprotective effect of berberine via intonation on apoptosis and mitochondrial-dependent pathway in renal ischemia reperfusion-induced mutilation. *Renal failure*, 37(3), 482-493.
- Waikar, S. S., Betensky, R. A., Emerson, S. C., & Bonventre, J. V. (2012). Imperfect gold standards for kidney injury biomarker evaluation. *Journal of the American society of nephrology*, 23(1), 13-21.
- Wang, L., Li, N., Lin, D., & Zang, Y. (2017). Curcumin protects against hepatic ischemia/reperfusion induced injury through inhibiting TLR4/NF- κ B pathway. *Oncotarget*, 8(39), 65414.
- Wang, P., Zhu, Q., Wu, N., Siow, Y. L., Aukema, H., & O, K. (2013). Tyrosol Attenuates Ischemia-Reperfusion-Induced Kidney Injury via Inhibition of Inducible Nitric Oxide Synthase. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(15), 3669-3675.
- Wang, S., Ye, Q., Tu, J., Zhang, M., & Ji, B. (2017). Curcumin protects against hypertension aggravated retinal ischemia/reperfusion in a rat stroke model. *Clinical and Experimental Hypertension*, 39(8), 711-717.
- Wang, T., Fu, X., Chen, Q., Patra, J. K., Wang, D., Wang, Z., & Gai, Z. (2019). Arachidonic Acid Metabolism and Kidney Inflammation. *International journal of molecular sciences*, 20(15), 3683.
- Wang, X., & Garrett, M. R. (2017). Nephron number, hypertension, and CKD: physiological and genetic insight from humans and animal models. *Physiological genomics*, 49(3), 180-192.
- Waynforth, H.B., Flecknell, P.A. (1994). *Experimental and surgical technique in the rat*, second edition, Chapter, 29,174-175.
- Worzfeld, T., & Offermanns, S. (2014). Semaphorins and plexins as therapeutic targets. *Nature reviews Drug discovery*, 13(8), 603-621.
- Wu, J., Pan, X., Fu, H., Zheng, Y., Dai, Y., Yin, Y., ... & Hou, D. (2017). Effect of curcumin on glycerol-induced acute kidney injury in rats. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.
- Wu, Y. J., Xue, M., & Chen, H. (2012). Licofelone Inhibits Interleukin-18-Induced Pro-Inflammatory Cytokine Release and Cellular Proliferation in Human Mesangial Cells. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 111(3), 166-172.

“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Xia, J., & Worzfeld, T. (2016). Semaphorins and plexins in kidney disease. *Nephron*, 132(2), 93-100.
- Xie, Y. L., Chu, J. G., Jian, X. M., Dong, J. Z., Wang, L. P., Li, G. X., & Yang, N. B. (2017). Curcumin attenuates lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced acute liver injury by activating Nrf2 nuclear translocation and inhibiting NF- κ B activation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 91, 70-77.
- Yang, N., Luo, M., Li, R., Huang, Y., Zhang, R., Wu, Q., ... & Yu, X. (2008). Blockage of JAK/STAT signalling attenuates renal ischaemia-reperfusion injury in rats. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 23(1), 91-100.
- Yates, C. M., Calder, P. C. & Rainger, G. E. (2014). Pharmacology and therapeutics of omega-3 polyunsaturated fatty acids in chronic inflammatory disease. *Pharmacology & therapeutics*, 141(3), 272-282.
- Yigitkanli, K., Pekcec, A., Karatas, H., Pallast, S., Mandeville, E., Joshi, N., ... & Montaner, J. (2013). Inhibition of 12/15-lipoxygenase as therapeutic strategy to treat stroke. *Annals of neurology*, 73(1), 129-135.
- Yousefi, H., Ahmadiasl, N., Salimnejad, R., Bagheri, E., Roshangar, L., Alihemmati, A (2019). Effects of renal ischemia-reperfusion on biochemical factors and histopathological alterations in the liver of male rats. *Physiology and Pharmacology*, 23(1), 44-50.
- Zorica, N., Todorović, Z., Stojanović, R., Basta-Jovanović, G., Radojević-Škodric, S., Matić, D., & Prostan, M. (2008). Acute Protective Effects of Different Doses Of Simvastatin In The Rat Model of Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *Acta Veterinaria*, 58.
- Zhang, Y., Chen, P., Hong, H., Wang, L., Zhou, Y., & Lang, Y. (2017). JNK pathway mediates curcumin-induced apoptosis and autophagy in osteosarcoma MG63 cells. *Experimental and therapeutic medicine*, 14(1), 593-599.
- Zhang, J., Tang, L., Li, G. S., & Wang, J. (2018). The anti-inflammatory effects of curcumin on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Renal failure*, 40(1), 680-686.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Fatih KAR
Doğum tarihi ve yeri : 18.04.1987 - Rize
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Evli
İletişim adresleri : ESOGÜ Tıp Fakültesi- Temel Tıp Bilimleri-
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Eğitim Durumu

1993-1998 Hacı Ethem Üktem İlköğretim Okulu
1998-2001 Resneli Niyazi Bey İlköğretim Okulu
2001-2004 Mecidiyeköy Lisesi
2005-2010 Karadeniz Teknik Üniversitesi (Lisans)
2011-2013 İstanbul Teknik Üniversitesi (Yüksek Lisans)
2012-2014 Anadolu Üniversitesi (Ön Lisans)

Yabancı Dil: İngilizce

Mesleki Deneyim:

İstanbul Arel Üniversitesi/Meslek Yüksekokulu/Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü/Tıbbi Laboratuvar Teknikleri (2013) (Öğretim Görevlisi)
Karadeniz Teknik Üniversitesi/Eczacılık Fakültesi/Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü/Farmasotik Botanik Anabilim Dalı (2013-2015) (Araştırma Görevlisi)
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi/Tıp Fakültesi/Temel Tıp Bilimleri Bölümü/Biyokimya Anabilim Dalı (2015- Devam Ediyor) (Araştırma Görevlisi)

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar: Türk Biyokimya Derneği

Yayınlar:

A-) Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, SENTÜRK HAKAN, BURUKOGLU DÖNMEZ DILEK, KANBAK GÜNGÖR, USLU SEMA (2020). Curcumin and LOXblock-1 ameliorate ischemia-reperfusion induced inflammation and acute kidney injury by suppressing the semaphorin-plexin pathway. *Life Sciences*, 118016 (Yayın No: 6332819)
2. KAR FATİH, KÜSKÜ KIRAZ ZEYNEP, KOCATÜRK EVİN, USLU SEMA (2020). The Level of Serum C-Reactive Protein and Neutrophil Lymphocyte Ratio According to Thyroid Function Status. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 10(2), 142-147. (Yayın No: 6310349)
3. SEZGİN GÜLAY, KAR FATİH, USLU SEMA (2020). The effect of nutrition and exercise training on irisin and semaphorin-3E levels in obese patients. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 1-10. (Yayın No: 6310319)
4. KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, GÖNCÜ YAPINCAK, SÖGÜT İBRAHİM, SENTÜRK HAKAN, BURUKOGLU DÖNMEZ DILEK, KANBAK GÜNGÖR, AY NURAN (2020). In Vivo Assessment of the Effect of Hexagonal Boron Nitride Nanoparticles on Biochemical, Histopathological, Oxidant and Antioxidant Status. *JOURNAL OF CLUSTER SCIENCE* (Yayın No: 6236910)
5. HACIOGLU CEYHAN, KAÇAR SEDAT, KAR FATİH, SAHINTÜRK VAROL, KANBAK GÜNGÖR (2019). Concentration-Dependent Effects of Zinc Sulfate on DU-145 Human Prostate Cancer Cell Line: Oxidative, Apoptotic, Inflammatory, and Morphological Analyzes. *Biological Trace Element Research*, Doi: 10.1007/s12011-019-01879-0 (Yayın No: 5199634)
6. KAÇAR SEDAT, KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, KANBAK GÜNGÖR, SAHINTÜRK VAROL (2019). The effects of L-NAME on DU145 human prostate cancer cell line: A cytotoxicity-based study. *Human Experimental Toxicology*, 96032711988059, Doi: 10.1177/0960327119880591 (Yayın No: 5252776)
7. KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, KAÇAR SEDAT, SAHINTÜRK VAROL, KANBAK GÜNGÖR (2019). Betaine suppresses cell proliferation by increasing oxidative stress-mediated apoptosis and inflammation in DU-145 human prostate cancer cell line. *Cell Stress and Chaperones*, 24(5), 871- 881., Doi: 10.1007/s12192-019-01022-x (Yayın No: 5155442)
8. KAR FATİH, ÖZYURT DILEK, ÖZTÜRK BİRSEN (2019). The Effects Of Optimization Methods On The Determination Of Total Antioxidant Capacity In Some Plants. *FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN*, 28(9), 6589-6595. (Yayın No: 5114295)
9. KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, USLU SEMA, KANBAK GÜNGÖR (2019). Curcumin Acts as Postprotective Effects on Rat Hippocampal Synaptosomes

in a Neuronal Model of Aluminum-Induced Toxicity. *Neurochemical Research*, 44(8), 2020-2029., Doi: 10.1007/s11064-019-02839-9 (Yayın No: 5113020)

10. KAR FATİH, HACIOĞLU CEYHAN, SENTÜRK HAKAN, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, KANBAK GÜNGÖR (2019). The Role of Oxidative Stress, Renal Inflammation, and Apoptosis in Post Ischemic Reperfusion Injury of Kidney Tissue: the Protective Effect of Dose-Dependent Boric Acid Administration. *Biological Trace Element Research*, Doi: 10.1007/s12011-019-01824-1 (Yayın No: 5142902)

11. HACIOĞLU CEYHAN, KAR FATİH, KAÇAR SEDAT, SAHINTÜRK VAROL, KANBAK GÜNGÖR (2019). High Concentrations of Boric Acid Trigger Concentration-Dependent Oxidative Stress, Apoptotic Pathways and Morphological Alterations in DU-145 Human Prostate Cancer Cell Line. *Biological Trace Element Research*, Doi: 10.1007/s12011-019-01739-x (Yayın No: 5038756)

12. KAR FATİH, CİHANER ÖMER, HACIOĞLU CEYHAN, KANBAK GÜNGÖR (2019). Autism: Evaluation of psychological, biochemical and environmental factors. *Biological Diversity and Conservation*, 12(2), 206-212., Doi: 10.5505/biodicon.2019.47450 (Yayın No: 5227446)

13. SENTÜRK HAKAN, KAR FATİH, HACIOĞLU CEYHAN, KANBAK GÜNGÖR (2018). Renal Iskemi- Reperfüzyon ile İndüklenmiş Oksidatif Stres Hasarının Pankreas Üzerine Etkisi: Doza Bağımlı Borik Asidin Rolü. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(6), 944-949. Doi: DOI:10.18016/ksutarimdog.vi.430369 (Yayın No: 4364467)

14. KAR FATİH, HACIOĞLU CEYHAN, ÖZKOÇ METE, ÜSTÜNİSİK NÖVBER, BÜTÜN ARDA, USLU SEMA, KANBAK GÜNGÖR (2018). The New Perspective Neuroprotective Effect Of Boric Acid Against Ethanol- Induced Oxidative Damage On Synaptosome. *Journal of Applied Biological Sciences* (Yayın No: 4348926)

15. HACIOĞLU CEYHAN, KAR FATİH, KANBAK GÜNGÖR (2018). Protection of Cellular Integrity Against Fluoride Neurotoxicity on Rat Synaptosomes: Ex vivo Approach to Potential Neuroprotective Effects of Coenzyme Q. *Eurasian Journal of Biology and Ecology* (Yayın No: 4333491)

16. HACIOĞLU CEYHAN, KAR FATİH, SENTÜRK HAKAN, KANBAK GÜNGÖR (2018). Effects of boric acid on electrolyte balance and lipid profile against renal ischemia/reperfusion injury. *Biological Diversity and Conservation*, 11(2), 76-81. (Yayın No: 4340385)

17. HACIOĞLU CEYHAN, KAR FATİH, SENTÜRK HAKAN, KANBAK GÜNGÖR (2018). Neuroprotective Effects of Boric Acid against Fluoride Toxicity on Rat Synaptosomes. *Medical Science and Discovery* (Yayın No: 4318449)

18. AKYÜZ FAHRETTİN, KARA YAKUP, KAR FATİH, HACIOĞLU CEYHAN, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK (2018). Protective Effect of Vitamin E and N-Nitro L-Arginine Methyl Ester (L-NAME) on Cigarette Induced Kidney Damage. *Turkish Journal of Life Sciences* (Yayın No: 4313638)

19. AKYÜZ FAHRETTİN, Kara Yakup, KAR FATİH, HACIOĞLU CEYHAN, ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ (2018). Sigara Dumanına Maruz Kalan Sıçanlarda Lipit Profili ve Karaciğer Fonksiyon Testleri Üzerine L - NAME ve Vitamin E'nin Etkileri. Osmangazi Tıp Dergisi (Yayın No: 4313636)
20. KAR FATİH, HACIOĞLU CEYHAN, KÜSKÜ KIRAZ ZEYNEP, USLU SEMA, KANBAK GÜNGÖR (2018). Eskisehir'deki Psikiyatrik Hastalarda Folat ve B12 Vitamin Seviyelerinin Değerlendirilmesi. Turkish Journal of Life Sciences (Yayın No: 4313635)
21. KAR FATİH, ANDIÇ NESLIHAN, KÜSKÜ KIRAZ ZEYNEP, albayrak Oguzhan, Aydın Buket, Çapar Ekin, Keskin Aybüke, Kıvrak Elif, Özdemir T Harun, Sekertekin Ugur, Tüysüzoglu Damla, ÖNER KEVSER SETENAY, USLU SEMA (2018). Distribution of Blood Groups in Different Types of Leukemia Patients in Eskisehir, Turkey. Turkish Journal of Life Sciences (Yayın No: 4313634)
22. HACIOĞLU CEYHAN, KAR FATİH, KANBAK GÜNGÖR (2018). Rat brain synaptosomes: In vitro neuroprotective effects of betaine against fluoride toxicity. Medical Science and Discovery (Yayın No: 4313639)

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler:

1. KÜSKÜ KIRAZ ZEYNEP, KAR FATİH, KOCATÜRK EVİN, ALATAS İBRAHİM ÖZKAN (2019). THE RELATION BETWEEN SERUM ANTI-MULLERIAN HORMONE LEVELS, THYROID FUNCTIONS AND BLOOD COUNT PARAMETERS. Uluslararası Laboratuvar Tıbbı ve XIX. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:5070457)
2. KAR FATİH, KÜSKÜ KIRAZ ZEYNEP, KOCATÜRK EVİN, USLU SEMA (2019). IS THERE ANY RELATIONSHIP BETWEEN THYROID FUNCTIONTESTS AND INFLAMMATION?. Uluslararası Laboratuvar Tıbbı ve XIX. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5070471)
3. HACIOGLU CEYHAN, KAR FATİH, SAHİN İBRAHİM ETHEM, DAVRAN FATİH (2019). THE GUT BRAIN AXIS IN NEURODEVELOPMENT PROCESS. 1st International Ahi Evran Medicine and Health Science Congress (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:5070487)
4. KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, SENTÜRK HAKAN, ÖZ SEMİH (2019). RELIABLE AND SIMPLE METHOD OF INTRAVENOUS INJECTION FROM JUGULAR VEIN IN RATS. 1st International Ahi Evran Medicine and Health Science Congress (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5070659)
5. Yener Burçin Nilay, KAR FATİH, AKYÜZ FAHRETTİN (2019). THE MOST IMPORTANT BIOCHEMICAL RESEARCH OF ALL TIME AND ITS DEVELOPMENT TODAY. 1st International Ahi Evran Medicine and Health Science Congress (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5070616)
6. Yener Burçin Nilay, KAR FATİH, AKYÜZ FAHRETTİN (2019). URINARY TRACT INFECTIONS: RELATIONSHIP BETWEEN URINE AND RENAL FUNCTION TESTS DEPENDING ON AGE. 1st International Ahi Evran Medicine and Health Science Congress (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:5070563)
7. KAR FATİH, KÜSKÜ KIRAZ ZEYNEP, USLU SEMA, MUSMUL AHMET (2019). PROSTATE CANCER: A POPULATION BASED CASE CONTROL STUDY IN RELATION TO FOLATE AND B12 LEVELS. 1st International Ahi Evran Medicine and Health Science Congress (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:5070502)
8. HACIOGLU CEYHAN, KAR FATİH, KANBAK GÜNGÖR (2019). SYNAPTOSOMES: MODELING OF BRAIN FUNCTIONS FOR IN VITRO STUDIES. 1st International Ahi Evran Medicine and Health Science Congress (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5070667)
9. KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, KAÇAR SEDAT, SAHİNTÜRK VAROL, KANBAK GÜNGÖR (2018). NEW APPROACHES TO SUPPLEMENTARY NUTRIENTS: THEY GIVE RISE TO ANTI PROLIFERATIVE EFFECTS AND OXIDATIVE DAMAGE IN PROSTATE CANCER. 5th INTERNATIONAL

SYMPOSIUM ON MULTIDISCIPLINARY STUDIES (ISMS) (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4617257)

10. HACIOGLU CEYHAN, KAR FATİH, KAR EZGI, KARA YAKUP, SENTÜRK HAKAN, KANBAK GÜNGÖR (2018). NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF BORIC ACID ON BRAIN AGAINST RENAL ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY. TBS International Biochemistry Congress 2018 (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4729739)

11. Sezgin Gülay, KAR FATİH, USLU SEMA, ÖNER KEVSER SETENAY (2018). THE EFFECTS OF DIET AND EXERCISE TREATMENT IN IRISIN, ADIPONECTIN, INTERLEUKIN-6 LEVELS IN OBESES. TBS International Biochemistry Congress 2018 (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4730158)

12. KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, KAR EZGI, KARA YAKUP, SENTÜRK HAKAN, KANBAK GÜNGÖR (2018). RENAL ISCHEMIA-REPERFUSION EFFECT ON SPLEEN AS REMOTE TISSUE DAMAGE AND ROLE OF BORIC ACID. TBS International Biochemistry Congress 2018 (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4730090)

13. YÜCEL ERSİN, KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, KAR EZGI, Kara Yakup, SENTÜRK HAKAN, KANBAK GÜNGÖR (2018). Acute antidiabetic activities of aqueous extract of Cistus laurifolius via Metformin on streptozotocin-induced diabetic rats. 2nd international plant science and technology congress (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4416894)

14. HACIOGLU CEYHAN, KAR FATİH, Kanbak Güngör (2018). Neuroprotective Effects of Boric Acid Against Fluoride Toxicity on Rat Synaptosomes. 4th INTERNATIONAL CONGRESS ON APPLIED BIOLOGICAL SCIENCES (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4313598)

15. KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, Mete Özkoç, Ustunisik Növber, Bütün Arda, USLU SEMA, KANBAK GÜNGÖR (2018). The new perspective neuroprotective effect of boric acid against ethanol-induced oxidative damage on synaptosome. 4th INTERNATIONAL CONGRESS ON APPLIED BIOLOGICAL SCIENCES (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4313603)

16. SENTÜRK HAKAN, HACIOGLU CEYHAN, KAR FATİH, KANBAK GÜNGÖR (2018). Effects of Boric Acid to Renal Ischemia Reperfusion Induced Oxidative Stress Injury on Kidney Function Tests. 4th INTERNATIONAL CONGRESS ON APPLIED BIOLOGICAL SCIENCES (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4313606)

17. KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, KÜSKÜ KIRAZ ZEYNEP, ANDIÇ NESLİHAN, Albayrak Oguzhan, aydın Buket, Çapar Ekin, Keskin Aybüke, Kıvrak Elif, Özdemir T Harun, Sekertekin Ugur, Tüysüzoglu Damla, ÖNER KEVSER SETENAY, USLU SEMA (2018). Distribution of AB0 Blood Groups in Acute Lymphocytic Leukemia and Acute Myeloid Leukemia Patients. 4th INTERNATIONAL CONGRESS ON APPLIED BIOLOGICAL SCIENCES (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4313611)

18. SENTÜRK HAKAN, KAR FATİH, HACIOĞLU CEYHAN, KANBAK GÜNGÖR (2018). Protective Effect of Dose-Dependent Boric Acid on Liver Function as Distant Tissue in Renal Ischemia / Reperfusion Injury. 4th INTERNATIONAL CONGRESS ONAPPLIED BIOLOGICAL SCIENCES (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4313612)
19. KAR FATİH, ANDIÇ NESLIHAN, KÜSKÜ KIRAZ ZEYNEP, albayrak Oguzhan, Aydın Buket, Çapar Ekin, Keskin Aybüke, Kıvrak Elif, Özdemir T Harun, Sekertekin Ugur, Tüysüzoglu Damla, ÖNER KEVSER SETENAY, USLU SEMA (2018). Distribution of Blood Groups in Different Types of Leukemia Patients in Eskisehir, Turkey. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4313629)
- 20.HACIOĞLU CEYHAN, KAR FATİH, KANBAK GÜNGÖR (2018). Protection of Cellular Integrity Against Fluoride Neurotoxicity on Rat Synaptosomes: Ex vivo Approach to Potential Neuroprotective Effects of Coenzyme Q. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4313625)
21. AKYÜZ FAHRETTİN, Kara Yakup, KAR FATİH, HACIOĞLU CEYHAN, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK (2018). Protective Effect of Vitamin E and N-Nitro L-Arginine Methyl Ester (L-NAME) on Cigarette Induced Kidney Damage. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4313617)
22. KAR FATİH, HACIOĞLU CEYHAN, KÜSKÜ KIRAZ ZEYNEP, USLU SEMA, KANBAK GÜNGÖR (2018). Psikiyatrik Hastalarda Folat ve B12 Vitamin Seviyelerinin Değerlendirilmesi. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4313621)
23. HACIOĞLU CEYHAN, ERKMEN TUGBA, KARA YAKUP, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, ÖZ SEMİH, YAVER EZGİ, KAR FATİH, AKYÜZ FAHRETTİN (2017). Examination of the protective effect of L-NAME(NNitro L-Arginine Methyl Ester) and vitamin E (?-tocopherol) against oxidative stress caused by exposure of cigarette smoke to lungs in male rats. International Biochemistry Congress - 28th National Biochemistry Congress (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3757343)
24. KAR FATİH, KARA YAKUP, ÖZ SEMİH, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, ERKMEN TUGBA, HACIOĞLU CEYHAN, YAVER EZGİ, AKYÜZ FAHRETTİN (2017). Examination of the effects of L-NAME (N-Nitro LArginine Methyl Ester) and Vitamin E (?-tocopherol) on some blood parameters changing after cigarette smoke exposure in male rats. International Biochemistry Congress - 28th National Biochemistry Congress (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3757212)
25. KARA YAKUP, ERKMEN TUGBA, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, ÖZ SEMİH, HACIOĞLU CEYHAN, YAVER EZGİ, KAR FATİH, Erdas Meltem, AKYÜZ FAHRETTİN (2017). Investigation of the effect of L-NAME (N-Nitro L-Arginine Methyl Ester) and Vitamin E (?-tocopherol) on oxidative damage of liver tissue resulting from cigarette smoke exposure in male rats. International Biochemistry

Congress - 28th National Biochemistry Congress (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3757291)

26. KAR FATİH, ÖZYURT DİLEK, ÖZTÜRK BİRSEN, Demir Ezgi (2013). Total Antioxidant Capacities of Methanol and Water Extract of the horse tail (Equisetum Arvense) Species Wildly Growing in Kutahya and Trakya. Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:464673)

27.KAR FATİH, ÖZYURT DİLEK, ÖZTÜRK BİRSEN (2012). Total Antioxidant Capacities of Methanol and Water Extract of the horse tail (Equisetum Arvense) Species Wildly Growing in Kutahya and Trakya. 8th Aegean Analytical Chemistry Days (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:464144)

C. Yazılan ulusal/uluslararası kitaplar veya kitaplardaki bölümler:

1. CURRENT ACADEMIC STUDIES IN HEALTH SCIENCES, Bölüm adı: DEPRESYONDA YENİ YAKLASIMLAR: BIYOBELİRTEÇLERVE HAYVAN MODELLEMELERİ (2018)., KAR FATİH, HACIOGLU CEYHAN, IVPE, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 433, ISBN:978-9940-540-53-1, İngilizce(Bilimsel Kitap), (Yayın No: 4617169)

2. CURRENT ACADEMIC STUDIES IN HEALTH SCIENCES, Bölüm adı: ALZHEIMER HASTALIGINDA POTANSİYEL TEDAVISTRATEJİLERİ VE TERAPÖTİK AJANLAR) (2018)., HACIOGLU CEYHAN,KAR FATİH, IVPE, Basım sayısı:1, ISBN:978-9940-540-53-1, İngilizce(Bilimsel Kitap), (Yayın No: 4617194)

D. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. Yener Burçin Nilay, KAR FATİH, Gül Aleyna, Ogras Anıl, Fidan Kezban, Gümüş Nilgün, ATABEYEV A Ogulbaht, AKYÜZ FAHRETTİN (2020). Kafein Bir Antioksidan Madde midir? : Oksidatif Stres ve Kafein. Türk Tıp Öğrencileri Araştırma Dergisi (Kontrol No: 6380257)

2. KAR FATİH, Ertas Muhammed, Tuna Hüseyin, Simsek Kubilay, Gülümsek Nihat Eray, USLU SEMA (2020). Obez Bireylerde İnsülin Direncine Bağlı D Vitamini Düzeyleri. Türk Tıp Öğrencileri Araştırma Dergisi, 2(1) (Kontrol No: 6233235)

E. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

1. USLU SEMA, KAR FATİH (2018). Semaforinler. 3rd ULUSAL UYGULAMALI BİYOLOJİK BİLİMLER KONGRESİ (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4313614)

2. Demir Ezgi, Kılıç Melih, YENİLMEZ ENGIN, SERDAR GÖNÜL, Bayrak Serhat, KAR FATİH, SÖKMEN MÜNEVVER (2014). Sıçanlarda Methotrexate Kaynaklı Testis Hasarına Karşı Camellia Simensis (Yesil Çay) Katesinlerinin Antioksidan ve Antiapoptotik Etkileri. 21. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:1056882)

3. Demir Ezgi, Bayrak Serhat, SERDAR GÖNÜL, KAR FATİH, SÖKMEN MÜNEVVER (2014). Türkiye den ihraç edilen Colchicum Tohumlarının İçerisindeki Kolsisin Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması. 21. Bitkisel ilaç Hammaddeleri Toplantısı (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:1056885)

4. KAR FATİH, RENDA GÜLİN, Yaylı Korkmaz Büsra, Demir Ezgi, SÖKMEN MÜNEVVER (2014). Acantholimon caryophyllaceum Boiss Bitkisinin Kök çiçek ve Toprak üstü kısımlarının Fenolik Bileşen Analizi ve Antioksidan Aktivite Tayini. 21. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:1056890)

5. RENDA GÜLİN, Tosun Gonca, Yaylı Büsra, KAR FATİH, YAYLI NURETTİN (2014). Ajuga chamaepitys subsp chia var chia nın Toprak Üstü kısımlarından SPME ve hidrodistilasyonla Elde Edilen Uçucu Yağların Karşılaştırılması. 21. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:1056888)

6. Demir Ezgi, KAR FATİH, SERDAR GÖNÜL, SÖKMEN MÜNEVVER, SALTAN FATMA ZERRİN, SAHİN HÜSEYİN, DİLBER GÜLSEV (2011). Bazı Verbascum Türlerinden Biyoaktif Bileşiklerin İzolasyonu ve Fenolik Bileşen İçerikleri. KROMATOĞRAFI 2011 DICLE ÜNİVERSİTESİ (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:1064034)

Bilimsel Etkinlikler

Ödüller: Yayın Teşvik Ödülü 2019

Projeler:

1. Obez bireylerde diyet ve egzersiz tedavisinin irisin ve semaphorin-3E düzeylerine etkisi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 25/12/2017 - 25/12/2018
2. Ratlarda Renal Iskemi Reperfüzyon ile Oluşturulan Böbrek Hasarına Karşı Curcumin ve LOXblock-1'in potansiyel etkilerinin Semaforin 3A ve Pleksin A1 Üzerinden Araştırılması. Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 31/07/2019 - 15/06/2020
3. AB (1-42) ile Muamele Edilmiş Sıçan Sinaptozomları Üzerinde Koruyucu Ajan Olarak Bexaroteneve Nikotinamid (NA) Fonksiyonunun Ex Vivo Olarak Araştırılması. Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 05/06/2018 - 05/06/2019
4. 65 Yas ve Üstü Bireylerde Egzersizin Malnütrisyon Riski, Irisin, D Vitamini, Lipit Profilleri ve Glisemi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi: Tek Merkezli Çalışma Raporu, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 04/05/2019 (Devam Ediyor)
5. Prenatal Dönemde Bağırsak Mikrobiyotasının Korunmasının Nörodejeneratif ve Alzheimer Yatkınlığı Üzerine Etkileri. Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı 18/03/2019 (Devam Ediyor)
6. Oral Glikoz Tolerans Testi Sonrasında Meydana Gelen Değişikliklerin Oksidatif Stres ve Biyokimyasal Parametreler Üzerinden İncelenmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı 23/09/2019 (Devam Ediyor)
7. Sıçanlarda intravenöz hBN uygulanması ile meydana gelen biyokimyasal ve histopatolojik etkilerin araştırılması, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 14/05/2019 (Devam Ediyor)
8. Renal Iskemi Reperfüzyon ile İndüklenmiş Oksidatif Stres Hasarına Karşı Borik Asidin Potansiyel Koruyucu Etkilerinin Araştırılması, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 04/06/2018 - 04/06/2019

Kurslar ve Eğitim Programları:

1. ISO 14001:2004 Çevre Yönetim Sistemi, ISO 14001:2004 Çevre Yönetim Sistemi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sertifika, 16.05.2010 -16.05.2010 (Ulusal)
2. ISO 9001: 2008 Kalite Yönetim Sistemi, ISO 9001: 2008 Kalite Yönetim Sistemi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sertifika, 15.05.2010 -15.05.2010 (Ulusal)
3. Ultra Fast Likit Kromatografi-Kolonlar ve İleri uygulama Teknikleri Semineri, Ultra Fast Likit Kromatografi-Kolonlar ve İleri uygulama Teknikleri Semineri, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Kurs, 09.04.2010 -09.04.2010 (Ulusal)
4. Karadeniz Teknik Üniversitesi Deney Hayvanları Kullanımı Sertifika Kursu 2013

