



**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL RENAL
İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNE
COSTUNOLİDE'İN ETKİLERİ**

Mustafa Can GÜLER
Farmakoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Erol AKPINAR

Doktora Tezi – 2022

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL RENAL
İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNE COSTUNOLİDE'İN
ETKİLERİ**

Mustafa Can GÜLER

**Tıp Farmakoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Erol AKPINAR**

**ERZURUM
2022**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Böbreğin Fonksiyonel Anatomisi ve Fizyolojisi	4
2.1.1. Böbreklerde İdrar Oluşumu	5
2.1.2. Böbreklerin Kanlanması	6
2.1.3. Böbreklerden Renin Salgılanması	8
2.1.4. Böbreklerden Eritropoietin Hormonu Üretimi	8
2.1.5. Böbreklerde Vitamin D Aktivasyonu	8
2.1.6. Böbreklerde Glukoneogenez ile Glukoz Üretimi	9
2.2. Akut Böbrek Hasarı	9
2.2.1. Tanım ve Etiyoloji	9
2.2.2. İnsidans	11
2.2.3. Risk Faktörleri	11
2.2.4. Patofizyoloji.....	13
2.3. Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı.....	14
2.3.1. İskemi.....	14
2.3.2. Reperfüzyon.....	16

2.3.3. İskemi Reperfüzyon Hasarı	17
2.3.4. İskemi Reperfüzyon Hasarında Reaktif Oksijen Türleri	18
2.3.4.1. Malondialdehit	21
2.3.4.2. Myeloperoksidaz.....	22
2.3.4.4. Süperoksit Dismutaz	23
2.3.4.5. Glutasyon	25
2.3.4.6. 8-Hidroksideoksiguanozin	26
2.3.4.7. Böbrek Hasarı Molekül-1	27
2.3.5. İnflamatuvar Süreç ve İmmün Yanıt	28
2.3.5.1. Tümör Nekrozis Faktör-Alfa	29
2.3.5.2. İnterlökin 1-Beta	31
2.3.5.3. İnterlökin 6.....	32
2.3.5.4. İnterlökin 10.....	33
2.3.6. İskemi Reperfüzyon Hasarında Hücre Ölüm Yolakları.....	34
2.3.6.1. Kaspaz-3	34
2.3.6.2. Hafif zincir 3B	35
2.4. Costunolide	36
3. MATERYAL VE METOT.....	38
3.1. Deney Hayvanları	38
3.1.1. Cerrahi Prosedür	38
3.1.2. Deney Grupları	39
3.2. Costunolide'in Hazırlanması ve Uygulanışı	39
3.3. Deneyin Bitirilmesi ve Örneklerin Alınması	40
3.4. Hormon Analizi	40
3.5. Histopatolojik İşlemler	40

3.5.1. Işık Mikroskopik İşlemleri.....	40
3.5.2. Hematoksilen ve Eozin Boyama Protokolü	41
3.5.3. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü.....	42
3.6. İstatistiksel Analiz.....	43
4. BULGULAR.....	44
5. TARTIŞMA.....	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	71
KAYNAKLAR	73
EKLER	101
EK-1 ÖZGEÇMİŞ	101
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	102
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	103

TEŞEKKÜR

Tez olarak sunduğum bu çalışma için, değerli destekleri ve katkıları ile tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Erol AKPINAR'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez kapsamında çalışmamın gerçekleştirilmesinde katkıları olan Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Ayhan TANYELİ'ye, biyokimyasal analizlerin yapılmasına katkısı olan Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Yasin BAYIR'a, histopatolojik çalışmalardaki katkılarından dolayı Atatürk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Selim ÇOMAKLI'ya müteşekkirim. Bu çalışmayı 2021/8793 numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen annem, babam ve kardeşime, her zaman bana sevgi kaynağı olan çocuklarım Cansu ve Yiğit'e ve hiçbir vakit beni yalnız bırakmayıp bana inanan sevgili eşim Tuğba GÜLER'e teşekkür ederim.

Mustafa Can GÜLER

ÖZET

Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Renal İskemi Reperfüzyon Modeline

Costunolide'in Etkileri

Amaç: Başta akut böbrek hastalığı (ABH) olmak üzere renal iskemi reperfüzyon (I/R) hasarına bağlı oluşan böbrek patolojileri dünya genelinde önemli bir sağlık sorunudur. Costunolide (COST) anti-inflamatuvar ve antioksidan etkiler başta olmak üzere birçok özellik gösteren bir seskiterpen lakton (STL) kompleksidir. Bu çalışmada COST'in renal I/R hasarına karşı etkileri araştırılmıştır.

Materyal Metot: Çalışmada 40 adet Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Sham, I/R, I/R+COST 5mg ve I/R+COST 10 mg olmak üzere hayvanlar randomize ve eşit 4 gruba ayrıldı (n=8). Böbrek ve akciğer dokularında süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), myeloperoksidaz (MPO) ve malendiandehit (MDA) ölçüldü. Serum interlökin 1-beta (IL 1- β), IL-6, IL-10 ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) düzeyleri tespit edildi. Ayrıca histopatolojik ve immünohistokimyasal boyama yöntemleri ile böbrek ve akciğer dokuları incelendi.

Bulgular: I/R hasarına bağlı olarak MPO ve MDA düzeyleri artarken SOD ve GSH azaldı. Düşük ve yüksek doz COST uygulamasına bağlı olarak tüm bu değerlerde iyileşme kaydedildi. Yine I/R hasarına bağlı olarak artış gözlenen IL 1- β , IL-6, IL-10 ve TNF- α düzeylerinde düşük ve yüksek doz COST kullanımına bağlı azalma meydana geldi. Histopatolojik incelemelerde COST kullanımına bağlı her iki doku örneğinde de I/R hasarında azalma gözlemlendi. İmmünohistokimyasal boyamada COST uygulanması sonucu böbrek ve akciğer doku örneklerinde apoptozis, otofaji ve DNA hasarı göstergesi olan parametrelerde iyileşme gözlemlendi.

Sonuç: Renal I/R hasarı oluşturulan ratlarda uygulanan COST oksidan/antioksidan sistem, anti-inflamatuvar süreç, apoptozis, DNA hasarı ve otofaji üzerinden olumlu sonuçlar oluşturarak protektif etki göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Costunolide, İnflamasyon, Oksidatif stres, Renal iskemi reperfüzyon

ABSTRACT

The Effects of Costunolide on the Experimental Renal Ischemia Reperfusion

Model Established in Rats

Aim: Renal ischemia-reperfusion (I/R) injury-related renal pathologies, especially acute kidney disease (AKI), are worldwide severe health problems. Costunolide (COST) is a sesquiterpene lactone complex with various properties, including anti-inflammatory and antioxidant effects. In this study, the effects of COST on renal I/R injury were investigated.

Material and Method: Forty Wistar albino male rats were used in the study. Animals were randomly divided into 4 equal groups (n=8): Sham group, I/R group, I/R+COST 5 mg group, and I/R+COST 10 mg group. Superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH), myeloperoxidase (MPO), and malondialdehyde (MDA) were measured in kidney and lung tissues. Serum interleukin 1-beta (IL 1- β), IL-6, IL-10, and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) levels were determined. In addition, kidney and lung tissues were examined by histopathological and immunohistochemical staining methods. In histopathological examination, a decrease in I/R damage was observed in both tissue samples due to the use of COST. In the immunohistochemical staining, COST administration improved the parameters indicating apoptosis, autophagy, and DNA damage in both kidney and lung tissue samples.

Results: While MPO and MDA levels elevated due to I/R injury, SOD and GSH values declined. All these values improved due to low and high-dose COST administration. There was a decrease in IL 1- β , IL-6, IL-10, and TNF- α levels, which were also increased due to the use of low and high-dose COST.

Conclusion: COST showed a protective effect by producing favorable results on oxidant/antioxidant system, anti-inflammatory process, apoptosis, DNA injury, and autophagy in rats with renal I/R damage.

Keywords: Costunolide, Inflammation, Oxidative stress, Renal ischemia reperfusion

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

1,25-(OH)₂	:	1,25-dihidroksi
25-OH	:	25-hidroksi
8-OHdG	:	8-hidroksideoksiguanozin
ABH	:	Akut böbrek hasarı
ABHB	:	Akut böbrek hastalıkları ve bozuklukları
AML	:	Akut myeloid lösemi
AMP	:	Adenozin monofosfat
ATADEM	:	Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi
ATP	:	Adenozin trifosfat
CMV	:	Sitomegalovirüs
COVID-19	:	Koronavirüs hastalığı 2019
CuZnSOD	:	Bakır ve çinko içeren süperoksit dismutaz
DAMP	:	Hasarla ilişkili moleküler model
DMSO	:	Dimetil sülfoksit
DRP1	:	Dinamin benzeri protein 1
EBV	:	Epstein-Barr virüsü
ECSOD	:	Hücre dışı süperoksit dismutaz
eNOS	:	Endotelyal nitrik oksit sentaz
GFR	:	Glomerüler filtrasyon hızı
GM-CSF	:	Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör
GSH	:	Glutatyon
H&E	:	Hematoksilen eozin
I/R	:	İskemi reperfüzyon

İNOS	:	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
KIM-1	:	Böbrek hasar molekülü
LC3B	:	Hafif zincir 3B
MAPLC3	:	Mikrotübül ile ilişkili protein hafif zincir 3
MDA	:	Malondialdehit
MnSOD	:	Manganez içeren süperoksit dismutaz
MPO	:	Myeloperoksidaz
Na/H	:	Sodyum hidrojen
Na/K	:	Sodyum potasyum
NaCl	:	Sodyum klorür
NAD	:	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NK	:	Doğal öldürücü
NO	:	Nitrik oksit
PTH	:	Paratiroid hormon
RNS	:	Reaktif nitrojen türleri
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
RRT	:	Renal replasman tedavisi
SOD	:	Süperoksit dismutaz
STL	:	Seskiterpen lakton
TGF-β	:	Transforme edici büyüme faktörü beta
UVB	:	Ultraviyole B

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Malondialdehitin kimyasal yapısı.	22
Şekil 2.2. Glutatyonun kimyasal yapısı	25
Şekil 2.3. 8-Hidroksideoksiguanozinin kimyasal yapısı	27
Şekil 2.4. Costunolide'in kimyasal yapısı	37
Şekil 4.1. Renal I/R modelindeki serum IL-1 β seviyeleri.....	44
Şekil 4.2. Renal I/R modelindeki serum IL-6 seviyeleri..	45
Şekil 4.3. Renal I/R modelindeki serum IL-10 seviyeleri.	45
Şekil 4.4. Renal I/R modelindeki serum TNF- α seviyeleri.....	46
Şekil 4.5. Renal I/R modelindeki böbrek MDA seviyeleri.....	47
Şekil 4.6. Renal I/R modelindeki akciğer MDA seviyeleri.	47
Şekil 4.7. Renal I/R modelindeki böbrek MPO seviyeleri.	48
Şekil 4.8. Renal I/R modelindeki akciğer MPO seviyeleri.....	49
Şekil 4.9. Renal I/R modelindeki böbrek SOD seviyeleri.....	49
Şekil 4.10. Renal I/R modelindeki akciğer SOD seviyeleri.	50
Şekil 4.11. Renal I/R modelindeki böbrek GSH seviyeleri.	51
Şekil 4.12. Renal I/R modelindeki akciğer GSH seviyeleri.	51
Şekil 4.13. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait histopatolojik değişiklikler..	53
Şekil 4.14. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait histopatoloji skoru.	53
Şekil 4.15. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait histopatolojik değişiklikler..	54
Şekil 4.16. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait histopatoloji skoru.	55
Şekil 4.17. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait KIM-1 ekspresyonu	56
Şekil 4.18. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait KIM-1 ekspresyonu skoru..	56
Şekil 4.19. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait 8-OHdG ekspresyonu..	57

Şekil 4.20. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait 8-OHdG ekspresyonu skoru. 5.	58
Şekil 4.21. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait kaspaz-3 ekspresyonu.	59
Şekil 4.22. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait kaspaz-3 ekspresyonu skoru..	59
Şekil 4.23. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait LC3B ekspresyonu.....	60
Şekil 4.24. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait LC3B ekspresyonu skoru.....	61
Şekil 4.25. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait 8-OHdG ekspresyonu.....	62
Şekil 4.26. Renal I/R modelindeki akciğer dokuları ait 8-OHdG ekspresyonu skoru....	62
Şekil 4.27. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait kaspaz-3 ekspresyonu.	63
Şekil 4.28. Renal I/R modelindeki akciğer dokuların ait kaspaz-3 ekspresyonu skoru. 64	64
Şekil 4.29. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait LC3B ekspresyonu.	65
Şekil 4.30. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait LC3B ekspresyonu skoru. ...	65

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Akut böbrek hasarı etiyolojisi.....	10
Tablo 3.1. Hormon analizleri esnasındaki ELISA kitleri.....	40
Tablo 3.2. Doku takip cihazı protokolü	41
Tablo 3.3. İmmünohistokimyasal değerlendirilmede kullanılan antibody kitler	43



1. GİRİŞ

Doku ya da organlardaki kan akımının azalması ya da tamamen durmasına bağlı olarak iskemi meydana gelir.¹ İskemik hasar, enerji substratlarının tükenmesi ve hipoksik koşullar tarafından tetiklenen karmaşık bir dizi olayı içerir. Oksidatif metabolizmanın inhibisyonu nedeniyle ATP'nin tükenmesi, baskın nükleotid olarak adenosin monofosfata (AMP) doğru bir kaymaya neden olur. Bu da AMP yıkım ürünleri olan adenosin, inozin ve son olarak hipoksantin birikimine yol açar. Aynı zamanda hipoksik stres, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) indirgeyicisi olan ksantin dehidrojenazın serbest radikal üreten ksantin oksidaza dönüşmesine yol açar.²

İskemi sırasında glikoliz devam eder, ancak anaerobik koşullar altında glikolitik son ürün laktik asittir. Bu, hücre içi pH'ı düşürür ve litik enzimlerin aktivasyonu ile lizozomal kararsızlığa neden olur. ATP'nin tükenmesi ayrıca çok sayıda hücresel işlemi azaltır. Sodyum potasyum (Na/K) ATPaz pompalarının inaktivasyonu, hücre içinde kalsiyum, sodyum ve su birikmesine neden olarak hücresel şişmeye neden olur.² Reperfüzyon ise oksidatif stres ve inflamasyonu artırarak bu hasarı daha da fazlaştırır.³ İskemi reperfüzyon (I/R) hasarı yüksek mortalite ve morbidite oranları ile seyreden ve akut organ disfonksiyonuna neden olabilen multifaktöriyel inflamatuvar bir süreçtir.⁴ Şok, düşük kardiyak output ve organ transplantasyonu gibi nedenlerden meydana gelebilir.⁵

Renal I/R, renal transplantasyon esnasında sık karşılaşılan akut bir hasarlanmadır.⁶ Transplante böbreğin disfonksiyon ya da reddi, iskemik periyoda bağlı hasara maruziyet süresi ile ilişkilidir⁷. Böbreklerin iskemiye çok hassas olmasının yanında, renal I/R hasarı son birkaç dekattır artarak devam etmektedir.⁸ Renal I/R oluşumundaki spesifik moleküler mekanizma net olmamasına rağmen oksidatif stres renal I/R hasarı oluşumunda önemli rol oynar. Reaktif oksijen türleri (ROS), böbrek hasarı gelişimindeki

önemli faktörlerdendir ve protein, enzim, lipid gibi birçok madde üzerinde zararlı etkileri vardır.⁹

Renal I/R, akut böbrek hasarının (ABH) en yaygın nedenlerinden biridir.¹⁰ ABH serum kreatininde ani artış ya da idrar çıkışında azalma ile karakterizedir.¹¹ Böbrek fonksiyonlarında azalmaya ve kronik böbrek hastalığına neden olabilir.¹² ABH, hastanede yatış süresinde uzama, son dönem böbrek hastalığı gibi morbidite değerlerinde artışla ve hatta ölümle sonuçlanan global bir sağlık problemidir. Hastanede yatan hastalarda ABH insidansı yaklaşık %12 iken yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda bu insidans %50'lere kadar çıkmaktadır ve hastane mortalite oranları, ABH'nin şiddeti ile orantılıdır.^{5, 13} ABH için diyaliz dışında hastalarda hasarlanmayı sınırlayan ya da iyileşme ve hayatta kalmayı sağlayan tatmin edici bir yöntem ya da tedavi yoktur.¹⁴

Renal I/R, akut akciğer hasarı ile ilişkili I/R olarak dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir.¹⁵ İskemik ABH genellikle proinflatuvar sitokinlerin regülasyonu ve pulmoner mikrovasküler bariyerin bozulması gibi immün yanıtları aktive ederek akciğer inflamasyonu, kaspaz aktivasyonu ve programlanmış hücre ölümü ile sonuçlanır.¹⁶ Günümüzde artan sayıda kanıtlar, renal I/R hasarını takiben pulmoner hücresel apoptozisin akut akciğer hasarında anahtar bir rol oynayabileceğini göstermektedir.¹⁷

Costunolide (COST) birçok bitki familyasında yaygın olarak bulunan doğal bir seskiterpen lakton (STL) kompleksidir. COST içeren birçok bitki geleneksel kuzey Asya farmakolojisinde inflamatuvar hastalıklar ve enfeksiyon hastalıklarında kullanılmaktadır. Bu bağlamda, COST'in anti-inflatuvar ve immünomodülatör aktivitelerini araştıran çalışmalar yapılmıştır.^{18, 19}

COST'in böbrek I/R hasarı üzerine etkisi ile ilişkili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Mevcut çalışmamızda sıçanlarda oluşturulan renal I/R

modelindeki böbrek hasarına karşı COST'in etkilerini değerlendirmek amacı ile bir kısım oksidan-antioksidan değerler, inflamatuvar ve apoptotik süreçler ile ilişki moleküler ve histopatolojik parametrelerin araştırılmasını amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbreğin Fonksiyonel Anatomisi ve Fizyolojisi

Böbrekler, karın arka duvarında yüksek, vertebral kolonun her iki yanında, 12. torasik ve üst üç lomber vertebranın gövdeleri ile aynı seviyede yer alan retroperitoneal organlardır.²⁰ İki böbrek birlikte yaklaşık 300 g veya vücut kütlelerinin yaklaşık %0.4'ü ağırlığındadır.²¹ Sağ böbrek, muhtemelen üstteki karaciğerin büyük kısmı nedeniyle sol böbreğe göre biraz daha düşük bir seviyede bulunur. Her yetişkin böbreği yaklaşık 12 cm uzunluğunda, 6 cm genişliğindedir. Sol böbrek genellikle sağ böbrekten biraz daha uzun ve biraz daha az geniştir. Her böbrek, uzun eksenini inferolateral olarak yönlendirilecek şekilde eğik olarak uzanır. Bu eğiklik nedeniyle böbreğin üst kutbu alt kutba göre orta hatta 2 cm daha yakındır. Her böbreğin, lateral ve medial sınırlarla birbirinden ayrılan ön ve arka yüzeyleri vardır.²⁰

Medial kenar, uzunluğunun yarısında belirgin bir girintiye sahiptir. Girinti içinde renal hilus adı verilen dikey bir yarık vardır. Hilus, renal sinüs adı verilen nispeten büyük bir boşluğa açılır. Hilus böbrek damarlarını ve böbrek pelvisini iletir. Renal kapsül renal korteksle yakından ilişkilidir ve renal sinüsü hizalamak için renal hilusun kenarlarından içeri doğru devam eder. Sağlıklı bir böbrekte kapsül, renal korteksten kolayca ayrılabilir. Böbrek kapsülünün dışında böbreği tamamen saran ve hatta böbrek sinüsüne uzanan bir yağ tabakası vardır. Bu yağ tabakasına perinefrik yağ denir. Renal fasya bu yağ tabakasını çevreler.²⁰

Renal korteks renal kapsülün altında yer alır. Kırmızımsı-kahverengi ve granüler bir görünüme sahiptir. Renal korteks, birbirine girift ve Bowman kapsülü adı verilen, ince bir epitel kapsülü ile çevrili olan küçük kılcak yumak şeklinde birçok glomerül içerir. Medulla böbreğin iç bölümünü oluşturur. Dış ve iç kısımdan meydana gelir. Dış kısım, korteksten medullaya uzanan birçok tübül nedeniyle çizgili bir görünüme sahiptir. Bu

tübüller böbreklerin fonksiyonel birimleri olan nefronların bir parçasıdır ve böbrek piramitleri adı verilen yapılarda toplanır. Her böbrek tipik olarak bu böbrek piramitlerinden 8-10 tanesine sahiptir. Tübüller, giderek daha büyük tübüllere, toplayıcı kanallara birleşir. İdrar son aşamada minör kalikslere ulaşır. İki veya daha fazla minör kaliks birleşerek majör kaliksi oluşturur. İdrar sonunda idrar kesesine akan üreterlerde toplanır.²¹

Böbreklerin spesifik komponentleri nefronlar, toplayıcı tübüller ve mikrovasküleritedir.²² Nefronlar böbreklerin fonksiyonel birimleridir. Her böbrek yaklaşık 1 milyon nefron içerir. Nefronlar, böbrek kapsülüne paralel veya dik olarak konumlanmış parçalara sahip uzun tüplerdir. İki temel nefron türü vardır: kortikal nefronlar ve jukstamedüller nefronlar. Kortikal nefronlar, korteksin dış kısımlarına daha yakın bir yerde bulunan bir glomerulusa sahiptir ve Henle kulpları kısadır. Jukstamedüller nefronların korteks ve medulla birleşimine yakın bir glomerulusu vardır ve bunların Henle kulpları medullanın derinliklerine nüfuz eder. İnsanlarda, nefronların yaklaşık %85'i kortikal nefronlar iken yaklaşık %15'i jukstamedüller nefronlardır.²¹

Nefron sayısı doğum öncesi gelişim sırasında zaten belirlenmiştir. Doğumdan sonra yeni nefron geliştirilemez ve kaybedilen nefron yerine konamaz. Her bir nefron, sonunda bir toplayıcı kanalına akan komplike ve bükülmüş bir tübüle bağlı bir renal korpüskül oluşur.²³ Nefronun tübüler kısmı, Henle kulpu ile birbirine bağlanan bir proksimal tübül ve distal tübülden meydana gelir.²⁴ Birkaç nefron birleştiğinde renal kortekste bir toplayıcı kanalı oluşur. Bir nefron ve bir kortikal toplayıcı kanalı arasına bir bağlantı tübülü yerleştirilmiştir.²³

2.1.1. Böbreklerde İdrar Oluşumu

Glomerulus, birbirine çok yakın olan Bowman kapsülü ile birlikte bir ultrafiltrat plazma oluşturan bir grup anastomoz kılcacal damarıdır. Ultrafiltrasyon, idrar oluşumunun

ilk adımıdır. Bu ultrafiltrat nefron tüpünden akar ve ilk önce su, tuz, amino asitler, glikoz ve bikarbonat dahil olmak üzere filtrelenen maddelerin çoğunun ultrafiltrattan geri emildiği proksimal tübülden geçer. Başlangıç idrarına bazı maddelerin salgılanması da burada gerçekleşir. Sıvı daha sonra Henle kulpuna girer. Henle kulpu, böbrek kapsülünün yüzeyine dik olarak yönlendirilmiş bir nefron tübül halkası olarak düşünülebilir: korteksten medullaya iner, bir firkete dönüşü yapar ve tekrar kortekse geri döner. Bu düzenleme, kortekste 300 mOsM'den iç medüller interstisyumda 1200 mOsM'ye kadar uzanan bir ozmotik gradyan oluşturur. Bu ozmotik gradyan, böbreğin idrarı konsantre etmesi için gereklidir. Henle kulpunun çıkan kalın kolu distal tübüle doğru devam eder. Burada su veya tuzun ek olarak yeniden emilmesi meydana gelir ve distal tübül, toplayıcı kanalına bağlanır. İdrarın nihai konsantrasyonu veya seyreltilmesi, toplayıcı kanallarda meydana gelir.²¹

2.1.2. Böbreklerin Kanlanması

Böbreklere kan temini, doğrudan abdominal aortadan çıkan renal arter tarafından sağlanır ve buradaki kan inferior vena kavaya akan renal ven tarafından boşaltılır. Bu büyük damarlar, kalp debisinin yaklaşık %20'sini veya dakikada yaklaşık 1 litresini böbreklere iletir. Tek bir renal arter hiluma girer ve daha sonra interlobar arterleri oluşturmak üzere dallanır. Korteks ve medullanın birleştiği yerde, interlobar arterler bükülür. Buna bağlı olarak, kan damarlarının bu bölümüne arkuat arter denir. Birçok küçük radyal arter, arkuat arterden dik açılarda ayrılarak kanı kortekse doğru taşır. Bu radyal arterler, glomerüllere kan sağlayan afferent arteriyoller adı verilen kısa yan dallara ayrılır. Afferent arteriyoller, glomerulusa kan sağlar ve hidrostatik basıncını düzenler. Radyal venler, kılcal damarları korteksten boşaltan yüzeysel korteksteeki stellat (“yıldız şekilli”) sinüslerden kaynaklanır. Bunlar kortekse nüfuz eder ve böbrek piramitleri

üzerinde kavis yapan arkuat venlere katılır. Arkuat venler, interlobar venleri oluşturmak üzere birleşir ve bunlar da tek renal veni oluşturur.²¹

Glomerulustan ayrıldıktan sonra kan, efferent arteriyole girer. Bu nedenle, glomerulusun kılcal ağı, bir arteriyol ile bir venül arasında değil, iki arteriyol arasında yer alması bakımından oldukça sıra dışıdır ve yüksek basınçlı bir kapiller yataktır. Efferent arteriyol, glomerulus tarafından filtrelenen plazma fraksiyonunu düzenlemeye yardımcı olur. Efferent arteriyollerdeki kanın kaderi, glomerulusun konumuna bağlıdır. Kortikal nefronlar için, efferent arteriyoller peritübüler kapillerler adı verilen anastomoz yapan bir kapiller ağına ayrılır. Bunlar, taşıma süreçlerine enerji vermek için nefronlardaki hücrelere oksijen sağlar. Sekresyon için materyaller ve ultrafiltrattan yeniden emilen materyalleri çıkarmak için bir kanal oluştururlar. Bu kılcal damarlar nihayetinde, interlobar venlere, arkuat venlere ve son olarak tek böbrek damarına akan radyal venlere drene olan sinüslere drene olur. Efferent arteriyoller, jukstamedüller nefronlarda o dokuya kan sağlamak için renal papillaya inen vaza rektaya dal verir. İnlen vaza rekta ve çıkan aza rekta bir kulp oluşturur. Vaza rekta renal medulla içinde bir kapiller ağ oluşturur. Burada kurulan ozmotik gradyanı bozmadan medüller interstisyum ile madde alışverişi yapan bir karşı akım değiştirici görevi görür.²¹

Böbrekler kanı atık ürünlerden temizler ve plazma hacmi ile bileşimini ayarlar. Bunu yapmak için, kanın böbreklerden yüksek bir hızda, böbrek metabolizması için gerekenden çok daha fazla akması gerekir. Atık ürünler, fazla sıvı ve elektrolitler idrarla atılır. Böbrekler, idrarı nefronlardan üretere toplar. Üreter, düz kas içeren bir tüptür. İdrarı aktif olarak mesaneye gönderir. Mesane idrarı depolar ve üretra yoluyla vücudun dışına boşaltır. İdrar yapmak için, mesanenin aktif kasılması ve üriner sfinkterlerin gevşemesi gerekir.²¹

2.1.3. Böbreklerden Renin Salgılanması

Afferent arteriyol, efferent arteriyol ve kortikal kalın çıkan kolun yakın yerleşim bölgesi, jukstaglomerüler aparat olarak adlandırılır (glomerulusun yanında olduğu için). Bu yapı bir dizi özel hücre içerir. Arteriyollere bitişik kalın çıkan koldaki hücreler makula densayı oluşturur. Bu hücreler tübüler sıvıdaki sodyum klorür (NaCl) miktarına yanıt verir. Bu makula densa hücreleri, afferent arteriyoldeki hücrelere etki etmek için mezengial hücreler aracılığıyla sinyaller gönderir. Afferent arteriyol, vasküler düz kas hücreleri ve renin granülleri içeren özel granül hücreler içerir. Renin, aktif olmayan bir plazma proteini olan anjiyotensinojeni anjiyotensin I'e dönüştüren bir enzimdir. Bu, renin-anjiyotensin-aldosteron kan basıncı ve hacim düzenleme sistemindeki ilk adımdır.²¹

2.1.4. Böbreklerden Eritropoietin Hormonu Üretimi

Böbreklerin primer olarak plazma hacmi ve bileşimini düzenleme ve dolayısıyla tüm vücut sıvılarının homeostazına katkıda bulunmaya ek olarak, başka temel işlevleri de vardır. Böbrekler, hipoksiye yanıt olarak eritropoietin salgılar. Eritropoietin, eritrositlerin oluşum hızını (eritropoez) uyaran bir glikoprotein hormonudur. Bu, başka bir negatif geribildirim döngüsü oluşturur: böbreklere yetersiz oksijen sağlanması, eritropoietin salgılanmasını uyarır, bu da eritrosit oluşumunu uyarır ve böbreğe oksijen tedariki artar.²¹

2.1.5. Böbreklerde Vitamin D Aktivasyonu

D vitamini deride sentezlenir ve daha sonra iki hidroksilasyon reaksiyonuna tabi tutulur. Birincisi karaciğerde meydana gelir ve 25-hidroksi (25-OH) kolekalsiferol üretilir. İkinci hidroksilasyon reaksiyonu renal proksimal tübül hücrelerinin mitokondrilerinde meydana gelir ve D vitamininin dolaşımdaki aktif formu olan 1,25-dihidroksi (1,25-(OH)₂) kolekalsiferol üretilir. Böbrekteki hidroksilasyon reaksiyonu paratiroid hormonu (PTH) ve plazmadaki düşük fosfat seviyeleri tarafından uyarılır. 1,25-(OH)₂ kolekalsiferol, bağırsaktan kalsiyum ve fosfat emilimini uyarır. Kemik ve böbrek

üzerindeki etkileriyle plazma kalsiyum ve fosfat seviyelerinin korunmasına yardımcı olur. Böbrek hidroksilasyon reaksiyonu, D vitamini aktivitesi için çok önemlidir ve hem plazma kalsiyum hem de fosfatın homeostazını kontrol eden negatif geri bildirim döngüsünün bir parçasını oluşturur.²¹

2.1.6. Böbreklerde Glukoneogenez ile Glukoz Üretimi

Böbrekler, amino asitleri glikoza dönüştürerek açlık sırasında kan şekerinin korunmasına yardımcı olur. Bu metabolik sürece, "yeni glikoz oluşumu" anlamına gelen glukoneogenez denir.²¹

2.2. Akut Böbrek Hasarı

2.2.1. Tanım ve Etiyoloji

Akut böbrek hasarı (ABH), böbrek fonksiyonunda ani bir azalma ile karakterize klinik bir sendromdur. Böbreğin atık ürünleri atma, elektrolitleri yönetme, sıvı dengesini düzenleme ve asit-baz durumunu korumada yetersizliğe yol açar.²⁵ ABH, artan serum kreatinin seviyeleri (böbrek boşaltım fonksiyonunun bir belirteci) ve oligüri (idrar üretiminin kantitatif bir belirteci) temelinde belirlenen ani bir böbrek fonksiyonu kaybını tanımlar ve 7 günlük bir süre ile sınırlıdır. ABH, akut böbrek hastalığı ve bozuklukları (ABHB) olarak özetlenen, hafif ve kendi kendini sınırlayan ile şiddetli ve kalıcı arasında değişebilen çeşitli fonksiyonel böbrek patolojilerinin bir parçasıdır.

Serum kreatinin ve idrar çıkış seviyesi gibi tanısal belirteçler böbrek hasarını değil böbrek fonksiyon kaybını ölçtüğü için ABH bir yanlış isim olarak görülebilir. Hasar belirteçlerinin yokluğunda, geçici hacim azalması epizotları olan kişiler, böbrek hasarı olmaksızın ABH tanı kriterlerini karşılayabilir. Sağlıklı bir insanda birkaç saatlik hacim azalmasının uzun vadede sağlık açısından etkileri olmayabilir.²⁶ Bununla birlikte, hacim tedavisine rağmen devam eden ABH, muhtemelen böbreğin yapısal hasarını gösterir.²⁷

Ne yazık ki, biyopsi dışında böbrek hasarının doğrudan değerlendirilmesi mevcut teknoloji ile mümkün değildir. Bu nedenle çok sayıda üriner biyobelirteç kullanımdadır ve aynı zamanda glomerüler veya tübüler hücre hasar göstergesi olarak önerilmiştir.²⁸ Böbreğin yaşamın idamesi için gerekliliği göz önüne alındığında, şiddetli ABH öldürücü olabilir. Bu nedenle, gerekirse renal replasman tedavisi (RRT) içeren tedavi esastır. ABH için hastayla ilişkili risk faktörleri arasında ileri yaş, kadın cinsiyet, diyabetes mellitus, hacim azalması ve renal hipoperfüzyon yer alır.²⁹ Bunun dışında tablo 2.1’de gösterildiği üzere ABH etiolojisinde rol alan birçok neden vardır.³⁰

Tablo 2.1. Akut Böbrek Hasarı Etiyolojisi

Akut Böbrek Hasarı Etiyolojisi
Pre-renal Nedenler (Bozulmuş Renal Perfüzyon)
Kardiyorenal sendrom (azalmış ejeksiyon fraksiyonunun eşlik ettiği kalp yetmezliği, sağ kalp yetmezliği ve venöz konjesyon)
Şok (hemorajik şok, hipovolemik şok, septik şok)
Abdominal kompartman sendromu
Renal transplantasyon (gecikmiş greft fonksiyonu)
Medikal tedavi (anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, anjiyotensin reseptör blokerleri)
İntra-renal Nedenler
Trombotik mikroanjiyopatiler, kolesterol embolizmi, anti-glomeruler bazal membran hastalığı, anti-nötrofil sitoplazmik otoantikör vaskülit
Orak hücreli anemi ve sepsis
Sistemik enfeksiyonlar ve sepsis, piyelonefrit, ilaç veya ağır metal ilişkili tübüler nekroz, kristal nefropatisi, rabdomiyoliz, monoklonal gamopatiler, akut urat ya da oksalat nefropatileri
Akut hücresel rejeksiyon, akut interstisyel nefrit, T hücre terapisi
Post-renal Nedenler, Üriner Trakt Obstrüksiyonu
Bilateral üriner obstrüksiyon, mesane disfonksiyonu ve üretral obstrüksiyon

2.2.2. İnsidans

ABH ile ilişkili ölümlerin küresel yükü, meme kanseri, kalp yetmezliği veya diyabetinkinden çok daha fazladır.³¹ ABH insidansı global olarak artmaktadır ve buna bağlı morbidite ve mortalite oranları da yükselmektedir. ABH, hastanede yatan tüm hastaların %5-7'sini oluşturur. Kritik hastalarda, RRT gerektiren ciddi ABH'nın genel prevalansı yaklaşık %6'dır ve mortalite oranı %60'tır.³² Genel olarak, ABH insidansı ya toplum kaynaklı ya da hastane kaynaklı ABH olarak rapor edilir. Yüksek gelirli ülkelerde, ABH ağırlıklı olarak hastane kaynaklı iken, toplum kaynaklı ABH düşük gelirli ülkelerde daha yaygındır.³¹

Genel olarak yüksek gelirli ülkelerde ABH'lı hastalar daha yaşlıdır ve birden fazla komorbiditeye sahiptir. Bu hastaların gerektiğinde diyalize ve yoğun bakıma erişim imkanları daha yüksektir.³³ Yüksek gelirli ülkelerdeki ABH'nın ana nedenleri ameliyat sonrası veya tanısal müdahaleler ile iatrojenik faktörlerdir.³⁴ Bununla birlikte, düşük gelirli ülkelerde sepsis, hacim azalması, toksinler (ısırıklar, ilaçlar) ve hamilelik gibi çok sayıda toplum kaynaklı nedene bağlı ABH meydana gelir.³⁵ Buradaki hastalar daha gençtir ve hastanede bakıma ulaşma imkanları daha azdır.³⁰ Dünya genelinde, ABH olan hastaların ortalama yaşı 60'tır. Ancak bu, sosyoekonomik durumun düşmesiyle 50'li yaşlara düşmektedir. Ayrıca sosyoekonomik durumdan bağımsız olarak ABH hastalarının %60'ı erkektir.³⁶

2.2.3. Risk Faktörleri

ABH için risk faktörleri arasında çevresel, sosyoekonomik ve/veya kültürel faktörlerin yanı sıra bakım süreci, akut maruziyetler ve hastaların kendileri ile ilgili faktörler yer alır. Çevresel faktörler; yetersiz içme ve atık su sistemleri, bulaşıcı hastalıkların yetersiz kontrolü ve yetersiz sağlık bakım sistemlerini içerir. Hastayla ilgili faktörler, hacim azalması, hipotansiyon, anemi, hipoksi ve nefrotoksik ilaçların kullanımı

gibi değiştirilebilir veya kronik böbrek, kalp, karaciğer veya gastrointestinal hastalık, diyabet, ciddi enfeksiyonlar ve sepsis gibi değiştirilemez nedenlere bağlı olabilir. Nadir nedenler arasında miyoglobininri, hemoglobininri ve rolitiazise genetik yatkınlık yer alır.³⁷

ABH için diğer önemli risk faktörleri şiddetli hastalıklar, akut enfeksiyonlar, sepsis, sıtma, şiddetli travma, hipovolemi, yaşlılık, akut organ yetmezlikleri, büyük ameliyatlar (kalp cerrahisi dahil), nefrotoksik maruziyet ile yoğun bakım ünitesinde bulunma, ilaçlar ve fırsatçı enfeksiyonlar, lösemi veya kanser için kemoterapi, böbrek nakline bağlı gecikmiş greft fonksiyonu, hızlı ilerleyen böbrek hasarı ile seyreden otoimmün bozukluklar, kolesterol kristal embolisi ve idrar yolu tıkanıklığıdır.³⁶ ABH, eğer prevalansı yüksekse HIV enfeksiyonu, hantavirüs enfeksiyonu, sıtma veya dang hastalığından da kaynaklanabilir.^{34, 38}

Ayrıca, koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19), tüm dünya bölgelerinde ABH için bir risk faktörüdür.³⁰ COVID-19 pandemisi, ABH'nın yeni bir tetikleyicisi olarak gelişmiştir. COVID-19 ile hastaneye başvuru sırasında ABH için risk faktörleri şunlardır: viremi düzeyi, solunum sıkıntısı, akciğer dışındaki organ tutulumu, lkositosiz ve lenfopeni, yüksek seviyelerde C-reaktif protein, ferritin ve D-dimerler, hipovolemi ve dehidrasyon veya rabdomiyoliz. COVID-19 nedeniyle hastaneye yatırılan hastaların neredeyse yarısında, kalp damar cerrahisi veya sepsis gibi yüksek riskli durumlara benzer ABH gelişir. ABH, COVID-19 mortalitesi ile güçlü bir şekilde ilişkilidir.³⁹ ABH ile ilgili sıvı, asit-baz ve metabolik bozukluklar, antiviral bağışıklığı ve inflamasyonun çözülmesini etkileyebilir. Bu nedenle, COVID-19'u tedavisinde ABH'na odaklanmak için güçlü bir gerekçe vardır.⁴⁰

2.2.4. Patofizyoloji

Böbrek boşaltım fonksiyonunun kaybı, (örneğin metabolik atık ürünlerin atılımı yoluyla) böbreklerin ana fonksiyonunda bozuklukları ifade eder. Serum kreatinin ve üre nitrojen seviyeleri genellikle azalmış böbrek fonksiyonunun biyolojik belirteçleri olarak kullanılır.²⁶ Azalan glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ve renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonu, özellikle kalp yetmezliği olanlarda periferik ödem, üçüncü boşluk efüzyonları ve pulmoner tıkanıklık olarak ortaya çıkan sıvı tutulmasını desteklediğinden sıvı homeostazı etkilenir.⁴¹

Ek olarak, idrar çıkışı potasyum atılımını belirlediğinden, hiperkalemi şiddetli ABH'nın sık görülen bir komplikasyonudur. Hem hiponatremi hem de hipernatremi, böbreğin idrar konsantrasyonu veya seyreltme kapasitesi kaybolduğunda ortaya çıkabilir. Ayrıca bozulmuş fosfat klirensi hiperfosfatemiye yol açar.³⁰ ABH ayrıca asit-baz homeostazını da etkiler. ABH'lı hastalarda sabit asitlerin atılımının azalması sonucu tübüler metabolik asidoz meydana gelir ve artan ventilasyon dürtüsü yoluyla solunum kompensasyonu olur.⁴²

Başlangıçta hiperkloremik metabolik asidoz gelişse de anyon açığındaki artış sıklıkla kan dolaşımında fosfat, sülfat ve küçük organik anyonların birikmesi sonucu görülür. Metabolik atık ürünlerin ıtrah kapasitesindeki bir düşüş azotemi ile gösterilir. Bununla birlikte normalde atık ürün olmayan birçok metabolitin, böbreklerce uzaklaştırılamamasına bağlı kandaki artışları da yorgunluk, konfüzyon ve tremor gibi üremi semptomlarının oluşumunda rol oynar.³⁰ ABH ile ilişkili üremik toksinlerin çoğu, indoksil sülfat veya p-kresil sülfat gibi bağırsak mikrobiyotasından kaynaklanır.⁴³ ABH asidoz, hiperkalemi, üremik toksinler, hipervolemi, hipertansiyon ve sistemik inflamasyon yoluyla kardiyak fonksiyonları etkiler.⁴⁴

ABH'nın klinik sonuçları arasında, ABH ile akciğer⁴⁵ gibi böbrek dışı organların işlev bozukluğu arasındaki etkileşimler bildirilmiştir.⁴⁶ Çalışmalar, I/R ile indüklenen ABH progresyonunun alveolar makrofajlar, ROS ve inflamatuvar moleküller ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur.⁴⁷⁻⁴⁹ ABH esnasında oluşan çeşitli sitokinler akciğer hasarına katkıda bulunur.⁵⁰ Apoptosis ve otofaji, renal I/R ile indüklenen akut akciğer hasarı gelişiminde rol oynar.⁵¹

Epidemiyolojik çalışmalar, ABH'dan sağ kurtulan hastalarda, yaşamın sonraki aşamalarında kronik ve son dönem böbrek hastalığı gelişme riskinin daha yüksek olduğunu göstermektedir.⁵² Bu çalışmalar, ABH'nın bireyleri kısa ve uzun vadeli organ disfonksiyonu, morbidite ve mortaliteye yatkın hale getirdiğini göstermektedir. Destekleyici bakımdaki teknolojik gelişmelere rağmen ABH kaynaklı mortalite ve morbiditede son birkaç dekatta önemli ölçüde değişme olmamıştır. ABH büyük ölçüde asemptomatiktir ve teşhis konulması şu anda fonksiyonel biyobelirteçlere bağlıdır. ABH oluşum mekanizması ve nedenlerini anlamaya yönelik kat edilen ilerlemelere rağmen hali hazırda etkin bir tedavi yoktur ve bu hali ile ABH global bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir.⁵³

2.3. Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı

2.3.1. İskemi

İskemi terimi, arteriyel akışın tıkanması nedeniyle dokulara yetersiz kan akımını belirtmek için ilk olarak on dokuzuncu yüzyılın başlarında kullanılmıştır. Bu nedenle, doktorlar ve biyomedikal araştırmacılar, organa özgü kan akımındaki azalmalarla karakterize bozuklukların getirdiği yıkıcı sağlık ve ekonomik yükleri sınırlamak için tedavi geliştirme umuduyla, neredeyse iki yüzyıl boyunca iskeminin neden olduğu doku hasarının altında yatan mekanizmaları daha iyi anlamaya çalışmışlardır.⁵⁴

Son 30 yılda rapor edilen keşifler özellikle etkileyici olmuştur ve iskemi sırasında meydana gelen moleküler, hücresel, dokuya özgü ve sistemik olaylar hakkındaki bilgimizi büyük ölçüde artırmıştır. Reperfüzyonun paradoksal olarak doku hasarı ve nekrozu indükleyebileceği ve şiddetlendirebileceğini destekleyen kanıtlar da bu dönemin başlarında keşfedilmiştir ve doku hasarının bu bileşeni terapötik müdahaleye uygun olduğundan araştırma için büyük bir ilgi odağı olmuştur.⁵⁴

Tüm dokular, saptanabilir fonksiyonel eksiklikler veya hasar meydana getirmeyen, değişken kısa süreli iskemiye dayanabilir. Öte yandan, hücre tipine ve organa göre değişen kritik bir iskemi süresi aşıldığında, hücre hasarı ve/veya ölüm meydana gelir. Hücre disfonksiyonunun, hasarının ve/veya ölümünün miktarı, iskeminin hem büyüklüğünden hem de süresinden etkilenir. Bu gerçeğin farkında olarak, mümkün olan en kısa sürede revaskülarizasyon ve kan akışının restorasyonu, iskemiye yönelik mevcut tüm terapötik yaklaşımların temel dayanağı olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte, tüm organlar iskemiye eşit duyarlılık göstermez.⁵⁵

İskemi nedeniyle, hücreyi anaerobik moda kaydıran hipoksi gelişir. Bu durumda, laktat oluşur ve hidrojen iyonlarının birikmesi nedeniyle hücrenin pH'ı düşer. Kompansasyon olarak hücre, sodyum hidrojen (Na/H) değiştirici yoluyla sodyum akışı karşılığında hidrojen iyonlarının dışarı akışına yol açar. İskemi ayrıca ATPazları inaktive eden, aktif kalsiyum çıkışını azaltan ve endoplazmik retikulum tarafından kalsiyumun geri alımını sınırlayan hücresel ATP'yi tüketir, böylece hücrede aşırı kalsiyum yüklenmesine neden olur.⁵⁵

Bu değişikliklere, mitokondriyal membran potansiyeline zarar veren ve ATP üretimini daha da bozan mitokondriyal geçiş gözeneklerinin açılması eşlik eder. Bu değişiklikler ve dolayısıyla doku hasarının derecesi, kan akışındaki azalmanın büyüklüğüne ve iskemik periyodun süresine göre değişir. İskemi sırasında kendiliğinden

iskemik hasara katkıda bulunmayan bazı biyokimyasal olaylar meydana gelir. Ancak reperfüzyon sağlandığında, oksijen ve oluşan elementlerin dolaşıma verilmesiyle doku hasarını alevlendiren bir olaylar dizisi tetiklenir.⁵⁵

2.3.2. Reperfüzyon

Reperfüzyon, hücre metabolizmasını desteklemek, hücre metabolizmanın potansiyel olarak zararlı yan ürünlerini ortadan kaldırmak ve oksijen ile besin maddelerinin verilmesini yeniden sağlamak için gerekli olmasına rağmen, iskemi nedeniyle oluşan hasarlanmayı şiddetlendiren patojenetik süreçleri ortaya çıkarabilir. Reperfüzyon ayrıca uzak organlarda revaskülerize dokulardan kaynaklanan ve uzak organlara ulaşarak doku hasarına neden olan mediatörlerin salınmasına neden olabilir. Ani reperfüzyon oksijen ve ATP'nin aerobik oluşumu için gerekli substratların sağlanmasına ve artan hidrojen iyonlarını uzaklaştırarak hücre dışı pH'ı normale döndürmesine rağmen, reperfüzyonun zararlı sonuçları vardır.⁵⁵

Bu durum ilk olarak 50 yıldan daha uzun bir süre önce, koroner ligasyona maruz kalan kalplerde reperfüzyonun nekroz oluşumunu hızlandırdığına dair bir gözlem sonucunda ortaya çıkmıştır.⁵⁶ Buna kan akışının yeniden sağlanması ile ilgili işlemleri açıklamak için reperfüzyon hasarı denir. Reperfüzyon hasarı, önceki iskemik periyot sırasında meydana gelmemiştir ve sadece reperfüzyon sırasında uygulanan bir müdahale ile durdurulabilir.⁵⁵ Reperfüzyon sırasındaki müdahaleler, bu faza özgü zararlı olayları hafifleterek enfarktüs boyutunu %50'ye kadar azaltabilir.⁵⁷

Reperfüzyon hasarı ile ilişkili süreçler karmaşık, çok faktörlüdür ve şunları içerir: (1) kan akımı yeniden sağlandığında moleküler oksijenin yeniden devreye girmesi nedeniyle ROS oluşumu, (2) aşırı kalsiyum yüklenmesi, (3) mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin açılması, (4) endotel disfonksiyonu, (5) protrombojenik fenotip

görünümü ve (6) belirgin derecede inflamasyon.⁵⁷ Reperfüzyon fazı çok dinamikdir ve hücre ölümü reperfüzyon başladıktan sonra 3 güne kadar devam edebilir.⁵⁸

2.3.3. İskemi Reperfüzyon Hasarı

I/R hasarı, ABH patogeneğinde önemli rol oynar.⁵⁹ I/R hasarı önemli bir kavramdır ve bozulan kan akışına bağlı olarak iskemiden etkilenen hücrelere gerekli oksijen ile besin kaynaklarını sağlayamama sonucunda hücre fonksiyon bozukluğuna, hücre ölümüne, doku hasarına ve organ fonksiyon bozukluğuna yol açan önemli bir mekanizmadır.⁶⁰ I/R'nin deneysel modellerinde bulunan en dikkate değer bulgulardan biri, reperfüzyondan sonraki hasar yanıtının iskeminin zaman periyodu ile ilişkili olmasıdır.⁶¹ Buna göre iskemiyeye verilen yanıt zararlı olabilir ve reperfüzyon doku hasarının boyutunu şiddetlendirebilir. Uzun iske mi periyotları reperfüzyonla şiddetlenen hücre işlev bozukluğunu ve/veya ölümü indüklerken, kısa iske mi döngüleri koruyucudur. Dokuları, reperfüzyonun takip ettiği uzun süreli iskeminin zararlı etkilerine karşı intrensek hücre-hayatta kalma programlarının aktivasyonu ile dirençli hale getirir.⁵⁵

I/R hasarı iki modlu olarak gerçekleşir. Başlangıçtaki iskemik fazda, hücrenin anaerobik metabolizmayı kullanmadaki adaptif eşiğı aşılsa, hücre sel işlev bozukluğuna ve irreversibl hasar veya nekroza yol açar. İskemiyi takip eden reperfüzyon fazında, bir yandan canlı iskemik dokuyu kurtarmak için kan akışını yeniden sağlanarak bu iskemik hasarın üstesinden gelinir. Ancak bu durumda, ROS üretilmesi, yoğun bir immün yanıt ve inflamasyon sonucu hasarı daha da şiddetlendirebilir.⁵⁴

Birçok klinik senaryo I/R hasarına neden olabilir: 1) kan damarının intrensek tıkanması: embolik ya da aterosklerotik tıkanma, şiddetli periferik vasküler hastalık durumundaki tıkanmalar 2) kan damarının ekstrensek tıkanması: genellikle ödem veya hematomdan (ezilme hasarı, büyük travma ve damar cerrahisi) bitişik dokunun genişlemesi nedeniyle kan damarının tıkanmasına neden olan kitle etkisi veya

kompartman sendromu 3) Azalmış kalp debisi veya kan basıncı: şok durumları (kardiyak arrest kaynaklı kardiyojenik şok, şiddetli-kontrolsüz enfeksiyondan kaynaklanan septik şok, yoğun kan kaybından kaynaklanan hipovolemik şok gibi) 4) Organ transplantasyonu.⁶⁰

Böbrek yüksek metabolik gereksinime sahip bir organdır ve proksimal tübüler hücreler oksijenasyondaki değişikliklere en duyarlı kısımlardır (iskemi ve glikoliz tolere edebilen medüller hücrelerin aksine).⁶⁰ Renal parankimde oksijenasyon, kortekste not edilen en yüksek oksijen seviyeleri, dış medullada orta seviyeler ve papillada en düşük seviyeler ile derecelendirilir. Sonuç olarak, kortikal hücreler iskemiye karşı en savunmasız iken, dış medulladaki hücreler oksijenden bağımsız metabolizmaya geçebildikleri için hipoksik ortama daha az duyarlıdır.⁵⁵

İç medüller ve papilla hücreleri, anaerobik glikoliz yoluyla ATP üretmek için çoğunlukla glikoz kullanır. Bu nedenle, bu bölgeler iskemiye karşı azaltılmış duyarlılık gösterir.⁵⁵ Açık böbrek cerrahisi ile 30 dakika veya daha kısa normotermik iskemi sonrasında kalıcı organ hasarının olmadığı doğrulanmıştır.⁶² Hayvan modellerinde, böbrek damarlarının daha uzun süre tıkanması bile mümkün görünmektedir.⁶³

2.3.4. İskemi Reperfüzyon Hasarında Reaktif Oksijen Türleri

ROS canlı hücrelerde bulunan ve oldukça reaktif, potansiyel olarak tehlikeli olan süperoksit, hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve singlet oksijen gibi oksidan moleküllerdir. Normal hücresel metabolizma, mitokondriyal oksidatif fosforilasyon, lökositlerin oksidatif reaksiyonları, peroksizomların neden olduğu yağ asitlerinin indirgenmesi ve sitokrom P-450 işlevsel oksidatif sistemi dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreç ve metabolik reaksiyon sonucu endojen ROS üretimi gerçekleşir. Ayrıca sigara içimi, ultraviyole (UV) ve iyonlaştırıcı radyasyon, kanser kemoterapisi uygulaması gibi dış koşullara maruz kalma, ROS oluşumuna da zemin hazırlayabilir.⁶⁴

Fizyolojik koşullarda ROS, hücrel sinyal iletimi ve enerji iletiminin çok önemli bir düzenleyicisi olmasına rağmen, normal koşullarda endojen oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengeyi korumaktan sorumlu antioksidanlardan (süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), vb.) oluşan bir endojen sistem vardır. Bu sistem ROS'un zararlı etkileriyle başa çıkar. Ayrıca ROS'un üretimi ile uzaklaştırılması arasındaki dengeyi koruyan savunma mekanizmaları oluşturmaya çalışır.⁶⁴

Bununla birlikte, aşırı oksidan üretimine veya antioksidanların azalmasına neden olan bir durumda, oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres, ROS'un lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler dahil hücrel makromoleküllerle reaksiyona girmesini hızlandıran ve oksidan-antioksidan homeostazının bozulmasına neden olan oksidan sistemin bir dengesizliğidir ve hücrel makromoleküllerin okside formlara dönüşmesine neden olarak modifikasyona neden olabilir. Ayrıca DNA'nın modifikasyonu sonucu gen ve protein ekspresyonunu modüle ederek mutant formlar oluşmasına, sitoplazmik/nükleer sinyal iletim yollarının aktivasyonuna, DNA polimerazın aktivitesinin değiştirilmesine ve DNA iplikçik kırılmaları meydana getirerek oksidatif DNA hasarına ve hücrel hasara sebep olabilir.⁶⁴

I/R'ye verilen yanıtın ortak temel özellikleri vardır. Aktive edilmiş endotel, dokuda yerleşik makrofajlar ve mast hücrelerinden ROS, sitokin ve kemokin salınımı bu ortak temel özelliklere örnektir. Kanda nötrofil ve diğer üretilen maddeler toplanır, aktive olur ve endotelial adezyon/emigrasyon gerçekleşir. Endotel disfonksiyonu ve parankimal hasar meydana gelir. Bununla birlikte, organa özgü varyasyonlar, organ hasarının miktarını, yoğunluğunu ve geri dönüşümünü etkiler.⁵⁵

ROS, I/R hasarı patofizyolojisinde önemli rol oynar. I/R hasarında salınan birincil ROS parçaları, oksidatif stres oluşturmak için çeşitli lipid ve proteinler ile etkileşime giren süperoksit ve hidrojen peroksittir.⁶⁵ Süperoksit ayrıca peroksinitrit gibi reaktif

nitrojen türleri (RNS) oluşturmak için nitrik oksit (NO) ile etkileşime girer. ROS ve RNS, hücrel işlev bozukluğuna, bozulmuş vasküler tonus ve doku hasarına katkıda bulunurlar. Ayrıca hasarla ilişkili moleküler model (DAMP) olarak görev yaparak inflamatuvar kaskadı daha da artırır. Peroksinitrite ek olarak, diğer önemli biyolojik aktif ROS parçaları arasında malondialdehit (MAD), konjuge dienler, hidroksinonenal ve oksitlenmiş GSH bulunur.⁶⁶

İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) inflamasyon ile aktive edilir ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) izoformu, temel kofaktörlerin yokluğunda vasküler kas tonusunun düzenlenmesi ve süperoksit üretimi için önemlidir. iNOS tüm inflamatuvar hücrelerde bulunur ve peroksinitrit oluşturmak için büyük miktarlarda NO üretir.⁶⁷ Süperoksit, dış mitokondriyal membranda lokalize olan SOD tarafından kolayca hidrojen peroksite dönüştürülür.⁶⁸ Mitokondriyal sitokrom p450 peroksidaz (mcP450) hidrojen peroksiti hipobromöz ve hipokloröz aside⁶⁹, bağlanmamış endotelial nitrik oksit sentaza ve ksantin oksidaza metabolize eder.⁶⁰

8-hidroksideoksiguanozin (8-OHDG), deoksiguanozinin oksitlenmiş bir türevidir ve DNA oksidasyonunun başlıca ürünlerinden biridir. Hücre içindeki 8-OHDG konsantrasyonu, oksidatif stresin bir ölçüsüdür.⁷⁰ Böbrek hasarı molekül-1 (KIM-1), normal böbrek dokusunda saptanamayan, ancak iskemik ve toksik durumlarda indüklenebilen bir tip 1 transmembran glikoproteinidir.⁷¹ Renal iskemi sonucunda, proksimal tübülde belirgin şekilde eksprese edilir.⁷² Bu protein, iskemiden sonra hayatta kalan proksimal tübül epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde yüksek miktarlarda eksprese olur.⁷¹

I/R hasarındaki fazla ROS, mitokondriyal zarı dinamin 1 benzeri proteinin (DRP1) birikmesine yol açabilir, mitokondriyal parçalanmayı daha da şiddetlendirir, mitokondriyal DNA'nın salınımı hem mitofajiyle hem de hücre ölümüyle sonuçlanır.⁶⁸

ROS birikimine karşı geliştirilen müdahaleler I/R hasarına karşı koruyucudur.⁷³ Bununla birlikte, hiçbir ROS aracılı ajan, klinik çalışmalarda klinik kullanıma ulaşmak için yeterince etkili bir şekilde performans göstermemiştir.^{74, 75}

2.3.4.1. Malondialdehit

Oksidatif stresin en önemli ve sık görülen sonuçlarından biri peroksidasyondur. Peroksidasyon, serbest radikallerin biyolojik moleküller, özellikle doymamış lipidler ile reaksiyona girdiği bir süreçtir, çünkü çift bağları radikal hasar için zayıf bir noktadır.⁷⁶ Lipid peroksidasyonu, bir lipid molekülü ile moleküler oksijen arasındaki doğrudan reaksiyondan kaynaklanan otooksidatif bir süreçtir.⁷⁷

Çoklu doymamış yağ asitlerinin ROS ile reaksiyonu, sıralı bir lipid peroksidasyonunu tetikler. Bu zincirleme reaksiyon, bir lipid radikalının oluşumuyla sonuçlanan çoklu doymamış yağ asitlerinden bir allilik hidrojen atomunun çıkarılmasıyla başlar. Lipid radikalleri moleküler oksijen ile reaksiyona girerek hem lipid peroksil hem de lipid alkoksil radikalleri oluşturur. İkincisi, komşu lipid molekülleri ile etkileşim yoluyla daha fazla lipid peroksidasyonu üretir.⁷⁸

Lipid peroksidasyonu, farklı metabolitlerin oluşumuna neden olur ve bunların çeşitliliği, küçük konsantrasyonları ve yüksek reaktiviteleri nedeniyle biyolojik ortamlarda tespiti ve analizi zordur.⁷⁹ Lipid peroksidasyonunun ana ürünleri lipid hidroperoksitlerden oluşurken, MDA ise lipid peroksidasyonu sırasında ikincil ürünler olarak üretilen aldehitler arasında en mutajenik olanıdır.⁸⁰

MDA (ayrıca Malonik aldehit, Propanedial, 1,3-Propanedial olarak da bilinir), $C_3H_4O_2$ kimyasal formülüne sahip bir aldehittir ve fizyolojik pH'da esas olarak enol formunda bulunur.⁸¹ MDA'nın kimyasal yapısı şekil 2.1'de verilmiştir.⁸²



Şekil 2.1. Malondialdehitin kimyasal yapısı. MDA, kimyasal formülü $C_3H_4O_2$ olan bir aldehittir. Fizyolojik pH'da esas olarak enol formunda bulunur

MDA serbest radikal ve lipidin reaksiyonundan oluşan, hücre zarının yapısını değiştirebilen ve hücre düzeyinde DNA değişikliğine neden olabilen bir serbest radikaldır.⁸³ MDA karsinogenez, karaciğer ve böbrek toksisitesi, diyabetes mellitus, kardiyovasküler ve nörovasküler hastalıklarda rol oynayan bir metabolittir.⁸⁰ MDA sadece lipid peroksidasyonu esnasında üretilmez, aynı zamanda eikozanoid sentezi esnasında da ortaya çıkan ortak bir yan üründür.⁸⁴ Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA, uzamış hücre hasarının ve oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır.^{85, 86}

2.3.4.2. Myeloperoksidaz

Myeloperoksidaz (MPO, EC 1.11.1.7), nötrofillerin ve monositlerin azurofilik granüllerinde bol miktarda bulunan bir heme peroksidaz enzimidir.⁸⁷ Olgun insan MPO'su, 146 kDa'lık glikozile edilmiş dimerik bir proteindir.⁸⁸ Prostetik bir hem grubuna bağlı iki adet 15 kDa hafif zincir ve iki değişken ağırlıklı glikozile ağır zincir ile bir dimer olarak bulunur. Yedi ligandla beşgen bir piramit onayı oluşturan bir kalsiyum bağlama bölgesi vardır.⁸⁹ İnsan MPO geni 17. kromozomda (17q23.1) bulunur. 11 intron ve 12 ekzon içerir. ATG başlatma kodonunun yukarısında 180 baz çiftinde tek bir transkripsiyon başlatma yeri vardır. Yalnızca ağır zincirlerin boyutunda farklılık gösteren üç izoform tanımlanmıştır.⁹⁰

İlk olarak Agner tarafından insan lökositleri açısından zengin pürülan akıntından elde edilen ekstraktlardan demir içeren bir protein olarak keşfedilmiştir.⁹¹ Başlangıçta

MPO, canlı yeşil rengi nedeniyle “verdeperoksidaz” olarak adlandırılmış, ancak daha sonra, hematopoezin myeloid ailesindeki ekspresyonunun keşfedilmesi üzerine “verde” öneki “myelo” terimi ile değiştirmiştir. MPO sentezi hematopoezin promonosit ve promyelosit evrelerinde başlar ve genellikle olgun nötrofillerde, monositlerde ve bazı doku makrofaj tiplerinde bulunur.^{87, 92} MPO doğal bağışıklık sisteminin fagositik mikroorganizma öldürme etkinliğinin önemli bir bileşenidir.⁹³

MPO'nun büyük protein kütlesi, onu monositlerde ve nötrofillerde en bol bulunan protein yapar ve konak savunmasındaki kritik rolüne işaret eder. Opsonize edilmiş bakteriler, fagositik hücreler tarafından "fagozom" olarak bilinen hücre içi bir bölmeye alınır. Bu amaçla, sitoplazmik granüllerde depolanan MPO ve diğer antimikrobiyal sistemler kaynaşır ve sindirilmiş mikroorganizmaları içeren fagozomlara salınır. MPO, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazdan üretilen hidrojen peroksit ve diğer küçük anyonik substratlara ilaveten esas olarak klorür kullanarak, sindirilen mikroorganizmalara zarar veren ve onları öldüren ROS üretir.⁸⁷

Bu arada, MPO'nun doku hasarına katkıda bulunmasına bağlı olarak, MPO'nun insan hastalıklarında rolü olduğunu gösteren çok sayıda kanıt vardır. Aslında, ROS hücre dışı olarak da salınır ve işlev bozukluğuna neden olan ve kalp yetmezliği, solunum yolu hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar ve kronik böbrek hastalığı gibi sistemik inflamatuvar hastalıkların patogeneze katkıda bulunan konak proteinlerini post-translasyonel olarak değiştirme yeteneğine sahiptir.^{87, 94-97}

2.3.4.4. Süperoksit Dismutaz

ROS üretimi, aerobik organizmalarda metabolik süreçlerin kaçınılmaz bir sonucudur. Normal koşullar altında SOD, katalaz ve GSH gibi endojen enzimatik antioksidanlar tarafından sürdürülen bir oksidan-antioksidan dengesi mevcuttur. Ancak aşırı ROS ve süperoksit gibi tehlikeli serbest radikallerin ortaya çıkan etkileri bu dengeyi

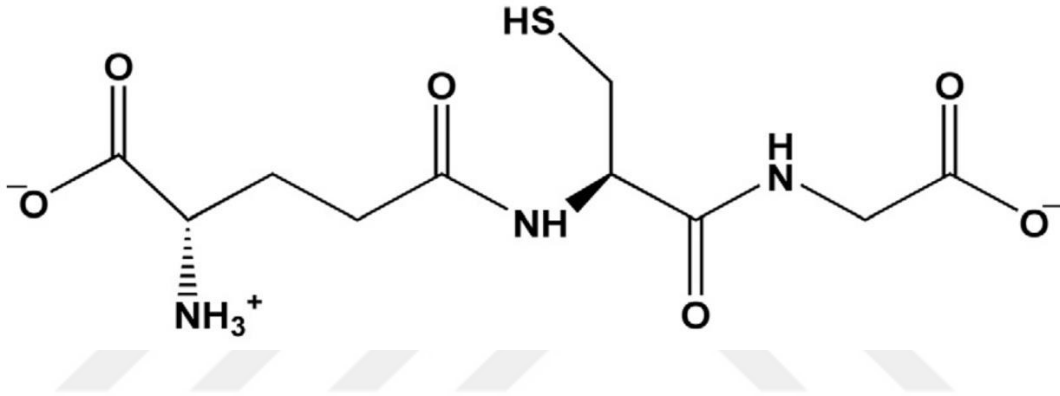
bozabilir ve nihayetinde oksidatif strese yol açabilir. Süperoksit, ROS'un kontrolsüz çoğalmasıyla sonuçlanan bir serbest radikal reaksiyonları dizisinin başlangıç noktasıdır. İlk olarak 1968'de keşfedilen SOD, süperoksit ve ardından gelen oksidatif strese karşı harekete geçen ilk antioksidan savunmadır.⁹⁸

Süperoksit radikalının hidrojen peroksite ve moleküler oksijene dönüşümü SOD ile sağlanır. SOD, her biri aktif bölgesinde bakır ve çinko veya manganez içeren bir oksido-redüktaz enzim sınıfıdır. Weydert ve Cullen üç SOD izoenzimi bildirmiştir: (1) mitokondride ve bronşiyal epitelde bulunan ve manganez içeren SOD (MnSOD), (2) sitoplazma ve çekirdekte lokalize olan bakır ve çinko içeren SOD (CuZnSOD- SOD aktivitesinin %90'ını oluşturur) (3) hücre dışı dokularda bulunan ve hücre dışı SOD (ECSOD) adı verilen sekretuar bir glikoprotein. Genel olarak bu izoenzimler bulundukları farklı hücrelerde oksidatif stresin azaltılmasında rol oynar.⁹⁹ MnSOD aynı zamanda SOD-2 olarak bilinir ve ekspresyonu inflamatuvar sitokinler, hiperoksi (vücut dokularında aşırı oksijen) ve sigara dumanı gibi hem endojen hem de eksojen oksidanlar tarafından aktive edilir. ECSOD aynı zamanda akciğer sıvıları ve akciğerdeki interstisyel boşluklarda da bulunur ve ROS tarafından oluşturulan vasküler hasara karşı koruyucu etki gösterir.¹⁰⁰

SOD, inflamasyonun patogeneze katkıda bulunan oksidatif reaksiyonları kontrol ederek işlev görür. Bu reaksiyonların örnekleri şunları içerir: lipid peroksidasyonunun başlatılması, mitokondriyal solunum zinciri enzimlerinin inhibisyonu ve hücre zarındaki Na/K ATP-az aktivitesinin ve zar sodyum kanallarının etkisizleştirilmesi. SOD ayrıca oksijenin proinflamatuvar etkilerini de durdurur. Bu etkilere örnek olarak: endotelial hücrelerde hasar (mikrovasküler geçirgenliğin artmasına neden olur) ve lökotrien B4 gibi kemotaktik faktörlerin ve inflamasyon bölgelerinde nötrofillerin konsantrasyonunun teşvik edilmesi.⁹⁸

2.3.4.5. Glutatyon

GSH 1888 yılında J. de Rey-Paihade tarafından maya ve birçok hayvan dokusunun ekstraktlarından keşfedilmiştir.¹⁰¹ GSH, memeli sistemlerinde çok sayıda hücrel fonksiyona katılan düşük moleküler ağırlıklı bir tiyoldür.¹⁰² Ampirik formülü $C_{10}H_{17}N_3O_6S$, moleköl kütlesi $307.32 \text{ g mol}^{-1}$ 'dir.¹⁰¹ Hücre içi GSH konsantrasyonları 0,5 ile 10 mM arasında değişirken, hücre dışı GSH konsantrasyonları önemli ölçüde düşüktür ve tahmini değerler mikromolar aralıktadır.¹⁰³ GSH'nin kimyasal yapısı şekil 2.2'de gösterilmiştir.¹⁰²



Şekil 2.2. Glutatyonun kimyasal yapısı

GSH enzim katalizi, protein sentezi, membran taşınması, reseptör etkisi, hücre olgunlaşması ve lökotrien sentezi gibi birçok biyolojik süreçte rol oynar. Güçlü antioksidan özelliklerini kullanarak hücreyi, özellikle hücre zarını ve mitokondriyi zararlı serbest radikallere karşı korur. GSH hidrojen peroksiti oksijen ve suya, ayrıca lipid peroksitleri ise alkole indirger. Ayrıca ultraviyole B (UVB) radyasyonunun zararlı etkilerine karşı etkilidir. GSH antioksidan özelliğine ek olarak, bağışıklık tepkisi ile DNA onarımı ve korunmasında da işlev görür.⁹⁸

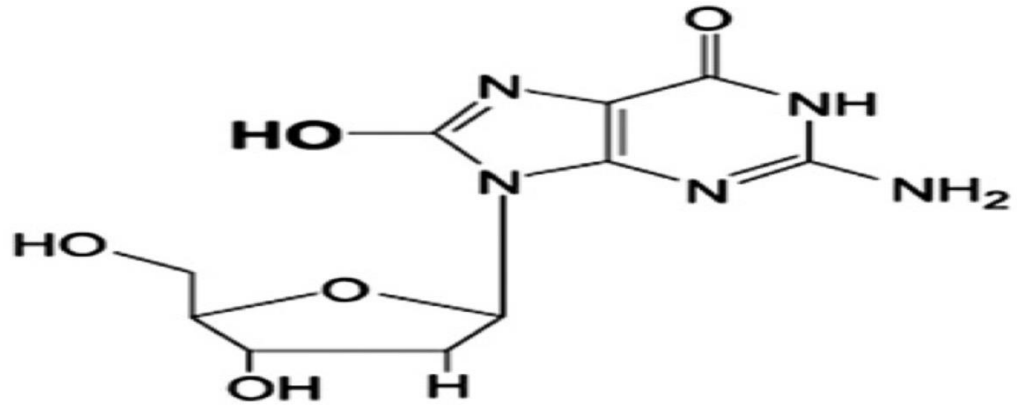
GSH antioksidan ve diğer metabolik fonksiyonlara sahip endojen bir peptittir.¹⁰¹ GSH'nin primer işlevlerinden biri hücrel detoksifikasyondur. GSH transferazlar, tripeptidi tiyol grubu aracılığıyla endojen ve eksojen elektrofilik bileşiklere konjuge eder.^{104, 105} GSH'nin sinyal yollarına katılımdan hücrel detoksifikasyona kadar çeşitli

işlevleri vardır. GSH seviyelerinin artan yaşla birlikte azaldığı bilinmektedir ve bu azalan GSH seviyeleri, artan oksidatif hasar ile ilişkilidir.¹⁰²

2.3.4.6. 8-Hidroksideoksiguanozin

DNA oksidasyonunun etkisi, potansiyel mutajenik rolü ile ilgilidir. Hücre dokularının ve kan lenfositlerinin nükleer ve mitokondriyal DNA'sı, oksidatif stres kaynaklı hücrel hasarın en yaygın bölgeleridir. Ancak tüm ROS doğrudan DNA hasarı üretmez. Bunlardan hidroksil radikali, en önemli serbest radikal olarak değerlendirilir ve makromoleküllere verilen hasar ile DNA oksidasyonuna katkıda bulunan temel endojen olarak kabul edilir. Bu durum, çok reaktif olması, çok kısa yarılanma ömrüne sahip olması ve birçok hücrel makromolekül ile reaksiyona giren yüksek oranda difüze edilebilir bir radikal olması ile ilgilidir. Hidroksil radikali DNA ipliklerine saldırır ve DNA bazlarına yeni radikallerin eklenmesine neden olarak 20'den fazla oksidatif ürün oluşmasına sebep olur.

Guanin hücrel ve mitokondriyal DNA'nın tüm nükleobazları arasında en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olması nedeniyle ROS tarafından oksidasyona en yatkın olanıdır. Guanin molekülünün sekizinci pozisyonuna bir hidroksil grubu eklenir ve bu da radikal eklentilerin oluşmasına yol açar. Başlıca oksidatif hasar ürünü ise oksidatif nükleosit bir form olan 8-hidroksideoksiguanozindir (8-OHdG). Şekil 2.3'de 8-OHdG'nin kimyasal yapısı görülmektedir.⁶⁴ 8-OHdG, serbest radikal kaynaklı DNA lezyonlarının baskın formlarından biri olarak kabul edilir.¹⁰⁶



Şekil 2.3. 8-Hidroksideoksiguanozinin kimyasal yapısı

8-OHdG farklı oksidatif DNA bazlı lezyonlar arasında en çok bulunan mutajenik ve spesifik onarım ürünü gibi görünmektedir. 8-OHdG tespiti, ROS aracılı patolojilerde oksidatif DNA hasarının değerlendirilmesi için önemli bir biyobelirteç ve oksidatif hasar ile onarım hızı arasındaki dengeyi yansıtan hassas bir gösterge olarak kabul edildiğinden değerlidir.⁶⁴

2.3.4.7. Böbrek Hasarı Molekül-1

Böbrek Hasarı Molekül-1 (KIM-1), hücre adezyon moleküllerine benzeyen 104 kDa'lık bir zar proteinidir. Sıçan böbrek ve T hücrelerinden farklı fonksiyonlara sahip bir protein olarak izole edilmiştir.⁷¹ KIM-1, fırçamsı kenar zarının tübüler lümeninde lokalize olduğu için bazı durumlarda zarla aynı anda salgılanır. KIM-1 proteini idrarda tespit edilmiştir ve bu nedenle, bazı faktörler tarafından indüklenen ABH'da oldukça hassas ve erken bir biyobelirteç olarak bilinir.¹⁰⁷ Bir fosfatidilserin reseptör glikoproteini olan KIM-1, sağlıklı bireylerin idrarında bulunmaz.¹⁰⁸

KIM-1, büyük ölçüde proksimal tübüller tarafından üretilen tübüler bir hasar belirteçidir.¹⁰⁹ Postiskemik renal hasar ile belirgin şekilde artar, bu da postiskemik böbrekte morfolojik bütünlüğün ve fonksiyonun restorasyonunda önemli bir rol oynadığını gösterir.⁷¹ Proksimal tübül hücrelerinin apikal membranında eksprese edilir, ektodomain bölünür ve tübül lümenine salınır.¹¹⁰ Plazma seviyeleri böbrek hasarı ile

yükselir ve iyileşme ile düşer.¹⁰⁹ KIM-1 ayrıca oksitlenmiş lipoproteinler için bir reseptördür. Sadece myeloid hücrelerinde bulunmaz ve böbrek proksimal epitel hücrelerini fagositlere dönüştürmesi bakımından benzersizdir.¹⁰⁸

KIM-1 apoptotik hücrelerin fagositozundan ve işlenmesinden sorumlu olan bir fosfatidilserin reseptörü olarak tanımlanmıştır.¹¹¹ Bir I/R hasarından sonra proksimal tübül hücreleri KIM-1 mRNA'yı artırır ve sentezler.¹¹⁰ KIM-1 apoptotik hücreleri tanır ve onları lizozomlara yönlendirir. Böylece KIM-1 eksprese eden böbrek epitel hücreleri apoptotik ve nekrotik hücreleri aktif olarak fagosite eder.¹⁰⁸ Bu bakımdan KIM-1'in işlevi luminal kalıntıyı temizleyerek tübüler tıkanıklığı geciktirmek olabilir.¹¹⁰

KIM-1 seviyelerindeki yükseliş ve düşüş zamanlaması onu hem akut böbrek hasarında hem de takip eden böbrek iyileşmesinde incelenmek üzere bir çalışma hedefi haline getirir. Burada beklenen, idrar KIM-1'in ardışık ölçümlerinin, ABH'nın ilerleme ve iyileşme evreleri ile doğrudan erken müdahale stratejileri arasında ayırım yapabilmesidir. KIM-1 seviyelerinde bir artış gösteren ardışık ölçümler, böbrek hasarının kötüleştiğini işaret edebilir ve hasarı hafifletmeye yönelik tedaviler bu belirteç ile ölçülebilir. Belki de ardışık olarak yüksek KIM-1 ölçümleri, iyileşme odaklı tedavileri gösterir.¹⁰⁹

2.3.5. İnflamatuvar Süreç ve İmmün Yanıt

İnflamasyon, istilacı patojenlere karşı savunmada hayati önem taşır. Enfeksiyona yanıt olarak meydana bir sinyaller dizisi sonucu, nötrofillerin ve makrofajların enfeksiyon kaynağını fagosite ettiği, lenfositlerin aktive olduğu, adaptif immün yanıtların oluştuğu, ek sitokin ve kemokin üretildiği doğal bağışıklık aktivasyonu olur.¹¹²

İnflamatuvar yanıt, doku ve yara onarımı için de gereklidir. İnflamasyon ayrıca I/R tarafından da indüklenir. Tipik olarak mikroorganizmaların yokluğunda meydana gelir ve bu nedenle steril inflamasyon olarak adlandırılır. İstilacı patojenlere verilen

yanıta benzer şekilde, I/R tarafından indüklenen steril inflamasyon, belirgin nötrofil oluşumu ve sitokinlerin, kemokinlerin ve diğer proinflamatuvar uyarıların üretimi ile karakterizedir.¹¹²

I/R hasar sonucu inflamatuvar bir yanıt ortaya çıkar. Bu inflamatuvar yanıtın bazı bileşenleri hasarlanmayı şiddetlendirir, diğer bileşenler onarıma aracılık eder. Her iki durumda da inflamasyon, iskemik ABH'nın nihai sonucunun ana belirleyicisidir. ABH'na karşı inflamatuvar yanıtın tam olarak anlaşılması (lökositlerin yapısı ve işlevleri, inflamasyonu ortaya çıkaran uyarılar ve inflamasyonun düzenlenmesi) böbrek hastalığında çözülmemiş temel bir problem olmaya devam etmektedir.¹¹³

İnterlökin-1 (IL-1), tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), interlökin-6 (IL-6), gibi proinflamatuvar sitokinler, akut inflamasyon sürecindeki ilgili sitokinlerden bazılarıdır. Çeşitli hedef hücreler üzerinde hem olumsuz hem de olumlu düzenleyici etkiler sergileyen geniş ağlarda yer alırlar. TNF- α ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinler, endotelial geçirgenliği arttırmada ve lökosit infiltrasyonunu kolaylaştırmada önemli bir rol oynar.²

2.3.5.1. Tümör Nekrozis Faktör-Alfa

TNF ve TNF reseptörü ailesi, farklı dokularda ve hücre tiplerinde geniş çapta dağılmış çeşitli ligand ve reseptör sistemlerini oluştururlar. Doğal ve adaptif bağışıklık, embriyonik gelişim ve hücrel homeostazın korunması dahil olmak üzere memeli biyolojisinin çeşitli yönlerinde kritik roller oynarlar.^{114, 115} TNF orijinal olarak, bir bakteri suşu ile hazırlanmış bakteriyel endotoksinin farelere intravenöz enjeksiyonundan sonra fare serumunda bulunmuştur ve tümör nekrozuna neden olduğu gösterilmiştir.¹¹⁶

İnsan TNF cDNA'sı ve mRNA'sı, bir promyelositik lösemiden türetilen monosit benzeri bir hücre hattı olan 4P-forbol 12p-miristat 13 a-asetat ile uyarılmış HL-60'ta tanımlanmıştır.¹¹⁷ TNF'nin biyosentezi, hücre yüzeyi öncüsü transmembran formun¹¹⁸ ve

onun işleme enzimi TNF- α -dönüştürücü enzimin tanımlanmasıyla netleştirilmiştir.¹¹⁹ TNF, ayrı genlerin ürünleri olan iki polipeptidin (α ve β) oluşturduğu bir aileyi temsil eder.¹²⁰

TNF- α ilk olarak belirli hücre tiplerini, özellikle tümör hücrelerini parçalayabilen lenfositler ve makrofajların bir ürünü olarak keşfedilmiştir.¹¹⁶ Hem normal hem de hastalıklı vücutta birçok fizyolojik fonksiyonla ilişkilidir.^{121, 122} TNF- α , önce membrana bağlı bir homotrimer (26 kDa monomerden oluşan) olan pro-TNF- α olarak sentezlenir ve TNF- α dönüştürücü enzim tarafından TNF- α 'ya dönüştürülür.¹²³

TNF- α sinaptik ölçüm, nörogenez, biliş, bağışıklık sistemi koordinasyonu, sistemik inflamasyon ve apoptozisin indüksiyonunda yer alır. Bununla birlikte, diğer birçok sitokin gibi, TNF- α beyin de dahil olmak üzere birçok dokuda çeşitli rollere sahip önemli bir hücre sinyal molekülü olarak ortaya çıkmıştır. TNF- α beyinde nöronlarda, mikrogliyalarda ve astrositlerde eksprese edilir.¹²³ TNF- α , patojenlere karşı konak savunmasında çok çeşitli biyolojik etkilere sahiptir. Hücresel düzeyde, belirli koşullar altında hem apoptotik hem de nekrotik hücre ölümünün yanı sıra hücrenin hayatta kalmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını indükleyebilir.^{124, 125}

TNF- α , anti-tümör aktivitesinde olduğu gibi genellikle hücre öldürmeyi tetiklemez, ancak daha sıklıkla gen transkripsiyonunu ve hücre aktivasyonunu destekler.¹²⁶ Hedef hücrelerin yüzeyindeki ortak reseptörlere bağlanır ve birçok ortak biyolojik aktivite sergiler. TNF- α renal iskemik hasara yanıt olarak upregüle edilir. Artan tirozin fosforilasyonu sayesinde p38 mitojenle-aktif olan protein kinaz yolağının aktivasyonu ile indüklendiği düşünülmektedir. İmmün yanıt, hücre proliferasyonu, diferansiasyon ve apoptozis gibi temel biyolojik işlevleri düzenler. Oksidatif stres oluşumu ile güçlü bir şekilde bağlantılıdır.¹²⁷

2.3.5.2. İnterlökin 1-Beta

IL-1, çok çeşitli aktivitelere sahip bir sitokindir. Çok sayıda sitokini ve akut faz enzimlerini upregüle etmek, inflamatuvar yanıtı provoke etmek ve immün reaksiyonları gerçekleştirmek için lökositleri aktive etmek gibi çok çeşitli fonksiyonlara sahiptir.¹²⁸ IL-1'in temel fizyolojik kaynağı aktive edilmiş makrofajdır ve pro-IL-1 adı verilen bir öncü olarak oluşturulur. Hücre hasarı, bakteri hücre zarlarının ürünleri, zimosan, lökotrienler, aktive edilmiş kompleman bileşenleri, TNF, immün kompleksler (Ig-antijen), granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ve IL-1'in kendisi (otokrin) dahil olmak üzere çeşitli proinflamatuvar uyarılar sonucu IL-1 sekresyonu tetiklenebilir. Aksine, kortikosteroidler (örn., deksametazon), transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) ve retinoik asit ile üretimi azalabilir.¹²⁹

Aynı aktivitelere sahip iki gen ürünü olan IL-1 α ve IL-1 β içerir.¹³⁰ Bu izoformlar ilk olarak 1985 yılında March ve arkadaşları tarafından araştırılmış ve tanımlanmıştır. Her ikisi de oldukça belirgin proinflamatuvar ve pirojenik aktivitelere sahip çözünür peptitlerdir.¹³¹ IL-1 α ve IL-1 β ağırlıklı olarak fibroblastlar, monositler, nötrofiller, makrofajlar, epitelyal, dendritik ve endotelyal hücreler tarafından eksprese edilir ve nadiren doğal öldürücü (NK) ve B hücreleri tarafından da sentezlendikleri bilinmektedir. IL-1 α ve IL-1 β , yaklaşık olarak 31 kDa'lık benzer moleküler ağırlığa sahip olan, sırasıyla proIL-1 α ve proIL-1 β olmak üzere farklı öncü proteinlerden türetilir. ProIL-1 α ve proIL-1 β öncüleri, olgun formlarını almak için sırasıyla kaspaz-1 veya kalsiyumla aktive olan proteaz yoluyla proteolitik bölünmeye uğrarlar.¹³²

IL-1 β , başlangıçta tavşanlarda ateşi indükleyen endojen bir pirojen olarak tanımlanmış somnojenik bir sitokindir.¹³³ Hemen tüm çekirdekli hücreler IL-1 β üretir.¹³⁴ IL-1 β , aktif olmayan öncü bir protein olan pro-IL-1 β olarak üretilir. Kaspaz-1 (IL-1 β dönüştürücü enzim olarak da bilinir) tarafından aktif formuna dönüştürülür.^{135, 136} IL-1 β ,

inflamasyona bir yanıt olarak parakrin veya otokrin regülasyonu sağlamak için immün sistem hücreleri tarafından mikro çevreye salınır.¹³⁷ IL-1 β , sadece aktivasyon uyarısı üzerine dendritik hücrelerden salgılanan IL-1 α 'nın aksine serumda tespit edilebilir.¹²⁹

IL-1 β 'nin sadece harici uyarımdan sonra üretildiğine inanılmaktadır. Patern tanıma reseptörlerinden gelen bir sinyalin IL-1 β geninin ekspresyonu aktive ettiği bilinmektedir.¹³⁷ IL-1 β transkripsiyonu mikroorganizmalar veya ürünleri gibi proinflamatuvar uyaranlar ve tip I interferonlar, TNF- α ve IL-1 β 'nin kendisi dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinler tarafından indüklenebilir.¹³⁸ IL-1 β normalde enfeksiyon, yaralanma veya immünolojik yanıt olarak üretilir. Minimal konsantrasyonlarda ateş, hipotansiyon ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimine neden olur.¹³⁵

2.3.5.3. İnterlökün 6

IL-6 daha önce interferon beta-2 olarak adlandırılmıştır. IL-6, gp130 reseptör alt birimi veya gp130'a çok benzer bir protein aracılığı ile hücreye sinyal veren büyük bir sitokin grubunun üyesidir. IL-6, 21-26 kDa'lık bir glikoproteindir. IL-6 geni, insan kromozomu 7p21'de bulunur.¹²⁹ İnsan IL-6'sı iki N-glikozilasyon bölgesi ve iki sistein-sistein köprüsü olan 184 amino asitten oluşur.¹³⁹ IL-6, aktive edilmiş T ve B lenfositlerin, monositlerin ve fibroblastların ve aktive edilmiş makrofajların bir ürünüdür.¹²⁹

IL-6, çok sayıda işlevi olan pleiotropik sitokindir. IL-6, özellikle T ve B hücrelerinin aktivasyonundan sonra adaptif bağışıklıkta önemli etkisi olan proinflamatuvar etki gösterir. Periferik B lenfosit gelişiminin plazma hücrelerine son adımını indükler.¹²⁹ IL-6'nın işlevi B-hücreleri ile sınırlı değildir, immün yanıt, inflamasyon ve hematopoez üzerinde çok çeşitli etkileri vardır.¹³⁹ Th22 hücreleri ve TNF'nin gelişimi için IL-6 gereklidir. IL-6 ayrıca IL-1, IL-21, IL-23, TGF- β ve Th17 hücre oluşumunda rol oynar.¹²⁹

IL-6 karaciğer hücrelerinde akut faz proteinlerinin üretiminde, nöronların gelişmesinde, megakaryositlerin olgunlaşmasında, osteoklastların aktivasyonunda, keratinositlerin, mezengial hücrelerin ve myelom/plazmasitomaların çoğalmasında ve ayrıca yara iyileşmesinde rol oynar.¹²⁹ IL-6 enfeksiyonlara ve doku yaralanmasına yanıt olarak bir SOS sinyali olarak üretilir. IL-6 enfeksiyonel lezyonlar esnasında doğal bağışıklık sistemi tarafından üretilir ve tüm vücuda sinyal gönderir. Eksojen patojenlerin varlığı, patojen tanıma reseptörleri aracılığıyla monositler ve makrofajlar gibi bağışıklık hücreleri tarafından tanınır.¹⁴⁰

2.3.5.4. İnterlökin 10

IL-10'un “sitokin sentezi inhibitör faktörü” ve “T-hücre büyüme inhibisyon faktörü” gibi başka isimleri vardır. Viral homolog ve endojen sitokinlere ayrılan bir sitokin grubuna aittir. İnsan IL-10’nu, 18 kDa’lık glikozile edilmemiş bir proteindir ve non-kovalent bir homodimer olarak bulunur. IL-10 geni, IL-19 ve IL-20 genlerinin yakınındaki kromozom 1q3-32 üzerinde bulunur.¹²⁹

IL-10, çok çeşitli hücreler tarafından üretilir. Bununla birlikte, çoğunlukla aktivasyonla indüklenmiş olan birkaç T hücre popülasyonundan türetilir. Bunlar Th₂ (yardımcı CD4⁺) ve Tc₂ (sitotoksik CD8⁺) hücreleridir. Ayrıca, Tr1 lenfositleri (bir tür düzenleyici T hücresi) IL-10 salgılar. Bazı B hücreleri de IL-10 salgılar. IL-10 üreten diğer hücre tipleri arasında monositler/makrofajlar, mast hücreleri ve keratinositler bulunur. Sitomegalovirüs (CMV) ve Epstein-Barr virüsü (EBV), IL-10 gen paraloglarına sahiptir ve enfeksiyon durumunda bu sitokinin viral homologlarını üretir.¹²⁹

IL-10, immünoregülasyon ve inflamasyonda birçok rolü olan bir sitokindir. Makrofajlar üzerinde Th1 tipi sitokinlerin, MHC sınıf II moleküllerin ve yardımcı uyarıcı moleküllerin (CD80/86) salgılanmasını azaltır. IL-10, B hücrelerinin hayatta kalmasını, çoğalmasını ve antikör üretimini artırır. IL-10'un etkisi altında, CD4 ve CD8 T

lenfositlerinin aktivasyonu, Th2 ve Tc2 alt popülasyonlarına doğru kayar. IL-10, T lenfositlerin Th1 (veya Tc1) alt popülasyonunun gelişimini inhibe eder.¹²⁹

IL-10 proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α), kemokinlerin (IL-8) ve büyüme ve gelişme faktörlerinin sekresyonunu inhibe eder. IL-10, diğer sitokinlerle kombinasyon halinde megakaryositler, eritroid soy hücreleri ve ilkel hematopoietik hücreler üzerinde uyarıcı bir etkiye sahiptir. İnflamasyonu azaltma ve Th1 yanıtlarını inhibe etme potansiyeli nedeniyle IL-10 otoimmün hastalıkları kontrol etmek için terapötik amaçlar için kullanılabilir. Tüm bu özellikleri göz önünde bulundurulduğunda, IL-10'nun bazı kanser türlerinin yanı sıra kronik inflamasyon tedavisinde de faydalı olabileceğini düşünülmektedir.¹²⁹

2.3.6. İskemi Reperfüzyon Hasarında Hücre Ölüm Yolakları

Uzun yıllar boyunca I/R ile indüklenen hücre ölümünün enerji kaynağı kaybı, inflamatuvar mediatörler, toksik moleküller ve mekanik hasar gibi dış faktörler tarafından meydana geldiği düşünülmüştür.⁵⁴ Bununla birlikte, hücrelerin apoptozis ve otofaji süreçleri yoluyla hücre sel sinyal mekanizmaları tarafından ölmeye programlanabileceği artık kabul edilmektedir.¹⁴¹

Ayrıca, ortaya çıkan bir kanıtlar topluluğu, nekroz ile ilişkili görünüşte rastgele ve kontrolsüz olayların, belirli koşullar altında, programlanmış nekroz veya nekroptoz olarak adlandırılan bir ölüm yolunda spesifik sinyal mekanizmalarının harekete geçirilmesini ve koordinasyonunu içerebileceğini göstermektedir.⁵⁴

2.3.6.1. Kaspaz-3

Apoptozis, normal dokuların gelişiminde ve homeostazında kritik bir rol oynar. Apoptozisin amaçlarından biri, virüs bulaşmış veya genetiği değiştirilmiş hücreler gibi zararlı hücreleri organizmadan uzaklaştırmaktır. Kanser hücrelerinin apoptozisi önlemek

için bir mekanizmaya sahip olduğu ve kaskadda yer alan moleküllerin hastalığın aktivitesini etkilediği düşünülmektedir.¹⁴²

Aşırı ROS üretimi ve reperfüzyon sırasında ATP üretimindeki azalma, mitokondrinin daha da bozulmasına yol açar. Lipid hasarı ve oksidatif stres, membran geçirgenliğini etkiler, mitokondri DNA'sına zarar verir ve apoptozis yoluyla hücre ölümüyle sonuçlanır.² Kaspaz-3'ün apoptozis ile iyi korele olduğu bilinmektedir.¹⁴²

Aktif kaspaz-3, 32 kDa'lık zimojenden meydana gelir. 17 ve 12 kDa alt birimlerden oluşur. Aktif kaspaz-3 heterotetramerdir. Her heterodimer, p17 alt biriminden dört antiparalel beta-yaprağı ve p12 alt biriminden iki antiparalel beta-yaprağı içerir. Böylece, iki heterodimer birbiriyle hidrofobik etkileşimler yoluyla birleşerek a-heliksler tarafından korunan tam 12 iplikli beta-yaprak bileşimi oluşturur.¹⁴³

Kaspaz-3, CASP3 geni tarafından kodlanan bir proteindir.¹⁴⁴ Sistein proteaz ailesine ait olan kaspaz-3, hücre apoptozisini indüklemeye anahtar efektör enzim olarak kabul edilmiştir. Kaspaz-3, apoptozis sırasında aktive olan ve sonuçta hücre ölümünü gerçekleştiren canlı hücrelerde inaktif bir pro-kaspaz olarak bulunur.¹⁴⁵ Apoptotik sinyal olaylarına yanıt olarak kaspaz 8, 9 ve 10 tarafından olarak aktive edilir.¹⁴⁶

Apoptozis sırasında kaspaz-3, glutamat sistein ligazın katalitik alt birimini 60 ve 13 kDa fragmanlarına ayırır ve bu modifikasyon, bu işlem sırasında gözlenen hücrel GSH seviyelerinin azalmasına katkıda bulunabilir.¹⁴⁷

2.3.6.2. Hafif zincir 3B

Hücrelerin ve organizmaların homeostatik görevleri düzgün bir şekilde yerine getirme kapasitesi ve stres koşullarına başarılı bir şekilde uyum sağlama yetenekleri kesinlikle otofajiye bağlıdır.¹⁴⁸ Otofaji hücrenin eski veya hasarlı organellerin ve protein agregatlarının atılması için ana mekanizmadır ve böylece bir "temizlik" işlevi sağlar.⁵⁴ Otofaji yoluyla hücre içi bileşenler indirgenme ve geri dönüşüm için lizozoma taşınır.

Mekanik olarak otofajik program otofagozomal membran oluşumunun farklı aşamalarına spesifik olarak katılan otofaji ile ilgili proteinlerin uyumlu eylemi yoluyla yürütülür.¹⁴⁸

Otofaji hücre fonksiyonunun sürdürülmesi için amino asitler ve yağ asitleri üreterek veya hasarlı organları ve hücre içi patojenleri uzaklaştırarak hücrelere açlık, hipoksi, mitokondriyal disfonksiyon ve enfeksiyon gibi stresli koşullara dayanacak bir hayatta kalma mekanizması sağlar. Bu nedenle otofaji aslında bir hücre ölüm sürecinden ziyade bir hücre hayatta kalma mekanizmasıdır.⁵⁴

Otofaji genellikle hücre sel hayatta kalmanın merkezi bir mekanizması olarak kabul edilir, ancak belirli koşullar altında hücre sel ölüm olaylarından (otofajik hücre ölümü) doğrudan sorumlu olabilir.¹⁴⁹ Kontrolsüz otofaji nihayetinde hücre nin ölümüne yol açacaktır ve I/R hasarına katkıda bulunabilir.⁵⁴

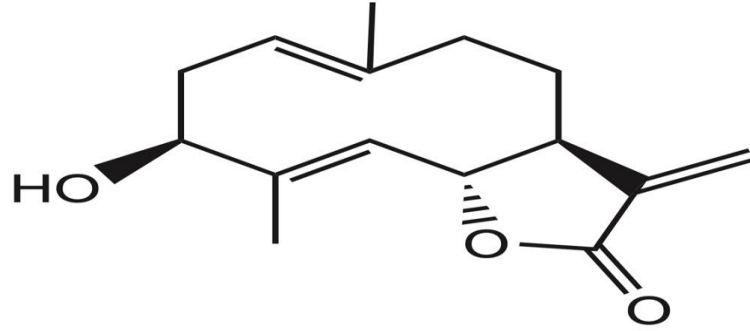
Mikrotübül ile ilişkili protein hafif zincir 3 (MAPLC3, daha iyi LC3 olarak bilinir), üç izoforma (LC3A, LC3B ve LC3C) sahiptir. Bunlar arasında hafif zincir 3B (LC3B), en yaygın kullanılan otofaji belirteçlerinden biridir.¹⁵⁰ LC3B, geniş doku spesifikliği ve otofagozomlar üzerindeki spesifik lokalizasyonu nedeniyle bir otofagozom belirteci olarak yaygın bir şekilde kullanılır.¹⁵¹

2.4. Costunolide

Seskiterpen laktonlar, çok sayıda doğal ürünü temsil eder ve sekonder bitki metabolitlerinin en büyük gruplarından birini oluşturur. Bitki krallığının türlerinde, özellikle Asteraceae familyasında 5000'den fazla bileşik vardır.¹⁵² Seskiterpen laktonlar, kanser hücresi sitotoksitesisi ve antineoplastik etki dahil olmak üzere güçlü biyoaktiviteleri nedeniyle antikanser öncü ilacı olma potansiyeli taşıdıkları için büyük ilgi görmüştür.¹⁵³

Biyolojik olarak güçlü bir germakranolid tipi seskiterpen lakton olan COST, *Magnolia grandiflora* ve *Tanacetum parthenium* gibi çeşitli bitkilerde bulunur.¹⁵⁴

Asteraceae köklerinden elde edilen COST, karbonil grubu ile konjuge edilmiş bir ekzosiklik metilen ile bir γ -lakton halkası içeren bu bitkilerin ana biyoaktif bileşenleri olarak kabul edilir. Çoğu seskiterpen laktonun önemli bir özelliği olan α -metilen- γ -bütrolakton halkası, anti-inflamatuvar, antioksidan, sitotoksik ve antimikrobiyal aktivite dahil olmak üzere çoklu biyoaktif etkiler gösteren önemli bir yapı parçası olarak bulunur.¹⁵⁵⁻¹⁵⁷ Şekil 2.4'te COST'un kimyasal yapısı görünmektedir.¹⁵⁸



Şekil 2.4. Costunolide'in kimyasal yapısı

COST'un farmakolojik etkilerinin derinleştirilmesiyle birlikte, bu aktif bileşenin çok çeşitli kanser türlerine karşı iyi bir terapötik etkiye sahip olduğu bulunmuştur.¹⁵⁹ Bir α -metilen- γ -bütrolakton iskeleti içeren COST ve diğer bazı bileşiklerin, özellikle antitümör olmak üzere belirgin biyolojik aktivitelere sahip olduğunu gösteren bazı çalışmalar vardır.¹⁶⁰

Özellikle *in vitro* deneylerde COST meme kanseri ve lösemiye karşı oldukça seçici ve belirgin sitotoksikite sergiler.¹⁵⁹ COST antikanser¹⁶¹ etkisinin yanı sıra, anti-inflamatuvar¹⁶², antioksidan¹⁶³ ve antiülser¹⁶⁴ başta olmak üzere, birçok biyolojik aktivite sergilediği için araştırmacıların ilgi odağı olmuştur.

3. MATERYAL VE METOT

Mevcut çalışma Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) ile yine Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Veterinerlik Fakültesi ve Eczacılık Fakültesi'ndeki laboratuvarlar bünyesinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın etik onayı, Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 26.06.2020 tarihli ve 96 sayılı toplantı kararı ile alındı. Etik kurulun mevcut protokollerine uymak kaydı ile çalışma gerçekleştirildi.

3.1. Deney Hayvanları

ATADEM'den tedarik edilen 200-250 gr. ağırlığında ve 12-16 haftalık olan 40 adet Wistar albino erkek sıçana I/R prodesüründen bir gece önce yemek verilmezken su içmelerine müsaade edildi. Deney süresince hayvanlar normal laboratuvar koşullarında (20-22 °C sıcaklık, %55 nem, 12 saat gündüz/gece siklusu) ve 470x312x260 mm ebatlı kafeslerde tutuldu.

3.1.1. Cerrahi Prosedür

Renal arterlerin bilateral klemplenmesi, hayvanlarda iskeminin indüklenmesinde sıklıkla kullanılır. Çünkü bu model, insanda hastanın kan akışındaki bozulma nedeniyle her iki böbreğinin de hasarlanabileceği ABH'nın patofizyolojik koşullarıyla korelasyon gösterir.¹⁶⁵ Çalışmada yukarıdaki kriterler göz önünde bulundurularak bilateral renal arter klemplenmesi sureti ile renal I/R modeli oluşturuldu.

Deney için hayvanlar yüz üstü pozisyonda sabitlendi. Sırt tıraş edildikten sonra %10 povidone-iodine ile dezenfekte edildi. Tüm cerrahi işlemler öncesi sıçanlara 100 mg/kg ketamin ve 15 mg ksilazin ile intraperitoneal (i.p.) anestezi uygulandı.¹⁶⁶ Bilateral renal I/R modeli, literatürdeki daha evvel yapılan bir model baz alınarak dizayn edildi.¹⁶⁷

Sırasıyla sol ve sağ böbrekleri ortaya çıkarmak için her iki tarafta yan kesiler yapıldı. Bilateral iskemi, travmatik olmayan mikroanevrizma klempleri kullanılarak her

iki renal pedikülün bloklanması suretiyle oluşturuldu. Tam iskemi, böbreğin birkaç saniye içinde kırmızıdan koyu mora renk değişimi ile görsel olarak doğrulandı. 45 dakikalık iskemik dönemden sonra, 24 saat boyunca reperfüzyonu başlatmak için klempler nazikçe serbest bırakıldı. Kan akışının yeterli restorasyonu sağladığını teyit etmek için böbrekler orijinal renklerine geri dönene kadar 2-5 dakika boyunca gözlendi. İnsizyonlar iki tabaka halinde sürekli dikişlerle kapatıldı.

3.1.2. Deney Grupları

Her birinde 10 hayvan olan randomize 4 deney grubu oluşturuldu (n=10):

Grup I (Sham): Hayvanlar sırt bölgeleri açılıp işlem yapılmadan kapatıldı.

Grup II (I/R): Sıçanların sırt bölgesi açılıp renal arterler bilateral klemplendi. 45 dakikalık iskemiden sonra klempler çıkarılarak 24 saatlik reperfüzyon uygulandı.

Grup III (I/R+COST 5 mg/kg): Grup II’de tatbik edilen cerrahi işlemler tekrar edildi. Hayvanlara reperfüzyona 30 dakika kala i.p. olarak 5 mg/kg COST tatbik edildi.

Grup IV (I/R+COST 10 mg/kg): Grup II’de tatbik edilen cerrahi işlemler tekrar edildi. Hayvanlara reperfüzyona 30 dakika kala i.p. olarak 10 mg/kg COST uygulandı.

3.2. Costunolide’in Hazırlanması ve Uygulanışı

Çalışmada Medchem Express (ABD) menşei COST hormonu kullanıldı. COST uygulama anına dek -20 °C’de uygun şartlarda muhafaza edildi. COST, dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözerek hazırlandı (49 mg/ml). Renal I/R modeli esnasında kullanılacak olan COST dozları (5 mg/kg ve 10 mg/kg) daha önceki hayvan çalışmaları baz alınarak oluşturuldu.¹⁶⁸⁻¹⁷⁰ Ülseratif kolit oluşturulan bir modelde 10 mg/kg i.p. olarak kullanılan COST’in¹⁶⁸ ayrıca anti-alerjik etkinliğinin incelendiği bir başka hayvan modelinde yine 10 mg/kg i.p. kullanımının etkili olduğu görülmüştür.¹⁷⁰ Yine farelerde oluşturulan bir plörezi modelinde ise COST 5, 10 ve 15 mg/kg i.p. olarak uygulanmıştır.¹⁶⁹ Ancak renal

I/R dahil olmak üzere daha önce herhangi bir I/R modelinde kullanılmayan COST'i literatür incelemelerimize dayanarak 5 ve 10 mg/kg olmak üzere iki dozda denedik.

3.3. Deneyin Bitirilmesi ve Örneklerin Alınması

24 saatlik reperfüzyondan sonra hayvanlar yüksek doz anestezi ile sakrifiye edildi. Akciğer, böbrek ve kan örnekleri alındı. Alınan kanlar santrifüj edilerek elde edilen serumlar biyokimyasal ölçümler için -80 °C derin dondurucuda saklandı. Akciğer ve böbrek doku örneklerinin bir bölümü sıvı azotla öğütülüp homojenize edilerek bu örneklerin bir kısmı moleküler analizler için ayrıldı ve diğer kısmında ise oksidatif analizler (SOD, GSH ve MDA) kalorimetrik yöntemlerle yapıldı.¹⁷¹⁻¹⁷³ Ayrıca alınan böbrek ve akciğer doku örneklerinin diğer bölümü histopatolojik işlemler için %10 formaldehit solüsyona konuldu.

3.4. Hormon Analizi

Tablo 3.1'de kullanılan ELISA kitleri ve bu kitlere ait bilgiler bulunmaktadır. Kitlerin ilgili firma/firmalara ait protokolleri uygulanarak ELISA okuyucu cihazı (ELISA, BioTEK powerwawe XS Winooski, U.K) ile kullanımları gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.1. Hormon Analizleri Esnasındaki ELISA Kitleri

ELISA Kit Adı	Katalog Numarası	Marka/Üretim Yeri
Rat MPO	SL1170Ra	SunLong Biotech/Çin
Rat IL-1 β	E0119Ra	BT Lab/Birleşik Krallık
Rat IL-6	E0135Ra	BT Lab/Birleşik Krallık
Rat IL-10	E0108Ra	BT Lab/Birleşik Krallık
TNF- α	E0764Ra	BT Lab/Birleşik Krallık

3.5. Histopatolojik İşlemler

3.5.1. Işık Mikroskopik İşlemleri

Renal I/R ve diğer uygulamalardan yirmi dört saat sonra, sıçanların böbrek ve akciğer dokuları toplanarak %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonuna alında ve 72 saat

tespit edildi. Tespit sonrası dokular trimlenerek kasetlendi ve dokulardaki formaldehit akan çeşme suyunda bir gece yıkanarak uzaklaştırıldı. Daha sonra kasetler otomatik takip cihazına konularak Tablo 3.2’de belirtilen prosedür izlenmiştir.

Tablo 3.2. Doku Takip Cihazı Protokolü

Uygulama	Süre
%70 Alkol çözeltisi	1 saat
%80 Alkol çözeltisi	1 saat
%90 Alkol çözeltisi	1 saat
%96 Alkol çözeltisi	1 saat
%100 Alkol çözeltisi	1 saat
%100 Alkol çözeltisi	1 saat
Ksilen çözeltisi	30 dakika
Ksilen çözeltisi	30 dakika
Sıcak parafinde (57°C)	1 saat

Rutin histopatolojik takip sonrası dokular parafine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotomla (Leica RM2255/İngiltere) 5 µm’lik kesitler normal ve polilizinli lamaların üzerine alındı.

3.5.2. Hematoksilen ve Eozin Boyama Protokolü

Normal lam üzerine alınan kesitler 1 saat 57 °C’de etüvde bekletilerek deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi. Etüvden çıkarılan kesitler 5 dakika ksilol I ve 5 dakika ksilol II solüsyonunda bekletilerek fazla parafin ortamdan uzaklaştırıldı. Bu aşamadan sonra kesitler azalan alkol serilerinden geçirildi. Bu amaçla kesitler %100’lük alkolde 3, %96’lık alkolde 3, %80’lik alkolde 3, %70’lik alkolde 3 dakika bekletildi. Kesitler daha sonra 5 dakika distile suda bekletilerek rehidre edildi. Rehidrasyonun ardından kesitler hematoksilen boyasında 5 dakika bekletilip çeşme suyunda yıkama yapıldı. Asit alkol solüsyonuna kesitler daldırılarak fazla hematoksilen uzaklaştırıldı.

Yıkamanın ardından kesitler 1 dakika eozin solüsyonunda boyandı. Fazla boyanın giderilmesi için 5 kez %70'lik, %80'lik, %96'lık ve %100'lük alkol serilerine tabi tutulduktan sonra temiz ksilol serisinde 5 dakika tutuldu ve entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı.

Işık mikroskobunda (Olympus BX51/DP72) incelenen böbrek dokusu kanama ve nekrotik değişiklikler, akciğer dokusu ise pulmoner interstisyel ödem, yangısal hücre infiltrasyonu ve kanama açısından değerlendirildi.

3.5.3. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü

Polilizinli lam üzerine alınan kesitler 1 saat 57 °C'de etüvde bekletilerek deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi. Etüvden çıkarılan kesitler 5 dakika ksilol I ve 5 dakika ksilol II solüsyonunda bekletilerek fazla parafin ortamdan uzaklaştırıldı. Bu aşamadan sonra kesitler azalan alkol serilerinden geçirildi. Bu amaçla kesitler %100'lük alkolde 3, %96'lık alkolde 3, %80'lik alkolde 3, %70'lik alkolde 3 dakika bekletildi. Kesitler daha sonra 5 dakika distile suda bekletilerek rehidre edildi. Kesitler, endojen peroksidaz aktivitesini baskılamak için 10 dakika boyunca %3 hidrojen peroksite maruz bırakıldı ve ardından fizyolojik tuzlu suda (FTS) iki kez yıkandı. Antijen retrieval (antijen geri kazanımı) için kesitler sitrat tamponu solüsyonuna (pH:6.0) alındı ve 10 dakika boyunca mikrodalgada 800 W sıcaklıkta kaynatıldı ve ardından FTS'de 2 kez yıkandı. Daha sonra kesitlerin etrafı immünohistokimya kalemi (Pappen; hidrofobik) ile çizilerek protein blok damlatıldı ve 10 dakika bekletildi. Doku kesitleri, 1 saat boyunca 37°C'de Caspase-3, 8-OHdG, LC3B ve KIM-1 antikorları (Tablo 3.3) ile inkübe edildi. Kesitler daha sonra FTS ile 3 kez yıkandı ve 30 dakika boyunca oda sıcaklığında sekonder antikor (Ultra Vision Large Volume Detection System; TP-125-HL; Lab Vision, Thermo) ile inkübe edildi. Kesitlere daha sonra pozitiflikleri belirlemek amacıyla 3'3 diaminobenzidin (DAB) uygulandı ve kahverengilik elde edildiğinde distile suda

yıkılarak hematoksin ile zıt boyandı. Kesitler dereceli alkol ve ksilol solüsyonlarından geçirildi ve entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı. Sonuçlar bir DP72 Mikroskobu (Olympus, Inc., Tokyo, Japonya) altında incelendi. Pozitiflikler yok:-, hafif:+, orta:++, yoğun:+++ olarak skorlandı.

Tablo 3.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirmede Kullanılan Antibody Kitler

Primer antikorlar	Katalog Numarası	Marka/Üretim Yeri	Dilüsyon Oranı
Caspase-3	sc-56053	Santa Cruz/ABD	1:100
8-OHdG	sc-66036	Santa Cruz/ABD	1:200
LC3B	sc-271625	Santa Cruz/ABD	1:100
KIM-1	LS-C312791	Life Span Bio/Hollanda	1:100

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 20.0 yazılımı (IBM Corp, Armonk, NY, ABD) kullanıldı. Sonuçlar, ortalama±standart sapma olarak sunuldu. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapıldı. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

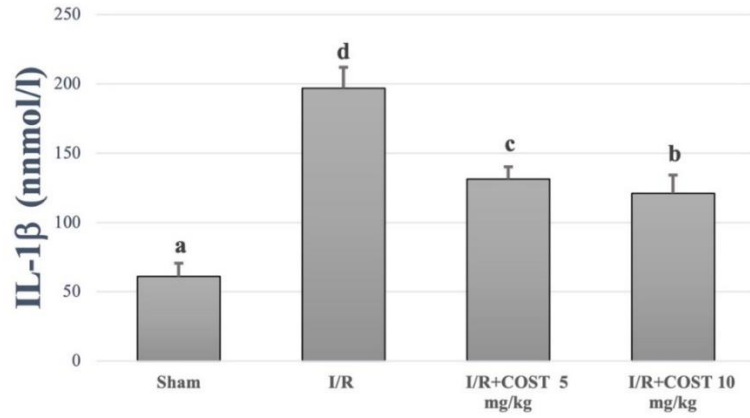
Histopatolojik verilerin istatistiksel değerlendirmesinde Graph Pad Prism Software Inc., (Version 7.0, California, USA) programı kullanıldı. Gruplar arası normal dağılım için Kolmogorov–Smirnov testi kullanıldı. Normal dağılmayan histopatoloji ve immünohistokimyasal analizler için nonparametrik testler kullanıldı. Histopatolojik incelemede semikantitatif olarak elde edilen verilerin gruplar arası farklılığı Kruskal Wallis testi, farklılığı oluşturan grupların tespiti Mann Whitney U testi ile belirlendi. $p < 0.05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Biyokimyasal Bulgular

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Serum İnterlökin 1-Beta Değerleri

Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki serum IL-1 β düzeyleri Şekil 4.1’de gösterilmiştir. IL-1 β seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı bir istatistiksel artış sergilemiştir ($p<0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı azalmalar oluşmuştur ($p<0.05$). COST grupları kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise yüksek doz COST grubundaki düşüş, düşük doz COST grubundan daha fazladır ($p<0.05$).

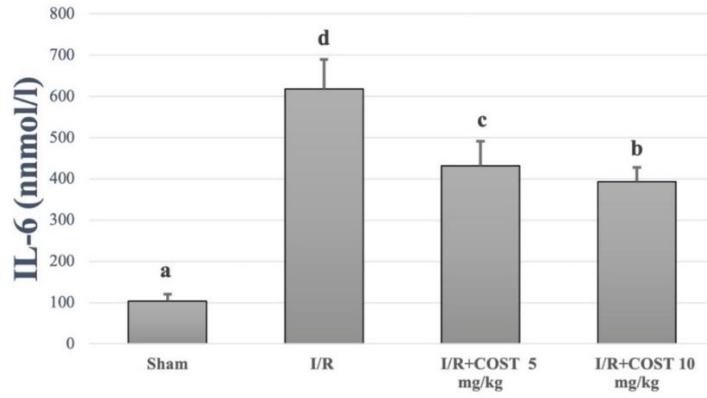


Şekil 4.1. Renal I/R modelindeki serum IL-1 β seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p<0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Serum İnterlökin-6 Değerleri

Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki serum IL-6 düzeyleri Şekil 4.2’de gösterilmiştir. IL-6 seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı bir istatistiksel artış göstermiştir ($p<0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı azalmalar oluşmuştur ($p<0.05$). COST grupları

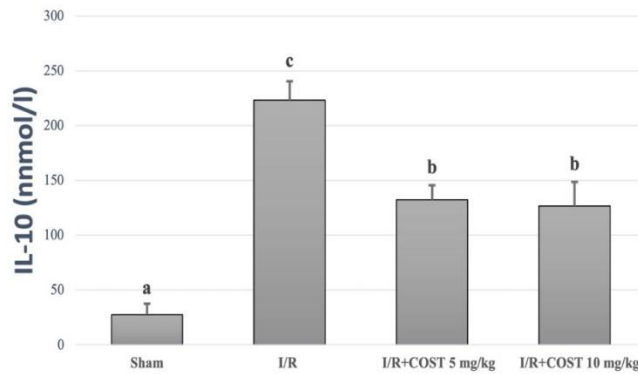
kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise yüksek doz COST grubundaki düşüş, düşük doz COST grubundan daha fazladır ($p<0.05$).



Şekil 4.2. Renal I/R modelindeki serum IL-6 seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p<0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Serum İnterlökin-10 Değerleri

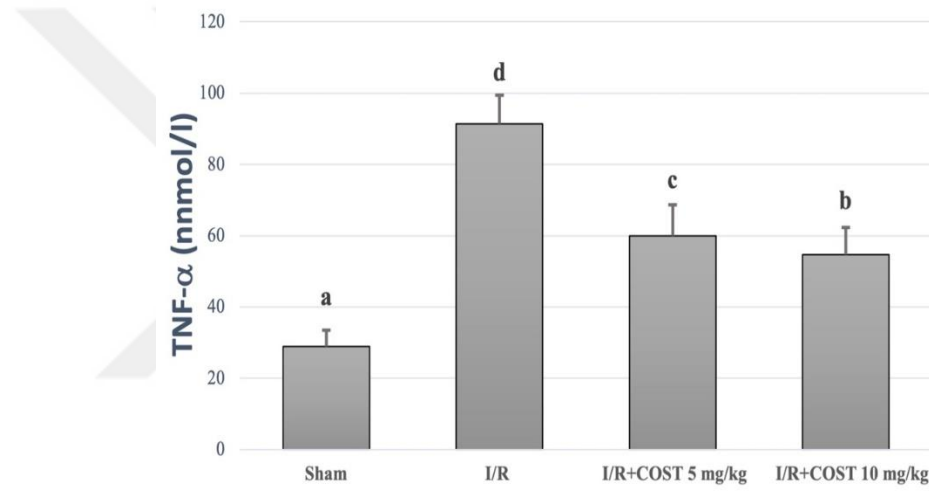
Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki serum IL-10 düzeyleri Şekil 4.3'te gösterilmiştir. IL-10 seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı bir biçimde yükselmiştir ($p<0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı azalmalar oluşmuştur ($p<0.05$). COST grupları kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise anlamlı bir farklılık oluşmamıştır.



Şekil 4.3. Renal I/R modelindeki serum IL-10 seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p<0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Serum Tumor Nekrozis Faktör-Alfa Değerleri

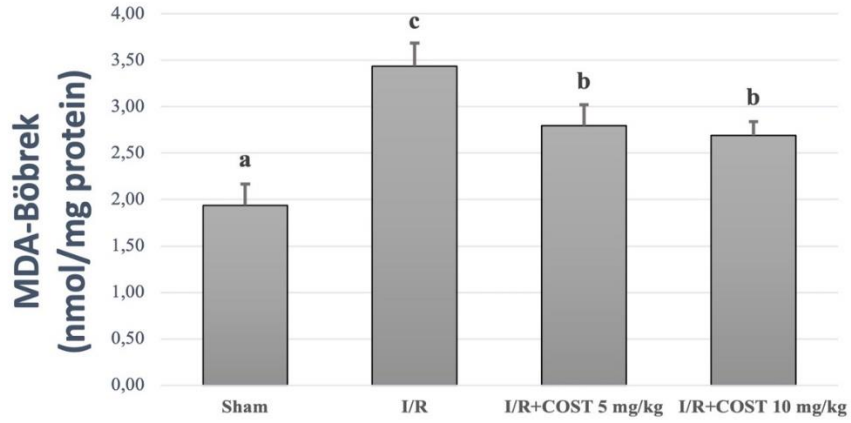
Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki serum TNF- α düzeyleri Şekil 4.4'te gösterilmiştir. TNF- α seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı düzeyde yüksektir ($p<0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı azalmalar oluşmuştur ($p<0.05$). COST grupları kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise yüksek doz COST grubundaki düşüş, düşük doz COST grubundan daha fazladır ($p<0.05$).



Şekil 4.4. Renal I/R modelindeki serum TNF- α seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p<0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Böbrek Malondialdehit Değerleri

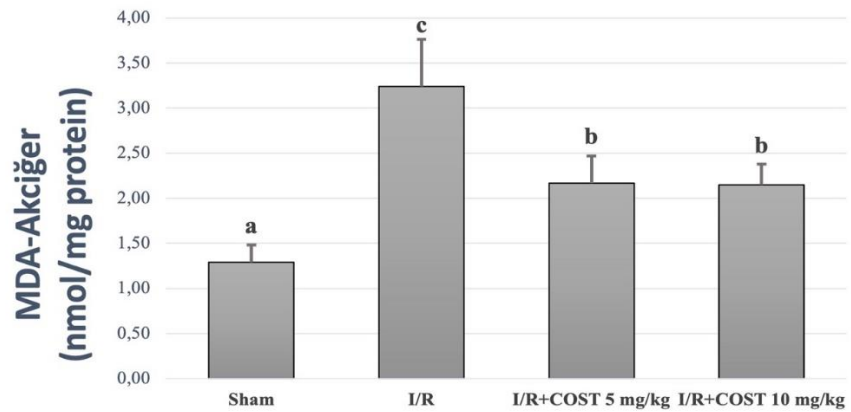
Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki böbrek MDA düzeyleri Şekil 4.5'te gösterilmiştir. MDA seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı seviyelerde artmıştır ($p<0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı azalmalar oluşmuştur ($p<0.05$). COST grupları kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise anlamlı bir farklılık oluşmamıştır.



Şekil 4.5. Renal I/R modelindeki böbrek MDA seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Akciğer Malondialdehit Değerleri

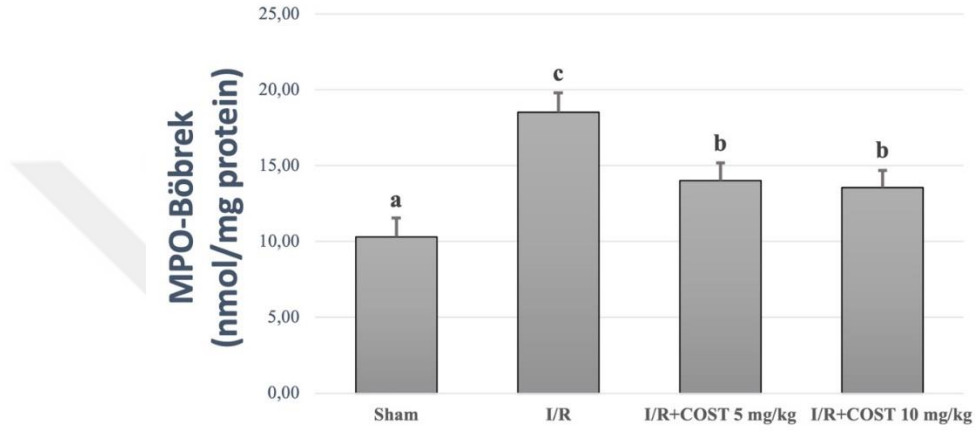
Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki akciğer MDA düzeyleri Şekil 4.6'da gösterilmiştir. MDA seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı seviyelerde yükselmiştir ($p < 0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı azalmalar oluşmuştur ($p < 0.05$). COST grupları kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise anlamlı bir farklılık oluşmamıştır.



Şekil 4.6. Renal I/R modelindeki akciğer MDA seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Böbrek Myeloperoksidaz Değerleri

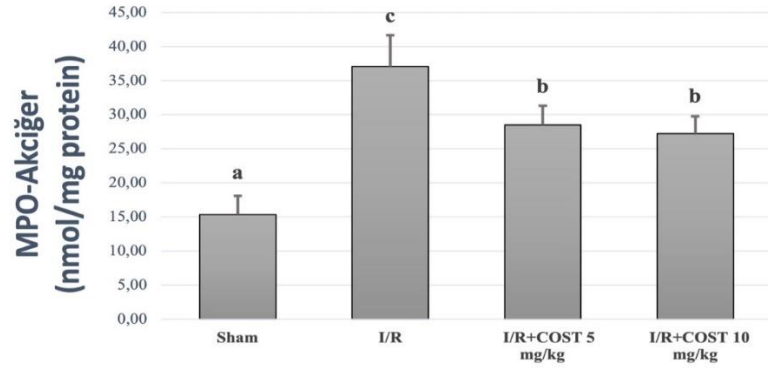
Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki böbrek MPO düzeyleri Şekil 4.7’de gösterilmiştir. MPO seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($p<0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı azalmalar oluşmuştur ($p<0.05$). COST grupları kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise anlamlı bir farklılık oluşmamıştır.



Şekil 4.7. Renal I/R modelindeki böbrek MPO seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p<0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Akciğer Myeloperoksidaz Değerleri

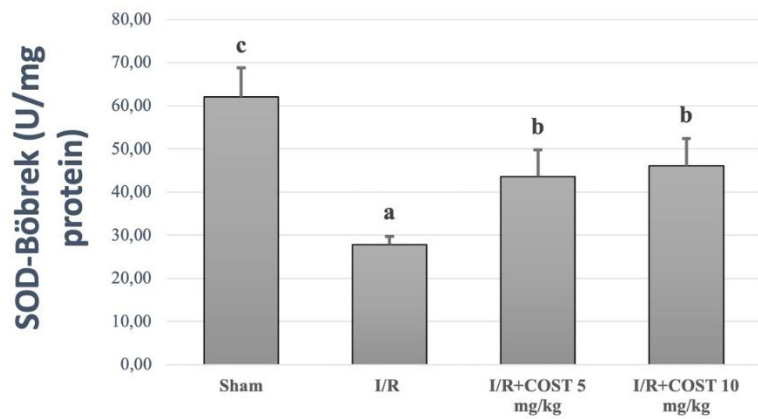
Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki akciğer MPO düzeyleri Şekil 4.8’de gösterilmiştir. MPO seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı düzeylerde artış göstermiştir ($p<0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı azalmalar oluşmuştur ($p<0.05$). COST grupları kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise anlamlı bir farklılık oluşmamıştır.



Şekil 4.8. Renal I/R modelindeki akciğer MPO seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p<0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Böbrek Süperoksit Dismutaz Değerleri

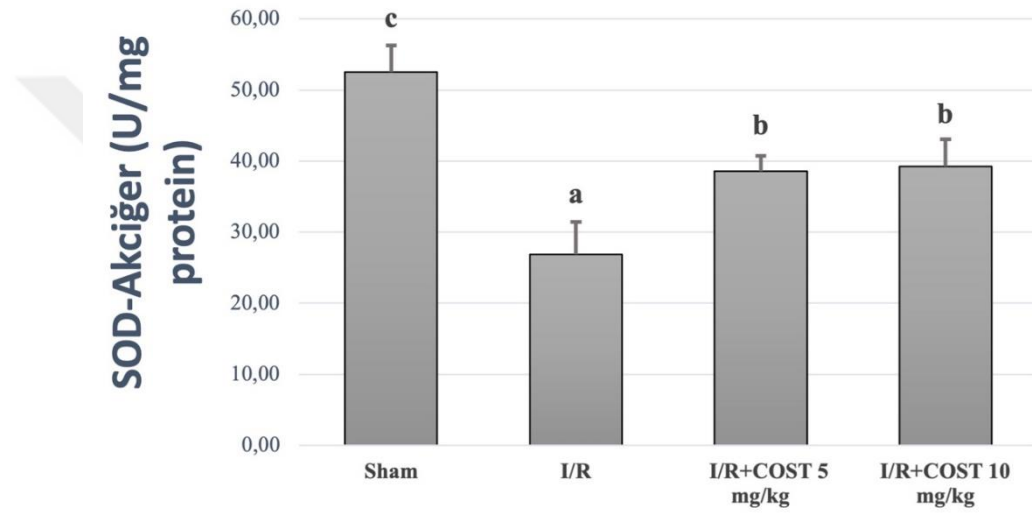
Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki böbrek SOD düzeyleri Şekil 4.9’de gösterilmiştir. SOD seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı düzeylerde azalmıştır ($p<0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı artış oluşmuştur ($p<0.05$). COST grupları kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise anlamlı bir farklılık oluşmamıştır.



Şekil 4.9. Renal I/R modelindeki böbrek SOD seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p<0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Akciğer Süperoksit Dismutaz Değerleri

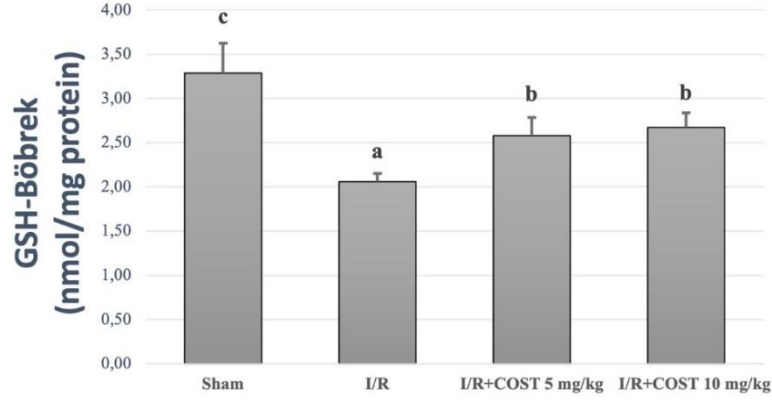
Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki akciğer SOD düzeyleri Şekil 4.10'da gösterilmiştir. SOD seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı seviyelerde düşüş göstermiştir ($p<0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı artış oluşmuştur ($p<0.05$). COST grupları kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise anlamlı bir farklılık oluşmamıştır.



Şekil 4.10. Renal I/R modelindeki akciğer SOD seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p<0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Böbrek Glutasyon Değerleri

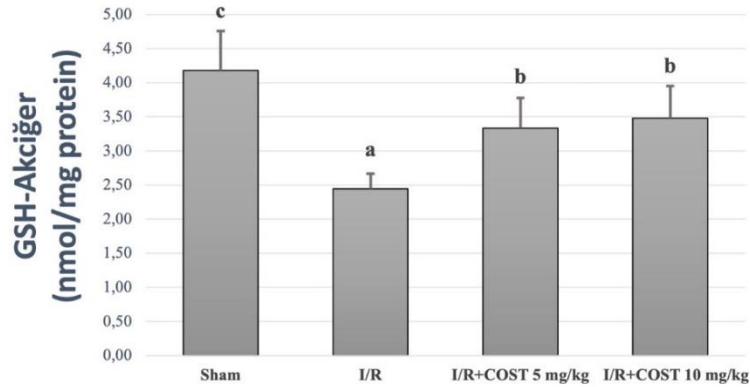
Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki böbrek GSH düzeyleri Şekil 4.11'de gösterilmiştir. GSH seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı düzeylerde düşmüştür ($p<0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı artış oluşmuştur ($p<0.05$). COST grupları kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise anlamlı bir farklılık oluşmamıştır.



Şekil 4.11. Renal I/R modelindeki böbrek GSH seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Renal İskemi Reperfüzyon Modelindeki Akciğer Glutasyon Değerleri

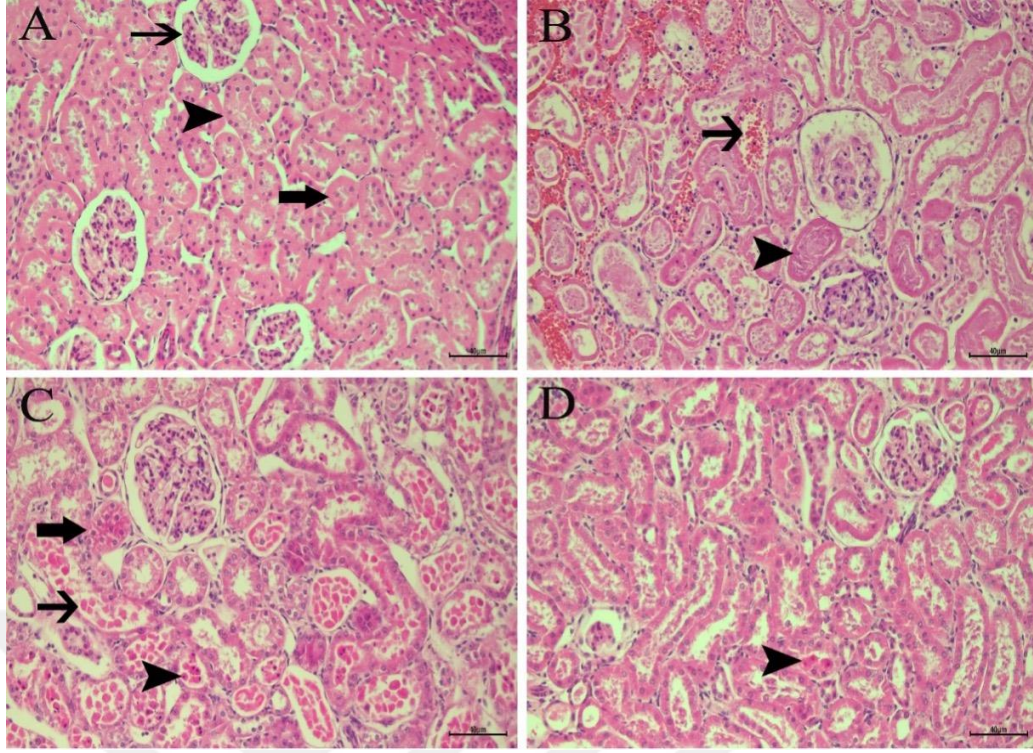
Sıçanlarda oluşturulan I/R modelindeki akciğer GSH düzeyleri Şekil 4.12’de gösterilmiştir. GSH seviyeleri sham grubuna kıyasla I/R grubunda anlamlı seviyelerde azalmıştır ($p < 0.05$). Düşük ve yüksek doz (COST 5mg ve 10 mg) kullanılan gruplarda ise I/R grubuna kıyasla anlamlı artış oluşmuştur ($p < 0.05$). COST grupları kendi aralarında mukayese edildiklerinde ise anlamlı bir farklılık oluşmamıştır.



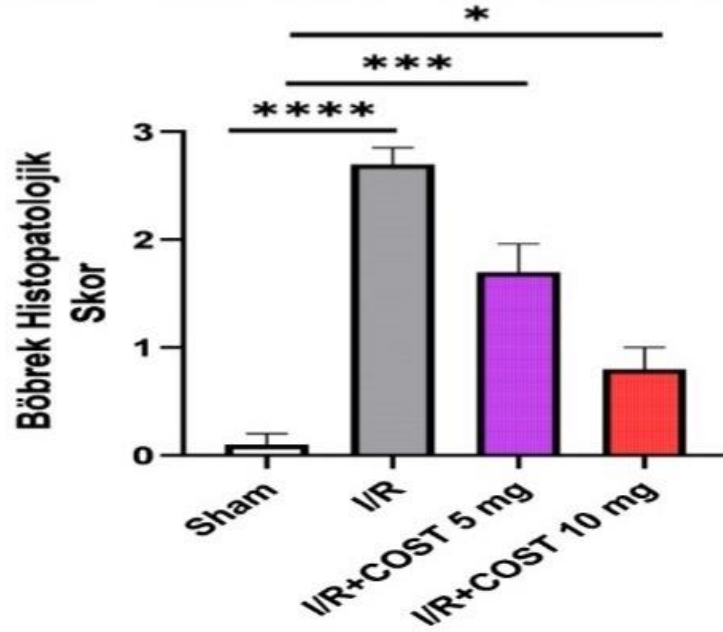
Şekil 4.12. Renal I/R modelindeki akciğer GSH seviyeleri. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar, one way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel açıdan $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak değerlendirildi. Aynı sütunda aynı harfle yazılan ortalamalar, Duncan testinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Histopatolojik Bulgular

Şekil 4.13'te çalışmadaki böbrek dokularına ait histopatolojik bulgular ve şekil 4.14'te böbrek dokularına ait histopatolojik skor görülmektedir. Sham grubundaki sıçanların böbrek dokusunda herhangi bir histopatolojik değişikliğe rastlanmadı (Şekil 4.13A). I/R grubundaki sıçanların böbrek dokularında proksimal ve distal tübüllerde dejenerasyon ile yoğun piknotik ve karyolitik çekirdekli epitel hücreleri gözlemlendi. Ayrıca glomerüller yumakta da yoğun nekroza rastlandı. En çok etkilenen bölge kortikal ve krotikomedüller sınırdı. Etkilenen tübüllerin lümenleri pul pul dökülmüş, nekrotik hücreler ve granüler eozinofilik kalıntılar içeriyordu. I/R grubundaki sıçanların böbreklerinde ayrıca intertübüler alanda yoğun kanamaya rastlandı (Şekil 4.13B). I/R+COST 5 mg/kg grubunda dejeneratif ve nekrotik değişiklikler azalsa da tübül epitelleri ve lümenlerinde piknotik ve karyolitik şekillenmiş hücre grupları gözlemlendi. Kanama I/R uygulanan gruba göre oldukça azdı (Şekil 4.13C). I/R+COST 10 mg/kg grubunda I/R ve I/R+COST 5 mg/kg gruplarına kıyasla dejeneratif ve nekrotik çekirdekli tübül epitel hücreleri oldukça azalmıştır (Şekil 4.13D).

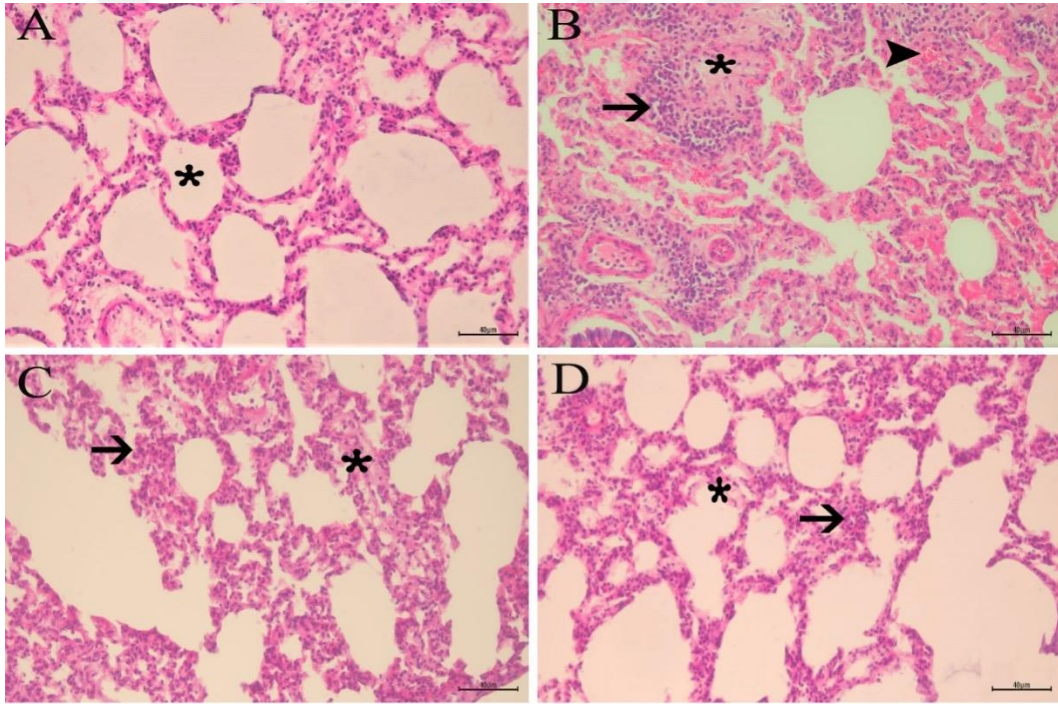


Şekil 4.13. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait histopatolojik değişiklikler. A) Sham grubu, Normal glomerulus (ince ok), distal (kalın ok) ve proksimal tübüller (ok başı). B) I/R grubu, şiddetli koagülasyon nekrozu (ok başı) ve kanama (ok). C) I/R+COST 5 mg/kg grubu, orta şiddette piknotik (ok başı) ve karyolitik (ince ok) çekirdekli tübül epitelleri ve hidropik dejenerasyon (kalın ok). D) I/R+COST 10 mg/kg grubu, hafif piknotik çekirdekli tübül epitelleri (ok başı), (HE×40µm).

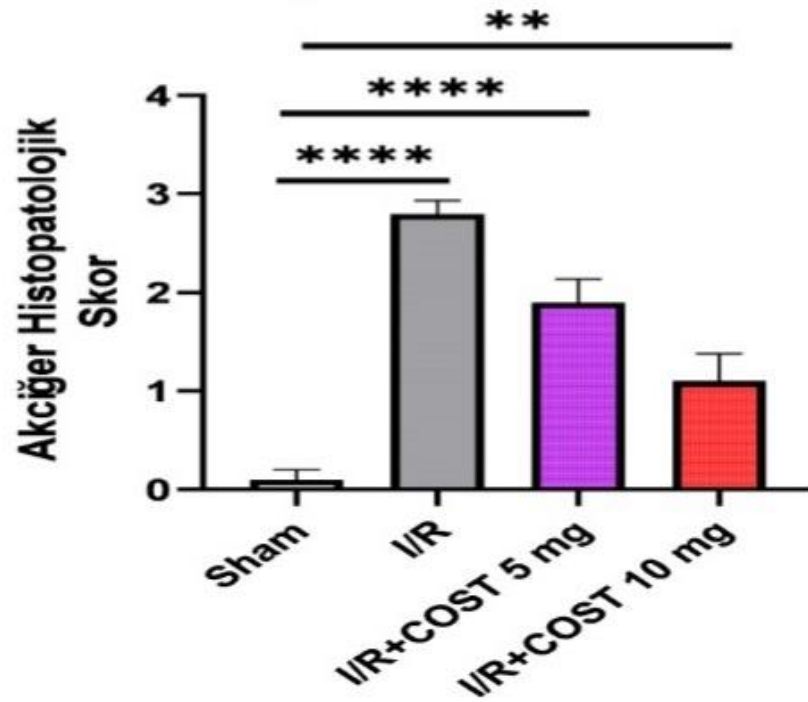


Şekil 4.14. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait histopatoloji skoru. Veriler ortalama±SEM olarak gösterildi. *P, ***P, ****P<0.05, Sham grubuna göre I/R, I/R+COST 5 mg/kg, I/R+COST 10 mg/kg gruplarının farklılığı.

Şekil 4.15'te çalışmadaki akciğer dokularına ait histopatolojik bulgular ve şekil 4.16'da akciğer dokularına ait histopatolojik skor görülmektedir. Sham grubundaki sıçanların sağlam bir akciğer doku yapısı ve açık alveolar boşluk yapısı vardı. Alveolar septumda ödem, yangısal hücre infiltrasyonu ve kanama gözlenmedi (Şekil 4.15A). I/R uygulanan gruptaki sıçanların akciğer dokularında yoğun yangısal hücre infiltrasyonu, interstisyel dokuda ve alveolar septumda yoğun ödem ile kanama gözlemlendi (Şekil 4.15B). I/R+COST 5 mg/kg grubundaki sıçanların akciğer dokusunda orta yoğunlukta yangısal hücre infiltrasyonu ve alveolar septumda ödem tespit edildi (Şekil 4.15C). I/R+COST 10 mg/kg grubunda I/R ve I/R+COST 5 mg/kg gruplarına göre daha hafif düzeyde yangı ve ödeme rastlandı ve alveolar açıklığın normal görünümüne yaklaştığı gözlemlendi (Şekil 4.15D).



Şekil 4.15. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait histopatolojik değişiklikler. A) Sham grubu, normal alveolar yapı. B) I/R grubu, interalveoler alanda yoğun hücresel infiltrasyon (ok), interalveoler ödem (yıldız) ve hiperemi (ok başı). C) I/R+COST 5 mg/kg grubu, orta şiddette interalveoler ödem (yıldız) ve yangısal hücre infiltrasyonu (ok). E) I/R+COST 10 mg/kg grubu, hafif ödem (yıldız) ve yangısal hücre infiltrasyonu (ok), (HE × 40µm).

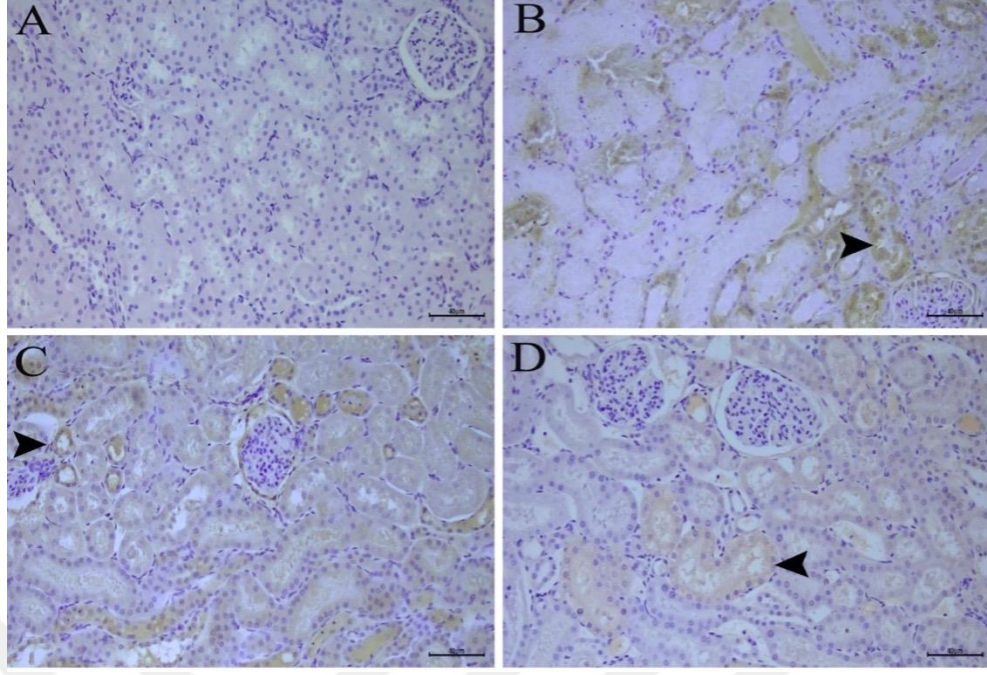


Şekil 4.16. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait histopatoloji skoru. Veriler ortalama ± SEM olarak gösterildi. **P, ****P<0.05, Sham grubuna göre I/R, I/R+COST 5 mg/kg, I/R+COST 10 mg/kg gruplarının farklılığı.

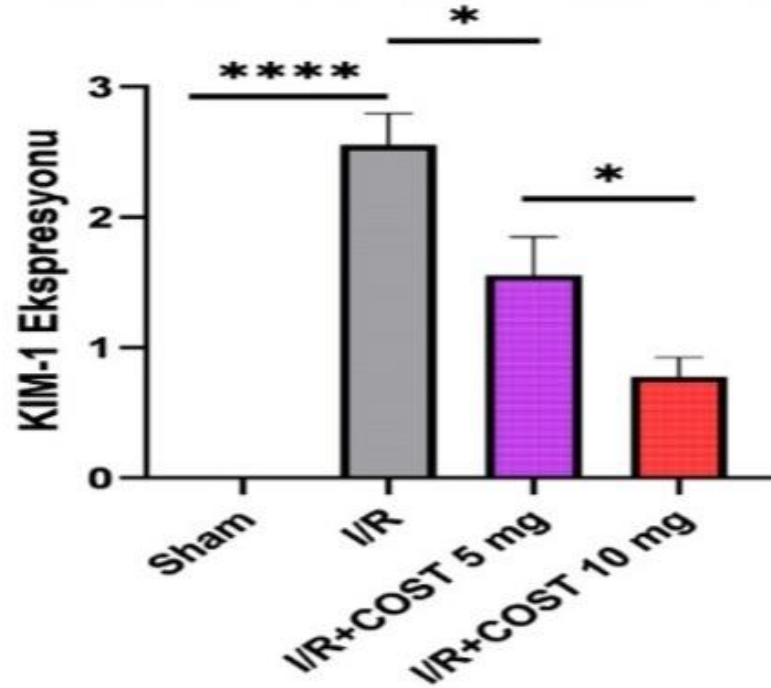
İmmünohistokimyasal Bulgular

Böbrek dokusunda KIM-1, 8-OHdG, kaspaz-3 ve LC3B ekspresyonlarını belirlemek için immünohistokimyasal boyama yapıldı.

Şekil 4.17’de çalışmadaki böbrek dokularında gözlenen KIM-1 ekspresyonu ve şekil 4.18’de böbrek dokularına ait KIM-1 ekspresyon skoru gösterilmektedir. KIM-1 ekspresyonuna sham grubundaki sıçanların böbrek dokusunda rastlanmadı (Şekil 4.17A). I/R grubundaki sıçanların esas olarak renal tübüler epitel hücrelerinde ve interstisyel hücrelerinde yoğun KIM-1 ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.17B). I/R+COST 5 mg/kg tedavisi sonrası KIM-1 ekspresyonu önemli düzeyde azaldı (Şekil 4.17C). I/R+COST 10 mg/kg grubundaki KIM-1 ekspresyonu I/R+COST 5 mg/kg grubuna göre önemli düzeyde düşüktü (Şekil 4.17D).

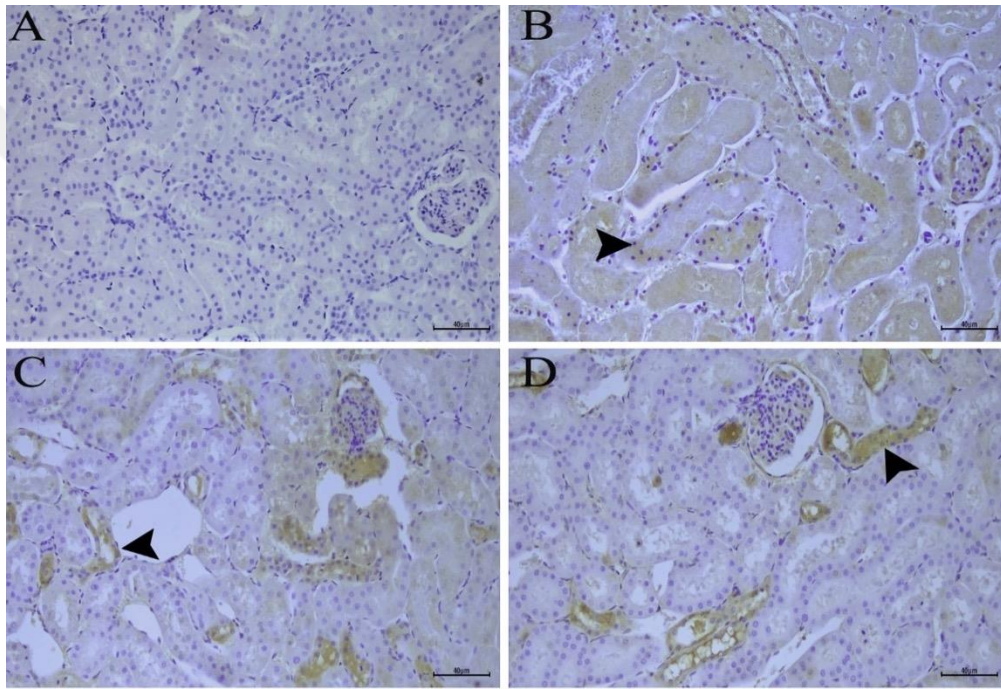


Şekil 4.17. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait KIM-1 ekspresyonu A) Sham grubu, B) I/R grubu, C) I/R+COST 5 mg/kg grubu, D) I/R+COST 10 mg grubu. Ok başı KIM-1 pozitif tübül epitellerini gösterir, IHCx40µm. Histogram her gruptaki pozitif hücrelerin yoğunluğunu ifade eder, n=10.

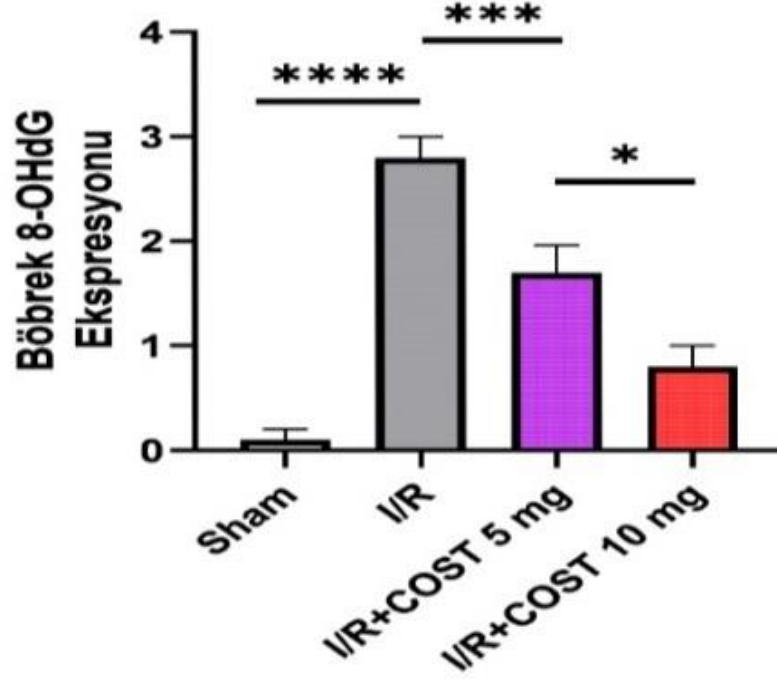


Şekil 4.18. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait KIM-1 ekspresyonu skoru. Veriler ortalama±SEM olarak gösterildi. Sham grubu ile karşılaştırıldığında ****p<0.05; I/R grubuyla karşılaştırıldığında *p<0.05, I/R+COST 5 mg/kg grubuyla karşılaştırıldığında *p<0.05.

Şekil 4.19’da çalışmadaki böbrek dokularında gözlenen 8-OHdG ekspresyonu ve şekil 4.20’de böbrek dokularına ait 8-OHdG ekspresyonu skoru gösterilmektedir. Sham grubu (Şekil 4.19A) ile karşılaştırıldığında, I/R grubundaki sıçanların böbreklerinde (Şekil 4.19B) 8-OHdG ekspresyonunda artış gözlemlendi ($p<0.05$). COST uygulaması, böbrek dokularında 8-OHdG ekspresyonunda I/R aracılı artışı önemli düzeyde azalttı ($p<0.05$). Ayrıca I/R+COST 10 mg/kg grubundaki (Şekil 4.19C) 8-OHdG ekspresyonu I/R+COST 5 mg/kg grubuna (Şekil 4.20D) göre önemli düzeyde düşüktü ($p<0.05$).

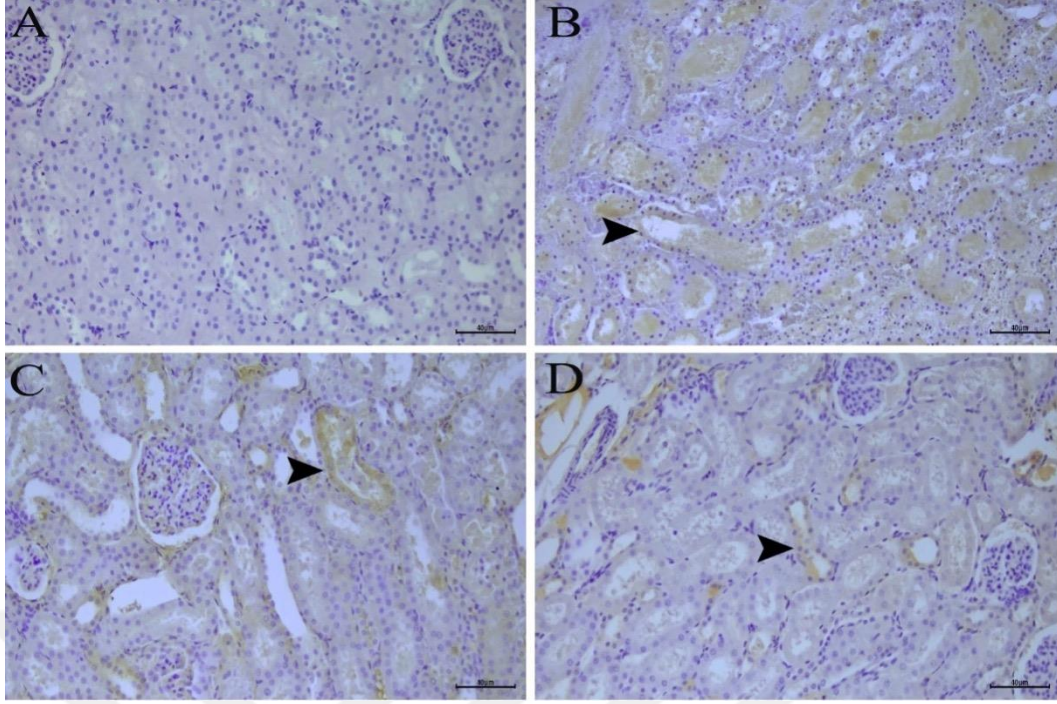


Şekil 4.19. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait 8-OHdG ekspresyonu. A) Sham grubu, B) I/R grubu C) I/R+COST 5 mg/kg grubu; D) I/R+COST 10 mg/kg grubu. Ok başı 8-OHdG pozitif tübül epitellerini gösterir, IHCx40µm. Histogram her gruptaki pozitif hücrelerin yoğunluğunu ifade eder, n=10.

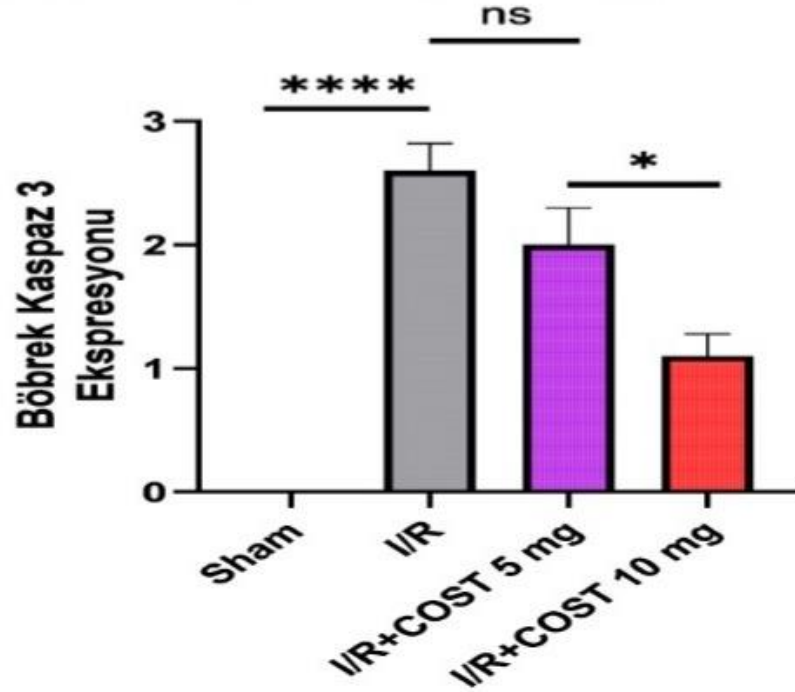


Şekil 4.20. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait 8-OHdG ekspresyonu skoru. Veriler ortalama±SEM olarak gösterildi. Sham grubu ile karşılaştırıldığında ****p<0.05; I/R grubuyla karşılaştırıldığında ***p<0.05, I/R+COST 5 mg/kg grubuyla karşılaştırıldığında *p<0.05.

Apoptozisin hafifletilmesinde COST'un rolünü göstermek için kaspaz-3 ekspresyonu immünohistokimya ile incelendi. Şekil 4.21'de çalışmadaki böbrek dokularında gözlenen kaspaz-3 ekspresyonu ve 4.22'de böbrek dokularına ait kaspaz-3 ekspresyonu skoru gösterilmektedir. Kaspaz-3 ekspresyonu, sham grubundaki sıçanların böbrek dokusunda gözlenmedi (Şekil 4.17A). I/R grubunda proksimal ve distal tübüllerde yoğun kaspaz-3 ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.17B). Öte yandan, I/R+COST 5 mg/kg grubundaki böbrek dokusunda kaspaz-3 ekspresyonu azalmasına rağmen I/R grubuyla anlamlı bir farklılık göstermedi (Şekil 4.17C, p>0.05). I/R+COST 10 mg/kg grubundaki kaspaz-3 ekspresyonu I/R ve I/R+COST 5 mg/kg gruplarına göre belirgin şekilde azaldı (Şekil 4.17D, p<0.05).



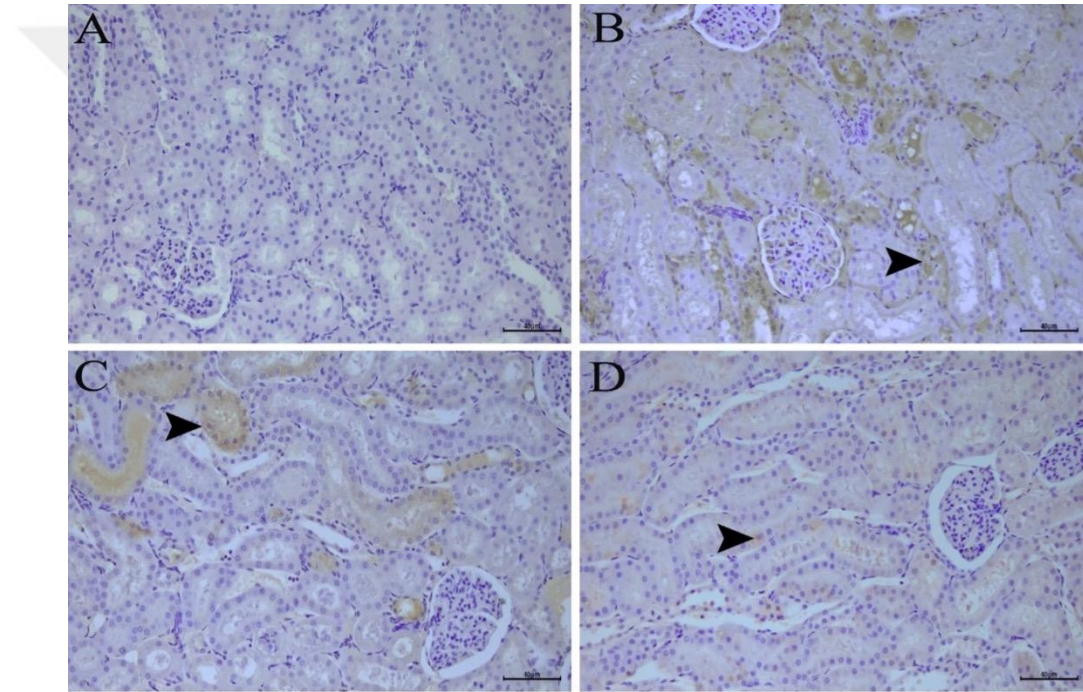
Şekil 4.21. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait kaspaz-3 ekspresyonu. A) Sham grubu B) I/R grubu, C) I/R+COST 5 mg/kg grubu, D) I/R+COST 10 mg/kg grubu. Ok başı kaspaz-3 pozitif tübül epitellerini gösterir, IHCx40µm. Histogram her gruptaki pozitif hücrelerin yoğunluğunu ifade eder, n=10.



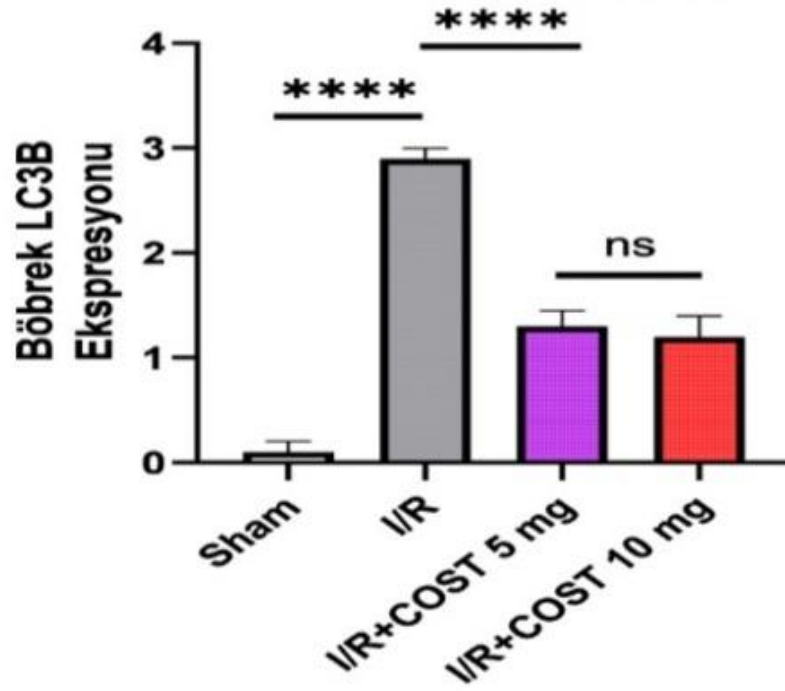
Şekil 4.22. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait kaspaz-3 ekspresyonu skoru.

Veriler ortalama±SEM olarak gösterildi. Sham grubu ile karşılaştırıldığında ****p<0.05, I/R grubuyla karşılaştırıldığında ns: fark yok, I/R+COST 5 mg/kg grubuyla karşılaştırıldığında *p<0.05.

Şekil 4.23'te çalışmadaki böbrek dokularında gözlenen LC3B ekspresyonu ve şekil 4.24'te böbrek dokuların ait LC3B ekspresyonu skoru gösterilmektedir. LC3B ekspresyonu I/R uygulanan sıçanların böbreklerinde sham grubuna (Şekil 4.23A) göre belirgin şekilde yükseldi ($p<0.05$). Aksine, COST uygulaması I/R hasarı olan sıçanların böbreklerinde (Şekil 4.23B) LC3B ekspresyonunu önemli ölçüde azalttı ($p<0.05$). I/R+COST 10 mg/kg grubundaki (Şekil 4.23C) LC3B ekspresyonu, I/R+COST 5 mg/kg grubuna (Şekil 4.23D) göre daha fazla azalmasına rağmen aralarında anlamlı bir fark tespit edilemedi ($P>0.05$).



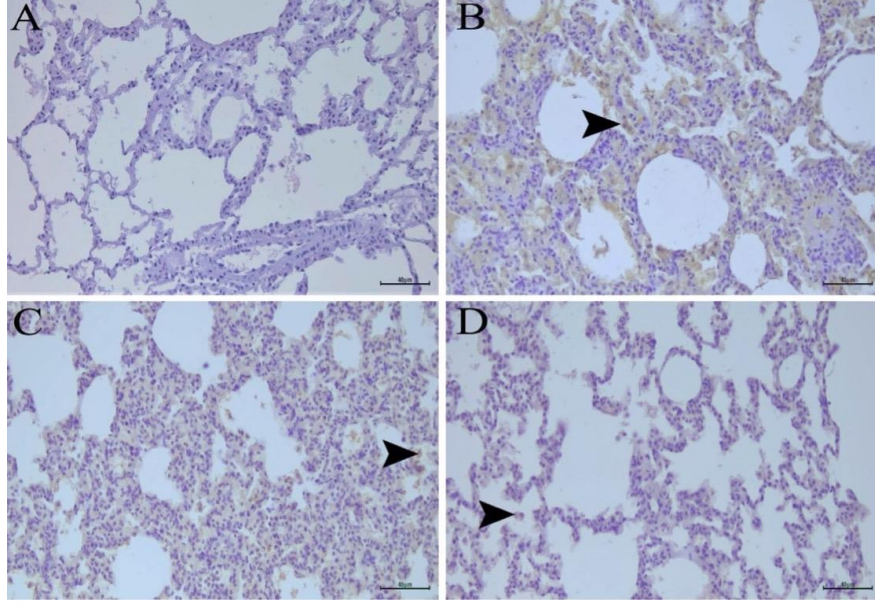
Şekil 4.23. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait LC3B ekspresyonu. A) Sham grubu, B) I/R grubu. C) I/R+COST 5 mg/kg grubu, D) I/R+COST 10 mg/kg grubu. Ok başı LC3B pozitif tübül epitellerini gösterir, IHCx40 μ m. Histogram her gruptaki pozitif hücrelerin yoğunluğunu ifade eder, n=10.



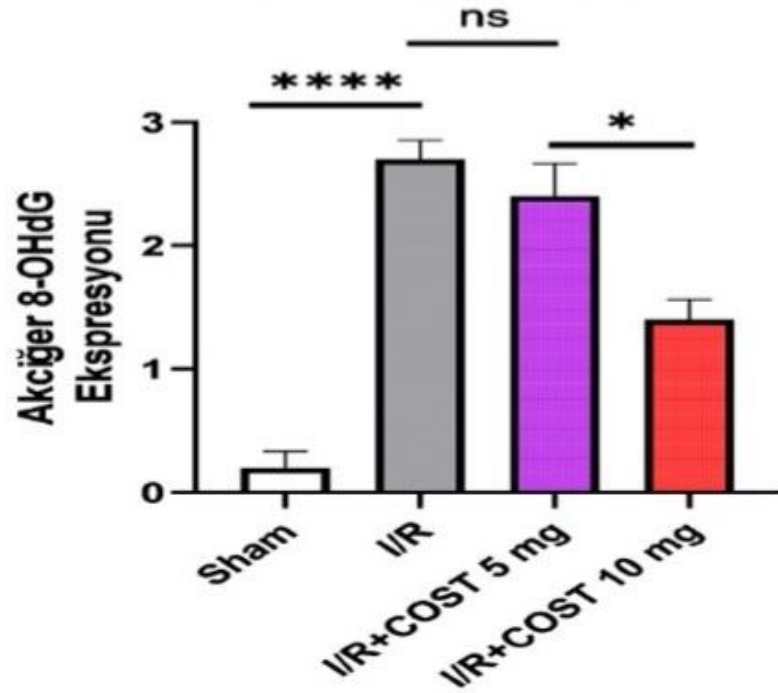
Şekil 4.24. Renal I/R modelindeki böbrek dokularına ait LC3B ekspresyonu skoru. Veriler ortalama±SEM olarak gösterildi. Sham grubu ve I/R karşılaştırıldığında **** $p<0.05$, I/R+COST 5 mg/kg grubuyla karşılaştırıldığında ns: fark yok.

Çalışmamızdaki akciğer doku örneklerinde 8-OHdG, kaspaz-3 ve LC3B ekspresyonlarını belirlemek için immünohistokimyasal boyama yapıldı.

Şekil 4.25'te çalışmadaki akciğer dokularında gözlenen 8-OHdG ekspresyonu ve şekil 4.26'da akciğer dokularına ait 8-OHdG ekspresyonu skoru gösterilmektedir. 8-OHdG ekspresyonu olan alveolar hücre sayısı, I/R grubunda sham grubuna göre daha yüksekti (Şekil 4.25A ve 4.25B, $p<0.05$). I/R+COST 5 mg/kg grubundaki 8-OHdG ekspresyonu I/R grubuna göre düşük olmasına rağmen anlamlı bir fark tespit edilemedi (Şekil 4.25C, $p>0.05$). I/R+COST 10 mg/kg grubu alveolar hücrelerindeki 8-OHdG ekspresyonu I/R ve I/R+COST 5 mg/kg gruplarına göre önemli ölçüde düşüktü (Şekil 4.25D, $p<0.05$).

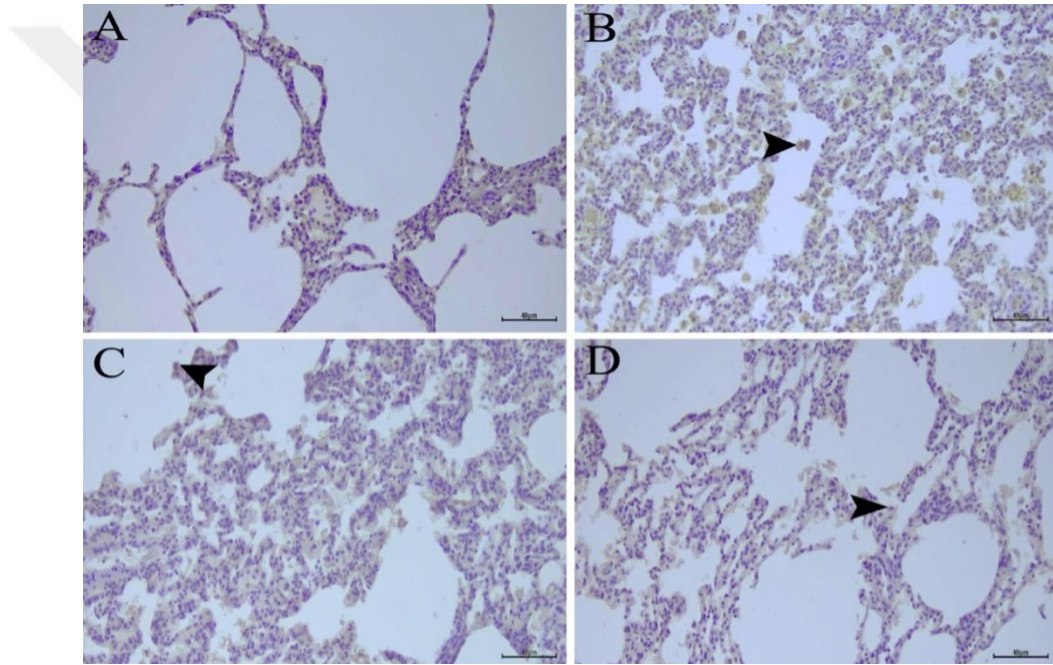


Şekil 4.25. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait 8-OHdG ekspresyonu. A) Sham grubu B) I/R grubu, C) I/R+COST 5 mg/kg grubu, D) I/R+COST 10 mg/kg grubu. Ok başı 8-OHdG interalveolar ve alveolar bölgedeki yangısal hücrelerdeki pozitifliği gösterir, IHCx40µm. Histogram her gruptaki pozitif hücrelerin yoğunluğunu ifade eder. n=10.

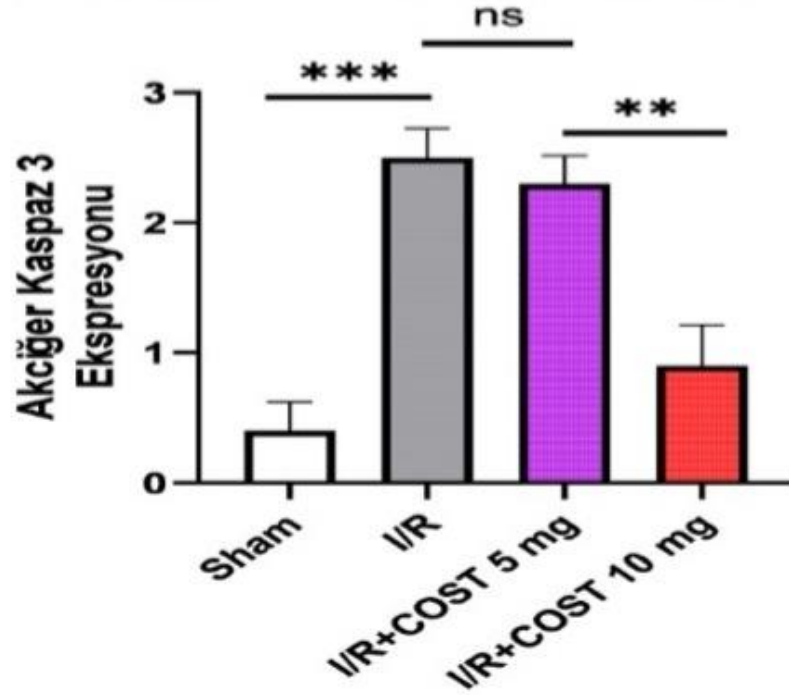


Şekil 4.26. Renal I/R modelindeki akciğer dokuları ait 8-OHdG ekspresyonu skoru. Veriler ortalama±SEM olarak gösterildi. Sham grubu ile karşılaştırıldığında ****p<0.05, I/R grubuyla karşılaştırıldığında ns: fark yok, I/R+COST 5 mg/kg grubuyla karşılaştırıldığında *p<0.05.

Şekil 4.27’de çalışmadaki akciğer dokularında gözlenen kaspaz-3 ekspresyonu ve şekil 4.28’de akciğer dokularına ait kaspaz-3 ekspresyonu skoru gösterilmektedir. Kaspaz-3 ekspresyonu I/R uygulanan sıçanların alveoler hücrelerinde sham grubuna (Şekil 4.27A) göre belirgin şekilde yükseldi ($p<0.05$). I/R+COST 5 mg/kg grubundaki akciğer alveolar hücrelerinde kaspaz-3 ekspresyonu azalmasına rağmen I/R uygulanan gruba göre anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 4.27C, $p>0.05$). I/R+COST 10 mg/kg grubundaki (Şekil 4.27D) kaspaz-3 ekspresyonu her iki gruba göre önemli ölçüde düşüktü ($p<0.05$).

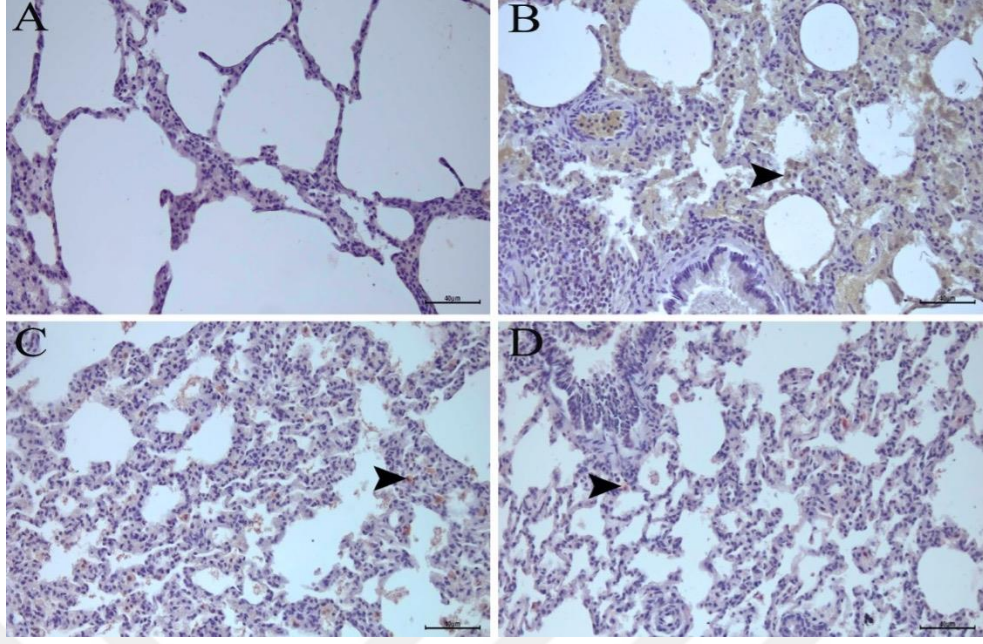


Şekil 4.27. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait kaspaz-3 ekspresyonu. A) Sham grubu B) I/R grubu, C) I/R+COST 5 mg/kg grubu, D) I/R+COST 10 mg/kg grubu. Ok başı kaspaz-3 interalveoler ve alveolar bölgedeki yangısal hücrelerdeki pozitifliği gösterir, IHCx40µm. Histogram her gruptaki pozitif hücrelerin yoğunluğunu ifade eder. n=10.

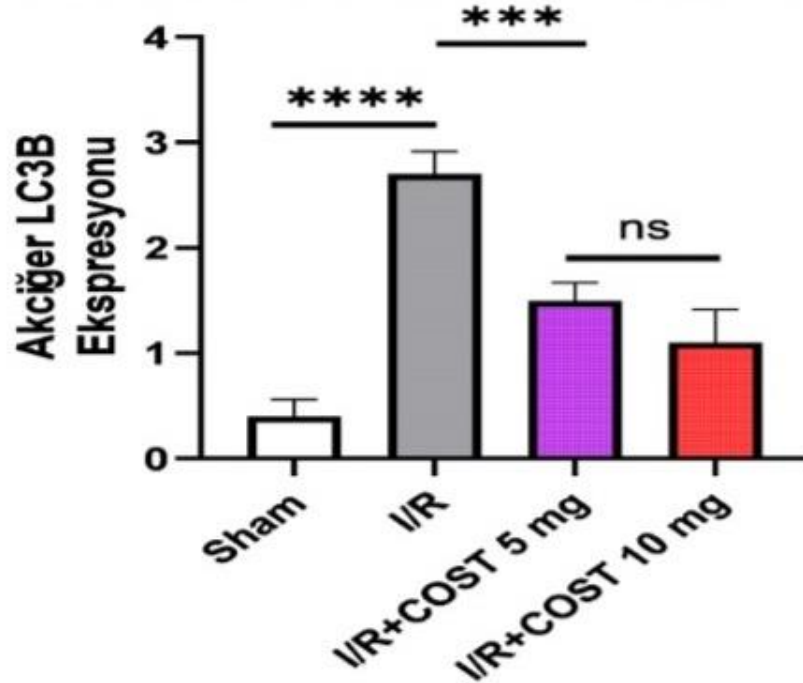


Şekil 4.28. Renal I/R modelindeki akciğer dokuların ait kaspaz-3 ekspresyonu skoru. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak gösterildi. Sham grubu ile karşılaştırıldığında *** p <0.05, I/R grubuyla karşılaştırıldığında ns: fark yok, I/R+COST 5 mg/kg grubuyla karşılaştırıldığında ** p <0.05.

Şekil 4.29'da çalışmadaki akciğer dokularında gözlenen LC3B ekspresyonu ve şekil 4.30'da akciğer dokuların ait LC3B ekspresyonu skoru gösterilmektedir. LC3B ekspresyonu olan yangısal hücre sayısı, I/R grubunda sham grubuna göre daha yüksekti (Şekil 4.29A ve 4.29B, p <0.05). COST uygulaması, I/R grubu akciğer interstisyel hücrelerinde LC3B ekspresyonunu önemli ölçüde azalttı (p <0.05). I/R+COST 10 mg/kg grubu (Şekil 4.29D) LC3B ekspresyonunu I/R+COST 5 mg/kg grubuna (Şekil 4.29C) göre azaltmasına rağmen aralarında anlamlı bir fark tespit edilemedi (P >0.05).



Şekil 4.29. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait LC3B ekspresyonu. A) Sham grubu B) I/R grubu, C) I/R+COST 5 mg/kg grubu, D) I/R+COST 10 mg/kg grubu. Ok başı 8-OHdG interalveoler ve alveolar bölgedeki yangısal hücrelerdeki pozitifliği gösterir, IHCx40μm. Histogram her gruptaki pozitif hücrelerin yoğunluğunu ifade eder. n=10.



Şekil 4.30. Renal I/R modelindeki akciğer dokularına ait LC3B ekspresyonu skoru. Veriler ortalama±SEM olarak gösterildi. Sham grubu ile karşılaştırıldığında ****p<0.05, I/R grubuyla karşılaştırıldığında ***p<0.05, I/R+COST 5 mg/kg grubuyla karşılaştırıldığında ns: fark yok.

5. TARTIŞMA

ABH, çeşitli nedenlere bağlı olarak böbreğin işlevinde ani bir değişiklik olarak betimlenir. Tipik olarak, serum kreatinin konsantrasyonunda bir artış ve/veya hastanın idrar çıkışında bir azalma evrensel olarak en çok bilinen tanımdır.²⁶ Bu ölçülebilir sonuçlar, bir hastanın ABH'nın klinik özelliklerine sahip olup olmadığını tanımlar. Bununla birlikte, bize hasarın kendisine yol açan altta yatan neden veya mekanizmalar hakkında çok az şey söyler. ABH'nın en yaygın nedenleri arasında hipovolemi, nefrotoksik ilaçlar, iskemi ve akut glomerülonefrit bulunur.^{174, 175}

Renal I/R hasarı ABH'nın ve hatta akut böbrek yetmezliğinin temel sebebidir.⁶ Renal I/R hasarına bağlı renal kan akımındaki değişiklikler sonucu ABH meydana gelebilir ve bu da oksidatif stresi artırabilir.¹⁰ Oksidatif stres, erken I/R hasarının önemli bir sürecidir.¹⁷⁶ Aşırı ROS, erken dönem I/R hasarının kilit elemanıdır. Süper oksit gibi ROS ürünleri DNA hasarı, lipid ve protein peroksidasyonu gibi oksidatif hasarlara yol açarlar.^{177, 178} MDA ve ROS birikimi ve GSH ile SOD aktivitesinin inhibisyonu oksidan/antioksidan sistem dengesinin bozulmasına ve oksidatif stres hasarı oluşmasına neden olur.¹⁷⁹ Bu yüzden oksidatif stres renal I/R hasarı oluşumunda anahtar rol oynar.¹⁸⁰

MDA ve MPO seviyeleri, renal I/R'na bağlı olarak artar.^{181, 182} MDA, oksidatif strese önemli bir faktör olarak kabul edilir ve hücreler ile dokular üzerinde toksik etkileri vardır.¹⁸³ Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA, COST'in protektif etkilerinin araştırıldığı etanol ile indüklenen bir gastrik ülser fare modelinde anlamlı olarak azalmıştır.¹⁶⁴ Kolit oluşturulan farelerle yapılan bir deneyde nötrofil infiltrasyonunun bir belirteci olan MPO aktivitesi, COST uygulaması ile düşüş göstermiştir.¹⁹ Akciğer hasarı oluşturulan bir fare modelinde COST uygulanması sonucu MPO aktivitesinde azalma kaydedilmiştir.¹⁶⁹ Yine akciğerde fibrozis oluşturulan bir fare çalışmasında COST tatbiki sonucunda MDA düzeyleri düşmüştür.¹⁸³

Bizim çalışmamızda renal I/R hasarı sonucu böbrek ve akciğer dokularında yükselen MPO ve MDA düzeyleri, düşük ve yüksek doz COST uygulanan gruplarda (5 ve 10 mg/kg COST) anlamlı olarak azalmıştır. Bulgularımız mevcut hali ile literatür ile uyumludur. Ancak her iki doku örneğinde de düşük ve yüksek doz COST kullanımı ile MPO ve MDA düzeylerindeki düşüş arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamıştır.

Bir antioksidan olan SOD süperoksit radikallerini ayrıştırır. SOD ile bağlantılı olan GSH, oksidatif stresin düzenlenmesinde rol alır.¹⁸³ GSH ve SOD enzimleri aşırı ROS üretimini düşürerek I/R ile indüklenen renal I/R hasarını azaltırlar.¹⁸⁴ Sıçanlarda streptozosin ile indüklenen bir diyabet modelinde oluşan oksidatif strese bağlı düşen GSH ve SOD seviyeleri, COST kullanımına bağlı olarak artış göstermiştir.¹⁶³ Pulmoner fibrozis oluşturulan bir fare modelinde COST uygulanarak GSH ve SOD düzeylerinde yükselme elde edilmiştir.¹⁸³

Elde ettiğimiz sonuçlara göre renal I/R hasarı sonucu böbrek ve akciğer dokularında düşüş gösteren GSH ve SOD düzeyleri, düşük ve yüksek doz COST uygulanan gruplarda (5 ve 10 mg/kg COST) anlamlı olarak artmıştır. Bulgularımız yukarıdaki COST ile ilgili literatür çalışmaları ile uyumludur. Fakat doku örneklerindeki incelemede düşük ve yüksek doz COST kullanılan gruplardaki GSH ve SOD parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamıştır.

Doğal immün aktivasyon ve oksidatif stres dahil olmak üzere ABH'nın erken patofizyolojik sürecinde yer alan I/R hasarının hücresel olayları ve moleküler mekanizmaları oldukça karmaşıktır.¹⁸⁵ I/R hasar uyarımı başlangıçta böbrekteki immün hücreler tarafından saptanır ve bu hücreler TNF- α , IL-6, IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinler salgılar.¹⁸⁶ Farelerde etanol ile indüklenen bir gastrik ülser çalışmasında COST kullanımı sonucu TNF- α seviyelerinde düşüş meydana gelmiştir.¹⁶⁴ Farelerde oluşturulan

ülseratif kolite karşı COST'ın protektif etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada uygulanan COST, proinflatuvar sitokinler olan IL-1 β , IL-6 ve TNF- α 'yı düşürerek inflamatuvar yanıtı azaltmıştır.¹⁹

Akut karaciğer hasarı oluşturulan farelerde yapılan bir çalışmada COST uygulaması sonucu IL-1 β ve TNF- α düzeyleri azalmıştır.¹⁸⁷ COST ayrıca bir başka çalışmada lipopolisakkarit ile indüklenen IL-1 β artışını inhibe etmiştir.¹⁸⁸ Akut akciğer hasarı oluşturulan bir fare modelinde COST, TNF- α ekspresyonunu azaltmıştır.¹⁶⁹ Astım modeli yapılan farelerde COST, TNF- α ile indüklenen kemokinlerin ekspresyonunu inhibe ederek akciğer inflamasyonunu azaltırken¹⁷⁰ Liu ve arkadaşlarının fareler üzerinde pulmoner fibrozis oluşturarak yaptıkları bir çalışmada COST IL-6 düzeylerini düşürmüştür.¹⁸³

Mevcut çalışmamızdaki serum IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeyleri, COST kullanımı ile düşüş göstermiştir. Yukarıdaki literatür örnekleri ile mukayese edildiğinde COST, mevcut çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak anti-inflatuvar etkinlik gösterip proinflatuvar sitokin düzeylerini azaltmıştır. Ayrıca düşük ve yüksek doz COST kullanılan gruplarda da bu düşüş doza bağlı olarak anlamlı şekilde farklıdır. Çalışmamızda ayrıca serum IL-10 düzeylerinde COST kullanımına bağlı azalma oluşmuş, ancak bu azalma düşük ve yüksek doz COST grupları arasında fark göstermemiştir.

IL-10 proinflatuvar sitokinlere karşı anti-inflatuvar bir etkinliğe sahip olan bir sitokindir ve ilk bakışta düşmesi, beklenen bir sonuç gibi durmamaktadır. Ancak COST'ın yukarıda literatürden verdiğimiz örneklerde de görüldüğü üzere güçlü bir anti-inflatuvar olduğu bilinmektedir. Bizim çalışmamızda da COST'ın IL-1 β , IL-6 ve TNF- α seviyelerinde meydana getirmiş olduğu düşüş, IL-10'un devreye girmesine ihtiyaç kalmamasının ve IL-10 ekspresyonundaki azalmanın sebebi olabilir.

Çalışmamızda doku örneklerinde yapılan incelemelerde böbrek dokularında H&E boyamada I/R hasarına bağlı meydana gelen dejeneratif ve nekrotik değişikliklerde düşük ve yüksek doz COST uygulaması sonucu iyileşme gözlemlendi. Yüksek doz COST kullanımındaki iyileşme ise düşük dozdan anlamlı olarak daha yüksekti. Akciğer dokularında yapılan incelemede ise yüksek ve düşük doz COST kullanılan gruplardaki alveolar septumda ödem ve yangısal hücre infiltrasyonunda anlamlı azalma kaydedilirken yüksek doz COST kullanılan gruptaki iyileşme düşük dozdan anlamlı olarak daha iyiydi. COST incelenen doku örneklerinde I/R hasarının histopatolojik etkilerini azaltırken kaydedilen iyileşme doza bağımlı olarak daha anlamlıydı.

Apoptozis geçici renal iskemi sırasında renal tübüler epitel hücrelerinin temel hücre ölüm yolağıdır.¹⁷⁶ Kaspaz-3 apoptoziste temel regülatör olarak değerlendirilir.¹⁸⁹ Literatürde renal I/R hasarı sonucu kaspaz-3 ekspresyonunda artış gözlenen çalışmalar mevcuttur.^{190, 191} Çalışmamızda COST kullanımına bağlı olarak akciğer ve böbrek dokularındaki kaspaz-3 seviyelerinde düşük doz COST grubunda anlamlı bir azalma olmamıştır. Ancak yüksek doz COST kullanılan grupta hem düşük doz grubu hem de I/R grubuna kıyasla kaspaz-3 seviyeleri anlamlı olarak azalarak COST'ın I/R hasarına bağlı gözlenen apoptozise karşı etkili olduğunu göstermiştir.

Otofaji hücre içi homeostazisin devamı için intraselüler komponentlerin indirgenmesinde rol alan fizyolojik bir süreçtir.¹⁹² Genel olarak, tümör hücrelerinde otofajinin aktivasyonu, dış mutajenik ortamlara karşı direnci arttırırken, aşırı aktivasyon tersine hücre ölümünü indükler.^{193, 194} LC3B, otofagozomlar için bir belirteç olarak kullanılabilir. Buna göre, LC3B'nin lizozomlarla birlikte sitoplazmadaki yerleşimi otofajinin derecesini değerlendirmek için tercih edilir.¹⁹⁵ Çalışmamızda incelenen akciğer ve böbrek dokularında I/R hasarına bağlı yükselen LC3B değerleri düşük ve yüksek doz kullanımına bağlı olarak azalmıştır. Ancak düşük ve yüksek doz arasında anlamlı bir fark

gözlenmemiştir. Buna rağmen COST kullanımı LC3B düzeylerinde anlamlı düşüş meydana getirerek I/R hasarında oluşan otofajiye karşı etkili olmuştur.

8-OHdG oksidatif stresin bir göstergesidir.¹⁹⁶ 8-OHdG'deki bir yükselme yalnızca oksidatif DNA hasarındaki artıştan değil, aynı zamanda onarım hızındaki düşüşten de kaynaklanabilir. DNA onarım sistemindeki nicel bir eksiklik, lökosit DNA'sında 8-OHdG birikimine neden olabilir.¹⁹⁷ Çalışmamızda böbrek dokularından alınan örneklerde düşük ve yüksek doz COST kullanımına bağlı olarak 8-OHdG ekspresyonunda anlamlı derecede azalma meydana geldi. Ayrıca düşük ve yüksek doz kullanımında oluşan düşüş farkı da anlamlıydı. Akciğer dokularındaki 8-OHdG seviyeleri ise düşük doz COST kullanımında anlamlı olarak azalmazken yüksek doz COST kullanımı alveolar 8-OHdG ekspresyonunu anlamlı olarak azaltmıştır. Her iki organ dokularından elde edilen sonuçlar ışığında COST, 8-OHdG ekspresyonunda düşüşe neden olarak DNA hasarında azalmayı işaret etmektedir.

KIM-1 proksimal tübüler epitelin apikal membranında lokalize olan bir transmembran glikoproteinidir ve hasarlı epitelde yüksek oranda eksprese edilir.^{198, 199} KIM-1 seviyesi, tübüler hasarın şiddeti ile ilişkilidir.^{200, 201} Yükselen KIM-1 düzeyleri, ayrıca artan tübüler inflamasyonu gösterir.²⁰² Çalışmamızda düşük ve yüksek doz COST kullanımı sonucu KIM-1 ekspresyonunda önemli derecede azalma kaydedildi. Ayrıca yüksek doz COST kullanımı düşük doz ile mukayesede anlamlı olarak daha etkiliydi. COST kullanımına bağlı KIM-1 seviyelerindeki azalma ise bize tübüler hasar ve inflamasyonda iyileşme olduğuna dair kanıt sundu.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Renal I/R modeli oluşturulan sıçanlarda farklı doz COST uygulamasının araştırıldığı, serum ve doku örneklerinden elde edilen biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal verilerin değerlendirildiği bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- Böbrek ve akciğer dokularından alınan örneklerde oksidan belirteçler olan MDA ve MPO düzeyleri düşük ve yüksek doz COST uygulanan gruplarda anlamlı olarak azaldı. Ancak düşük ve yüksek doz COST grupları arasında anlamlı bir fark oluşmadı.
- Diğer taraftan aynı dokulara ait alınan örneklerde antioksidan belirteçler olan SOD ve GSH seviyeleri yine düşük ve yüksek doz COST kullanımına bağlı anlamlı olarak artış göstermesine rağmen bu artışta doza bağımlı anlamlı bir farklılık oluşmadı.
- COST yukarıdaki sonuçlara bağlı olarak renal I/R'a karşı antioksidan etkinlik gösterdi. Ancak seçilen dozlar arasındaki aralığın antioksidan etkinlik için fark oluşturması açısından yetersiz olduğu görüldü.
- COST'in renal I/R hasarındaki inflamasyon sürecine etkisinin araştırıldığı çalışmamızda, proinflamatuvar sitokinler olan IL-1 β , IL-6 ve TNF- α 'nın serum değerleri düşük ve yüksek doz COST uygulanan gruplarda anlamlı olarak azaldı. Ayrıca düşük ve yüksek doz COST kullanımına bağlı bu değerler arasında da anlamlı olarak fark vardı. COST hem anti-inflamatuvar etkinlik olarak başarılı olmuştur, hem de doza bağlı olarak artan bir etkinlik sergilemiştir.
- COST'in inflamasyon sürecine bir diğer etkisi de serum IL-10 düzeylerinde meydana getirdiği azalma olarak belirlendi. Anti-inflamatuvar bir sitokin olan IL-10'nin normalde inflamasyon sürecinde IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinleri azaltmak için artış göstermesi beklenir. Ancak çalışmamızda COST güçlü bir anti-inflamatuvar etki göstererek proinflamatuvar sitokinler olan IL-1 β , IL-6 ve TNF- α 'yı anlamlı olarak azaltmıştır. Bu proinflamatuvar sitokinlerdeki azalma da IL-10 ekspresyonuna gerek kalmadığı için IL-10 düzeylerinde azalma ile sonuçlanmıştır.

- COST yukarıda elde ettiğimiz sonuçlarla anti-inflamatuvar etkinlik sergilemiştir. Buna ilaveten yüksek doz COST uygulaması düşük doza kıyasla daha güçlü bir anti-inflamatuvar etkinliğe sahiptir.
- COST kullanımına bağlı böbrek ve akciğer dokularında yapılan histopatolojik incelemelerde COST I/R bağlı hasar oluşumunu iyileştirdiği gibi bu iyileşme, doz bağımlı olarak da anlamlı derecede artmıştı.
- Renal I/R hasarı sonucu otofaji, apoptozis, DNA hasarı, tübüler hasar ve inflamasyonun değerlendirildiği immünohistokimyasal incelemelerde COST tüm bu aşamalarda protektif etki göstermiştir.
- Tüm elde edilen sonuçlar birleştirildiğinde COST, renal I/R hasarına karşı gerek primer organ olan böbreklerde gerekse de uzak organ olan akciğerlerde antioksidan, anti-inflamatuvar ve antiapoptotik etki göstererek etkili olmuştur.

Mevcut çalışma, COST'ın renal I/R hasarı üzerine etkilerinin araştırıldığı literatürdeki ilk çalışmadır. Bu sebeple elde ettiğimiz sonuçlar ışığında ileride yapılacak çalışmalara ışık tutarak yol gösterici olabilir. Ayrıca elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda gelecekte yapılacak çalışmalara çeşitli öneriler olabilir.

- COST çalışmamızda doza bağımlı olarak artan derecelerde anti-inflamatuvar etki göstermiştir. Ancak öte taraftan oksidan/antioksidan parametrelerde anlamlı bir iyileşme gösterse de bu parametrelerde doza bağlı bir farklılık oluşmamıştır. İncelenen immünohistokimyasal parametrelerde de iyileştirici etkisi gözlenen COST, bazı değerlerde yine doza bağımlı farklılık meydana getirmemiştir. Bu yüzden yapılacak yeni çalışmalarda COST'ın I/R üzerine etkilerini incelemek üzere farklı doz gruplamaları tercih edilebilir.
- Ayrıca ileri düzey çalışmalarla protein analiz metotları kullanılarak verilerin güvenilirliğinin daha da artacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Sheridan AM, Bonventre JV. Pathophysiology of Ischemic Acute Renal Failure. *Contributions to Nephrology*, 2001, 132: 7-21.
2. Georgiades F, Hosgood SA, Nicholson ML. Assessing and reconditioning kidneys using normothermic machine perfusion. *Organ Repair and Regeneration: Preserving Organs in the Regenerative Medicine Era*, 2021: 75-93.
3. Devarajan P. Update on Mechanisms of Ischemic Acute Kidney Injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2006, 17: 1503-1520.
4. Ali M, Pham A, Wang X, Wolfram J, Pham S. Extracellular vesicles for treatment of solid organ ischemia–reperfusion injury. *American Journal of Transplantation*, 2020, 20: 3294-3307.
5. Al-Jaghbeer M, Dealmeida D, Bilderback A, Ambrosino R, Kellum JA. Clinical Decision Support for In-Hospital AKI. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2018, 29: 654-660.
6. Molls RR, Savransky V, Liu M, Bevans S, Mehta T, Tudor RM, King LS, Rabb H. Keratinocyte-derived chemokine is an early biomarker of ischemic acute kidney injury. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 2006, 290: 1187-1193.
7. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *The Lancet*, 2004, 364: 1814-1827.
8. Rabadi MM, Lee HT. Adenosine receptors and renal ischaemia reperfusion injury. *Acta Physiologica*, 2015, 213: 222-231.
9. Wang B, Luo T, Chen D, Ansley DM. Propofol reduces apoptosis and up-regulates endothelial nitric oxide synthase protein expression in hydrogen peroxide-stimulated human umbilical vein endothelial cells. *Anesthesia and Analgesia*, 2007, 105: 1027-1033.

10. Regner KR, Roman RJ. Role of medullary blood flow in the pathogenesis of renal ischemia-reperfusion injury. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 2012, 21: 33-38.
11. Kellum JA, Lameire N, Aspelin P, Barsoum RS, Burdmann EA, Goldstein SL, Herzog CA, Joannidis M, Kribben A, Levey AS, Macleod AM, Mehta RL, Murray PT, Naicker S, Opal SM, Schaefer F, Schetz M, Uchino S. Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: A KDIGO summary (Part 1). *Critical Care*, 2013, 17: 1-15.
12. Li D, Liu B, Fan Y, Liu M, Han B, Meng Y, Xu X, Song Z, Liu X, Hao Q, Duan X, Nakai A, Chang Y, Cao P, Tan K. Nuciferine protects against folic acid-induced acute kidney injury by inhibiting ferroptosis. *British Journal of Pharmacology*, 2021, 178: 1182-1199.
13. Hoste EAJ, Bagshaw SM, Bellomo R, Cely CM, Colman R, Cruz DN, Edipidis K, Forni LG, Gomersall CD, Govil D, Honoré PM, Joannes-Boyau O, Joannidis M, Korhonen AM, Lavrentieva A, Mehta RL, Palevsky P, Roessler E, Ronco C, Uchino S, Vazquez JA, Vidal Andrade E, Webb S, Kellum JA. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. *Intensive Care Medicine*, 2015, 41: 1411-1423.
14. Wu L-H, Qu B, Wu L, Liu Y, Jiang T, Li M-Q. Resveratrol protects against renal ischemia/reperfusion injury: A systematic review and meta-analysis of preclinical studies. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, 2022, 2: 100040-100040.
15. Doi K, Rabb H. Impact of acute kidney injury on distant organ function: recent findings and potential therapeutic targets. *Kidney international*, 2016, 89: 555-564.

16. Hassoun HT, Lie ML, Grigoryev DN, Liu M, Tudor RM, Rabb H. Kidney ischemia-reperfusion injury induces caspase-dependent pulmonary apoptosis. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 2009, 297: 125-137.
17. White LE, Cui Y, Shelak CMF, Lie ML, Hassoun HT. Lung endothelial cell apoptosis during ischemic acute kidney injury. *Shock*, 2012, 38: 320-327.
18. Ge Mx, Liu Ht, Zhang N, Niu Wx, Lu Zn, Bao Yy, Huang R, Yu Dk, Shao Rg, He Hw. Costunolide represses hepatic fibrosis through WW domain-containing protein 2-mediated Notch3 degradation. *British Journal of Pharmacology*, 2020, 177: 372-387.
19. Lv Q, Xing Y, Dong D, Hu Y, Chen Q, Zhai L, Hu L, Zhang Y. Costunolide ameliorates colitis via specific inhibition of HIF1 α /glycolysis-mediated Th17 differentiation. *International Immunopharmacology*, 2021, 97: 107688-107688.
20. Mahadevan V. Anatomy of the kidney and ureter. *Surgery (Oxford)*, 2019, 37: 359-364.
21. Feher J. Functional Anatomy of the Kidneys and Overview of Kidney Function. *Quantitative Human Physiology*, 2017: 698-704.
22. Kriz W, Kaissling B. Structural Organization of the Mammalian Kidney. *Seldin and Giebisch's The Kidney*, 2008: 479-563.
23. Kriz W, Elger M. Renal Anatomy. *Comprehensive Clinical Nephrology*, 2010: 3-14.
24. Kriz W, Bankir L, Bulger RE, Burg MB, Goncharevskaya OA, Imai M, Kaissling B, Maunsbach AB, Moffat DB, Morel F, Morgan TO, Natchin YV, Tisher CC, Venkatachalam MA, Whittembury G, Wright FS. A standard nomenclature for structures of the kidney. The Renal Commission of the International Union of Physiological Sciences (IUPS). *Kidney international*, 1988, 33: 1-7.

25. Cepeda CD, Mathur P, Mehta RL. Continuous Renal Replacement Therapies for Acute Kidney Injury. *Handbook of Dialysis Therapy: Fifth Edition*, 2017: 356-379.e357.
26. Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron. Clinical practice*, 2012, 120.
27. Chu R, Li C, Wang S, Zou W, Liu G, Yang L. Assessment of KDIGO definitions in patients with histopathologic evidence of acute renal disease. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 2014, 9: 1175-1182.
28. Kane-Gill SL, Meersch M, Bell M. Biomarker-guided management of acute kidney injury. *Current opinion in critical care*, 2020, 26: 556-562.
29. Perazella MA. Renal vulnerability to drug toxicity. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 2009, 4: 1275-1283.
30. Kellum JA, Romagnani P, Ashuntantang G, Ronco C, Zarbock A, Anders HJ. Acute kidney injury. *Nature Reviews Disease Primers*, 2021, 7.
31. Lewington AJP, Cerdá J, Mehta RL. Raising awareness of acute kidney injury: a global perspective of a silent killer. *Kidney international*, 2013, 84: 457-467.
32. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, Schetz M, Tan I, Bouman C, Macedo E, Gibney N, Tolwani A, Ronco C. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA*, 2005, 294: 813-818.
33. Luyckx VA, Tonelli M, Stanifer JW. The global burden of kidney disease and the sustainable development goals. *Bulletin of the World Health Organization*, 2018, 96: 414-414.
34. Jha V, Parameswaran S. Community-acquired acute kidney injury in tropical countries. *Nature reviews. Nephrology*, 2013, 9: 278-290.

35. Olowu WA, Niang A, Osafo C, Ashuntantang G, Arogundade FA, Porter J, Naicker S, Luyckx VA. Outcomes of acute kidney injury in children and adults in sub-Saharan Africa: a systematic review. *The Lancet. Global health*, 2016, 4: e242-e250.
36. Mehta RL, Burdmann EA, Cerdá J, Feehally J, Finkelstein F, García-García G, Godin M, Jha V, Lameire NH, Levin NW, Lewington A, Lombardi R, Macedo E, Rocco M, Aronoff-Spencer E, Tonelli M, Zhang J, Remuzzi G. Recognition and management of acute kidney injury in the International Society of Nephrology 0by25 Global Snapshot: a multinational cross-sectional study. *Lancet (London, England)*, 2016, 387: 2017-2025.
37. Mehta RL, Cerdá J, Burdmann EA, Tonelli M, García-García G, Jha V, Susantitaphong P, Rocco M, Vanholder R, Sever MS, Cruz D, Jaber B, Lameire NH, Lombardi R, Lewington A, Feehally J, Finkelstein F, Levin N, Pannu N, Thomas B, Aronoff-Spencer E, Remuzzi G. International Society of Nephrology's 0by25 initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology. *Lancet (London, England)*, 2015, 385: 2616-2643.
38. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. The changing epidemiology of acute renal failure. *Nature clinical practice. Nephrology*, 2006, 2: 364-377.
39. Chan L, Chaudhary K, Saha A, Chauhan K, Vaid A, Zhao S, Paranjpe I, Somani S, Richter F, Miotto R, Lala A, Kia A, Timsina P, Li L, Freeman R, Chen R, Narula J, Just AC, Horowitz C, Fayad Z, Cordon-Cardo C, Schadt E, Levin MA, Reich DL, Fuster V, Murphy B, He JC, Charney AW, Böttinger EP, Glicksberg BS, Coca SG, Nadkarni GN. AKI in Hospitalized Patients with COVID-19. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 2021, 32: 151-160.

40. Nadim MK, Forni LG, Mehta RL, Connor MJ, Liu KD, Ostermann M, Rimmelé T, Zarbock A, Bell S, Bihorac A, Cantaluppi V, Hoste E, Husain-Syed F, Germain MJ, Goldstein SL, Gupta S, Joannidis M, Kashani K, Koyner JL, Legrand M, Lumlertgul N, Mohan S, Pannu N, Peng Z, Perez-Fernandez XL, Pickkers P, Prowle J, Reis T, Srisawat N, Tolwani A, Vijayan A, Villa G, Yang L, Ronco C, Kellum JA. COVID-19-associated acute kidney injury: consensus report of the 25th Acute Disease Quality Initiative (ADQI) Workgroup. *Nature reviews. Nephrology*, 2020, 16: 747-764.
41. Prowle JR, Kirwan CJ, Bellomo R. Fluid management for the prevention and attenuation of acute kidney injury. *Nature reviews. Nephrology*, 2014, 10: 37-47.
42. Weyker PD, Pérez XL, Liu KD. Management of Acute Kidney Injury and Acid-Base Balance in the Septic Patient. *Clinics in chest medicine*, 2016, 37: 277-288.
43. Meijers B, Evenepoel P, Anders HJ. Intestinal microbiome and fitness in kidney disease. *Nature reviews. Nephrology*, 2019, 15: 531-545.
44. Lullo LD, Reeves PB, Bellasi A, Ronco C. Cardiorenal Syndrome in Acute Kidney Injury. *Seminars in nephrology*, 2019, 39: 31-40.
45. Hassoun HT, Lie ML, Grigoryev DN, Liu M, Tudor RM, Rabb H. Kidney ischemia-reperfusion injury induces caspase-dependent pulmonary apoptosis. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 2009, 297.
46. El-Sayed SS, Shahin RM, Fahmy A, Elshazly SM. Quercetin ameliorated remote myocardial injury induced by renal ischemia/reperfusion in rats: Role of Rho-kinase and hydrogen sulfide. *Life Sciences*, 2021, 287: 120144-120144.
47. Ghimire K, Chiba T, Minhas N, Meijles DN, Lu B, O'Connell P, Rogers NM. Deficiency in SIRP- α cytoplasmic recruitment confers protection from acute kidney

- injury. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2019, 33: 11528-11540.
48. Liu Z, Qu M, Yu L, Song P, Chang Y. Artesunate Inhibits Renal Ischemia-Reperfusion-Mediated Remote Lung Inflammation Through Attenuating ROS-Induced Activation of NLRP3 Inflammasome. *Inflammation*, 2018, 41: 1546-1556.
 49. Mitaka C, Si MKH, Tulafu M, Yu Q, Uchida T, Abe S, Kitagawa M, Ikeda S, Eishi Y, Tomita M. Effects of atrial natriuretic peptide on inter-organ crosstalk among the kidney, lung, and heart in a rat model of renal ischemia-reperfusion injury. *Intensive care medicine experimental*, 2014, 2.
 50. Liu Z, Zhang J, Zhang F, Chang Y. Propofol post-conditioning lessens renal ischemia/reperfusion-induced acute lung injury associated with autophagy and apoptosis through MAPK signals in rats. *Gene*, 2020, 741: 144562-144562.
 51. Liu Z, Qu M, Yang Q, Chang Y. Lipoxin A4 ameliorates renal ischaemia-reperfusion-induced acute lung injury in rats. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 2019, 46: 65-74.
 52. Coca SG, Yusuf B, Shlipak MG, Garg AX, Parikh CR. Long-term risk of mortality and other adverse outcomes after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 2009, 53: 961-973.
 53. Nieuwenhuijs-Moeke GJ, Pischke SE, Berger SP, Sanders JSF, Pol RA, Struys MMRF, Ploeg RJ, Leuvenink HGD. Ischemia and Reperfusion Injury in Kidney Transplantation: Relevant Mechanisms in Injury and Repair. *Journal of Clinical Medicine* 2020, Vol. 9, Page 253, 2020, 9: 253-253.

54. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 2012, 298: 229-317.
55. Ahmed N. Introduction to ischemia–reperfusion injury. *Pathophysiology of Ischemia Reperfusion Injury and Use of Fingolimod in Cardioprotection*, 2019: 1-39.
56. Jennings RB, Sommers HM, Smyth GA, Flack HA, Linn H. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. *Arch Pathol*, 1960, 70: 68-78.
57. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *The New England journal of medicine*, 2007, 357: 1121-1135.
58. Zhao ZQ, Nakamura M, Wang NP, Velez DA, Hewan-Lowe KO, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Dynamic Progression of Contractile and Endothelial Dysfunction and Infarct Extension in the Late Phase of Reperfusion. *Journal of Surgical Research*, 2000, 94: 133-144.
59. Agarwal A, Dong Z, Harris R, Murray P, Parikh SM, Rosner MH, Kellum JA, Ronco C. Cellular and Molecular Mechanisms of AKI. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2016, 27: 1288-1299.
60. Li J, Rogers NM, Hawthorne WJ. Ischemia-reperfusion injury. *Organ Repair and Regeneration: Preserving Organs in the Regenerative Medicine Era*, 2021: 1-42.
61. Bulkley GB. Free radical-mediated reperfusion injury: A selective review. *British Journal of Cancer*, 1987, 55: 66-73.
62. McDougal WS. Renal Perfusion/Reperfusion Injuries. *The Journal of Urology*, 1988, 140: 1325-1330.

63. Humphreys MR, Castle EP, Lohse CM, Sebo TJ, Leslie KO, Andrews PE. Renal ischemia time in laparoscopic surgery: an experimental study in a porcine model. *International Journal of Urology*, 2009, 16: 105-109.
64. Al-Taie A, Sancar M, Izzettin FV. 8-Hydroxydeoxyguanosine: A valuable predictor of oxidative DNA damage in cancer and diabetes mellitus. *Cancer: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*, 2021: 179-187.
65. Griending KK, Touyz RM, Zweier JL, Dikalov S, Chilian W, Chen YR, Harrison DG, Bhatnagar A. Measurement of Reactive Oxygen Species, Reactive Nitrogen Species, and Redox-Dependent Signaling in the Cardiovascular System. *Circulation Research*, 2016, 119: e39-e75.
66. Kvietys PR, Granger DN. Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular responses to inflammation. *Free Radical Biology and Medicine*, 2012, 52: 556-592.
67. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*, 2012, 33: 829-837.
68. Bhargava P, Schnellmann RG. Mitochondrial energetics in the kidney. *Nature Reviews Nephrology* 2017 13:10, 2017, 13: 629-646.
69. Davies MJ, Hawkins CL, Pattison DI, Rees MD. Mammalian Heme Peroxidases: From Molecular Mechanisms to Health Implications. <https://home.liebertpub.com/ars>, 2008, 10: 1199-1234.
70. de Souza-Pinto NC, Eide L, Hogue BA, Thybo T, Stevnsner T, Seeberg E, Klungland A, Bohr VA. Repair of 8-oxodeoxyguanosine lesions in mitochondrial dna depends on the oxoguanine dna glycosylase (OGG1) gene and 8-oxoguanine accumulates in the mitochondrial dna of OGG1-defective mice. *Cancer Res*, 2001, 61: 5378-5381.

71. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, Sanicola M. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *The Journal of biological chemistry*, 1998, 273: 4135-4142.
72. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney international*, 2002, 62: 237-244.
73. Bath NM, Fahl WE, Redfield RR. Significant reduction of murine renal ischemia-reperfusion cell death using the immediate-acting PrC-210 reactive oxygen species scavenger. *Transplantation Direct*, 2019, 5.
74. Bjelakovic G, Gluud C. Surviving Antioxidant Supplements. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 2007, 99: 742-743.
75. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in Randomized Trials of Antioxidant Supplements for Primary and Secondary Prevention: Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*, 2007, 297: 842-857.
76. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 1993, 49: 481-493.
77. Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK. Food Antioxidants. *Food Antioxidants*, 1995.
78. Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*, 2017, 524: 13-30.
79. Barrera G, Pizzimenti S, Daga M, Dianzani C, Arcaro A, Cetrangolo GP, Giordano G, Cucci MA, Graf M, Gentile F. Lipid Peroxidation-Derived Aldehydes, 4-

- Hydroxynonenal and Malondialdehyde in Aging-Related Disorders. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 2018, 7.
80. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 2014.
 81. Nair V, O'Neil CL, Wang PG. Malondialdehyde. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, 2008.
 82. Papac-Milicevic N, Busch CJL, Binder CJ. Malondialdehyde Epitopes as Targets of Immunity and the Implications for Atherosclerosis. *Advances in immunology*, 2016, 131: 1-59.
 83. Woźniak B, Woźniak A, Kasprzak HA, Drewa G, Mila-Kierzenkowska C, Drewa T, Planutis G. Lipid peroxidation and activity of some antioxidant enzymes in patients with glioblastoma and astrocytoma. *Journal of Neuro-Oncology*, 2007, 81: 21-26.
 84. Djordjević A, Kotnik P, Horvat D, Knez Ž, Antonič M. Pharmacodynamics of malondialdehyde as indirect oxidative stress marker after arrested-heart cardiopulmonary bypass surgery. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 132: 110877-110877.
 85. Imai Y, Kuba K, Neely GG, Yaghubian-Malhami R, Perkmann T, van Loo G, Ermolaeva M, Veldhuizen R, Leung YHC, Wang H, Liu H, Sun Y, Pasparakis M, Kopf M, Mech C, Bavari S, Peiris JSM, Slutsky AS, Akira S, Hultqvist M, Holmdahl R, Nicholls J, Jiang C, Binder CJ, Penninger JM. Identification of Oxidative Stress and Toll-like Receptor 4 Signaling as a Key Pathway of Acute Lung Injury. *Cell*, 2008, 133: 235-249.

86. Weismann D, Hartvigsen K, Lauer N, Bennett KL, Scholl HPN, Issa PC, Cano M, Brandstätter H, Tsimikas S, Skerka C, Superti-Furga G, Handa JT, Zipfel PF, Witztum JL, Binder CJ. Complement factor H binds malondialdehyde epitopes and protects from oxidative stress. *Nature* 2011 478:7367, 2011, 478: 76-81.
87. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *Journal of Leukocyte Biology*, 2005, 77: 598-625.
88. Malle E, Furtmüller PG, Sattler W, Obinger C. Myeloperoxidase: a target for new drug development? *British Journal of Pharmacology*, 2007, 152: 838-854.
89. Blair-Johnson M, Fiedler T, Fenna R. Human myeloperoxidase: Structure of a cyanide complex and its interaction with bromide and thiocyanate substrates at 1.9 Å resolution. *Biochemistry*, 2001, 40: 13990-13997.
90. Koeth RA, Haselden V, Tang WHW. Myeloperoxidase in Cardiovascular Disease. *Advances in Clinical Chemistry*, 2013, 62: 1-32.
91. Agner K. Verdoperoxidase : a ferment isolated from leucocytes. Stockholm: 1941.
92. Hansson M, Olsson I, Nauseef WM. Biosynthesis, processing, and sorting of human myeloperoxidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2006, 445: 214-224.
93. Schultz J, Kaminker K. Myeloperoxidase of the leucocyte of normal human blood. I. Content and localization. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1962, 96: 465-467.
94. Shishehbor MH, Aviles RJ, Brennan ML, Fu X, Goormastic M, Pearce GL, Gokce N, Keaney JF, Penn MS, Sprecher DL, Vita JA, Hazen SL. Association of Nitrotyrosine Levels with Cardiovascular Disease and Modulation by Statin Therapy. *Journal of the American Medical Association*, 2003, 289: 1675-1680.

95. Haegens A, Vernooy JHJ, Heeringa P, Mossman BT, Wouters EFM. Myeloperoxidase modulates lung epithelial responses to pro-inflammatory agents. *European Respiratory Journal*, 2008, 31: 252-260.
96. Lefkowitz DL, Lefkowitz SS. Microglia and myeloperoxidase: A deadly partnership in neurodegenerative disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 2008, 45: 726-731.
97. Kalantar-Zadeh K, Brennan ML, Hazen SL. Serum Myeloperoxidase and Mortality in Maintenance Hemodialysis Patients. *American Journal of Kidney Diseases*, 2006, 48: 59-68.
98. Pomarede N, Chandramouli M. Enhancing the Skin's Natural Antioxidant Enzyme System by the Supplementation or Upregulation of Superoxide Dismutase, Catalase, and Glutathione Peroxidase. *Nutritional Cosmetics*, 2009: 245-265.
99. Omoruyi F, Sparks J, Stennett D, Dilworth L. Superoxide dismutase as a measure of antioxidant status and its application to diabetes. *Diabetes: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*, 2020: 409-417.
100. Wilcken DEL, Wang XL, Adachi T, Hara H, Duarte N, Green K, Wilcken B. Relationship Between Homocysteine and Superoxide Dismutase in Homocystinuria. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2000, 20: 1199-1202.
101. Alanazi AM, Mostafa GAE, Al-Badr AA. Glutathione. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, 2015, 40: 43-158.
102. Liu Y, Hyde AS, Simpson MA, Barycki JJ. Emerging Regulatory Paradigms in Glutathione Metabolism. *Advances in Cancer Research*, 2014, 122: 69-101.
103. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annual review of biochemistry*, 1983, 52: 711-760.

104. Mannervik B. Five Decades with Glutathione and the GSTome. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287: 6072-6083.
105. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. GLUTATHIONE TRANSFERASES. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857>, 2004, 45: 51-88.
106. Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 1997, 387: 147-163.
107. Ichimura T, Hung CC, Yang SA, Stevens JL, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1: A tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 2004, 286.
108. Ichimura T, Asseldonk EJPV, Humphreys BD, Gunaratnam L, Duffield JS, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells. *Journal of Clinical Investigation*, 2008, 118: 1657-1668.
109. Fang M, Ganta K, Arzhan S, Wagner B. Biomarkers in acute kidney disease. *Kidney Biomarkers*, 2020: 155-184.
110. Bailly V, Zhang Z, Meier W, Cate R, Sanicola M, Bonventre JV. Shedding of Kidney Injury Molecule-1, a Putative Adhesion Protein Involved in Renal Regeneration. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277: 39739-39748.
111. Brooks CR, Yeung MY, Brooks YS, Chen H, Ichimura T, Henderson JM, Bonventre JV. KIM-1-/TIM-1-mediated phagocytosis links ATG5-/ULK1-dependent clearance of apoptotic cells to antigen presentation. *The EMBO Journal*, 2015, 34: 2441-2464.

112. Kvietys PR, Granger DN. Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular responses to inflammation. *Free radical biology & medicine*, 2012, 52: 556-592.
113. Lu CY. The Inflammatory Response to Ischemic Acute Renal Injury. *Seldin and Geibisch's The Kidney*, 2013, 2: 2985-3006.
114. Smith CA, Farrah T, Goodwin RG. The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: activation, costimulation, and death. *Cell*, 1994, 76: 959-962.
115. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*, 2001, 104: 487-501.
116. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1975, 72: 3666-3670.
117. Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, Seeburg PH, Derynck R, Palladino MA, Kohr WJ, Aggarwal BB, Goeddel DV. Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature* 1984 312:5996, 1984, 312: 724-729.
118. Kriegler M, Perez C, DeFay K, Albert I, Lu SD. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: Ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell*, 1988, 53: 45-53.
119. Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, Peschon JJ, Slack JL, Wolfson MF, Castner BJ, Stocking KL, Reddy P, Srinivasan S, Nelson N, Boiani N, Schooley KA, Gerhart M, Davis R, Fitzner JN, Johnson RS, Paxton RJ, March CJ, Cerretti DP. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor- α from cells. *Nature*, 1997, 385: 729-733.

120. Beutler B, Cerami A. Cachectin and tumour necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature*, 1986, 320: 584-588.
121. Bertazza L, Mocellin S. Tumor necrosis factor (TNF) biology and cell death. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 2008, 13: 2736-2743.
122. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of pathology*, 2008, 214: 149-160.
123. Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld JG, Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. *Pharmacology & therapeutics*, 2008, 117: 244-279.
124. Goeddel DV, Aggarwal BB, Gray PW, Leung DW, Nedwin GE, Palladino MA, Patton JS, Pennica D, Shepard HM, Sugarman BJ. Tumor necrosis factors: gene structure and biological activities. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, 1986, 51 Pt 1: 597-609.
125. Fiers W. Tumor necrosis factor. Characterization at the molecular, cellular and in vivo level. *FEBS letters*, 1991, 285: 199-212.
126. Wu H, Hymowitz SG. Structure and Function of Tumor Necrosis Factor (TNF) at the Cell Surface. *Handbook of Cell Signaling*, 2/e, 2010, 1: 265-275.
127. Bonventre JV, Yang L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *The Journal of Clinical Investigation*, 2011, 121: 4210-4221.
128. Lie PPY, Yan Cheng C, Mruk DD. The biology of interleukin-1: Emerging concepts in the regulation of the actin cytoskeleton and cell junction dynamics. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2012, 69: 487-500.
129. Dembic Z. Cytokines of the Immune System: Interleukins. *The Cytokines of the Immune System*, 2015: 143-239.

130. Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood*, 1991, 77: 1627-1652.
131. March CJ, Mosley B, Larsen A, Cerretti DP, Braedt G, Price V, Gillis S, Henney CS, Kronheim SR. Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature* 1985 315:6021, 1985, 315: 641-647.
132. Yuzhalin AE, Kutikhin AG. Interleukin-1 Superfamily and Cancer. *Interleukins in Cancer Biology*, 2015: 17-61.
133. Atkins E, Wood WB. Studies on the pathogenesis of fever. I. The presence of transferable pyrogen in the blood stream following the injection of typhoid vaccine. *The Journal of experimental medicine*, 1955, 101: 519-528.
134. Brough D, Rothwell NJ. Caspase-1-dependent processing of pro-interleukin-1beta is cytosolic and precedes cell death. *Journal of cell science*, 2007, 120: 772-781.
135. Church LD, Cook GP, McDermott MF. Primer: inflammasomes and interleukin 1beta in inflammatory disorders. *Nature clinical practice. Rheumatology*, 2008, 4: 34-42.
136. Fogal B, Hewett SJ. Interleukin-1beta: a bridge between inflammation and excitotoxicity? *Journal of neurochemistry*, 2008, 106: 1-23.
137. Okamoto M, Liu W, Luo Y, Tanaka A, Cai X, Norris DA, Dinarello CA, Fujita M. Constitutively Active Inflammasome in Human Melanoma Cells Mediating Autoinflammation via Caspase-1 Processing and Secretion of Interleukin-1 β . *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285: 6477-6488.
138. Jewett KA, Krueger JM. Humoral Sleep Regulation; Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor. *Vitamins and Hormones*, 2012, 89: 241-257.

139. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Anti-Interleukin-6 Receptor Antibody Therapy Against Autoimmune Inflammatory Diseases. *Molecular Biology of B Cells: Second Edition*, 2015: 515-525.
140. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *International reviews of immunology*, 2011, 30: 16-34.
141. Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke EH, Blagosklonny MV, El-Deiry WS, Golstein P, Green DR, Hengartner M, Knight RA, Kumar S, Lipton SA, Malorni W, Nuñez G, Peter ME, Tschopp J, Yuan J, Piacentini M, Zhivotovsky B, Melino G. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell death and differentiation*, 2009, 16: 3-11.
142. Isobe I, Onodera H. Role of Immunohistochemical Expression of Caspase-3 in Gastric Carcinoma. *Handbook of Immunohistochemistry and in Situ Hybridization of Human Carcinomas*, 2006, 4: 247-250.
143. Salvesen GS. Caspases: opening the boxes and interpreting the arrows. *Cell death and differentiation*, 2002, 9: 3-5.
144. Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WW, Yuan J. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*, 1996, 87: 171-171.
145. Shalini S, Dorstyn L, Dawar S, Kumar S. Old, new and emerging functions of caspases. *Cell death and differentiation*, 2015, 22: 526-539.
146. Walters J, Pop C, Scott FL, Drag M, Swartz P, Mattos C, Salvesen GS, Clark AC. A constitutively active and uninhibitable caspase-3 zymogen efficiently induces apoptosis. *Biochemical Journal*, 2009, 424: 335-335.
147. Siitonen T, Alarukka P, Mäntymaa P, Savolainen ER, Kavanagh TJ, Krejsa CM, Franklin CC, Kinnula V, Koistinen P. Protection of acute myeloblastic leukemia

- cells against apoptotic cell death by high glutathione and gamma-glutamylcysteine synthetase levels during etoposide-induced oxidative stress. *Annals of Oncology*, 1999, 10: 1361-1367.
148. He C, Klionsky DJ. Regulation Mechanisms and Signaling Pathways of Autophagy. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-genet-102808-114910>, 2009, 43: 67-93.
149. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, Alnemri ES, Altucci L, Amelio I, Andrews DW, Annicchiarico-Petruzzelli M, Antonov AV, Arama E, Baehrecke EH, Barlev NA, Bazan NG, Bernassola F, Bertrand MJM, Bianchi K, Blagosklonny MV, Blomgren K, Borner C, Boya P, Brenner C, Campanella M, Candi E, Carmona-Gutierrez D, Cecconi F, Chan FKM, Chandel NS, Cheng EH, Chipuk JE, Cidlowski JA, Ciechanover A, Cohen GM, Conrad M, Cubillos-Ruiz JR, Czabotar PE, D'Angiolella V, Dawson TM, Dawson VL, De Laurenzi V, De Maria R, Debatin KM, Deberardinis RJ, Deshmukh M, Di Daniele N, Di Virgilio F, Dixit VM, Dixon SJ, Duckett CS, Dynlacht BD, El-Deiry WS, Elrod JW, Fimia GM, Fulda S, García-Sáez AJ, Garg AD, Garrido C, Gavathiotis E, Golstein P, Gottlieb E, Green DR, Greene LA, Gronemeyer H, Gross A, Hajnoczky G, Hardwick JM, Harris IS, Hengartner MO, Hetz C, Ichijo H, Jäättelä M, Joseph B, Jost PJ, Juin PP, Kaiser WJ, Karin M, Kaufmann T, Kepp O, Kimchi A, Kitsis RN, Klionsky DJ, Knight RA, Kumar S, Lee SW, Lemasters JJ, Levine B, Linkermann A, Lipton SA, Lockshin RA, López-Otín C, Lowe SW, Luedde T, Lugli E, MacFarlane M, Madeo F, Malewicz M, Malorni W, Manic G, Marine JC, Martin SJ, Martinou JC, Medema JP, Mehlen P, Meier P, Melino S, Miao EA, Molkentin JD, Moll UM, Muñoz-Pinedo C, Nagata S, Nuñez G, Oberst A, Oren M, Overholtzer M, Pagano M, Panaretakis T, Pasparakis M, Penninger JM, Pereira DM, Pervaiz S, Peter ME, Piacentini M, Pinton P, Prehn JHM, Puthalakath H,

- Rabinovich GA, Rehm M, Rizzuto R, Rodrigues CMP, Rubinsztein DC, Rudel T, Ryan KM, Sayan E, Scorrano L, Shao F, Shi Y, Silke J, Simon HU, Sistigu A, Stockwell BR, Strasser A, Szabadkai G, Tait SWG, Tang D, Tavernarakis N, Thorburn A, Tsujimoto Y, Turk B, Vanden Berghe T, Vandenabeele P, Vander Heiden MG, Villunger A, Virgin HW, Vousden KH, Vucic D, Wagner EF, Walczak H, Wallach D, Wang Y, Wells JA, Wood W, Yuan J, Zakeri Z, Zhivotovsky B, Zitvogel L, Melino G, Kroemer G. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death & Differentiation* 2018 25:3, 2018, 25: 486-541.
150. He Y, Zhao X, Subahan NR, Fan L, Gao J, Chen H. The prognostic value of autophagy-related markers beclin-1 and microtubule-associated protein light chain 3B in cancers: a systematic review and meta-analysis. *Tumor Biology* 2014 35:8, 2014, 35: 7317-7326.
 151. Lazova R, Camp RL, Klump V, Siddiqui SF, Amaravadi RK, Pawelek JM. Punctate LC3B expression is a common feature of solid tumors and associated with proliferation, metastasis, and poor outcome. *Clinical Cancer Research*, 2012, 18: 370-379.
 152. Ren Y, Yu J, Douglas Kinghorn A. Development of Anticancer Agents from Plant-Derived Sesquiterpene Lactones. *Current Medicinal Chemistry*, 2016, 23: 2397-2420.
 153. Lai HC, Singh NP, Sasaki T. Development of artemisinin compounds for cancer treatment. *Investigational New Drugs* 2012 31:1, 2012, 31: 230-246.
 154. Tae Hyeon K, Lee JH, Yun Joo P, Hong YS, Hang Sub K, Kim KW, Jung Joon L. A sesquiterpene lactone, costunolide, from *Magnolia grandiflora* inhibits NF-kappa B by targeting I kappa B phosphorylation. *Planta medica*, 2001, 67: 103-107.

155. Wu Y, Wang D, Gao Y, Feng J, Zhang X. New α -Methylene- γ -Butyrolactone Derivatives as Potential Fungicidal Agents: Design, Synthesis and Antifungal Activities. *Molecules* 2016, Vol. 21, Page 130, 2016, 21: 130-130.
156. Chen L, Zhang JP, Liu X, Tang JJ, Xiang P, Ma XM. Semisynthesis, an Anti-Inflammatory Effect of Derivatives of 1 β -Hydroxy Alantolactone from *Inula britannica*. *Molecules* 2017, Vol. 22, Page 1835, 2017, 22: 1835-1835.
157. Mathema VB, Koh YS, Thakuri BC, Sillanpää M. Parthenolide, a sesquiterpene lactone, expresses multiple anti-cancer and anti-inflammatory activities. *Inflammation*, 2012, 35: 560-565.
158. Chaturvedi D. Recent developments in the anti-inflammatory potential of sesquiterpene lactones and their semisynthetic analogs. *Discovery and Development of Anti-inflammatory Agents from Natural Products*, 2019: 185-205.
159. Li Q, Wang Z, Xie Y, Hu H. Antitumor activity and mechanism of costunolide and dehydrocostus lactone: Two natural sesquiterpene lactones from the Asteraceae family. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 125: 109955-109955.
160. Rana S, Blowers EC, Tebbe C, Contreras JI, Radhakrishnan P, Kizhake S, Zhou T, Rajule RN, Arnst JL, Munkarah AR, Rattan R, Natarajan A. Isatin Derived Spirocyclic Analogues with α -Methylene- γ -butyrolactone as Anticancer Agents: A Structure-Activity Relationship Study. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 59: 5121-5127.
161. Kanno SI, Kitajima Y, Kakuta M, Osanai Y, Kurauchi K, Ujibe M, Ishikawa M. Costunolide-Induced Apoptosis Is Caused by Receptor-Mediated Pathway and Inhibition of Telomerase Activity in NALM-6 Cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 31: 1024-1028.

162. Kassuya CAL, Cremonese A, Barros LFL, Simas AS, da Rocha Lapa F, Mello-Silva R, Stefanello M^ÉA, Zampronio AR. Antipyretic and anti-inflammatory properties of the ethanolic extract, dichloromethane fraction and costunolide from *Magnolia ovata* (Magnoliaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 124: 369-376.
163. Eliza J, Daisy P, Ignacimuthu S. Antioxidant activity of costunolide and eremanthin isolated from *Costus speciosus* (Koen ex. Retz) Sm. *Chemico-Biological Interactions*, 2010, 188: 467-472.
164. Zheng H, Chen Y, Zhang J, Wang L, Jin Z, Huang H, Man S, Gao W. Evaluation of protective effects of costunolide and dehydrocostuslactone on ethanol-induced gastric ulcer in mice based on multi-pathway regulation. *Chemico-Biological Interactions*, 2016, 250: 68-77.
165. Fu Y, Tang C, Cai J, Chen G, Zhang D, Dong Z. Rodent models of AKI-CKD transition. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 2018, 315: F1098-F1106.
166. Bayraktutan Z, Dincer B, Keskin H, Kose D, Bilen A, Toktay E, Sirin B, Halici Z. Roflumilast as a Potential Therapeutic Agent for Cecal Ligation and Puncture-Induced Septic Lung Injury. *Journal of Investigative Surgery*, 2021: 1-9.
167. Nezamoleslami S, Sheibani M, Dehpour AR, Mobasheran P, Shafaroodi H. Glatiramer acetate attenuates renal ischemia reperfusion injury in rat model. *Experimental and Molecular Pathology*, 2020, 112: 104329-104329.
168. Xie F, Zhang H, Zheng C, Shen Xf. Costunolide improved dextran sulfate sodium-induced acute ulcerative colitis in mice through NF- κ B, STAT1/3, and Akt signaling pathways. *International Immunopharmacology*, 2020, 84: 106567-106567.

169. Butturini E, Di Paola R, Suzuki H, Paterniti I, Ahmad A, Mariotto S, Cuzzocrea S. Costunolide and Dehydrocostuslactone, two natural sesquiterpene lactones, ameliorate the inflammatory process associated to experimental pleurisy in mice. *European Journal of Pharmacology*, 2014, 730: 107-115.
170. Lee BK, Park SJ, Nam SY, Kang S, Hwang J, Lee SJ, Im DS. Anti-allergic effects of sesquiterpene lactones from *Saussurea costus* (Falc.) Lipsch. determined using in vivo and in vitro experiments. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, 213: 256-261.
171. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 1988, 34: 497-500.
172. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 1968, 25: 192-205.
173. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979, 95: 351-358.
174. Uber AM, Sutherland SM. Nephrotoxins and nephrotoxic acute kidney injury. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*, 2020, 35: 1825-1833.
175. Fenoglio R, Sciascia S, Baldovino S, Roccatello D. Acute kidney injury associated with glomerular diseases. *Current opinion in critical care*, 2019, 25: 573-579.
176. Zhu Yl, Huang J, Chen Xy, Xie J, Yang Q, Wang Jf, Deng Xm. Senkyunolide I alleviates renal Ischemia-Reperfusion injury by inhibiting oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *International Immunopharmacology*, 2022, 102: 108393-108393.

177. Che R, Yuan Y, Huang S, Zhang A. Mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of renal diseases. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 2014, 306: 367-378.
178. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *The American Journal of Medicine*, 2000, 109: 665-678.
179. Zhao Y, Feng X, Li B, Sha J, Wang C, Yang T, Cui H, Fan H. Dexmedetomidine Protects Against Lipopolysaccharide-Induced Acute Kidney Injury by Enhancing Autophagy Through Inhibition of the PI3K/AKT/mTOR Pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11.
180. Lu Xh, Zhang J, Xiong Q. Suppressive effect erythropoietin on oxidative stress by targeting AMPK/Nox4/ROS pathway in renal ischemia reperfusion injury. *Transplant Immunology*, 2022, 72: 101537-101537.
181. Tasdemir C, Tasdemir S, Vardi N, Ates B, Parlakpınar H, Kati B, Karaaslan MG, Acet A. Protective effect of infliximab on ischemia/reperfusion-induced damage in rat kidney. *Renal Failure*, 2012, 34: 1144-1149.
182. Suleyman B, Albayrak A, Kurt N, Demirci E, Gundogdu C, Aksoy M. The effect of etoricoxib on kidney ischemia–reperfusion injury in rats: A biochemical and immunohistochemical assessment. *International Immunopharmacology*, 2014, 23: 179-185.
183. Liu B, Rong Y, Sun D, Li W, Chen H, Cao B, Wang T. Costunolide inhibits pulmonary fibrosis via regulating NF- κ B and TGF- β 1/Smad2/Nrf2-NOX4 signaling pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 510: 329-333.

184. Altintas R, Parlakpınar H, Beytur A, Vardi N, Polat A, Sagir M, Odabas GP. Protective Effect of Dexpanthenol on Ischemia-Reperfusion-Induced Renal Injury in Rats. *Kidney and Blood Pressure Research*, 2012, 36: 220-230.
185. Chouchani ET, Pell VR, James AM, Work LM, Saeb-Parsy K, Frezza C, Krieg T, Murphy MP. A Unifying Mechanism for Mitochondrial Superoxide Production during Ischemia-Reperfusion Injury. *Cell Metabolism*, 2016, 23: 254-263.
186. McWilliam SJ, Wright RD, Welsh GI, Tuffin J, Budge KL, Swan L, Wilm T, Martinas IR, Littlewood J, Oni L. The complex interplay between kidney injury and inflammation. *Clinical Kidney Journal*, 2021, 14: 780-788.
187. Wang Y, Zhang X, Zhao L, Shi M, Wei Z, Yang Z, Guo C, Fu Y. Costunolide protects lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury in mice by inhibiting NF- κ B signaling pathway. *Journal of Surgical Research*, 2017, 220: 40-45.
188. Kang JS, Yoon YD, Lee KH, Park SK, Kim HM. Costunolide inhibits interleukin-1 β expression by down-regulation of AP-1 and MAPK activity in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004, 313: 171-177.
189. Shen Y, Xin Z, Zhu Y, Wang J. Mesoporous carbon nanospheres featured multifunctional fluorescent nanoprobe: Simultaneous activation and tracing of caspase-3 involved cell apoptosis. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2022, 358.
190. Kubat GB, Kartal Y, Atalay O, Ulger O, Ekinici O, Celik E, Safali M, Urkan M, Karahan S, Ozler M, Cicek Z, Budak MT. Investigation of the effect of isolated mitochondria transplantation on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2021, 433: 115780-115780.

191. Shan Y, Chen D, Hu B, Xu G, Li W, Jin Y, Jin X, Jin X, Jin L. Allicin ameliorates renal ischemia/reperfusion injury via inhibition of oxidative stress and inflammation in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2021, 142.
192. Leidal AM, Levine B, Debnath J. Autophagy and the cell biology of age-related disease. *Nature Cell Biology* 2018 20:12, 2018, 20: 1338-1348.
193. Piret JP, Mottet D, Raes M, Michiels C. Is HIF-1 α a pro- or an anti-apoptotic protein? *Biochemical Pharmacology*, 2002, 64: 889-892.
194. Mazure NM, Pouyssegur J. Hypoxia-induced autophagy: cell death or cell survival? *Current Opinion in Cell Biology*, 2010, 22: 177-180.
195. Lystad AH, Carlsson SR, de la Ballina LR, Kauffman KJ, Nag S, Yoshimori T, Melia TJ, Simonsen A. Distinct functions of ATG16L1 isoforms in membrane binding and LC3B lipidation in autophagy-related processes. *Nature Cell Biology* 2019 21:3, 2019, 21: 372-383.
196. Long JD, Matson WR, Juhl AR, Leavitt BR, Paulsen J, Wassink T, Cross S, Doucette N, Kimble M, Ryan P, Wood J, Epping EA, Beglinger LJ, Chiu E, Yastrubetskaya O, Preston J, Goh A, Fonseka C, Ronsisvalle L, Chua P, Komiti A, Raymond L, Santos RD, Decolongon J, Rosenblatt A, Ross CA, Shpritz B, Welsh C, Mallonee WM, Suter G, Addison J, Samii A, Macaraeg A, Jones R, Wood-Siverio C, Factor SA, Testa C, Barker RA, Mason S, Goodman A, Swain R, Dipietro A, McCusker E, Griffith J, Loy C, Gunn D, Stewart L, Landwehrmeyer BG, Orth M, Süßmuth S, Barth K, Trautmann S, Quaid K, Wesson M, Wojcieszek J, Guttman M, Sheinberg A, Karmalkar I, Perlman S, Johnson A, Geschwind M, Gooblar J, Kang G, Warner T, Burrows M, Novak M, Andrews T, Rosser E, Tabrizi S, Rosser A, Price K, Hunt S, Marshall F, Chesire A, Wodarski M, Hickey C, Suchowersky O, Furtado S, Klimek ML, Panegyres P, Vuletich E, Andrew S,

Zombor R, Perlmutter J, Barton S, Schmidt A, Miedzybrodzka Z, Simpson SA, Rae D, D'Alessandro M, Craufurd D, Fullam R, Howard E, Mazzoni P, Marder K, Wasserman P, Kumar R, Erickson D, Wheelock V, Tempkin T, Mans N, Baynes K, Jankovic J, Hunter C, Ondo W, de Yebenes JG, Garde MB, Fatas M, Martinez-Descales A, Martin W, King P, Sran S, Ahmed A, Rao S, Reece C, Zimbelman J, Bea A, Newman E, Bura A, Johnson H, Smith MM, Williams J, Beglinger L, Mills J, Aylward E, Biglan K, Macdonald M, Nance M, Erwin C, Hayden M, Didonato S, Evans K, Peterson A, Borowsky B, Juhl A, Weir D, Vonsattel JP, Moskowitz C, Leserman A, Schaul L, Vik S, Harrington D, Castillo G, Morison J, Reed J, Diaz M, Dobbins I, Hershey T, Foster E, Moore D, Westervelt H, Davis J, Tremont G, Moser D, Rowe K, Theriault D, Gehl C, Matheson K, Siedlecki K, Van Walsem M, Bonner S, Elias G, Faust M, Borowski B, Carlozzi N, Duff K, Georgiou-Karistianis N, Stout J, Lange H, Papp K, Ro E, Clark LA, Downing N, Laing J, Rees K, Ready R, Vaccarino A, Farias S, Gusella J, Myers R, Juhl A, Wang K, Ross C, Pierson R, Jones K, Marietta J, McDowell W, Harris G, Kim EY, Ashburner J, Potkin S, Toga A, Axelson E, Miller M, Reading S, Beg MF, Magnotta VA, Helmer K, Lim K, Lowe M, Mori S, Song A, Turner J, Beall E, Koenig K, Phillips M, Bryant A, Corey-Bloom J, Reilmann R, Unds Z, Fiedorowicz J, Robinson R, Ruggle A, Liu D, Anderson K, Groves M, Rickards H, van Duijn E, Antonijevic I, Giuliano J, Lu W, Lourens S, Zhang Y, Kimble M, Thumma K, Waterman E, Hinkel J, Schaul L, Hughes L, Connell RJ, Pease K, Rogers B, Smith J, Wu S, Zschiegner R, Carney E, McKirgan B, Scully M, Wyse R, Bockholt J, Werling-Witkoske C, Anderson K, Rapp J, Dudler A, Schumacher J, Thompson S, Davis L, Henneberry M, Ennis G, Blanchard S, Montross K, Danzer P. 8OHdG as a marker for Huntington disease progression. *Neurobiology of Disease*, 2012, 46: 625-634.

197. Mecocci P, Polidori MC, Ingegneri T, Cherubini A, Chionne F, Cecchetti R, Senin U. Oxidative damage to DNA in lymphocytes from AD patients. *Neurology*, 1998, 51: 1014-1017.
198. Ichimura T. *Kidney Injury Molecule-1 : a Tissue and Urinary Biomarker for Nephrotoxicant-Induced Renal Injury*, 2018, 2115: 552-563.
199. Zhao X, Jiang C, Olufade R, Liu D, Emmett N. Kidney Injury Molecule-1 Enhances Endocytosis of Albumin in Renal Proximal Tubular Cells. *Journal of cellular physiology*, 2016, 231: 896-896.
200. Zhang Y, Miró M, Kolev SD. An automatic flow assembly for on-line dynamic fractionation of trace level concentrations of mercury in environmental solids with high organic load. *Analytica Chimica Acta*, 2017, 975: 1-10.
201. Cai J, Jiao X, Luo W, Chen J, Xu X, Fang Y, Ding X, Yu X. Kidney injury molecule-1 expression predicts structural damage and outcome in histological acute tubular injury. <https://doi.org/10.1080/0886022X.2019.1578234>, 2019, 41: 80-87.
202. Song J, Yu J, Prayogo GW, Cao W, Wu Y, Jia Z, Zhang A. Understanding kidney injury molecule 1: a novel immune factor in kidney pathophysiology. *American Journal of Translational Research*, 2019, 11: 1219-1219.

EKLER

EK-1 ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Doğum tarihi: Doğum Yeri: Medeni Hali: Uyruğu: Adres: Tel: Faks: E-mail:
Eğitim
Lise: Lisans: Yüksek lisans: Doktora:
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: Almanca: - Rusça: -
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Mustafa Can GÜLER
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Farmakoloji
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 2	% 15
II. Genel Bilgiler	% 1	% 35
III. Materyal ve Metod	% 20	% 35
IV. Bulgular	% 11	% 15
V. Tartışma	% 2	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Tez Yazarı (Öğrenci)

Mustafa Can GÜLER

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Erol AKPINAR

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük

Sayı : 75296309-050.01.04-E.2000163480

30.06.2020

Konu : HADYEK Kararı.

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 15.06.2020 tarihli ve 42190979-000-E.2000146175 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazımız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 26.06.2020 tarihli ve 7 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 96 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

TOPLANTI TARİHİ : 26.06.2020

TOPLANTI SAYISI : 7

KARAR NO 96: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Erol AKPINAR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan **“Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Renal İskemi Reperfüzyon Modeline Costunolide’ in Etkileri”** isimli araştırma çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 15.06.2020 tarihli ve 42190979-000-E.2000146175 sayılı yazısı ile ekleri görüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.

