



**DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDA
SAKSAGLIPTİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ASİYE BEYTUR

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışman
Doç. Dr. Suat TEKİN**

Yüksek Lisans Tezi- 2019

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDA
SAKSAGLIPTİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Asiye BEYTUR

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışman

Doç. Dr. Suat TEKİN

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TCD-2017-647 proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA

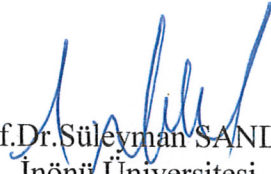
2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Asiye BEYTUR'un " Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Saksagliptinin Etkilerinin Araştırılması "** konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 31/07/2019


Prof. Dr. Sinan CANPOLAT
Fırat Üniversitesi
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Süleyman SANDAL
İnönü Üniversitesi
Üye


Doç. Dr. Suat TEKİN
İnönü Üniversitesi
Tez Danışmanı
Üye

ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../2019 tarih ve 2019/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.1.Nefronlar	4
2.1.2. Böbreğin Kanlanması	6
2.2. Böbrek Fonksiyonunu Değerlendirmede Kullanılan Kavramlar	7
2.2.1. Üre	7
2.2.2. Kreatinin	8
2.2.3. Klirens Kavramı.....	8
2.2.4. Böbrek Fonksiyonları	8
2.3. Böbreklerden Atılan Ürünler	8
2.4. Böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı.....	9
2.4.1. İskemi Hasarı	9
2.4.2. Reperfüzyon Hasarı	10
2.5. İskemi-Reperfüzyon Hasarı Mekanizmaları Serbest Oksijen Radikali ve Türleri ..	10
2.5.1. Serbest Oksijen Radikali ve Türleri.....	11
2.5.2.Süperoksit Radikali.....	11
2.5.3. Hidrojen peroksit	11
2.5.4. Hidroksil Radikali.....	11
2.5.5. Singlet Oksijen.....	12
2.5.6. Nitrojen Oksitler	12
2.5.7. Serbest Oksijen Radikali.....	12
2.6. Serbest Radikallerin Hücre Yapısındaki Etkileri.....	13
2.6.1. Proteinlere Etkisi.....	13
2.6.2. Lipitlere Etkisi	13
2.6.3. DNA'ya Etkisi	14
2.7. Antioksidan Sistemler.....	14

2.7.1. Enzimatik antioksidanlar	15
2.7.2. Süperoksit Dismutaz	15
2.7.3. Katalaz	16
2.7.4. Glutasyon peroksidaz	16
2.7.5. Glutasyon Redüktaz	16
2.8. Non – Enzimatik (Enzimatik olmayan) Antioksidanlar	16
2.8.1. Glutasyon	17
2.8.2. Vitamini E (α -tokoferol)	17
2.8.3. C Vitamini.....	17
2.9. İlaç olarak kullanılan ekzojen antioksidanlar	17
2.10. Böbrek Hasar Belirteçleri	18
2.10.1. Nötrofil Jelatinaz ile İlişkili Lipokalin.....	18
2.10.2. Kidney Injury Marker-1	18
2.10.3. İnterlökin-18	18
2.11. İnkretin.....	19
2.12. Saksagliptin.....	20
3. MATERYAL VE METOT	24
3.1. Araştırmanın Yapıldığı Merkez	24
3.2. Gruptaki Hayvan Sayılarının Belirlenmesi.....	24
3.3. Hayvanların Gruplara Ataması	24
3.4. Deney Hayvanları ve Gruplarının Oluşturulması	25
3.5. Cerrahi Uygulama.....	26
3.6. Dokuların Toplanması	27
3.7. Dokuların Biyokimyasal Analize Hazırlanması	27
3.7.1. Protein Ölçümü	28
3.7.2. SOD Enzim Aktivitesinin Ölçümü	28
3.7.3. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin ölçümü	28
3.7.4. Glutasyon ölçümü	29
3.7.5. Malondialdehit Ölçümü	29
3.7.6. NGAL, KIM-1, IL-18 düzeyinin ölçülmesi.....	29
3.7.7. BUN ve Kreatinin değerlerinin ölçümü.....	29
3.7.8. Hematoksilen ve Eosin Boyama Yöntemi	29
3.7.9. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi	29
3.7.10. İstatiksel Analiz	30

4. BULGULAR.....	31
4.1. Saksagliptin'in Serum BUN Seviyesi Üzerindeki Etkileri	31
4.2. Saksagliptin'in Serumda Kreatin Seviyesi Üzerindeki Etkileri.....	31
4.3. Saksagliptin'in Serum ve Böbrek Dokusundaki NGAL Seviyesi Üzerindeki Etkileri.....	32
4.4. Saksagliptin'in Serum ve Böbrek Dokuda KIM-1 Seviyesinin Üzerindeki Etkileri ..	34
4.5. Saksagliptin'in Serum ve Böbrek Dokuda IL-18 Seviyesi Üzerindeki Etkileri	36
4.6. Saksagliptin'in Böbrek Dokusunda SOD Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri	38
4.7. Saksagliptin'in Böbrek Dokusunda CAT Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri	39
4.8. Saksagliptin'in Böbrek Dokusunda GPx Enzim Aktivitesi Üzerindeki Etkileri ...	40
4.9. Saksagliptin'in Böbrek Dokusunda MDA Seviyesi Üzerindeki Etkileri.....	41
4.10. Saksagliptin'in Böbrek Dokusunda GSH Seviyesi Üzerindeki Etkileri.....	42
4.11. Hemotoksilen-Eozin Histolojik Değerlendirme Sonuçları	43
4.12. İmmünohistokimyasal Değerlendirme Sonuçları	47
4.13. Histolojik Hasar Sonuç	48
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	54
KAYNAKÇA.....	55
EKLER.....	68
EK 1. ÖZGEÇMİŞ.....	68
EK 2. ETİK KURUL KARARI.....	74

TEŞEKKÜR

TCD-2017-647 proje no'lu proje ile yüksek lisans tez araştırmama maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine,

Yüksek Lisans eğitimim boyunca ve tez araştırmalarımın her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle yardımını ve desteğini esirgemeyen her türlü sorunda yanımda olup beni yönlendiren değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Suat TEKİN'e en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Aldığım yüksek lisans eğitimim süresinde Fizyolojinin temel ilkelerini öğrendiğim İnönü Üniversitesi Tıp Fakóltesi Fizyoloji Anabilim Dalındaki bütün hocalarıma, tez çalışmamın cerrahi uygulamalarında destek ve tecrübelerini esirgemeyen Bozok Üniversitesi Tıp Fakóltesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim elamanı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Murat ÇAKIR'a, biyokimyasal analizlerde bilgisinden ve tecrübelerinden faydalandığım İnönü Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı çalışmanı Sayın Dr. Fatma ÖZYALIN'a, tez çalışmamın histolojik analizlerinin incelenmesinde desteği bulunan İnönü Üniversitesi Tıp Fakóltesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim elemanı Sayın Doç. Dr. Aslı TAŐLIDERE'ye,

Eğitimim boyunca benden manevi desteğini ve sabrını esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Asiye BEYTUR

ÖZET

Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Saksagliptinin Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Saksagliptin bir dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) enzim inhibitörü olup, diyabet hastalığının tedavisinde yakın zamanda kullanılmaya başlanmış farmakolojik bir ilaçtır. Son zamanlardaki çalışmalar saksagliptinin diyabetteki koruyucu rolleri dışındaki etkileri araştırılmıştır. Farklı dokularda deneysel olarak oluşturulan doku hasarında saksagliptinin antioksidan etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Bu tez çalışmasında saksagliptinin sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan böbrek iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarındaki rollerini kısmen de olsa açıklamak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmada *Sprague-Dawley* cinsi 40 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar Grup 1 (kontrol), Grup2 (I/R), Grup3 (İ/R+saksagliptin 2mg/kg), Grup4 (İ/R+saksagliptin 10mg/kg) olmak üzere 4 gruba ayrıldı (n=10). Kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmadı, I/R grubundaki sıçanların böbrek dokularına bilateral olarak 45 dakika iskemi sonrasında 24 saat reperfüzyon uygulandı. İskemi gerçekleştirilmeden 1 saat öncesinde oral olarak serum fizyolojik (saksagliptin çözücüsü) verildi. 3 ve 4. gruptaki sıçanlara I/R grubundaki cerrahi işlemlerin tamamı uygulandı ancak iskemiden 1 saat önce 3. gruptaki sıçanlara 2mg/kg saksagliptin ve 4. gruptaki sıçanlara 10mg/kg saksagliptin oral yolla verildi. Reperfüzyon süresi bittiğinde tüm sıçanlar sakrifiye edilerek böbrek ve kan dokuları toplandı.

Bulgular: I/R grubunun serumlarındaki BUN ve kreatin seviyelerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiği ve bunu saksagliptin uygulamasının belirgin olarak azalttığı (p<0.05) görüldü. Öte yandan iskemiye bağlı olarak böbrek dokusunda MDA, KIM-1, NGAL ve IL-18 seviyelerinin artış gösterdiği (p<0.05), saksagliptin uygulaması ile MDA, KIM-1, NGAL ve IL-18 seviyelerinin azaldığı belirlendi (p<0.05). Diğer yandan iskemiye bağlı olarak azalış gösteren GSH seviyesi ile SOD, CAT, GPx enzim aktivitesinin saksagliptin uygulamasına bağlı olarak artış gösterdiği tespit edildi (p<0.05). Yapılan histolojik analizler sonucunda saksagliptinin böbrek doku hasarını azalttığı görüldü (p<0.05).

Sonuç: Yapılan deneysel çalışmada saksagliptinin, iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruyucu rol üstlendiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Böbrek, iskemi, oksidatif stres, reperfüzyon, saksagliptin

ABSTRACT

Investigation of The Effects of Saxagliptin on Experimental Renal Ischemia Reperfusion Injury

Aim: Saxagliptin is a dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) enzyme inhibitor, pharmacological drug that has recently begun to be used in the treatment of diabetes. Recent studies have investigated the effects of saxagliptin other than its protective role in diabetes. It has been reported that saxagliptin has antioxidant effects in experimental tissue damage in different tissues. In this thesis, the aim of study was to explain the role of saxagliptin in experimentally induced renal I/R injury in rats.

Material and Method: Forty male Sprague-Dawley rats were used in the study. The rats were divided into four groups as Group 1 (control), group 2 (ischemia-reperfusion; I/R), group 3 (I/R+saxagliptin 2mg/kg) and, group 4 (I/R+saxagliptin 10 mg/kg) were divided into 4 groups (n=10). No application was made to the control group. I/R group of kidney tissues bilaterally for 45 minutes ischemia and reperfusion for 24 hours. 1 hour prior to ischemia orally saline (saxagliptin solvent) given orally. The rats in groups 3 and 4 received all I/R surgical procedures but 1 hour before ischemia in group 3 rats 2mg/kg in group 4 rats 10mg/kg saxagliptin was administered orally. When the reperfusion was over all rats were sacrificed and kidney and blood tissues were collected.

Conclusion: BUN and creatine levels in serum I/R group increased compared to control group increased and it was observed that saxagliptin administration significantly reduced ($p<0.05$). On the other hand, due to ischemia, MDA, KIM-1, NGAL and IL-18 levels increased in renal tissue due to ischemia ($p<0.05$), it was determined that MDA, KIM-1, NGAL and IL-18 levels decreased with saxagliptin administration ($p<0.05$), again due to ischemia with decreasing GSH levels and SOD, CAT, GPx, enzyme activity it was determined that the increase of saxagliptin ($p<0.05$). As a result of histological analysis revealed that saxagliptin reduced renal tissue damage ($p<0.05$).

Results: The experimental study of saxagliptin, is a protective effect against ischemia-reperfusion injury it has been determined.

Keywords: Kidney, ischemia, oxidative stress, reperfusion, saxagliptin

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	:Adenozin difosfat
ADH	: Antidiüretik hormon
AMP	: Adenozin monofosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
BUN	: Kan üre azotu
Ca²⁺	: Kalsiyum iyonu
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
CAT	: Katalaz
Cre	: Kreatinin
Dk	: dakika
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DPP-4	: Dipeptidil peptidaz-4 enzimi
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GLP-1	: Glukogon benzeri peptit-1
GR	: Glutasyon redüktaz
GİS	:Gastrointestinal sistem
GSH	: Glutasyon
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSSG	: Okside glutasyon
GIP	: Glukoz bağımlı insulintropik
H⁺	: Hidrojen iyonu
HO[·]	: Hidroksil radikali
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
IL-18	: İnterlökin -18
İ/R	: İskemi reperfüzyon
K⁺	: Potasyum iyonu
KDH	: Ksantin dehidrogenaz
KIM-1	: Kidney injury molecule-1
KO	: Ksantin oksidaz
LOO[·]	: Lipit peroksil
LOOH[·]	: Lipit hidroperoksit

MDA	: Malondialdehit
mg/dl	: miligram/desilitre
mg/kg	: miligram/kilogram
mg/ml	: miligram/mililitre
Na⁺	: Sodyum iyonu
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NGAL	: Neutropil gelatinase-associated lipocalin
NO	: Nitrik oksit
O₂	: Oksijen molekülü
ONOO⁻	: Peroksinitrit radikali
PMNL	: Polimorf nüveli lökosit
PT	: Proksimal Tübüler
PBS	: Fosfat tampon tuz çözeltisi
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asidi
RNA	: Ribonükleik asit
ROOH	: Hidroperoksit
O₂⁻	: Süperoksit radikali
¹O₂	: Singlet oksijen
ROS	: Reaktif oksijen türleri
Sax	: Saksagliptin
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikali
Mg	: mikrogram
XD	: Ksantin dehidrogenaz
XO	: Ksantin oksidaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Böbreğin yapısı.....	3
Şekil 2.2. Nefron yapısı	4
Şekil 2.3. Jukstamedüller ve Kortikal Nefron yapısı.....	5
Şekil 2.4. Glomerül ve Makula Densa yapısı	6
Şekil 2.5. Böbreğin damarları ve kanlanması.....	7
Şekil 2.6. GLP-1 ve GIP'in etkileri	19
Şekil 2.7. Saksaglipti'nin kimyasal yapısı.....	21
Şekil 2.8. DPP-4 inhibitörlerinin etki mekanizması (A), Sax'ın etkisi (B)	22
Şekil 3.1. Araştırma planı	26
Şekil 3.2. Sıçanların traş edilmesi (A), işlem yapılacak olan kesi bölgesine povidon iyodin sürülmesi (B) kesi işlemi yapılarak böbreğe ulaşılması (C), ulaşılan böbreğe klemp takılması (D).	27
Şekil 4.1. Deney ve uygulama gruplarının serum BUN düzeyleri	31
Şekil 4.2. Deney ve uygulama gruplarının serum Kreatin düzeyleri.....	32
Şekil 4.3. Deney ve uygulama gruplarının serum ve böbrek doku NGAL düzeyleri ...	33
Şekil 4.4. Deney ve uygulama gruplarının serum ve böbrek doku NGAL düzeyleri.....	34
Şekil 4.5. Deney ve uygulama gruplarının serum ve KIM-1 düzeyleri.....	35
Şekil 4.6. Deney ve uygulama gruplarının böbrek doku KIM-1 düzeyleri	36
Şekil 4.7. Deney ve uygulama gruplarının serum IL-18 düzeyleri	37
Şekil 4.8. Deney ve uygulama gruplarının böbrek doku IL-18 düzeyleri	38
Şekil 4.9. Deney ve uygulama gruplarının SOD enzim aktivitesi.....	39
Şekil 4.10. Deney ve uygulama gruplarının CAT enzim aktivitesi.....	40
Şekil 4.11. Deney ve uygulama gruplarının GPx enzim aktivitesi.....	41
Şekil 4.12. Deney ve uygulama gruplarının MDA seviyeleri	42
Şekil 4.13. Deney ve uygulama gruplarının GSH seviyeleri.....	43
Şekil 4.14. Kontrol grubu böbrek dokusuna ait histolojik görünüşü.....	44
Şekil 4.15. İ/R grubu böbrek dokusuna ait histolojik görünüşü	45
Şekil 4.16. I / R + 2 mg/kg Sax grubunun böbrek dokusuna ait histolojik görünüşü.....	46
Şekil 4.17. I / R + 2 mg/kg Sax grubunun böbrek dokusuna ait histolojik görünüşü.....	47
Şekil 4.18. Tüm gruplarda kaspaz-3 immün boyama prosedürü.....	48

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. Grupların bilgisayar algoritması kullanılarak oluşturulması.	24
Tablo 4.1. Histolojik Hasar. Verilerin değerlendirilmesi.....	49



1. GİRİŞ

İskemi/reperfüzyon (İ/R) patolojik bir durumdur. Bir organda arteriyel kan akımının durması ile meydana gelen iskemi dokunun metabolik beslenmesinin durmasına neden olur. Bu durum hipoksiye neden olur oksijensiz kalan dokuda hasar meydana gelerek derin bir inflamatuvar yanıtı neden olur (1). Reaktif oksijen türleri (ROS) hücre solunumunun yan ürünü olarak oksijen metabolizmasından üretilir ve aerobik organizmaların hepsinde bu durum sürekliedir. Yapılan araştırmalar kanser, Alzheimer, otoimmün ve dejeneratif hastalık süreçlerine oksidatif stresin aracılık ettiğini ileri sürmektedir (2). Günümüzde transplantasyon, travma, nefrektomi, renal arter cerrahisi ve nefron koruyucu cerrahi gibi renal kan akımını azaltan cerrahi girişimlerden kaynaklanan akut böbrek iskemisine bağlı olarak doku hasarıyla sıkça karşılaşmaktadır. Akut böbrek yetmezliğiyle sonuçlanan böbrek İ/R hasarı, yüksek mortalite oranı sebebiyle major bir klinik problemdir. Böbrek kan akımının geçici olarak kesildiği; böbrektransplantasyonu, parsiyel nefrektomi, renal arter anjioplasti, kardiopulmoner bypass, aortik bypasscerrahisi, sepsis, hidronefroz, elektif ürolojik ameliyatlarda görülür. Bununla birlikte kan akımının geri dönmesi iskemik dokuda normal fonksiyonun geri dönmesine sebep olabilir. Bir çelişki olarak reperfüzyon olayı sırasında doku daha fazla hasara da uğrayabilir. Geçen onyılıda iskemi reperfüzyon sırasında üretilen süperoksit radikali, hidrojenperoksit, hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerinin hasarı arttığı bildirilmiştir. İ/R sırasında inflamatuvar araçların artması ve bunun sonucu olarak artan inflamatuvar yanıt doku hasarını artırmaktadır (3, 4). Saksagliptin (Sax) güçlü ve seçici bir dipeptidil peptidaz-4 enzimi (DPP-4) inhibitörüdür. DPP-4 barsakta üretilip glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1) ve glukoz bağımlı insulintropik (GIP) gibi insulin salgılanmasını artıran hormonların yıkılmasına neden olan peptiddir. Bu etkisinden dolayı DPP-4 inhibitörleri tip 2 diyabet tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (5). DPP-4 inhibitörleri ile son yıllarda yapılan hayvan çalışmaları osteoporoz, kalp yetmezliği, ateroskleroz, kanser araştırmaları gibi konuları da kapsamaktadır. DPP-4 inflamatuvar süreçle ilgili rolü olduğu ve DPP-4 inhibitörlerinin antiinflamatuvar etki gösterdiği anlaşılmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda hipoksik hücrelerde ve organlarda DPP-4 mRNA ve protein seviyesinin arttığı gösterilmiştir. Başka çalışmalarda DPP-4 knockout farelerde ve DPP-4'ün farmakolojik inhibisyonu yapılan farelerde kalp iskemireperfüzyon hasarının azaldığı gözlenmiştir (6, 7). Chang ve ark. yaptığı

çalışmada 1 saat iskemi ve 72saat reperfüzyona maruz bırakılan sıçanlarda bir DPP-4 inhibitörü olan sitagliptin uygulamasının böbrek hasarını azalttığı rapor edilmiştir (8). Glorie ve ark. Yaptığı çalışmada 30 dk iskemi ve 2, 12 ve 48 saat reperfüzyona maruz bırakılan sıçanlara bir DPP-4 inhibitörü olan vildagliptin uygulamasının böbrek hasarını azalttığı gösterilmiştir (9). Sax'ın sitagliptin ve vildagliptinden 10 kat daha fazla selektif olarak DPP-4 inhibisyonu sağladığı gösterilmiştir. Sıçanlardaki yarı ömrü 4,5 saattir (10). Literatürde Sax'ın böbrek İ/R hasarına etkisi ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. DPP-4 iskemik süreçle olan ilişkisi, antiinflamatuvar, antiapoptotik özelliği böbrek İ/R hasarında koruyucu etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

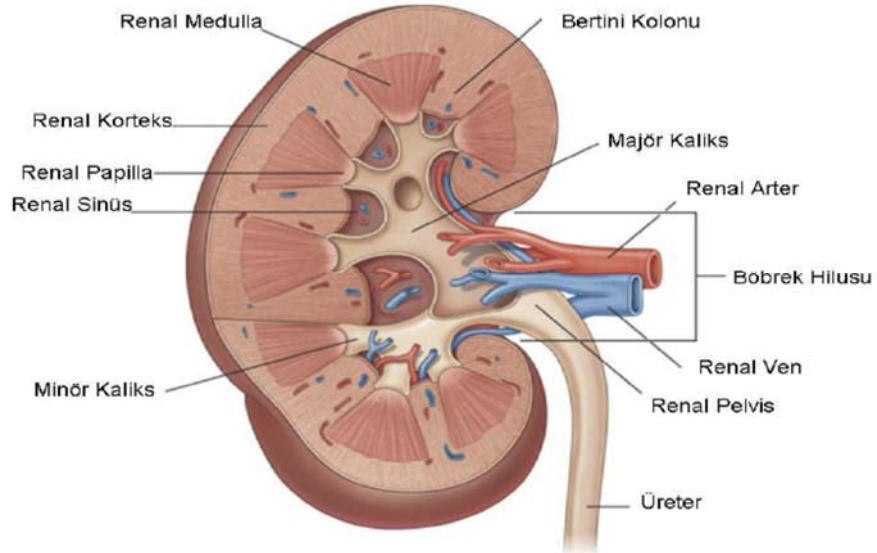
Yaptığımız bu çalışmada sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan böbrek İ/R hasarında saksagliptinin etkilerini araştırmayı amaçlamaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbreğin Yapısı

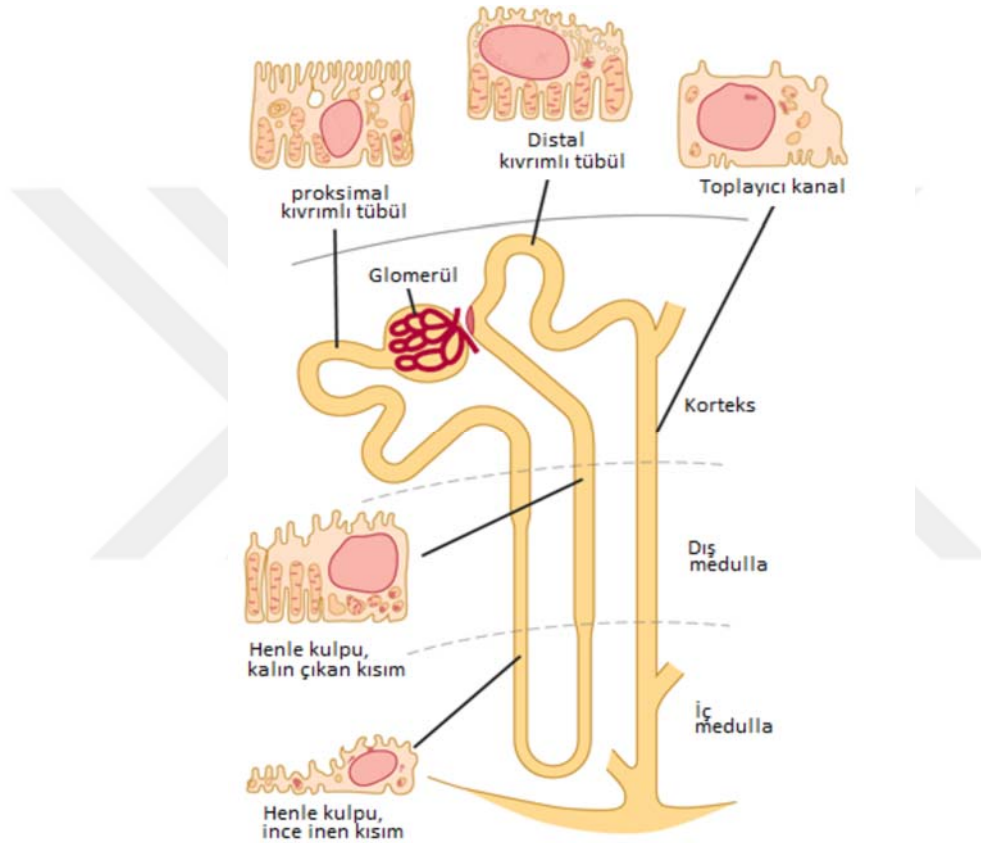
Böbrekler, periton boşluğunun dışında karın arka duvarında yer alır. Yetişkin bir bireyde her bir böbreğin ağırlığı ortalama 150 gramdır. Her böbreğin ortasında hilum adı verilen böbreğin veni, arteri ve lenfatiklerinin, sinirlerinin nihai idrarı böbrekten boşaltıncaya kadar beklediği yer olan mesaneye kadar taşıyan üreterlerin girip çıktığı çukur bir alan bulunur ve bu yapılar Şekil 2.1.'de gösterilmiştir (11). Böbrekler üst noktasından alt noktası boyunca uzun ekseninden ikiye kesilirse; dışta korteks, iç kısmında medulla adı verilen iki bölgeye ayrılır. Böbreğin medullasında böbrek piramitleri denilen koni biçimli 8-10 adet doku kütleleri bulunur piramitlerin tabanı korteks ile medulla arasında başlar ve üreterin üst ucundaki böbrek pelvisine doğru uzanan papillada son bulur. Pelvis idrarı pelvik boşluğundan mesaneye taşıyan üreterin üst-geniş alanını kapsar. İnsan böbreğinde pelvis majör kaliks adı verilen 2 ya da 3 keseye ayrılır. Her majör kaliks idrarı papilladan taşıyan minör kalikslere ayrılır. Kaliksler, pelvis ve üreterin duvarında düz kas bulunur ve bu kasların kasılması ile birlikte idrar mesaneye gönderilir (11).



Şekil 2.1. Böbreğin yapısı (12).

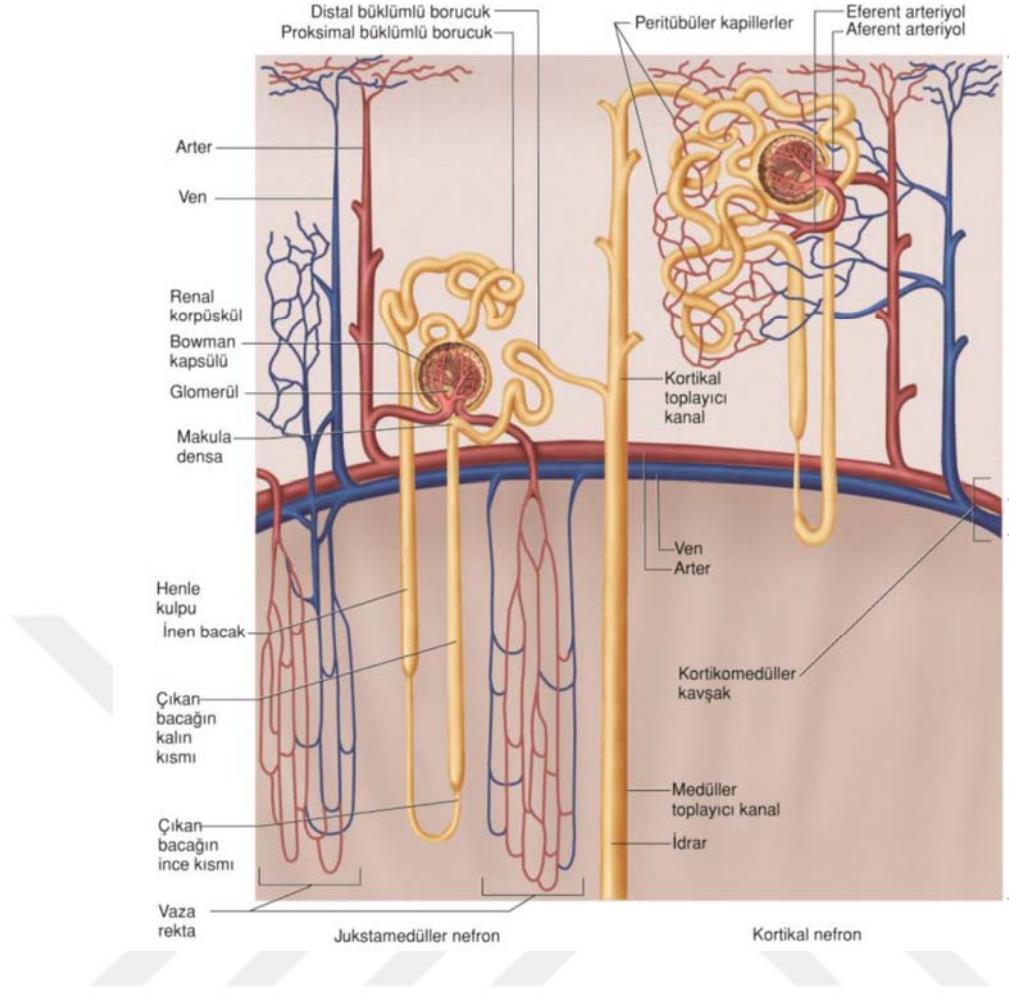
2.1.1. Nefronlar

Her bir böbrekte idrar oluşturma yeteneğine sahip bir milyon kadar nefron bulunur (Şekil 2.2.). Nefronların böbrek hastalıkları, böbrek hasarı ya da yaşlanmaya bağlı olarak sayılarında azalma meydana gelir. 40 yaşından sonra aktif olarak işlev gören nefronların sayısı her 10 yıl içinde azalma gösterir. Her nefron fazla miktarda sıvının filtre glomerül ve böbrek pelvisi yolu boyunca filtre edilen sıvının idrara dönüştüğü uzun bir tübülden meydana gelir (13).



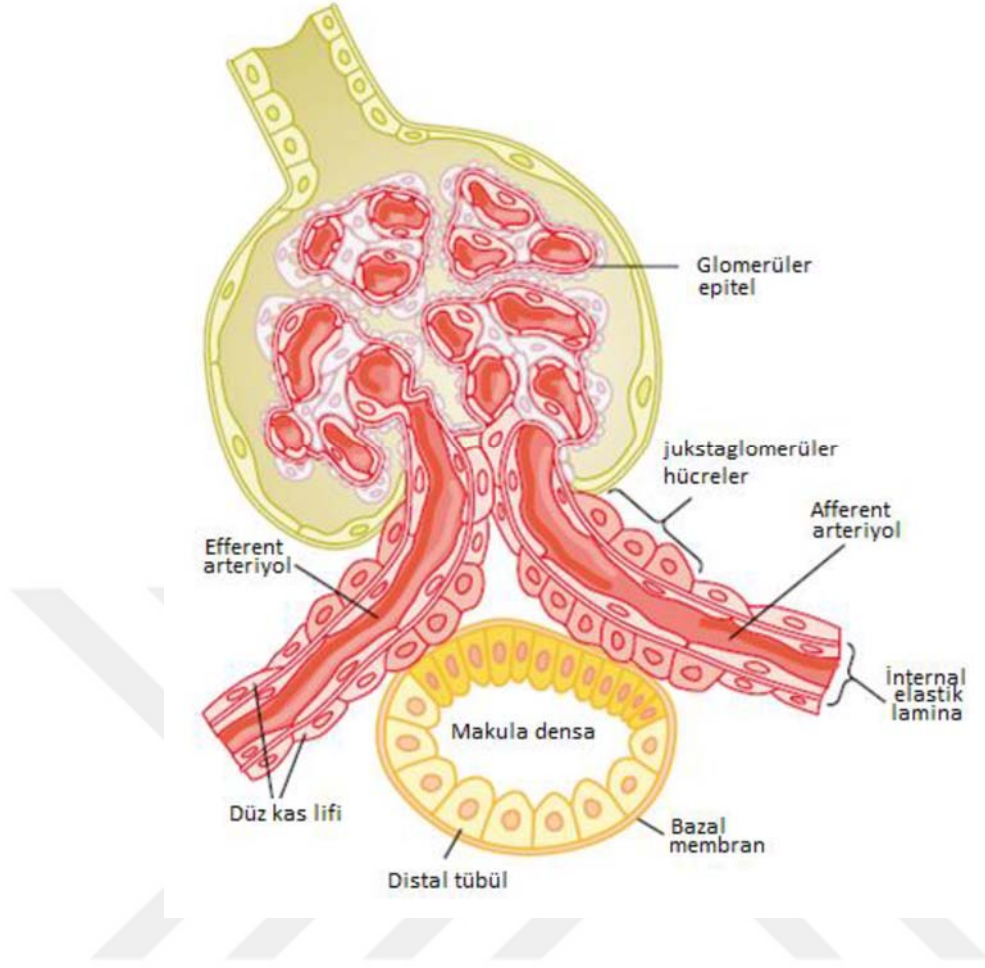
Şekil 2.2. Nefron yapısı (13).

İki çeşit nefron bulunmaktadır. Glomerülü korteksin dış kısmında bulunanlara korteks nefronları olarak adlandırılır. Bu nefronların henle kıvrımları çok kısa mesafeye iner. Glomerülleri korteksin nispeten daha derin kısmında bulunanlara ise jukstamedullar nefron denir. Jukstamedullar ve kortikal nefron yapıları Şekil 2.3’de sunulmuştur. Bu nefronların henle kıvrımları çok uzun ve medullanın derinliklerine kadar iner (11).



Şekil 2.3. Jukstamedüller ve Kortikal Nefron yapısı (14).

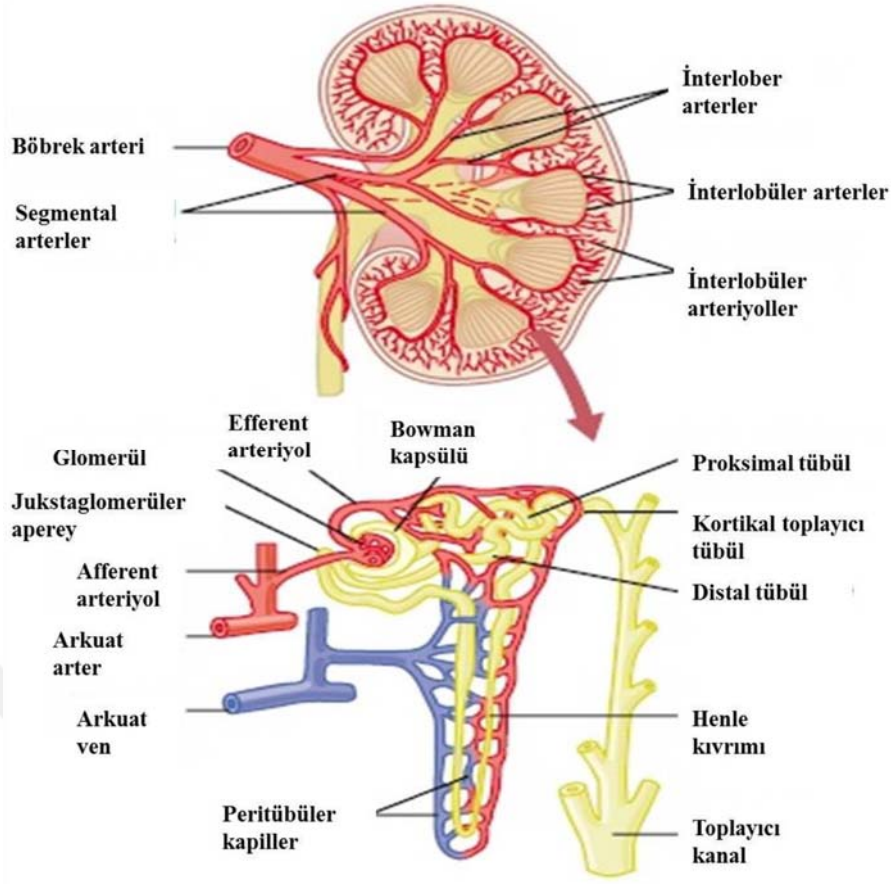
Diğer kapiller ağlar ile kıyaslandığında glomerül kapiller ağın daha yüksek hidrostatik basınca (60 mmHg) sahip olduğu görülmektedir. Glomerül kapilleri, epitel hücreler ile kaplı ve glomerül Bowman kapsülü ile beraber sarılmıştır. Glomerül kapillerden filtre edilen sıvı ilk olarak Bowman kapsülünün içine ve ardından böbrek korteksinde bulunan proksimal tübül içine doğru akar ardından sıvı henle kıvrımına akar ve henlenin bir inen kolu bir de çıkan kolu bulunur. Sıvının çıkan kolu kortekse inen kolu da medullaya doğru akar. Henlenin çıkan kolunun sonunda özelleşmiş epitel hücreleriyle oluşan plak içeren kısa bölümüne makula densa adı verilir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Glomerül ve Makula Densa yapısı (11).

2.1.2. Böbreğin Kanlanması

Böbreğin kan akımı normalde kalp debisinin %22'si veya dakikada 1100 ml'dir. Böbrek arteri hilum bölgesinden böbreğe girer ve interlober, arkuat, interlobüler (radyal) arterler ve afferent arteriyollere ayrılır. Afferent arteriyoller, plazma proteinlerinden başka, fazla miktarda su ve maddelerin filtre edilerek idrar yapımının başladığı yer olan glomerül kapillerini oluşturur (Şekil 2.5.). Her glomerül kapillerinin distal ucu bir araya gelerek, böbrek tübüllerini çevreleyen peritübül kapilleri denilen ikinci bir kapiler ağı oluşturan efferent arteriyolü oluşturur. Böbrekteki kan dolaşımı, iki farklı kapiler yatağı olan özel dolaşımdır (11).



Şekil 2.5. Böbreğin damarları ve kanlanması (11).

2.2. Böbrek Fonksiyonunu Değerlendirmede Kullanılan Kavramlar

2.2.1. Üre

Molekül ağırlığı 60 dalton olan üre karaciğerde protein metabolizması sonucu oluşan ve amonyaktan sentezlenen maddedir. Laboratuvar sonuçlarında üre içindeki nitrojeni ölçerek kan üre azotu (BUN) değeri elde edilir. Üre karaciğerde sentezlendiğinden ve tübüler reabsorpsiyona uğradığından böbrekte fonksiyon bozukluğu olmadan kandaki BUN seviyesinde değişimler olabilir. Protein alımının artması aminoasitlerin infüzyonu gastro intestinal sistem (GİS)'te oluşan kanama gibi durumlarda kandaki BUN seviyesinin artmasına neden olmaktadır. Akut veya kronik olan karaciğer hastalıklarında, protein eksikliği gibi durumlarda kandaki BUN seviyesinin düşmesine neden olmaktadır. Kan veya serumdaki normal üre azot aralığı litre başına 5-20 mg/dl veya 1.8-7.1 mmol üredir (15).

2.2.2. Kreatinin

Molekül ağırlığı 113 dalton olan kreatinin kas metabolizması sonucu meydana gelir yapım oranı kasın kitlesi ile yakından ilgilidir. Travma ağır egzersiz gibi durumlarda kaslarda artan kreatin salınımı ile böbrek fonksiyonlarında bozulma olmadan da kreatinin seviyesi yüksek çıkabilir. Sağlıklı yetişkin erkeklerde kreatinin normal değeri 0.6-1.2 mg/dl yetişkin kadınlarda 0.5-1.1 mg/dl 'dur fakat ilerlemiş böbrek yetmezliğinde oranı %40 kadar olabilmektedir (15).

2.2.3. Klirens Kavramı

Böbreklerde plazma belli maddelerden arındırılmaktadır. Klirens kavramı birim zamanda ilgili maddeden arındırılan plazma volümünü olarak ifade edilir.

$$\text{Klirens} = (\text{İdrar Konsantrasyonu} \times \text{İdrar Volümü}) / (\text{Plazma Konsantrasyonu} \times \text{Zaman})$$

$$\text{Plazma Klirensi} = \text{Maddenin İdrardaki Konsantrasyonu (mg/ml)} \times \text{İdrar Hacmi (ml/dk)} / \text{Maddenin Plazmadaki Konsantrasyonu (mg/ml)} \text{ (16).}$$

2.2.4. Böbrek Fonksiyonları

Böbrekler vücudumuzda metabolizma sonucu meydana gelen atıkları arındırma fonksiyonu vardır. Vücut sıvılarının hacim ve bileşimi böbreklerin kontrolündedir. Böbrekler plazmayı filtre ederek oluşan filtrattan vücudun ihtiyacına göre maddeleri uzaklaştırır ve bu sayede böbrekler vücut için gerekli maddelerin kana geri verilmesini sağlarken diğer yandan istenmeyen zararlı maddeleri idrar ile dışarıya atar.

- Asit – baz dengesinin düzenlenmesi
- Eritrosit yapımının düzenlenmesi (eritropoetin salgılayarak)
- Arteriyel kan basıncının düzenlenmesinde
- Bazı hormonların salgılanmasında ve metabolize edilerek, atılması.
- Glikoneogenez (uzun süreli açlık esnasında aminoasitlerden glikoz sentezler)

2.3. Böbreklerden Atılan Ürünler

- Aminoasitlerin yıkımı sonucu oluşan üre
- Kas kreatini

- Nükleik asitlerden oluşan ürik asit
- Hemoglobinin yıkımı sonucu oluşan son ürün bilirubin
- Hormon metabolitleri
- İlaçlar ve besin maddeleri gibi dışarıdan alınan yabancı maddeler (17).

2.4. Böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı

2.4.1. İskemi Hasarı

Böbreklerde hipovolemik şok, kardiyak arrest, aortun klemplenmesi, organ hasarı gibi klinik durumlarda akut İ/R hasarı oluşmaktadır (18). İskemide dokuya giden kan akımının kesilmesi ile hücrel oksidatif fosforilasyon ve buna bağımlı olarak ATP ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezinde azalma meydana gelir (19). ATP'nin azalması hücre içinde çoğu sistemi etkiler. Hücrede ATP nin azalması ile hücre zarında bulunan Na^+ - K^+ -ATPaz pompasının aktivitesini azaltır buna bağımlı olarak hücre içerisinde Na^+ ve Ca^{+2} birikimine ve K^+ azalma oluşur. Katı maddelerin artışı ve suyun izoozmotik artışı ile beraber akut hücrel şişme meydana gelir (20, 21). Normal durumda ATP bağımlı kalsiyum taşıyıcıları ile sitoplazmik Ca^{+2} ekstraselüler sıvıya göre daha düşük konsantrasyonda tutulur ve çoğu mitokondri, endoplazmik retikulum içerisinde yer alır. İskemi esnasında sitozoldeki Ca^{+2} konsantrasyonunda artma ile plazma membranından geçen , mitokondri ve endoplazmik retikulundan salgılanan Ca^{+2} sorumludur. Sitoplazmada artan Ca^{+2} fosfolipazları, ATPaz'ları, proteazları, endonükleazları aktif hale getirir. Fosfolipaz A2'nin aktivasyonu ile membranın fosfolipit yapısı bozulmaya başlayarak membrandaki hasar dahada ilerler (20). İskemi esnasında ATP'nin üretimi durup, kullanımı devam ettiğinden dolayı ATP'den sırası ile adenzin difosfat (ADP), adenzin monofosfat (AMP) ile adenzin oluşur. Adenzinde hücrenin dışına difüze olup inozin ve hipoksantine dönüşür. Normal durumda hipoksantin , ksantin dehidrogenaz (XD) vasıtasıyla ürik asit ve ksantin'e metabolize olur. Bu oluşan reaksiyonda elektron alıcısı okside nikotinamid adenin dinükleotit (NAD^+) 'dir. Hücre içinde artan Ca^{+2} , Ca^{+2} bağımlı proteazlar aracılığıyla XD'ın ksantin oksidaz (XO)'a dönüşümüne neden olur. Reperfüzyonun başlaması ile birlikte hipoksanti'nin ksantine ve ksantininde ürik asit'e dönüşümü XO tarafından gerçekleştirilir. Bu oluşan reaksiyonda elektron alıcısı olarak moleküler oksijen kullanılır ve bunun sonucunda SOR oluşur (22, 23). Oluşan iskemi devam ederse mitokondri ve kristalarında vakolizasyon, lizozomlarda şişme, plazma

zarında aşırı zedelenme ve matrikste kalsiyumca zengin şekilsiz yoğun içerik birikimiyle hasar oluşur.

2.4.2. Reperfüzyon Hasarı

Reperfüzyon, iskemik dokuya yeniden kan akımının sağlanması ile birlikte dokunun oksijenlenmesi olayıdır. İskeminin ortadan kalkması ile oksijenli kanın dokuya gelişi iskemik dönemden daha çok doku hasarını meydana getirecek bir sürecin başlamasına neden olur (24). İskemik süreçte hücredeki iyon derişimlerinin değışmesi ile proinflamatuvar sitokinlerin lökosit adezyon moleküllerinin yapımında artma ve buna karşılık antioksidan enzimlerde azalma gibi hücredeki metabolik yapısal değışiklikler hücrede reperfüzyon sırasında oluşan veya oluşacak hasara karşı dayanıksız olmasına neden olur (24). Proteinler, zar lipitleri, Nükleik asitler, deoksiribonükleik asit molekülleri reperfüzyon hasarına karşı en çok duyarlı olan hücresel yapılardır (25). Reperfüzyon sonucunda kaspaz-3 ve kaspaz-8 gibi preapoptotik proteinler apoptozu başlatır ve bu proteinler mitokondrinin çeper yapısında ve fonksiyonunda bozulmaya neden olurken, nükleer DNA'nın yıkılarak hücrelerin ölmesine neden olan sitokrom C vitamininin sitoplazmaya salınmasını sağlar (26, 27). Apoptozu başlatan gen faktörü, tümör nekrozis faktör (TNF) reseptörünün üst grubuna ait olan ölüm reseptörüdür ve hücre dışından aldıkları ölüm sinyallerini hücrenin içine iletirler ve bununla birlikte hücre içinde hasarlanmış DNA, mitokondri, endoplazmik retikulum gibi hücre organellerinde ölüm sinyalinin kaynağını oluşturur (28, 29). Renal hücredeki İ/R hasarının oluşumunda birçok faktör rol alıp bunlardan hipoksi, yangı, serbest radikaller yer alır. SOR'nin büyük kısmı yaralanmada önemli bir rol oynayıp bu süreçte hücre hasarına sebep olur (30).

2.5. İskemi-Reperfüzyon Hasarı Mekanizmaları Serbest Oksijen Radikali ve Türleri

İskemi-reperfüzyon hasarı birbiri ile bağımlı, karmaşık hücresel ve humoral olaylar dizisidir. Hasarın fizyopatolojisi ile ilgili özellikle dört faktörün etkili olduğu öne sürülmektedir;

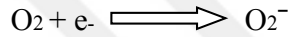
- 1- Serbest oksijen radikalleri
- 2- Polimorf nüveli lökositler (PMNL)
- 3- Kompleman sistemi
- 4- Endotel hücre (1).

2.5.1. Serbest Oksijen Radikali ve Türleri

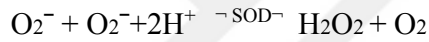
Serbest radikaller bir ya da daha fazla ortaklanmamış elektron içeren kimyasal reaktiviteleri yüksek moleküllerdir. Kimyasal olarak kararsız bir yapıda olan serbest radikaller, dış yörüngelerindeki elektronu eşlemek için atom ya da molekül ile etkileşime girerek kararlı duruma geçme eğilimindedirler (31, 32).

2.5.2. Süperoksit Radikali

Hemen hemen bütün aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alması sonucunda indirgenerek serbest süperoksit radikal anyonu (O_2^-) oluşmaktadır. Süperoksit bir serbest radikal olmak ile birlikte kendisi direkt olarak çok zarar vermez asıl önemini hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasındandır (33, 34).

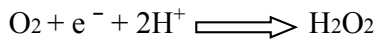


Süper oksit anyonunun dismutasyonu ile $H_2O_2 + O_2$ meydana gelir (35).



2.5.3. Hidrojen peroksit

Moleküler oksijenin çevresinde bulunan molekülden iki elektron alması ya da süperoksidin bir elektron alması sonucunda peroksit meydana gelir. Peroksit molekülü iki tane hidrojen molekülü ile birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) oluşturur (36, 37). H_2O_2 aslında bir serbest radikal molekülü olmadığı halde reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol alır. Süperoksit ile reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici SOR olan hidroksil radikalini oluşturur ve kolaylıkla yıkılabilir (36).



2.5.4. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali (OH) hidrojen peroksidin geçiş metalinin varlığında indirgenmesi sonucu oluşur (37). Yarılanma ömrü kısadır, son derece reaktif oksijen radikalidir, oluştuğu yerde büyük hasara yol açar. Yağ asitleri ve tiyoller gibi moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına sebep olur (36).

Glutasyon ve doğal enzimler yetersiz seviyede ise hidrojen peroksit ve süperoksit ayrı ayrı ortamlarda serbest halde olan Fe^{+3} veya Cu^{+2} ile reaksiyonu sonucu en güçlü radikal olan hidroksil molekülünü oluşturur (38).

Fenton reaksiyonu (39).



Haber-Weiss reaksiyonu (40).



2.5.5. Singlet Oksijen

Oksijen molekülünün yörüngesinde elektronlardan birinin enerji alarak yörüngesini değiştirmesi ile Singlet oksijen (1O_2) oluşur. Protein, DNA ve lipitleri doğrudan okside edebilir. Biyolojik sistemlerce farklı biyomoleküller ile etkileşime girme yeteneğine sahiptir (41, 42).

2.5.6. Nitrojen Oksitler

Serbest oksijen olan nitrojen oksit (NO) basit bir gazdır. Küçük bir molekül olması ve lipofilik olma özelliğinden dolayı hücre membranından kolayca geçebilir. NO proteinlerin fonksiyonlarında değişim, hücre hasarında hücrenin korunmasını sağlar (43).

2.5.7. Serbest Oksijen Radikali

İ/R hasarında indirgenme reaksiyonları sonucu meydana gelen SOR primer olarak görev alır (44). Serbest oksijen radikalleri ile lipid peroksidasyonunun doku ve organlarda meydana getirdiği hasar ve oluşan hastalıkların patogenezindeki rolü etkin şekilde araştırılmaktadır. Dejeneratif hastalıklar, yaşlanma, yanık, akciğer hastalıkları, katarakt, diyabet, ateroskleroz gibi hastalıkların oluşumundaki etkisi yapılan birçok çalışmada kanıtlanmıştır (41). SOR aerobik hücrelerde normal metabolizmasının oluşması dışında; inflamasyon, radyasyon, İ/R, hiperoksi ve bazı ilaçların alınması ile meydana gelir. SOR iki farklı kaynağı vardır bunlar;

Endojen Kaynaklar

- Mitokondriyal elektron transport sistemi
- Mikrozomal elektron transport sistemi
- Endoplazmik retikulum ve nükleer Membran elektron transport sistemi
- Siklooksijenaz, ksantin oksidaz, lipooksijenaz
- Eozinofiller, nötrofiller, monosit ve makrofajlar
- Endotelial hücreler
- Otooksidasyon reaksiyonları
- Okside glutatyon

Eksojen Kaynaklar

- İlaç oksidasyonları
- Radyasyon, sigara
- Güneş ışığı, ısı şoku (41, 45, 46).

2.6. Serbest Radikallerin Hücre Yapısındaki Etkileri

Serbest radikaller dış yörüngesinde bulunan ve paylaşılmamış elektron taşıyan kimyasal ürünlerdir. Oluşturdukları düzensiz durumdan dolayı meydana gelen enerji organizmanın temel yapıtaşı olan protein, lipit, karbonhidrat ve inorganik kimyasallar gibi çevre moleküller ile oluşan tepkime sonucu oluşurlar. Serbest radikaller hücrenin membranı ve nükleik asitlerin yapısında bulunan anahtar moleküllerdir (35, 47). Serbest radikaller hücrede DNA, lipit, hücre membranı ve proteinlere saldırarak hücreyi zarara uğrattır.

2.6.1. Proteinlere Etkisi

Proteinlerin serbest radikal hasarını etkileme derecesi aminoasitlerinin kompozisyonuna bağlıdır. Proteinlerin oksidasyonu özellikle tirozin, histidin, fenil alanin gibi aminoasitlerde karbonil gruplarının bulunmasıdır. Proteinlerin çapraz bağlama ile fragmantasyon oluşumu vardır. Protein fonksiyonlarında (kataliz, transport, reseptör) bozulma ve immün sistem stimüle edecek antijenik değişiklikler meydana gelebilir (48).

2.6.2. Lipitlere Etkisi

Lipitler hücre zarlarının yapısında doymamış yağ asitleri (PUFA) şeklinde bulunur. Lipitler serbest radikallerin oluşan etkilerine karşı diğer biyomoleküllere kıyasla. PUFA'ların serbest radikallere maruz kalması lipit peroksidasyonu ile sonuçlanır

(49). PUFA'lar ve metabolitleri enerjinin sağlanmasında, gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve hücre içi sinyal oluşumu gibi önemli fizyolojik rolleri vardır. Bu nedenle lipit peroksidasyonu membran lipit tabakasında fizyolojik değişiklikler yaparak hücrel işlev kaybına neden olabilmektedir (50-52). Reaksiyonda oluşan ilk aşama PUFA'ların metilen grubunun 1O_2 veya HO^{\cdot} radikali ile tepkimeye girmesiyle başlar. Molekül içindeki çift bağın yer değiştirmesi ile dien konjugatları ve ardından lipit radikalının oksijen radikali ile tepkimeye girmesi lipit peroksil radikali (LOO^{\cdot}) oluşur. LOO^{\cdot} radikali hücre membranındaki diğer PUFA'ları etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşmasını sağlar. Oluşan reaksiyonda ilk olarak PUFA'lardan kopan hidrojen atomları LOO^{\cdot} radikali ile birleşerek lipit hidroperoksitlere ($LOOH$) dönüşür. Bu şekilde kendini tekrarlayan otokatalitik reaksiyonlara dönüşerek reaksiyon devam eder. Lipit peroksidasyonu hücreler için çok zararlı olabilen etkiler oluşturur (51, 52). Hücre membranında oluşan deformasyonlar membranın geçirgenliğinin bozulmasına ve hücre içi iyon dengesinin bozulmasına ve hücre membranındaki reseptörlerin, enzimlerin etkilenmesi ile hücrel fonksiyonlarda bozulmaya neden olabilir. $LOOH$ hücrede yıkıma uğradığında çoğu aldehitlere dönüşür. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda yine bir aldehit olan malondialdehit (MDA) meydana getirir. MDA membran komplementlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyon yaparak; deformasyon, enzim aktivitesinde ile iyon transportunda bozulmaya ve hücre yüzeyindeki bileşenlerde agregasyona sebep olarak membran yapısını bozar (52-54).

2.6.3. DNA'ya Etkisi

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'da hasar yaparak hücrelerin değişimine ve ölüme neden olurlar. DNA yapısındaki pürin ve pirimidin bazlarında parçalanması ve yıkımı sonucunda DNA'nın denatürasyonuna sebep olur. Oksidatif hasarda baz çifti değişimleri gibi yeniden düzenleme ile yapısı değişmekte ve mutasyonlar ortaya çıkmakta. DNA serbest radikallerden kolay zarar görebilir ve önemli bir hedeftir (48, 55).

2.7. Antioksidan Sistemler

Antioksidanlar, serbest radikalleri yada serbest radikallerin işlevini nötralize eden maddelerdir (56). Antioksidanlar serbest radikal oluşturan tepkimeleri sonlandırarak ve radikal oluşumunu sınırlandırması ile meydana gelen radikalleri detoksifiye ederek ya da oksidatif hasara maruz kalmış maddelerin onarılmasını sağlayarak etkisini gösterir

Organizmadalarda meydana gelen anabolik ve katabolik olaylar ile bütün metabolizmayı etkileyen ve bir kısmı enzimlerin aktif gruplarında bulunan, yetersizliği ve yokluğunda fizyolojik fonksiyonların önemli derecede azalmasına veya durmasına sebep olan antioksidan maddelere karşı ilgiyi artırmış ve bilimsel araştırma konusu olmuştur (57, 58). Antioksidanlar dört farklı mekanizma ile radikallere etki eder bunlar;

1- Toplayıcı Etki

Antioksidanlar serbest oksijen radikallerine etki ederek onları tutar yada daha etkisiz olan başka bir moleküle çevirir. SOR etkisini bu şekilde engellemesi toplayıcı etki olarak tanımlanmaktadır. Bu tip etkiyi gösteren antioksidanlar; antioksidan enzimler ve geraniol örnek olarak verilebilir (58-60)

2- Bastırıcı Etki

Antioksidanlar serbest oksijen radikalleri ile etkileşimi sonucu bir hidrojen iyonu verip aktivitelerini azaltarak yada nötr hale dönüştürerek inaktive hale getirir. Bu etkiye, vitaminler ve flavonoidler sahiptir (58-60).

3- Zincir Reaksiyonlarını Kırma Etkisi

Antioksidanlar SOR ile birleşerek reaksiyon zincirini kırar ve fonksiyonunu engeller. Ağır metaller, hemoglobin oksidanları kendilerine bağlayarak inaktive hale getirirler (58-60).

4- Onarıcı Etki

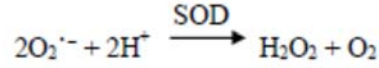
Serbest oksijen radikallerinin sebep olduğu hasara karşı iyileştirici etki gösteren antioksidanlardır (58-60).

2.7.1. Enzimatik antioksidanlar

Hücre içerisinde farklı mekanizmalarla oluşan radikaller bazı enzimler tarafından giderilir bu enzimler doğrudan ya da dolaylı olarak serbest radikalleri giderme mekanizmasında katkıda bulunur bu enzimler aşağıdaki gibidir;

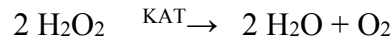
2.7.2. Süperoksit Dismutaz

En etkin antioksidanlardandır üç tane izoenzimi vardır bunlar; hücre içinde Cu-Zn Süperoksit Dismutaz (SOD), (SOD-1, sitozolde Mn SOD (SOD-2) ve mitokondride EC (ekstra selüler) SOD (SOD-3). Oksijenden ilk oluşan reaktif olan süperoksit anyonu H_2O_2 ve oksijen molekülüne (O_2) dönüştürmektedir (61).



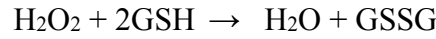
2.7.3. Katalaz

Katalaz (CAT), 240,000 dalton molekül ağırlığında ve tetrametrik yapıya sahip bir proteindir. Bütün aerobik hücrelerde bulunur. Karaciğer, böbrek, çizgili kas, miyokart ve eritrositler katalazın en çok aktive gösterdiği yerlerdir. Katalaz, %80 peroksizomlarda ve %20 sitozolde mevcuttur (62).



2.7.4. Glutasyon peroksidaz

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), sitozolik enzim olup yapısında selenyum atomu bulundurur. GSH-Px, hidrojen peroksidin suya yıkılmasını katalizleyerek etkisiz hale getirir (63). Bu tepkimeyi gerçekleştirirken indirgenmiş glutasyonu substrat olarak kullanır ve reaksiyon sonucunda oksitlenmiş glutasyon (GSSG) ve su molekülü oluşur (64).



2.7.5. Glutasyon Redüktaz

Hidrojen peroksidin detoksifikasyonu ile okside forma dönüşmüş olan glutasyonun tekrardan kullanılması için, NADPH varlığında glutasyon redüktaz enzimi ile glutasyon disülfiti tekrar redükte glutasyona (GSH) dönüşür (64).

2.8. Non – Enzimatik (Enzimatik olmayan) Antioksidanlar

Yapısında enzim bulunmayan doğal antioksidanlardır, bitki ve hayvan dokularında bulunan veya bitkisel ya da hayvansal kaynaklı bileşiklerin pişirilmesi yada işlem görmesi sonucunda meydana gelen maddelerdir. Çoğu bitkilerde, mikroorganizmalarda ve bazı hayvansal dokularda bulunur. Glutasyon, melatonin, albumin, miyogloblin, metiyonin, hemogloblin, bilirubin, sistein, urat, laktoferrin ve ferritin gibi moleküller enzim olmayan endojen kaynaklı antioksidanlardır (65, 66).

2.8.1. Glutasyon

GSH, glutamik asit, sistein ve glisinden meydana gelir ve çok önemli bir antioksidandır. GSH hücrede en fazla nükleus mitokondri ve sitozolde bulunur. Hücre içinde fazla miktarda indirgenmiş olarak bulunur ve glutasyon peroksidazın katalizlediği reaksiyonda endojen olarak üretilen peroksitlere karşı okside olup indirger. Glutasyon redüktazın katalizlenmesi ile redükte halde tutulan GSH hücreyi etkili bir şekilde koruyabilmektedir. Singlet oksijen ve hidroksil gibi reaktif oksijen türlerinin temizleyicisi olan glutasyon peroksitler ve serbest radikaller ile reaksiyona girip hücreyi oksidanlara karşı korur. Glutasyon enzim ile proteinlerin inaktivasyonunu proteindeki sülfütril (-SH) grupları redükte halde tutarak sağlarlar (67, 68).

2.8.2. Vitamini E (α -tokoferol)

İnsan vücudunda esansiyel olan antioksidan bir bileşiktir bundan dolayı dışarıdan alınmalıdır. Hücre membranının fonksiyonu ve yapısı için önemli olan doymamış yağ asitlerinin korunmasında görev alır. Zincir kırıcı olarak görev alan vitamin E membranlarda oksijen radikalinin ana temizleyicisidir. Kolay yoldan membran fosfolipitlerine difüze olarak, bileşikleri doymamış yağ asitlerine indirger ve serbest radikallerin membranlarda oluşturabileceği lipit peroksidasyonunu önler (69, 70).

2.8.3. C Vitamini

C vitamini (askorbik asit) bitkilerde yaygın bulur ve suda çözünen vitamin grubundandır. Güçlü indirgeyici olan C vitamini semihidroaskorbat radikal ara ürünü vasıtasıyla kolayca dehidroaskorbik aside okside olur. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolay reaksiyona girer ve bu radikallerin temizlenmesinde görev alır (71, 72).

2.9. İlaç olarak kullanılan ekzojen antioksidanlar

NADPH oksidaz inhibitörleri (lokal anestezipler, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar), Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinöl, oksipürinöl,), Rekombinant süperoksit dismutaz, Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin) TNF ve IL-1 inhibitörleri. Ekzojen antioksidan ajanlar serbest radikal hasarını oksijenden kaynaklı serbest radikal üretimini engellemesi ve oluşan radikallerin tutulması endojen antioksidan korunma mekanizmalarını artırması ile önlerler (73).

2.10. Böbrek Hasar Belirteçleri

Günümüzde böbrek hasarının değerlendirilmesinde yeni biyobelirteçler tanımlanmıştır. Bu tür biyobelirteçler hasarın ilerlemesini yavaşlatmak ve potansiyel olarak iyileştirmek için önleyici stratejilerin daha erken uygulanmasında yardımcı olmaktadır (74).

2.10.1. Nötrofil Jelatinaz ile İlişkili Lipokalin

Siderokalin veya lipokalin-2 olarak adlandırılan nötrofil jelatinaz ile ilişkili lipokalin (NGAL), başlangıçta insan nötrofillerinde tanımlanan lipokalin süper ailesine ait 25 kDa polipeptididir. Böbrek, trakea, akciğer, mide ve kolonda dahil olmak üzere çeşitli insan epitellerinde eser miktarda bulunur (75, 76). İskemi veya toksik olaylar sırasında organellerden salınan hücrel kararsız demiri temizleyerek işlevini yapar. Mevcut demirin azaltılması bakteriyel büyümeyi inhibe eder ve organ yaralanması sırasında oksidatif stresi azaltır. Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda NGAL, böbrek hasarı süresi ile doğru orantılı olarak yükseldiği gözlenmiştir. Deneysel çalışmalarda NGAL'nin renal iskeminin başlangıcından sonra en fazla indüklenen genlerden biri olduğunu göstermiştir iskemi veya toksik bir olay sırasında erken biyobelirteç olarak kullanılması önerildi (75-77).

2.10.2. Kidney Injury Marker-1

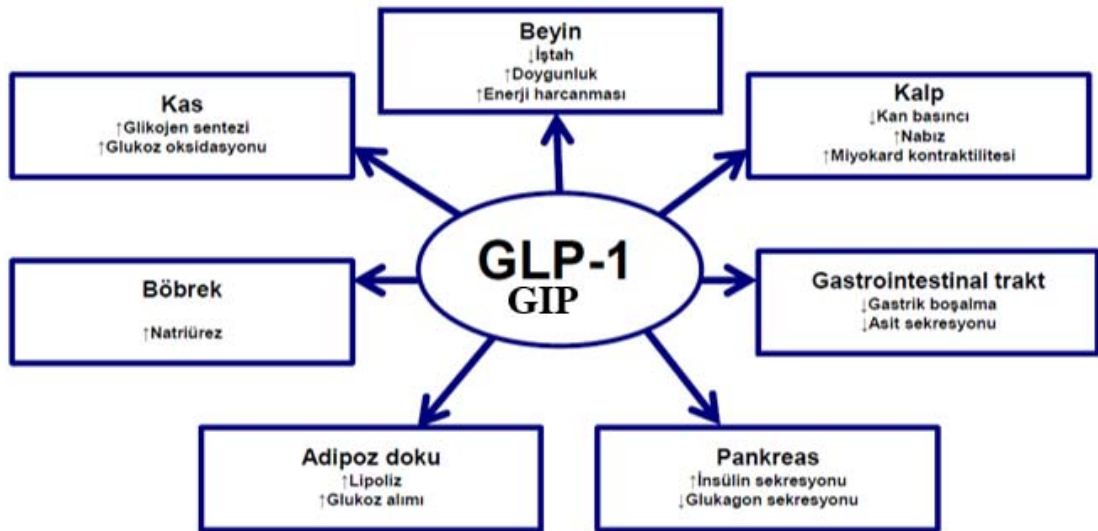
İnsan böbrek hasar molekülü-1 (KIM-1), normal böbrek dokusunda saptanamayan, ancak iskemik veya toksik hasardan sonra proksimal tübül epitel hücrelerinde yüksek seviyede bulunan bir tip I transmembran proteindir (78). Yapısal olarak KIM-1, hücre adhezyon molekülü 1'i (MAdCAM-1) en çok andıran immünoglobulin gen süper ailesinin bir üyesidir (79). KIM-1 böbreklerde iskemi-reperfüzyon veya nefrotoksik gibi zedelenmeler sonrasında proksimal tübül hasarı ile idrara salınan hassas bir biyobelirteç olduğu rapor edilmiştir (80, 81).

2.10.3. İnterlökin-18

İnterlökin -18 (IL-18), IL-1 süper ailesine ait sitokindir (82). IL-18 akut böbrek hasarında, immün sistemde önemli görev almaktadır. IL-18 inflamasyon mediatörü olan ve proinflamatuvar bir sitokindir. İskemik doku zedelenmesinde artarak nötrofil kemotaksisinin oluşumunu sağlar. Yapılan deneysel çalışmalarda akut tübül nekroz olanlarda kaspaz-1 aracılığı ile hücre içinde IL-18 arttığı gözlenmiştir (83).

2.11. İnkretin

İnkretinler gıda alınmasının ardından GİS’de özel hücrelerden salgılanan ve insülin sekresyonunu uyaran hormonlardır. İlk kez yirminci yüzyıl başlarında gıda alınımına bağlı bazı intestinal faktörlerin sağlandığı ve bunlarında kan şekerini düşürücü etkisi olduğu yayınlanmıştır. Oral yolla alınan glukozun aynı miktarda intravenöz olarak verilen glukozu göre insülin sekresyonunu daha çok olduğu durum inkretin etki olarak tanımlanmıştır (84). İnkretin etkiden sorumlu iki hormon vardır bunlar; GLP-1 ile GIP’dir. Bu hormonlar besin alınımına yanıt olarak barsaktan salınımı olur ve insülin sekresyonunu artırır, yarı ölü 1-2 dakikadır (85). GLP-1 30 amino asitten oluşmuş ve kromozom 2 de lokalize olmuş peptid yapılu bir hormondur. İnce barsak L hücrelerinden salınımı olur ve insülin salgısını uyarır, hepatik glukoz salınımını inhibe eder. Biyolojik olarak iki izoformu vardır bunlar; ilk olarak ‘‘amidleşmiş peptid’’ olarak adlandırılan GLP-1 (7-36) amid ve ‘‘glisin taşıyıcı peptid’’ GLP-1 (7-37) ‘dir. Sentezlenmeleri ve salınımı eş zamanlıdır. GIP 42 amino asitten oluşmuş ve 17 kromozomda lokalize olmuş peptid yapıda olup proksimal ince barsaktaki K hücrelerinden oral yolla alınan karbonhidrat ve yağ gibi besinlere yanıt olarak salgılanır (85-88). Vücudun farklı bölgelerinde endotel hücreleri tarafından üretilen ve plazmada DPP-4 enzimi salgılanan inkretinleri katalize eder (89).



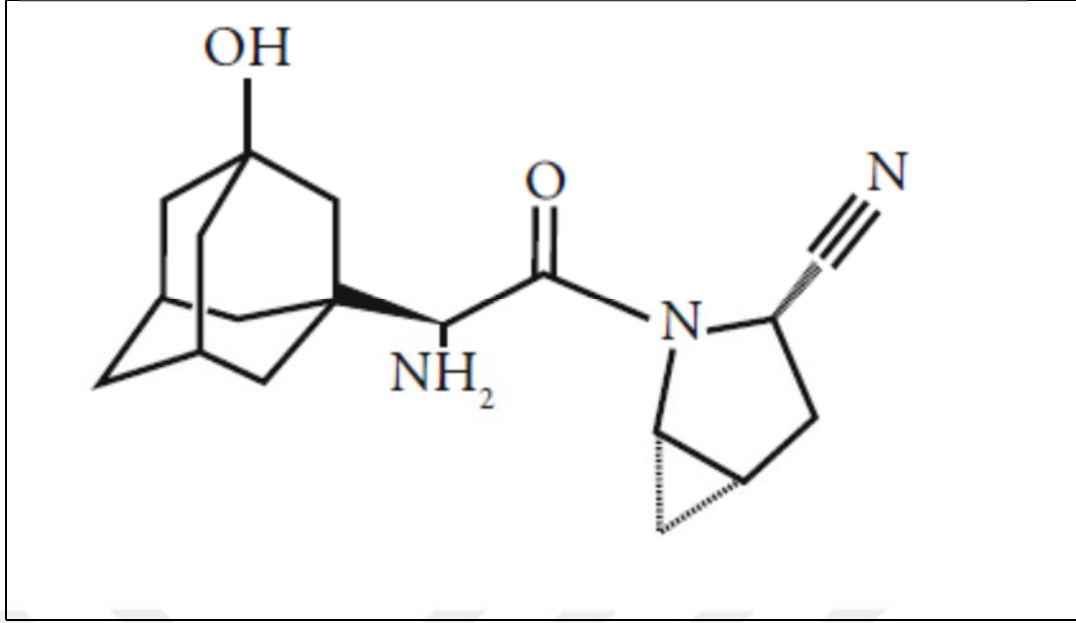
Şekil 2.6. GLP-1 ve GIP’in etkileri (85).

GLP-1 ve GIP her iki peptit hormon yapısal olarak farklı fakat ilişkili reseptörler yoluyla etkiledikleri adacık hücreleri üzerinde ortak eylemleri paylaşır. GLP-1 ve GIP'in organlar üzerindeki etkileri (Şekil 2.6.) sunulmuştur (85).

DPP-4'ün böbrekte, ince barsak, damar endotelyumunda, lenfositlerde, membranlarda ve plazmada çözünür formda bulunduğu belirtilmiştir (90, 91). DPP-4 inhibitörleri ise glukoz seviyesini dengede tutmak için salgılanan inkretin hormonları parçalayarak inaktif hale getiren DPP-4 adlı enzimi inhibe ederek GLP-1 ve GIP seviyelerinin sistemik dolaşımında daha fazla kalmasına sağlar bununla birlikte bu inhibitörler oral antidiyabetik olarak kullanılır ve hastalarda glukoz seviyelerini düşürmektedir (92-94). DPP-4 enzim inhibitör ailesinin ilk ilacı sitagliptindir Avrupa ve Amerika'da 2006 yılında ülkemizde ise 2008 yılının sonunda kullanılmaya başlarken, Sax, 2011 yılında ülkemizde kullanılmaya başlanılmıştır (95). Araştırma ve geliştirme programları sonucu sitagliptin, vildagliptin, alogliptin, Sax, denagliptin, ASP8497 başta olmak üzere bir çok DPP-4 enzim inhibitörü geliştirilmiştir Ortak etki mekanizmalarına rağmen, bu ajanlar farklı farmakolojik özelliklere dönüşmeleri, yarı ömür, sistemik maruz kalma aktif metabolitlerinin varlığı ve atılım yolları dahil olmak üzere önemli farklılıklara sahiptir. Sax (Onglyza) Sitagliptin(Januvia), vildagliptin (Galvus) ve adlı inhibitörler lisans alınarak kullanımına başlanmış olup diğer çok sayıda bileşiğin klinik geliştirme çalışmalarını takiben yakın bir gelecekte ilaç piyasasında yerini alacağı beklenilmektedir (89, 96, 97).

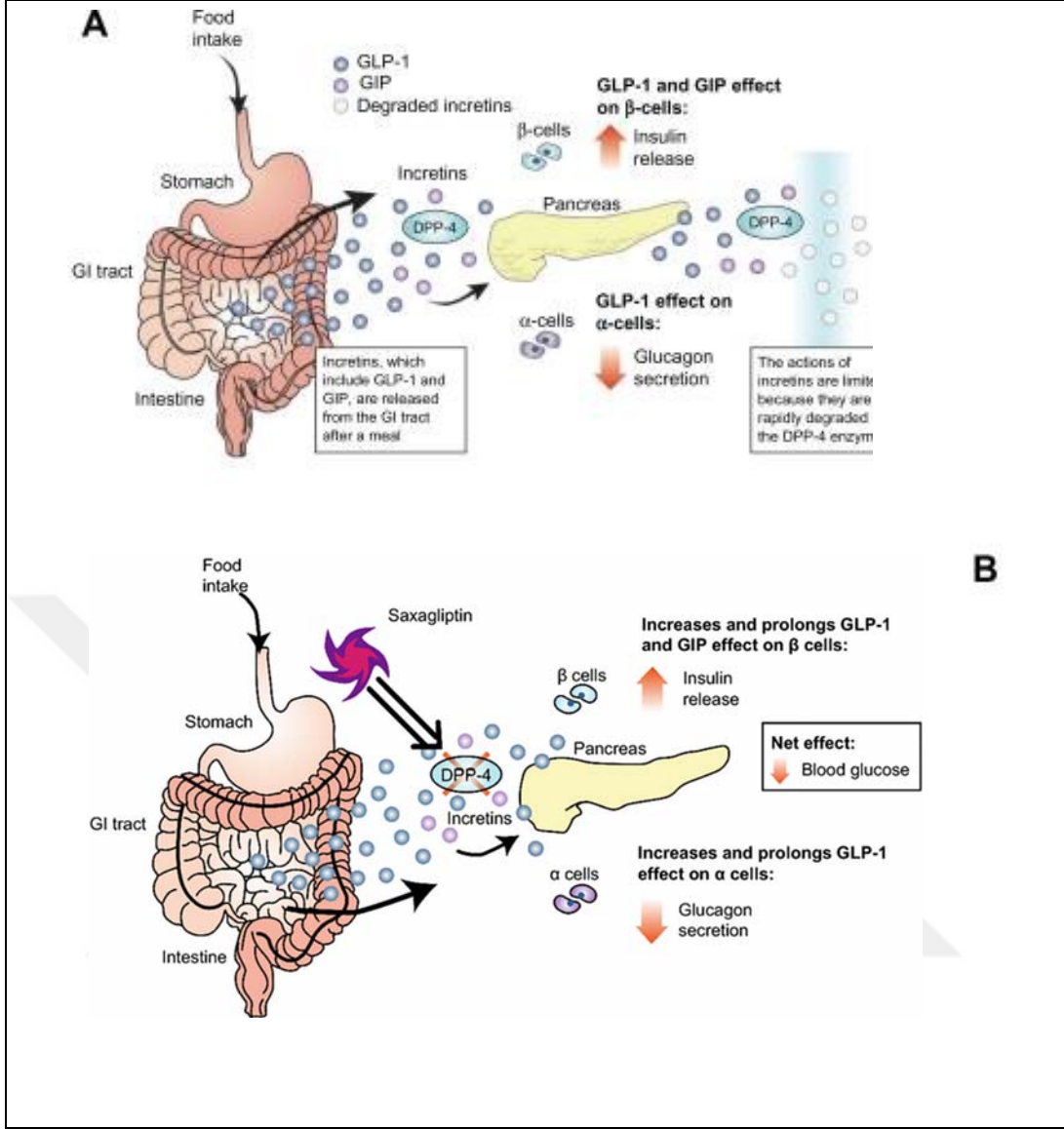
2.12. Saksagliptin

Sax, DPP-4 enziminin uzun süreli inhibisyonu için özel olarak tasarlanmış seçici, geri dönüşümlü bir DPP-4 enzim inhibitörü olup molekül formülü $C_{18}H_{27}N_3O_3$, kimyasal yapısı (Şekil 2.7.) ve 333,4 dalton molekül ağırlığındadır (10, 98-100).



Şekil 2.7. Saksaglipti'nin kimyasal yapısı (100).

Sax faz 3 çalışmaları tamamlanmış, günde 1 kez verilen güçlü ve spesifik DPP-4 inhibitörüdür (diğer DPP-4 enzim inhibitörleri ile karşılaştırıldığında). Güncel verilerde Sax açlık ve postprandiyal plazma glukozu ve hemoglobin A_{1c}'da önemli azalmalar ile sonuçlandığını göstermektedir. Sax iyi tolere edilir ve plasebo ile karşılaştırıldığında hipoglisemiye artırmaz, vücut ağırlığına etkisi nötr'dür. Sax inkretin hormonlarının bozulmasını azaltır ve böylece inkretin hormonlarının vücutta olan etkileri daha uzun sürede faydalanmasına olanak sağlar. 24 haftaya kadar süren klinik çalışmalar, Sax'in monoterapide glisemik kontrolü diğer oral antidiyabetik maddelere (metformin, sülfonilüre) göre geliştirdiği ve etki mekanizması glikoz bağımlılığı nedeniyle düşük hipoglisemi riski olduğunu göstermiştir (10, 100-103).



Şekil 2.8. DPP-4 inhibitörlerinin etki mekanizması (A), Sax'ın etkisi (B) (104).

Sax, günde bir kez 2.5 veya 5 mg'lık dozlarda tip 2 diabetes Mellitus tedavisinde kullanılan, oral olarak aktif oldukça etkili, seçici ve rekabetçi bir DD-4 inhibitörüdür. DPP-4, bağırsaktan türetilmiş hormonların GLP-1 ve GIP'nin parçalanmasından sorumludur (Şekil 2.8.) ve Sax zayıf bir P-glukoprotein substratıdır ancak P-glukoproteinin önemli bir inhibitörü veya indükleyicisi değildir (5, 100, 102). Sax ve aktif metaboliti M2 inkretin hormonlarının GLP-1 ve GIP polipeptidinin inaktivasyonunu önleyerek glisemik kontrolü gerçekleştiren dipeptidil peptidaz-4 inhibitörüdür (100). Sax oral yolla alındıktan sonra hızlı ve yoğun bir şekilde emilimi ve böbrek yoluyla atılımı gerçekleşir. Farmakolojik olarak aktif metaboliti 5-hidroksi saksagliptin olup ana bileşik olan saksagliptinin yaklaşık yarısı kadar DPP-4 inhibe edici potansiyele sahiptir (5). Sax, DPP-4'ü bloke etmede diğer DPP-4 enzim inhibitörü olan sitagliptinden 10 kat

daha etkili olduğu ve diğer proteazlara göre 4000 kat daha fazla seçiciliğe sahiptir (102). Sax aktif metaboliti (5-hidroksisaksagliptin), diğer DPP-4 enzim inhibitörlerine kıyasla yüksek derecede seçicilik göstermekte ve 5mg dozu ile plazmada DPP-4 inhibisyonunun yarı ömrü ~ 27 saattir. Sax, sitokrom P450 (CYP) 3A4 ve 3A5 tarafından metabolize edilir renal ve hepatik klirens kombinasyonu ile elimine olur Sax'nin farmakokinetiği, cinsiyet, yaş, vücut ağırlığı veya ırk ile değişim göstermez (5, 100, 104). 5-hidroksi saksagliptin, insan plazma proteinlerine kayda değer ölçüde bağlanmaz (105). Bu nedenle protein bağlanmasının Sax'ın farmakokinetiği üzerinde anlamlı bir etkisi yoktur ve çeşitli hastalıklar durumunda (hepatik bozulma) kan protein seviyelerindeki değişikliklerin Sax'ın etkinliğini değiştirmez (5).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Araştırmanın Yapıldığı Merkez

Çalışma, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınan onay vasıtasıyla (13.04.2017 tarih, 2017/A-28 protokol numaralı), İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim Araştırma Merkezi, Tıp Fakültesi Fizyoloji AD ile Histoloji & Embriyoloji AD laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.2. Gruptaki Hayvan Sayılarının Belirlenmesi

Deneylede kullanılacak hayvanların sayısı, hayvanların deneye başlama ağırlık ortalaması 260 gr, standart sapması 15 gr, %5 sapma, tip 1 hata (α) 0.05 ve tip 2 hata (β) (Güç=0.80) ve hayvanlar 4 gruba ayrılması durumunda her bir grupta en az 10 hayvanın olması gerektiği güç analizi (Power Analiz) ile belirlendi.

3.3. Hayvanların Gruplara Ataması

Deneye başlamadan önce hayvanlar tartılarak vücut ağırlıkları kaydedildi. Belirlenen vücut ağırlıklarına göre hayvanların gruplara ataması, bilgisayar algoritmasına dayalı basit rastgele atama yöntemi ile yapıldı (MedCalc 12.7.0 for Windows) ve tek yönlü varyans analizi bulgularına göre gruplar arasında hayvanların ağırlıkları açısından fark olmadığı tespit edildi (Tablo 3.1; $p=0.253$).

Tablo 3.1. Grupların bilgisayar algoritması kullanılarak oluşturulması.

Gruplar	Kontrol	İ/R	Sax 2mg/kg	Sax 10mg/kg	P
Hayvan sayısı (n)	10	10	10	10	
Ortalama Ağırlık (g)	260.81	261.30	258.60	259.40	
SD	14.27	16.43	15.76	17.23	0.253
En küçük ağırlık(g)	235.6	239.2	241.5	237.7	
En büyük ağırlık(g)	290.5	293.9	292.4	291.1	

3.4. Deney Hayvanları ve Gruplarının Oluşturulması

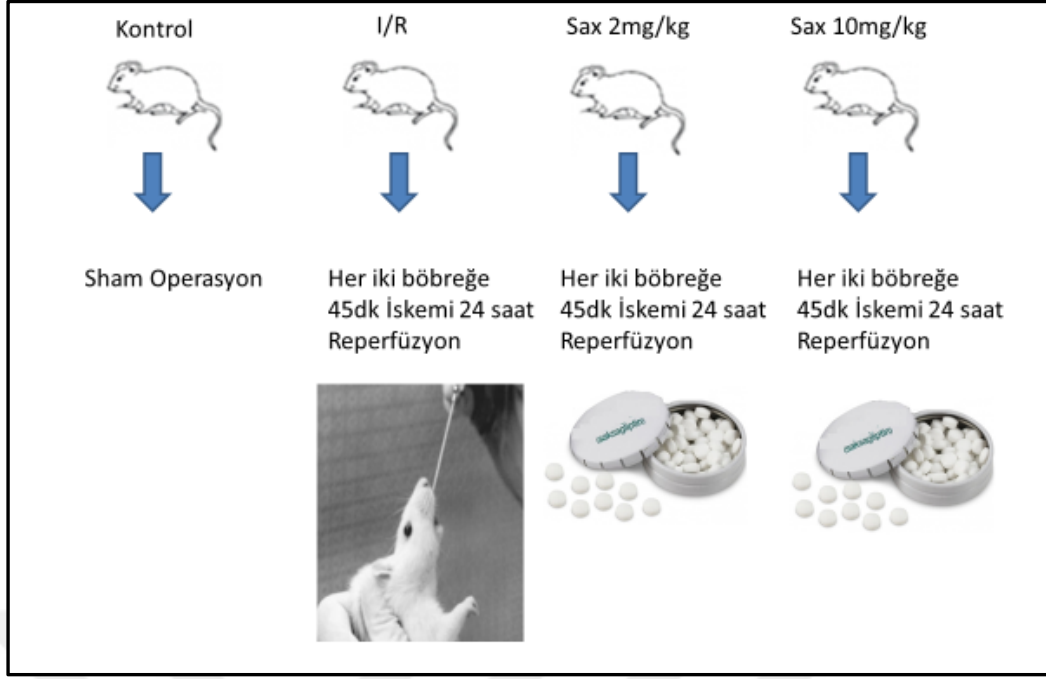
Bu çalışmada yaklaşık 260 gr ağırlığında *Sprague-Dawley* cinsi toplam 40 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı (n=10). Deney kapsamında oluşturulan gruplardaki hayvanlara aşağıda belirtilen işlemler uygulandı (Şekil 3.1).

Grup 1: Bu grup kontrol grubu olup, gruptaki sıçanlara hiçbir uygulama yapılmadı. 24 saat sonra sıçanlar dekapite edilerek analiz edilecek dokular toplandı.

Grup 2: Bu grup I/R grubu olup, iskemiden 1 saat önce 1 ml haciminde serum fizyolojik su (Saksagliptin çözücüsü) sıçanlara oral gavaj yöntemi kullanılarak verildi. Sonrasında bu grupta bulunan sıçanların her iki böbrek dokusundaki renal arterler klemplenerek 45 dakika süresince iskemi, ardından 24 saatlik bir reperfüzyon işlemi uygulandı. Reperfüzyon süresi sona erdiğinde sıçanlar dekapite edilerek analiz edilecek dokular toplandı.

Grup 3: Bu grup I/R grubu olup, iskemiden 1 saat önce 1 ml haciminde 2 mg/kg konsantrasyona sahip Sax sıçanlara oral gavaj yöntemi kullanılarak verildi. Sonrasında bu grupta bulunan sıçanların her iki böbrek dokusundaki renal arterler klemplenerek 45 dakika süresince iskemi, ardından 24 saatlik bir reperfüzyon işlemi uygulandı. Reperfüzyon süresi sona erdiğinde sıçanlar dekapite edilerek analiz edilecek dokular toplandı.

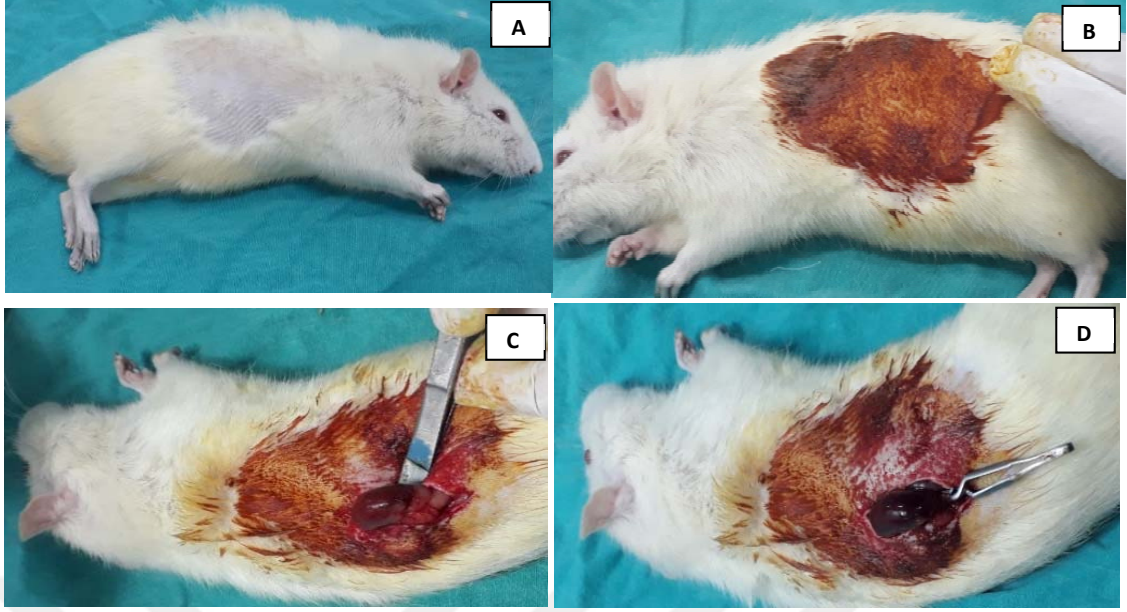
Grup 4: Bu grup I/R grubu olup, iskemiden 1 saat önce 1 ml haciminde 10 mg/kg konsantrasyona sahip Sax sıçanlara oral gavaj yöntemi kullanılarak verildi. Sonrasında bu grupta bulunan sıçanların her iki böbrek dokusundaki renal arterler klemplenerek 45 dakika süresince iskemi, ardından 24 saatlik bir reperfüzyon işlemi uygulandı. Reperfüzyon süresi sona erdiğinde sıçanlar dekapite edilerek analiz edilecek dokular toplandı.



Şekil 3.1. Araştırma planı

3.5. Cerrahi Uygulama

Cerrahi uygulamalardan 1 saat önce I/R grubuna 1 ml hacminde SF (Saksagliptin çözücüsü), uygulama gruplarına ise 2 ve 10 mg/kg konsantrasyonda ve 1 ml hacminde saksagliptin (Sigma Aldrich, Amerika) oral gavaj yöntemiyle uygulandı. Kontrol grubuna ise herhangi bir uygulama yapılmadı. Tüm sıçanlara (kontrol grubu hariç) intramüsküler olarak 70 mg/kg ketamin (Richter Pharma AG, Avustralya), 8 mg/kg ksilazin (Alfazyn, Hollanda) kombinasyonu ile anestezi uygulandı. Sıçanların parmak kısırtma yanıtları ve fizyolojik yanıtın izlenmesi sonunda anestezi altına girdikleri belirlendi ve spontan hareketleri kaybolan sıçanların sırt kısımları traş yapılarak (Şekil 3.2A) bu bölgeye bilateral olarak povidon iyodin sürüldü (Şekil 3.2B). Sıçanların sırt kısmı bistüri ile açılarak böbreğe ulaşıldı ve renal artere ulaşıldı (Şekil 3.2C). Renal artere klemp takıldı (Şekil 3.2D) ardından 45 dakika süre ile sol renal arteden kan akışı durduruldu, renk değişimi meydana geldi ve aynı işlem sağ renal artere de yapıldı iskemi sırasında kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olunması için 0.5 ml SF, i.p. olarak verildi 45 dakika iskeminin ardından klempler açılarak böbreğe kan akışı serbest bırakıldı ve önce periton, sonrasında deri sütür ile dikildi. Ardından povidon iyodin sürülerek insizyon alanına pansuman yapıldı ve hayvanlar bireysel tekli kafeslere konuldu. 24 saat reperfüzyon işlemi yapıldıktan sonra sıçanlar dekapite edilerek dokular toplandı.



Şekil 3.2. Sıçanların traş edilmesi (A), işlem yapılacak olan kesi bölgesine povidon iyodin sürülmesi (B) kesi işlemi yapılarak böbreğe ulaşılması (C), ulaşılan böbreğe klemp takılması (D).

3.6. Dokuların Toplanması

Tüm gruptaki sıçanlar anestezi altında dekapite edildi. Deney sonunda sıçanların kan ve böbrek dokuları toplandı. Kan örnekleri 3500 rpm’de 10 dk santrifüj (Hettich, Almanya) edilerek serumları ayrıldı. Serumlar BUN, Kreatin, NGAL, KIM-1, IL-18 biyokimyasal analizleri yapılncaya kadar derin dondurucuda (-80°C) saklandı. Alınan böbrek dokularından biri (Sağ) histolojik analizlerde kullanılmak üzere %10 formöl solüsyonuna bırakıldı, diğer böbrek (sol) ise kuru buzda hemen dondurulduktan sonra BUN, Kreatin, NGAL, KIM-1, IL-18, CAT, GSH, GPx, MDA ve SOD analizi için -80 °C ‘de analizler yapılncaya kadar muhafaza edildi.

3.7. Dokuların Biyokimyasal Analize Hazırlanması

-80° ‘de muhafaza edilen böbrek dokuları analiz işlemlerinde kullanılmak için çıkarıldı ve çözölen böbrek dokuları serum fizyolojik (SF) ile yıkandıktan sonra her birinin ağırlık değeri alındı. Homojenizasyon işlemi için dokular cam tüplere konularak üzerine 2 ml Tris-HCl tampon çözöltisi (Ph= 7,4) eklendi. Böbrek dokuları 16.000 devir/dakika hızla homojenize edildi (IKA,Germany). Elde edilen homojenatın üzerine 6 ml Tris-HCl eklendi ve vortekslendi. Oluşan homojenatın CAT, GSH, GPx MDA, SOD, ölçümleri için ependorf tüpüne alındı. SOD, GSH, GPx enzim aktivitesi

ölçümünü çalışmak için 10 saniye aralıklarla sonifike edildi ardından 3220 rpm'de 4 C° sıcaklıkta 30 dakika santrifüj yapılarak süpernatant elde edildi.

3.7.1. Protein Ölçümü

Protein ölçümü, Lowry yöntemine göre yapıldı (106, 107). Yaptığımız yöntemin temel prensibi alkali ortamda bakır protein kompleksi oluşarak Folin-ciocalteu-phenol reaktifini redükte etmesi ve mavi renk oluşturmasına dayanır. Folin reaktifi alkali bakır-protein çözeltisi ilave edip vortekslenildi (JEIO TECH) ve bu sayede folin reaktifinde bir parçalanmadan indirgenme meydana geldi ve sonuçlar µg/ml olarak ifade edildi.

3.7.2. SOD Enzim Aktivitesinin Ölçümü

SOD enzim aktivitesi Sun ve arkadaşlarının yaptıkları metoda göre ölçüldü (108). Yaptığımız metoda göre, ksantin-ksantin oksidaz'ın etkisiyle meydana gelen süper oksidin nitroblutetrazolium'u (NBT) indirgemesi ile oluşur ve oluşan süper oksit radikali NBT'yi redükte ederek renk değişimi meydana getirir. Oluşan renk değişimi 550 nm'de maksimum absorbans değerini vermektedir. Numuneler 550 nm dalga boyunda spektrofotometrede (BioTEK Synergy HTX, Kanada) okutuldu ve ölçülen absorbans değerleri numunedeki % inhibisyonun değeri bulundu ve Sonuçlar U/mg protein olarak kayıt edildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{A_k - A_n}{A_k} \cdot 100$$

A_k=Absorbans kör

A_n=Absorbans numune

3.7.3. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin ölçümü

CAT enzim aktivitesini Aeb'nin metoduna göre ölçüldü (108). Yaptığımız ölçümde H₂O₂'nin CAT enzimi tarafından oksijene ve su'ya ayrışarak ultraviole (UV) spektrofotometrede absorbansın azalması olarak ölçüldü. H₂O₂'nin UV spektrofotometredeki maksimum absorbansı 240 nm dalga boyunda olduğu için ölçümler bu dalga boyuna göre yapıldı.

3.7.4. Glutatyon ölçümü

Glutatyon ölçümde homojenatlar tris hidroklorürle hazırlandı ve homojenatlar % 10'luk trikloro asetik asit solüsyonu ile 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapıldı ve bu sayede proteinden ayrılmış ekstrat elde edildi, oluşan proteinsiz ekstrata 0,3 molar disodyum fosfat solüsyonu eklendi ve ardından 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoik asit ile hazırlanmış olan solüsyon ilave edildi. Spektrofotometrede 410 nm dalga boyunda okundu ve sonuçlar $\mu\text{mol/g}$ doku olarak kayıt edildi (109).

3.7.5. Malondialdehit Ölçümü

Malondialdehit (MDA) ölçümü Uchiyama ile arkadaşlarının metodu kullanılarak yapıldı (110). Yaptığımız metod'ta MDA'nın 95° C'de tiyabarbitürik asit ile tepkimeye girmesi ile oluşan pembe ürünün, N-bütanol fazında çekilmesi ile süpernatantın spektrofotometrede 520-535 nm ölçüldü ve sonuçlar $\mu\text{mol/g}$ doku olarak kayıt edildi.

3.7.6. NGAL, KIM-1, IL-18 düzeyinin ölçülmesi

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D. Laboratuvarlar'ında NGAL, KIM-1, IL-18'e özgü satın alınan ticari ELISA kitleri (Elabscience) deney protokolleri kullanılarak yapıldı.

3.7.7. BUN ve Kreatinin değerlerinin ölçümü

Çalışma gruplarındaki Kreatin ve ürenin ölçülmesi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D. Laboratuvarlar'ında Cobas 1600 tam otomatik biyokimya otoanalizator (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) kullanılarak ölçüldü.

3.7.8. Hematoksilen ve Eosin Boyama Yöntemi

%10 formalin içine konulan böbrek dokuları parafilmle gömülerek 5 μm kalınlıkta kesitler halinde kesildi ve Hematoksilen-Eosin (H-E) ile boyandı. Grupların böbrek doku örnekleri Leica DFC280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win görüntü analiz sistemi (Leica Micros Imaging Solutions Ltd, Cambridge,UK) kullanılarak incelendi.

3.7.9. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

İmmünohistokimyasal analiz için böbrek dokuları pollisin kaplı lamlar üzerine yerleştirildi ve numuneler sitrat tamponuna (Ph 7.6) aktarıldıktan sonra mikrodalga fırında 20 dk ısıtıldı ardından oda sıcaklığında 20 dk soğutulduktan sonra numuneler

fosfat tampon tuz çözeltisi (PBS) ile yıkandı ve sonrasında numuneler 7 dk boyunca %0.3 H₂O₂ içinde tutuldu ve PBS ile yıkandı. Numuneler birincil tavşan-poliklonal Kaspaz-3 (Boster, PA1302) antikoruna ile iki saat boyunca inkübe edildi ve ardından PBS ile durulandıktan sonra 10 dk boyunca biyotinlenmiş keçi antipolvalent ve 10 dk boyuncada oda sıcaklığında streptavidin peroksidaz ile inkübe edildi. Boyama 15 dk boyunca kromojen+substrat ile tamamlandı numuneler, Mayer'in hematoksilin ile 1 dk sonra musluk suyunda durulandı ve kurutuldu.

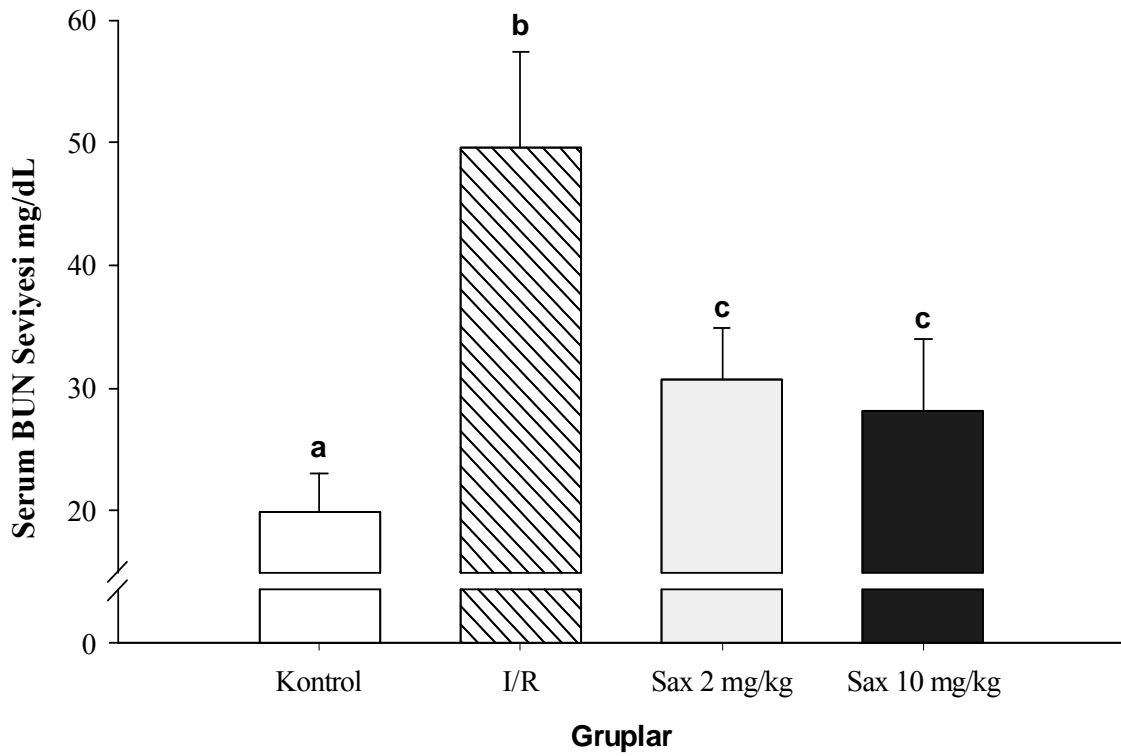
3.7.10. İstatiksel Analiz

Analizlerde IBM SPSS Statistics 24.0 for Windows paket programı kullanıldı. Nicel veriler ortanca (Ortalama \pm Standart sapma) ile özetlendi. Normal dağılıma uygunluk Shapiro Wilk testi ile incelendi. Nicel değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmalarında Kruskal Wallis H kullanıldı. Önemli farklılık belirlendiğinde çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile gerçekleştirildi. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Saksagliptin'in Serum BUN Seviyesi Üzerindeki Etkileri

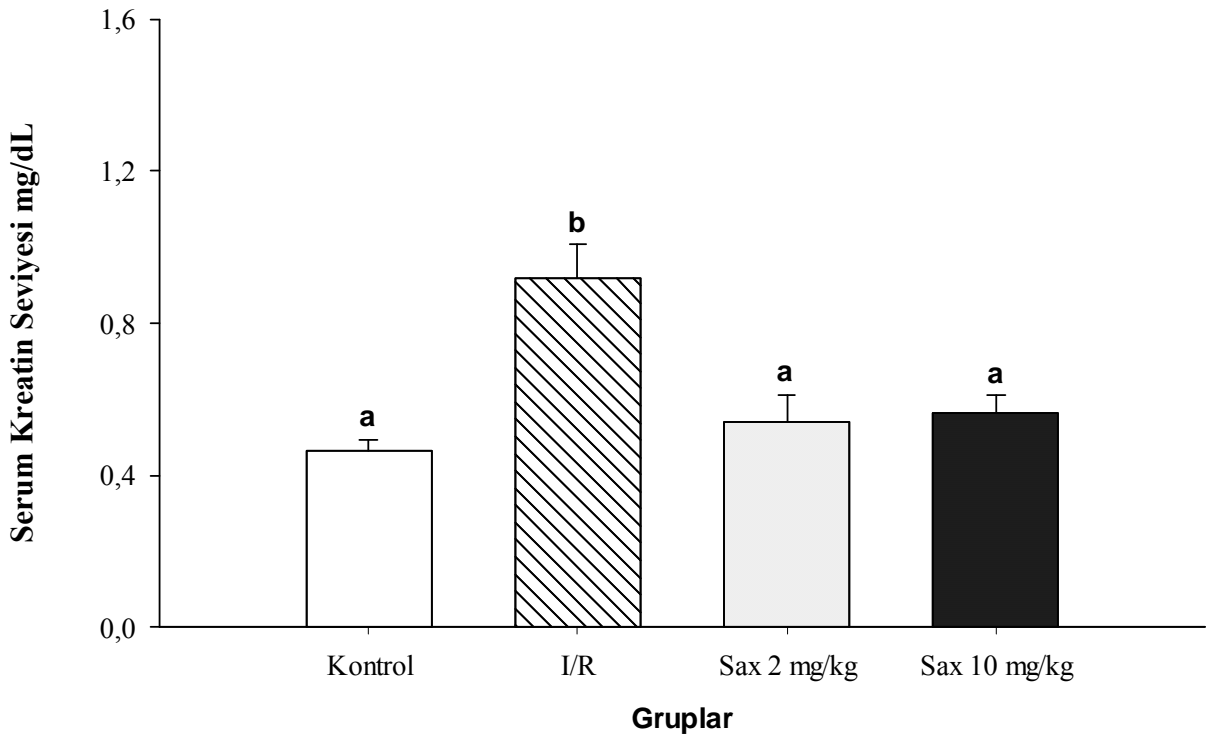
Grupların serum Bun seviyeleri Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Deney grupları serum BUN seviyesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre İ/R yapılan grupta BUN seviyesinin önemli düzeyde artış gösterdiği belirlendi ($p<0.05$). Öte yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) serum BUN seviyesinin I/R uygulanan gruptaki sıçanlardan daha az olduğu görüldü ($p<0.05$).



Şekil 4. 1. Deney ve uygulama gruplarının serum BUN düzeyleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. \pm SS olarak ifade edildi. a, b ve c birbirinden farklı ($a,b,c,p<0.05$).

4.2. Saksagliptin'in Serumda Kreatin Seviyesi Üzerindeki Etkileri

Grupların serum Kreatin seviyeleri Şekil 4.2.'de gösterilmiştir. Deney grupları serum Kreatin seviyesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre İ/R yapılan grupta Kreatin seviyesinin önemli düzeyde artış gösterdiği belirlendi ($p<0.05$). Diğer yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) serum Kreatin seviyesinin I/R uygulanan gruptaki sıçanlardan daha az olduğu görüldü ($p<0.05$).

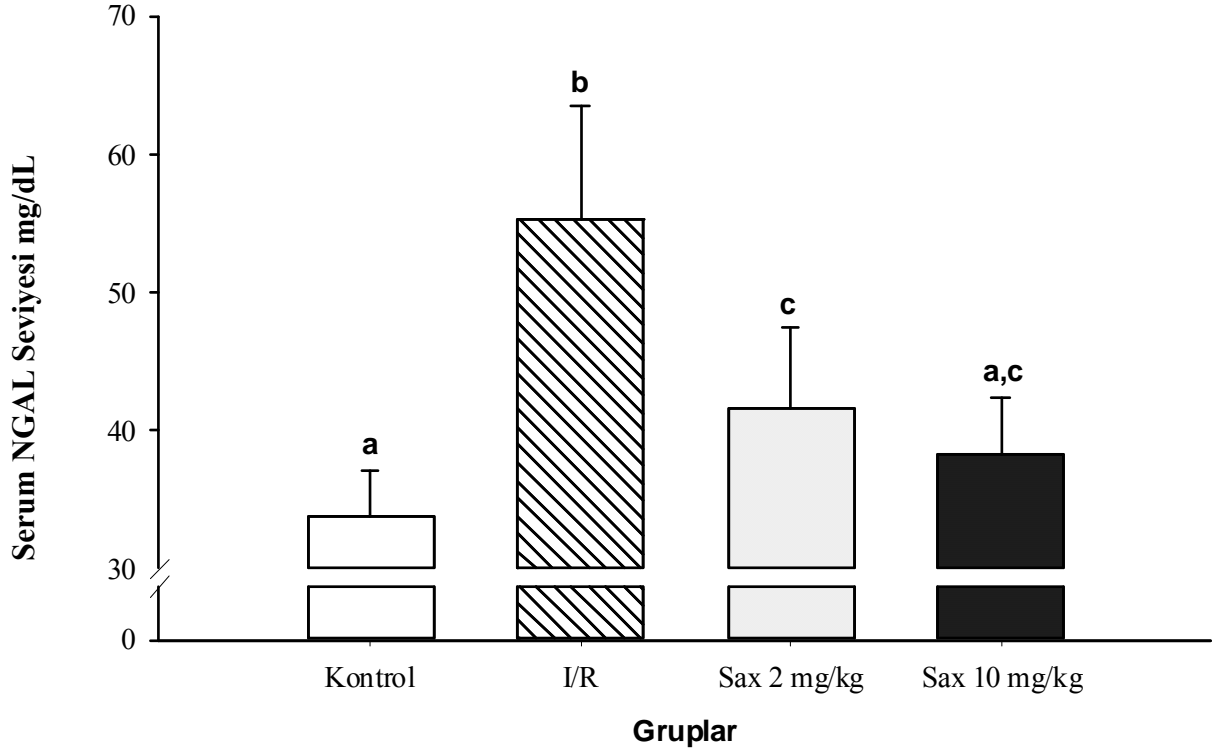


Şekil 4.2. Deney ve uygulama gruplarının serum Kreatin düzeyleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. \pm SS olarak ifade edildi. a ve b birbirinden farklı($a,bp<0.05$).

4.3. Saksagliptin'in Serum ve Böbrek Dokusundaki NGAL Seviyesi Üzerindeki Etkileri

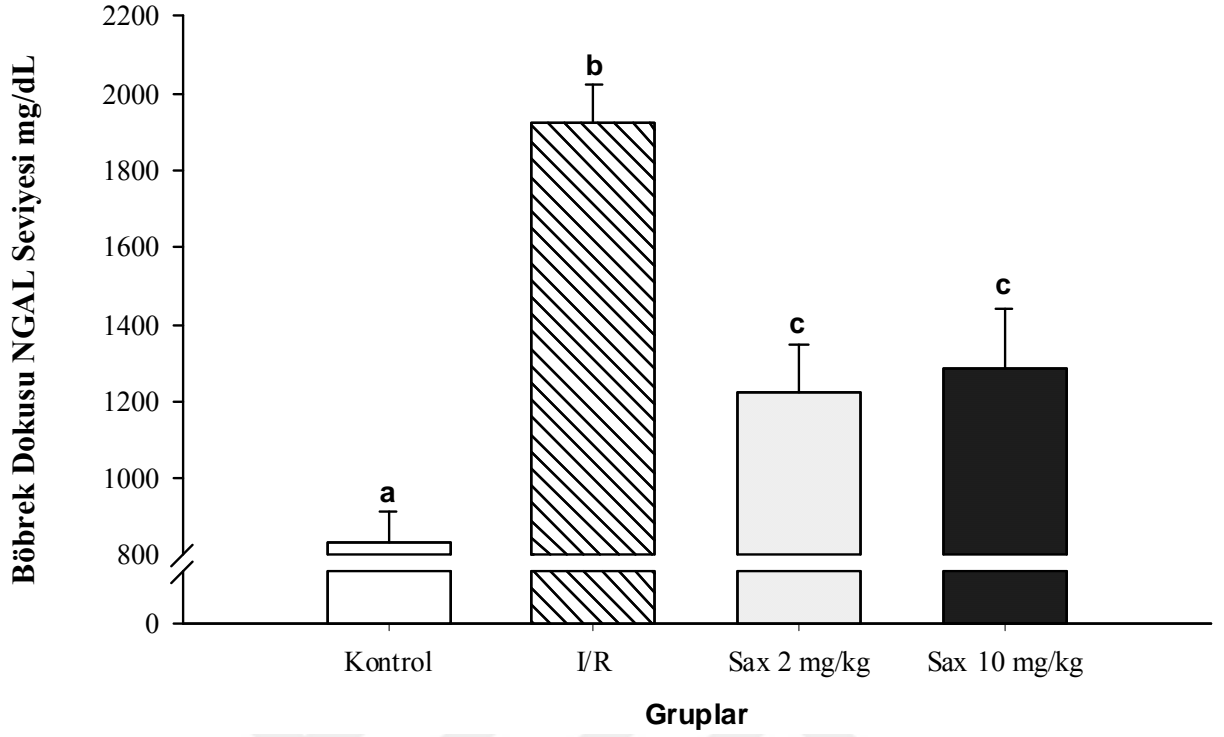
Grupların serum NGAL seviyeleri Şekil 4.3.'de gösterilmiştir. Deney grupları serum NGAL seviyesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre İ/R yapılan grupta NGAL seviyesinin önemli düzeyde artış gösterdiği görüldü ($p<0.05$). Diğer

yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) doz bağımsız olarak serum NGAL seviyesinin I/R uygulanan gruptaki sıçanlardan daha az olduğu görüldü ($p<0.05$)



Şekik 4.3. Deney ve uygulama gruplarının serum ve böbrek doku NGAL düzeyleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. \pm SS olarak ifade edildi. a, b ve c birbirinden farklı ($a,b,c,p<0.05$)).

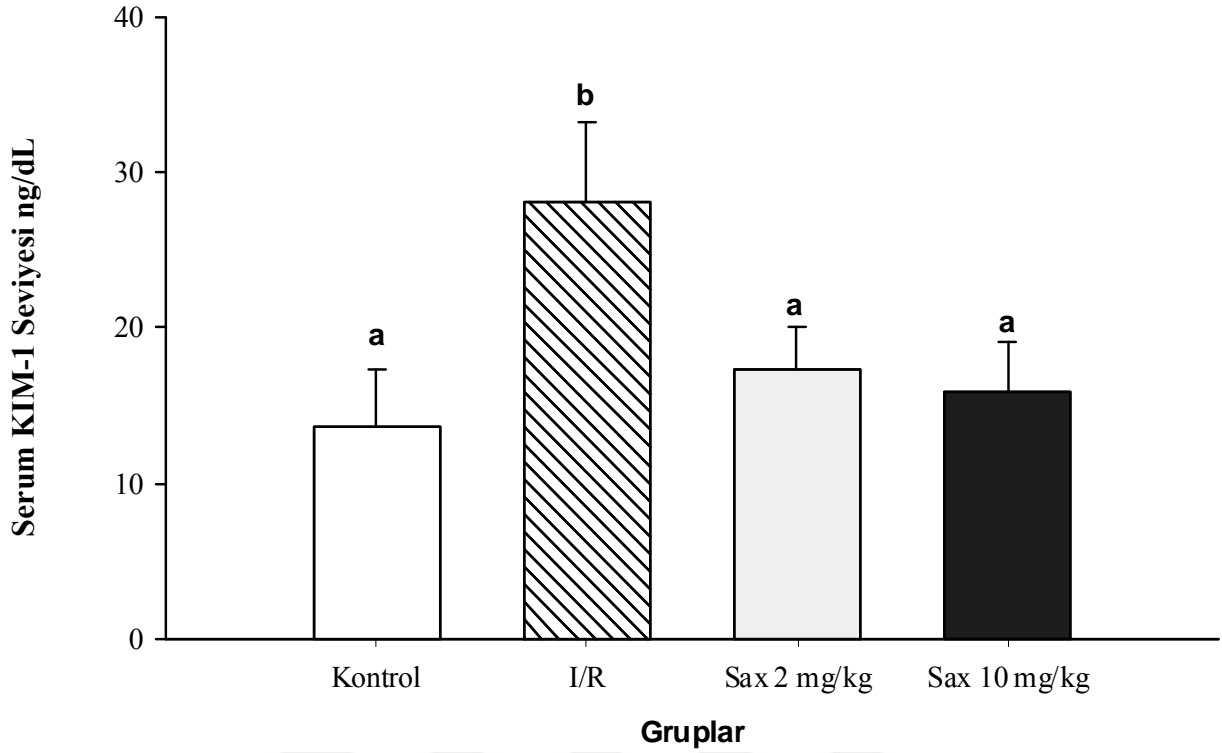
Grupların böbrek dokudaki NGAL seviyeleri Şekil 4.4.'de gösterilmiştir. Deney grupları serum NGAL seviyesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre İ/R yapılan grupta NGAL seviyesinin önemli düzeyde artış gösterdiği belirlendi ($p<0.05$). Diğer yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) doz bağımsız olarak böbrek dokudaki NGAL seviyesinin I/R uygulanan gruptaki sıçanlardan daha az olduğu görüldü ($p<0.05$).



Şekil 4.4. Deney ve uygulama gruplarının serum ve böbrek doku NGAL düzeyleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. \pm SS olarak ifade edildi. a, b ve c birbirinden farklı (^{a,b,c} $p < 0.05$).

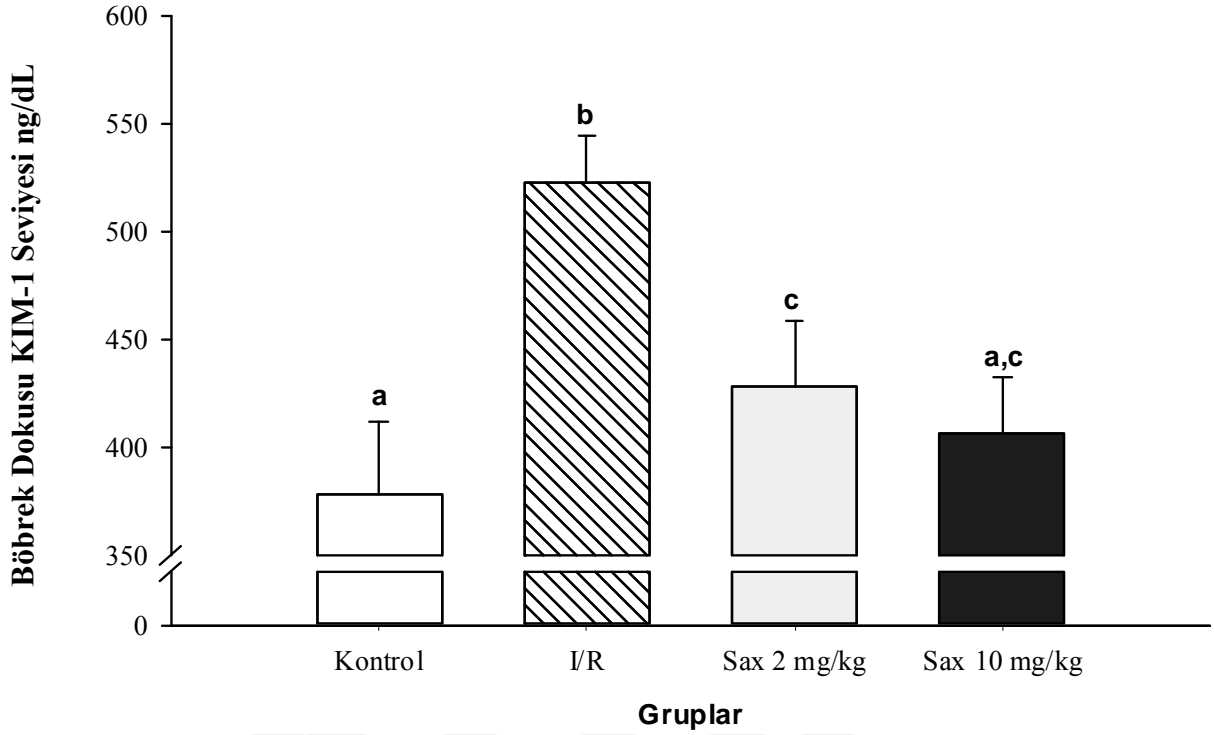
4.4. Saksagliptin'nin Serum ve Böbrek Dokuda KIM-1 Seviyesinin Üzerindeki Etkileri

Grupların serum KIM-1 seviyeleri Şekil 4.5.'de gösterilmiştir. Deney grupları serum KIM-1 seviyesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre I/R yapılan grupta KIM-1 seviyesinin önemli düzeyde artış gösterdiği belirlendi ($p < 0.05$). Diğer yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) doz bağımsız olarak serum KIM-1 seviyesinin I/R uygulanan gruptaki sıçanlardan daha az olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$).



Şekil 4.5. Deney ve uygulama gruplarının serum ve KIM-1 düzeyleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. ± SS olarak ifade edildi. a, b birbirinden farklı ($a,bp<0.05$).

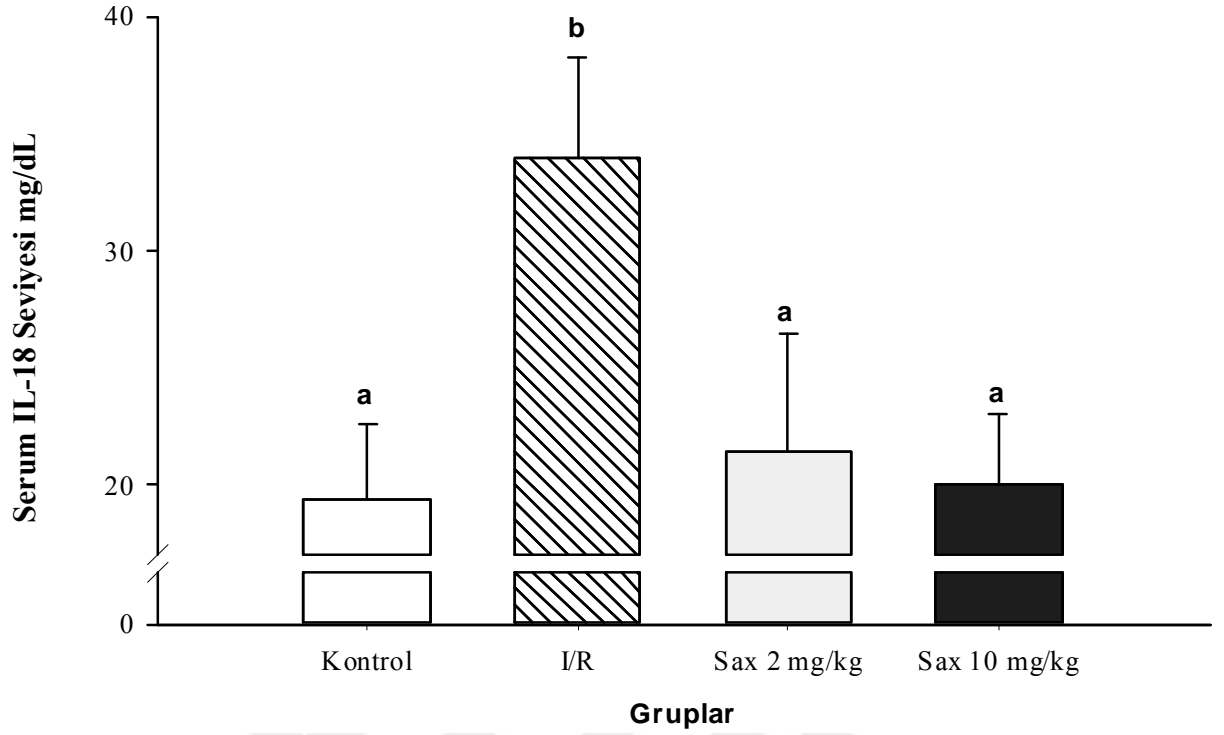
Grupların böbrek dokudaki KIM-1 seviyeleri Şekil 4.6.'de gösterilmiştir. Deney grupları böbre dokudaki KIM-1 seviyesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre İ/R yapılan grupta KIM-1 seviyesinin önemli düzeyde artış gösterdiği belirlendi ($p<0.05$). Diğer yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) doz bağımsız olarak böbrek dokudaki KIM-1 seviyesinin I/R uygulanan gruptaki sıçanlardan daha az olduğu görüldü ($p<0.05$).



Şekil 4.6. Deney ve uygulama gruplarının böbrek doku KIM-1 düzeyleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. \pm SS olarak ifade edildi. a, b ve c birbirinden farklı ($a,b,c,p<0.05$).

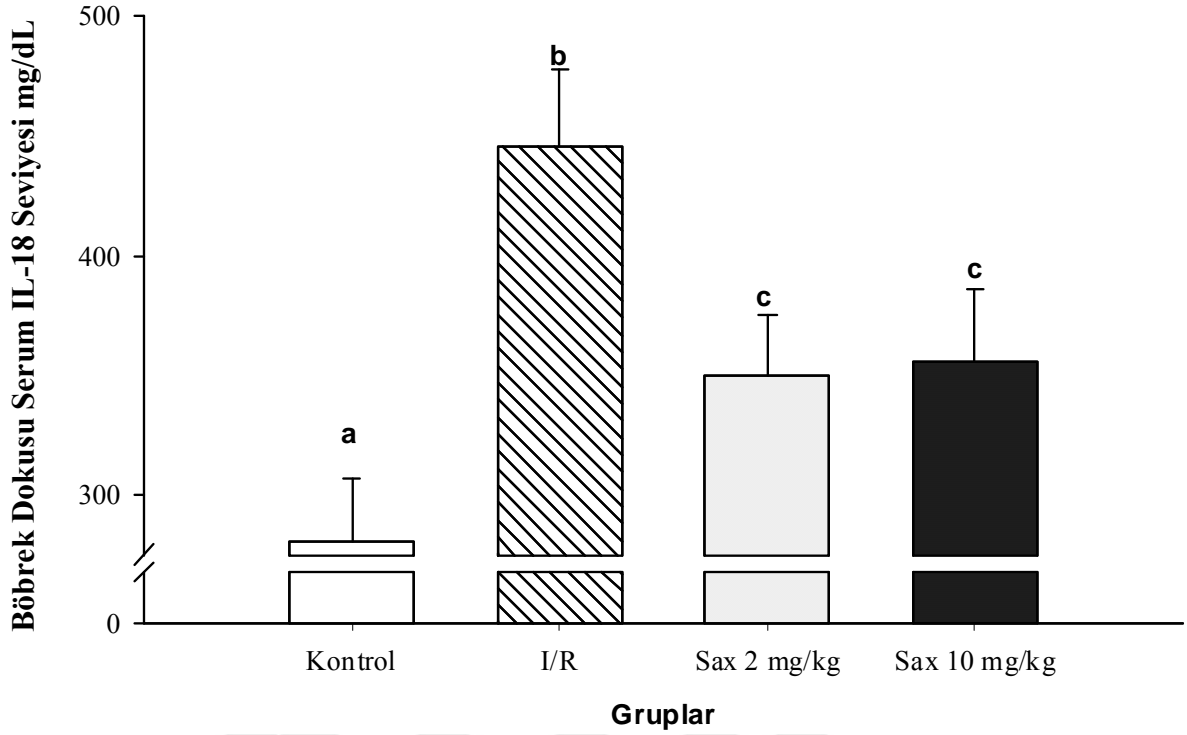
4.5. Saksagliptin'in Serum ve Böbrek Dokuda IL-18 Seviyesi Üzerindeki Etkileri

Grupların serum IL-18 seviyeleri Şekil 4.7.'de gösterilmiştir. Deney grupları serum IL-18 seviyesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre I/R yapılan grupta IL-18 seviyesinde belirgin bir artış gösterdiği belirlendi ($p<0.05$). Diğer yandan kontrol ve Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) doz bağımsız olarak serum IL-18 seviyesinin I/R uygulanan gruptaki sıçanlardan daha az olduğu görüldü ($p<0.05$).



Şekil 4.7. Deney ve uygulama gruplarının serum IL-18 düzeyleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. ± SS olarak ifade edildi. a, b birbirinden farklı ($a,bp<0.05$).

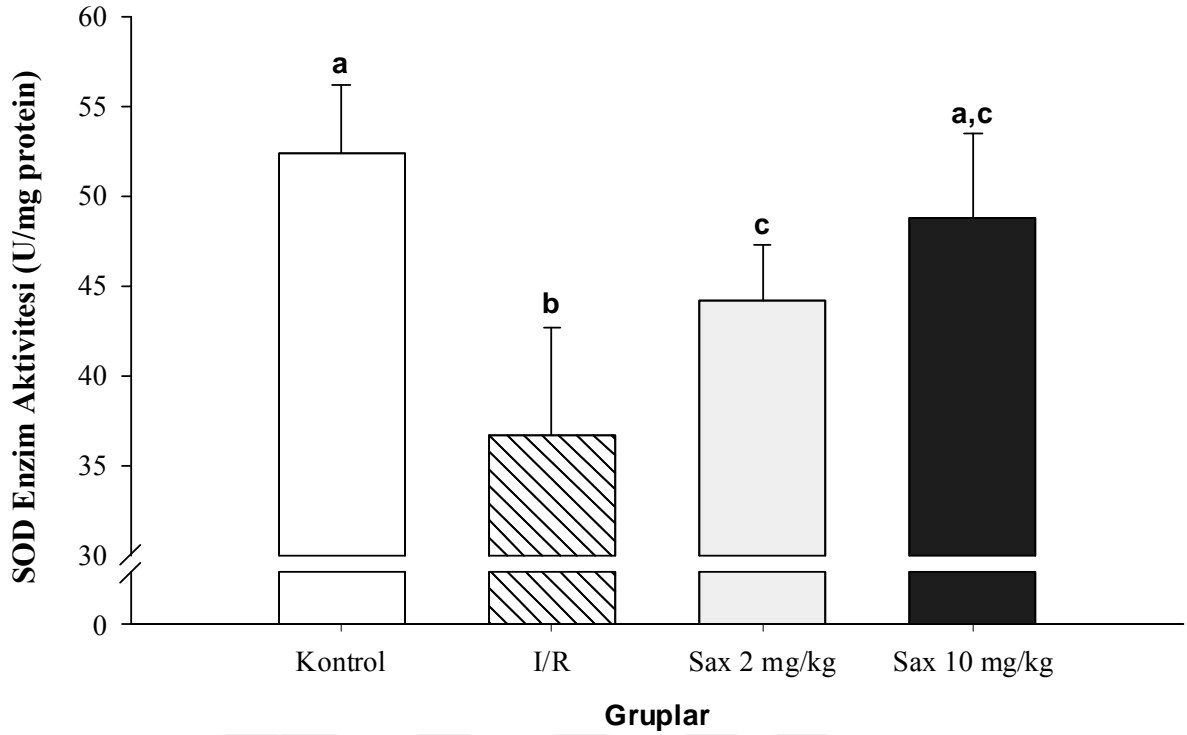
Grupların böbrek dokudaki IL-18 seviyeleri Şekil 4.8.'de gösterilmiştir. Deney grupları böbrek dokudaki IL-18 seviyesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre I/R yapılan grupta IL-18 seviyesinin önemli düzeyde artış gösterdiği belirlendi ($p<0.05$). Diğer yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) doz bağımsız olarak böbrek dokudaki IL-18 seviyesinin I/R uygulanan gruptaki sıçanlardan daha az olduğu görüldü ($p<0.05$).



Şekil 4.8. Deney ve uygulama gruplarının böbrek doku IL-18 düzeyleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. \pm SS olarak ifade edildi. a, b ve c birbirinden farklı ($^{a,b,c}p<0.05$).

4.6. Saksagliptin'in Böbrek Dokusunda SOD Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri

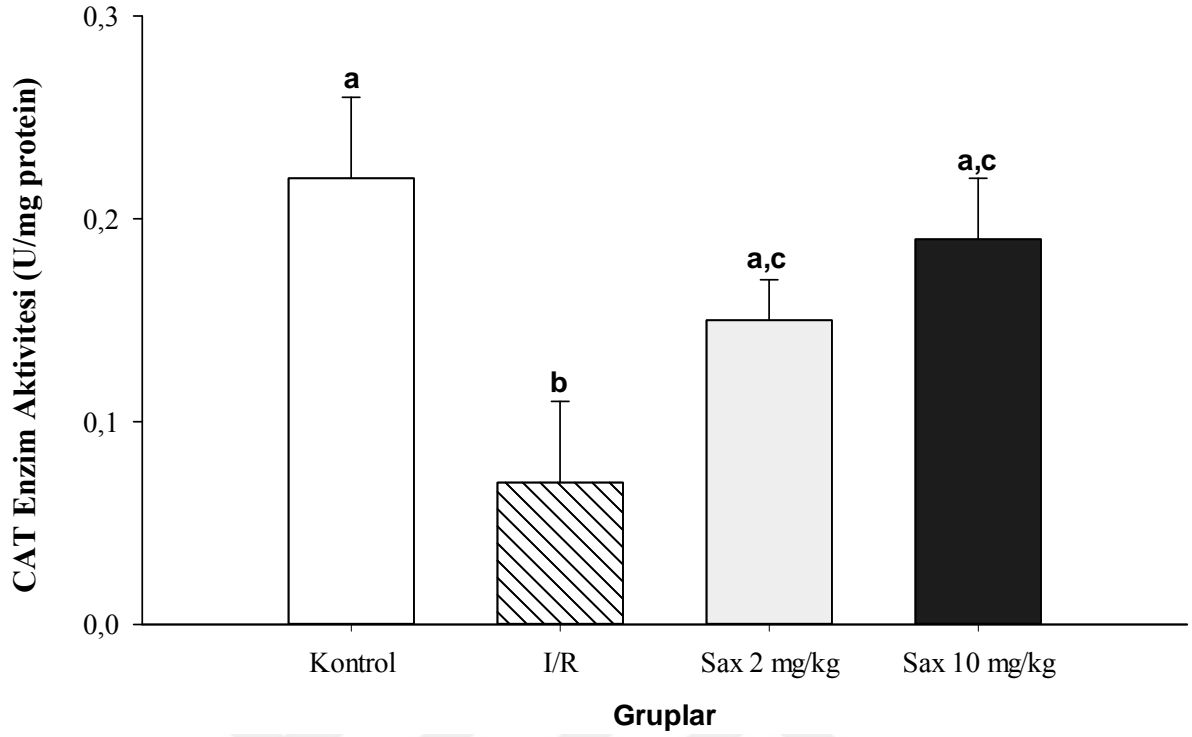
Grupların böbrek dokudaki SOD enzim aktivitesi Şekil 4.9.'de gösterilmiştir. Deney grupları böbrek dokudaki SOD enzim aktivitesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre İ/R yapılan grupta SOD enzim aktivitesi önemli düzeyde azalma gösterdiği belirlendi ($p<0.05$). Diğer yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) doz bağımsız olarak böbrek dokudaki SOD enzim aktivitesi I/R uygulanan gruptaki sıçanlardan daha yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$).



Şekil 4.9. Deney ve uygulama gruplarının SOD enzim aktivitesi. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. ± SS olarak ifade edildi. a, b ve c birbirinden farklı ($a,b,c,p<0.05$).

4.7. Saksagliptin'in Böbrek Dokusunda CAT Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri

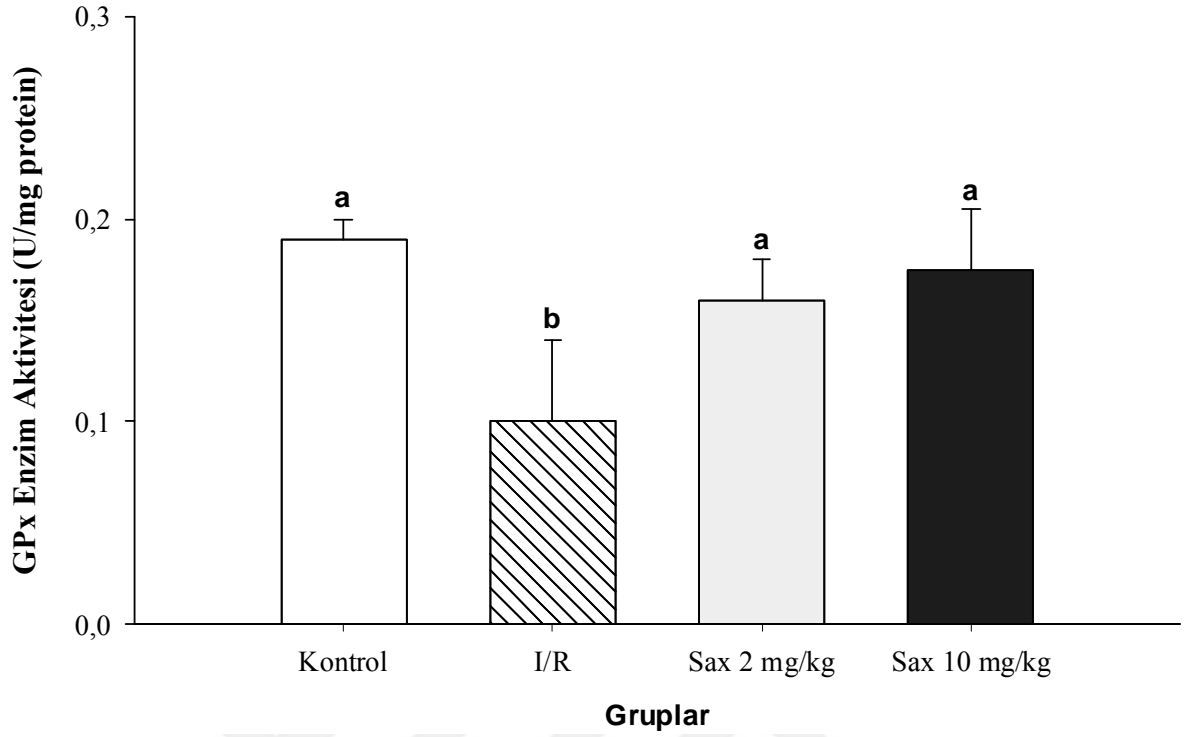
Grupların böbrek dokudaki CAT enzim aktivitesi Şekil 4.10.'de gösterilmiştir. Deney grupları böbrek dokudaki CAT enzim aktivitesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre İ/R yapılan grupta CAT enzim aktivitesi önemli düzeyde azalma gösterdiği belirlendi ($p<0.05$). Diğer yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) doz bağımsız olarak böbrek dokudaki CAT enzim aktivitesi I/R uygulanan gruptaki sıçanlara göre yüksek olduğu belirlendi ($p<0.05$).



Şekil 4.10. Deney ve uygulama gruplarının CAT enzim aktivitesi. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. ± SS olarak ifade edildi. a, b ve c birbirinden farklı ($a,b,c p < 0.05$).

4.8. Saksagliptin'nin Böbrek Dokusunda GPx Enzim Aktivitesi Üzerindeki Etkileri

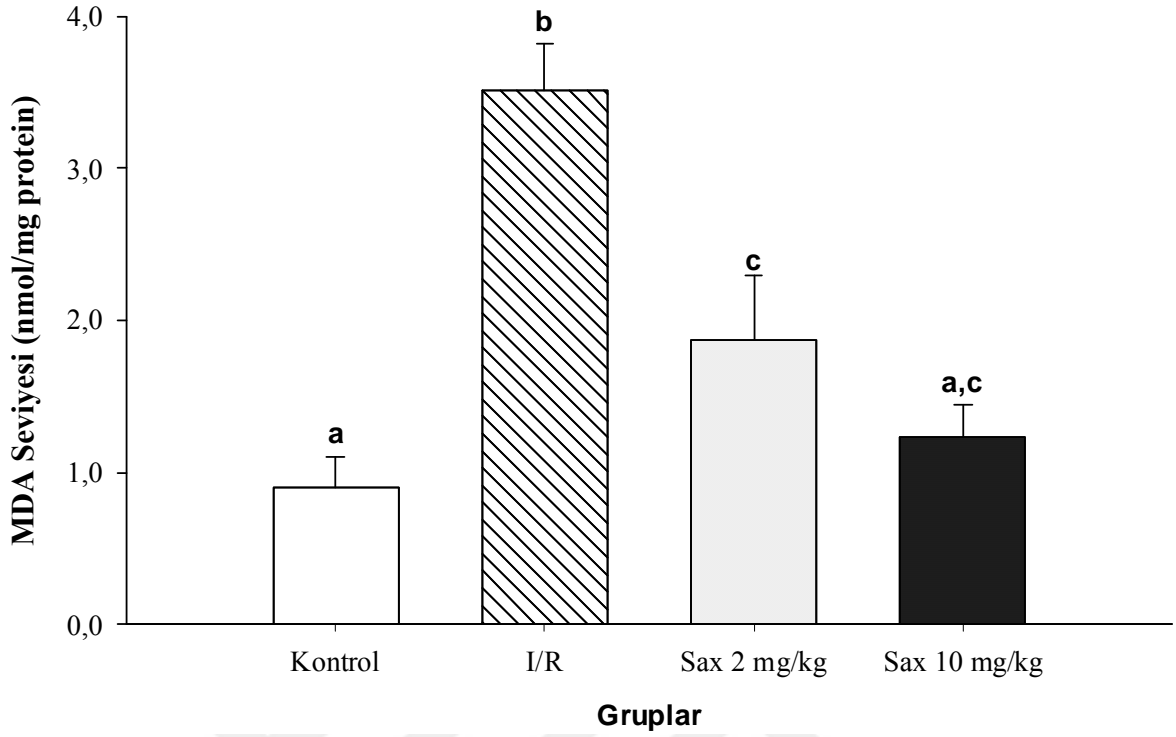
Grupların böbrek dokudaki GPx enzim aktivitesi Şekil 4.11.'de gösterilmiştir. Deney grupları böbrek dokudaki GPx enzim aktivitesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre İ/R yapılan grupta GPx enzim aktivitesinde azalma gösterdiği belirlendi ($p < 0.05$). Diğer yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) doz bağımsız olarak böbrek dokudaki GPx enzim aktivitesi I/R uygulanan gruptaki sıçanlara göre yüksek olduğu belirlendi ($p < 0.05$).



Şekil 4.11. Deney ve uygulama gruplarının GPx enzim aktivitesi. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. ± SS olarak ifade edildi. a, b birbirinden farklı (^{a,b}p<0.05).

4.9. Saksagliptin'in Böbrek Dokusunda MDA Seviyesi Üzerindeki Etkileri

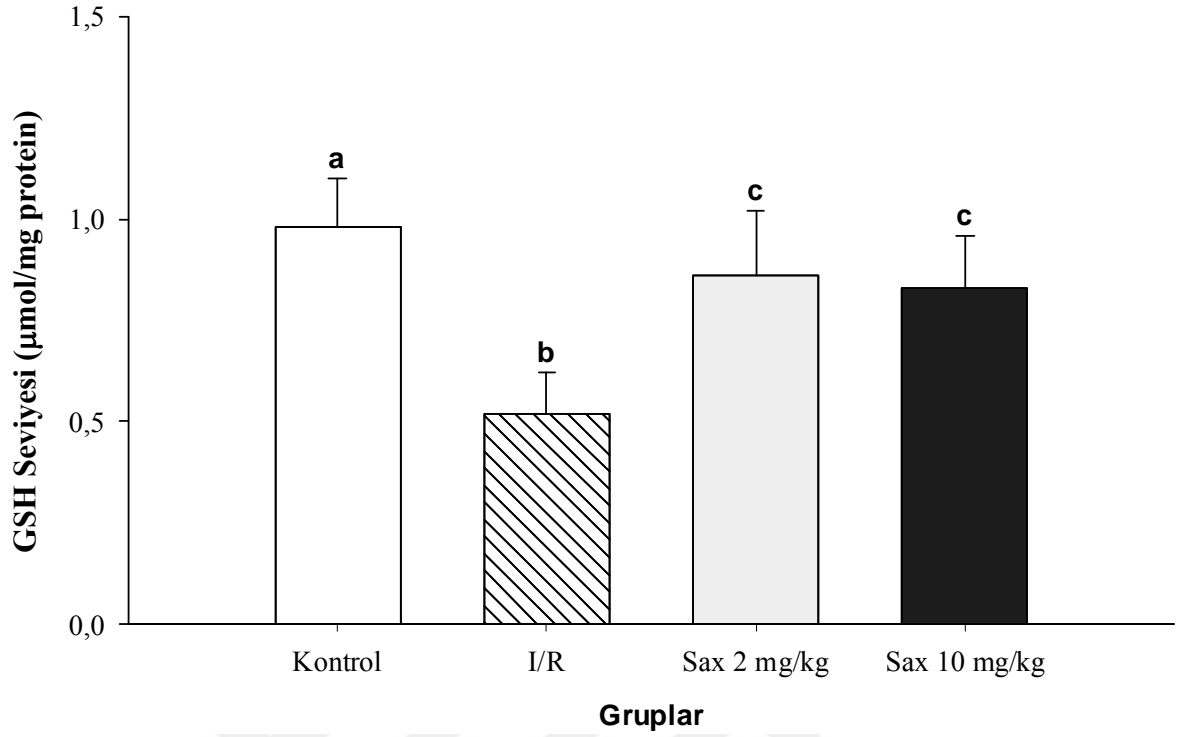
Grupların böbrek dokudaki MDA enzim aktivitesi Şekil 4.12.'de gösterilmiştir. Deney grupları böbrek dokudaki MDA enzim aktivitesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre İ/R yapılan grupta MDA enzim aktivitesinde belirgin bir artış olduğu belirlendi (p<0.05). Diğer yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) doz bağımsız olarak böbrek dokudaki MDA enzim aktivitesi I/R uygulanan gruptaki sıçanlara göre azaldığı gözlemlendi (p<0.05).



Şekil 4.12. Deney ve uygulama gruplarının MDA seviyeleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. \pm SS olarak ifade edildi. a, b ve c birbirinden farklı ($a,b,c p < 0.05$).

4.10. Saksagliptin'in Böbrek Dokusunda GSH Seviyesi Üzerindeki Etkileri

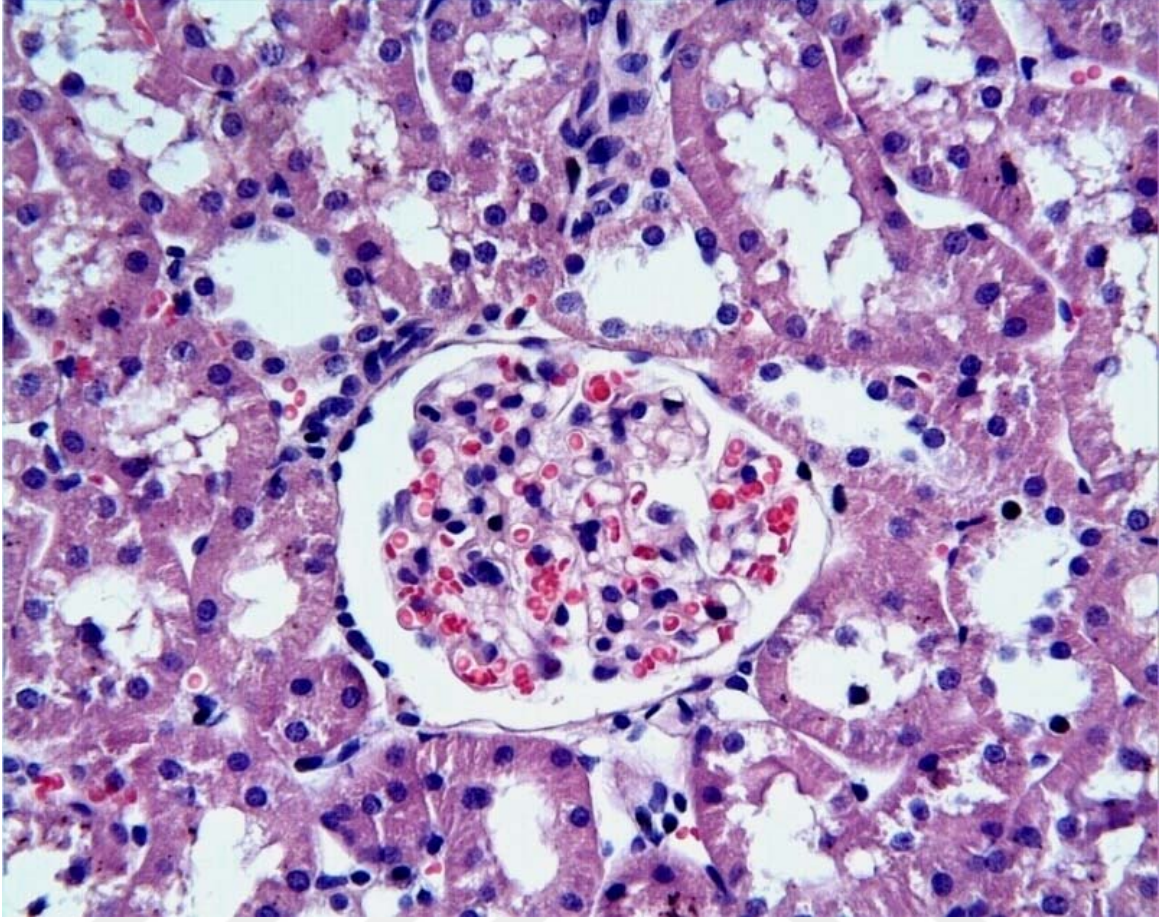
Grupların böbrek dokudaki GSH enzim aktivitesi Şekil 4.13.'de gösterilmiştir. Deney grupları böbrek dokudaki GSH enzim aktivitesi bakımından karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre I/R yapılan grupta GSH enzim aktivitesinde belirgin bir azalma olduğu belirlendi ($p < 0.05$). Diğer yandan Sax uygulanan gruplarda (2 ve 10 mg/kg) doz bağımsız olarak böbrek dokudaki GSH enzim aktivitesi I/R uygulanan gruptaki sıçanlara göre arttığı gözlemlendi ($p < 0.05$).



Şekil 4.13. Deney ve uygulama gruplarının GSH seviyeleri. (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Değerler ort. \pm SS olarak ifade edildi. a, b ve c birbirinden farklı ($a,b,c,p<0.05$).

4.11. Hemotoksilen-Eozin Histolojik Değerlendirme Sonuçları

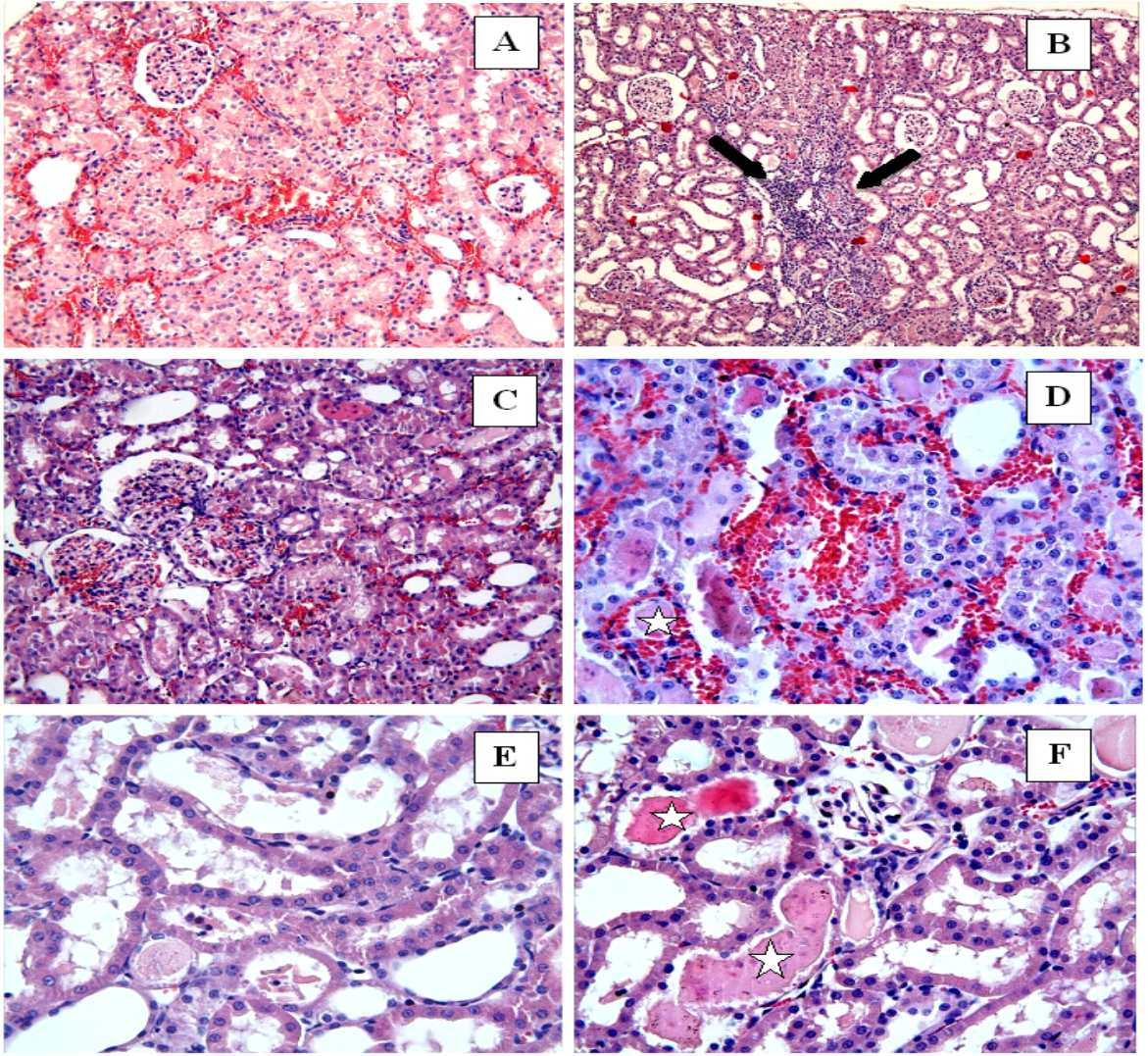
Kontrol grubu böbrek doku kesitlerinden elde edilen görüntü şekil 4.14' te sunulmuştur. Yapılan histolojik değerlendirme de kontrol grubu böbrek dokularında herhangi bir inflamasyonun olmadığı, fırçamsı kenarların, tübül ve glomerül yapılarının normal yapıda olduğu görüldü.



Şekil 4.14. Kontrol grubu böbrek dokusuna ait histolojik görünüşü H-E; X40

İ/R grubunun böbrek doku kesit görünümü Şekil 4.15’de gösterilmiştir. Şekil 4.15’e ait böbrek doku kesiti incelendiğinde tübüler lümende kanamaların olduğu (Şekil 4.15A-D) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun (OK) yoğun olduğu (B), hidropik dejenerasyonun olduğu (Şekil 4.15C-F), tübüllerde epitel atrofilerin meydana geldiği ve hücrede deskuamasyonu’nun olduğu (Şekil 4.15D-E-F), tübüler epitel hücrelerinin vakuolizasyonun meydana geldiği, tübüler lümende atmalar olduğu ve genel morfolojisinin bozulduğu gözlemlendi (Şekil 4.15E-F).

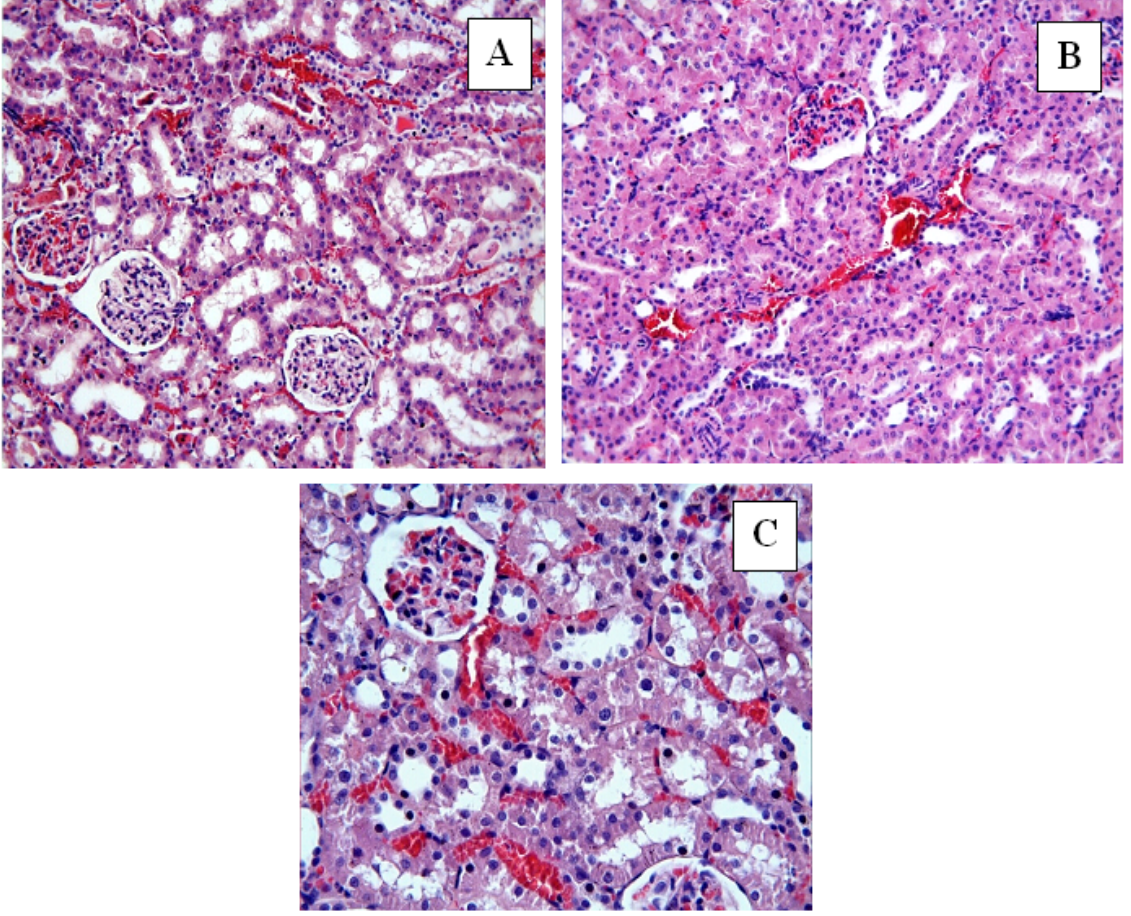
İskemi/Reperfüzyon(İ/R)



Şekil 4.15. İ/R grubu böbrek dokusuna ait histolojik görünüşü A, B, C: H-E; X20, D, E, F: H-E; X40.

İ/R+Sax 2mg/kg doz uygulanan grubun böbrek dokusunun H-E boyama. Şekil 4.16'da verilmiştir. Böbrek doku kesiti incelendiğinde histopatolojik hasarın azaldığı, hücre infiltrasyonunun kısmı olarak gözlemlendiği, tübüller ve glomerülüs arasında küçük kanamaların olduğu belirlendi (Şekil 4.16A-C).

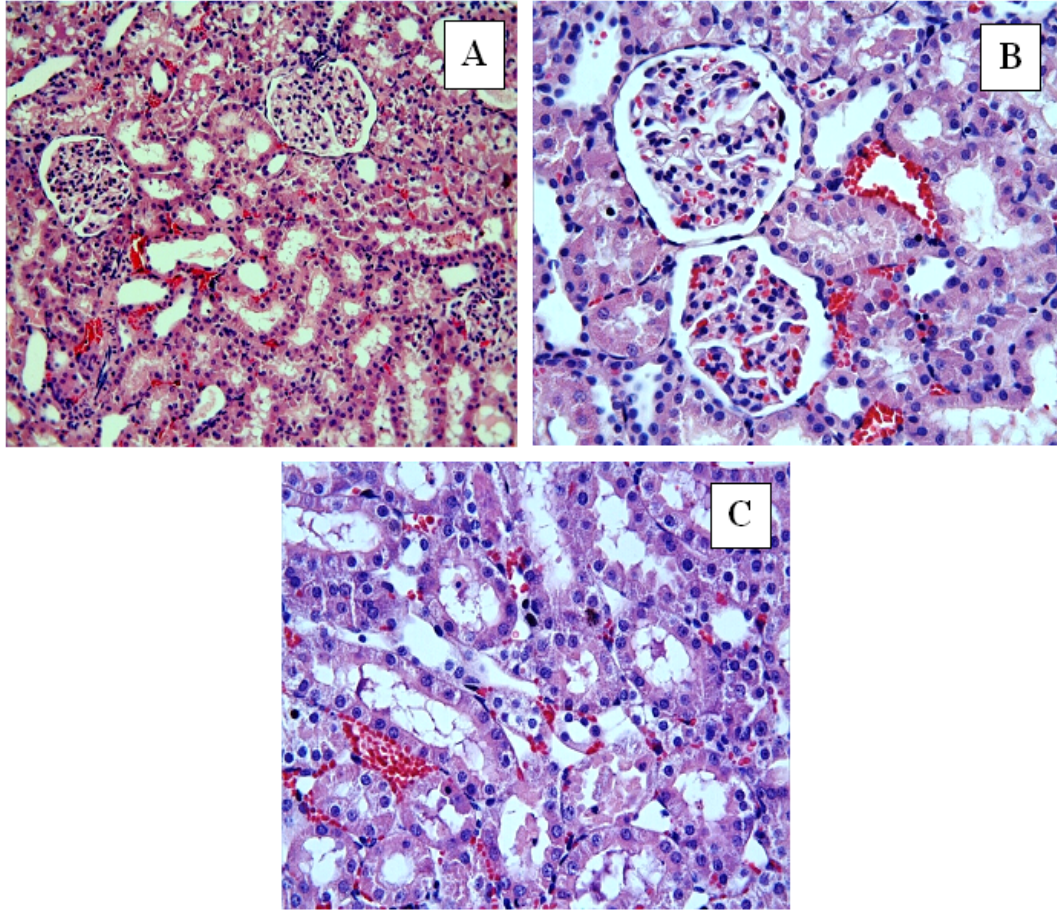
İ/R+ 2mg/kg Saksagliptin



Şekil 4.16. İ / R + 2 mg/kg Sax grubunun böbrek dokusuna ait histolojik görünüşü
A, B, H-E; X20, C: 'H-E; X40.

İ/R+Sax 10mg/kg doz uygulanan grubun böbrek dokusunun H-E boyama. Şekil 4.17'de verilmiştir. Böbrek doku kesitinin incelenmesi sonucunda histopatolojik hasarın büyük ölçüde korunduğu, tübüllerin ve glomerülusun morfolojik görünümünün iyileştiği belirlendi (Şekil 4.17A-C).

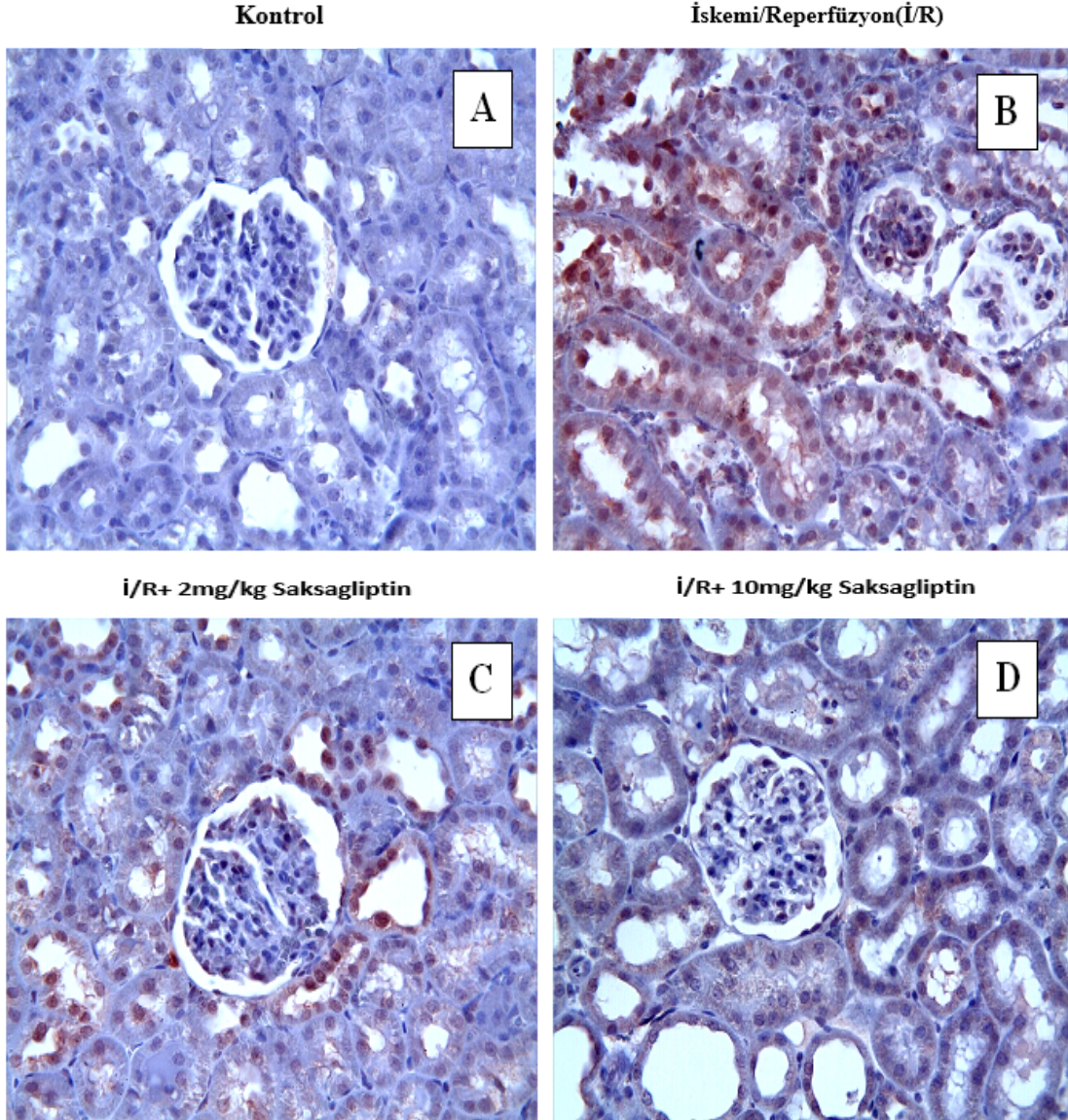
İ/R+ 10mg/kg Saksagliptin



Şekil 4.17. I / R + 2 mg/kg Sax grubunun böbrek dokusuna ait histolojik görünüşü.
A, B, H-E; X20, C: H-E; X40.

4.12. İmmünohistokimyasal Değerlendirme Sonuçları

Dokularda immünohistokimyasal olarak kaspaz-3 boyaması Şekil 4.18'de verilmiştir. Kontrol grubunda pozitif boyanmış kaspaz-3 hücreleri gözlenmedi. İ/R yapılan grupta kaspaz-3 pozitif boyanan hücrelerin yoğun olduğu (B) ve İ/R+Sax2 mg/kg ve İ/R+Sax10mg/kg doz uygulanan gruplarda ise kaspaz-3 boyanması sonucu kaspaz-3 pozitif boyanmış hücreler İ/R grubuna göre az olduğu ve İ/R+Sax10mg/kg doz uygulanan gruplarda kaspaz-3 pozitif boyanan hücrelerin önemli derecede azaldığı gözlendi (D).



Şekil 4.18. Tüm gruplarda kaspaz-3 immün boyama prosedürü. Kontrol (A), İ/R (B), Sax 2mg/kg (C) ve Sax 10 mg/kg gruplardaki immün boyama görüntüleri.

4.13. Histolojik Hasar Sonuç

Grupların histolojik hasar sonuçları Tablo 4.1’de verilmiştir. Histopatolojik olarak oluşan hasarlardan; tübüler lümenin dilatasyonu, hücre infiltrasyonu, tübüler ve glomerüler arasındaki kanama, epitel atrofilerin oluşması gibi hasarların incelendiğinde kontrol grubuna göre İ/R yapılan grupta yüksek seviyede olduğu ve İ/R+Sax2 mg/kg doz uygulanan grupta oluşan hasarın kısmi olarak azaldığı ama en belirgin azalmanın ve İ/R+Sax10 mg/kg doz uygulanan grupta meydana geldiği belirlendi.

Tablo 4.1. Histolojik Hasar. Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Değerler $\text{ort} \pm \text{ss}$ olarak ifade edildi, a, b, c ve d birbirinden farklı; ($^{a,b,c,d}p < 0.05$)

Gruplar	Histolojik Hasar (Ort \pm SS)
Kontrol	$0,48 \pm 0,08^a$
İ/R	$1,85 \pm 0,11^b$
İ/R+Sak2mg/kg	$1,63 \pm 0,12^c$
İ/R+Sak10 mg/kg	$1,43 \pm 0,09^d$

5. TARTIŞMA

İskemi (kan akışının kesilmesi), ardından reperfüzyon ile (kan akışının yeniden kurulması) organ ve dokularda karakteristik hasara sebep olur (111). İskemi normal fizyolojik işlevi sürdürmek için doku ve organ tarafından ihtiyaç duyulan sürekli oksijen ihtiyacını tehlikeye atar. İskemik hücre ölümünü önlemek için hızlı bir şekilde oksijenli kanın (reperfüzyon) geri dönüşü gerekmektedir. Bununla birlikte reperfüzyonun kendisinde oksijenin geri dönüşü ile ilişkili olan “reperfüzyon hasarı” olarak bilinen hücresel yaralanma ve ölüme yol açar (112, 113). Dolayısıyla, iskemik yaralanma oksijen eksikliği (hipoksi) ile olurken, reperfüzyon hasarı oksijenin geri dönüşü ile ilişkilidir (114, 115) ve bununla birlikte İ/R hasarı hayati tehlike oluşturan birçok hastalık ve hastalık ile ilişkili organ doku fonksiyon bozukluğuna neden olur. Böbrek kan akımındaki azalma veya kesilme ve sonradan oluşan reperfüzyon ile birlikte çeşitli derecelerde doku hasarı oluşturmaktadır (116). Sepsis, şok, hipotansiyon (117) bazı böbrek ameliyatları, böbrek taşı ile ilgili cerrahi işlemler, parsiyel nefrektomi, böbrek nakli ve renal arter revaskülarizasyonu ya da kardiyotorasik cerrahi (118, 119) böbrek iskemisine neden olabilir ve bu durumlar hasar sürecini başlatır ve mitokondrilerde enerji üretimi azalmaya başlar. Bu nedenle hücre zarı geçirgenliğinin artması nedeniyle hücresel iyon dengesi bozulur, proteaz ve fosfolipaz aktivitesi artar. Uzun iskemi süresine bağlı olarak, nekrotik bir hücre ölüm şekli meydana gelebilir (120). Reperfüzyon sırasında sağlanan moleküler oksijen elektron alıcısı olarak tüketilir ve iki süperoksit anyonun oluşumunda kullanılır, hidrojenperoksit ve hidroksil radikallerinin iskemi/reperfüzyon tarafından indüklenmiş gerçek hasara neden olduğu düşünülmektedir (121). Böbrek iskemi/reperfüzyon hasarı, birbiriyle bağlantılı olan hücre içi hasarı ve enflamatuar reaksiyonlar meydana getirir (120). Aslında klinik ve deneysel çalışmalar İ/R hasarının ROS aracılığıyla meydana geldiğini göstermektedir (122, 123). Reperfüzyon sonucu dokuya oksijen verildiğinde ve doku detoksifikasyon kapasitesi ROS oluşumu için yetersiz kaldığında ROS aracılıklı hücre hasarı meydana geldiği kanıtlanmıştır (124). Bundan dolayı hücre oksidasyonu, protein ve zar lipid peroksidasyonu hücre ölümü ve DNA çift sarmal yapısının bozulmasına neden olur (125, 126). Benzer şekilde, reperfüzyon süresi enflamatuar yanıtı başlatır ve geri dönüşümsüz doku hasarı gerçekleştirir (125).

Doku hasarının tetikleme ile gelişen biyokimyasal olaylarda antioksidan sistem yetersiz kalmaktadır. İskemik dokuda oksidanlara bağlı olarak iskemi süresince glutasyon miktarının azaldığı ve SOD, CAT ve GPx gibi enzimlerin inaktivasyonunun hızlandığı ve buna bağlı olarak hücrelerin reperfüzyon sırasında hızla oluşan oksijen radikallerinin etkisine daha duyarlı hale geldiği bilinmektedir (127). Tüm bunların dışında akut böbrek hasarına bağlı olarak KIM-1 ve NGAL gibi moleküllerin hasar belirteci olarak böbrek dokusundan salgılandığı da bilinmektedir (128). Böbrek iskemi hasarını azaltılması açısından birçok farmakolojik mücadele araştırılmıştır, bunların çoğu İ/R yaralanmasını azaltmak ve böbrek fonksiyonlarını iyileştirmek amacıyla klinik olarak değerlendirilmesine rağmen, hiçbiri önemli ölçüde hasarı tam anlamıyla azaltamamıştır (129, 130). Mevcut araştırmalar serbest radikal hasarını inhibe ederek böbrek İ/R hasarını iyileştirmeye yönelik farmakolojik ajanlara odaklanmıştır. Sax DPP-4 enzim inhibitör ailesinin yeni bir üyesi olup, antidiyabetik etkileri kanıtlanmış ve klinik kullanımı giderek yaygınlaşan bir ilaçtır (5). Sax etkisini DPP-4 enzimini inhibe ederek göstermektedir. DPP-4 ise GLP-1 ve GIP'in inhibisyonuna neden olmaktadır (5). Tip2 diyabet tedavisinde DPP-4'ün Sax tarafından inhibe edilmesi, GLP-1 ve GIP'in daha uzun süreli etkili olmasını sağlamakta ve uzun süreli bu etki insülin salgısında artış ile sonuçlanmaktadır. Böylece artmış insülin salgısı, kan glukoz homeostazisinin yeniden kurulmasını sağlamaktadır (5, 131, 132). GLP-1 reseptör mimetiklerinin İ/R hasarına karşı koruyucu olabileceği rapor edilmiştir. GLP-1 ve Sax hakkındaki mevcut literatürde, böbrek İ/R hasarı üzerine etkileri hakkındaki bilgiler oldukça sınırlıdır. Vaghasiya ve ark. tarafından sitagliptinin (DPP-4 enzim inhibitörü) diyabetik sıçanlarda böbrek hasarının indüklediği böbrek İ/R hasarını iyileştirdiği gösterilmiştir (133). Buna rağmen aynı makalede, böbrek İ/R hasarına karşı sitagliptin etkisi diyabetik olmayan sıçanlarda araştırılmamıştır. Wang ve ark. DPP-4 inhibitörünün böbrek tübül hücreleri üzerinde indoksil sülfatın toksik etkisini zayıflattığını bildirmişlerdir (134). Joo ve ark. DPP-4 inhibitörünün sıçanlardaki böbrek hasarını zayıflattığını bildirmişlerdir (135). DPP-4 inhibitörünün sıçanlardaki böbrek hasarını zayıflattığını bildirmişlerdir 2015 yılında Nuransoy ve ark. yaptıkları çalışmada erkek sıçanlar 60 dakika renal iskemi ve 24 saat reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçanlara DPP-4 inhibitörü olan Sitagliptin uygulamasının oksidatif stres ve tübül hasarı azalttığı, antioksidan enzimleri artırdığı ve sitagliptinin İ/R'dan kaynaklı hasarına karşı koruyucu bir etki gösterdiği rapor edilmiştir (136).

2013 yılında Chen Yen-Ta ve ark. yaptıkları çalışmada erkek sıçanlara 60 dakika bilateral olarak iskemi uygulayıp 3 gün sitagliptin uygulamasının sonucunda serum kreatin seviyesinin, tübüler hasarı, apoptosis, oksidatif stresi azaldığı uygulana sitagliptinin böbreği I/R hasarından etkili bir şekilde koruduğu belirtmişlerdir (137). Bir başka DPP-4 inhibitörü olan vildagliptin ile yapılan çalışmada; Glorie ve ark. yaptıkları çalışmada 30 dakika iskemi 24 saat iskeminin ardından tübüler hasar, inflamasyonda, oksidatif stres ve serum kreatin seviyesinde, azalma olduğu gözlenmiştir (9). Ancak mevcut literatür bilgilerine göre böbrek İ/R hasarı üzerine saksagliptinin etkisi araştırılmamıştır. Bu çalışmada sıçanların böbrek dokularında İ/R (45 dakika iskemi, 24 saat reperfüzyon) hasarı oluşturuldu yapılan deneysel çalışmalarda böbrekteki İ/R hasarındaki doku ve serum analizlerinde hasarın en erken 4 saatte olduğu ve en yüksek seviyeye 24 saatte meydana geldiği literatür çalışmalarında rapor edilmiştir (138). Bizim çalışmamızda, böbrek dokularında böbrek İ/R MDA'da, KIM-1, NGAL, IL-18 seviyelerinde artışa ve SOD, CAT, GPx aktivitesi ile GSH seviyelerinde azalmaya neden olduğunu tespit ettik ($p<0.05$). Serum dokusunda ise böbrek dokusunda olduğu gibi KIM-1, NGAL, IL-18 ile Bun ve Kreatinin arttığı görüldü ($p<0.05$). Bu bulgular mevcut literatürle örtüşmekte ve İ/R hasarının bir sonucu olarak ortaya çıktığı bilinmektedir. Bu durum deneysel böbrek İ/R modelinin sıçanlarda başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğinin bir kanıtı olarak da değerlendirmek mümkündür. Bununla birlikte, 2 ve 10 mg/kg oral uygulanan Sax'ın İ/R grupta böbrek dokusunda MDA seviyesini azaltırken ve SOD, CAT, GPx aktivitesi ile GSH seviyesini arttırdığı belirlendi. Öte yandan Sax uygulamasının serumda BUN, Kreatin, KIM-1, NGAL ve IL-18 seviyesini azalttığı tespit edildi. İ/R hasarının en önemli sonucu lipid peroksidasyonudur. Böylece lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin kaynağına bakılmaksızın oksidatif stresin ana yoladır. MDA lipid peroksidasyonunun ana ürünüdür ve hücre lipid hasarını görüntülemek için kullanılır (139). Muhtemelen bu yolu bloklayan ROS aracılıklı böbrek hasarının engellemesi etkili bir yoldur (140). SOD, GSH ve CAT ve GPx antioksidan enzimleri, ROS aktivitesini engelleyen savunma mekanizmasıdır. Ne yazık ki böbrek İ/R hasarında antioksidan enzim seviyesi düşmektedir (141, 142). Bir diğer önemli biyokimyasal bulgumuz KIM-1, NGAL ve IL-18 seviyesinin Sax uygulamasına bağlı olarak azalmasıdır. NGAL proksimal tübül hücrelerinde meydana gelen biyobelirteçdir (75, 143). Mishra ve ark. yaptıkları çalışmada 30 dakikalık çift taraflı renal İ/R maruz bırakılan fare modelinde, NGAL'in iskemiye takip eden 2 saat içerisinde idrarda kolayca tespit edildiği tespit etmişlerdir. Bu nedenle NGAL'in iskemik böbrek

hasar sonrasında hassas bir belirteç olduğu ve böbrek iskemisinin dozu ve süresi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Öte yandan KIM-1'in sıçandaki böbrek hasarının olağanüstü bir göstergesi olduğu, birçok patofizyolojik durumda veya toksik maddelere yanıt olarak proksimal tübüldeki histopatolojik değişikliklerin öngörücüleri olarak, kan üre ve serum kreatinine göre daha önemli bir belirleyici olduğu rapor edilmiştir (143, 144). Yapılan çalışmalarda hayvan modellerinde KIM-1 ekspresyonunun böbrekteki İ/R ve nefrotoksik yaralanmayı takiben proksimal tübüllerde lokalize olduğu ileri sürülmüştür (145). KIM-1 normal yetişkin sıçan böbreklerinde, düşük ve saptanamayan düzeyde ekspre edildiği, ancak iske mi sonrası böbreklerde çarpıcı şekilde ekspre edildiği gösterilmiştir (79). İdrardaki KIM-1 seviyesinin doku KIM-1 seviyesi ile yakından ilişkili olduğu ve böbrek dokusu hasarı ile ilişkili olduğu da ayrıca doğrulanmıştır (146). Tüm bunların dışında IL-18'in böbrek tübüler hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilip, apoptoz, İ/R enfeksiyon, otoimmün koşullar olmak üzere çeşitli böbrek hastalıklarında aktif bir rol oynadığı bilimektedir (147). Oluşan iske mi sonrası artan IL-18 seviyesi şaşırtıcı olmayıp Sax makrofajlar üzerinde baskılayıcı bir etki meydana getirdiğinin ilk sinyallerini ortaya koymaktadır. Bu çalışma kapsamında elde edilen biyokimyasal bulgularımızın mevcut literatürde yer alan farklı renal iske mi modelleri ve farklı DPP-4 enzim inhibitörü uygulamaları ile uyumlu olduğu görülmektedir. Çalışmamızda tüm bunların dışında sıçan böbrekleri histolojik hasar açısından histopatolojik olarak değerlendirildi. Bir çok çalışma gösterdi ki böbrek İ/R hasarı, mikrovasküler hasara ve bozulmuş renal vasküler reaktiviteye bağlı böbrek kan akımı değişikliklerine, inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonuna, tübüler epitel hücrelerin hasarına, glomeruler hasara, apoptoza ve fibroza neden olmaktadır (148). Bu çalışmada, Sax ile tedavi edilen gruplarda bu histolojik hasar bakımından kayda değer iyileşme olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak uyumlu biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlarımız, Sax'ın İ/R'nu indüklediği böbrek hasarına karşı serbest radikal temizleyici etkisiyle koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Sonuçlarımız böbrek İ/R hasarında daha önce DPP-4 inhibitörünün kullanılması antiapoptotik ve antioksidan özellikler açısından gerekli gören GLP-1'den bahseden çalışmalarla uygunluk göstermektedir. Bu çalışmada İ/R hasarının indüklediği böbrek hasarında diğer mekanik detayları ayırt etmek için özellikle Sax antioksidan özelliklerine odaklandık. Yine de bu bulgular ile İ/R hasarı tedavisinde klinik uygulamalara geçilmeden önce gelecekte yapılacak deneysel ve klinik çalışmaların bu bulguları doğrulaması gerekmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez araştırmasında bir DPP-4 enzim inhibitörü olan Sax'ın kan glukoz homeostazisinin düzenlenmesi üzerindeki etkilerinden bağımsız deneysel olarak sıçanlarda oluşturulan böbrek İ/R hasarında koruyucu rol üstlendiği, histolojik ve biyokimyasal analizler sonucunda belirlendi. Sax'ın böbrek dokusu üzerindeki bu koruyucu etkileri mevcut literatürde yer almamakla birlikte bulgularımız bu alanda ilk olma özelliğindedir. İ/R hasarını önlemeye yönelik umut verici birçok farmakolojik ajan ile deneysel çalışma yapılmış olsa da, bu yeni müdahale ajanlarının klinikte karşılık bulabilmesi için diğer doku ve organlar üzerindeki etkilerinin de araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Sax'ın İ/R bağlı olarak böbrek dokusunda meydana getirdiği koruyucu etkileri hangi fizyolojik/patofizyolojik mekanizmalar üzerinden gerçekleştirdiği henüz bilinmemektedir. Özellikle mekanizmanın ileriki çalışmalar ile aydınlatılması hastalığın tedavisine yeni bir yaklaşım kazandırmış olacaktır. Bu nedenle tedavi edici yaklaşımları değerlendirmek ve böbrek hasarına karşı korumada potansiyel bir tedavi seçeneği olarak karşımıza çıkan Sax'ın antioksidan, antiinflamatuvar özelliklere sahip potansiyel etkilerini daha kapsamlı değerlendirmek büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKÇA

1. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. *Nat Med* 2011, 17(11): 1391-401.
2. Slimen IB, Najjar T, Ghram A, Dabbebi H, Ben Mrad M, Abdrabbah M. Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. A review. *Int J Hyperthermia* 2014, 30(7): 513-23.
3. Yun Y, Duan WG, Chen P, Wu HX, Shen ZQ, Qian ZY, Wang DH. Ischemic postconditioning modified renal oxidative stress and lipid peroxidation caused by ischemic reperfusion injury in rats. *Transplant Proc* 2009, 41(9): 3597-602.
4. Fadillioglu E, Kurcer Z, Parlakpinar H, Iraz M, Gursul C. Melatonin treatment against remote organ injury induced by renal ischemia reperfusion injury in diabetes mellitus. *Arch Pharm Res* 2008, 31(6): 705-12.
5. Boulton DW. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Saxagliptin, a Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor. *Clin Pharmacokinet* 2017, 56(1): 11-24.
6. Matheussen V, Jungraithmayr W, De Meester I. Dipeptidyl peptidase 4 as a therapeutic target in ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Ther* 2012, 136(3): 267-82.
7. Mulvihill EE, Drucker DJ. Pharmacology, physiology, and mechanisms of action of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Endocr Rev* 2014, 35(6): 992-1019.
8. Chang MW, Chen CH, Chen YC, Wu YC, Zhen YY, Leu S, Tsai TH, Ko SF, Sung PH, Yang CC, Chiang HJ, Chang HW, Chen YT, Yip HK. Sitagliptin protects rat kidneys from acute ischemia-reperfusion injury via upregulation of GLP-1 and GLP-1 receptors. *Acta Pharmacol Sin* 2015, 36(1): 119-30.
9. Glorie LL, Verhulst A, Matheussen V, Baerts L, Magielse J, Hermans N, D'Haese PC, De Meester I, De Beuf A. DPP4 inhibition improves functional outcome after renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012, 303(5): F681-8.
10. Tahrani AA, Piya MK, Barnett AH. Saxagliptin: a new DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Adv Ther* 2009, 26(3): 249-62.

11. Hall JE. *Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book*, Elsevier Health Sciences 2013, 304-23.
12. Anafarta K, Bedük Y, Arıkan NJAGk. *Temel Üroloji, Ürogenital sistemin fizyolojisi* 1998, 39-69.
13. Ganong WFJB, Nobel Tıp Kitabevi, *Tıbbi Fizyoloji* 2002, 49-60.
14. Widmaier EP, Raff H, Strang KT. *Vander insan fizyolojisi: vücut fonksiyon mekanizmaları*, Güneş Tıp Kitabevleri 2014, 491-502
15. Finco DR, Duncan JR. Evaluation of blood urea nitrogen and serum creatinine concentrations as indicators of renal dysfunction: a study of 111 cases and a review of related literature. *J Am Vet Med Assoc* 1976, 168(7): 593-601.
16. Lazarov N. [Urate clearance in the diagnosis of uricopathy]. *Klin Med (Mosk)* 1974, 52(10): 88-91.
17. Hall ME, do Carmo JM, da Silva AA, Juncos LA, Wang Z, Hall JE. Obesity, hypertension, and chronic kidney disease. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2014, 775-88.
18. Donnahoo KK, Meldrum DR, Shenkar R, Chung CS, Abraham E, Harken AH. Early renal ischemia, with or without reperfusion, activates NFkappaB and increases TNF-alpha bioactivity in the kidney. *J Urol* 2000, 163(4): 1328-32.
19. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991, 42225-46.
20. Kanagasundaram NS. Pathophysiology of ischaemic acute kidney injury. *Ann Clin Biochem* 2015, 52(2): 193-205.
21. Onal A, Astarcioglu H, Ormen M, Atila K, Sarioglu S. [The beneficial effect of L-carnitine in rat renal ischemia-reperfusion injury]. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2004, 10(3): 160-7.
22. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *Int Rev Cell Mol Biol* 2012, 298229-317.
23. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 2008, 454(3): 428-35.

24. Zimmerman BJ, Granger DN. Mechanisms of reperfusion injury. *Am J Med Sci* 1994, 307(4): 284-92.
25. Dubey N, Khan AM, Raina R. Sub-acute deltamethrin and fluoride toxicity induced hepatic oxidative stress and biochemical alterations in rats. *Bull Environ Contam Toxicol* 2013, 91(3): 334-8.
26. Omay SB, Saydam G, Aydin HH, Selvi N, Oktem G, Sanli UA, Tobu M, Buyukkecec F. Potential Involvement of Calcineurin in Regulating the State of Differentiation and Apoptosis of HL-60 Cells During Methylprednisolone-Treatment. *Turk J Haematol* 2003, 20(3): 143-51.
27. Ow YP, Green DR, Hao Z, Mak TW. Cytochrome c: functions beyond respiration. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008, 9(7): 532-42.
28. Mundle SD, Gregory SA, Preisler HD, Raza A. Enzymatic programming of apoptotic cell death. *Pathobiology* 1996, 64(3): 161-70.
29. Green DR, Llambi F. Cell Death Signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2015, 7(12).
30. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol* 1986, 250(6): G749-53.
31. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007, 39(1): 44-84.
32. Tas Hekimoglu A, Toprak G, Akkoc H, Evliyaoglu O, Ozekinci S, Kelle I. Oxytocin ameliorates remote liver injury induced by renal ischemia-reperfusion in rats. *Korean J Physiol Pharmacol* 2013, 17(2): 169-73.
33. Grisham MB, Granger DN. Metabolic sources of reactive oxygen metabolites during oxidant stress and ischemia with reperfusion. *Clin Chest Med* 1989, 10(1): 71-81.
34. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985, 312(3): 159-63.

35. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006, 160(1): 1-40.
36. Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem* 1989, 58:79-110.
37. Slater TF. Free radicals and tissue injury: fact and fiction. *Br J Cancer Suppl* 1987, 85-10.
38. McCord JM. Oxygen-derived free radicals. *New Horiz* 1993, 1(1): 70-6.
39. Lu HF, Chen HF, Kao CL, Chao I, Chen HY. A computational study of the Fenton reaction in different pH ranges. *Phys Chem Chem Phys* 2018, 20(35): 22890-901.
40. Kehrer JP. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 2000, 149(1): 43-50.
41. Kehrer JP, Klotz LO. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health. *Crit Rev Toxicol* 2015, 45(9): 765-98.
42. Ghogare AA, Greer A. Using Singlet Oxygen to Synthesize Natural Products and Drugs. *Chem Rev* 2016, 116(17): 9994-10034.
43. Garcia-Criado FJ, Eleno N, Santos-Benito F, Valdunciel JJ, Reverte M, Lozano-Sanchez FS, Ludena MD, Gomez-Alonso A, Lopez-Novoa JM. Protective effect of exogenous nitric oxide on the renal function and inflammatory response in a model of ischemia-reperfusion. *Transplantation* 1998, 66(8): 982-90.
44. Halliwell B, Gutteridge JM. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Mol Aspects Med* 1985, 8(2): 89-193.
45. Auten RL, Davis JM. Oxygen toxicity and reactive oxygen species: the devil is in the details. *Pediatr Res* 2009, 66(2): 121-7.
46. Zadak Z, Hyspler R, Ticha A, Hronek M, Fikrova P, Rathouska J, Hrnčiarikova D, Stetina R. Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiol Res* 2009, 58 Suppl 1S13-7.
47. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 1993, 23(1): 21-48.
48. Savoure N. [Free radicals]. *Allerg Immunol (Paris)* 1993, 25(10): 404-7.

49. Deavall DG, Martin EA, Horner JM, Roberts R. Drug-induced oxidative stress and toxicity. *J Toxicol* 2012, (6) 454-60.
50. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005, 15(4): 316-28.
51. Di Nunzio M, Valli V, Bordoni A. PUFA and oxidative stress. Differential modulation of the cell response by DHA. *Int J Food Sci Nutr* 2016, 67(7): 834-43.
52. Negre-Salvayre A, Coatrieux C, Ingueneau C, Salvayre R. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. *Br J Pharmacol* 2008, 153(1): 6-20.
53. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot* 2003, 91 Spec No179-94.
54. Yilmaz YF, Akbiyik F, Tuncel U, Unal A. [Lipid peroxidation and antioxidant levels in patients with laryngeal carcinoma]. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 2007, 17(2): 81-4.
55. Simonian NA, Coyle JT. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1996, 3683-106.
56. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative Stress. *Annu Rev Biochem* 2017, 86715-48.
57. Huang G, Mei X, Hu J. The Antioxidant Activities of Natural Polysaccharides. *Curr Drug Targets* 2017, 18(11): 1296-300.
58. Elias RJ, Kellerby SS, Decker EA. Antioxidant activity of proteins and peptides. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2008, 48(5): 430-41.
59. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003, 189(1-2): 41-54.
60. Somogyi A, Rosta K, Pusztai P, Tulassay Z, Nagy G. Antioxidant measurements. *Physiol Meas* 2007, 28(4): R41-55.

61. Inoue M, Watanabe N, Utsumi T, Sasaki J. Targeting SOD by gene and protein engineering and inhibition of free radical injury. *Free Radic Res Commun* 1991, 12-13 1391-9.
62. Goth L. [Bicentennial of catalase research, 1818-2018]. *Orv Hetil* 2018, 159(24): 959-64.
63. Cemeli E, Baumgartner A, Anderson D. Antioxidants and the Comet assay. *Mutat Res* 2009, 681(1): 51-67.
64. Flohe L. The fairytale of the GSSG/GSH redox potential. *Biochim Biophys Acta* 2013, 1830(5): 3139-42.
65. Mironczuk-Chodakowska I, Witkowska AM, Zujko ME. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Adv Med Sci* 2018, 63(1): 68-78.
66. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell Physiol Biochem* 2017, 44(2): 532-53.
67. Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol Aspects Med* 2009, 30(1-2): 1-12.
68. Sies H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med* 1999, 27(9-10): 916-21.
69. Vitamin E. Drugs and Lactation Database (LactMed). Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2006.
70. Tabidze LV, Kagan VE, Shukoliukov SA, Ivanov, II. [Is tocopherol a rhodopsin stabilizer in photoreceptor membranes?]. *Biofizika* 1980, 25(2): 340-1.
71. Smirnoff N, Wheeler GL. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2000, 35(4): 291-314.
72. Du J, Cullen JJ, Buettner GR. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochim Biophys Acta* 2012, 1826(2): 443-57.
73. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991, 161(4): 488-503.
74. Lane BR. Molecular markers of kidney injury. *Urol Oncol* 2013, 31(5): 682-5.

75. Shang W, Wang Z. The Update of NGAL in Acute Kidney Injury. *Curr Protein Pept Sci* 2017, 18(12): 1211-7.
76. Martensson J, Bellomo R. The rise and fall of NGAL in acute kidney injury. *Blood Purif* 2014, 37(4): 304-10.
77. Kashani K, Cheungpasitporn W, Ronco C. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. *Clin Chem Lab Med* 2017, 55(8): 1074-89.
78. Han WK, Alinani A, Wu CL, Michaelson D, Loda M, McGovern FJ, Thadhani R, Bonventre JV. Human kidney injury molecule-1 is a tissue and urinary tumor marker of renal cell carcinoma. *J Am Soc Nephrol* 2005, 16(4): 1126-34.
79. 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. *J Biol Chem* 1998, 273(7): 4135-42.
80. Haase-Fielitz A, Haase M, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status. *Ann Clin Biochem* 2014, 51 (3): 335-51.
81. 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 Int* 2002, 62(1): 237-44.
82. Dinarello CA. Interleukin-18 and the pathogenesis of inflammatory diseases. *Semin Nephrol* 2007, 27(1): 98-114.
83. Dinarello CA. Interleukin-18. *Methods* 1999, 19(1): 121-32.
84. Campbell JE, Drucker DJ. Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. *Cell Metab* 2013, 17(6): 819-37.
85. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 2007, 132(6): 2131-57.
86. Kim W, Egan JM. The role of incretins in glucose homeostasis and diabetes treatment. *Pharmacol Rev* 2008, 60(4): 470-512.

87. Tian L, Jin T. The incretin hormone GLP-1 and mechanisms underlying its secretion. *J Diabetes* 2016, 8(6): 753-65.
88. Seino Y, Fukushima M, Yabe D. GIP and GLP-1, the two incretin hormones: Similarities and differences. *J Diabetes Investig* 2010, 1(1-2): 8-23.
89. Thornberry NA, Gallwitz B. Mechanism of action of inhibitors of dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-4). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2009, 23(4): 479-86.
90. Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)--role in the inactivation of regulatory peptides. *Regul Pept* 1999, 85(1): 9-24.
91. De Meester I, Durinx C, Bal G, Proost P, Struyf S, Goossens F, Augustyns K, Scharpe S. Natural substrates of dipeptidyl peptidase IV. *Adv Exp Med Biol* 2000, 47767-87.
92. Ahren B. DPP-4 inhibitors. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2007, 21(4): 517-33.
93. Ahren B, Holst JJ, Martensson H, Balkan B. Improved glucose tolerance and insulin secretion by inhibition of dipeptidyl peptidase IV in mice. *Eur J Pharmacol* 2000, 404(1-2): 239-45.
94. Halimi S. DPP-4 inhibitors and GLP-1 analogues: for whom? Which place for incretins in the management of type 2 diabetic patients? *Diabetes Metab* 2008, 34 Suppl 2S91-5.
95. Scott LJ. Sitagliptin: A Review in Type 2 Diabetes. *Drugs* 2017, 77(2): 209-24.
96. Takayanagi R, Uchida T, Kimura K, Yamada Y. Evaluation of drug efficacy of DPP-4 inhibitors based on theoretical analysis with pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Biopharm Drug Dispos* 2017, 38(4): 273-9.
97. Baetta R, Corsini A. Pharmacology of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: similarities and differences. *Drugs* 2011, 71(11): 1441-67.
98. Thareja S, Aggarwal S, Malla P, Haksar D, Bhardwaj TR, Kumar M. Saxagliptin: a new drug for the treatment of type 2 diabetes. *Mini Rev Med Chem* 2010, 10(8): 759-65.

99. Deacon CF, Holst JJ. Saxagliptin: a new dipeptidyl peptidase-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Adv Ther* 2009, 26(5): 488-99.
100. Dhillon S, Weber J. Saxagliptin. *Drugs* 2009, 69(15): 2103-14.
101. Andersen ES, Deacon CF, Holst JJ. Do we know the true mechanism of action of the DPP-4 inhibitors? *Diabetes Obes Metab* 2018, 20(1): 34-41.
102. Shubrook J, Colucci R, Guo A, Schwartz F. Saxagliptin: A Selective DPP-4 Inhibitor for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Clin Med Insights Endocrinol Diabetes* 2011, 41-12.
103. Upreti VV, Keung CF, Boulton DW, Chang M, Li L, Tang A, Hsiang BC, Quamina-Edghill D, Frevert EU, Lacreata FP. Bioequivalence of saxagliptin/metformin immediate release (IR) fixed-dose combination tablets and single-component saxagliptin and metformin IR tablets in healthy adult subjects. *Clin Drug Investig* 2013, 33(5): 365-74.
104. Kulasa K, Edelman S. Saxagliptin: the evidence for its place in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Core Evid* 2010, 523-37.
105. Fura A, Khanna A, Vyas V, Koplowitz B, Chang SY, Caporuscio C, Boulton DW, Christopher LJ, Chadwick KD, Hamann LG, Humphreys WG, Kirby M. Pharmacokinetics of the dipeptidyl peptidase 4 inhibitor saxagliptin in rats, dogs, and monkeys and clinical projections. *Drug Metab Dispos* 2009, 37(6): 1164-71.
106. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951, 193(1): 265-75.
107. Peterson GL. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal Biochem* 1977, 83(2): 346-56.
108. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988, 34(3): 497-500.
109. Owen JB, Butterfield DA. Measurement of oxidized/reduced glutathione ratio. *Methods Mol Biol* 2010, 648269-77.
110. Ogawa M, Isse T, Oyama T, Kunugita N, Yamaguchi T, Kinaga T, Narai R, Matsumoto A, Kim YD, Kim H, Uchiyama I, Kawamoto T. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) and plasma malondialdehyde (MDA) levels in

- Aldh2 knock-out mice under acetaldehyde exposure. *Ind Health* 2006, 44(1): 179-83.
111. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2002, 105(2): 248-58.
 112. Ar'Rajab A, Dawidson I, Fabia R. Reperfusion injury. *New Horiz* 1996, 4(2): 224-34.
 113. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997, 14(3): 195-203.
 114. Kloner RA, Przyklenk K, Whittaker P. Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion. Resolved and unresolved issues. *Circulation* 1989, 80(5): 1115-27.
 115. Toledo-Pereyra LH, Lopez-Neblina F, Toledo AH. Reactive oxygen species and molecular biology of ischemia/reperfusion. *Ann Transplant* 2004, 9(1): 81-3.
 116. Nath KA, Norby SM, Tajom. Reactive oxygen species and acute renal failure. 2000, 109(8): 665-78.
 117. Sheridan AM, Bonventre JV. Pathophysiology of ischemic acute renal failure. *Blood Purification in Intensive Care*. 132: Karger Publishers; 2001. 7-21.
 118. Landry GJ, Lau IH, Liem TK, Mitchell EL, Moneta GL. Adjunctive renal artery revascularization during juxtarenal and suprarenal abdominal aortic aneurysm repairs. *Am J Surg* 2010, 199(5): 641-5.
 119. Chatterjee PK. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2007, 376(1-2): 1-43.
 120. de Groot H, Rauen U. Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review. *Transplant Proc* 2007, 39(2): 481-4.
 121. Holmberg SR, Cumming DV, Kusama Y, Hearse DJ, Poole-Wilson PA, Shattock MJ, Williams AJ. Reactive oxygen species modify the structure and function of the cardiac sarcoplasmic reticulum calcium-release channel. *Cardioscience* 1991, 2(1): 19-25.

122. Kurcer Z, Parlakpınar H, Vardi N, Tasdemir S, Iraz M, Fadillioglu E, Baba F, Gul M. Protective effects of chronic melatonin treatment against renal ischemia/reperfusion injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007, 115(6): 365-71.
123. Locatelli F, Pozzoni P, Del Vecchio L. Renal replacement therapy in patients with diabetes and end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2004, 15 Suppl 1S25-9.
124. Erdogan H, Fadillioglu E, Yagmurca M, Ucar M, Irmak MK. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. *Urol Res* 2006, 34(1): 41-6.
125. Hayes JD, McLellan LI. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res* 1999, 31(4): 273-300.
126. Lien YH, Lai LW, Silva AL. Pathogenesis of renal ischemia/reperfusion injury: lessons from knockout mice. *Life Sci* 2003, 74(5): 543-52.
127. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000, 109(8): 665-78.
128. Sheridan AM, Bonventre JV. Cell biology and molecular mechanisms of injury in ischemic acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000, 9(4): 427-34.
129. Dishart MK, Kellum JA. An evaluation of pharmacological strategies for the prevention and treatment of acute renal failure. *Drugs* 2000, 59(1): 79-91.
130. Chatterjee PK, di Villa Bianca RD, Sivarajah A, McDonald MC, Cuzzocrea S, Thiernemann C. Pyrrolidine dithiocarbamate reduces renal dysfunction and injury caused by ischemia/reperfusion of the rat kidney. *Eur J Pharmacol* 2003, 482(1-3): 271-80.
131. Augeri DJ, Robl JA, Betebenner DA, Magnin DR, Khanna A, Robertson JG, Wang A, Simpkins LM, Taunk P, Huang Q, Han SP, Abboa-Offei B, Cap M, Xin L, Tao L, Tozzo E, Welzel GE, Egan DM, Marcinkeviciene J, Chang SY, Biller SA, Kirby MS, Parker RA, Hamann LG. Discovery and preclinical profile of Saxagliptin (BMS-477118): a highly potent, long-acting, orally active dipeptidyl

- peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *J Med Chem* 2005, 48(15): 5025-37.
132. Kawalec P, Mikrut A, Lopuch S. The safety of dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitors or sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT-2) inhibitors added to metformin background therapy in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab Res Rev* 2014, 30(4): 269-83.
 133. Vaghasiya J, Sheth N, Bhalodia Y, Manek R. Sitagliptin protects renal ischemia reperfusion induced renal damage in diabetes. *Regul Pept* 2011, 166(1-3): 48-54.
 134. Wang WJ, Chang CH, Sun MF, Hsu SF, Weng CS. DPP-4 inhibitor attenuates toxic effects of indoxyl sulfate on kidney tubular cells. *PLoS One* 2014, 9(4): e93447.
 135. Joo KW, Kim S, Ahn SY, Chin HJ, Chae DW, Lee J, Han JS, Na KY. Dipeptidyl peptidase IV inhibitor attenuates kidney injury in rat remnant kidney. *BMC Nephrol* 2013, 1498.
 136. Nuransoy A, Beytur A, Polat A, Samdanci E, Sagir M, Parlakpınar H. Protective effect of sitagliptin against renal ischemia reperfusion injury in rats. *Ren Fail* 2015, 37(4): 687-93.
 137. Chen YT, Tsai TH, Yang CC, Sun CK, Chang LT, Chen HH, Chang CL, Sung PH, Zhen YY, Leu S, Chang HW, Chen YL, Yip HK. Exendin-4 and sitagliptin protect kidney from ischemia-reperfusion injury through suppressing oxidative stress and inflammatory reaction. *J Transl Med* 2013, 11270.
 138. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest* 1984, 74(4): 1156-64.
 139. Ozdemir R, Parlakpınar H, Polat A, Colak C, Ermis N, Acet A. Selective endothelin a (ETA) receptor antagonist (BQ-123) reduces both myocardial infarct size and oxidant injury. *Toxicology* 2006, 219(1-3): 142-9.
 140. Sahna E, Parlakpınar H, Ozturk F, Cigremis Y, Acet A. The protective effects of physiological and pharmacological concentrations of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Urol Res* 2003, 31(3): 188-93.

141. Parlakpınar H, Olmez E, Acet A, Ozturk F, Tasdemir S, Ates B, Gul M, Otlu A. Beneficial effects of apricot-feeding on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Food Chem Toxicol* 2009, 47(4): 802-8.
142. Walker EM, Jr., Gale GR. Methods of reduction of cisplatin nephrotoxicity. *Ann Clin Lab Sci* 1981, 11(5): 397-410.
143. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, Barasch J, Devarajan P. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003, 14(10): 2534-43.
144. Devarajan P, Mishra J, Supavekin S, Patterson LT, Steven Potter S. Gene expression in early ischemic renal injury: clues towards pathogenesis, biomarker discovery, and novel therapeutics. *Mol Genet Metab* 2003, 80(4): 365-76.
145. Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a specific and sensitive biomarker of kidney injury. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2008, 241:78-83.
146. Yin C, Wang N. Kidney injury molecule-1 in kidney disease. *Ren Fail* 2016, 38(10): 1567-73.
147. Cruz DN, Goh CY, Haase-Fielitz A, Ronco C, Haase M. Early biomarkers of renal injury. *Congest Heart Fail* 2010, 16 Suppl 1: S25-31.
148. Bonventre JV, Weinberg JM. Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2003, 14(8): 2199-210.

EKLER

EK 1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Asiye BEYTUR

Doğum Yeri : Malatya

Doğum Tarihi : 10.09.1988

Adres : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi /Malatya

İş Telefonu : (0422) 341 0660 – 1751

Cep Telefonu : (0537) 615 24 12

E-mail : beytursiye@gmail.com

Eğitim Durumu

Lisans : İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2014)

Y.Lisans : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D. (2016-Devam Ediyor)

Tezler

Y.Lisans Tezi : Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Saksagliptinin Etkilerinin Araştırılması

İlgi Alanları

Nöroendokrinoloji

Beslenme

Hücre Kültürü

Kanser Araştırmaları

ESERLER

Uluslararası – Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Tekin S., **Beytur A.**, Erden Y., Beytur A., Cigremis Y., Vardi N., Turkoz Y., Tekedereli I., Sandal S. (2019) “Effects of intracerebroventricular administration of irisin on the hypothalamus–pituitary–gonadal axis in male rats” *Journal of cellular physiology* 234 (6), 8815-8824.
2. Cakir M., Tekin S., **Beytur A.**, Sandal S. (2018). “İnsan Over ve Prostat Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine N-(pamylcinnamoyl) Antranilik Asit’in (ACA) Etkilerinin Araştırılması” *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 32 (2): 87- 91.
3. **Beytur A.**, Tekin S., Sandal S. (2018). “MOTS-c increases food consumption of rats but does not alter body weight.” *Neuroendocrinology* 107, Supplement 1, 25-25. Doi:10.1159/000493383
4. Cakir M., Tekin S., **Beytur A.**, Sandal S. (2018). “İnsan Over ve Prostat Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine N-(pamylcinnamoyl) Antranilik Asit’in (ACA) Etkilerinin Araştırılması” *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 32 (2): 87- 91.
5. Tekin S., **Beytur A.**, Çakır M., Tekin Ç., Sandal S. (2017). “Saksagliptin ve Sitagliptinin Farklı Tıp İnsan Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine Etkilerinin Araştırılması” *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 31 (3): 111 – 116.

SCI Kapsamındaki Dergilerde Yayımlanan Özet Türünden Yayınlar

1. Tekin S., Erden Y., **Beytur A.**, Cigremis Y., Sandal S., Turkoz Y., Tekedereli I., Beytur A. (2016). "A Novel Effective Myokine in the Control of Reproduction Behaviour; Irisin" *Acta Physiologica*, Volume 218, Supplement s709, Pages 24, DOI: 10.1111/apha.12778
2. Tekin S., Cakir M., **Beytur A.**, Sandal S. (2017). "Effects of N-(p-amylocinnamoyl) anthranilic acid (ACA) on various human cancer cell lines" *Acta Physiologica*, Volume 221, Supplement s713, Pages 180, DOI: 10.1111/apha.12941.
3. Tekin S., Cakir M., **Beytur A.**, Sandal S. (2017). "Effects of chronic intraperitoneally infusion of irisin on liver antioxidant alance in rats" *Acta Physiologica*, Volume 221, Supplement s713, Pages 134, DOI: 10.1111/apha.12940.
4. Tekin S., **Beytur A.**, Cakir M., Sandal S. (2017). "Effects of saxagliptin on human prostate and breast cancer: An in vitro study" *Acta Physiologica*, Volume 221, Supplement s713, Pages 181, DOI: 10.1111/apha.12941.
5. Tekin S., **Beytur A.**, Taslidere A., Cakir M., Sandal S. (2017). "The relationship between Saxagliptin and renal ischemi/reperfusion: A morphological approach" *Acta Physiologica*, Volume 221, Supplement s713, Pages 108, DOI: 10.1111/apha.12939.
6. Tekin S., Cakir M., **Beytur A.**, Sandal S. (2017) "Investigation of the Effects of Sitagliptin on Cancer; In vitro study" *Acta Physiologica*, Volume 221, Supplement s714, Pages 51, DOI: 10.1111/apha.12969.
7. Durmuş, M., **Beytur, A.**, Çelik, M., Dişli, F., Koran, K., Tekin, S., Görgülü, A.O., Sandal, S. (2017), "Cytotoxicity Properties of Full Substituted Organocyclophosphazene Derivatives Containing Chalcone-Groups Against A2780 and MCF-7 Cancer Cell Lines", *Acta Physiologica*, Volume 221, Supplement s714, Pages 53, DOI: 10.1111/apha.12969.
8. Çalışgan, Ş., **Beytur, A.**, Menengiç, K.N., Tekin, S., Koran, K., Görgülü, A.O., Sandal, S. (2017) "Determination of Cytotoxicity Properties of Oxime-Cyclotriphosphazene Derivatives Against PC-3 Cancer Cell Lines", *Acta Physiologica*, Volume 221, Supplement s714, Pages 53, DOI: 10.1111/apha.12969.

9. **Beytur, A.**, Demir, İ., Koran, K., Tekin, S., Gorgulu, A. O., Sandal, S. (2017) "Determination of Anticancer Activities of Organophosphazene Compounds Bearing Ether Groups on Human Cancer Cell Lines", Acta Physiologica, Volume 221, Supplement s714, Pages 52, DOI: 10.1111/apha.12969.
10. Tekin S., **Beytur A.**, Cakir M., Sandal S. (2017) "Protective Effect of Saxagliptin Against Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Male Rats" Acta Physiologica, Volume 221, Supplement s714, Pages 27, DOI: 10.1111/apha.12968.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabına Basılan Bildiriler

1. Tekin S., **Beytur A.**, Cakir M., Sandal S. (2017). "Saxagliptin reduces the level of NGAL, KIM-1, IL-18, Which is increased by renal ischemia reperfusion" IUPS 38th World Congress, Rio De Janeiro/Brasil. (PO-002).
2. Tekin S., **Beytur A.**, Cakir M., Sandal S. (2018). "Renal İskemi/Reperfüzyon Hasarına Bağlı Olarak Artan Sistatin-C Düzeyini Saksagliptin Azaltır" 1st International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018), 940, Ankara, Turkey.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

1. Demez S., Şahin H., Kaplan L., Avşaroğlu A.M., Alpağan G., Alat Ş., **Beytur A.**, Yılmaz Ü., Tekin S. (2016). Lycium Barbarium'xxun (Gojji Berry) Over Kanseri Üzerine Etkisi In Vitro Bir Çalışma. 3. Ulusal Tıp Öğrenci Kongresi, 13-15 Mayıs Malatya, S22.

2. Sönmez M.S., Çoban U.C., **Beytur A.**, Tekin S. (2018). Defne Tohumu ve Yaprığının İnsan Over Kanseri Üzerine Antiproliferatif Etkilerinin Araştırılması. 5. Ulusal Tıp Öğrenci Kongresi Mikrobiyota, 22-29 Nisan Malatya, S21.

3. Özdemir E., Yılmaz G.A., **Beytur A.**, Tekin S. (2018). Ekinezya Pallida'nın Kanser Üzerindeki Etkileri: In Vitro Bir Çalışma. 5. Ulusal Tıp Öğrenci Kongresi Mikrobiyota, 22-29 Nisan Malatya, S24.

4.Gülcan G., **Beytur A.**, Tekin S. (2018). Taraxacum Officinale'nin İnsan Over Kanseri Üzerindeki Etkileri. 5. Ulusal Tıp Öğrenci Kongresi Mikrobiyota, 22-29 Nisan Malatya,

5.Hasırcı S.İ., Çınar M., **Beytur A.**, Tekin S. (2018). Arı Mucizesi Propolisin İnsan MemeKanseri Hücre Canlılığı Üzerindeki Etkisi. 5. Ulusal Tıp Öğrenci Kongresi Mikrobiyota, 22-29 Nisan Malatya, S22.

TUBİTAK Destekli Araştırma Projeleri

1. İntraserebroventriküler MOTS-c İnfüzyonunun Beslenme Davranışı Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması **TUBİTAK-116S744 Bursiyer**, (2016-2018).

TUBİTAK Destekli Etkinlik Projeleri

1. “Tıp Fakültesi Öğrencilerine Bilimsel Araştırma ve Proje Hazırlama Eğitimi”, TÜBİTAK 2229-Bilimsel Eğitim Etkinliklerini Destekleme Programı, **TÜBİTAK 1059B291600421, Yardımcı Personel** (15-18 Aralık 2016).
2. “Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Bilimsel Proje Hazırlama ve Araştırma Metodolojisi Eğitimi”, TÜBİTAK 2229-Bilimsel Eğitim Etkinliklerini Destekleme Programı, **TÜBİTAK 1059B291600657, Yardımcı Personel** (02-05 Mart 2017).
3. “Tıp Öğrencileri İçin Bilimsel Araştırma ve Akademik Becerilere Giriş Bilim Okulu Malatya 2017” TÜBİTAK 2229-Bilimsel Eğitim Etkinliklerini Destekleme Programı, **TÜBİTAK 1059B291700091, Yardımcı Personel** (28 Eylül-1 Ekim 2017).
4. “Tıp Fakültesi Öğrencilerine Bilimsel Araştırma ve Uygulamalı Proje Hazırlama Eğitimi” TÜBİTAK 2229-Bilimsel Eğitim Etkinliklerini Destekleme Programı, **TÜBİTAK 1059B291700509, Yardımcı Personel** (19-22 Ekim 2017).
5. “Tıp Fakültesi Öğrencileri için Bilimsel Proje Hazırlama ve Araştırma Metodolojisi Eğitimi” TÜBİTAK 2229-Bilimsel Eğitim Etkinliklerini Destekleme Programı, **TÜBİTAK 1059B291700556, Yardımcı Personel** (09-12 Kasım 2017).

BAP Destekli Araştırma Projeleri

1. Tekin S., Sandal S., olak C., **Beytur A.** “İmmüno Floresans Yöntemlerle Beyin Araştırmaları Laboratuvarının Geliştirilmesi” **İÜBAP-2016/54 güdümlü proje, Yürütücü** (2016-2019).
2. Beytur A., Oğuz F., Köse E., **Beytur A.**, Tekin S., Tekin . “Üreme Davranışının Kontrolünde İrisin Hormonun Etkilerinin Araştırılması” **İÜBAP-2016/77, Araştırmacı** (2016-2018).
3. Tekin S., **Beytur A.**, Sandal S., Tekin C., Beytur A., Cakir M. “DeneySEL Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Saksagliptinin Etkilerinin Araştırılması” **İÜBAP-TCD-2017-647, Yürütücü** (2017-2018).
4. Sandal S., Tekin S., Koran K., Tekin C., Görgülü A.O., **Beytur A.** “M.Hetero Halkalı Sübstitüe Organofosfazen Bileşiklerinin Sitotoksik ve Genotoksik özelliklerinin İncelenmesi” **İÜBAP- TCD-2017-675, Araştırmacı** (2017-Devam ediyor).

Katıldığı Kurslar

1. İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu. “17. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası” **Kursiyer**, Malatya-2016.
2. Leice “Frozeen (Cryostat) Kullanım Eğitimi” **Kursiyer**, 2016.
3. Leice “Floresan Eklentili Mikroskop Kullanım Eğitimi” **Kursiyer**, 2017.

Katıldığı Bilimsel Etkinlikler & Kongreler

1. Pamukkale Üniversitesi 43. Ulusal Fizyoloji Kongresi, **Katılımcı**, Pamukkale-2017.
2. 3th International Congress of Turkish Neuroendocrinolog Society, **Katılımcı**, Malatya-2018

EK 2. ETİK KURUL KARARI



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 13-04-2017
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
Araştırma Protokol no.su : 2017/A-28
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Sprague-dawley
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 40 Adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 6-8 Aylık, 250-350 gr.

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Suat TEKİN'in yürütücüsü olduğu "Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Saksagliptinin Etkilerinin Araştırılması." isimli 2017/A-28 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

 Prof. Dr. Davut ÖZBAĞ Başkan	 Prof. Dr. Tayfun GULDÜR Başkan Yardımcısı	 Prof. Dr. Metin ATAMBAY Üye
 Prof. Dr. M. Çağatay TAŞKAPAN Üye	 Prof. Dr. Basak ZAYHAN Üye	 Doç. Dr. Şengül YÜKSEL Üye
 Vet. Hek. Özge ÖZYALIN Üye	Katılmadı Akin ÖZ Sivil Üye	Katılmadı Dr. Mehmet DENİZ Sivil Üye