T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYONUNDA NARİNGİN' İN AQUAPORİN-1 VE AQUAPORİN-2 DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Zübeyde DEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ

KONYA-2022

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYONUNDA NARİNGİN' İN AQUAPORİN-1 VE AQUAPORİN-2 DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Zübeyde DEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 21202122 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2022

ÖNSÖZ

“Sıçanlarda Deneysel Böbrek İskemi-Reperfüzyonunda Naringin’in Aquaporin-1 ve Aquaporin-2 Düzeylerine Etkisi” isimli tez çalışmamın ve Yüksek Lisans eğitimimin her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan her konuda destekleri ve ilgisiyle yanımda olan anlayışlı ve teşvik edici yaklaşımıyla bu süreci kolaylaştıran çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ’ a;

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan ve yardımlarını esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı saygıdeğer Prof. Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI’ ya, Yüksek lisans eğitimimde katkıda bulunan sayın Prof. Dr. Nilsel OKUDAN’ a ve Prof. Dr. Muaz BELVİRANLI’ ya, tez çalışmamda yardımlarını bizden esirgemeyen sayın Prof. Dr. Abdullah SİVRİKAYA ’ya;

Yüksek Lisans eğitimimin tüm aşamalarında her türlü desteğini benden esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tez çalışmamda zorlukları aşmama yardımcı olan sayın Dr. Derviş DAŞDELEN’ e; analizlerde bana yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Gözde ACAR’ a;

Attığım her adımda arkamda olan, varlıklarıyla bana güç veren, her türlü desteklerini benden esirgemeyen annem ve babama;

Zorlandığım her anımda yardımıma koşan, teknik sorunlarımı çözen, motivasyon kaynağım sevgili kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR v

ÖZET vi

SUMMARY vii

1.GİRİŞ 1

1.1. İskemi Reperfüzyon **1**

1.2. Antioksidanlar ve Oksidatif Stres **4**

1.2.1. Flavonoidler 7

1.2.2. Flavanonlar 9

1.2.3. Naringin 9

1.3. Aquaporinler **14**

1.3.1. Aquaporin 1 (AQP 1) 16

1.3.2. Aquaporin 2 (AQP 2) 18

1.4. İskemi Reperfüzyon ve Plazma Üre Kreatinin Düzeyleri **20**

1.5. İskemi Reperfüzyon ve İdrar Osmalarite Düzeyleri **24**

1.6. Böbrek İskemi Reperfüzyonu, Vücut Ağırlığı ve Su Dengesi **25**

2.GEREÇ VE YÖNTEM 27

2.1. ELISA Analizleri **28**

2.1.1. AQP 1 (Aquaporin 1) Analizi 28

2.1.2. AQP 2 (Aquaporin 2) Analizi 29

2.2. İdrar Analizleri **30**

2.3.Kan Analizleri **30**

2.4.Toplam RNA izolasyonu **30**

2.5. İstatistik **32**

3. BULGULAR 33

4. TARTIŞMA 37

5. SONUÇ VE ÖNERİLER 43

6. KAYNAKLAR 44

7.EKLER.....51

Ek-A: Etik Kurul Kararı.....51

Ek-B: Turnitin Raporu 52

8.ÖZGEÇMİŞ.....54

SİMGELER VE KISALTMALAR

AQP: Aquaporin

ABY: Akut Böbrek Yetmezliği

ATP: adenozin trifosfat

Bax: Bcl 2 ilişkili X proteini

BUN: Kan Üre Azotu

CO_2: karbondioksit

DNA: deoksiribonükleik asit

IL: interlökin

IR: iskemi-reperfüzyon

MDA: malondialdehit

MIP: majör intrinsik protein

mRNA: mesajcı Ribonükleikasit

miRNA: mikro Ribonükleikasit

Nrf 2: Nükleer faktör eritroit 2 ile ilişkili faktör 2

RNA: Ribonükleik asit

SD: Sprague-Dawley

SOR: serbest oksijen radikalleri

TNF-α: Tümör nekroz faktör α

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sıçanlarda Deneysel Böbrek İskemi-Reperfüzyonunda Naringin'in Aquaporin-1 ve Aquaporin-2 Düzeylerine Etkisi

Zübeyde DEMİR

Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2022

Böbrek iskemi reperfüzyonu ciddi bir sağlık problemine yol açabileceğinden dolayı bunun elektrolit su dengesinde oluşturabileceği olumsuz değişimleri önlemede aquaporinler önemli rollere sahiptir. Bu çalışmanın amacı deneysel böbrek-iskemi reperfüzyonunda naringin tedavisinin böbrek korteks ve medulla dokusundaki AQP 1 ve AQP 2 düzeylerine olan etkisini belirlemekti. Araştırma Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama merkezi ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen 8-12 haftalık 40 adet erkek Wistar tipi sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Deney grupları şu şekilde oluşturuldu; 1) Kontrol grubu, 2) Sham kontrol + Vehicle grubu, 3) Böbrek iskemi-reperfüzyonu (Renal İ+R) + Vehicle grubu, 4) Renal İ+R + Naringin (50 mg/kg/gün) grubu (3 gün uygulama), 5) Renal İ+R + Naringin (100 mg/kg/gün) grubu (3 gün uygulama) grubu.

İskemi reperfüzyon gruplarında sol böbreklerde nefrektomi sağ böbreklerde ise 45 dakika iskemi ve takiben 72 saat reperfüzyon gerçekleştirildi. Naringin reperfüzyonun hemen başında, 24 saat sonra ve 48 saat sonra intraperitoneal yolla deney hayvanlarına verildi. Deneylerin bitiminde genel anestezi altındaki hayvanlarda öncelikle kalpten kan alındıktan sonra servikal dislokasyonla hayvanlar öldürülerek böbrek doku örnekleri alındı. İdrar osmolarite, kan osmolarite, üre ve kreatinin yönünden böbrek dokuları da AQP 1 ve AQP 2 yönünden Elisa ve PCR yöntemleri ile değerlendirildi.

Böbrek dokularında iskemi plazma ve idrar osmolaritesi ile AQP 1 ve 2 seviyeleri önemli şekilde düşerken plazma üre ve kreatinin seviyeleri ise önemli oranda artış gösterdi. Ancak naringin takviyesi meydana gelen bozulmaları belirli oranda düzeltti.

Çalışmanın sonuçları naringinin sıçanlarda tek taraflı nefrektomi ve İ/R ile oluşan böbrek fonksiyonundaki bozulmalar üzerinde koruyucu etkilere sahip olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: AQP 1, AQP 2, Böbrek İ/R, Kreatinin, Naringin, , Sıçan, Üre

SUMMARY

REPUBLIC OFTURKEY
SELCUK UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

Effect of Naringin on Aquaporin-1 and Aquaporin-2 Levels in Experimental Kidney Ischemia-Reperfusion in Rats

Zübeyde DEMİR

Department of Medical Physiology

Master Thesis / KONYA-2022

Since renal ischemia reperfusion can lead to a serious health problem, aquaporins have important roles in preventing negative changes in electrolyte-water balance. The aim of this study was to determine the effect of naringin treatment on AQP1 and AQP2 levels in renal cortex and medulla tissue in experimental kidney-ischemia reperfusion. The study was carried out on 40 male Wistar type rats, 8-12 weeks old, obtained from Selçuk University Experimental Animals Research and Application Center and Necmettin Erbakan University Experimental Animals Research and Application Center. Experimental groups were formed as follows; 1) Control group, 2) Sham control + Vehicle group, 3) Renal ischemia-reperfusion (Renal İ+R) + Vehicle group, 4) Renal İ+R + Naringin (50 mg/kg/day) group (3 days of administration), 5) Renal I+R + Naringin (100 mg/kg/day) group (3 days application) group.

Nephrectomy in the left kidneys and 45 minutes ischemia in the right kidneys and followed by 72 hours of reperfusion. Naringin was given to the experimental animals by intraperitoneal route at the beginning of the reperfusion, after 24 hours and 48 hours. At the end of the experiments, first of all, blood was taken from the heart in animals under general anesthesia, and then the animals were killed by cervical dislocation and kidney tissue samples were taken. Blood was evaluated in terms of osmolarity, urea and creatinine, urine osmolarity and kidney tissues were evaluated in terms of AQP1 and 2 by Elisa and PCR methods.

In kidney tissues, ischemia led to reduced to plasma and urinary osmolality and AQP 1 and 2 levels, while plasma urea and creatinine levels increased significantly. However, naringin supplementation corrected the deterioration to a certain extent.

The results of the study show that naringin may have protective effects on the deterioration of renal function caused by unilateral nephrectomy and I/R in rats.

Keywords: AQP 1, AQP 2, Creatinine, Kidney I/R, Naringin, Rat, Urea

1.GİRİŞ

1.1. İskemi Reperfüzyon

İskemi reperfüzyon (IR) hasarı geçici iskemik organlarda reperfüzyon sonrasında doku hasarında anormal artış olarak tanımlanabilmektedir (Lerink ve ark 2022).

Böbreklerde uygulanan iskemi geçici olarak böbreğe oksijen ve besin geçişini kesmektedir. İskeminin başlamasıyla bu süreç hücresel ve moleküler tübüler epitel hücrelerinde vücuda zararlı cevabı başlatır (Wei ve ark 2019).

IR hasarı serbest oksijen radikallerinin (SOR) ortaya çıkmasına neden olan etmenler arasında yer almaktadır (Lobo ve ark 2010). SOR iskemi reperfüzyon (IR) sırasında patofizyolojik doku değişikliklerinde rol oynayan önemli bileşenler olarak kabul edilmektedir (Sener ve ark 2002).

Renal iskemi reperfüzyon hasarı akut böbrek yetmezliğinin (ABY) sebeplerinin başında gelmektedir (Wei ve ark 2019). ABY tanısı konulurken serum kreatinin düzeylerinin önceden belirlenen eşik değerleri kullanılmaktadır. IR hasarı tanısı konulurken bundan farklı olarak eşik değerler kullanılmamaktadır (Lerink ve ark 2022).

Renal IR böbrek tübüllerinde, glomerülde, renal kan damarlarında veya interstisyumunda doğrudan bozulmaya sebep olmaktadır. IR kaynaklı bu hasarlar interlökin 6 (IL-6), tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) gibi biyomarkerların analizlerinde değerlerinde bozulma göstermektedir. Metaloproteinaz-2, nötrofil jelatinaz bağlantılı lipokalin, kan üre azotu (BUN), kreatinin krilensi, serum kreatinin seviyelerinde iskemi kaynaklı bozulmalar oluşmaktadır (Beker ve ark 2018, Shiva ve ark 2020).

Yapılan bir sistemik derleme çalışmasında 35 çalışma değerlendirilmiştir. IR hasarı 14 çalışmada sol böbrek bağlanarak, 11 çalışmada 2 taraflı bağlama yöntemi ile 5 çalışmada iskemi öncesi tek taraflı nefrektomi uygulanarak 1 çalışmada ise geçici kardiyak arrest nedeniyle oluşmuştur. Dört çalışmada ise böbrek transplantasyon uygulamalı IR modeli uygulanmıştır (Lerink ve ark 2022).

IR hasarı tek taraflı fonksiyonel bağlama yöntemi ile oluşturabilmektedir (Lerink ve ark 2022). Renal arterlerin tek taraflı bağlanması böbreklerin renal arterlerinin kan akışını engellemektedir. Bu metot kontralateral böbreğin zarar görmemesi üzerine yola çıkarak ortaya konulmuştur. ABY durumunda hastalığın ilerlemesi halinde hasarın tek böbrekte olması canlıya daha uzun yaşam sağlayabilmektedir (Zager ve ark 2011).

İskemi tek taraflı bağlama yöntemi kullanılarak uygulandığında değerlendirme yapılırken sağlıklı böbreğin sonuçlara etki etmemesi için anestezi altında deney hayvanlarında üreter kateterizasyonu kullanılmaktadır. Bu yöntem hasar görmüş böbreğin fonksiyonel parametrelerinin ölçümünü kolaylaştırmaktadır (Kim ve Padanilam 2015).

İskemi öncesi oluşturulan tek taraflı nefrektomi böbrekteki fonksiyonel bozulma ve yapısal hasarı azaltıcı düzenlemeyi uyarıcı etki gösterebilmektedir. Nefrektomi iskemik toleransı artırıcı faktör olabilmektedir (Kierulf-Lassen ve ark 2017).

Renal arterlerin çift taraflı bağlanması hayvanın iskemiye girişinde sıklıkla kullanılan yöntemlerdendir. İskemi esnasında bozulan kan akışı böbrek hasarına yol açmaktadır ve ABY patofizyolojik durumu ile bağlantılı olduğu bildirilmektedir (Fu ve ark 2018, Shiva ve ark 2020).

Erkek fareler üzerinde yapılan çalışmada çift taraflı bağlama yöntemiyle oluşturulan iskemide tek taraflı bağlama ile yapılana kıyasla BUN seviyelerinde artış daha fazla ölçülmektedir. Çift taraflı bağlama yöntemiyle oluşturulan iskemide böbrek dokularında oluşan hasar düzeyi daha yüksektir (Wang ve ark 2012).

Farelerde yapılan bir çalışmada sağ böbrekte nefrektomi, sol böbrekte iskemi (20, 22, 24 dakikalık) oluşturulmuştur. İskemi süresi arttıkça nekrotik tübül oranı artmaktadır. Çalışmada reperfüzyondan 7 gün sonra değerlendirildiğinde sağlıklı iyileşen tübüller artmış, hasarlı tübüller azalmıştır (Hesketh ve ark 2014).

İskeminin etkisi genellikle hasardan sonra 24 saat 14 gün arasında gözlemlenebilmektedir (Kim ve Padanilam 2015).

IR hasarı oluşturulan çalışmada iskemi sonrası böbrek fonksiyonu üzerine IL-33’ ün etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada IR hasarı sağ renal arter bağlanarak

yürütülmüştür. Bağlamada travmatik olmayan mikroanevrizma kullanılmış ve 30 dakika iskemi uygulanmıştır. Karşı taraftaki böbreğe 5 gün sonra nefrektomi uygulanmış ve 14 gün sonra tüm hayvanlar sakrifiye edilmiş ve renal fizyolojik parametreler değerlendirilmiştir. İskemi sonrası IL-33 seviyeleri ve renal fibrozise sebebiyette önemli rol oynadığı gözlemlenmiştir (Liang ve ark 2017).

Sprague-Dawley (SD) erkek ratlarda renal arterlere 45 dakika iskemi ve ardından 24 saatlik reperfüzyon uygulanmıştır. Bu uygulama esnasında aniden artan BUN, serum kreatinin seviyeleri görülmüştür. Aynı zamanda ratların böbreklerinde tübüler dilatasyon, artan nekroz dereceleri gibi çokça tübüler hasar değerlendirilmiştir. Çalışmada ayrıca hasardan 1 hafta sonra böbrek dokusunda proinflamatuar sitokinlerin (TNF-α, IL-1 β, IL-6, IL-10), oksidatif stres (miyeloperoksidaz) belirteçlerinin, nötrofillerin ve kemokinlerin seviyelerinin arttığı bulunmuştur (Nemoto ve ark 2001).

Başka bir çalışmada IR hasarı ile TNF-α ve IL-6 düzeylerinde aşırı derecede artış olduğu değerlendirilmiştir. Eritropoetin eklenmesi proinflamatuar sitokinlerin düzeyini azaltıcı etki göstermiştir (Ren ve ark 2018).

Selektin ligantı renal iskemi reperfüzyon hasarında patofizyolojik ve potansiyel teropötik rol oynadığından küçük moleküllü selektin ligantını baskılamak için çalışmada ratlara selektin ligantı antagonisti tedavisi uygulanmıştır. Ratlarda yapılan çalışmada sol böbrek nefrektomi sağ böbrek 30 dakikalık ılımlı iskemi veya 45 dakikalık ağır iskemi mikrovasküler bağlama yöntemi uygulanmıştır. İskemi sonrası tedavi uygulanan grupta serum kreatinin düzeyleri tedavi uygulanmayan grupla aynı değerleri vermiştir. Ağır iskemi uygulanan grupta iskemi öncesi tedavi uygulaması serum kreatinin düzeylerine etki etmemiştir. P selektin ve e selektin antikoru verilen grupta ise serum kreatinin düzeyleri iskemi grubuna göre çok düşük düzeylerde bulunmuştur (Nemoto ve ark 2001).

32 Wistar tipi erkek rat üzerinde yapılan çalışmada sol böbrekte 37 dakikalık renal arter bağlanarak iskemi oluşturulmuştur. İskemi ve nefrektomi yapılan grupta plazma üre ve kreatinin düzeylerinde tek taraflı iskemi uygulanan gruba göre daha yüksek değerler kaydedilmiştir. Sağ böbrek nefrektomi ve sol böbrek iskemi reperfüzyon uygulanan grupta renal histopatolojik hasarlardan epitel nekroz, tübüler genişleme, epitel hücre azalması, medullar hasar gibi parametreler tek taraflı iskemi yapılan gruba kıyasla daha az düzeyde ölçülmüştür (Kierulf-Lassen ve ark 2017).

Ratlar üzerinde yapılan çalışmaya göre IR ile renal hasarın histopatolojik değerlendirilmesinde tübüler hücrenin şişmesi, interstiyal ödem, tübüler dilatasyon, epitel nekroz gibi parametreler artmaktadır (Singh ve Chopra 2004).

Renal IR uygulanan erkek ratlarda 45 dakikalık iskemi sonrası BUN, serum kreatinin düzeyleri reperfüzyondan 2, 4, 6, 24 saat ve 1 hafta sonra ölçülmüştür. İskemi uygulanan gruptaki ratların 24 saate kadar BUN ve serum kreatinin seviyeleri artış göstermiş ve 1 hafta sonraki ölçümde bu değerler azalmıştır (Williams ve ark 1997).

IR hasarı oluşturulan ratlarda melatonin tedavisi uygulandığında glutatyon, miyeloperoksidaz, protein oksidasyonu seviyelerinde daha az artış ölçülmüştür (Sener ve ark 2002).

Erkek ratlar üzerinde uygulanan çalışmada kontrol, sham, IR, IR sonrası askorbik asit tedavisi uygulanan grup olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Askorbik asit tedavisi yapılan grubun BUN ve serum kreatinin düzeyleri kontrol ve sham grubunun sonuçlarına yakınken, IR grubunun BUN ve serum kreatinin seviyeleri yüksek olarak ölçülmüştür (Korkmaz ve Kolankaya 2009).

30 rat ile yapılan çalışmada IR hasarı ile üst düzeyde böbrek hasarı oluştuğu skor değerlendirmesiyle ortaya konulmuştur (Yang ve ark 2021).

1.2. Antioksidanlar ve Oksidatif Stres

Antioksidan terimi aslen oksijen tüketimini önleyici kimyasal özelliğiyle kullanılmasıyla anılmaktadır. 19. yüzyılın sonları ve 20. yüzyılın başlarında antioksidanların endüstriyel süreçlerdeki önemi hakkında geniş kapsamlı bir çalışma gerçekleştirilmiştir (Mattill 1947, Lobo ve ark 2010).

Antioksidanlar savunma sisteminde farklı düzeylerde rol oynayan, önleyici, onarıcı, yenileştirici, radikal yakalayıcı ve koruyucu gibi adaptasyonlara sahip olmaktadırlar (Lobo ve ark 2010).

Antioksidanlar SOR için elektron kaynağı olur ve nötralize olmasını sağlayarak SOR' un zarar verme kapasitesini azaltıcı bir molekül olarak görev yapmaktadır. Antioksidanların bazıları normal metabolizmada üretilmektedir. Glutatyon, ubikinol, ürik asit bu antioksidanlardan bazılarıdır. Diğer antioksidanlar ise diyette aldığımız besinlerden sağlanmaktadır (Cadenas ve Packer 2002, Lobo ve ark 2010).

Serbest radikaller ve SOR insan vücudundaki normal temel metabolik süreçlerden elde edilmektedir. Serbest radikallerin dış kaynakları ise X-ray ışınları, ozon, sigara dumanı, hava kirlilikleri, endüstriyel kimyasallar olarak örneklendirilebilmektedir (Lobo ve ark 2010).

Oksidatif stres, SOR ve antioksidan koruma sistemi arasındaki dengesizliğin artması sonucu ortaya çıkan durumdur. Lipitler, proteinler, nükleik asitler gibi molekül türlerinin hasara uğraması oksidatif stresle bağlantılı olmaktadır (McCord 2000).

Uzun süreli oksidatif strese maruziyetle oluşan SOR hücre hasarına sebep olmakta ve hücre sinyal yolaklarına etki etmektedir (Poli ve ark 2004).

Antioksidanlar serbest radikalleri doğrudan uzaklaştırabildikleri ve biyolojik alanda maksimum koruma sağlayabildikleri için önem taşımaktadırlar (Valko ve ark 2006, Mirończuk-Chodakowska ve ark 2018).

Organizmanın hayatta kalması ve sağlığının devamı için gerekli olan antioksidanların aktivite seviyeleri ve hücre içi düzeyleri arasında bir denge olmalıdır (Matés ve ark 1999).

Antioksidan savunma sistemi vücutta redoks homeostazının kurulmasında etkileşime giren endojen (enzimatik ve enzimatik olmayan) ve ekzojen (diyet) antioksidanları içermektedir (Mirończuk-Chodakowska ve ark 2018).

Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin etkisi enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanların antioksidan etkisi tarafından dengelenir (Matés ve ark 1999).

En etkili enzimatik antioksidanlar superoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidazdır (Matés ve ark 1999, Jeeva ve ark 2015, Mirończuk-Chodakowska ve ark 2018). Bu antioksidan etkili enzimler hidrojen peroksiti nötralize eder su ve oksijen molekülü ortaya çıkar (Mirończuk-Chodakowska ve ark 2018).

Enzimatik olmayan antioksidanlar C vitamini, E vitamini, karotenoidler, tiyol antioksidanlar (glutatyon, tioredoksin ve lipoik asit), doğal flavonoidler, epifiz bezinin hormonal ürünü melatonin ve diğer bileşikleri içermektedir (McCall ve Frei 1999, Lobo ve ark 2010).

Oksidasyon reaksiyonu vücudun sistemlerini korumada ve yaşam için hayati öneme sahiptir. Bunun yanında bu reaksiyon yıkıcı da olabilmektedir. Oksidasyon reaksiyonu hücreleri yok edebilen birçok reaksiyona yol açan serbest radikalleri üreten kimyasal bir madde değiştirme işlemidir (Kim ve ark 2015, Neha ve ark 2019).

Oksidatif stres SOR üretimi antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin aşırı SOR birikimi nedeniyle bozulması durumudur. Oksidatif stres lipit peroksidasyonundan kaynaklı hücre zarı hasarı, protein oksidasyonu nedeniyle protein yapısı ve işlevindeki değişiklikler ve deoksiribonükleik asit (DNA) yapısındaki hasar ile ilişkili olabilir (Dasuri ve ark 2013, Kim ve ark 2015).

Yapılan bir çalışmada ratlarda uygulanan serebral iskemi ile SOR seviyelerinde artış ve beyinde ödem oluşumu gözlenmiştir. Serebral IR ödem oranını artırmaktadır. Nöroprotektif ve antioksidatif etkisi sayesinde resveratrol tedavisi ödem artışını engelleyebilmektedir. IR ile artan oksidatif stres ve azalan aquaporin 4 (AQP 4) seviyeleri antioksidan olan resveratrol tedavisi ile korunmaya çalışılmaktadır (Li ve ark 2015).

Çalışmada IR ile beyin dokularında üst düzeyde nörolojik hasar oluştuğu ortaya çıkmıştır. İskemi ile nitrik oksit, kalsiyum ve lipit peroksidasyonu belirteci olan malondialdehit (MDA) seviyeleri önemli düzeyde artış göstermiştir (Bhattacharya ve ark 2013).

Renal iskemi tübüler lümende dilatasyon, renal tübüler epitelde yassılaşma, tübüllerin fırçamsı kenarlarında azalma, mikro hemoroji oluşumu özellikle reperfüzyonun 6. saatinde daha fazladır (Lai ve ark 2021).

IR hasarı böbreklerde inflamasyonu, immun reaksiyonu artırıcı etki göstermektedir. IR ile artan SOR mitokondriyal hasara sebep olmaktadır. Hücre içerisinde, hücre apoptozunu, otofaji ve hücre ölümünü tetikleyici etkenlerin artışı uyarılmaktadır. Bunlardan kaynaklı olarak böbreklerde yapısal hasar oluşumu, renal fonksiyonların azalması gibi problemler oluşmaktadır (Yang ve ark 2021).

Değerlendirilen çalışmaya göre renal IR hasarı oksidatif stres artışına sebep olmaktadır. SOR artışı Blc-2 ilişkili X proteini (Bax) seviyelerinin artması ve Bcl-2 seviyelerinin azalmasına sebep olmaktadır. Bu belirteçler apoptozu tetiklemektedirler. İnflamatuar faktörlerden TNF-α ve IL-1 β seviyeleri artış göstermektedir. Antioksidan

etken mitokondriyal biyogenezi tetikler oksidatif stresi azaltarak otofaji ve apoptozu tetikleyen etkenlerin değerlerini azaltabilmektedir (Ala ve ark 2022).

Wistar ratlarda yapılan çalışmada 45 dakika renal iskemi oluşturulmuştur. İskemiden kaynaklı oksidatif stres belirteçlerinden MDA seviyeleri artmıştır. Proinflamatuar sitokinlerden TNF-α ve IL-1 β hasar kaynaklı artmıştır. Bu etmenler tübüler epitelyumda nekroza sebep olmaktadır. Çalışmada IR sonrasında medullada %90, kortekste %80 oranında nekroz oluşumu görüntülenmiştir (Sánchez-Martínez ve ark 2020).

Ratlarda yapılan çalışmada IR ile MDA seviyeleri 3,5 katı kadarartış göstermiş ve antioksidan etkisi olan omega 3 verildiğinde bu değerde yarı yarıya azalma olmuştur (Ashtiyani ve ark 2012).

Esansiyel amino asit, alfa keto asit analoğu IR hasarına karşı böbrekleri koruyucu etki gösterebilmektedir. Esansiyel amino asit alfa keto asit analoğu böbrek hasarı belirteçlerinin, proinflamatuar sitokinlerin, oksidatif stres faktörlerinin azalmasını sağlayarak bu etkiyi gösterebilmektedir (Sánchez-Martínez ve ark 2020).

IR süperoksit dismutaz ve MDA seviyelerinde artışa sebep olmaktadır. İmmunohistokimyasal sonuçlara göre inflamatuar faktörler olan IL-4, IL- 6, IL-10 ve TNF-α düzeylerini IR hasarı önemli derecede yükseltmektedir. IR ile apoptoz ile ilişkili proteinleren Bax, kaspaz-3, Cyt-c yükselirken Bcl-2 seviyeleri azalmaktadır (Shan ve ark 2021).

1.2.1. Flavonoidler

Flavonoidler doğal ürünlerin önemli sınıflarından birini temsil etmektedir. Bitki sınıfında bulunan flavonoidler polifenolik yapıya sahip ikincil metabolitlerdir (Panche ve ark 2016). Fenolik bileşiklerin ve özellikle flavonoidlerin antioksidan kapasiteleri birçok kaynakta bildirilmektedir (Valko ve ark 2006).

Polifenolik bileşikler bitki metabolitlerinin en yaygın ve her yerde bulunabilen gruplarından birini oluşturmaktadır. Bu bileşikler insan diyetinin ayrılmaz bir parçasını temsil etmektedir (Rice-Evans ve ark 1996, Valko ve ark 2006). Flavonoidler büyük ölçüde meyvelerde, sebzelerde ve belirli içeceklerde bulunmaktadırlar (D Archivio ve ark 2007, Panche ve ark 2016).

Flavonoidlerin yaygın yapısal özelliği difenilpropan kısmıdır. Difenilpropan oksijenlenmiş heterosiklik oluşturan 3 karbon atomu ile bağlı 2 aromatik halkadan meydana gelmektedir (Rice-Evans ve ark 1996). Flavonoidlerin temel yapısı flavan esaslı 15 karbon atomu ile düzenlenen 3 halkalı bir oluşumdur (Dai ve Mumper 2010, Ballard ve Junior 2019).

Flavonoidler polifenollerin tek grubunu oluşturmaktadır. Flavonoidler 13 gruba ayrılabilmektedir ve 4000' den fazla tanımlı bileşeni bulunmaktadır (Valko ve ark 2006). Flavonoidler temel olarak 6 alt sınıfa ayrılmıştır. Bunlar flavonlar, flavonoller, flavanoller, flavanonlar, izoflavonlar ve antosiyaninler olarak isimlendirilmektedir. Bu alt grupların yapısal farklılıkları hidroksilasyon, metoksilasyon, prenilasyon, glikosilasyon yapısından dolayı oluşmaktadır (Dai ve Mumper 2010, Ballard ve Junior 2019).

Fenolik bileşiklerin ve özellikle flavonoidlerin antioksidan özellikleri ve insan sağlığı üzerinde yararlı etkileri bildirilmektedir. Flavonoidlerin kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve diğer patolojik bozuklukların tedavisinde ve önlenmesinde etkili olduğu üzerine çok sayıda çalışma sonucu bulunmaktadır (Valko ve ark 2006). Flavonoidlerin besinsel faydaları genellikle iyileşme potansiyeli ile bağlantılı olmaktadır. Polifenoller ve quarsetin gibi flavonoidlerin düzenli alımı mide, pankreas, akciğer, meme kanseri görülme oranlarının azalmasıyla bağlantılı olduğu bildirilmektedir. Bazı araştırmalarda flavonoidler ve özellikle quarsetin içeriği yüksek diyetin kan pıhtılaşmasını ve arterlerde tıkanıklığı engellemeye yardımcı olduğu ve felç ve kalpten ölüm riskini önemli derecede azalttığı belirtilmektedir (Damianaki ve ark 2000).

Antioksidanları temsil eden fenolik bileşikler serbest radikal zincirlerinin sonlandırıcısı ve lipit peroksidasyonunu katalize edebilen aktif redoks metal iyonlarının şelatörleri olarak işlev gösterebilmektedir (Schroeter ve ark 2002).

Flavonoidlerin in vivo ve in vitro koşullardaki biyolojik aktivitesini etkileyen anahtar faktörler yapısı, kapsamı ve hidroksil gruplarının sayısı ve yerleşimidir (Schroeter ve ark 2002).

Erkek ratlar üzerinde yapılan çalışmada 45 dakika renal iskemi uygulanmıştır. Biyoflavonoid karışımı olan flavangenol (30 mg/kg) tedavisi uygulanan ratlarda

iskemi kaynaklı oluşan tübüler nekrozda iyileşme azalma gözlenmiştir (Ohkita ve ark 2005).

1.2.2. Flavanonlar

Flavonoidlerin bir çeşidi olan flavanonlar ayrıca dihidroflavonlar olarak adlandırılmaktadırlar. Flavanonlar doymuş karbon halkasına sahiptirler. Flavanonları flavonlardan yapısal olarak ayıran farklılık 2 ve 3 sayılı karbonları arasındaki çift bağın doyurulmuş olmasıdır (Panche ve ark 2016).

Flavanonlar genellikle tüm turunçgillerin içerisinde bulunmaktadır. Limon, portakal, üzüm flavanonları içeren meyvelerden bazılarıdır (Panche ve ark 2016). Flavanonlar ayrıca domateste ve nane gibi aromatik bitkilerde bulunmaktadır (D Archivio ve ark 2007).

Flavanonların alt sınıflandırmasında hesperidin, naringin, naringenin, eriyodiktiyol, hesperidin bulunmaktadır. Flavononlar serbest radikalleri uzaklaştırma özellikleri sayesinde sağlığa faydalı olarak ilişkilendirilmektedir (Panche ve ark 2016).

Turunçgillerdeki flavonoidler antioksidan, anti inflamatuar, kan lipit düşürücü, kolesterol düşürücü faktör gibi ilgi çekici farmakolojik etkiler ortaya koyabilmektedir (Panche ve ark 2016).

1.2.3. Naringin

4’, 5, 7-trihidroksiflavanon-7-raminoglikozit olarak da bilinen Naringin (C_{27} H_{32} O_{14}) önemli bir flavonoiddir (Hsiu ve ark 2002, Zhou ve ark 2019). Naringin bir flavanon glikozitidir. Naringin bir flavanon çeşidi olan naringenin ve disakkarit neohesperidozdan oluşmaktadır (Chen ve ark 2016). Naringenin, naringinin aglikonu ve metabolitidir (Hsiu ve ark 2002).

Naringin dihidroflavanon olarak da sınıflandırılmaktadır. Naringin birçok turunçgilde yüksek miktarda bulunmaktadır. Turunçgillerden elde edilen meyve sularındaki acı tadın esas kaynağı naringin olduğu bildirilmektedir (Rice-Evans ve ark 1996, Hsiu ve ark 2002, Chtourou ve ark 2015, Shi ve ark 2019). Turunçgillerin yanı sıra üzüm, domates de naringin kaynaklarındandır (Park ve ark 2018, Zhou ve ark 2019).

Naringin antioksidan bir bileşendir (Rice-Evans ve ark 1996, Shi ve ark 2019). Naringinin antiinflamatuar, antiulser, süperoksit uzaklaştırıcı ve antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir (Hsiu ve ark 2002). Naringinin antioksidan etkisi sayesinde kalp, böbrek, akciğer gibi organların korunmasını sağlamaktadır (Park ve ark 2018, Amini ve ark 2019, Zhou ve ark 2019).

Biyoflavonoid olan naringin oksidatif stresi inhibe etme özelliğine sahiptir. Lipit peroksidasyonunu azaltıcı etki gösterir ve antioksidan aktiviteyi uyarmaktadır. Glutatyon, katalaz aktivitesinin artırılmasında rol oynamaktadır (Chen ve ark 2020).

Naringinin birçok biyolojik aktivitede rol aldığı bilinmektedir. Antioksidan, antiradikal ajan, antilipit peroksidasyon aktivitesi, antiinflamatuar ve antimutajenik etki, tümör oluşumunun engellenmesi, tümör hücresinin proliferasyonunu (üreme) baskılama naringinin biyolojik aktivitelerine örnek olarak verilmektedir (Chtourou ve ark 2015).

Farklı nedenlerle hasar gören dokularda oksidatif stres artmaktadır. Hasarla beraber oluşan SOR yakalama ve azaltma özelliği gösteren naringinin antioksidan aktivitesi birçok deneysel çalışmada gösterilmektedir. Yapılan çalışmalarda naringin tedavisinin kalp, akciğer, böbrek dokularının iyileşmesi üzerine önemli etkisi olduğu sunulmaktadır (Park ve ark 2018, Amini ve ark 2019, Zhou ve ark 2019). İskemi kaynaklı beyin ve kalp dokularında gerçekleşen hasara karşı naringin tedavisinin etkili olabileceği sonuçlar elde edilmektedir. Naringin oksidatif stres kaynaklı inflamasyon faktörlerini azaltıcı etki göstermekte ve dokuda iyileşme gözlemlenmektedir (Park ve ark 2018, Li ve ark 2021, Wang ve ark 2021).

İskemi hasarı ile üst düzeyde SOR oluşmakta ve apoptozisi tetiklenmektedir. Naringinin rolü serbest radikalleri ortadan kaldırarak sağlıklı yapıya dönmeyi sağlayabilmektir (Amini ve ark 2022). Naringin antioksidatif aktivitesi ile SOR oluşumunu bloke eder. Oksidatif stresi engelleyen bu etki TNF-α oluşumunu ve aktivasyonunu engellemektedir (Alam ve ark 2014).

Naringin ön tedavisi uygulanan çalışmada IR naringin (100 mg/kg) uygulaması IR hasarını takiben artan miyokardiyal enzimlerin salınım seviyelerinin azalmasını sağlamıştır. Naringin tedavisi kardiyoprotektif etki göstermiştir. IR ile bozulan miyokardiyal yapıyı naringin tedavisi önemli seviyelerde iyileştirici etki göstermiştir (Li ve ark 2021).

Reperfüzyondan 6 saat sonra IL-6 ve MIP-2 proinflamatuar genlerinin mesajcı ribonükleikasit (mRNA) seviyeleri yükselmiştir. Endoplazmik retikulumun stresle ilişkili genlerinin mRNA düzeyleri artmıştır. IR ile endoplazmik retikulumda oluşan stres apoptoz ve inflamasyon seviyelerini artırmaktadır (Lai ve ark 2021).

SD ratlar üzerinde yapılan çalışmada H_2O_2 uygulaması nedeniyle hasar oluşturulmuştur. Oksidatif stresten kaynaklı olarak SOR aşırı derece artış göstermiş, mitokondriler zarar görmüş ve adenozintrifosfat (ATP) düzeylerinde azalma olduğu ölçülmüştür. Naringin tedavisi mitokondriyal hasarı azaltarak ATP seviyelerinde artış sağlamıştır (Nan ve ark 2020).

IR hasarı hücrelerde inflamasyona sebep olmaktadır. İnflamasyonun akut faz reaksiyonununda tümör nekroz faktörü (TNF-α), IL-8, IL-10 gibi sitokinler artmaktadır. Çalışmada uygulanmış olan naringin tedavisi bu değerleri azaltmış ve naringin dozu yükseldikçe sonuç daha da iyileşmiştir. Naringin tedavisinin oksidatif stresi inhibe edebileceği sonuçları elde edilmiştir (Wang ve ark 2021).

Nükleer faktör eritroit 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf-2) hücrelerdeki antiinflamatuar mekanizmalarda ve antioksidan ürünlerin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Naringin tarafından Nrf-2 aktivitesi uyarılarak dejeneratif hastalıkların tedavisindeki antiinflamatuar mekanizmada rol almaktadır (Alam ve ark 2014).

Wistar tipi ratlar kullanılan çalışmada Nrf-2 aktivasyonu proinflamatuar mediatörlerin ekspresyonu azalmakta etki gösterdiği ve naringin tedavisi ile uyarılarak TNF-α, siklooksigenaz-2 sentezini azaltıcı etken olabildiği bildirilmiştir. Naringin tedavisi nitrit, hidroksil radikalleri, hidroperoksit düzeylerini azaltıcı etki göstermiştir (Gopinath ve Sudhandiran 2012).

Renal IR hasarı sonrasında naringin yönetiminde böbrekte Nrf-2 mRNA ekspresyonu artmaktadır. Nrf-2 SOR gibi stres faktörlerine karşı hücreyi korumada görevlendirilmiş faktör olarak adlandırılmaktadır. Nrf-2 aktivasyonu ile antioksidan enzimler artar ve SOR karşı hücreyi koruyucu etki göstererek oksidatif stresin azalması sağlanır (Amini ve ark 2022). SOR seviyelerinin azalması lipit peroksidasyonunun azalmasını, DNA hasarının engellenmesini, plazma MikroRNA-10a (miRNA-10a) seviyesinin azalmasını sağlamaktadır (Amini ve ark 2019).

Çalışmada renal IR hasarı önemli düzeyde Nrf-2 ekspresyonunu azaltmıştır. Naringin (100 mg/kg) tedavisi böbrekteki Nrf-2 ekspresyonunu uyararak antioksidan aktivite, toplam antioksidan kapasiteyi artırıcı etki göstermiştir. Ancak trimetazidin ile birlikte uyulandığında verimlilikleri daha iyi düzeyde saptanmıştır (Amini ve ark 2019).

Böbrek dokularına özel mikroRNA, miRNA-10a olarak tanımlanmaktadır. IR hasarı ile böbrek dokularında miRNA-10a seviyeleri artmaktadır. Hücrelerde oluşan oksidatif stresi takiben miRNA-10a düzeyi artar (Amini ve ark 2022). İskeminin şiddeti arttıkça miRNA-10a düzeyi de artış göstermektedir (Wang ve ark 2012). Antioksidan etki ile SOR seviyelerindeki azalma miRNA-10a düzeyini azaltabilmektedir (Amini ve ark 2019).

Naringin IR hasarı ile uyarılan Nükleer faktör κβ seviyesinde azalmayı uyararak proinflamatuar sitokinlerden olan TNF-α, IL-6, IL-1 β seviyelerinin azalmasını, apoptoz ile ilişkili olan Bax, kaspaz-3 seviyelerinin azalmasını sağlayabilmektedir. Bu faktörleri etkileyerek apoptozu ve inflamasyonu azaltabilmektedir (Amini ve ark 2022).

Erkek SD ratları üzerinde yapılan çalışmada diyabetik ratlar oluşturulmuş ve bu ratlarda renal hasar ortaya çıkmıştır. Farklı seviyede naringin tedavisi ile SOR seviyelerinde azalma bulunmuştur (Chen ve ark 2015).

Wistar tipi 72 erkek ratta uygulanan çalışmada yüksek yağlı diyet uygulanarak ratlarda tip 2 diyabet ve dislipidemi tablosu oluşturulmuştur. Diyabette anormal inflamatuar sitokinlerin ve SOR artışı gözlemlenmektedir. Uygulanan naringin sayesinde inflamatuar sitokinlerin ve SOR seviyelerini azaltma ve hiperinsülinemi, hiperglisemi, dislipidemi tablolarını düzelme göstermiştir. TNF-α, IL-6 seviyelerinde azalma olmuştur (Sharma ve ark 2011).

Albino erkek ratlar üzerinde çalışma yapılmış. Ratlarda Tip 2 diyabet oluşturulmuş bir gruba hesperidin, bir gruba ise naringin tedavisi uygulanmış ve tedavi uygulanmayan grupla ve control grubuyla kıyaslanmış. Hesperidin ve naringin tedavisi uygulanan gruplarda kan şekeri parametrelerinde düzelme, TNF-α ve IL-6 seviyelerinde azalma, lipit peroksidasyonunda azalma gözlemlenmiştir (Mahmoud ve ark 2012).

7 haftalık 36 erkek rat ile uygulanan çalışmada ratlara tek taraflı üretral obstrüksiyon uygulanmış ve 3 farklı seviyede naringin tedavisi yapılarak değerlendirilmiş. Hasarlı böbreklerden yüksek doz naringin uygulananların BUN ve serum kreatinin seviyeleri sham grubundakilere daha yakın bulunmuş ve renal interstial doku sham grubuna en yakın görüntü yüksek doz naringin uygulanan grupken naringin uygulanmayan hasarlı grupta bozulma üst düzeyde görüntülenmiştir (Wang ve ark 2021).

Orta yaşlı wistar tipi ratlarda yapılan çalışmada ratlar 2 gruba ayrılmış. Birinci grupta rastgele onar rat kontrol ve 25 mg/kg, 50mg/kg, 100 mg/kg naringin verilen olarak ayrılmış ve 2 gruba ise bu gruplandırmalara ek ratlara kemoterapötik ilaç olan cisplatin uygulanmış. Cisplatin serum üre, kreatinin, ürik asit seviyelerini yükseltirken uygulanan naringin seviyesi yükseldikçe bu düzeylerin azaldığı ölçülmüştür. Cisplatin renal hasar, oksidasyon, SOR, nitrit, TNF-α seviyelerini artırıken antioksidan seviyelerini azaltmaktadır. Bu hasarlı canlılara uygulanan naringin seviyeleri arttıkça olumlu yönde değişim düzeyi artmaktadır (Chtourou ve ark 2016).

40 erkek rat ile yapılan çalışmada renal IR hasarı çift taraflı bağlama yöntemi ile oluşturulmuştur. Tedavi gruplarına naringin (100 mg/kg) ve trimetazidin uygulanmıştır. Naringin uygulanan grupla IR grubu karşılaştırıldığında BUN, kreatinin seviyeleri önemli düzeyde azalmış olarak bulunmuştur. Naringin ve Trimetazidinin birlikte uygulandığı grupta BUN ve kreatinin seviyelerinde iyileşme daha üst düzeyde ölçülmüştür. Naringinin antioksidan seviyesinin yüksek olması ile MDA düzeylerini azaltıcı etki gösterebilmektedir (Amini ve ark 2019).

IR ile MDA seviyeleri artmaktadır. Naringin tedavisi lipit peroksidasyonunu engellemektedir. IR ile azalan glutatyon, katalaz, süperoksit dismutaz seviyeleri naringinin etkisiyle yerine geri konulmuştur (Singh ve Chopra 2004).

Wistar tipi ratlar üzerinde beyin iskemisi uygulanan çalışmada naringin (50 mg/kg) tedavisi ile IR kaynaklı nörolojik skorda ve motor koordinasyonda iyileşme görülmüştür. Naringin (100 mg/kg) tedavisi ile iyileşme daha üst düzeydedir. Naringin tedavisi ile glutatyon katalaz aktivitesi düzelme göstermiş, lipit peroksidasyonu ve nitrit seviyeleri önemli düzeyde azalma kaydetmiştir (Gaur ve ark 2009).

Yapılan çalışmada histolojik değişiklikler değerlendirildiğinde naringin (50 mg/kg) tedavisinin beyin hücrelerindeki IR hasarını düzeltici etki göstermemiş ancak

naringin (100 mg/kg) beyin hücrelerini IR hasarından koruyucu etki göstermiştir (Gaur ve ark 2009).

Ratlarda serebral iskemi uygulanan çalışma sonuçlarına göre naringin serbest oksijen ve nitrojen radikallerini yakalayıp normal değerlere ulaştırıcı etki göstermektedir. IR hasarı ile zarar gören kan beyin bariyerinin bütünlüğünün, nörolojik davranışların korunmasında naringin tedavisi önemli rol oynamaktadır (Feng ve ark 2018).

Miyokardiyal iskemi modeli oluşturulan ratlarda IR kaynaklı inflamatuar yanıt ve oksidatif stres oluşmaktadır. Yükselen TNF-α, IL-6, MDA, süperoksit dismutaz seviyelerini naringin tedavisi azaltıcı etki göstermiştir (Liu ve ark 2022).

1.3. Aquaporinler

İlk olarak 1990' lı yıllarda kırmızı kan hücrelerinde su kanalları özellikli yapılar bulunmuştur (Hohmann ve ark 2000, Kruse ve ark 2006).

Aquaporinler küçük (24-30 kDa) porlar oluşturan integral membran protein ailesidir (Heymann ve Engel 1999, Hohmann ve ark 2000). Bu eski protein ailesi ilk olarak memelilerin lens liflerinde major intrinsik protein (MIP) olarak adlandırılmıştır (Hohmann ve ark 2000).

Hücrelere su girişi 1920 yılında hücre membranındaki çift katlı lipit tabakasından sağlandığı kabul edilmekteyken sonrasında hücre membranında protein yapılı bir su geçiş kanalları olduğu bulunmuştur (Agre 2004).

MIP homologları su kanalı benzeri fonksiyon gösterdiği için bu aileye 'aquaporin' terimi uygun bulunmuştur (Kruse ve ark 2006). Aquaporinler biyolojik membrandan suyun ve bazı anaelektrolitlerin taşınmasına aracılık eden canlı organizmalardaki kanal proteinleridir (Agre 2004, Tesse ve ark 2018).

Aquaporin ailesi, arke, öbakteri, mantar, bitkiler ve hayvanları içeren bir grubu temsil etmektedir. Bu canlı organizmalarda aquaporinler bulunmaktadır (Kruse ve ark 2006).

Memeli canlılarda 13 farklı aquaporin bulunmaktadır. Bunlar aquaporin 0 (AQP 0), aquaporin 1, aquaporin 2, aquaporin 3, aquaporin 4, aquaporin 5, aquaporin

6, aquaporin 7, aquaporin 8, aquaporin 9, aquaporin 10, aquaporin 11, aquaporin 12 olarak adlandırılmıştır (Ishibashi ve ark 2009).

Aquaporinler geçirgenlik yapılarına göre sınıflandırılmaktadır. Su, gliserol geçirebilme özelliği olan aquaporinler gibi ayrılır ve isimlendirilmektedirler (Kruse ve ark 2006). Memeli canlılarda bulunan aquaporinlerden AQP 0, AQP 1, AQP 2, AQP 4, AQP 5, AQP 6 ve AQP 8 ortodoks aquaporinler olarak adlandırılır ve sadece su geçişini sağlamaktadır. Aquagliseroporinler olarak gruplandırılan AQP 3, AQP 7, AQP 9 ve AQP 10 ise küçük nötr çözünenleri, suyu ve özellikle de gliserolü iletmektedirler. AQP 11 ve AQP 12 farklı oluşum yolakları ve taşıma özelliklerinden dolayı ortodoks olmayan aquaporinler olarak adlandırılmaktadırlar (Kruse ve ark 2006, Ishibashi ve ark 2009, Tesse ve ark 2018).

Aquaporin proteini 5 iplikle birbirine bağlanan 6 transmembran sarmal (heliks) yapıdan meydana gelmektedir. Sırasıyla harflendirilen bu ipliklerden A, C, E ipliği ekstrasellüler, B, D intrasellüler yapıdadırlar. Bu protein 2 art arda tekrarlayan ve karboksil ve amino uçları olan yarım protein yapı içermektedir (Kruse ve ark 2006).

AQP birçok epitel dokularda, endotel dokularda ve diğer dokularda su taşıyıcı proteinler olarak ifade edilmektedir (Verkman 2002). Aquaporinlerin su taşımanın yanı sıra osmoregülasyonu sağlamak da görevlerindendir. Bazı aquaporinler karbondioksit ve amonyak (NH_3) gibi gazların geçişine de yardımcı olmaktadırlar (Kruse ve ark 2006).

AQP 1 ve AQP 5 alveollerin endotel serisi ve epitel hücre bariyerlerinde osmoz ile su geçişi için başlıca yolakları sağlamaktadır (Verkman 2002). Akciğer sıvısının osmotik su geçirgenliği AQP 1 üzerinden gerçekleşmektedir. Ancak AQP1' in alveolar sıvı absorbsiyonunu durdurma üzerine etkisi yoktur. Alveolar sıvı absorbsiyonu çoğunlukla beta agonisti ve tip 2 hücre üst regülasyonu tarafından stimüle edilmektedir (Bai ve ark 1999, Verkman 2002).

Böbreklerde en az 6 farklı aquaporin su kanallarının varlığından söz edilmektedir. Özellikle bunlardan dördü renal fonksiyonlar için önemli rol oynamaktadır (Verkman ve Mitra 2000). Bunlar AQP 1, AQP 2, AQP 3, AQP 4 olarak isimlendirilen aquaporinlerdir. AQP 1 böbreklerin proksimal tübüllerinde ve inen henle kulbunun epitelinde, AQP 2 idrar toplama kanallarının ana hürelerinde, AQP 3

ve AQP 4 epitel hücrelerin toplama kanallarının bazolateral membranında ortak olarak bulunmaktadır (Verkman ve Mitra 2000, Verkman 2002).

1.3.1. Aquaporin 1 (AQP 1)

İlk su kanalı benzeri fonksiyon gösteren protein yapılı porların keşfedilip aquaporin olarak adlandırılmıştır. Bu keşfedilen proteinler şimdi Aquaporin 1 olarak bildiğimiz yapılardır (Hohmann ve ark 2000).

AQP 1, beyinin mikrovasküler endotel tabakasının dış katmanı boyunca, böbrek mikrodamarlarında, akciğer ve hava yollarında, salgı bezlerinde, iskelet kasında, plevra ve peritonda bulunduğu birçok kaynakta ifade edilmektedir (Verkman 2002).

AQP 1 böbreklerin proksimal tübüllerinde bulunmaktadır. Epitel hücrelerin apikal ve bazolateral membranlarına yerleşmiştir (Nielsen ve ark 1993, Takata ve ark 2004). AQP 1 incelenen rat böbreklerinde inen henle kulbunun epitelinde de yerleşim gösterdiği bulunmuştur. AQP 1 inen henle kulbunun apikal ve bazolateral yüzeyine yerleşmiştir (Sabolic ve ark 1992). Böbreklerdeki bir başka yerleşim yerleri ise dış medullar inen vazarektanın mikrovasküler epiteli olarak bildirilmektedir (Verkman 2002).

AQP 1 kolaylaştırılmış karbondioksit (CO_2) taşıma sisteminin fizyolojik önemi tartışmalıdır. Böbrek ve akciğerlerde AQP 1 tarafından CO_2 taşıması gerçekleştiği bazı çalışmalarla desteklenmiştir (Fang ve ark 2002). AQP 1 renal suyun taşınmasında önemli rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra AQP 1 idrar oluşumu ve idrarın atılmasında görev almaktadır. Eksozomal bir aquaporin olan AQP 1 alınan suyun eksozoma geçişini sağlamaktadır (Oshikawa ve ark 2016).

35 erkek SD rat üzerinde uygulanan çalışmada nefrotoksit olan $HgCl_2$ ile böbrek hasarı oluşturulmuş ve tedavi gruplarına flavanol olan rutin (50 mg/kg, 100 mg/kg) uygulanmış. AQP 1 seviyeleri üst doz tedavi uygulanan grupta kontrol grubuna yakınken tedavi uygulanmayan hasarlı grupta çok düşük değerlerde bulunmuştur. Renal doku görüntülemelerinde tedavi gruplarında daha normale yakın sonuçlar elde edilmiştir. TNF-α, miyeloperoksidaz gibi inflamasyon paarmetreleri nefrotik hasarla beraber artış göstermiş ancak tedavi gruplarında önemli derecede değerlerde düşme olmuştur (Caglayan ve ark 2019).

Ratlarda oluşturulan IR hasarı çalışmasında reperfüzyondan 24 saat sonra AQP 1 proteininde yaklaşık %30 azalma ölçülmüştür. AQP 1 mRNA düzeyi reperfüzyondan 24 saat sonra yaklaşık %75 azalma göstermiştir. Glikojen sentaz kinaz 3 B (GSK3B) inhibitörü tedavisi uygulandığında otofajiyi uyarıcı etken oluşmakta AQP 1 aktivitesinin engellenmesinin önüne geçilmektedir. Diğer AQP düzeylerinde bu etkiyi gösterememektedir (Liu ve ark 2021).

SD erkek ratlarla yapılan çalışmada tek taraflı IR hasarı oluşturulmuştur. IR sonrası eksozomal AQP 1 seviyeleri önemli derecede azalmıştır. PCR ile değerlendirilen renal AQP 1 mRNA seviyeleri IR ile önemli derecede azalmıştır (Sonoda ve ark 2009).

Wistar erkek ratlarda yapılan çalışmada ratların spermatik kordonları ipek iplikle bağlanarak iskemi oluşturulmuştur. Testis dokuları reperfüzyondan 12, 24, 36, 48 saat ve 5 gün sonra operasyonla alınmış. AQP 1 mRNA düzeyleri ve AQP 1 protein seviyeleri 24. saatte en üst düzeyde bulunmuştur ve 36, 48 saat sonraki değerlendirmeler normale daha yakın olarak bulunmuştur. İskemi sonrasında ödem oluşumu gözlenmiş ve inflamatuar hücreler artmıştır. 5. gün değerlendirmesinde AQP 1 mRNA ve AQP 1 protein düzeyleri bazal seviyelere ulaşmış (Ablimit ve ark 2021).

Çalışmada 90 rata 30 dakikalık miyokardiyal iskemi sonrasında 120 dakikalık reperfüzyon uygulanmış. AQP 1 mRNA değerleri sham grubuna kıyasla IR grubunda 2 katı değerinde bulunmuştur. Sol ventriküldeki su oranı IR ile artış göstermiştir (Lin ve ark 2015).

Fareler üzerinde oluşturulan IR hasarı ile böbrek dokularında AQP 1 ekspresyonu ile bağlantılı mRNA düzeyleri azalmıştır (Fan ve ark 2021).

Çalışmada ratların genel anestezi altında renal arterleri bağlanarak 45 dakikalık iskemi oluşturulmuş ve ratlar reperfüzyon sonrasında 4 gün metabolik kafeslerde tutulmuş. 24 saatlik idrarları toplanıp değerlendirilen ratlarda IR grubunun idrar osmolalitesinde aşırı azalma gözlenirken plazma osmolalitesinde önemli bir fark gözlenmemiştir. İdrar sodyum düzeyleri IR grubunda düşüktür ama tedavi gruplarında normal düzeylere yakındır (Kang ve ark 2006).

Farelerde renal iskemi yapılan çalışmada iskemi ile AQP 1 ekspresyonu korteks ve medullada önemli düzeyde azalmıştır. Tübüler hücrelerin lüminal

bölgelerindeki AQP 1 immünohistokimyasal sinyallerinde azalma IR hasarı ile oluşmaktadır (Pasten ve ark 2019).

Ratlarda uygulanan IR hasarı sonrasında bakılan eksosomal AQP 1 seviyeleri azalmaktadır. Reperfüzyondan sonra gün geçtikçe artış gösteren bu değerler 21 gün sonra değerlendirme yapıldığında normal seviyelere ulaşmıştır (Asvapromtada ve ark 2018).

Ratlarda yapılan çalışmada IR AQP 1, AQP 2 ekspresyon seviyelerini kayda değer bir azalmaya sebep olurken antioksidan tedavisi değerleri iyileştirici etki göstermiştir (Park ve ark 2018).

1.3.2. Aquaporin 2 (AQP 2)

Aquaporin 2 idrar toplama kanallarında antidiüretik hormon tarafından düzenlenen aquaporinler olarak tanımlanmıştır (Fushimi ve ark 1993, Takata ve ark 2004). Toplayıcı kanalların iç medullalarının apikal membranında bulunmaktadır (Kristensen ve ark 2016).

Aquaporin 2 (AQP 2) temelde renal toplama kanallarında bulunmaktadır (Nielsen ve ark 1993). AQP 2 toplayıcı kanalların ana hücrelerinde, intrasellüler veziküler kısım ve hücre apikal membran arasında vazopressin giriş çıkışını düzenleyen bölgede yerleşim göstermektedir (Verkman 2002). Renal toplama kanallarında bulunan vazopressin tip 2 reseptörü vazopressin tarafından akvive edilmektedir. AQP 2 su geri emiliminin aşırı artması sonucu intrasellüler vezikülden apikal membrana hızla yer değiştirir. Bu akut yanıta ek olarak, vazopressin tip 2 reseptörünün aktivasyonu ana hücrelerde gelişmiş transkripsiyon yoluyla AQP 2 proteininin ekspresyonunu artırmaktadır. Su geri emilimi vazopressin tarafından düzenlenmektedir (Ikeda ve Matsuzaki 2015, Oshikawa ve ark 2016).

İlk idrardaki su AQP 2 aracılığıyla apikal membrana girer. Transsellüler yolla lümenden vasküler boşluğa geçer ve diğer aquaporinlerden AQP 3 ve AQP 4 aracılığıyla bazolateral membrandan çıkmaktadır. AQP 2 seviyesinin düşük olması idrar konsantrasyonunun düşük olmasına sebep olurken yüksek aquaporin 2 seviyeleri de birçok rahatsızlık riski oluşturabilmektedir (Agre 2004, Oshikawa ve ark 2016).

İskemi sonrasında idrar hacminde, idrar akışında ve glomerüler filtrasyon hızında azalma oluşmuştur. IR sonrası 24 saate kadar AQP 2 seviyeleri azalırken iskemi hasarında iyileşme ile AQP 2 seviyeleri de artış göstermiştir (Jung ve ark 2000).

SD erkek ratlar üzerinde yapılan çalışmada çift taraflı bağlama yöntemiyle iskemi oluşturulmuştur. Renal histoloji incelendiğinde renal IR sonrasında böbrek dokularında fibrozis geliştiği vurgulanmıştır. AQP 1 düzeyleri renal IR sonrası 3 ve 7. gün gruplarında önemli derecede azalmıştır. Özellikle 3. gün grubunda değerler çok düşüktür gün ilerledikçe değerlerde iyileşme gerçekleşmiştir. AQP 2 düzeylerinde 3. gün grubunda önemli derecede azalma görünürken 7. gün grubunda değerde iyileşme olup 21 ve 35. gün sonuçlarında tekrar azalmıştır (Asvapromtada ve ark 2018).

Ratlar üzerinde yapılan çalışmada tek böbrek nefrektomi uygulanmış diğer böbreğe de gruplarına göre IR hasarı oluşturulmuştur. IR hasarı oluşturulan grupta sham grubuna göre idrar hacminde artış gözlenmiş ancak idrar osmolalitesi azalmış olarak ölçülmüştür. Plazma kreatinin ve BUN düzeyleri IR grubunda yüksek ölçülmüş. AQP 1 proteinleri iskemi sonrası immunohistokimya sonuçlarının belgeleriyle nitelendirilmiştir. AQP 1 düzeyleri proksimal tübülün apikal plazma membranında görüntülenmiş ve IR grubundakilerin daha az değerde olduğu saptanmıştır. IR grubunda toplar kanalların apikal membranında AQP 2 düzeyleri kayda değer bir şekilde azalmıştır. Tübüllerde nekroz ve dilatasyon, inflamasyon oluşumu artmıştır (Kristensen ve ark 2016).

Ratlar üzerinde uygulanan çalışmada renal IR kaynaklı AQP 2 ve AQP 3 su kanallarının protein oranlarında aşırı derecede azalma gerçekleşmiştir (Shin ve ark 2011).

Rat böbreklerinin iç medullalarında IR sonrasında AQP 2 seviyeleri azalmıştır. Hücre zarında bulunan G protein bağlı reseptör (TGR5) antagonisti litokolik asit tedavisinin AQP 2 protein ekspresyonunda etkili olmuş ancak AQP 1 üzerinde etki göstermemiştir. Ancak bu tedavi AQP 2' nin mRNA seviyesinde değişiklik sağlamamıştır (Han ve ark 2021).

IR hasarı AQP 2 ekspresyon seviyelerinin azalmasına sebep olurken antioksidan tedavisi değerleri iyileştirici etki göstermiştir (Park ve ark 2018).

Erkek ratlara renal IR uygulanan çalışmada iskemi sonrası AQP 1 ve AQP 2 düzeylerinde azalma gözlenmiştir ancak bu azalma kortekse kıyasla medulla dokularında daha üst düzeydedir. α-lipoik asit tedavisi ile IR ile azalan AQP 2 düzeylerinde artış olduğu bulunmuştur (Bae ve ark 2008).

Çalışmada yetişkin erkek ratlarda renal arterlerin çift taraflı bağlanması ile 30 dakika iskemi sonrasında 3 günlük reperfüzyon oluşturlmuş. IR sonrasında tübüler dilatasyon, esas hücrelerin şişmesi AQP 2 düzeylerindeki azalmadan kaynaklı oluşmaktadır. AQP 2 düzeyleri reperfüzyon süresi arttıkça iyileşme gösterebilmektedir (Jin ve ark 2014).

Western Blot analizi ile iç medulla, dış medulla, korteks AQP 2 protein düzeyleri değerlendirilen çalışmada IR ile AQP 2 protein düzeylerinde aşırı azalma gözlemlenmiş, bu azalma medullada daha üst düzeyde ölçülmüştür (Kang ve ark 2006).

Yapılan çalışmada IR sonrasında böbrek dokularında AQP 2 ekspresyonu ile bağlantılı mRNA seviyeleri ve AQP 2 protein ekspresyonu azalmıştır (Fan ve ark 2021).

Bilateral iskemi uygulanan çalışmada immünohistokimyasal görüntülemelere göre toplama kanallarındaki AQP 2 kayda değer bir şekilde azalmıştır. Kantitatif real-time PCR görüntülemelerinde AQP 2 seviyesi en az IR grubunda en çok da sham grubunda bulunmuştur (Ren ve ark 2018). Organları koruma özelliği bilinen eritropoetin tedavisi IR hasarının AQP 2 düzeyleri üzerine etkisini kısıtlamaktadır (Toba ve ark 2012, Ren ve ark 2018).

1.4. İskemi Reperfüzyon ve Plazma Üre Kreatinin Düzeyleri

Serum kreatinin düzeyi IR hasarının fonksiyonel bir ölçüsüdür. Preklinik çalışmaların çoğunda reperfüzyon sonrası serum kreatinin seviyelerine bakılmaktadır (Lerink ve ark 2022).

19 Fisher rat üzerinde uygulanan çalışmada sol renal arter bağlanarak 45 dakikalık iskemi uygulanmıştır. Reperfüzyon sonrası 4. ve 24. saatlerde değerlendirmeler yapılmış. Kanda bakılan kreatinin değerleri kontrol grubuna kıyasla

4. saatte değerlendirilen grupta 3 katına yakın artarken 24. saatte değerlendirilen grupta 4 kat artış ölçülmüştür (Huang ve ark 2018).

20 wistar tipi rat üzerinde yapılan çalışmada 14 rata 40 dakikalık iskemi uygulanmış reperfüzyondan 48 saat sonra alınan örnekler incelenmiş. İskemi reperfüzyon sonrası serum kreatinin konsantrasyonu tüm hayvanlarda yükselmiştir. Bu duruma göre IR akut böbrek yetmezliğine sebep olduğu belirtilmiştir (Andrianova ve ark 2020).

Erişkin erkek ratlarda yapılan bir çalışmada iskemi reperfüzyon sonrası saat aralıklarıyla serum kreatinin ve BUN değerlerine bakılmış. İskemi uygulanan grupta BUN ve serum kreatinin düzeylerinde reperfüzyon sonrası 24. saate kadar düzenli artış ölçülmüştür. Sonrasında değerlerde gün gün azalma gözlenmiş ve özellikle serum kreatinin düzeyinde 2. gün keskin bir düşüş ölçülmüştür. Kontrol grubuna kıyasla 24. saatte 10 katına yakın artış gösteren değerler 4. günün sonunda kontrol grubunun değerlerine normal değerlere ulaşmıştır (Pan ve ark 2012).

Ratlarda yapılan çalışmada renal IR sonrası plazma üre ve kreatinin konsantrasyonu, değişiklik göstermiştir. Üre ve kreatinin düzeyleri reperfüzyondan 3 gün sonra ölçülen grupta çarpıcı bir şekilde artış göstermiştir. 8 ve 11. gün grupları sham grubuna yakın sonuçlar göstermiştir. Bu durum IR hasarının ABY ile bağlantılı olduğunu göstermektedir (Asvapromtada ve ark 2018).

Fareler üzerinde oluşturulan IR hasarı çalışmasında serum kreatinin ve BUN seviyeleri önemli derecede artış göstermiştir (Fan ve ark 2021). 34 fare üzerinde yapılan çalışmada IR grubundaki serum kreatinin seviyeleri kontrol grubuna kıyasla 6 kat daha fazla ölçülmüştür (Chihanga ve ark 2018). 6 haftalık dişi ratlarda renal IR sonrasında BUN ve kreatinin seviyelerinde kaydadeğer artış ortaya çıkmıştır (Lei ve ark 2017).

Farelerde yapılan çalışmada sağ böbrek nefrektomi, sol böbrek iskemi (20, 22, 24 dakikalık) oluşturulmuş. İskemi süresi arttıkça plazma kreatinin düzeyi, BUN seviyeleri artmaktadır. Reperfüzyondan sonra plazma kreatinin ve BUN seviyeleri değerlendirildiğinde ise süre uzadıkça sonuçlarda iyileşme artmaktadır (Hesketh ve ark 2014).

Çalışmada yapılan reperfüzyondan 2, 6, 12 saat sonra yapılan değerlendirmelerde 6. saatte değerlendirme yapılan grupta renal hasar, BUN, kreatinin düzeyleri daha yüksek ölçülmüştür (Lai ve ark 2021).

Plazma kreatinin ve üre nitrojen değerleri IR hasarlılarda daha yükselirken reperfüzyon sonrası süre uzadıkça değerlerde düşme gözlenmiştir (Sonoda ve ark 2009).

IR ile BUN ve kreatinin seviyelerinde yükselme reperfüzyon başlangıcına kıyasla 72 saat sonrasında daha fazla ölçülmüştür (Yang ve ark 2021).

Çalışmada IR sonrasında plazma kreatinin seviyesi %73, BUN seviyeleri %68 artış göstermiştir. Kök hücre tedavisi uygulaması kreatinin ve BUN düzeylerini azaltıcı etki göstermiştir (Hafazeh ve ark 2019). Yapılan bir başka çalışmada da kök hücre tedavisi ile böbrek hasarıyla yükselen plazma kreatinin ve BUN düzeyleri azalma göstermiştir (Changizi-Ashtiyani ve ark 2020).

IR kaynaklı plazma kreatinin düzeyleri ve plazma osmolalitesi artış göstermiştir. Litokonik asit tedavisi plazma kreatinin düzeylerini önemli seviyede azaltıcı tki gösterirken plazma osmolalitesi üzerine etkisi daha kısıtlıdır (Han ve ark 2021).

Erkek ratlar üzerinde yapılan çalışmada sağ böbrek nefrektomisinden 2 hafta sonra sol böbreklere 45 dakikalık iskemi ve melatonin (10 mg/kg) tedavisi uygulanmıştır. Melatonin tedavisi uygulanan grupta reperfüzyon sonrası 1, 3, 6, 24, 48. saatlerde bakılan BUN, serum kreatinin değerlerinde daha az fark açılan bir artış gözlenmiş ve 1 hafta sonraki sonuçlar melatonin tedavi grubunun BUN, kreatinin seviyelerinin daha düşük olmasının yanı sıra birbirine yakın değerlerdedir (Sener ve ark 2002).

Ratlar üzerinde uygulanan çalışmada plazma üre ve kreatinin düzeyleri IR ile kayda değer bir artış göstermiştir (Ren ve ark 2018).

Tek taraflı bağlama yöntemiyle iskemi oluşturulan çalışmada renal IR uygulanan ratlarda plazma kreatinin ve üre nitrojen konsantrasyonlarının arttığı bildirilmiştir. Reperfüzyondan değerlendirilen kreatinin, osmolarite, idrar hacmi değişiklik göstermemiştir. Tek böbrekte ABY oluşturulması bu ölçütlerin kısa sürede dengelenmesini sağlamada yardımcı olmuştur (Sonoda ve ark 2009).

IR grubunda plazma kreatinin değerleri sağlıklı ratlara kıyasla 3 katına yakın artış göstermiş, plazma üre ve nitrojen değerleri 2 katına yaklaşmıştır. Kreatinin krilensi azalırken sodyum miktarı 4 kat artmıştır (Gholampour ve ark 2020).

Yapılan bir diğer çalışmada IR sonrasında idrar osmolalitesi değerinde çok fazla azalma ölçülmüşken plazma üre ve kreatinin düzeyleri çok yüksek seviyelere çıkmıştır (Saeed ve ark 2013).

Erkek ratlar üzerinde sol böbrek IR uygulanan çalışmada sağ böbrek nefrektomi yapıldığında serum kreatinin seviyeleri daha da artmış. IR ile birlikte naringin tedavisi uygulaması serum kreatinin düzeylerini normale yaklaştırmıştır (Singh ve Chopra 2004).

32 erkek rat ile yapılan çalışmada 30 dakika iskemi ve 24 saatlik reperfüzyon sonrasında plazma kreatinin, üre konsantrasyonu artmış, kreatinin krilensi azalmıştır. Antioksidan etki gösterebilen omega 3 takviyesi alan grupta kan kreatinin ve üre konsantrasyonu azalmıştır (Ashtiyani ve ark 2012).

Renal arter, ven ve pediküller bağlanarak iskemi oluşturulan ratlarda IR ile plazma osmolalitesi azalmıştır. Hayvanların vücut kütlelerinde farklılık gözlemlenmemiştir. Plazma üre ve kreatinin değerleri artmış ancak bu artış en fazla venlerde oluşturulan iskemide olmuştur. Renal korteks ve medulla bölümlerinde en fazla hasar venlerde oluşturulan iskemi ile gerçekleşmiştir (Owji ve ark 2018).

45 dakikalık renal iskemi ve 22 saatlik reperfüzyon uygulanan çalışmada değerlendirmeler yapıldığında IR ile BUN ve serum kreatinin seviyeleri yükselmiş. Allisin tedavisi değerlerde azalma göstermiştir (Shan ve ark 2021).

Bir başka çalışmada IR hasarı ile artan BUN ve plazma kreatinin azalan idrar osmolalitesi ölçülürken antioksidan olarak bilinen α lipoik asit tedavisi IR kaynaklı bozulmaların normal seviyelere doğru değişiklik göstermelerini sağlamıştır (Takaoka ve ark 2002).

Çalışmada nefrotoksit olan $HgCl_2$ ile böbrek hasarı oluşturulmuş ve tedavi gruplarına flavanol olan rutin (50 mg/kg, 100 mg/kg) uygulanmış. Hasar oluşturulan gruplarda tedavinin dozu arttıkça serum üre ve kreatinin düzeylerinde iyileşme artmıştır (Caglayan ve ark 2019).

Ratlarda IR hasarı ile 2 kat artan plazma kreatinin seviyeleri naringin (100 mg/kg) tedavisi ile önemli düzeyde azalma göstermiştir. BUN seviyelerinde de naringin tedavisi aynı etkiyi göstermiştir (Amini ve ark 2019).

Naringin tedavisi uygulanan diyabetik rat gruplarının BUN, kreatinin seviyelerinde azalma kan şekeri ve kilo alımlarında düzelme farkı gözlemlenmiştir (Chen ve ark 2015).

1.5. İskemi Reperfüzyon ve İdrar Osmalarite Düzeyleri

Renal IR yapılan çalışmalarda idrar örnekleri de kullanılan örnekler arasındadır. İncelenen 35 çalışmanın 11' inde idrar örneği alınmıştır (Lerink ve ark 2022).

Çalışmalarda idrar örneklerine erişebilmek için metabolik kafes kullanılabilmektedir. Metabolik kafeste biriken idrar örnekleri analiz edilmekte ve raporlanmaktadır (Lerink ve ark 2022).

IR hasarı ile oluşan akut böbrek yetmezliği benzeri tablo nedeniyle idrar konsantrasyonu azalma göstermiş ve 3. gün idrar osmolalitesi azalmıştır. Grupların idrar miktarlarında kayda değer bir fark bulunmamış (Asvapromtada ve ark 2018).

Çalışmada ratlar operasyon sonrasında metabolik kafeslere alınarak 24 saatlik idrarları toplanmıştır. Sham grubuna kıyasla IR sonrasında idrar osmolalite değerleri üçte biri değerlerine düşmüştür (Gholampour ve ark 2020).

İdrar osmolaritesi iskemi ile azalmış ve idrar hacmi iskemi sonrasında artış göstermiştir (Ren ve ark 2018).

IR hasarı sonrasında idrar hacmi, idrarın osmolalitesi önemli düzeyde değişiklik göstermiştir. İdrar osmolalitesi sadece 3. gün grubunda önemli düzeyde azalma göstermiştir (Asvapromtada ve ark 2018).

Yapılan çalışmada idrar kreatinin, idrar osmolalitesi IR grubunda sham grubuna göre daha düşük değerler göstermiştir (Sonoda ve ark 2009).

Ratlarda renal arterlerde oluşturulan iskemi sonrasında reperfüzyon başlangıcında ve 4 gün sonra değerlendirmeler yapılmıştır. 4 gün sonra idrar hacminde önemli düzeyde artış gözlenirken idrar osmolalitesinde önemli derecede azalma

gerçekleşmiştir. Gruplar arasında ratların kütlelerinde farklılık bulunmamıştır (Kim ve ark 2013).

IR modeli oluşturulan ratlarda önemli düzeyde idrar osmolaritesi azalmıştır. Mezenkimal kök hücre tedavisi uygulaması idrar osmolaritesini %35 artırmıştır (Hafazeh ve ark 2019).

Ratlarda IR hasarı ile % 53 oranında azalan idrar osmolaritesi litokolik asit tedavisi ile artış göstermiştir (Han ve ark 2021).

Erkek ratlarda yapılan çalışmada 45 dakika iskemi sonrası 24 saatlik reperfüzyon sağlanmıştır. IR ratlarda BUN seviyeleri önemli düzeyde artmış, plazma kreatinin konsantrasyonu, idrar akışı, kreatinin krilensi önemli düzeylerde azalmıştır. İdrar osmolaritesi IR ile önemli düzeyde azalma göstermiştir. biyoflavonoid karışımı olan flavangenol (30 mg/kg) tedavisi uygulanan ratlarda idrar osmolalitesi az miktarda artış göstermiştir (Ohkita ve ark 2005).

Çalışmada IR sonrasında idrar osmolalitesinde aşırı düşüş gerçekleşmiştir. Üzüm çekirdeği ekstratı verilen ratlarda idrar osmolalite değerlerinde artış olmuştur. IR ile 2 katına çıkan plazma kreatinin değerleri üzüm çekirdeği ekstratı verşilenlerde normal değerlere ulaşmıştır (Ashtiyani ve ark 2013).

Erkek ratlarda uygulanan çalışmada 30 dakika iskemi ve 24 saatlik reperfüzyon sonrasında sodyum, potasyum değerleri artmış, idrar osmolaritesi azalmıştır. Antioksidan etki gösterebilen omega 3 takviyesi ile idrar osmolaritesi artmıştır (Ashtiyani ve ark 2012).

Yapılan çalışmada idrar osmolaritesi IR hasarıyla önemli düzeyde azalma göstermektedir. Antioksidan tedavisi osmolariteyi artırıcı etki göstermiştir (Park ve ark 2018).

1.6. Böbrek İskemi Reperfüzyonu, Vücut Ağırlığı ve Su Dengesi

Ratlarda yapılan IR çalışmasında gruplardaki hayvanlar karşılaştırıldığında vücut ağırlıklarındaki değişimlerde önemli farklılık ölçülmemiştir. Su alımı IR ile artış göstermiş ancak antioksidan tedavisi uygulamasıyla normal düzeylere ve normalin de altına ulaşmıştır. İdrar miktarı da su alımıyla orantılı olarak değişmektedir (Park ve ark 2018).

Çalışmalarda IR hasarıyla idrar miktarı artmıştır. Hasarlı böbreklerin poliürik etki göstermesi normal bir durum olarak kabul edilmektedir (Shin ve ark 2011, Ashtiyani ve ark 2012).

IR ile idrar çıkışı artış göstermektedir. TGR5' i aktive eden litokolik asit tedavisi poliüriyi azaltıcı etki göstermiştir (Han ve ark 2021).

Yapılan çalışmada idrar hacmi IR grubunda sham grubuna kıyasla çok az bulunmuştur (Sonoda ve ark 2009).

Mevcut literatür bilgiler değerlendirildiğinde böbrek dokusunda iskemi-reperfüzyona bağlı olarak Aquaporinler ile böbrek fonksiyon göstergelerinden kreatin, üre ve osmolarite gibi parametrelerin değiştiği görülmektedir. Bu çalışmanın amacı da tek taraflı nefrektomi ile IR yapılan sıçanlarda kısa süreli naringinin uygulamasının osmolarite, üre, kreatin ile böbrek medulla ve korteksinde aquaporin düzeylerini nasıl etkilediği belirlemekti.

2.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu' ndan onay alındı (2021-51). Çalışma için Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden 8-12 haftalık Wistar tipi 40 erkek rat temin edilmiştir (Etik Kurul No: 2021-51). Ratlar çalışmadan 1 hafta öncesinden başlayarak standart bir diyetle ve istenildiği kadar su ile beslenmiştir. Ortam koşullarının 12/12 saatlik aydınlık karanlık döngüsü ve 22±2 ˚C ortalama sıcaklık değerleri sağlanmıştır. Ratlarda deneysel böbrek iskemi reperfüzyonu genel anestezi altında ve tek taraflı nefrektomi sonrasında oluşturulmuştur. Ratlar 5 gruba ayrılmıştır.

1-Kontrol Grubu (n=6): Kontrol grubundaki ratlara cerrahi hiçbir işlem uygulanmadı.

2-Sham Grubu (n=7): Sol böbrek nefrektomi yapıldı. Sağ böbrek lokalize edildi ve çözücü (%10 DMSO + serum fizyolojik, 1 ml) intraperitoneal olarak uygulandı. 24 saat sonrasında ve 48 saat sonrasında da serum uygulaması yapıldı.

3-Renal İskemi-Reperfüzyon Grubu (n=9): Sol böbreklerde nefrektomi sonrasında sağ böbrekte 45 dakikalık iskemi sonrasında 72 saatlik reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonun hemen başında, 24 saat sonrasında ve 48 saat sonrasında çözücü (%10 DMSO + serum fizyolojik, 1 ml) intraperitoneal olarak uygulandı.

4-Renal İskemi-Reperfüzyon + Naringin (50 mg/kg/gün) (Nar50) Grubu (n=9): Sol böbreklerde nefrektomi sonrasında sağ böbrekte 45 dakikalık iskemi sonrasında 72 saatlik reperfüzyon uygulandı. Naringin çözeltisi (50 mg/kg/gün) reperfüzyonun hemen başında, 24 saat sonrasında ve 48 saat sonrasında intraperitoneal olarak uygulandı.

5- Renal İskemi-Reperfüzyon + Naringin (100 mg/kg/gün) (Nar100) Grubu (n=9): Sol böbreklerde nefrektomi sonrasında sağ böbrekte 45 dakikalık iskemi sonrasında 72 saatlik reperfüzyon uygulandı. Naringin çözeltisi (100 mg/kg/gün) reperfüzyonun hemen başında, 24 saat sonrasında ve 48 saat sonrasında intraperitoneal olarak uygulandı.



Şekil 2.1. Çalışma sistemi

2.1. ELISA Analizleri

Böbrek korteks ve medulla dokularında AQP 1 (ng/g doku) ve AQP 2 (ng/g doku) miktarını belirlemek için rat AQP 1 ELISA Kiti (FineTest, Çin), rat AQP 2 ELISA Kiti (Elabscience, Amerika) ve ELISA okuyucu olarak BMG Labtech cihazı (Almanya) kullanıldı.

2.1.1. AQP 1 (Aquaporin 1) Analizi

Aquaporin-1 (AQP 1) ELISA Kiti (katalog no: ER1904) Sandwich ELİSA prensibine dayanmaktadır. Bu kit ratlarda kullanılmaktadır. Serum, plazma, homojenize edilmiş dokularda, biyolojik sıvılarda AQP1 miktarlarını belirlemek için uygulanmaktadır.

Kuyucuk plakaların üzeri Biyotin konjuge antikorlarla önceden kaplanmaktadır. Biyotin konjuge antikorlar antikorları belirlemede kullanılmaktadır. Test numuneleri ve biyotin konjuge belirleyici antikorlar eklenmektedir ve yıkama yapılmaktadır. HRP-Streptavidin eklenip bağımsız ürünler yıkanarak uzaklaştırılır. TMB substratları HRP enzimatik reaksiyonunun görülmesinde kullanılmaktadır. TMB HPR tarafından katalize edilir mavi renk ürünler oluşmaktadır. Asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle ürünler sarıya dönmektedir. 450 nm' de mikroplaka okuyucularda optik yoğunluk okunmaktadır. Sarı rengin yoğunluğu AQP 1 miktarıyla orantılıdır. Ölçüm sonuçlarına göre AQP 1 konsantrasyonu hesaplanabilmektedir.

1) Kuyucuklara 100 µl standart veya numune eklendi ve 90 dakika 37˚C' de inkübe edildi. Aspire edildi ve 2 kez yıkandı.

2) 100 µl Biotin-labeled antikor çalışma solüsyonu eklendi. 60 dakika 37˚C' de inkübe edildi. Aspire edildi ve 3 kez yıkandı.

3) 100 µl HRP-Streptavidin conjugate (SABC) çalışma solüsyonu eklenip 30 dakika 37˚C sıcaklıkta inkübe edildi. Aspire edildi ve 5 kez yıkandı.

4) 90 µl TMB substrat solüsyonu eklendi. 37˚C' de 10-20 dakika inkübe edildi.

5) 50 µl Durdurma solüsyonu eklendi. Hemen ardından mikroplaka okuyucuda 450 nm' de okundu ve sonuçlar hesaplandı.

2.1.2. AQP 2 (Aquaporin 2) Analizi

Bu ELISA kiti (katalog no: E-EL_R2378) Sandwich ELISA prensibini kullanmaktadır. Bu kit ile ratların serum, plazma, homojenize doku ve biyolojik sıvılarında in vitro Aquaporin 2 (AQP 2) konsantrasyonunun miktarı saptanmaktadır.

Bu kitle birlikte bulunan Mikro ELISA plakaları, ratın AQP 2' sine özel antikorlarla önceden kaplanmıştır. Mikro ELISA plakasına eklenen numuneler özel antikorlarla karıştırılmaktadır. Biyotinlenmiş özel antikor ve Avidin-Horseradish Peroksidase (HRP) konjuge sırayla mikroplakaya eklenip inkübe edilmektedir. Farklı bileşenler yıkanarak uzaklaştırılmaktadır. Substrat solüsyonu kuyucuklara eklenmektedir. Mavi renk sadece rat AQP 2, biyotinlenmiş antikor, avidin-HRP konjugesi içeren kuyucuklarda gözlenmektedir. Emzim substrat reaksiyonu durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır ve renk sarıya dönmektedir. Optik yoğunluk spektrometrik 450±2 nm dalga boyunda ölçülmektedir. Optik yoğunluğun değeri ve rat AQP 2 konsantrasyonu arasında orantı bulunmaktadır. Ratlardaki AQP 2 konsantrasyon değeri numunelerin optik yoğunluğunun standart eğrisi ile karşılaştırılarak hesaplanmaktadır.

1) 100 µl standart veya numune kuyucuklara eklendi. 90 dakika 37˚C' de inkübe edildi.

2) Sıvı atıldıktan hemen sonra 100 µl Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu eklendi. 37˚C' de 60 dakika inkübe edildi.

3) Plaka 3 kez aspire edildi ve yıkandı.

4) 100 µl HRP konjuge çalışma solüsyonu eklendi. 30 dakika 37˚C' de inkübe edildi. 5 kez aspire edilip yıkandı.

5) 90 µl TMB substrat reaktifi eklendi. 37˚C' de 15 dakika inkübe edildi.

6) 50 µl durdurma solüsyonu eklendi.

7) Hemen ardından 450 nm' de plaka okundu ve sonuçlar hesaplandı.

ELISA okuyucu olarak Spectro Star NANO BMG Labtech (Almanya) cihazı kullanılmıştır.

2.2. İdrar Analizleri

Deneysel çalışmada deneyin 1. ve 3. gününde metabolik kafeslerde tutulan ratların 1 günlük idrarları toplanmıştır. Saklanan idrar numunelerinin osmolariteleri (mosm/kgs) Beckman Coulter AU480 (Amerika) cihazı ile ölçülmüştür.

2.3.Kan Analizleri

Deney bitiminde genel anestezi altındaki ratların kalplerinden kan alınmıştır. Alınan bu kanlar santrifüj edilerek plazma ayrılmıştır. Elde edilen plazma örneklerinde osmolarite (mosm/kg) ve üre kreatinin (mg/dl) miktarları ölçülmüştür.

Beckman Coulter AU480 cihazı kullanılmıştır (kit lot: 224157N).

2.4.Toplam RNA izolasyonu

25-50 mg Böbrek korteks ve medulla dokularına miRNA ekstraktör eklenerek homojenizatör (SONOPULSmini20, Bandelin) cihazı ile dokular homojenize edildi.

Örnek oda sıcaklığında 5-10 dakika tamamen çözünmesi için inkübe edildi. 0.2 ml kloroform eklendi. 30 saniye vortekslendikten sonra 4˚C' de 12000 devirde 10 dakika santrifüj edildi.

Santrifüj sonrasında 3 faza ayrılan örneğin süpernatant kısmı 1.5 µl RNaz içermeyen tüplere alındı. 1,5 katı kadar %100 etanol eklendi ve pipetlenerek karıştırıldı.

Çözelti Spin Column TR tüpüne aktarıldı. 12000 devirde 2 dakika santrifüj edildi. RPE solüsyonu 0,5 ml kadar eklendi. 12000 devirde 30 saniye santrifüj edildi. 5 defa tekrar edildi. Etanolü tamamen uzaklaştırmak için bu adım önemlidir.

Kolon 1.5 ml santrifüj tüplerine yerleştirildi. 30-50 µl RNaz içermeyen su eklenip 2 dakika beklendi. 30 saniye 12000 devirde santrifüj edildi. Ayrışan RNA solüsyonu elde edildi.

cDNA sentezi

Çalışmada cDNA entezi OneScript Plus cDNA sentezi kiti (katalog numarası G236, abm) ile yapıldı. Bileşenler karıştırıldı ve çözündü buz üzerinde bir araya getirildi.

Tablo 2.1. cDNA sentezinde kullanılan bileşenler

Bileşenler	Miktar
5X RT Buffer	4 µl
dNTP	1 µl
Primerler	1 µl
Toplam RNA	Değişken (ng-2µg/rxn)
OneScript Plus RTaz	1 µl
Nükleazsız su	20 µl

Yavaşça karıştırılan tepkime kısaca santrifüj edildi. cDNA sentezi 15 dakika 50-55˚C' de inkübe edildi.

Reaksiyonun 5 dakika 85˚C sıcaklıkta durdurulması sağlandı, buz üzerine soğumaya bırakıldı.

PCR

Çalışmada DNA örneklerinin kantitatif tam zamanlı analizini sağlayan PCR kiti (Blastag 2X qPCR mastermix) kullanıldı (katalog no: G891,G892).

Kullanılan bileşenler karıştırıldı buz üzerine konuldu.

Tablo 2.2. PCR analizinde kullanılan bileşenler

Bileşen	**Miktar**
Blastag 2X qPCR MM	10 µl
İleri primer	0.5 µl
Ters primer	0.5 µl

DNA şablonu	5 µl
Nükleazsız su	4 µl

Reaksiyon bileşenleri yavaşça karıştırıldı ve kısa süreli santrifüj yapıldı.

Enzim aktivasyonu 95˚C' de 3 dakika süre ile 1 devir, denatürasyon 95˚C sıcaklıkta 15 saniye (veya 1 saniye hızlı) 40 devir, ekstansiyon 60˚C' de 1 dakika (hızlı versiyon 10 saniye) 40 devirle santrifüj edilerek aşamalar gerçekleştirildi. Spesifik kaynaklardan erime eğrisi kullanılarak değerlendirme yapıldı.

Tablo 2.3. Gerçek Zamanlı PCR analizinde kullanılan primerler

Seri No	**Oligo İsmi**	**Baz Dizisi**
20221024/1-116	Rat aqp1 F	5'-CCAAAGTTGCCCAGCAAGAC-3'
20221024/1-117	Rat aqp1 R	5'-TCACGACATGGTTAACGGCA-3'
20221024/1-118	Rat aqp2 F	5'-TCACCGGTTGCTCCATGAAT-3'
20221024/1-119	Rat aqp2 R	5'-CCCAAGTGTCTGGTTCCCTG-3'

2.5. İstatistik

İstatistik analiz SPSS istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama ± standard sapma olarak tanımlandı. Gruplar arası karşılaştırma için Kruskal-Wallis variyans analizi kullanıldı ve $p<0.05$ seviyesi için Mann-Whitney U-testi uygulandı. $P<0.05$ seviyesi istatistik olarak önemli kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışma gruplarına ait idrar osmolarite değerleri çizelge 1'de verilmiştir. Gruplar arası değerlendirme yapıldığında bu parametrenin böbrek iskemi-reperfüzyonuyla birlikte önemli şekilde azalma gösterdiği ancak uygulama sonrası deney bitiminde ise artış gösterdiği belirlenmiştir (P<0.001).

Çizelge 1: Deney Gruplarının İdrar Osmolarite Değerleri

Gruplar	24. saat Osmolarite (mosm/kg)	Deney Sonu Osmolarite (mosm/kg)
Kontrol Grubu	535.10 ± 142.30 a	534.10 ± 144.00 b
Sham Grubu	565.80 ± 101.80 a	511.70 ± 159.30 b
İskemi Reperfüzyon(IR) Grubu	471.00 ± 134.50 b	615.60 ± 110.20 a
Naringin (50 mg/kg/gün) + IR Grubu	538.30 ± 101.40 a	487.30 ± 114.20 b
Naringin (100 mg/kg/gün)+ IR Grubu	564.20 ± 140.10 a	481.90 ± 141.90 b

*Sütunlardaki farklı harfler istatistik önemi göstermektedir. İskemi Reperfüzyon 24 saat idrar osmolarite azaltırken, Nar 50 ve 100 uygulaması artırmıştır (P<0.001).

Deney gruplarındaki plazma ozmolarite seviyeleri çizelge 2'de sunulmuş olup gruplar arası karşılaştırmada plazma osmolarite değerlerinin iskemi reperfüzyon grubunda azalırken (P<0.001) diğer gruplar arasından önemli bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir.

Çizelge 2: Deney Gruplarının Plazma Osmolarite Değerleri

Gruplar	Plazma Osmolarite (mOsm/kg)
Kontrol Grubu	315.82 ± 11.64 a
Sham Grubu	321.05 ± 9.25 a
İskemi Reperfüzyon (IR) Grubu	278.60 ± 72.01 b
Naringin (50 mg/kg/gün) + IR Grubu	359.32 ± 46.96 a
Naringin (100 mg/kg/gün) + IR Grubu	332.79 ± 15.24 a

*Sütunlardaki farklı harfler istatistik önemi göstermektedir. İskemi Reperfüzyon plazma osmolarite değerini azaltmıştır (P<0.001).

Plazma üre değerleri çizelge 3'de verilmiştir. Deney gruplarının plazma üre seviyeleri incelendiğinde İ/R grubunun en yüksek değerlere sahip olduğu ancak naringin uygulamasının artan üre değerlerini önemli şekilde azalttığı belirlenmiştir

(P<0.001). Uygulama gruplarında üre değerleri azalmış olmasına rağmen kontrol ve sham grubu değerlerine ulaşmamıştır.

Çizelge 3: Deney Gruplarının Plazma Üre Değerleri

Gruplar	Plazma Üre (mg/dl)
Kontrol Grubu	51.33 ± 19.84 c
Sham Grubu	58.67 ± 18.66 c
İskemi Reperfüzyon (IR) Grubu	259.57 ± 46.05 a
Naringin (50 mg/kg/gün) + IR Grubu	121.50 ± 63.33 b
Naringin (100 mg/kg/gün) + IR Grubu	124.12 ± 88.76 b

*Sütunlardaki farklı harfler istatistik önemi göstermektedir. İskemi Reperfüzyon plazma üre seviyesini artırırken, Nar 50 ve 100 uygulaması azaltmıştır (P<0.001).

Deney gruplarına ait plazma kreatinin değerleri çizelge 4'de verilmiştir. Deney gruplarının plazma kreatinin seviyeleri incelendiğinde IR grubunun en yüksek değerlere sahip iken uygulama grupları IR grubundan düşük sham ve kontrol grubundan ise daha yüksek olarak tespit edilmiştir (P<0.001). Uygulama grupları arasında istatiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır.

Çizelge 4: Deney Gruplarının Plazma Kreatinin Değerleri

Gruplar	Plazma Kreatinin (mg/dl)
Kontrol Grubu	0.79 ± 0.25 c
Sham Grubu	0.99 ± 0.19 c
İskemi Reperfüzyon(IR) Grubu	4.76 ± 0.64 a
Naringin(50 mg/kg/gün) + IR Grubu	1.66 ± 0.62 b
Naringin(100 mg/kg/gün) + IR Grubu	1.83 ± 0.73 b

*Sütunlardaki farklı harfler istatistik önemi göstermektedir. İskemi Reperfüzyon plazma kreatinin düzeylerini artırırken, Nar 50 ve 100 uygulaması azaltmıştır (P<0.001).

Çalışma gruplarının korteks ve medulla dokusundaki AQP 1 seviyeleri çizelge 5 ve 6'da sunulmuştur. Gruplar AQP 1 değerleri açısından incelendiğinde bu parametrenin hem korteks hem de medullada IR' ye bağlı olarak önemli şekilde azalmış olduğu görülmektedir. Ancak hem NAR 50 hem de NAR 100 uygulaması azalan AQP 1 değerlerini belirli bir oranda artırırken kontrol ve sham değerlerine

ulaşmamıştır (P<0.001). Ancak takviye grupları arasında istatiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilememiştir.

Çizelge 5: Deney Gruplarının Böbrek Korteks ve Medulla Dokularındaki Aquaporin 1 (AQP1) Değerleri (Elisa)

Gruplar	Korteks AQP 1(ng/g doku)	Medulla AQP 1 (ng/g doku)
Kontrol Grubu	8.63 ± 0.60 a	6.39 ± 1.10 a
Sham Grubu	8.56 ± 0.79 a	6.47 ± 0.45 a
İskemi Reperfüzyon(IR) Grubu	3.24 ± 0.55 c	0.25 ± 0.14 c
Naringin(50 mg/kg/gün) + IR Grubu	4.80 ± 1.49 b	4.76 ± 1.01 b
Naringin(100 mg/kg/gün) + IR Grubu	5.57 ± 0.77 b	5.07 ± 1.17 b

*İskemi Reperfüzyon AQP 1 Değerlerini önemli şekilde baskılarken NAR 50 ve NAR 100 tedavisi önemli şekilde artış sağlamıştır (P<0.001).

Çizelge 6: Deney Gruplarının Böbrek Korteks ve Medulla Dokularındaki Aquaporin 1 (AQP1) Değerleri (PCR)

Gruplar	Korteks AQP 1 gen tanımlanması $^{(2-\Delta CT)}$	Medulla AQP 1 gen tanımlanması $^{(2-\Delta CT)}$
Kontrol Grubu	0,0007 ± 0,0003 a	0,0013 ± 0,0011 a
Sham Grubu	0,0009 ± 0,0004 a	0,0012 ± 0,0010 a
İskemi Reperfüzyon(IR) Grubu	0,0002 ± 0,0001b	0,0001 ± 0,0001 b
Naringin(50 mg/kg/gün) + IR Grubu	0,0005 ± 0,0002 a	0,0059 ± 0,0030 a
Naringin(100 mg/kg/gün) + IR Grubu	0,0005± 0,0002 a	0,0080 ± 0,0002 a

*İskemi Reperfüzyon AQP 1 Değerlerini önemli şekilde baskılarken NAR 50 ve NAR 100 tedavisi önemli şekilde artış sağlamıştır (P<0.001).

Deney gruplarının böbrek korteks ve medulla bölümündeki AQP 2 değerleri çizelge 7 ve çizelge 8' de verilmiştir. Gruplar arası değerlendirme yapıldığında bu parametrenin hem korteks hem de medulla da iskemi-reperfüzyona bağlı olarak önemli şekilde baskılandığı ancak yapılan uygulamalarla kontrol ve sham grubu seviyelerine ulaştığı görülmektedir.

Çizelge 7: Deney Gruplarının Böbrek Korteks ve Medulla Dokularındaki Aquaporin 2 (AQP2) Değerleri (Elisa)

Gruplar	Korteks AQP 2 (ng/g doku)	Medulla AQP 2 (ng/g doku)
Kontrol Grubu	1.19 ± 0.42 a	1.39 ± 0.42 a

Sham Grubu	1.11 ± 0.11 a	1.23 ± 0.19 a
İskemi Reperfüzyon(IR) Grubu	0.44 ± 0.28 b	0.25 ± 0.19 b
Naringin(50 mg/kg/gün) + IR Grubu	1.04 ± 0.16 a	1.12 ± 0.32 a
Naringin(100 mg/kg/gün) + IR Grubu	0.98 ± 0.22 a	1.11 ± 0.30 a

*İskemi Reperfüzyon AQP 2 Değerlerini önemli şekilde baskılarken NAR 50 ve NAR 100 tedavisi önemli şekilde artış sağlamıştır (P<0.001).

Çizelge 8: Deney Gruplarının Böbrek Korteks ve Medulla Dokularındaki Aquaporin 2 (AQP2) Değerleri (PCR)

Gruplar	Korteks AQP 2 gen tanımlanması $^{(2-\Delta CT)}$	Medulla AQP gen tanımlanması $^{(2-\Delta CT)}$
Kontrol Grubu	0,0032 ± 0,0003 a	0,0221 ± 0,0011 a
Sham Grubu	0,0035 ± 0,0004 a	0,0408 ± 0,0010 a
İskemi Reperfüzyon(IR) Grubu	0,0001 ± 0,0001b	0,0004 ± 0,0001 b
Naringin(50 mg/kg/gün) + IR Grubu	0,0023 ± 0,0002 a	0,0260± 0,0030 a
Naringin(100 mg/kg/gün) + IR Grubu	0,0051± 0,0002 a	0,0312 ± 0,0002 a

*İskemi Reperfüzyon AQP 2 Değerlerini önemli şekilde baskılarken NAR 50 ve NAR 100 tedavisi önemli şekilde artış sağlamıştır (P<0.001).

4. TARTIŞMA

Yapılmış olan bu deneysel araştırmanın sonuçlarına genel olarak bakıldığında tek taraflı nefrektomi ve böbrek iskemi reperfüzyonuyla idrar ve plazma osmolaritesinde değişiklikler oluştuğu plazma üre ve kreatinin seviyeleri önemli şekilde artarken, korteks ve medulla dokusunda hem AQP 1 hem de AQP 2 seviyelerinin önemli şekilde baskılandığı belirlenmiştir. Ancak kısa süreli de olsa hem 50 mg/kg hem de 100 mg/kg dozda naringin uygulamasının meydana gelmiş olan değişiklikleri belli oranda düzelttiği görülmüştür.

Gerek normal gerekse iskemi reperfüzyona maruz kalan böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi açısından incelenen parametrelerden bir tanesi de idrar osmolaritesinin değerlendirilmesidir. Nitekim daha önce yapılan benzer çalışmalarda bizim araştırmamızda olduğu gibi metabolik kafeslerde tutulmuş olan deney hayvanlarından alınan idrar örnekleri incelenmiştir (Lerink ve ark 2022). Araştırmamızda idrar örnekleri osmalarite açısından değerlendirildiğinde IR ile osmolaritenin önemli şekilde azaldığı görülmüştür.

Daha önce gerçekleştirilmiş olan bir çalışmada IR hasarı ile oluşan akut böbrek yetmezliği benzeri tablo nedeniyle idrar konsantrasyonu azalma göstermiş ve 3. gün idrar osmolaritesi azalmıştır. Grupların idrar miktarlarında kayda değer bir fark bulunmamış (Asvapromtada ve ark 2018).

Gholampour ve ark 2020' nın gerçekleştirmiş olduğu bir araştırma da Sham grubuna göre IR grubu idrar osmolarite değerleri üçte biri değerlerine kadar azalma göstermiştir. Yine gerçekleştirilmiş olan başka bir deneysel araştırmada deney süresinin bitimi olan 4. Günde idrar osmolaritesinde önemli derecede azalma gerçekleşmiştir (Kim ve ark 2013). Yapılan çalışmada IR hasarıyla idrar miktarı artmıştır. Hasarlı böbreklerin poliürik etki göstermesi normal bir durum olarak kabul edilmektedir. İdrar hacmine zıt olarak osmolalitesinde 4 gün sonraki ölçümde azalma gerçekleşmiştir (Shin ve ark 2011).

Bizim araştırmamızda deneysel uygulama (IR) sonrası ile (24.saat) ve 72. Saatte alınan idrar örneğinde osmolarite azalması görülmüştür.

Erkek ratlarda yapılan çalışmada 45 dakika iskemi sonrası 24 saatlik reperfüzyon yapılmıştır. Bahsedilen bu çalışmada idrar osmolaritesi IR ile önemli

düzeyde azalma göstermiştir. Biyoflavonoid karışımı olan flavangenol (30 mg/kg) tedavisi uygulanan ratlarda idrar osmolaritesi az miktarda artış göstermiştir (Ohkita ve ark 2005).

Başka bir çalışmada ise IR sonrasında idrar osmolaritesinde aşırı düşüş belirlenirken üzüm çekirdeği ekstratı verilmesi ratlarda idrar osmolarite değerlerini artırmıştır (Ashtiyani ve ark 2013). Yine benzer bir çalışmada da 30 dakika iskemi ve 24 saatlik reperfüzyon sonrasında idrar osmolaritesi önemli bir azalma göstermiştir (Ashtiyani ve ark 2012).

Plazma osmolaritesinin değerlendirildiği bir araştırmada 24 saatlik idrarları toplanıp değerlendirilen ratlarda IR grubunun idrar osmolaritesinde aşırı azalma gözlenirken plazma osmolaritesinde önemli bir fark gözlenmemiştir. İdrar sodyum düzeyleri IR grubunda düşüktür ama tedavi gruplarında normal düzeylere yakın olarak tespit edilmiştir (Kang ve ark 2006). Başka bir araştırmada ise renal arter, ven ve pediküller bağlanarak iskemi oluşturulan ratlarda IR ile plazma osmolaritesinin azaldığı tespit edilmiştir (Owji ve ark 2018).

Gerçekleştirmiş olduğumuz araştırmada elde etmiş olduğumuz böbrek-iskemi reperfüzyonuna bağlı olarak azalan idrar osmolarite seviyeleri yukarıda bahsedilmiş olan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Yine yukarıda belirtildiği gibi (Ohtika ve ark. 2005) yapmış olduğumuz naringin (bir flavonoid türü) azalan idrar osmolarite değerlerini artırmıştır.

Araştırmamızda deney gruplarının plazma üre ve kreatinin değerleri incelendiğinde bu parametrelerin her ikisinin de IR sonucu ciddi bir şekilde arttığı görülmüştür. Ancak naringin takviyesi artan üre ve kreatinin değerlerini önemli şekilde azaltmıştır.

Serum kreatinin düzeyi IR hasarının fonksiyonel bir ölçüsüdür. Preklinik çalışmaların çoğunda reperfüzyon sonrası serum kreatinin seviyelerine bakılmaktadır (Lerink ve ark 2022).

Daha önceden gerçekleştirilen bir deneysel araştırmada Fisher ratlarda sol renal arter bağlanarak 45 dakikalık iskemi uygulanmıştır. Reperfüzyon sonrası 4. ve 24. saatlerde değerlendirmeler yapılmış ve kan kreatinin değerleri kontrol grubuna kıyasla

4. saatte değerlendirilen grupta 3 katına yakın artarken 24. saatte değerlendirilen grupta 4 katlık bir artış ölçülmüştür (Huang ve ark 2018).

Wistar tipi ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise 40 dakikalık iskemi ve 48 saatlik reperfüzyon sonrası serum kreatinin konsantrasyonu yükselmiştir. Bu duruma göre IR akut böbrek yetmezliğine sebep olduğu belirtilmiştir (Andrianova ve ark 2020).

Erişkin erkek ratlarda yapılan bir çalışmada iskemi reperfüzyon sonrası saat aralıklarıyla serum kreatinin ve BUN değerlerine bakılmıştır. İskemi uygulanan grupta BUN ve serum kreatinin düzeylerinde reperfüzyon sonrası 24. saate kadar düzenli artış ölçülmüştür. Sonrasında değerlerde gün gün azalma gözlenmiş ve özellikle serum kreatinin düzeyinde 2. gün keskin bir azalma olduğu rapor edilmiştir (Pan ve ark 2012).

Başka bir araştırmada ise IR' nin serum kreatinin seviyeleri kontrol grubuna kıyasla 6 kat kadar artırmış olduğu belirlenmiştir (Chihanga ve ark 2018). Yine, Lei ve ark. (2017) dişi sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada renal IR sonrasında kreatinin seviyelerinde kayda değer artışı tespit etmişlerdir (Lei ve ark 2017).

Farelerde yapılan çalışmada sağ böbrek nefrektomi, sol böbrek iskemi (20, 22, 24 dakikalık) oluşturulduğunda plazma kreatinin düzeyi artmıştır (Hesketh ve ark 2014).

Benzer bir araştırma da ise reperfüzyondan 2, 6, 12 saat sonra yapılan değerlendirmelerde 6. saatte değerlendirme yapılan grupta renal hasar, BUN, kreatinin düzeyleri daha yüksek ölçülmüştür (Lai ve ark 2021).

Ratlar üzerinde uygulanan çalışmada plazma üre ve kreatinin düzeyleri IR ile kayda değer bir artış göstermiştir (Saeed ve ark 2013; Ren ve ark 2018).

Bir başka çalışmada IR hasarı ile artan BUN ve plazma kreatinin azalan idrar osmolalitesi ölçülürken antioksidan olarak bilinen α lipoik asit tedavisi IR kaynaklı bozulmaların normal seviyelere doğru değişiklik göstermelerini sağlamıştır (Takaoka ve ark 2002).

35 erkek SD rat üzerinde uygulanan çalışmada nefrotoksit olan $HgCl_2$ ile oluşturulan böbrek hasarına bağlı olarak serum üre ve kreatinin düzeyleri artarken flavanol olan rutin (50 mg/kg, 100 mg/kg) uygulanmış ve doz bağımlı olarak iyileşme sağlamıştır (Caglayan ve ark 2019).

SD erkek ratlar üzerinde yapılan çalışmada çift taraflı bağlama yöntemiyle oluşturulan iskemide üre ve kreatinin düzeyleri reperfüzyondan 3 gün sonra bile ciddi artış gösterirken 8 ve 11. gün grupları sham grubuna yakın sonuçlar göstermiştir (Asvapromtada ve ark 2018). Bizim araştırmamızda da iskemi-reperfüzyon sonra 3. günde ölçülen üre ve kreatin düzeyleri sham ve kontrol grubuna göre artmış şekilde bulunmuştur. Erkek ratlar üzerinde sol böbrek IR uygulanan çalışmada sağ böbrek nefrektomi yapıldığında serum kreatinin seviyeleri daha da artmıştır. IR ile birlikte naringin tedavisi uygulaması serum kreatinin düzeylerini normale yaklaştırmıştır (Singh ve Chopra 2004). Araştırmamızda elde etmiş olduğumuz işlemi-reperfüzyon sonucu artan plazma üre ve kreatinin değerleri her iki dozdaki naringin takviyesi ile belli bir oranda baskılanmış ancak hala kontrol değerlerine düşmemiştir.

Araştırmamızda ayrıca böbrek fonksiyon göstergelerinden birisi olarak da AQP 1 ve AQP 2 düzeyleri böbrek korteks medulla dokusunda hem elisa yöntemi hemde PCR yöntemi ile belirlendi. AQP 1 ve 2 seviyeleri iskemi reperfüzyon sonucu her iki dokuda da ciddi oranda azalma gösterdi. Ancak 50 mg/kg ve 100 mg/kg dozda naringin takviyesi (4 doz) azalmış olan aquaporin seviyelerini belirli oranda artırdı. AQP 1 renal suyun taşınmasında önemli rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra AQP 1 idrar oluşumu ve idrarın atılmasında görev almaktadır. Eksozomal bir aquaporin olan AQP 1 alınan suyun eksozoma geçişini sağlamaktadır (Oshikawa ve ark 2016). İlk idrardaki su AQP 2 aracılığıyla apikal membrana girer. Transsellüler yolla lümenden vasküler boşluğa geçer ve diğer aquaporinlerden AQP 3 ve AQP 4 aracılığıyla bazolateral membrandan çıkmaktadır. Renal IR hasarı aquaporinlerin kaydadeğer şekilde azalmış protein ekspresyonu ile ilişkilidir (Mengke Han M ve ark. 2021). AQP 2 seviyesinin düşük olması idrar konsantrasyonunun düşük olmasına sebep olurken yüksek AQP 2 seviyeleri de birçok rahatsızlık riski oluşturabilmektedir (Agre 2004, Oshikawa ve ark 2016).

Erkek SD ratlarla yapılan çalışmada tek taraflı IR hasarı oluşturulduğunda IR sonrası eksozomal AQP 1 seviyeleri önemli derecede azalmıştır (Sonoda ve ark 2009).

Farelerde renal iskemi yapılan çalışmada iskemi ile AQP 1 ekspresyonu korteks ve medullada önemli düzeyde azalmıştır. Tübüler hücrelerin lüminal bölgelerindeki AQP 1 immünohistokimyasal sinyallerinde azalma IR hasarı nedeniyle olmuştur (Pasten ve ark 2019).

IR sonrası 24 saate kadar AQP 2 seviyeleri azalırken iskemi hasarında iyileşme ile AQP 2 seviyeleri de artış göstermiştir (Jung ve ark 2000). Ratlar üzerinde uygulanan çalışmada renal IR kaynaklı AQP 2 ve AQP 3 su kanallarının protein oranlarında aşırı derecede azalma gerçekleşmiştir (Shin ve ark 2011).

Ratlarda yapılan çalışmada tek böbrek nefrektomi uygulanmış diğer böbreğe de gruplarına göre IR hasarı oluşturularak AQP 1 düzeyleri proksimal tübülün apikal plazma membranında görüntülenmiş ve IR grubundakilerin daha düşük değerlerde olduğu saptanmıştır. IR grubunda toplar kanalların apikal membranında AQP 2 düzeyleri kayda değer bir şekilde azalmıştır (Kristensen ve ark 2016).

Erkek ratlara renal IR uygulanan çalışmada iskemi sonrası AQP 1 ve AQP 2 düzeylerinde azalma gözlenmiştir ancak bu azalma kortekse kıyasla medulla dokularında daha üst düzeydedir. α-lipoik asit tedavisi ile IR ile azalan AQP 2 düzeylerinde artış olduğu bulunmuştur (Bae ve ark 2008). Başka bir araştırmada da IR ile AQP 2 protein düzeylerinde aşırı azalma gözlemlenmiş, bu azalma medullada daha üst düzeyde ölçülmüştür (Kang ve ark 2006).

Ancak bizim araştırmamızda her iki dokudaki azalma benzer düzeyde olmuştur.

Çalışmada yetişkin erkek ratlarda renal arterlerin çift taraflı bağlanması ile 30 dakika iskemi sonrasında 3 günlük reperfüzyon oluşturulmuştur. IR sonrasında tübüler dilatasyon, esas hücrelerin şişmesi AQP 2 düzeylerindeki azalmadan kaynaklı oluşmaktadır. AQP 2 düzeyleri reperfüzyon süresi arttıkça iyileşme göstermiştir (Jin ve ark 2014). SD erkek ratlar üzerinde yapılan çalışmada çift taraflı bağlama yöntemiyle iskemi oluşturulmuştur. Renal IR sonrası AQP 1 düzeyleri renal IR sonrası 3 ve 7. gün gruplarında önemli derecede azalmıştır. Özellikle 3. gün grubunda değerler çok düşüktür gün ilerledikçe değerlerde iyileşme gerçekleşmiştir. AQP 2 düzeylerinde 3. gün grubunda önemli derecede azalma görünürken 7. gün grubunda değerde iyileşme olup 21 ve 35. gün sonuçlarında tekrar azalmıştır (Asvapromtada ve ark 2018).

Gelişmiş idrar konsantrasyon kapasitesi ve renal sodyum yeniden emiliminin yanı sıra AQP kanallarının ve sodyum taşıyıcılarının düzensizliğini α-Lipoik asit (α-LA) ile tedavi önlemiştir (Bae ve ark 2008).

35 erkek SD rat üzerinde uygulanan çalışmada nefrotoksit olan $HgCl_2$ ile böbrek hasarı oluşturulmuş ve tedavi gruplarına flavanol olan rutin (50 mg/kg, 100 mg/kg) uygulanmış ve AQP 1 seviyeleri üst doz tedavi uygulanan grupta kontrol grubuna yakınken tedavi uygulanmayan hasarlı grupta çok düşük değerlerde bulunmuştur (Caglayan ve ark 2019).

Gerçekleştirmiş olduğumuz araştırmada renal iskemi-reperfüzyon sonucu baskılanmış AQP düzeyleri yukarıda örnekleri verilen deneysel çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Yukarıda bahsedildiği üzere birkaç çalışmada değişik flavonoidlerin iskemide AQP seviyelerine olan etkisi incelenmiştir. Ancak doğrudan naringin takviyesi ile böbrek korteks ve medullasında AQP düzeylerine olan etkisi incelenmemiştir. Daha önce böbrek iskemi-reperfüzyon hasarına karşı naringinin tedavi etkinliği antioksidan açıdan değerlendirilmiştir (Amini ve ark. 2019a, 2019b). Doğrudan naringin takviyesinin böbrek iskemi-reperfüzyonunda AQP düzeylerine olan etkisinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak Naringin, lipopolisakkarit/sigara dumanının neden olduğu farelerde AQP 1' i yukarı doğru düzenleyerek hava yolu iltihabını bastırdı ve pulmoner endotelyal aşırı geçirgenliği iyileştirmiştir (Huan-Huan Zhang ve ark. 2022). Başka bir çalışmada da yine naringin dizel partikül madde (DPM) kaynaklı hasarını azalttığı ve bu iyileşmede AQP 1 ve AQP 5 mRNA ve protein ekspresyonunu artırmasının önemli olduğu vurgulanmıştır (Rui Shi ve ark. 2019). Bizim araştırmamızda ise böbrek iskemi-reperfüzyonunda 50 ve 100 mg/kg dozdaki uygulamanın böbrek korteks ve medulla dokusunda AQP 1 ve AQP 2 seviyelerini artırmış olması yukarıda belirtilmiş olan naringinin farklı dokulardaki AQP düzeylerini artırıcı etkisi ile benzerlik göstermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçları sıçanlarda tek taraflı ve akabinde böbrek iskemi reperfüzyonu ile idrar osmolaritesinin azaldığını göstermektedir.

Ayrıca iskemi reperfüzyon plazma üre ve kreatin düzeylerinde ciddi bir artışa yol açmıştır.

Gerçekleştirilmiş olan iskemi-reperfüzyonun böbrek korteks ve medulla dokusundaki AQP 1 ve AQP 2 seviyelerini de önemli oranda azaltmıştır.

Ancak uygulanan deneysel prosedürlerle ortaya çıkmış olan fonksiyon bozulması ve AQP azalması naringin tedavisi ile belirli bir oranda düzeltilmiştir.

Gelecekte yapılacak olan araştırmalarda farklı flavonoid türleri ve deney şekli ile mekanizmaların daha da detaylandırılması gerektiği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Ablimit A, Abdureyim Z, Yang P, Azmat R, Shan W, Yao Q, 2021. Testicular AQP1 expression in a rat model of testicular Ischemia–Reperfusion injury. Journal of Pediatric Urology, 17, 2, 169. e1-. e6.

Agre P, 2004. Aquaporin water channels (Nobel lecture). Angewandte Chemie International Edition, 43, 33, 4278-90.

Ala M, Khoshdel MRF, Dehpour AR, 2022. Empagliflozin enhances autophagy, mitochondrial biogenesis, and antioxidant defense and ameliorates renal ischemia/reperfusion in nondiabetic rats. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2022.

Alam MA, Subhan N, Rahman MM, Uddin SJ, Reza HM, Sarker SD, 2014. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. Advances in Nutrition, 5, 4, 404-17.

Amini N, Maleki M, Badavi M, 2022. Nephroprotective activity of naringin against chemical-induced toxicity and renal ischemia/reperfusion injury: A review. Avicenna Journal of Phytomedicine, 12, 4, 357.

Amini N, Sarkaki A, Dianat M, Mard SA, Ahangarpour A, Badavi M, 2019. Protective effects of naringin and trimetazidine on remote effect of acute renal injury on oxidative stress and myocardial injury through Nrf-2 regulation. Pharmacological Reports, 71, 6, 1059-66.

Amini N, Sarkaki A, Dianat M, Mard SA, Ahangarpour A, Badavi M, 2019. The renoprotective effects of naringin and trimetazidine on renal ischemia/reperfusion injury in rats through inhibition of apoptosis and downregulation of micoRNA-10a. Biomedicine & Pharmacotherapy, 112, 108568.

Andrianova NV, Popkov VA, Klimenko NS, Tyakht AV, Baydakova GV, Frolova OY, Zorova LD, Pevzner IB, Zorov DB, Plotnikov EY, 2020. Microbiome-metabolome signature of acute kidney injury. Metabolites, 10, 4, 142.

Ashtiyani SC, Najafi H, Firouzifar MR, Shafaat O, 2013. Grape seed extract for reduction of renal disturbances following reperfusion in rats. Iranian journal of kidney diseases, 7, 1, 28.

Ashtiyani SC, Najafi H, Kabirinia K, Vahedi E, Jamebozorky L, 2012. Oral omega-3 fatty acid for reduction of kidney dysfunction induced by reperfusion injury in rats. Iranian Journal of Kidney Diseases, 6, 4, 275.

Asvapromtada S, Sonoda H, Kinouchi M, Oshikawa S, Takahashi S, Hoshino Y, Sinlapadeelerdkul T, Yokota-Ikeda N, Matsuzaki T, Ikeda M, 2018. Characterization of urinary exosomal release of aquaporin-1 and-2 after renal ischemia-reperfusion in rats. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 314, 4, F584-F601.

Bae EH, Lee KS, Lee J, Ma SK, Kim NH, Choi KC, Frøkiær J, Nielsen S, Kim SY, Kim SZ, 2008. Effects of α-lipoic acid on ischemia-reperfusion-induced renal dysfunction in rats. American journal of physiology-renal physiology, 294, 1, F272-F80.

Bai C, Fukuda N, Song Y, Ma T, Matthay MA, Verkman A, 1999. Lung fluid transport in aquaporin-1 and aquaporin-4 knockout mice. The Journal of clinical investigation, 103, 4, 555-61.

Ballard CR, Junior MRM, 2019. Health benefits of flavonoids. In: Bioactive compounds. Eds: Elsevier, p. 185-201.

Beker BM, Corleto MG, Fieiras C, Musso CG, 2018. Novel acute kidney injury biomarkers: their characteristics, utility and concerns. International Urology and Nephrology, 50, 4, 705-13.

Bhattacharya P, Pandey AK, Paul S, Patnaik R, Yavagal DR, 2013. Aquaporin-4 inhibition mediates piroxicam-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rodents. PLoS One, 8, 9, e73481.

Cadenas E, Packer L, 2002. Handbook of antioxidants, Marcel Dekker New York, p.

Caglayan C, Kandemir FM, Yildirim S, Kucukler S, Eser G, 2019. Rutin protects mercuric chloride-induced nephrotoxicity via targeting of aquaporin 1 level, oxidative stress, apoptosis and inflammation in rats. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 54, 69-78.

Changizi-Ashtiyani S, Hafazeh L, Ghasemi F, Najafi H, Babaei S, JalallyMashayekhi F, Hoseini SJ, Bastani B, 2020. The effect of adipose-derived mesenchymal stem cells on renal function and histopathology in a rat model of ischemia-reperfusion induced acute kidney injury. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 23, 8, 999.

Chen F, Zhang N, Ma X, Huang T, Shao Y, Wu C, Wang Q, 2015. Naringin alleviates diabetic kidney disease through inhibiting oxidative stress and inflammatory reaction. PLoS One, 10, 11, e0143868.

Chen H, He Y, Chen S, Qi S, Shen J, 2020. Therapeutic targets of oxidative/nitrosative stress and neuroinflammation in ischemic stroke: Applications for natural product efficacy with omics and systemic biology. Pharmacological Research, 158, 104877.

Chen R, Qi Q-L, Wang M-T, Li Q-Y, 2016. Therapeutic potential of naringin: an overview. Pharmaceutical biology, 54, 12, 3203-10.

Chihanga T, Ma Q, Nicholson JD, Ruby HN, Edelmann RE, Devarajan P, Kennedy MA, 2018. NMR spectroscopy and electron microscopy identification of metabolic and ultrastructural changes to the kidney following ischemia-reperfusion injury. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 314, 2, F154-F66.

Chtourou Y, Aouey B, Aroui S, Kebieche M, Fetoui H, 2016. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of naringin on cisplatin-induced renal injury in the rat. Chemico-Biological Interactions, 243, 1-9.

Chtourou Y, Gargouri B, Kebieche M, Fetoui H, 2015. Naringin abrogates cisplatin-induced cognitive deficits and cholinergic dysfunction through the down-regulation of AChE expression and iNOS signaling pathways in hippocampus of aged rats. Journal of Molecular Neuroscience, 56, 2, 349-62.

D Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R, 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. Annali-Istituto Superiore di Sanita, 43, 4, 348.

Dai J, Mumper RJ, 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15, 10, 7313-52.

Damianaki A, Bakogeorgou E, Kampa M, Notas G, Hatzoglou A, Panagiotou S, Gemetzi C, Kouroumalis E, Martin PM, Castanas E, 2000. Potent inhibitory action of red wine polyphenols on human breast cancer cells. Journal of cellular biochemistry, 78, 3, 429-41.

Dasuri K, Zhang L, Keller JN, 2013. Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. Free Radical Biology and Medicine, 62, 170-85.

Fan Y, Ma M, Feng X, Song T, Wei Q, Lin T, 2021. Overexpression of aquaporin 2 in renal tubular epithelial cells alleviates pyroptosis. Translational Andrology and Urology, 10, 6, 2340.

Fang X, Yang B, Matthay MA, Verkman A, 2002. Evidence against aquaporin-1-dependent CO2 permeability in lung and kidney. The Journal of physiology, 542, 1, 63-9.

Feng J, Chen X, Lu S, Li W, Yang D, Su W, Wang X, Shen J, 2018. Naringin attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury through inhibiting peroxynitrite-mediated mitophagy activation. Molecular Neurobiology, 55, 12, 9029-42.

Fu Y, Tang C, Cai J, Chen G, Zhang D, Dong Z, 2018. Rodent models of AKI-CKD transition. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 315, 4, F1098-F106.

Fushimi K, Uchida S, Harat Y, Hirata Y, Marumo F, Sasaki S, 1993. Cloning and expression of apical membrane water channel of rat kidney collecting tubule. Nature, 361, 6412, 549-52.

Gaur V, Aggarwal A, Kumar A, 2009. Protective effect of naringin against ischemic reperfusion cerebral injury: possible neurobehavioral, biochemical and cellular alterations in rat brain. European journal of pharmacology, 616, 1-3, 147-54.

Gholampour F, Bagheri A, Barati A, Masoudi R, Owji SM, 2020. Remote ischemic perconditioning modulates apelin expression after renal ischemia-reperfusion injury. Journal of Surgical Research, 247, 429-37.

Gopinath K, Sudhandiran G, 2012. Naringin modulates oxidative stress and inflammation in 3-nitropropionic acid-induced neurodegeneration through the activation of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 signalling pathway. Neuroscience, 227, 134-43.

Hafazeh L, Changizi-Ashtiyani S, Ghasemi F, Najafi H, Babaei S, Haghverdi F, 2019. Stem cell therapy ameliorates ischemia-reperfusion induced kidney injury after 24 hours reperfusion. Iranian Journal of Kidney Diseases, 13, 6, 380.

Han M, Li S, Xie H, Liu Q, Wang A, Hu S, Zhao X, Kong Y, Wang W, Li C, 2021. Activation of TGR5 restores AQP2 expression via the HIF pathway in renal ischemia-reperfusion injury. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 320, 3, F308-F21.

Hesketh EE, Czopek A, Clay M, Borthwick G, Ferenbach D, Kluth D, Hughes J, 2014. Renal ischaemia reperfusion injury: a mouse model of injury and regeneration. JoVE (Journal of Visualized Experiments), 88, e51816.

Heymann JB, Engel A, 1999. Aquaporins: phylogeny, structure, and physiology of water channels. Physiology, 14, 5, 187-93.

Hohmann S, Bill RM, Kayingo G, Prior BA, 2000. Microbial MIP channels. Trends in microbiology, 8, 1, 33-8.

Hsiu S-L, Huang T-Y, Hou Y-C, Chin D-H, Chao P-DL, 2002. Comparison of metabolic pharmacokinetics of naringin and naringenin in rabbits. Life sciences, 70, 13, 1481-9.

Huang H, van Dullemen LF, Akhtar MZ, Faro M-LL, Yu Z, Valli A, Dona A, Thézénas M-L, Charles PD, Fischer R, 2018. Proteo-metabolomics reveals compensation between ischemic and non-injured contralateral kidneys after reperfusion. Scientific reports, 8, 1, 1-12.

Ikeda M, Matsuzaki T, 2015. Regulation of aquaporins by vasopressin in the kidney. Vitamins & Hormones, 98, 307-37.

Ishibashi K, Koike S, Kondo S, Hara S, Tanaka Y, 2009. The role of a group III AQP, AQP11 in intracellular organelle homeostasis. The Journal of Medical Investigation, 56, Supplement, 312-7.

Jeeva JS, Sunitha J, Ananthalakshmi R, Rajkumari S, Ramesh M, Krishnan R, 2015. Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. Journal of pharmacy & bioallied sciences, 7, Suppl 2, S331.

Jin Y, Li W, Liu X, Zhang T, Xia W, Wang Y, Ma K, 2014. Recombinant human erythropoietin pretreatment attenuates acute renal tubular injury against ischemia-reperfusion by restoring transient receptor potential channel-6 expression and function in collecting ducts. Critical Care Medicine, 42, 10, e663-e72.

Jung JS, Lee RH, Koh SH, Kim YK, 2000. Changes in expression of sodium cotransporters and aquaporin-2 during ischemia-reperfusion injury in rabbit kidney. Renal failure, 22, 4, 407-21.

Kang DG, Sohn EJ, Moon MK, Mun YJ, Woo WH, Kim MK, Lee HS, 2006. Yukmijihwang-tang ameliorates ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. Journal of Ethnopharmacology, 104, 1-2, 47-53.

Kierulf-Lassen C, Nielsen PM, Qi H, Damgaard M, Laustsen C, Pedersen M, Krag S, Birn H, Nørregaard R, Jespersen B, 2017. Unilateral nephrectomy diminishes ischemic acute kidney injury through enhanced perfusion and reduced pro-inflammatory and pro-fibrotic responses. PLoS One, 12, 12, e0190009.

Kim EJ, Lee YJ, Ahn YM, Lee H, Kang D-G, Lee H-S, 2013. Renoprotective effect of Alpiniae oxyphyllae Fructus on ischemia/reperfusion-induced acute renal failure. Archives of pharmacal research, 36, 8, 1004-12.

Kim GH, Kim JE, Rhie SJ, Yoon S, 2015. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. Experimental neurobiology, 24, 4, 325.

Kim J, Padanilam BJ, 2015. Renal denervation prevents long-term sequelae of ischemic renal injury. Kidney international, 87, 2, 350-8.

Korkmaz A, Kolankaya D, 2009. The protective effects of ascorbic acid against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. Renal failure, 31, 1, 36-43.

Kristensen MLV, Kierulf-Lassen C, Nielsen PM, Krag S, Birn H, Nejsum LN, Nørregaard R, 2016. Remote ischemic perconditioning attenuates ischemia/reperfusion-induced downregulation of AQP2 in rat kidney. Physiological reports, 4, 13, e12865.

Kruse E, Uehlein N, Kaldenhoff R, 2006. The aquaporins. Genome biology, 7, 2, 1-6.

Lai H-J, Zhan Y-Q, Qiu Y-X, Ling Y-H, Zhang X-Y, Chang Z-N, Zhang Y-N, Liu Z-M, Wen S-H, 2021. HMGB1 signaling-regulated endoplasmic reticulum stress mediates intestinal ischemia/reperfusion-induced acute renal damage. Surgery, 170, 1, 239-48.

Lei L, Wang W, Jia Y, Su L, Zhou H, Verkman AS, Yang B, 2017. Aquaporin-3 deletion in mice results in renal collecting duct abnormalities and worsens ischemia-reperfusion injury. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 1863, 6, 1231-41.

Lerink LJ, de Kok MJ, Mulvey JF, Le Dévédec SE, Markovski AA, Wüst RC, Alwayn IP, Ploeg RJ, Schaapherder AF, Bakker JA, 2022. Preclinical models versus clinical renal ischemia reperfusion injury: A systematic review based on metabolic signatures. American Journal of Transplantation, 22, 2, 344-70.

Li F, Zhan Z, Qian J, Cao C, Yao W, Wang N, 2021. Naringin attenuates rat myocardial ischemia/reperfusion injury via PI3K/Akt pathway‐mediated inhibition of apoptosis, oxidative stress and autophagy. Experimental and Therapeutic Medicine, 22, 2, 1-8.

Li W, Tan C, Liu Y, Liu X, Wang X, Gui Y, Qin L, Deng F, Yu Z, Hu C, 2015. Resveratrol ameliorates oxidative stress and inhibits aquaporin 4 expression following rat cerebral ischemia-reperfusion injury. Molecular medicine reports, 12, 5, 7756-62.

Liang H, Xu F, Wen X-J, Liu H-Z, Wang H-B, Zhong J-Y, Yang C-X, Zhang B, 2017. Interleukin-33 signaling contributes to renal fibrosis following ischemia reperfusion. European Journal of Pharmacology, 812, 18-27.

Lin P-T, Chen W-H, Zheng H, Lai Z-M, Zhang L-C, 2015. Involvement of AQP 1 in the cardio-protective effect of remifentanil post-conditioning in ischemia/reperfusion rats. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 8, 8, 12736.

Liu Q, Kong Y, Guo X, Liang B, Xie H, Hu S, Han M, Zhao X, Feng P, Lyu Q, 2021. GSK-3β inhibitor TDZD-8 prevents reduction of aquaporin-1 expression via activating autophagy under renal ischemia reperfusion injury. The FASEB Journal, 35, 8, e21809.

Liu W, Cheng L, Li X, Zhao L, Hu X, Ma Z, 2022. Short-term pretreatment of naringin isolated from Citrus wilsonii Tanaka attenuates rat myocardial ischemia/reperfusion injury. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 1-13.

Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N, 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy reviews, 4, 8, 118.

Mahmoud AM, Ashour MB, Abdel-Moneim A, Ahmed OM, 2012. Hesperidin and naringin attenuate hyperglycemia-mediated oxidative stress and proinflammatory cytokine production in high fat fed/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. Journal of Diabetes and its Complications, 26, 6, 483-90.

Matés JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN, 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. Clinical biochemistry, 32, 8, 595-603.

Mattill H, 1947. Antioxidants. Annual review of biochemistry, 16, 1, 177-92.

McCall MR, Frei B, 1999. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? Free Radical Biology and Medicine, 26, 7-8, 1034-53.

McCord JM, 2000. The evolution of free radicals and oxidative stress. The American journal of medicine, 108, 8, 652-9.

Mirończuk-Chodakowska I, Witkowska AM, Zujko ME, 2018. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. Advances in medical sciences, 63, 1, 68-78.

Nan L-P, Wang F, Ran D, Zhou S-F, Liu Y, Zhang Z, Huang Z-N, Wang Z-Y, Wang J-C, Feng X-M, 2020. Naringin alleviates H2O2-induced apoptosis via the PI3K/Akt pathway in rat nucleus pulposus-derived mesenchymal stem cells. Connective Tissue Research, 61, 6, 554-67.

Neha K, Haider MR, Pathak A, Yar MS, 2019. Medicinal prospects of antioxidants: A review. European journal of medicinal chemistry, 178, 687-704.

Nemoto T, Burne MJ, Daniels F, O'Donnell MP, Crosson J, Berens K, Issekutz A, Kasiske BL, Keane WF, Rabb H, 2001. Small molecule selectin ligand inhibition improves outcome in ischemic acute renal failure. Kidney international, 60, 6, 2205-14.

Nielsen S, Smith BL, Christensen EI, Knepper MA, Agre P, 1993. CHIP28 water channels are localized in constitutively water-permeable segments of the nephron. The Journal of cell biology, 120, 2, 371-83.

Ohkita M, Nakajima A, Ueda K, Takaoka M, Kiso Y, Matsumura Y, 2005. Preventive effect of flavangenol on ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 28, 9, 1655-7.

Oshikawa S, Sonoda H, Ikeda M, 2016. Aquaporins in urinary extracellular vesicles (exosomes). International Journal of Molecular Sciences, 17, 6, 957.

Owji SM, Nikeghbal E, Moosavi SM, 2018. Comparison of ischaemia–reperfusion-induced acute kidney injury by clamping renal arteries, veins or pedicles in anaesthetized rats. Experimental physiology, 103, 10, 1390-402.

Pan PL, Song W, Yang J, Huang R, Chen K, Gong QY, Zhong JG, Shi HC, Shang HF, 2012. Gray matter atrophy in behavioral variant frontotemporal dementia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. Dementia and geriatric cognitive disorders, 33, 2-3, 141-8.

Panche AN, Diwan AD, Chandra SR, 2016. Flavonoids: an overview. Journal of nutritional science, 5.

Park JH, Kho MC, Oh HC, Kim YC, Yoon JJ, Lee YJ, Kang DG, Lee HS, 2018. 1, 2, 3, 4, 6-Penta-O-Galloyl-β-D-glucose from galla rhois ameliorates renal tubular injury and microvascular inflammation in acute kidney injury rats. The American Journal of Chinese Medicine, 46, 04, 785-800.

Park JH, Ku HJ, Kim JK, Park J-W, Lee JH, 2018. Amelioration of high fructose-induced cardiac hypertrophy by naringin. Scientific reports, 8, 1, 1-11.

Pasten C, Alvarado C, Rocco J, Contreras L, Aracena P, Liberona J, Suazo C, Michea L, Irarrázabal CE, 2019. l-NIL prevents the ischemia and reperfusion injury involving TLR-4, GST, clusterin, and NFAT-5 in mice. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 316, 4, F624-F34.

Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, Chiarpotto E, 2004. Oxidative stress and cell signalling. Current medicinal chemistry, 11, 9, 1163-82.

Ren CC, Zhu W, Wang QW, Lu YT, Wang Y, Zhang GX, Xie JF, Wu JW, Jia ZM, Zhang T, 2018. The renal protect function of erythropoietin after release of bilateral ureteral obstruction in a rat model. Clinical Science, 132, 18, 2071-85.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G, 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free radical biology and medicine, 20, 7, 933-56.

Sabolic I, Valenti G, Verbavatz J-M, Van Hoek AN, Verkman A, Ausiello DA, Brown D, 1992. Localization of the CHIP28 water channel in rat kidney. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 263, 6, C1225-C33.

Saeed C, Houshang N, Sepeideh J, Fatemeh H, 2013. Protective effect of Rosa canina L fruit extracts on renal disturbances induced by reperfusion injury in rats. Kidney diseases, 7, 4, 290-8.

Sánchez-Martínez C, Torres-González L, Alarcón-Galván G, Muñoz-Espinosa LE, Zapata-Chavira H, Moreno-Peña DP, Náñez-Terreros H, Pérez-Rodríguez E, Garza-Ocañas L, Garza FJG-dl, 2020. Anti-inflammatory and antioxidant activity of essential amino acid α-ketoacid analogues against renal ischemia-reperfusion damage in Wistar rats. Biomédica, 40, 2, 336-48.

Schroeter H, Boyd C, Spencer JP, Williams RJ, Cadenas E, Rice-Evans C, 2002. MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. Neurobiology of aging, 23, 5, 861-80.

Sener G, Sehirli AÖ, Keyer-Uysal M, Arbak S, Ersoy Y, Yeğen BÇ, 2002. The protective effect of melatonin on renal ischemia–reperfusion injury in the rat. Journal of pineal research, 32, 2, 120-6.

Shan Y, Chen D, Hu B, Xu G, Li W, Jin Y, Jin X, Jin X, Jin L, 2021. Allicin ameliorates renal ischemia/reperfusion injury via inhibition of oxidative stress and inflammation in rats. Biomedicine & Pharmacotherapy, 142, 112077.

Sharma AK, Bharti S, Ojha S, Bhatia J, Kumar N, Ray R, Kumari S, Arya DS, 2011. Up-regulation of PPARγ, heat shock protein-27 and-72 by naringin attenuates insulin resistance, β-cell dysfunction, hepatic steatosis and kidney damage in a rat model of type 2 diabetes. British Journal of Nutrition, 106, 11, 1713-23.

Shi R, Su W-W, Zhu Z-T, Guan M-Y, Cheng K-L, Fan W-Y, Wei G-Y, Li P-B, Yang Z-Y, Yao H-L, 2019. Regulation effects of naringin on diesel particulate matter-induced abnormal airway surface liquid secretion. Phytomedicine, 63, 153004.

Shin S, Lee YJ, Kim EJ, Lee AS, Kang DG, Lee HS, 2011. Effect of Cuscuta chinensis on renal function in ischemia/reperfusion-induced acute renal failure rats. The American Journal of Chinese Medicine, 39, 05, 889-902.

Shiva N, Sharma N, Kulkarni YA, Mulay SR, Gaikwad AB, 2020. Renal ischemia/reperfusion injury: an insight on in vitro and in vivo models. Life sciences, 256, 117860.

Singh D, Chopra K, 2004. The effect of naringin, a bioflavonoid on ischemia-reperfusion induced renal injury in rats. Pharmacological research, 50, 2, 187-93.

Sonoda H, Yokota-Ikeda N, Oshikawa S, Kanno Y, Yoshinaga K, Uchida K, Ueda Y, Kimiya K, Uezono S, Ueda A, 2009. Decreased abundance of urinary exosomal aquaporin-1 in renal ischemia-reperfusion injury. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 297, 4, F1006-F16.

Takaoka M, Ohkita M, Kobayashi Y, Yuba M, Matsumura Y, 2002. Protective Effect Of α-LIPOIC Acid Against Ischaemic Acute Renal Failure In Rats. Clinical and experimental pharmacology and physiology, 29, 3, 189-94.

Takata K, Matsuzaki T, Tajika Y, 2004. Aquaporins: water channel proteins of the cell membrane. Progress in histochemistry and cytochemistry, 39, 1, 1-83.

Tesse A, Grossini E, Tamma G, Brenner C, Portincasa P, Marinelli RA, Calamita G, 2018. Aquaporins as targets of dietary bioactive phytocompounds. Frontiers in Molecular Biosciences, 5, 30.

Toba H, Kojima Y, Wang J, Noda K, Tian W, Kobara M, Nakata T, 2012. Erythropoietin attenuated vascular dysfunction and inflammation by inhibiting NADPH oxidase-derived superoxide production in nitric oxide synthase-inhibited hypertensive rat aorta. European journal of pharmacology, 691, 1-3, 190-7.

Valko M, Rhodes C, Moncol J, Izakovic M, Mazur M, 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-biological interactions, 160, 1, 1-40.

Verkman A, 2002. Aquaporin water channels and endothelial cell function. Journal of anatomy, 200, 6, 617-27.

Verkman A, Mitra AK, 2000. Structure and function of aquaporin water channels. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 278, 1, F13-F28.

Wang L, Zhang Z, Wang H, 2021. Naringin attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by inhibiting endoplasmic reticulum stress. Translational Neuroscience, 12, 1, 190-7.

Wang N, Zhou Y, Jiang L, Li D, Yang J, Zhang C-Y, Zen K, 2012. Urinary microRNA-10a and microRNA-30d serve as novel, sensitive and specific biomarkers for kidney injury. PloS one, 7, 12, e51140.

Wang R, Wu G, Dai T, Lang Y, Chi Z, Yang S, Dong D, 2021. Naringin attenuates renal interstitial fibrosis by regulating the TGF-β/Smad signaling pathway and inflammation. Experimental and Therapeutic Medicine, 21, 1, 1-.

Wei J, Zhang J, Wang L, Jiang S, Fu L, Buggs J, Liu R, 2019. New mouse model of chronic kidney disease transitioned from ischemic acute kidney injury. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 317, 2, F286-F95.

Williams P, Lopez H, Britt D, Chan C, Ezrin A, Hottendorf R, 1997. Characterization of renal ischemia-reperfusion injury in rats. Journal of pharmacological and toxicological methods, 37, 1, 1-7.

Yang CC, Sung PH, Chiang JY, Chai HT, Chen CH, Chu YC, Li YC, Yip HK, 2021. Combined tacrolimus and melatonin effectively protected kidney against acute ischemia-reperfusion injury. The FASEB Journal, 35, 6, e21661.

Zager RA, Johnson AC, Becker K, 2011. Acute unilateral ischemic renal injury induces progressive renal inflammation, lipid accumulation, histone modification, and “end-stage” kidney disease. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 301, 6, F1334-F45.

Zhang HH, Zhou XJ, Zhong YS, Ji LT, Yu WY, Fang J, Ying HZ, Chang-Yu Li CY, 2022. Naringin suppressed airway inflammation and ameliorated pulmonary endothelial hyperpermeability by upregulating Aquaporin1 in lipopolysaccharide/cigarette smoke-induced mice. Biomedicine and Pharmacotherapy. 150:113035.

Zhou C, Lai Y, Huang P, Xie L, Lin H, Zhou Z, Mo C, Deng G, Yan W, Gao Z, 2019. Naringin attenuates alcoholic liver injury by reducing lipid accumulation and oxidative stress. Life sciences, 216, 305-12.