



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANABİLİM DALI

**NARİNGİNİN BÖBREK HÜCRE HATTINDA
OLUŞTURULAN ENFLAMASYONA ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sema TAPAN

**Samsun
Haziran – 2019**



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANABİLİM DALI

**NARİNGİNİN BÖBREK HÜCRE HATTINDA
OLUŞTURULAN ENFLAMASYONA ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sema TAPAN

**Danışman
Prof. Dr. Gül Fatma YARIM**

**Samsun
Haziran – 2019**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sema TAPAN tarafından Prof. Dr. Gül Fatma YARIM danışmanlığında hazırlanan “Naringinin böbrek hücre hattında oluşturulan enflamasyona etkisinin araştırılması” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 20/06/2019 tarihinde yapılan sınav ile Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Gül Fatma YARIM
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Cevat NİSBET
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Nazmiye GÜNEŞ
Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / /

Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca hiçbir yardımını ve desteğini esirgemeyen, yetişmemde çok büyük emeği olan ve tecrübeleriyle bana ışık tutan danışman hocam sayın Prof. Dr. Gül Fatma YARIM'a,

Tez çalışmama verdiği katkılar ve yardımlarından dolayı ikinci danışman hocam sayın Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA'ya,

Tezimin laboratuvar çalışmaları boyunca vermiş olduğu değerli katkılardan dolayı Araş. Gör. Ayris GÖKÇEOĞLU'na,

Hücre kültürü çalışmalarında özverili katkılarda bulunan Araş. Gör. Bahadır MÜFTÜOĞLU'na,

Lisansüstü eğitimim süresince yardım, bilgi ve tecrübeleri ile emeği geçen Prof. Dr. Ali ERTEKİN, Prof. Dr. Sena ÇENESİZ, Prof. Dr. Cevat NİSBET ve Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ hocalarıma teşekkürü borç bilirim.

Lisansüstü eğitimimde beni destekleyen ve motive eden sevgili eşim Onur TAPAN'a,

Eğitimim boyunca hep yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok kıymetli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, PYO.VET.1904.18.002 numaralı proje ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

NARİNGİNİN BÖBREK HÜCRE HATTINDA OLUŞTURULAN ENFLAMASYONA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Güçlü antienflamatuar etkiye sahip bir flavonoid olan naringinin, sitokin ekspresyonunu baskılayarak antienflamatuar etkide bulunduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, naringinin *in vitro* böbrek hücre enflamasyonuna etkisi bilinmemektedir. Sunulan tez çalışmasının amacı, naringinin lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen böbrek hücre enflamasyonu üzerindeki etkisinin araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot: Sunulan tez çalışmasında, *in vitro* böbrek hücre enflamasyon modeli oluşturulması amacıyla Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) hücre kültürü kullanıldı. Enflamasyonun oluşturulması amacıyla MDBK hücre hattı 4 saat boyunca 5 µg/ml LPS'ye maruz bırakıldı. Çalışmada, negatif kontrol grubu (n=4), LPS grubu (n=4), naringin grubu (n=4) ve LPS+naringin grubu (n=4) olmak üzere 4 grup oluşturuldu. Naringinin uygun koruyucu dozu hücre sayım testi ile değerlendirildi. Hücre kültürü mediumlarında IL-1β ve TNF-α konsantrasyonları ELISA test kitleri kullanılarak belirlendi.

Bulgular: Naringinin 1900 µM konsantrasyonu ile 4 saat boyunca inkube edilen MDBK hücrelerinde hücre sağkalımının % 50 olduğunun belirlenmesi nedeniyle bu doz ve süre uygun koruyucu doz ve süre olarak seçildi. Bu çalışmanın sonuçları, LPS grubuna kıyasla naringinin, enflamatuar mediyatörler olan IL-1β ve TNF-α'nın üretimini doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde bastırdığını gösterdi (p<0,05).

Sonuç: Sunulan tez çalışmasının bulguları, böbrek hücre enflamasyonu *in vitro* modelinde naringin uygulamasının proenflamatuar sitokin yanıtını baskıladığını göstermektedir. Bu çalışmadan elde edilen bulguların *in vivo* ve klinik araştırmalarla desteklenmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Naringin; Böbrek hücre hasarı; *in vitro*; Lipopolisakkarit

Sema TAPAN, Yüksek Lisans Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Haziran-2019

ABSTRACT
INVESTIGATION OF THE EFFECT OF NARINGIN ON INFLAMMATION
INDUCED IN RENAL CELL LINE

Aim: Naringin, a flavonoid with a strong anti-inflammatory effect, is known to exert its anti-inflammatory effect by suppressing cytokine expression. However, the effect of naringin on *in vitro* renal cell inflammation is unknown. The purpose of this study was to investigate the effect of naringin on lipopolysaccharide (LPS)-induced renal cell inflammation.

Material and Method: In this thesis study, Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK) cell culture was used to create *in vitro* renal cell inflammation model. In order to induce inflammation, the MDBK cell line was exposed to 5 µg / ml LPS for 4 hours. In the study, 4 groups were composed: negative control group (n = 4), LPS group (n = 4), naringin group (n = 4) and LPS + naringin group (n = 4). The protective dose of naringin was evaluated by cell counting test. IL-1β and TNF-α concentrations were determined using ELISA test kits in cell culture media.

Results: Since the cell survival was 50% in MDBK cells incubated with a 1900 ildM concentration of naring for 4 hours, this dose and duration were selected as prophylactic dose and duration. The results of this study showed that naringin significantly suppressed the production of inflammatory mediators IL-1β and TNF-α in a dose-dependent manner compared to the LPS group.

Conclusion: The results of present study show that the naringin treatment in the *in vitro* model of renal cell inflammation suppresses the proinflammatory cytokine response. The findings of the this study need to be supported by *in vivo* and clinical trials.

Keywords: Naringin; *in vitro*; Lipopolysaccharide; Renal cell injury

SİMGELER VE KISALTMALAR

AGE:	İleri glikasyon son ürünleri
CaXPi:	Kalsiyum Fosfat ürünü
COX-2	Siklooksijenaz-2
CPP:	Kalsiprotein parçacıkları
DMEM:	Dulbecco's minimum essential medium
DMSO:	Dimetil sülfoksit
gal:	D-galaktoz
GFR:	Glomeruler filtrasyon hızı
gln:	Glutamin
HA:	Hidroksiapatit
ICAM-1:	Hücrelerarası adhezyon molekül-1
IL-1 β :	İnterlökin-1 beta
IL-2:	İnterlökin-2
IL-6:	İnterlökin-6
IS:	İndoksil sülfat
iNOS:	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
KDO:	2-keto-3-deoksioktulosonik asit
LITAF:	Lipopolisakkarit-indüklü tümör nekroz faktör
LPS:	Lipopolisakkarit
man:	D-mannoz

MAPK	Mitojen aktif protein kinaz
MCP-1	Monosit kemoatraktant protein-1
MDBK:	Madin Darby Bovine Kidney
Mg:	Magnezyum
MMP:	Matriksmetaloproteinazlar
NF-kB:	Nükleer faktör kappa b
rha:	L-rannoz
Th1:	T yardımcı hücre-1
Th2:	T yardımcı hücre-2
TNF- α :	Tümör nekroz faktör-alfa
uc-MGP:	Karboksile olmamış matriks glaproteini
Vit D:	D vitamini
Vit K:	K vitamini

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Enflamatuvar Böbrek Hastalıkları.....	3
2.2. Lipopolisakkarit	5
2.3. Böbrek Hastalıklarında Sitokinlerin Rolü	7
2.4. Naringin.....	11
2.5. Naringinin Enflamasyon Üzerine Etkileri.....	11
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. MDBK Hücre Kültürünün Hazırlanması	14
3.2. MDBK Hücre Kültüründe Enflamasyonun Oluşturulması	14
3.3. MDBK Hücre Kültürüne Naringin Uygulaması	14
3.4. Deneme Planı	15
3.5. Sitotoksisite Analizleri	15
3.6. IL-1 β Konsantrasyonunun Ölçümü.....	16
3.7. TNF- α Konsantrasyonunun Ölçümü.....	17
3.8. İstatistiksel Değerlendirme.....	17
4. BULGULAR	18
4.1. LPS'nin Enflamasyon Dozu.....	18
4.2. MDBK Hücrelerinde Naringinin Farklı Dozlarının Sitotoksisite Yüzdeleri.....	19
4.3. IL-1 β Konsantrasyonu.....	20
4.4. TNF- α Konsantrasyonu.....	21
5. TARTIŞMA	23
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	29
KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	45

1. GİRİŞ

Böbrek hastalıklarının etiopatogenezinde enflamasyon önemli bir rol oynamaktadır (Zhang ve ark., 2008; Panzer ve ark., 2009; Tucci ve ark., 2010; Lepenies ve ark., 2011). Sitokinler, nefritojenik immunitiyi başlatmak ve modüle etmek için antijenik hücreler, lökositler ve düzenleyici hücreler arasındaki ilişkiye katılarak böbrek enflamasyonuna neden olan immun yanıtları düzenlemektedirler (Tipping ve Hodlsworth, 2007). Sitokinler, böbreğe immun hücre infiltrasyonunu uyaran endotelial hücre adezyon moleküllerini ve kemokinleri modüle ederek etki göstermektedirler (Banas ve ark., 1999; Burne ve ark., 2001; Ramesh ve Reeves, 2002). Sitokin-aracılı enflamasyonun böbrek hemodinamiğini bozarak mikrovasküler tepkiyi etkilediği, reaktif oksijen türleri ile tubuler toksinleri uyarak tubuler hasara, nefron kaybına ve kronik böbrek hastalığına neden olduğu bilinmektedir (Beasley ve ark., 1988; Kohan ve ark., 1989; Girardin ve ark., 1994; Noronha ve ark., 2002; Shahid ve ark., 2008; Ponnuchamy ve Khalil, 2009; Safranow ve ark., 2009; Imig ve Ryan, 2013; Morrell ve ark., 2014). Enflamasyon, baskılanmadığında, glomeruler filtrasyon hızında devamlı düşüşe yol açarak son dönem böbrek hastalığı gibi ağır bir tabloyla sonuçlanabilmektedir (Noronha ve ark., 2002; Harris ve Neilson, 2006).

Flavonoidlerin, sitokin-aracılı enflamatuvar yanıtları modüle ederek enflamasyonla giden hastalıkların tedavisinde başarıyla kullanıldığı pek çok bilimsel çalışma ile ortaya konulmuştur. Flavonoidler bu etkilerini sitokinlerin ekspresyonunu azaltarak, reaktif oksijen türleri ve nitrik oksit gibi enflamatuvar mediyatörleri inhibe ederek, siklooksijenazlar ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz gibi enflamatuvar enzimlerin aktivitesini düzenleyerek ve transkripsiyon faktörlerini modüle ederek göstermektedirler (Tuñón ve ark., 2009; González-Gallego ve ark., 2010; Kumar ve Pandey, 2013; Ribeiro ve ark., 2015). Antienflamatuvar etkili flavonoidler, böbrek enflamasyonunun baskılanmasında da kullanılmaktadır (Impellizzeri ve ark., 2015; Xu ve ark., 2015; Kandemir ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2017).

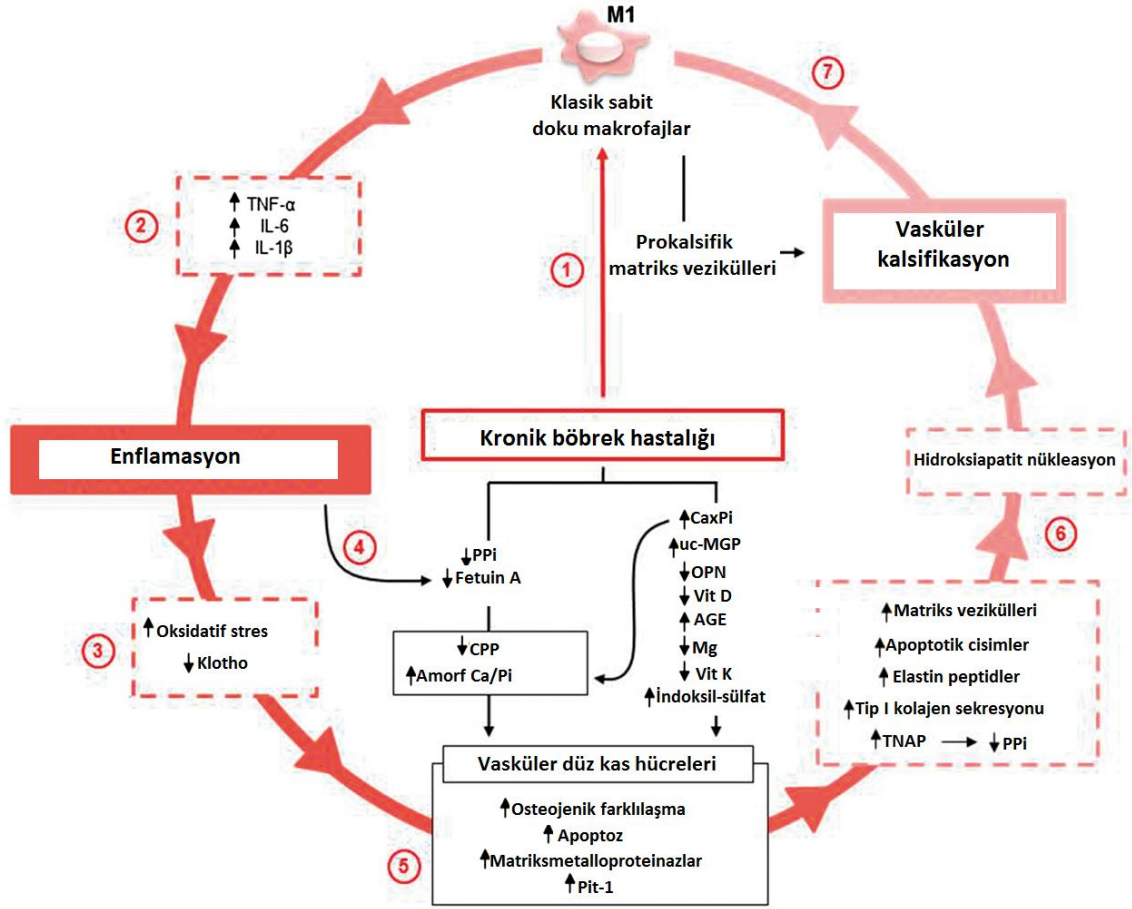
Güçlü antienflamatuar etkiye sahip bir flavonoid olan naringinin, sitokin ekspresyonunu baskılayarak antienflamatuar etkide bulunduğu bilinmekle birlikte, *in vitro* böbrek hücre enflamasyonuna etkisi bilinmemektedir. Sunulan tez çalışması ile naringinin lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen böbrek hücre enflamasyonu üzerindeki olası etkisi proenflamatuar sitokinler olan IL-1 β ve TNF- α konsantrasyonlarının ölçümüyle araştırıldı. Naringinin, MDBK hücrelerinde LPS'nin indüklediği enflamasyonu IL-1 β ve TNF- α konsantrasyonlarını azaltarak hafiflettiği saptandı. Tez çalışmasından elde edilen bulgular, naringinin enflamatuar böbrek hastalıklarının tedavisinde terapötik bir seçenek olarak değerlendirilebileceğine işaret etmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enflamatuar Böbrek Hastalıkları

Böbrek hastalıkları hem insanlarda hem de hayvanlarda yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Böbrek hastalıklarının erken tanısı ve tedavisi ilerleyici böbrek fonksiyon kaybının engellenmesinde ve morbiditenin azaltılmasında büyük önem taşımaktadır (Locatelli ve ark., 2002). Böbrek hastalıkları başlıca; akut böbrek yetmezliği, kronik böbrek yetmezliği, kalıtsal böbrek hastalıkları, böbrek taşı hastalığı, böbrek tümörü, böbrek enfeksiyonu, ilaç kaynaklı böbrek hastalığı ile diyabet ve hipertansiyon-ilişkili böbrek hastalıkları olmak üzere sınıflandırılmaktadır (Akdemir ve Birol, 2005). Enflamasyonun ve bağışıklık sistemindeki değişikliklerin hem akut böbrek yetmezliği hem de kronik böbrek yetmezliğinde rol oynadığı bilinmektedir. Böbrek hastalıklarını tetikleyen nedenler farklı olmakla birlikte, akut böbrek yetmezliği kronik böbrek yetmezliğine dönüşebilmekte ve kontrol altına alınmadığında son dönem böbrek hastalığına kadar varan ağır bir tablo şekillenebilmektedir (Imig ve Ryan, 2013).

Enflamatuar yollar, enflamatuar mediyatörleri ve düzenleyici yolları içermekte ve pek çok hastalığın patogenezini etkilemektedir. Enflamatuar yolları uyaran etmenler enflamatuar mediyatörlerin üretimini aktive eden hücre içi sinyal yollarını aktive etmektedir. Sitokinler dahil enflamasyon uyarıcıları, toll benzeri reseptörler (TLR) ve sitokin reseptörleri ile etkileşime girerek enflamasyona aracılık etmektedir. Reseptör aktivasyonu, transkripsiyon (STAT) yollarının aktivatörü, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), nükleer faktör kappa-B (NF- κ B) ve Janus kinaz (JAK)-sinyal dönüştürücü de dahil olmak üzere önemli hücre içi sinyal yollarını tetiklemektedir (Hendrayani ve ark., 2016). Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda interlökin-1 beta (IL-1 β), IL-6 ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) gibi proenflamatuar sitokinlerin aterosklerotik komplikasyonlar için risk faktörü olduğu, kardiyovasküler bozukluklara yol açtığı ve bu hastalarda morbiditede ve mortalitede rol oynadığı bildirilmiştir (Stenvinkel ve ark., 2000; 2002; Zoccali ve ark., 2000). Kronik böbrek hastalığında enflamasyonun neden olduğu vasküler kalsifikasyon döngüsü Şekil 1’de sunuldu.

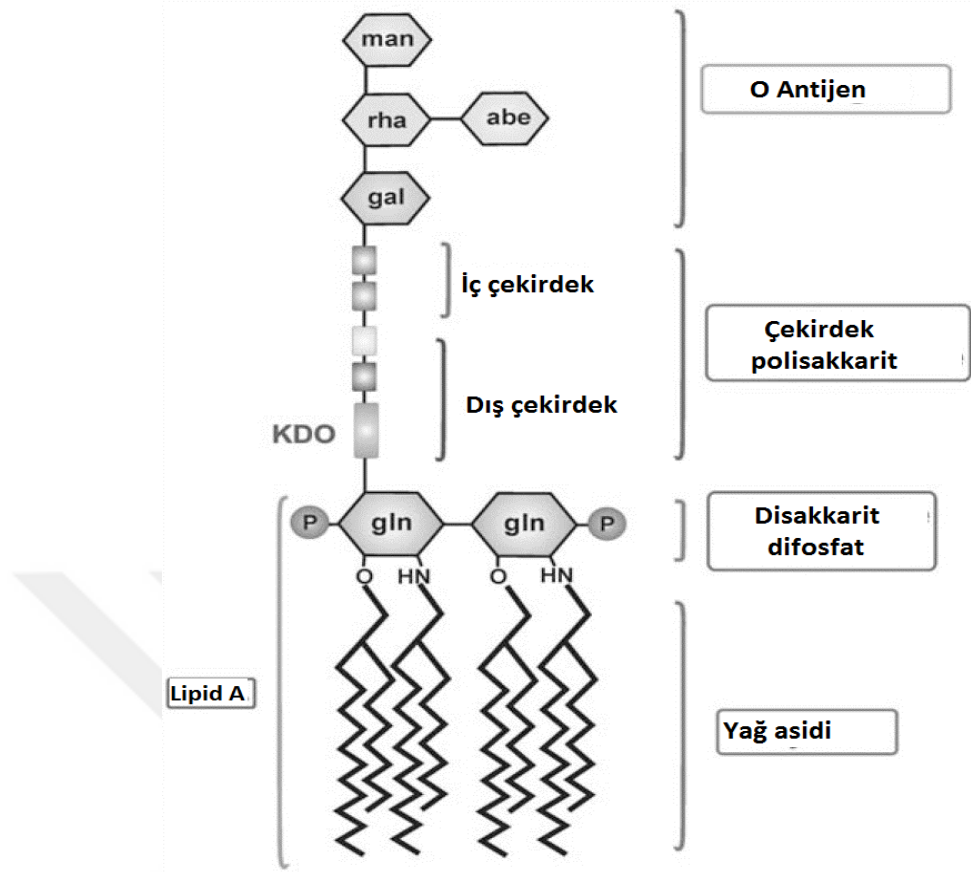


Şekil 1. Kronik böbrek hastalığında enflamasyonun neden olduğu vasküler kalsifikasyon döngüsü. Üremi klasik proenflamatuar M1 fenotipine karşı monosit/makrofajların aktivasyonunu teşvik eder (1). TNF- α , IL-6, IL-1 β proenflamatuar sitokinlerin salgılanmasını artırır (2). Enflamasyon kaynaklı oksidatif stres, vasküler düz kas hücrelerinde osteojenik farklılaşma ve kalsifikasyonun güçlü bir indükleyicisidir (3). Enflamasyona yanıt olarak fetuin-A'nın karaciğer sekresyonunun azalması, kalsiprotein partiküllerinin azalması yoluyla dolaylı olarak vasküler kalsifikasyonu destekleyebilir (4). Enflamatuar stokinler, kronik böbrek hastalığı kaynaklı matriks metalloproteinaz sekresyonunun güçlü indükleyicisidir (5), elastin yıkımını ve pro-kalsifik elastin peptidlerinin salınımını teşvik eder (6). Ca/P nanokristalleri sabit makrofajlar tarafından proenflamatuar sitokinlerin üretimini teşvik edebilir ve kalsifikasyonu daha da güçlendirebilir (7). AGE: İleri glikasyon son ürünleri; CaXPi: Kalsiyum Fosfat ürünü; CPP: Kalsiprotein parçacıkları; HA: Hidroksiapatit; IS: İndoksil sülfat; Mg: Magnezyum; MMP: Matriks metalloproteinazlar; uc-MGP: Karboksile olmamış matriks glaproteini; Vit D: D vitamini; Vit K: K vitamini (Hénaut ve Massy'den, 2018)

2.2. Lipopolisakkarit

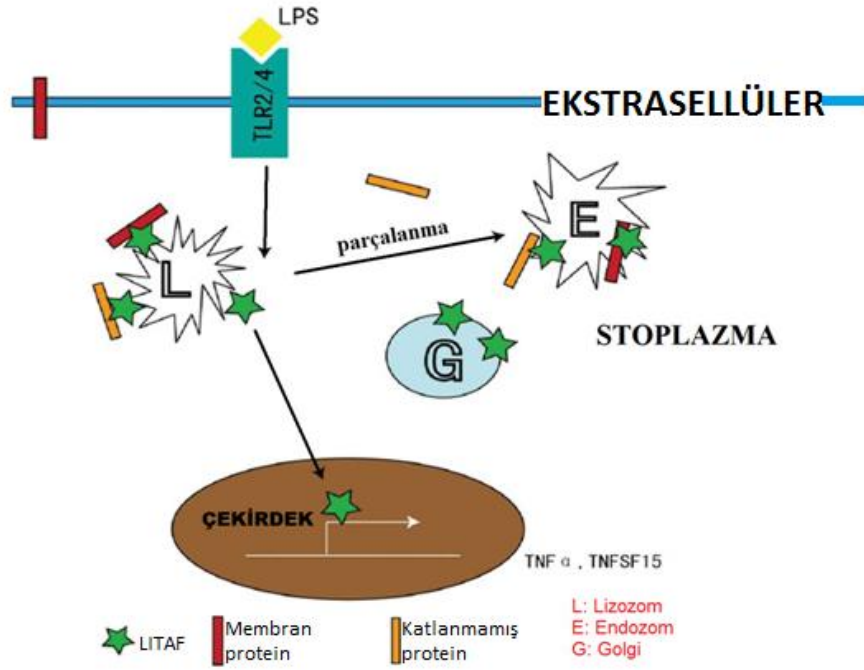
Lipopolisakkarit (LPS), çoğu gram negatif bakteri dış zarının ana lipidik bileşeni olup bu bakterileri ortamdaki zararlı bileşiklerden koruyan geçirgen bir bariyer oluşturan ve doğal immun sistem için önemli rol oynayan sinyal molekülüdür (Putker ve ark., 2015). Lipopolisakkarit bağışıklık sistemi üzerinde önemli etkiye sahiptir ve bir çok hastalık sürecinin patofizyolojisinde büyük önem taşımaktadır (Caroff ve ark., 2002; Erridge ve ark., 2002). Lipopolisakkarit, sadece doğuştan gelen bağışık yanıtı değil, aynı zamanda adaptif yanıtı da aktive etmektedir (Reyes ve ark., 2012). İnsan monositlerinde lipopolisakkarit uygulamasının sitokin ve kemokin salınımını artırdığı rapor edilmiştir (Rittig ve ark., 2004).

Lipopolisakkaritin yapısı, lipit A, çekirdek polisakkarit ve O antijeninden oluşmaktadır. Lipit A, zarın içine bağlanan yapının endotoksik ve hidrofobik kısımlarını meydana getirmektedir. Çekirdek polisakkarit, lipit A'yı O antijenine bağlamaktadır. O antijeni, LPS'nin bağışıklığı baskın kısmıdır ve bu nedenle konakçının humoral tepkisi için başlıca hedefdir. O antijen, gram-negatif bakterilerin serolojik sınıflandırılmasının temelini oluşturmaktadır. O antijeni doğuştan gelen bağışıklık yanıtı tarafından tanınmakta ve kompleman aktivasyonuna katılmaktadır (Reyes ve ark., 2012). Lipopolisakkarit yapısının şematik görünümü Şekil 2'de sunuldu.



Sekil 2. Lipopolisakkarit yapısının şematik görünümü. gal: D-galaktoz; man: D-mannoz; rha:L-rannoz; gln: glutamin; KDO: 2-keto-3-deoksioktulosonik asit (Galdiero ve ark.'dan, 2012)

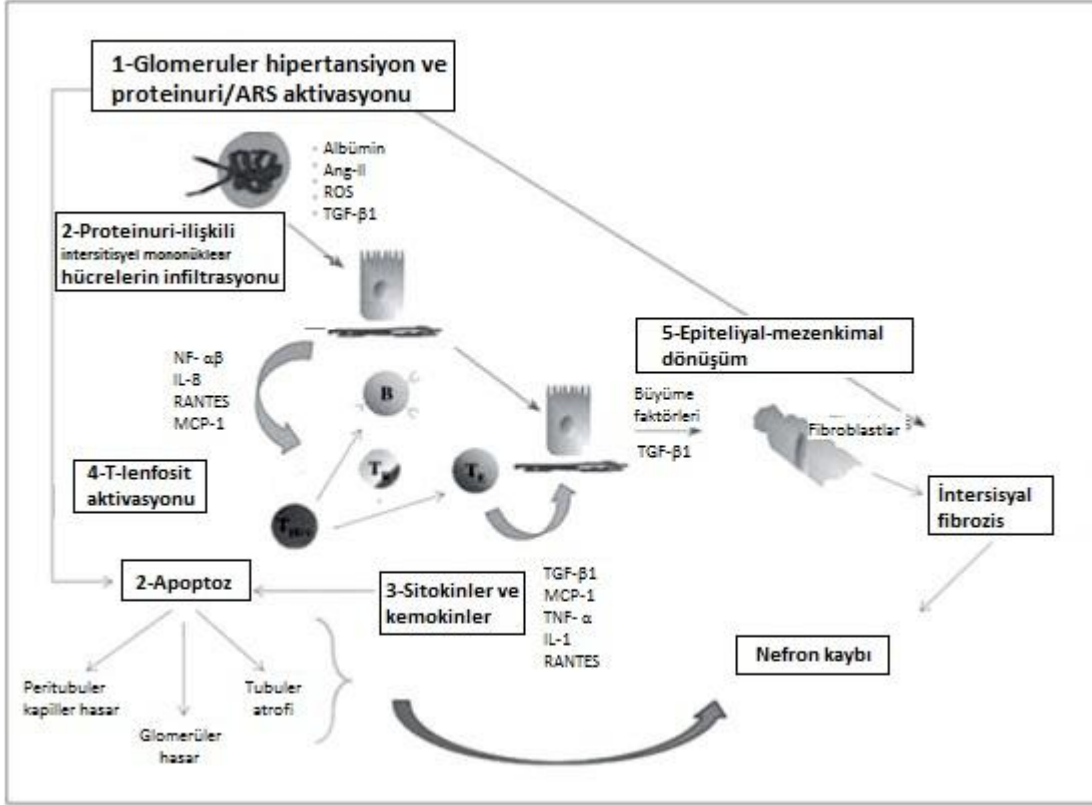
Lipopolisakkarit, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuar sitokinlerin üretimini teşvik ederek bağışıklık hücreleri için güçlü bir uyarıcı olmaktadır (Reyes ve ark., 2012). Bu sitokinlerin aşırı üretimi, sistemik enflamatuar cevap sendromu (SIRS), ciddi doku hasarı ve septik şokla sonuçlanabilmektedir (Huang ve ark., 2005; Shimazu ve ark., 1999). Lipopolisakkarit-indüklü tümör nekroz faktörün (LITAF) hücre içi lokalizasyonunun şematik görünümü Şekil 3'te sunuldu.



Şekil 3. Lipopolisakkarit-indüklü tümör nekroz faktörün (LITAF) hücre içi lokalizasyonunun şematik görünümü. LPS'nin stimülasyonu hedef geni uyarmak için stoplazmadaki LITAF'ın çekirdeğe yer değiştirmesine neden olur. LITAF protein parçalanmasını regüle etmek için lizozom veya endozomu hedef alabilir (Zou ve ark.'dan, 2015)

2.3. Böbrek Hastalıklarında Sitokinlerin Rolü

Böbrek hastalıklarının etiyopatogenezinde sitokinlerin rol oynadığı pek çok bilimsel çalışma ile kanıtlanmıştır (Floege ve Johnson, 1993; Lakkis ve Coêlho, 1995; Wada ve ark., 2003; Tipping ve Holdsworth, 2007; Hernandez ve Mayadas, 2009; Ortega ve Alessia, 2010; Glassock, 2011; Biswas, 2018). Nefrotik sendromun, mononükleer hücre TNF- α , IL-1, IL-4 ve IL-13 düzeylerinin, IL-18 düzey ve ekspresyonu ile IL-2 ekspresyonunun artışına neden olduğu bildirilmiştir (Suranyi ve ark., 1993; Shimoyama ve ark., 2004; Shalaby ve ark., 2013). Sitokinlerin böbrek hastalıklarındaki/hasarındaki rolü Şekil 4'te sunuldu (Vianna ve ark., 2011).



Şekil 4. Sitokinlerin böbrek hastalıklarındaki/hasarındaki rolü (Vianna ve ark.'dan, 2011)

Böbrek hastalıklarının patogeneğinde enflamatuar süreçlerin rol oynadığı bilinmektedir (Furuichi ve ark., 2009; Lepenies ve ark., 2011; Panzer ve ark., 2009; Tucci ve ark., 2010; Zhang ve ark., 2008). Böbrek hastalığının akut veya kronik olup olmasına bakılmaksızın, enflamatuar sitokinler, hem bağışıklık işlevinin mediyatörleri hem de renal hasarın başlatıcıları olarak merkezi bir role sahiptirler. TNF-α, TGF-β ve IL ailesi sodyum atılımı, böbrek kan akışı ve glomeruler filtrasyon hızını etkileyerek böbrekteki hemodinamiği bozmaktadırlar (İmiş ve Ryan, 2013).

IL-1, konak savunması, enflamasyon ve yaralanmada pek çok mekanizmadan sorumlu tutulan çok işlevli bir sitokin olarak bilinmektedir. Başlıca makrofajlar olmak üzere birçok hücre tipi tarafından üretilmektedir (Kielian ve ark., 2004; Morrissey ve Charrier, 1994). Glomeruler makrofajların ve mezengial hücrelerin IL-1 kaynağı olduğu bilinmektedir (Tipping ve ark., 1991; Tesch ve ark., 1997). IL-1β hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda birden fazla rol oynayan bir pleiotropik sitokindir (Dinarello, 1998; Tan ve ark., 1999; Tripepi G ve ark., 2005; Medzhitov, 2008; Arranz

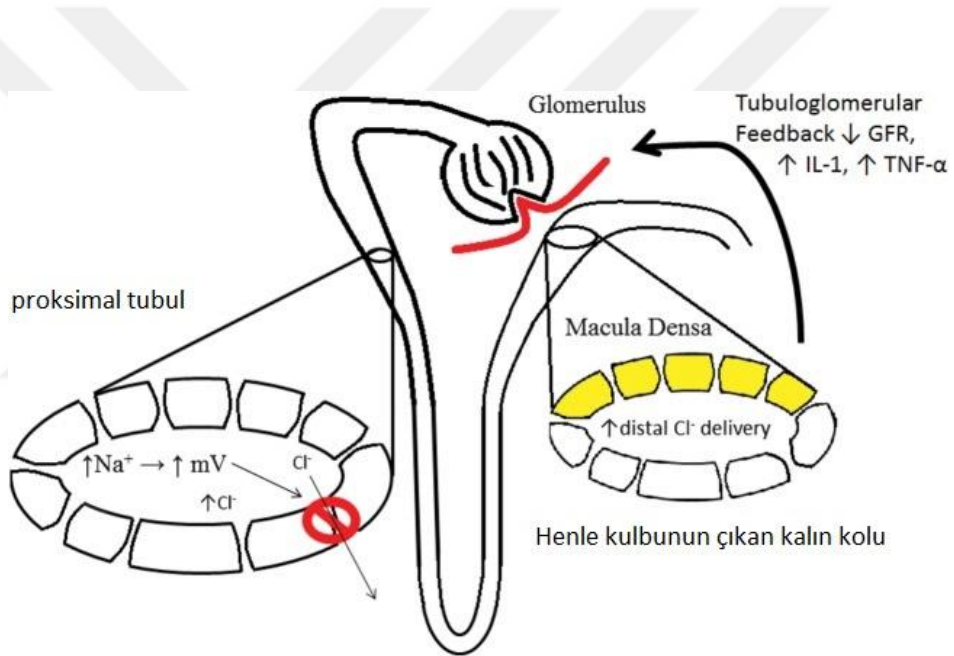
ve ark., 2017). Akut-faz yanıtın mediyatörü olan IL-6'nın, böbrek fonksiyon kaybı nedeniyle yükselmiş düzeyleri, son dönem böbrek yetmezliği hastalarında hipertansiyon ve sekonder enfeksiyon gelişiminde rol oynamaktadır (Pecoits-Filho ve ark., 2003). IL-6'nın kronik enflamasyonda da önemli rol oynadığı bilinmektedir (Smith ve ark., 2008, Kishimoto, 2010).

Sitokinler arasında TNF- α 'nın enflamatuvar hastalıkların en önemli mediyatörlerinden biri olduğu ileri sürülmektedir. TNF- α düzeyi bazı patojenik durumlarda yükselmekte ve kronik enflamasyon ile aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olmaktadır (Levine ve ark., 1990; Morrison ve ark., 1994; Tan ve ark., 1999; Locksley ve ark., 2001; Medzhitov, 2008). Kemokin/kemokin reseptör aracılı enflamasyon, akut böbrek hasarından kronik böbrek hastalığına kadar patolojik değişiklikleri düzenlemektedir (Furuichi ve ark., 2009). Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda bağışıklık sisteminde rol oynayan Toll benzeri reseptörler ailesinden TLR4'ün böbrekteki ekspresyonunun enflamatuvar belirteçler olan monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ve dönüştürücü büyüme faktörü-beta1 (TGF- β 1) ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Lepeniev ve ark., 2011).

Diyaliz hastalarında IL-4 ve IL-10 serum düzeylerinin prediyaliz hastalarına göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Kim ve ark., 2012). B lenfositler tarafından enfeksiyonları takiben salgılanan TNF- α ve interferon gamma (IFN γ) glomerülonefrit de dahil olmak üzere böbreği etkileyen immün aracılı süreçlerde rol oynamaktadır (Haas ve ark., 1997; Noronha ve ark., 1993). Glomerulonefritis hayvan modelinde TNF özellikle bağışıklık hücrelerini ve lokal kemokin oluşumunu uyararak enflamasyonu şiddetlendirmekte ve böbrek hasarını artırmaktadır (Timoshanko ve ark., 2003). MRL-Fas (lpr) farelerde IL-12 eksikliğinin nefriti ve böbrekteki IFN γ ekspresyonunu baskıladığı ve sistemik patolojiyi azalttığı rapor edilmiştir (Kikawada ve ark., 2003). Lupus nefrit hastalarının böbrek dokusunda IFN γ 'nın CD40'ın upregülasyonuna aracılık ederek hücresel bağışıklığı uyardığı ve glomerulonefritisin patogeneze katıldığı bildirilmiştir (Uhm ve ark., 2003).

Hücre kültürü modellerinde, klorür bakımından zengin mikro ortamların proenflamatuvar olduğu, artan nitrik oksit salınımına, interlökin-6: interlökin-10 oranlarına ve NF- κ B DNA bağlanmasına yol açtığı bildirilmiştir (Kellum ve ark., 2004). Rat sepsis modelinde yüksek klorit içeren çözeltiler ile resüsitasyonun, normotensif bile

olsa, artan IL-6, IL-10 ve TNF- α seviyeleri ile proenflamatuar bir durumu desteklediği gösterilmiştir (Kellum ve ark., 2006). Sistemik klorür seviyelerinden bağımsız olarak, distal tubuler klorür maruziyetini artıran sepsisteki faktörlerin hemodinamik ve enflamatuar süreçler boyunca bozulmuş böbrek fonksiyonlarına neden olması muhtemeldir (Schnermann ve ark., 1976; Salomonsson ve ark., 1993; Hashimoto ve ark., 2004). Proenflamatuar sitokinler sepsis sırasında renal klorür giriş nakil proteinlerinin aşağı yönde düzenlenmesine neden olarak klorürün distal dağıtımını artırmaktadır (Schmidt ve ark., 2007). Proenflamatuar sitokinlerin böbreğe klorür taşıyan proteinlerin aşağı yönde düzenlenmesine neden olarak klorürün distal dağıtımının artışıdaki etkisi Şekil 5’te sunuldu.

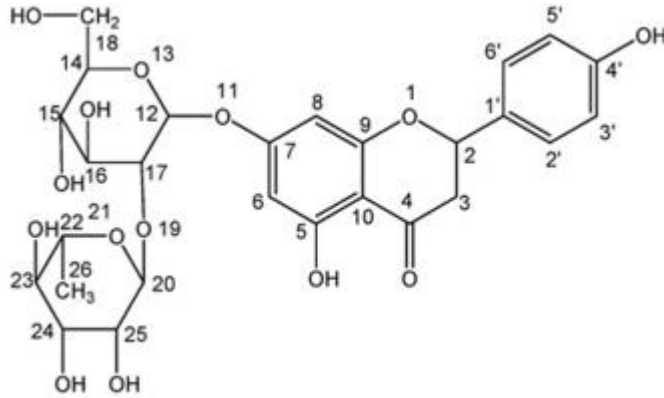


Şekil 5. Proenflamatuar sitokinler sepsis sırasında böbreğe klorür taşıyan proteinlerin aşağı yönde düzenlenmesine neden olarak, klorürün distal dağıtımını artırmaktadır (Morrell ve ark.’dan, 2014)

Enflamasyonun baskılanması, böbrek dokusunun korunmasında önemli bir terapötik yaklaşım olarak görülmektedir (Chen ve ark., 2015; Jung ve ark., 2014; Lin ve ark., 2014; Pye ve ark., 2014; Xu ve ark., 2015).

2.4. Naringin

Naringin (4',5,7-trihidroksi flavon 7-ramnoglukozid), turunçgillerde bulunan bir flavondur (Bharti ve ark., 2014). Naringinin kimyasal formülü $C_{27}H_{32}O_{14}$ olup 580,4 g/mol moleküler ağırlığına sahiptir ve suda orta derecede çözünmektedir (Choudhury ve ark., 1999; Alam ve ark., 2014). Naringinin antioksidan, antienflamatuar ve antiapoptotik aktiviteye sahip olduğu pek çok bilimsel çalışma sonucunda rapor edilmiştir. Aterosklerozda, kardiyovasküler bozukluklarda, diabetes mellitusta, nörodejeneratif bozukluklarda, osteoporozda ve romatolojik bozukluklarla ilgili *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda naringinin faydalı etkileri belirlenmiştir (Bharti ve ark., 2014). Naringin, yüksek yağ ve yüksek kolesterol diyeti ile beslenen ratlarda kolesterol biyosentezini azaltmaktadır (Kim ve ark., 2006). Naringinin yapısı Şekil 6'da sunuldu.



Şekil 6. Naringinin yapısı (Zhang ve ark.'dan, 2013)

2.5. Naringinin Enflamasyon Üzerine Etkileri

Naringinin antienflamatuar etkili olduğu *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar ile ortaya konulmuştur (Singh ve ark. 2004; Kanno ve ark., 2006; Inês Amaro ve ark., 2009; Jain ve ark., 2011; Kawaguchi ve ark., 2011; Liu ve ark., 2012; Bi ve ark., 2016). Naringin doğal biyoaktif bileşiktir (Zhang ve ark., 2012) ve metal kenetleme özelliğine sahiptir (Ganesh ve Tiyyagura, 2011). Naringinin radyasyonla indüklenen mikronukleus oluşumunu ve farelerde kromozomal bozuklukları azalttığı bildirilmiştir (Jagetia ve Reddy, 2002; Jagetia ve ark., 2003). Doğrudan serbest radikal süpürücü aktivitesi ve

dolaylı antioksidan etkisinden dolayı oksidatif stresin baskılanmasında naringinin önemli etkileri belirlenmiştir (Singh ve ark., 2004; Amudha ve Pari, 2011). Ayrıca, naringin, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidazının gen ifadesini yukarı regüle ettiği bildirilmektedir (Jeon ve ark., 2001). Deneysel çalışmalar naringinin ayrıca hipolipidemik (Jeon ve ark., 2004), antikanserojenik ve kardiyoprotektif (Rajadurai ve Prince, 2009), antimutajenik (Higashimoto ve ark., 1996), antienflamatuar (So ve ark., 1996; Gopinath ve Sudhandiran, 2012) ve antimikrobiyal (Kim ve ark., 1998) etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Meme kanseri hücre çoğalmasının ve meme tümör oluşumunun naringin tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (So ve ark., 1996). Fare makrofaj hücre hattında naringin uygulamasının lipopolisakkaritle uyarılan NF-κB sinyalizasyon yolağını baskılayarak antienflamatuar etki gösterdiği ileri sürülmüştür (Hattori ve ark., 2016). Naringinin, fare primer kondrosit kültüründe TNF-α ile uyarılan NF-κB sinyalizasyon yolağını bloke ederek antienflamatuar etki gösterdiği ve osteoartrit de dahil olmak üzere dejeneratif eklem hastalıklarının tedavisinde potansiyel bir hedef olabileceği rapor edilmiştir (Zhao ve ark., 2016). Naringinin siklofosfamid ile indüklenen hepatotoksisite ve nefrotoksisiteye karşı etkili bir koruyucu olduğu bildirilmiştir (Çağlayan ve ark., 2018). Naringin, diyabetik nefropatinin ilerlemesini NADPH oksidaz 4'ü inhibe ederek baskılamaktadır (Zhang ve ark., 2017). Naringinin, ratlarda alüminyum kaynaklı nörotoksisitede gelişen hafıza kaybına ve mitokondriyal oksidatif hasara karşı koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir (Prakash ve ark., 2013). Naringin farelerde akrolein ile indüklenen akciğer hasarında apoptotik ve enflamatuar sinyal yollarını modüle ederek koruyucu etki gösterdiği ifade edilmiştir (Kim ve ark., 2018). Naringinin, ksantin oksidaz aktivitesini önemli ölçüde inhibe ettiği *in vitro* olarak gösterilmiştir (Russo ve ark., 2000). Yüksek yağlı bir diyetle beslenen farelerde naringinin, düşük dereceli enflamatuar bir durum olan metabolik sendromu iyileştirdiği bildirilmiştir (Pu ve ark., 2012).

TNF- α ve IL-1 β gibi LPS tarafından indüklenen proenflamatuar sitokinlerin, enflamatuar hastalıkların sürecinde önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. Bu nedenle de bu enflamatuar mediyatörlere müdahale etmek pek çok enflamatuar hastalığın tedavisinde önemli bir hedef olarak görülmektedir (Yang ve ark., 2019). Flavonoidler, enflamatuar hastalıkların profilaksisinde ve tedavisinde yaygın kullanım alanı bulmaktadır (Xin ve ark., 2016; Escibano-Ferrer ve ark., 2019; Ginwala ve ark., 2019; Jin ve ark., 2019; Ye ve ark., 2019). Böbreğin enflamatuar hastalıklarının tedavisinde de flavonoid uygulamaları enflamasyon mediyatörlerini modüle ederek başarıyla kullanılmaktadır (Xin ve ark., 2016; Tomar ve ark., 2017; Zhong ve ark., 2018).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. MDBK Hücre Kültürünün Hazırlanması

Sunulan tez çalışmasında, *in vitro* böbrek hücre enflamasyon modeli oluşturulması amacıyla Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) devamlı hücre kültürü kullanıldı. Hücre kültürü çalışmaları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Hücreler için besi ortamı olarak % 10 fetal dana serumu ve % 1 penisilin/streptomisin içeren Dulbecco's minimum essential medium (DMEM) kullanıldı. Hücreler bu besi ortamını içeren 25 cm²'lik ve 75 cm²'lik flasklarda, iç ortamı % 5 CO₂, % 95 hava karışımı kapsayan 37° C'lik inkubatörde tutularak ve rutin pasajları yapılarak üretildi. Hücrelerin sağkalımı ve morfolojik yapıları invert mikroskopta takip edildi.

3.2. MDBK Hücre Kültüründe Enflamasyonun Oluşturulması

MDBK hücreleri, enflamasyonun indüklenmesi amacıyla 2, 4, 8 ve 24 saat boyunca steril dimetil sülfoksit içerisinde hazırlanan 0,1 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml, 5 µg/ml ve 10 µg/ml lipopolisakkarit (E. coli O111: B4) (L4391, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA) konsantrasyonlarına maruz bırakıldı (Hu ve ark., 2012). Uygulamalar sonucunda hücre mediumları 2.500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen supernatantlarda IL-1β ve TNF-α konsantrasyonları ölçüldü.

3.3. MDBK Hücre Kültürüne Naringin Uygulaması

Hücreler 4 saat boyunca steril dimetil sülfoksit içerisinde hazırlanan farklı naringin (N1376, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA) konsantrasyonları (500 µM, 1000 µM, 1500 µM, 1900 µM ve 2000 µM) ile kültüre edildi ve uygun koruyucu doz hücre sayım testi sonucuna göre belirlendi (Liu ve ark., 2012; Bacanlı ve ark., 2015). Hücre kültürlerinde tüm uygulamalar dört tekrarlı gerçekleştirildi.

3.4. Deneme Planı

MDBK hücre kültürü çalışmalarında kullanılan deneme gruplarında gerçekleştirilen uygulamalar Tablo 1’de özetlendi.

Tablo 1. Deneme grupları (n=4).

Gruplar	Uygulama
Grup 1 (negatif kontrol grubu)	DMEM vasat ortamındaki MDBK hücrelerine herhangi bir uygulama yapılmadı
Grup 2	DMEM vasat ortamındaki MDBK hücreleri 4 saat boyunca 5 µg/ml lipopolisakkarite maruz bırakıldı
Grup 3	DMEM vasat ortamındaki MDBK hücreleri 4 saat boyunca 1900 µM naringine maruz bırakıldı
Grup 4	DMEM vasat ortamındaki MDBK hücreleri aynı anda olmak üzere 4 saat boyunca 5 µg/ml lipopolisakkarite + 1900 µM naringine maruz bırakıldı

Deneme gruplarında gerçekleştirilen uygulamalardan sonra MDBK hücre kültürü mediumları 2.500 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üstte bulunan berrak supernatantlar ELISA analizleri gerçekleştirilinceye kadar -80°C’da muhafaza edildi.

3.5. Sitotoksisite Analizleri

MDBK hücrelerinin canlılığı, kolorimetrik hücre sayım kiti (96992, Sigma-Aldrich, USA) yardımıyla tespit edildi. Testin uygulanmasında üretici firmanın bildirdiği basamaklar gerçekleştirildi. Kısaca, grup1, grup 2, grup 3 ve grup 4’teki MDBK hücreleri, 96 oyuklu bir mikroplyette 1 ml’sinde 1×10^5 hücre olacak şekilde ekilerek 37°C’ lik inkübatörde 24 saat bekletildi. Hücreler pleyt yüzeyini kapladığında kuyucuklardaki hücre üretme vasatı uzaklaştırıldıktan sonra hücre üretme vasatında hazırlanan LPS (0,1 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml, 5 µg/ml ve 10 µg/ml) ve/veya naringin (500 µM, 1000 µM, 1500 µM, 1900 µM ve 2000 µM) ikiye kuyucuğa olmak üzere 10

μl eklendi ve 22°C ' lik inkübatörde 12 saat süre ile inkube edildi. Negatif kontrol hücrelerin kuyucuklarına naringin yerine $10 \mu\text{l}$ hücre üretme vasatı pipetlendi. Daha sonra, her bir kuyucuğun kültür ortamına $10 \mu\text{l}$ CCK-8 çözeltisi ilave edildi ve mikroplyt 2 saat boyunca 37°C lik inkübatörde bekletildi. Süre sonunda her bir kuyucuğun 450 nm 'deki absorbanısı, mikroplyt okuyucuda (Infinite F50, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria) kaydedildi. Test 4 defa yinelendi ve LPS'nin sitotoksik dozu ile naringinin nonsitotoksik dozu “[1- (OD test) / (OD kontrol)] $\times 100$ ” formülüne göre hesaplandı.

3.6. IL-1 β Konsantrasyonunun Ölçümü

MDBK hücre kültürü supernatantlarında IL-1 β konsantrasyonu sıgır spesifik ELISA test kiti (MBS2609338, MyBioSource, Inc. San Diego, CA, USA) kullanılarak belirlendi. ELISA basamakları üretici firmanın önerdiği şekilde gerçekleştirildi ve çift örnekleme gerçekleştirildi. Kitin ölçüm aralığı $15,6 \text{ pg/ml} - 1.000 \text{ pg/ml}$ olup ölçüm hassasiyeti 5.0 pg/ml idi. Stok standart solüsyondan (1.000 pg/ml) standart örnek sulandırıcı kullanılarak 500 pg/ml , 250 pg/ml , 125 pg/ml , $62,5 \text{ pg/ml}$, $31,2 \text{ pg/ml}$, $15,6 \text{ pg/ml}$ 'lik standartlar hazırlandı. Negatif kontrol olarak standart örnek sulandırıcı kullanıldı. Mikroplytteki kuyucuklara standart örneklerinden ve hücre kültürü supernatantlarından 100 'er μl pipetlendi. Mikroplytin üzerine şeffaf film yapıştırıldıktan sonra 37°C 'de 90 dak bekletildi. Daha sonra mikroplyt 2 kez yıkandı. Ardından, tüm kuyucuklara 100 'er μl biyotinlenmiş IL-1 β antikoru eklenerek üzerine şeffaf film yapıştırıldıktan sonra mikroplyt 37°C 'de 60 dak inkube edildi. Süre sonunda mikroplyt 3 kez yıkandı. Blank kuyucukları hariç olmak üzere diğer kuyucuklara $100 \mu\text{l}$ enzim konjugat pipetlendi ve üzeri şeffaf filmle kaplanarak 37°C 'de 30 dak bekletildi. Daha sonra mikroplyt 5 kez yıkandı. Bütün kuyucuklara $100 \mu\text{l}$ renk solüsyonu eklenerek 37°C 'de 30 dak bekletildi. Daha sonra tüm kuyucuklara $100 \mu\text{l}$ renk solüsyonu C eklenerek 10 dak içinde mikroplytin optik dansitesi mikroplyt okuyucuda (Infinite F50, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria) 450 nm 'de okundu. IL-1 β konsantrasyonları standart eğriden hesaplanarak sonuçlar pg/ml olarak sunuldu.

3.7. TNF- α Konsantrasyonunun Ölçümü

Hücre kültürü supernatantlarında TNF- α konsantrasyonu sığır spesifik ELISA kiti (MBS2609886,) kullanılarak ölçüldü ve çift örnekleme gerçekleştirildi. Kitin ölçüm aralığı 15,6 pg/ml - 1.000 pg/ml olup ölçüm hassasiyeti 5.0 pg/ml idi. Stok standart olan 1.000 pg/ml konsantrasyondaki standart örnek sulandırıcı ile sulandırılarak 500 pg/ml 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,2 pg/ml ve 15,6 pg/ml ve 0 pg/ml'lik standartlar hazırlandı. Standart örnek sulandırıcı negatif kontrol olarak kullanıldı. Mikropleyttteki standart kuyucuklarına 100'er μ l standart örneklerinden, test kuyucuklarına 100'er μ l hücre kültürü supernatantlarından eklendi. Üzeri şeffaf filmle kaplanan mikropleyt 37° C'de 90 dak inkubasyona alındı ve süre sonunda mikropleyt 2 kere yıkandı. Bütün kuyucuklara 100 μ l biyotinlenmiş TNF- α antikorı eklendi ve üzeri şeffaf filmle kapatıldıktan sonra mikropleyt 37° C'de 60 dak bekletildi ve ardından mikropleyt 3 kez yıkandı. Blank kuyucukları hariç tutularak diğer kuyucuklara 100 μ l enzim konjugat pipetlendi ve üzeri şeffaf filmle kaplanarak 37° C'de 30 dak bekletildi ve süre sonunda mikropleyt 5 kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 μ l renk solüsyonu pipetlendi ve 37° C'de 30 dak bekletildi. Süre sonundatüm kuyucuklara 100 μ l renk solüsyonu C pipetlendikten sonra 10 dak içinde mikropleytin optik dansitesi 450 nm'de mikropleyt okuyucuda (Infinite F50, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria) okundu. IL-1 β konsantrasyonları standart eğriden hesaplanarak sonuçlar pg/ml olarak sunuldu.

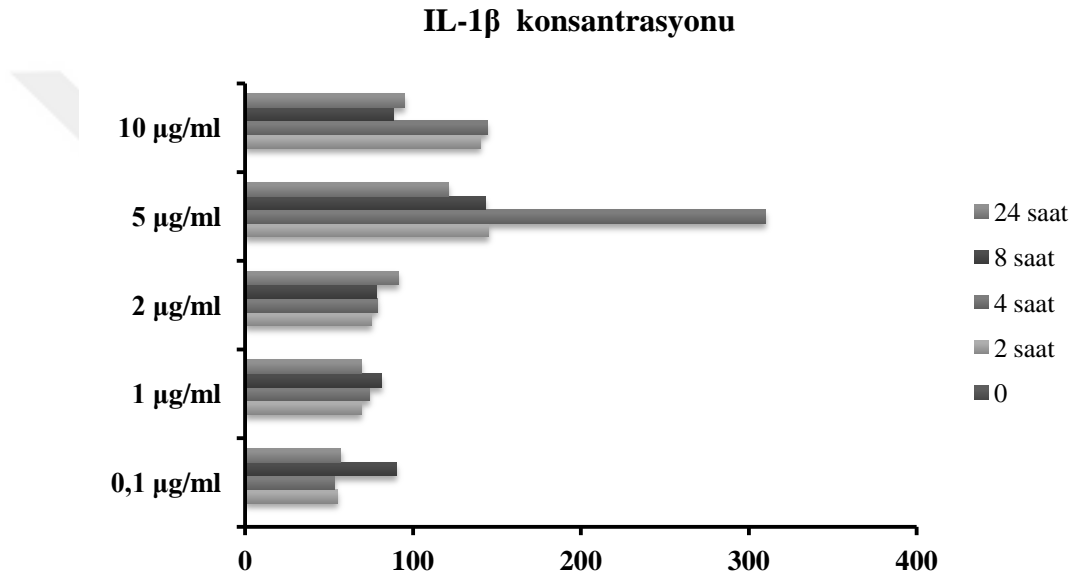
3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Deneme gruplarından elde edilen sonuçların istatistiksel analizlerinde SPSS 22.0 paket programından yararlanıldı. Tüm sonuçlara önemlilik testi öncesinde parametrik test varsayımlarından normallik yönünden Shapiro Wilk, varyansların homojenliği yönünden Levene testi uygulandı. Gruplar arası farklılığın anlamlı bulunduğu durumlarda ileri aşama (post-hoc) testi olarak parametrik test varsayımlarını sağlayan değişkenler için Duncan testinden yararlanıldı. Tekrarlı deneylerin sonuçları, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Tüm istatistiksel değerlendirmeler için $p < 0,05$ anlamlı fark olarak kabul edildi.

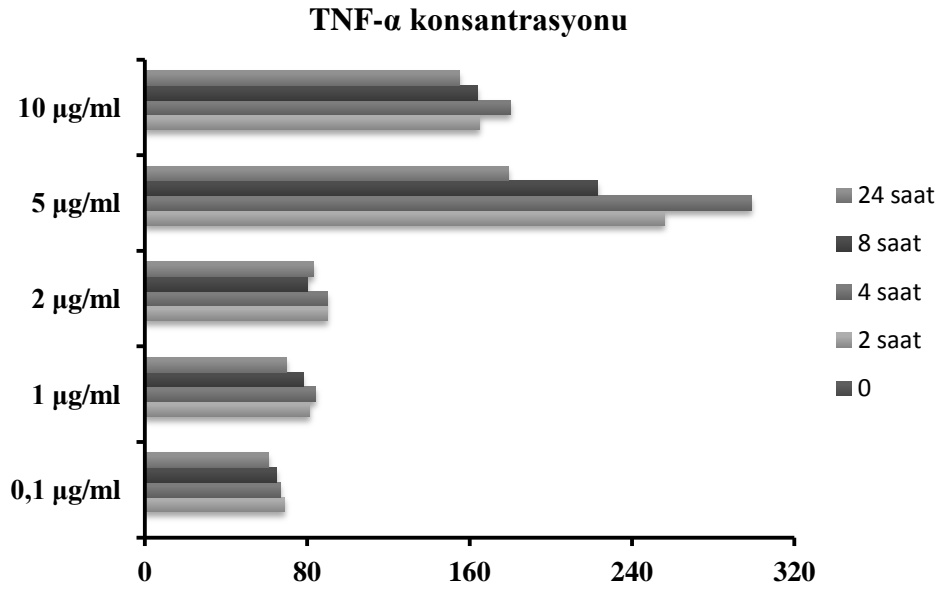
4. BULGULAR

4.1. LPS'nin Enflamasyon Dozu

MDBK hücre kültüründe enflamasyonun oluşturulması amacıyla 4 saat boyunca 5 µg/ml dozda uygulanan LPS'nin en yüksek IL-1β ve TNF-α düzeylerine yol açması nedeniyle bu süre ve doz seçildi (Şekil 7 ve 8). Bütün uygulamalar dört kez tekrarlandı.



Şekil 7. LPS'nin farklı süre ve konsantrasyonlarda uygulandığı MDBK hücrelerinde IL-1β düzeyi



Şekil 8. LPS'nin farklı süre ve konsantrasyonlarda uygulandığı MDBK hücrelerinde TNF- α düzeyi

4.2. MDBK Hücrelerinde Naringinin Farklı Dozlarının Sitotoksisite Yüzdeleri

Naringinin, MDBK hücre hattında 500 μ M - 2000 μ M konsantrasyonlardaki dozlarının 4 saat süre sonunda oluşturduğu hücre sağkalım oranları Tablo 2'de sunuldu.

Tablo 2. Naringinin farklı konsantrasyonlarına ait hücre sağkalım oranları (4 tekrarlı).

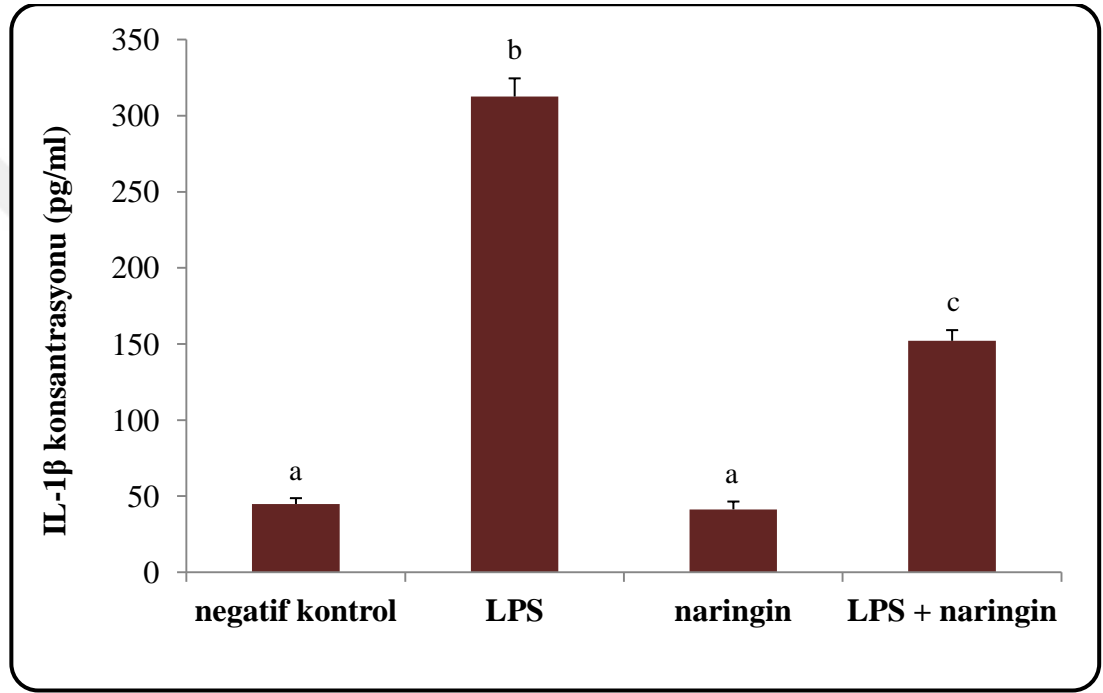
Naringin konsantrasyonu	OD				Ort. OD	Hücre sağ kalım oranı (%)
	1. tekrar	2. tekrar	3. tekrar	4. tekrar		
500 μ M	0,2632	0,2029	0,2019	0,2519	0,2299	88
1000 μ M	0,1823	0,1643	0,1808	0,1707	0,1745	68
1500 μ M	0,1885	0,1568	0,1169	0,157	0,1548	61
1900 μ M	0,1241	0,1242	0,1302	0,1301	0,1271	50
2000 μ M	0,1147	0,1104	0,1278	0,1286	0,1203	47
Negatif kontrol	0,2611	0,2299	0,2582	0,2632	0,2531	100

MDBK hücre hattında 4 saat boyunca 500 μ M, 1000 μ M, 1500 μ M, 1900 μ M ve 2000 μ M konsantrasyonlarında naringin uygulaması sonucunda hücre sağkalım oranlarının sırasıyla % 88, % 68, % 61, % 50 ve % 47 olduğu belirlendi. Naringinin 1900 μ M konsantrasyonu ile 4 saat boyunca inkube edilen MDBK hücrelerinde hücre

sağkalımının % 50 olduğunun belirlenmesi nedeniyle bu doz ve süre uygun koruyucu doz ve süre olarak seçildi.

4.3. IL-1 β Konsantrasyonu

Negatif kontrol, LPS, naringin ve LPS + naringin gruplarına ait IL-1 β konsantrasyonları Şekil 9’da sunuldu.



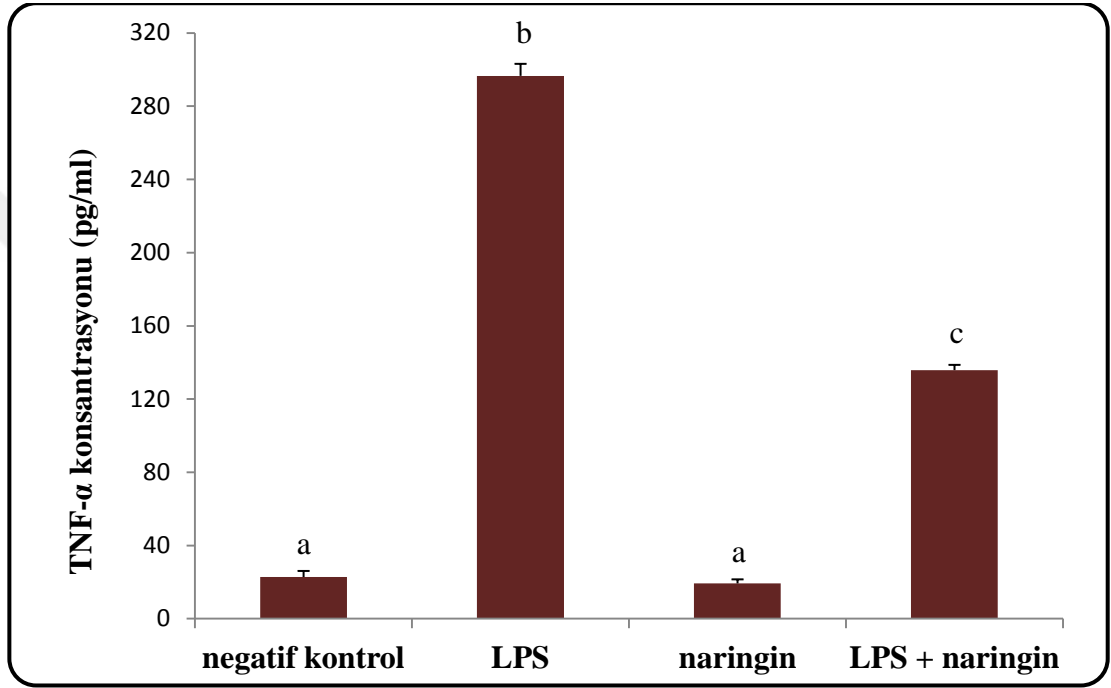
Şekil 9. MDBK hücre hattında IL-1 β konsantrasyonları (n=4). ^{a,b,c} p < 0,05, (Duncan test)

Negatif kontrol grubunun hücre supernatantında IL-1 β konsantrasyonu $44,8 \pm 3,9$ pg/ml olarak ölçüldü. Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS’ye maruz bırakılan MDBK hücre mediumunda IL-1 β konsantrasyonunun $312,5 \pm 12,0$ pg/ml olduğu anlaşıldı. Dört saat süre ile $1900 \mu\text{M}$ naringin uygulanan hücre mediumundaki IL-1 β konsantrasyonu $41,3 \pm 5,1$ pg/ml olarak belirlendi. Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS + $1900 \mu\text{M}$ naringin uygulanan MDBK hücre mediumundaki IL-1 β konsantrasyonu $152,0 \pm 7,0$ pg/ml olarak ölçüldü. Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS’ye maruz kalan MDBK hücre mediumundaki IL-1 β konsantrasyonunun negatif hücrelerdekiğine göre 6,98 kat artmış olduğu kaydedildi (p < 0,05). Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS + $1900 \mu\text{M}$

naringin uygulanan MDBK hücre mediumundaki IL-1 β konsantrasyonunun negatif hücrelerdekine göre 3,39 kat kadar yükseldiği belirlendi ($p < 0,05$).

4.4. TNF- α Konsantrasyonu

Negatif kontrol, LPS, naringin ve LPS + naringin gruplarına ait TNF- α konsantrasyonları Şekil 10'da sunuldu.



Şekil 10. MDBK hücre hattında TNF- α konsantrasyonları ($n=4$). ^{a,b,c} $p < 0,05$, (Duncan test)

Negatif kontrol grubunun hücre supernatantında TNF- α konsantrasyonu $22,8 \pm 3,3$ pg/ml olarak ölçüldü. Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS'ye maruz bırakılan MDBK hücre mediumunda TNF- α konsantrasyonunun $296,5 \pm 6,6$ pg/ml olduğu anlaşıldı. Dört saat süre ile $1900 \mu\text{M}$ naringin uygulanan hücre mediumundaki TNF- α konsantrasyonu $19,3 \pm 2,2$ pg/ml olarak belirlendi. Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS + $1900 \mu\text{M}$ naringin uygulanan MDBK hücre mediumundaki TNF- α konsantrasyonu $135,8 \pm 2,9$ pg/ml olarak ölçüldü. Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS'ye maruz kalan MDBK hücre mediumundaki TNF- α konsantrasyonunun negatif hücrelerdekine göre 13 kat artmış olduğu kaydedildi ($p < 0,05$). Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS + $1900 \mu\text{M}$

naringin uygulanan MDBK hücre mediumundaki TNF- α konsantrasyonunun negatif hücrelerdekine göre 5,96 kat kadar yükseldiği belirlendi ($p < 0,05$).



5. TARTIŞMA

Sunulan tez çalışmasında, antienflamatuar etkili olan naringinin böbrek hücre hattında LPS ile indüklenen enflamatuar yanıtta etkisi değerlendirildi. Enflamasyonun indüklenmesi amacıyla LPS maruziyetine bırakılan MDBK hücrelerinin mediumlarında proenflamatuar sitokinler olan IL-1 β ve TNF- α düzeylerinin önemli oranda arttığı ancak naringin uygulamasının bu artışı engellediği belirlendi. Tez çalışmasının bulguları, naringinin doza bağımlı olarak, MDBK hücre hattında LPS-indüklü enflamasyonu proenflamatuar sitokin yanıtını baskılayarak hafiflettiğini gösterdi.

Böbrekler, kan basıncının kontrolü, salgıladığı eritropoietin ile eritrositlerin üretimini uyarması, tuz ve su homeostazı, asit-baz dengesi ve kalsiyum homeostazını içeren bir dizi temel fizyolojik fonksiyonda çok önemli bir role sahiptir. Böbrek fonksiyon bozukluğu çeşitli patolojilerden kaynaklanabileceği gibi çeşitli patolojik durumlar da böbrek fonksiyonlarının bozulmasına yol açmaktadır (Imig ve Ryan, 2013). Hem insanlarda (Go ve ark., 2004; Tonelli ve ark., 2006; Gómez de la Torre-Del Carpio ve ark., 2018; Wang ve ark., 2019) hem de hayvanlarda (Jacob ve ark., 2005; Kuwahara ve ark., 2006; Egenvall ve ark., 2009; O'Neill ve ark., 2015; Pelander ve ark., 2015) böbrek hastalığı ölümün en sık nedenleri arasında yer almaktadır. Bu raporlar, böbrek hastalığının önemli bir sağlık sorunu olduğunu ortaya koymaktadır. Böbrek hastalığına yol açan mekanizmaların anlaşılması ve tedavisine yönelik bilimsel çalışmaların gerçekleştirilmesi oldukça önem arz etmektedir.

Böbrek hastalıklarının etiyopatogenezinde enflamatuar süreçlerin önemli rol oynadığı bilinmektedir (Zhang ve ark., 2008; Panzer ve ark., 2009; Tucci ve ark., 2010; Lepenies ve ark., 2011). Enflamasyon, sistemik veya intrarenal olsun sadece düzenleyicilerine verilen mikrovasküler tepkiyi kaldırmakla kalmamakta ayrıca reaktif oksijen türlerini de içeren bir dizi tubuler toksini de uyararak tubuler hasara, nefron kaybına ve kronik böbrek hastalığının başlamasına yol açmaktadır. Böbrek enflamasyonu, böbreğe makrofaj birikimi ve enflamatuar hücrelerin infiltrasyonu ile oluşmakta ve enflamatuar mediyatörlerin böbrek hemodinamiğine ve tubuler disfonksiyona katkısı patolojik duruma ve enflamasyon bölgesine bağlı olarak değişmektedir (Imig ve Ryan, 2013). Genel olarak, böbrek enflamasyonu, böbrek kan akışında ve glomeruler filtrasyon hızında azalmalara neden olmaktadır (Noronha ve ark., 2002; Ponnuchamy ve Khalil, 2009). Böbrekteki kronik enflamasyon, glomeruler

filtrasyon hızında devamlı düşüşe yol açarak son dönem böbrek hastalığı ile sonuçlanmaktadır (Noronha ve ark., 2002; Harris ve Neilson, 2006). Enflamasyonun böbrek hastalıklarının oluşumundaki ve ilerlemedeki rolünü anlamak, altta yatan enflamasyonun önlenmesine ve tedavi edilmesine katkı sağlayarak böbrek hastalığına bağlı olumsuz sonuçları iyileştirmek için oldukça önemlidir (Qian, 2017).

Sitokinlerin ve enflamatuar mediyatörlerin patolojik durumlarda böbrek hemodinamiğine ve epitel hücrelerine önemli ölçüde etkide bulunduğu dair çok sayıda kanıt bulunmaktadır (Beasley ve ark., 1988; Kohan ve ark., 1989; Girardin ve ark., 1994; Shahid ve ark., 2008; Safranow ve ark., 2009; Morrell ve ark., 2014). Sitokinler, sistemik olarak nefritojenik immunitiyi başlatmak ve modüle etmek için antijenik hücreler, lökositler ve düzenleyici hücreler arasındaki çapraz ilişkiye katılarak böbrek enflamasyonuna neden olan hem doğal hem de adaptif immun cevaplarda merkezi rol oynamaktadırlar (Tipping ve Holdsworth, 2007). Sitokinler böbrek hastalığının patogeneğinde, böbreğe immun hücre infiltrasyonunu artıran endotelial hücre adezyon moleküllerini ve kemokinleri modüle ederek katkıda bulunmaktadır (Banas ve ark., 1999; Burne ve ark., 2001; Ramesh ve Reeves, 2002). Doğal veya adaptif immunitenin olup olmadığına veya böbrek hastalığının akut veya kronik olmasına bakılmaksızın, enflamatuar sitokinler, hem immun fonksiyon mediyatörleri hem de böbrek hasarı başlatıcıları olarak böbrek hastalığının gelişimini de durdurabilen immünomodülatör rollere sahiptirler. Sitokin üretimindeki artış, glomerüler hücrelere etki etmekte ve glomerüler hasarın gelişmesine ve ilerlemesine katkıda bulunmaktadır (Harris ve Neilson, 2006; Holdsworth ve Summers, 2008). Th1 sitokin olan interferon-gama, böbrek hastalığının patogeneğinde, hastalığın ilerlemesini hem destekleyebilen hem de sınırlandırabilen potansiyel çift etki göstermektedir. Fare lupus nefrit modelinde, renal kapsül altına doğrudan IL-12 salgılayan hücrelerin transferinin böbrek içinde interferon-gama salgılayan CD4, CD8 ve CD4-CD8-B220 + T hücrelerinin birikmesini ve otoimmün böbrek hastalığının gelişmesini teşvik ederek böbrek hasarına neden olduğu saptanmıştır (Schwartzing ve ark., 1999). Bununla birlikte, lupus nefrit modeli olan MRL-Fas (lpr) farelerin böbreklerinde makrofaj salgılayan büyüme faktörlerinin neden olduğu böbrek hasarının ilerlemesini baskılamak için interferon-gama reseptörlerinin varlığının gerekli olduğu da ileri sürülmüştür (Schwartzing ve ark., 1998).

TNF süper ailesinin bir üyesi olan TNF benzeri zayıf apoptoz indükleyici faktörün (TWEAK), fare proksimal tubular hücre hattında (MCT) NF-kappaB' nin aktivasyonunu indüklediği *in vitro* belirlenmiştir. Farelerde sistemik TWEAK uygulamasının, böbrek NF-kappaB aktivasyonunu, kemokin ve IL-6 ekspresyonunu ve interstisyel enflamasyonu indüklediği, ancak TWEAK nötralizasyonunun, tubuler hücrelerde kemokin ekspresyonunu baskıladığı ve interstisyel enflamasyonu azalttığı saptanmıştır (Sanz ve ark., 2008). İmmun fonksiyon, hücre farklılaşması ve proliferasyonu, apoptoz ve enerji metabolizması gibi birçok hücrel ve biyolojik işlemi modüle eden çok fonksiyonlu bir sitokin olan TNF- α , diğer proenflamatuar sitokinlerin üretimini düzenleyerek periferik organlar üzerindeki etkilerine aracılık etmektedir (Cawthorn ve Sethi, 2007). Domuzlarda obezite-metabolik bozukluk durumunda artmış perirenal yağ hacmine bağlı olarak gelişen enflamasyonda TNF- α 'nın parakrin olarak aracılık ederek renal arterlerin endotel disfonksiyonuna neden olduğu saptanmıştır. (Ma ve ark., 2016). TNF- α , süperoksit aktivitesini artırarak ve böylece nitrik oksit düzeyini azaltarak renal vazokonstriksiyon ve hipofiltrasyonu indüklemektedir (Shahid ve ark., 2008). Klorürce zengin mikro ortamların artmış IL-6:IL-10 oranlarına yol açarak proenflamatuar duruma neden olduğu *in vitro* ortaya konulmuştur (Kellum ve ark., 2004). Rat sepsis modelinde yüksek klorit içeren resüsitasyonun, dolaşımdaki IL-6, IL-10 ve TNF- α düzeylerinin artışına neden olduğu rapor edilmiştir (Kellum ve ark., 2006). Enflamasyonun aracılık ettiği tubuler disfonksiyon sonucunda distal tubule ve makula densaya sodyum ve klor geçişinin artarak tubuloglomeruler geri beslemeye ve bozulmuş glomeruler filtrasyon hızına katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (Morrell ve ark., 2014). Tavşan endotoksemik şok modelinde, TNF- α 'nın böbrekteki kan akışında azalmaya neden olarak şokun erken hemodinamik değişikliklerinde rol oynadığı gösterilmiştir (Girardin ve ark., 1994). Koroner arter hastalığı olan bireylerde artmış TNF- α düzeyleri azalmış böbrek kan akımı ve glomeruler filtrasyon hızı ile ilişkilidir (Safranow ve ark., 2009). TNF- α 'nın neden olduğu apolipoprotein-A4 ekspresyon seviyesindeki artışın, insan böbrek hücrelerinde proenflamatuar akut böbrek yetmezliği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Lee ve ark., 2017). Sunulan tez çalışmasında, LPS'ye maruz kalan MDBK hücre hattında IL-1 β konsantrasyonunun negatif kontrol grubuna göre önemli düzeyde ($p < 0,05$) yükselmiş olduğu belirlendi. Benzer olarak, TNF- α konsantrasyonunun da LPS'ye maruz kalan hücre hattında negatif kontrol grubundakine

göre artmış olduğu kaydedildi ($p < 0,05$). Daha önceki çalışmalarda (He ve ark., 2018; van der Bruggen ve ark., 1999; Xue ve ark., 2005; Zou ve ark., 2015) ileri sürüldüğü gibi projemizde de LPS'nin proenflamatuar sitokinlerin salgılanmasını uyardığı anlaşıldı.

İnterlökinlerin böbrekte vasküler etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Akut böbrek yetmezliği olan hastalara dört gün boyunca IL-2 uygulamasının glomeruler filtrasyon hızında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir (Shalmi ve ark., 1990). IL-1'in sodyum atılımını arttırdığı bu yanıtın böbrek kan akışında veya glomeruler filtrasyon hızında bir artış ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir (Beasley ve ark., 1988; Kohan ve ark., 1989). IL-1 periferik arterleri genişletmekte ancak böbrek arteriyollerini genişletmemektedir ve doğrudan böbrek epitel hücrelerine etki ederek sodyum atılımını artırmaktadır. Bu çalışmalar, sitokinlerin ve enflamatuar mediyatörlerin böbrek kan akışını ve glomeruler filtrasyon hızını doğrudan değiştirebildiğini göstermektedir.

IL-1 β karaciğerden akut faz proteinlerinin salınımını uyararak, endotel hücrelerini aktive ederek, ateşi tetikleyerek, kemik iliğinden nötrofil mobilizasyonunu sağlayarak ve tüm lökosit ve renal hücre sınıflarını aktive ederek sistemik enflamasyona katkıda bulunmaktadır (Dinarello, 2000; Anders 2016). Dokularda, yerleşik dendritik hücreler, dokuya sızan makrofajlar ve nötrofiller, büyük miktarlarda IL-1 β salgılayabilirken parankimal hücreler belirli koşullar altında sadece küçük miktarlarda salgılabilmektedirler (Garlanda ve ark., 2013). Genç farelerin böbrek tubuler epitel hücrelerinde IL-1 β 'nin indüklenebilir olduğu ve yaşla birlikte IL-1 β ekspresyonunun arttığı belirlenmiştir (Hacham ve ark., 2002). Böbrekteki parankimal hücreler pro-IL-1 β 'yi metalloendopeptidaz meprin A aracılığıyla olgun IL-1 β 'ye dönüştürmektedirler (Herzog ve ark., 2009). Glomerüler IL-1 β salınımının tek kaynağı olarak infiltre lökositler gösterilmiştir (Timoshanko ve rak., 2004).

Enflamasyonla karakterize hastalıkları tedavi etmek amacıyla terapötik hedefler olarak enflamatuar sitokinlerin potansiyel olduğuna dair çalışmalar (Siebert ve ark., 2015; Leyva-López ve ark., 2016), flavonoidlerin, özellikle sitokinleri modüle ederek enflamasyonla ilişkili hastalıklar için alternatif tedaviler geliştirmek amacıyla kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Flavonoidler, sitokinlerin ekspresyonunu azaltarak, reaktif oksijen türleri ve nitrik oksit gibi enflamatuar mediyatörleri inhibe ederek, siklooksijenazlar ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz gibi enflamatuar

enzimlerin aktivitesini düzenleyerek ve transkripsiyon faktörlerini modüle ederek enflamatuar yanıt üzerinde etkili olmaktadır (Tuñón ve ark., 2009; González-Gallego ve ark., 2010; Kumar ve Pandey, 2013; Ribeiro ve ark., 2015). Antienflamatuar etkili flavonoidler enflamatuar böbrek hastalıklarının tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır (Impellizzeri ve ark., 2015; Xu ve ark., 2015; Kandemir ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2017). Böbrek iskemi ve reperfüzyon fare modelinde bir flavonoid olan silimarin ile tedavinin böbrek fonksiyon bozukluğunu, nötrofil infiltrasyonunu ve oksidatif stresi doza bağlı bir şekilde azaltarak ve nükleer faktör-kappa B (NF-kappa B) yolunu ve apoptoz yolaklarını önemli ölçüde inhibe ederek böbrekteki enflamasyon derecesini azalttığı rapor edilmiştir (Impellizzeri ve ark., 2015). Antienflamatuar etkili flavonoid luteolinin, D-galaktozun neden olduğu böbrek hasarını, oksidatif stresi ve enflamasyonu baskılayarak hafiflettiği ortaya konulmuştur (Xu ve ark., 2015). Ratlarda parasetamol kaynaklı nefrotoksisiteye karşı krisinin uygulamasının parasetamolün neden olduğu böbrek dokusunda artmış TNF- α , IL-1 β ve IL-33 seviyelerini önemli ölçüde düşürerek böbrek dokusunu enflamasyondan koruduğu belirlenmiştir (Kandemir ve ark., 2017). Streptozotosinin indüklediği diyabetik nefropati rat modelinde naringinin takviyesinin podositlerde NOX4 mRNA ekspresyonunu ve protein seviyesini inhibe etmek suretiyle apoptozu hafiflettiği ve diyabetik nefropati için koruyucu olduğu rapor edilmiştir (Zhang ve ark., 2017).

Flavonoidlerin sitokin sekresyonu üzerindeki etkisine ilişkin olarak, LPS uygulanmış RAW 264.7 makrofaj hattında flavonoid takviyesinin IL-6 ve TNF- α seviyelerini azalttığı ortaya konulmuştur (Mueller ve ark., 2010). Forbol-12-miristat-13-asetat+kalsiyum iyonofor ile uyarılmış insan mast hücrelerinde fisetin (3-30 μ M) uygulamasının TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8 ekspresyonunu ve düzeyini azalttığı ve MAPK'lerin fosforilasyonunu ve NF-KB'nin nükleer translokasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir (Park ve ark., 2007). LPS ile aktive edilmiş RAW 264.7 makrofajlarında 10-50 μ M dozlarında naringenin uygulamasının NO, MCP-1 ve TNF- α üretimi ve 10-25 μ M dozlarında iNOS, COX-2 ve fosfo-ERK'nın protein ekspresyonları üzerinde belirgin inhibitör etkisi belirlenmiştir (Hsu ve ark., 2013). Naringenin P388 hücrelerinde hidrojen peroksit kaynaklı apoptozu baskıladığı belirlenmiştir (Kanno ve ark., 2003). Güncel bir çalışma, böbrek iskemisi/reperfüzyon hasarı oluşturulmuş ratlarda 100 mg/kg naringin uygulamasının apoptozu inhibe ve

microRNA-10a'yı aşağı yönde regüle ederek renoprotektif etki gösterdiğini rapor etmiştir (Amini ve ark., 2019).

Apigenin, krisin ve luteolinin, insan periferik kan mononükleer hücrelerinde LPS ile uyarılmış proenflamatuar sitokin üretimini doza bağlı olarak azalttığı bildirilmiştir (Hougee ve ark., 2005). RAW 264.7 makrofaj hücre hattında LPS ile indüklenen IL-6 ve TNF- α artışının kurkumin uygulaması ile baskılandığı rapor edilmiştir (Ma ve ark., 2017). Farelerde LPS ile indüklenen akut böbrek hasarında luteolin uygulamasının NF- κ B aktivasyonunu ve TNF- α , MCP-1 ve ICAM-1 gibi enflamatuar faktörleri azaltarak ve apoptozla ilgili proteinlerin ekspresyonunu baskılayarak LPS-aracılı nefrotoksisiteyi iyileştirdiği bildirilmiştir (Xin ve ark., 2016). LPS ile uyarılmış RAW 264.7 makrofajlarında 10 μ g/ml, 20 μ g/ml ve 40 μ g/ml 7-O-metilnaringenin uygulamasının doza bağımlı olarak TNF- α , IL-1 β , IL-6 konsantrasyonlarını azalttığı rapor edilmiştir (Soromou ve ark., 2012). Sunulan tez çalışmasında, LPS ile enflamasyon oluşturulan MDBK hücre hattında $312,5 \pm 12,0$ pg/ml olan IL-1 β düzeyinin, 1900 μ M naringin takviyesinden sonra $152,0 \pm 7,0$ pg/ml'ye düştüğü belirlendi. LPS uygulanan MDBK hücre hattında TNF- α düzeylerinin $296,5 \pm 6,6$ pg/ml olduğu ve 1900 μ M naringin uygulamasının ardından bu düzeyin $135,8 \pm 2,9$ pg/ml'ye gerilediği kaydedildi. Böylece, LPS ile enflamasyon oluşturulmuş böbrek hücre hattında 1900 μ M naringin uygulamasının IL-1 β düzeyini 2,06 kat, TNF- α düzeyini 2,18 kat azalttığı anlaşıldı. Bu bulgular, böbrek hücre enflamasyonu *in vitro* modelinde naringin uygulamasının proenflamatuar sitokin yanıtını baskıladığına işaret etmektedir.

Tez çalışmasından elde edilen veriler değerlendirildiğinde, anti-enflamatuar etkili naringinin, LPS'ye maruz bırakılan böbrek hücrelerinden IL-1 β ve TNF- α salgılanmasını baskıladığını gösterdi. Bu bulgular, naringinin proenflamatuar sitokin yanıtlarını module ederek *in vitro* böbrek hücre enflamasyonunu hafiflettiğini ortaya koydu. Enflamatuar böbrek hastalıklarında naringinin tedavi edici potansiyeli olabileceği hipotezini güçlendiren bu tez çalışmasının sonuçlarının tüm dünyada hem insanlarda hem de hayvanlarda önemli bir sağlık problemi olan böbrek hastalıklarının tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesine önemli katkılar sağlayacağı öngörülmektedir. Sunulan çalışmadan elde edilen bulguların *in vivo* ve klinik araştırmalarla desteklenmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Böbrek hastalıkları, hem insanlarda hem de hayvanlarda ölümün en sık nedenleri arasında yer almakta ve tüm dünyada önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Böbrek hastalıklarının etiopatogenezinde sitokin aracılı enflamasyonun rol oynadığı iyi bilinmektedir. Sitokinler, böbreğe immun hücre infiltrasyonunu artıran endotelial hücre adezyon moleküllerini ve kemokinleri modüle ederek enflamasyona katkıda bulunmaktadır. Böbrekteki enflamasyon, böbrek hemodinamiğini bozarak ve tubuler disfonksiyona katkıda bulunarak böbrek hasarının başlamasında ve böbrek fonksiyonlarının bozulmasında etkili olmakta ve akut böbrek hasarından kronik böbrek hastalığına kadar varan değişikliklere yol açmaktadır. Böbrek kan akışında azalmalara yol açan enflamasyon kronikleştiğinde glomeruler filtrasyon hızında devamlı düşüşe yol açarak son dönem böbrek hastalığı ile sonuçlanabilmektedir.

Böbrek hastalıklarında enflamasyonun baskılanması, böbrek dokusunun korunmasında önemli bir terapötik yaklaşımdır. Böbrek hastalıklarının tedavisi konusunda gerçekleştirilen *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar, antiinflamatuvar aktiviteye sahip flavonoidlerin başarıyla kullanıldığını göstermektedir. Flavonoidler, sitokinlerin ekspresyonunu azaltarak, reaktif oksijen türleri ve nitrik oksit gibi enflamatuvar mediyatörleri inhibe ederek, siklooksijenazlar ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz gibi enflamatuvar enzimlerin aktivitesini ve transkripsiyon faktörlerini modüle ederek enflamatuvar yanıtı etkilemektedirler. Naringinin, sitokinlerle uyarılan NF- κ B sinyalizasyon yolağını bloke ederek antiinflamatuvar etki gösterdiği bilimsel çalışmalar ile ortaya konulmuştur.

Sunulan tez çalışmasında, naringinin LPS ile indüklenen böbrek hücre enflamasyonu modelinde proenflamatuvar sitokin yanıtına etkisi *in vitro* koşullarda araştırıldı. MDBK hücre hattında 4 saat boyunca 500 μ M, 1000 μ M, 1500 μ M, 1900 μ M ve 2000 μ M konsantrasyonlarında naringin uygulaması sonucunda hücre sağkalım oranlarının sırasıyla % 88, % 68, % 61, % 50 ve % 47 olduğu belirlendi. Naringinin 1900 μ M konsantrasyonu ile 4 saat boyunca inkube edilen MDBK hücrelerinin sağkalım oranının % 50 olduğunun belirlenmesi nedeniyle bu doz ve süre hücre kültürü uygulamalarında koruyucu doz ve süre olarak seçildi. Bu tez çalışmasında, LPS'ye maruz kalan MDBK hücre hattında IL-1 β konsantrasyonunun negatif kontrol grubuna göre önemli düzeyde ($p < 0,05$) yükselmiş olduğu belirlendi. Benzer olarak, TNF- α

konsantrasyonunun da LPS'ye maruz kalan hücre hattında negatif kontrol grubundakine göre artmış olduğu kaydedildi ($p < 0,05$). LPS ile enflamasyon oluşturulan MDBK hücre hattında $312,5 \pm 12,0$ pg/ml olan IL-1 β düzeyinin, 1900 μ M naringin takviyesinden sonra $152,0 \pm 7,0$ pg/ml'ye düştüğü belirlendi. LPS uygulanan MDBK hücre hattında TNF- α düzeylerinin $296,5 \pm 6,6$ pg/ml olduğu ve 1900 μ M naringin uygulamasının ardından bu düzeyin $135,8 \pm 2,9$ pg/ml'ye gerilediği kaydedildi. Böylece, LPS ile enflamasyon oluşturulmuş böbrek hücre hattında 1900 μ M naringin uygulamasının IL-1 β düzeyini 2,06 kat, TNF- α düzeyini 2,18 kat azalttığı anlaşıldı. Bu bulgular, böbrek hücre enflamasyonu *in vitro* modelinde uyarılmış IL-1 β ve TNF- α salgılanmasının naringin uygulaması ile baskılandığını gösterdi. Enflamatuar böbrek hastalıklarının tedavisinde naringinin kullanılabilmesine işaret eden bu tez çalışmasının sonuçlarının böbrek hastalıklarının tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesine katkı sunacağı öngörülmektedir. Sunulan çalışmadan elde edilen bulguların *in vivo* ve klinik araştırmalarla desteklenmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Akdemir N, Birol L. İç hastalıkları ve hemşirelik bakımı. 2. Baskı, Ankara, Sistem ofset 2005;565-589.
- Alam MA, Subhan N, Rahman MM, Uddin SJ, Reza HM, Sarker SD. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *Adv Nutr* 2014;5(4):404-417.
- Amini N, Sarkaki A, Dianat M, Mard SA, Ahangarpour A, Badavi M. The renoprotective effects of naringin and trimetazidine on renal ischemia/reperfusion injury in rats through inhibition of apoptosis and downregulation of microRNA-10a. *Biomed Pharmacother* 2019;112:108568.
- Amudha K, Pari L. Beneficial role of naringin, a flavanoid on nickel induced nephrotoxicity in rats. *Chemico-biological Interactions* 2011;193(1):57-64.
- Anders HJ. Of inflammasomes and alarmins: IL-1 β and IL-1 α in kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2016;27(9):2564-2575.
- Arranz L, Arriero MDM, Villatoro A. Interleukin-1 β as emerging therapeutic target in hematological malignancies and potentially in their complications. *Blood Rev* 2017;31(5):306-317.
- Bacanlı M, Başaran AA, Başaran N. Cytotoxicity evaluation of some phenolic compounds in V79 cells. *Turk J Pharm Sci* 2015;12(3):299-304.
- Banas B, Luckow B, Möller M, Klier C, Nelson PJ, Schadde E, Brigl M, Halevy D, Holthöfer H, Reinhart B, Schlöndorff D. Chemokine and chemokine receptor expression in a novel human mesangial cell line. *J Am Soc Nephrol* 1999;10(11):2314-2322.
- Beasley D, Dinarello CA, Cannon JG. Interleukin-1 induces natriuresis in conscious rats: role of renal prostaglandins. *Kidney Int* 1988;33(6):1059-1065.
- Bharti S, Rani N, Krishnamurthy B, Arya DS. Preclinical evidence for the pharmacological actions of naringin: a review. *Planta Med* 2014;80(6):437-451.
- Bi C, Jiang Y, Fu T, Hao Y, Zhu X, Lu Y. Naringin inhibits lipopolysaccharide-induced damage in human umbilical vein endothelial cells via attenuation of inflammation, apoptosis and MAPK pathways. *Cytotechnology* 2016;68(4):1473-1487.
- Biswas PS. IL-17 in renal immunity and autoimmunity. *J Immunol* 2018;11:3153-3159.
- Burne MJ, Daniels F, El Ghandour A, Mauiyyedi S, Colvin RB, O'Donnell MP, Rabb H. Identification of the CD4(+) T cell as a major pathogenic factor in ischemic acute renal failure. *J Clin Invest* 2001;108(9):1283-1290.

- Caglayan C, Temel Y, Kandemir FM, Yildirim S, Kucukler S. Naringin protects against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and DNA damage. *Environ Sci Pollut Res Int* 2018;(21):20968-20984.
- Caroff M, Karibian D, Cavaillon J, Haeffner-Cavaillon N. Structural and functional analyses of bacterial lipopolysaccharides. *Microbes Infect* 2002;4:915-926.
- Cawthorn WP, Sethi JK. TNF-alpha and adipocyte biology. *FEBS Lett* 2008;582(1):117-131.
- Chen L, Yang S, Zumbrun EE, Guan H, Nagarkatti PS, Nagarkatti M. Resveratrol attenuates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by suppressing inflammation driven by macrophages. *Mol Nutr Food Res* 2015;59(5):853-864.
- Choudhury R, Chowrimootoo G, Srail K, Debnam E, Rice-Evans CA. Interactions of the flavonoid naringenin in the gastrointestinal tract and the influence of glycosylation. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;265(2):410-415.
- Dinarello CA Interleukin-1 beta, interleukin-18, and the interleukin-1 beta converting enzyme. *Ann N Y Acad Sci* 1998;856:1-11.
- Dinarello CA. The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *N Engl J Med* 2000;343(10):732-734.
- Egenvall A, Nødtvedt A, Häggström J, Ström Holst B, Möller L, Bonnett BN. Mortality of life-insured Swedish cats during 1999-2006: age, breed, sex, and diagnosis. *J Vet Intern Med* 2009;23(6):1175-1183.
- Ernandez T, Mayadas T. Immunoregulatory role of TNF α in inflammatory kidney diseases. *Kidney International* 2009;76(3):262-276.
- Erridge C, Bennett-Guerrero E, Poxton I. Structure and function of lipopolysaccharides. *Microbes Infect* 2002;4:837-851.
- Escribano-Ferrer E, Queralt Regué J, Garcia-Sala X, Boix Montañés A, Lamuela-Raventós RM. *In vivo* anti-inflammatory and antiallergic activity of pure naringenin, naringenin chalcone, and quercetin in mice. *J Nat Prod* 2019;82(2):177-182.
- Floege J, Johnson RJ. Cytokines in renal inflammation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1993;2(3):449-457.
- Furuichi K, Kaneko S, Wada T. Chemokine/chemokine receptor-mediated inflammation regulates pathologic changes from acute kidney injury to chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 2009;13(1):9-14.
- Galdiero S, Falanga A, Cantisani M, Tarallo R, Della Pepa ME, D'Orlando V, Galdiero M. Microbe-host interactions: structure and role of Gram-negative bacterial porins. *Curr Protein Pept Sci* 2012;13(8):843-854.

- Ganesh Chandra J, Tiyyagura Koti R. Alleviation of iron induced oxidative stress by the grape fruit flavanone naringin *in vitro*. *Chem Biol Interact* 2011;190(2-3):121-128.
- Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity* 2013;39(6):1003-1018.
- Ginwala R, Bhavsar R, Chigbu DI, Jain P, Khan ZK. Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin. *Antioxidants (Basel)* 2019;8(2):35.
- Girardin E, Grau GE, Paunier L, Le Coultre C. Early hemodynamic and renal effects of tumor necrosis factor alpha: role of thromboxane. *Circ Shock* 1994;42(1):20-26.
- Glasscock RJ. The pathogenesis of IgA nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011;20(2):153-160.
- Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004 351(13):1296-1305.
- Gómez de la Torre-Del Carpio A, Bocanegra-Jesús A, Guinetti-Ortiz K, Mayta-Tristán P, Valdivia-Vega R. Early mortality in patients with chronic kidney disease who started emergency haemodialysis in a Peruvian population: Incidence and risk factors. *Nefrologia* 2018;38(4):425-432.
- González-Gallego J, García-Mediavilla MV, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ. Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *Br J Nutr* 2010;104 Suppl 3:S15-27.
- Gopinath K, Sudhandiran G. 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* 2012;227:134-143.
- Haas C, Ryffel B, Le Hir M. IFN-gamma is essential for the development of autoimmune glomerulonephritis in MRL/lpr mice. *J Immunol* 1997;158(11):5484-5491.
- Hacham M, Argov S, White RM, Segal S, Apte RN. Different patterns of interleukin-1alpha and interleukin-1beta expression in organs of normal young and old mice. *Eur Cytokine Netw* 2002;13(1):55-65.
- Harris RC, Neilson EG. Toward a unified theory of renal progression. *Annu Rev Med* 2006;57:365-380.
- Hashimoto S, Kawata T, Schnermann J, Koike T. Chloride channel blockade attenuates the effect of angiotensin II on tubuloglomerular feedback in WKY but not spontaneously hypertensive rats. *Kidney Blood Press Res* 2004;27(1):35-42.

- Hattori H, Tsutsuki H, Nakazawa M, Ueda M, Ihara H, Sakamoto T. Naringin lauroyl ester inhibits lipopolysaccharide-induced activation of nuclear factor κ B signaling in macrophages. *Biosci Biotechnol Biochem* 2016;80(7):1403-1409.
- He J, Zhang B, Gan H. CIDEc Is Involved in LPS-induced inflammation and apoptosis in renal tubular epithelial cells. *Inflammation* 2018;41(5):1912-1921.
- Hénaut L, Massy ZA. New insights into the key role of interleukin 6 in vascular calcification of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2018;33(4):543-548.
- Hendrayani SF, Al-Harbi B, Al-Ansari MM, Silva G, Aboussekhra A. The inflammatory/cancer-related IL-6/STAT3/NF- κ B positive feedback loop includes AUF1 and maintains the active state of breast myofibroblasts. *Oncotarget* 2016; 7(27):41974-41985.
- Herzog C, Haun RS, Kaushal V, Mayeux PR, Shah SV, Kaushal GP. Mepirin A and mepirin alpha generate biologically functional IL-1beta from pro-IL-1beta. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;379(4):904-908.
- Higashimoto, M, Yamato, H, Kinouchi T, Ohnishi Y. Inhibitory effects of citrus fruits on the mutagenicity of 1-methyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro-beta-carboline-3-carboxylic acid treated with nitrite in the presence of ethanol. *Mutat Res* 1998;415:219-226.
- Holdsworth SR, Summers SA. Role of mast cells in progressive renal diseases. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(12):2254-2261.
- Hougee S, Sanders A, Faber J, Graus YM, van den Berg WB, Garssen J, Smit HF, Hoijer MA. Decreased pro-inflammatory cytokine production by LPS-stimulated PBMC upon *in vitro* incubation with the flavonoids apigenin, luteolin or chrysin, due to selective elimination of monocytes/macrophages. *Biochem Pharmacol* 2005;69(2):241-248.
- Hsu CL, Fang SC, Yen GC. Anti-inflammatory effects of phenolic compounds isolated from the flowers of *Nymphaea Mexicana* Zucc. *Food Funct* 2013;4(8):1216-1222.
- Hu F, Liang W, Ren Z, Wang G, Ding G. Surfactant protein D inhibits lipopolysaccharide-induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in human renal tubular epithelial cells: implication for tubulointerstitial fibrosis. *Clin Exp Immunol* 2012;167(3):514-522.
- Huang KJ, Su IJ, Theron M, Wu YC, Lai SK, Liu CC, Lei HY. An interferon-gamma-related cytokine storm in SARS patients. *J Med Virol* 2005;75(2):185-194.
- Imig J, Ryan M. Immune and inflammatory role in renal disease. *Compr Physiol* 2013;3(2): 957-976.

- Impellizzeri D, Bruschetta G, Ahmad A, Crupi R, Siracusa R, Di Paola R, Paterniti I, Prosdocimi M, Esposito E, Cuzzocrea S. Effects of palmitoylethanolamide and silymarin combination treatment in an animal model of kidney ischemia and reperfusion. *Eur J Pharmacol* 2015;762:136-149.
- Inês Amaro M, Rocha J, Vila-Real H, Eduardo-Figueira M, Mota-Filipe H, Sepodes B, Ribeiro MH. Anti-inflammatory activity of naringin and the biosynthesised naringenin by naringinase immobilized in microstructured materials in a model of DSS-induced colitis in mice. *Food Res Int* 2009;42:1010-1017.
- Jacob F, Polzin DJ, Osborne CA, Neaton JD, Kirk CA, Allen TA, Swanson LL. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. *J Am Vet Med Assoc* 2005;226(3):393-400.
- Jagetia GC, Reddy TK. The grapefruit flavanone naringin protects against the radiation-induced genomic instability in the mice bone marrow: a micronucleus study. *Mutat Res* 2002;26:37-48.
- Jagetia, GC, Venkatesha VA, Reddy TK. Naringin, a citrus flavonone, protects against radiation-induced chromosome damage in mouse bone marrow. *Mutagenesis* 2003;18:337-343.
- Jain M, Parmar HS. Evaluation of antioxidative and anti-inflammatory potential of hesperidin and naringin on the rat air pouch model of inflammation. *Inflamm Res* 2011;60(5):483-491.
- Jeon SM, Bok SH, Jang MK, Lee MK, Nam KT, Park YB, Rhee SJ, Choi MS. Antioxidative activity of naringin and lovastatin in high cholesterol-fed rabbits. *Life Sci* 2001;69(24):2855-2866.
- Jeon SM, Park YB, Choi MS. Antihypercholesterolemic property of naringin alters plasma and tissue lipids, cholesterol-regulating enzymes, fecal sterol and tissue morphology in rabbits. *Clin Nutr* 2004;23(5):1025-1034.
- Jin H, Wang Q, Wu J, Han X, Qian T, Zhang Z, Wang J, Pan X, Wu A, Wang X. Baicalein Inhibits the IL-1 β -induced inflammatory response in nucleus pulposus cells and attenuates disc degeneration *in vivo*. *Inflammation* 2019;Feb 7 (Baskıda).
- Jung SH, Kim HJ, Oh GS, Shen A, Lee S, Choe SK, Park R, So HS. Capsaicin ameliorates cisplatin-induced renal injury through induction of heme oxygenase-1. *Mol Cells* 2014;37(3):234-240.
- Kandemir FM, Kucukler S, Eldutar E, Caglayan C, Gulcin I. Chrysin protects rat kidney from paracetamol-induced oxidative stress, inflammation, apoptosis, and autophagy: A Multi-Biomarker Approach *Sci Pharm* 2017;85(1):4.

- Kanno S, Shouji A, Asou K, Ishikawa M. Effects of naringin on hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and apoptosis in P388 cells. *J Pharmacol Sci* 2003;92(2):166-170.
- Kanno S, Shouji A, Tomizawa A, Hiura T, Osanai Y, Ujibe M, Obara Y, Nakahata N, Ishikawa M. Inhibitory effect of naringin on lipopolysaccharide (LPS)-induced endotoxin shock in mice and nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages. *Life Sci* 2006;78(7):673-681.
- Kawaguchi K, Maruyama H, Hasunuma R, Kumazawa Y. Suppression of inflammatory responses after onset of collagen-induced arthritis in mice by oral administration of the Citrus flavanone naringin. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2011;33(4):723-729.
- Kellum JA, Song M, Almasri E. Hyperchloremic acidosis increases circulating inflammatory molecules in experimental sepsis. *Chest* 2006;130(4):962-967.
- Kellum JA, Song M, Li J. Lactic and hydrochloric acids induce different patterns of inflammatory response in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;286(4):R686-692.
- Kielian T, Bearden ED, Baldwin AC, Esen N. IL-1 and TNF-alpha play a pivotal role in the host immune response in a mouse model of Staphylococcus aureus-induced experimental brain abscess. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004;63(4):381-396.
- Kikawada E, Lenda DM, Kelley VR. IL-12 deficiency in MRL-Fas(lpr) mice delays nephritis and intrarenal IFN-gamma expression, and diminishes systemic pathology. *J Immunol*. 2003;170(7):3915-3925.
- Kim DH, Jung EA, Sohng IS, Han JA, Kim TH, Han MJ. Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities. *Arch Pharm Res* 1998;21(1):17-23.
- Kim JK, Park JH, Ku HJ, Kim SH, Lim YJ, Park JW, Lee JH. Naringin protects acrolein-induced pulmonary injuries through modulating apoptotic signaling and inflammation signaling pathways in mice. *J Nutr Biochem* 2018;59:10-16.
- Kim KW, Chung BH, Jeon EJ, Kim BM, Choi BS, Park CW, Kim YS, Cho SG, Cho ML, Yang CW. B cell-associated immune profiles in patients with end-stage renal disease (ESRD). *Exp Mol Med* 2012;44(8):465-472.
- Kim SY, Kim HJ, Lee MK, Jeon SM, Do GM, Kwon EY, Cho YY, Kim DJ, Jeong KS, Park YB, Ha TY, Choi MS. Naringin time-dependently lowers hepatic cholesterol biosynthesis and plasma cholesterol in rats fed high-fat and high-cholesterol diet. *J Med Food* 2006;9(4):582-586.
- Kishimoto T. IL-6: from its discovery to clinical applications. *Int Immunol* 2010;22(5):347-352

- Kohan DE, Merli CA, Simon EE. Micropuncture localization of the natriuretic effect of interleukin 1. *Am J Physiol* 1989 256(5 Pt 2):F810-3.
- Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Scientific World Journal* 2013;2013:162750.
- Kuwahara Y, Ohba Y, Kitoh K, Kuwahara N, Kitagawa H. Association of laboratory data and death within one month in cats with chronic renal failure. *J Small Anim Pract* 2006;47(8):446-450.
- Lakkis FG, Coêlho SN. The role of cytokines in inflammatory glomerular injury. *Miner Electrolyte Metab* 1995;21(4-5):250-261.
- Lee HH, Cho YI, Kim SY, Yoon YE, Kim KS, Hong SJ, Han WK. TNF- α induced inflammation stimulates apolipoprotein-A4 via activation of TNFR2 and NF- κ B signaling in kidney tubular cells. *Sci Rep.* 2017;7(1):8856.
- Lepeniec J, Eardley KS, Kienitz T, Hewison M, Ihl T, Stewart PM, Cockwell P, Quinkler M. Renal TLR4 mRNA expression correlates with inflammatory marker MCP-1 and profibrotic molecule TGF- β ₁ in patients with chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2011;119(2):97-104.
- Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 1990;323(4):236-241.
- Leyva-López N, Gutierrez-Grijalva EP, Ambriz-Perez DL, Heredia JB. Flavonoids as Cytokine Modulators: A Possible Therapy for Inflammation-Related Diseases. *Int J Mol Sci* 2016 17(6). pii: E921.
- Lin M, Li L, Li L, Pokhrel G, Qi G, Rong R1, Zhu T. The protective effect of baicalin against renal ischemia-reperfusion injury through inhibition of inflammation and apoptosis. *BMC Complement Altern Med* 2014;14:19.
- Liu Y, Su WW, Wang S, Li PB. Naringin inhibits chemokine production in an LPS-induced RAW 264.7 macrophage cell line. *Mol Med Rep* 2012;6(6):1343-1350.
- Locatelli F, Vecchio LD, Pozzoni P. The importance of early detection of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(Suppl_11):2-7.
- Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001;104(4):487-501.
- Ma F, Liu F, Ding L, You M, Yue H, Zhou Y, Hou Y. Anti-inflammatory effects of curcumin are associated with down regulating microRNA-155 in LPS-treated macrophages and mice. *Pharm Biol* 2017;55(1):1263-1273.
- Ma S, Zhu XY, Eirin A, Woollard JR, Jordan KL, Tang H, Lerman A, Lerman LO. Perirenal fat promotes renal arterial endothelial dysfunction in obese swine through tumor necrosis factor- α . *J Urol.* 2016;195(4 Pt 1):1152-1159.

- Morrell ED, Kellum JA, Hallows KR, Pastor-Soler NM. Epithelial transport during septic acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(7):1312-1319.
- Morrison DC, Danner RL, Dinarello CA, Munford RS, Natanson C, Pollack M, Spitzer JJ, Ulevitch RJ, Vogel SN, McSweegan E. Bacterial endotoxins and pathogenesis of Gram-negative infections: Current status and future direction. *J. Endotoxin Res* 1994;1:71–83.
- Morrissey PJ, Charrier K. Treatment of mice with IL-1 before infection increases resistance to a lethal challenge with *Salmonella typhimurium*. The effect correlates with the resistance allele at the *Ity* locus. *J Immunol* 1994;153(1):212-219.
- Mueller M., Hobiger S., Jungbauer A. Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices. *Food Chem* 2010;122:987-996.
- Noronha IL, Fujihara CK, Zatz R. The inflammatory component in progressive renal disease--are interventions possible? *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(3):363-368.
- Noronha IL, Krüger C, Andrassy K, Ritz E, Waldherr R. In situ production of TNF-alpha, IL-1 beta and IL-2R in ANCA-positive glomerulonephritis. *Kidney Int* 1993;43(3):682-692.
- O'Neill DG, Church DB, McGreevy PD, Thomson PC, Brodbelt DC. Longevity and mortality of cats attending primary care veterinary practices in England. *J Feline Med Surg* 2015;17(2):125-133.
- Ortega LM, Fornoni A. Role of cytokines in the pathogenesis of acute and chronic kidney disease, glomerulonephritis, and end-stage kidney disease. *JICR* 2010;2:49-62.
- Panzer U, Steinmetz OM, Turner JE, Meyer-Schwesinger C, vonRuffer C, Meyer TN, Zahner G, Gómez-Guerrero C, Schmid RM, Helmchen U, Moeckel GW, Wolf G, Stahl RA, Thaiss F. Resolution of renal inflammation: a new role for NF-kappaB1 (p50) in inflammatory kidney diseases. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;297(2):429-439.
- Park HH, Lee S, Oh JM, Lee MS, Yoon KH, Park BH, Kim JW, Song H, Kim SH. Anti-inflammatory activity of fisetin in human mast cells (HMC-1). *Pharmacol Res* 2007;55(1):31-37.
- Pecoits-Filho R, Lindholm B, Axelsson J, Stenvinkel P. Update on interleukin 6 and its role in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(6):1042-1045.
- Pelander L, Ljungvall I, Egenvall A, Syme H, Elliott J, Häggström J. Incidence of and mortality from kidney disease in over 600,000 insured Swedish dogs. *Vet Rec* 2015; 176(25):656.

- Ponnuchamy B, Khalil RA. Cellular mediators of renal vascular dysfunction in hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009;296(4):R1001-18.
- Prakash A, Shur B, Kumar A. Naringin protects memory impairment and mitochondrial oxidative damage against aluminum-induced neurotoxicity in rats. *Int J Neurosci* 2013;123(9):636-645.
- Pu P, Gao DM, Mohamed S, Chen J, Zhang J, Zhou XY, Zhou NJ, Xie J, Jiang H. Naringin ameliorates metabolic syndrome by activating AMP-activated protein kinase in mice fed a high-fat diet. *Arch Biochem Biophys* 2012;518(1):61-70.
- Putker F, Bos MP, Tommassen J. Transport of lipopolysaccharide to the Gram-negative bacterial cell surface. *FEMS Microbiol Rev* 2015;39(6):985-1002.
- Pye C, Elsherbiny NM, Ibrahim AS, Liou GI, Chadli A, Al-Shabrawey M, Elmarakby AA. Adenosine kinase inhibition protects the kidney against streptozotocin-induced diabetes through anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms. *Pharmacol Res* 2014;85:45-54.
- Qian Q. Inflammation: A Key Contributor to the genesis and progression of chronic kidney disease. *Contrib Nephrol* 2017;191:72-83.
- Rajadurai M, Prince PS. Naringin ameliorates mitochondrial lipid peroxides, antioxidants and lipids in isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rats. *Phytother Res* 2009;23(3):358-362.
- Ramesh G, Reeves WB. TNF-alpha mediates chemokine and cytokine expression and renal injury in cisplatin nephrotoxicity. *J Clin Invest* 2002;110(6):835-842.
- Reyes RE, Andrade AA, González CR, Jiménez RC, Herrera MO. Mechanisms of O-antigen structural variation of bacterial lipopolysaccharide (LPS). *The Complex World of Polysaccharides*, 1st Ed., Mexico, 2012;71-94.
- Ribeiro D, Freitas M, Lima JL, Fernandes E. Proinflammatory pathways: The modulation by flavonoids. *Med Res Rev* 2015 35(5):877-936.
- Rittig MG, Kaufmann A, Robins A, Shaw B, Sprenger H, Gemsa D, Foulongne V, Rouot B, Dornand J. Smooth and rough lipopolysaccharide phenotypes of *Brucella* induce different intracellular trafficking and cytokine/chemokine release in human monocytes. *J Leukoc Biol* 2003;74(6):1045-1055.
- Russo A, Acquaviva R, Campisi A, Sorrenti V, Di Giacomo C, Virgata G, Barcellona ML, Vanella A. Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell Biol Toxicol* 2000;16(2):91-98.
- Safranow K, Dzieziejko V, Rzeuski R, Czyzycka E, Wojtarowicz A, Bińczak-Kuleta A, Jakubowska K, Olszewska M, Ciechanowicz A, Kornacewicz-Jach Z, Machaliński B, Pawlik A, Chlubek D. Plasma concentrations of TNF-alpha and its soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2 in patients with coronary artery disease. *Tissue Antigens* 2009;74(5):386-392.

- Salomonsson M, Gonzalez E, Kornfeld M, Persson AE. The cytosolic chloride concentration in macula densa and cortical thick ascending limb cells. *Acta Physiol Scand* 1993;147(3):305-313.
- Sanz AB, Justo P, Sanchez-Niño MD, Blanco-Colio LM, Winkles JA, Krezdler M, Jakubowski A, Blanco J, Egido J, Ruiz-Ortega M, Ortiz A. The cytokine TWEAK modulates renal tubulointerstitial inflammation. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(4):695-703.
- Schmidt C, Höcherl K, Schweda F, Bucher M. Proinflammatory cytokines cause down-regulation of renal chloride entry pathways during sepsis. *Crit Care Med* 2007;35(9):2110-2119.
- Schnermann J, Ploth DW, Hermle M. Activation of tubulo-glomerular feedback by chloride transport. *Pflugers Arch* 1976;362(3):229-240.
- Schwarting A, Moore K, Wada T, Tesch G, Yoon HJ, Kelley VR. IFN-gamma limits macrophage expansion in MRL-Fas(lpr) autoimmune interstitial nephritis: a negative regulatory pathway. *J Immunol* 1998;160(8):4074-4081.
- Schwarting A, Tesch G, Kinoshita K, Maron R, Weiner HL, Kelley VR. IL-12 drives IFN-gamma-dependent autoimmune kidney disease in MRL-Fas(lpr) mice. *J Immunol* 1999;163(12):6884-6891.
- Shahid M, Francis J, Majid DS. Tumor necrosis factor-alpha induces renal vasoconstriction as well as natriuresis in mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008;295(6):F1836-44.
- Shalaby SA, Al-Edressi HM, El-Tarhouny SA, Fath El-Bab M, Zolaly MA. Type 1/type 2 cytokine serum levels and role of interleukin-18 in children with steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Arab J Nephrol Transplant* 2013;6(2):83-88.
- Shalmi CL, Dutcher JP, Feinfeld DA, Chun KJ, Saleemi KR, Freeman LM, Lynn RI, Wiernik PH. Acute renal dysfunction during interleukin-2 treatment: suggestion of an intrinsic renal lesion. *J Clin Oncol* 1990;8(11):1839-1846.
- Shimazu R, Akashi S, Ogata H, Nagai Y, Fukudome K, Miyake K. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *J. Exp. Med* 1999;189:1777-1782.
- Shimoyama H, Nakajima M, Naka H, Maruhashi Y, Akazawa H, Ueda T, Nishiguchi M, Yamoto Y, Kamitsuji H, Yoshioka A. Up-regulation of interleukin-2 mRNA in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004;19(10):1115-1121.
- Siebert S, Tsoukas A, Robertson J, McInnes I. Cytokines as therapeutic targets in rheumatoid arthritis and other inflammatory diseases. *Pharmacol Rev* 2015;67(2):280-309.

- Singh D, Chander V, Chopra K. Protective effect of naringin, a bioflavonoid on ferric nitrilotriacetate-induced oxidative renal damage in rat kidney. *Toxicology* 2004;201:1-8.
- Smith AJ, D'Aiuto F, Palmen J, Cooper JA, Samuel J, Thompson S, Sanders J, Donos N., Nibali L, Brull D, Woo P, Humphries SE. Association of serum interleukin-6 concentration with a functional IL6 - 6331T>C polymorphism. *Clinical chemistry* 2008;54(5):841-850.
- So FV, Guthrie N, Chambers AF, Moussa M, Carroll KK. Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonoids and citrus juices. *Nutr Cancer* 1996;26:167-181.
- Soromou LW, Zhang Z, Li R, Chen N, Guo W, Huo M, Guan S, Lu J, Deng X. Regulation of inflammatory cytokines in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage by 7-O-methyl-naringenin. *Molecules* 2012;17(3):3574-3585.
- Stenvinkel P, Barany P, Heimbürger O, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? *Kidney Int Suppl* 2002;(80):103-108
- Stenvinkel P, Wanner C, Metzger T, Heimbürger O, Mallamaci F, Tripepi G, Malatino L, Zoccali C. Inflammation and outcome in end-stage renal failure: does female gender constitute a survival advantage? *Kidney Int* 2002;62(5):1791-1798.
- Suranyi MG, Guasch A, Hall BM, Myers BD. Elevated levels of tumor necrosis factor-alpha in the nephrotic syndrome in humans. *Am J Kidney Dis* 1993;21(3):251-259.
- Tesch GH, Yang N, Yu H, Lan HY, Foti R, Chadban SJ, Atkins RC, Nikolic-Paterson DJ. Intrinsic renal cells are the major source of interleukin-1 beta synthesis in normal and diseased rat kidney. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:1109-1115.
- Timoshanko JR, Kitching AR, Iwakura Y, Holdsworth SR, Tipping PG. Leukocyte-derived interleukin-1beta interacts with renal interleukin-1 receptor I to promote renal tumor necrosis factor and glomerular injury in murine crescentic glomerulonephritis. *Am J Pathol* 2004;164(6):1967-1977.
- Timoshanko JR, Sedgwick JD, Holdsworth SR, Tipping PG. Intrinsic renal cells are the major source of tumor necrosis factor contributing to renal injury in murine crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2003;(7):1785-1793.
- Tipping PG, Holdsworth SR. Cytokines in glomerulonephritis. *Semin Nephrol* 2007;27(3):275-285.
- Tipping PG, Holdsworth SR. Cytokines in glomerulonephritis. *Semin Nephrol* 2007;27(3):275-285.

- Tipping PG, Lowe MG, Holdsworth SR. Glomerular interleukin 1 production is dependent on macrophage infiltration in anti-GBM glomerulonephritis. *Kidney Int* 1991;39:103-110.
- Tomar A, Vasisth S, Khan SI, Malik S, Nag TC, Arya DS, Bhatia J. Galangin ameliorates cisplatin induced nephrotoxicity *in vivo* by modulation of oxidative stress, apoptosis and inflammation through interplay of MAPK signaling cascade. *Phytomedicine* 2017;34:154-161.
- Tonelli M, Wiebe N, Culleton B, House A, Rabbat C, Fok M, McAlister F, Garg AX. Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review. *J Am Soc Nephrol* 2006;17(7):2034-2047.
- Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation markers, adhesion molecules, and all-cause and cardiovascular mortality in patients with ESRD: searching for the best risk marker by multivariate modeling. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(3):83-88.
- Tucci M, Stucci S, Strippoli S, Silvestris F. Cytokine overproduction, T-cell activation, and defective T-regulatory functions promote nephritis in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010:457146.
- Tuñón MJ, García-Mediavilla MV, Sánchez-Campos S, González-Gallego J. Potential of flavonoids as anti-inflammatory agents: modulation of pro-inflammatory gene expression and signal transduction pathways. *Curr Drug Metab* 2009;10(3):256-271.
- Uhm WS, Na K, Song GW, Jung SS, Lee T, Park MH, Yoo DH. Cytokine balance in kidney tissue from lupus nephritis patients. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42(8):935-938.
- van der Bruggen T, Nijenhuis S, van Raaij E, Verhoef J, van Asbeck BS. Lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor alpha production by human monocytes involves the raf-1/MEK1-MEK2/ERK1-ERK2 pathway. *Infect Immun* 1999;67(8):3824-3829.
- Vianna HR, Soares CM, Tavares MS, Teixeira MM, Silva AC. Inflammation in chronic kidney disease: the role of cytokines. *J Bras Nefrol* 2011;33(3):351-364.
- Wada J, Sugiyama H, Makino H. Pathogenesis of IgA nephropathy. *Semin Nephrol* 2003;23:556-563.
- Wang XR, Zhang JJ, Xu XX, Wu YG. Prevalence of coronary artery calcification and its association with mortality, cardiovascular events in patients with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Ren Fail* 2019;41(1):244-256.
- Xin SB, Yan H, Ma J, Sun Q, Shen L. Protective effects of luteolin on lipopolysaccharide-induced acute renal injury in mice. *Med Sci Monit* 2016;22:5173-5180.

- Xu Y, Zhang J, Liu J, Li S, Li C, Wang W, Ma R, Liu Y. Luteolin attenuate the D-galactose-induced renal damage by attenuation of oxidative stress and inflammation. *Nat Prod Res* 2015;29(11):1078-1082.
- Xu Y, Zhang J, Liu J, Li S, Li C, Wang W, Ma R, Liu Y. Luteolin attenuate the D-galactose-induced renal damage by attenuation of oxidative stress and inflammation. *Nat Prod Res* 2015;29(11):1078-1082.
- Xue B, Wu Y, Yin Z, Zhang H, Sun S, Yi T, Luo L. Regulation of lipopolysaccharide-induced inflammatory response by glutathione S-transferase P1 in RAW264.7 cells. *FEBS Lett.* 2005;579(19):4081-4087.
- Yang L, Liu G, Lian K, Qiao Y, Zhang B, Zhu X, Luo Y, Shang Y, Gu XL. Dietary leonurine hydrochloride supplementation attenuates lipopolysaccharide challenge-induced intestinal inflammation and barrier dysfunction by inhibiting the NF- κ B/MAPK signaling pathway in broilers. *J Anim Sci* 2019;97(4):1679-1692.
- Ye J, Guan M, Lu Y, Zhang D, Li C, Li Y, Zhou C. Protective effects of hesperetin on lipopolysaccharide-induced acute lung injury by targeting MD2. *Eur J Pharmacol* 2019;852:151-158.
- Zhang B, Ramesh G, Uematsu S, Akira S, Reeves WB. TLR4 signaling mediates inflammation and tissue injury in nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 2008;5:923-932.
- Zhang J, Sun C, Yan Y, Chen Q, Luo F, Zhu X, Li X, Chen K. Purification of naringin and neohesperidin from Huyou (*Citrus changshanensis*) fruit and their effects on glucose consumption in human HepG2 cells. *Food Chem*, 2012;135(3):1471-1478.
- Zhang J, Yang S, Li H, Chen F, Shi J. Naringin ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting NADPH oxidase 4. *Eur J Pharmacol* 2017;5;804:1-6.
- Zhang J, Yang S, Li H, Chen F, Shi J. Naringin ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting NADPH oxidase 4. *Eur J Pharmacol* 2017;804:1-6.
- Zhang X, Li L, Xu Z, Liang Z, Su J, Huang J, Li B. Investigation of the interaction of naringin palmitate with bovine serum albumin: spectroscopic analysis and molecular docking. *PLoS One* 2013;8(3):e59106.
- Zhao Y, Li Z, Wang W, Zhang H, Chen J, Su P, Liu L, Li W. Naringin Protects Against Cartilage Destruction in Osteoarthritis Through Repression of NF- κ B Signaling Pathway. *Inflammation* 2016; 39(1):385-392.
- Zhong Y, Jin C, Wang X, Li X, Han J, Xue W, Wu P, Peng X, Xia X. Protective effects of apigenin against 3-MCPD-induced renal injury in rat. *Chem Biol Interact.* 2018;296:9-17.

Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Fermo I, Focà A, Paroni R, Malatino LS. Inflammation is associated with carotid atherosclerosis in dialysis patients. Creed Investigators. Cardiovascular Risk Extended Evaluation in Dialysis Patients. *J Hypertens* 2000;18(9):1207-1213.

Zou J, Guo P, Lv N, Huang D. Lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- α factor enhances inflammation and is associated with cancer. *Mol Med Rep* 2015;12(5):6399-6404.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Sema TAPAN

Doğum Yeri: ÇORUM

Doğum Tarihi: 05.10.1992

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Evren İlköğretim Okulu 1997-2005

Mehmet Çelik Anadolu Lisesi 2005-2009

19 Mayıs Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik 2011-2015

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Sema Tapan Beslenme ve Diyet Danışmanlık Merkezi 2016-

E-posta: dytsematapan@gmail.com