

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANABİLİM DALI



**NARİNGİNİN RENAL HÜCRE ENFLAMASYONUNDA
TROMBOSİT KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ DÜZEYİNE
ETKİSİNİN İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

İrem Oya Yılmaz

Danışman
Prof. Dr. Gül Fatma YARIM

SAMSUN
2022

TEZ KABUL VE ONAYI

İrem Oya YILMAZ tarafından, **Prof. Dr. Gül Fatma YARIM** danışmanlığında hazırlanan “**Naringinin Renal Hücre Enflamasyonunda Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü Düzeyine Etkisinin İn Vitro Değerlendirilmesi**” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 24.1.2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Ali ERTEKİN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı		X Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye (Danışman)	Prof. Dr. Gül Fatma YARIM Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı		X Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. Ayşegül ÇEBİ Giresun Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Bölümü		X Kabul <input type="checkbox"/> Ret

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

ONAY
... / ... / ...
Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz).

Hayır

... / ... / 20...

İrem Oya YILMAZ

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: Naringinin Renal Hücre Enflamasyonunda Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü Düzeyine Etkisinin İn Vitro Değerlendirilmesi

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 28.12.2021 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 7

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

... / ... / 20...

Prof. Dr. Gül Fatma YARIM

ÖZET

NARİNGİNİN RENAL HÜCRE ENFLAMASYONUNDA TROMBOSİT KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ DÜZEYİNE ETKİSİNİN İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

İrem Oya YILMAZ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANA BİLİM DALI

Yüksek Lisans, Ocak/2022

Danışman: Prof. Dr. Gül Fatma YARIM

Amaç: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) izoformlarının, böbrek hücrelerinde eksprese olduğu ve böbrek hastalıklarının etiyopatogenezinde rol aldığı bilinmektedir. Güçlü antioksidan ve antienflamatuar etkinliğe sahip olduğu bilinen naringinin, böbrek bozukluklarının ve hastalıklarının profilaksisinde ve tedavi edilmesinde başarı sağladığı anlaşılmaktadır. Sunulan tez çalışmasının amacı, naringinin *in vitro* böbrek hücre hasarında PDGF üzerine etkisinin incelenmesidir.

Materyal ve Metot: Tez çalışmalarında Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) hücre kültürü kullanıldı. Hücre hasarının oluşturulması için MDBK hücre kültürü 4 saat boyunca 5 µg/mL lipopolisakkarite (LPS) maruz bırakıldı. Naringin uygulaması 4 saat boyunca 1900 µM dozda gerçekleştirildi. Naringinin ve LPS'nin MDBK hücrelerindeki sitotoksik etkisi kolorimetrik hücre sayım kiti ile değerlendirildi. Deneysel uygulamalardan sonra hücre kültürü supernatantlarında PDGF konsantrasyonunun ölçümü enzim bağlı immünosorbent analiz (ELISA) yöntemi ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Negatif kontrol grubunun hücre supernatantında PDGF konsantrasyonu 45,5 ± 7,9 ng/L olarak ölçüldü. Dört saat boyunca 5 µg/mL LPS'ye maruz bırakılan MDBK hücre supernatantında PDGF konsantrasyonunun 257,0 ± 16,4 ng/L olduğu anlaşıldı. Dört saat boyunca 1900 µM naringin uygulanan hücre supernatantında PDGF konsantrasyonu 54,8 ± 7,1 ng/L olarak belirlendi. Dört saat boyunca 5 µg/mL LPS+naringin uygulanan MDBK hücre supernatantındaki PDGF konsantrasyonu 146,8 ± 6,3 ng/L olarak ölçüldü. Dört saat boyunca 5 µg/mL LPS'ye maruz kalan MDBK hücre supernatantındaki PDGF konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerindeki düzeye göre 5,65 kat yüksek olduğu belirlendi (p < 0,05). Dört saat boyunca 5 µg/mL LPS+naringin uygulanan MDBK hücre supernatantında PDGF düzeyinin negatif kontrol hücrelerinkine oranla 3,23 kat daha fazla olduğu saptandı (p < 0,05). MDBK hücre kültüründe LPS maruziyeti artmış olan PDGF düzeyinin naringin uygulaması ile 1,75 kat azaldığı belirlendi (p < 0,05).

Sonuç: Sunulan tez çalışmasının bulguları, naringinin MDBK hücrelerinde PDGF salgılanmasının baskılanması yoluyla LPS'nin neden olduğu enflamasyon üzerinde terapötik bir etki sergilediği ortaya konuldu. Naringinin *in vitro* etkisinin *in vivo* araştırmalarla desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: İn vitro, Naringin, Renal hücre, Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

ABSTRACT

IN VITRO EVALUATION OF THE EFFECT OF NARINGIN ON PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR IN RENAL CELL INFLAMMATION

İrem Oya YILMAZ

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Biochemistry

Master, January/2022

Supervisor: Prof. Dr. Gül Fatma YARIM

Aim: Platelet-derived growth factor (PDGF) isoforms are known to be expressed in kidney cells and play a role in the etiopathogenesis of kidney diseases. It is understood that naringin, which is known to have strong antioxidant and anti-inflammatory activity, provides success in the prophylaxis and treatment of kidney disorders and diseases. The aim of the presented thesis is to examine the effect of naringin on PDGF in in vitro kidney cell damage.

Material and Method: Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) cell culture was used in the thesis study. MDBK cell culture was exposed to 5 µg/mL lipopolysaccharide (LPS) for 4 hours to induce cell damage. Naringin was administered at a dose of 1900 µM for 4 hours. The cytotoxic effects of naringin and LPS on MDBK cells were evaluated with a colorimetric cell counting kit. After the experimental applications, the measurement of PDGF concentration in cell culture supernatants was carried out by enzyme-linked immunosorbent analysis (ELISA) method.

Results: The PDGF concentration in the cell supernatant of the negative control group was measured as 45.5 ± 7.9 ng/l. It was found that the PDGF concentration in the MDBK cell supernatant exposed to 5 µg/mL LPS for four hours was 257.0 ± 16.4 ng/l. The PDGF concentration was determined as 54.8 ± 7.1 ng/L in the cell supernatant treated with 1900 µM naringin for four hours. The PDGF concentration in the MDBK cell supernatant, which was applied 5 µg/mL LPS+ naringin for four hours, was measured as 146.8 ± 6.3 ng/l. The PDGF concentration in MDBK cell supernatant exposed to 5 µg/mL LPS for four hours was 5.65 times higher than the level in negative control cells ($p < 0.05$). In MDBK cell supernatant treated with 5 µg/mL LPS+naringin for four hours, PDGF level was found to be 3.23 times higher than that of negative control cells ($p < 0.05$). It was determined that PDGF level with increased LPS exposure in MDBK cell culture was decreased by 1.75 fold with naringin treatment ($p < 0.05$).

Conclusion: The findings of the presented thesis study revealed that naringin exerts a therapeutic effect on LPS-induced inflammation through suppression of PDGF secretion in MDBK cells. It is thought that this effect of naringin *in vitro* should be supported by *in vivo* studies.

Keywords: *In vitro*, Naringin, Renal cell, Platelet derived growth factor

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Engin mesleki bilgi ve deneyimleri ile beni yetiştiren, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Gül Fatma YARIM'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince emeklerini ve desteklerini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ali ERTEKİN, sayın Prof. Dr. Sena ÇENESİZ, sayın Prof. Dr. Cevat NİSBET ve sayın Prof. Dr. Gülay ÇİFTCİ hocalarıma,

Laboratuvar analizlerinde özverili desteklerini sunan Araş. Gör. Ayris GÖKÇEOĞLU'na,

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

Eğitim hayatım boyunca bana her zaman destek olan çok kıymetli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, PYO.VET.1904.21.026 numaralı proje ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

İrem Oya YILMAZ

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Naringin	2
2.2. Fenilpropanoid Yolu ile Naringin Biyosentezi.....	4
2.3. Naringinin Metabolizması	6
2.4. Naringinin Terapötik Potansiyeli.....	8
2.5. Naringinin Nefroprotektif Etkileri.....	10
2.6. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü	11
3. MATERYAL VE METOT	15
3.1. Kimyasal Maddeler.....	15
3.2. Kullanılan Cihazlar	15
3.3. Hücre Kültürü	16
3.4. Çalışma Grupları.....	16
3.5. PDGF Konsantrasyonunun Ölçümü	17
3.6. ELISA Testinin Prensibi.....	18
3.7. PDGF Standart Çözeltilerinin Hazırlanması	18
3.8. PDGF ELISA Ölçüm Basamakları	19
3.9. İstatistiksel Analizler	20
4. BULGULAR	21
4.1. TNF- α ve IL-1 β Konsantrasyonları	21
4.2. PDGF Konsantrasyonu	23
5. TARTIŞMA	24
5. SONUÇ	27
6. KAYNAKLAR	29

SİMGELER VE KISALTMALAR

ELISA: Enzim bağılı immünosorbent analiz
LPS: Lipopolisakkarit
MDBK: Madin darby bovine kidney
PDGF: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
DMEM: Dulbecco tarafından modifiye edilen Eagle besiyeri
DMF: Dimetil formamid
DMSO: Dimetil sülfoksit
NADPH: Redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO: Nitrik oksit
iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
NF- κ B: Nükleer faktör-kappa B
IL-8: İnterlökin-8
TLR4: Toll benzeri reseptör 4
TRAF6: TNF reseptörü ile ilişkili faktör 6
TNF- α : Tümör nekroz faktör alfa
AP-1: Aktivatör protein transkripsiyon faktörü-1
IL-1 β : İnterlökin 1-beta
IL-6: İnterlökin-6
PAL: Fenilalanin amonyak-liyaz
C4H: Sınnamat 4-hidroksilaz
UF7GT: 7-O-glukotransferaz
CHI: Kalkon izomeraz
CHS: Kalkon sentaz
4CL: 4-kumarat CoA-ligaz
MDA: Malondialdehit
GSH: Glutasyon
MPO: Miyeloperoksidaz
IFN γ : İnterferon gama
CAT: Katalaz
ER: Endoplazmik retikulum
RAS: Renin-anjiyotensin sistemi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Flavonoidlerin temel kimyasal yapısı	3
Şekil 2.2. Naringinin kimyasal yapısı	4
Şekil 2.3. Fenilpropanoid biyosentez yolu	5
Şekil 2.4. Naringinin α -ramnozidaz ve β -glukozidaz aktivitelerini ifade eden naringinaz tarafından prunin, ramnoz, naringenin ve glukoz hidrolizi.....	6
Şekil 2.5. Naringin metabolizması.	7
Şekil 2.6. Naringinin lipopolisakkarit kaynaklı PC12 hücre apoptozisine karşı koruyucu etkilerinden sorumlu olan mekanizmalar.	9
Şekil 2.7. PDGF izoformları.	12
Şekil 2.8. PDGF reseptörleri ve sinyalizasyon.....	13
Şekil 3.9. PDGF standart çözeltilerinin hazırlanması.....	18
Şekil 4.10. MDBK hücre kültürü supernatantlarında TNF- α konsantrasyonları	21
Şekil 4.11. MDBK hücre kültürü supernatantlarında IL-1 β konsantrasyonları.....	22
Şekil 4.12. MDBK hücre kültürü supernatantlarında PDGF konsantrasyonları	23

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Çeşitli narenciye sularında naringin konsantrasyonları.....	8
Tablo 3.2. Hücre kültürü çalışmalarında ve laboratuvar analizlerinde kullanılan kimyasal maddeler..	15
Tablo 3.3. Laboratuvar analizlerinde kullanılan cihazlar.....	15
Tablo 3.4. Çalışma gruplarında gerçekleştirilen uygulamalar.....	16
Tablo 3.5. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü ELISA kitinin içeriği.....	17
Tablo 3.6. PDGF standart konsantrasyonları.....	19



1. GİRİŞ

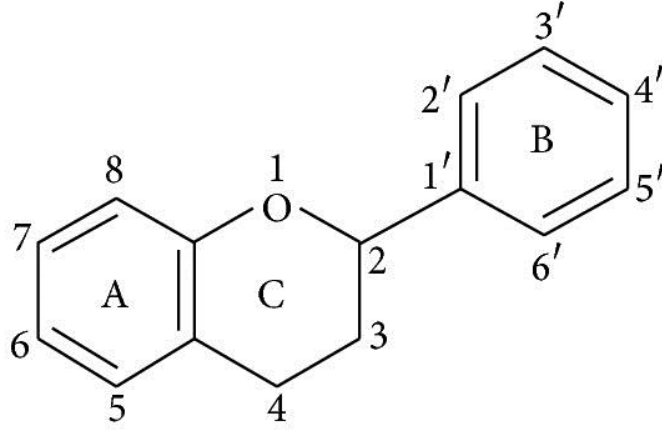
Mitojenik ve kemotaktik etkileri nedeniyle trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ailesi, çoğu hücrenin olduğu gibi böbrek hücrelerinin de büyümesinde, farklılaşmasında, göçünde ve fonksiyonunda rol oynamakta ve bu şekilde böbreğin fizyolojik, fizyopatolojik ve patolojik birçok sürecinde görev almaktadır. Böbrek hücrelerinde PDGF izoformlarının eksprese olduğu, böbrek bozukluklarının ve hastalıklarının gelişmesinde ve ilerlemesinde PDGF ailesinin rol oynadığı bilinmektedir. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü altta yatan hastalıktan bağımsız olarak renal fibrozisin tetiklenmesinde rol oynamaktadır (Kok et al., 2014). Trombosit kaynaklı büyüme faktörü ailesinin ilerleyici böbrek hastalıklarının profilaksisi ve tedavisi için ümit verici bir terapötik hedef olduğu öne sürülmektedir (Boor et al., 2014; Floege et al., 2008).

Flavonoidlerin, sitokin-aracılı enflamatuar 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 enflamatuar mediyatörleri inhibe ederek, siklooksijenazlar ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz gibi enflamatuar enzimlerin aktivitesini düzenleyerek ve transkripsiyon faktörlerini modüle ederek göstermektedirler (Kumar and Pandey, 2013; González-Gallego et al., 2010; Tuñón et al., 2009; Ribeiro et al., 2008). Biyoflavonoidler, böbrek hasarının hafifletilmesinde ve giderilmesinde başarıyla kullanılmaktadır (Gao et al., 2021; Gholampour et al., 2020; Tan et al., 2019; Chen et al., 2018; Zhang et al., 2017; Impellizzeri et al., 2015; Xu et al., 2015). Doğal bir flavonoid olan naringin, böbrek hücrelerini oksidatif strese ve enflamasyona karşı korumaktadır. Sunulan tez çalışmasında, naringinin antioksidan ve antienflamatuar etkisinden yararlanılarak, *in vitro* koşullarda lipopolisakkaritle oluşturulan böbrek hücre hasarındaki olası yararlı etkisi değerlendirilmiştir. Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçların, böbrek hastalıklarının profilaksisi ve tedavisi konusunda gerçekleştirilecek bilimsel çalışmalara özgün katkılar sunabileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Naringin

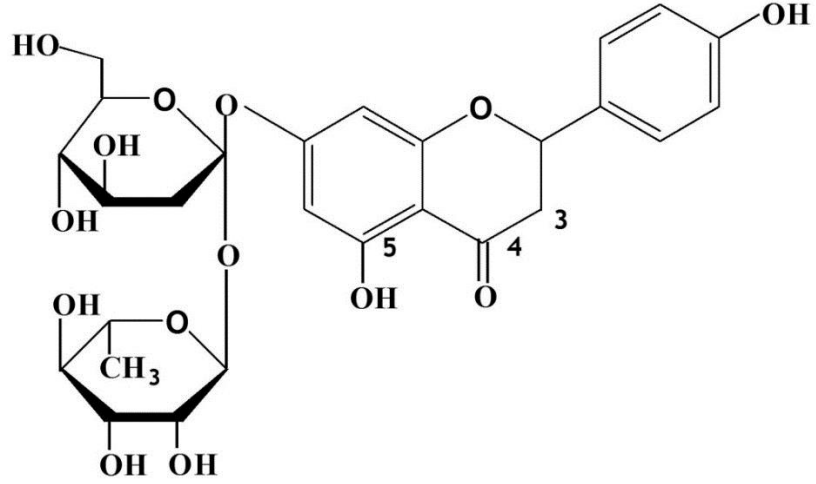
Naringin (4',5,7-trihidroksi flavon 7-ramnoglukozid), flavonoid ailesinin bir üyesidir. Flavonoidler, turunçgiller başta olmak üzere meyvelerde, sebzelerde, yağlı tohumlarda, çaylarda, kahvelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Flavonoidler, bir benzo- γ -piron yapısına sahip büyük bir polifenolik bileşik grubu olup fenilpropanoid yolu ile sentezlenmektedirler. Flavonoidlerin kimyasal yapısı heterosiklik bir piran halkası (C) ile bağlanmış iki benzen halkasından (A ve B) oluşan on beş karbonlu bir iskeletten ibarettir (Şekil 2.1). Flavonoidler, polifenol bileşiklerin sekonder metabolitleri olup oksidasyon düzeylerine göre flavonlar, flavanonlar, flavonoller, izoflavonoidler, neoflavonoidler, antosiyanidinler ve kalkonlar gibi alt sınıflara ayrılmaktadırlar. Flavonoidlerin çeşitli sınıfları oksidasyon seviyesi ve C halkasının ikame modeli açısından farklılık gösterirken, bir sınıf içindeki tek tek bileşikler A ve B halkalarının ikame modeli açısından farklılık göstermektedir. Flavonoidler, aglikonlar, glikozitler ve metillenmiş türevler olarak sentezlenmektedirler. Temel flavonoid yapısı aglikondur. Benzen halkası ile kondenze olmuş altı üyeli halka, ya bir a-piron (flavonoller ve flavanonlar) ya da onun dihidro türevidir (flavonoller ve flavanonlar). Benzenoidin konumu, flavonoid sınıfını flavonoidlere (2-konum) ve izoflavonoidlere (3-konum) ayırmaktadır. Flavonoller, 3-konumundaki hidroksil grubu ve bir C2-C3 çift bağı ile flavanonlardan farklıdır (Narayana et al., 2001). Flavonoidler genellikle 3, 5, 7, 2, 3', 4' ve 5' pozisyonlarında hidroksillenmektedirler. Glikozitler oluştuğunda, glikozidik bağ normalde 3 veya 7 pozisyonlarında bulunmakta ve karbonhidrat L-ramnoz, D-glukoz, ramnoz, galaktoz veya arabinoz olmaktadır (Middleton, 1984). Flavonoidlerin sahip oldukları antioksidan aktivitelerinin hidroksil gruplarının sayısı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Flavonoidlerin antiinflamatuvar aktivitesi, serbest radikallerin temizlenmesi ve lipit peroksidasyonunun inhibisyonu ile ilişkili olmasının yanı sıra, araşidonat metabolizmasında yer alan siklooksijenaz ve 5-lipooksijenaz yollarının inhibisyonu ile de ilişkilidir (Wu et al., 2006; Morikawa et al., 2003; Rotelli et al., 2003).



Şekil 2.1. Flavonoidlerin temel kimyasal yapısı (Kumar and Pandey, 2013).

Günümüzde binlerce flavonoid molekülü tanımlanmış ve karbon yapıları ile oksidasyon düzeylerine göre sınıflandırılmıştır. Bilimsel çalışmalar, flavonoidler de dahil olmak üzere fenolik yapıdaki ikincil metabolitlerin çeşitli farmakolojik aktivitelerden sorumlu olduğuna işaret etmektedirler (Panche et al., 2016; Kumar and Pandey, 2013; Nogata et al., 2006; Peterson et al., 2006; Heim et al., 2002). Flavonoidlerin günlük diyet gereksinimi birkaç yüz miligram olarak kabul edilmektedir (Hollman and Katan, 1999).

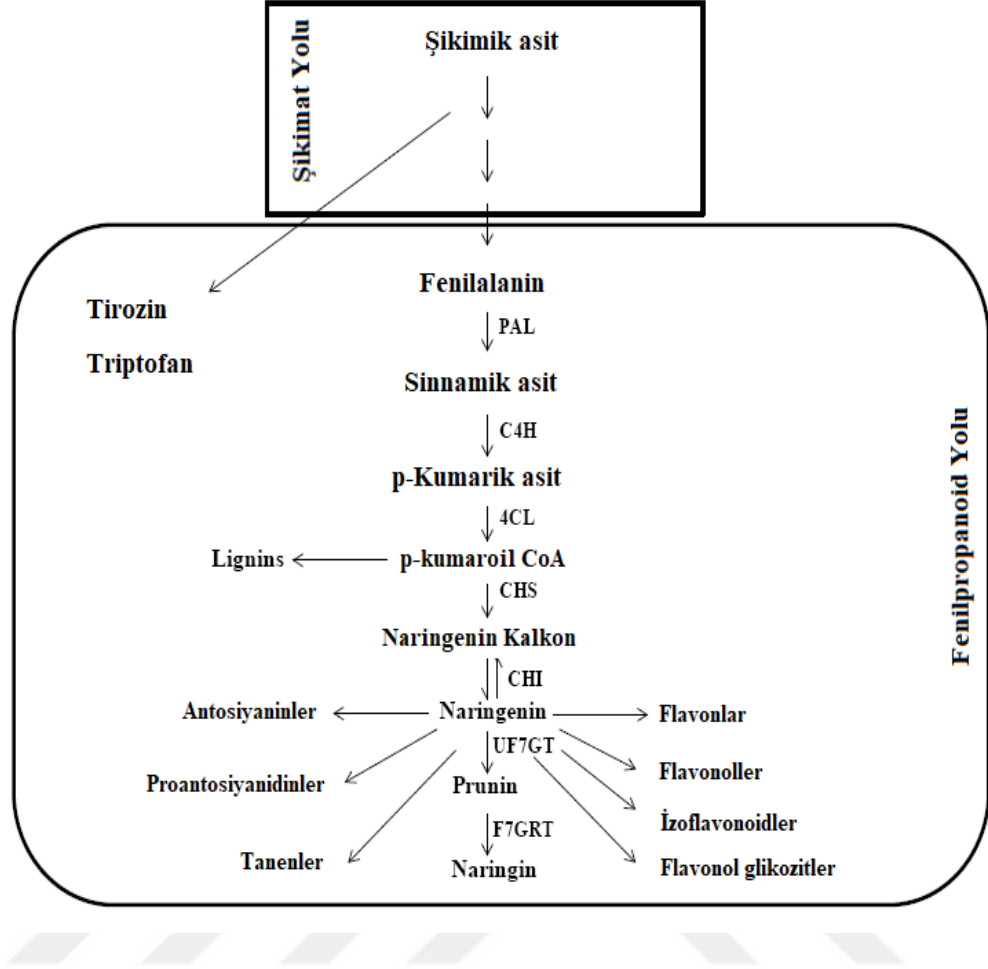
Naringin, esas olarak, turunçgillerde, üzümde ve domatestede bulunan bir flavanon glikozit olup moleküler formülü $C_{27}H_{23}O_{14}$ ve moleküler ağırlığı 580,54 g/mol'dür. Naringinin yaklaşık olarak % 90'lık kısmı meyvenin albedosunda ve dilimlerinin zarında yer almaktadır. Naringinin yapısında 7. karbon pozisyonunda aglikon kısmına, naringenine iki ramnoz birimi bağlanmıştır. Erime noktası 166 °C olan naringin, suda ve alkolde çözünmektedir. Bağırsak mikroflorası, naringini aglikon naringenine ayırmakta, daha sonra bağırsaktan emilmektedir (Ribeiro et al., 2008). Naringinin kimyasal yapısı Şekil 2.2'de şematize edilmiştir.



Şekil 2.2. Naringinin kimyasal yapısı (Chen et al., 2016).

2.2. Fenilpropanoid Yolu ile Naringin Biyosentezi

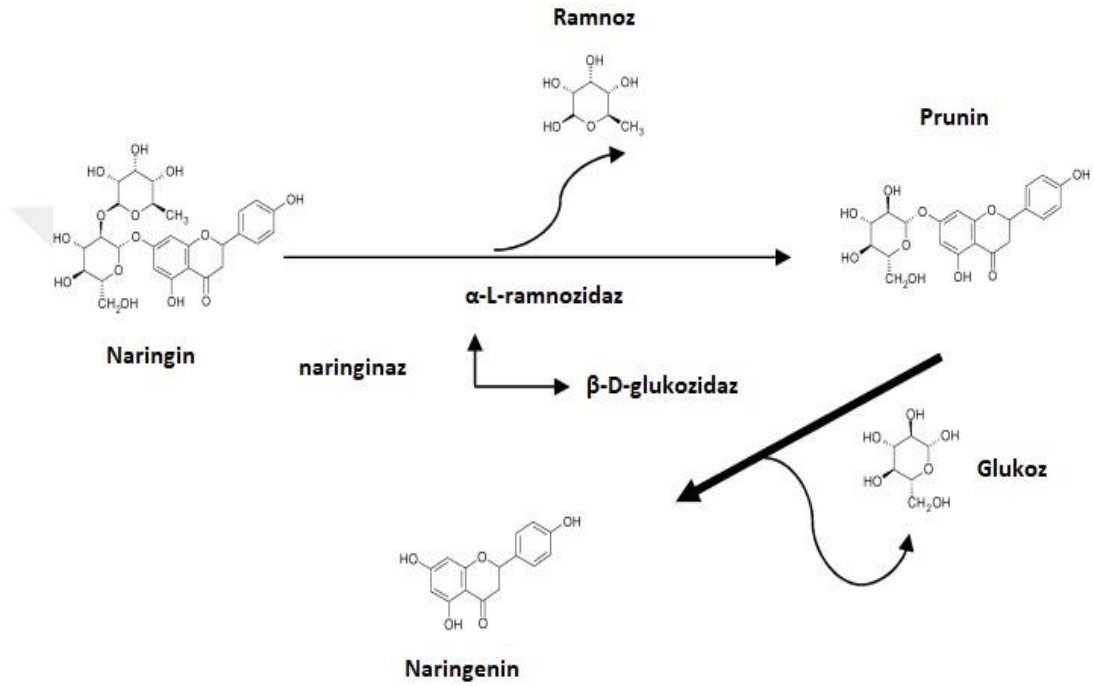
Fenilpropanoid yolu, flavonoidler, tanenler ve ligninler gibi çeşitli son ürünlerin oluşumuna aracılık etmektedir. Fenilpropanoid yolu, şikimat yolunun son ürünü olan fenilalanin ile başlamaktadır. Fenilpropanoid biyosentez yolunun enzim katalizli ilk 7 basamağı naringin sentezini sağlamaktadır. Bu biyosentez yolunda ilk adım, fenilalanin amonyak-liyaz (PAL) enzimi ile fenilalaninin sinamik asite dönüşümüdür. Fenilalanin, sinamik asit ve amonyağa deamine edilmektedir. İkinci aşamada, sinamat 4-hidroksilaz (C4H), sinamik asidin p-kumarata dönüşümünü katalize etmektedir. P-kumarat daha sonra enzim 4-kumarat CoA-ligaz (4CL) yoluyla p-kumaroil CoA'ya metabolize edilmektedir. P-kumaroil CoA sentezine kadar olan yol, genel fenilpropanoid yoludur. Daha sonra, yol izoflavonoidler, stilbenler, proantosiyanidinler, flavonoller ve antosiyaninler olarak çeşitlenmektedir. Kalkon sentaz (CHS) ve kalkon izomeraz (CHI) enzimleri, fenilpropanoidlerin flavonoid biyosentezine bölünmesini katalize etmektedir. Ayrıca, üridin difosfoglukozflavanon 7-O-glukotransferaz (UF7GT) aracılı kataliz bir grup farklı metabolit oluşumuna aracılık etmektedir (Sharma et al., 2019; Wang et al., 2016; Winkel-Shirley, 2001). Naringin biyosentezi Şekil 2.3'te sunuldu.



Şekil 2.3. Fenilpropanoid biyosentez yolu. PAL: fenilalanin amonyak liyaz, C4H: sinnamat-4 hidroksilaz, 4CL: 4-kumaroil: CoA-ligaz, CHS: kalkon sentaz, CHI: kalkon izomeraz, UF7GT: üridin difosfoglukoz-flavanon 7-O-glukosiltransferaz, F7GRT: flavanon 7-O-glukozit 2-O-beta-L-rhamnosiltransferaz (Sharma et al., 2019'dan uyarlanmıştır).

Acı bir tada sahip olan naringenin erime noktasına 208-251 °C olup zayıf bazik yapıya sahiptir. Naringenin dimetil formamid (DMF), dimetil sülfoksit (DMSO) ve etanolde kolayca çözünebilirken sulu tamponlarda çözünürlüğü düşüktür. Naringenin suda çok az çözünür (20 °C'de % 0,05). Naringenin çözünürlüğü; metanol > etil asetat > n-butanol > izopropanol > petrol eter > hekzan sırasıyla (Zhang et al., 2015). Naringenin, kaynayan mineral asit ile hidroliz yoluyla uzaklaştırılabilen şeker parçası rutinoz (6-O- α -L-ramnozil-D-glukoz; C₁₂H₂₂O₁₀) içerir. Aglukoz kısmı, naringenin olarak adlandırılmaktadır ve naringenin acılığında yoksundur (Tomasik, 2003). Naringenin acı tadının uzaklaştırılması, bir α -ramnozidaz ve P-glukozidaz karışımı kullanılarak şeker kısmının enzimatik bölünmesiyle mümkündür. Bu enzimler *Phomopsis cirri*, *Cochliobolus miyabeanus* ve *Rhizoctonia solanii* gibi

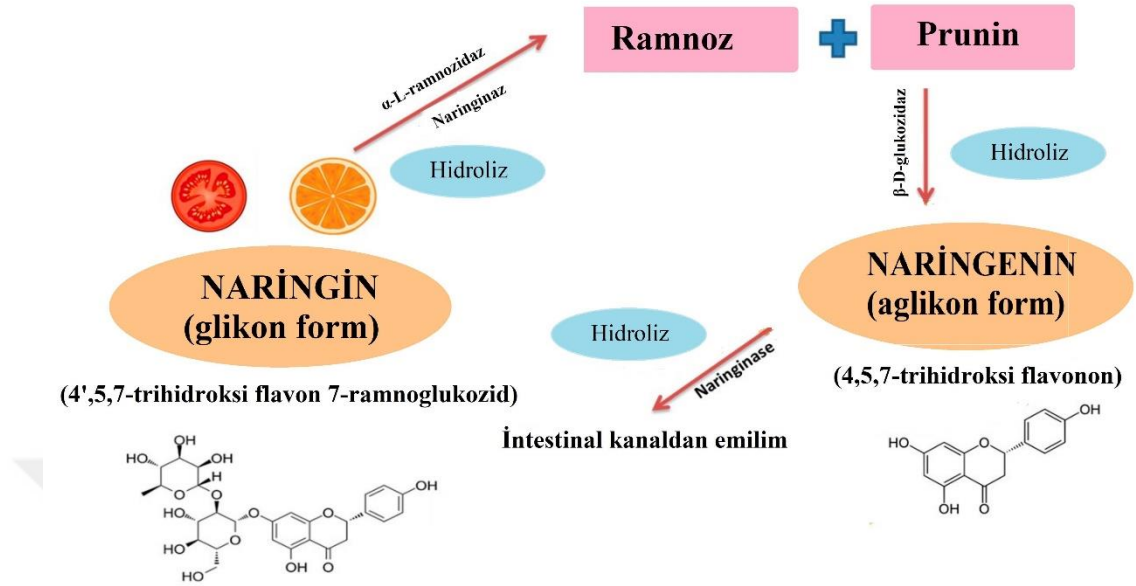
mikroorganizmalardan izole edilebilmektedir. Naringin, naringinaz ve α -L-ramnozidaz tarafından prunin ve ramnoza hidrolize edilmektedir. β -D-glukozidaz yardımıyla, prunin daha sonra naringinaz tarafından hidrolize edildikten sonra bağırsak yoluna emilen naringenine hidrolize edilmektedir. Naringenin hidroliz basamakları Şekil 2.4’te sunuldu.



Şekil 2.4. Naringinin α -ramnozidaz ve β -glukozidaz aktivitelerini ifade eden naringinaz tarafından prunin, ramnoz, naringenin ve glukozla hidrolizi (Ribeiro et al., 2008’den uyarlanmıştır).

2.3. Naringenin Metabolizması

Naringin, sindirimden hemen sonra bağırsak bakteriyel naringinaz enzimi tarafından hidrolize edilerek iki ara ürün olan ramnoz ve naringenin (4',5,7-trihidroksiflavonon) oluşmaktadır. Naringenin bağırsak yolu tarafından kolayca emilmekte ve dolaşımda hızla biyolojik olarak kullanılabilir hale gelmektedir. Hızlı emilimi nedeniyle naringenin farmakolojik olarak en etkili formdur (Arafah et al., 2020). Naringin metabolizması Şekil 2.5’te sunuldu.



Şekil 2.5. Naringin metabolizması (Arafah et al., 2020'den uyarlanmıştır).

Naringenin, üç halkadan oluşan basit bir 15 karbon atomlu flavonoid iskelete sahiptir. Bunların arasında iki benzen halkası üç karbonlu bir zincire bağlıdır. Naringenin kimyasal terminolojisi 2,3-dihidro-5,7-dihidroksi-2-(4-hidroksifenil)-4H-1-benzopiran-4-on veya 4',5,7-trihidroksiflavanon olup, molar kütlesi 272,3 g/mol'dür. Naringenin 4-okso grubuna bağlı 2,3-çift bağın varlığının, antioksidan potansiyelinden sorumlu kritik bir fonksiyonel aktif grup olduğu gösterilmiştir (Saleh et al., 2017; Ji et al., 2016; Kumar and Pandey, 2013). Naringin veya greyturt suyunun oral alımından sonra, periferik kan ve idrarda önemli naringenin konsantrasyonları bulunmuştur (Alam et al., 2014). Çeşitli narenciye sularında naringin konsantrasyonları Tablo 2.1'de sunuldu.

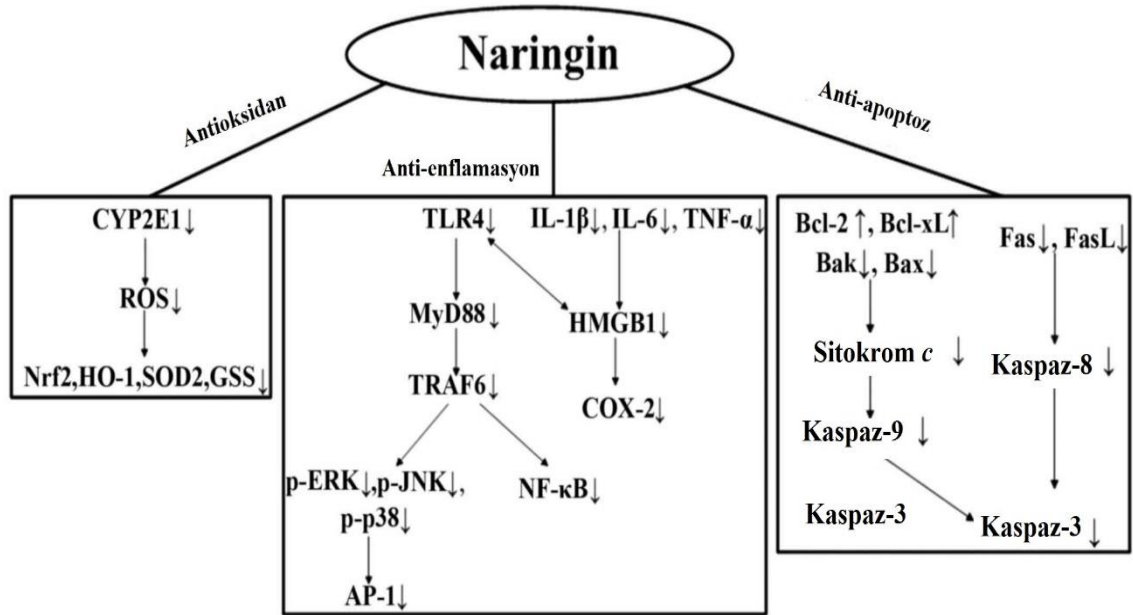
Tablo 2.1. Çeşitli narenciye sularında naringin konsantrasyonları (Alam et al., 2014).

Narenciye türü	Naringin miktarı (µg/mL)
<i>Citrus (C.) sinensis</i>	21,3
<i>C. aurantium</i>	19,7
<i>C. reticulata</i>	3.383,6
<i>C. clementina</i>	8,0
<i>C. bergamia</i>	22,3
<i>C. paradisi</i>	230,0
Saf portakal suyu	7,0
Greyfurt suyu	37,8
Pomelo suyu	84,8
Greyfurt /pomelo hibrit suyu	45,1

2.4. Naringinin Terapötik Potansiyeli

Bitkisel kökenli bir flavonoid olan naringin birçok hastalığın profilaksisinde ve tedavisinde kullanılmaktadır (Çağlayan et al., 2018; Alam et al., 2014; Prakash et al., 2013; Kawaguchi et al., 2011; Jagetia et al., 2003). Naringinin antienflamatuar, antioksidan, antikanserojen, nöroprotektif, antitiroid etki olmak üzere olumlu etkileri pek çok *in vivo* ve *in vitro* çalışma ile kanıtlanmıştır (Hattori et al., 2016; Bacanlı et al., 2015; Chtourou et al., 2015; Panda and Kar, 2014; Liu et al., 2011; Schindler and Mentlein, 2006; Shiratori et al., 2005; Naderi et al., 2003; Manthey et al., 2001). Naringinin, fare makrofaj hücre hattında lipopolisakkaritle uyarılan NF-κB sinyalizasyonunu inhibe ederek antienflamatuar etki sergilediği rapor edilmiştir (Hattori et al., 2016). Naringin, makrofajlarda LPS ile indüklenen iNOS ekspresyonunu ve NO üretimini inhibe etmiştir (Liu et al., 2011). Kronik bronşit kobay modelinde, naringinin bronkoalveolar lavaj sıvısındaki IL-8 ve lökotrien B4 konsantrasyonlarını, miyeloperoksidaz aktivitesini azaltarak ve akciğer dokusunda süperoksit dismutaz aktivitesini ve bronkoalveolar lavaj sıvısındaki lipoksin A4 seviyesini artırarak antienflamatuar ve antioksidan etkiler sergilediği ifade edilmiştir (Luo et al., 2012). Naringinin, Huntington hastalığı rat modelinde, 3-nitropropionik asit kaynaklı nükleer faktör-eritroid 2-ilişkili faktör-2 sinyal yolunu, oksidatif stresi ve enflamasyonu modüle ederek nörodejenerasyonu hafiflettiği ortaya konulmuştur (Gopinath and Sudhandiran, 2012). Serebral iskemi-reperfüzyon hasarı rat modelinde, naringinin, NADPH oksidaz alt birimlerinin ve iNOS'un ekspresyonunu inhibe ederek enfarktüs boyutunu azalttığı ve apoptotik hücre ölümünü engellediği

ortaya konulmuştur (Feng et al., 2018). Benzer olarak, intestinal iskemi/reperfüzyon hasarında ozonla birlikte periton içi naringin uygulamasının ileumda mukozal hasarı hafiflettiği ve oksidatif stresi baskıladığı belirlenmiştir (Isik et al., 2015). HeLa ve A549 kanser hücrelerinin naringine maruz bırakılması ile GM3 gangliosid birikimi yoluyla epidermal büyüme faktörü reseptörü sinyalini baskılayarak kanser hücre büyümesini inhibe ettiği saptanmıştır (Yoshinaga et al., 2016). Pomelo kabuğundan ekstrakte edilen naringinin lipopolisakkarite maruziyetten kaynaklanan PC12 hücrelerinin oksidatif stresini, enflamasyonunu ve apoptozunu tersine çevirdiği rapor edilmiştir (Wang et al., 2017). Araştırmacılar, naringinin, toll benzeri reseptör 4 (TLR4)-miyeloid farklılaşma faktörü 88 (MyD88)-TNF reseptörü ile ilişkili faktör 6 (TRAF6) interlökin (IL)-1 β , IL-6, tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), yüksek mobilite grup kutusu 1 (HMGB1), siklooksijenaz-2 (COX-2), aktivatör protein transkripsiyon faktörü-1 (AP-1) ve nükleer faktör (NF)- κ B gen ve protein ekspresyonunu aşağı regüle ederek anti-enflamatuar etki sergilediğini ifade etmişlerdir. Şekil 2.6'da naringinin koruyucu etkilerinden sorumlu olan temel mekanizmalar sunuldu.



Şekil 2.6. Naringinin lipopolisakkarite kaynaklı PC12 hücre apoptozisine karşı koruyucu etkilerinden sorumlu olan mekanizmalar (Wang et al., 2017'den uyarlanmıştır).

Son zamanlarda, araştırmacılar klinik olarak uygulanabilir naringenin formülasyonu geliştirmek ve biyoyararlanımını iyileştirmek için lipozomlar, nanopartiküller, kendi kendine nano-emülsifiye edici ilaç dağıtım sistemleri ve nanosüspansiyonları kullanmaktadırlar (Rivoira et al., 2020; Joshi et al., 2018).

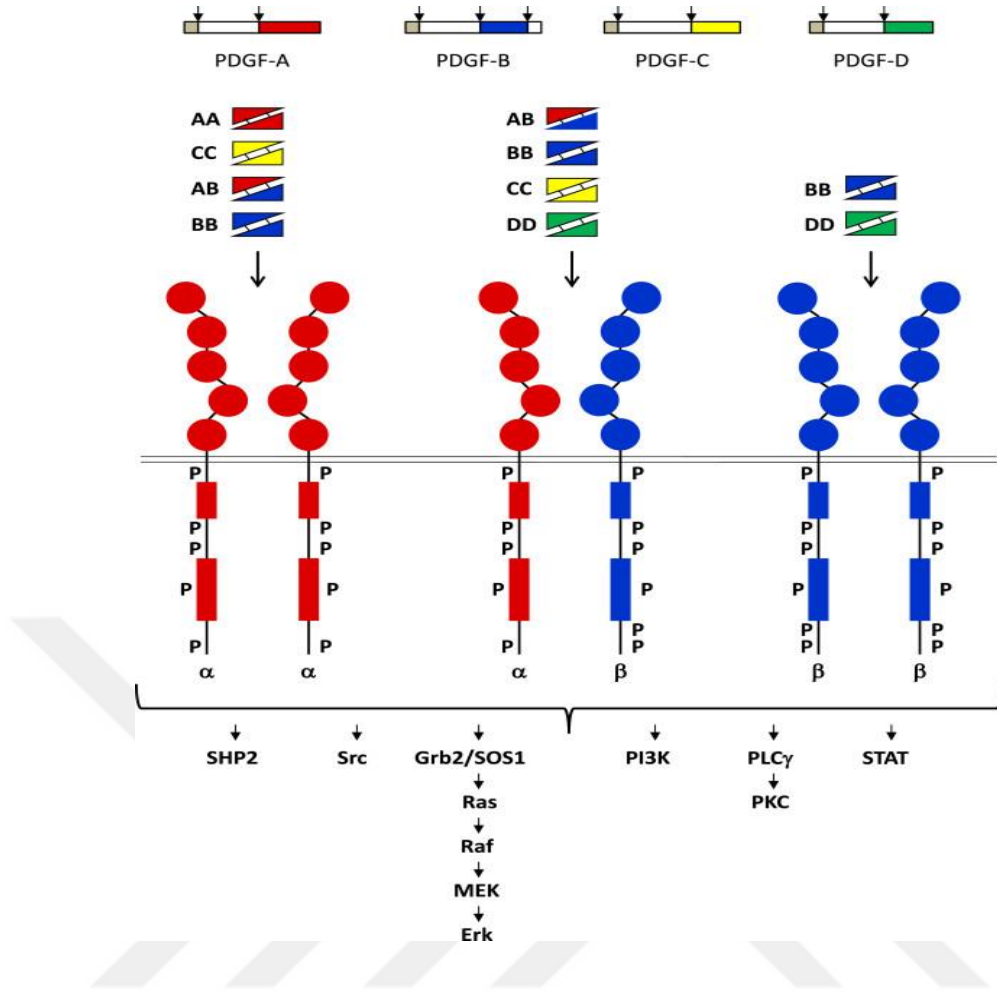
2.5. Naringinin Nefroprotektif Etkileri

Böbrek hasarının ve hastalıklarının oluşmasında ve ilerlemesinde enflamatuar sitokinler ve oksidatif stres önemli bir rol oynamaktadır. Böbrek hasarı için spesifik hedefler mezangial hücreler, glomerüler endotelial hücreler, podositler ve tübüler epitel hücreleri olarak bilinmektedir (Soetikno et al., 2014). Böbrek hasarının oluşmasında renin-anjiyotensin sistemi (RAS) aktivasyonu veya Anjiyotensin II tip I reseptörü (AT1R) ve endotelin reseptörlerinin indüklendiği rapor edilmiştir (Arozal et al., 2011; Esteban et al., 2004). Bu reseptörlerin aktivasyonu, mikrovasküler basıncı, podosit otofajisini artırarak, oksidatif stresi ve NFκB-p65 aktivasyonunu teşvik ederek böbrek hasarına yol açmakta ve IFNγ, IL-6 ve prostaglandinler gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınımını tetikleyerek nefrotoksisiteye katkıda bulunmaktadır (Ozbek et al., 2009). Daunorubisin ile indüklenen nefrotoksisite rat modelinde naringenin böbrek disfonksiyonu, fibrozis, endoplazmik retikulum (ER) stresi, anjiyotensin II tip I reseptör (AT1R) sinyal yolunu baskılayarak enflamasyonu hafiflettiği ortaya konulmuştur (Karuppagounder et al., 2015). Gentamisin uygulanan ratlarda naringenin uygulamasından sonra interlökin-8, serum kreatinin seviyesi ve nitrik oksit seviyelerinde belirgin bir azalma kaydedilmiştir (Katavic et al., 2007). Sisplatinle indüklenen böbrek dokusundaki oksidatif hasarın naringenin uygulamasıyla bertaraf edildiği bildirilmiştir (Badary et al., 2005). Ratlarda, kemoterapötik siklofosfamid ile oluşturulan nefrotoksisitede naringin uygulamasının antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı ve böbrek dokusundaki enflamasyonu, apoptozu, otofajiyi ve oksidatif DNA hasarını hafiflettiği ve nefrotoksisiteye karşı etkili bir koruyucu olduğu bildirilmiştir (Amini et al., 2019; Khodayar et al., 2018; Varthan et al., 2013). Siklofosfamid ile indüklenen nefrotoksisitede naringin uygulamasının koruyucu olduğu saptanmıştır (Çağlayan et al., 2018). Biyoflavonoid naringin uygulamasının, ratlarda gentamisin kaynaklı nefrotoksisiteyi ve ilişkili mitokondriyal disfonksiyonu, apoptozu ve enflamasyonu iyileştirdiği ve böbrek fonksiyon bozukluğunu ve yapısal hasarı azalttığı ortaya konulmuştur (Sahu et al.,

2014). Naringenin, ratlarda kadmiyum-kaynaklı oksidatif böbrek fonksiyon bozukluğuna karşı koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir (Renugadevi and Prabu, 2009). Bu konudaki bilimsel çalışmaların ışığında, böbrek bozukluklarının ve hastalıklarının profilaksisinde ve tedavi edilmesinde naringenin başarı sağladığı anlaşılmaktadır.

2.6. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

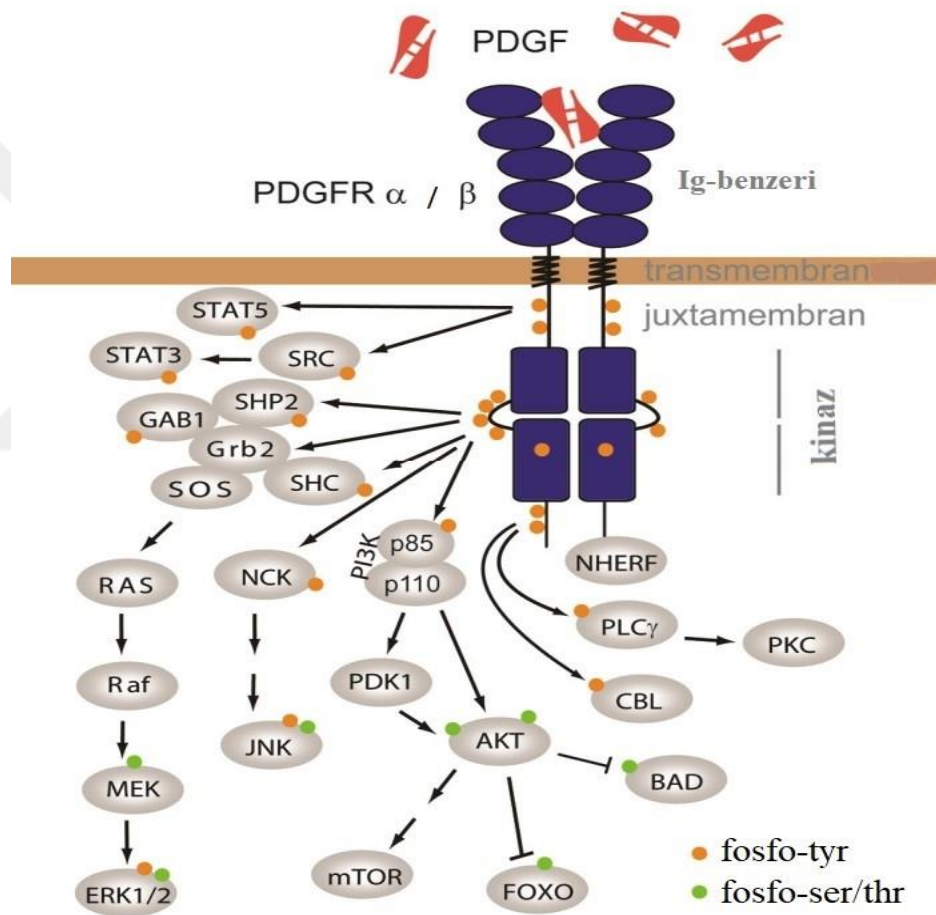
Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), birçok hücrede sentezlenen büyüme faktörleri ailesidir (Fredriksson et al., 2004; Vitt et al., 2001; Sun and Davies, 1995; McDonald and Hendrickson, 1993). Trombosit kaynaklı büyüme faktörü ailesi, A-, B-, C- ve D-polipeptit zincirlerinin disülfid bağlı homodimerlerinden ve heterodimer PDGF-AB'den oluşmaktadır. PDGF izoformları, öncü moleküller olarak sentezlenmektedir. PDGF-AA, -AB ve -BB üretici hücrelerin içinde salgı veziküllerinde parçalanmaktadır. Buna karşılık, PDGF-CC ve -DD, aktif olmayan öncü moleküller olarak salgılanmaktadır. Büyüme faktörlerini etkinleştirmek için N-terminali CUB-alanlarının bölünmesi gerekmektedir. Bu bölünme önemli bir düzenleyici role hizmet etmekte PDGF-CC'de doku tipi plazminojen aktivatörü (tPA) veya plazmin ve PDGF-DD'de ürokinaz tipi PA (uPA) veya matriptaz (MT-Sp1) ile gerçekleştirilmektedir (Ustach and Kim, 2005; Fredriksson et al., 2004;). Beş PDGF izoformunun bağlanması, PDGFR α ve PDGFR β 'nin farklı homo- ve heterodimerik komplekslerini indüklemektedir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. PDGF izoformları. Sinyal dizileri (gri), öncü dizileri (açık) ve büyüme faktörü alanları (kırmızı, mavi, sarı ve yeşil) ile öncü moleküller olarak sentezlenmektedir. Dimerizasyondan sonra, izoformlar, reseptörlere bağlanan aktif formlarına proteolitik olarak işlenmektedir (oklar). Reseptörlerin hücre dışı kısımları 5 Ig-benzeri alan içermekte; ligand bağlanması domain 2 ve 3'te meydana gelmekte ve domain 4 doğrudan bir reseptör-reseptör etkileşimi ile dimeri stabilize etmektedir. Reseptörlerin hücre içi kısımları, araya giren bir dizi ile iki kısma ayrılan tirozin kinaz alanları içermektedir. Ligand kaynaklı dimerizasyon SH2 alanı içeren sinyal molekülleri için kenetlenme bölgeleri oluşturan reseptörlerin otofosforilasyonunu indüklemektedir. Bu sinyal yollarının aktivasyonu, hücre büyümesini, sağkalımını, göçünü ve aktin reorganizasyonunu desteklemektedir (Heldin, 2013'ten uyarlanmıştır).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü sinyalizasyon sistemi, beş fonksiyonel büyüme faktörü olan PDGF-AA, -BB, -AB, -CC ve -DD'yi oluşturan ve PDGF-A, -B, -C ve -D ile gösterilen dört PDGF polipeptid zincirine karşılık gelen reseptörleri PDGFR-alfa'ya ve PDGFR-beta'ya bağlanmasıyla aktive edilmektedir (Fredriksson et al., 2004). Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü (PDGFR) α ve β zinciri, homodimerler ve heterodimerler olarak dimerleşerek PDGFR- $\alpha\alpha$, PDGFR- $\beta\beta$ ve PDGFR- $\alpha\beta$ 'yi oluşturmaktadır. Böbrekte, üç PDGFR'nin tümü çoğunlukla glomerül ve interstisyumdaki mezenkimal hücrelerde eksprese edilmekte; PDGFR- α , renal interstisyel hücreler tarafından ve bir dereceye kadar da mezenkimal hücreler

tarafından eksprese edilirken PDGFR- β , ağırlıklı olarak mezenkimal hücreler, glomerüler parietal, epitelyal ve interstisyel hücreler tarafından eksprese edilmektedir (Alpers et al., 1993; Floege et al., 2008). PDGF ailesinin gelişim sırasında çok önemli rolleri vardır, ancak yetişkinlerde normal fizyolojik fonksiyonlarına dair raporlar oldukça sınırlıdır. Artmış PDGF aktivitesinin, çeşitli hastalıklar ve patolojik durumlar ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir. Bazı hastalıklar için PDGF'lerin patojenik rolleri belirlenmiş olup PDGF antagonistleri kullanılarak tedavi seçenekleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (Andrae et al., 2008). PDGF reseptörleri ve sinyalizasyonu Şekil 2.8'de sunuldu.



Şekil 2.8. PDGF reseptörleri ve sinyalizasyon. Oklar, protein etkileşimini ve/veya fosforilasyonu göstermektedir. Tirozinlerin fosforilasyonu turuncu bir disk ile gösterilirken, fosforile edilmiş serinler ve treoninler yeşil ile gösterilmektedir (Demoulin and Montano-Almendras, 2012'den uyarlanmıştır).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, fibroblastlar, düz kas hücreleri ve glia hücreleri için bir büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır (Westermarck and Wasteson, 1976; Kohler and Lipton, 1974; Ross et al., 1974). Trombosit kaynaklı büyüme

faktörleri, öncelikle mezenkimal kökenli hücrelerin çoğalmasını, hayatta kalmasını ve göçünü desteklemektedir. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü sinyal yolunun ortak biyolojik işlevleri arasında hücrel çoğalma ve hayatta kalmanın düzenlenmesi, anjiyogenez, hücre göçü, aktin filament sisteminin yeniden düzenlenmesi ile kollajen, glikozaminoglikanlar ve proteoglikan gibi bağ dokusu matrisinin ana bileşenlerinin sentezinin uyarılması yer almaktadır (Heldin and Westermark, 1999). Trombosit kaynaklı büyüme faktörü sinyallemesinin işlev bozukluğunun kanser, fibroz, nörolojik bozukluklar ve ateroskleroz gibi çok çeşitli patolojik durumlarla ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Ishii et al., 2017; Ehnman and Ostman, 2014; Cao, 2013; Heldin and Lennartsson, 2013; Heldin, 2012).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü ailesi, fibroblastlar, düz kas hücreleri gibi mezenkimal kökenli birçok hücre tipi ve oligodendrositler gibi nöroektodermal hücreler için mitojenlerdir (Fredriksson et al., 2004). Kanser, damar hastalıkları ve fibrozlar gibi pek çok hastalıkta PDGF reseptörlerinin aktivasyonu söz konusudur (Andrae et al., 2008). Deneysel çalışmalar, PDGF'nin pulmoner, karaciğer, dermal ve kardiyak fibrozda öncelikle bir miyofibroblast fenotipi olan hücreler için mitojen olarak hareket ettiğini göstermektedir (Bonner, 2004). Trombositlerden salınan PDGF, fibroblastlar, mezenkimal hücreler, perisitler ve düz kas hücreleri dahil olmak üzere böbrekteki mezenkimal hücrelerin çoğalmasını ve iyileşmesini desteklemektedir (Boor et al., 2014; Fredriksson et al., 2004; Alpers et al., 1992; Ross et al., 1974). Glomeruluslarda, PDGF-B ve -D'nin otokrin ve parakrin etkileri, yani PDGFR- β ligandları, mesangial hücre proliferasyonunu ve glomeruloskleroz gelişimini modüle etmektedir. PDGF-B/-D'ye bağlı kronik glomerulosklerozun bir sonucu olarak sekonder tubulointerstisyel fibrozis gelişebilmektedir (Humphreys et al., 2010; Kong et al., 2009; Lin et al., 2008; Boor et al., 2007). Böbrek hücrelerinde PDGF izoformları eksprese olmakta ve böbrek bozukluklarının ve hastalıklarının gelişiminde PDGF ailesi rol oynamaktadır. PDGF-B veya PDGFR-beta genleri nakavt farelerin böbrekteki mezangial hücrelerin eksikliği ile karakterize anormal bir glomerüler fenotip sergilediği saptanmıştır. PDGF'ler altta yatan hastalıktan bağımsız olarak renal fibrozisin tetiklenmesinde rol oynamaktadırlar (Kok et al., 2014). PDGF ailesinin böbrek hastalıklarındaki rolüne dair bilimsel çalışmalardan, PDGF'lerin ilerleyici böbrek hastalıklarının profilaksisi ve tedavisi için ümit verici bir terapötik hedef olduğu anlaşılmaktadır (Boor et al., 2014; Floege et al., 2008).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kimyasal Maddeler

Tablo 3.2. Hücre kültürü çalışmalarında ve laboratuvar analizlerinde kullanılan kimyasal maddeler.

Adı	Katalog numarası ve markası
Naringin	N1376, Sigma-Aldrich, USA
Lipopolisakkarit	L8274, Sigma-Aldrich, USA
PDGF ELISA kiti	E2103Bo, Bioassay Technology Laboratory, China
Föetal Sığır Serum	04-007-1A, Biological Industries, Israel
Hücre sayım kiti	96992, Sigma-Aldrich, USA
Dulbecco tarafından modifiye edilen Eagle besiyeri	D-6546, Sigma-Aldrich, USA
Tripsin-EDTA	25200-56-Gibco, Thermo Fisher Scientific Inc., USA

3.2. Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.3. Laboratuvar analizlerinde kullanılan cihazlar.

Cihaz	Markası ve modeli
Distile su cihazı	Nüve NS 112
pH metre	Consort C532
Hassas terazi	Precisa LS 220A SCS
Soğutmalı santrifüj	Nüve NF800R
Etüv	Memmert UN 55
Derin donduruculu buzdolabı	Arçelik 5034NF
Derin dondurucu	Nüve DF 290/490/590
Işık mikroskobu	Leica E-400
Mikropleyt okuyucu	Tecan infinite F50

3.3. Hücre Kültürü

Tez çalışmasında, Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) devamlı hücre kültürü kullanıldı. Hücreler %10 fetal dana serumu ve %1 penisilin/streptomisin içeren Dulbecco tarafından modifiye edilen Eagle besiyerinde (DMEM) üretildi. Hücre hasarının oluşturulması amacıyla hücreler, 2, 4, 8, 16 ve 24 saat boyunca farklı lipopolisakkarit (E. coli O111: B4) konsantrasyonları (0,1 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, 5 µg/mL ve 10 µg/mL) ile kültüre edildi (Hu et al., 2012). Lipopolisakkaritin uygulama dozu ve süresi kolorimetrik hücre sayım testi sonuçları ve hücre kültürü mediumlarındaki IL-1β ve TNF-α konsantrasyonları sonuçları dikkate alınarak saptandı. Lipopolisakkaritin uygulama dozu ve süresi; 5 µg/ml ve 4 saat olarak belirlendi. Naringinin koruyucu dozunun belirlenmesi amacıyla hücreler 4 saat boyunca farklı naringin konsantrasyonları (50 µM, 100 µM ve 200 µM) ile kültürlendi (Bacanli et. al., 2015; Liu et al., 2012). Naringinin koruyucu dozu ve süresi kolorimetrik hücre sayım testi sonuçları dikkate alınarak saptandı. Naringinin uygulama dozu ve süresi; 1900 µM ve 4 saat olarak belirlendi.

Kolorimetrik hücre sayım testinin uygulanmasında üretici firma tarafından bildirilen prosedür takip edildi. Hücre kültüründeki bütün uygulamalar dört tekrarlı gerçekleştirildi.

3.4. Çalışma Grupları

Hücre kültüründe gerçekleştirilen uygulamalar ve gruplar Tablo 3.4'de sunuldu.

Tablo 3.4. Çalışma gruplarında gerçekleştirilen uygulamalar.

Gruplar	Uygulamalar
Negatif kontrol	Vasat ortamındaki MDBK hücrelerine herhangi bir uygulama yapılmadı
LPS	Vasat ortamındaki MDBK hücreleri 4 saat 5 µg/mL LPS'ye maruz bırakıldı
Naringin	Vasat ortamındaki MDBK hücreleri 4 saat 1900 µM naringine maruz bırakıldı
LPS + naringin	Vasat ortamındaki MDBK hücreleri aynı anda 4 saat boyunca 5 µg/mL LPS + 1900 µM naringine maruz bırakıldı

Hücre kültüründe gerçekleştirilen uygulamalardan sonra kültür mediumları steril tüplere toplandı. Süpernatantın elde edilmesi için 20 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi. Tekrarlanan dondurma-çözdürme döngüleri yoluyla hücrelerin parçalanması sağlandı. Ardından, 20 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen supernatantta PDGF ölçümü gerçekleştirildi.

3.5. PDGF Konsantrasyonunun Ölçümü

Hücre kültürü supernatantlarında PDGF konsantrasyonu sığira özgü ELISA test kiti (E2103Bo, Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi. ELISA basamakları üretici firmanın önerdiği şekilde çift örnekleme gerçekleştirildi. Kitin ölçüm aralığı 20 ng/L – 3500 ng/L olup ölçüm hassasiyeti 10, 25 ng/L idi. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü ELISA kitinin içeriği Tablo 3.5'te sunuldu.

Tablo 3.5. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü ELISA kitinin içeriği.

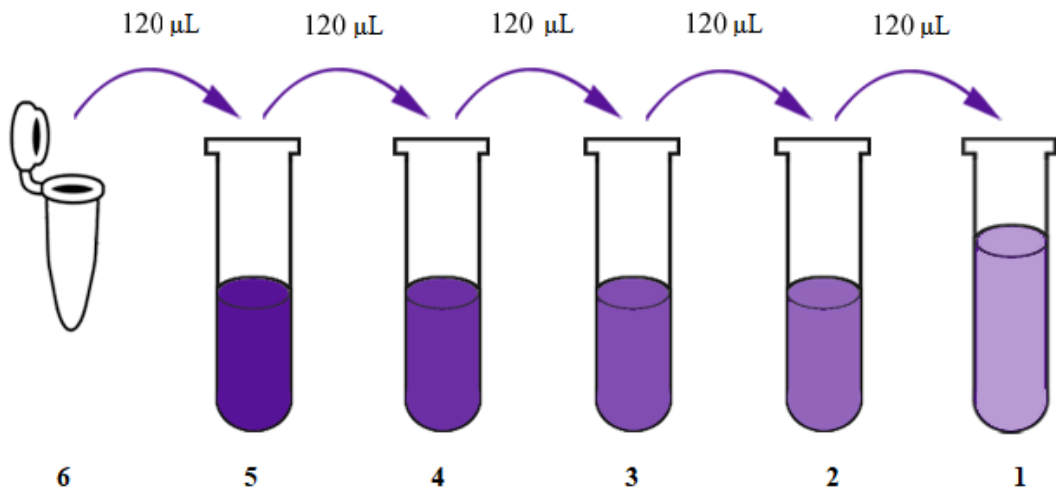
Çözelti/solüsyon	Miktarı
Stok standart solüsyonu (4000 ng/L)	0,5 mL x1
Önceden kaplanmış ELISA plaka	12 X 8 kuyucuklu
Standart sulandırıcı	3 mL x1
Streptavidin-HRP	6 mL x1
Asidik durdurma solüsyonu	6 mL x1
Substrat solüsyon A	6 mL x1
Substrat solüsyon B	6 mL x1
Konsantre yıkama solüsyonu (25x)	20 mL x1
Biyotinlenmiş sığır PDGF antikoru	1 mL x1
Kullanım prosedürü	1 adet
Plaka kapatma filmi	2 adet

3.6. ELISA Testinin Prensibi

Kullanılan kit, enzim bağı-immünosorbent testine dayanmaktadır. Mikroplaka, sığır PDGF antikoru ile önceden kaplanmış durumdadır. Numunede bulunan PDGF kuyucuklar üzerine kaplanmış antikorlara bağlanmaktadır. Daha sonra eklenen biyotinlenmiş sığır PDGF antikoru numunedeki PDGF'ye bağlanmaktadır. Streptavidin-HRP eklendikten sonra biyotinlenmiş PDGF antikoruna bağlanmaktadır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış streptavidin-HRP yıkama adımlarıyla uzaklaştırılmaktadır. Mikroplakadaki kuyucuklara substrat solüsyonu eklendiğinde numunedeki PDGF miktarıyla orantılı olarak renk oluşmaktadır. Reaksiyon, asidik durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılmakta ve 450 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirilmektedir.

3.7. PDGF Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

Standart stok solüsyonu oluşturmak amacıyla 120 µL stok standart çözeltisinden (4000 ng/L) 120 µL alınarak 120 µL standart seyreltici ile sulandırıldı ve böylece 2000 ng/L standart çözelti elde edildi. Aynı işlem ardışık olarak tekrarlandı ve 1000 ng/L, 500 ng/L, 250 ng/L ve 125 ng/L'lik standartlar hazırlandı. Bu basamakların tamamı hafif çalkalama işlemiyle gerçekleştirilerek 15 dakika bekletilerek standartın oluşması sağlandı. Standart seyreltici sıfır standart (0 ng/L) olarak kullanıldı. Standartlar çift olarak hazırlandı. Şekil 3.9'da standart hazırlama basamakları şematize edildi. PDGF standart konsantrasyonları Tablo 3.6'da sunuldu.



Şekil 3.9. PDGF standart çözeltilerinin hazırlanması.

Tablo 3.6. PDGF standart konsantrasyonları.

Standart No.6	Standart No.5	Standart No.4	Standart No.3	Standart No.2	Standart No.1
4000 ng/L	2000 ng/L	1000 ng/L	500 ng/L	250 ng/L	125 ng/L

3.8. PDGF ELISA Ölçüm Basamakları

Analiz öncesinde hücre kültürü supernatantlarının, standartların ve PDGF ELISA test kiti içeriğinin oda ısısına ulaşması sağlandı. Sığıra özgü PDGF ELISA test kiti mikropleytindeki standart kuyucuklarına 50'şer μL standartlardan pipetlendi. Numune kuyucuklarına 40 μL hücre kültürü supernatantları eklendi ve ardından 10'ar μL anti-PDGF antikoru pipetlendi. Kör kontrol kuyucukları hariç diğer kuyucuklara 50 μL streptavidin-HRP pipetlendi ve mikropleyt nazikçe çalkalanarak karıştırıldı. Mikropleyt kaplam filmi ile örtülerek 37°C' de 60 dakika inkübe edildi. Kaplama filmi çıkarıldı ve tüm kuyucuklar aspire edilerek mikropelyt 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı. Her yıkama için 30 saniye - 1 dakika süreyle en az 0,35 mL yıkama tamponu ile kuyucuklar ıslatıldı. Mikropleyt ters çevrilerek kağıt havlu üzerinde kurulandı. Her bir kuyucuğa 50 μL substrat solüsyonu A eklendi ve ardından her kuyucuğa 50 μL substrat solüsyonu B pipetlendi. Mikropleyt yeni bir kaplama filmi ile kaplanarak karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca inkübe edildi. Mikropleytin her bir kuyucuğuna 50 μL durdurma solüsyonu pipetlenerek, mavi rengin hemen sarıya dönmesi sağlandı. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropleyt okuyucu kullanılarak her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi. PDGF konsantrasyonları standartların optik dansitelerine göre hesaplandı. Sonuçlar ng/L olarak verildi.

3.9. İstatistiksel Analizler

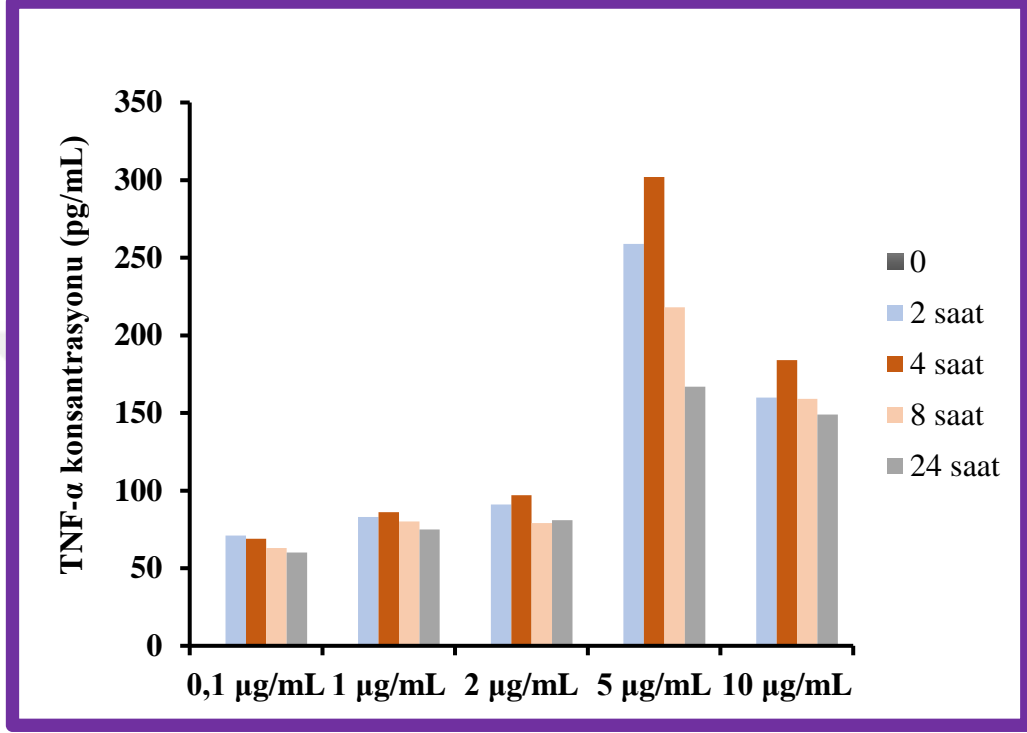
Tez çalışmasından elde edilen bulguların istatistiksel analizlerinin gerçekleştirilmesi için SPSS 22.0 paket programı kullanıldı. Data parametrik test varsayımlarından normallik yönünden Shapiro Wilk, varyansların homojenliği yönünden Levene testi ile analiz edildi. Çoklu grupların karşılaştırılması varyans analizi (ANOVA) yapılarak post-hoc testler ile belirlendi. Tekrarlı deneylerin sonuçları, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak sunuldu ve $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

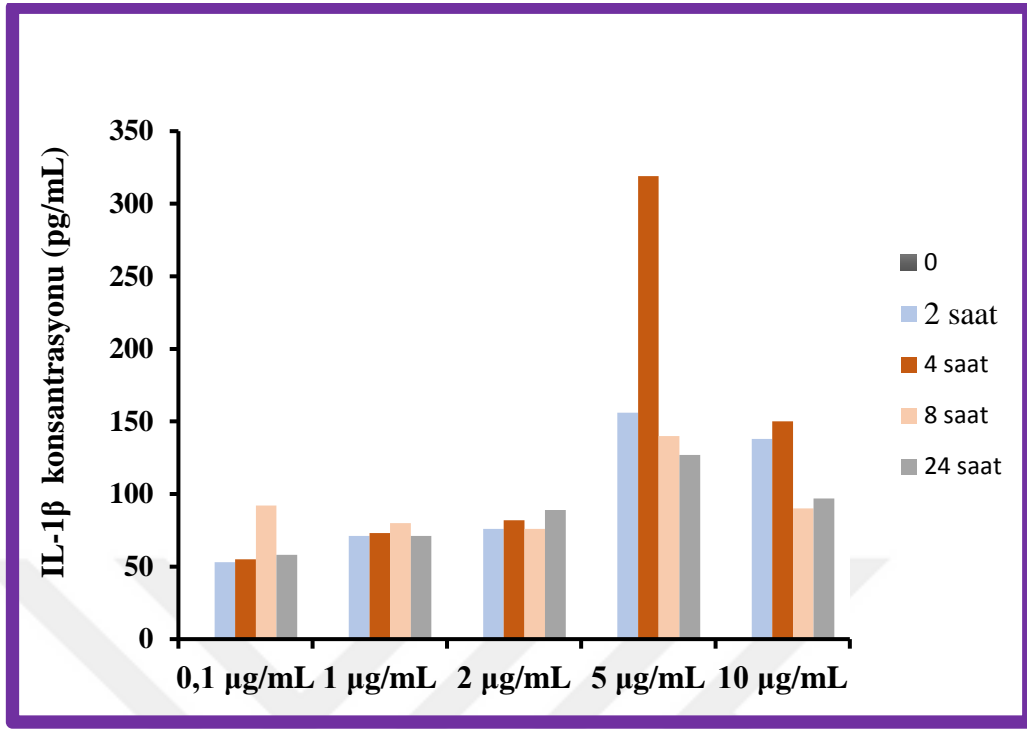
4.1. TNF- α ve IL-1 β Konsantrasyonları

MDBK hücre kültürü supernatantlarında TNF- α ve IL-1 β konsantrasyonları Şekil 4.10'da ve Şekil 4.11'de sunuldu.



Şekil 4.10. MDBK hücre kültürü supernatantlarında TNF- α konsantrasyonları.

Enflamasyonun göstergesi olarak, LPS uygulamasının MDBK hücrelerinin supernatantlarındaki TNF- α düzeyine olan etkisi değerlendirildiğinde; tüm saatler bazında 5 µg/mL dozunda naringin uygulamasının en yüksek düzeylere yol açtığı anlaşıldı. MDBK hücrelerine 5 µg/mL dozunda naringin uygulandığı hücre supernatantlarındaki TNF- α düzeylerinin; 2. saatte: 259 pg/mL, 4. saatte: 302 pg/mL, 8. saatte: 218 pg/mL ve 24. saatte: 167 pg/mL olduğu kaydedildi. MDBK hücrelerine 4 saat boyunca 5 µg/mL dozdaki naringin uygulamanın en yüksek TNF- α düzeyine neden olduğu belirlendi.

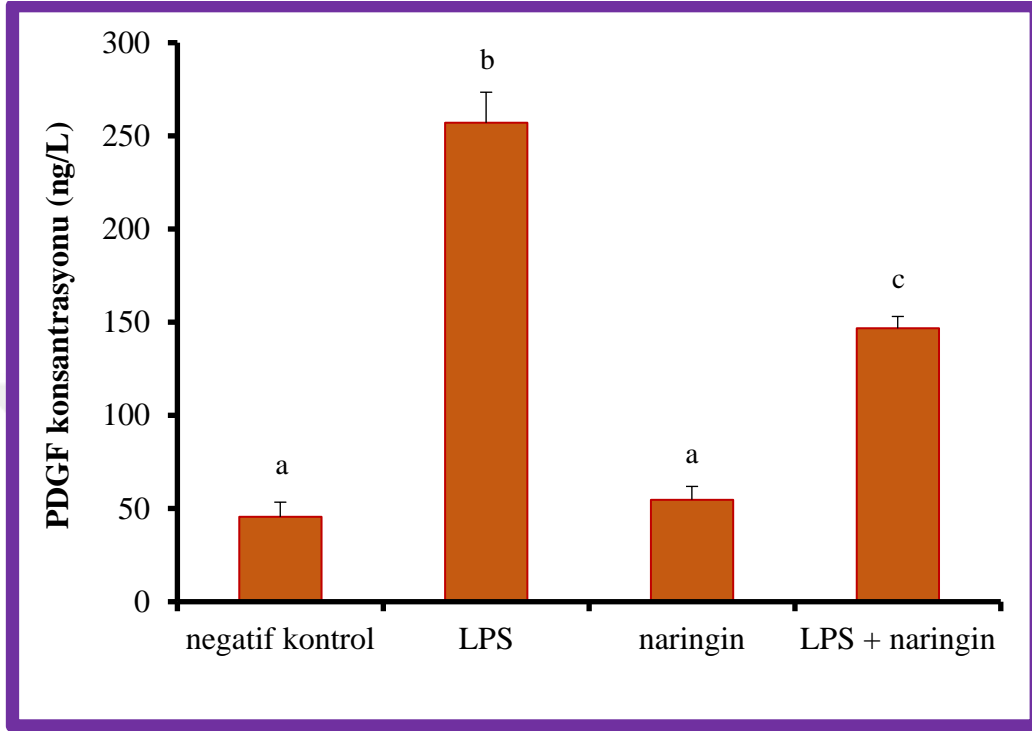


Şekil 4.11. MDBK hücre kültürü supernatantlarında IL-1 β konsantrasyonları.

Enflamasyonun göstergesi olarak, LPS uygulamasının MDBK hücrelerinin supernatantlarındaki IL-1 β düzeyine olan etkisi değerlendirildiğinde; tüm saatler bazında 5 $\mu\text{g/mL}$ dozunda naringin uygulamasının en yüksek düzeylere yol açtığı anlaşıldı. MDBK hücrelerine 5 $\mu\text{g/mL}$ dozunda naringin uygulandığı hücre supernatantlarındaki IL-1 β düzeylerinin; 2. saatte: 156 pg/mL, 4. saatte: 319 pg/mL, 8. saatte: 140 pg/mL ve 24. saatte: 127 pg/mL olduğu kaydedildi. MDBK hücrelerine 4 saat boyunca 5 $\mu\text{g/mL}$ dozdaki naringin uygulamanın en yüksek IL-1 β düzeyine neden olduğu belirlendi.

4.2. PDGF Konsantrasyonu

Negatif kontrol, LPS, naringin ve LPS + naringin gruplarının kültür supernatantlarındaki PDGF düzeyleri Şekil 4.12’de sunuldu.



Şekil 4.12. MDBK hücre kültürü supernatantlarında PDGF konsantrasyonları (n=4). ^{a,b,c} p < 0,05, (Duncan test).

Negatif kontrol grubunun hücre supernatantında PDGF konsantrasyonu $45,5 \pm 7,9$ ng/L olarak ölçüldü. Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/mL}$ LPS’ye maruz bırakılan MDBK hücre supernatantında PDGF konsantrasyonunun $257,0 \pm 16,4$ ng/L olduğu anlaşıldı. Dört saat boyunca $1900 \mu\text{M}$ naringin uygulanan hücre supernatantında PDGF konsantrasyonu $54,8 \pm 7,1$ ng/L olarak belirlendi. Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/mL}$ LPS + naringin uygulanan MDBK hücre supernatantındaki PDGF konsantrasyonu $146,8 \pm 6,3$ ng/L olarak ölçüldü. Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/mL}$ LPS’ye maruz kalan MDBK hücre supernatantındaki PDGF konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerindeki düzeye göre 5,65 kat yüksek olduğu belirlendi ($p < 0,05$). Dört saat boyunca $5 \mu\text{g/mL}$ LPS + naringin uygulanan MDBK hücre supernatantında PDGF düzeyinin negatif kontrol hücrelerinkine oranla 3,23 kat daha fazla olduğu saptandı ($p < 0,05$). MDBK hücre kültüründe LPS maruziyeti artmış olan PDGF düzeyinin naringin uygulaması ile 1,75 kat azaldığı belirlendi ($p < 0,05$).

5. TARTIŞMA

Böbrek hasarının ve hastalıklarının oluşmasında ve ilerlemesinde enflamatuar sitokinler ve oksidatif stres önemli bir rol oynamaktadır. Böbrek hasarı için spesifik hedefler mezangial hücreler, glomerüler endotelial hücreler, podositler ve tübüler epitel hücreleri olarak bilinmektedir (Soetikno et al., 2014). Böbrek hasarının oluşmasında renin-anjiyotensin sistemi (RAS) aktivasyonu veya Anjiyotensin II tip I reseptörü ve endotelin reseptörlerinin indüklendiği rapor edilmiştir (Arozal et al., 2011; Esteban et al., 2004). Bu reseptörlerin aktivasyonu, mikrovasküler basıncı, podosit otofajisini artırarak, oksidatif stresi ve NFκB-p65 aktivasyonunu teşvik ederek, IFNγ, IL-6 ve prostaglandinler gibi inflammatuar mediatörlerin salınımını tetikleyerek nefrotoksisiteye katkıda bulunmaktadır (Ozbek et al., 2009).

Lipopolisakkaritin, TNF-α ve IL-1β başta olmak üzere proenflamatuar sitokin yanıtını uyararak bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu indüklediği bilinmektedir (Reyes et al., 2012). Bu tez çalışmasından elde edilen bulgular sonucunda, LPS uygulanan MDBK hücrelerinin supernatantlarındaki IL-1β düzeyinin, negatif kontrol grubundakine oranla arttığı belirlendi ($p < 0,05$). Benzer şekilde, LPS uygulanan MDBK hücrelerinin supernatantlarındaki TNF-α düzeyinin de negatif kontrol grubundakine kıyasla yükseldiği saptandı ($p < 0,05$). Proenflamatuar sitokinlerin aşırı üretiminin ciddi doku hasarına, septik şoka ve sistemik enflamatuar cevap sendromuna neden olmaktadır (Huang et al., 2005; Shimazu et al., 1999). IL ailesi ile TNF-α'nın böbrek dokusundaki kan akışını ve glomeruler filtrasyon hızını etkileyerek, sodyum atılımını bozarak böbreğin hemodinamiğini olumsuz etkilediği ifade edilmiştir (Imig and Ryan, 2013). Proenflamatuar sitokinler, böbrek dokusuna immun hücre infiltrasyonuna yol açarak, endotelial hücre adezyon molekülleri ile kemokinleri yanıtlarını değiştirerek böbrek dokusundaki enflamatuar sürece katkıda bulunmaktadır (Ramesh and Reeves, 2002; Burne et al., 2001; Banas et al., 1999).

Nefrotoksisite rat modelinde naringenin uygulamasının endoplazmik retikulum stresini hafifleterek, böbrek disfonksiyonunu, fibrozisi, anjiyotensin II tip I reseptör sinyal yolunu suprese ederek enflamasyonu baskıladığı rapor edilmiştir (Karuppagounder et al., 2015). Katavic et al. (2007), ratlarda gentamisininden dolayı artmış IL-8, serum kreatinin ve nitrik oksit seviyelerinin naringenin takviyesiyle önemli düzeyde gerilediğini rapor etmişlerdir. Ratlarda sisplatinin neden olduğu nefrotoksisitede naringenin antioksidan etkiler sergileyerek koruyucu etki

gösterdiği ileri sürülmüştür (Badary et al., 2005). Ratlarda, kemoterapötik siklofosfamid ile oluşturulan nefrotoksisitede naringin uygulamasının antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı ve böbrek dokusundaki enflamasyonu, apoptozu, otofajiyi ve oksidatif DNA hasarını hafiflettiği ve nefrotoksisiteye karşı etkili bir koruyucu olduğu bildirilmiştir (Amini et al., 2019; Khodayar et al., 2018; Varthan et al., 2013). Siklofosfamid ile indüklenen nefrotoksisitede naringin uygulamasının koruyucu olduğu saptanmıştır (Çağlayan et al., 2018).

Naringinin antienflamatuar etkisindeki olası mekanizma bazı *in vivo* deneysel modellerde incelenmiştir. Shiratori et al. (2005), ratlarda endotoksin ile indüklenen üveitte naringinin intravenöz enjeksiyonunun, NO konsantrasyonunu baskıladığını ve aköz hümeördeki PGE2 seviyelerini düşürerek gelişiminin baskılanmasına yol açtığını ortaya koymuşlardır. Kawaguchi et al. (1999), D-galaktozamine duyarlılaştırılmış farelerde lipopolisakarit maruziyetinden önce naringinin intraperitoneal uygulamasından sonra TNF serum seviyelerinin doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Sunulan tez çalışmasında, sadece naringin uygulanan MDBK hücrelerinin supernatantındaki PDGF düzeyinin herhangi bir uygulama yapılmayan ve negatif kontrol grubu olarak anılan MDBK hücrelerinin supernatantındaki düzeyle hemen hemen aynı seviyelerde olduğu saptandı ($p > 0,05$). Bu sonuç, MDBK hücre hattına naringin uygulamasının PDGF salınımını modüle etmediğini göstermektedir. Naringinin HepG2 hücrelerinin proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği, hücre büzulmesine ve nükleer kromatin yoğunlaşmasına neden olduğu ve miR-19b mRNA be Bax proteinin ekspresyonlarını upregüle ettiği belirtilmiştir (Xie et al., 2017). Naringinin, yaşlı ratların hipokampusunda AChE ekspresyonunun ve iNOS sinyal yollarının aşağı regülasyonu yoluyla sisplatin kaynaklı bilişsel eksiklikleri ve kolinerjik işlev bozukluğunu ortadan kaldırdığı rapor edilmiştir (Chtourou et al., 2015). Serebral iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulmuş ratlarda, naringinin intraperitoneal yolla uygulamasının, peroksinitrit-aracılı mitofaji aktivasyonunu, iNOS'un ve NADPH oksidaz alt birimlerinin ifadesini baskılayarak nörolojik hasar skorunu, enfarktüs boyutunu ve apoptotik hücre ölümünü azalttığı saptanmıştır (Feng et al., 2018). İntestinal iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulmuş ratlarda ozonla birlikte periton içi 80 mg/kg naringin uygulamasının ileumda mukozal hasarı hafiflettiği ve oksidatif stresi baskıladığı belirlenmiştir (Isik et al., 2015). Wistar ratlarda izoproterenolün neden olduğu miyokard enfarktüsünden önce 56 gün boyunca oral 40 mg/kg naringin uygulamasının serumda ve kalpte total, ester ve

serbest kolesterol, trigliserid ve serbest yağ asidi düzeylerini önemli ölçüde azalttığı ve kalpte fosfolipidleri artırdığı anlaşılmıştır (Rajadurai et al., 2006). İnsan kanser hücreleri HeLa ve A549 hattının çeşitli naringin konsantrasyonlarına maruz bırakıldıktan sonra GM3 gangliosid birikimi yoluyla epidermal büyüme faktörü reseptörü sinyalini azaltarak kanser hücresi büyümesini baskıladığı rapor edilmiştir (Yoshinaga et al., 2016). Ratlarda kainik asitle indüklenen status epileptikus modelinde periton içi 40 mg/kg ve 80 mg/kg naringin enjeksiyonunun beyinde proinflamatuvar sitokin TNF- α seviyesindeki artışı doza bağımlı şekilde baskı olarak antienflamatuvar, MDA artışını ve GSH azalmasını engelleyerek antioksidan ve nöroprotektif etkiler sergilediği rapor edilmiştir (Golechha et al., 2011). C57BL/6 farelerinde yüksek yağlı diyetle indüklenen metabolik sendrom modelinde naringin takviyesinin obezite, dislipidemi, yağlı karaciğer, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve insülin direncini hafiflettiği rapor edilmiştir (Pu et al., 2012). Bu araştırmacılar, naringinin inflamasyon ve insülin direnci üzerindeki inhibitör etkisini MAPK yolaklarının aktivasyonunu bloke ederek; lipit düşürücü etkisini sentez yolunu engelleyerek ve yağ asidi oksidasyonunu artırarak; hipoglisemik etkisini fosfoenol piruvat karboksikinazı ve glukoz-6-fosfatazı düzenleyerek gösterdiğini vurgulamışlardır. Ratlarda L-tiroksin ile indüklenen hipertiroidide naringin uygulamasının artmış serum tiroksin ve triiyodotironin konsantrasyonlarını azaltarak antitiroid ve serum laktat dehidrojenaz ve serum glutamat piruvat transaminazın aktiviteleri ile birlikte hepatik dokularda malondialdehit içeriğindeki yükselmeyi baskıladığı ve antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir (Panda and Kar, 2014). Naringinin osteoklast oluşumu ve kemik rezorpsiyonu için inhibitör etki göstererek osteolizin önlenmesinde ve tedavisinde alternatif bir ilaç olarak faydalı olabileceği ileri sürülmüştür (Ang et al., 2011).

Sahu et al. (2014), ratlarda gentamisin kaynaklı nefrotoksisitede gentamisin ile birlikte naringin uygulamasının mitokondriyal fonksiyonu restore ettiğini ve artmış renal inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α ve IL-6), NF- κ B'nin nükleer protein ekspresyonunu ve NF- κ B-DNA bağlanma aktivitesi ile miyeloperoksidaz aktivitesini azalttığını belirlemişlerdir. Ratlarda kadmiyum kaynaklı oksidatif böbrek fonksiyon bozukluğunda 4 hafta boyunca 50 mg/kg gün dozda naringenin takviyesinin lipit peroksidasyonunda önemli azalmayla, renal antioksidan savunma sistemi seviyesinde artışla ve böbrekte kadmiyumun neden olduğu biyokimyasal değişikliklerde tersine dönüşle sonuçlandığı saptanmıştır (Renugadevi and Prabu, 2009).

Artmış PDGF aktivitesinin, çeşitli hastalıklar ve patolojik durumlar ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir. Bazı hastalıklar için PDGF'lerin patojenik rolleri belirlenmiş olup PDGF antagonistleri kullanılarak tedavi seçenekleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (Andrae et al., 2008). PDGF'nin böbrek hücrelerinin biyolojisini ve böbrek hastalığının patogenezi etkileyen önemli bir sitokin olduğu bilinmektedir. PDGF ve PDGF reseptörlerinin ekspresyonu glomerüler gelişim için gerekli olmasına rağmen, bunların aşırı ekspresyonu böbrek hastalığında zararlı etkiler yaratabilmektedir. PDGF'yi hiposelüler veya nekrotik alanlara hedefleyerek doku yeniden şekillenmesini ve onarımını gerçekleştirme yöntemleri arzu edilen bir hedeftir (Kitamura et al., 1994). Gram negatif bakteri hücre duvarlarının bir bileşeni olan bakteriyel lipopolisakkaritin, ratların akciğerlerinde PDGF-R α 'nın artmış fibroblast seviyelerinin güçlü bir eksojen indükleyicisi olduğu rapor edilmiştir (Coin et al., 1996). LPS'nin ayrıca alveolar makrofajlarda hem PDGF-A hem de PDGF-B genlerinin ekspresyonunu upregüle ettiği de bildirilmiştir (Nagaoka et al., 1990). Rat akciğer fibroblastlarının LPS'ye maruz bırakıldıktan sonra PDGF-A mRNA seviyelerinin arttığı rapor edilmiştir (Cesta et al., 2010). Sunulan tez çalışmasında da benzer şekilde LPS'ye maruz bırakılan MDBK hücre hattının supernatantında PDGF düzeyinin önemli ölçüde artmış olduğu belirlendi ($p < 0,05$). MDBK hücre hattına naringin uygulamasının ise LPS-maruziyeti ile artmış olan PDGF düzeylerini düşürdüğü gözlemlendi.

5. SONUÇ

Böbrek hastalıkları, gerek insanlarda gerekse de hayvanlarda önemli bir sağlık problemidir. Böbrek bozukluklarının ve hastalıklarının gelişmesinde ve ilerlemesinde enflamatuvar sitokin yanıtlarının önemli bir rol oynadığı pek çok bilimsel raporla kanıtlanmıştır. Böbrek hasarının oluşmasına aracılık eden enflamasyon mediyatörleri sitokin kaskadını tetikleyerek akut böbrek yetmezliğinden kronik böbrek yetmezliğine varan ağır bir tabloya neden olabilmektedir. Proenflamatuvar sitokinler, böbreğe immun hücre infiltrasyonunu artıran endotelial hücre adezyon moleküllerini ve kemokinleri modüle ederek enflamasyona katkıda bulunmaktadır. Böbrek dokusundaki enflamasyon glomeruler filtrasyon hızında ilerleyici azalmaya neden olarak son dönem böbrek hastalığı ile sonuçlanabilmektedir. Mitojenik ve kemotaktik etkilere sahip olan PDGF izoformları böbreğin fizyolojik, fizyopatolojik ve patolojik süreçlerinde önemli etkiler sergilemektedirler. Pek çok hücrede olduğu gibi böbrek hücrelerinde de eksprese olan PDGF izoformları böbrek bozukluklarının ve hastalıklarının etiopatogenezinde önemli rol oynamaktadır. Uyarılmış PDGF ekspresyonunun ve protein düzeyinin pek çok hastalıkla ve patolojik durumlarla ilişkisi bulunmaktadır. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü ailesinin aracılık ettiği bozuklukların ve hastalıkların hafifletilmesinde ve tedavi edilmesinde PDGF antagonistlerinin kullanımı başarı sağlamaktadır. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü ailesinin böbrek hastalıklarının profilaksisi ve tedavisi için ümit verici bir terapötik hedef olduğu pek çok bilimsel çalışmada ifade edilmiştir. Turunçgillerde bolca bulunan naringin, biyolojik etkileri nedeniyle bir dizi bozukluğun ve hastalığın tedavisi için umut vaad etmektedir. Naringin veya naringenin ve diğer ilaçlarla kombinasyon tedavisi, enflamasyonun rol oynadığı hastalıkların tedavisinde başarılı sonuçlar vermektedir. Naringinin böbrek hastalıklarındaki profilaktik ve terapötik etkilerine dair yayınlanmış çalışmaların çoğu *in vitro* deneylerin ve deneysel modellerin sonuçları olup klinik araştırma verisi oldukça sınırlıdır. Naringinin enflamatuvar böbrek hastalıklarında yeni bir terapötik yaklaşım olarak kullanılmasının önündeki en büyük engel, klinik araştırmalara ait bulguların eksikliğidir. Sunulan tez çalışması ile naringinin MDBK hücrelerinde PDGF salgılanmasının baskılanması yoluyla lipopolisakkaritin neden olduğu enflamasyon üzerinde terapötik bir etki sergilediği ortaya konuldu. Naringinin *in vitro* bu etkisinin *in vivo* araştırmalarla desteklenmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Alam, M. A., Subhan, N., Rahman, M. M., Uddin, S. J., Reza, H. M., Sarker, S. D. (2014). Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *Advances in Nutrition*. 5(4). 404-417.
- Alpers, C. E., Seifert, R. A., Hudkins, K. L., Johnson, R. J., Bowen-Pope, D. F. (1993). PDGF-receptor localizes to mesangial, parietal epithelial, and interstitial cells in human and primate kidneys. *Kidney International*. 43(2). 286-294.
- Alpers, C. E., Seifert, R. A., Hudkins, K. L., Johnson, R. J., Bowen-Pope, D. F. (1992). Developmental patterns of PDGF B-chain, PDGF-receptor, and α -actin expression in human glomerulogenesis. *Kidney International*. 42(2). 390-399.
- Amini, N., Sarkaki, A., Dianat, M., Mard, S. A., 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 miRNA-10a. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 112. 108568.
- Andrae, J., Gallini, R., Betsholtz, C. (2008). Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes & Development*. 22(10). 1276-1312.
- Ang, E. S., Yang, X., Chen, H., Liu, Q., Zheng, M. H., Xu, J. (2011). Naringin abrogates osteoclastogenesis and bone resorption via the inhibition of RANKL-induced NF- κ B and ERK activation. *FEBS Letters*. 585(17). 2755-2762.
- Arafah, A., Rehman, M. U., Mir, T. M., Wali, A. F., Ali, R., Qamar, W., Almatroudi, N. M. (2020). Multi-therapeutic potential of naringenin (4', 5, 7-trihydroxyflavonone): experimental evidence and mechanisms. *Plants*. 9(12). 1784.
- Arozal, W., Watanabe, K., Veeraveedu, P. T., Ma, M., Thandavarayan, R. A., Sukumaran, V., Aizawa, Y. (2011). Telmisartan prevents the progression of renal injury in daunorubicin rats with the alteration of angiotensin II and endothelin-1 receptor expression associated with its PPAR- γ agonist actions. *Toxicology*. 279(1-3). 91-99.
- Bacanli, M., Başaran, A. A., Başaran, N. (2015). Cytotoxicity evaluation of some phenolic compounds in V79 Cells. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 12(3). 299-304.
- Badary, O. A., Abdel-Maksoud, S., Ahmed, W. A., Owieda, G. H. (2005). Naringenin attenuates cisplatin nephrotoxicity in rats. *Life Sciences*. 76(18). 2125-2135.
- Banas, B., Luckow, B., Möller, M., Klier, C., Nelson, P. J., Schadde, E., Schlöndorff, D. (1999). Chemokine and chemokine receptor expression in a novel human mesangial cell line. *Journal of the American Society of Nephrology*. 10(11). 2314-2322.
- Bonner, J. C. (2004). Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 15(4). 255-273.
- Boor, P., Konieczny, A., Villa, L., Kunter, U., van Roeyen, C. R., LaRochelle, W. J., Floege, J. (2007). PDGF-D inhibition by CR002 ameliorates tubulointerstitial fibrosis following experimental glomerulonephritis. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 22(5). 1323-1331.
- Boor, P., Ostendorf, T., Floege, J. (2014). PDGF and the progression of renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 29(suppl_1). i45-i54.
- Burne, M. J., Daniels, F., El Ghandour, A., Mauiyyedi, S., Colvin, R. B., O'Donnell, M. P., Rabb, H. (2001). Identification of the CD4+ T cell as a major pathogenic factor in ischemic acute renal failure. *The Journal of Clinical Investigation*. 108(9). 1283-1290.
- Caglayan, C., Temel, Y., Kandemir, F. M., Yildirim, S., Kucukler, S. (2018). Naringin protects against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity through

- modulation of oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and DNA damage. *Environmental Science and Pollution Research*. 25(21). 20968-20984.
- Cao, Y. (2013). Multifarious functions of PDGFs and PDGFRs in tumor growth and metastasis. *Trends in Molecular Medicine*. 19(8). 460-473.
- Cesta, M. F., Ryman-Rasmussen, J. P., Wallace, D. G., Masinde, T., Hurlburt, G., Taylor, A. J., Bonner, J. C. (2010). Bacterial lipopolysaccharide enhances PDGF signaling and pulmonary fibrosis in rats exposed to carbon nanotubes. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 43(2). 142-151.
- Chen, C., Cai, C., Lin, H., Zhang, W., Peng, Y., Wu, K. (2018). Baicalein protects renal tubular epithelial cells against hypoxia-reoxygenation injury. *Renal Failure*. 40(1). 603-610.
- Chen, R., Qi, Q. L., Wang, M. T., Li, Q. Y. (2016). Therapeutic potential of naringin: an overview. *Pharmaceutical Biology*. 54(12). 3203-3210.
- 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). 349-362.
- Coin, P. G., Lindroos, P. M., Bird, G. S., Osornio-Vargas, A. R., Roggli, V. L., Bonner, J. C. (1996). Lipopolysaccharide up-regulates platelet-derived growth factor (PDGF) alpha-receptor expression in rat lung myofibroblasts and enhances response to all PDGF isoforms. *The Journal of Immunology*. 156(12). 4797-4806.
- Demoulin, J. B., Montano-Almendras, C. P. (2012). Platelet-derived growth factors and their receptors in normal and malignant hematopoiesis. *American Journal of Blood Research*. 2(1). 44.
- Esteban, V., Lorenzo, O., Rupérez, M., Suzuki, Y., Mezzano, S., Blanco, J., Ruiz-Ortega, M. (2004). Angiotensin II, via AT1 and AT2 receptors and NF- κ B pathway, regulates the inflammatory response in unilateral ureteral obstruction. *Journal of the American Society of Nephrology*. 15(6). 1514-1529.
- Feng, J., Chen, X., Lu, S., Li, W., Yang, D., Su, W., Shen, J. (2018). Naringin attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury through inhibiting peroxynitrite-mediated mitophagy activation. *Molecular Neurobiology*. 55(12). 9029-9042.
- Floege, J., Eitner, F., Alpers, C. E. (2008). A new look at platelet-derived growth factor in renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. 19(1). 12-23.
- Fredriksson, L., Li, H., Eriksson, U. (2004). The PDGF family: four gene products form five dimeric isoforms. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 15(4). 197-204.
- Gao, X., Xu, J., Jiang, L., Liu, W., Hong, H., Qian, Y., Wei, Z. (2021). Morin alleviates aflatoxin B1-induced liver and kidney injury by inhibiting heterophil extracellular traps release, oxidative stress and inflammatory responses in chicks. *Poultry Science*. 100(12). 101513.
- Gholampour, F., Mohammadi, Z., Karimi, Z., Owji, S. M. (2020). Protective effect of genistein in a rat model of ischemic acute kidney injury. *Gene*. 753. 144789.
- Golechha, M., Chaudhry, U., Bhatia, J., Saluja, D., Arya, D. S. (2011). Naringin protects against kainic acid-induced status epilepticus in rats: evidence for an antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective intervention. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 34(3). 360-365.
- 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. 134-143.

- Hattori, H., Tsutsuki, H., Nakazawa, M., Ueda, M., Ihara, H., Sakamoto, T. (2016). Naringin lauroyl ester inhibits lipopolysaccharide-induced activation of nuclear factor κ B signaling in macrophages. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 80(7). 1403-1409.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 13(10). 572-584.
- Heldin, C. H. (2012). Autocrine PDGF stimulation in malignancies. *Upsala Journal of Medical Sciences*. 117(2). 83-91.
- Heldin, C. H., Westermark, B. (1999). Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiological Reviews*. 1283-1316.
- Hollman, P. H., Katan, M. B. (1999). Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*. 37(9-10). 937-942.
- Hu, F., Liang, W., Ren, Z., Wang, G., Ding, G. (2012). Surfactant protein D inhibits lipopolysaccharide-induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in human renal tubular epithelial cells: implication for tubulointerstitial fibrosis. *Clinical & Experimental Immunology*. 167(3). 514-522.
- Huang, K. J., Su, I. J., Theron, M., Wu, Y. C., Lai, S. K., Liu, C. C., Lei, H. Y. (2005). An interferon- γ -related cytokine storm in SARS patients. *Journal of Medical Virology*. 75(2). 185-194.
- Humphreys, B. D., Lin, S. L., Kobayashi, A., Hudson, T. E., Nowlin, B. T., Bonventre, J. V., Duffield, J. S. (2010). Fate tracing reveals the pericyte and not epithelial origin of myofibroblasts in kidney fibrosis. *The American Journal of Pathology*. 176(1). 85-97.
- Imig, J. D., Ryan, M. J. (2013). Immune and inflammatory role in renal disease. *Comprehensive Physiology*. 3(2). 957.
- Impellizzeri, D., Bruschetta, G., Ahmad, A., Crupi, R., Siracusa, R., Di Paola, R., Cuzzocrea, S. (2015). Effects of palmitoylethanolamide and silymarin combination treatment in an animal model of kidney ischemia and reperfusion. *European Journal of Pharmacology*. 762. 136-149.
- Ishii, Y., Hamashima, T., Yamamoto, S., Sasahara, M. (2017). Pathogenetic significance and possibility as a therapeutic target of platelet derived growth factor. *Pathology International*. 67(5). 235-246.
- Isik, A., Peker, K., Gursul, C., Sayar, I., Firat, D., Yilmaz, I., Demiryilmaz, I. (2015). The effect of ozone and naringin on intestinal ischemia/reperfusion injury in an experimental model. *International Journal of Surgery*. 21. 38-44.
- Jagetia, G. C., Venkatesha, V. A., Reddy, T. K. (2003). Naringin, a citrus flavonone, protects against radiation-induced chromosome damage in mouse bone marrow. *Mutagenesis*. 18(4). 337-343.
- Ji, P., Yu, T., Liu, Y., Jiang, J., Xu, J., Zhao, Y., Wu, C. (2016). Naringenin-loaded solid lipid nanoparticles: preparation, controlled delivery, cellular uptake, and pulmonary pharmacokinetics. *Drug Design, Development and Therapy*. 10. 911.
- Joshi, R., Kulkarni, Y. A., Wairkar, S. (2018). Pharmacokinetic, pharmacodynamic and formulations aspects of Naringenin: An update. *Life sciences*. 215. 43-56.
- Karuppagounder, V., Arumugam, S., Thandavarayan, R. A., Pitchaimani, V., Sreedhar, R., Afrin, R., Watanabe, K. (2015). Naringenin ameliorates daunorubicin induced nephrotoxicity by mitigating AT1R, ERK1/2-NF κ B p65 mediated inflammation. *International Immunopharmacology*. 28(1). 154-159.

- Katavic, P. L., Lamb, K., Navarro, H., Prisinzano, T. E. (2007). Flavonoids as opioid receptor ligands: identification and preliminary structure– Activity relationships. *Journal of Natural Products*. 70(8). 1278-1282.
- Kawaguchi, K., Kikuchi, S., Hasegawa, H., Maruyama, H., Morita, H., Kumazawa, Y. (1999). Suppression of lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-release and liver injury in mice by naringin. *European Journal of Pharmacology*. 368(2-3). 245-250.
- Kawaguchi, K., Maruyama, H., Hasunuma, R., Kumazawa, Y. (2011). Suppression of inflammatory responses after onset of collagen-induced arthritis in mice by oral administration of the Citrus flavanone naringin. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 33(4). 723-729.
- Khodayar, M. J., Kalantari, H., Mahdavinia, M., Khorsandi, L., Alboghobeish, S., Samimi, A., Zeidooni, L. (2020). Protective effect of naringin against BPA-induced cardiotoxicity through prevention of oxidative stress in male Wistar rats. *Drug and Chemical Toxicology*. 43(1). 85-95.
- Kitamura, M., Taylor, S., Unwin, R., Burton, S., Shimizu, F., Fine, L. G. (1994). Gene transfer into the rat renal glomerulus via a mesangial cell vector: site-specific delivery, in situ amplification, and sustained expression of an exogenous gene in vivo. *The Journal of Clinical Investigation*. 94(2). 497-505.
- Kohler, N., Lipton, A. (1974). Platelets as a source of fibroblast growth-promoting activity. *Experimental Cell Research*. 87(2). 297-301.
- Kok, H. M., Falke, L. L., Goldschmeding, R., Nguyen, T. Q. (2014). Targeting CTGF, EGF and PDGF pathways to prevent progression of kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*. 10(12). 700-711.
- Kong, D., Li, Y., Wang, Z., Banerjee, S., Ahmad, A., Kim, H. R. C., Sarkar, F. H. (2009). miR-200 regulates PDGF-D-mediated epithelial–mesenchymal transition, adhesion, and invasion of prostate cancer cells. *Stem cells*. 27(8). 1712-1721.
- Kumar, S., Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific Wworld Journal*, 2013.
- Lin, S. L., Kisseleva, T., Brenner, D. A., Duffield, J. S. (2008). Pericytes and perivascular fibroblasts are the primary source of collagen-producing cells in obstructive fibrosis of the kidney. *The American Journal of Pathology*. 173(6). 1617-1627.
- Liu, Y., Su, W. W., Wang, S., Li, P. B. (2012). Naringin inhibits chemokine production in an LPS-induced RAW 264.7 macrophage cell line. *Molecular Medicine Reports*. 6(6). 1343-1350.
- Liu, Y., Wu, H., Nie, Y. C., Chen, J. L., Su, W. W., Li, P. B. (2011). Naringin attenuates acute lung injury in LPS-treated mice by inhibiting NF- κ B pathway. *International Immunopharmacology*. 11(10). 1606-1612.
- Luo, Y. L., Zhang, C. C., Li, P. B., Nie, Y. C., Wu, H., Shen, J. G., Su, W. W. (2012). Naringin attenuates enhanced cough, airway hyperresponsiveness and airway inflammation in a guinea pig model of chronic bronchitis induced by cigarette smoke. *International Immunopharmacology*. 13(3). 301-307.
- Manthey, J. A., Guthrie, N., Grohmann, K. (2001). Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. *Current medicinal chemistry*, 8(2), 135-153.
- McDonald, N. Q., & Hendrickson, W. A. (1993). A structural superfamily of growth factors containing a cystine knot motif. *Cell*. 73(3). 421-424.
- Middleton E. (1984). The flavonoids. *Trends in Pharmacological Sciences*. 5. 335-338.
- Morikawa, K., Nonaka, M., Narahara, M., Torii, I., Kawaguchi, K., Yoshikawa, T., Morikawa,

- S. (2003). Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats. *Life Sciences*. 74(6). 709-721.
- Naderi, G. A., Asgary, S., Sarraf-Zadegan, G. N., Shirvany, H. (2003). Anti-oxidant effect of flavonoids on the susceptibility of LDL oxidation. In *Vascular Biochemistry* (pp. 193-196). Springer, Boston, MA.
- Nagaoka, I., Trapnell, B. C., Crystal, R. G. (1990). Upregulation of platelet-derived growth factor-A and-B gene expression in alveolar macrophages of individuals with idiopathic pulmonary fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*. 85(6). 2023-2027.
- Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R., Krishna, D. R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*. 33(1). 2-16.
- Nogata, Y., Sakamoto, K., Shiratsuchi, H., Ishii, T., Yano, M., Ohta, H. (2006). Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70(1). 178-192.
- Ozbek, E., Ilbey, Y. O., Ozbek, M., Simsek, A., Cekmen, M., Somay, A. (2009). Melatonin attenuates unilateral ureteral obstruction-induced renal injury by reducing oxidative stress, iNOS, MAPK, and NF- κ B expression. *Journal of Endourology*. 23(7). 1165-1173.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 5.
- Panda, S., Kar, A. (2014). Antithyroid effects of naringin, hesperidin and rutin in l-T4 induced hyperthyroid rats: Possible mediation through 5' DI activity. *Pharmacological Reports*. 66(6). 1092-1099.
- Peterson, J. J., Dwyer, J. T., Beecher, G. R., Bhagwat, S. A., Gebhardt, S. E., Haytowitz, D. B., Holden, J. M. (2006). Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19. S66-S73.
- Prakash, A., Shur, B., Kumar, A. (2013). Naringin protects memory impairment and mitochondrial oxidative damage against aluminum-induced neurotoxicity in rats. *International Journal of Neuroscience*. 123(9). 636-645.
- Pu, P., Gao, D. M., Mohamed, S., Chen, J., Zhang, J., Zhou, X. Y., Jiang, H. (2012). Naringin ameliorates metabolic syndrome by activating AMP-activated protein kinase in mice fed a high-fat diet. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 518(1). 61-70.
- Rajadurai, M., & Mainzen Prince, P. S. (2006). Preventive effect of naringin on lipids, lipoproteins and lipid metabolic enzymes in isoproterenol-induced myocardial infarction in wistar rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 20(4). 191-197.
- Ramesh, G., Reeves, W. B. (2002). TNF- α mediates chemokine and cytokine expression and renal injury in cisplatin nephrotoxicity. *The Journal of Clinical Investigation*. 110(6). 835-842.
- Renugadevi, J., & Prabu, S. M. (2009). Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology*, 256(1-2). 128-134.
- Reyes, R. E., González, C. R., Jiménez, R. C., Herrera, M. O., Andrade, A. A., Karunaratne, D. N. (2012). Mechanisms of O-antigen structural variation of bacterial lipopolysaccharide (LPS). *The Complex World of Polysaccharides*. 71-98.
- Ribeiro, I. A., Rocha, J., Sepodes, B., Mota-Filipe, H., Ribeiro, M. H. (2008). Effect of naringin enzymatic hydrolysis towards naringenin on the anti-inflammatory activity of both compounds. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 52. 13-18.

- Rivoira, M. A., Rodriguez, V., Talamoni, G., de Talamoni, N. T. (2021). New perspectives in the pharmacological potential of naringin in medicine. *Current Medicinal Chemistry*. 28(10). 1987-2007.
- Ross, R., Glomset, J., Kariya, B., Harker, L. (1974). A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 71(4). 1207-1210.
- Rotelli, A. E., Guardia, T., Juárez, A. O., De la Rocha, N. E., Pelzer, L. E. (2003). Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacological Research*. 48(6). 601-606.
- Sahu, B. D., Tatireddy, S., Koneru, M., Borkar, R. M., Kumar, J. M., Kuncha, M., Sistla, R. (2014). Naringin ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity and associated mitochondrial dysfunction, apoptosis and inflammation in rats: possible mechanism of nephroprotection. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 277(1). 8-20.
- Saleh, T. M., Saleh, M. C., Connell, B. J., Song, Y. H. (2017). A co-drug conjugate of naringenin and lipoic acid mediates neuroprotection in a rat model of oxidative stress. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 44(10). 1008-1016.
- Schindler, R., Mentlein, R. (2006). Flavonoids and vitamin E reduce the release of the angiogenic peptide vascular endothelial growth factor from human tumor cells. *The Journal of Nutrition*. 136(6). 1477-1482.
- Sharma, P., Kumar, V., Guleria, P. (2019). Naringin: Biosynthesis and Pharmaceutical Applications. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 81(6). 988-999.
- Shimazu, R., Akashi, S., Ogata, H., Nagai, Y., Fukudome, K., Miyake, K., Kimoto, M. (1999). MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *The Journal of Experimental Medicine*. 189(11). 1777-1782.
- Shiratori, K., Ohgami, K., Ilieva, I., Jin, X. H., Yoshida, K., Kase, S., Ohno, S. (2005). The effects of naringin and naringenin on endotoxin-induced uveitis in rats. *Journal of Ocular Pharmacology & Therapeutics*. 21(4). 298-304.
- Soetikno, V., Arozal, W., Louisa, M., Setiabudy, R. (2014). New insight into the molecular drug target of diabetic nephropathy. *International Journal of Endocrinology*, 2014.
- Sun, P. D., Davies, D. R. (1995). The cystine-knot growth-factor superfamily. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*. 24(1). 269-292.
- Tan, J., He, J., Qin, W., Zhao, L. (2019). Quercetin alleviates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in mice by suppressing TLR4/NF- κ B pathway. *Nan Fang yi ke da xue xue bao= Journal of Southern Medical University*. 39(5). 598-602.
- Tomasik, P. (2003). *Chemical and functional properties of food saccharides*. CRC Press.
- Vishnu Varthan, V. J., Srividya, A. R., Sathish Kumar, M. N. (2013). Role of naringin and naringenin in various diseased conditions-a review. *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars*. 2(4). 198-212.
- Vitt, U. A., Hsu, S. Y., Hsueh, A. J. (2001). Evolution and classification of cystine knot-containing hormones and related extracellular signaling molecules. *Molecular Endocrinology*. 15(5). 681-694.
- Wang, C. H., Yu, J., Cai, Y. X., Zhu, P. P., Liu, C. Y., Zhao, A. C., Yu, M. D. (2016). Characterization and functional analysis of 4-coumarate: CoA ligase genes in mulberry. *PLoS One*. 11(5). e0155814.
- Wang, H., Xu, Y. S., Wang, M. L., Cheng, C., Bian, R., Yuan, H., Zhou, H. (2017). Protective effect of naringin against the LPS-induced apoptosis of PC12 cells: Implications for the treatment of neurodegenerative disorders. *International Journal of Molecular Medicine*.

39(4). 819-830.

- Westermarck, B. Ī., Wasteson, Å. (1976). A platelet factor stimulating human normal glial cells. *Experimental Cell Research*. 98(1). 170-174.
- Winkel-Shirley, B. (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*. 126(2). 485-493.
- Wu, Y., Zhou, C., Li, X., Song, L., Wu, X., Lin, W., Zhao, Y. (2006). Evaluation of antiinflammatory activity of the total flavonoids of *Laggera pterodonta* on acute and chronic inflammation models. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 20(7). 585-590.
- Xie, D., Yuan, P., Wang, D., Jin, H., Chen, H. (2017). Effects of naringin on the expression of miR-19b and cell apoptosis in human hepatocellular carcinoma. *Oncology letters*, 14(2). 1455-1459.
- Xu, Y., Zhang, J., Liu, J., Li, S., Li, C., Wang, W., Liu, Y. (2015). Luteolin attenuate the D-galactose-induced renal damage by attenuation of oxidative stress and inflammation. *Natural Product Research*. 29(11). 1078-1082.
- Yoshinaga, A., Kajiya, N., Oishi, K., Kamada, Y., Ikeda, A., Chigwechokha, P. K., Shiozaki, K. (2016). NEU3 inhibitory effect of naringin suppresses cancer cell growth by attenuation of EGFR signaling through GM3 ganglioside accumulation. *European Journal of Pharmacology*. 782. 21-29.
- Zhang, J., Yang, S., Li, H., Chen, F., Shi, J. (2017). Naringin ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting NADPH oxidase 4. *European Journal of Pharmacology*. 804. 1-6.
- Zhang, L., Song, L., Zhang, P., Liu, T., Zhou, L., Yang, G., Zhang, J. (2015). Solubilities of naringin and naringenin in different solvents and dissociation constants of naringenin. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 60(3). 932-940.

ÖZGEÇMİŞ

İrem Oya YILMAZ, Tokat Anadolu Lisesi'ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nden mezun olmuş ve ardından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Veterinerlik Biyokimyası Yüksek Lisans programına girmiştir. İrem Oya YILMAZ iyi derecede İngilizce bilmektedir.

İletişim Bilgileri

ORCID ID: 0000-0002-1380-6404

Projelerde Yaptığı Görevler:

1. Yarım, G.F., **Yılmaz İ.O.** Naringinin renal hücre enflamasyonunda trombosit kaynaklı büyüme faktörü düzeyine etkisinin *in vitro* değerlendirilmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, PYO.VET.1904.21.026., Yardımcı Araştırmacı, 2021-Devam ediyor.

Yayınlanmış Çalışmalar:

1. **Yılmaz İ.O.**, Yarım, G.F. Naringinin *in vitro* oksidatif böbrek hücre hasarına etkisi. EDUVET International Veterinary Sciences Congress, 25-27 Haziran 2021, Poster bildiri.