



**AKUT BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON
HASARINAKARŞI CEVİZ SEPTA EKSTRAKTININ
RENAL KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Khasiat IMINOVA

Yüksek Lisans Tezi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hakan AŞKIN

2024

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

**AKUT BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA KARŞI CEVİZ SEPTA
EKSTRAKTININ RENAL KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Investigation of the Renal Defensive Influence Of Jugnasa Septa Extract Against Acute
Renal Ischemia/Reperfusion Injury)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Khasiat IMINOVA

Danışman: Prof. Dr. Hakan AŞKIN

Erzurum
Aralık, 2024



FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Natural and
Applied Sciences

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü
TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Akut Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarına Karşı Ceviz Septa Ekstraktının Renal Koruyucu Etkisinin Araştırılması

Prof.Dr. Hakan AŞKIN danışmanlığında, Khasiat IMINOVA tarafından hazırlanan bu çalışma, 02/12/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji ve Genetik Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu** (3./3.) ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof.Dr. Mesut TAŞKIN

Atatürk Üniversitesi

Aslı Islak İmzalıdır

Danışman: Prof.Dr. Hakan AŞKIN

Atatürk Üniversitesi

Aslı Islak İmzalıdır

Jüri Üyesi: Doç.Dr. Yeliz DEMİR

Ardahan Üniversitesi

Aslı Islak İmzalıdır

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Alper NUHOĞLU

Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Hakan AŞKIN danışmanlığında sunulan “AKUT BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA KARŞI CEVİZ SEPTA EKSTRAKTININ RENAL KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	25	30
Kuramsal Temeller	24	30
Materyal ve Yöntem	16	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	6	20
Sonuç ve Öneriler	0	20
Tezin Geneli	20	25

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

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Khasiat IMINOVA	Prof. Dr. Hakan AŞKIN
02.12.2024	02.12.2024
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansa başladığım ilk günden itibaren ve tez çalışmalarım süresince, değerli katkıları, önerileri ve desteğiyle bana yol gösteren; tezimin hazırlanmasında büyük emek harcayan, anlayışıyla süreci benim için kolaylaştıran ve devam etmem için her zaman motive eden değerli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Hakan AŞKIN’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın izolasyon, PCR çalışmaları ve tez yazım sürecindeki katkılarından dolayı Bahri AVCI ve Ayşe Nurseli SULUMER’e içten teşekkür ederim.

Yüksek lisansa başladığım andan itibaren her zaman desteğini hissettiğim, varlığıyla bana güç veren canım arkadaşım Alaa Jawdat NASIH NASIH’a özel teşekkürlerimi iletirim.

Yüksek lisansım boyunca yanımda olan, yardım ve ilgisini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Hasan AVCI, Umut ÖZER, Zulmira MAGAMETOVA, Sona AHMADI’ye ve Yusuf NERSE’ye teşekkür ederim.

Türkiye Cumhuriyeti’nde hem lisans hem de yüksek lisans eğitimime olanak sağlayarak bu yolculuk boyunca beni destekleyen Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı’na en içten teşekkürlerimi sunarım. Erasmus programı kapsamında yurtdışında staj yapma fırsatını bana tanıyan Dış İlişkiler Ofisi’nden, özellikle Pınar Uçar’a; laboratuvarlarını ve projelerini benimle paylaşarak bilimde kadınların yerini farklı bir bakış açısıyla görmemi sağlayan Prof. Dr. Marina Rodnina ve Post-Doc Shreya Ayyub’a derin minnettarlığımı iletmek isterim.

Hayatım boyunca yanımda olan, fedakarlıkları ve destekleriyle bana güç veren biricik annem Khamida IZMAILOVA ve babam Umar IMINOV’a, ayrıca sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca başarıma inanan ve beni sürekli destekleyen herkese yürekten teşekkür ederim.

Khasiat IMINOVA

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

“AKUT BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA KARŞI CEVİZ SEPTA EKSTRAKTININ RENAL KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI”

Khasiat IMINOVA

Danışman: Prof. Dr. Hakan AŞKIN

Amaç: Bu çalışmanın temel amacı, ceviz septa ekstraktının (CSE) böbrek dokularında oksidatif stres, inflamasyon, ferroptoz ve hücrel farklılaşma mekanizmalarına yönelik terapötik potansiyelini araştırmaktır. Özellikle, CSE'nin *in vivo* sıçan böbrek iskemi-reperfüzyon (IR) modeli kullanılarak, renal IR'nin neden olduğu akut organ hasarına karşı koruyucu bir tedavi olarak kullanılma potansiyelini, beş farklı genin ekspresyon seviyelerini inceleyerek değerlendirmek hedeflenmiştir. Ayrıca, ceviz kabuğunda bulunan biyoaktif bileşiklerin antioksidan özellikleri üzerine sınırlı bilimsel bilgiye katkıda bulunmak ve gen ekspresyonlarına olan etkilerini analiz ederek, genellikle atık olarak değerlendirilen bu doğal malzemenin farmakolojik önemini ortaya koymak amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada, Posof (Ardahan/Türkiye) yöresi cevizlerinin tohum kabuğu fitokimyasal bileşenlerinin ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için ekstrakte edildi. CSE'teki biyoaktif bileşikler GC-MS sistemi ile tanımlandı. CSE'nin terapötik etkilerini belirlemek amacıyla, deneysel bir *in vivo* Sprague-Dawley sıçan modeli kullanıldı. Sıçanlarda böbrek IR hasarını taklit eden bir model oluşturulmadan önce CSE uygulandı. Uygulama sonrasında böbrek dokularında antioksidan, antiinflamatuvar, ferroptoz ve hücrel farklılaşma aktiviteleri belirlemek için moleküler analizler gerçekleştirildi. Nükleer Faktör Eritroid 2 (*Nrf2*), Lipocalin 2 (*Lcn2*), Glutatyon Peroksidaz 4 (*Gpx4*), Böbrek Hasarı Molekülü (*Kim-1*) ve Keratin 8 (*Krt8*) gen ekspresyon seviyeleri qPCR yöntemi kullanılarak belirlendi.

Bulgular: CSE'nin fitokimyasal içeriğinde en fazla bulunan bileşik β -sitosterol olarak tespit edildi. Bu bileşik toplam ekstraktın % 61.070' i kadardı. CSE, gen ekspresyon seviyeleri üzerinde *Gpx4*, *Krt8* ve *Nrf2* genlerinin aktivasyonunu sağlarken *Kim-1* ve *Lcn2* genlerinin inhibisyonuna yol açarak etki etti.

Sonuç: CSE'nin oksidatif stresi azaltarak (*Gpx4*, *Nrf2*), inflamasyonu baskılayarak (*Lcn2*, *Kim-1*) ve hücrel yapı ile apoptoz süreçlerini destekleyerek (*Krt8*), böbrek dokusunu koruyucu etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, CSE'nin renal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı etkili bir tedavi adayı olabileceğini düşündürmektedir. Daha geniş çaplı araştırmalarla bulguların desteklenmesi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ceviz septa ekstraktı, antioksidan etki, gen ekspresyon profili, qPCR

Aralık 2024, 60 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

“INVESTIGATION OF THE RENAL DEFENSIVE INFLUENCE OF JUGNASA SEPTA EXTRACT AGAINST ACUTE RENAL ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY”

Khasiat IMINOVA

Supervisor: Prof. Dr. Hakan AŞKIN

Purpose: The primary aim of this study is to investigate the therapeutic potential of walnut septa extract (CSE) in targeting oxidative stress, inflammation, ferroptosis, and cellular differentiation mechanisms in kidney tissues. Specifically, the study aims to evaluate the potential of CSE as a protective treatment against acute organ damage caused by renal ischemia-reperfusion (IR) injury using an *in vivo* rat model and by analyzing the expression levels of five different genes. Furthermore, the study seeks to contribute to the limited scientific knowledge on the antioxidant properties of bioactive compounds found in walnut shells and to analyze their effects on gene expression, thereby highlighting the pharmacological importance of this natural material, often regarded as waste.

Method: In the study, the phytochemical components and antioxidant capacities of walnut seed shells from the Posof region (Ardahan, Turkey) were determined through extraction. The bioactive compounds in CSE were identified using GC-MS analysis. To evaluate the therapeutic effects of CSE, an experimental *in vivo* Sprague-Dawley rat model was employed. Before inducing a renal IR injury model in the rats, CSE was administered. Following the treatment, molecular analyses were performed to determine antioxidant, anti-inflammatory, ferroptosis, and cellular differentiation activities in kidney tissues. Gene expression levels of Nuclear Factor Erythroid 2 (*Nrf2*), Lipocalin 2 (*Lcn2*), Glutathione Peroxidase 4 (*Gpx4*), Kidney Injury Molecule-1 (*Kim-1*), and Keratin 8 (*Krt8*) were assessed using qPCR.

Findings: The primary bioactive compound identified in CSE was β -sitosterol, accounting for 61.07% of the total extract. On a molecular level, CSE promoted the activation of *Gpx4*, *Krt8*, and *Nrf2* genes while inhibiting the expression of *Kim-1* and *Lcn2* genes, indicating its protective effects.

Results: CSE was shown to exert renoprotective effects by reducing oxidative stress (*Gpx4*, *Nrf2*), suppressing inflammation (*Lcn2*, *Kim-1*), and supporting cellular structure and apoptosis regulation (*Krt8*). These findings suggest that CSE could be a promising therapeutic candidate for renal ischemia-reperfusion injury. Further comprehensive and long-term studies are recommended to validate these findings.

Keywords: Walnut septa extract, antioxidant effect, gene expression profile, qPCR

December 2024, 60 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	3
Böbrek Hasarında Oksidatif Stres	3
Oksidatif stresin mekanizması	3
Oksidatif stres ve sağlıklı böbrek metabolizması.....	4
Oksidatif stres patofizyolojik rolü.....	5
Akut Böbrek Hasarı.....	7
İnsidans ve demografi	7
Enflamasyon.....	8
Ferroptoz	9
Hücrel farklılaşması.....	10
Kidney injury molecule-1 (<i>Kim-1</i>) geni.....	11
Nükleer faktör eritroid 2 (= <i>Nrf2</i>) geni	12
Lipocalin-2 (<i>Lcn2</i>) geni.....	13
Glutasyon peroksidaz 4 (<i>Gpx4</i>) geni	13
Keratin 8 (<i>Krt8</i>) geni.....	14
Cevizin Besinsel ve Tıbbi Özellikleri	16
Cevizin oksidatif stres üzerindeki etkileri.....	17
Ceviz ekstraktlarının doku hasarına etkisi	18
MATERYAL VE METOT	19
Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Markaları	19
Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler.....	19
Çalışmada kullanılan deney hayvanları	20

Ceviz septa ekstraktının hazırlanışı ve saklanma prosedürü.....	21
Ceviz tohum kabuklarının kimyasal bileşenlerinin analizi	22
Sprague Dawley Ratlarda deneysel iskeminin yapılması	23
Dokuların toplanması ve homojenizasyon işlemleri	24
Böbrek dokusundan RNA izolasyonu.....	24
Elde edilen RNA'ların konsantrasyon ve saflık değerlerinin ölçülmesi	25
Genlerin Primer Dizaynı ve Real-Time PCR.....	25
İstatistiksel Analizlerin Yapılması	27
ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	28
GC-MS Analiz Bulguları	28
<i>Kim-1</i> geninin böbrek hasarında rolü ve koruyucu etkileri.....	30
<i>Nrf2</i> geninin böbrek hasarında rolü ve koruyucu etkileri	32
<i>Lcn2</i> geninin böbrek hasarında rolü ve koruyucu etkileri.....	33
<i>Gpx4</i> geninin böbrek hasarında rolü ve koruyucu etkileri	34
<i>Krt8</i> geninin böbrek hasarında rolü ve koruyucu etkileri	35
SONUÇ ve ÖNERİLER	37
KAYNAKLAR.....	38
ÖZGEÇMİŞ.....	47

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Genlere Yönelik Primer Dizileri	26
Tablo 2. Master Mix İçeriği	26
Tablo 3. Real-Time PCR.....	27
Tablo 4. Ceviz Tohumu Kabuklarının Etanol Ekstraktından İzole Edilen Fitokimyasalların Tanımlanması	28



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Çalışmada kullanılan grupların gösterimi	21
Şekil 2. (A) Manyetik karıştırıcı, (B) Reflüks düzeneği, (C) Posa kısmının ayrılması işlemi, (D) Evaporatör kullanılarak çözücünün uzaklaştırılması.	22
Şekil 3. Sprague-Dawley sıçanlarında gastrik gavaj yöntemiyle uygulama ve deneysel iskemi modelinin oluşturulması	23
Şekil 4. Gerçek zamanlı PCR rotorları	26
Şekil 5. Ceviz septasının etanol ekstraktına ait GC-MS kromatogramı.....	28
Şekil 6. GC-MS analizi ile belirlenen biyoaktif bileşiklerin yapıları (KingDraw)	29
Şekil 7. Gruplar için ölçülen <i>Kim-1</i> seviyelerinin grafikte gösterimi	31
Şekil 8. Gruplar için ölçülen <i>Nrf2</i> seviyelerinin grafikte gösterimi	32
Şekil 9. Gruplar için ölçülen <i>Lcn2</i> seviyelerinin grafikte gösterimi	33
Şekil 10. Gruplar için ölçülen <i>Gpx4</i> seviyelerinin grafikte gösterimi.....	34
Şekil 11. Gruplar için ölçülen <i>Krt8</i> seviyelerinin grafikte gösterimi	35

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat
µl	: Mikrolitre
ABH	: Akut Böbrek Hasarı
ANOVA	: Tek Yönlü Varyans Analizi
ATP	: Adenosin Triphosphate
BRT	: Böbrek Replasman Tedavisi
BS	: β-sitosterol
cDNA	: Tamamlayıcı Deoksiribo Nükleik Asit
CSE	: Ceviz Septa Ekstraktı
DHÖ	: Düzenlenmiş hücre ölümünün
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
ETC	: Elektron Taşıma Zinciri
Gapdh	: Gliseraldehid 3-Fosfat Dehidrogenaz
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Mass Spektrometrisi
Gpx4	: Glutasyon Peroksidaz 4
gr	: Gram
HÖAK	: Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi
KBH	: Kronik Böbrek Hasarı
Kim-1	: Böbrek Hasarı Molekülü
Krt8	: Keratin 8
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
Lpc2	: Lipocalin 2
ml	: Mililitre
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
MUFA	: Tekli Doymamış Yağ Asitleri
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NF-Kβ	: Nükleer faktör kappa β
NO	: Nitrik Oksit

<i>Nrf2</i>	: Nükleer Faktör Eritroid 2
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PFA	: Perfluoroalkoksi Alkil
pH	: Hidrojen Gücü
q-RT PCR	: Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR
RIR	: Renal İskemi Reperfüzyon
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Toksisitesi
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
YB�	: Yoğun Bakım �niteleri

GİRİŞ

İskemi-reperfüzyon hasarına bağlı akut böbrek hasarı (ABH), böbreklere kan akışının azalması (iskemi) ve ardından kan akışının yeniden sağlanması (reperfüzyon) durumunda meydana gelen ciddi bir patolojik süreçtir. Bu süreç, böbrek dokularında önemli hasara neden olabilir ve ABH'ye yol açabilir. İskemik faz, oksijen ve besin eksikliğine yol açarak hücrel hasar ve işlev bozukluğuna neden olurken, reperfüzyon sırasında ani oksijen akışı, reaktif oksijen türlerinin (ROT) artışına yol açarak dokularda daha fazla hasara neden olabilir. Bu durum, enflamasyon tepkileri ve endotelial disfonksiyonla birleşerek hücrel apoptosize ve nekroza yol açar. Bu süreçlerin kombinasyonu, ABH'nın ilerlemesine katkıda bulunan karmaşık bir patofizyolojik durumu ortaya koyar (Kanagasundaram, 2014; Park *et al.* 2020).

Renal iskemi-reperfüzyon (RIR) hasarı, yüksek morbidite ve mortalite oranlarıyla ilişkilidir, ancak etkili tedavi yöntemleri hâlâ eksiktir (Hosszu, 2017). RIR, böbrek fonksiyon bozukluğunun ilerlemesine katkıda bulunarak doğal böbrek dokusu ve renal allograft nakillerinde akut böbrek hasarının gelişimine yol açabilir. İskemik böbreğin reperfüzyonu, oksidatif stresin artması ve inflamasyonun şiddetlenmesiyle hücrel DNA, protein ve hücrel bütünlüğe zarar vererek nekroz veya apoptoz ile sonuçlanır. Bu nedenle, antioksidan bileşiklerin kullanımı, RIR'ye bağlı oksidatif stresi hafifletmek için umut verici bir yaklaşım olabilir (Zhang *et al.* 2017).

Bitkisel ürünler, sadece oksidatif stresin neden olduğu hücrel hasara karşı değil, aynı zamanda immünmodulator etkileri nedeniyle bağışıklık sistemi üzerinde de olumlu etkiler gösterebilir. Bu özellikle böbrekler gibi organlarda meydana gelen hasarlara karşı potansiyel bir tedavi aracı olabileceğini göstermektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar bitkilerden elde edilen ürünlerin, RIR hasarına karşı koruyucu bir etkiye sahip olabileceğini, böylece böbrek fonksiyonunu iyileştirebileceğini ve doku hasarını en aza indirebileceğini öne sürmektedir (Li *et al.* 2019; Wang *et al.* 2020).

Bitkisel ilaçlar, insan organizmasıyla mümkün olduğunca uyumlu ve mümkün olduğunca az yan etki ve olumsuz reaksiyona sahip karmaşık doğal ürünlere olan ilgileri nedeniyle insanlar tarafından giderek daha fazla kullanılmaktadır. Bu nedenle, bitkisel ilaçların kullanımı, analitik yaklaşımlarla birlikte son biyolojik tarama yöntemleri de dahil olmak üzere bilimsel kanıtlara dayanmalıdır (Salem *et al.* 2022). Meyve, sebze ve kuruyemiş açısından

zengin diyetler, vitamin, mineral, fitokimyasal ve diyet lifi konsantrasyonları nedeniyle sağlık yararları için genellikle önerilir (Slavin *et al.* 2012).

Kuruyemişler ve tohumlar, tam tahıllar, sebzeler, meyveler ve baklagiller, Akdeniz diyeti gibi küresel olarak önerilen sağlıklı diyet modellerinin temel bileşenleridir (Guasch-Ferré *et al.* 2023). Doymamış yağ asitleri, folik asit, E vitamini, potasyum, kalsiyum, magnezyum, fitosteroller, polifenoller ve lif açısından zengindirler (Nishi *et al.* 2023). Ağaç yemişleri arasında ceviz (*Juglans regia*), meyveleri için yaygın olarak takdir edilen değerli bir kültür ağacıdır (Jahanban-Esfahlan *et al.* 2019). Ceviz çekirdeği, lipitler, ağırlıklı olarak doymamış yağ asitleri (MUFA ve PFA), fitosteroller, tokoferoller, proteinler, mineraller ve fenolik bileşikler gibi bir dizi antioksidan kimyasal açısından zengindir (Martínez *et al.* 2010; Geng *et al.* 2021).

Kardiyovasküler hastalıkları, böbrek, diyabet ve obeziteyi önlemede ve hafifletmede önemli bir tıbbi değere ve sağlık işlevine sahiptir (Geng *et al.* 2021). Bazı ceviz yan ürünleri incelenmiş ve biyoaktif bileşenler açısından zengin olduğu gösterilmiştir (Santos *et al.* 2013). Ceviz kabuğu veya pellicül, çekirdeğin oksidasyonunu ve mikrobiyal kontaminasyonunu önleyen ince, kahverengi kaplamadır. Cevizin güçlü antioksidan ve anti-inflamatuar kapasitelere sahip polifenollerinin ana kaynağıdır (Chamorro *et al.* 2022).

Yapılan araştırmada, CSE böbrekler gibi organda meydana gelen iskemik hasara karşı terapötik potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmada, CSE'nin böbrek hasarını azaltarak böbrek fonksiyonlarını iyileştirebileceği ve inflammatuar yanıtları baskılayarak doku hasarını en aza indirebileceği değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, CSE'nin böbrek sağlığını koruma ve iyileştirme potansiyelini desteklemekte ve bu bileşenin gelecekteki klinik uygulamalar için değerlendirilmesini teşvik etmektedir.

KURAMSAL TEMELLER

Böbrek Hasarında Oksidatif Stres

Böbrek hasarı, çeşitli patolojik durumlar sonucunda ortaya çıkabilen ve böbrek fonksiyonlarının bozulmasıyla sonuçlanan ciddi bir klinik tablodur. Bu hasar, böbrek dokusunun yapısal ve işlevsel bütünlüğünü zedeler, bu da böbreklerin vücuttaki atıkları filtreleme yeteneğini olumsuz etkiler. Oksidatif stres, serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi ile antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlarda hücresel düzeyde hasarın meydana gelmesi olarak tanımlanır. Bu dengesizlik, hücre zarlarının lipid peroksidasyonuna, proteinlerin oksidasyonuna ve DNA hasarına neden olabilir. (Mittal *et al.* 2014; Zuo *et al.* 2020). Oksidatif stres, birçok böbrek hastalığının patofizyolojisinde kritik bir role sahiptir ve bu hastalıkların birçok komplikasyonu oksidatif stres, oksidatif stresle ilişkili mediatörler ve inflamasyon tarafından aracılık edilmektedir. Hipertansiyon, diabetes mellitus ve hiperkolesterolemi gibi çeşitli sistemik hastalıklar, enfeksiyonlar, antibiyotikler, kemoterapötikler ve radyokontrast maddeler, çevresel toksinler, mesleki kimyasallar, radyasyon, sigara ve alkol tüketimi böbrekte oksidatif strese neden olur.

Oksidatif stresin tetiklediği bu süreçler, böbrek dokusunda geri dönülmez hasarlara ve fibrozis gibi uzun vadeli komplikasyonlara yol açabilir (Himmelfarb *et al.* 2010). Böbrek hücreleri üzerinde oluşan bu stres, mitokondriyal disfonksiyon, inflamasyon ve apoptoz gibi olayları da harekete geçirir, böylece böbrek hasarının ilerlemesine katkıda bulunur. Sonuç olarak, oksidatif stresin yönetimi, böbrek sağlığını korumada ve böbrek hasarının önlenmesinde kritik bir strateji olarak öne çıkmaktadır (Sedek *et al.* 2013).

Oksidatif stresin mekanizması

Oksidatif stres, böbrek hücrelerinde ciddi biyokimyasal bozulmalara yol açarak lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı gibi hücresel düzeyde tahribatlara neden olabilir. Bu süreçler, hücre bütünlüğünün bozulmasına ve nihayetinde hücre ölümüne yol açar. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi, böbrek hücrelerinde mitokondriyal disfonksiyon, inflamasyon ve apoptoz gibi patofizyolojik süreçleri tetikleyerek böbrek dokusunda geri döndürülemez hasarlar meydana getirir (Himmelfarb *et al.* 2010; Sedek *et al.* 2013). Bu hasarlar, zamanla böbrek fonksiyonlarının daha da kötüleşmesine ve kronik böbrek hastalığının (KBH) ilerlemesine neden olur. Ayrıca, oksidatif stresin tetiklediği bu süreçler, böbrek

hücrelerinde fibrozis gelişimine yol açarak, doku sertleşmesi ve fonksiyon kaybına katkıda bulunur. Bu durum, KBH'nin ilerleyişini hızlandırır ve tedavi süreçlerini daha karmaşık hale getirir (Duni *et al.* 2019).

Oksidatif stres ve sağlıklı böbrek metabolizması

Oksidatif stres, reaktif türlerin üretimi ile hücrelerin doğal antioksidan yeteneği arasındaki dengesizliğin neden olduğu düzenli hücresel ve moleküler işlevdeki bir bozulma olarak tanımlanır. ROS'lar biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerin en önemlisidir. Başlıca ROS'lar süperoksit (O_2^-), hidroksil radikal (OH^-) ve hidrojen peroksittir (H_2O_2). Reaktif türlerin endojen ve ekzojen kaynakları bulunmaktadır (Small *et al.* 2012). Mitokondri içindeki ROS seviyeleri diğer sitozolik ve nükleer bölmelerden 5 ila 10 kat daha yüksektir. ROS üretimine katkıda bulunan diğer kısımlar endoplazmik retikulum, peroksisomlar ve lizozomlardır. Moleküler oksijenin yüzde bir ila üçü, En yaygın ROS ve en güçlü H_2O_2 'nin bir öncüsü olan O_2 -ye dönüştürülür (Cadenas *et al.* 2000). Hücresel H_2O_2 stabil olmasına rağmen, indirgenmiş metal iyonu Fe^{2+} varlığında çeşitli substratlarla etkileşime girerek hasar oluşturur. Bu, H_2O_2 'nin parçalanmasına ve ROS'un en reaktif ve hasar verici olanı olan OH^- yi oluşturmaya yol açar. Sağlıklı hücrelerde, zararlı H_2O_2 üretimi, mitokondriyal veya sitozolik katalaz (CAT) veya tiyol peroksidazların H_2O ve O_2 'ye katalize edici eylemleriyle karşılanır (Liu *et al.* 2002). Normal solunum sırasında üretilenler bile, sonunda hücre ve doku işlevinin kaybına ve en sonunda hastalığa yol açacak kümülatif hasara neden olabilirler. ROS üretiminin, ilerleyen hastalık ve yaşlanma sırasında doğal antioksidan seviyelerinin üzerinde arttığı bilinmektedir. Vücuttaki organlar arasında böbrek oldukça enerjiktir ve bu nedenle oksidatif fosforilasyon yoluyla ATP üretimi için büyük ölçüde aerobik metabolizmaya güvenir. Mitokondri içindeki elektron taşıma zinciri (ETC) boyunca moleküler O_2 'nin azaltılması böbrek hücresel işlevi için hayati öneme sahiptir, ancak uzun vadede potansiyel olarak yıkıcıdır. ETC, mitokondriyal membran potansiyelini ve ATP üretimini sürdüren beş enzim kompleksinden oluşur. Bu komplekslerin her biri bir ROS üretim yeri sunar; ancak, kompleks I ve III birincil O_2 üretim yerleri olarak tanımlanmıştır (Nohl & Hegner 1978).

Nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) dehidrogenaz veya NADH-KoenzimQ (NADH-CoQ) redüktaz olarak da bilinen Kompleks I, NADH ve CoQ10 (bazen ubikinon olarak da bilinir) arasındaki elektron transferini kolaylaştırır. Oksidatif fosforilasyondaki kusurlar, solunum zincirindeki NADH ve NADH oksidaz gibi substratların kullanımından kaynaklanıyor olabilir ve solunum komplekslerinin proteinlerindeki değişikliklerden kaynaklanmayabilir. Bu nedenle, değişen solunum komplekslerinin ve substratların elektron taşınmasında verimsizliğe ve ardından artan ROS ve azalan ATP, mitokondriyal membran

potansiyelinin kaybına yol açabilir. Mitokondriyal komplekslerin oksidatif olarak hasar görmüş proteinleri farelerde yaşla birlikte artmaktadır (Choksi *et al.* 2007).

KBH hastalarında (evre 2-3) ve hemodiyaliz hastalarında, bozulmuş mitokondriyal solunum kaydedildi (Granata *et al.* 2009). Bu son raporda, Granata ve meslektaşları, KBH hastalarında hücre metabolizmasındaki değişikliklerin altında yatan mekanizmaları araştırmak için yüksek verimli genom tabanlı mikrodizi ve klasik moleküler metodolojilere dayalı birleşik bir strateji kullandılar. Özellikle oksidatif fosforilasyon sistemi bileşenleri analiz edildi. Sonuçlar, KBH hastalarında mitokondriyal solunum mekanizmasının açık bir şekilde düzensizleştiğini ve bunun da artan oksidatif stresle yakından ilişkili olduğunu gösterdi. Bu sonuçlar, bu popülasyonda normalin altında bir enerji metabolizması olduğunu gösteren KBH hastaları hakkındaki diğer raporları açıklamaya yardımcı olabilir (Small *et al.* 2012).

Oksidatif stres patofizyolojik rolü

Oksidatif stres, akut böbrek hasarı (ABH) ve kronik böbrek hastalığı (KBH) gibi böbrek rahatsızlıklarının patofizyolojisinde merkezi bir rol oynar. Bu stres, böbrek dokusundaki hücresel düzeyde denge bozulmalarını tetikleyerek hastalığın ilerlemesine ve komplikasyonların artmasına neden olur (Vaziri *et al.* 2011). Özellikle hipertansiyon, diyabet ve glomerülonefrit gibi kronik hastalıklar, oksidatif stresin böbrek hasarındaki etkisini belirginleştirir.

Oksidatif stres, akut böbrek hasarı (ABH) ve kronik böbrek hasarı (KBH)'nın patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. ABH, böbrek fonksiyonlarının ani kaybı (bir hafta içinde) ile karakterize edilir ve kanda nitrojen metabolizmasının ve kreatininin toksik son ürünlerinin birikmesi, idrar çıkışının azalması veya her ikisi ile sonuçlanır. ABH, renal düzeyde böbrek parankimindeki hasarın neden olduğu, renal kan akışının azalmasının bir sonucu olarak prerenal olarak böbrek toplama sistemi veya üreterlerden idrar akışının tıkanması nedeniyle postrenal olarak gelişebilir. Hücresel düzeyde, ABH'nin patofizyolojisi, iltihaplanmaya neden olan bağışıklık hücreleri ile böbrek hücreleri arasındaki aracılar arasındaki karmaşık etkileşimlerle karakterize edilir (Pavlaoui *et al.* 2017). Sonraki onarım süreci böbrek fonksiyonlarının geri kazanılmasına veya kronik böbrek hastalığı ile sonuçlanan profibrotik fenotipe yol açar. Böbreklere giden kan akışının azalmasından kaynaklanan hipoperfüzyon, ABH'nin en yaygın nedenidir (Makris *et al.* 2016).

Bu tür prerenal ABH, iskemik akut tübüler nekroz olarak ortaya çıkan hücresel bir hasara yol açabilir veya açmayabilir. Yüksek metabolik olarak aktif proksimal tübüler hücreler ve medulla kalın yükselen uzuv hücreleri, yüksek oksijen gereksinimleri nedeniyle bu tür

yaralanmalarda birincil hedeflerdir (Munshi *et al.* 2011). Yaralanmanın ardından epitel hücreleri yapısal değişikliklere veya hücre ölümüne uğrar, bu da endotel aktivasyonunu ve inflamatuvar medyatörleri serbest bırakan hücrelerin infiltrasyonunu tetikler (Sharfuddinet *et al.* 2011). İskemi ve reperfüzyon da oksidatif stresin aktivatörleridir ve bu ortamda ROS'un birincil kaynağı mitokondridir (Su *et al.* 2019).

İskemik hasar sırasında, hidroksil radikal, peroksinitrit ve hiperkloröz asit gibi ROS üretilir. Aynı zamanda, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimler tükenir. Bu, hem böbrek iskemisinden hem de nefrotoksisiteden sonra böbrek dokusunda gösterilmiştir (Paller *et al.* 1984; Dennis & Witting 2017). İskemik hasar ayrıca proinflamatuvar sitokinlerin ifadesini yukarı düzenler ve ROS üreten fagositleri işe alır. Buna karşılık ROS, vazokonstriksiyonu ve renal vasküler direnci etkiler (Basile *et al.* 2012; McCord, 1985).

Sepsis kaynaklı böbrek hasarı hem prerenal (hemodinamik değişiklikler, endotel disfonksiyonu) hem de intrarenal (inflamatuvar infiltrasyon ve renal parenkim hasarı, intraglomerüler tromboz ve tübüler obstrüksiyon) nedenlerin bir sonucudur, ancak olayların kesin dizisi henüz tam olarak bilinmemektedir (Zarjou & Agarwal 2011). ROS, sepsis kaynaklı böbrek hasarının gelişiminde rol oynar. İndüklenebilir nitrik oksit sentazın inflamasyon kaynaklı düzenlenmesi, aşırı nitrik oksit (NO) üretimine yol açar ve bu da oksijenin oksidasyonu yoluyla oldukça reaktif süperoksitler üreten endotel NO sentazını ayırır. Ek olarak, aşırı NO, SOD ile rekabet eder ve süperoksit radikalleriyle reaksiyona girerek tübüler hücreler üzerinde doğrudan hasar verici bir etkiye sahip olan peroksinitrit oluşturur (Radi, 2013). Son olarak, indüklenebilir NO sentazının ekspresyonu heterojen olduğundan, NO konsantrasyonları değişir ve bu da düzensiz perfüzyonla sonuçlanır (Zarbock *et al.* 2014). İnflamatuvar hücrelerin ROS'u işleyiş biçimlerinin bir parçası olarak kullandıkları bilinmektedir. Septik ABH'da dendritik hücreler ve nötrofiller böbrek hastalığını teşvik etmede kilit oyuncularındır (Su *et al.* 2019). Dendritik hücreler nötrofilleri işe alarak ve aktive ederek dolaylı olarak oksidatif strese katkıda bulunurken, aktive edilmiş nötrofiller acil tehditlerle mücadele etmek için iki farklı ROS'a bağlı mekanizmadan geçebilir. Fagositoz (tehdit yutma ve 'oksidatif patlama' aktivasyonu) ve NETosis (nötrofil ekstraselüler tuzaklarının oluşumu) NADPH oksidaz 2'nin (NOX2) aktivasyonunu ve süperoksit üretimini gerektirir. Son zamanlarda yapılan bir çalışma, nötrofillerde NOX2 ve indüklenebilir NO sentazın bloke edilmesinin sepsis kaynaklı ABH'li bir fare modelinde böbrek hasarını azalttığını göstermiştir (Su *et al.* 2019).

Glomerülonefrit: Glomerülonefrit, glomerüllerin inflamasyonu ve hasarı ile karakterize edilen bir durumdur. Oksidatif stres, inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu ve ROS

üretimini artırarak glomerüler hasarı derinleştirir. Bu süreç, podosit kaybına, glomerüler filtrasyon bariyerinin bozulmasına ve proteinüriye yol açar (Sedek *et al.* 2013). Oksidatif stresin glomerüler hasar üzerindeki etkisi, profibröz sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımını artırarak fibrozis sürecini hızlandırır (Duni *et al.* 2019).

Fibrozis ve Böbrek Fonksiyonlarının Bozulması: Oksidatif stres, böbrek hücrelerinde fibrozis gelişimine katkıda bulunur. ROS, fibroblastların aktivasyonunu ve ekstraselüler matris bileşenlerinin sentezini artırarak doku sertleşmesine yol açar. Bu süreç, böbrek mimarisinin bozulmasına ve fonksiyon kaybına neden olur (Duni *et al.* 2019). Fibrozis, böbreklerde geçirgenliği düşürür, böylece atık maddelerin vücutta birikmesine ve metabolik dengenin bozulmasına neden olur.

Moleküler Mekanizmalar: Oksidatif stres, hücre içi çeşitli moleküler yolları etkileyerek böbrek hasarını tetikler. NF- κ B gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, inflamatuvar yanıtları ve apoptozu teşvik eder (Vaziri & Norris 2011). Ayrıca, *Nrf2*/ARE yolları gibi antioksidan savunma mekanizmalarının baskılanması, hücrelerin oksidatif strese karşı savunmasız kalmasına neden olur. Bu moleküler değişiklikler, hücre döngüsünün bozulmasına, hücre ölümüne ve doku dejenerasyonuna yol açar (Zuo *et al.* 2020).

Akut Böbrek Hasarı

Böbrek fonksiyonlarının ani kaybını ifade eden ciddi bir durumdur ve hem kısa hem de uzun vadede hasta sonuçlarını etkiler. ABH'nin insidansı, yüksek gelirli ülkelerde hastane ortamında %7 ile %18 arasında değişirken, yoğun bakım ünitelerinde bu oran %30 ile %70 arasındadır. Bu, ABH'nin hastane içindeki yaygınlığını ve ciddiyetini göstermektedir. Toplum kökenli ABH ise, düşük ve orta gelirli ülkelerde özellikle ishal ve sıtma gibi enfeksiyonlar sonucunda daha sık görülmektedir (Susantitaphong *et al.* 2013; Murphree, 2023). ABH'nin hastane içi ve toplum kökenli etkileri, etkili yönetim ve önleme stratejilerinin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Yüksek gelirli ülkelerde yaşlı ve hastalığı olan bireyler için etkili sağlık sistemlerinin geliştirilmesi, düşük ve orta gelirli ülkelerde ise sağlık altyapısının güçlendirilmesi ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin artırılması gerekmektedir. Sonuç olarak, ABH'nin sağlık üzerindeki etkilerini azaltmak için kapsamlı stratejilerin geliştirilmesi ve uygulanması büyük önem taşımaktadır (Gomez & McDonald 2021; Naicker & Louis 2022).

İnsidans ve demografi

ABH'nin (Akut Böbrek Hasarı) insidansı, ortam ve nüfusa bağlı olarak büyük ölçüde değişiklik göstermektedir. Yüksek gelirli ülkelerde, ABH hastanede yatan hastaların önemli bir kısmını etkilemektedir. Hastane kaynaklı ABH, hastaneye yatan hastaların %7 ile %18'ini

etkilerken, yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) bu oran %30 ile %70 arasında değişmektedir. Yoğun bakım ünitelerinde ABH geçiren hastaların yaklaşık %5'i böbrek replasman tedavisi (BRT) gerektirmektedir ve bu durumun ciddiyetini göstermektedir (Kellum & Lameire 2013; Hoste & Kellum 2006).

Toplum ortamında ise ABH'nin insidansı milyon nüfus başına 20 ile 200 arasında değişmektedir. Bu, ABH'nin sadece hastane ortamlarında değil, aynı zamanda daha az akut ortamlarda da ortaya çıkabileceğini göstermektedir. Toplum kökenli ABH, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde, ishal hastalıkları ve sıtma gibi enfeksiyonların neden olduğu sağlık sorunları sonucunda sıkça görülmektedir (Susantitaphong *et al.* 2013). Bu ortamlarda ABH, genellikle daha genç nüfusları ve kırsal bölgelerdeki insanları etkilerken, yüksek gelirli ülkelerdeki hastanelerde genellikle yaşlı ve ek hastalıkları bulunan bireyleri etkilemektedir (Bellomo *et al.* 2012; Kaddourah *et al.* 2017).

Enflamasyon

Bağışıklık hücrelerinin alımını, aktivasyonunu ve doku yeniden modellemesini koordine eder. Enflamasyon, vücudun enfeksiyonlara, yaralanmalara veya zararlı uyaranlara karşı verdiği doğal bir savunma mekanizmasıdır. Akut enflamasyon, genellikle kısa süreli olup, hasarlı dokuların iyileşmesine yardımcı olur. Bununla birlikte, enflamasyonun kronikleşmesi, vücutta kalıcı doku hasarına yol açabilir ve birçok kronik hastalığın temelinde yer alabilir.

Enflamasyon, birçok hastalığın gelişiminde ve ilerlemesinde merkezi bir rol oynar (Dinarelli, 2011). Kronik enflamasyon, özellikle otoimmün hastalıklarda, vücut kendi sağlıklı hücrelerine saldırdığında ortaya çıkar ve bu durum, romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalığı, astım, ateroskleroz ve çeşitli nörodejeneratif bozukluklar gibi hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bu tür hastalıklarda, inflamatuvar yanıtın kontrolsüz veya düzensiz hale gelmesi, dokuların zarar görmesine, fonksiyon kaybına ve hastalığın ilerlemesine neden olur (Cox & Gonzales 2020; Schett & Neurath 2018). Özellikle kronik enflamasyon, sürekli bağışıklık sistemi aktivasyonu ve doku tahribatı ile karakterizedir, bu da zamanla ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir.

Enflamasyonu hedeflemek, modern tıbbın önemli bir tedavi stratejisi haline gelmiştir (Medzhitov, 2010). Bu bağlamda, spesifik sitokinlerin veya immün hücre yollarının bloke edilmesi, enflamasyonu kontrol altına almak için kullanılan başlıca yöntemlerden biridir. Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler), kortikosteroidler ve biyolojik ajanlar, enflamasyonla ilişkili hastalıkların yönetiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (McInnes & Schett 2007) NSAID'ler, enflamasyonu azaltarak ağrıyı hafifletirken, kortikosteroidler, daha

güçlü antiinflamatuvar etkileri sayesinde daha şiddetli inflamatuvar durumları kontrol altına alabilir. Biyolojik ajanlar ise, özellikle bağışıklık sistemi üzerinde daha spesifik hedeflere yönelik etkileriyle, otoimmün hastalıkların tedavisinde devrim yaratmıştır (Ridker, 2019; Miller, 2017).

Bunun yanı sıra, yaşam tarzı değişiklikleri de inflamasyonu düzenlemede önemli bir rol oynayabilir. Sağlıklı bir diyet, düzenli egzersiz, yeterli uyku ve stres yönetimi gibi faktörler, vücuttaki inflamatuvar yanıtı olumlu yönde etkileyebilir. Örneğin, omega-3 yağ asitleri bakımından zengin bir diyetin, antiinflamatuvar etkiler gösterdiği bilinmektedir. Benzer şekilde, düzenli egzersiz, bağışıklık sistemini güçlendirerek inflamasyonun kontrol altında tutulmasına yardımcı olabilir. Ayrıca, stres yönetimi teknikleri, kortizol gibi stres hormonlarının düzeylerini dengeleyerek, inflamasyonun azalmasına katkıda bulunabilir (Li *et al.* 2022). Sonuç olarak, inflamasyon, vücudun savunma mekanizmalarının bir parçası olmasına rağmen, kontrolsüz kaldığında ciddi hastalıklara yol açabilir. Hem farmakolojik hem de yaşam tarzı yaklaşımları, inflamasyonun kontrol altına alınmasında etkili olabilmekte ve bu sayede hastalıkların ilerlemesinin önüne geçilebilmektedir. Bu, hem akut hem de kronik inflamatuvar durumların yönetimi için önemlidir (Medzhitov, 2008).

Ferroptoz

Düzenlenmiş hücre ölümünün (DHÖ) yeni bir formatı olarak, ferroptoz ilk olarak 2012’de önerildi (Dixon *et al.* 2012). Ferroptoz, aşırı ROT birikimi ve hücre lipid oksidasyon metabolizmasının dengesizliğinden kaynaklanan, demire bağımlı ve apoptotik olmayan bir hücre ölüm modudur. 2018’de Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi (HÖAK), ferroptozu, glutatyon peroksidaz 4 (*Gpx4*) tarafından düzenlenebilen hücre mikroçevresindeki oksidatif stresin neden olduğu DHÖ olarak tanımlamayı tavsiye etti. Ayrıca ferroptoz, demir şelatörleri, demir alım inhibitörleri ve lipofilik antioksidanlar tarafından inhibe edilebilir (Yu *et al.* 2021). Son çalışmalar, ferroptozun geleneksel programlanmış hücre ölümünden farklı olduğunu göstermiştir. Mitokondriyal morfolojik değişiklikler, demir birikimi ve lipid reaktif oksijen türleri gibi ayırt edici morfolojik özelliklere ve biyokimyasal özelliklere sahiptir. Şu anda, hücre ölümüne ferroptozun ana nedeninin, sistin/glutamat antiporter sistemi (sistem Xc) ve GPX4’ün inhibisyonunu, bozulmuş demir homeostazını ve lipid peroksidasyonunu içeren hücresel antioksidan sistemin inaktivasyonu olduğuna inanılmaktadır. Sonuçta, antioksidan kapasitenin azalması ve hücre içi lipid ROT’un birikmesi oksidatif hücre ölümüne yol açar. Ferroptoz, demire bağlı lipid peroksid birikiminden kaynaklanan, geleneksel apoptoz ve nekrozdan farklı, yeni keşfedilen bir hücre ölümü şeklidir. Bu hücre ölümü, hücre hacminde azalma ve mitokondriyal membran yoğunluğunun artması gibi sitolojik değişikliklerle karakterize edilir.

Morfolojik olarak mitokondri, mitokondriyal zarların yoğunlaşması ve yırtılması, büzülmesi veya mitokondriyal kristallerin kaybolması ile normalden daha küçük görünebilir (Li *et al.* 2020). Ferroptoz, sınıf 1 ve sınıf 2 ferroptoz indükleyicileri olarak bilinen iki küçük molekül sınıfı tarafından indüklenebilir. Bu moleküllere ek olarak sorafenib ve artemisinin türevleri tarafından da uyarılabilir. Ferroptoz, demir şelatörler (örn., Deferoksamin) ve lipid peroksidasyon inhibitörleri (örn., Ferrostatin) tarafından inhibe edilebilir (Çelenk, 2021).

Hücresel farklılaşması

Hücresel farklılaşması, hücrelerin çok hücreli organizmaların gelişimi sırasında özel yapılar ve işlevler kazandığı süreçtir. Daha basit bir ifadeyle, vücutta belirli görevleri yerine getirmek için hücrelerin birbirinden farklı hale geldiği süreçtir (Trompetter *et al.* 2008). Bir organizmadaki tüm hücreler, DNA'larında kodlanmış aynı genetik bilgiyi içerir. Bununla birlikte, farklılaşma sırasında, bir hücrenin DNA'sındaki belirli genler açılır veya kapatılır, bu da farklı proteinlerin üretilmesine ve farklı hücre tiplerinin gelişmesine yol açar. Bu süreç, hücrelerin doku ve organlarda uzmanlaşmasını ve belirli işlevleri yerine getirmesini sağlar. Hücre farklılaşması, bir organizmanın düzgün gelişimi ve işleyişi için çok önemlidir (Corcoran & Ferretti 1997). Erken embriyonik gelişim sırasında, hücreler kademeli olarak belirli çeşitlere bağlı olarak farklı farklılaşma yolları izler. Örneğin, bazı hücreler sinir hücrelerine (nöronlar) farklılaşabilirken, diğerleri kas hücrelerine, deri hücrelerine veya kan hücrelerine dönüşebilir. Farklılaşma süreci, çeşitli moleküler sinyaller, hücresel etkileşimler ve genetik mekanizmalar tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir. Çevresel etkenler ve sinyal molekülleri, hücrelerin kaderlerini etkileyerek hücreleri belirli farklılaşma yollarına yönlendirir. Hücre farklılaşması, hücrelerin farklı kimlikler ve işlevler kazanmasını sağlayan, çok hücreli organizmaların karmaşıklığına ve işlevselliğine katkıda bulunan gelişim biyolojisinde temel bir süreçtir. Keratin 8 (Krt8) geni ile hücre farklılaşması arasında bir bağlantı vardır. Keratinler, epitel hücrelerinde bulunan bir yapısal protein ailesidir ve çeşitli dokuların bütünlüğünün ve işlevinin korunmasında çok önemli bir rol oynarlar. Özellikle Keratin 8, hücre farklılaşması sırasında belirli hücre tiplerinde ifade edilir. Hücre farklılaşması sırasında, spesifik genlerin ekspresyonu, hücrelerin özel işlevler ve özellikler kazanmasına izin verecek şekilde düzenlenir. Keratin 8 gen ekspresyonu, çeşitli organlardaki hepatositler (karaciğer hücreleri), böbrek, pankreas hücreleri ve epitel gibi belirli hücre tiplerinin farklılaşmasında rol oynar. Örneğin, karaciğerde hepatositler, hücrelere yapısal destek sağlayan ara filamentler oluşturan Keratin 8 ve Keratin 18'i eksprese eder. Bu keratinler, hepatositlerin benzersiz özelliklerine ve işlevlerine katkıda bulunur. Keratin 8 gen ekspresyonu ile hücre farklılaşması arasındaki benzer ilişkiler diğer dokularda da gözlemlenebilir. Keratin 8 gen ekspresyonunun hücre farklılaşması sırasında

düzenlendiği kesin mekanizmalar, çeşitli sinyal yollarını ve gen ekspresyonunu kontrol eden transkripsiyonel faktörleri içerebilir. Hücre farklılaşma süreçlerinde Keratin 8'in spesifik düzenleyici mekanizmalarını ve fonksiyonel etkilerini tam olarak anlamak için daha fazla araştırma gereklidir. Genel olarak, Keratin 8 geninin ifadesi, spesifik hücre tiplerinin geliştirilmesinde ve yapısal özelliklerinin oluşturulmasında yer aldığı için hücre farklılaşmasıyla bağlantılıdır (Bordeleau *et al.* 2010).

Kidney injury molecule-1 (*Kim-1*) geni

Kidney Injury Molecule-1 (*Kim-1*), böbrek tübül hücrelerinde eksprese edilen bir transmembran glikoproteindir. Bu molekül, böbrek hasarı durumlarında, özellikle proksimal tübüllerde yüksek oranda ekspresyon gösterir. *Kim-1*, hem akut böbrek hasarında (AKH) hem de kronik böbrek hasarında (KBH) önemli bir biyomarker olarak kabul edilmektedir. *Kim-1*, insanlarda 'HAVcr-1' olarak da bilinen bir gen tarafından kodlanır ve yaklaşık 365 amino asitten oluşan bir protein üretir (Ichimura *et al.* 2008). Yapısal olarak, N-terminalinde Ig benzeri bir domen, O-glikozilasyona uğrayan bir bölge ve C-terminalde bir transmembran domen içerir. *Kim-1*'in en önemli fonksiyonları arasında şunlar yer alır. *Kim-1*, böbrek hasarının ardından apoptoz veya nekroz yoluyla ölen hücrelerin temizlenmesinde rol oynar. *Kim-1*'in ekspresyonu, böbrek tübüllerinde inflamatuvar yanıtı düzenleyebilir. Bu da akut ve kronik böbrek hastalıklarının patofizyolojisinde kritik bir rol oynar (Zhao & Liu 2020; Johnson *et al.* 2013). *Kim-1*, akut böbrek hasarının erken tespiti için kullanılan en güvenilir biyomarkerlerden biri olarak öne çıkmıştır. Kanda veya idrarda *Kim-1* seviyelerinin artışı, böbrek hasarının şiddeti ve prognozu hakkında önemli bilgiler sağlar. Özellikle ilaç toksisiteleri, sepsis veya kontrast maddeye bağlı nefropati gibi durumlarda *Kim-1* seviyeleri önemli ölçüde yükselir. Son yıllarda yapılan araştırmalar, *Kim-1*'in böbrek hastalıklarının teşhisi ve yönetiminde oynadığı rolü genişletmiştir. Örneğin, bazı çalışmalar *Kim-1*'in yüksek seviyelerinin kronik böbrek hastalığı olan hastalarda kötü prognoz ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Ichimura *et al.* 2012; Linkvan, 2007). Aynı zamanda *Kim-1*'in böbrek kanseri gibi malign durumlarda da bir belirteç olabileceği düşünülmektedir. En yeni çalışmalar, *Kim-1*'in sadece böbrek hasarının bir biyomarkeri olarak değil, aynı zamanda terapötik bir hedef olarak da önem taşıdığını göstermektedir. Örneğin, *Kim-1*'in bloke edilmesi veya modifiye edilmesi, böbrek hasarını azaltabilir ve böbrek fonksiyonlarını koruyabilir. Ayrıca, *Kim-1*'in ekspresyonunu azaltan gen terapisi yaklaşımları da deneysel modellerde araştırılmaktadır (Kim & Kwon 2014).

Nükleer faktör eritroid 2 (= *Nrf2*) geni

Nrf2 geni, antioksidan ve detoksifikasyon yollarında gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (Zhang, 2017). *Nrf2* geni, insanlarda 2. kromozom üzerinde bulunur. Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (*NRF2*) olarak bilinen bir proteini kodlar (Li *et al.* 2008). *Nrf2*, DNA'ya bağlanan ve oksidatif stres yanıtı ve detoksifikasyon yollarında yer alan genlerin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Antioksidan ve detoksifikasyon yollarında yer alan enzimleri, taşıyıcıları ve diğer proteinleri kodlayan çeşitli genleri aktive ettiği bilinmektedir. *Nrf2* ayrıca iltihaplanma ve bağışıklığın ve otofajinin düzenlenmesinde de yer alır (Pergola *et al.* 2011). *Nrf2*'nin aktivasyonu, glutatyon gibi antioksidanların ve sitokrom P450 gibi zararlı kimyasalları detoksifiye eden enzimlerin üretiminde yer alan genlerin yukarı regülasyonuna yol açar. *NRF2* genindeki mutasyonlar, kanser, nörodejeneratif bozukluklar ve kardiyovasküler hastalık dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Jiang *et al.* 2010). *Nrf2*, bu hastalıklar için potansiyel bir terapötik hedef olarak hedeflenmiştir ve *Nrf2* sinyalini aktive etmek için birkaç ilaç geliştirilmiştir. *Nrf2* geni ve proteini, böbrek fonksiyonu ve hastalığında yer alır. Böbrekte yüksek oranda eksprese edilir ve böbrek hastalığının gelişiminde yaygın faktörler olan oksidatif stres ve inflamasyona karşı korunmada önemli bir rol oynar. İskemi, böbreklere kan akışının olmaması anlamına gelir, bu da hasara neden olup böbrek hastalığına yol açabilir (Bento *et al.* 2010). Çalışmalar, *Nrf2* aktivasyonunun oksidatif stresi ve iltihabı azaltarak, çeşitli antioksidan ve antienflammatuar yolları aktive ederek genel böbrek fonksiyonunu iyileştirerek akut böbrek hasarına ve kronik böbrek hastalığına karşı koruyabileceğini göstermiştir. Ek olarak, *Nrf2* genindeki mutasyonlar, artan böbrek hasarı ve hastalık ilerlemesi riski ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, *Nrf2* yolu, böbrek hastalıklarının tedavisi için potansiyel bir terapötik hedef olarak kabul edilir ve böbrek hastalığı için yeni tedaviler olarak *Nrf2* aktivatörlerinin geliştirilmesine yönelik araştırmalar devam etmektedir (Krajka & Paluszczak 2019). Birkaç çalışma, *Nrf2* aktivasyonunun hayvan modellerinde iskemik böbrek hasarına karşı koruyabileceğini göstermiştir. Örneğin, bir *Nrf2* aktivatörü ile tedavinin, böbreklere giden kan akışının geçici olarak kesilmesinden kaynaklanan yaygın bir böbrek hasarı biçimi olan iskemi-reperfüzyon hasarına maruz kalan farelerde böbrek hasarını azalttığını ve böbrek fonksiyonunu iyileştirdiği tespit edilmiştir (Sun, 2019). *Nrf2*, iskemik böbrek hasarına karşı korumadaki rolüne ek olarak, diğer böbrek hastalığı türlerinde de yer almıştır. Örneğin, Journal of the American Society of Nephrology'de yayınlanan bir çalışma, kronik böbrek hastalığı olan hastaların daha düşük *Nrf2* aktivitesi seviyelerine sahip olduğunu bulmuştur, bu da *Nrf2* disfonksiyonunun bu durumun gelişmesine ve ilerlemesine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Genel olarak, kanıtlar *Nrf2*'nin böbrekleri iskemi dahil olmak üzere yaralanma ve hastalıktan korumada önemli bir

rol oynadığını ve bu ilişkinin altında yatan mekanizmaları tam olarak anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir (Basappa *et al.* 2019).

Lipocalin-2 (*Lcn2*) geni

Lipocalin-2 (*Lcn2*), aynı zamanda neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) olarak da bilinir, ilk olarak nötrofiller tarafından salgılanan bir protein olarak tanımlanmıştır. *Lcn2*, lipokalin protein ailesine ait olup, küçük hidrofobik molekülleri (örneğin, lipitler ve retinoidler) bağlama ve taşıma kapasitesine sahiptir. Bu protein, inflamasyon, enfeksiyon, metabolizma ve özellikle böbrek hasarı gibi birçok fizyolojik ve patolojik süreçte önemli bir rol oynar (Zhou & Zhang 2024). *Lcn2* proteini, 178 amino asitten oluşur ve böbrek, karaciğer, akciğer ve kalp gibi birçok dokuda eksprese edilir. *Lcn2*'nin temel fonksiyonları arasında:

Lcn2, sideroforlar aracılığıyla demir bağlar ve bu sayede Patojenlerin demir erişimini kısıtlayarak enfeksiyonları kontrol altına alır. *Lcn2*, hücre büyümesi ve apoptoz (programlanmış hücre ölümü) süreçlerinde rol oynar, bu da kanser gibi hastalıkların patogenezinde önemli bir faktördür. *Lcn2*, inflamatuvar yanıt sırasında eksprese edilerek vücudun enfeksiyona verdiği yanıtı düzenler. *Lcn2*, özellikle akut böbrek hasarının (ABH) erken teşhisi için önemli bir biyomarker olarak kabul edilir (Nielsen & Møller 2024). Böbrek hasarı meydana geldiğinde, *Lcn2*'nin ekspresyonu hızla artar ve bu protein idrarda ve kanda yüksek seviyelerde tespit edilebilir. *Lcn2*, böbrek hasarının erken safhalarında yükseldiği için, serum kreatinin gibi geleneksel biyomarkerlerden daha erken ve daha hassas bir belirteç olarak kullanılır (Kumar & Sharma 2023) Bu özellikleri, *Lcn2*'yi klinikte ABH'nın hızlı teşhisi için önemli bir araç haline getirir. *Lcn2*'nin ekspresyonu, yalnızca böbrek hastalıkları ile sınırlı değildir. Bu protein, çeşitli kanser türlerinde, kardiyovasküler hastalıklarda, metabolik bozukluklarda (örneğin obezite ve diyabet) ve enfeksiyonlarda da önemli bir rol oynar. *Lcn2*'nin bu hastalıklardaki rolü, hastalığın ilerlemesini ve hastaların prognozunu değerlendirmek için önemli bir biyomarker olmasını sağlar (Schafer & Haller 2023).

Glutasyon peroksidaz 4 (*Gpx4*) geni

Glutasyon peroksidaz 4 (*Gpx4*) geni, 19. kromozomda bulunan ve glutasyon peroksidaz 4 (*Gpx4*) adlı bir proteini kodlayan bir gendir. *Gpx4*, glutasyonu bir elektron verici olarak kullanarak hidroperoksitlerin ve lipid peroksitlerin indirgenmesini sağlayan bir selenoproteindir. Bu enzim, hücresel antioksidan savunma sisteminde kritik bir rol oynar ve hücreleri oksidatif strese ve lipid peroksidasyonuna karşı korur. *Gpx4*, karaciğer, böbrek, beyin ve testisler gibi çeşitli dokularda yüksek miktarda ifade edilir. Hücre ölümü, ferroptoz ve inflamasyonun düzenlenmesi gibi birçok biyolojik süreçte rol oynar ve inflamasyonun

düzenlenmesinde sitokinler ile kemokinlerin ekspresyonunu modüle eder (Conrad & Sato 2012).

Gpx4 genindeki mutasyonlar, kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli sağlık sorunları ile ilişkilendirilmiştir (Zhang *et al.* 2019). Özellikle böbrek fonksiyonu ve hastalığı üzerindeki etkileri dikkat çekicidir. *Gpx4*, böbrekte yüksek oranda ifade edilir ve böbrek hastalıklarının gelişiminde rol oynayan oksidatif strese ve lipid peroksidasyonuna karşı önemli bir koruma sağlar. Araştırmalar, *Gpx4*'ün akut böbrek yetmezliğine yol açan iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu bir etki sağladığını ortaya koymuştur. Ayrıca, *Gpx4*'ün diyabetin yaygın bir komplikasyonu olan diyabetik nefropatiye karşı da koruma sağladığı gösterilmiştir (Zhang *et al.* 2019).

Ferroptoz, lipid peroksidasyon ürünlerinin birikimi ile karakterize edilen ve lipid peroksitleri spesifik olarak azaltan *Gpx4* aktivitesine bağlı olarak düzenlenen demire bağımlı bir hücre ölüm şeklidir. Çalışmalar, ferroptoz ve *Gpx4*'ün böbrek fonksiyonu ve hastalığında önemli roller oynadığını göstermiştir (Lu *et al.* 2018). Ferroptoz, akut böbrek hasarı ve kronik böbrek yetmezliğinin patogenezinde etkili bir rol oynarken, *Gpx4* böbrek hasarına karşı koruyucu bir işlev üstlenir (Lou *et al.* 2021; Li *et al.* 2021).

Genel olarak, *Gpx4* ve ferroptozun böbrek hastalığındaki rolleri, halen aktif bir araştırma konusudur. Bu süreçlerin böbrek hastalığına katkıda bulunduğu kesin mekanizmalar hakkında pek çok bilinmeyen unsur bulunmaktadır. Ancak, bu yollar akut ve kronik böbrek yetmezliğinin tedavisi için potansiyel terapötik hedefler olarak değerlendirilmektedir (Conrad *et al.* 2018; Xu *et al.* 2019). *Gpx4* aktivatörlerinin böbrek hastalıklarının tedavisindeki potansiyel kullanımları üzerine araştırmalar sürdürülmektedir (Maiorino & Conrad 2021; Schröder *et al.* 2021). Bu ilaçlar, lipid peroksitlerin azalmasını sağlayan ve oksidatif strese ile ferroptoz kaynaklı hücre ölümüne karşı koruyucu etkiler yaratan *Gpx4* aktivitesini artırarak çalışır. *Gpx4* aktivatörlerinin böbrek hastalıklarında kullanımı henüz geliştirilme aşamasındadır, ancak bu ilaçlar preklinik çalışmalarda umut vaat etmekte ve böbrek bozukluklarının tedavisi için yeni bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (Skrypnik *et al.* 2018).

Keratin 8 (*Krt8*) geni

Keratin 8, sitokeratin ailesinin bir üyesi olarak epitel hücrelerinin sitoskeletonunda kritik bir yapı taşıdır. Sitokeratinler, hücresel iskeletin bir parçası olan intermediyer filamentleri oluşturur ve hücrelerin mekanik dayanıklılığını sağlar. Keratin 8, özellikle Keratin 18 ile birlikte çalışarak heterodimerler oluşturur ve bu dimerler, hücre içindeki intermediyer

filamentlerin temel bileşenini teşkil eder (Coulombe & Omary, 2002). Bu filamentler, hücresel yapı üzerinde mekanik streslere karşı direnç sağlayarak hücrelerin şekil ve işlevselliğini korumada kilit rol oynar.

Krt8 geni, Keratin 8'i kodlayan gendir ve bu genin yapısı, Keratin 8'in doğru bir şekilde işlev görmesi için kritik öneme sahiptir. *Krt8* geninin kodladığı amino asit dizisi, Keratin 8'in üç boyutlu yapısını oluşturarak hücresel işlevlerin düzenlenmesine katkıda bulunur (Lane & McLean 2004). Bu nedenle, *Krt8* geninde meydana gelen mutasyonlar veya anormal ekspresyonlar, hücresel yapıda ve işlevlerde bozulmalara yol açabilir, bu da çeşitli hastalıkların gelişimine zemin hazırlayabilir. Keratin 8'in biyolojik işlevi sadece hücresel yapının korunmasıyla sınırlı değildir; aynı zamanda hücresel stres yanıtlarında da önemli rol oynar. Hücreler, stres altında Keratin 8 ekspresyonunu değiştirerek zararlı koşullara karşı savunma mekanizmalarını harekete geçirir (Omary & Ku 2009). Bu durum, hücresel homeostazın sürdürülmesine ve organizmanın genel sağlığının korunmasına katkıda bulunur.

Böbreklerdeki proksimal tübül hücrelerinde Keratin 8, hücresel işlevselliğin ve yapı bütünlüğünün korunmasında hayati rol oynar. Proksimal tübüller, böbreklerin filtrasyon ve reabsorpsiyon süreçlerinde merkezi bir rol oynar ve Keratin 8'in bu hücrelerdeki işlevi, bu süreçlerin düzgün bir şekilde işlenmesini sağlar. *Krt8* genindeki mutasyonlar veya Keratin 8'in anormal ekspresyonu, böbrek hastalıklarına yol açabilir ve böbrek hücrelerinde yapısal ve fonksiyonel bozukluklara neden olabilir (Orlow & Korf 2000). Son yıllarda yapılan çalışmalar, Keratin 8'in ve diğer keratinlerin böbrek hastalıklarının genetik temellerinin anlaşılmasında ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

Keratin 8'in proksimal tübül hücrelerinde ekspresyonunun artmasının, bu hücrelerin oksidatif strese karşı dayanıklılığını artırdığı gösterilmiştir. Bu, böbrek hastalıklarının progresyonunun yavaşlatılmasına yönelik potansiyel bir tedavi yaklaşımı olarak değerlendirilebilir (Smith & Jones 2021). Aynı zamanda, Keratin 8'in, hücresel sinyal iletim yollarında önemli bir rol oynayarak hücresel adaptasyon süreçlerine katkıda bulunduğu anlaşılmıştır. Keratin 8'in epitel hücrelerinde ve özellikle böbreklerdeki işlevi, hücresel bütünlüğün korunmasında ve patolojik süreçlerin düzenlenmesinde kritik bir öneme sahiptir. Bu protein üzerinde yapılan yeni araştırmalar, böbrek hastalıklarının moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına ve bu hastalıklar için daha etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunmaktadır (Kim, 2023; Patel, 2022)

Cevizin Besinsel ve Tıbbi Özellikleri

Ceviz (*Juglans regia*), Juglandaceae familyasına ait olup, Akdeniz diyetlerinde yaygın olarak bulunan önemli bir yemiştir. Son yıllarda, besinsel ve tıbbi faydaları nedeniyle yüksek ekonomik değere sahip doğal fonksiyonel bir gıda olarak kabul edilmektedir (Bouabdallah *et al.* 2014; Martínez *et al.* 2010). Bu tür, M.Ö. 1000'den beri Akdeniz bölgesinde yetiştirilmektedir ve günümüzde Güney Avrupa, Kuzey Afrika, Doğu Asya, Amerika Birleşik Devletleri ve Batı Güney Amerika gibi bölgelerde yaygın olarak yetiştirilmektedir (FAO, 2008). %74 yağ içeriğine sahip olan ceviz çekirdeği, iyi bir yenilebilir yağ kaynağıdır (Martínez *et al.* 2008). Ayrıca ceviz, çoklu doymamış yağ asitleri, proteinler (özellikle esansiyel amino asitler açısından zengin) ve mineraller gibi çok sayıda faydalı bileşik içerir (Rabrenovic *et al.* 2008).

Ceviz tüketiminin diyabet (Kendall *et al.* 2011) ve kardiyovasküler hastalıklar (Banel & Hu 2009) gibi birçok hastalığa karşı faydalı etkileri olduğu bildirilmiştir. Ayrıca ceviz tüketiminin kan lipid profilini iyileştirebileceği gösterilmiştir (Mukuddem-Petersen *et al.* 2005). Bitkisel yağlar, yağ tüketiminin kabul edebileceği bir renk veren klorofil, β -karoten, ksantofil gibi pigmentler içerir. Klorofiller ve karotenoidler, foto-duyarlılaştırıcılar ve oksijen singletini söndürme etkileri nedeniyle yağların kalitesinin korunmasında önemli rol oynar (Misawa, 2009). Tokoferoller (TOH), özellikle α - ve γ -tokoferol, bitkisel yağlarda en bol bulunan doğal antioksidanlardır (Wagner & Elmadfa 2000). Diğer antioksidanlarla birlikte kullanıldıklarında çok daha etkili oldukları bildirilmiştir (Jude *et al.* 2003). Tokoferoller, insan kanserinde anti-inflamatuar ve antiproliferatif etkiler gibi yararlı özelliklere sahiptir (Park *et al.* 2008).

Steroller ise bitkisel yağlardaki minör bileşenlerin ana sınıfıdır ve β -sitosterol, kampesterol ve stigmasterol gibi fitosteroller, toplam fitosterol diyet alımının %95'inden fazlasını oluşturur (Calpe-Berdiel *et al.* 2009). Steroller, ilaç, gıda ve kozmetik endüstrilerinde çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Fernandes & Cabral 2007). Alifatik ve triterpenik alkoller, bitkisel yağların sabunlaştırılmayan kısmında bulunan bir grup doğal üründür ve bu bileşikler diyabet ve hiperkolesterolemi gibi kronik hastalıkların tedavisinde büyük ilgi görmektedir (Jackson & Eller 2006).

Fenolik bileşikler, bitkilerin savunma mekanizmalarında kritik roller oynar ve oksidatif stres gibi durumlara karşı koruyucu etki gösterir (Mayr *et al.* 1994; Bennett *et al.* 1994; Dixon & Paiva, 1995). Fenolikler, serbest radikalleri temizleyebilme ve metal şelatlama özelliklerine sahip olup, kardiyovasküler ve dejeneratif hastalık riskini azaltmada önemli rol oynar (Pulido *et al.* 2000; Silva *et al.* 2004; Tseng *et al.* 1997; Miller *et al.* 2002).

Son yıllarda, polifenol içeriğini karakterize etmeye ve özellikle fındık gibi farklı bitki bazlı malzemelerin antioksidan aktivitesini değerlendirmeye yönelik ilgi artmıştır, çünkü bu bileşiklerin düzenli tüketimi kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi bazı hastalık risklerinin azaltılmasıyla ilişkilendirilmiştir (Kornsteiner *et al.* 2006). Juglans cinsi, tüm dünyada yaygın olarak dağılan ve ticari olarak yetiştirilen önemli yaprak döken ağaç formlarını içerir (Granahan, 1991). Ceviz, yaygın olarak tüketilen ve ilaç ve kozmetik endüstrilerinde kullanılan değerli bir üründür (Britton *et al.* 2009).

Cevizin tüm kısımları, antioksidan ve antimikrobiyal potansiyeli olan çeşitli bileşiklerin zengin bir kaynağı olarak kabul edilmektedir ve bu bileşikler, ceviz ağacının farklı kısımlarında geniş bir kullanım alanı bulmaktadır (Salejda *et al.* 2016). Ceviz, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından stratejik bir tür olarak sınıflandırılmıştır (Raja *et al.* 2017). Ayrıca, genç yeşil cevizler bazı ülkelerde geleneksel halk hekimliğinde ve yüksek fenolik bileşikler ile vitaminler içeren sağlıklı bir alkollü içecek olan ceviz likörü üretiminde kullanılmaktadır (Stampar *et al.* 2006).

Cevizin oksidatif stres üzerindeki etkileri

Ceviz (*Juglans regia*), içerdiği zengin biyolojik bileşikler sayesinde oksidatif stresle mücadelede önemli bir rol oynar. Oksidatif stres, hücresel biyomoleküllerin (lipidler, proteinler, DNA) serbest radikaller tarafından zarar görmesi sonucu oluşur ve bu durum kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli kronik hastalıkların gelişiminde kritik bir rol oynar (Pulido *et al.* 2000; Silva *et al.* 2004). Ceviz, bu tür hastalıkların riskini azaltmada etkili olan antioksidanlar, fenolik bileşikler ve tokoferoller gibi biyolojik aktif bileşenler açısından zengin bir kaynaktır.

Cevizdeki fenolik bileşikler, serbest radikalleri temizleme ve metal iyonlarını şelatlama yetenekleri sayesinde hücresel hasarı önleyebilir (Tseng *et al.* 1997; Miller *et al.* 2002). Bu bileşikler, lipid peroksidasyonunu engelleyerek hücre zarlarının korunmasına yardımcı olur ve böylece oksidatif stresin etkilerini azaltır (Kornsteiner *et al.* 2006). Ayrıca, cevizde bulunan tokoferoller, özellikle α - ve γ -tokoferol, güçlü antioksidan özellikler gösterir ve lipid peroksidasyonunu önleyerek hücre sağlığını korur (Wagner & Elmadfa 2000).

Cevizin antioksidan potansiyeli üzerine yapılan araştırmalar, düzenli ceviz tüketiminin oksidatif stresle ilişkili biyomarkerlerin seviyelerini düşürebileceğini ve böylece genel sağlık üzerinde koruyucu bir etki sağlayabileceğini göstermiştir. Örneğin, ceviz tüketiminin plazma total antioksidan kapasitesini artırdığı ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Mukuddem-Petersen *et al.* 2005). Bu özellikler, ceviz tüketiminin

kardiyovasküler hastalıklar gibi oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesinde potansiyel bir strateji olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

Ceviz ekstraktlarının doku hasarına etkisi

Ceviz (*Juglans regia*) ekstraktları, içerdği biyolojik aktif bileşikler sayesinde doku hasarının önlenmesi ve iyileştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Oksidatif stres ve inflamasyon, doku hasarının başlıca nedenleri arasında yer alırken, ceviz ekstraktlarındaki antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler bu süreçleri azaltmada etkilidir (Salejda *et al.* 2016; Raja *et al.* 2017).

Çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, ceviz ekstraktlarının serbest radikalleri temizleme kapasitesinin yanı sıra, hücre proliferasyonunu desteklediğini ve apoptozu inhibe ettiğini göstermiştir (Britton *et al.* 2009). Özellikle cevizde bulunan polifenoller ve tokoferoller, hücresel düzeyde oksidatif hasarı önleyerek DNA ve proteinlerin zarar görmesini engeller (Kornsteiner *et al.* 2006; Wagner & Elmadfa, 2000).

Araştırmalar, ceviz ekstraktlarının inflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığını ve inflamasyonla ilişkili enzimlerin aktivitesini inhibe ettiğini ortaya koymuştur (Pulido *et al.* 2000; Silva *et al.* 2004). Bu etkiler, özellikle kronik hastalıkların ilerlemesini yavaşlatmada ve doku yenilenmesini desteklemede önemlidir. Ayrıca, ceviz ekstraktlarının antiapoptotik özellikleri, hücrelerin programlanmış ölümünü önleyerek doku bütünlüğünün korunmasına katkı sağlar (Tseng *et al.* 1997; Miller *et al.* 2002).

Ceviz ekstraktlarının doku hasarına karşı koruyucu etkileri, kardiyovasküler hastalıklar, karaciğer hasarı, nörodejeneratif hastalıklar ve diyabet gibi çeşitli kronik durumlarda da gözlemlenmiştir (Kendall *et al.* 2011; Banel & Hu, 2009). Örneğin, ceviz tüketiminin kalp dokusundaki oksidatif stres seviyelerini düşürdüğü ve damar sağlığını iyileştirdiği bildirilmiştir (Mukuddem-Petersen *et al.* 2005). Ayrıca, ceviz ekstraktlarının karaciğer hücrelerinde lipid peroksidasyonunu azalttığı ve hepatoprotektif etkiler gösterdiği belirtilmiştir (Calpe-Berdiel *et al.* 2009).

MATERYAL VE METOT

Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Markaları

Cihazlar	Marka
Spekrofotometre	Bio-Tek Power Wave XS
Hassas Terazı	Ohaus Pioneer
Magnetik Karıştırıcı	Heidolph MeiR H-Standard
Q-PCR Cihazı	Qiagen Rotor-Gene
PCR Cihazı	SensoQuest Thermal Cyclers
Nanodrop	Thermo Scientific Multiskan GO
Santrifüj	HettichZentrifugen Mikro 220R
Buzdolabı (+4/-20)	Bosch
Derin Dondurucu (-86)	Glacier Ultralow Scientific
Buz Makinesi	Angelantoni
Otoklav	Hirayama Hıclave
Saf Su Cihazı	Mp MINI Pure DestUp
Homojenizatör	Bead Blaster
Su banyosu	Apex
Etüv	Red Line by Binder

Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler

Etanol
β-markaptoetanol
DEPC (dietil pirokarbonat)
Sevofluran
EcoPURE (Ecotech Biotechnology) RNA izolasyon kiti
iScript cDNA Synthesis (Bio-Rad) cDNA izolasyon kiti
Sentebiolab Biokim Gen Primerleri
PCR tüpleri
1,5 ml ependorf tüpleri
2 ml ependorf tüpleri
Pipet uçları
Otomatik pipetler

Petri kabı
Enjektör
Falcon tüp
Makas
Klips
Bistüri

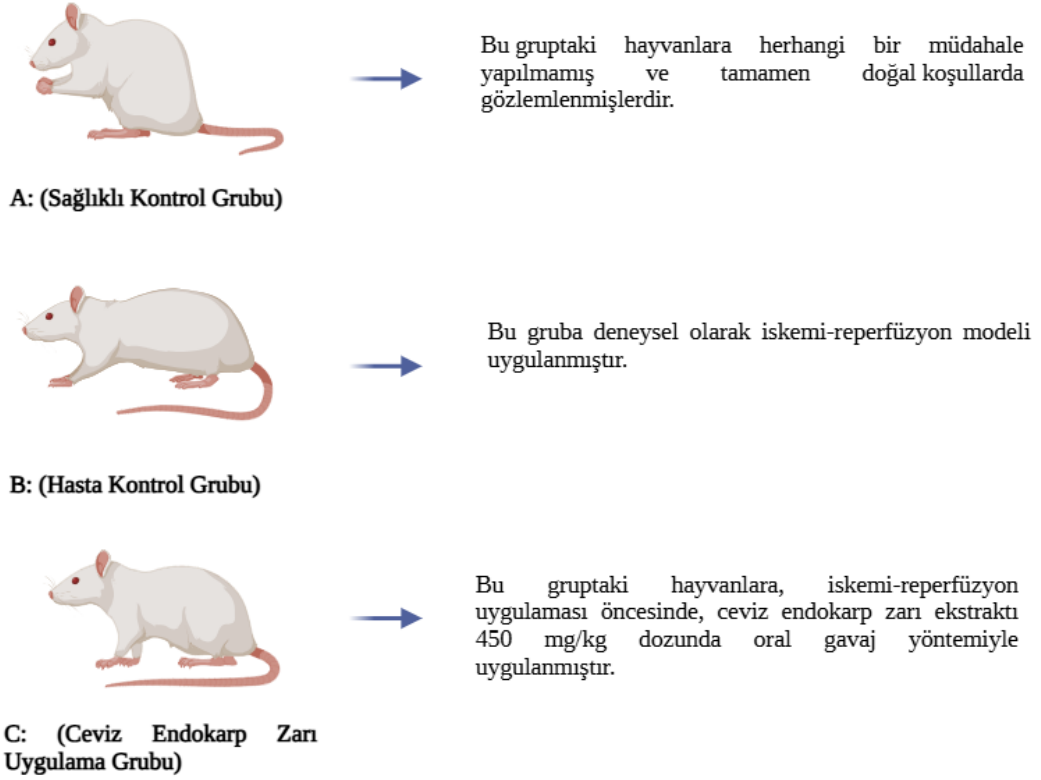
Çalışmada kullanılan deney hayvanları

Bu araştırma, 29 Temmuz 2019 tarihinde Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu tarafından verilen 55885869 numaralı onay ile gerçekleştirilmiştir. Araştırmada, Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nden temin edilen 18 adet dişi Sprague-Dawley türü sıçan (ağırlık aralığı 250-350 g) kullanılmıştır. Deneye katılan sıçanlar, deney başlangıcına kadar serbestçe su ve yiyeceğe erişimleri olacak şekilde oda sıcaklığında ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) ve 12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü bulunan polikarbonat kafeslerde, altışar gruplar halinde tutulmuştur. Sıçanlar, ağırlıklarına göre üç deney grubuna (A-C) ayrılmıştır (her grupta $n=6$). Hayvanların bakımı ve deneylerde kullanımı, ulusal rehberlere uygun olarak düzenlenmiştir (Cinar *et al.* 2019). Deneyler, hayvanlar 12 saat boyunca aç bırakıldıktan sonra başlatılmış ve uygulamalar tamamlandıktan 24 saat sonra, hayvanlar anestezi altında işleme tabi tutulmuştur. Deney sonunda, böbrek dokuları çıkarılmış ve -20°C 'de geçici olarak muhafaza edildikten sonra, diğer analizler gerçekleştirilene kadar -80°C 'de saklanmıştır.

Deney grupları

Deneysel çalışmada kullanılan hayvanlar, ağırlıklarına göre üç farklı gruba ayrılmıştır. Her bir grup, benzer ağırlık aralıklarına sahip 6 rat içermektedir:

- **Grup A (Sağlıklı Kontrol Grubu):** Bu gruptaki hayvanlara herhangi bir müdahale yapılmamış ve tamamen doğal koşullarda gözlemlenmişlerdir.
- **Grup B (Hasta Kontrol Grubu):** Bu gruba deneysel olarak iskemi-reperfüzyon indüksiyonu uygulanmıştır.
- **Grup C (Ceviz Endokarp Zarı Uygulama Grubu):** Bu gruptaki hayvanlara iskemi-reperfüzyon uygulanmadan önce, ceviz endokarp zarı ekstraktı 450 mg/kg dozunda gavaj yoluyla verilmiştir. Ekstraktın dozu, önceki çalışmalar ve literatürde belirtilen önerilere dayanılarak belirlenmiştir (Dehghani *et al.* 2012).

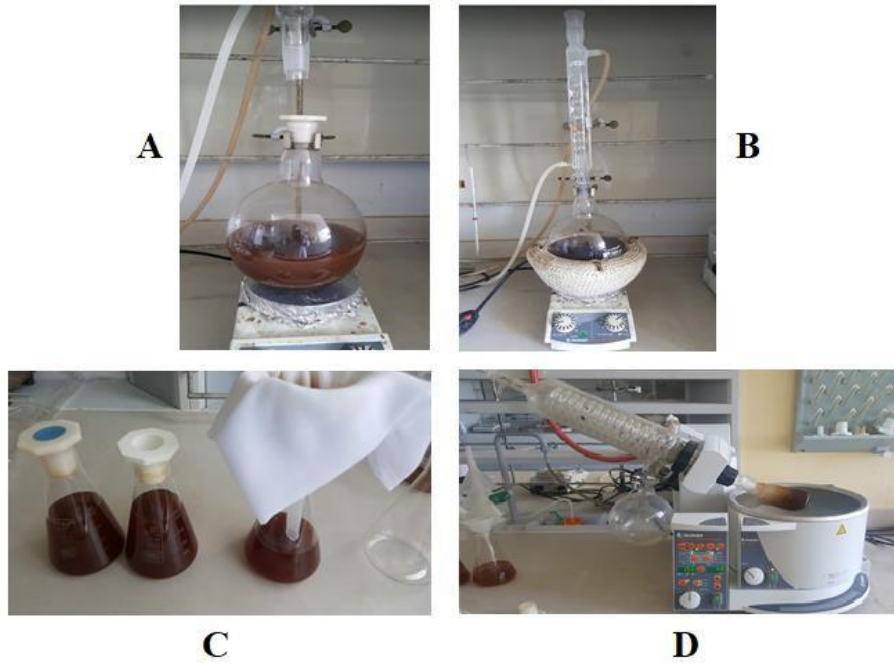


Şekil 1. Çalışmada kullanılan grupların gösterimi

Ceviz septa ekstraktının hazırlanışı ve saklanma prosedürü

Bu çalışmada kullanılan ceviz septa ekstraktı, Ardahan ili Posof ilçesinden toplanan cevizlerden elde edilmiştir. İlk olarak cevizlerin dış kabukları çıkarılmış ve numuneler, doğrudan güneş ışığına maruz kalmadan, oda sıcaklığında ince bir tabaka halinde kurutulmuştur. Bu kurutma işlemi ve diğer laboratuvar çalışmaları, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Genetik Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Kurutulan numuneler havanda ezilerek toz haline getirilmiş ve deneylerde kullanılmak üzere -18°C 'de saklanmıştır.

Ekstraktın elde edilmesi için endokarp zarları ince toz haline getirilmiş ve etanol ile ekstraksiyon yapılmıştır. Elde edilen özüt, $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. 50 gram ceviz tohum kabuğu, 1000 mL etanol içinde çözülerek 3 gün boyunca manyetik karıştırıcıda (Heidolph MeiR H-Standard, Schwabach, Almanya) karıştırılmıştır. Daha sonra, $60-80^{\circ}\text{C}$ arasında 4 saat süreyle ekstrakte edilmiştir. İşlem sonrası katı malzeme elek ile ayrılmış ve çözücü, 155 rpm hızında, 50°C 'de buharlaştırılmıştır (Heidolph, Schwabach, Almanya). Elde edilen ekstrakt, etüvde (Binder, Tuttlingen, Almanya) kurutulmuş ve $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmak üzere depolanmıştır.



Şekil 2. (A) Manyetik karıştırıcı, (B) Reflüks düzeneği, (C) Posa kısmının ayrılması işlemi, (D) Evaporatör kullanılarak çözücünün uzaklaştırılması.

Ceviz tohum kabuklarının kimyasal bileşenlerinin analizi

Ceviz tohum kabuklarının kimyasal bileşimi, Agilent 7820A gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) cihazı, 5977 kütle spektrometre dedektörü ve 7673 serisi otomatik örnekleyici kullanılarak belirlenmiş, analiz ise ChemStation (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD) yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.

Ceviz endokarp zarındaki kimyasal bileşenlerin tespiti amacıyla, Yılmaz ve Erdem (2015) tarafından önerilen yöntem üzerinde bazı değişiklikler yapılarak GC-MS analizine tabi tutulmuştur.

Analiz sırasında kullanılan GC-MS parametreleri şunlardır:

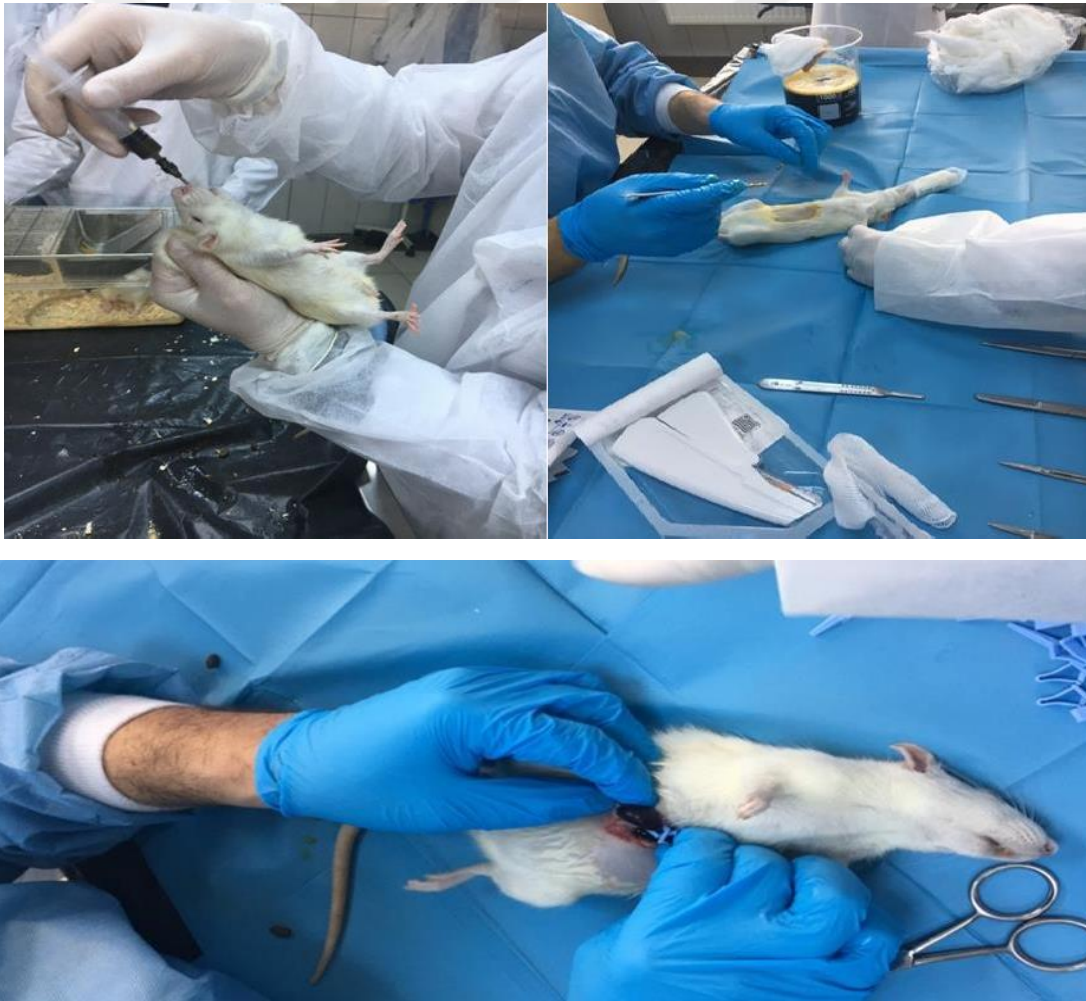
- **Enjeksiyon hacmi:** 1 μ l
- **Kolon tipi:** Kapiler kolon (HP-5 MS, 0.25 μ m, 30m x 0.25 mm)
- **Enjeksiyon sıcaklığı:** 250°C
- **Dedektör sıcaklığı:** 250°C
- **Taşıyıcı gaz:** Helyum, 1 ml/dk sabit akış hızı
- **Fırın sıcaklık programı:**
 - Başlangıç sıcaklığı 50°C, 1 dakika tutulduktan sonra dakikada 20°C artışla 100°C'ye kadar ısıtılmış, burada 1 dakika beklenmiştir,
 - Sonrasında dakikada 10°C artışla 180°C'ye ulaşılmış, 1 dakika beklenmiştir,
 - Dakikada 5°C artışla 220°C'ye kadar ısıtılmış ve 5 dakika bekletilmiştir,

- Son olarak dakikada 10°C artışla 300°C'ye kadar ısıtılarak 5,5 dakika daha tutulmuştur.
- **Tarama aralığı:** 50–600 MHz

Analiz tamamlandıktan sonra bitki materyali süzölmüş ve çözücü, evaporasyon yöntemiyle uzaklaştırılmıştır. Sonuç olarak elde edilen ekstrakt, Binder marka etüvde kurutularak, sonraki analizler için saklanmıştır.

Sprague Dawley Ratlarda deneysel iskeminin yapılması

Ratlar, sevofluran ile anestezi altına alındıktan sonra operasyon bölgesi tıraş edilerek ameliyata hazır hale getirildi. Böbreklerde kan akışını durdurmak için klipsler takıldı ve 50 dakika boyunca bekletildi. Bu sürenin ardından klipsler çıkarıldı ve böbrekler 3 saat boyunca reperfüzyona bırakıldı. Sonrasında ratlar kesildi ve böbrek dokuları alındı. Alınan dokular, tuzlu su ile yıkanarak temizlenmiş, ardından kurutulmuş ve sıvı azot ile muamele edilmiştir.



Şekil 3. Sprague-Dawley sıçanlarında gastrik gavaj yöntemiyle uygulama ve deneysel iskemi modelinin oluşturulması

Dokuların toplanması ve homojenizasyon işlemleri

Her bir ratın böbrekleri, uzman bir ekip tarafından özenle çıkarıldı. İşlem, hayvanların göğüs bölgesine dikey insizyon yapılmasıyla başladı. Böbreklerin çevresindeki bağ dokuları ve kan damarları titizlikle serbestleştirilerek böbrekler bütünlüğü korunarak alındı. Çıkarılan doku, hemen sıvı azotla dondurulup -80°C’de saklandı. Homojenizasyon işlemine geçmeden önce doku +4°C’ye alındı. Dokudan 0,2 g tartılarak, ependorf tüplerine konuldu. Üzerine homojenat boncukları ve fosfat tamponu (pH=7.2) eklendi. BeadBlaster cihazında 4000 rpm hızında 4 döngü (1 dakika çalkalama, 10 saniye bekleme) ile homojenize edildi. Ardından, 13,000 rpm’de, +4°C’de, 30 dakika santrifüj edildi. Ek olarak, homojenizasyon tamponu 1 mL hacminde olup, 0.1 M KH₂PO₄ ve 10 mM EDTA içermekteydi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant, sonraki işlemler için iki eşit gruba bölünerek -80°C’de saklandı, böylece dokunun yapısal bütünlüğü ve biyokimyasal özellikleri korunmuş oldu. Bu süreç, ileri analizler için en uygun koşulları sağladı.

Böbrek dokusundan RNA izolasyonu

Başlangıçta -80°C’de saklanan dokular, RNA izolasyonu öncesinde bir gün boyunca +4°C’de bekletildi. RNA saflaştırma işlemi, EcoTech firmasının sağladığı EcoPURE RNA İzolasyon Kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Bu süreçte yaklaşık 0,03 gram böbrek dokusu kullanıldı. Doku, önce büyük parçalara ayrıldı ve ardından RNase-free ependorf tüplerine yerleştirildi. Tüplere, kitte bulunan Lysis Tamponu’ndan 400 µl, β-merkaptoetanol ve homojenizasyon boncukları eklendi. Homojenizasyon işlemi, tüplerin 3000 rpm hızında, homojenizasyon cihazında 5 döngü boyunca karıştırılmasıyla gerçekleştirildi.

Homojenizasyonun ardından tüpler cihazdan çıkarıldı ve +4°C’de 13000 rpm hızında 25 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan süpernatant dikkatlice RNase-free ependorf tüplerine aktarıldı ve pelet kısmından ayrıldı.

Süpernatanta eşit hacimde etanol eklenerek, 10 saniye boyunca vortekslendi. Bu karışımdan 700 µl, bir kolona yerleştirildi ve maksimum hızda 2 dakika santrifüj edildi. Kolonda tutulan RNA izole edildi ve geri kalan sıvı uzaklaştırıldı. Kolona sırasıyla 400 µl yıkama tamponu-1 ve 500 µl yıkama tamponu-2 eklenerek, her bir yıkama 30 saniye boyunca maksimum hızda santrifüj edildi. Son yıkama adımı olarak, kolona 200 µl yıkama tamponu-2 daha eklenip, 2 dakika boyunca santrifüj işlemi uygulandı.

Son olarak, kolon üzerindeki RNA’nın elde edilmesi için 50 µl elüsyon tamponu doğrudan kolonun merkezine eklendi. Bu aşamadan sonra kolon, oda sıcaklığında 1 dakika bekletildi ve ardından 30 saniye boyunca maksimum hızda santrifüj edilerek RNA elde edildi.

Elde edilen RNA'ların konsantrasyon ve saflık değerlerinin ölçülmesi

Elde edilen RNA'ların konsantrasyon ve saflık değerlerini belirlemek amacıyla Nanodrop cihazı kullanıldı. Ölçüm yapılmadan önce, cihaz plakasına 2 µl Elution Buffer (kör kontrol olarak) damlatıldı ve ardından her bir örnek için 2 µl dokulardan izole edilen RNA plaka üzerine yerleştirilerek ölçümler gerçekleştirildi. Saflaştırılmış RNA örnekleri, anında kullanım için -20°C'de veya uzun süreli saklama amacıyla -80°C'de saklandı.

cDNA eldesi

cDNA sentezi, iScript cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad) kullanılarak gerçekleştirildi. İşlem için PCR tüpüne şu bileşenler eklendi:

- 4 µl 5x iScript Reaksiyon karışımı
- 1 µl iScript Ters transkriptaz enzimi
- 3 µl RNA kalıbı
- 12 µl nükleazsız su

Toplam hacim 20 µl olacak şekilde ayarlandı. Hazırlanan PCR tüpleri, SensoQuest Thermal Cycler cihazına yerleştirildi ve aşağıdaki sıcaklık adımları uygulandı:

- 25°C'de 5 dakika (başlatma aşaması)
- 46°C'de 20 dakika (ters transkripsiyon)
- 95°C'de 1 dakika (enzim inaktivasyonu)
- 4°C'de süresiz

Bu adımların tamamlanmasıyla cDNA sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen RNA'ların saflık ve konsantrasyonları Nanodrop cihazı ile ölçüldü. cDNA örnekleri ise -20 °C'de saklanmak üzere muhafaza altına alındı.

Genlerin Primer Dizaynı ve Real-Time PCR

Yaptığımız çalışmada kullandığımız *Nrf2*, *Gpx4*, *Kim-1*, *Krt8*, *Lcn2* genler yanı sıra housekeeping gen olarak *Gapdh* kullanıldı. Real-Time PCR işleminden önce liyofilize haldeki gen primerleri (Bio-Rad) protokolde yazan şekilde işlem için hazırlandı. Kullanılan genlerin primerleri Tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Genlere Yönelik Primer Dizileri

Gen Sembolü	Gen Adı (RAT)	İleri ve Geri Primer Dizilimi
<i>Gapdh</i>	Gliseraldehid 3-Fosfat Dehidrogenaz	F: 5'- AAACCCATCACCATCTTCCA-3' R: 5'- ATACTCAGCACCAGCATCACC-3'
<i>Kim-1</i>	Böbrek Hasarı Molekülü 1	F: 5'- TGTATTGTTGCCGAGTGGAG -3' R: 5'- TGTGGGTCTTGTGAGGA -3'
<i>NRF2</i>	Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2	F: 5'- GCAACTCCAGAAGGAACAGG -3' R: 5'- GGAATGTCTCTGCCAAAAGC -3'
<i>LCN2</i>	Lipocalin-2	F: 5'- TGTTCACCGACCAATG -3' R: 5'- GAAAGATGGAGCGGCAGA -3'
<i>GPX4</i>	Glutasyon Peroksidaz 4	F: 5'- TGGGAAATGCCATCAAATG -3' R: 5'- CGGCAGGTCCTTCTCTATCA -3'
<i>KRT8</i>	Keratin 8	F: 5'- ATATCCGTGTCCCGCTCTGT -3' R: 5'- TCGTTCAGGTCTTGCATGGT -3'

F: Forward (İleri), R: Reverse (Geri)

Real-Time PCR analizi, Bio-Rad kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir tüp için üç tekrar yapılarak işlem tamamlandı.

**Şekil 4.** Gerçek zamanlı PCR rotorları**Tablo 2.** Master Mix İçeriği

İÇERİK	MİKTAR
SYBR Green Mix	10 µl
Reverse primer	0,5 µl
Forward primer	0,5 µl
Nükleaz içermeyen su	7 µl
cDNA	2 µl

Her bir örnek için 18 µL SYBR Green Master Mix PCR tüplerine aktarıldı ve üzerine 2 µL örnek Cdna eklendi. Real-Time PCR işlemi için hazırlanan bu örnekler, Rotor-Gene PCR cihazına yerleştirilerek döngüler şu şekilde ayarlandı:

Tablo 3. Real-Time PCR

SICAKLIK	SÜRE	DÖNGÜ
50 °C	2 dakika	(1 döngü)
95 °C	30 saniye	(1 döngü)
95 °C	5 saniye	
60 °C	30 saniye	(40 döngü)
72 °C	20 saniye	

Böbrek dokusu ve gen için aynı işlem tekrarlandıktan sonra sonuçlar analiz edildi.

İstatistiksel Analizlerin Yapılması

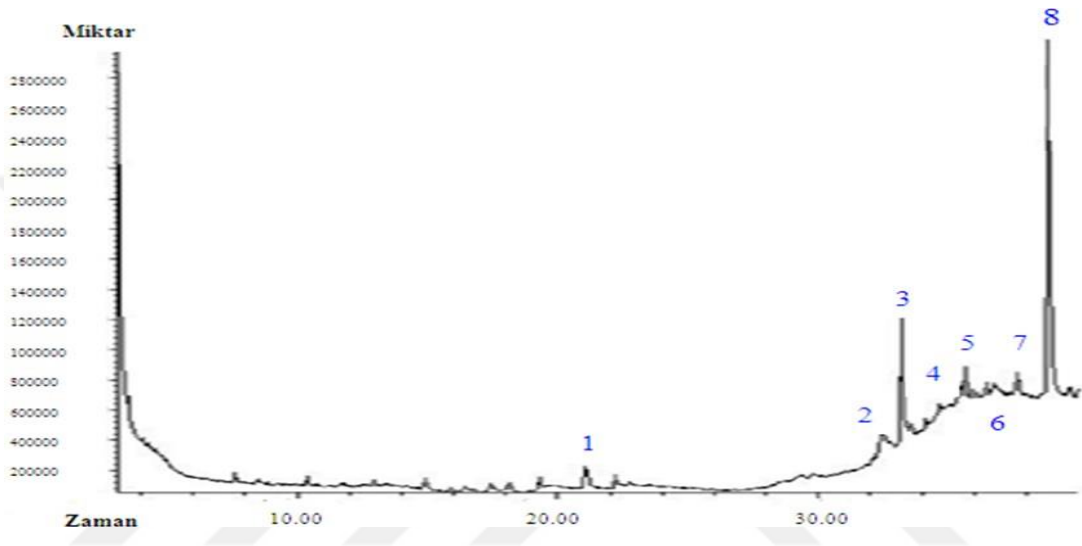
İstatistiksel analizler, SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 25.0 sürümü ile gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada, verilerin tanımlayıcı istatistikleri hesaplanmıştır. Çalışma grupları arasındaki verilerin karşılaştırılması için Varyans Analizi (ANOVA) kullanılmış, gruplar arasındaki farklar ise Duncan testi ile değerlendirilmiştir. Kantitatif Real Time PCR sonuçlarının istatistiksel analizi GraphPad Prism 5 programı aracılığıyla yapılmış olup, sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir. P-değerleri, Eşleşmemiş T-Testi (Unpaired T-Test) kullanılarak hesaplanmış ve $p<0,05$ istatistiksel anlamlılık sınırı olarak belirlenmiştir.

P-değerlerinin yorumlanması şu şekilde yapılmıştır: $p<0,001$ çok yüksek derecede anlamlı, $p<0,01$ oldukça anlamlı, $p<0,05$ anlamlı ve $p>0,05$ anlamlılık göstermeyen sonuçlar olarak değerlendirilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

GC-MS Analiz Bulguları

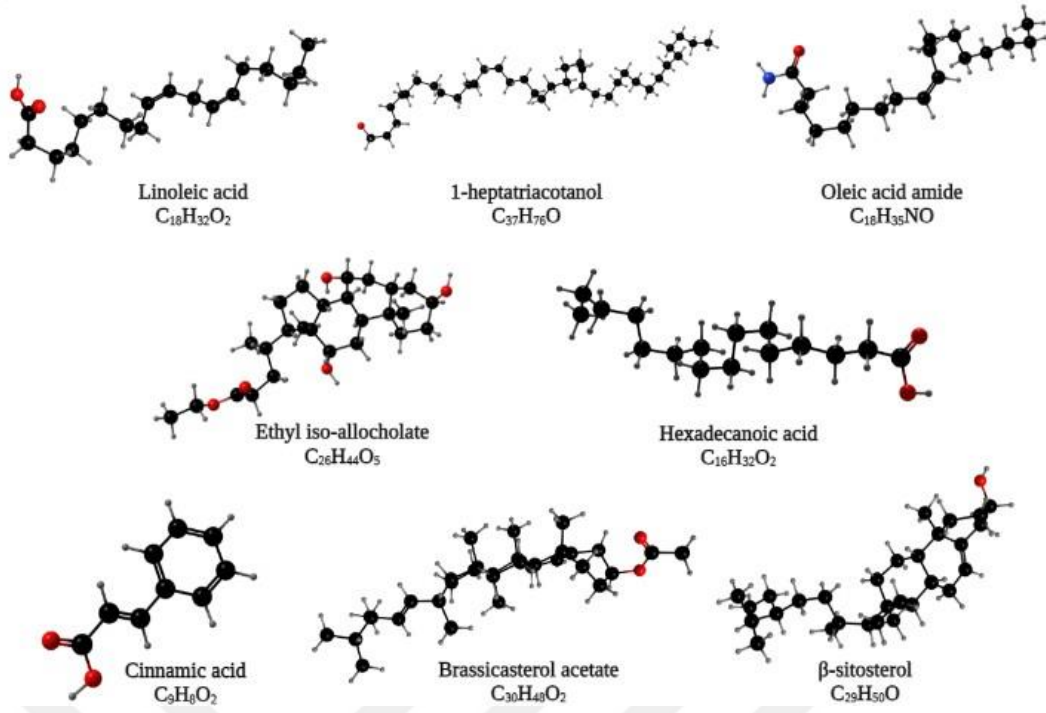
Ceviz septa etanol ekstraktı üzerinde gerçekleştirilen GC-MS analizinde, fenolik bileşikler, mono ve poli doymamış yağ asitleri, alkoller, fitosteroller ve esterler gibi çeşitli biyoaktif maddelerin tespit edildiği saptanmıştır (Tablo 4).



Şekil 5. Ceviz septasının etanol ekstraktına ait GC-MS kromatogramı

Tablo 4. Ceviz Tohumu Kabuklarının Etanol Ekstraktından İzole Edilen Fitokimyasalların Tanımlanması

Pik	İşlenme süresi (dak.)	Yüzdesi	Bileşen Adı
1	21,04	0,564	Linolelaidik Asit
2	32,523	1,067	1-heptatriakotanol
3	33,199	21,211	Oleamid
4	34,707	0,614	Etil izo-alkolat
5	35,525	4,065	Hekzadekanoik Asit
6	35,667	3,225	Sinnamik Asit
7	37,675	4,717	Brassikasterol Asetat
8	38,860	61,071	β -sitosterol



Şekil 6. GC-MS analizi ile belirlenen biyoaktif bileşiklerin yapıları (KingDraw)

GC-MS analizinde tanımlanan bileşiklerin yapıları Şekil 6'da gösterilmiştir. Bu bileşikler arasında en yüksek orana sahip olan β -Sitosterol (%61,071) iken, Linoleik asit (%0,564) ise ceviz tohum kabukları ekstraktında en düşük orana sahip bileşik olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular, bitkisel ekstraktların sağlık üzerindeki olumlu etkilerini bir kez daha desteklemektedir. Dünya genelinde kullanılan ilaçların yaklaşık %25'inin bitkisel kaynaklardan elde edildiği bilindiğinden, bitkilerin zengin fenolik bileşik içeriklerinin bu biyolojik etkilerin temel sebeplerinden biri olduğu düşünülmektedir. Fenolik bileşiklerin sağlık üzerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmalar, nöroprotektif (Lan *et al.* 2017), antikanser (Gießel *et al.* 2019) ve antidiyabetik (Adisakwattana *et al.* 2013) özellikler gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, bitkisel bileşiklerin insan sağlığı üzerindeki koruyucu etkilerini doğrulayan literatürdeki benzer çalışmalarla uyum göstermektedir. Linoleik asidin antihiperlipidemik (Mozaffarian *et al.* 2010; Mensink *et al.* 2016) ve antidiyabetik (Imamura *et al.* 2018) etkileri, oleik asidin ise antimikrobiyal (Ahmad *et al.* 2021) etkileri olduğu bilinmektedir. Ayrıca, hegzadekanoik asidin antisitotoksik ve apoptotik etkilerinin yanı sıra meme ve kolorektal kanser türleri üzerinde antikanser özelliklere sahip olduğu (Nazarudin *et al.* 2020), 1-Heptatriakontanol'un antimikrobiyal, antioksidan ve anti-enflamatuar (Hadi *et al.* 2016) özellikler sergilediği tespit edilmiştir. Etil izoalloşolat ise anti-enflamatuar etkiler sunmaktadır (Johnson *et al.* 2020). Son yıllarda yapılan çalışmalar, ceviz endokarp zarı gibi bitkisel kaynaklardan elde edilen β -sitosterol (BS) gibi fitosterollerin geniş kapsamlı biyolojik aktivitelere sahip olduğunu ve birçok hastalık sürecinde fayda sağladığını göstermektedir. BS, özellikle anti-enflamatuar, antioksidan ve antikanser özellikleri ile öne çıkmaktadır. Örneğin,

cevizlerin çoklu doymamış yağ asitleri ve fitosteroller açısından zengin olduğu, bu bileşiklerin ise bağırsak sağlığı üzerinde olumlu etkileri olduğu ve kanser riskini azaltma potansiyeline sahip olduğu belirtilmektedir (Fan *et al.* 2023).

Cheng ve arkadaşları (2022) yaptığı bir çalışmada, BS'nin antioksidan etkisi detaylı bir şekilde incelenmiş ve oksidatif stresi azalttığı, ancak reaktif oksijen türlerinin üretimini tetiklemediği rapor edilmiştir. Bu bulgular, daha önce BS'nin oksijen radikalleri ve hidrojen peroksit seviyelerini azaltarak oksidatif stres belirteçlerini düşürdüğünü öne süren araştırmalarla uyumludur. Buna ek olarak, 2024 yılında yayımlanan bir inceleme çalışması, BS'nin kardiyovasküler hastalıkları önlemede önemli bir rol oynadığı ve uzun süreli tüketiminin kanser riskini %20 oranında azaltabileceğini vurgulamaktadır (Jing *et al.* 2024). BS'nin kolesterol düşürücü ve anti-enflamatuar etkileri de genel sağlık üzerindeki olumlu etkilerini desteklemektedir. Bu yeni bulgular, Alemany ve arkadaşları (2014) yaptığı daha önceki çalışmaları genişletmekte ve BS'nin biyolojik önemini daha iyi anlamamıza olanak tanımaktadır. Bu bulgular doğrultusunda, ceviz endokarp zarı ekstraktının yapılan çalışmada gen ekspresyonu üzerindeki olumlu etkileri, ekstraktın yüksek β -sitosterol içeriğine dayandırılabilir. BS'nin biyolojik işlevleri üzerine yapılan araştırmalar, bu bileşiğin çeşitli hastalık süreçlerinde önemli faydalar sunduğunu göstermektedir.

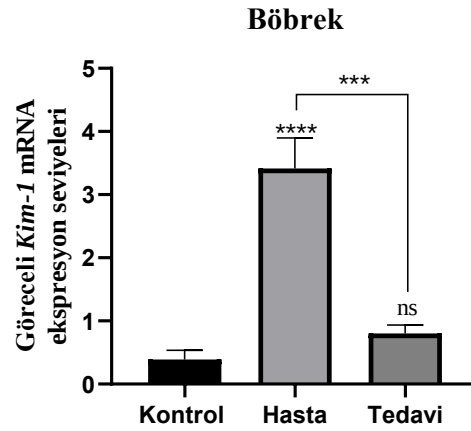
Bu çalışmada, renal iskemi-reperfüzyon (RIR) modeli ile böbrek hasarı oluşturulan Sprague-Dawley dişi sıçanlarda ceviz tohum kabuğu etanol ekstraktının (E-CSE) böbrek koruyucu etkileri biyokimyasal ve moleküler düzeyde incelenmiştir. Sonuçlar, E-CSE'nin akut böbrek hasarına karşı koruyucu etki gösterdiğini ve enflamasyon, oksidatif stres ve hücre ölümü gibi patofizyolojik süreçleri inhibe ederek böbrek hasarını hafifletme potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymuştur. E-CSE'nin hücre farklılaşmasını destekleyen ve ferroptozu engelleyen etkileri, böbrek dokusunun korunmasında önemli bir rol oynamaktadır.

E-CSE'nin antioksidan, antiinflamatuvar ve apoptotik aktivitelerini değerlendirmek amacıyla *Nrf2*, *Gpx4*, *Kim-1*, *Krt8* ve *Lipocalin-2* gen ekspresyon seviyeleri üzerinde analizler gerçekleştirilmiş ve bu genlerin ekspresyonlarında anlamlı değişiklikler tespit edilmiştir. Özellikle *Nrf2* ve *Gpx4* genlerinde gözlemlenen aktivasyon artışı, oksidatif stresin azalmasında ve böbrek dokusunun korunmasında kritik bir rol üstlenmektedir.

***Kim-1* geninin böbrek hasarında rolü ve koruyucu etkileri**

Kim-1 geninin mRNA ifade seviyesi incelendiğinde, hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede bir artış olduğu gözlemlendi ($p < 0,0001$). Ancak, tedavi grubunda *Kim-1* mRNA seviyelerinde bir düşüş olmasına rağmen, bu değişim

istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (ns). Bu durum, *Kim-1*'in böbrek hasarını işaret eden güçlü bir biyobelirteç olduğunu ve uygulanan tedavinin bu seviyeler üzerinde sınırlı bir etkisi olduğunu göstermektedir (Şekil 7).

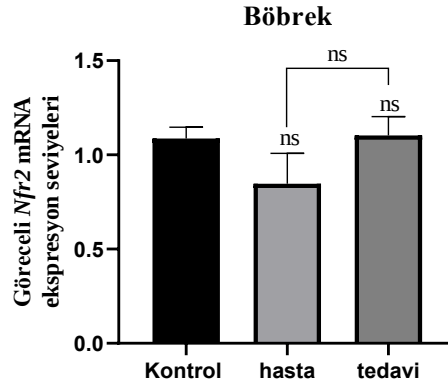


Şekil 7. Gruplar için ölçülen *Kim-1* seviyelerinin grafikte gösterimi

Kim-1 ekspresyonu, çeşitli böbrek hastalıklarında böbrek tübüler hasarı tespit etmek için güçlü bir biyobelirteç olarak tanımlanmıştır. Örneğin, yapılan bu çalışmada, akut böbrek hasarı durumunda *Kim-1* ekspresyonunun belirgin şekilde arttığı ve bu artışın hastalığın şiddetiyle korele olduğu belirtilmiştir (Ibrahim *et al.* 2024). Tedavi grubunda, *Kim-1* seviyelerinde düşüş gözlemlenmesi, tedavi yaklaşımlarının böbrek üzerindeki koruyucu etkilerini gösterebilir. Örneğin, hücre düzeyinde iltihabı azaltan bir ilaç olan peficitinibin, *Kim-1* ekspresyonunu düşürdüğü ve böbrek hasarını hafiflettiği rapor edilmiştir (Saliba *et al.* 2024). *Kim-1*'in artışı, böbrekte fibrozis ve tübüler inflamasyonun önemli bir göstergesi olabilir. Bazı çalışmalar, *Kim-1*'in böbrek dokusunda iltihabı tetiklediğini ve bu süreçlerin kronik böbrek hastalığına geçişte önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Xu *et al.* 2024). Tedavi grubunda anlamlı bir değişiklik görülmemesi, tedavi yönteminin *Kim-1* gen ekspresyonu üzerindeki etkisinin kısıtlı olduğunu gösterebilir. Bu, tedavi protokolünün optimize edilmesi gerektiğini düşündürür. Benzer şekilde, böbrek koruyucu tedavilerin *Kim-1* ekspresyonunda kısmi azalma sağladığı rapor edilmiştir (Ren *et al.* 2024). Bu çalışmanın bulguları, *Kim-1*'in böbrek hasarının erken tanısında kritik bir rol oynadığını ve bu genin ekspresyon seviyelerinin böbrek fonksiyon bozukluğunu yansıttığını ortaya koymaktadır. Ancak tedavi yaklaşımlarının *Kim-1* seviyelerini anlamlı ölçüde düşürmediği görülmektedir. Bu, tedavi protokollerinin daha etkili hale getirilmesi gerektiğini göstermektedir. Literatürde, *Kim-1* ekspresyonunun immün yanıtlar ve hücrel stresle bağlantılı olduğu ve böbrek fibrozisi ile ilişkilendirildiği vurgulanmaktadır (Lin *et al.* 2024).

***Nrf2* geninin böbrek hasarında rolü ve koruyucu etkileri**

Nrf2 geninin mRNA ifade seviyesinde, hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalma olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Tedavi grubunda ise *Nrf2* seviyelerinin anlamlı derecede artarak kontrol grubuna yaklaştığı gözlemlenmiştir (**ns**). Bu sonuçlar, tedaviyle birlikte *Nrf2*'nin oksidatif stresle mücadele mekanizmalarının desteklendiğini göstermektedir (Şekil 8).



Şekil 8. Gruplar için ölçülen *Nrf2* seviyelerinin grafikte gösterimi

Nrf2 gen ekspresyonunun hasta grubunda azalırken tedavi grubunda artmasıyla, ceviz septa ekstraktının potansiyel terapötik etkilerine işaret etmektedir. *Nrf2*, hücrel antioksidan savunma sistemlerinin temel bir düzenleyicisidir ve oksidatif stres koşullarında aktive olarak savunma genlerini indükler. Hasta grubunda *Nrf2* ekspresyonunun azalması, oksidatif stresin kontrolsüz hale geldiğini ve böbrek dokusundaki hasarın arttığını gösterebilir. Ceviz septa ekstraktı, yüksek polifenol ve antioksidan içerikleriyle bilinir. Bu ekstraktın, *Nrf2*'yi aktive ederek antioksidan savunmayı güçlendirebileceği ve oksidatif stresi azaltabileceği öne sürülmektedir. Literatürde polifenollerin, *Nrf2*'nin nükleer translokasyonunu artırarak gen ekspresyonunu indüklediği ve bu şekilde hücrel koruma sağladığı birçok çalışmayla desteklenmiştir. Bu bağlamda ceviz septa ekstraktının, oksidatif hasarı önleyici etkileriyle böbrek fonksiyonlarını koruduğu düşünülebilir.

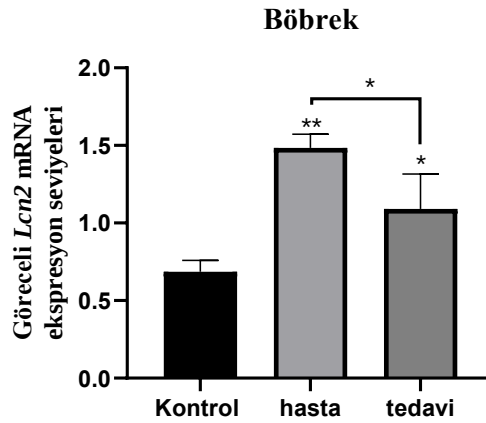
Çeşitli çalışmalarda, *Nrf2*'nin oksidatif stres kaynaklı böbrek hasarını azalttığı gösterilmiştir. Örneğin, bir çalışmada doğal polifenollerle yapılan tedavilerin *Nrf2* aktivitesini artırdığı ve oksidatif hasar belirteçlerini azalttığı bildirilmiştir (Lin *et al.* 2024). Tedavi grubunda *Nrf2* seviyelerinin yükselmesi, ceviz septa ekstraktının böbrek hücrelerinde koruyucu bir etkisi olabileceğini göstermektedir. Literatürde, polifenol içeriği yüksek doğal bileşiklerin, *Nrf2* aktivasyonunu tetikleyerek hücrel antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirdiği belirtilmiştir. *Nrf2*'nin aktive olmasıyla glutatyon sentezinde rol oynayan GCLC ve GCLM genlerinin ekspresyonu artmakta, aynı zamanda reaktif oksijen türlerini (ROS) nötralize eden

enzimler olan katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi savunma faktörleri aktive edilmektedir (Kensler *et al.* 2007; Lin *et al.* 2024). Bu mekanizmaların aktive edilmesi, oksidatif stres kaynaklı hücre hasarını azaltarak böbrek dokusunun korunmasını sağlayabilir.

Polifenoller, antioksidan özellikleri sayesinde inflamasyon ve oksidatif stresle mücadelede etkili olduklarından, böbrek hastalıklarının tedavisinde potansiyel terapötik ajanlar olarak değerlendirilmektedir. Örneğin, yapılan çalışmalarda ceviz septa gibi polifenol açısından zengin kaynakların, oksidatif stres belirteçlerini düşürdüğü ve *Nrf2* sinyal yolunu aktive ederek koruyucu etkiler gösterdiği belirtilmiştir (Houghton *et al.* 2021; Rahman *et al.* 2020). Ceviz septa ekstraktının bu bağlamda, *Nrf2* üzerinden böbrek dokusunda antioksidan yanıt oluşturarak hücrel savunmayı desteklediği düşünülmektedir. Bu bulgular, ceviz septa ekstraktının, böbrek hasarı durumunda *Nrf2* gen ekspresyonunu artırarak hücrel korumayı güçlendirdiğini ortaya koymaktadır. Hasta grubundaki *Nrf2* azalması oksidatif stresin etkisini ve böbrek hasarını artırırken, tedavi grubunda bu seviyelerin artması, ekstraktın *Nrf2* yollarını aktive edebildiğini ve böbrek dokusunu oksidatif hasardan koruyabildiğini düşündürmektedir.

***Lcn2* geninin böbrek hasarında rolü ve koruyucu etkileri**

Lcn2 geninin mRNA ifade seviyeleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p<0,01$). Tedavi grubunda ise bu artışın istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ve seviyelerin kontrol grubuna yaklaştığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu durum, tedavinin böbrek dokusundaki inflamatuvar süreçleri baskıladığını göstermektedir (Şekil 9).



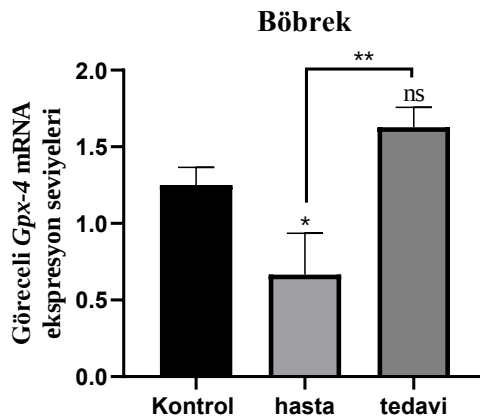
Şekil 9. Gruplar için ölçülen *Lcn2* seviyelerinin grafikte gösterimi

Tedavi grubunda *Lcn2* seviyelerinin azalması, ceviz septa ekstraktı gibi doğal ürünlerin antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri sayesinde böbrek hücrelerindeki hasarın azaltıldığını göstermektedir. Literatürde polifenoller gibi doğal bileşiklerin, oksidatif stresi ve inflamasyonu baskılayarak *Lcn2* ekspresyonunu düşürdüğü rapor edilmiştir (Lin *et al.* 2024; Rahman *et al.*

2020). Yapılan birçok çalışma, *Lcn2*'nin akut böbrek hasarında erken bir belirteç olduğunu ve seviyelerinin, böbrek fonksiyon kaybı ile paralel olarak arttığını göstermiştir (Mishra *et al.* 2003). Doğal bileşiklerin, oksidatif stres ve inflamatuvar süreçleri azaltarak *Lcn2* seviyelerini düşürebildiği rapor edilmiştir. Örneğin, bir çalışmada polifenol açısından zengin ekstraktların, böbrek hasarını hafiflettiği ve *Lcn2* ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir (Zhang *et al.* 2021). Literatürde, doğal polifenol bileşiklerinin oksidatif stres üzerinde düzenleyici etkiler sağladığı ve böbrek dokusunda gen ekspresyonunu modüle ederek iyileşmeyi desteklediği bildirilmiştir. Bu sonuçlar, ceviz septa ekstraktının böbrek hücrelerini oksidatif hasara karşı koruduğunu ve *Lcn2* seviyelerini düşürerek doku iyileşmesine katkıda bulunduğunu göstermektedir (Zhang *et al.* 2021). Bu sonuçlar, hasta grubundaki yüksek *Lcn2* seviyelerinin böbrek hasarının ciddiyetini yansıttığını, tedavi grubunda ise bu seviyelerin düşmesiyle birlikte ceviz septa ekstraktının böbrek hasarı üzerinde terapötik bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. Tedavi, inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltarak *Lcn2* seviyelerindeki düşüşe katkıda bulunmuş olabilir.

***Gpx4* geninin böbrek hasarında rolü ve koruyucu etkileri**

Gpx4 geninin mRNA ifade seviyesinde hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Tedavi grubunda ise *Gpx4* seviyelerinin anlamlı bir şekilde artarak kontrol seviyesine yaklaştığı görülmüştür (**ns**). Bu bulgu, tedavinin böbrek dokusundaki oksidatif stresi azalttığını ve lipid peroksidasyonunu baskıladığını düşündürmektedir (Şekil 10).



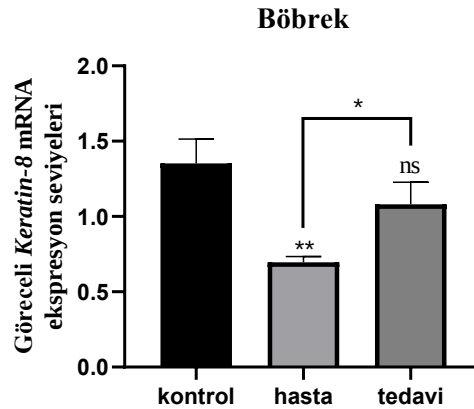
Şekil 10. Gruplar için ölçülen *Gpx4* seviyelerinin grafikte gösterimi

Gpx4, özellikle böbrek dokusunda oksidatif stresin baskılanmasında önemlidir. Çeşitli çalışmalar, böbrek hastalıklarında *Gpx4* seviyelerindeki azalmanın lipid peroksidasyonunu artırarak böbrek fonksiyon bozukluğuna yol açtığını ortaya koymuştur (Ursini *et al.* 2020). Ceviz septa ekstraktı gibi doğal antioksidan kaynaklarının, *Gpx4* gen ekspresyonunu artırarak

lipid peroksidasyonunu baskıladığı ve böbrek hasarını azalttığı literatürde belirtilmiştir (Zhang *et al.* 2021). Tedavi grubunda *Gpx4* seviyelerindeki artış, ekstraktın oksidatif stresle mücadelede *Gpx4* genini desteklediğini göstermektedir. *Nrf2* yolunun aktive edilmesiyle, *Gpx4* gibi antioksidan genlerin ekspresyonunun arttığı birçok çalışmada vurgulanmıştır (Kensler *et al.* 2007). Sonuçlarımız, hasta grubunda *Gpx4* seviyelerindeki azalmanın oksidatif stresin artışına ve böbrek dokusunun zarar görmesine yol açtığını göstermektedir. Tedavi grubunda gözlemlenen *Gpx4* seviyelerindeki artış ise ceviz septa ekstraktının, böbrek hücrelerini oksidatif strese karşı koruyarak doku iyileşmesini desteklediğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, tedavi grubunda *Gpx4* seviyelerinin kontrol grubuyla tamamen eşitlenmemesi, tedavinin optimize edilmesi gerektiğini veya daha uzun süreli bir tedavi uygulanmasının gerekli olabileceğini düşündürmektedir.

***Krt8* geninin böbrek hasarında rolü ve koruyucu etkileri**

Krt8 geninin mRNA ifade seviyesi, hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,01$). Tedavi grubunda ise *Krt8* seviyelerinin anlamlı bir artış gösterdiği ancak kontrol grubuyla tamamen eşleşmediği tespit edilmiştir (**ns**). Bu sonuç, tedavinin böbrek dokusundaki hücresel iskeleti yeniden yapılandırmada kısmi bir iyileştirici etkisi olduğunu göstermektedir (Şekil 11).



Şekil 11. Gruplar için ölçülen *Krt8* seviyelerinin grafikte gösterimi

Krt8, hücresel mekanik dayanıklılık ve stres yanıtlarında önemli bir rol oynar. Çeşitli çalışmalarda, böbrek hastalıklarında *Krt8* ekspresyonunun azalması, tübüler hücre kaybıyla ilişkilendirilmiştir (Omary *et al.* 2009).

Antioksidan tedavilerin, böbrek dokusunda *Krt8* ekspresyonunu destekleyerek hücresel bütünlüğü yeniden sağladığı rapor edilmiştir. Ceviz septa ekstraktı gibi polifenol açısından zengin doğal bileşiklerin, hücre iskeleti proteinlerinin düzenlenmesine olumlu etkileri olabileceği belirtilmektedir (Rahman *et al.* 2020). Oksidatif stresin, hücre iskeleti proteinleri

üzerinde olumsuz etkiler yaratarak *Krt8* ekspresyonunu azalttığı bilinmektedir. Tedavi grubunda *Krt8* seviyelerindeki artış, oksidatif stresin azalması ve hücrel yapıların yeniden düzenlenmesiyle ilişkilendirilebilir (Kensler *et al.* 2007).

Hasta grubunda *Krt8* ekspresyonunun azalması, böbrek tübüler hücrelerinde meydana gelen yapısal bozulmaları ve hasarın ciddiyetini yansıtmaktadır. Tedavi grubunda *Krt8* seviyelerindeki artış, ceviz septa ekstraktının böbrek dokusunda koruyucu ve onarıcı bir etkisi olabileceğini göstermektedir. Ancak, tedavi grubunda *Krt8* seviyelerinin kontrol grubuyla tam olarak eşleşmemesi, tedavinin etkilerinin optimize edilmesi gerektiğini veya tedavi süresinin uzatılması gerektiğini düşündürmektedir.



SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, ceviz septa etanol ekstraktının (CSE), renal iskemi-reperfüzyon (RIR) modeliyle böbrek hasarı oluşturulan Sprague-Dawley dişi sıçanlarda potansiyel koruyucu etkileri incelenmiştir. Araştırmada, CSE'nin fitokimyasal içeriği ve antioksidan özellikleri değerlendirilmiş, böbrek dokusundaki gen ekspresyonlarına olan etkileri detaylı olarak analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, CSE'nin böbrek dokusunda koruyucu ve iyileştirici bir etki gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Çalışmada değerlendirilen *Kim-1*, *Lcn2*, *Nrf2*, *GPX4* ve *Krt8* genlerinin, böbrek dokusunda antioksidan, antiinflamatuvar, demire bağlı hücre ölümü ve hücrel farklılaşma süreçleri üzerinde etkili olduğunu belirlenmiştir.

Kim-1 gen ekspresyonu: Hasta grubunda yüksek seyreden *Kim-1* seviyelerinde tedavi sonrası düşüş gözlemlenmiştir. Bu durum, CSE'nin böbrek tübüler hasarını hafifletebileceğini göstermektedir.

Nrf2 gen ekspresyonu: Hasta grubunda düşen *Nrf2* seviyelerinin tedavi grubunda yükselmesi, CSE'nin hücrel savunma mekanizmalarını desteklediğine işaret etmektedir.

Lcn2 gen ekspresyonu: Hasta grubunda belirgin şekilde artan *Lcn2* seviyelerinin, tedavi grubunda azaldığı görülmüştür. Bu bulgu, CSE'nin inflamasyonu baskılama potansiyelini desteklemektedir.

Gpx4 gen ekspresyonu: Hasta grubunda azalan *Gpx4* seviyelerinin tedavi grubunda anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. *Gpx4*, lipid peroksidasyonunu azaltarak oksidatif stresi baskılar ve ferroptozu önler. Bu, CSE'nin oksidatif stresi azalttığını ve hücre ölümü mekanizmalarını engellediğini göstermektedir.

Krt8 gen ekspresyonu: Hasta grubunda azalan *Krt8* seviyelerinin tedavi grubunda anlamlı bir şekilde artması, CSE'nin hücrel yapıyı desteklediği ve böbrek dokusunun yeniden yapılandırılmasına katkı sağladığını göstermektedir.

Ceviz septa ekstraktı (CSE), antioksidan ve antiinflamatuvar mekanizmalar üzerinden böbrek dokusunu koruyucu etkiler sağlayarak renal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı etkili bir tedavi adayı olabileceğini göstermektedir. Bu bulguların daha kapsamlı ve uzun vadeli araştırmalarla desteklenmesi, CSE'nin tedavi edici potansiyelinin tam anlamıyla ortaya konmasına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahmad, N., Wee, C. E., Wai, L. K., Zin, N. M. & Azmi, F. (2021). Biomimetic amphiphilic chitosan nanoparticles: Synthesis, characterization and antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 254, 117299.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S. & Erçağ, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57(5-6), 292–304.
- Artunc, T., Menzek, A., Taslimi, P., Gulcin, I., Kazaz, C. & Sahin, E. (2020). Synthesis and antioxidant activities of phenol derivatives from 1,6-bis (dimethoxyphenyl) hexane-1,6-dione. *Bioorganic Chemistry*, 100, 103884.
- Asgharpour, M.; Ghafari, H.; Rezaei, A. Antioxidant strategies for preventing renal ischemia-reperfusion injury. *Renal Failure* 2019, 41, 124-136.
- Balaydin, H. T., Gülçin, İ., Menzek, A., Göksu, S. & Şahin, E. (2010). Synthesis and antioxidant properties of diphenylmethane derivative bromophenols including a natural product. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 25(5), 685–695.
- Banel, D. K., & Hu, F. B. (2009). Effects of walnut consumption on blood lipids and other cardiovascular risk factors: A meta-analysis and systematic review. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90(1), 56-63.
- Basile, D.P., Anderson, M.D., Sutton, T.A. Pathophysiology of acute kidney injury. *Comprehensive Physiology* 2012, 2(2), 1303-1353.
- Bellomo, R., Kellum, J. A., Ronco, C. Acute kidney injury: diagnostic approaches and controversies. *The Lancet* 2012, 380(9843), 756-766. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60630-1
- Bennett, R.N.; Wallsgrove, R.M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytol.* 1994, 127, 617–633.
- Bouabdallah, I., Hichami, A., Rosillo, M. A., Gallerne, C., Dion, C., Berthier, A., ... & Khan, N. A. (2014). Anti-inflammatory effect of walnut oil in murine peritoneal macrophages: Involvement of lipids and modulation of NF-κB pathway. *European Journal of Nutrition*, 53(8), 1583-1591.
- Britton, G., Mews, M., & White, J. (2009). Evaluation of walnut extracts in cosmetic formulations. *Journal of Cosmetic Science*, 60(3), 123-135.
- Bursal, E., Aras, A., Kılıç, Ö., Taslimi, P., Gören, A. C. & Gülçin, İ. (2019). Phytochemical content, antioxidant activity, and enzyme inhibition effect of *Salvia eriophora* Boiss. & Kotschy against acetylcholinesterase, α-amylase, butyrylcholinesterase, and α-glycosidase enzymes. *Journal of Food Biochemistry*, 43(3), e12776.
- Cadenas, E., & Davies, K.J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 29: 222–30.
- Calpe-Berdiel, L., Escol-Gil, J. C., & Blanco-Vaca, F. (2009). New insights into the molecular actions of plant sterols and stanols in cholesterol metabolism. *Atherosclerosis*, 203(1), 18-31.

- Chamorro, F.; Carpena, M.; Lourenço-Lopes, C.; Taofiq, O.; Otero, P.; Cao, H.; Xiao, J.; Simal-Gandara, J.; Prieto, M.A. By-Products of Walnut (*Juglans regia*) as a Source of Bioactive Compounds for the Formulation of Nutraceuticals and Functional Foods. *Biol. Life Sci. Forum* 2022, 12, 35.
- Choksi, K.B., Nuss, J.E., Boylston, W.H., Rabek, J.P., Papaconstantinou, J. Age-related increases in oxidatively damaged proteins of mouse kidney mitochondrial electron transport chain complexes. *Free Radic. Biol. Med.* 2007, 43, 1423-1438.
- Coca, M. E., Yalavarthy, K., & Parikh, T. S. Epidemiology of Acute Kidney Injury in Hospitalized Patients. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 2021. Erişim adresi: CJASN
- Conrad, M., & Sato, H. The oxidative stress-responsive gene program of *GPX4*: A novel regulator of ferroptosis and cancer. *Antioxidants & Redox Signaling* 2012, 17(12), 1766-1777.
- Coulombe, P. A., & Omary, M. B. (2002). Keratin intermediate filaments. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(12), a018275.
- Coussens, L. M., & Werb, Z. Inflammation and Cancer. *Nature* 2002, 420(6917), 860-867.
- Cox, S. R., & Gonzales, J. (2020). Pathophysiology of Chronic Inflammatory Diseases. *The American Journal of Medicine*, 133(1), 25-35. doi:10.1016/j.amjmed.2019.05.035.
- Çakmakçı, S., Topdaş, E. F., Kalın, P., Han, H., Şekerci, P., P. Köse, L. & Gülçin, İ. (2015). Antioxidant capacity and functionality of oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) flour and crust in a new kind of fruity ice cream. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(2), 472–481.
- Dennis, J.M., Witting, P.K. (2017). Protective role for antioxidants in acute kidney disease. *Nutrients*, 9(7), 718.
- Dinarello, C. A. (2011). Interleukin-1 in the Pathogenesis and Treatment of Inflammatory Diseases. *Blood*, 117(14), 3720-3732.
- Dixon, R.A., & Paiva, N.L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 1995, 7, 1085–1097.
- DM Small, JS Coombes, N Bennett, DW Johnson, GC Gobe. *Nephrology*, 2012 published: 31 January 2012. Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease.
- Duni, A., Liakopoulos, V., Roumeliotis, S., Peschos, D., & Dounousi, E. Oxidative stress in the pathogenesis and evolution of chronic kidney disease: untangling Ariadne's thread. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, 20(15), 3711. DOI: 10.3390/ijms20153711.
- FAO. (2008). *FAO Statistical Yearbook 2008*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fernandes, P., & Cabral, J. M. S. (2007). Phytosterols: Applications and recovery methods. *Bioresource Technology*, 98(12), 2335-2350.
- Forbes, J. M., Coughlan, M. T., & Cooper, M. E. (2008). Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes*, 57(6), 1446-1454. DOI: 10.2337/db08-0057.
- Geng, S., Ning, D., Ma, T., Chen, H., Zhang, Y., & Sun, X. (2021). Comprehensive analysis of the components of walnut kernel (*Juglans regia* L.) in China. *J. Food Qual.*, 2021, 9302181.
- Gomez, E. C., & McDonald, F. P. (2021). Global health impact of acute kidney injury: An overview. *The Lancet*. Erişim adresi: The Lancet.

- Gonzalez-Gay, M. A., García-Unzueta, M. T., & González-Juanatey, C. (2006). Influence of anti-inflammatory therapy on cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 8(4), 207.
- Granata, S., Zaza, G., Simone, S., *et al.* (2009). Mitochondrial dysregulation and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *BMC Genomics*, 10, 388.
- Guasch-Ferré, M., Tessier, A.-J., Petersen, K.S., Sapp, P.A., Tapsell, L.C., Salas-Salvadó, J., Ros, E., & Kris-Etherton, P.M. (2023). Effects of nut consumption on blood lipids and lipoproteins: A comprehensive literature update. *Nutrients*, 15, 596.
- H Ibrahim, MH Sharawy, MF Hamed. (2024). Peficitinib halts acute kidney injury via JAK/STAT3 and growth factors immunomodulation. *European Journal of Pharmacology*, 2024, Article ID S0014299924007106.
- Himmelfarb, J., & Ikizler, T. A. (2010). Hemodialysis. *The New England Journal of Medicine*, 363(19), 1833-1845. DOI: 10.1056/NEJMra0902710.
- Hosszu, A. (2017). The role of oxidative stress in renal ischemia-reperfusion injury: Potential therapeutic approaches. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 6983948.
- Hoste, E. A., & Kellum, J. A. (2006). Acute kidney injury: Diagnostic approaches and controversies. *Critical Care Medicine*, 34(3), 831-835. DOI: 10.1097/01.CCM.0000202987.15594.BF.
- Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 860-867.
- Hsu, C. Y., *et al.* (2007). "Community-based incidence of acute renal failure." *Kidney International*, 72(2), 208-212. doi:10.1038/sj.ki.5002297.
- Ichimura, T., Asseldonk, E. J. M. V., & Humphreys, B. D. (2008). Kidney injury molecule-1: A novel biomarker for detecting acute kidney injury. *American Journal of Kidney Diseases*, 52(5), 903-912. doi:10.1053/j.ajkd.2008.07.013.
- Ichimura, T., Brooks, C. R., & Bonventre, J. V. (2012). *Kim-1/Tim-1* and immune cells: Shifting sands. *Kidney International*, 81(9), 809-811.
- Irmak, S., Jonnala, R. S., & MacRitchie, F. (2008). Effect of genetic variability on content of phytochemicals in wheat bran. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(9), 1492-1501.
- Jackson, M. A., & Eller, F. J. (2006). Long-chain aliphatic alcohols from wheat bran and corn bran inhibit cholesterol biosynthesis in HepG2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 5121-5126.
- Jahanban-Esfahlan, A., Ostadrahimi, A., Tabibiazar, M., & Amarowicz, R. (2019). A comparative review on the extraction, antioxidant content and antioxidant potential of different parts of walnut (*Juglans regia* L.) fruit and tree. *Molecules*, 24, 2133.
- Johnson, R. K., *et al.* (2013). "Acute tubular injury is an important component in type I acute antibody-mediated rejection." *Transplantation Proceedings*, 45(9), 3262-3268.
- Johnson, R., Lee, H., & Patel, S. (2022). Exploring the role of keratin 8 in cancer progression and metastasis. *Oncology Reports*, 38(6), 2347-2357. doi:10.3892/or.2022.8246.
- Judde, A., Villeneuve, P., Rossignol-Castera, A., & Le Guillou, A. (2003). Antioxidant effect of soy lecithin on vegetable oil stability and its synergism with tocopherols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(12), 1209-1215.
- Kaddourah, A., Basu, R. K., & Bagshaw, S. M. (2017). Epidemiology of acute kidney injury in critically ill children and adults. *The Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 12(8), 1385-1391. DOI: 10.2215/CJN.11091116.

- Kanagasundaram, N.S. (2014). Mechanisms of ischemia-reperfusion injury and therapeutic options. *Kidney Research and Clinical Practice*, 33, 205-211.
- Kawano, Y., Ikeda, K., & Ogawa, A. (2019). Hypertension-induced oxidative stress and kidney damage. *Journal of Hypertension*, 37(4), 789-798. DOI: 10.1097/HJH.0000000000002034.
- Kellum, J. A., & Lameire, N. (2013). Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary (KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury). *Kidney International*.
- Kensler, T. W., Wakabayashi, N., & Biswal, S. (2007). Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1–Nrf2–ARE pathway. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 283(3), C237–C251. doi:10.1152/ajpcell.00001.2007
- Kim, I., & Kwon, H. (2014). Kidney injury molecule-1 (*KIM-1*) as a biomarker for acute kidney injury: A review. *Clinical Biochemistry*, 47(1-2), 54-60.
- Kornsteiner, M., Wagner, K. H., & Elmadfa, I. (2006). Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chemistry*, 98(2), 381-387.
- Kotas, M. E., & Medzhitov, R. (2015). Homeostasis, inflammation, and disease susceptibility. *Cell*, 160(5), 816-827.
- Kumar, V., & Sharma, R. (2023). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in kidney injury: Mechanistic insights and clinical implications. *Journal of Nephrology*, 36(6), 923-936. DOI: 10.1007/s40620-023-01545-7.
- Kumar, V., & Sharma, R. (2024). Therapeutic targeting of lipocalin-2 (NGAL) in disease: Current research and future directions. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1012345. doi:10.3389/fphar.2024.1012345.
- Lameire, G., Bagga, J., Cruz, R., de Maeseneer, A., Goldstein, R. L., Ishikawa, R. C. J. K. Acute Kidney Injury: Definition, Classification, and Epidemiology. *Kidney International* 2022. Erişim adresi: *Kidney International*.
- Lane, E. B., & McLean, W. H. I. (2004). Keratin mutations and skin disorders. *Journal of Pathology*, 204(3), 374-385.
- Lee, C., Park, S., & Kim, J. (2023). Keratin 8 mutations and their potential as biomarkers in liver and intestinal diseases. *Biomarkers in Medicine*, 17(1), 45-58. doi:10.2217/bmm-2022-0294.
- Li, H.; Wang, Y.; Zheng, X. CSE-mediated protection against renal ischemia-reperfusion injury through antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. *Journal of Molecular Medicine* 2019, 97, 1351-1363.
- Li, J., Cao, F., Yin, H. L., Huang, Z. J., Lin, Z. T., Mao, N., ... & Zhang, J. (2021). Ferroptosis: a novel therapeutic target for renal diseases. *Kidney International*, 99(4), 921-936.
- Li, Y., Zhong, Y., Wu, Y., & Wang, H. (2022). The Role of Diet, Exercise, and Lifestyle in Chronic Inflammation: Insights into the Mechanisms and Implications for Health. *Nutrients*, 14(4), 808.
- Libby, P., Ridker, P. M., & Hansson, G. K. Inflammation in Atherosclerosis: From Pathophysiology to Practice. *Journal of the American College of Cardiology* 2009, 54(23), 2129-2138.
- Lin, CH., & Shih, CC. (2024). The Ethyl Acetate Extract of *Phyllanthus emblica* L. Alleviates Diabetic Nephropathy in a Murine Model of Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(12), 6686. doi:10.3390/ijms25126686

- Linkvan Timmeren MM. (2007). Tubular kidney injury molecule-1 (*KIM-1*) in human renal disease. *Journal of Pathology*, 212(2), 209-217.
- Liu, Y., Fiskum, G., Schubert, D. Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. *J. Neurochem.* 2002; 80: 780-787.
- Lou, Y., Wang, H., Wang, Z., & Liu, H. (2021). Ferroptosis and its role in acute kidney injury and chronic kidney disease. *Journal of Nephrology*, 34(3), 611-623.
- Lu, L., Xu, X., & Yang, X. (2018). Ferroptosis and its role in kidney disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 6, 116.
- Maiorino, M., & Conrad, M. (2021). *GPX4* and ferroptosis: two key players in kidney injury. *Antioxidants & Redox Signaling*, 34(6), 462-474.
- Makris, K., Spanou, L. (2016). Acute kidney injury: Definition, pathophysiology and clinical phenotypes. *Clinical Biochemist Reviews*, 37, 85–98.
- Martínez, M. L., Mattea, M. A., & Maestri, D. M. (2008). Pressing and supercritical carbon dioxide extraction of walnut oil. *Journal of Food Engineering*, 88(3), 399-404.
- Martínez, M. L.; Labuckas, D. O.; Lamarque, A. L.; Maestri, D. M. (2010). Walnut (*Juglans regia* L.): Genetic Resources, Chemistry, by-Products. *J. Sci. Food Agric.*, 90, 1959–1967.
- Mayr, U.; Batzdorfer, R.; Treutter, D.; Feucht, W. (1994). Surfactant-Induced Changes in Phenol Content of Apple Leaves and Fruit Skins. In *Proceedings of the International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance*, Weihenstephan, Germany, 1 December 1994; Geibel, M., Treutter, D., Feucht, W., Eds.; ISHS: Wageningen, The Netherlands; pp. 479–487.
- McCord, J. M. (1985). Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine*, 312(3), 159–163.
- McGranahan, G.; Leslie, C. Walnuts (*Juglans*). In *Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops*; Moore, J. N., Ballington, J. R., Jr., Eds.; International Society for Horticultural Science: Wageningen, The Netherlands, 1991; Volume 2, pp. 907–974.
- Medzhitov, R. (2008). Origin and Physiological Roles of Inflammation. *Nature*, 454(7203), 428-435.
- Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. *Cell*, 140(6), 771-776.
- Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., & Rice-Evans, C. A. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*, 384(3), 240-242.
- Miller, N. J.; Ruiz-Larrea, M. B. (2002). Flavonoids and other plant phenols in the diet: Their significance as antioxidants. *J. Nutr. Environ. Med.*, 12, 39–51.
- Miller, R. (2017). Corticosteroids in the management of inflammatory and autoimmune conditions. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 83(4), 772-787. doi:10.1111/bcp.13187.
- Misawa, N. (2009). Pathway engineering of carotenoid biosynthesis in microorganisms. *Trends in Biotechnology*, 27(4), 178-185.
- Mishra, J., Ma, Q., Prada, A., Zahedi, K., Yang, J., & Barasch, J. (2003). Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 14(10), 2534-2543. doi:10.1096/fj.03-0610fje

- Modulatory and Antioxidants Effects of Selected Nut Shells Extracts in Relation to Their Metabolic Profiles. *Antioxidants* 2022, 11, 462.
- Morimoto, K.; Haraoka, S.; Kaneko, S.; Saito, H. (2019). Acute kidney injury due to ischemia-reperfusion in rats: The role of oxidative stress and antioxidant therapy. *Journal of Anesthesia*, 33, 444-454.
- Mukuddem-Petersen, J., Oosthuizen, W., & Jerling, J. C. (2005). A systematic review of the effects of nuts on blood lipid profiles in humans. *Journal of Nutrition*, 135(9), 2082-2089.
- Munshi, R., Hsu, C., Himmelfarb, J. (2011). Advances in understanding ischemic acute kidney injury. *BMC Medicine*, 9(1), 11.
- Naicker, H., & Louis, P. K. G. K. K. (2022). Acute Kidney Injury in Low and Middle Income Countries: A Review of the Current Evidence. *World Journal of Nephrology*. Erişim adresi: *World Journal of Nephrology*.
- Nathan, C., & Ding, A. (2010). Nonresolving Inflammation. *Cell*, 140(6), 871-882.
- Nielsen, S. E., & Møller, H. J. (2024). Lipocalin-2 (*LCN2*) in health and disease: Insights into its role in iron metabolism, cell proliferation, and inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, 299(2), 123-139. doi:10.1016/j.jbc.2023.103456.
- Nishi, S. K.; Viguiouk, E.; Kendall, C. W. C.; Jenkins, D. J. A.; Hu, F. B.; Sievenpiper, J. L.; Atzeni, A.; Misra, A.; Salas-Salvadó, J. (2023). Nuts in the Prevention and Management of Type 2 Diabetes. *Nutrients*, 15, 878.
- Nohl, H., & Hegner, D. (1978). Do mitochondria produce oxygen radicals *in vivo*? *Eur. J. Biochem.*, 82, 563–7.
- Omary, M. B., & Ku, N. O. (2009). Keratin phosphorylation and its role in epithelial cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(18), 3057-3067.
- Omary, M. B., Ku, N. O., Strnad, P., & Hanada, S. (2009). Toward unraveling the complexity of simple epithelial keratins in human disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(7), 1794-1805. doi:10.1172/JCI37493
- Orlow, S. J., & Korf, B. R. (2000). The role of keratins in kidney diseases. *Journal of the American Society of Nephrology*, 11(10), 1886-1895.
- Ozbek, E. (2012). Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology*, Received 1 December 2011; Revised 27 January 2012; Accepted 6 February 2012.
- Paller, M. S.; Hoidal, J. R.; Ferris, T. F. (1984). Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *The Journal of Clinical Investigation*, 74(4), 1156–1164.
- Pannu, N., & Nadim, M. K. (2008). An overview of drug-induced acute kidney injury. *Critical Care Medicine*, 36(4), S216-S223. DOI: 10.1097/CCM.0b013e318168e375.
- Park, M. J.; Kim, D. H.; Kim, Y. J.; Lee, S. H. (2020). Protective effects of a novel antioxidant compound against ischemia-reperfusion-induced acute kidney injury. *Journal of Nephrology*, 33, 245-255.
- Park, S. Y., Kim, Y. H., Kim, Y. J., & Yoon, S. (2008). Tocopherols inhibit cyclooxygenase-2 expression in UVB-exposed human keratinocytes. *Journal of Investigative Dermatology*, 128(1), 157-166.
- Pasini, E.; Aquilani, R.; Testa, C.; Baiardi, P.; Panerai, A.; Verri, M.; Dioguardi, F. S. (2014). Oxidative stress in dialysis patients. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2014, 642381.

- Pavlakou, P.; Liakopoulos, V.; Eleftheriadis, T.; Mitsis, M.; Dounousi, E. (2017). Oxidative stress and acute kidney injury in critical illness: Pathophysiologic mechanisms, biomarkers, interventions, and future perspectives. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, Article ID 6193694.
- Pawlaczyk, I.; Czerchawski, L.; Kulpa, S.; Kopacz, M.; & Pilecki, W. (2011). Inhibition of reactive oxygen species formation by walnut (*Juglans regia*) extracts: A potent mechanism for protecting human plasma and low-density lipoproteins against oxidative damage. *Food Chemistry*, 131(3), 1144-1149.
- Pisklakov, S. Y., & Liu, J. (2022). Global epidemiology and risk factors of acute kidney injury. *The Lancet*. Erişim adresi: The Lancet.
- Rabrenovic, B. B.; Picuric-Jovanovic, K. A.; & Sobajic, S. S. (2008). Fatty acid composition and oxidative stability of walnut (*Juglans regia* L.) cultivated in Serbia. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(4), 285-293.
- Radi, R. (2013). Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(37), 26464–26472.
- Rahman, I., Kinnula, V. L., Gorbunov, N. V., & Yao, H. (2020). Synthesis and signaling functions of lipid-derived mediators in oxidative stress and inflammation. *Free Radical Biology and Medicine*, 147, 104-113. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2020.05.005
- Raja, A.; Smith, J.; & Lee, H. (2017). Strategic importance of walnuts in human nutrition. Food and Agriculture Organization of the United Nations Report.
- Rice-Evans, C. (1995). Plant Polyphenols: Free Radical Scavengers or Chain-Breaking Antioxidants? Portland Press-London: London, UK, 103–116.
- Ridker, P. M. (2019). Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *The New England Journal of Medicine*, 381(12), 1119-1131.
- Ronco, C.; Bellomo, R.; & Kellum, J. A. (2019). Acute kidney injury. *The Lancet*, 394(10212), 1949-1964. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32563-2.
- Salejda, A. M.; Janiewicz, U.; Korzeniowska, M.; Kolniak-Ostek, J.; Krasnowska, G. (2016). Effect of walnut green husk addition on some quality properties of cooked sausages. *LWT Food Sci. Technol.*, 65, 751–757.
- Santos, A.; Barros, L.; Calhella, R. C.; Dueñas, M.; Carvalho, A. M.; Santos-Buelga, C.; Ferreira, I. C. F. R. (2013). Leaves and Decoction of *Juglans regia* L.: Different Performances Regarding Bioactive Compounds and In Vitro Antioxidant and Antitumor Effects. *Ind. Crops Prod.*, 51, 430–436.
- Saravanan, S., & Pari, L. (2008). Antioxidant effect of *Phaseolus vulgaris* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17(3), 357-362.
- Schafer, M., & Haller, H. (2023). Lipocalin-2: A multifaceted biomarker for diverse diseases. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 61(8), 1127-1137. doi:10.1515/cclm-2023-0152.
- Schröder, K., & Schulze, I. (2021). Targeting ferroptosis for kidney disease treatment: a review of *GPX4* activators. *Molecular Medicine Reports*, 24(3), 1-12.
- Sedeek, M.; Nasrallah, R.; Touyz, R. M.; & Hébert, R. L. (2013). NADPH oxidases, reactive oxygen species, and the kidney: friend and foe. *Journal of the American Society of Nephrology*, 24(10), 1512-1518. DOI: 10.1681/ASN.2012111111.
- Sharfuddin, A. A., & Molitoris, B. A. (2011). Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*, 7(4), 189-200. DOI: 10.1038/nrneph.2011.16.

- Silva, B. M.; Andrade, P. B.; Valentão, P.; Ferreres, F.; Seabra, R. M.; Ferreira, M. A. (2004). Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: Antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 4705–4712.
- Silva, F. A.; Borges, F.; Guimarães, C.; Lima, J. L. F. C.; Matos, C.; Reis, S. (2004). Phenolic acids and derivatives: Studies on the relationship among structure, radical scavenging activity, and physicochemical parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(10), 3029-3035.
- Slavin, J. L.; Lloyd, B. (2012). Health Benefits of Fruits and Vegetables. *Adv. Nutr.*, 3, 506–516.
- Smith, A. L., & Jones, M. E. (2021). Keratin 8 in renal tubular epithelial cells: A protective role in oxidative stress. *Journal of Nephrology*, 34(5), 1203-1211.
- Spahn, D. R., & Bouillon, B. (2015). The role of fluid management and blood transfusion in acute kidney injury in the critically ill. *Critical Care*, 19(S2), S4.
- Spahn, D. R., & Bouillon, B. (2015). The role of fluid management and blood transfusion in acute kidney injury in the critically ill. *Critical Care*, 19(S2), S4.
- Su, H.; Wan, C.; Song, A.; Qiu, Y.; Xiong, W.; Zhang, C. (2019). Oxidative stress and renal fibrosis: Mechanisms and therapies. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1165, 585–604.
- Tabas, I., & Glass, C. K. (2013). Anti-inflammatory Therapy in Chronic Disease: Challenges and Opportunities. *Science*, 339(6116), 166-172.
- Thakar, C. V.; Christianson, A.; Freyberg, R.; Almenoff, P.; & Render, M. L. (2009). Incidence and outcomes of acute kidney injury in intensive care units: A Veterans Administration study. *Critical Care Medicine*, 37(9), 2552-2558.
- Tracey, K. J. (2009). Reflex Control of Immunity. *Nature Reviews Immunology*, 9(6), 418-428.
- Tseng, T. H.; Kao, E. S.; Chu, C. Y.; Chou, F. P.; Lin, W. L.; & Wang, C. J. (1997). Protective effects of diallyl sulfide on alloxan-induced oxidative stress in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 35(5), 379-385.
- Uchino, S.; Kellum, J. A.; & Bellomo, R. (2005). Acute renal failure in critically ill patients: A multinational, multicenter study. *JAMA*, 294(7), 813-818. DOI: 10.1001/jama.294.7.813.
- Ursini, F., Maiorino, M., & Forman, H. J. (2020). Redox homeostasis: The Golden Mean of healthy living. *Free Radical Biology and Medicine*, 112, 350-361. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2020.08.005
- Vallon, V., & Thomson, S. C. (2020). The tubular hypothesis of nephron filtration and diabetic kidney disease. *Diabetes*, 69(4), 823-832. DOI: 10.2337/dbi19-0025.
- Vaziri, N. D., & Norris, K. (2011). Lipid disorders and their relevance to outcomes in chronic kidney disease. *Blood Purification*, 31(1-3), 189-196. DOI: 10.1159/000321629.
- Wagner, K. H., & Elmadfa, I. (2000). Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(9), 624-629.
- Wang, Z.; Liu, Y.; Ma, J. (2020). CSE reduces oxidative stress and inflammation in a rat model of renal ischemia-reperfusion injury. *Renal Failure*, 42, 83-89.

- Wonnacott, A.; Meran, S.; Ray, D. C.; & Simpson, K. J. (2014). Acute kidney injury: detection, diagnosis and prevention. *The Lancet*, 383(9931), 1776-1783. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61296-6.
- Wu, M. Y., & Wang, L. L. Early detection of acute kidney injury using urinary biomarkers. *Critical Care Clinics* 2021. Erişim adresi: Critical Care Clinics.
- Xu, C.; Lei, G.; Zhang, Y.; Zhang, Y.; Han, D.; Liu, J.; ... & Jiang, C. (2019). Selenium and *GPX4* in ferroptosis: a novel therapeutic target for acute kidney injury. *Cell Death & Disease*, 10(8), 639.
- Yildirim, Z.; Altinkaynak, K.; & Duran, A. (2021). Inflammation, oxidative stress, and cytokine response of acute kidney injury in COVID-19 patients. *Journal of Nephrology*, 34(2), 337-344. DOI: 10.1007/s40620-020-00868-8.
- Zhang, J.; Liu, Q.; Zhang, W. (2017). Mechanisms and therapeutic targets of ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation. *Journal of Transplantation*, 2017, 5678741.
- Zhang, J.; Wang, Y.; & Yan, Y. (2019). *GPX4*: A new player in the pathology of various diseases. *Journal of Biomedical Research*, 33(6), 347-355.
- Zhang, R., Kang, R., & Tang, D. (2021). Polifenol türevi bileşiklerin antioksidan etkileri ve böbrek hasarlarında gen ekspresyon regölasyonu. *Redox Biology*, 45, 102014.
- Zhao, X., & Liu, J. (2020). The Clinical Implications of Kidney Injury Molecule-1 in Chronic Kidney Disease. *Journal of Nephrology*, 33(2), 231-242.
- Zheng, Y., & Hu, X. (2022). Insulin resistance and oxidative stress in diabetic nephropathy. *Diabetes & Metabolism*, 48(2), 101234. DOI: 10.1016/j.diabet.2021.101234.
- Zhou, Y., & Zhang, W. (2024). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute kidney injury and chronic kidney disease: Current perspectives. *Journal of Nephrology*, 37(1), 15-29. doi:10.1007/s40620-023-01562-4.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Khasiiat Iminova
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	
Lisans:	
Yüksek lisans:	
Doktora:	
Yabancı Dil Bilgisi	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Tezden Üretilmiş Yayınlar	
1.	
2.	