

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA POTASYUM OKSONATLA OLUŞTURULAN  
DENEYSEL HİPERÜRİSEMİDE NARİNGENİN'İN KARACİĞER  
VE BÖBREKTE SİTOKİN, APOPTOSİS, DNA HASARINA VE  
KAN ÜRİK ASİT DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

**Zehra ÇALIŞ**

**DOKTORA TEZİ**  
FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**Danışman**  
**Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ**

**KONYA-2021**

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA POTASYUM OKSONATLA OLUŞTURULAN  
DENEYSEL HİPERÜRİSEMİDE NARİNGENİN'İN KARACİĞER  
VE BÖBREKTE SİTOKİN, APOPTOSİS, DNA HASARINA VE  
KAN ÜRİK ASİT DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

**Zehra ÇALIŞ**  
**DOKTORA TEZİ**  
FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**Danışman**  
**Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ**

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü  
tarafından 19202068 proje numarası ile desteklenmiştir.

**KONYA-2021**

## ÖNSÖZ

Eğitimim süresince ve tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübesi ile yol gösteren, bu süreçte karşılaştığım her zorlukta desteğinden ve anlayışından emin olduğum değerli danışmanım Prof. Dr. Rasim MOĞULKOÇ'a, tez izleme komitesindeki hocalarım Prof. Dr. Abdulkerim Kasım BALTACI ve Prof. Dr. Abdullah SİVRİKAYA'ya, Anabilim Dalımızdaki tüm hocalarıma ve başta Dr. Derviş Daşdelen olmak üzere tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu süreçte maddi manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim aileme ve bilhassa yakın tarihte kaybettiğim babama tüm kalbimle şükranlarımı sunarım.



## İÇİNDEKİLER

|                                                                  |             |
|------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>SİMGELER ve KISALTMALAR .....</b>                             | <b>v</b>    |
| <b>ÖZET.....</b>                                                 | <b>viii</b> |
| <b>SUMMARY .....</b>                                             | <b>ix</b>   |
| <b>1.GİRİŞ .....</b>                                             | <b>1</b>    |
| 1.1.Hiperürisemi .....                                           | 1           |
| 1.1.1.HÜ ve İnflamasyon .....                                    | 3           |
| 1.1.2.HÜ ve Oksidatif Stres .....                                | 11          |
| 1.1.3.Deneysel HÜ Modeli .....                                   | 13          |
| 1.1.4.Hiperüriseminin Karaciğer ve Böbrek Üzerine Etkileri ..... | 14          |
| 1.2.Antioksidan Savunma Sistemleri .....                         | 16          |
| 1.2.1.Glutatyon Peroksidaz (GPx) .....                           | 17          |
| 1.2.2.Ksantin Oksidaz (XO) .....                                 | 18          |
| 1.3.Flavonoidler.....                                            | 19          |
| 1.3.1.Naringenin .....                                           | 21          |
| 1.4.Apoptozis.....                                               | 24          |
| 1.4.1.Apoptozis Mekanizmaları.....                               | 25          |
| 1.4.2.Sitokrom C .....                                           | 27          |
| 1.4.3.8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) .....                    | 28          |
| 1.4.4.Kaspaz 3.....                                              | 30          |
| <b>2.GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                    | <b>32</b>   |
| 2.1.Kimyasallar .....                                            | 32          |
| 2.2.Hayvanlar .....                                              | 32          |
| 2.3.Biyokimyasal Analizler .....                                 | 33          |
| 2.3.1.Serum Ürik Asit Analizi .....                              | 33          |
| 2.3.2.TNF- $\alpha$ Analizi.....                                 | 33          |
| 2.3.3.NF- $\kappa$ B Analizi .....                               | 34          |
| 2.3.4.IL-17Analizi.....                                          | 34          |
| 2.3.5.Sitokrom C Analizi .....                                   | 35          |
| 2.3.6.GPx Analizi.....                                           | 35          |
| 2.3.7.Kaspaz 3 Analizi.....                                      | 35          |
| 2.3.8.XO Analizi.....                                            | 36          |

|                                   |           |
|-----------------------------------|-----------|
| 2.3.9.8-OHdG Analizi.....         | 36        |
| 2.4.İstatistiksel Analizler ..... | 37        |
| <b>3.BULGULAR .....</b>           | <b>38</b> |
| 3.1.Ürik Asit .....               | 38        |
| 3.2.XO .....                      | 38        |
| 3.3.GPx.....                      | 40        |
| 3.4.TNF $\alpha$ .....            | 42        |
| 3.5.IL-17 .....                   | 43        |
| 3.6.NF- $\kappa$ B.....           | 44        |
| 3.7.Sitokrom C .....              | 45        |
| 3.8.Kaspaz 3 .....                | 47        |
| 3.9.8-OHdG .....                  | 48        |
| <b>4.TARTIŞMA .....</b>           | <b>50</b> |
| <b>5.SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>   | <b>63</b> |
| <b>6.KAYNAKLAR .....</b>          | <b>64</b> |
| <b>7.EKLER.....</b>               | <b>75</b> |
| <b>8. TURNİTİN RAPORU .....</b>   | <b>76</b> |
| <b>9.ÖZGEÇMİŞ.....</b>            | <b>77</b> |

## GRAFİKLER DİZİNİ

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| <b>Grafik 3.1.1:</b> Serum ÜA Değerleri.....                  | 38 |
| <b>Grafik 3.2.1:</b> Böbrek XO Değerleri .....                | 39 |
| <b>Grafik 3.2.2:</b> Karaciğer XO Değerleri .....             | 40 |
| <b>Grafik 3.3.1:</b> Böbrek GPx Değerleri .....               | 41 |
| <b>Grafik 3.3.2:</b> Karaciğer GPx Değerleri .....            | 41 |
| <b>Grafik 3.4.1:</b> Böbrek TNF- $\alpha$ Değerleri .....     | 42 |
| <b>Grafik 3.4.2:</b> Karaciğer TNF- $\alpha$ Değerleri .....  | 43 |
| <b>Grafik 3.5.1:</b> Böbrek IL-17 Değerleri.....              | 43 |
| <b>Grafik 3.5.2:</b> Karaciğer IL-17 Değerleri .....          | 44 |
| <b>Grafik 3.6.1:</b> Böbrek NFKB Değerleri .....              | 44 |
| <b>Grafik 3.6.2:</b> Karaciğer NF- $\kappa$ B Değerleri ..... | 45 |
| <b>Grafik 3.7.1:</b> Böbrek Sitokrom C Değerleri.....         | 46 |
| <b>Grafik 3.7.2:</b> Karaciğer Sitokrom C Değerleri .....     | 47 |
| <b>Grafik 3.8.1:</b> Böbrek Kaspaz 3 Değerleri .....          | 47 |
| <b>Grafik 3.8.2:</b> Karaciğer Kaspaz 3 Değerleri .....       | 48 |
| <b>Grafik 3.9.1:</b> Böbrek 8-OHdG Değerleri .....            | 49 |
| <b>Grafik 3.9.2:</b> Karaciğer 8-OHdG Değerleri .....         | 49 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR

|               |                                           |
|---------------|-------------------------------------------|
| ABCG2         | :ATP Bağlayıcı Kaset Süper Aile G Üyesi 2 |
| BAK           | :BCL-2 antagonist killer 1                |
| BAX           | : BCL-2 associated X apoptosis regülatör  |
| BUN           | : Kan Üre Nitrojen                        |
| CAT           | : Katalaz                                 |
| CCl(4)        | : Karbon Tetraklorid                      |
| CEL           | : Celery                                  |
| COL           | : Kolsisin                                |
| EAE           | : Deneysel Otoimmün Ensefelomiyelit       |
| EGCG          | : Epigallokateşin                         |
| FADD          | : Fas İle İlişkili Ölüm Domain            |
| FHT           | : Fangji Huangqi Decoction                |
| GA            | : Gut Artriti                             |
| GLUT 9        | : Glukoz Taşıyıcısı 9                     |
| GOT           | :Glutamat Oksalat Transaminaz             |
| GPx           | : Glutasyon peroksidaz                    |
| GPT           | : Glutamat Pirüvat Transaminaz            |
| HbA1c         | : Hemogloblin A1c                         |
| HVSMC         | : İnsan Vasküler Düz Kas Hücreleri        |
| HÜ            | : Hiperürisemi                            |
| IAP           | : İnhibitör Apoptoz Protein               |
| IL-1 $\beta$  | : İnterlökin 1 $\beta$                    |
| IL-17         | : İnterlökin-17                           |
| IFN- $\gamma$ | : İnterferon Gama                         |
| I.P.          | : İntraperitoneal                         |
| İNOS          | : İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz      |
| KBH           | : Kronik Böbrek Hastalığı                 |
| LTB4          | : Lökotrien B4                            |
| MAIT          | : Mucosal-associated invariant T          |
| MCP-1         | : Monosit kemoatraktan protein-1          |

|                    |                                               |
|--------------------|-----------------------------------------------|
| MDA                | : Malondialdehit                              |
| MAPK               | : Mitojen Aktive Protein Kinaz                |
| MOMP               | : Mitokondriyal Dış Zar Geçirgenliği          |
| MSU                | : Monosodyum Ürat                             |
| MTX                | : Metotreksat                                 |
| NPT1               | : Sodyum Bağımlı Fosfat Ortak Taşıyıcısı 1    |
| NAR                | : Naringenin                                  |
| NF-κB              | : Nükleer Faktör-Kappa B                      |
| NO                 | : Nitrik oksit                                |
| NAID               | : Nonsteroit Antiinflatuar İlaçlar            |
| NLRP 3             | : NOD-Like Reseptör 3                         |
| OH•                | : Hidroksil radikali                          |
| OONO-              | : Peroksinitrit                               |
| O <sub>2</sub> - . | : Süperoksit radikali                         |
| OAT 1              | : Organik Anyon Taşıyıcısı 1                  |
| PAR                | : Parsley                                     |
| PGE <sub>2</sub>   | : Prostoglandin E <sub>2</sub>                |
| PLD                | : Polidatin                                   |
| PO                 | : Potasyum Oksonat                            |
| ROS                | : Reaktif Oksijen Türleri                     |
| SR                 | : Serbest Radikal                             |
| SOD                | : Süperoksit Dismutaz                         |
| STZ                | : Streptozotosin                              |
| TNF-α              | :Tümör Nekroz Faktör-Alfa                     |
| TNFR1              | : TNF Reseptörü Tip 1                         |
| TNFR2              | : TNF Reseptörü Tip 2                         |
| TRADD              | : TNF Reseptörü İle İlişkili Ölüm Domain      |
| TRAIL              | : TNF ile İlişkili Apoptozu İndükleyen Ligand |

|        |                            |
|--------|----------------------------|
| sTRAIL | : Çözülebilir TRAIL        |
| URAT 1 | : Ürat Anyon Taşıyıcısı 1  |
| ÜA     | : Ürik Asit                |
| XO     | : Ksantin Oksidaz          |
| 8-OHdG | : 8-Hidroksideoksiguanozin |



## ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### **Sıçanlarda Potasyum Oksonatla Oluşturulan Deneysel Hiperürisemide Naringenin'in Karaciğer Ve Böbrekte Sitokin, Apoptosis, DNA Hasarına Ve Kan Ürik Asit Düzeylerine Etkisi**

**Zehra ÇALIŞ**

**Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ / KONYA-2021**

Hiperürisemi (HÜ) kanda yüksek ürik asit seviyeleri ile karakterize metabolik bir hastalıktır. HÜ, Diyabet, kardiyovasküler komplikasyonlar, metabolik sendrom ve kronik böbrek hastalığı için bir risk faktörüdür. Mevcut çalışmanın amacı sıçanlarda deneysel hiperüriseminin kan ürik asit ile böbrek ve karaciğer dokularındaki XO, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, IL-17, Sitokrom C, GPx, Kaspaz 3, 8-OHdG düzeylerine olan etkisini belirlemektir. Çalışma Wistar Albino tipi 35 adet erkek sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Deney grupları şu şekilde oluşturuldu. 1) Kontrol, 2) PO, 3) PO+ Naringenin (2 haftalık), 4) PO+ Naringenin grubu (4 haftalık). 1.gruba normal rat yemi ve içme suyu dışında herhangi bir şey verilmedi. 2. gruba 2 hafta boyunca 250 mg/kg intraperitoneal potasyum oksonat (PO) uygulaması yapıldı. 3. gruba 250 mg/kg intraperitoneal potasyum oksonat uygulaması (2 hafta) ve her uygulamadan 1 saat sonra 100 mg/kg Naringenin intraperitoneal olarak uygulandı (2 hafta). 4.gruba 2 hafta boyunca intraperitoneal potasyum oksonat uygulamasının ardından 2 hafta boyunca intraperitoneal Naringenin uygulaması (toplam 4 haftalık) yapıldı.

Deney sürelerinin bitiminde genel anestezi altında öldürülen hayvanlardan alınan kan örneğinde serum ürik asit, böbrek ve karaciğer dokularında ise XO, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, IL-17, Sitokrom C, GPx, Kaspaz 3, 8-OHdG seviyeleri belirlendi.

PO ile uyarılan hiperürisemi, karaciğer ve böbrek dokularında XO, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, IL-17, Sitokrom C, Kaspaz 3, 8-OHdG seviyelerini ve serum ürikasit seviyelerini artırırken naringenin uygulaması bu değerleri azalttı. Ayrıca Naringenin takviyesi dokulardaki GPx seviyelerinde artışa yol açtı.

Çalışmanın sonuçları deneysel hiperürisemide artan inflamasyon, apoptozis ve DNA hasarının naringenin uygulamasıyla önlenemediğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Hiperürisemi, Naringenin, XO, IL-17, Sitokrom C, GPx, Kaspaz 3, 8-OHdG, rat

## SUMMARY

REPUBLIC OF TURKEY  
SELCUK UNIVERSITY  
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

### **The Effect Of Naringenin On Cytokine, Apoptosis, DNA Damage And Blood Uric Acid Levels İn Liver And Kidney İn Experimental Hyperuricemia Induced By Potassium Oxonate İn Rats**

**Zehra ÇALIŞ**  
**Department of Physiology**  
**PhD THESIS / KONYA-2021**

Hyperuricemia (HU) is a metabolic disease characterized by high uric acid levels in the blood. HU is a risk factor for Diabetes, cardiovascular complications, metabolic syndrome and chronic kidney disease. The present study was performed to determine the effect of experimental hyperuricemia on blood uric acid and XO, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, IL-17, Cytochrome C, GPx, Caspase 3, 8-OHdG levels in kidney and liver tissues in rats. Wistar Albino type 35 male rats were used for this study. Experimental groups were formed as follows. 1) Control, 2) PO, 3) PO+ Naringenin (2 weeks), 4) PO+ Naringenin group (4 weeks). The first group was not given anything other than normal rat food and drinking water. In the second group, 250 mg/kg intraperitoneal potassium oxonate (PO) was administered for 2 weeks. In the third group, 250 mg/kg intraperitoneal potassium oxonate application (2 weeks) and 100 mg/kg Naringenin intraperitoneally one hour after each application were administered. In the 4th group, intraperitoneal potassium oxonate administration was applied for 2 weeks, followed by intraperitoneal administration of Naringenin for 2 weeks (4 weeks in total).

At the end of the experimental period, serum uric acid levels were determined in blood samples taken from animals killed under general anesthesia, and XO, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, IL-17, Cytochrome C, GPx, Caspase 3, 8-OHdG levels were determined in kidney and liver tissues.

While hyperuricemia increased serum uric acid and XO, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, IL-17, Cytochrome C, Caspase 3, 8OH-dG levels in kidney and liver tissues, administration of naringenin decreased these values. In addition, Naringenin supplementation led to an increase in GPx levels in tissues.

The results of the study show that increased inflammation, apoptosis and DNA damage in experimental hyperuricemia can be prevented by the administration of naringenin.

**Key words:** Hyperuricemia, Naringenin, XO, IL-17, Cytochrome C, GPx, Caspase 3, 8-OHdG, rat

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Hiperürisemi

Hiperürisemi (HÜ) kanda yüksek ürik asit seviyeleri ile karakterize metabolik bir hastalıktır (Puig ve Martinez 2008). HÜ, Diyabet, kardiyovasküler komplikasyonlar, metabolik sendrom ve kronik böbrek hastalığı için bir risk faktörüdür (Jin ve ark 2012, Liu ve ark 2015). Anormal pürin metabolizması ya da azalmış ürik asit boşaltımı primer hiperürisemiye sebep olur. İnsan vücudundaki ürik asitin 2/3' ü karaciğer, kaslar ve bağırsaklardan, 1/3' ü ise deniz ürünleri ve et gibi zengin pürin içeren diyetlerden gelir (Kang ve Chen 2011). Ürik asit pürin yıkımının son ürünüdür ve bunun homeostasisi üretim ve eliminasyon arasındaki dengeye bağlıdır. Ürik asit seviyelerinin erkeklerde 7 mg/dl üzeri ve kadınlarda 6 mg/dl üzeri olması HÜ olarak tanımlanmıştır (Li ve ark 2014). HÜ başlıca, alkol tüketimi, früktozdan zengin diyet, deniz ürünleri veya etin aşırı tüketimi, diüretikler, bazı ilaçlar ve anjiyotensin dönüştürücü enzimler ile ilişkilidir (Lapi ve ark 2013, Zhu ve ark 2016).

Hiperürisemi gut atağının asıl sebebidir (Liu ve ark 2015). Gut, başlıca kronik metabolik bir bozukluğun sebep olduğu klinik bir sendromdur. Bu metabolik hastalık genellikle serum ürik asit konsantrasyonunda artış, eklemlerde ve diğer dokularda monosodyum urat (MSU) kristal depozisyonu ile ilişkilidir (Liang ve ark 2019). Ürik asitin birikimi monosodyum urat kristalleri oluşumuna öncülük eder. Bu da hepatik ve renal yaralanmalara yol açarak aşırı ağrı ve enflamatuvar tepkiye sebep olabilir (Aroor ve ark 2017). HÜ, gut artriti gelişimi için önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir. İnsanlarda ve diğer bazı primatlarda olduğu gibi HÜ için temel risk faktörü ürikaz geninin mutasyonel inaktivasyonudur. Bu enzim diğer memelilerde ürati daha çözülebilir molekül olan allantoina indirger. Bununla birlikte HÜ oluşturmak için ek faktörler gereklidir ki bunlar da uratın azalmış renal atılımı, aşırı hücre ve pürin devir hızı, diyetle pürin alımı ve/veya urat aşırı üretimini içerir (Borghi 2017). Pürin metabolizmasında ksantin ve hipoksantin, ksantin oksidaz (XO) aktivitesiyle ürik asite okside olur. Ürik asitin üriner atılımını arttırma veya ürik asit biyosentezini inhibe etme kabiliyetine sahip bileşikler genellikle gut tedavisi için kullanılmıştır (Ishibuchi ve ark 2001).

Ürik asit, ksantin ve hipoksantin XO enzimi tarafından oksidasyonunun metabolik ürünüdür. XO tarafından ürikasitin uzun süreli aşırı üretimi ve /veya ürik asitin böbrekler tarafından yetersiz atılımı HÜ'ye ve MSU kristal birikimine sebep olabilir. Bu MSU kristalleri akut inflamatuvar yanıtı sebep olabilir ve progresif doku hasarını indükleyebilirler (Liang ve ark 2019). Bu nedenle son dönemde klinikte HÜ ve gut tedavisinde uygulanan hipoürisemik ajanlar XO inhibitörleri (örn. allopurinol) ve ürikozürik ajanlar (örn. probenecid ve benzbromarone) olarak ikiye ayrılabilir (Dubchak ve Falasca 2010). Bu ilaçlar serum ürik asit seviyesini düşürmede etkili olmasına rağmen hepatit, alerjik reaksiyonlar, nefropati, gastrointestinal irritasyon, kemik iliği baskılanması ve renal toksisite gibi klinik uygulamayı sınırlandıran bazı yan etkileri vardır (Osada ve ark 1993, Liang ve ark 2019). Allopurinol, HÜ tedavisinde kullanılır fakat akut gutu tedavi etmede etkin değildir (Becker ve ark 2015). Nonsteroit antiinflamatuvar ilaçlar (NAID), antienflamatuvar ve analjezik etkilerini başlıca siklooksijenaz seviyesini azaltarak yaparlar (Knights ve ark 2010). Lotus ve Colchicum autumnale kökünden izole edilen bir alkaloid olan kolsisin (COL), inflamasyonu ve ÜA kristallerinin depozisyonunu azaltır ve başlıca akut gut tedavisinde kullanılır. Ancak NSAID intestinal lezyonlara sebep olabilir ve böbrek problemleri riskini artırabilir. Kronik COL uygulaması nötropeni ve anemiye sebep olabilir. Daha ciddi COL toksisitesi konvülsiyonlar, koma, çoklu organ yetmezliği hatta ölümle sonuçlanabilir (Li ve ark 2017). Doğal ürünler, daha az yan etkiyle beraber potansiyel etkinliklerinden dolayı yeni farmasötiklerin kaynağı haline gelmiştir. Bu etkinin sebebi kompleks biyoaktif bileşiklerdir (Shinkafi ve ark 2015).

Böbrek ÜA boşaltan en önemli organdır. Klinik olarak HÜ'nün en yaygın sebepleri, ÜA'nın böbreklerden yetersiz atılımı, ürat anyon taşıyıcısı 1 (URAT1), glukoz taşıyıcısı 9 (GLUT 9) gibi ÜA salgı taşıyıcılarının down regülasyonu (Benn ve ark 2018) ve ATP bağlayıcı kaset süper aile G üyesi 2 (ABCG2), organik anyon taşıyıcısı 1(OAT1), sodyum bağımlı fosfat ortak taşıyıcısı 1 (NPT1) gibi geri emilim taşıyıcılarının up regülasyonudur (Hosomi ve ark 2012, Chiba ve ark 2015). Hiperürisemi son zamanlarda renal yaralanmalar için bağımsız bir risk faktörü olarak tanınmıştır (Tsai ve ark 2018). Renal tubulo interstisyel yaralanmalar sıklıkla ürat nefropatisinde tespit edilmiştir (Zhou ve ark 2012). Renal proksimal tubül tüm renal ürat transportunun hemen hemen tamamından sorumludur ve ürat geri emilimi için de primer yerdir (Kang ve ark 2002). Bir kere oluşturulduğunda MSU kristalleri tamamlayıcıyı ve IL-1 $\beta$ 'yı da kapsayan inflamatuvar sitokinleri salgılayan yerleşik

doku makrofajlarını aktive eder. Bu mediyatörler bir nötrofilik akımı desteklerler. Bu akut gutun iyi bilinen patofizyolojik özelliğidir. Sızma üzerine nötrofiller karşılaştıkları kristaller tarafından aktive olur. Araşidonik asit ürünleri prostoglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) ve Lökotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) gibi ek pro-enflamatuar araçları üretirler. MSU kristalleri ataklar arasında eklem sıvısında kalabilir, bu da MSU kristallerinin inflammatuar potansiyelinin sinoviyal sıvı elemanları tarafından modüle edilebildiğini öngörür (Borghi 2017).

### 1.1.1. HÜ ve İnflamasyon

Hiperüriseminin kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom ve renal hastalıklarla da bağlantısı tanımlanmıştır. İnflamasyonun, HÜ ve komorbid durumlar arasında majör bağlantı olduğuna inanılır (Borghi ve ark 2015). Ürik asitin inflammatuar mediyatörleri uyardığı ve inflammatuar reaksiyona sebep olduğu doğrulanmıştır (Wang ve ark 2015). Gutun diğer inflammatuar hastalıklarla, IL-6, interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), ve tümör nekroz faktör-alfayı (TNF- $\alpha$ ) içeren proinflammatuar sitokin üretimindeki hızlı artış gibi pek çok patogenetik özelliği paylaştığı bulunmuştur (Su ve ark 2018).

TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\gamma$  gibi sitokinler hem akut hem de kronik inflamasyon gelişiminde merkezi rol oynar. Bu inflammatuar sitokinler savunmada görev yapar fakat paradoksal olarak inflammatuar doku hasarına neden olur. İmmun hücrelerde sitokin üretimine istenmeyen sonuçları sınırlandırmak adına ince ayar vermek için koordine edilen farklı transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel mekanizmalar vardır (Smale 2010) (Glass ve ark 2010). Nükleer faktör-kappa B (NF-KB) ve mitojen aktive protein kinaz (MAPK) gibi sinyalleşme yolları sitokinlerin üretiminin transkripsiyonel düzenlemesi yoluyla esasen inflammatuar tepkinin ana düzenleyicileridir. Naringenin (NAR) dahil olmak üzere çeşitli bitki polifenollerinin, çoklu hücre tiplerinde proinflammatuar sinyal yollarını inhibe etmek yolu ile inflamasyonu düzenledikleri gösterilmiştir (Zeng ve ark 2018).

Hiperürisemik farelerde hepatik kaspaz-1, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  protein ekspresyonlarının arttığı gözlenmiştir (Qian ve ark 2019). Ürik asitin yüksek seviyelerinin organ hasarına sebep olma yatkınlığı ile oksidatif stresi uyarabildiği bildirilmiştir (Smith ve ark 2010). HÜ oluşumu serbest oksijen radikalleri üretimini

arttırır, lipid peroksidasyonunu destekler ve proinflamatuvar faktör ekspresyonunu up regüle eder (Li ve ark 2019). ÜA üretimine büyük miktarda reaktif oksijen türevleri (ROS) eşlik eder ve HÜ oksidatif stres oluşumu ile ilişkilidir (Oğuz ve ark 2017). Hiperürisemik farelerde kontrol grubuyla kıyaslandığında düşük SOD ve GSH-Px seviyeleri ve yüksek ROS seviyeleri gözlenmiştir (Li ve ark 2019). Sitokinler, CD4+ T lenfosit ve aktive makrofajlar gibi birçok hücre tipinden oluşan medyatörlerdir. Olgunlaşmamış CD4+ T hücreler (TH0), TH1 ve TH2 hücrelerine farklılaşma özelliği gösterirler ve TH1 ve TH2 hücreleri farklı sitokin sekrete edebilme yeteneğine sahiptirler (Park ve Barbul 2004). Sitokin sekresyonu, çeşitli inflamatuvar olaylar, toksinler, immun kompleksler, fiziksel incinmeler, bakteriyel ürünlerle uyarılabilir. Sitokinler polipeptid yapıda olup inflamasyonda en önemlileri interlökinler (IL) ve tümör nekroz faktör-alfadır. Proinflamatuvar sitokinler olarak adlandırılan TNF- $\alpha$  ve IL-1 birçok müşterek biyolojik özellik sergiler. Her ikisi de aktive makrofajlar, lenfosit ve diğer hücre tipleri tarafından oluşturulur (Kuralay ve Cavdar 2006).

#### **IL-17**

IL-17, yardımcı T hücreleri olarak kabul edilen Th17 hücreleri adı verilen aktive edilmiş CD4+ T hücreleri, CD8+ T hücreleri, nötrofiller, eozinofiller, monositler, NK hücreler ve astrositler, mikroglia/glia hücreleri, oligodendrositler gibi MSS hücreleri tarafından üretilen pro-inflamatuvar bir sitokindir (Ferretti ve ark 2003, Kawanokuchi ve ark 2008, Kim ve Moalem-Taylor 2011). Psoriasis, multipl skleroz ve romatoid artrit gibi sinir sistemi inflamatuvar hastalıklarında önemli rol oynar (Kawanokuchi ve ark 2008, Kellner 2013). IL-17 sinir sisteminde yer alan inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda ve inflamatuvar hücrelerin hasar bölgelerine alınmasında rol almaktadır (Hu ve ark 2011). IL-17'nin NF-KB'yi ve MAPK'ların 3 alt grubunu aktive ettiği bilinmektedir. Bunlar hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar (Erk1 ve Erk2), Jun NH2-terminal kinazlar (JNK) ve p38 çeşitli hücre tipleridir (Shembade ve Harhaj 2011).

IL-17 baskılanmasının, deney hayvanlarında pankreatik tümör gelişiminin inhibisyonuna yol açtığını gösterilmiştir. (Noubade ve ark 2011) CD4+ T hücrelerinde p38 MAPK sinyal yolu aktivasyonunun IL-17 üretiminin kontrol altına alınması açısından gerekli olduğunu göstermiştir. IL-17 için hem pro-inflamatuvar hem de antiinflamatuvar fonksiyonlar tanımlanmıştır. Bir yandan tümör gerilemesine

neden olan antitümör sitotoksik T hücre yanıtını teşvik eder, diğer yandan da tümör büyümesini teşvik eder (Murugaiyan ve Saha 2009). IL-17, otoimmün hastalık gelişimini baskılayabilen antiinflamatuvar etkiye sahiptir (Otani ve ark 2009).

Gutlu ve hiperürisemili Çinli hastalarda febuxostatın ürik asit ve proinflamatuvar sitokinler IL-6, IL-17 ve TNF- $\alpha$  serum seviyeleri üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmada, randomize olarak 156 hasta febuxostat (80 mg) ve plasebo gruplarına ayrılmıştır. Febuxostat anlamlı ölçüde serum ürik asit seviyelerini azaltmış, ayrıca TNF- $\alpha$  , IL-6, IL-17 serum seviyelerinde de azalma gözlenmiştir. Fakat bu gruptaki 78 hastanın 10'unun yan etki sebebiyle ilacı bıraktığı bildirilmiştir (Huang ve ark 2020). Gut artritli hastalarda Mucosal-associated invariant T (MAIT) hücrelerinin rolü ve osteoklastogenez üzerine etkilerinin incelendiği çalışma, gut artritli hastalar, hiperürisemili katılımcılar ve sağlıklı kontrollerin katılımı ile gerçekleştirilmiştir. Dolaşımdaki MAIT hücre seviyeleri GA li hastalarda anlamlı seviyede azalmış ancak IFN- $\gamma$ , IL-17 ve TNF- $\alpha$  üretimi için kapasiteleri korunmuştur. MAIT hücrelerinin sinovyal sıvıda biriktiği ve eklemlerdeki gutlu tofus dokularına sızdığı bulunmuştur.

Ayrıca aktive edilmiş MAIT hücreleri IL-6, IL-17 ve TNF- $\alpha$  salgılamış ve osteoklastogenezini kolaylaştırmıştır. MAIT hücreleri iltihaplı dokuya göç etme ve osteoklastogenezini indüklemeye potansiyeline sahiptir. Yani GA hastalarda inflamasyon ve kemik yıkımı patogenezinde MAIT hücrelerinin önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Cho ve ark 2020). MS'in hayvan modellemesi olan deneysel otoimmün ensefalomyelitli (EAE) farelerde diyetle uygulanan naringenin kan beyin bariyerini korumadaki faydalı etkilerinin incelendiği çalışmada, NAR uygulanan EAE farelerin tight junction ilişkili faktörleri arttırarak ve SSS de Evans Blue boyasını azaltarak sağlam bir kan-SSS bariyerine sahip olduğu gözlenmiştir. Ayrıca naringenin dalakta T hücresi salgılayan sitokinlerin (IFN- $\gamma$ , IL-17 ve IL-6) azalmasıyla sonuçlanan cDC lerin kemotaksisini ve antijen sunan işlevini bloke etmiştir. NAR, SSS'ye sızan patojenik T hücrelerini bloke etmiş ve pasif EAE'yi zayıflatmıştır. Bu nedenle NAR denritik hücrelerin ve T hücrelerinin SSS'ye kemokin aracılı göçünü bloke ederek EAE patogenezini hafifletmiştir ve MS ve T hücre aracılı diğer kronik otoimmün hastalıkların tedavisinde potansiyel aday olarak gösterilebileceği öngörülmüştür (Niu ve ark 2021). Otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların önlenmesi ve/veya tedavisi için T hücrelerinin seçici inhibisyonu ima edilmiştir. Bu tür bağışıklık düzenleyici işlevlere sahip bazı gıda bileşiklerinin bu amaca yönelik beslenme yaklaşımı olarak kullanılabileceği öngörülmüştür.

Naringenin bu anlamdaki etkinliğinin incelendiği bir çalışmada, fare T hücreleri, anti-CD3/CD28 (poliklonal TCR aktivasyonu) veya otoantijen MOG35-55 ile birlikte NAR varlığında uyarılmıştır. NAR'ın doza bağlı olarak anti-CD3/CD28 ve MOG35-55 indüklü T hücre proliferasyonunu ve T hücre sitokinleri olan IL-17, IL-6, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  üretimini baskıladığı bulunmuştur. İnhibe edilmiş T hücre proliferasyonunun G0/G1 fazında T hücre döngüsü durması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu da sırayla sikline bağımlı kinaz inhibitörü p27kip1'in gecikmiş bozunması ve aktive edilmiş T hücrelerinde retinoblastoma protein fosforilasyonunun downregülasyonu ile ilgili olduğu gösterilmiştir. Tüm bu T hücreleri baskılayan etkilerin, NAR'nin IL-2/IL-2R aracılı sinyal yolu ile etkileşimi ve aktive edilmiş T hücrelerinde STAT5 fosforilasyonu ile ilgili olabileceği ortaya konmuştur. Bu sonuçlara göre NAR'nin T hücre aracılı otoimmün inflamatuvar bozukluklarda önleyici terapötik bir ajan olma potansiyelini desteklemektedir (Niu ve ark 2018). NAR, UV ışınla oluşturulan deri hasarında IL-17'yi baskılamıştır (Martinez ve ark 2015).

#### **NF- $\kappa$ B**

NF- $\kappa$ B, Rel transkripsiyon faktörü ailesinin bir yesi olarak kabul edilmiştir. NF- $\kappa$ B/Rel transkripsiyon faktörü ailesi homo veya heterodimerler oluşturan yapısal olarak ilişkili çeşitli proteinlerden meydana gelir (Chen ve Ghosh 1999). NF- $\kappa$ B ailesi yeleri işlevsel açıdan farklı iki protein sınıfına ayrılabilir; 1) Başlangıçta inaktif prekürsör proteinler olarak sentezlenenler ve DNA'ya bağlanma yeteneğine sahip proteinler elde etmek için proteolitik işlem gerektirenler: NF- $\kappa$ B1 (p105) ve NF- $\kappa$ B2 (p100) ve 2) Transkripsiyonel açıdan aktif formlar şeklinde üretilenler: RelA, RelB ve c-Rel (Mercurio ve Manning 1999). NF- $\kappa$ B; inflamatuvar ve immün yanıtlar, oksidatif stres yanıtları, belirli viral genlerin ekspresyonu, hücre siklusları, hücre proliferasyonu, büyümesi, gelişmesi, farklılaşması, sağ kalımı ve apoptozu gibi pek çok kritik fizyolojik süreçte yer alan proteinleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu aktive eden bir transkripsiyon faktörü protein kompleksidir (Oeckinghaus ve Ghosh 2009). Ayrıca NF- $\kappa$ B'nin embriyo gelişimi, meme bezi, kemik, deri ve MSS dokuları dahil dokuların gelişiminde/fizyolojisinde hayati fonksiyonları bu transkripsiyon faktörünün önemini vurgulamıştır (Hayden ve Ghosh 2004). NF- $\kappa$ B aktivasyonunun apoptozu baskıladığı, hücre büyümesini ve

anjyogenezini arttırdığı, dolayısıyla kemoterapi direnci ve tümöröenez oluşumunu arttırdığı bilinmektedir (Bharti ve Aggarwal 2002).

PO ile uyarılan hiperürisemili farelerde ürikasiti azaltmak ve renal fonksiyonları iyileştirmede Fangji Huangqi Decoction (FHT)'nin etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada HÜ grubunda NF- $\kappa$ B ekspresyonununve IL-1 $\beta$ 'nin önemli şekilde arttığı gözlenirken FHT uygulaması ile NF- $\kappa$ B de anlamlı değışiklik olmadığı gözlenmiştir. Bu çalışma, FHT'nin leucine-rich repeat kinase 1 (LRRK1) geni aracılığı ile renal ürik asit transport sistemini düzenleyebileceğı, böylece serum ürik asit seviyesini azaltmak için ürik asit atılım kapasitesini arttırabileceğini göstermiştir (Xing ve ark 2020). Serum ürik asitin tromboz gelişimi ile ilgili olduğu bildirilmiştir fakat let-7c nin dahil olduğu trombozdaki yüksek ürik asit mekanizması net değildir. Let-7c upregölasyonu yoluyla miyosit arttırıcı faktör -2C (myocyte enhancer factor-2C) ye bağımlı NF- $\kappa$ B yolunu aktive ederek farelerde yüksek ürik asitin protrombotik etkisini ortaya çıkardığı gözlenmiştir (Cheng ve ark 2020). Tuna eti oligopeptitleri (TMOP) diyet uygulamasında HÜ ve renal inflamasyon fenotiplerinin hafiflediğı, ürik asit metabolizma yollarını yeniden programladığı, NLRP3 inflamatuvar ve TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B sinyal yollarının aktivasyonunu inhibe ettiğı ve p65-NF- $\kappa$ B nin fosforilasyonunu baskılayarak hiperürisemiye düzelttiğı gözlenmiştir. (Han ve ark 2020). Tip 2 diyabetli (T2DM) hastalarda HÜ ve obezitenin böbrek fonksiyonlarına etki mekanizmaları üzerine yapılan çalışmada ürik asitin, monosit kemotaktik protein 1 (MCP-1) ekspresyonu ve NF- $\kappa$ B aktivasyonunu arttırdığı gözlenmiş, sonuçlara göre yüksek ürik asit konsantrasyonlarının, obez olmayan T2DM hastalarında bile inflamatuvar yanıtın aktivasyonu ve oksidatif stresin indüklenmesi yoluyla endotel disfonksiyona yol açtığı gösterilmiştir (Li ve ark 2018). Ratlarda HÜ bağımlı alkole bağılı olmayan karaciğer yağlanmasında resveratrol uygulamasının NF- $\kappa$ B P65 deasetilasyonuna neden olduğu gözlenmiştir (Xu ve ark 2019).

PO indüklü hiperürisemili ratlarda polidatin (PLD) etkinliğinin araştırıldığı çalışmada PLD uygulamasının, serum ve idrarda ürik asit ve kreatinin seviyelerinin düşürerek, serum ve böbrekte proinflamatuvar sitokin üretiminin inhibisyonuna yol açtığı bildirilmiştir. Western blot analizleri PLD'nin, NF- $\kappa$ B p65 translokasyonunu, I $\kappa$ B $\alpha$  bozunmasını ve inflamatuvar bileşenlerin protein seviyelerini (NLRP3, ASC, ve kaspaz-1), down regüle ettiğı bunun da IL-1 $\beta$  salgısının azalmasına yol açtığını göstermiştir (Chen ve Lan 2017). Ürik asitin C reaktif protein, fibrinojen, ferritin ve C3 kompleman ekspresyonunu doza bağılı şekilde uyardığı gösterilmiştir.

İnflamasyonun metabolik ve kardiyovasküler hastalıklarda önemli patojenik rolü olması sebebi ile HÜ, proinflamatuvar NF-κB sinyal kaskadını aktive ederek hepatik inflamatuvar moleküllerin ekspresyonunu indükleyebilir (Spiga ve ark 2017). ÜA, NF-κB sinyalleşmesi yolu ile hipotalamik inflamasyona neden olabilir (Lu ve ark 2015). Çin tıbbında hiperürisemi ve gut tedavisinde sıkça kullanılan bir ilaç olan Simiao'nun renal koruyucu etkileri, metabolik sendromlu yüksek früktozla beslenen ratlarda renal glomeruler hasarı azaltmak için Sirt1 ekspresyonunun yukarı regülasyonu ve NF-κB/NLRP3 inflamatuvar aktivasyonunun baskılanması ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Ma ve ark 2015). β hücrelerinin in vitro ürikasitle muamele edilmesinin, IκBα fosforilasyonu yoluyla NF-κB sinyal yolunu aktive ettiği, bunun da upregüle edilmiş indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonu ve aşırı nitrik oksit (NO) üretimi ile sonuçlandığı gözlenmiştir. Ayrıca ürik asit uygulaması apoptozu arttırmış ve Min6 hücrelerinde Bcl-2 ekspresyonunu down regüle etmiştir. Artmış ürik asit seviyelerinin NF-κB-iNOS-NO sinyal aksı aracılığı ile β hücre yaralanmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Jia ve ark 2013). NF-κB sinyal aktivasyonu hiperürisemik fare tubulünde gözlenmiş, ürik asitin NF-κB sinyal aktivasyonu aracılığı ile renal inflamasyonu indüklediği bildirilmiştir (Zhou ve ark 2012). NAR, SOD, katalaz, GPx aktiviteleri ve glutatyon içeriğinde anlamlı artış ile birlikte MDA ve hidrojen peroksitte anlamlı azalma göstermiştir. NF-κB'yi deaktive etmiş ve proinflamatuvar sitokinleri azaltmıştır. Naringenin, rat dalağında iyonlaştırıcı radyasyon (IR) kaynaklı redoks dengesizliğini tersine çevirdiği gözlenmiştir (Abdel-Magied ve Shedid 2019). Karbon tetraklorid (CCl<sub>4</sub>) ile uyarılan karaciğer fibroziste naringenin hepatoprotektif etkilerinin araştırıldığı çalışmada NAR uygulamasının NF-κB aktivasyonunu engellediği ve fibrozisi önlediği bildirilmiştir (Hernández-Aquino ve ark 2017). NAR dalakta NF-κB'yi azaltmıştır (Abdel-Magied ve Shedid 2019).

### **TNF-α**

Tümör nekroz faktörü, IL-1β, IL-6, IL-8 gibi diğer sitokinlerin aktivasyon kaskadını indükleyebilen önemli bir pro-inflamatuvar sitokin olarak bilinmektedir (Austin ve Moalem-Taylor 2010). TNF etkilerini iki ayrı reseptör aracılığıyla ortaya çıkarır: konstitütif olarak eksprese edilen TNFR1 (TNF reseptörü tip 1; CD120a; p55/60) ve indüklenabilir olarak eksprese edilen TNFR2 (TNF reseptörü tip 2; CD120b; p75/80) (MacEwan 2002). TNFR1 bir hücre içi "ölüm bölgesine" sahiptir

ve nöronal ölümün kontrolünden sorumludur. TNFR2 T hücresi gelişimi ve proliferasyonu ile ilişkili olmasından dolayı nöronal korumaya katkıda bulunur (Fregnan ve ark 2012).

ÜA inflamatuvar medyatörleri uyarır ve inflamatuvar bir reaksiyona sebep olur (Wang ve ark 2015). In vivo murin kolitte naringenin TNF- $\alpha$  indüklü NF $\kappa$ B aktivasyonunu ve ağrı benzeri davranışları inhibe ettiği bildirilmiştir (Dou ve ark 2013). İnflamatuvar ağrının indüksiyonunda, oksidatif stres ve proinflamatuvar sitokinler arasında NF $\kappa$ B aktivasyonuna bağlı bir karışıklık vardır (Jamaluddin ve ark 2007). Naringenin tedavisi, MSU indüklü IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-17 sitokinlerini inhibe ettiği ve bu sonuçları doğrular şekilde MSU-uyarımli NF $\kappa$ B aktivasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir. NF $\kappa$ B aktivasyonunun inhibisyonu, naringenin etkisinde tutarlı bir mekanizma olarak gözükmemektedir. Böylece gut artritinde naringenin etki mekanizmasının, NF $\kappa$ B aktivasyonunun inhibisyonu ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Ruiz-Miyazawa ve ark 2018). Hiperürisemik ratlarda resveratrolün inflamatuvar yanıt ve renal yaralanma üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, idrar albümin ve  $\beta$ 2-mikroglobulin ekspresyon seviyelerinin resveratrol uygulamasından sonra anlamlı olarak azaldığı ve kontrol grubuyla kıyaslandığında resveratrol gruplarında serum kreatinin ve ürik asit seviyelerinin anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. İnterlökin-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar faktör seviyelerinin hiperürisemik ratlarda böbrek dokusu ve serumda arttığı ve resveratrol uygulamasının bunların ekspresyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir. Böbrek dokusundaki total antioksidan kapasitenin yanı sıra serum SOD ve XOD düzeylerinin tümü resveratrol uygulaması ile azalmıştır. Resveratrol inflamatuvar yanıtı düzenlemek yoluyla hiperürisemik nefropatiye karşı koruyucu olabilir (Xiao ve ark 2021).

Vasküler düz kas hücrelerinde ürik asitin TNF- $\alpha$  ekspresyonunu indüklediği gözlenmiştir. ÜA ROS seviyesini arttırmış ve p38 fosforilasyonunu aktive etmiştir. Sonraki deneylerde de p38 mitojen aktive protein kinaz (MAPK) inhibitörü, SB203580 ve NF- $\kappa$ B inhibitörü pirrolidin, ditiyokarbamatın TNF- $\alpha$  nın ÜA kaynaklı ekspresyonunu ortadan kaldırdığı doğrulanmıştır. Ürik asitin vasküler düz kas hücrelerinde ROS-MAPK-NF- $\kappa$ B sinyal yolu aracılığı ile TNF- $\alpha$  ekspresyonunu indüklediği ve ürik asitin proinflamatuvar ve proaterosklerotik etkilerini destekleyen yeni kanıtlar sağladığı gösterilmiştir (Tang ve ark 2017). Yüksek ürik asit diyeti proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonuna neden olur ve NF- $\kappa$ B yi aktive eder ve

hipotalamusta gliozisi arttırır (Lu ve ark 2015). Doğal bir flavonoid olan kuersetinin NF- $\kappa$ B- NOD-like receptor 3 (NLRP3) inflamasyon yolunu baskıladığı gözlenmiştir (Zhang ve ark 2014).

Parsley (PAR) ve celery (CEL)'nin hipoürisemik etkilerinin araştırıldığı çalışmada PAR ve CEL uygulamasının hiperürisemik farelerde serum BUN ve ÜA seviyelerini azalttığı, MDA, katalaz, azalmış glutatyon, IL-1 $\beta$ , GPX, TNF- $\alpha$  ve IL-10 seviyelerindeki değişiklikleri düzelttiği gözlenmiştir. Her ikisinin de mGLUT-9, mURAT-1, mOAT-1 ve mOAT-3 ekspresyonundaki değişiklikleri ve ayrıca TGF- $\beta$ 1 immunoreaktivitesindeki değişiklikleri etkili bir şekilde normalleştirdiği gözlenmiştir. PAR ve CEL'in kombine uygulanması incelenen tüm ölçümleri sinerjistik olarak hafiflettiği ve hiperürisemik farelerde böbrek fonksiyon bozukluğunu iyileştirdiği gözlenmiştir (Soliman ve ark 2020). Lesinurad ve Allopurinol'ün hiperürisemik farelerin böbrekleri üzerindeki biyokimyasal, moleküler ve hücresele seviyelerde potansiyel iyileştirici etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada Lesinurad ve Allopurinol uygulamasının hiperürisemik farelerde serum ürik asit ve BUN seviyeleri, XO aktivitesi, katalaz, GPx ve inflamatuvar sitokinlerde IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'da anlamlı azalma ile sonuçlandığı bildirilmiştir. Her ikisi de renal mURAT-1, mOAT-1, mGLUT-9 ve mOAT-3 ekspresyonlarında oksonatın neden olduğu değişiklikleri kısmen tersine çevirmiştir. Bu da renal ürik asit sekresyonu ve atılımının artması ile sonuçlanmıştır (Alghamdi ve ark 2020). Ratlarda DOX indüklü kardiyotoksisiteye karşı naringenin etkinliğinin araştırıldığı çalışmada DOX kontrol grubuna göre TGF- $\beta$ 1 mRNA ekspresyon seviyeleri, TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-10'u arttırırken karşı tedavi olan NAR bu inflamatuvar belirteçlerin mRNA ekspresyon seviyelerini hafifletmiş, histolojik kardiyak hasar ve kardiyak fonksiyonları geliştirmiştir (Subburaman ve ark 2014). 90 gün boyunca hiperkolesterolemik diyetle maruz kalan ratların böbrek ve trombosit membranlarındaki adenin nükleotitlerinin hidrolizini ve naringenin oksidatif ve inflamatuvar parametreler üzerindeki koruyucu etkisinin değerlendirildiği çalışmada, 90 gün boyunca naringenin birlikte uygulamasının (50 mg /kg) hiperkolesterolemik ratlarda renal bozukluğu önemli ölçüde önlediği renal belirteçlerdeki iyileşme ile gösterilmiştir. NAR, lipid profilini anlamlı olarak azaltmış ve hiperkolesterolemik rat böbreklerinde prooksidan ve inflamasyon markır seviyelerini inhibe ettiği gösterilmiştir (Chtourou ve ark 2016). Naringenin TNF  $\alpha$  ile uyarımlı gut vasküler bariyer bozulmasını NF- $\kappa$ B'yi azaltarak önlemiştir (Zhong ve ark 2021). Doğal

olarak oluşan bir flavonol olan fisetin, TNF- $\alpha$  ve IL-6'yı üresemide azaltmış, renal inflamatuvar tepkiyi bastırmış ve STAT3 ve TGF- $\beta$  sinyal yolları modülasyonu yoluyla hiperüresemik nefropatiye karşı korumak için böbrek fibrozunu iyileştirmiştir (Ren ve ark 2021).

### 1.1.2. HÜ ve Oksidatif Stres

Dış yörüngesinde bir veya birden fazla eşlenmemiş elektron bulunduran reaktif atomlar veya moleküller Serbest radikaller (SR) olarak adlandırılır ve reaktif yapılarından dolayı diğer moleküller ile reaksiyona girerek yapılarını bozma eğilimindedirler (Clarkson ve Thompson 2000). Radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron ayrılmasıyla veya radikal olmayan bir atom veya moleküle bir elektron ilavesiyle oluşurlar (Flora 2009). SR'ler aerobik metabolizmanın fizyolojik ürünüdür ve normal koşullar altında sinyalizasyon, apoptozis, antioksidan savunma sistemini (ASS) harekete geçirmek gibi birçok farklı görev için organizma tarafından kullanılmaktadır (Radak ve ark 2008).

Normal şartlarda endojen antioksidan sistem ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi reaktif türlere karşı yeterli korumayı sağlar. Ancak, biyolojik sistemde SR üretimi ve endojen antioksidan sistem arasındaki dengenin bozulması ve dengenin SR üretimi yönüne kayması durumunda oksidatif stres olarak adlandırılan durum ortaya çıkar (Bloomer ve Goldfarb 2004). Oksidatif stres, artmış oksidatif hasarla sonuçlanabilir. SR'lerin ya da ROS'un aşırı üretimi ya da endojen antioksidan savunma sistemindeki bir bozukluk buna sebep olabilir (Boots ve ark 2008). Oksidatif stres gut patogenezinde önemli rol oynar, IL-1 $\beta$  üretimi gibi bir dizi inflamatuvar olaydan sorumludur. Gut patogenezinin dayanarak inflamasyonu inhibe eden ve serum ÜA seviyesini düşüren tedavi stratejileri etkili olarak kabul edilmiştir (Li ve ark 2019).

HÜ, kronik böbrek hastalığı (KBH) başlangıcı ve gelişimi için bir risk faktörüdür ve aynı zamanda kronik böbrek hastalarında yan etki olarak ortaya çıkar. Ürik asitin böbrekteki en önemli etkisi oksidatif stresi tetiklemesidir (Roumeliotis ve ark 2019). ÜA plazma içinde güçlü bir antioksidan olarak hareket eder fakat hücre ortamına girdikten sonra oksidatif stresi destekler. Ürik asitin peroksinitrit, hidroksil ve demir içeren serbest radikaller gibi tehlikeli ve önemli prooksidanları nötralize etme yeteneğinden dolayı plazmada en seçici antioksidanlardan biri olduğu in vivo

ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. İnsanlarda total plazma antioksidan kapasitesinin yaklaşık %60 'ına karşılık gelen, plazmadaki en önemli antioksidan olduğu düşünülür (Schumacher Jr ve ark 2008). Fizyolojik seviyelerde ürik asit, köklü serbest radikal üreticileri olan aktive polimorfonükleer kan ve eritrosit hücreleri aracılı organ hasarını ortadan kaldırır (Becker 1993). Süperoksit dismutaz (SOD), ROS hasarını önleyen etkili bir antioksidandır. Ürik asitin ekstraselüler SOD'un yapı ve fonksiyonunu muhafaza ettiğini öne süren çalışmalar vardır (Hink ve Fukai 2002). Ayrıca ÜA, DNA'yı oksidatif hasara karşı korurken, oksidasyona maruz kalan herhangi bir nükleer alanın tamirine aracılık eder (Simic ve Jovanovic 1989). ÜA, ekstraselüler ortamda oksidanları temizlerken, hücre içine girdiğinde prooksidan gibi davranır. Bu etkisini şu mekanizmalar aracılığı ile gösterir. Lipidlerin peroksinitrit aracılı oksidasyonunun aktivasyonu, proinflamatuvar belirteçlerin stimülasyonu ve nitrik oksit (NO) endotelial seviyelerinin azalması. ÜA, hidrofilik hücre dışı ortamın aksine, hücre içinde hidrofobik ortamda prooksidan olarak etki edebilir (Santos ve ark 1999). ÜA, peroksinitrit gibi prooksidanlara bağlandıktan sonra bozunma süreci hem ROS hem de alkilleyici bileşikler üretir, bunlar ekstraselüler ortam içinde dolaşımda kolaylıkla çözülebilirler fakat hücre ortamında serbest radikal gibi hareket edebilirler (Sautin ve Johnson 2008). İnsan umbilikal ven endotelial hücrelerinin ürik asite maruziyetinin 6 mg/dL'lik fizyolojik sınırlarda bile ROS'un aşırı üretimi ile zaman ve doz bağımlı oksidatif patlamayı tetiklediği değerlendirilmiş ve müteakiben oksidatif hücre hasarının apoptosise neden olduğu görülmüştür. Bununla beraber HÜ aracılı OS'nin RAAS'ı (Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistem), daha fazla endotelial hasarı indüklemek için aktive etmiş ve ürik asitin hücre içine girişini engelleyen bir urat düşürücü ajan olan probenesid tarafından başarıyla ortadan kaldırıldığı bildirilmiştir. Vasküler hücrelerde ÜA'nın tetiklediği oksidatif stresin yaşlanma ve endotel hücrelerin apoptozunda rol alabileceği sonucuna varılmıştır (Yu ve ark 2010).

ÜA, oksidatif stresi renal ve sistemik inflamasyon gibi diğer moleküler yollar aracılığı ile de tetikleyebilir. İnflamasyon ve OS birbiriyle sıkı sıkıya bağlantılıdır ve özellikle Kronik böbrek hastalığında (KBH) biri diğerine sebep olabilir (Russa ve ark 2019). Farelerde HÜ indüklenmesine, böbreklerde inflamatuvar makrofajların ve T hücreleri infiltrasyonunun ve TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B ve monosit kemoatraktan protein -1 (MCP-1) gibi inflamatuvar biyobelirteçlerin eşlik ettiği bulunmuştur (Zhou ve ark 2012). Bir başka in vitro çalışmada ürik asitin, insan vasküler düz kas hücrelerinde

(HVSMC) antioksidan NO salınımını ortadan kaldırırken hücrelerin içine girmesinin, antioksidan mekanizmaların azalmasından ve CRP aktivasyonundan sorumlu olduğu öne sürülmüştür (Kang ve ark 2005). Glomeruler hipertansiyon, iskemi ve tubulointerstisyel inflamasyon ile sonuçlanan renal arterlerin kalınlaşmasının ve müteakiben artan oksidatif stresin ÜA ile hipertansiyon ve KBH arasındaki bağlantıyı açıklayacak bir mekanizma olabileceği önerilmiştir (Sanchez-Lozada ve ark 2005). (Sánchez-Lozada ve ark 2005)'nın hafif HÜ indüklenmiş normal ve 5/6 nefrektomize ratlarda yapılan çalışmasında, nefrektomize ratlarda, HÜ'nin sistemik ve renal hemodinamiklerde anlamlı değişikliklere sonrasında da renal otoregülasyon kaybı ile birlikte inflamasyon başlangıcı ve oksidatif strese sebep olduğu bulunmuştur.

### 1.1.3. Deneysel HÜ Modeli

PO, bir ürat oksidaz inhibitörüdür. Serum ürik asit konsantrasyonunu ürikaz yoluyla ürik asit dekompozisyonunu inhibe ederek arttırabilir (Tung ve Chang 2010). (Nguyen ve ark 2005)'nın çalışmasında ratlara, ürikaz inhibitörünü olan potasyum oksanat (250 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulanarak HÜ modeli oluşturulmuştur. PO, % 0.9 salin solüsyonunda çözülmüştür (Nguyen ve ark 2005). Bir hayvan modelinde gut ve HÜ çalışmak için, hepatik ürat oksidaz selektif inhibitörler tarafından bloke edilmiştir. PO, ürat oksidazın iyi bilinen bir inhibitörüdür ve ürik asit üretim, birikim ya da eliminasyonunun beklendiği tıbbi, toksikolojik ya da beslenme araştırmalarında HÜ hayvan modeli oluşturmak için sıklıkla kullanılır beslenme araştırmalarında HÜ hayvan modeli oluşturmak için sıklıkla kullanılır (Osada ve ark 1993). (Nguyen ve ark 2005)'nın çalışmasında PO' nun (250 mg/kg) İP uygulaması ile serum ürikasit seviyelerini belirgin şekilde arttırdığı ve enjeksiyondan sonra takibeden 2 saatten 8 saat sonrasına kadar serum ÜA seviyesindeki yavaş azalma ile  $C_{max}$ 'ı  $4.16 \pm 0.07$  mg/dl ye ulaştırdığı gözlenmiştir. Normal ratlardaki ÜA seviyelerinin  $1.48 \pm 0.01$  mg/dl olduğu gözlenmiştir. Yine aynı çalışmada hipoürisemik etkileri araştırılan, XO'ya karşı inhibitör aktivitesi bilinen bileşikler olan acacetin ve 4,5-O-dikaffeoilkinik asit metil esterinin serum ÜA seviyelerini doza bağlı olarak belirgin şekilde azalttığı fakat İP uygulamanın oral uygulamaya göre daha güçlü hipoürisemik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu

bileşiklerin 2 uygulama şekli arasında biyoyararlanımı farklıdır ve gözlemlenen hipourisemik etkilerinin gut flora metabolitlerinden ziyade kendi orijinal formlarından kaynaklandığı bildirilmiştir.

#### **1.1.4. Hiperüriseminin Karaciğer ve Böbrek Üzerine Etkileri**

HÜ, kronik böbrek hastalığı, hipertansiyon, gut artriti ve metabolik sendrom patogeneğinde önemli risk faktörüdür (Hua ve ark 2012) (Mandal ve Mount 2015). Daha önceki çalışmalarda HÜ hastalarında böbrek hasarının klinik semptomları bildirilmiştir (Susic ve Frohlich 2015). İlaçların gösterdiği dezavantajları göstermeyen doğal ürünler alternatif tedavi stratejileri açısından büyük bir fırsat sunmaktadır. Geleneksel bitkisel ilaçlardan elde edilen ajanların antihiperürisemik ve nefroprotektif etkilerini keşfetmek için pek çok çalışma yapılmıştır (Chen ve ark 2013, Hou ve ark 2014).

Potasyum oksonatla indüklenmiş hiperürisemi fare modelinde bir flavonoid türü olan antosiyanin uygulaması sonucu serum ürik asit, kan üre nitrojen (BUN) ve serum kreatinin seviyeleri anlamlı şekilde azalırken, fare serum ve karaciğerinde XO aktivitesinin baskılandığı gözlenmiştir. Antosiyaninlerin hepatik XO, kaspaz-1, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ekspresyonunu down regüle ettiği ve renal ürat taşıyıcıları ekspresyonunu düzenlediği gözlenmiştir. Antosiyanin uygulaması hiperürisemik farelerde hepatoprotektif ve nefroprotektif etkiler sergilemiş olup ürat üretimini azalttığı ve renal sistemden ürik asit boşaltımını desteklediği gözlenmiştir (Qian ve ark 2019).

PO indüklü hiperürisemide farelerin şiddetli tubüler dilatasyon, tubüler epitelyal hücre vakuolar dejenerasyonu, hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve renal interstisyel konnektif dokuda hafif hiperplazi sergiledikleri ve bunların bir flavonoid türü olan antosiyaninler tarafından tersine çevrildiği gözlenmiştir (Qian ve ark 2019). Oterasil potasyum ve maya özü tozu indüklü hiperürisemili farelerde serum ve karaciğer dokularında yüksek seviyelerde XO gözlenmiştir. Hiperürisemili fare modelinde GSH-Px, SOD, MDA ve NO'nun serum ve böbrek dokusu seviyelerinde anlamlı değişiklik gözlenmezken tersine karaciğer dokusunda bu 4 faktörde ciddi artış gözlenmiştir (Li ve ark 2017).

Çalışmalar üratın hem geri emilimini hem de sekresyonunu destekleyen kompleks transepitelyal taşıma sistemleri aracılığı ile renal ürat kullanımının önemli rolüne işaret ederek, çoğunlukla HÜ'li hastalarda azalmış ürat klirensinin olduğunu göstermişlerdir (Su ve ark 2018). (Su ve ark 2018)'nin çalışmasında HÜ grubunda serum ve hepatik XO seviyelerinde normal gruba göre artış gözlenirken hiperüriseminin inflamatuvar mediyatörleri uyardığı ve bir inflamatuvar reaksiyona sebep olduğu gözlenmiştir. Serum TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyeleri HÜ grubunda normal gruba göre anlamlı derecede yüksektir.

İnsanlarda ürik asit pürin katabolizmasının son ürünüdür, tubuler taşıyıcılar aracılığı ile başlıca böbrekler tarafından atılır. Renal atılımı nedeni ile glomeruler filtrasyon hızındaki herhangi bir azalmaya müteakip ürik asit retansiyonu eşlik eder. Kronik böbrek hastalığında bozulan renal fonksiyona karşı koymak için, KBH ilerledikçe yeterli olmasa da kompensatuvar bir bağırsak ürik asit çıkarımı vardır. Sonuç olarak serum ürik asidi artar ve hemodiyalize başlayan hastaların yaklaşık %50'si hiperürisemiktir (Suliman ve ark 2006). Bozulmuş renal fonksiyonların yanı sıra obezite, diyabet, hipertansiyon ve metabolik sendrom gibi kardiyovasküler hastalık ve yüksek mortaliteyle bağlantılı diğer durumlar hiperürisemi için risk faktörleri olarak ortaya çıkmıştır (Roumeliotis ve ark 2019).

PO ile uyarılan hiperürisemi modelinde, hiperürisemik farelerin serum glutamat pirüvat transaminaz (GPT), glutamat oksalat transaminaz (GOT), ürikasit ve BUN seviyelerinde artış, serum ve karaciğer XOD aktivitelerinde artış, GPx seviyelerinde de azalma gözlenmiştir. Ayrıca HÜ'nin, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  serum seviyelerinde anlamlı artışla bir inflamasyon durumunu indüklediği gözlenmiştir (Alghamdi ve ark 2020).

Ürik asit seviyelerindeki artıştan dolayı HÜ'nin ROS u arttırdığı gözlenmiştir (Smith ve ark 2010). HÜ, fibrozis ve renal doku yaralanması ile sonuçlanır. ÜA seviyelerindeki artıştan kaynaklanan, ekstraselüler sıvılarda yüksek sodyum seviyeleri ile birlikte inflamasyon ve fibroblast genişlemesini de içeren bu yaralanma doku nükleasyonu ile sonuçlanır. Böylelikle renal interstisyel hücre biyolojisini etkileyerek inflamasyona sebep olur (Kono ve ark 2010). Profibrotik faktörlerin (TGF- $\beta$ 1) immunoreaktivitesindeki upregülasyonun yanı sıra, ürik asitteki artış hiperürisemili hastaların fibrotik yollarının aktivasyonunu sağlayarak fibroblastların genişlemesine sebep olur (Romi ve ark 2017). (Tung ve ark 2015)'nin

çalışmasında hematoksilin & eozin (H&E) boyamanın gösterdiğine göre PO indüklü böbrek hasarının kortekste renal tubuler epitelyum nükleer yoğunlaşma veya medulla alanında çok sayıda hyalin döküntü görünümüne sebep olduğu gösterilmiştir. Bir başka çalışmada NF-κB'nin kronik glomerulonefritte önemli rol oynadığı gösterilmiştir. İntraperitoneal PO uygulamasından 3 saat sonra hiperürisemik hayvanlar kontrol grubuna göre daha yüksek serum BUN seviyeleri ( $40.2 \pm 1.2$  mg/dl), kreatinin ( $0.44 \pm 0.02$  mg/dl) ve ürik asit ( $2.9 \pm 0.3$  mg/dl) seviyelerine sahip oldukları gözlenmiştir. Kontrol grubu seviyeleri sırası ile ( $16.6 \pm 0.7$ ,  $0.10 \pm 0.01$  ve  $0.8 \pm 0.1$  mg/dl) şeklinde olduğu bu yüzden PO enjeksiyonundan 3 saat sonra serum ürik asit seviyelerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında 3 kat daha fazla arttığı bildirilmiştir (Xiong ve ark 2009). 12 haftalık oksonik asit uygulamasının (750 mg/kg) böbrekte apoptozise yol açtığı gözlenmiştir (Dera ve ark 2020).

## **1.2. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Serbest radikal oluşumunu engelleyerek otooksidasyonu geciktiren ve bir ya da daha fazla mekanizma ile serbest radikallerin yayılmasını durduran bileşikler ya da sistemler antioksidanlar olarak adlandırılır. Metal iyonlarını bağlamak, peroksidasyonu başlatan türlerin uzaklaştırılması, , peroksit oluşumunu engelleyerek  $O_2^{\bullet-}$  nin uzaklaştırılması, otooksidatif zincir reaksiyonlarını kırmak, lokalize  $O_2$  konsantrasyonunu azaltmak bu mekanizmalar arasındadır (Brewer 2011).

Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olarak incelenirler: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) glutatyon peroksidaz (GSH-Px) birinci derece enzimatlere, glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz 6- fosfat dehidrojenaz (G6PD) ikinci derece enzimatlere örnek gösterilmektedir (Ratnam ve ark 2006, Pellegrini ve ark 2009). Non-enzimatik olanlar ise; Mineral (Se, Zn), vitamin (A, C, K ve E), karotenoidler ( $\beta$ -karoten, likopen, lutein, zeaksantin), organosülfür bileşikleri (allium, allil sülfid, indoller), düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar (GSH-Px, ürik asit), antioksidan ko-faktörler (ko-enzim Q10) ve polifenoller şeklinde incelenmektedir (Ratnam ve ark 2006, Cemeli ve ark 2009).

Singlet oksijenin eliminasyonunda,  $\beta$ -karoten ve öteki karotenoidler kadar vitamin A ve diğer retinoidler etkili olurlarken, hidrojen peroksit Se içeren GSH-Px enzimi tarafından, süperoksit anyon radikali ise bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren sitoplazmik

enzimler ya da mangenez (Mn) içeren mitokondiriyal SOD tarafından etkili biçimde elimine edilmektedir (Hassimoto ve ark 2008).

### 1.2.1. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon; glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşur ve endojen bir radikal temizleyici antioksidan moleküldür. Glutasyon peroksidaz enzimi aracılığıyla hidrojen peroksitin suya dönüşümünde görev alır (Zhu ve ark 2013).

GPx, selenyum içeren bir antioksidan enzimdir.  $H_2O_2$  ve lipid peroksitlerini sırasıyla su ve lipid alkollerine etkin şekilde indirgeyen enzim, sırayla glutasyonu, glutasyon disülfide okside eder (Hecker ve ark 2013). Yapılan bir çalışmada Hindistan cevizi yağından zengin diyetle beslenen ratlarda düşük GPx aktivitesi bildirilmiştir (D'aquino ve ark 1991). Bir başka çalışmada hindistan cevizi yağı bazlı yüksek doymuş yağlı diyetle 4 hafta beslenen farelerin kalp, karaciğer ve böbrek dokularında GPx aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir (Lin ve ark 2004). 10 gün boyunca 250 mg/kg intraperitoneal potasyum oksonatla indüklü HÜ modelinde, HÜ grubunda GPx aktivitesi azalırken, XO serum ve karaciğer seviyelerinde artış, serum TNF $\alpha$  seviyelerinde artış gözlenmiştir. Geleneksel tıpta kullanılan Parsley (*Petroselinum crispum*, PAR) ve Celery (*Apium graveolens* L, CEL) nin bu parametrelerde düzelme sağladığı gözlenmiştir (Soliman ve ark 2020).

HÜ, serbest oksijen radikali üretimindeki artış, oksidatif stres, proinflamatuvar sitokinler ve mediyatörlerin up regülasyonu ile bağlantılıdır (Kuwabara 2015). Bilindiği gibi katalazlar ve peroksidazlar oksidoredüktazlardır.  $H_2O_2$ 'nin zararlı etkisine karşı koymak için reaktif oksijen türlerine karşı moleküler savunma mekanizmalarında yer alırlar (Zámocký ve ark 2001). Farelerde hücre hasarı ve inflamasyonla oluşan artmış oksidatif stres, katalaz ekspresyonundaki ve /veya sekresyonundaki bir artış ile hafifletilir (Selvaratnam ve Robaire 2016). Buna paralel olarak antioksidan enzim GPx, hücrel serbest radikallerin süpürülmesine yardımcı olur. GPx, lipid peroksidasyonunu önler ve intraselüler homeostasisi sağlar (Zamudio-Cuevas ve ark 2015). Ratlarda testis kadmium toksisitesinde 4 hafta boyunca oral 50mg/kg NAR uygulamasının GPx'i arttırdığı gözlenmiştir (Zedan ve ark 2021). NAR 20 mg/kg 4 hafta uygulamasının karaciğer yaralanmalarında GP'x i arttırdığı gözlenmiştir (Ahmed ve ark 2019). Oral yoldan 45 gün boyunca 50-100 mg/kg NAR uygulamasının, streptozotosin (STZ) ile uyarılan karaciğer

komplkasyonlarını önlemeye yardımcı olduğu ve GPx'i arttırdığı bildirilmiştir (Rashmi ve ark 2018). Deri yaralanmasında 7 günlük NAR uygulaması inflamasyonu baskılamış ve GPx'i arttırmıştır (Al-Roujayee 2017).

### 1.2.2. Ksantin Oksidaz (XO)

XO, insanlarda ve diğerk bazı ürikotelik türlerde pürin nükleotid metabolizması katabolik sekansının sonunda yer alır. Majör fonksiyonu hipoksantin ve ksantine oksidasyonunu ve ksantini ürik aside katalize etmektir (Harris ve ark 1999). Gut ve HÜ, vücutta anormal ürik asit oranları ile ilişkili metabolik bozukluklardır. Eklemlerde ve böbreklerde urat kristalleri depozisyonu ile sonuçlanır. Bu da inflamasyonun yanı sıra gut artriti ve ürik asit nefrolitiazise neden olur (Kramer ve Curhan 2002). Buna göre ürik asit sentezindeki son adımı bloke etmek, ürik asit üretimini azaltmak ve bunun yanı sıra hastalık semptomlarını hafifletmek için anti inflamatuvar ajan üretiminin desteklenmesinde XO inhibitörleri kullanılır (Star ve Hochberg 1993). Araştırmacılar çeşitli geleneksel bitkilerden potansiyel XO inhibitörleri keşfetmeye yönelmişlerdir (Kong ve ark 2000, Sweeney ve ark 2001). XO, pürin katabolizması sırasında ürik asit üretimini katalize eder ve süreçte reaktif oksijen türleri oluşturur (Saugstad 1996). Vasküler oksidatif stres XO yolunun da dahil olduğu birçok yolla tetiklenir (Kelley ve ark 2010). Biyolojik bir sistemin ÜA durumu oksidatif stres seviyesini yansıtmak için kullanılabilir, makrovasküler komplkasyonların da güçlü bir habercisidir (Bos ve ark 2006). Çalışmalar, allopurinol ile XO inhibisyonunun, ÜA seviyelerini azalttığını ve böbrek bozukluklarını düzelttiğini göstermiştir (Kosugi ve ark 2009). Acacetin ve 4,5-O-dikaffeoilkinik asit metil ester gibi flavonoidlerin XO inhibitör aktivitelerinden dolayı faydalı hipourisemik etkiler gösterdiği bulunmuş, gerçek klinik durumlarda HÜ ve gut tedavisinde kullanılabileceği öngörülmüştür (Nguyen ve ark 2005). Hesperidinin in vivo hipourisemik etkilerinin altında yatan mekanizmaları netleştirmek için hesperidinden daha fazla biyoyararlanıma sahip olan glukozil hesperidin (GH), kullanılarak yapılan çalışmada, doz bağımlı olarak GH'nin, PO ve früktozdan zengin diyetle uyarılan hiperurisemide serum ÜA seviyelerini azalttığı ve karaciğerde XO aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. GH'nin böbrek URAT1, ABCG2 veya GLUT9 ekspresyonlarında değışim olmaksızın renal urat atılımını azalttığı gözlenmiştir. Bu da XO inhibisyonu yoluyla ürik asit havuzunun

azaltılmasının, renal ürat atılımını azalttığını düşündürür. GH, bağırsak ve böbrekten ürat atılımını arttırmadan karaciğerdeki XO aktivitesini inhibe ederek hipourisemik etki göstermiştir (Ota-Kontani ve ark 2020). *Chrysanthemum morifolium* Ramat güçlü XO inhibitör aktivitesine sahiptir ve hipourisemik etki göstermiştir. Bu etkiyi serum XO aktivitesini inhibe ederek, renal ürikasit transport bağımlı protein (ABCG2, URAT1 ve GLUT9) ekspresyonunu ve kan lipid seviyelerini düzenleyerek ve renal fonksiyonu koruyarak göstermiştir (Peng ve ark 2019). Geleneksel Malay tıbbında kullanılan *Marantodes pumilum* (Primulaceae) özütünün, *in vitro* XO aktivitesi inhibisyonunda etkinliği daha önce açıklanmıştır. Yaprakları ve kökünden elde edilen MPA, MPP ve MPL olmak üzere % 80 etanolde hazırlanan özütleri, PO ile indüklü hiperurisemik rat modeli üzerinde serum ürik asit ve karaciğer XO aktivitesini tayin etmek üzere araştırılmıştır. *In vitro* antienflamatuar aktivite MSU kristal indüklü proinflamatuar sitokin (IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8 ve TNF- $\alpha$ ) sekresyonu üzerinde gerçekleştirilmiştir. MPP yaprakları özütünün diğerlerine göre en etkin XO aktivitesi inhibisyonuna sahip olduğu fakat allopurinole göre etkinliğinin daha az olduğu, MPP yaprak özütünün (200mg/kg) oral uygulamasının hiperurisemik ratlarda serum ürik asit seviyesini zamana bağlı olarak başlangıç seviyesine indirdiği ve allopurinol kadar etkili olduğu gözlenmiştir. Ayrıca karaciğer XO aktivitesini de inhibe etmiştir. MPP kökü özütü ise MSU kristal indüklü IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-8, TNF- $\alpha$  ve PGE2 sekresyonunu inhibe etmiştir. Bu özütün (200 mg/kg) oral uygulaması rat sinovyal sıvısında IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6, TNF- $\alpha$  ve PGE2 seviyelerini indometasin kadar etkili olarak anlamlı şekilde azaltmıştır (Rahmi ve ark 2020). 12 çeşit majör flavonoid içeren ve bunlardan 5 tanesinin HÜ deki etkinliği tahmin edilen mısır püskülü flavonoidleri ile hiperurisemik fareler üzerinde yapılan çalışmada bu 5 flavonoidten birinin de NAR olduğu ve mısır püskülü flavonoidlerinin serum ÜA seviyesini % 26.69 azaltırken serum XO aktivitesini % 11.29 azalttığı bildirilmiştir (Yuan ve ark 2021). Epigallocateşin (EGCG) yüksek serum ÜA seviyelerini anlamlı olarak azaltmış ve serum ve karaciğer XO aktivitesini inhibe etmiştir (Li ve ark 2020).

### 1.3. Flavonoidler

Kronik hastalıklar yaygınlaşarak başlıca ölüm sebepleri arasına girmiştir ve pek çok hastalığın korunma ve tedavi metotları da yetersizdir. Sentetik bileşenlerin istenmeyen etkilerinden dolayı, bitkisel bileşen ve maddelerin tedavide kullanımının

önemi artmıştır. Bu amaçla pek çok bitkisel madde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bitkisel ürünlerin sağlığa faydalı etkilerinin çoğunun, antioksidan etkileri olan fenolik bileşiklerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Bitkilerde bulunan en yaygın gruptur ve yaklaşık olarak 4000 bitkisel fenolik bileşik açıklanmıştır.

Yapılarından dolayı polifenoller olarak da adlandırılırlar. Polifenoller, sebze, meyve, fındık, şarap, bira, çay gibi pek çok bitkisel gıdada bulunmasından dolayı, insan diyetinde önemli miktarda yer alırlar (Dajas ve ark 2013). Flavonoidler metal iyonlarıyla şelat yaparak ROS üretimini inhibe edebilir, aksi takdirde bu metal iyonları Fenton reaksiyonları sırasında ROS üretimini destekler (Wang ve ark 2019). Flavonoidlerin potansiyel antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkileri vardır. Metal iyonlarıyla şelat yapabilir, lipid peroksil radikalini süpürerek veya lipid hasarını önlemek için lipid bariyerine verilerek zincir kırıcı antioksidan olarak etki gösterebilirler (Li ve ark 2017). Bitkilerde flavonoidler UV ışınlarına, parazit ve virüsler gibi yabancı ajanlara karşı koruma sağlar, hücre metabolizmasında enzimleri düzenler ve antioksidan özellik gösterirler (Rani ve ark 2016). Flavonoidler antioksidan, antiinflamatuvar özelliklerinin yanında antihiperürisemik etkilere de sahiptir (Mo ve ark 2007).

Kimyasal yapıları C6-C3-C6 fenil benzopiron temel yapısıyla tanımlanır. 2 fenil halkası (A ve B) heterosiklik halka (C halkası) oluşturan 3 karbon atomlu bir zincirle bağlantılıdır ve benzen A halkasıyla kapalı bir iskelet üzerinde meydana gelir. Kimyasal özelliklerine dayanarak, flavonoller, flavonlar, flavanonlar, flavanoller, antosiyaninler, isoflavonlar, kalkonlar ve dihidrosikalkonlar olmak üzere alt sınıflara ayrılır (Spagnuolo ve ark 2018). Bilhassa C halkasının oksidasyon seviyesi göz önüne alınırsa, flavonoidler; C halkası piran ise flovanoller ve antosiyaninler olarak, C halkası pironsa flavonol, flavon ve flavanon olarak sınıflandırılabilir. Bu alt sınıflar ayrıca C halkasının karbonunun B halkasına bağlanmasına da dayanır (Aherne ve O'Brien 2002).

Flavonoidler, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklerinin yanı sıra XO gibi önemli enzimlerin aktivitesine katkı sağlar. Moleküler yapılarından dolayı bu doğal antioksidanlar direk süperoksit süpürücüleri ve XO inhibitörleri olarak etki ederler. Bu da ROS ve ÜA oluşumunun baskılanması ile neticelenir (Cos ve ark 1998, Lin ve ark 2015). In vitro bir çalışmada kuersetinin suprafizyolojik dozlarının ROS'u süpürmede ve XO aktivitesini inhibe etmede bir ÜA düşürücü olan allopurinolle kıyaslandığında 100 kat daha güçlü olduğu bulunmuştur (Cimanga ve ark 2001).

Flavonoidlerin ÜA seviyelerini XO enzimi inaktivasyonu aracılığı ile azaltabildiği gösterilmiştir (Mo ve ark 2007). Flavonoidlerin XO üzerindeki inhibitör aktivitesi, serbest radikalleri doğrudan süpürme yeteneğinden daha kuvvetlidir (Masuoka ve ark 2012). HÜ indüklenmiş farelerde kuersetin uygulamasının idrar atımını artırarak ürik asit seviyelerini düşürdüğü ve hiperürisemik hasardan böbreği koruduğu gözlenmiştir. Bu nefroprotektif ve ürikozürük etkinin altında yatan bir başka moleküler yolağın da organik iyon taşıyıcıları düzenlemesi ve üromodulin aracılığı ile olduğu öne sürülmüştür (Hu ve ark 2012). Benzer şekilde başka bir çalışmada hiperürisemik rodentlerde, kuersetinin artmış idrar atılımı, azalmış serum urat seviyeleri ve organik anyon renal taşıyıcıları upregüle ettiği gözlenmiş ve böbrek hasarı ile beraber HÜ yönetiminde faydalı olabileceği belirtilmiştir (Kong ve ark 2012).

Hiperürisemik farelerde yeşil çay polifenollerinin doza bağlı olarak, XO'nun karaciğer ekspresyonunun inhibisyonu ve renal urat anyon taşıyıcıları modifikasyonu aracılığı ile serum ürik asit konsantrasyonunu azaltabildiği bildirilmiştir (Chen ve ark 2015). (Al-Rubaei ve ark 2014)'nın oksidatif stres oluşturulmuş ratlarda kurkuminin etkinliğine baktıkları çalışmalarında oksidatif stres oluşturulmuş grupta kontrol grubuna göre MDA ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin gibi prooksidatif biomarker seviyelerinde anlamlı artış, SOD, katalaz ve glutatyon gibi antioksidanlarda azalma gözlenmiştir. Yine oksidatif stres oluşturulmuş grupta kontrol grubuna göre ürik asit seviyelerinde ve proinflamatuvar belirteç olan TNF- $\alpha$ 'da artış gözlenmiştir. Kurkumin uygulaması, bütün OS ve inflamasyon parametrelerini başarıyla iyileştirirken ürik asiti neredeyse normal seviyelere düşürdüğü bu etkilerin güçlü antioksidan kapasitesinden kaynaklı olabileceği bildirilmiştir. Biyolojik aktif bir flavonoid olan Scutellarin hiperürisemik farelerde kan üre nitrojenini doz bağımlı olarak azaltmıştır (Li ve ark 2020).

### **1.3.1. Naringenin**

Naringenin, geniş çapta biyolojik ve farmakolojik aktiviteye sahip doğal, baskın bir flavonondur. Kanıtlara göre naringenin akut ve kronik antienflamatuvar tepkileri modüle etme yeteneğinden dolayı terapötik amaçlı kullanılabilir (Zeng ve ark 2018). Naringenin bir bitki flavonoididir, başlıca üzüm, domates ve turunçgillerde bulunur ve insan sağlığına faydalı etkileri olduğu kabul edilmiştir.

NAR, antinflamatuar, antioksidan, immunomodulator, hepatoprotektif, nefroprotektif ve nöroprotektif etkileri içeren çeşitli biyolojik özellikler sergiler (Sahu ve ark 2020). Molekül ağırlığı 272.26 (C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>). Suda çözünmez, alkol gibi organik çözücülerde çözünür. Flavonoid sınıfı içinde naringenin, naringin veya nauritin (glikon prekürsörü) hidrolizinden türeyen bir flavonondur. Flavonoid biyosentezi yolunda primer C<sub>15</sub> aracı olarak merkezi bir konuma sahiptir (Salehi ve ark 2019). Genel olarak metabolik yolak 6 adımdan oluşur. Bu süreç, fenil alanin amonyalaz (PAL), cinnamate 4-hidroksilaz ve ilgili sitokromu P450 redüktaz, para-coumarate-CoA ligase, naringenin sentezi için anahtar enzim olan kalkon sentaz ve kalkon izomeraz tarafından ardarda katalize edilir (Koopman ve ark 2012). Naringenin insan sağlığı üzerinde, lipid peroksidasyon belirteçlerini ve protein karbonilasyonunu azaltıcı, karbonhidrat metabolizmasını destekleyici, antioksidan savunmayı artırıcı, reaktif oksijen türlerini süpürücü, immün sistem aktivitesini modüle edici ayrıca anti-aterojenik ve antiinflamatuar etkileri vardır. Ayrıca yağ asitleri metabolizması ile bağlantılı sinyal yollarını modüle etme yeteneği bildirilmiştir. Yağ asitleri oksidasyonunu destekler, karaciğerde lipid birikimini bozar böylece karaciğer yağlanmasını önler (Zobeiri ve ark 2018). Bunun yanında plazma lipidlerini ve lipoprotein birikimini etkili bir şekilde bozar (Jayachitra ve Nalini 2012). NAR, insülin dozlarını düşürmek için hepatositleri insüline hassaslaştırarak hücre içi sinyal yollarını güçlendirir. Kan beyin bariyerini aşabilmenin yanı sıra ve protein kinaz C sinyal yollarıyla etkileşime girme yeteneği sayesinde çeşitli nöronal etkiler sergiler (Wang ve ark 2015). Çoğunlukla DNA'yı tamir etme kabiliyeti ile bağlantılı olan antikanser, antiproliferatif ve antikarsinojenik özellikler de naringenine atfedilen etkiler arasındadır (Erlund ve ark 2001). Hücrenin 80 mM/L naringenine 24 saat boyunca maruziyetinin DNA hidroksil hasarında % 24'lük azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir (Salehi ve ark 2019).

PO'la indüklü hiperürisemi fare modelinde flavonoidlerden kuersetin, morin, mirsetin, kaempferol, apigenin ve puerarinin 50 ve 100 mg/kg uygulamalarında serum ürik asit seviyelerinin normal seviyelere anlamlı şekilde düştüğü gözlenirken, luteolin, formonoetin ve naringenin anlamlı etkilerini sadece 100 mg/kglık yüksek dozda göstermişlerdir. Fakat tüm bileşiklerin hipourisemik etkileri allopurinole göre daha hafiftir. Genistein, baicalin, icariin, daidzin, naringin dihidrokalkon ve silibinin hiperürisemik farelerde serum ürikasit üzerinde etkisi gözlenmemiştir (Mo ve ark 2007). Kuersetin sadece yüksek dozda karaciğer XO aktivitesi inhibisyonunda

anlamli etki gsterirken, morin, myricetin, kaempferol ve puerarin karaciğer XO aktivasyonunda hem düşük hem yüksek dozda anlamli inhibisyon saglamıştır. Fakat allopurinole göre bu etki daha zayıftır (Mo ve ark 2007). Pek çok flavonoidin ürik asit oluşumu ile ilgili bazı enzimleri etkin şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir (Huang ve ark 2011),(Barnes ve ark 2011).

Deneyssel gut artriti modelinde naringenin bir analjezik ve antiinflamatuvar molekül olarak potansiyel kullanımını gösteren çalışmalar vardır. Naringenin, ALT, AST ve kreatinin plazma seviyelerinde bir artışı indüklediği, naringenin tedavisinin, GSH seviyelerindeki artışla MSU indüklü antioksidan kapasitedeki azalmayı anlamli şekilde onardığı bildirilmiştir (Ruiz-Miyazawa ve ark 2018). NAR, MSU indüklü IL-6, IL-17, IL-10, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  üretimini inhibe etmiştir ve TGF- $\beta$  üretimini arttırmıştır. Bu sonuçlar naringenin MSU indüklü proinflamatuvar/nosiseptif sitokin üretimini bozma yeteneği olduğunu gösterir. Antiinflamatuvar sitokinler söz konusu olduğunda naringenin etkisi, gut fare modelinde IL-10'u azalttığı ve TGF- $\beta$  üretimini arttırdığı için farklıdır (Ruiz-Miyazawa ve ark 2018). MSU'nun indüklediği NF $\kappa$ B'nin anlamli aktivasyonun naringenin tedavisi ile inhibe olduğu gözlenmiştir. Naringenin tedavisinin, mekanizması belirsiz olsa da PO'nun indüklediği kan ürik asit seviyelerini allopurinole benzer şekilde düşürdüğü gözlenmiştir (Mo ve ark 2007).

Ratlarda metotreksat (MTX) indüklü hepatotoksitede naringenin etkinliğine bakılan çalışmada MTX ile azalan GSH içeriği, CAT, SOD ve GPx seviyelerinin, naringenin uygulaması ile önemli ölçüde düzeldiği gözlenmiştir. Bulgulara göre NAR, reaktif serbest radikalleri temizleyerek ve antienflamatuvar etkileri indükleyerek MTX kaynaklı hepatotoksiteyi inhibe edebilir (Malayeri ve ark 2020). NAR, anti hiperglisemik etki sergileyen, diyabetin neden olduğu hepatotoksiste nedeni ile ortaya çıkan oksidatif stresi ve apoptozu önleme yeteneği olan bir flavonondur. Diyabetin neden olduğu karaciğer hasarına ve redoks dengesizliğine karşı naringenin koruyucu etkisi bildirilmiştir (Kapoor ve Kakkar 2014). Hiperkolesterolemik (HCD) diyetle beslenen ratlarda naringenin koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada kolesterol beslenmenin miyokardiyal ROS'u ve nükleer DNA hasarını anlamli derecede arttırdığı ve TNF- $\alpha$  ve reseptör etkileşimli protein kinaz 3 (RIP3) mRNA'sının gen ekspresyonu aktivasyonuna yol açtığı gözlenmiştir. Bu, kalp dokusunda yakın zamanda tarif edilen bir programlanmış nekroz türü olan kolesterol kaynaklı nekroptozun aydınlatılmasına katkıda

bulunmuştur. HCD ratlarda 50 mg/kg NAR birlikte uygulamasının değişen tüm parametreleri iyileştirdiği ve kalpteki nekroptoz yolağına NAR baskılamasının altında yatan olası moleküler mekanizmalar ile ilgili fikir vermiştir (Chtourou ve ark 2015). NAR, mitokondriyal disfonksiyon ve apoptotik sinyal yolağını etkileyerek STZ ile uyarılan diyabette hepatoprotektif etki sağlamıştır (Kapoor ve Kakkar 2014).

#### **1.4. Apoptozis**

Kerr ve arkadaşları tarafından ilk kez 1972’de morfolojik olarak farklı bir hücre ölümünü tanımlamak üzere apoptozis terimi kullanılmıştır (Kerr 1972). Apoptoz normal olarak gelişme ve yaşlanma sırasında ve dokulardaki hücre popülasyonlarını korumak için homeostatik mekanizma olarak gerçekleşir. Apoptoz ayrıca immun reaksiyonlarda veya hücreler hastalık ya da zararlı ajanlar tarafından hasar gördüğünde savunma mekanizması olarak gelişir (Norbury ve Hickson 2001). Apoptoz, enerjiye bağlı, genetik olarak programlanmış bir hücre ölümü biçimidir ve tipik olarak tek tek hücrelerin kontrollü silinmesiyle sonuçlanır. Apoptoz gelişimsel biyoloji, doku regülasyonu ve karsinogenezdeki ana rollerine ek olarak toksik, viral ve immun aracılı karaciğer hasarında da önemlidir (Wei ve ark 2001, Iorga ve ark 2017). Apoptozun ultrastrüktürel özellikleri, hücre ve çekirdek büzülmesi, nükleer kromatin yoğunlaşma ve marjinasyonu, plazma membran kabarması ve nihayetinde hücrenin sağlam mitokondri ve diğer organelleri içeren zara bağlı cisimlere parçalanmasıdır. Bu apoptotik cisimlerin, çevreleyen epitel ve mezenkimal hücreler tarafından yutulması nükleik asit ve sağlam mitokondri içeren hücre parçalarını korur. Bu parçalar daha sonra lizozomlar tarafından sindirilir ve biyoaktif maddeler salınmadan geri dönüştürülür. Apoptozda oluşan hücresel süreçlere genellikle kaspazlar aracılık eder. Kaspazlar, aktif bölgelerinde bir sistein içeren ve aspartat kalıntılarından polipeptitleri ayıran bir proteolitik enzim ailesidir. Ayrıca deneysel hepatotoksistide kaspaz aracılı olmayan programlı hücre ölümü de tanımlanmıştır (Feldman ve ark 2020). Programlı hücre ölümünün öldürme ve yutma süreçlerini kontrol eden genlerin çoğu tanımlanmıştır (Metzstein ve ark 1998).

### 1.4.1. Apoptozis Mekanizmaları

Apoptoz mekanizmaları oldukça karmaşıktır ve enerji bağımlı moleküler olaylar dizisini içerir. Ekstrensek veya ölüm reseptörü yolu ve intrinsek veya mitokondiyal yolak olmak üzere temel olarak iki ana apoptotik yolak vardır. Bununla beraber iki yolun birbiri ile bağlantılı olduğu ve bir yolaktaki moleküllerin diğerini etkileyebileceğine dair kanıtlar vardır (Igney ve Krammer 2002). T hücre aracılı sitotoksikite ve hücrenin perforin-granzim bağımlı ölümünü içeren ek bir yol daha vardır. Perforin-granzim yolağı granzim B ya da granzim A aracılığı ile apoptozu uyarabilir. Ekstrensek, intrinsek ve granzim B yolakları aynı sonda ya da yürütme yolunda birleşir. Bu yol kaspaz 3'ün bölünmesiyle başlatılır, DNA parçalanması, hücre iskeleti ve nükleer proteinlerin bozulması, proteinlerin çapraz bağlanması, apoptotik cisimlerin oluşumu, fagositik hücre reseptörleri için ligandların ekspresyonu ve son olarak fagositik hücreler tarafından alım ile sonuçlanır. Granzim A yolağı paralel bir kaspaz bağımsız hücre ölümü yolunu, tek sarmallı DNA hasarı aracılığı ile aktive eder (Martinvalet ve ark 2005).

Apoptotik hücreler protein bölünmesi, protein çapraz bağlanması, DNA parçalanması ve fagositik tanıma gibi çeşitli biyokimyasal modifikasyonlar sergilerler (Hengartner 2000). Kaspazlar çoğu hücrede yaygın olarak inaktif proenzim formunda eksprese edilirler ve aktive olduğunda bir proteaz kaskadının başlatılmasına izin vererek diğer prokaspazları aktive eder. Ayrıca bazı prokaspazlar birleşebilir ve kendi kendini aktive edebilir. Bir kaspazın diğer kaspazları aktive edebildiği bu proteolitik kaskad, apoptotik sinyal yolunu güçlendirir böylece hızlı hücre ölümüne öncülük eder (Elmore 2007). Kaspazlar proteolitik aktiviteye sahiptir ve aspartik asit kalıntılarında proteinleri parçalayabilirler. Bununla birlikte farklı kaspazların, yakınındaki aminoasitlerin tanınmasını içeren farklı özellikleri vardır. Kaspazlar başlangıçta bir kere aktive edildiğinde hücre ölümüne doğru geri dönüşümsüz bir kararlılık olduğu görünür. Genel olarak 10 ana kaspaz tanımlanmış ve başlatıcılar (Kaspaz 2, 8, 9, 10) , efektör veya cellat (Kaspaz 3, 6, 7) ve inflamatuvar kaspazlar (Kaspaz 1, 4, 5) olmak üzere sınıflandırılmıştır (Cohen 1997) (Rai ve ark 2005). Kaspaz 11, 12, 13 ve 14 de tanımlanmıştır. Kaspaz 11'in septik şok sırasında apoptoz ve sitokin olgunlaşmasını düzenlediği, Kaspaz 12'nin endoplazmik spesifik apoptoz ve amiloid  $\beta$  tarafından sitotoksikiteye aracılık ettiği,

kaspaz 14'ün yetişkin dokulardan değil fakat embriyonik dokulardan yüksek oranda eksprese edildiği bildirilmiştir (Hu ve ark 1998) (Nakagawa ve ark 2000) (Kang ve ark 2002).

### **İntrensek Yol**

İntrensek yol, apoptozun mitokondriyal yolu olarak da bilinir ve hücre içinde birden fazla hedefe etki eden çeşitli uyaranlar içerir (Igney ve Krammer 2002). Apoptozun bu formu mitokondriden serbestlenen faktörlere bağımlıdır ve pozitif ve negatif yollardan herhangi biri ile başlatılır. Negatif sinyaller hücrenin yakın çevresindeki sitokinler, hormonlar ve büyüme faktörleri yokluğunda oluşur. Bu prosurvival sinyaller olmadan hücre içindeki proapoptotik moleküller olan puma, noxa ve bax normalde inhibe iken aktif hale gelir ve apoptozu başlatır. Apoptozu başlatan diğer faktörler, hipoksi, toksinler, radyasyon, ROS virüsler ve toksik ajanlara maruziyettir (Brenner ve Mak 2009). Ancak nötrofiller gibi bazı hücreler söz konusu olduğunda hipoksi hücre hayatta kalımını sağlayabilir (Walmsley ve ark 2005). Apoptozun intrensek yolunu kontrol eden başlatıcı kaspaz, kaspaz 9'dur. Kaspaz 9, kaspaz alım alanına (CARD domain) maruziyeti takiben APAF 1'e bağlanma yeteneğindedir. APAF 1 apoptotik olmayan bir hücrede genellikle katlanmış bir şekildedir ve CARD alanını bloke eder ve CARD alanı içeren prokaspaz 9 buna bağlanamaz. Apoptoz pozitif ya da negatif uyaranla uyarıldığında mitokondriyal membranda değişiklikler tetiklenir ve sonuç olarak MPT (mitochondrial permeability transition) gözenağı açılır. MPT poru açıldığı zaman proapoptotik proteinler (sitokrom c, Smac/Diablo ve HtrA2/Omi) mitokondriden sitoplazmaya sızabilir ve apoptozu aktive eder (Cain ve ark 2002). Sitokrom C, APAF 1 monomerlerinin WD alanına bağlanarak apoptozu indükler. Deoksi ATP (dATP) yi bağlama yeteneğine sahip nükleotit bağlanma ve oligomerizasyon alanı açığa çıkararak APAF1'de konformasyonel değişiklikle sonuçlanır. Bu bağlanma CARD ve oligomerizasyon alanlarının her ikisini de açığa çıkararak APAF 1'de ek bir konformasyonel değişikliği uyarır. Böylece çeşitli APAF 1 ler biraraya gelerek apoptozom adı verilen kompleksi oluşturur (Acehan ve ark 2002). Apoptozom kendi açık merkezinde açığa çıkmış CARD alanları içerir. Bu da daha sonra çeşitli prokaspaz 9 proteinlerini aktive eder. Aktive olmuş kaspaz 9 enzimleri cellat prokaspaz 3'ü aktive edebilme yeteneğine sahiptir. Aktif formu olan kaspaz 3

tamamen apoptozu indükleyebilir (Cain ve ark 2002). Smac/Diablo ve HtrA2/Omi apoptozun başlatılmasını inhibitör apoptoz proteinlerini (IAP) inhibe ederek yardım eder. Bununla beraber sitokrom C salınımı olmadan IAP'leri inhibisyonu tek başına apoptozu başlatmada yeterli değildir (Ekert ve Vaux 2005).

### **Ekstresek Yol**

Apoptozun ölüm reseptörü (DR ) yolu olarak da bilinen (Igney ve Krammer 2002) ekstresek yolak, ölüm ligandları ürettiklerinde devriye gezen natural killer hücreleri veya makrofajlar tarafından başlatılır. Bu ligandlar, hedef hücre membranında ölüm reseptörleri ile bağlanarak prokaspaz 8'in kaspaz'8 e aktivasyonu aracılığı ile ekstresek yolu indükler (Kim ve ark 2004). Ölüm reseptörleri TNF süperailesinin üyeleridir. Her DR'ye uyumlu olan bir ölüm ligandı vardır. Ölüm reseptörleri olan TNFR1, CD95, DR3, TRAIL-R1 ve TRAIL R2 için sırasıyla ölüm ligandları; TNF, CD95-L, TLIA ve TRAIL şeklindedir. Kaspaz 8'i aktive etmek için bir ölüm ligandı bir ölüm reseptörüne bağlanmak zorundadır. Bu da monomerik prokaspaz' 8 in ölüm indükleyici alanının (DED) , liganda bağlı DR'nin sitoplazmik alanı üzerinde lokalize ölüm indükleyici sinyal kompleksine (DISC) alımı ile sonuçlanır. DISC ayrıca adaptör protein olarak bilinen FAS bağlantılı ölüm alanı (FADD) veya TNF reseptör bağlantılı ölüm alanlarından (TRADD) birini içerir. Prokaspaz 8'in DISC ile etkileşimini fasilite eder (Kim ve ark 2004). Birkaç prokaspaz 8 monomerinin DISC'e alınması dimerizasyonları ve aktivasyonları ile sonuçlanır. Ortaya çıkan kaspaz 8 ile iki ayrı alt yoldan biriyle apoptozu indükleyebilir. Bu indüklenen alt yol hücrelerin Tip I ya da Tip II hücre olmasına bağlıdır (Samraj ve ark 2006) . Tip I hücrelerinde kaspaz 8 direkt olarak cellat kaspazları böler ve bu sebeple apoptozu direkt başlatır. Tip II hücrelerinde IAP'ler, mitokondriden salınan proteinler tarafından inhibe olmadıkça cellat kaspazların kaspaz 8 aktivasyonunu inhibe eder (Spencer ve ark 2009).

#### **1.4.2. Sitokrom C**

Ekstresek yol doğrudan kaspazların aktivasyonuna yol açsa da programlanmış hücre ölümünün intrinsek yolu BCL-2 ailesinin dahil olduğu pro ve

antiapoptotik proteinlerin karmaşık ağına bağlıdır. İntrensek yol için genel kabul görmüş bir model proapoptotik BCL-2 ailesi üyelerinin (Bax, Bak) dış mitokondriyal zarlara alımı ve oligomerizasyonunu ve eş zamanlı olarak anti-apoptotik BCL-2 üyelerinin sadece BH3 proteinleri tarafından inhibisyonunu içerir. Bax ve Bak mitokondride geniş homooligomerik kompleksler oluşturma yeteneğindedir. Bunu por oluşturarak ve sitokrom C salınımına izin vererek yapar (Martin ve Elkon 2004). Sitokrom C daha sonra Apaf-1 adaptörünü içeren CARD'ı aktive eder. Apaf-1 kaspaz 9 alımı için heptamerik bir iskele oluşturur (Acehan ve ark 2002). Oluşan büyük kompleks apoptozom olarak adlandırılır ve başlatıcı kaspazların, ardından da efektör kaspazların dimerizasyon ve aktivasyonuna izin verir (Shi 2002). Sitokrom C'nin apoptozdaki kilit rolü gözönüne alındığında, sitokrom C redoks durumunun flavonoidler tarafından olası modülasyonu bu bileşiklerin antiapoptotik ve koruyucu kapasitelerine katkı sağlayabileceğinden daha fazla araştırma gerektirmiştir (Lagoa ve ark 2017).

İnsan nöroblastom SH-SY5Y hücrelerinin 2 saat boyunca 400  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ 'ye maruz kalması canlılık kaybına, apoptotik artışa ve ROS artmasına neden olmuştur. 12 saat boyunca naringenin ile ön tedavi canlılık kaybını, apoptotik oranı ve zayıflatılmış  $\text{H}_2\text{O}_2$  aracılı ROS üretimini önemli ölçüde azaltmıştır. Naringenin, düşük membran potansiyeli, azalmış Bcl-2/Bax oranı, sitokrom C salınımı ve kaspaz 3 bölünmesi dahil olmak üzere  $\text{H}_2\text{O}_2$  indüklü mitokondriyal disfonksiyonu inhibe etmiştir (Jin ve Wang 2019). NAR kardiyak iskemi reperfüzyonda mitokondriyal sitokrom C salınımını baskılamıştır (Yu ve ark 2019). Flavonoidler kardiolipinle uyarılan peroksidaz aktivitesini inhibe eder ve sitokrom C'yi baskılar (Lagoa ve ark 2017). Mitokondriden sitokrom C salınımını NAR'nin baskıladığı gözlenmiştir (Kapoor ve ark 2013).

#### **1.4.3. 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG)**

Canlı hücrelerde metabolik reaksiyonlar sonucu süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikalini içeren reaktif oksijen türleri sürekli oluşur. Normal fizyolojik koşullar altında endojen oksidanlar ve antioksidanlar arasında sürdürülen bir denge vardır. Oksidanların aşırı oluşumuyla ya da antioksidanların azalması ile bir dengesizlik oluşursa oksidatif stres ortaya çıkar (Halliwell ve

Gutteridge 2015). Oksidatif stres varlığında in vivo oluşan ROS lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara sebep olabilir. Sonuç olarak DNA hasar görmüş ve oksidatif olarak değiştirilmiştir. Ayrıca DNA oksidatif hasarı ekzojen ROS sebebiyle de oluşabilir (Loft ve ark 1992). 8-OHdG oksidatif hasar ve tamir oranı arasındaki dengeyi yansıtan bir biyomarkırdır (Wu ve ark 2004).

İlk olarak 1984'de Kasai ve Nishimura tarafından rapor edilen (Kasai ve ark 1984), 8-OHdG biyomarkırı, DNA hasarının en yaygın ölçülen ve hassas belirteci olarak belirtilmiştir. Bu özelliği nükleobaz guaninin veya nükleozidi guanozinin C8 pozisyonunda hidroksil radikal atağından kaynaklanır. Eğer bu hasar tamir edilmezse mutajenisite ve kanser desteklenmesine katkıda bulunabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalar ve kan hücreleri ve idrarda çeşitli analitik tekniklerle 8-OHdG nin nicel tahminlerindeki gelişmeler, 8-OHdG nin sadece karsinogeneziste değil ayrıca yaşlanma ve dejeneratif hastalıklarda da önemli bir biyomarkır olduğunu göstermiştir (Valavanidis ve ark 2009). 8-OHdG nin deney hayvanlarında idrarda ve insanlarda önemli ve yaygın bir DNA oksidasyon ürünü olarak rapor edilmiş ilk analizi 1989'dadır (Shigenaga ve ark 1989). Ozamandan beri farklı bilimsel gruplar çeşitli yöntemlerle 8-OHdG analizini rapor etmişlerdir. Oksijen ve nitrojen serbest radikalleri içeren reaktif oksijen türleri spesifik oksidatif DNA hasarına sebep olabilir ve karsinogenezisin başlama ve desteklenmesinde önemli rol oynayabilir. İdrara atılan 8-OHdG DNA üzerinde oksidatif stres etkisinin belirteci olarak kabul edilir ve esasen DNA onarım sistemi tarafından üretildiği bildirilmiştir. Oksidatif DNA hasarı nükleer DNA (nDNA) ve mitokondrial DNA (mtDNA) içindeki 8-OHdG bolluğu ölçümü ile değerlendirilebilir (Richter ve ark 1988). DNA onarımı ya da bozulması üzerine salınan 8-OHdG idrarla atılır (Cooke ve ark 2008). 8-OHdG nin idrarla çıkışı hem genel oksidatif stresin hem de DNA bozulmasının belirteci olabilir (Wu ve ark 2004). Yaşlı dokulardaki oksitlenmiş nükleozit 8-OHdG birikiminin, yaşa bağlı oksidatif stresteeki artış ve bunun mt ve nDNA daki etkileri sonucu olduğu kabul edilir (Hamilton ve ark 2001). Yaşlanma ile ilgili olarak daha önce bildirildiğine göre DNA oksidatif hasarında ilerleyici artış 8-OHdG'nin doku içeriği olarak ölçüldüğü bildirilmiştir (Wu ve ark 2004). İdrarda yüksek 8-OHdG seviyelerinin, sigara, hava kirliliği ve ROS üreten patolojilerle ilgili olduğu bildirilmiştir (Cooke ve ark 2008). Tip 2 diyabetli hastaların genellikle kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek serum 8-OHdG konsantrasyonlarına sahip olduğu bulunmuş ayrıca hiperglisemik katılımcılarda üriner 8-OHdG'nin artmasına ilaveten

hemoglobin A1c (HbA1c) ile 24 saatlik üriner 8-OHdG atılımı arasında pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur (Negishi ve ark 2001). Üriner 8-OHdG, diyet takviyelerinin oksidatif hasara etkinliğini araştırmak için de kullanılmıştır. Mononükleer hücre DNAsında, serum ve idrar 8-OHdG seviyeleri 500 mg/gün C vitamini takviyesi alan katılımcılar üzerindeki etkinliğinin incelenmesi için kullanılmıştır. Diyetle antioksidan takviye alan katılımcıların 8-OHdG DNA seviyelerinde anlamlı azalma gösterdikleri bildirilmiştir (Cooke ve ark 1998) (Halliwell 1998). Hidroksil radikali hidrojeni nükleik asitlerden uzaklaştırır veya çift bağlarla reaksiyona girerek 8-OHdG oluşumuna yol açar (Cadet 2014). 8-OHdG skorunun, deneysel ratlarda Cisplatin uyarımlı genotoksistide doku hasarında iyi bir belirteç olduğu bildirilmiştir ve bu çalışmaya göre NOX (naringenin oksim) antioksidan etkisini ROS aracılı 8-OHdG seviyelerini azaltarak göstermiştir ki bu da oksidatif DNA hasarını önlediğini gösterir (Koyuncu ve ark 2017).

#### **1.4.4. Kaspaz 3**

Kaspazlar çoğu hücrede yaygın olarak inaktif proenzim formunda eksprese edilirler ve aktive olduğunda bir proteaz kaskadının başlatılmasına izin vererek diğer prokaspazları aktive eder. Ayrıca bazı prokaspazlar birleşebilir ve kendi kendini aktive edebilir. Bir kaspazın diğer kaspazları aktive edebildiği bu proteolitik kaskad, apoptotik sinyal yolunu güçlendirir böylece hızlı hücre ölümüne öncülük eder (Elmore 2007). Kaspazlar proteolitik aktiviteye sahiptir ve aspartik asit kalıntılarında proteinleri parçalayabilirler. Bununla birlikte farklı kaspazların, yakınındaki aminoasitlerin tanınmasını içeren farklı özellikleri vardır. Kaspazlar başlangıçta bir kere aktive edildiğinde hücre ölümüne doğru geri dönüşümsüz bir kararlılık olduğu görünür. Genel olarak 10 ana kaspaz tanımlanmış ve başlatıcılar (Kaspaz 2, 8, 9, 10), efektör veya cellat (Kaspaz 3, 6, 7) ve inflamatuvar kaspazlar (Kaspaz 1, 4, 5) olmak üzere sınıflandırılmıştır (Cohen 1997) (Rai ve ark 2005). Kaspaz 11, 12, 13 ve 14 de tanımlanmıştır. Kaspaz 11'in septik şok sırasında apoptoz ve sitokin olgunlaşmasını düzenlediği, Kaspaz 12'nin endoplazmik spesifik apoptoz ve amiloid  $\beta$  tarafından sitotoksiteye aracılık ettiği, kaspaz 14'ün yetişkin dokulardan değil fakat embriyonik dokulardan yüksek oranda eksprese edildiği bildirilmiştir (Hu ve ark 1998) (Nakagawa ve ark 2000) (Kang ve ark 2002). Cellat kaspazlar olan kaspaz 3, 6

ve 7 aktive edildiğinde; endonükleaz aktivasyonu, DNA fragmentasyonu, nükleer proteinlerin imhası, fagositik hücreler için ligand ekspresyonu ve apoptotik cisimlerin oluşumu gerçekleşir (D'Arcy 2019). Başlatıcı kaspazlar, kendi kendilerini aktive edebilir ve bunun için N-terminal pro alanları içerir. Efektör kaspazlar ise aktif başlatıcı kaspazlar 8, 9, 10 tarafından aktive edilir. Cellat kaspazlarının aktivasyonu; performin/granzim yolu ile de doğrudan başlatılabilir (Voskoboinik ve ark 2015). Kaspazların tamamı direkt olarak hücre ölümünde yer almaz; bazıları diğer fizyolojik fonksiyonları yerine getirir. Bu kaspazlar, proinflamatuvar sitokinler ve inflamatuvar cevaplara aracılık etmede rol alırlar (Thornberry ve ark 1992).

Kaspaz 3 denervasyon indüklü atrofiye aracılık eder. Bir çalışmada tibial sinir transeksiyonundan 2 hafta sonra kaspaz 3-knockout farelerin denerve gastrocnemiuslu vahşi tip farelere göre, denerve gastrocnemius kasının daha ağır olduğu ve daha geniş fiber-tip-spesifik kesitsel alana sahip olduğu gösterilmiştir. Vahşi tip ve kaspaz 3 knockout farelerin denerve gastrocnemius kasında eşdeğer mitokondriyal Bax translokasyonu, sitokrom C salınımı ve kaspaz 9 aktivasyonu ile kaspaz 3'ün yukarıdaki apoptotik sinyalin bozulmadan kaldığı gözlenmiştir. Kaspaz 3 yokluğunun, ubiquitin-proteazom aracılı protein bozulmasının aksine apoptozu baskılayarak denervasyon kaynaklı kas atrofisine karşı koruduğu öne sürülmüştür (Plant ve ark 2009). Naringenin kaspaz 3 aktivitesini baskıladığı gözlenmiştir (Mehdipour ve ark 2020). NAR kaspaz 3'ü baskılayarak nöroapoptozisi önlemiştir (Hua ve ark 2016). NAR kaspaz 3'ü baskılayarak DNA hasarını azaltmıştır (Shi ve ark 2019). Ürik asit uyarımı kaspaz protein seviyelerini arttırırken, Bcl-xL'yi azaltmış fakat kaspaz 8'i etkilememiştir (Shen ve ark 2021). HÜ atriyal fibrilasyon için risk oluşturur, bu kısmen kaspaz 3 aracılığı ile (Wang ve ark 2021). NAR, homosisteinle uyarılan nöron hasarına karşı koruyucu etki oluşturmuştur ve kaspaz 3'ü baskılar (Li ve ark 2020). Ratlarda karaciğer yaralanmasında 20 mg/kg NAR uygulamasının GPx'i arttırdığı ve kaspaz 3'ü baskıladığı gözlenmiştir (Ahmed ve ark 2019). NAR'ın vankomisinle oluşturulan böbrek hasarına karşı koruduğu, 25 ve 50 mg/kg'lık dozun 100 mg/kg'lık dozdan daha etkili olduğu bildirilmiştir (Uckun ve ark 2020). Ürik asitin BAX ve kaspaz 3 aktivitesini arttırarak apoptozise yol açtığı bildirilmiştir (Yang ve ark 2020).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Kimyasallar

Kullanılan Potasyum oksonat (Alfa Aesar CAS: 2207-75-2 %98 saflıkta) fisher scientific isimli firmadan, Naringenin ise  $\geq$ %95 saflıkta Sigma-Aldrich isimli firmadan temin edilmiştir.

### 2.2. Hayvanlar

Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen 8-12 haftalık Wistar tipi erkek 35 rat çalışmaya dahil edilmiştir, çalışmadan 1 hafta önce standart bir diyet ve istenildiği kadar su ile beslenmiş, 12 /12 saat aydınlık karanlık döngüsünde ortalama  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  de ortama adapte edilmeleri sağlanmıştır. Ratlarda deneysel hiperürisemi modeli ürikaz inhibitörü olan potasyum oksonat (PO) ile yapılmıştır.

%0,9 luk salin solüsyonu içinde 250 mg/kg PO çözündürülerek her gün naringenin uygulamasından 1 saat önce, 2 hafta boyunca uygulanmıştır (Haidari ve ark 2009). Ratlar randomize olarak 4 gruba ayrılmıştır.

1) Kontrol grubu (n=7), 2) PO grubu (n=9), 3)PO+ Naringenin grubu (n=9) (2 haftalık), 4) PO+ Naringenin grubu (n=10) (4 haftalık)

1.gruba normal rat yemi ve içme suyu dışında herhangi bir şey verilmemiştir.

2. gruba iki hafta süreli 250 mg/kg intraperitoneal PO uygulaması yapılmıştır.

3. gruba 250 mg/kg intraperitoneal PO uygulaması 2 hafta boyunca ve her uygulamadan 1 saat sonra 100 mg/kg Naringenin intraperitoneal olarak uygulanmıştır (2 hafta).

4.gruba 2 hafta boyunca intraperitoneal PO uygulamasının ardından 2 hafta boyunca intraperitoneal Naringenin uygulaması (toplam 4 haftalık) gerçekleştirilmiştir.

Naringenin uygulaması % 0,5 lik sodyum karboksimetilselülozda (CMC-Na) çözülerek günlük 100 mg/kg uygulanmıştır (Mo ve ark 2007).

Deneylerin bitiminde genel anestezi altındaki hayvanlardan öncelikle kardiyak kan alındıktan sonra servikal dislokasyonla hayvanlar sakrifiye edilerek böbrek ve karaciğer doku örnekleri alınarak biyokimyasal (GPx, XO, NF-KB, IL-17, TNF- $\alpha$ , Caspase 3, Sitokrom C ve 8OH-dG) analizler yapılmıştır. Tüplere alınan kan 3500 r.p.m. hızda 10 dak. Santrifüj edildikten sonra serum ayrılarak biyokimyasal analizleri yapılana kadar – 80 °C de saklanmıştır. Karaciğer ve böbrek numuneleri de aynı şekilde muhafaza edilmiştir.

GPx, XO, NF-KB, IL-17, TNF- $\alpha$ , Kaspaz 3, Sitokrom C ve 8-OHdG analizleri ticari ELİSA kitleri kullanılarak, üreticinin talimatlarına uygun şekilde yürütülmüştür. Kitler Elabscience firmasından temin edilmiş olup katalog numaraları şu şekildedir; GPx Katalog No: E-EL-R2491, XO Katalog No: E-EL-R2585, NF-KB Katalog No: E-EL-R0673, IL-17 Katalog No: E-EL-R0566, TNF- $\alpha$  Katalog No: E-EL-R0019, Kaspaz 3 Katalog No: E-EL-R0160, Sitokrom C Katalog No: E-EL-R0006, 8-OHdG Katalog No: E-EL-0028

### **2.3. Biyokimyasal Analizler**

Karaciğer ve böbrek dokuları tartılarak tüplere konulup, doku gramajının 9 katı kadar fosfat tamponu ilave edilmiş ve homojenizatörden geçirilmiştir. Oluşan homojenat 5000×g 5 dakika santrifüj edilmiş ve 4 er numune olacak şekilde ependorflara aktarılmıştır.

#### **2.3.1. Serum Ürik Asit Analizi**

Ürik asit düzeyleri abbott marka test kitleri kullanılarak Medicana Hastanesi biyokimya laboratuvarında bulunan Architect C16000 otoanaliz cihazında analiz edildi.

#### **2.3.2. TNF- $\alpha$ Analizi**

Plate kuyucuklarına 100  $\mu$ L standart veya numune eklenerek, 37°C de 90 dak. İnkübasyon yapıldıktan sonra, sıvı uzaklaştırılmış, 100  $\mu$ L Biotin eklenerek, 1 saat 37°C de inkübasyon yapılmıştır. Daha sonra aspire edilerek 3 kez yıkama

yapılmış. 100 µL HRP konjugatı eklenerek, 37°C de 30 dak. İnkübasyon yapılmıştır. Aspire edilip 5 kez yıkama yapılmış ardından 90 µL substrat reaktifi eklenerek, 37°C 15 dak. inkübasyon yapılmış. Son olarak 50 µL Stop solüsyonu eklenerek 450 nm de hızlıca okunarak sonuçlar hesaplanmıştır. Sonuçlar pg/ml olarak sunulmuştur.

### **2.3.3. NF-κB Analizi**

5000×g 5 dakika santrifüjden sonra süpernatant elde edilmiş olup, plate düzeninde ilk iki sırası standart çalışma solüsyonu, diğer kuyucuklara numune olmak üzere her kuyucuğa 100 µL eklenerek 37°C de 90 dak. inkübe edilmiştir. Sıvı uzaklaştırılıp 100 µL biotin eklenmiş, 1 saat 37°C de inkübasyon yapılmıştır. Aspirasyon ve 3 kez yıkamanın ardından 100 µL HRP konjugatı eklenerek 37°C de 30 dakika inkübasyon, aspirasyon ve 5 kez yıkama ile 90 µL substrat reaktifi eklenmesi ve 37°C de 15 dak. İnkübasyon basamaklarının ardından 50 µL Stop solüsyonu eklenmiş, 450 nm de hızlıca okunarak sonuçlar hesaplanmıştır. Sonuçlar (ng/ml) olarak verilmiştir.

### **2.3.4. IL-17 Analizi**

5000×g 5 dakika santrifüjden sonra elde edilen süpernatant, plate düzeninde ilk iki sırası standart çalışma solüsyonu, diğer kuyucuklara numune olmak üzere her kuyucuğa 100 µL eklenerek plate üzeri kitin içinde tedarik edilen materyal ile örtülüp 37°C de 90 dak. inkübe edilmiştir. Sıvı uzaklaştırılıp 100 µL biotinlenmiş çalışma solüsyonu eklenmiş tekrar üzeri kaplanarak yavaşça karıştırılmış, 1 saat 37°C de inkübasyon yapılmıştır. Aspirasyon ve 3 kez yıkamanın ardından 100 µL HRP konjugatı eklenerek 37°C de 30 dakika inkübasyon, aspirasyon ve 5 kez yıkama ile 90 µL substrat reaktifi eklenmesi ve 37°C de 15 dak. İnkübasyon basamaklarının ardından 50 µL stop solüsyonu eklenmiş, 450 nm de hızlıca okunarak sonuçlar hesaplanmıştır. Sonuçlar (pg/ml) olarak verildi.

### **2.3.5. Sitokrom C Analizi**

5000×g 5 dakika santrifüjden sonra elde edilen süpernatant, plate düzeninde ilk iki sırası standart çalışma solüsyonu, diğer kuyucuklara numune olmak üzere her boşluğa 100 µL eklenerek plate üzeri kitin içinde tedarik edilen materyal ile örtülüp 37°C de 90 dak. inkübe edilmiştir. Sıvı uzaklaştırılıp 100 µL biotinlenmiş çalışma solüsyonu eklenmiş tekrar üzeri kaplanarak yavaşça karıştırılmış, 1 saat 37°C de inkübasyon yapılmıştır. Aspirasyon ve 3 kez yıkamanın ardından 100 µL HRP konjugatı eklenerek 37°C de 30 dakika inkübasyon, aspirasyon ve 5 kez yıkama ile 90 µL substrat reaktifi eklenmesi ve 37°C de 15 dak. İnkübasyon basamaklarının ardından 50 µL stop solüsyonu eklenmiş, 450 nm de hızlıca okunarak sonuçlar hesaplanmıştır. Sonuçlar (ng/ml) olarak verilmiştir.

### **2.3.6. GPx Analizi**

5000×g 5 dakika santrifüjden sonra elde edilen süpernatant, plate düzeninde ilk iki sırası standart çalışma solüsyonu, diğer kuyucuklara numune olmak üzere her kuyucuğa 100 µL eklenerek plate üzeri kitin içinde tedarik edilen materyal ile örtülüp 37°C de 90 dak. inkübe edilmiştir. Sıvı uzaklaştırılıp 100 µL biotinlenmiş çalışma solüsyonu eklenmiş tekrar üzeri kaplanarak yavaşça karıştırılmış, 1 saat 37°C de inkübasyon yapılmıştır. Aspirasyon ve 3 kez yıkamanın ardından 100 µL HRP konjugatı eklenerek 37°C de 30 dakika inkübasyon, aspirasyon ve 5 kez yıkama ile 90 µL substrat reaktifi eklenmesi ve 37°C de 15 dak. İnkübasyon basamaklarının ardından 50 µL Stop solüsyonu eklenmiş, 450 nm de hızlıca okunarak sonuçlar hesaplanmıştır. Sonuçlar (pg/ml) olarak verilmiştir.

### **2.3.7. Kaspaz 3 Analizi**

5000×g 5 dakika santrifüjden sonra elde edilen süpernatant, plate düzeninde ilk iki sırası standart çalışma solüsyonu, diğer kuyucuklara numune olmak üzere her kuyucuğa 100 µL eklenerek plate üzeri kitin içinde tedarik edilen materyal ile örtülüp 37°C de 90 dak. inkübe edilmiştir. Sıvı uzaklaştırılıp 100 µL biotinlenmiş çalışma solüsyonu eklenmiş tekrar üzeri kaplanarak yavaşça karıştırılmış, 1 saat 37°C de

inkübasyon yapılmıştır. Aspirasyon ve 3 kez yıkamanın ardından 100 µL HRP konjugatı eklenerek 37°C de 30 dakika inkübasyon, aspirasyon ve 5 kez yıkama ile 90 µL substrat reaktifi eklenmesi ve 37°C de 15 dak. inkübasyon basamaklarının ardından 50 µL Stop solüsyonu eklenmiş, 450 nm de hızlıca okunarak sonuçlar hesaplanmıştır. Sonuçlar (ng/ml) olarak verilmiştir.

#### **2.3.8. XO Analizi**

5000×g 5 dakika santrifüjden sonra elde edilen süpernatant, plate düzeninde ilk iki sırası standart çalışma solüsyonu, diğer kuyucuklara numune olmak üzere her kuyucuğa 100 µL eklenerek plate üzeri kitin içinde tedarik edilen materyal ile örtülüp 37°C de 90 dak. inkübe edilmiştir. Sıvı uzaklaştırılıp 100 µL biotinlenmiş çalışma solüsyonu eklenmiş tekrar üzeri kaplanarak yavaşça karıştırılmış, 1 saat 37°C de inkübasyon yapılmıştır. Aspirasyon ve 3 kez yıkamanın ardından 100 µL HRP konjugatı eklenerek 37°C de 30 dakika inkübasyon, aspirasyon ve 5 kez yıkama ile 90 µL substrat reaktifi eklenmesi ve 37°C de 15 dak. inkübasyon basamaklarının ardından 50 µL Stop solüsyonu eklenmiş, 450 nm de hızlıca okunarak sonuçlar hesaplanmıştır. Sonuçlar ng/ml olarak verilmiştir.

#### **2.3.9. 8-OHdG Analizi**

5000×g 5 dakika santrifüjden sonra elde edilen süpernatant, plate kuyucuklarından ilk iki sırası standart çalışma solüsyonu, diğer kuyucuklara numune olmak üzere her kuyucuğa 50 µL eklenerek, hızlıca her kuyucuğa 50 µL biotinlenmiş çalışma solüsyonu eklenmiş, plate üzeri kitin içinde tedarik edilen materyal ile örtülüp 37°C de 45 dak. inkübe edilmiştir. Aspirasyon ve 3 kez yıkamanın ardından 100 µL HRP konjugatı eklenerek üzeri kaplanmış ve 37°C de 30 dakika inkübasyon, aspirasyon ve 5 kez yıkama ile 90 µL substrat reaktifi eklenmesi ve 37°C de 15 dak. inkübasyon basamaklarının ardından 50 µL stop solüsyonu eklenmiş, 450 nm de hızlıca okunarak sonuçlar hesaplanmıştır. Sonuçlar (ng/ml) olarak verilmiştir.

## 2.4. İstatistiksel Analizler

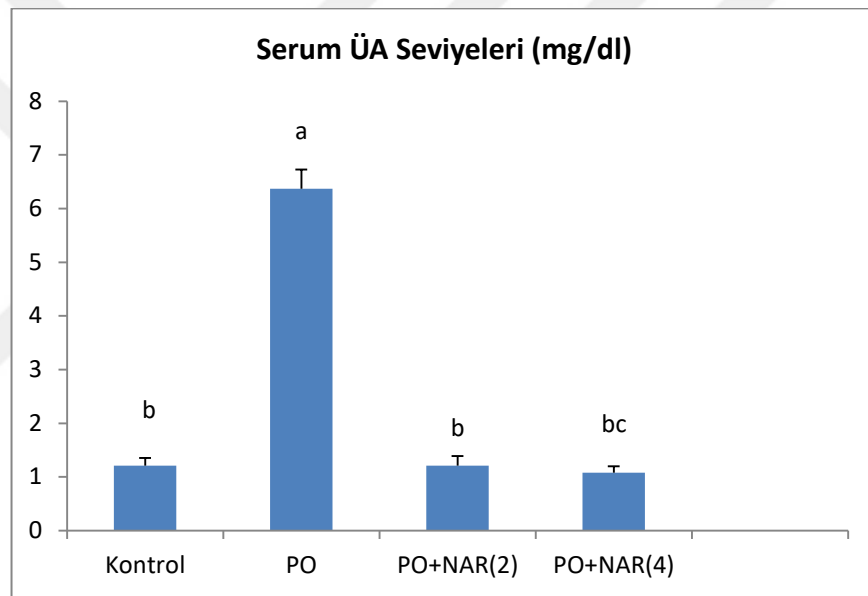
Gruplardaki niceliksel verilerin normal dağılıma uygunluğu Tek örneklem Kolmogorov Smirnov test ile incelenmiştir. Normal dağılıma uyum göstermeyen değişkenler dönüşüm uygulanarak normal dağılıma uygun hale getirilmiş, daha sonra farklı zaman sürelerindeki gruplara ilişkin niceliksel değerlerin karşılaştırılmasında Çok Yönlü Varyans Analizi (MANOVA – Multivariate Analysis of Variance) kullanılmıştır.

Ayrıca çalışmada her bir grup için farklı zaman kesitlerinde yapılan niceliksel değerlerin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi, kategorik değerlerin karşılaştırılmasında ki-kare analizleri kullanılmıştır. Çalışmada  $P<0.05$  değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Ürik Asit

Ürik asit değerleri gruplarda kontrol grubunda 1.21; PO grubunda 6.37; PO+NAR (2hft.) grubunda 1.21; PO+NAR (4 hft.) grubunda 1.08 olarak belirlenmiştir. Serum ürik asit seviyeleri HÜ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir. 2 haftalık ve 4 haftalık naringenin gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış gözlenmemiştir. Naringenin gruplarının her ikisi de HÜ grubu ile kıyaslandığında serum ürik asit seviyelerinde anlamlı azalma olduğu, naringenin grupları kendi içlerinde kıyaslandığında ise 4.grupta ürik asit seviyeleri daha düşük olmasına rağmen istatistiki olarak önem arz etmediği gözlenmiştir (Grafik 3.1.1).

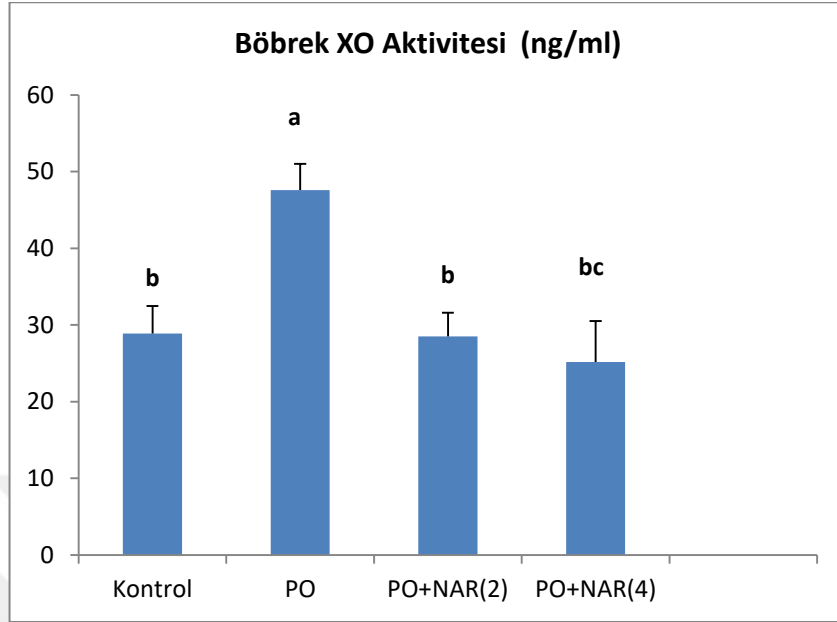


**Grafik 3.1.1:** Serum ÜA Seviyeleri. PO'la artan serum ÜA seviyeleri NAR uygulaması ile önemli şekilde baskılanmıştır ( $P<0.001$ ).

#### 3.2. XO

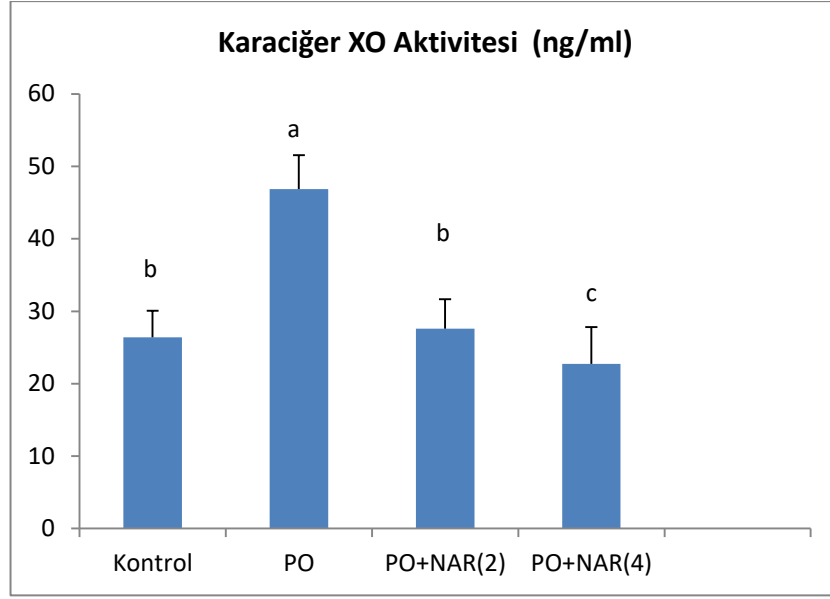
Böbrek dokusu XO aktivitesi kontrol grubunda 28.88, PO grubunda 47.60; PO+NAR (2hft.) grubunda 28.53; PO+NAR (4hft.) grubunda 25.17 şeklinde belirlenmiştir. Böbrek dokusu XO aktivitesi açısından değerlendirildiğinde PO grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış gözlenirken, naringenin gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı fark gözlenmemiştir. Naringenin gruplarının her ikisi de HÜ grubu ile kıyaslandığında XO aktivitesinin anlamlı derecede azaldığı

gözlenmiştir. Naringenin grupları kendi içinde anlamlı fark göstermemiştir (Grafik 3.2.1).



**Grafik 3.2.1:** Böbrek dokusu XO değerleri. Hiperürisemi böbrek XO değerlerini önemli şekilde artırırken NAR takviyesi artan XO seviyelerini önemli şekilde baskılamıştır ( $P<0.001$ ).

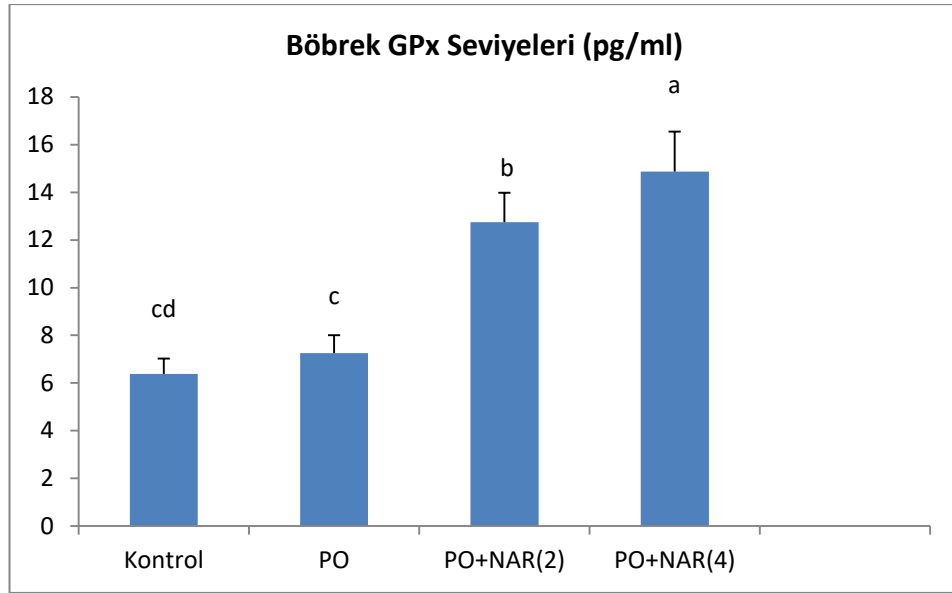
XO aktivitesi karaciğer dokusunda kontrol grubu 26.38; PO grubu 46.85; PO+NAR (2 hft.) grubunda 27.60; PO+NAR (4 hft.) grubunda 22.72 ortalama değer olarak belirlenmiştir. HÜ grubunda kontrol grubuna göre XO aktivitesi anlamlı şekilde artarken, 2 haftalık naringenin grubunda anlamlı şekilde azalmış ( $P<0.001$ ), 4 haftalık naringenin grubunda ise tüm gruplara göre anlamlı azalma gözlenmiştir ( $P<0.001$ ). HÜ grubu ile naringenin grupları kıyaslandığında her iki grupta da HÜ grubuna göre anlamlı azalma gözlenirken, naringenin grupları kendi içinde kıyaslandığında 4 haftalık naringenin grubunda 2 haftalık gruba göre anlamlı azalma olduğu gözlenmiştir ( $P<0.001$ ; Grafik 3.2.2).



**Grafik 3.2.2:** Karaciğer XO değerleri. Hiperürisemi karaciğer XO değerlerini önemli şekilde artırırken NAR takviyesi artan XO seviyelerini önemli şekilde baskılamıştır ( $P<0.001$ ).

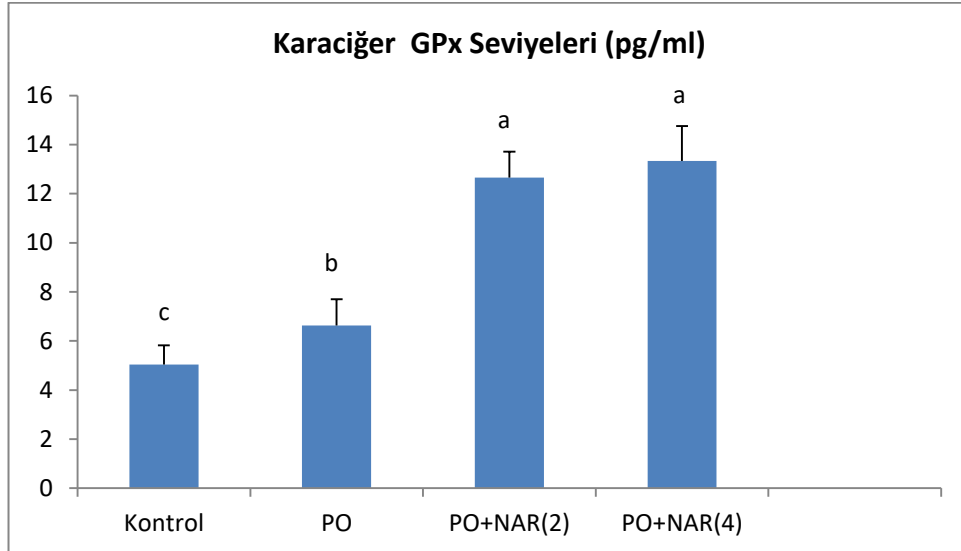
### 3.3. GPx

Böbrek dokusu GPx seviyeleri kontrol grubunda 6.38; PO grubunda 7.26; PO+NAR (2 hft.) grubunda 12.74; PO+NAR (4 hft.) grubunda 14.86 olarak belirlenmiştir. Böbrek dokusu GPx aktivitesi açısından değerlendirildiğinde kontrol grubu ile HÜ grubu arasında istatistiki olarak anlamlı fark gözlenmezken naringenin gruplarında anlamlı artış gözlenmiştir ( $P<0.001$ ). HÜ grubu ile naringenin grupları kıyaslandığında her iki naringenin grubunda da anlamlı artış gözlenmiş, naringenin grupları kendi içlerinde kıyaslandığında 4 haftalık grupta anlamlı artış ortaya çıktığı gözlenmiştir (( $P<0.001$ ; Grafik 3.3.1).



**Grafik 3.3.1:** Böbrek GPx Seviyeleri. NAR takviyesi GPx değerlerini önemli şekilde artırmıştır ( $P<0.001$ ).

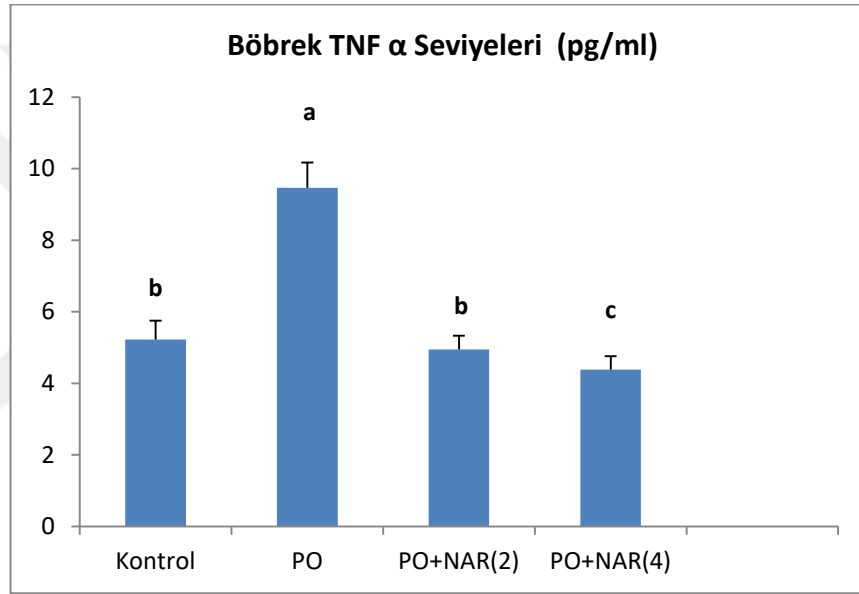
Karaciğer dokusunda GPx seviyeleri kontrol grubunda 5.04; PO grubunda 6.63; PO+NAR (2hft.) grubunda 12.66; PO+NAR (4 hft.) grubunda 13.33 şeklinde belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre her üç grupta da anlamlı artış olup, HÜ grubu ile naringenin grupları kıyaslandığında her iki naringenin grubunda da HÜ grubuna göre anlamlı artış olduğu fakat naringenin gruplarının kendi içinde anlamlı fark sergilemediği gözlenmiştir ( $P<0.001$ ; Grafik 3.3.2).



**Grafik 3.3.2:** Karaciğer GPx Değerleri. NAR takviyesi GPx değerlerini önemli şekilde artırmıştır ( $P<0.001$ ).

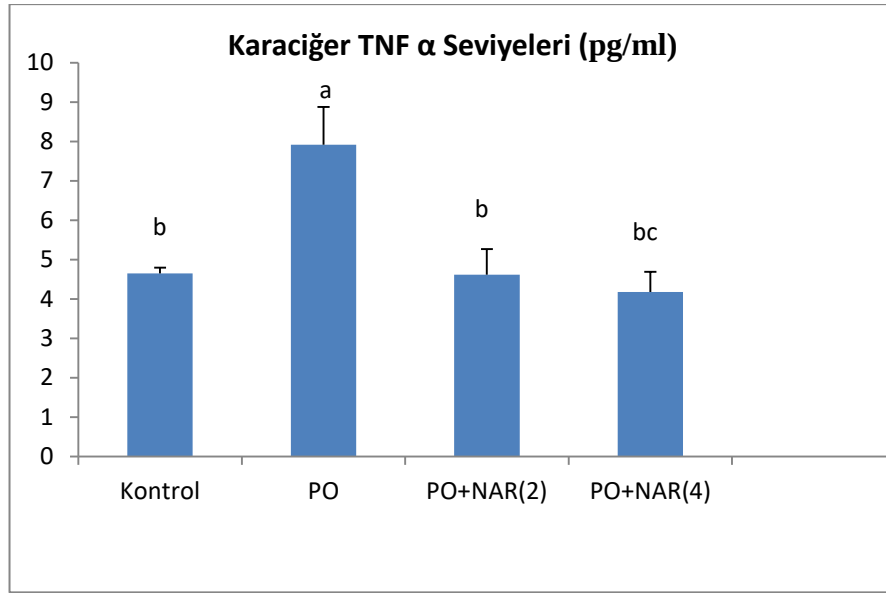
### 3.4. TNF $\alpha$

Böbrek dokusu TNF  $\alpha$  seviyeleri açısından değerlendirildiğinde Kontrol grubu 5.22; PO grubu 9.46; PO+NAR (2 haft.) 4.95; PO+NAR(4 haft.) 4.38 ortalama değer olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gözlenirken, 2 haftalık naringenin grubunda anlamlı fark yoktur fakat 4 haftalık naringenin grubunda anlamlı azalma gözlenmiştir. HÜ grubuna göre her iki naringenin grubunda da anlamlı azalma gözlenirken, naringenin gruplarının kendi içlerinde kıyaslandığında 4 haftalık grupta 2 haftalık gruba göre anlamlı azalma sergilediği gözlenmiştir (Grafik 3.4.1).



**Grafik 3.4.1:** Böbrek TNF- $\alpha$  Seviyeleri. Hiperürisemi böbrek TNF- $\alpha$  değerlerini önemli şekilde artırırken, NAR uygulaması, baskılamıştır ( $P<0.001$ ).

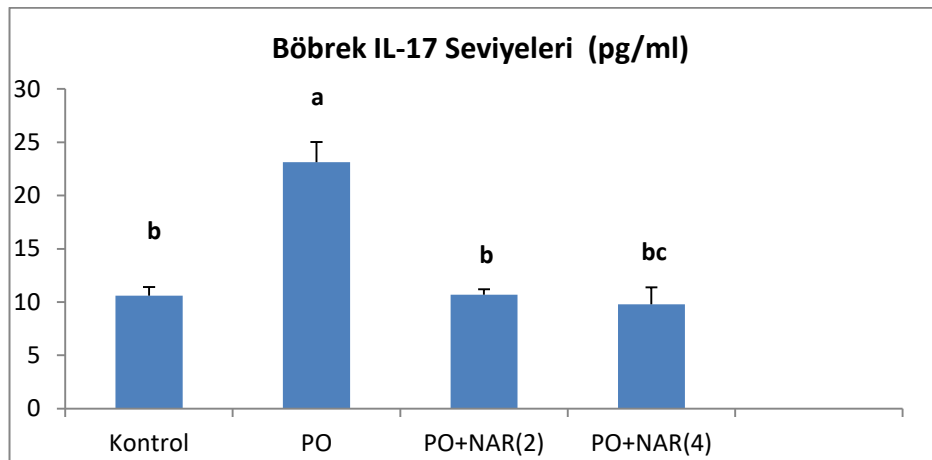
Karaciğer dokusuna bakıldığında Kontrol grubu 4.65; PO grubu 7.92; PO+NAR (2 haft.) 4.62; PO+NAR (4 haft.) 4.18 ortalama değer olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gözlenmiş, naringenin gruplarında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmamıştır. HÜ grubuna göre her iki naringenin grubu da anlamlı azalma sergilerken, naringenin gruplarının kendi içlerinde anlamlı fark göstermediği bulunmuştur (Grafik 3.4.2).



**Grafik 3.4.2:** Karaciğer TNF- $\alpha$  Seviyeleri. NAR uygulaması artan karaciğer TNF- $\alpha$  değerlerini önemli şekilde azaltmıştır ( $P<0.001$ ).

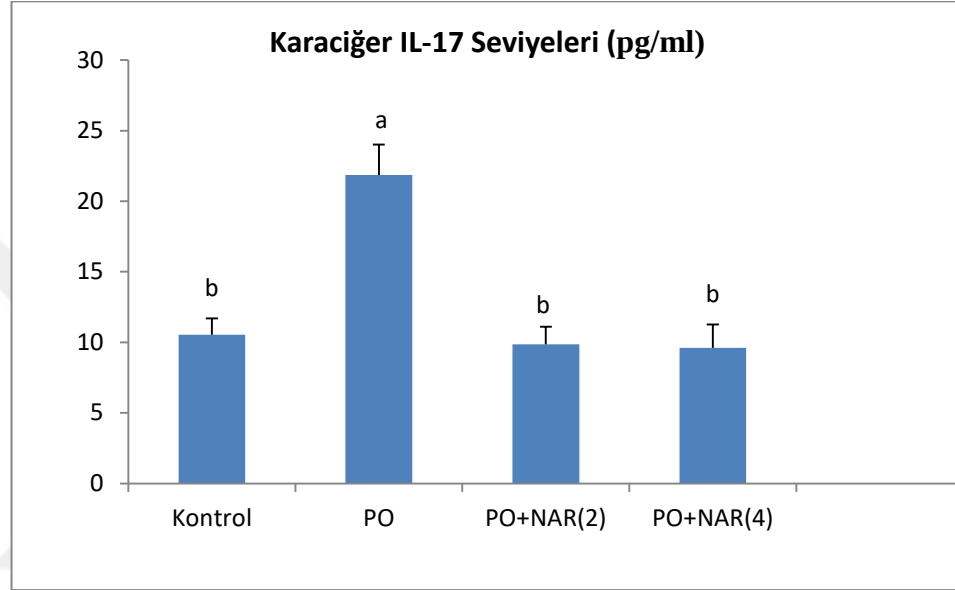
### 3.5. IL-17

Böbrek dokusu IL-17 seviyeleri açısından değerlendirildiğinde Kontrol grubu 10.59; PO grubu 23.14; PO+NAR (2 haft.) 10.69; PO+NAR (4 haft.) 9.79 ortalama değer olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gözlenmiş fakat naringenin gruplarında anlamlı fark gözlenmemiştir. HÜ grubu naringenin grupları ile kıyaslandığında naringenin gruplarında anlamlı azalma gözlenmiş, naringenin grupları kendi içinde kıyaslandığında 4 haftalık grupta azalma daha fazla olmasına rağmen istatistik olarak anlamlı değildir (Grafik 3.5.1).



**Grafik 3.5.1:** Böbrek IL-17 Değerleri. NAR uygulaması artan böbrek IL-17 değerlerini önemli şekilde azaltmıştır ( $P<0.001$ ).

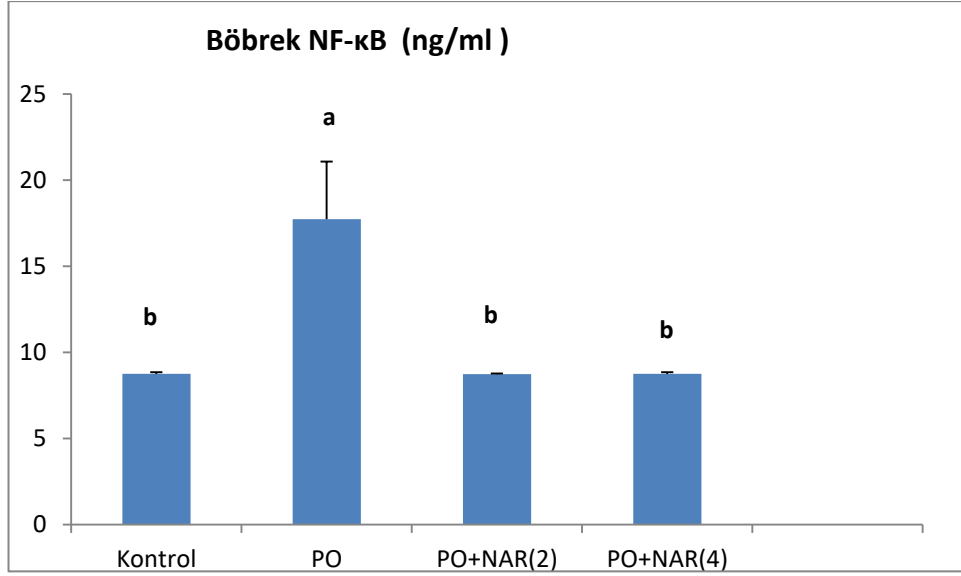
IL-17 karaciğer dokusunda ise kontrol grubu 10.54; PO grubu 21.86; PO+NAR (2 haft.) 9.87; PO+NAR (4 haft.) 9.60 ortalama değer olarak belirlenmiştir. IL-17 seviyeleri kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gösterirken naringenin gruplarında anlamlı fark gözlenmemiştir. HÜ grubu ile naringenin grupları kıyaslandığında naringenin gruplarının her ikisinde de anlamlı azalma gözlenirken naringenin grupları kendi içlerinde kıyaslandığında anlamlı değişiklik olmadığı gözlenmiştir (Grafik 3.5.2).



**Grafik 3.5.2:** Karaciğer IL-17 Seviyeleri. Hiperürisemiyle artan karaciğer IL-17 değerleri NAR takviyesiyle önemli şekilde baskılanmıştır ( $P<0.001$ ).

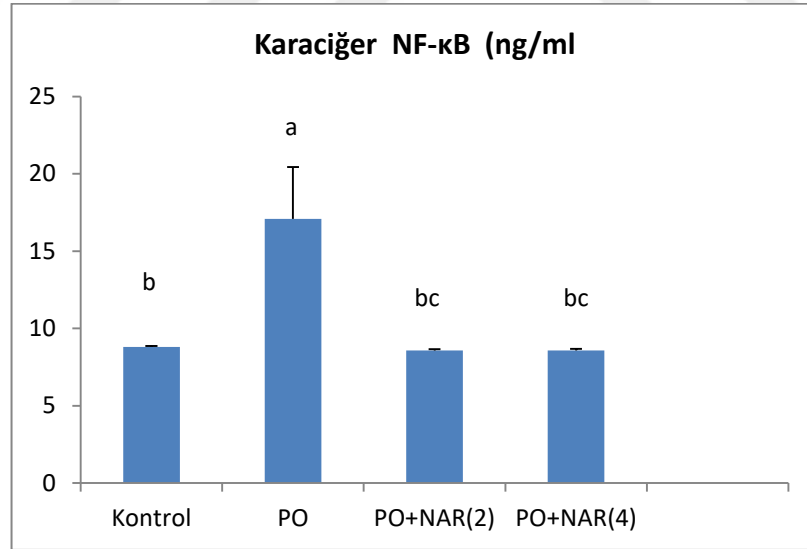
### 3.6. NF-κB

Böbrek dokusu NF-κB değerleri kontrol grubu için 8.75; PO grubunda 17.74; PO+NAR'da (2 haft.) 8.74; PO+NAR (4 haft.) grubunda ise 8.76 olarak tespit edilmiştir. Böbrek dokusu NFκB açısından değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gözlenirken naringenin gruplarında anlamlı fark gözlenmemiştir. HÜ grubuna göre her iki naringenin grubu da anlamlı azalma sergilerken, naringenin gruplarının kendi içlerinde fark göstermediği bulunmuştur (Grafik 3.6.1).



**Grafik 3.6.1:** Böbrek NFKB Değerleri. Hiperürisemi böbrek NF-κB seviyelerini önemli şekilde artırmıştır ( $P<0.001$ ).

Karaciğer dokusunda NF-κB seviyeleri gruplar için sırasıyla 8.81; 17.08; 8.58 ve 8,57 olarak belirlenmiştir. Böbrek dokusuna benzer şekilde karaciğer dokusunda da NF-κB değerleri ürisemi ile artarken NAR takviyesi artan NF-κB seviyelerini önemli şekilde baskılamıştır (Grafik 3.6.2).

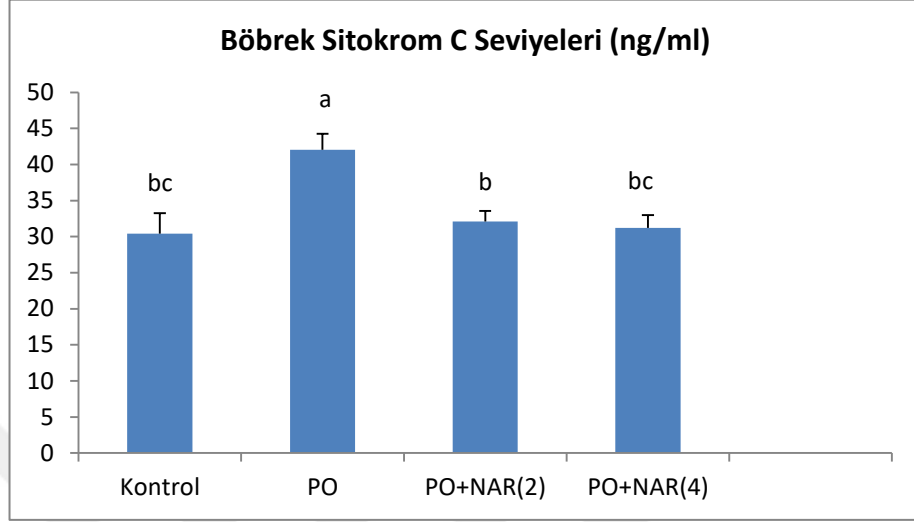


**Grafik 3.6.2:** Karaciğer NF-κB Değerleri. NAR takviyesi ürisemiyle artan NF-κB seviyelerini önemli şekilde baskılamıştır ( $P<0.001$ ).

### 3.7. Sitokrom C

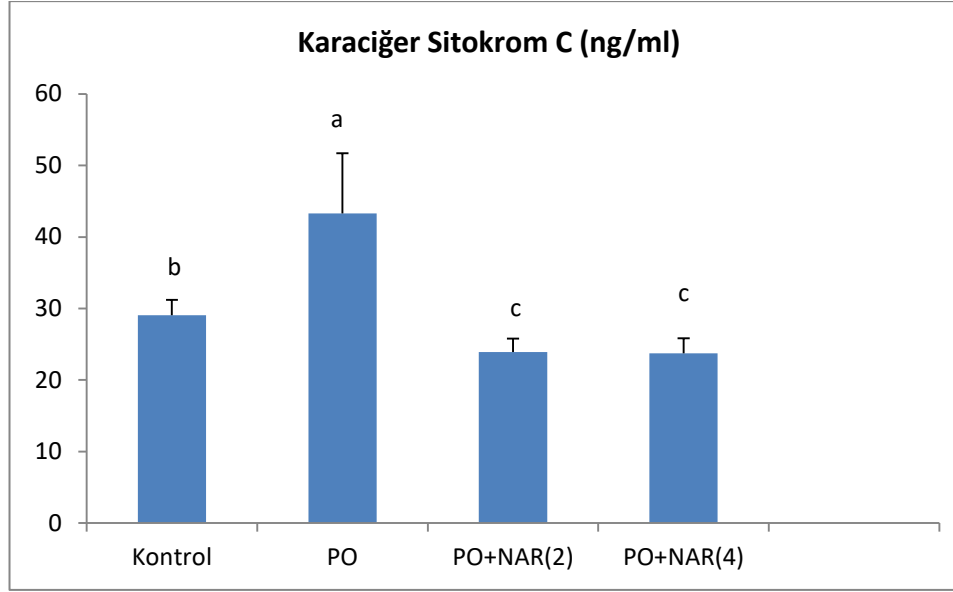
Böbrek dokusu Sitokrom C değerleri Kontrol grubunda 30.41; PO grubunda 42.05; PO+NAR grubunda (2 haft.) 32.11 ve son olarak PO+NAR grubunda (4 haft.)

31.20 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gözlenirken, naringenin gruplarında anlamlı fark olmadığı, naringenin gruplarında HÜ'ye göre anlamlı azalma olduğu fakat naringenin gruplarının kendi içlerinde istatistiki anlamlılık göstermediği bulunmuştur (Grafik 3.7.1).



**Grafik 3.7.1:** Böbrek Sitokrom C Değerleri. HÜ böbrek dokusunda sitokrom C seviyelerini önemli şekilde artırırken, NAR takviyesi önemli şekilde baskılayarak kontrol değerlerine indirmiştir ( $P<0.001$ ).

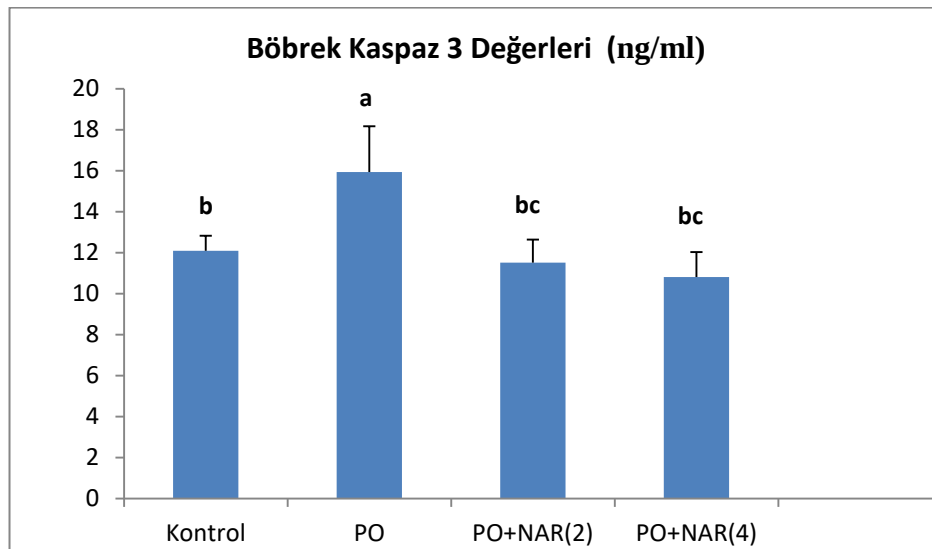
Karaciğer dokusu incelendiğinde sitokrom C seviyeleri kontrol grubunda 29.07; PO grubunda 43.30; PO+NAR grubunda (2 haft.) 23.93 ve PO+NAR(4 haft.) grubunda 23.73 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gözlenmiş, naringenin gruplarında istatistiki olarak anlamlı azalma olmuştur. HÜ grubuna göre her iki naringenin grubu da anlamlı azalma sergilerken, naringenin gruplarının kendi içlerinde farklılık göstermediği bulunmuştur (Grafik 3.7.2).



**Grafik 3.7.2:** Karaciğer Sitokrom C Seviyeleri. HÜ karaciğer sitokrom C değerlerini önemli şekilde artırmıştır ( $P<0.001$ ).

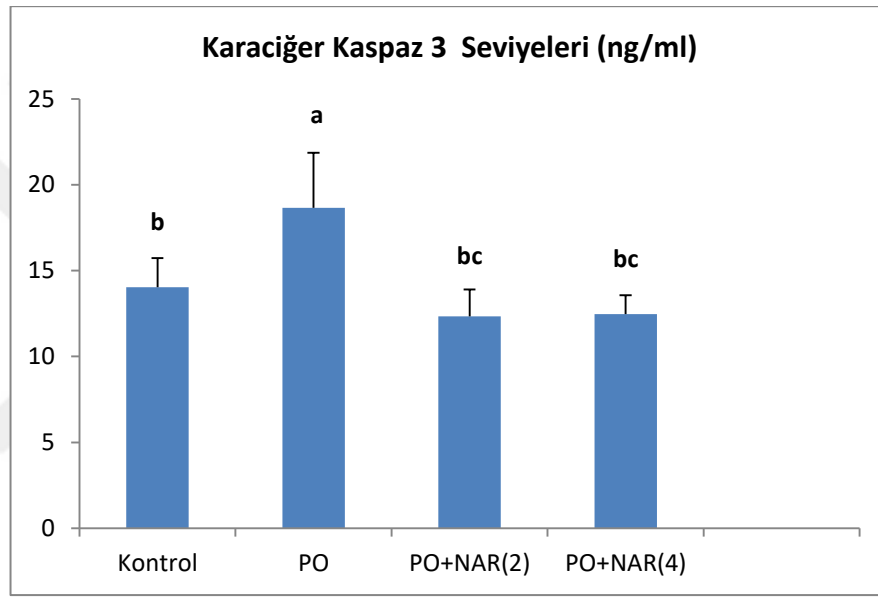
### 3.8. Kaspaz 3

Böbrek dokusu kaspaz 3 değerleri deney gruplarında sırasıyla 12.09; 15.93; 11.51 ve 10.80 şeklinde belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gözlenirken naringenin gruplarının her ikisinde de azalma olmuştur fakat istatistiki olarak önem arz etmemektedir. HÜ grubuna göre her iki naringenin grubu da anlamlı azalma sergilerken, naringenin gruplarının kendi içlerinde fark göstermediği bulunmuştur (Grafik 3.8.1).



**Grafik 3.8.1:** Böbrek Kaspaz 3 Seviyeleri. Ürisemiyle artan böbrek Kaspaz 3 değerleri NAR takviyesiyle önemli şekilde baskılanmıştır ( $P<0.001$ ).

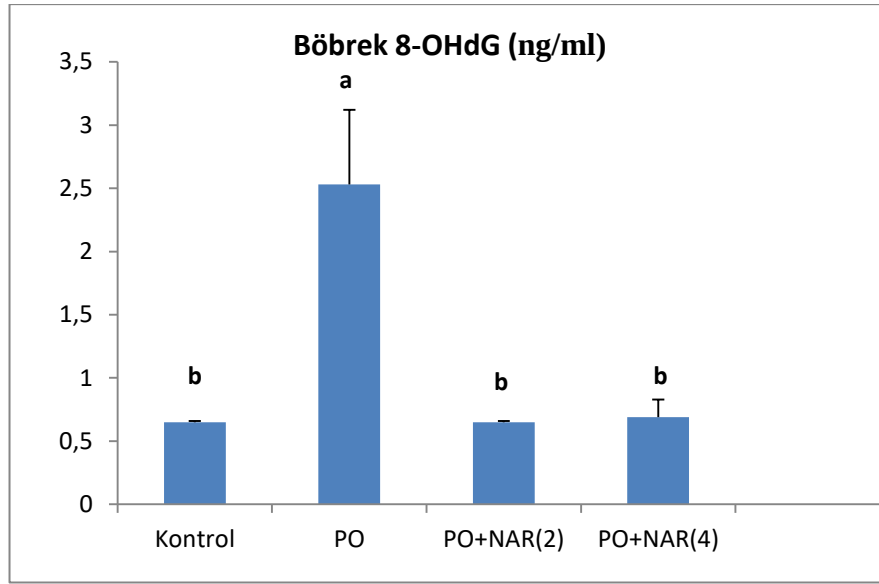
Karaciğer dokusu kaspaz 3 değerleri kontrol grubunda 14.04; PO grubunda 18.66; PO+NAR grubunda (2 haft.) 12.33 ve PO+NAR grubunda ise (4 haft.) 12.47 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gözlenirken naringenin gruplarının her ikisinde de azalma olmuştur fakat istatistiki olarak önem arz etmemektedir. HÜ grubuna göre her iki naringenin grubu da anlamlı azalma sergilerken, naringenin gruplarının kendi içlerinde fark göstermediği bulunmuştur (Grafik 3.8.2).



**Grafik 3.8.2:** Karaciğer Kaspaz 3 değerleri Ürisemi grubunda önemli şekilde artmış, ancak NAR uygulaması artan Kaspaz 3 değerlerini önemli şekilde baskılamıştır ( $P<0.001$ ).

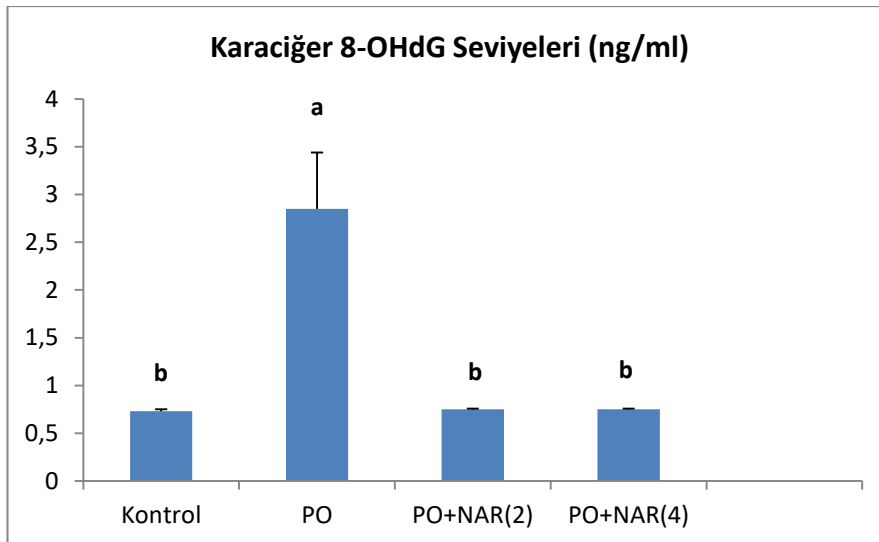
### 3.9. 8-OHdG

Böbrek dokusu 8-OHdG seviyeleri açısından değerlendirildiğinde kontrol grubu 0.65; PO grubu 2.53; PO+NAR (2 haft.) 0.65; PO+NAR (4 haft.) 0.69 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gözlenmiş, naringenin gruplarında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmamıştır. HÜ grubuna göre her iki naringenin grubu da anlamlı azalma sergilerken, naringenin gruplarının kendi içlerinde anlamlı fark göstermediği bulunmuştur (Grafik 3.9.1).



**Grafik 3.9.1:**Böbrek 8-OHdG Değerleri. Ürisemiyle artan böbrek 8-OHdG seviyeleri NAR uygulaması ile önemli oranda baskılandı ( $P<0.001$ ).

Karaciğer dokusuna 8-OHdG seviyeleri açısından bakıldığında ise kontrol grubu 0.73; PO grubu 2.85; PO+NAR (2 haft.) 0.75; PO+NAR (4 haft.) 0.75 ortalama değer olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gözlenmiş, naringenin gruplarında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmamıştır. HÜ grubuna göre her iki naringenin grubu da anlamlı azalma sergilerken, naringenin gruplarının kendi içlerinde anlamlı fark göstermediği bulunmuştur (Grafik 3.9.2).



**Grafik 3.9.2:** Karaciğer 8-OHdG Seviyeleri. NAR uygulaması ürisemiyle artan karaciğer 8-OHdG değerlerini önemli şekilde baskılamıştır ( $P<0.001$ ).

#### 4. TARTIŞMA

Araştırmamızda bulgulara genel olarak baktığımızda potasyum oksonatla oluşturulan hiperüriseminin öncelikle gerçekleştiği ve serum ürik asit değerlerinin önemli bir şekilde arttığı belirlenmiştir. Aynı zamanda hiperürisemiye bağlı olarak böbrek ve karaciğer dokularında apoptotik süreçlerde hızlanmalar olduğu ve DNA hasarının gerçekleştiği ancak hem 2 haftalık hem de 4 haftalık naringenin tedavisinin artan apoptosis ve DNA hasarını belirgin olarak baskıladığı görülmektedir.

Araştırmada ilk olarak serum ürik asit değerleri belirlendi. Bu parametre PO ile hiperürisemi oluşturulan grupta kontrol değerlerine göre önemli şekilde artmış olup çalışmada ilk hedef olarak üriseminin gerçekleştiğini göstermektedir. Ancak gerek 2 hafta gerekse 4 haftalık naringenin tedavisi, artan ÜA seviyelerini önemli oranda azaltmıştır. PO, bir urat oksidaz inhibitörüdür. Serum ürik asit konsantrasyonunu ürikaz yoluyla ürik asit dekompozisyonunu inhibe ederek arttırabilir (Tung ve Chang 2010). (Nguyen ve ark 2005)'nın çalışmasında ratlara, ürikaz inhibitörünü olan potasyum oksonat (250 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulanarak HÜ modeli gerçekleştirilmiş olup bu çalışmada serum ÜA değerleri önemli oranda artmıştır. Normal ratlardaki ÜA seviyelerinin  $1.48 \pm 0.01$  mg/dl olduğu gözlenmiştir. Yine aynı çalışmada hipöürisemik etkileri araştırılan, XO'ya karşı inhibitör aktivitesi bilinen bileşikler olan acacetin ve 4,5-O-dikaffeoilkinik asit metil esterinin serum ÜA seviyelerini doza bağlı olarak belirgin şekilde azalttığı fakat İP uygulamanın oral uygulamaya göre daha güçlü hipöürisemik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu bileşiklerin 2 uygulama şekli arasında biyoyararlanımı farklıdır ve gözlemlenen hipöürisemik etkilerinin gut flora metabolitlerinden ziyade kendi orijinal formlarından kaynaklandığı bildirilmiştir. Potasyum okzanatla indüklenmiş hiperürisemi fare modelinde bir flavonoid türü olan antosiyanin uygulaması sonucu serum ürik asit, kan üre nitrojen (BUN) ve serum kreatinin seviyelerini anlamlı şekilde azalttığı rapor edilmiştir (Qian ve ark 2019). PO ile uyarılan hiperürisemi modelinde, hiperürisemik farelerin serum ürikasit seviyelerinde artış görülmüştür (Alghamdi ve ark 2020). Yukarıdaki çalışmalarda vurgulandığı gibi bizim çalışmamızda da serum ürik asit değerleri hiperürisemiye bağlı olarak belirgin şekilde artmış olması bahsedilen çalışmalarla benzerlik göstermektedir. PO'la indüklü hiperürisemi fare modelinde flavonoidlerden kuersetin, morin, myricetin,

kaempferol, apigenin ve puerarinin 50 ve 100 mg/kg uygulamalarında serum ürik asit seviyelerinin normal seviyelere anlamlı şekilde düştüğü gözlenirken, luteolin, formonoetin ve naringenin anlamlı etkilerini sadece 100 mg/kglık yüksek dozda göstermişlerdir. Fakat tüm bileşiklerin hipoürisemik etkileri allopurinole göre daha hafif olduğu, fakat genistein, baicalin, icariin, daidzin, naringin dihidrokalkon ve silibinin hiperürisemik farelerde serum ürikasit üzerinde etkisi gözlenmemiştir (Mo ve ark 2007). Ancak bizim çalışmamızda bir flavonoid türü olan naringenin hiperürisemiye bağlı olarak artan serum ÜA değerlerini kontrol seviyelerine düşürmesi gerçekleştirilen tedavinin etkinliğini ortaya koymaktadır. Ayrıca 4 haftalık grupta 2 haftalık gruba göre ürik asit seviyesinin daha fazla azalmış olması sebebi ile naringenin sadece tedavi amaçlı değil profilaksi için de kullanılabileceği öngörülebilir.

Çalışmada XO seviyeleri incelendiğinde hiperüriseminin bu parametreyi de önemli şekilde artırmış olduğu görülmektedir. Ancak HÜ'ye bağlı olarak artan XO değerleri naringenin tedavisiyle önemli şekilde baskılanmıştır. XO, insanlarda ve diğer bazı ürikotelik türlerde pürin nükleotid metabolizması katabolik sekansının sonunda yer alır. Majör fonksiyonu hipoksantinin ksantine oksidasyonunu ve ksantini ürik asite katalize etmektir (Harris ve ark 1999). Gut ve HÜ, vücutta anormal ürik asit oranları ile ilişkili metabolik bozukluklardır. Eklemlerde ve böbreklerde urat kristalleri depozisyonu ile sonuçlanır (Kramer ve Curhan 2002). Buna göre ürik asit sentezindeki son adımı bloke etmek, ürik asit üretimini azaltmak ve bunun yanı sıra hastalık semptomlarını hafifletmek için anti inflamatuvar ajan üretiminin desteklenmesinde XO inhibitörleri kullanılır (Star ve Hochberg 1993). Araştırmacılar çeşitli geleneksel bitkilerden potansiyel XO inhibitörleri keşfetmeye yönelmişlerdir (Kong ve ark 2000, Sweeney ve ark 2001). Acacetin ve 4,5-O-dikaffeoilkinik asit metil ester gibi flavonoidlerin XO inhibitör aktivitelerinden dolayı faydalı hipoürisemik etkiler gösterdiği bulunmuş, gerçek klinik durumlarda HÜ ve gut tedavisinde kullanılabileceği öngörülmüştür (Nguyen ve ark 2005). Hesperidin in vivo hipoürisemik etkilerinin altında yatan mekanizmaları netleştirmek için hesperidinden daha fazla biyoyararlanıma sahip olan glukozil hesperidin (GH), kullanılarak yapılan çalışmada, doz bağımlı olarak GH'nin, PO ve früktozdan zengin diyetle uyarılan hiperürisemide serum ÜA seviyelerini azalttığı ve karaciğerde XO aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Ota-Kontani ve ark 2020). 12

çeşit majör flavonoid içeren ve bunlardan 5 tanesinin HÜ deki etkinliği tahmin edilen mısır püskülü flavonoidleri ile hiperürisemik fareler üzerinde yapılan çalışmada bu 5 flavonoidten birinin de NAR olduğu ve mısır püskülü flavonoidlerinin serum ÜA seviyesini % 26.69 azaltırken serum XO aktivitesini % 11.29 azalttığı bildirilmiştir (Yuan ve ark 2021). Epigallocateşin (EGCG) yüksek serum ÜA seviyelerini anlamlı olarak azaltmış ve serum ve karaciğer XO aktivitesini inhibe etmiştir (Li ve ark 2020). Flavonoidler, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklerinin yanı sıra XO gibi önemli enzimlerin aktivitesine katkı sağlar. Moleküler yapılarından dolayı bu doğal antioksidanlar direk süperoksit süpürücüleri ve XO inhibitörleri olarak etki ederler. In vitro bir çalışmada kuersetinin suprafizyolojik dozlarının ROS'u süpürmede ve XO aktivitesini inhibe etmede bir ÜA düşürücü olan allopurinolle kıyaslandığında 100 kat daha güçlü olduğu bulunmuştur (Cimanga ve ark 2001). Hiperürisemik farelerde yeşil çay polifenollerinin doza bağlı olarak, XO'nun karaciğer ekspresyonunun inhibisyonu ve renal ürat anyon taşıyıcıları modifikasyonu aracılığı ile serum ürik asit konsantrasyonunu azaltabildiği bildirilmiştir (Chen ve ark 2015).

PO'la indüklü hiperürisemi fare modelinde flavonoidlerden kuersetin, morin, myricetin, kaempferol, apigenin ve puerarinin 50 ve 100 mg/kg uygulamalarında serum ürik asit seviyelerinin normal seviyelere anlamlı şekilde düştüğü gözlenirken, luteolin, formonoetin ve naringenin anlamlı etkilerini sadece 100 mg/kglık yüksek dozda göstermişlerdir (Mo ve ark 2007). Kuersetin sadece yüksek dozda karaciğer XO aktivitesi inhibisyonunda anlamlı etki gösterirken, morin, myricetin, kaempferol ve puerarin karaciğer XO aktivasyonunda hem düşük hem yüksek dozda anlamlı inhibisyon sağlamıştır. Fakat allopurinole göre bu etki daha zayıftır (Mo ve ark 2007).

Flavonoidler, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklerinin yanı sıra XO gibi önemli enzimlerin aktivitesine katkı sağlar (Cos ve ark 1998, Lin ve ark 2015). Flavonoidlerin ÜA seviyelerini XO enzimi inaktivasyonu aracılığı ile azaltabildiği gösterilmiştir (Mo ve ark 2007). Araştırmamızda iki ve dört haftalık naringenin tedavisiyle elde ettiğimiz karaciğer ve böbrek dokusundaki baskılanmış XO aktivitesinin yukarıda belirtilmiş olan flavonoidlerin XO aktivitesini azaltıcı etkileriyle benzerlik gösterdiği görülmektedir. Ayrıca karaciğer dokusunda 4. Haftalık naringenin grubunda 2 haftalık gruba göre XO aktivitesinde anlamlı azalma

olması naringenin gıda takviyesi olarak kullanımının karaciğerde koruyucu etkinliği olabileceği yönüyle önem arz etmektedir.

Çalışmamızda değerlendirilen başka bir parametrede GPx idi. Böbrek ve karaciğer dokusunda GPx seviyeleri hem 2 haftalık hem de 4 haftalık NAR tedavisi ile belirgin şekilde artış göstermiştir. Ancak karaciğer dokusunda bu parametrenin seviyesi deney grubunda da artış göstermiş olup bu artışın organın artan antioksidan aktivitesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Glutasyon; glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşur ve endojen bir radikal temizleyici antioksidan moleküldür. Glutasyon peroksidaz enzimi aracılığıyla hidrojen peroksitin suya dönüşümünde görev alır (Zhu ve ark 2013). GPx, selenyum içeren bir antioksidan enzimdir. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve lipid peroksitlerini sırasıyla su ve lipid alkollerine etkin şekilde indirgeyen enzim, sırayla glutasyonu, glutasyon disülfide okside eder (Hecker ve ark 2013). Yapılan bir çalışmada Hindistan cevizi yağından zengin diyetle beslenen ratlarda düşük GPx aktivitesi bildirilmiştir (D'aquino ve ark 1991). Bir başka çalışmada hindistan cevizi yağı bazlı yüksek doymuş yağlı diyetle 4 hafta beslenen farelerin kalp, karaciğer ve böbrek dokularında GPx aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir (Lin ve ark 2004). 10 gün boyunca 250 mg/kg intraperitoneal potasyum oksonatla indüklü HÜ modelinde, HÜ grubunda GPx aktivitesinin azaldığı rapor edilmiştir (Soliman ve ark 2020). Ratlarda metotreksat (MTX) indüklü hepatotoksitede naringenin etkinliğine bakılan çalışmada MTX ile azalan GPx seviyelerinin, naringenin uygulaması ile önemli ölçüde düzeldiği gözlenmiştir. Bulgulara göre NAR, reaktif serbest radikalleri temizleyerek ve antienflamatuar etkileri indükleyerek MTX kaynaklı hepatotoksiteyi inhibe edebilir (Malayeri ve ark 2020).

HÜ, serbest oksijen radikali üretimindeki artış, oksidatif stres, proinflamatuar sitokinler ve mediyatörlerin up regülasyonu ile bağlantılıdır (Kuwabara 2015). Bilindiği gibi katalazlar ve peroksidazlar oksidoredüktazlardır.  $H_2O_2$ 'nin zararlı etkisine karşı koymak için reaktif oksijen türlerine karşı moleküler savunma mekanizmalarında yer alırlar (Zámocký ve ark 2001). Farelerde hücre hasarı ve inflamasyonla oluşan artmış oksidatif stres, katalaz ekspresyonundaki ve /veya sekresyonundaki bir artış ile hafifletilir (Selvaratnam ve Robaire 2016). Buna paralel olarak antioksidan enzim GPx, hücrel serbest radikallerin süpürülmesine yardımcı

olur. GPx, lipid peroksidasyonunu önler ve intraselüler homeostasisi sağlar (Zamudio-Cuevas ve ark 2015). Ratlarda testis kadmium toksisitesinde 4 hafta boyunca oral 50mg/kg NAR uygulamasının GPx i arttırdığı gözlenmiştir (Zedan ve ark 2021). NAR 20 mg/kg 4 hafta uygulamasının karaciğer yaralanmalarında GP'x i arttırdığı gözlenmiştir (Ahmed ve ark 2019). Oral yoldan 45 gün boyunca 50-100 mg/kg NAR uygulamasının, streptozotosin (STZ) ile uyarılan karaciğer komplikasyonlarını önlemeye yardımcı olduğu ve GPx'i arttırdığı tespit edilmiştir (Rashmi ve ark 2018). Deri yaralanmasında 7 günlük NAR uygulaması inflamasyonu baskılamış ve GPx'i arttırmıştır (Al-Roujayee 2017). Araştırmamızda yapmış olduğumuz 2 ve 4 haftalık 100 mg/kg dozda NAR takviyesinin böbrek ve karaciğer dokusundaki artmış GPx seviyelerine yol açmış olması yukarıda bahsedilen çalışmalarda olduğu gibi NAR takviyesinin GPx aktivitesini artırma etkinliğiyle paralellik göstermektedir. Ayrıca böbrek dokusu PO grubunda kontrole göre değişiklik olmazken karaciğer dokusunda GPx aktivitesinde anlamlı artış olması karaciğer ve böbrek dokularının antioksidan kapasite açısından farklılık arz ettiğini gösterebilir.

Araştırmanın böbrek ve karaciğer dokusu TNF- $\alpha$  seviyeleri açısından değerlendirildiğinde bu parametrenin her iki dokuda da hiperürisemiye bağlı olarak belirgin şekilde arttığı ancak iki / dört haftalık naringenin tedavisiyle artmış TNF- $\alpha$  değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Daha önce gerçekleştirilmiş olan benzer çalışmalarda ÜA'nın yangısal mediyatörleri uyarmak suretiyle inflamasyona neden olduğu belirlenmiştir (Wang ve ark 2015). In vivo murin kolitte naringenin TNF- $\alpha$  uyarımıyla oluşan ağrı benzeri davranışları baskıladığı rapor edilmiştir (Dou ve ark 2013). Gerçekleştirilmiş olan bir araştırmada naringenin tedavisinin, MSU ile uyarılan TNF- $\alpha$  artışını baskıladığı belirlenmiştir (Ruiz-Miyazawa ve ark 2018). Hiperürisemik ratlarda resveratrolün inflamatuvar yanıt ve renal yaralanma üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, idrar albümin ve  $\beta$ 2-mikroglobulin ekspresyon seviyelerinin resveratrol uygulamasından sonra anlamlı olarak azaldığı ve kontrol grubuyla kıyaslandığında resveratrol gruplarında serum kreatinin ve ürik asit seviyelerinin anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. İnterlökin-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar faktör seviyelerinin hiperürisemik ratlarda böbrek dokusu ve serumda arttığı ve resveratrol uygulamasının bunların ekspresyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir (Xiao ve ark 2021).

Vasküler düz kas hücrelerinde ürik asitin TNF- $\alpha$  ekspresyonunu indüklediği gözlenmiştir. ÜA ROS seviyesini arttırmış ve p38 fosforilasyonunu aktive etmiştir. Sonraki deneylerde de p38 mitojen aktive protein kinaz (MAPK) inhibitörü, SB203580 ve NF- $\kappa$ B inhibitörü pirrolidin, ditiyokarbamatın TNF- $\alpha$ 'nın ÜA kaynaklı ekspresyonunu ortadan kaldırdığı doğrulanmıştır. Ürik asitin vasküler düz kas hücrelerinde ROS-MAPK-NF- $\kappa$ B sinyal yolu aracılığı ile TNF- $\alpha$  ekspresyonunu indüklediği ve ürik asitin proinflamatuvar ve proaterosklerotik etkilerini destekleyen yeni kanıtlar sağladığı gösterilmiştir (Tang ve ark 2017). Yüksek ürik asit diyeti proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonuna neden olur ve NF- $\kappa$ B yi aktive eder ve hipotalamusta gliozisi artırır (Lu ve ark 2015). Doğal bir flavonoid olan kuersetinin NF- $\kappa$ B- NOD-like receptor 3 (NLRP3) inflamasyon yolunu baskıladığı gözlenmiştir (Zhang ve ark 2014).

Lesinurad ve Allopurinol'ün hiperürisemik farelerin böbrekleri üzerindeki biyokimyasal, moleküler ve hücresele seviyelerde potansiyel iyileştirici etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada Lesinurad ve Allopurinol uygulamasının hiperürisemik farelerde TNF- $\alpha$ 'da anlamlı azalma ile sonuçlandığı bildirilmiştir. Her ikisi de renal mURAT-1, mGLUT-9, mOAT-1ve mOAT-3 ekspresyonlarında oksonatın neden olduğu değişiklikleri kısmen tersine çevirmiştir. Bu da renal ürik asit sekresyonu ve atılımının artması ile sonuçlanmıştır (Alghamdi ve ark 2020). Ratlarda DOX indüklü kardiyotoksositeye karşı naringenin etkinliğinin araştırıldığı çalışmada DOX kontrol grubuna göre TNF- $\alpha$ 'yı artırırken karşı tedavi olan NAR bu inflamatuvar belirteçlerin mRNA ekspresyon seviyelerini hafifletmiş, histolojik kardiyak hasar ve kardiyak fonksiyonları geliştirmiştir (Subburaman ve ark 2014). 90 gün boyunca hiperkolesterolemik diyetle maruz kalan ratların böbrek ve trombosit membranlarındaki adenin nükleotitlerinin hidrolizini ve naringenin oksidatif ve inflamatuvar parametreler üzerindeki koruyucu etkisinin değerlendirildiği çalışmada, 90 gün boyunca naringenin birlikte uygulamasının (50 mg/kg/gün) hiperkolesterolemik ratlarda renal bozukluğu önemli ölçüde önlediği renal belirteçlerdeki iyileşme ile gösterilmiştir. NAR, lipid profilini anlamlı olarak azaltmış ve hiperkolesterolemik rat böbreklerinde prooksidan ve inflamasyon markır seviyelerini inhibe ettiği gösterilmiştir (Chtourou ve ark 2016). Naringenin TNF  $\alpha$  ile uyarımlı gut vasküler bariyer bozulmasını NF- $\kappa$ B'yi azaltarak önlemiştir (Zhong ve

ark 2021). Doğal olarak oluşan bir flavonol olan fisetin, TNF- $\alpha$  ve IL-6'yı ürisemide azaltmış, renal inflamatuvar tepkiyi bastırmış ve STAT3 ve TGF- $\beta$  sinyal yolları modülasyonu yoluyla hiperürisemik nefropatiye karşı korumak için böbrek fibrozunu iyileştirmiştir (Ren ve ark 2021). Bizim araştırmamızda ise 2 ve 4 haftalık 100 mg/kg dozda intraperitoneal NAR tedavisi hem böbrek hemde karaciğer dokusunda artan TNF-  $\alpha$  seviyelerini baskılamış olması yukarıda belirtilmiş olan çalışmalarla benzerlik göstermekte olup TNF-  $\alpha$  aracılı yangısal süreci önemli şekilde azalttığını ortaya koymaktadır. Ayrıca böbrek dokusunda 4 haftalık NAR grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma olması sadece hastalık durumunda değil gıda takviyesi olarak kullanımının da inflamasyonu önlemede etkin olabileceğini öngörmektedir. Karaciğer grubunda ise 4. Grupla kontrol grubu arasında fark olmaması hastalığın pasif döneminde ya da rutin kullanımda naringenin takviyesinin inflamasyonu önlemede etkin olabileceği TNF-  $\alpha$  seviyesi açısından böbrek dokusunda karaciğer dokusuna göre daha etkin olabileceğini göstermektedir.

IL-17 değerleri incelendiğinde bu parametrenin hiperürisemik sıçanların hem böbrek hem de karaciğer dokularında önemli oranda artış gösterdiği ancak iki/ dört hafta süreli NAR uygulaması ile artmış olan IL-17 değerlerinin önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir. IL-17 sinir sisteminde yer alan inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda ve inflamatuvar hücrelerin hasar bölgelerine alınmasında rol almaktadır (Hu ve ark 2011). IL-17 baskılanmasının, deney hayvanlarında pankreatik tümör gelişiminin inhibisyonuna yol açtığını gösterilmiştir. Noubade ve ark. (2011) CD4+ T hücrelerinde p38 MAPK sinyal yolu aktivasyonunun IL-17 üretiminin kontrol altına alınması açısından gerekli olduğunu göstermiştir. IL-17 için hem pro-inflamatuvar hem de antiinflamatuvar fonksiyonlar tanımlanmıştır. Bir yandan tümör gerilemesine neden olan antitümör sitotoksik T hücre yanıtını teşvik eder; diğer yandan da tümör büyümesini teşvik eder (Murugaiyan ve Saha 2009). IL-17, otoimmün hastalık gelişimini baskılayabilen antiinflamatuvar etkiye sahiptir (Otani ve ark 2009). Gut'lu ve hiperürisemili Çinli hastalarda febuxostatın ürik asit ve proinflamatuvar sitokinler TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-17 ve serum seviyeleri üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmada, randomize olarak 156 hasta febuxostat (80 mg) ve plasebo gruplarına ayrılmıştır. Febuxostat anlamlı ölçüde serum ürik asit seviyeleri ile IL-17 serum seviyelerinde de azalma gözlenmiştir (Huang ve ark 2020). Gut artritli hastalarda Mucosal-associated invariant T (MAIT) hücrelerinin rolü ve

osteoklastogenez üzerine etkilerinin incelendiği çalışma, gut artritli hastalar, hiperürisemili katılımcılar ve sağlıklı kontrollerin katılımı ile gerçekleştirilmiştir. Dolaşımdaki MAIT hücre seviyeleri GA'lı hastalarda anlamlı seviyede azalmış ancak IFN- $\gamma$ , IL-17 ve TNF- $\alpha$  üretimi için kapasiteleri korunmuştur. MAIT hücrelerinin sinovyal sıvıda biriktiği ve eklemlerdeki gutlu tofus dokularına sızdığı bulunmuştur (Cho ve ark 2020). MS'in hayvan modellemesi olan deneysel otoimmün ensefalomiyelitli (EAE) farelerde diyetle uygulanan naringenin kan beyin bariyerini korumadaki faydalı etkilerinin incelendiği çalışmada, NAR uygulanan farelerde T hücresi salgılayan sitokinlerin (IFN- $\gamma$ , IL-17 ve IL-6) azalmasıyla sonuçlanan cDC lerin kemotaksisini ve antijen sunan işlevini bloke etmiştir (Niu ve ark 2021). Otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların önlenmesi ve/veya tedavisi için T hücrelerinin seçici inhibisyonu ima edilmiştir. Bu tür bağışıklık düzenleyici işlevlere sahip bazı gıda bileşiklerinin bu amaca yönelik beslenme yaklaşımı olarak kullanılabileceği öngörülmüştür. NAR'ın doza bağlı olarak anti-CD3/CD28 ve MOG35-55 indüklü T hücre proliferasyonunu ve T hücre sitokinleri olan IFN- $\gamma$ , IL-17, IL-6 ve TNF- $\alpha$  üretimini baskıladığı bulunmuştur (Niu ve ark 2018). NAR, UV ışıyla oluşturulan deri hasarında IL-17'yi baskılamıştır (Martinez ve ark 2015). Araştırmamızda elde etmiş olduğumuz IL-17 seviyelerinin naringenin tedavisiyle baskılanmış olması yukarıda bahsedilmiş olan çalışmalarla benzerlik göstermekte ve naringenin antienflamatuvar özelliğini desteklemektedir.

NF- $\kappa$ B değerleri incelendiğinde böbrek ve karaciğer dokularında hiperürisemiyle önemli artış gösterdiği belirlenmiştir. Hiperürisemiyle birlikte iki ve dört haftalık naringenin takviyesiyle baskılanma göstermiştir. NF- $\kappa$ B; inflamatuvar ve immün yanıtlar, oksidatif stres yanıtları, belirli viral genlerin ekspresyonu, hücre siklusları, hücre proliferasyonu, büyümesi, gelişmesi, farklılaşması, sağ kalımı ve apoptozu gibi pek çok kritik fizyolojik süreçte yer alan proteinleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu aktive eden bir transkripsiyon faktörü protein kompleksidir (Oeckinghaus ve Ghosh 2009). Ayrıca NF- $\kappa$ B'nin embriyo gelişimi, meme bezi, kemik, deri ve MSS dokuları dahil dokuların gelişiminde/fizyolojisinde hayati fonksiyonları bu transkripsiyon faktörünün önemini vurgulamıştır (Hayden ve Ghosh 2004). NF- $\kappa$ B aktivasyonunun apoptozu baskıladığı, hücre büyümesini ve anjiyogenezi arttırdığı, dolayısıyla kemoterapi direnci ve tümöröenez oluşumunu arttırdığı bilinmektedir (Bharti ve Aggarwal 2002). PO ile uyarılan hiperürisemili

farelerde ürikasiti azaltmak ve renal fonksiyonları iyileştirmede Fangji Huangqi Decoction (FHT)'nin etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada HÜ grubunda NF-κB ekspresyonunun önemli şekilde arttığı gözlenirken FHT uygulaması ile NF-κB de anlamlı değişiklik olmadığı gözlenmiştir (Xing ve ark 2020). Serum ürik asitin tromboz gelişimi ile ilgili olduğu bildirilmiştir fakat let-7c nin dahil olduğu trombozdaki yüksek ürik asit mekanizması net değildir. Let-7c upregülasyonu yoluyla miyosit artırıcı faktör -2C (myocyte enhancer factor-2C) ye bağımlı NF-κB yolunu aktive ederek farelerde yüksek ürik asitin protrombotik etkisini ortaya çıkardığı gözlenmiştir (Cheng ve ark 2020). Tuna eti oligopeptitleri (TMOP) diyet uygulamasında HÜ ve renal inflamasyon fenotiplerinin hafiflediği, ürik asit metabolizma yollarını yeniden programladığı, NLRP3 inflamatuvar ve TLR4/MyD88/NF-κB sinyal yollarının aktivasyonunu inhibe ettiği ve p65-NF-κB nin fosforilasyonunu baskılayarak hiperürisemiye düzelttiği gözlenmiştir (Han ve ark 2020). Ratlarda HÜ bağlantılı alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanmasında resveratrol uygulamasının NF-κB P65 deasetilasyonuna neden olduğu gözlenmiştir (Xu ve ark 2019). PO indüklü hiperürisemili ratlarda polidatin (PLD) etkinliğinin araştırıldığı çalışmada PLD uygulamasının, serum ve idrarda ürik asit ve kreatinin seviyelerini düşürerek, serum ve böbrekte proinflamatuvar sitokin üretiminin inhibisyonuna yol açtığı bildirilmiştir. Western blot analizleri PLD'nin, NF-κB p65 translokasyonunu, IκBα bozunmasını ve inflamatuvar bileşenlerin protein seviyelerini (NLRP3, ASC ve kaspaz-1), down regüle ettiği bunun da IL-1β salgısının azalmasına yol açtığını göstermiştir (Chen ve Lan 2017). İnflamasyonun metabolik ve kardiyovasküler hastalıklarda önemli patojenik rolü olması sebebi ile HÜ, proinflamatuvar NF-κB sinyal kaskadını aktive ederek hepatik inflamatuvar moleküllerin ekspresyonunu indükleyebilir (Spiga ve ark 2017). ÜA, NF-κB sinyalleşmesi yolu ile hipotalamik inflamasyona neden olabilir (Lu ve ark 2015). Çin tıbbında hiperürisemi ve gut tedavisinde sıkça kullanılan bir ilaç olan Simiao'nun renal koruyucu etkileri, metabolik sendromlu yüksek früktozla beslenen ratlarda renal glomeruler hasarı azaltmak için Sirt1 ekspresyonunun up regülasyonu ve NF-κB/NLRP3 inflamatuvar aktivasyonunun baskılanması ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Ma ve ark 2015). Artmış ürik asit seviyelerinin NF-κB-iNOS-NO sinyal aksı aracılığı ile β hücre yaralanmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Jia ve ark 2013). NF-κB sinyal aktivasyonu hiperürisemik fare tubulünde gözlenmiş, ürik asitin NF-κB sinyal aktivasyonu aracılığı ile renal inflamasyonu indüklediği bildirilmiştir

(Zhou ve ark 2012). NAR, NF- $\kappa$ B'yi deaktif etmiş ve proinflatuar sitokinleri azaltmıştır. Naringenin, rat dalağında iyonlaştırmacı radyasyon (IR) kaynaklı redoks dengesizliğini tersine çevirdiği gözlenmiştir (Abdel-Magied ve Shedid 2019). Karbon tetraklorid (CCl<sub>4</sub>) ile uyarılan karaciğer fibroziste naringenin hepatoprotektif etkilerinin araştırıldığı çalışmada NAR uygulamasının NF- $\kappa$ B aktivasyonunu engellediği ve fibrozisi önlediği bildirilmiştir (Hernández-Aquino ve ark 2017). NAR dalakta NF- $\kappa$ B'yi azaltmıştır (Abdel-Magied ve Shedid 2019). Yukarıda belirtilmiş olan çalışmalarda doğrudan hiperürisemi modelinde naringenin uygulamasının rat böbrek ve karaciğer dokusundaki NF- $\kappa$ B düzeylerine olan etkisi incelenmemiş olmasına rağmen NAR uygulaması ile NF- $\kappa$ B seviyelerinin baskılanmış olmasıyla birlikte paralellik göstermektedir.

Böbrek ve karaciğer dokularında Sitokrom C değerleri hiperürisemiyle artarken NAR takviyesi ile birlikte azalma göstermiştir. Mitokondriyal elektron aktarım sisteminin önemli bir parçası olan Sitokrom C normalde mitokondrinin iç ve dış zarı arasındaki bölgede yerleşmiştir. Salınımı BCL-2 proteinler tarafından düzenlenir ve kaspazların aktivasyonunda gerekli bir kofaktördür. dATP (ya da ATP) ve sitoplazmik faktör Apaf-1 ile birlikte sitoplazmaya salınımı Kaspaz-9'un kendini ve sonra cellat Kaspaz- 3'ü aktive eder (Martin 2001). Kaspaz- 9'un bağlanma bölgesiyle etkileşerek bu kaspazı aktive eder. İnsan Apaf-1 proteini kaspazla etkileşmek için bir aktivasyon basamağı gerektirir. Aktivasyon için gereken bilinen tek mekanizma sitokrom-C'dir (Rossé ve ark 1998). İnsan nöroblastom SH-SY5Y hücrelerinin 2 saat boyunca 400  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye maruz kalması canlılık kaybına, apoptotik artışa ve ROS artmasına neden olmuştur. 12 saat boyunca naringenin ile ön tedavi canlılık kaybını, apoptotik oranı ve zayıflatılmış H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aracılı ROS üretimini önemli ölçüde azaltmıştır. Naringenin, düşük membran potansiyeli, azalmış Bcl-2/Bax oranı, sitokrom C salınımı ve kaspaz 3 bölünmesi dâhil olmak üzere H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indüklü mitokondriyal disfonksiyonu inhibe etmiştir (Jin ve Wang 2019). NAR'ın kardiyak iskemi reperfüzyonda mitokondriyal sitokrom C salınımını baskılamıştır (Yu ve ark 2019). Flavonoidler kardiolipinle uyarılan peroksidaz aktivitesini inhibe eder ve sitokrom C'yi baskılar (Lagoa ve ark 2017). Mitokondriden sitokrom C salınımını NAR'ın baskıladığı gözlenmiştir (Kapoor ve ark 2013). Çalışmamızda elde ettiğimiz baskılanmış sitokrom C düzeyleri yukarıda belirtilmiş olan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Ayrıca karaciğer dokusunda naringenin

gruplarında kontrole göre olan anlamlı azalma naringenin apoptozu önlemede böbrek dokusuna göre karaciğerde daha etkin olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Böbrek dokusu kaspaz 3 değerleri incelendiğinde deney gruplarında kontrol grubuna göre HÜ grubunda anlamlı artış gözlenirken naringenin gruplarının her ikisinde de azalma olmuştur. Karaciğer dokusunda da benzer şekilde kaspaz 3 seviyeleri hiperürisemiyle artarken NAR uygulaması ile belirgin olarak baskılanmıştır. Kaspazlar, sistein proteazlardır ve aspartik asitten sonraki peptid bağını kırarlar. Hücrede inaktiftirler, ancak proteolitik olarak birbirlerini aktifleştirirler. 100 farklı hedef proteini keserek apoptoza neden olurlar. Başlatıcı kaspazlar; (Kaspaz 2, 8, 9, 10), efektör kaspazlar (Kaspaz 3, 6, 7) ve inflamatuvar kaspazlar (Kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13, 14) olmak üzere 3 tiptirler. DNA tamiri ve replikasyonu için gerekli enzimleri inaktive ederler. Kaspaz 3 denervasyon indüklü atrofiye aracılık eder. Bir çalışmada tibial sinir transeksiyonundan 2 hafta sonra kaspaz 3-knockout farelerin denerve gastrocnemiuslu vahşi tip farelere göre, denerve gastrocnemius kasının daha ağır olduğu ve daha geniş fiber-tip-spesifik kesitsel alana sahip olduğu gösterilmiştir. Vahşi tip ve kaspaz 3 knockout farelerin denerve gastrocnemius kasında eşdeğer mitokondriyal Bax translokasyonu, sitokrom C salınımı ve kaspaz 9 aktivasyonu ile kaspaz 3'ün yukarıdaki apoptotik sinyalin bozulmadan kaldığı gözlenmiştir. Kaspaz 3 yokluğunun, ubiquitin-proteazom aracılı protein bozulmasının aksine apoptozu baskılayarak denervasyon kaynaklı kas atrofisine karşı koruduğu öne sürülmüştür (Plant ve ark 2009). Naringenin kaspaz 3 aktivitesini baskıladığı gözlenmiştir (Mehdipour ve ark 2020). NAR kaspaz 3'ü baskılayarak nöroapoptozisi önlemiştir (Hua ve ark 2016). Ürik asit uyarımı kaspaz protein seviyelerini arttırırken, Bcl-xL'yi azaltmış fakat kaspaz 8'i etkilememiştir (Shen ve ark 2021). HÜ atriyal fibrilasyon için risk oluşturur, bu kısmen kaspaz 3 aracılığıyla (Wang ve ark 2021). NAR, homosisteinle uyarılan nöron hasarına karşı koruyucu etki oluşturmuştur ve kaspaz 3'ü baskılar (Li ve ark 2020). Ratlarda karaciğer yaralanmasında 20 mg/kg NAR uygulamasının kaspaz 3'ü baskıladığı gözlenmiştir (Ahmed ve ark 2019). NAR'ın vankomisinle oluşturulan böbrek hasarına karşı koruduğu, 25 ve 50 mg/kg'lık dozun 100 mg/kg'lık dozdan daha etkili olduğu bildirilmiştir (Uckun ve ark 2020). Ürik asitin BAX ve kaspaz 3 aktivitesini arttırarak apoptozise yol açtığı bildirilmiştir (Yang ve ark 2020). Bizim araştırmamızda 100mg/kg dozda hem iki hafta hemde dört hafta süreli uygulaması ile

kazpaz-3 seviyeleri önemli şekilde baskılanmış olup yukarıda bahsedilen çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Hiperüriseminin böbrek ve karaciğer dokularındaki 8-OHdG değerleri incelendiğinde önemli artışlar görülmüştür. Bununla birlikte 2/4 haftalık naringenin takviyesi DNA hasar göstergelerinden olan 8-OHdG seviyelerini önemli oranda baskılamıştır. İlk olarak 1984de Kasai ve Nishimura tarafından rapor edilen, 8-OHdG biyomarkırı, DNA hasarının en yaygın ölçülen ve hassas belirteci olarak belirtilmiştir (Kasai ve ark 1984).

Normal fizyolojik koşullar altında endojen oksidanlar ve antioksidanlar arasında sürdürülen bir denge vardır. Oksidanların aşırı oluşumuyla ya da antioksidanların azalması ile bir dengesizlik oluşursa oksidatif stres ortaya çıkar (Halliwell ve Gutteridge 2015). Oksidatif stres varlığında in vivo oluşan ROS lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara sebep olabilir. Sonuç olarak DNA hasar görmüş ve oksidatif olarak değiştirilmiştir. Ayrıca DNA oksidatif hasarı ekzojen ROS sebebiyle de oluşabilir (Loft ve ark 1992). 8-OHdG oksidatif hasar ve tamir oranı arasındaki dengeyi yansıtan bir biyomarkırdır (Wu ve ark 2004)

İdrara atılan 8OHdG DNA üzerinde oksidatif stres etkisinin belirteci olarak kabul edilir ve esasen DNA onarım sistemi tarafından üretildiği bildirilmiştir. Oksidatif DNA hasarı nükleer DNA (nDNA) ve mitokondrial DNA (mtDNA) içindeki 8-OHdG bolluğu ölçümü ile değerlendirilebilir (Richter ve ark 1988). DNA onarımı ya da bozulması üzerine salınan 8-OHdG idrarla atılır (Cooke ve ark 2008). 8-OHdG nin idrarla çıkışı hem genel oksidatif stresin hem de DNA bozulmasının belirteci olabilir (Wu ve ark 2004). Yaşlı dokulardaki oksitlenmiş nükleozit 8-OHdG birikiminin, yaşa bağlı oksidatif stresteeki artış ve bunun mt ve nDNA daki etkileri sonucu olduğu kabul edilir (Hamilton ve ark 2001). Üriner 8-OHdG, diyet takviyelerinin oksidatif hasara etkinliğini araştırmak için de kullanılmıştır. Mononükleer hücre DNAsında, serum ve idrar 8-OHdG seviyeleri 500 mg/gün C vitamini takviyesi alan katılımcılar üzerindeki etkinliğinin incelenmesi için kullanılmıştır. Diyetle antioksidan takviye alan katılımcıların 8-OHdG DNA seviyelerinde anlamlı azalma gösterdikleri bildirilmiştir (Cooke ve ark 1998). 8-OHdG skorunun, deneysel ratlarda Cisplatin uyarımlı genotoksitede doku hasarında iyi bir belirteç olduğu bildirilmiştir ve bu çalışmaya göre NOX (naringenin oksim) antioksidan etkisini ROS aracılı 8-OHdG seviyelerini azaltarak dolayısı ile oksidatif

DNA hasarını önleyerek göstermiştir (Koyuncu ve ark 2017). Çalışmamızda da hiperürisemiye bağlı böbrek ve karaciğer dokularında artmış olan DNA hasarının iki/dört haftalık naringenin tedavisiyle baskılanmış olması bahsedilen çalışmalalarla paralellik göstermektedir.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmanın sonuçlarına göre deneysel hiperürisemiye bağlı olarak serum ürikasit değerleriyle böbrek ve karaciğer dokularında inflamatuvar faktörler ve DNA hasarının belirgin şekilde artış gösterdiği görülmektedir. Ancak hem iki hem de dört haftalık intraperitoneal naringenin uygulaması apoptotik aktivite ve inflamasyonu baskılamıştır. Bu inhibisyonda, NF- $\kappa$ B ve Sitokrom C yollarının etkin olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda hiperürisemiye bağlı oluşan apoptozisin önlenmesinde Kaspaz 3 aktivitesinin baskılanması ve artan DNA hasarının baskılanmasında da 8-OHdG seviyelerinin inhibiyonunun etkin olduğu görülmektedir.

Hiperürisemik durumlarda profilaktik olarak veya sonrası naringenin ve benzeri maddelerin takviyesinin doku ve organlardaki hasarın önlenmesinde koruyucu etkinliği dikkate alınarak kullanımı göz önünde bulundurulmalıdır.

## 6. KAYNAKLAR

- Abdel-Magied N, Shedid SM, 2019. The effect of naringenin on the role of nuclear factor (erythroid-derived 2)-like2 (Nrf2) and haem oxygenase 1 (HO-1) in reducing the risk of oxidative stress-related radiotoxicity in the spleen of rats. *Environmental toxicology*, 34, 7, 788-95.
- Acehan D, Jiang X, Morgan DG, Heuser JE, Wang X, Akey CW, 2002. Three-dimensional structure of the apoptosome: implications for assembly, procaspase-9 binding, and activation. *Molecular cell*, 9, 2, 423-32.
- Aherne SA, O'Brien NM, 2002. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*, 18, 1, 75-81.
- Ahmed OM, Fahim HI, Ahmed HY, Al-Muzafar HM, Ahmed RR, Amin KA, El-Nahass E-S, Abdelazeem WH, 2019. The preventive effects and the mechanisms of action of navel orange peel hydroethanolic extract, naringin, and naringenin in N-acetyl-p-aminophenol-induced liver injury in Wistar rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.
- Al-Roujayee AS, 2017. Naringenin improves the healing process of thermally-induced skin damage in rats. *Journal of International Medical Research*, 45, 2, 570-82.
- Al-Rubaei Z, Mohammad TU, Ali LK, 2014. Effects of local curcumin on oxidative stress and total antioxidant capacity in vivo study. *Pak J Biol Sci*, 17, 12, 1237-41.
- Alghamdi YS, Soliman MM, Nassan MA, 2020. Impact of Lesinurad and allopurinol on experimental Hyperuricemia in mice: biochemical, molecular and Immunohistochemical study. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 21, 1, 10.
- Aroor AR, Jia G, Habibi J, Sun Z, Ramirez-Perez FI, Brady B, Chen D, Martinez-Lemus LA, Manrique C, Nistala R, 2017. Uric acid promotes vascular stiffness, maladaptive inflammatory responses and proteinuria in western diet fed mice. *Metabolism*, 74, 32-40.
- Austin PJ, Moalem-Taylor G, 2010. The neuro-immune balance in neuropathic pain: involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines. *Journal of neuroimmunology*, 229, 1-2, 26-50.
- Barnes S, Prasain J, D'Alessandro T, Arabshahi A, Botting N, Lila MA, Jackson G, Janle EM, Weaver CM, 2011. The metabolism and analysis of isoflavones and other dietary polyphenols in foods and biological systems. *Food & function*, 2, 5, 235-44.
- Becker BF, 1993. Towards the physiological function of uric acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 14, 6, 615-31.
- Becker MA, Fitz-Patrick D, Choi HK, Dalbeth N, Storgard C, Cravets M, Baumgartner S. An open-label, 6-month study of allopurinol safety in gout: the LASSO study. *Seminars in arthritis and rheumatism*, 174-83.
- Benn CL, Dua P, Gurrell R, Loudon P, Pike A, Storer RI, Vangjeli C, 2018. Physiology of hyperuricemia and urate-lowering treatments. *Frontiers in medicine*, 5, 160.
- Bharti AC, Aggarwal BB, 2002. Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy. *Biochemical pharmacology*, 64, 5-6, 883-8.
- Bloomer RJ, Goldfarb AH, 2004. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Canadian journal of applied physiology*, 29, 3, 245-63.
- Boots AW, Haenen GR, Bast A, 2008. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European journal of pharmacology*, 585, 2-3, 325-37.
- Borghi C, (2017). The management of hyperuricemia: back to the pathophysiology of uric acid, Taylor & Francis.
- Borghi C, Rosei EA, Bardin T, Dawson J, Dominiczak A, Kielstein JT, Manolis AJ, Perez-Ruiz F, Mancia G, 2015. Serum uric acid and the risk of cardiovascular and renal disease. *Journal of hypertension*, 33, 9, 1729-41.
- Bos MJ, Koudstaal PJ, Hofman A, Witteman JC, Breteler MM, 2006. Uric acid is a risk factor for myocardial infarction and stroke: the Rotterdam study. *Stroke*, 37, 6, 1503-7.
- Brenner D, Mak TW, 2009. Mitochondrial cell death effectors. *Current opinion in cell biology*, 21, 6, 871-7.
- Brewer M, 2011. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 10, 4, 221-47.
- Cadet J, 2014. Oxidative degradation pathways of cellular DNA: product formation and mechanistic insights. *Free Radical Biology and Medicine*, 75, S2.
- Cain K, Bratton SB, Cohen GM, 2002. The Apaf-1 apoptosome: a large caspase-activating complex. *Biochimie*, 84, 2-3, 203-14.

- Cemeli E, Baumgartner A, Anderson D, 2009. Antioxidants and the Comet assay. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 681, 1, 51-67.
- Chen FE, Ghosh G, 1999. Regulation of DNA binding by Rel/NF- $\kappa$ B transcription factors: structural views. *Oncogene*, 18, 49, 6845-52.
- Chen G, Tan M-L, Li K-K, Leung P-C, Ko C-H, 2015. Green tea polyphenols decreases uric acid level through xanthine oxidase and renal urate transporters in hyperuricemic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 175, 14-20.
- Chen L, Lan Z, 2017. Polydatin attenuates potassium oxonate-induced hyperuricemia and kidney inflammation by inhibiting NF- $\kappa$ B/NLRP3 inflammasome activation via the AMPK/SIRT1 pathway. *Food & function*, 8, 5, 1785-92.
- Chen L, Lan Z, Lin Q, Mi X, He Y, Wei L, Lin Y, Zhang Y, Deng X, 2013. Polydatin ameliorates renal injury by attenuating oxidative stress-related inflammatory responses in fructose-induced urate nephropathic mice. *Food and Chemical Toxicology*, 52, 28-35.
- Cheng X, Liu T, Ma L, Liu Z, Xin Y, Jia Z, Chen Y, Li C, Sun R, 2020. Prothrombotic effects of high uric acid in mice via activation of MEF2C-dependent NF- $\kappa$ B pathway by upregulating let-7c. *Aging (Albany NY)*, 12, 18, 17976.
- Chiba T, Matsuo H, Kawamura Y, Nagamori S, Nishiyama T, Wei L, Nakayama A, Nakamura T, Sakiyama M, Takada T, 2015. NPT1/SLC17A1 is a renal urate exporter in humans and its common gain-of-function variant decreases the risk of renal underexcretion gout. *Arthritis & rheumatology*, 67, 1, 281-7.
- Cho Y-N, Jeong H-S, Park K-J, Kim H-S, Kim E-H, Jin H-M, Jung H-J, Ju JK, Choi S-E, Kang J-H, 2020. Altered distribution and enhanced osteoclastogenesis of mucosal-associated invariant T cells in gouty arthritis. *Rheumatology*, 59, 8, 2124-34.
- Chtourou Y, Kamoun Z, Zarrouk W, Kebieche M, Kallel C, Gdoura R, Fetoui H, 2016. Naringenin ameliorates renal and platelet purinergic signalling alterations in high-cholesterol fed rats through the suppression of ROS and NF- $\kappa$ B signaling pathways. *Food & function*, 7, 1, 183-93.
- Chtourou Y, Slima AB, Makni M, Gdoura R, Fetoui H, 2015. Naringenin protects cardiac hypercholesterolemia-induced oxidative stress and subsequent necroptosis in rats. *Pharmacological Reports*, 67, 6, 1090-7.
- Cimanga K, Ying L, De Bruyne T, Apers S, Cos P, Hermans N, Bakana P, Tona L, Kambu K, Kalenda D, 2001. Radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity of phenolic compounds from *Bridelia ferruginea* stem bark. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 5, 757-61.
- Clarkson PM, Thompson HS, 2000. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *The American journal of clinical nutrition*, 72, 2, 637S-46S.
- Cohen GM, 1997. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochemical Journal*, 326, 1, 1-16.
- Cooke MS, Evans MD, Podmore ID, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Hickenbotham PT, Hussieni A, Griffiths HR, Lunec J, 1998. Novel repair action of vitamin C upon in vivo oxidative DNA damage. *FEBS letters*, 439, 3, 363-7.
- Cooke MS, Olinski R, Loft S, 2008. Measurement and meaning of oxidatively modified DNA lesions in urine. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 17, 1, 3-14.
- Cos P, Ying L, Calomme M, Hu JP, Cimanga K, Van Poel B, Pieters L, Vlietinck AJ, Berghe DV, 1998. Structure– activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of natural products*, 61, 1, 71-6.
- D'aquino M, Benedetti PC, Felice MD, Gentili V, Tomassi G, Maiorino M, Ursini F, 1991. Effect of fish oil and coconut oil on antioxidant defence system and lipid peroxidation in rat liver. *Free radical research communications*, 12, 1, 147-52.
- D'Arcy MS, 2019. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell biology international*, 43, 6, 582-92.
- Dajas F, Juan Andres A-C, Florencia A, Carolina E, Felicia R-M, 2013. Neuroprotective actions of flavones and flavonols: mechanisms and relationship to flavonoid structural features. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents)*, 13, 1, 30-5.
- Dera AA, Rajagopalan P, Alfhili MA, Ahmed I, Chandramoorthy HC, 2020. Thymoquinone attenuates oxidative stress of kidney mitochondria and exerts nephroprotective effects in oxonic acid-induced hyperuricemia rats. *BioFactors*, 46, 2, 292-300.
- Dou W, Zhang J, Sun A, Zhang E, Ding L, Mukherjee S, Wei X, Chou G, Wang Z-T, Mani S, 2013. Protective effect of naringenin against experimental colitis via suppression of Toll-like receptor 4/NF- $\kappa$ B signalling. *British Journal of Nutrition*, 110, 4, 599-608.

- Dubchak N, Falasca GF, 2010. New and improved strategies for the treatment of gout. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 3, 145.
- Ekert PG, Vaux DL, 2005. The mitochondrial death squad: hardened killers or innocent bystanders? *Current opinion in cell biology*, 17, 6, 626-30.
- Elmore S, 2007. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35, 4, 495-516.
- Erlund I, Meririnne E, Alfthan G, Aro A, 2001. Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. *The Journal of nutrition*, 131, 2, 235-41.
- Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, 2020. Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease E-book: pathophysiology, diagnosis, management, Elsevier, p.
- Ferretti S, Bonneau O, Dubois GR, Jones CE, Trifilieff A, 2003. IL-17, produced by lymphocytes and neutrophils, is necessary for lipopolysaccharide-induced airway neutrophilia: IL-15 as a possible trigger. *The Journal of Immunology*, 170, 4, 2106-12.
- Flora SJ, 2009. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2, 4, 191-206.
- Fregnan F, Muratori L, Simões AR, Giacobini-Robecchi MG, Raimondo S, 2012. Role of inflammatory cytokines in peripheral nerve injury. *Neural Regeneration Research*, 7, 29, 2259.
- Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH, 2010. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell*, 140, 6, 918-34.
- Haidari F, Keshavarz SA, Rashidi MR, Shahi MM, 2009. Orange juice and hesperetin supplementation to hyperuricemic rats alter oxidative stress markers and xanthine oxidoreductase activity. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 45, 3, 285-91.
- Halliwell B, 1998. Can oxidative DNA damage be used as a biomarker of cancer risk in humans? Problems, resolutions and preliminary results from nutritional supplementation studies. *Free radical research*, 29, 6, 469-86.
- Halliwell B, Gutteridge JM, 2015. *Free radicals in biology and medicine*, Oxford University Press, USA, p.
- Hamilton ML, Van Remmen H, Drake JA, Yang H, Guo ZM, Kewitt K, Walter CA, Richardson A, 2001. Does oxidative damage to DNA increase with age? *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98, 18, 10469-74.
- Han J, Wang X, Tang S, Lu C, Wan H, Zhou J, Li Y, Ming T, Wang ZJ, Su X, 2020. Protective effects of tuna meat oligopeptides (TMOP) supplementation on hyperuricemia and associated renal inflammation mediated by gut microbiota. *The FASEB Journal*, 34, 4, 5061-76.
- Harris MD, Siegel LB, Alloway JA, 1999. Gout and hyperuricemia. *American family physician*, 59, 4, 925.
- Hassimotto NMA, Pinto MrDS, Lajolo FM, 2008. Antioxidant status in humans after consumption of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) juices with and without defatted milk. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56, 24, 11727-33.
- Hayden MS, Ghosh S, 2004. Signaling to NF- $\kappa$ B. *Genes & development*, 18, 18, 2195-224.
- Hecker PA, Leopold JA, Gupte SA, Recchia FA, Stanley WC, 2013. Impact of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency on the pathophysiology of cardiovascular disease. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 304, 4, H491-500.
- Hengartner M, 2000. Biochemistry of apoptosis. *nature*, v. 407.
- Hernández-Aquino E, Zarco N, Casas-Grajales S, Ramos-Tovar E, Flores-Beltrán RE, Arauz J, Shibayama M, Favari L, Tsutsumi V, Segovia J, 2017. Naringenin prevents experimental liver fibrosis by blocking TGF $\beta$ -Smad3 and JNK-Smad3 pathways. *World journal of gastroenterology*, 23, 24, 4354.
- Hink H, Fukai T. Extracellular superoxide dismutase, uric acid, and atherosclerosis. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, 483-90.
- Hosomi A, Nakanishi T, Fujita T, Tamai I, 2012. Extra-renal elimination of uric acid via intestinal efflux transporter BCRP/ABCG2. *PloS one*, 7, 2, e30456.
- Hou S-x, Zhu W-j, Pang M-q, Jeffry J, Zhou L-l, 2014. Protective effect of iridoid glycosides from *Paederia scandens* (LOUR.) MERRILL (Rubiaceae) on uric acid nephropathy rats induced by yeast and potassium oxonate. *Food and chemical toxicology*, 64, 57-64.
- Hu Q-H, Zhang X, Wang X, Jiao R-Q, Kong L-D, 2012. Quercetin regulates organic ion transporter and uromodulin expression and improves renal function in hyperuricemic mice. *European journal of nutrition*, 51, 5, 593-606.

- Hu S, Snipas SJ, Vincenz C, Salvesen G, Dixit VM, 1998. Caspase-14 is a novel developmentally regulated protease. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 45, 29648-53.
- Hu Y, Shen F, Crellin NK, Ouyang W, 2011. The IL-17 pathway as a major therapeutic target in autoimmune diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1217, 1, 60-76.
- Hua F-Z, Ying J, Zhang J, Wang X-F, Hu Y-H, Liang Y-P, Liu Q, Xu G-H, 2016. Naringenin pre-treatment inhibits neuroapoptosis and ameliorates cognitive impairment in rats exposed to isoflurane anesthesia by regulating the PI3/Akt/PTEN signalling pathway and suppressing NF- $\kappa$ B-mediated inflammation. *International Journal of Molecular Medicine*, 38, 4, 1271-80.
- Hua J, Huang P, Zhu C-M, Yuan X, Yu C-H, 2012. Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of Modified Simiao Decoction in hyperuricemic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 142, 1, 248-52.
- Huang J, Wang S, Zhu M, Chen J, Zhu X, 2011. Effects of genistein, apigenin, quercetin, rutin and astilbin on serum uric acid levels and xanthine oxidase activities in normal and hyperuricemic mice. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 9, 1943-7.
- Huang Y-Y, Ye Z, Gu S-W, Jiang Z-Y, Zhao L, 2020. The efficacy and tolerability of febuxostat treatment in a cohort of Chinese Han population with history of gout. *Journal of International Medical Research*, 48, 5, 0300060520902950.
- Igney FH, Krammer PH, 2002. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nature Reviews Cancer*, 2, 4, 277-88.
- Iorga A, Dara L, Kaplowitz N, 2017. Drug-induced liver injury: cascade of events leading to cell death, apoptosis or necrosis. *International journal of molecular sciences*, 18, 5, 1018.
- Ishibuchi S, Morimoto H, Oe T, Ikebe T, Inoue H, Fukunari A, Kamezawa M, Yamada I, Naka Y, 2001. Synthesis and structure-activity relationships of 1-phenylpyrazoles as xanthine oxidase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 11, 7, 879-82.
- Jamaluddin M, Wang S, Boldogh I, Tian B, Brasier AR, 2007. TNF- $\alpha$ -induced NF- $\kappa$ B/RelA Ser276 phosphorylation and enhanceosome formation is mediated by an ROS-dependent PKAc pathway. *Cellular signalling*, 19, 7, 1419-33.
- Jayachitra J, Nalini N, 2012. Effect of naringenin (citrus flavanone) on lipid profile in ethanol-induced toxicity in rats. *Journal of Food Biochemistry*, 36, 4, 502-11.
- Jia L, Xing J, Ding Y, Shen Y, Shi X, Ren W, Wan M, Guo J, Zheng S, Liu Y, 2013. Hyperuricemia causes pancreatic  $\beta$ -cell death and dysfunction through NF- $\kappa$ B signaling pathway. *PloS one*, 8, 10, e78284.
- Jin M, Yang F, Yang I, Yin Y, Luo JJ, Wang H, Yang X-F, 2012. Uric acid, hyperuricemia and vascular diseases. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 17, 656.
- Jin Y, Wang H, 2019. Naringenin inhibit the hydrogen peroxide-induced SH-SY5Y cells injury through Nrf2/HO-1 pathway. *Neurotoxicity research*, 36, 4, 796-805.
- Kang D-H, Chen W. Uric acid and chronic kidney disease: new understanding of an old problem. *Seminars in nephrology*, 447-52.
- Kang D-H, Nakagawa T, Feng L, Watanabe S, Han L, Mazzali M, Truong L, Harris R, Johnson RJ, 2002. A role for uric acid in the progression of renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13, 12, 2888-97.
- Kang D-H, Park S-K, Lee I-K, Johnson RJ, 2005. Uric acid-induced C-reactive protein expression: implication on cell proliferation and nitric oxide production of human vascular cells. *Journal of the American Society of Nephrology*, 16, 12, 3553-62.
- Kang S, Wang S, Kuida K, Yuan J, 2002. Distinct downstream pathways of caspase-11 in regulating apoptosis and cytokine maturation during septic shock response. *Cell Death & Differentiation*, 9, 10, 1115-25.
- Kapoor R, Kakkar P, 2014. Naringenin accords hepatoprotection from streptozotocin induced diabetes in vivo by modulating mitochondrial dysfunction and apoptotic signaling cascade. *Toxicology reports*, 1, 569-81.
- Kapoor R, Rizvi F, Kakkar P, 2013. Naringenin prevents high glucose-induced mitochondria-mediated apoptosis involving AIF, Endo-G and caspases. *Apoptosis*, 18, 1, 9-27.
- Kasai H, Hayami H, Yamaizumi Z, Saito H, Nishimura S, 1984. Detection and identification of mutagens and carcinogens as their adducts with guanosine derivatives. *Nucleic acids research*, 12, 4, 2127-36.
- Kawanokuchi J, Shimizu K, Nitta A, Yamada K, Mizuno T, Takeuchi H, Suzumura A, 2008. Production and functions of IL-17 in microglia. *Journal of neuroimmunology*, 194, 1-2, 54-61.

- Kelley EE, Khoo NK, Hundley NJ, Malik UZ, Freeman BA, Tarpey MM, 2010. Hydrogen peroxide is the major oxidant product of xanthine oxidase. *Free Radical Biology and Medicine*, 48, 4, 493-8.
- Kellner H, 2013. Targeting interleukin-17 in patients with active rheumatoid arthritis: rationale and clinical potential. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*, 5, 3, 141-52.
- Kerr J, 1972. wyllie ah, Currie ar. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 26, 239-57.
- Kim CF, Moalem-Taylor G, 2011. Interleukin-17 contributes to neuroinflammation and neuropathic pain following peripheral nerve injury in mice. *The Journal of Pain*, 12, 3, 370-83.
- Kim JH, Lee SY, Oh SY, Han SI, Park HG, Yoo M, Kang HS, 2004. Methyl jasmonate induces apoptosis through induction of Bax/Bcl-XS and activation of caspase-3 via ROS production in A549 cells. *Oncology reports*, 12, 6, 1233-8.
- Knights KM, Mangoni AA, Miners JO, 2010. Defining the COX inhibitor selectivity of NSAIDs: implications for understanding toxicity. *Expert review of clinical pharmacology*, 3, 6, 769-76.
- Kong L, Cai Y, Huang W, Cheng CH, Tan R, 2000. Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout. *Journal of ethnopharmacology*, 73, 1-2, 199-207.
- Kong L, Hu Q, Zhang X, Li J, Zhang Q, 2012. Dietary flavonoid quercetin exhibits uricosuric and renal protective actions in hyperuricemic rodents: Renal organic ion transporter involvement. *Planta Medica*, 78, 05, OP17.
- Kono H, Chen C-J, Ontiveros F, Rock KL, 2010. Uric acid promotes an acute inflammatory response to sterile cell death in mice. *The Journal of clinical investigation*, 120, 6, 1939-49.
- Koopman F, Beekwilder J, Crimi B, van Houwelingen A, Hall RD, Bosch D, van Maris AJ, Pronk JT, Daran J-M, 2012. De novo production of the flavonoid naringenin in engineered *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial cell factories*, 11, 1, 1-15.
- Kosugi T, Nakayama T, Heinig M, Zhang L, Yuzawa Y, Sanchez-Lozada LG, Roncal C, Johnson RJ, Nakagawa T, 2009. Effect of lowering uric acid on renal disease in the type 2 diabetic db/db mice. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 297, 2, F481-F8.
- Koyuncu I, Kocyigit A, Gonel A, Arslan E, Durgun M, 2017. The protective effect of naringenin-oxime on cisplatin-induced toxicity in rats. *Biochemistry research international*, 2017.
- Kramer HM, Curhan G, 2002. The association between gout and nephrolithiasis: the National Health and Nutrition Examination Survey III, 1988-1994. *American Journal of Kidney Diseases*, 40, 1, 37-42.
- Kuralay F, Çavdar Z, 2006. İnflamatuar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Dergisi*, 16, 3, 143-52.
- Kuwabara M, 2015. Hyperuricemia, cardiovascular disease, and hypertension. *Pulse*, 3, 3-4, 242-52.
- Lagoa R, Samhan-Arias AK, Gutierrez-Merino C, 2017. Correlation between the potency of flavonoids for cytochrome c reduction and inhibition of cardiolipin-induced peroxidase activity. *Biofactors*, 43, 3, 451-68.
- Lapi F, Azoulay L, Yin H, Nessim SJ, Suissa S, 2013. Concurrent use of diuretics, angiotensin converting enzyme inhibitors, and angiotensin receptor blockers with non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of acute kidney injury: nested case-control study. *Bmj*, 346.
- Li F, Liu Y, Xie Y, Liu Z, Zou G, 2020. Epigallocatechin gallate reduces uric acid levels by regulating xanthine oxidase activity and uric acid excretion in vitro and in vivo. *Annals of palliative medicine*, 9, 2, 331-8.
- Li G, Guan C, Xu L, Wang L, Yang C, Zhao L, Zhou B, Luo C, Luan H, Jiang W, 2020. Scutellarin Ameliorates Renal Injury via Increasing CCN1 Expression and Suppressing NLRP3 Inflammasome Activation in Hyperuricemic Mice. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1642.
- Li H, Liu M, Yang W, Wan L, Yan H, Li J, Tang S, Wang Y, 2020. Naringenin induces neuroprotection against homocysteine-induced PC12 cells via the upregulation of superoxide dismutase 1 expression by decreasing miR-224-3p expression. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 34, 2, 421-33.
- Li L, Teng M, Liu Y, Qu Y, Zhang Y, Lin F, Wang D, 2017. Anti-gouty arthritis and antihyperuricemia effects of sunflower (*Helianthus annuus*) head extract in gouty and hyperuricemia animal models. *BioMed research international*, 2017.
- Li L, Yang C, Zhao Y, Zeng X, Liu F, Fu P, 2014. Is hyperuricemia an independent risk factor for new-onset chronic kidney disease?: a systematic review and meta-analysis based on observational cohort studies. *BMC nephrology*, 15, 1, 1-12.

- Li S, Li L, Yan H, Jiang X, Hu W, Han N, Wang D, 2019. Anti-gouty arthritis and anti-hyperuricemia properties of celery seed extracts in rodent models. *Molecular medicine reports*, 20, 5, 4623-33.
- Li W, Yalcin M, Lin Q, Ardawi M-SM, Mousa SA, 2017. Self-assembly of green tea catechin derivatives in nanoparticles for oral lycopene delivery. *Journal of controlled release*, 248, 117-24.
- Li Y, Fan X, Li C, Zhi X, Peng L, Han H, Sun B, 2018. The relationships among hyperuricemia, body mass index and impaired renal function in type 2 diabetic patients. *Endocrine journal*, 65, 3, 281-90.
- Liang G, Nie Y, Chang Y, Zeng S, Liang C, Zheng X, Xiao D, Zhan S, Zheng Q, 2019. Protective effects of *Rhizoma smilacis glabrae* extracts on potassium oxonate-and monosodium urate-induced hyperuricemia and gout in mice. *Phytomedicine*, 59, 152772.
- Lin C-c, Yin M-c, Hsu C-c, Lin M-p, 2004. Effect of five cysteine-containing compounds on three lipogenic enzymes in Balb/cA mice consuming a high saturated fat diet. *Lipids*, 39, 9, 843-8.
- Lin S, Zhang G, Liao Y, Pan J, Gong D, 2015. Dietary flavonoids as xanthine oxidase inhibitors: Structure–affinity and structure–activity relationships. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63, 35, 7784-94.
- Liu R, Han C, Wu D, Xia X, Gu J, Guan H, Shan Z, Teng W, 2015. Prevalence of hyperuricemia and gout in mainland China from 2000 to 2014: a systematic review and meta-analysis. *BioMed research international*, 2015.
- Loft S, Vistisen K, Ewertz M, Tjønneland A, Overvad K, Poulsen HE, 1992. Oxidative DNA damage estimated by 8-hydroxydeoxyguanosine excretion in humans: influence of smoking, gender and body mass index. *Carcinogenesis*, 13, 12, 2241-7.
- Lu W, Xu Y, Shao X, Gao F, Li Y, Hu J, Zuo Z, Shao X, Zhou L, Zhao Y, 2015. Uric acid produces an inflammatory response through activation of NF- $\kappa$ B in the hypothalamus: implications for the pathogenesis of metabolic disorders. *Scientific reports*, 5, 1, 1-15.
- Ma C-H, Kang L-L, Ren H-M, Zhang D-M, Kong L-D, 2015. Simiao pill ameliorates renal glomerular injury via increasing Sirt1 expression and suppressing NF- $\kappa$ B/NLRP3 inflammasome activation in high fructose-fed rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 172, 108-17.
- MacEwan DJ, 2002. TNF receptor subtype signalling: differences and cellular consequences. *Cellular signalling*, 14, 6, 477-92.
- Malayeri A, Badparva R, Mombeini MA, Khorsandi L, Goudarzi M, 2020. Naringenin: a potential natural remedy against methotrexate-induced hepatotoxicity in rats. *Drug and chemical toxicology*, 1-8.
- Mandal AK, Mount DB, 2015. The molecular physiology of uric acid homeostasis. *Annual review of physiology*, 77, 323-45.
- Martin DA, Elkon KB, 2004. Mechanisms of apoptosis. *Rheumatic Disease Clinics*, 30, 3, 441-54.
- Martin SJ, 2001. Dealing the CARDs between life and death. *Trends in cell biology*, 11, 5, 188-9.
- Martinez RM, Pinho-Ribeiro FA, Steffen VS, Caviglione CV, Vignoli JA, Barbosa DS, Baracat MM, Georgetti SR, Verri Jr WA, Casagrande R, 2015. Naringenin inhibits UVB irradiation-induced inflammation and oxidative stress in the skin of hairless mice. *Journal of natural products*, 78, 7, 1647-55.
- Martinalet D, Zhu P, Lieberman J, 2005. Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity*, 22, 3, 355-70.
- Masuoka N, Matsuda M, Kubo I, 2012. Characterisation of the antioxidant activity of flavonoids. *Food chemistry*, 131, 2, 541-5.
- Mehdipour M, Daghigh Kia H, Najafi A, Mohammadi H, Álvarez-Rodríguez M, 2020. Effect of crocin and naringenin supplementation in cryopreservation medium on post-thaw rooster sperm quality and expression of apoptosis associated genes. *Plos one*, 15, 10, e0241105.
- Mercurio F, Manning AM, 1999. NF- $\kappa$ B as a primary regulator of the stress response. *Oncogene*, 18, 45, 6163-71.
- Metzstein MM, Stanfield GM, Horvitz HR, 1998. Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future. *Trends in genetics*, 14, 10, 410-6.
- Mo S-F, Zhou F, Lv Y-Z, Hu Q-H, Zhang D-M, Kong L-D, 2007. Hypouricemic action of selected flavonoids in mice: structure–activity relationships. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30, 8, 1551-6.
- Murugaiyan G, Saha B, 2009. Protumor vs antitumor functions of IL-17. *The Journal of Immunology*, 183, 7, 4169-75.

- Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan J, 2000. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- $\beta$ . *Nature*, 403, 6765, 98-103.
- Negishi H, Ikeda K, Kuga S, Noguchi T, Kanda T, Njelekela M, Liu L, Miki T, Nara Y, Sato T, 2001. The relation of oxidative DNA damage to hypertension and other cardiovascular risk factors in Tanzania. *Journal of hypertension*, 19, 3, 529-33.
- Nguyen MTT, Awale S, Tezuka Y, Shi L, Zaidi SFH, Ueda J-y, Le Tran Q, Murakami Y, Matsumoto K, Kadota S, 2005. Hypouricemic effects of acacetin and 4, 5-O-dicaffeoylquinic acid methyl ester on serum uric acid levels in potassium oxonate-pretreated rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28, 12, 2231-4.
- Niu X, Sang H, Wang J, 2021. Naringenin attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis by protecting the intact of blood-brain barrier and controlling inflammatory cell migration. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 89, 108560.
- Niu X, Wu C, Li M, Zhao Q, Meydani SN, Wang J, Wu D, 2018. Naringenin is an inhibitor of T cell effector functions. *The Journal of nutritional biochemistry*, 58, 71-9.
- Norbury CJ, Hickson ID, 2001. Cellular responses to DNA damage. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 41, 1, 367-401.
- Noubade R, Kremmentsov DN, Del Rio R, Thornton T, Nagaleekar V, Saligrama N, Spitzack A, Spach K, Sabio G, Davis RJ, 2011. Activation of p38 MAPK in CD4 T cells controls IL-17 production and autoimmune encephalomyelitis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 118, 12, 3290-300.
- Oeckinghaus A, Ghosh S, 2009. The NF- $\kappa$ B family of transcription factors and its regulation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 1, 4, a000034.
- Oğuz N, Kırça M, Çetin A, Yeşilkaya A, 2017. Effect of uric acid on inflammatory COX-2 and ROS pathways in vascular smooth muscle cells. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 37, 5, 500-5.
- Osada Y, Tsuchimoto M, Fukushima H, Takahashi K, Kondo S, Hasegawa M, Komoriya K, 1993. Hypouricemic effect of the novel xanthine oxidase inhibitor, TEI-6720, in rodents. *European journal of pharmacology*, 241, 2-3, 183-8.
- Ota-Kontani A, Hirata H, Ogura M, Tsuchiya Y, Harada-Shiba M, 2020. Comprehensive analysis of mechanism underlying hypouricemic effect of glucosyl hesperidin. *Biochemical and biophysical research communications*, 521, 4, 861-7.
- Otani K, Watanabe T, Tanigawa T, Okazaki H, Yamagami H, Watanabe K, Tominaga K, Fujiwara Y, Oshitani N, Arakawa T, 2009. Anti-inflammatory effects of IL-17A on *Helicobacter pylori*-induced gastritis. *Biochemical and biophysical research communications*, 382, 2, 252-8.
- Park JE, Barbul A, 2004. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *The American Journal of Surgery*, 187, 5, S11-S6.
- Pellegrini N, Miglio C, Del Rio D, Salvatore S, Serafini M, Brighenti F, 2009. Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, sup2, 12-22.
- Peng A, Lin L, Zhao M, Sun B, 2019. Identifying mechanisms underlying the amelioration effect of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 'Boju' extract on hyperuricemia using biochemical characterization and UPLC-ESI-QTOF/MS-based metabolomics. *Food & function*, 10, 12, 8042-55.
- Plant PJ, Bain JR, Correa JE, Woo M, Batt J, 2009. Absence of caspase-3 protects against denervation-induced skeletal muscle atrophy. *Journal of applied physiology*, 107, 1, 224-34.
- Puig JG, Martinez MA, 2008. Hyperuricemia, gout and the metabolic syndrome. *Current opinion in rheumatology*, 20, 2, 187-91.
- Qian X, Wang X, Luo J, Liu Y, Pang J, Zhang H, Xu Z, Xie J, Jiang X, Ling W, 2019. Hypouricemic and nephroprotective roles of anthocyanins in hyperuricemic mice. *Food & function*, 10, 2, 867-78.
- Radak Z, Chung HY, Goto S, 2008. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 44, 2, 153-9.
- Rahmi EP, Kumolosasi E, Jalil J, Husain K, Buang F, Jamal JA, 2020. Anti-hyperuricemic and Anti-inflammatory Effects of *Marantodes pumilum* as Potential Treatment for Gout. *Frontiers in pharmacology*, 11, 289.
- Rai NK, Tripathi K, Sharma D, Shukla VK, 2005. Apoptosis: a basic physiologic process in wound healing. *The international journal of lower extremity wounds*, 4, 3, 138-44.

- Rani N, Bharti S, Krishnamurthy B, Bhatia J, Sharma C, Amjad Kamal M, Ojha S, Singh Arya D, 2016. Pharmacological properties and therapeutic potential of naringenin: a citrus flavonoid of pharmaceutical promise. *Current pharmaceutical design*, 22, 28, 4341-59.
- Rashmi R, Magesh SB, Ramkumar KM, Suryanarayanan S, SubbaRao MV, 2018. Antioxidant potential of naringenin helps to protect liver tissue from streptozotocin-induced damage. *Reports of biochemistry & molecular biology*, 7, 1, 76.
- Ratnam DV, Ankola D, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MR, 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*, 113, 3, 189-207.
- Ren Q, Tao S, Guo F, Wang B, Yang L, Ma L, Fu P, 2021. Natural flavonol fisetin attenuated hyperuricemic nephropathy via inhibiting IL-6/JAK2/STAT3 and TGF- $\beta$ /SMAD3 signaling. *Phytomedicine*, 153552.
- Richter C, Park J-W, Ames BN, 1988. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85, 17, 6465-7.
- Romi MM, Arfian N, Tranggono U, Setyaningsih WAW, Sari DCR, 2017. Uric acid causes kidney injury through inducing fibroblast expansion, Endothelin-1 expression, and inflammation. *BMC nephrology*, 18, 1, 1-8.
- Rossé T, Olivier R, Monney L, Rager M, Conus S, Fellay I, Jansen B, Borner C, 1998. Bcl-2 prolongs cell survival after Bax-induced release of cytochrome c. *Nature*, 391, 6666, 496-9.
- Roumeliotis S, Roumeliotis A, Dounousi E, Eleftheriadis T, Liakopoulos V, 2019. Dietary antioxidant supplements and uric acid in chronic kidney disease: a review. *Nutrients*, 11, 8, 1911.
- Ruiz-Miyazawa KW, Borghi SM, Pinho-Ribeiro FA, Staurengo-Ferrari L, Fattori V, Fernandes GS, Casella AM, Alves-Filho JC, Cunha TM, Cunha FQ, 2018. The citrus flavanone naringenin reduces gout-induced joint pain and inflammation in mice by inhibiting the activation of NF $\kappa$ B and macrophage release of IL-1 $\beta$ . *Journal of Functional Foods*, 48, 106-16.
- Russa DL, Pellegrino D, Montesanto A, Gigliotti P, Perri A, Russa AL, Bonofiglio R, 2019. Oxidative balance and inflammation in hemodialysis patients: biomarkers of cardiovascular risk? *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.
- Sahu N, Mishra G, Chandra HK, Nirala SK, Bhadauria M, 2020. Naringenin mitigates antituberculosis drugs induced hepatic and renal injury in rats. *Journal of traditional and complementary medicine*, 10, 1, 26-35.
- Salehi B, Fokou PVT, Sharifi-Rad M, Zucca P, Pezzani R, Martins N, Sharifi-Rad J, 2019. The therapeutic potential of naringenin: a review of clinical trials. *Pharmaceuticals*, 12, 1, 11.
- Samraj AK, Keil E, Ueffing N, Schulze-Osthoff K, Schmitz I, 2006. Loss of caspase-9 provides genetic evidence for the type I/II concept of CD95-mediated apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, 281, 40, 29652-9.
- Sánchez-Lozada LG, Tapia E, Rodríguez-Iturbe B, Johnson RJ, Herrera-Acosta J. Hemodynamics of hyperuricemia. *Seminars in nephrology*, 19-24.
- Sanchez-Lozada LG, Tapia E, Santamaria J, Avila-Casado C, Soto V, Nepomuceno T, Rodriguez-Iturbe B, Johnson RJ, Herrera-Acosta J, 2005. Mild hyperuricemia induces vasoconstriction and maintains glomerular hypertension in normal and remnant kidney rats. *Kidney international*, 67, 1, 237-47.
- Santos CX, Anjos EI, Augusto O, 1999. Uric acid oxidation by peroxynitrite: multiple reactions, free radical formation, and amplification of lipid oxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 372, 2, 285-94.
- Saugstad OD, 1996. Role of xanthine oxidase and its inhibitor in hypoxia: reoxygenation injury. *Pediatrics*, 98, 1, 103-7.
- Sautin YY, Johnson RJ, 2008. Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. *Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acids*, 27, 6-7, 608-19.
- Schumacher Jr HR, Becker MA, Wortmann RL, MacDonald PA, Hunt B, Streit J, Lademacher C, Joseph-Ridge N, 2008. Effects of febuxostat versus allopurinol and placebo in reducing serum urate in subjects with hyperuricemia and gout: a 28-week, phase III, randomized, double-blind, parallel-group trial. *Arthritis Care & Research*, 59, 11, 1540-8.
- Selvaratnam J, Robaire B, 2016. Overexpression of catalase in mice reduces age-related oxidative stress and maintains sperm production. *Experimental gerontology*, 84, 12-20.
- Shembade N, Harhaj EW, 2011. IKKi: a novel regulator of Act1, IL-17 signaling and pulmonary inflammation. *Cellular & molecular immunology*, 8, 6, 447-9.
- Shen S, He F, Cheng C, Xu B, Sheng J, 2021. Uric acid aggravates myocardial ischemia–reperfusion injury via ROS/NLRP3 pyroptosis pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 133, 110990.
- Shi Y, 2002. Apoptosome: the cellular engine for the activation of caspase-9. *Structure*, 10, 3, 285-8.

- Shi Y, Xu L, Tao M, Fang L, Lu J, Gu H, Ma S, Lin T, Wang Y, Bao W, 2019. Blockade of enhancer of zeste homolog 2 alleviates renal injury associated with hyperuricemia. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 316, 3, F488-F505.
- Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN, 1989. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86, 24, 9697-701.
- Shinkafi TS, Bello L, Hassan SW, Ali S, 2015. An ethnobotanical survey of antidiabetic plants used by Hausa–Fulani tribes in Sokoto, Northwest Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 172, 91-9.
- Simic MG, Jovanovic SV, 1989. Antioxidation mechanisms of uric acid. *Journal of the American Chemical Society*, 111, 15, 5778-82.
- Smale ST, 2010. Selective transcription in response to an inflammatory stimulus. *Cell*, 140, 6, 833-44.
- Smith E, Diaz-Torne C, Perez-Ruiz F, March L, 2010. Epidemiology of gout: an update. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 24, 6, 811-27.
- Soliman MM, Nassan MA, Aldhahrani A, Althobaiti F, Mohamed WA, 2020. Molecular and Histopathological Study on the Ameliorative Impacts of *Petroselinum Crispum* and *Apium Graveolens* against Experimental Hyperuricemia. *Scientific reports*, 10, 1, 1-11.
- Spagnuolo C, Moccia S, Russo GL, 2018. Anti-inflammatory effects of flavonoids in neurodegenerative disorders. *European journal of medicinal chemistry*, 153, 105-15.
- Spencer SL, Gaudet S, Albeck JG, Burke JM, Sorger PK, 2009. Non-genetic origins of cell-to-cell variability in TRAIL-induced apoptosis. *Nature*, 459, 7245, 428-32.
- Spiga R, Marini MA, Mancuso E, Di Fatta C, Fuoco A, Perticone F, Andreozzi F, Mannino GC, Sesti G, 2017. Uric acid is associated with inflammatory biomarkers and induces inflammation via activating the NF- $\kappa$ B signaling pathway in HepG2 cells. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 37, 6, 1241-9.
- Star VL, Hochberg MC, 1993. Prevention and management of gout. *Drugs*, 45, 2, 212-22.
- Su Q, Su H, Nong Z, Li D, Wang L, Chu S, Liao L, Zhao J, Zeng X, Ya Q, 2018. Hypouricemic and nephroprotective effects of an active fraction from *Polyrhachis Vicina* Roger on potassium oxonate-induced hyperuricemia in rats. *Kidney and Blood Pressure Research*, 43, 1, 220-33.
- Subburaman S, Ganesan K, Ramachandran M, 2014. Protective role of naringenin against doxorubicin-induced cardiotoxicity in a rat model: histopathology and mRNA expression profile studies. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 33, 4.
- Suliman ME, Johnson RJ, García-López E, Qureshi AR, Molinae H, Carrero JJ, Heimbürger O, Bárány P, Axelsson J, Lindholm B, 2006. J-shaped mortality relationship for uric acid in CKD. *American Journal of Kidney Diseases*, 48, 5, 761-71.
- Susic D, Frohlich ED, 2015. Hyperuricemia: a biomarker of renal hemodynamic impairment. *Cardiorenal medicine*, 5, 3, 175-82.
- Sweeney AP, Wyllie SG, Shalliker RA, Markham J, 2001. Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 75, 2-3, 273-7.
- Tang L, Xu Ye, Wei Y, He X, 2017. Uric acid induces the expression of TNF- $\alpha$  via the ROS-MAPK-NF- $\kappa$ B signaling pathway in rat vascular smooth muscle cells. *Molecular medicine reports*, 16, 5, 6928-33.
- Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR, Chapman KT, Howard AD, Kostura MJ, Miller DK, Molineaux SM, Weidner JR, Aunins J, 1992. A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 $\beta$  processing in monocytes. *Nature*, 356, 6372, 768-74.
- Tsai C-W, Chiu H-T, Huang H-C, Ting I-W, Yeh H-C, Kuo C-C, 2018. Uric acid predicts adverse outcomes in chronic kidney disease: a novel insight from trajectory analyses. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 33, 2, 231-41.
- Tung Y-T, Chang S-T, 2010. Inhibition of xanthine oxidase by *Acacia confusa* extracts and their phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 2, 781-6.
- Tung Y-T, Lin L-C, Liu Y-L, Ho S-T, Lin C-Y, Chuang H-L, Chiu C-C, Huang C-C, Wu J-H, 2015. Antioxidative phytochemicals from *Rhododendron oldhamii* Maxim. leaf extracts reduce serum uric acid levels in potassium oxonate-induced hyperuricemic mice. *BMC complementary and alternative medicine*, 15, 1, 1-10.
- Uckun Z, Guzel S, Canacankatan N, Yalaza C, Kibar D, Coskun Yilmaz B, 2020. Potential protective effects of naringenin against vancomycin-induced nephrotoxicity via reduction on apoptotic and oxidative stress markers in rats. *Drug and chemical toxicology*, 43, 1, 104-11.
- Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C, 2009. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *Journal of environmental science and health Part C*, 27, 2, 120-39.

- Voskoboinik I, Whisstock JC, Trapani JA, 2015. Perforin and granzymes: function, dysfunction and human pathology. *Nature Reviews Immunology*, 15, 6, 388-400.
- Walmsley SR, Farahi N, Peyssonnaud C, Johnson RS, Cramer T, Sobolewski A, Condliffe AM, Cowburn AS, Johnson N, Chilvers ER, 2005. Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1 $\alpha$ -dependent NF- $\kappa$ B activity. *Journal of Experimental Medicine*, 201, 1, 105-15.
- Wang D, Sun-Waterhouse D, Li F, Xin L, Li D, 2019. MicroRNAs as molecular targets of quercetin and its derivatives underlying their biological effects: A preclinical strategy. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59, 14, 2189-201.
- Wang D, Sun L, Zhang G, Liu Y, Liang Z, Zhao J, Yin S, Su M, Zhang S, Wei Y, 2021. Increased susceptibility of atrial fibrillation induced by hyperuricemia in rats: mechanisms and implications. *Cardiovascular Toxicology*, 21, 3, 192-205.
- Wang M-X, Liu Y-L, Yang Y, Zhang D-M, Kong L-D, 2015. Nuciferine restores potassium oxonate-induced hyperuricemia and kidney inflammation in mice. *European Journal of Pharmacology*, 747, 59-70.
- Wang Q, Yang J, Zhang X-m, Zhou L, Liao X-L, Yang B, 2015. Practical synthesis of naringenin. *Journal of Chemical Research*, 39, 8, 455-7.
- Wei MC, Zong W-X, Cheng EH-Y, Lindsten T, Panoutsakopoulou V, Ross AJ, Roth KA, MacGregor GR, Thompson CB, Korsmeyer SJ, 2001. Proapoptotic BAX and BAK: a requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death. *Science*, 292, 5517, 727-30.
- Wu LL, Chiou C-C, Chang P-Y, Wu JT, 2004. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clinica chimica acta*, 339, 1-2, 1-9.
- Xiao B, Ma W, Zheng Y, Li Z, Li D, Zhang Y, Li Y, Wang D, 2021. Effects of resveratrol on the inflammatory response and renal injury in hyperuricemic rats. *Nutrition Research and Practice*, 15, 1, 26-37.
- Xing W, Ning X, Hong-Lei L, Zhen C, Wan Y, 2020. Study on mechanism of Fangji Huangqi Decoction on hypouricemic effect and renal protection in hyperuricemia mice. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica*, 45, 21, 5248-55.
- Xiong J, Zhu Z, Liu J, Wang Y, 2009. The effect of root of rhododendron on the activation of NF- $\kappa$  B in a chronic glomerulonephritis rat model. *Journal of Nanjing Medical University*, 23, 1, 73-8.
- Xu K, Liu S, Zhao X, Zhang X, Fu X, Zhou Y, Xu K, Miao L, Li Z, Li Y, 2019. Treating hyperuricemia related non-alcoholic fatty liver disease in rats with resveratrol. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 110, 844-9.
- Yang B, Li S, Zhu J, Huang S, Zhang A, Jia Z, Ding G, Zhang Y, 2020. MiR-214 protects against uric acid-induced endothelial cell apoptosis. *Frontiers in Medicine*, 7, 411.
- Yu L-M, Dong X, Xue X-D, Zhang J, Li Z, Wu H-J, Yang Z-L, Yang Y, Wang H-S, 2019. Naringenin improves mitochondrial function and reduces cardiac damage following ischemia-reperfusion injury: the role of the AMPK-SIRT3 signaling pathway. *Food & function*, 10, 5, 2752-65.
- Yu M-A, Sánchez-Lozada LG, Johnson RJ, Kang D-H, 2010. Oxidative stress with an activation of the renin-angiotensin system in human vascular endothelial cells as a novel mechanism of uric acid-induced endothelial dysfunction. *Journal of hypertension*, 28, 6, 1234-42.
- Yuan L, Bao Z, Ma T, Lin S, 2021. Hypouricemia effects of corn silk flavonoids in a mouse model of potassium oxonate-induced hyperuricemia. *Journal of Food Biochemistry*, 45, 8, e13856.
- Zámocký M, Regelsberger G, Jakopitsch C, Obinger C, 2001. The molecular peculiarities of catalase-peroxidases. *Febs Letters*, 492, 3, 177-82.
- Zamudio-Cuevas Y, Hernández-Díaz C, Pineda C, Reginato AM, Cerna-Cortés JF, Ventura-Ríos L, López-Reyes A, 2015. Molecular basis of oxidative stress in gouty arthropathy. *Clinical rheumatology*, 34, 10, 1667-72.
- Zedan AM, Sakran MI, Bahattab O, Hawsawi YM, Al-Amer O, Oyouni AA, Nasr Eldeen SK, El-Magd MA, 2021. Oriental Hornet (*Vespa orientalis*) Larval Extracts Induce Antiproliferative, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Anti-Migratory Effects on MCF7 Cells. *Molecules*, 26, 11, 3303.
- Zeng W, Jin L, Zhang F, Zhang C, Liang W, 2018. Naringenin as a potential immunomodulator in therapeutics. *Pharmacological research*, 135, 122-6.
- Zhang Q-Y, Pan Y, Wang R, Kang L-L, Xue Q-C, Wang X-N, Kong L-D, 2014. Quercetin inhibits AMPK/TXNIP activation and reduces inflammatory lesions to improve insulin signaling

- defect in the hypothalamus of high fructose-fed rats. *The Journal of nutritional biochemistry*, 25, 4, 420-8.
- Zhong J, Yu R, Zhou Q, Liu P, Liu Z, Bian Y, 2021. Naringenin prevents TNF- $\alpha$ -induced gut-vascular barrier disruption associated with inhibiting the NF- $\kappa$ B-mediated MLCK/p-MLC and NLRP3 pathways. *Food & Function*, 12, 6, 2715-25.
- Zhou Y, Fang L, Jiang L, Wen P, Cao H, He W, Dai C, Yang J, 2012. Uric acid induces renal inflammation via activating tubular NF- $\kappa$ B signaling pathway. *PloS one*, 7, 6, e39738.
- Zhu H, Wang J, Santo A, Li Y, 2013. Downregulation of antioxidants and phase 2 proteins. *Molecular basis of oxidative stress: chemistry, mechanisms, and disease pathogenesis*. John Wiley and Sons, Inc., New York, 113-21.
- Zhu J, Qi X, Tan Y, Lyu X, 2016. Dietary factors associated with hyperuricemia and glycolipid metabolism disorder in middle-aged and elderly people. *Sichuan da xue xue bao. Yi xue ban*= *Journal of Sichuan University. Medical science edition*, 47, 1, 68-72.
- Zobeiri M, Belwal T, Parvizi F, Naseri R, Farzaei MH, Nabavi SF, Sureda A, Nabavi SM, 2018. Naringenin and its nano-formulations for fatty liver: cellular modes of action and clinical perspective. *Current pharmaceutical biotechnology*, 19, 3, 196-205.



## 8. TURNİTİN RAPORU

SIÇANLARDA POTASYUM OKSONATLA OLUŞTURULAN DENEYSEL HİPERÜRİSEMİDE NARİNGENİN'İN KARACİĞER VE BÖBREKTE SİTOKİN, APOPTOSİS, DNA HASARINA VE KAN ÜRİK ASİT DÜZEYLERİNE ETKİSİ

### ORJİNALLIK RAPORU

|                   |                     |            |                  |
|-------------------|---------------------|------------|------------------|
| % <b>6</b>        | % <b>5</b>          | % <b>3</b> | % <b>3</b>       |
| BENZERLİK ENDEKSİ | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR   | ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ |

### BİRİNCİL KAYNAKLAR

|          |                                                                                                              |             |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>1</b> | <b>acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080</b><br>İnternet Kaynağı                                                | % <b>1</b>  |
| <b>2</b> | <b>www.tipdergi.duzce.edu.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                                         | % <b>1</b>  |
| <b>3</b> | <b>www.researchgate.net</b><br>İnternet Kaynağı                                                              | <% <b>1</b> |
| <b>4</b> | <b>Submitted to Gaziantep Aniversitesi</b><br>Öğrenci Ödevi                                                  | <% <b>1</b> |
| <b>5</b> | <b>docplayer.biz.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                                                  | <% <b>1</b> |
| <b>6</b> | <b>acikerisim.pau.edu.tr:8080</b><br>İnternet Kaynağı                                                        | <% <b>1</b> |
| <b>7</b> | <b>Submitted to Firat Üniversitesi</b><br>Öğrenci Ödevi                                                      | <% <b>1</b> |
| <b>8</b> | <b>Submitted to The Scientific &amp; Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)</b><br>Öğrenci Ödevi | <% <b>1</b> |