



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ



Yüksek Lisans Tezi

**LİPOPOLİSAKKARİD ile OLUŞTURULAN ENDOTOKSEMİDE
PROLİL OLİGOPEPTİDAZ İNHİBİTÖRÜNÜN BÖBREK
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Berna ÇOLAK

Biyoloji Anabilim Dalı

Zooloji Programı

DANIŞMAN
Doç. Dr. Aslı KANDİL

Haziran, 2025

İSTANBUL

Bu çalışma, 30.06.2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Zooloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Doç. Dr. Aslı KANDİL (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Berrak YEGEN
Marmara Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Nihal Ömür BULAN
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

İntihal Programı Beyanı

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Proje Destekleri

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FYL-2024-40861 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, TÜBİTAK 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı ile desteklenmiştir.

Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri

--	--

ÖNSÖZ

Tez sürecim boyunca bilgi, birikim ve tecrübeleriyle bana her zaman yol gösteren; her aşamada yanımda olup desteğini esirgemeyen çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Aslı KANDİL'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalar süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Huri DEMİRCİ'ye teşekkür ederim.

Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Araştırma Laboratuvarı'nı kullanmamıza olanak sağlayarak çalışma ortamını bizlere açan değerli hocam Doç. Dr. Savaş ÜSTÜNOVA'ya teşekkür ederim.

Deneysel süreçteki desteğiyle tez çalışmama katkı sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Füsün ÖZTAY, Arş. Gör. Dr. Merve YILDIRIM'a ve değerli arkadaşım Biyolog Elif GÜZEY'e teşekkür ederim.

Deneysel çalışmaların her aşamasında yanımda olan, desteğini ve yardımını hiçbir zaman esirgemeyen değerli laboratuvar ortağım Uzman Biyolog Zeynep Ece BULUT'a çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, TÜBİTAK 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında sağlanan destek ile yürütülmüş olup değerli katkılarından dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Lisans, yüksek lisans ve tez sürecim boyunca yanımda olan, teknik konularda yardım sağlayan ve motivasyonumu kaybettiğim anlarda desteğini esirgemeyerek bu süreci benim için daha verimli ve anlamlı kılan Özgür Can METİN'e çok teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca beni destekleyen, her anımda yanımda olup bana güç veren sevgili annem Sebiha ÇOLAK'a, sevgili babam Orhan ÇOLAK'a ve sevgili kardeşim Berrin ÇOLAK'a çok teşekkür ederim.

Haziran 2025

Berna ÇOLAK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ.....	xii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xiii
ÖZET	xviii
SUMMARY	xxi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	2
2.1. ENDOTOKSEMİ VE SEPSİS	2
2.2. AKUT BÖBREK HASARI.....	4
2.3. RENİN ANGIOTENSİN SİSTEMİ	6
2.4. PROLİL OLİGOPEPTİDAZ	10
2.5. PROLİL OLİGOPEPTİDAZ İNHİBİTÖRLERİ	11
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	14
3.1. DENEY HAYVANLARI VE PROTOKOLÜ	14
3.2. ARTERİYAL KAN PARAMETRELERİNİN ÖLÇÜMÜ	15
3.3. HEMOGRAM ANALİZİ.....	15
3.4. BİYOKİMYASAL ÇALIŞMALAR	16
3.5. WESTERN BLOT ANALİZİ	17
3.6. IŞIK MİKROSKOBU ÇALIŞMALARI.....	18
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	19
4. BULGULAR.....	20
4.1. ARTERİYAL KAN PARAMETRELERİNE AİT BULGULAR.....	20
4.2. HEMOGRAM ANALİZİNE AİT BULGULAR	26
4.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR	30
4.4. WESTERN BLOT ANALİZİNE AİT BULGULAR.....	45
4.5. HİSTOLOJİK BULGULAR	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	85
KAYNAKLAR.....	99

EKLER	119
Ek 1. Etik kurul karar metni	119
ÖZGEÇMİŞ	120

|



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 4.1.1:** Deney gruplarına ait oksijen parsiyel basıncı (pO_2), karbondioksit parsiyel basıncı (pCO_2) ve oksijen saturasyon (sO_2) değerleri. # $p<0,05$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.....22
- Şekil 4.1.2:** Deney gruplarına ait oksihemoglobin fraksiyon (FO_2Hb) ve methemoglobin fraksiyon ($FMetHb$) değerleri. **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$, +++ $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. ##### $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.....22
- Şekil 4.1.3:** Deney gruplarına ait arteriyal kan örneklerinde pH, hidrojen iyon konsantrasyonu (cH^+_c) ve bikarbonat iyon konsantrasyonu ($cHCO_3^-(P,st)_c$) değerleri. *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++ $p<0,01$, +++ $p<0,001$, ++++ $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. ### $p<0,001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.....24
- Şekil 4.1.4:** Deney gruplarına ait arteriyal kan örneklerinde sodyum iyon konsantrasyonu (cNa^+), potasyum iyon konsantrasyonu (cK^+), klor iyon konsantrasyonu (cCl^-), kalsiyum iyon konsantrasyonu (cCa^{+2}) ve plazma osmolalite ($mOsm_c$) değerleri. **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$, ++++ $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. # $p<0,05$, ##### $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.....24
- Şekil 4.1.5:** Deney gruplarına ait arteriyal kan örneklerinde standart baz fazlalığı ($cBase$ (Ecf) $_c$), Anyon Gap $_c$ ve Anyon Gap (K^+) $_c$ değerleri. * $p<0,05$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++ $p<0,01$: LPS grubuna göre anlamlılık. ### $p<0,01$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.....25
- Şekil 4.1.6:** Deney gruplarına ait arteriyal kan örneklerinde D-glukoz konsantrasyonu ($cGlu$), L-Laktat konsantrasyonu ($cLac$) ve total bilirubin konsantrasyonu ($ctBil$) değerleri. * $p<0,05$, ** $p<0,01$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$: LPS grubuna göre anlamlılık. # $p<0,05$, ## $p<0,01$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.....26
- Şekil 4.2.1:** Deney gruplarına ait kan örneklerinde lökosit (WBC), lenfosit (LYM), monosit (MONO) ve granülosit (GRA) sayıları. * $p<0,05$, ** $p<0,01$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$: LPS grubuna göre anlamlılık. # $p<0,05$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık. 27
- Şekil 4.2.2:** Deney gruplarına ait kan örneklerinde lenfosit (LYM%), monosit (MONO%) ve granülosit (GRA%) yüzdesi değerleri. ** $p<0,01$, *** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$, ++++ $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. # $p<0,05$, ##### $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.....27

Şekil 4.2.3: Deney gruplarına ait kan örneklerinde eritrosit sayısı (RBC), hematokrit (HCT) ve hemoglobin (HGB) değerleri.	29
Şekil 4.2.4: Deney gruplarına ait kan örneklerinde ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobin (MCH) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) değerleri.	29
Şekil 4.2.5: Deney gruplarına ait kan örneklerinde platelet sayısı (PLT), platelet yüzdesi (PCT) ve ortalama platelet hacmi (MPV) değerleri. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. +++ $p<0,001$, ++++ $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. ### $p<0,001$, ##### $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.	29
Şekil 4.3.1: Deney gruplarına ait serum örneklerinde albumin ve kreatinin değerleri. ** $p<0,01$, *** $p<0,001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık.	30
Şekil 4.3.2: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde CRP değerleri. * $p<0,05$, ** $p<0,001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık.	32
Şekil 4.3.3: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde TNF- α değerleri. * $p<0,05$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$: LPS grubuna göre anlamlılık.	33
Şekil 4.3.4: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde IL-6 değerleri.	34
Şekil 4.3.5: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde KIM-1 değerleri. ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık.	35
Şekil 4.3.6: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde renin değerleri.	37
Şekil 4.3.7: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde Ang I değerleri. * $p<0,05$, ** $p<0,01$: Kontrol grubuna göre anlamlılık.	38
Şekil 4.3.8: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde Ang II değerleri. * $p<0,05$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$: LPS grubuna göre anlamlılık.	39
Şekil 4.3.9: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde Ang (1-7) değerleri.	40
Şekil 4.3.10: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde ACE değerleri.	41
Şekil 4.3.11: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde ACE2 değerleri.	42
Şekil 4.3.12: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde Ac-SDKP değerleri. * $p<0,05$: Kontrol grubuna göre anlamlılık.	43
Şekil 4.3.13: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde bradikinin değerleri.	44

Şekil 4.4.1: Deney gruplarına ait böbrek dokusunda HAVCR1/KIM-1 protein seviyeleri ve bandları. ****p<0,0001: Kontrol grubuna göre anlamlılık. +++p<0,0001: LPS grubuna göre anlamlılık. ####p<0,0001: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.	46
Şekil 4.4.2: Deney gruplarına ait böbrek dokusunda renin protein seviyeleri ve bandları. ****p<0,0001: Kontrol grubuna göre anlamlılık. +++p<0,0001: LPS grubuna göre anlamlılık.	46
Şekil 4.4.3: Deney gruplarına ait böbrek dokusunda Ang II protein seviyeleri ve bandları. ****p<0,0001: Kontrol grubuna göre anlamlılık. +++p<0,0001: LPS grubuna göre anlamlılık. ####p<0,001: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.	47
Şekil 4.4.4: Deney gruplarına ait böbrek dokusunda ACE protein seviyeleri ve bandları. *p<0,05, **p<0,01, ****p<0,0001: Kontrol grubuna göre anlamlılık. +++p<0,0001: LPS grubuna göre anlamlılık.	47
Şekil 4.5.1: Deney gruplarına ait böbrek hasarı değerleri. ****p<0,0001: Kontrol grubuna göre anlamlılık. +p<0,05, +++p<0,0001: LPS grubuna göre anlamlılık. ####p<0,0001: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.	50
Şekil 4.5.2: Deney gruplarına ait böbrek korteksinde glomerulus ve peritübüler alanlarda lökosit dağılımı. ***p<0,001, ****p<0,0001: Kontrol grubuna göre anlamlılık. +++p<0,0001: LPS grubuna göre anlamlılık. ####p<0,0001: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.	50
Şekil 4.5.3a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve kan damarı (KD). a-b) Bar=100 µm, HE.	51
Şekil 4.5.4a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT) ve kan damarı (KD). a-b) Bar=50 µm, HE.	52
Şekil 4.5.5a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=20 µm, HE.	53
Şekil 4.5.6a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a) Bar=100 µm, b) Bar=50 µm, PAS-H.	54
Şekil 4.5.7: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL) ve proksimal tübül (PT). Bar=20 µm, PAS-H.	55
Şekil 4.5.8a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=20 µm, PAS.	56
Şekil 4.5.9a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=20 µm, PAS.	57
Şekil 4.5.10a-b: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD) ve peritübüler alan (*). a-b) Bar=100 µm, HE.	58

Şekil 4.5.11a-b: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD) lümeninde lökositler (→) ve peritübüler alan (*). a-b) Bar=50 µm, HE.	59
Şekil 4.5.12a-b: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD) lümeninde lökositler (→) ve peritübüler alan (*). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, HE.	60
Şekil 4.5.13a-b: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, HE.	61
Şekil 4.5.14a-b: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT) ve kan damarı (KD). a-b) Bar=100 µm, PAS-H.....	62
Şekil 4.5.15a-b: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), devamlılığını kaybetmiş fırça kenar (→) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=50 µm, PAS-H.....	63
Şekil 4.5.16a-b: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), devamlılığını kaybetmiş fırça kenar (→), distal tübül (DT), peritübüler alan (*), kan damarı (KD) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, PAS-H.	64
Şekil 4.5.17a-b: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), devamlılığını kaybetmiş fırça kenar (→), distal tübül (DT), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, PAS-H.....	65
Şekil 4.5.18a-b: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a) Bar=100 µm, b) Bar=50 µm. PAS.....	66
Şekil 4.5.19a-b: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), PAS ile boyalı materyal (□), distal tübül (DT), kan damarı (KD), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, PAS.....	67
Şekil 4.5.20a-c: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-c) Bar=20 µm, PAS.....	68
Şekil 4.5.21a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD) ve peritübüler alan (*). a-b) Bar=100 µm, HE..	69
Şekil 4.5.22a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=50 µm, HE.....	70
Şekil 4.5.23a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve peritübüler alan (*). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, HE.	71

Şekil 4.5.24a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=100 µm, PAS-H.....	72
Şekil 4.5.25a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, PAS-H.	73
Şekil 4.5.26a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), peritübüler alan (*), lökositler (→) ve devamlılığını kaybetmiş fırça kenar (→). a-b) Bar=20 µm, PAS-H.	74
Şekil 4.5.27a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), devamlılığını kaybetmiş fırça kenar (→), PAS ile boyalı materyal (□) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, PAS-H.....	75
Şekil 4.5.28a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD) ve lökositler (→). a) Bar=100 µm, b) Bar=20 µm, PAS.	76
Şekil 4.5.29a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=50 µm, PAS.....	77
Şekil 4.5.30a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), PAS ile boyalı materyal (□), distal tübül (DT), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, PAS.	78
Şekil 4.5.31a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT) ve kan damarı (KD). a-b) Bar=100 µm, HE.	79
Şekil 4.5.32a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT) ve kan damarı (KD). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, HE.	80
Şekil 4.5.33a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=100 µm, PAS-H.....	81
Şekil 4.5.34a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, PAS-H.....	82
Şekil 4.5.35a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a) Bar=100 µm, b) Bar=50 µm, PAS.....	83
Şekil 4.5.36a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=20 µm, PAS.....	84

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1.1: Deney gruplarına ait hayvanların arteriyal kan örneklerinde pO_2 , pCO_2 , sO_2 , FO_2Hb , $FMetHb$, pH, cH^+_c , $cHCO_3^-(P,st)_c$, cNa^+ , cK^+ , cCl^- , cCa^{+2} , $mOsm_c$, $cBase (Ecf)_c$, Anyon Gap _c , Anyon Gap (K^+) _c , $cGlu$, $cLac$ ve $ctBil$ değerleri. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$, ++ $p<0,01$, +++ $p<0,001$, ++++ $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. # $p<0,05$, ## $p<0,01$, ### $p<0,001$, #### $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.....	20
Tablo 4.1.1 (devam): Deney gruplarına ait hayvanların arteriyal kan örneklerinde pO_2 , pCO_2 , sO_2 , FO_2Hb , $FMetHb$, pH, cH^+_c , $cHCO_3^-(P,st)_c$, cNa^+ , cK^+ , cCl^- , cCa^{+2} , $mOsm_c$, $cBase (Ecf)_c$, Anyon Gap _c , Anyon Gap (K^+) _c , $cGlu$, $cLac$ ve $ctBil$ değerleri. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$, ++ $p<0,01$, +++ $p<0,001$, ++++ $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. # $p<0,05$, ## $p<0,01$, ### $p<0,001$, #### $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.....	21

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
%	: Yüzde
/	: Bölü
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
≤	: Küçüktür veya Eşittir
≥	: Büyüktür veya Eşittir
°C	: Santigrat
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
Cl ⁻	: Klor
cu mm	: Milimetreküp
dk	: Dakika
dL	: Desilitre
g	: Gram
kDa	: Kilodalton
kg	: Kilogram
L	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mmHg	: Milimetre Cıva
mmol	: Milimol
mV	: Milivolt
Na ⁺	: Sodyum
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
pg	: Pikogram
™	: Ticari Marka
α	: Alfa
β	: Beta

γ : Gama

Kısaltmalar	Açıklama
ABH	: Akut Böbrek Hasarı
ACCP	: Amerikan Göğüs Hastalıkları Hekimleri Koleji
ACE	: Angiotensin Dönüştürücü Enzim
ACE2	: Angiotensin Dönüştürücü Enzim 2
Ac-SDKP	: N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline
AGT	: Angiotensinojen
Ang	: Angiotensin
Anyon Gap (K^+) _c	: cK^+ ve cNa^+ ile cCl^- ve $cHCO_3^-$ Arasındaki Konsantrasyon Farkı
Anyon Gap _c	: cNa^+ ile cCl^- ve $cHCO_3^-$ Arasındaki Konsantrasyon Farkı
AT1	: Angiotensin Tip 1
AT2	: Angiotensin Tip 2
ATS	: Amerikan Toraks Derneği
BCA	: Bikinkoninik Asit
BSA	: Sığır Serum Albumin
BUN	: Kan Üre Azotu
CASP	: Kolon Ascendens Stent Peritoniti
$cBase$ (Ecf) _c	: Standart Baz Fazlalığı Baz Açığının <i>In Vivo</i> İfadesi
cCa^{+2}	: Kalsiyum İyonlarının Konsantrasyonu
cCl^-	: Klor İyonlarının Konsantrasyonu
$cGlu$	: D-Glukoz Konsantrasyonu
cH^+ _c	: Hidrojen İyonlarının Konsantrasyonu
$cHCO_3^-(P,st)c$	: Standart Bikarbonat
cK^+	: Potasyum İyonlarının Konsantrasyonu
$cLac$	: L-Laktat Konsantrasyonu
CLP	: Çekal Ligasyon ve Delik Açma
cNa^+	: Sodyum İyonlarının Konsantrasyonu
CRP	: C-Reaktif Protein
$ctBil$	: Total Bilirubin Konsantrasyonu
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DPP	: Dipeptidil Peptidaz

ELİSA	: Enzime Bağlı İmmünosorbent Analizi
ESICM	: Avrupa Yoğun Bakım Tıbbı Derneği
FMetHb	: Total Hemoglobin İçerisindeki Methemoglobin Fraksiyonu
FO₂Hb	: Total Hemoglobin İçerisindeki Oksihemoglobin Fraksiyonu
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su
GFH	: Glomerular Filtrasyon Hızı
GR%	: Granülosit Yüzdesi
GRA	: Total Granülosit Sayısı
HAVCR1	: Hepatit A Virüs Hücre Reseptörü-1
HCT	: Hematokrit
HE	: Hematoksilen-Eozin
HGB	: Hemoglobin
His	: Histidin
HRP	: Bayır Turpu Peroksidazı/Horseadish Peroxidase
I/R	: İskemi/Reperfüzyon
IFN-γ	: İnterferon- γ
IgG	: İmmünoglobulin G
IL	: İnterlökin
ip	: İntraperitoneal
iv	: İntravenöz
JGA	: Jukstaglomerular Aygıt
KBH	: Kronik Böbrek Hastalığı
KIM-1	: Böbrek Hasar Molekülü-1
Leu	: Lösin
LPS	: Lipopolisakkarid
LY%	: Lenfosit Yüzdesi
LYM	: Total Lenfosit Sayısı
MAP	: Ortalama Arter Basıncı
MCH	: Ortalama Eritrosit Hemoglobini
MCHC	: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu
MCV	: Ortalama Eritrosit Hacmi
MDA	: Malondialdehit
MONO	: Total Monosit Sayısı
MONO%	: Monosit Yüzdesi

mOsmc	: Plazma Osmolalitesi
MPV	: Ortalama Platelet Hacmi
NEP	: Nötral Endopeptidaz
NF-κB	: Nükleer Faktör-Kappa B
NGAL	: Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin
PaCO₂	: Parsiyel Arteriyel Karbondioksit Basıncı
PAS	: Periyodik Asit-Schiff
PAS-H	: Periyodik Asit-Schiff-Hematoksilen
PCI	: Peritoneal Kontaminasyon ve Enfeksiyon
pCO₂	: Karbondioksit Parsiyel Basıncı
PCP	: Prolil Karboksipeptidaz
PCT	: Platelet Yüzdesi
PEP	: Prolil Endopeptidaz
Phe	: Fenilalanin
PLT	: Platelet Sayısı
pO₂	: Oksijen Parsiyel Basıncı
POP/PREP/PEP	: Prolil Oligopeptidaz
PPCE	: Post-Prolin Parçalayıcı Enzim
PRCP	: Prolin Karboksipeptidaz
Pro	: Prolin
PVDF	: Poliviniliden Diflorid
qSOFA	: Quick Sekansiyel (Sepsisle İlişkili) Organ Yetmezliği Değerlendirme
RAS	: Renin Angiotensin Sistemi
RBC	: Eritrosit Sayısı
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SCCM	: Yoğun Bakım Tıbbı Derneği
SIRS	: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
SIS	: Cerrahi Enfeksiyon Derneği
Syn	: Sinüklein
sO₂	: Oksijen Satürasyonu
SOFA	: Sekansiyel (Sepsisle İlişkili) Organ Yetmezliği Değerlendirme
TBS-T	: Tris Tamponlu Salin-Tween 20
TLR	: Toll-Benzeri Reseptör
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör-A

WBC : Total Lökosit Sayısı
ZPP : Z-Pro-Prolinal



ÖZET

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

[LİPOPOLİSAKKARİD ile OLUŞTURULAN ENDOTOKSEMİDE PROLİL OLİGOPEPTİDAZ İNHİBİTÖRÜNÜN BÖBREK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ]

[Berna ÇOLAK]

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

[Biyoloji Anabilim Dalı]

Danışman: [Doç. Dr.] [Aslı KANDİL]

Bir endotoksin olan lipopolisakkarid (LPS) sistemik inflamatuvar yanıtı indükleyerek endotoksemiye neden olur ve sepsisin başlangıcındaki klinik özellikleri taklit eder. Sepsis, vücudun enfeksiyöz bir ajana karşı gelişen sistemik inflamatuvar yanıtı tanımlayan ve ilerleyen evrelerinde çoklu organ fonksiyon bozukluğuna ve ölüme yol açabilen ciddi bir sendromdur. Akut böbrek hasarı (ABH), sepsisin yaygın ve ciddi komplikasyonlarından biri olup yüksek morbidite ve mortalite oranları ile yakından ilişkilidir. Sepsise bağlı ABH'nin patofizyolojisi oldukça karmaşık ve çok faktörlü bir yapıya sahiptir. Sepsise bağlı gelişen sistemik vazodilatasyon, hipotansiyona ve dolayısıyla böbrek perfüzyonunun azalmasına yol açarak renin angiotensin sistemi (RAS) dahil olmak üzere karmaşık sinirsel ve hormonal mekanizmaların aktive olmasına neden olur. RAS aktivasyonu, intravasküler hacmin korunması ve arteriyel kan basıncının artırılması yoluyla hemodinamik stabilitenin sağlanmasına katkıda bulunur. RAS'ın bir üyesi olan prolil oligopeptidaz (POP)'ın fonksiyonu, LPS ile oluşturulan endotoksemide tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışma kapsamında, LPS ile oluşturulan endotoksemide ABH'de seçici bir POP inhibitörü olan KYP-2047'nin potansiyel etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, 32 adet Sprague-Dawley erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar kontrol, LPS, LPS+KYP-2047 ve KYP-2047 olmak üzere 4 gruba ayrıldı. LPS (4 mg/kg)'nin intravenöz (iv) uygulanması ile deneysel endotoksemi modeli oluşturuldu. LPS uygulanmasından üç saat sonra

hayvanlara POP inhibitörü olan KYP-2047 (5 mg/kg) intraperitoneal (ip) olarak uygulandı. LPS uygulamasından 6 saat sonra analizler için hayvanlardan kan ve böbrek doku örnekleri alındı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

LPS grubunda arteriyal kan gazı parametrelerinde, pH, standart bikarbonat ($c\text{HCO}_3^-$ (P,st)_c), standart baz fazlalığı ($c\text{Base}$ (Ecf)_c), kalsiyum iyon konsantrasyonu ($c\text{Ca}^{+2}$), plazma osmolalite ($m\text{Osm}_c$) ve D-glukoz konsantrasyonu ($c\text{Glu}$) değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı, hidrojen iyon konsantrasyonu ($c\text{H}^+$), FMetHb (total hemoglobinin içerisindeki methemoglobin fraksiyonu) ve L-Laktat konsantrasyonu ($c\text{Lac}$) değerlerinin arttığı tespit edildi. LPS+KYP-2047 grubunda pH değerlerinin LPS grubuna göre arttığı, $c\text{H}^+$ ve FMetHb değerlerinin azaldığı belirlendi. $c\text{Ca}^{+2}$, $c\text{HCO}_3^-$ (P,st)_c, $c\text{Base}$ (Ecf)_c, $m\text{Osm}_c$, $c\text{Glu}$ ve $c\text{Lac}$ değerlerinin LPS grubuna benzediği saptandı. KYP-2047 grubuna ait arteriyal kan parametre değerlerinin kontrol grubuna benzer olduğu tespit edildi.

LPS grubunda, granülosit sayısı (GRA) ve yüzdesi (GR%) değerlerinin kontrol grubuna göre arttığı, lenfosit sayısı (LYM) ve yüzdesi (LY%) ile platelet sayısı (PLT) ve yüzdesi (PCT) değerlerinin azaldığı tespit edildi. LPS+KYP-2047 grubunda, GRA, GR%, LYM, LY%, PLT ve PCT değerlerinin LPS grubuna benzer olduğu belirlendi. KYP-2047 grubuna ait hemogram parametrelerin kontrol grubuna benzer olduğu saptandı.

LPS grubunda biyokimyasal analizlerde, serum albumin seviyelerinin kontrol grubuna göre azaldığı, serum kreatin seviyesinin arttığı ancak anlamlılık göstermediği belirlendi. C-reaktif protein (CRP)'nin serum ve dokuda, tümör nekroz faktör- α (TNF- α)'nın dokuda, böbrek hasar molekülü-1 (KIM-1)'in serum ve dokuda kontrol grubuna göre arttığı tespit edildi. LPS+KYP-2047 grubunda albumin düzeyinin LPS grubuna benzer olduğu saptandı. CRP, TNF- α , interlökin (IL)-6 düzeylerinin kontrol grubuna benzer olduğu görüldü. KIM-1 serum ve doku seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlendi. KYP-2047 grubunda albumin düzeylerinin kontrole göre azaldığı belirlendi. CRP, TNF- α , IL-6 düzeylerinin kontrol grubuna benzer olduğu görüldü. KIM-1 serum ve doku seviyelerinin kontrol grubuna göre arttığı tespit edildi.

LPS grubunda, serum ve dokuda angiotensin (Ang) I ile serumda Ang II seviyelerinin kontrol grubuna göre arttığı belirlendi. LPS+KYP-2047 grubunda renin, Ang I, Ang II, Ang I (1-7), angiotensin dönüştürücü enzim (ACE) ve ACE2 düzeylerinin kontrol grubuna benzer olduğu görüldü. KYP-2047 grubunda renin, Ang I, Ang II, Ang I (1-7), ACE ve ACE2 düzeylerinin kontrol grubuna benzer olduğu saptandı.

LPS grubunda Western blot analizleri sonucunda böbrek dokusunda hepatit A virüs hücre reseptörü-1 (HAVCR1)/KIM-1, renin, Ang II ve ACE düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı belirlendi. LPS+KYP-2047 grubunda (HAVCR1)/KIM-1, renin, Ang II ve ACE değerlerinin LPS grubuna göre azaldığı saptandı. KYP-2047 grubunda HAVCR1/KIM-1, Ang II, ACE değerlerinin kontrol grubuna göre arttığı tespit edildi.

LPS uygulamasıyla böbrek korteksinde doku hasarının meydana geldiği, lökosit infiltrasyonu, ödem ve kanama odaklarının olduğu tespit edildi. LPS+KYP-2047 grubunda, böbrek korteksindeki hasarın LPS grubuna göre azaldığı ancak kontrol grubuna göre hasarın halen yüksek olduğu belirlendi. Ayrıca, kanama alanlarının varlığının devam ettiği, peritübüler alanlarda ve glomerulusta da yaygın lökosit infiltrasyonun olduğu tespit edildi. KYP-2047 grubunda böbrek korteksi birçok bölgede kontrol grubuna benzemekle birlikte, bazı morfolojik değişikliklere rastlandı.

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen bulgular, LPS ile oluşturulan endotokseminde POP inhibitörünün potansiyel terapötik etkilerinin inflamasyon ve RAS ile ilişkili olabileceğini işaret etmiştir. |

Haziran 2025, |143| sayfa.

Anahtar kelimeler: |Lipopolisakkarid, prolil oligopeptidaz, böbrek, renin angiotensin sistemi. |



SUMMARY

[M.Sc. THESIS]

[THE EFFECTS of PROLYL OLIGOPEPTIDASE INHIBITOR on KIDNEY in LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED ENDOTOXEMIA]

[Berna ÇOLAK]

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

[Department of Biology]

Supervisor: [Assist. Prof. Dr.] [Ash KANDİL]

Lipopolysaccharide (LPS), an endotoxin, induces a systemic inflammatory response, leading to endotoxemia and mimicking the early clinical features of sepsis. Sepsis is a severe syndrome characterized by a systemic inflammatory response to an infectious process, which, in its advanced stages, can result in multiple organ dysfunction and death. Acute kidney injury (AKI) is a common and serious complication of sepsis and is strongly associated with high rates of morbidity and mortality. The pathophysiology of sepsis-induced AKI is highly complex and multifactorial. Sepsis-induced vasodilation often leads to systemic hypotension and reduced renal perfusion, thereby triggering the activation of various neurohormonal mechanisms, including the renin-angiotensin system (RAS). RAS activation contributes to the maintenance of hemodynamic stability by preserving intravascular volume and increasing arterial blood pressure. The function of prolyl oligopeptidase (POP), a member of the RAS, in LPS-induced endotoxemia remains unclear. This study aimed to investigate the potential effects of KYP-2047, a selective POP inhibitor, on AKI in LPS-induced endotoxemia.

In this study, 32 male Sprague-Dawley rats were used and divided into four groups: control, LPS, LPS+KYP-2047, and KYP-2047. An experimental endotoxemia model was established by intravenously (iv) administering LPS (4 mg/kg). Three hours following LPS administration, the POP inhibitor KYP-2047 (5 mg/kg) was administered intraperitoneally (ip) to the LPS-

treated animals. Blood and kidney tissue samples were collected from the animals for analysis 6 hours after LPS administration. The obtained data were statistically analyzed.

In the LPS group, it was determined that arterial blood gas parameters, pH, standard bicarbonate ($c\text{HCO}_3^-$ (P,st)_c), standard base excess ($c\text{Base}$ (Ecf)_c), calcium ion concentration ($c\text{Ca}^{+2}$), plasma osmolality ($m\text{Osm}_c$), and D-glucose concentration ($c\text{Glu}$) were significantly decreased compared to the control group, whereas hydrogen ion concentration ($c\text{H}^+$ _c), methemoglobin fraction within total hemoglobin ($F\text{MetHb}$), and L-lactate concentration ($c\text{Lac}$) were significantly increased. In the LPS+KYP-2047 group, pH levels were significantly increased compared to the LPS group, while $c\text{H}^+$ _c and $F\text{MetHb}$ levels were significantly reduced. It was determined that $c\text{Ca}^{+2}$, $c\text{HCO}_3^-$ (P,st)_c, $c\text{Base}$ (Ecf)_c, $m\text{Osm}_c$, $c\text{Glu}$, and $c\text{Lac}$ values were similar to those in the LPS group. Arterial blood gas parameters in the KYP-2047 group were found to be similar to those in the control group.

In the LPS group, granulocyte count (GRA) and percentage (GR%) values were found to be increased compared to the control group, while lymphocyte count (LYM) and percentage (LY%), as well as platelet count (PLT) and percentage (PCT) were significantly decreased. In the LPS+KYP-2047 group, the levels of GRA, GR%, LYM, LY%, PLT, and PCT were similar to those in the LPS group. Hemogram parameters in the KYP-2047 group were found to be similar to those in the control group.

In the LPS group, biochemical analyses revealed that serum albumin levels were significantly decreased compared to the control group, while serum creatinine levels increased, though this increase was not statistically significant. Levels of C-reactive protein (CRP) in serum and tissue, tumor necrosis factor- α (TNF- α) in tissue, and kidney injury molecule-1 (KIM-1) in both serum and tissue were significantly increased compared to the control group. In the LPS+KYP-2047 group, albumin levels were similar to those in the LPS group. CRP, TNF- α , and interleukin (IL)-6 levels were found to be similar to those in the control group. KIM-1 levels remained elevated in both serum and tissue compared to the control group. In the KYP-2047 group, albumin levels were found to be decreased compared to the control group. CRP, TNF- α , and IL-6 levels were observed to be similar to those in the control group. Serum and tissue KIM-1 levels were found to be increased compared to the control group.

In the LPS group, levels of Angiotensin (Ang) I in serum and tissue, and Angiotensin II in serum were increased compared to the control group. In the LPS+KYP-2047 group, the levels of renin, Ang I, Ang II, Ang I (1-7), angiotensin converting enzyme (ACE), and ACE2 were comparable to those of the control group. In the KYP-2047 group, levels of renin, Ang I, Ang II, Ang I (1-7), ACE, and ACE2 were similar to the control groups.

As a result of Western blot analysis in the LPS group, the levels of hepatitis A virus cellular receptor 1 (HAVCR1)/ KIM-1, renin, Ang II, and ACE in kidney tissue were significantly increased compared to the control group. In the LPS+KYP-2047 group, the levels of (HAVCR1)/ KIM-1, renin, Ang II, and ACE were significantly decreased compared to the LPS group. In the KYP-2047 group, the levels of HAVCR1/KIM-1, Ang II, and ACE were significantly increased compared to the control group.

LPS administration resulted in tissue damage in the renal cortex, characterized by leukocyte infiltration, edema, and hemorrhagic areas. In the LPS+KYP-2047 group, renal cortical damage was reduced compared to the LPS group; however, it remained significantly higher than in the control group. Moreover, the presence of hemorrhagic areas persisted, along with widespread

leukocyte infiltration in the peritubular areas and glomeruli. In the KYP-2047 group, the renal cortex largely resembled that of the control group; however, some morphological alterations were noted.

In conclusion, the findings from this study suggest that the potential therapeutic effects of the POP inhibitor in LPS-induced endotoxemia may be associated with inflammation and RAS. |

June 2025, |143| pages.

Keywords: |Lipopolysaccharide, prolyl oligopeptidase, kidney, renin angiotensin system. |



1. GİRİŞ

Bu çalışmada, lipopolisakkarid ile oluşturulan deneysel endotoksemi modelinde, seçici bir prolil oligopeptidaz inhibitörü olan KYP-2047'nin böbrek üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Tezin “Genel Kısımlar” bölümünde endotoksemi ve sepsis, akut böbrek hasarı, renin angiotensin sistemi ile prolil oligopeptidaz ve inhibitörü hakkında bilgilere yer verilmiştir.

Tezin “Malzeme ve Yöntem” bölümünde deney hayvanları, deney protokolü ve deney grupları, hayvanlardan alınan örneklerde yapılan kan parametre ölçümleri, biyokimyasal analizler, Western blot yöntemi, ışık mikroskobu çalışmaları ve verilerin istatistiksel analiz yöntemi verilmiştir.

Tezin “Bulgular” bölümünde yapılan analizlerden elde edilen sonuçlar şekiller veya tablo olarak verilmiştir ve ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

“Tartışma ve Sonuç” bölümünde, tez konusu ile ilgili çalışmalara ayrıntılı bir şekilde yer verilmiş, elde edilen bulgular bu çalışmaların sonuçları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve bir sonuca varılmıştır. |

2. GENEL KISIMLAR

2.1. ENDOTOKSEMİ VE SEPSİS

Enfeksiyon, bir dokunun mikroorganizmalar ile invazyonuna karşı konakta meydana gelen inflamatuvar yanıt olarak tanımlanmaktadır (Bone, 1996). Mikrobiyolojik ürünlerin genetik veya diğer faktörlere bağlı olarak duyarlı bir konakla etkileşimi, bir dizi bağışıklık sistemi düzenleyicisinin salınımını tetikleyerek hücrelerde ve organlarda fonksiyon bozukluklarına yol açmaktadır (O'Brien ve diğ. 2007). Konak ile mikrobiyal unsur arasındaki etkileşimin ardından hem humoral hem de hücrel bileşenleri içeren savunma reaksiyonunu koordine eden doğal bağışıklık sistemi aktive olmaktadır (Martins ve diğ. 2006). Bu bağışıklık yanıtı, çeşitli sitokinlerin salınmasına neden olarak inflamasyonu başlatmaktadır. Bu süreç, ilerleyerek hemodinamik bozukluklara ve organ disfonksiyonuna, en sonunda ise sıvı replasmanına rağmen düzeltilemeyen hipotansiyon ve çoklu organ yetmezliğiyle karakterize edilen sepsis tablosunun gelişmesine neden olabilmektedir (Tracey ve diğ. 1986; Okusawa ve diğ. 1988; Nechemia-Arbely ve diğ. 2008; Zarjou ve Agarwal, 2011).

Mikrobiyal bir etken olan endotoksin, Gram-negatif bakterilerin hücre duvarında yer alan doğal bir lipopolisakkarid (LPS) bileşenidir ve ticari endotoksin tespit analizlerinde referans standart olarak kullanılan saflaştırılmış formu ifade etmektedir (Williams, 2007). LPS ve endotoksin terimleri çoğu zaman birbirinin yerine kullanılmakla birlikte endotoksin terimi biyolojik etkinliği vurgulamak için LPS terimi ise molekülün kimyasal yapı ve bileşimini tanımlamak için kullanılmaktadır (Hurley, 1995). Endotoksinler, moleküler ağırlığı 10 ila 1000 kDa arasında değişen, karbonhidrat çekirdeğine bağlı lipid A antijeni ve polisakkarid O antijeninden oluşan büyük moleküler yapılardır. O antijeni, antijenik özellik göstererek bağışıklık yanıtının başlatılmasında temel bir rol oynamaktadır. Molekülün çekirdek bölgesi ise genel negatif yükü sağlayarak endotoksinin birçok biyolojik özelliğini şekillendirirken, lipid A bölgesi konakta bilinen toksik etkilere yol açan ve endotoksik özelliğini gösteren kısmı içermektedir (Williams, 2007).

Bir endotoksin olan LPS, sistemik inflamatuvar yanıtı indükleyerek endotoksemiye neden olmakta ve sepsisin başlangıcındaki klinik özellikleri taklit etmektedir (Wichterman ve diğ. 1980; Michie ve diğ. 1988; Remick ve diğ. 2000). Sepsis, vücudun bulaşıcı bir sürece karşı gelişen sistemik inflamatuvar yanıtı tanımlayan ve ilerleyen evrelerinde çoklu organ fonksiyon bozukluğuna ve ölüme yol açabilen ciddi bir sendrom olarak tanımlanmaktadır (Singer ve diğ.

2016). 20. yüzyıl boyunca yapılan birçok deneysel ve klinik çalışma, sepsisin bulguları için konak bağışıklık yanıtının önemini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, hastalık sürecindeki patofizyolojik farklılıkların, sepsisin tanımlanmasında, tedavi edilmesinde ve çalışılmasında ciddi zorluklara neden olduğu görülmüştür (Gül ve diğ. 2017).

Sepsis resmi olarak 1992 yılında Kuzey Amerika Uzlaşı Komitesi tarafından, enfeksiyona karşı gelişen Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS) olarak tanımlamıştır (Bone ve diğ. 1992). SIRS çeşitli ciddi klinik durumlara karşı sistemik bir inflamatuvar yanıt olarak tanımlanmış olup kriterleri arasında anormal vücut sıcaklığı ($>38^{\circ}\text{C}$ ya da $<36^{\circ}\text{C}$), kalp atım hızı (>90 atım/dakika), solunum hızı (>20 solunum/dakika), karbondioksit parsiyel basıncı (<32 mmHg) ve lökosit sayısı ($>12,000/\text{cu mm}$) bulunması gösterilmiştir (Bone ve diğ. 1992). İki veya daha fazla SIRS kriteri ile ortaya çıkan enfeksiyonlara verilen sistemik yanıt, sepsis tanısı için yeterli kabul edilmiştir ve bu tanım Sepsis-1 olarak adlandırılmıştır (Bone ve diğ. 1992).

Sepsis-1 tanımının yetersizlikleri ile eksiklerini gidermek ve özellikle sepsis sürecini evrelemek için 2001 yılında Yoğun Bakım Tıbbi Derneği (SCCM) ve Avrupa Yoğun Bakım Tıbbi Derneği (ESICM), Amerikan Göğüs Hastalıkları Hekimleri Koleji (ACCP), Amerikan Toraks Derneği (ATS) ve Cerrahi Enfeksiyon Derneği (SIS) tarafından düzenlenen ikinci konsensüs toplantısında Sepsis-2 tanımı geliştirilmiştir (Levy ve diğ. 2003). Yapılan toplantı sonucu tespit edilen veya şüphelenilen enfeksiyona özgü bulgular, genel, inflamatuvar, hemodinamik, organ disfonksiyonu ve doku perfüzyon bozuklukları olarak kategorize edilmiştir ve biyokimyasal göstergeler dikkate alınarak erken tanıdaki rolleri vurgulanmıştır (Levy ve diğ. 2003). Sepsis tanımına ilişkin bir güncelleme ve/veya fikir birliği oluşturmak amacıyla kullanılan terminolojiyi standartlaştırmak, sepsisin erken tespitini geliştirmek ve hastaların klinik araştırmalara dahil edilmesinde tutarlılığı artırmak için 2014 yılında, 19 klinisyenden (yoğun bakım, enfeksiyon hastalıkları, cerrahi ve göğüs hastalıkları uzmanı) oluşan bir grupta SCCM ve ESICM bir araya gelerek toplantılar düzenlemiştir. Yapılan toplantılar sonrası, 2016 yılında sepsis ve septik şokun yeni bir tanımı yayınlanmıştır (Singer ve diğ. 2016). Sepsis-3, patojen ve konak faktörleri tarafından oluşturulan enfeksiyonda, anormal veya düzenlenememiş konak yanıtı sonucu ortaya çıkan ve yaşamı tehdit eden organ disfonksiyonu olarak tanımlanmıştır (Singer ve diğ. 2016). Bu tanımla birlikte, ciddi sepsis teriminin kullanımının da gereksiz olduğu görülmüştür (Singer ve diğ. 2016).

Septik şok terimi, altta yatan dolaşım ve hücrel metabolizma anormalliklerinin mortaliteyi önemli ölçüde artırdığı bir sepsis alt grubu olarak tanımlanmıştır (Singer ve diğ. 2016). Septik şokun tanımı genellikle hipotansiyon varlığıyla ilişkili olsa da çoğu durumda hipotansiyondan

önce doku hipoperfüzyonunun meydana gelmesinden dolayı bu kriter yetersizdir. Bu nedenle, septik şokun tanımlanmasının doku hipoperfüzyonunun tanımlanmasına dayanması gerektiği ileri sürülmüştür (Lokhandwala ve diğ. 2015; Lee ve diğ. 2016).

Yeni tanıma ek olarak Singer ve diğ. (2016) tarafından sepsisli hastalarda organ fonksiyonlarının değerlendirilmesi için Sekansiyel (Sepsisle İlişkili) Organ Yetmezliği Değerlendirme (SOFA) skoru önerilmiştir (Singer ve diğ. 2016). Bu skorun özellikle yoğun bakım ünitelerinde sepsis hastalarının takibi ve prognoz belirlenmesi açısından önem taşıdığı belirtilmiştir (Singer ve diğ. 2016). Yoğun bakım ünitesi dışındaki ortamlarda kullanılmak üzere geliştirilen, sistolik kan basıncı ≤ 100 mmHg, solunum hızı ≥ 22 /dk ve mental durum değişikliği (konfüzyon, letarji, ajitasyon, koma vb.) olmak üzere üç değişkenden oluşan Quick SOFA (qSOFA)'nın (Singer ve diğ. 2016), sepsis tanı aracı olmaktan ziyade enfeksiyon şüphesi olanlarda kötüleşme riskinin arttığına dair bir erken uyarı mekanizması olarak kabul edilebileceği vurgulanmaktadır (Gül ve diğ. 2017).

Sonuç olarak, sepsis süreçlerinin tanımlanması için tek ve spesifik bir kriter bulunmadığından çok sayıda parametrenin birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir (Lokhandwala ve diğ. 2015; Lee ve diğ. 2016). Sepsisin teşhisi ve yönetiminde, organ fonksiyonlarının takibi, doku hipoperfüzyonunun değerlendirilmesi, asit-baz dengesi ve kan oksijenlenmesinin izlenmesi için hematolojik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik testler önemli rol oynamaktadır (Rello ve diğ. 2017).

Sepsis, 2020 yılı verilerine göre dünya çapında yaklaşık 48,9 milyon vaka ile önemli bir küresel sağlık sorunu olarak görülmektedir. Sepsisle ilişkili ölüm sayısının dünya çapında yaklaşık 11 milyon olduğu ve bunun küresel ölümlerin yaklaşık %20'sine denk geldiği belirtilmiştir (Rudd ve diğ. 2020). Sepsisli yetişkin hastaların dörtte üçü en az bir organ disfonksiyonuna sahipken, beşte birinin iki, yirmide birinin üç veya daha fazla akut organ disfonksiyonuna sahip olduğu belirtilmiştir (Angus ve diğ. 2001). Yoğun bakımda tedavi gören sepsis hastalarında yaşam desteği gerektiren en yaygın akut organ yetmezlikleri solunum, kardiyovasküler ve boşaltım sistemlerinde olup görülme oranları %20 ila %50 arasında değişmektedir (Brun-Buisson ve diğ. 2004; Vincent ve diğ. 2006; Blanco ve diğ. 2008).

2.2. AKUT BÖBREK HASARI

Sepsisin yaygın ve ciddi bir komplikasyonlarından biri olan akut böbrek hasarı (ABH), yüksek morbidite ve mortalite oranları ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmektedir (Ning ve diğ. 2021).

Daha da önemlisi, sepsis yalnızca ABH'ye yatkınlık sağlamakla kalmaz, aynı zamanda ABH gelişimi, konak bağışıklık fonksiyonlarını etkileyerek hastanın *de novo* enfeksiyonlara ve tekrar eden sepsise karşı duyarlılığını artırmaktadır (Alobaidi ve diğ. 2018). Sepsise bağlı ABH'nin patofizyolojisi oldukça karmaşık ve çok faktörlü bir yapıya sahiptir (Wang ve diğ. 2002). ABH, sistemik ve intrarenal hemodinamik değişiklikleri, böbrekte mikro dolaşım bozuklukları ve doğrudan dokuda hasara neden olan bağışıklık ve inflamatuvar yolların aktivasyonu gibi pek çok farklı, karmaşık ve dinamik mekanizmalara sahiptir (Alobaidi ve diğ. 2018). Sepsis sürecinde enfeksiyöz etkene maruz kalındıktan sonra patojen ilişkili moleküler örüntüler ve hasar ile ilişkili moleküler örüntüler salınmaktadır. Bu moleküller, özellikle Toll-benzeri reseptörler (TLR'ler) olarak bilinen bir reseptör ailesi aracılığıyla bağışıklık, endotel ve tübül epitel hücrelerinin yüzeyine bağlanarak proinflamatuvar sitokinlerin, reaktif oksijen türleri (ROT)'nin ve diğer inflamatuvar araçların sentezine, oksidatif stresin artışına ve endotel aktivasyonuna yol açmaktadır (Peerapornratana ve diğ. 2019). Bu patofizyolojik olaylara ek olarak, sitokinlere ve etkilerine maruz kalan endotel hücrelerinde hem fonksiyonel hem de yapısal değişiklikler meydana gelmektedir. Endotel hasarı, otonom sinir sisteminin aktivasyonu, glikokaliksin bozulması, pıhtılaşmanın aktivasyonu ve endotelden salınan vazoaktif araçlar (nitrik oksit, karbon monoksit, endotelin ve prostaglandin) arasındaki dengenin bozulması gibi çeşitli patofizyolojik mekanizmayı tetiklemektedir (De Backer ve diğ. 2011; Verma ve diğ. 2015). Bu hasar, lökosit ve trombositlerin endotel yüzeyine adezyonunu ve yuvarlanmasını artırır, bununla birlikte mikro dolaşımda kan akış hızının azalmasına yol açmaktadır. Bu durum, potansiyel olarak mikro pıhtı oluşumuna ve kapillerlerde tıkanmalara duyarlılığı artırarak buna zemin hazırlamaktadır. Ayrıca endotel bütünlüğünde bozulma, kapiller geçirgenliğinin artmasıyla damar dışına sıvı sızmasına, peritübüler alanda ödeme ve sonuç olarak kapillerlerden tübül hücrelerine oksijenin difüzyon mesafesini artırarak perfüzyonun azalmasına ve hücresel düzeyde hipoksinin oluşmasına neden olmaktadır (Almac ve diğ. 2006; Dyson ve diğ. 2011; Rajendram ve Prowle, 2014; Post ve diğ. 2017). Sepsiste, inflamasyon ile reaktif nitrojen türleri, ROT ve uyarılabilir nitrik oksit sentaz tarafından sentezlenen nitrik oksit üretiminin artması, oksidatif stres ve endotelde fonksiyon kaybı, vasküler hasara ve dolayısıyla doku fonksiyonunun bozulmasına neden olmaktadır (Gomez ve diğ. 2014; Ow ve diğ. 2021). Bu patofizyolojik olayların sonucunda ABH gelişimi kaçınılmaz hale gelmektedir.

Sepsise bağlı gelişen vazodilatasyon, sistemik hipotansiyona ve dolayısıyla böbrek perfüzyonunun azalmasına yol açarak renin angiotensin sistemi (RAS) dahil olmak üzere

karmaşık sinirsel ve hormonal mekanizmaların aktive olmasına neden olmaktadır (Tibi ve diğ. 2023). RAS aktivasyonu, sepsise bağlı dolaşım bozuklukları ile ilişkili intrinsik nöroendokrin yanıtın ayrılmaz bir parçasıdır (Cumming ve diğ. 1988; Dunn ve Horton, 1993; Aneman ve diğ. 1999; Tamion ve diğ. 2004; Bucher ve diğ. 2001). RAS'ın aktivasyonunun yanı sıra kan basıncını düzenlemek ve organ perfüzyonunu korumak amacıyla hipotalamik-hipofiz-adrenal eksen ve sempatik sinir sisteminin aktivasyonu, ayrıca endotelin ve vazopressin salınımı da bu süreçte yanıtın bir parçası olarak devreye girmektedir. RAS aktivasyonu sadece sistemik dolaşımı (Laesser ve diğ. 2004; Imai ve diğ. 2005) değil, aynı zamanda mikro dolaşımı, özellikle glomerular kapillerleri ve diğer organların kapillerlerini de (Goodfriend ve diğ. 1996; Adembri ve diğ. 2004; Almeida ve diğ. 2006; Imai ve diğ. 2005) etkilemektedir.

Sepsiste, RAS aktivasyonu, hacim ve arteriyel kan basıncını artırmayı amaçlamaktadır (Hilgenfeldt ve diğ. 1987; Cumming ve diğ. 1988; Dunn ve Horton, 1993; Boldt ve diğ. 1998; Bucher ve diğ. 2001; du Cheyron ve diğ. 2003; Tamion ve diğ. 2004), ancak RAS aktivitesinin hem aşırı hem de yetersiz olması olumsuz klinik sonuçlara yol açabileceği ifade edilmiştir. Aşırı uyarılma, yoğun vazokonstriksiyon, doku iskemisi ve ABH ile sonuçlanabilirken (Schrier ve Wang, 2004) yetersiz aktivitesi dirençli şok (Wray ve Coakley, 1995) ve çoklu organ yetmezliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Boldt ve diğ. 1998; Adembri ve diğ. 2004). RAS'ın aşırı aktivasyonu veya aşırı inhibisyonunun her ikisinin de organ fonksiyonları üzerinde olumsuz etkilere yol açabileceği kabul edilmiştir.

2.3. RENİN ANGIOTENSİN SİSTEMİ

RAS, klasik olarak kan basıncının düzenlenmesinden, sıvı hacminin korunmasından ve elektrolit dengesinin sağlanmasından sorumlu hormonal bir sistem olarak bilinmektedir (Zaman ve diğ. 2002). Bununla birlikte yapılan çalışmalarda yeni moleküllerin, enzimlerin ve reseptörlerin keşfedilmesiyle birçok fizyolojik ve patofizyolojik olayın altında yatan mekanizmalarda RAS'ın rol aldığının anlaşılması sonucunda artık RAS, kompleks bir sistem olarak karşımıza çıkmaktadır (Santos ve diğ. 2018; Simões ve diğ. 2021). RAS, günümüzde yalnızca klasik bir hormonal yolak olarak değil aynı zamanda endokrin, parakrin ve intrakrin fonksiyonlar sergileyen ve vücut homeostazının diğer düzenleyicileri ile etkileşim halinde olan karmaşık bir düzenleyici bileşen grubunu temsil etmektedir (Santos ve diğ. 2018; Simões ve diğ. 2021). Ek olarak RAS, elde edilen veriler çerçevesinde klasik eksen ve karşı düzenleyici eksen olmak üzere iki fonksiyonel eksene ayrılmıştır (Santos ve diğ. 2018; Simões ve diğ. 2021). Klasik RAS eksen, angiotensin dönüştürücü enzim (ACE), angiotensin (Ang) II ve

angiotensin tip 1 (AT1) reseptöründen oluşurken karşı düzenleyici RAS eksenini, ACE2 enzimi (Donoghue ve diğ. 2000; Tipnis ve diğ. 2000), Ang (1-7) ve G proteinine bağlı Mas reseptörü gibi bileşenlerden oluşmaktadır (Santos ve diğ. 2003).

RAS'ın klasik eksenini birçok fizyolojik sürecin düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamakta olup, aynı zamanda çeşitli patofizyolojik koşullar ve hastalıklar ile ilişkili etkili bir faktör olduğu belirtilmiştir (Forrester ve diğ. 2018). RAS'ın klasik eksenini, renin, Ang I ve Ang II gibi peptidlerin ardışık oluşumunu içermektedir. RAS'ın aktivasyonu, böbrekte afferent arteriyollerin duvarında bulunan jukstaglomerular hücreler adı verilen özel hücrelerde sentezlenen reninin spesifik uyarılarla kan dolaşımına salınmasıyla başlar (Kanugula ve diğ. 2023). Renin, karaciğerde sentezlenen bir glikopeptid olan angiotensinojen (AGT)'i N-terminalin ucundan keserek Ang I'in oluşumuna neden olur. Daha sonra özellikle akciğer ve böbreklerin damar endotelinde yoğun bir şekilde bulunmakla birlikte beyinde, bağırsak epitelinde ve gelişmekte olan erkek germ hücrelerinde de bulunan ACE, Ang I'in C-terminalinden iki amino asidi (His-Leu) uzaklaştırarak Ang I'den Ang II oluşumunu sağlar (Igić ve Behnia, 2003; Bernstein ve diğ. 2012; Culver ve diğ. 2017). ACE'nin kandaki, böbrek, kalp, akciğer ve beyin gibi organlardaki Ang II oluşumunun en az %90'ından sorumlu olduğu bildirilmiştir (Igić ve Behnia, 2003). Ang II, RAS'ın fizyolojik etkilerinin ana aracısıdır ve hacim dengesinin sağlanması, kan basıncının yükseltilmesi ve aldosteron salınımının uyarılması gibi fizyolojik işlevlerde rol oynamaktadır (Guo ve diğ. 2001). Bununla birlikte, Ang II'nin birçok patofizyolojik durumlarda da rol oynadığı ve oksidatif stresi, damar düz kas kontraksiyonunu, endotel disfonksiyonunu, fibrozisi ve hipertrofik, anti-apoptotik ve promitojenik etkileri indüklediği bilinmektedir (Rajagopalan ve diğ. 1996; Dzau, 2001; Mehta ve Griendling, 2007). Bu etkiler, hipertansiyon, aterosklerotik hastalık, kalp yetmezliği ve böbrek hastalıklarının patogeneğinde önemli yer tutmaktadır (Engeli ve diğ. 2000; Schieffer ve diğ. 2000; AbdAlla ve diğ. 2001; Ferrario, 2006; Xu ve diğ. 2017).

Ang II, biyolojik etkilerini hücre yüzeyinde yer alan yedi transmembran alanına sahip G proteinine bağlı reseptör olan AT1 ve AT2 reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirmektedir (Sparks ve diğ. 2014; Forrester ve diğ. 2018; Zhang ve diğ. 2017). Bu reseptörler, farklı hücresel sinyal yollarını aktive eder ve çoğunlukla birbirine zıt fizyolojik ve patofizyolojik yanıtların oluşumuna aracılık etmektedir (Zhang ve diğ. 2017).

AT1 reseptörü, kalp ve damar sistemi, böbrekler, adrenal bezler, hipofiz ve merkezi sinir sistemi dahil olmak üzere birçok hücre tipinde yaygın olarak dağılım göstermektedir. Ang

II'nin klasik etkilerinin çoğundan sorumlu olan bu reseptör, kan basıncının artması, sodyum ve su tutulması, aldosteron salınımı, vazokonstriksiyon ve susamanın uyarımı dahil olmak üzere birçok fizyolojik olaya aracılık etmektedir (Abdel Ghafar, 2020). Patolojik durumlarda ise AT1 reseptörünün aktivasyonu inflamasyona, fibroze, oksidatif strese, dokunun yeniden modellenmesine ve kan basıncında artışa yol açmaktadır (Kaschina ve Unger, 2003). AT1 reseptörünün düzensizliği, özellikle kalp ve böbrek hastalıklarının patofizyolojisinde merkezi ve belirleyici bir rol oynamaktadır (Billet ve diğ. 2008; Naito ve diğ. 2010; Eguchi ve diğ. 2018). AT1 reseptörü, jukstaglomerular aygıt (JGA)'ta hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu artırarak kısa döngülü bir geri bildirim mekanizması ile renin salınımını inhibe etmektedir (Churchill, 1985; Schweda ve Kurtz, 2004). Vasküler düz kas hücrelerinde ise AT1 reseptörünün aktivasyonu, hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artmasına ve hücre iskeletinde değişikliklere yol açarak vazokonstriksiyona ve damar direncinin artmasına neden olmaktadır (Griendling ve diğ. 1997). Aynı zamanda AT1 reseptörü, düz kas hücrelerinin büyümesini ve hipertrofisini teşvik ederek hipertansiyonda vasküler yeniden yapılanmaya katkıda bulunmakta ve ROT üretimini artırmaktadır (Geisterfer ve diğ. 1988; Intengan ve Schiffrin, 2001). Merkezi sinir sisteminde, AT1 reseptörünün aktivasyonu su içme tepkisini uyarmakta (Sparks ve diğ. 2014; Davisson ve diğ. 2000) ve subfornikal organ-rostral ventrolateral medullada lokal ROT üretimini artırmaktadır (Zimmerman ve diğ. 2004a, b). Sempatik sinir sistemi aracılığıyla kan basıncını ve renin salınımını daha da artırılmaktadır (Sparks ve diğ. 2014).

AT2 reseptörü, 363 amino asitli inhibitör G proteinine bağlı bir reseptördür (Sparks ve diğ. 2014; Abdel Ghafar, 2020). Bu reseptör, AT1 reseptörüne yaklaşık %34 homoloji sergiler ve AT1 reseptörüne kıyasla daha düşük düzeyde anlatımı olmaktadır (Ichiki ve Inagami, 1995). AT2 reseptörünün anlatımı, fetal dokularda yaygın olarak görülürken yetişkinlerde önemli ölçüde azalmaktadır (Lazard ve diğ. 1994; Carey ve diğ. 2000) ve kalp, böbrekler, adrenal bezler ile beyin gibi organlarda bulunmaktadır (Tsutsumi ve Saavedra, 1991; Ozono ve diğ. 1997; Wang ve diğ. 1998). AT2 reseptörünün anlatım düzeyi düşük olmasına rağmen, AT1 reseptörü aracılığıyla gerçekleşen Ang II etkilerine karşı dengeleyici bir rol üstlenmektedir. AT2 reseptörünün aktivasyonu, inflamasyonu ve fibrozisi baskılayarak vazodilatasyon, natriürezis ve nörorejenerasyon gibi etkilere neden olmaktadır (Siragy ve diğ. 1999; Carey ve diğ. 2000; Carey ve Siragy, 2003; Sampson ve diğ. 2008; Namsolleck ve diğ. 2014). Ayrıca AT2 reseptörü, JGA'dan renin salınımını inhibe ederek RAS aktivitesinin düzenlenmesine de katkıda bulunmaktadır (Sparks ve diğ. 2014).

RAS'ın karşıt düzenleyici ekseni, esas olarak ACE2, Ang (1-7) ve Mas reseptöründen oluşmaktadır (Tipnis ve diğ. 2000; Vickers ve diğ. 2002). ACE2'nin akciğerler, kardiyovask lar sistem, böbrekler, yağ dokusu ve beyin olmak üzere birçok dokuda yaygın şekilde anlatımı olduğu bildirilmiştir (Hamming ve diğ. 2004; Gembardt ve diğ. 2005; Paizis ve diğ. 2005; Doobay ve diğ. 2007). ACE2, Ang I ve Ang II'yi substrat olarak kullanabilmekle birlikte, Ang II'ye karşı katalitik verimliliğinin yaklaşık 300 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (Vickers ve diğ. 2002). ACE2, Ang I'i Ang (1-9)'a, Ang II'yi ise Ang (1-7)'ye dönüştürerek RAS'ın karşıt düzenleyici ekseninde rol almaktadır (Santos ve diğ. 2019).

ACE2 aracılı karşı düzenleyici ekseninde veya RAS'ın koruyucu yolunda fonksiyonel önemli diğer bir peptid olan Ang (1-7)'nin kritik bir düzenleyici olduğu bilinmektedir (Santos ve diğ. 2019). Ang (1-7), farklı enzimatik yollar aracılığıyla meydana gelebilmektedir. Bu oluşum yollarından biri, Ang I'in ACE2 tarafından hidroliziyle Ang (1-9)'a dönüştürülmesi ve ardından ACE tarafından Ang (1-9)'un Ang (1-7)'ye çevrilmesidir. Alternatif olarak Ang (1-7), Ang I'den nötral endopeptidaz (NEP) ve prolil oligopeptidaz (POP) aracılığıyla (Bader, 2013; Sim es e Silva ve diğ. 2013) veya Ang II'den ACE2 veya prolin karboksipeptidaz (PRCP) aracılığıyla (Bader, 2013) meydana gelebilmektedir. Bununla birlikte, daha önce bahsedildiği gibi Ang II'yi daha yüksek verimlilikle katalize etmesi nedeniyle fazla miktarda Ang (1-7)  retimine yol a tığından dolayı ACE2, Ang (1-7) oluşumunu sağlayan etkili bir enzim olarak kabul edilmektedir (Vickers ve diğ. 2002; Rice ve diğ. 2004).

Ang (1-7), etkilerini esas olarak G proteinine bağlı Mas reseptörü aracılığıyla gerçekleştirmektedir (Santos ve diğ. 2003) ve öncelikle Ang II'nin AT1 reseptörü aracılığıyla gerçekleştirdiği etkilerin çoğuna zıt yönde etkiler oluşurmaktadır (Santos ve diğ. 2003). Ang II kan damarlarında vazokonstriksiyona neden olurken, Ang (1-7) vazodilatasyona (Lavrentyev ve Malik, 2009) yol açmaktadır. Buna ek olarak Ang (1-7), antitrombotik (Fraga-Silva ve diğ. 2008) ve antiproliferatif (Langeveld ve diğ. 2005)  zellikler sergilemektedir. Ang (1-7)'nin bu tür etkilerinin büyük  l de endotelial nitrik oksit sentaz aktivasyonunu ve ROT üretiminin inhibisyonunu indükleyen Akt fosforilasyonu ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Sampaio ve diğ. 2007a, b). Ayrıca Ang (1-7), bradikinin sinyal iletim yolunu aktive ederek Ang II'nin etkilerine karşıt olan etkiyi daha da artırdığı rapor edilmiştir (Li ve diğ. 1997; Paula ve diğ. 1999). Bunlarla birlikte ACE2/Ang (1-7)/Mas ekseninin yalnızca kardiyovask lar düzeyde değil, aynı zamanda inflamasyonun kontrolünde de koruyucu roller üstlendiği gösterilmiştir (Sim es E Silva ve diğ. 2023).

RAS'da Ang I veya Ang II üzerinde etkili olan önemli enzimlerden biri de POP olarak öne çıkmaktadır (Welches ve diğ. 1993; Goossens ve diğ. 1996; Fülöp ve diğ. 1998). POP'un 25 yılı aşkın bir süre önce Ang I veya Ang II'deki Pro⁷-Phe⁸ peptid bağını bradikinine duyarlı bir şekilde parçalayarak kan basıncının düzenlemesine katkı sağladığı ortaya konulmuştur (Chappell ve diğ. 1990; Welches ve diğ. 1993). İlerleyen çalışmalarda, ACE inhibitörleri kullanıldığında POP aktivitesinin *in vivo* olarak arttığının keşfedilmesi, bu enzimin RAS peptidlerin oluşumunda fonksiyonel bir role sahip olabileceğini düşündürmüştür (Chappell ve diğ. 1998). Ang (1-7) ve etkilerinin belirlenmeye başlamasıyla birlikte yapılan *in vivo* çalışmalarda, ACE inhibe edildiğinde Ang (1-7) seviyelerinde anlamlı bir değişikliğin olmadığı tespit edilmesi sonucunda, POP'un Ang (1-7) oluşumunda rolü olabileceği ileri sürülmüştür (Santos ve diğ. 1988). Son zamanlarda elde edilen verilere dayanarak, POP'un özellikle dolaşımda ve akciğerlerde Ang II'nin Ang (1-7)'ye dönüşümünde başlıca rol üstlenen enzim olduğu, buna karşın böbrekte bu dönüşümün esas olarak ACE2 aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmiştir (Serfozo ve diğ. 2020). Bu doğrultuda, Ang II infüzyonundan hemen sonra dolaşımda bulunan Ang (1-7) seviyelerinin büyük ölçüde POP'a bağlı olduğu, ACE2 ve PRCP'den bağımsız olduğu ifade edilmiştir (Serfozo ve diğ. 2020).

2.4. PROLİL OLİGOPEPTİDAZ

Canlı organizmalardaki proteinlerin veya peptidlerin aktivitesi ve yaşam süresi, büyük ölçüde bunların proteazlar tarafından işleme süreçlerine bağlıdır. Proteazlar, peptid fonksiyonlarının düzenlenmesi, translasyon sonrası modifikasyonların gerçekleştirilmesi ve peptidlerin aktif veya inaktif küçük parçalara ayrılması da dahil olmak üzere organizma için hayati önem taşıyan birçok fonksiyonel role sahiptir (Jalkanen, 2012). Biyolojik olarak aktif birçok peptidin yapısında prolin kalıntıları mevcuttur. Çoğu peptidaz, prolinin benzersiz siklik yapısı nedeniyle bu kalıntılarının oluşturduğu peptid bağlarını parçalayamaz ve bu nedenle prolinin, peptid yapılarını enzimatik bozulmaya karşı koruyabileceği düşüncesi oluşmuştur (Jalkanen, 2012). Spesifik proteazlar, bu siklik prolini tanıyarak prolin içeren biyoaktif peptidleri parçalayabilmektedir. Bu özelliklerinden dolayı proteazlar, ilaç geliştirme çalışmalarında oldukça ilgi çeken hedef moleküller haline gelmiştir (Jalkanen, 2012).

POP (E.C. 3.4.21.26), proline özgü proteazlardan biridir (Jalkanen, 2012) ve serin proteazların POP ailesine (SC klan, S9 ailesi) ait evrimsel olarak iyi korunmuş bir enzimdir (Rawlings ve diğ. 1991; Venäläinen ve diğ. 2004). İlk olarak insan uterusunda oksitosini indirgeyen bir enzim

olarak keşfedilen POP (Walter ve diğ. 1971), prolin kalıntılarının karboksil tarafındaki peptid bağlarını tercihi olarak hidrolize ettiği için başlangıçta post-prolin parçalayıcı enzim (PPCE) olarak adlandırılmıştır (Polgar, 2002). Ancak daha sonra prolil endopeptidaz (PEP) olarak adı değiştirilmiş, 1992 yılında enzimin spesifik özellikleri dikkate alınarak POP ismi kullanılmaya başlanmıştır (IUBMB, 1992). Tüm bu adlandırılmalarından dolayı, literatürde bu enzim PREP, POP, PEP ve post-prolin endopeptidaz gibi farklı isimler olarak yer almıştır.

Son yirmi yılı aşkın bir süredir yapılan deneysel çalışmalarda, POP'un tek bir fizyolojik ayırt edici rolü olmadığı ve hücre içinde veya dışında olmasına, bulunduğu hücre ve doku tipine, hücrelerde, dokularda veya organizmadaki metabolik veya patolojik koşullara bağlı olarak birçok rolünün olabileceği gösterilmiştir (García-Horsman, 2020). Ayrıca POP'un biyolojik aktivitesini, fizyolojik peptidler üzerindeki etkisi (substratların veya inhibitörlerin parçalanması) veya diğer protein ortakları ile etkileşim türüne göre de belirlenebileceği ifade edilmiştir (Männistö ve García-Horsman, 2017). POP'un hem *in vivo* hem de *in vitro* araştırmalarda, potansiyel biyolojik substratların yanı sıra biyolojik olarak aktif peptidlerin aktivitesinin düzenlemesinde de rol aldığı ortaya çıkarılmıştır (Mentlein, 1988; Toide ve diğ. 1997). Özellikle birçok biyoaktif nöropeptidlere karşı *in vitro* spesifik aktivitesi ve olası koşullar altında aktivitesindeki değişimler, POP'un hücre bölünmesi ve farklılaşması, öğrenme ve hafıza, sinyal iletimi ve çeşitli psikiyatrik bozukluklar gibi olaylarda fonksiyonel olabileceği konusunda hipotezlerin geliştirilmesine sebep olmuştur (García-Horsman ve diğ. 2007). Ancak, tüm bu potansiyel rollerine rağmen POP'un organizmada gerçekten ne ölçüde biyolojik öneme sahip olduğuna dair kesin bir anlayış halen sağlanamamıştır (García-Horsman ve diğ. 2007).

2.5. PROLİL OLİGOPEPTİDAZ İNHİBİTÖRLERİ

POP inhibitörleri ilk olarak 1980'li yıllarda keşfedilmiştir ve günümüzde bu inhibitörler, doğal ve yapay (sentetik olarak üretilmiş) bileşikler olmak üzere iki ana grupta sınıflandırılmaktadır (Babkova ve diğ. 2017). POP inhibitörlerinin büyük çoğunluğu, enzimin substratına benzer yapıdaki bileşiklerden oluşmaktadır. POP'un, spesifik olarak prolin kalıntısının C-terminalinde yer alan peptid bağlarını parçalamaya yönelik güçlü tercihi POP inhibitörlerinin tasarımında belirleyici olmuştur (García-Horsman ve diğ. 2007).

Bugüne kadar birçok POP inhibitörü geliştirilmiş olup bunlar arasında KYP-2047, Z-Pro-Prolinal (ZPP), JTP-4819, ONO-1603, SUAM-1221 ve S 17092 gibi bileşikler öne çıkmaktadır (García-Horsman ve diğ. 2007). Bu inhibitörlerin sentezlenmeye başlanması ve farmakolojik

etkilerinin araştırılması, özellikle POP inhibisyonunun çeşitli hayvan modellerinde bilişsel gerileme ve demans gibi nörodejeneratif süreçler üzerinde olumlu etkiler gösterdiğine dair bilimsel kanıtların ortaya çıkmasıyla hız kazanmıştır (García-Horsman ve diğ. 2007; Männistö ve diğ. 2007). Bu gelişmeler, POP inhibitörlerinin bilim insanlarının ve endüstrinin dikkatini çeken ve ilginç bir ilaç hedefi olarak potansiyel farmakolojik ajanlar arasında yer edinmesine yol açmıştır (Männistö ve diğ. 2007).

POP inhibitörlerinin, skopolamin gibi amnezi yapan bileşiklerinin neden olduğu hafıza kaybını geri döndürebildiği bildirilmiştir (Yoshimoto ve diğ. 1987). POP'un merkezi sinir sistemi üzerindeki bu etkileri, sadece amnezi durumlarla sınırlı kalmadığı, aynı zamanda farklı POP inhibitörlerinin, yaşlanma veya çeşitli deneysel koşullarda kemirgenlerde hafıza ve öğrenme üzerinde etkileri olduğu belirlenmiştir (Morain ve diğ. 2002). Bununla birlikte, Schneider ve diğ. (2002) tarafından primatlarda yapılan çalışmada, benzer şekilde POP inhibisyonunun hafızayı güçlendiren etkilere neden olduğu gözlemlenmiştir. Zhou ve diğ. (2016) tarafından yapılan bir *in vitro* çalışmada, hepatositlerde lipid birikimi ile ilişkili olarak POP düzeyinin arttığı, POP inhibitörlerinin bu birikimini azalttığı gösterilmiştir. İnflamatuvar hastalıklarda da POP aktivitesinin farklılık gösterdiği saptanmıştır (Kamori ve diğ. 1991; Hashimoto ve diğ. 2001). Romatoid artritli hastaların sinoviyal sıvılarında POP aktivitesinin yüksek olduğu, buna karşın alerjik olmayan inflamatuvar bir hastalık olan osteoartrit hastalarında bu aktivitenin gözlemlenmediği rapor edilmiştir (Kamori ve diğ. 1991; Hashimoto ve diğ. 2001).

POP inhibitörlerinin, belirli hücre tiplerinde oksidatif stres faktörlerine karşı etkiler gösterdiği de literatürde yer almaktadır (Puttonen ve diğ. 2006). Puttonen ve diğ. (2006) bu inhibitörlerin apoptotik toksinler tarafından indüklenen gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz enziminin nükleer translokasyonunu inhibe edebildiğini göstermiştir (Puttonen ve diğ. 2006). İlginç bir şekilde, ZPP isimli POP inhibitörü, hem ROT oluşumunu ve gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenazın nukleusa translokasyonunu inhibe ederken, daha güçlü bir inhibitör olan JTP-4819 yalnızca ROT oluşumunu baskılayabilmiş, ancak translokasyon süreci üzerinde etkili olmamıştır (Puttonen ve diğ. 2006). Bununla birlikte, her iki inhibitör de 6-hidroksidopamine maruz kalan hücrelerde anti-apoptotik Bcl-2 protein seviyelerini artırmıştır (Puttonen ve diğ. 2006).

POP enziminin, kanser patogenezindeki rolü de son yıllarda artan bir ilgiyle araştırılmaktadır. Bu enzimin, hücre proliferasyonu, anjiyogenez ve hücre ölümü gibi süreçleri modüle ettiğinin

(Myöhänen ve diğ. 2011), özellikle glioblastoma, meme ve mide kanseri olmak üzere bazı kanser türlerinin ilerlemesine dahil olduğunun anlaşılmasıyla kanser tedavisi için umut verici bir yaklaşım olarak potansiyel POP inhibitörlerinin geliştirilmesinin gerekliliği vurgulanmıştır (Suzuki ve diğ. 2014; Tanaka ve diğ. 2017; Scuderi ve diğ. 2021).

Seçici bir POP inhibitörü olan KYP-2047'nin inflamasyon, apoptoz ve anjiyogenez süreçlerinin düzenlenmesinde etkili olduğu ortaya konulmuştur (Casili ve diğ. 2021). KYP-2047, orijinal olarak JTP-4819 türevlerinden biri olarak sentezlenmiştir ve farmakokinetik özellikleri açısından JTP-4819'a kıyasla çeşitli avantajlara sahip olduğu belirtilmiştir (Jalkanen ve diğ. 2011). Jalkanen ve diğ. (2011), KYP-2047'nin hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda kan beyin bariyerinden JTP-4819'dan daha kolay nüfuz ettiği belirlenmiştir. KYP-2047'nin fizikokimyasal özellikleri JTP-4819 ile karşılaştırıldığında KYP-2047'nin pasif taşıma yoluyla kan beyin bariyerini geçme açısından en uygun aralıkta yer aldığı belirlenmiştir (Jalkanen ve diğ. 2011). KYP-2047'nin beyin hücre dışı sıvısından beyin parankimine olan dağılımı da bunu destekleyici nitelikte olduğu ifade edilmiştir (Jalkanen ve diğ. 2011). Ayrıca, JTP-4819 ile karşılaştırıldığında KYP-2047'nin POP üzerinde daha yüksek inhibisyon gücüne sahip olduğu da belirlenmiştir (Jalkanen ve diğ. 2011). KYP-2047'nin potansiyel tedavi edici etkilerine ilişkin araştırmalar büyük ölçüde sinir sistemi ve inflamasyonla ilişkili patolojilere odaklanmış olsa da bu inhibitörün LPS ile indüklenen endotoksemi sonucunda gelişen sepsis durumunda böbrek üzerine olan etkilerine dair literatürde herhangi bir çalışmaya henüz rastlanmamıştır.

Bu bilgilerin ışığı altında, bu çalışma kapsamında, LPS ile oluşturulan endotoksemi sonucunda gelişen sepsiste görülen ABH'de, seçici bir POP inhibitörü olan KYP-2047'nin olası potansiyel etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. |

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI VE PROTOKOLÜ

Bu çalışmada, 32 adet erkek 2,5 aylık Sprague-Dawley ($400,59 \pm 32,85$ g) sıçan kullanıldı. Çalışmada kullanılan hayvanlar, Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi ve deneyler bu merkezde yapıldı. Hayvanlar, 12/12 saat aydınlık-karanlık periyodunda, %55 nem oranında ve 21-25 °C oda sıcaklığında barındırıldı, standart pelet yem ve musluk suyu ile *ad libitum* olarak beslenmeleri sağlandı. Çalışmanın etik kurul onayı, Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan, 21.08.2023 tarihinde (Karar No:2023-40) alındı.

Daha önce yapılan çalışmalarda farklı serotiplerde, dozlarda ve sürelerde LPS uygulamasıyla endotoksemi ve sepsis modelleri oluşturulmuştur. Bu modellerde, endotokseminin ciddi hipotansiyon ve böbrek hasarına yol açarak sepsise dönüştüğü gösterilmiştir. Ergin ve diğ. (2016) tarafından gerçekleştirilen, 5 mg/kg LPS'nin intravenöz (iv) olarak uygulandığı ve 6 saatlik deney süresi boyunca hayvanların fizyolojik parametrelerinin *in vivo* olarak değerlendirildiği çalışma referans alınarak deney protokolü oluşturuldu. Bu çalışmaya dayanarak izofluran (Piramal, ABD) anestezisi altındaki iki hayvana sırasıyla 4 mg/kg ve 5 mg/kg LPS (serotipi *Escherichia coli*, 0127: B8) jugular venden iv olarak uygulandı ve hayvanlar 6 saat boyunca gözlemlendi. Yapılan ön çalışmada 5 mg/kg LPS dozu uygulanan hayvanda beklenenden daha ağır seyreden bir şok tablosu oluştuğu ve gözlem süresince sağkalımı tehdit ettiği görülmüştür. Bu değerlendirme sonucunda, LPS uygulama dozunun 4 mg/kg ve deney süresinin 6 saat olarak belirlenmesine karar verilerek deney protokolü oluşturuldu. Çalışmada kullanılan hayvanlar Kontrol, LPS, LPS+KYP-2047 ve KYP-2047 olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Kontrol grubu (n=8): Fizyolojik tuzlu su (FTS, %0,9 NaCl, 0,5 ml) iv olarak uygulandıktan 3 saat sonra 0,5 ml %1'lik dimetil sülfoksit (DMSO) intraperitoneal (ip) olarak uygulandı.

LPS grubu (n=8): 4 mg/kg LPS (*E. coli*, serotip 0127: B8, Sigma) iv olarak uygulandıktan 3 saat sonra 0,5 ml %1'lik DMSO ip olarak uygulandı.

LPS+KYP-2047 grubu (n=8): 4 mg/kg LPS iv olarak uygulandıktan 3 saat sonra 5 mg/kg (Casili ve diğ. 2021) KYP-2047 (HY-100475, MedChem) %1'lik DMSO solüsyonunda çözündürülerek ip olarak uygulandı.

KYP-2047 grubu (n=8): FTS iv olarak uygulandıktan 3 saat sonra 5 mg/kg KYP-2047 %1'lik DMSO solüsyonunda çözündürülerek ip olarak uygulandı.

LPS uygulanmasından 6 saat sonra ketamin (50 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) uygulanarak hayvanlar anestezi altına alındı. Anestezi altındaki hayvanların abdominal aortasından pıhtı oluşumunu önleyen elektrolit dengeli kuru heparin içeren steril enjektörler (PICO50 REF 956-552, Radiometer, Danimarka) ile kan örnekleri (0,5 ml) alındı. Daha sonra analizler için kalpten alınan kan örnekleri hemogram analizi için mor kapaklı, biyokimyasal analizler için sarı kapaklı kan tüplerine konuldu. Ayrıca, biyokimyasal, moleküler ve histolojik çalışmalar için hayvanların böbrekleri alındı.

3.2. ARTERİYAL KAN PARAMETRELERİNİN ÖLÇÜMÜ

Hayvanların abdominal aortasından alınan arteriyal kan örneklerinde **kan gazı parametreleri** [$p\text{CO}_2$ (karbondioksit parsiyel basıncı) ve $p\text{O}_2$ (oksijen parsiyel basıncı)], **asit-baz parametreleri** [pH, $c\text{Base}$ (Ecf)_c (standart baz fazlalığı, baz açığının *in vivo* ifadesi), $c\text{HCO}_3^-$ (P,st)_c (standart bikarbonat), $c\text{H}^+$ _c (hidrojen iyonlarının konsantrasyonu)]; **oksimetre parametreleri** [FO_2Hb (total hemoglobin içerisindeki oksihemoglobin fraksiyonu), FMetHb (total hemoglobin içerisindeki methemoglobin fraksiyonu), $s\text{O}_2$ (oksijen satürasyonu)]; **elektrolit parametreleri** [$c\text{K}^+$ (potasyum iyonlarının konsantrasyonu), $c\text{Na}^+$ (sodyum iyonlarının konsantrasyonu), $c\text{Ca}^{+2}$ (kalsiyum iyonlarının konsantrasyonu), $c\text{Cl}^-$ (klor iyonlarının konsantrasyonu), Anyon Gap (K^+)_c ($c\text{K}^+$ ve $c\text{Na}^+$ ile $c\text{Cl}^+$ ve $c\text{HCO}_3^-$ arasındaki konsantrasyon farkı), Anyon Gap_c ($c\text{Na}^+$ ile $c\text{Cl}^+$ ve $c\text{HCO}_3^-$ arasındaki konsantrasyon farkı)]; **metabolit parametreleri** [$c\text{Glu}$ (D-glukoz konsantrasyonu), $c\text{Lac}$ (L-Laktat konsantrasyonu) ve $ct\text{Bil}$ (total bilirubin konsantrasyonu)] ile $m\text{Osm}_c$ (plazma osmolalitesi) değerleri kan gazı analizatörü (ABL90Flex, Radiometer, Danimarka) ile ölçüldü.

3.3. HEMOGRAM ANALİZİ

Hayvanların kalbinden alınan kan örneklerinde hemogram analizi hematoloji analizatörü ile (Abacus Junior Vet, Diatron, Avusturya) yapıldı. Total kan sayımı ile total lökosit sayısı

(WBC), lenfosit sayısı (LYM), monosit sayısı (MONO), granülosit sayısı (GRA), lenfosit yüzdesi (LY%), monosit yüzdesi (MONO%), granülosit yüzdesi (GR%), eritrosit sayısı (RBC), hematokrit (HCT), hemogloblin (HGB), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hemogloblin konsantrasyonu (MCHC), platelet sayısı (PLT), platelet yüzdesi (PCT) ve ortalama platelet hacmi (MPV) parametreleri ölçüldü.

3.4. BİYOKİMYASAL ÇALIŞMALAR

Hayvanlardan alınan kan örnekleri sarı kapaklı standart kan tüplerine konulduktan sonra +4 °C’de, 4000 rpm’de, 10 dakika boyunca santrifüj (NF 1200, Nüve, Türkiye) edildi. Elde edilen serum örnekleri dikkatlice endorf tüplere alınıp alikotlandı ve analiz yapılncaya kadar -80 °C’de saklandı.

Hayvanlardan alınan böbrek örnekleri, biyokimyasal analizler yapılana kadar -80 °C’de saklandı. Analiz sırasında böbrek doku örneklerine fosfat tamponu (pH 7,4) eklendikten sonra örnekler, homojenizatör (MM400, Retsch, Almanya) ile homojenize edildi. Homojenatlar, +4 °C’de, 10.000 rpm’de, 12 dakika santrifüj (MIKRO 220R, Hettich, Almanya) edildi ve süpernatantları toplandı.

Biyokimyasal analizler ile serumda kreatinin (BT LAB, EA0116Ra, Shanghai, China) ve albumin (BT LAB, E1276Ra, Shanghai, China), böbrek ve serum örneklerinde böbrek hasar molekülü-1 (KIM-1) (SunRed, DZE201110550, Shanghai, China), C-reaktif protein (CRP) (SunRed, DZE201110054, Shanghai, China), tümör nekroz faktör- α (TNF- α) (SunRed, DZE201110765, Shanghai, China), interlökin (IL)-6 (SunRed, DZE201110136, Shanghai, China), renin (SunRed, DZE201110549, Shanghai, China), Ang I (SunRed, DZE201110654, Shanghai, China), Ang II (SunRed, DZE201110656, Shanghai, China), Ang (1-7) (SunRed, DZE201115107, Shanghai, China), ACE (SunRed, DZE201110659, Shanghai, China), ACE2 (SunRed, DZE201110814, Shanghai, China), N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline (Ac-SDKP) (BTLAB, E0069Ra, Shanghai, China) ve bradikinin (SunRed, DZE201110300, Shanghai, China) seviyeleri belirlendi.

Biyokimyasal analizler, böbrek dokusundan elde edilen süpernatantlarda ve serumlarda çalışmaya uygun kitler kullanılarak, üretici firmanın verdiği talimatlara göre enzim bağlı immünosorbent analizi (ELISA) yöntemi ile yapıldı.

Çalışmaya başlanmadan önce kullanılacak kitler oda sıcaklığına getirildi. Kitlerin içinde bulunan standartlar, seri dilüsyon yöntemi ile yıkama tamponu ise distile su ile hazırlandı. Her bir kitin içerisinde bulunan mikropalak üzerindeki standart kuyucuklara 50 µl standart solüsyonları, diğer kuyucuklarına 40 µl olacak şekilde örnekler vorteks yapıldıktan sonra konuldu. Daha sonra kuyucukların üzerine kitin içerisinde bulunan spesifik antikordan (sıçan anti-Renin, sıçan anti-Ang I, sıçan anti-Ang II, sıçan Ang (1-7), sıçan anti-ACE, sıçan anti-ACE2, sıçan anti-Kreatinin, sıçan anti-Albumin, sıçan anti-Ac-SDKP, sıçan anti-IL-6, sıçan anti-TNF- α , sıçan anti-KIM-1, sıçan anti-CRP, sıçan anti-Bradikinin) 10 µl eklendi. Bundan sonra her bir kuyucuğa 50 µl streptavidin-HRP (horseradish peroxidase) eklenerek mikropalaklar 37 °C'de 60 dakika süreyle inkübatörde (İshak TS4 NXT, Hindistan) tutuldu. İnkübasyondan sonra mikropalaklar kite ait yıkama solüsyonu içeren bir cihaz (Erba Lisawash, Erba Mannheim, Çekya) yardımıyla yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra her bir kuyucuğa sırasıyla 50 µl substrat solüsyonu A ve ardından 50 µl substrat solüsyonu B eklendi. Mikropalakların üzeri kapatılarak 10 dakika 37 °C'de karanlıkta inkübasyona (İshak TS4 NXT, Neuatation, Hindistan) bırakıldı. İnkübasyon tamamlandığında her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu ve 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda (LisaScan, Erba Mannheim, Almanya) absorbans değerleri ölçüldü.

3.5. WESTERN BLOT ANALİZİ

Doku örneklerinin protein konsantrasyonu bikinkoninik asit (BCA) yöntemi ile BCA assay kit (ThermoFisher, ABD) kullanılarak belirlendi. Protein konsantrasyonu, mikropalağın 562 nm dalga boyunda okuyucuda (BioTek Epoch Microplate Spectrophotometer, ABD) okunmasıyla belirlendi. Sonuçların hesaplanması lineer grafik çizilerek yapıldı ve örnekler 50 µg olacak şekilde sulandırıldı.

Jeldeki örnek kuyuları için örnek ve Laemmli örnek tamponu (2x) ependorf içine konulduktan sonra 5-10 dakika 95 °C'de inkübe edildi ve 10 dakika buz üstünde bekletildi. Jeller, kitin protokolüne göre (Bio-Rad TGX™ FastCast™ Acrylamide Kit, ABD) hazırlandıktan sonra tanka yerleştirildi ve yürütme tamponu (1x) eklendi. Jele örnekler (15 µl) ve protein belirteci (3 µl) (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, Thermo Fischer, ABD) yüklendikten sonra Western blot (Bio-Rad, ABD) sisteminde 1 saat boyunca 120 mV akımda yürütüldü. Bu işleminden sonra jel sistemden çıkarılarak distile suda bekletildi. Transfer aşamasında poliviniliden diflorid (PVDF) membran, 30 saniye metanol içerisinde tutulup hazırlandı.

Transfer aşaması için kasete sırasıyla Whatman kâğıtları, filtre kâğıdı, PVDF membran, jel, filtre ve Whatman kâğıtları konularak 7 dakikalık transfer protokolü seçildi ve blotlama işlemi yapıldı. Daha sonra membran 37 °C’de 1 saat boyunca %5’lik sığır serum albumin (BSA) içeren TBS-T (Tris tamponlu salin-Tween 20) içerisinde çalkalayıcıda tutulduktan sonra TBS-T ile 3 kere 10 dakika yıkandı. Bu işlemin ardından ilgili primer antikorlar %5’lik BSA içeren TBS-T ile hazırlandıktan sonra membranın üzerine yerleştirildi ve +4 °C’de çalkalayıcıda 16 saat bekletildi. Bu işlemler, her bir antikor [Renin (ab180608, Abcam), Ang II (H002-12, Phoenix Pharmaceuticals, Inc.), ACE2 (GTX15348, GeneTex) ve Hepatit A virüs hücre reseptörü-1 (HAVCR1)/KIM-1 (E-AB-93375, Elabscience)] için tekrar edildi. Primer antikor ile membran inkübe edildikten sonra 4 kez 10 dakika TBS-T ile yıkandı. Daha sonra sekonder antikor (anti-rabbit IgG, HRP-linked Antibody 7074, Cell Signaling / anti-mouse IgG, HRP-linked Antibody 7076, Cell Signaling) %5’lik BSA içeren TBS-T ile 1:1000 oranında hazırlanarak membran yerleştirildi ve oda sıcaklığında 1 saat çalkalayıcıda tutuldu. Ardından membran 4 kere 10 dakika TBS-T ile yıkandı. Membranın görüntülenmesi amacıyla kitin içindeki (Western Blotting Luminol Reagent kit, Thermo Fisher, ABD) 3 ml reaktiflerden alınarak hazırlanan karışım ile membran yaklaşık 5 dakika karanlık ortamda tutuldu. Membrandaki bantların görüntüleme sisteminde (ChemiDoc Imaging System, Bio-Rad, ABD) görüntüsü alındı ve değerlendirildi.

3.6. IŞIK MİKROSKOBU ÇALIŞMALARI

Hayvanlardan alınan böbrek örnekleri, %10 nötral tamponlu formalin solüsyonunda fikse edildi. Fikse edilen dokular, 37 °C’de yükselen alkol serilerinden geçirilerek dehidre edildi. Daha sonra ksilolde saydamlaştırılan dokular parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler, hematoksilen-eozin (HE), periyodik asit-Schiff-hematoksilien (PAS-H) ve periyodik asit-Schiff (PAS) boyama yöntemi ile boyandı. Hazırlanan preparatlar, ışık mikroskopunda X20 objektif büyütmesinde her birey için 10 alan olacak şekilde incelendi. Böbrek hasarı, tübüler dejenerasyon ve şişme (0-3), tübüler atrofi (0-3), tübülerde inflamasyon (0-3), tübül lümeninde hyalin silendir (0-yok, 1-Az sayıda, 2-çok sayıda), glomerular skleroz (0-normal, 1-Segmental skleroz, 2-global skleroz), mesangiyal matriks artışı (0-3), kanama ve eozinofilik birikim (0-3), interstisyel inflamasyon (0-3) ve interstisyel ödem (0-3) gibi parametreler değerlendirilerek skorlandı. Skorlamalarda 0-normal (%0-5), 1-Hafif (%5-25), 2-Orta (%25-50) ve 3-Şiddetli (>%50) olarak tanımlandı (Guerci ve diğ. 2020).

Parafin bloklardan alınan ve PAS-H ile boyanan kesitlerde, böbrek korteksindeki lökosit dağılımları ışık mikroskopunda X40 objektif büyütmesinde yapıldı. Her bir hayvana ait kesitte peritübüler alan veya glomerulus içeren rastgele seçilmiş 20 farklı alan incelendi. Bu alanlarda, hematoksilin ile boyalı nükleuslar ve PAS ile sitoplazmalarında belirgin şekilde boyanan granüller içeren lökositler, varlık-yokluk esasına dayalı olarak değerlendirildi. Lökosit olan alanlara 1, olmayan alanlara 0 değeri verilerek skorlama yapıldı. Kesitlerin fotoğrafları, Image Pro-Plus programı aracılığıyla Kameram 390CU cihazı (Mikro Sistem, Türkiye) kullanılarak çekildi.

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Çalışmada doku ve kan örneklerinden elde edilen veriler, InStat İstatistiksel Paket Programı (GraphPad Prism 10.4.2, San Diego, CA, ABD) aracılığı ile analiz edildi. Veriler ortalama $\pm$ ortalama standart hata olarak gösterildi. Grupların dağılımının, normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile test edildi. Normal dağılım göstermeyen verilere Kruskal Wallis testi (parametrik olmayan test), normal dağılıma sahip verilere tek yönlü ANOVA uygulanarak Tukey testleri yapıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. |

4. BULGULAR

4.1. ARTERİYAL KAN PARAMETRELERİNE AİT BULGULAR

Deney gruplarına ait hayvanların deney sonunda abdominal aortadan alınan kan örneklerinde ölçülen pO_2 , pCO_2 , sO_2 , FO_2Hb , $FMetHb$, pH, cH^+_c , $cHCO_3^-$ (P,st)_c, cNa^+ , cK^+ , cCl^- , cCa^{+2} , $mOsm_c$, $cBase$ (Ecf)_c, Anyon Gap_c, Anyon Gap (K^+)_c, $cGlu$, $cLac$ ve $ctBil$ parametrelere ait değerler istatistiksel olarak değerlendirildi ve elde edilen sonuçların tamamı Tablo 4.1.1’de verildi.

Tablo 4.1.1: Deney gruplarına ait hayvanların arteriyal kan örneklerinde pO_2 , pCO_2 , sO_2 , FO_2Hb , $FMetHb$, pH, cH^+_c , $cHCO_3^-$ (P,st)_c, cNa^+ , cK^+ , cCl^- , cCa^{+2} , $mOsm_c$, $cBase$ (Ecf)_c, Anyon Gap_c, Anyon Gap (K^+)_c, $cGlu$, $cLac$ ve $ctBil$ değerleri. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ⁺ $p<0,05$, ⁺⁺ $p<0,01$, ⁺⁺⁺ $p<0,001$, ⁺⁺⁺⁺ $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. [#] $p<0,05$, ^{##} $p<0,01$, ^{###} $p<0,001$, ^{####} $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.

	KONTROL	LPS	LPS+KYP-2047	KYP-2047
pO_2 (mmHg)	92,17±3,935	86,34±7,276	84,83±7,914	75,53±3,467
pCO_2 (mmHg)	50,29±1,145	48,70±1,893	43,54±2,745	52,06±1,220 [#]
sO_2 (%)	90,50±0,809	85,27±2,987	86,48±2,387	84,27±1,659
FO_2Hb (%)	90,09±0,812	83,49±2,940	85,09±2,399	83,71±1,698
$FMetHb$ (%)	0,54±0,036	2,03±0,174 ^{****}	1,59±0,110 ^{*****}	0,61±0,050 ^{++++####}
pH	7,35±0,009	7,29±0,009 ^{****}	7,34±0,009 ⁺⁺⁺	7,35±0,005 ⁺⁺⁺⁺
cH^+_c (mmol/L)	43,67±1,047	51,17±0,960 ^{****}	45,83±0,823 ⁺⁺	44,44±0,490 ⁺⁺⁺⁺
$cHCO_3^-$ (P,st) _c (mmol/L)	25,87±0,545	21,19±0,603 ^{***}	20,84±1,043 ^{***}	25,80±0,399 ^{++++###}
cNa^+ (mmol/L)	141,1±0,633	138,4±0,480	137,7±1,063	141,9±0,553 ^{+#}
cK^+ (mmol/L)	3,90±0,163	4,06±0,136	4,16±0,271	3,80±0,167
cCl^- (mmol/L)	102,6±0,719	103,6±0,571	102,9±1,010	102,0±0,577
cCa^{+2} (mmol/L)	1,39±0,011	1,19±0,007 ^{****}	1,19±0,020 ^{****}	1,38±0,013 ^{++++####}

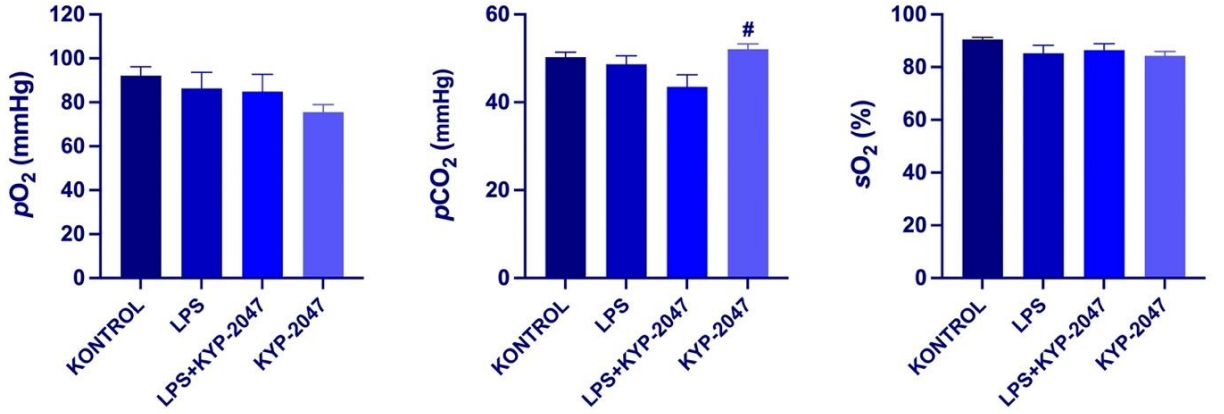
Tablo 4.1.1 (devam): Deney gruplarına ait hayvanların arteriyal kan örneklerinde pO_2 , pCO_2 , sO_2 , FO_2Hb , $FMetHb$, pH, cH^+_c , $cHCO_3^-$ (P,st) $_c$, cNa^+ , cK^+ , cCl^- , cCa^{+2} , $mOsm_c$, $cBase$ (Ecf) $_c$, Anyon Gap $_c$, Anyon Gap (K^+) $_c$, $cGlu$, $cLac$ ve $ctBil$ değerleri. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$, ++ $p<0,01$, +++ $p<0,001$, ++++ $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. # $p<0,05$, ## $p<0,01$, ### $p<0,001$, #### $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.

$mOsm_c$ (mmol/kg)	303,1±1,252	287±0,856	284,2±2,761 ****	304,8±1,129++++####
$cBase$ (Ecf) $_c$ (mmol/L)	2,96±0,704	-3,34±0,874*	-4,10±1,470*	3,29±0,618++##
Anyon Gap $_c$ (mmol/L)	10,41±0,391	11,71±0,490	12,76±0,854*	10,99±0,414
Anyon Gap (K^+) $_c$ (mmol/L)	14,33±0,261	15,74±0,550	16,93±1,093	14,79±0,302
$cGlu$ (mg/dL)	369,4±14,62	179,9±13,48*	152,7±28,36**	378,3±25,33+##
$cLac$ (mmol/L)	0,26±0,029	1,29±0,251**	1,37±0,241**	0,30±0,030+^
$ctBil$ (mg/dL)	2,37±0,099	2,33±0,196	2,44±0,449	2,10±0,107

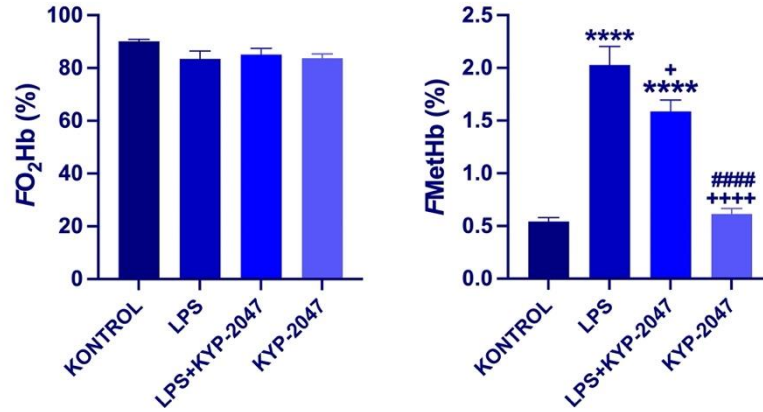
LPS grubuna ait hayvanların arteriyal kanlarında ölçülen parametreler incelendiğinde pO_2 , pCO_2 ve sO_2 değerlerinin kontrol grubuna göre bir değişiklik göstermediği belirlendi (Şekil 4.1.1). Hemoglobin fraksiyonlarına bakıldığında, FO_2Hb değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik göstermediği tespit edildi. Buna karşın, hemoglobin molekülündeki dört demir iyonundan bir ya da daha fazlasının oksitlenmiş ferrik formuna dönüştüğü ve bu nedenle hem grubunun oksijen bağlama yeteneğinin azaldığı bir fraksiyonu olan $FMetHb$ değerlerinin LPS uygulaması ile kontrol grubuna göre ciddi bir şekilde arttığı ($p<0,0001$) belirlendi (Şekil 4.1.2).

LPS+KYP-2047 grubuna ait hayvanların arteriyal kanlarında pO_2 , pCO_2 ve sO_2 değerlerinin kontrol grubuna benzediği belirlendi (Şekil 4.1.1). Bu grubun kan örneklerinde hemoglobin fraksiyonlarına bakıldığında FO_2Hb değerlerinin gruplara göre anlamlı bir değişiklik göstermediği tespit edildi. Bununla birlikte $FMetHb$ değerlerinin LPS grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,05$), ancak kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlendi ($p<0,0001$) (Şekil 4.1.2).

KYP-2047 grubuna ait hayvanların arteriyel kanlarında pO_2 , pCO_2 , sO_2 , FO_2Hb ve $FMetHb$ değerlerinin kontrol grubuna benzer olduğu belirlendi. LPS uygulanan gruplar ile karşılaştırıldığında, pCO_2 değerlerinin LPS+KYP-2047 grubuna göre yüksek olduğu ($p<0,05$), $FMetHb$ değerlerinin ise LPS ve LPS+KYP-2047 grubuna göre azaldığı ($p<0,0001$) tespit edildi (Şekil 4.1.1-4.1.2).



Şekil 4.1.1: Deney gruplarına ait oksijen parsiyel basıncı (pO_2), karbondioksit parsiyel basıncı (pCO_2) ve oksijen saturasyon (sO_2) değerleri. [#] $p<0,05$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.

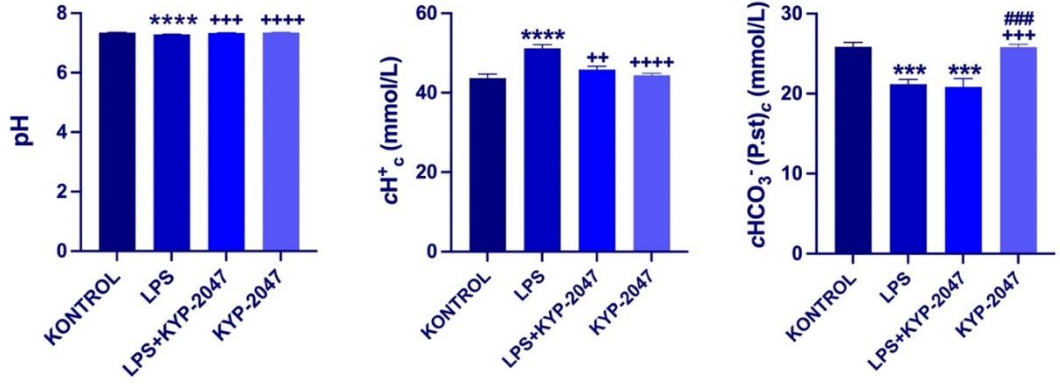


Şekil 4.1.2: Deney gruplarına ait oksihemoglobin fraksiyon (FO_2Hb) ve methemoglobin fraksiyon ($FMetHb$) değerleri. ^{****} $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ⁺ $p<0,05$, ^{****} $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. ^{####} $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.

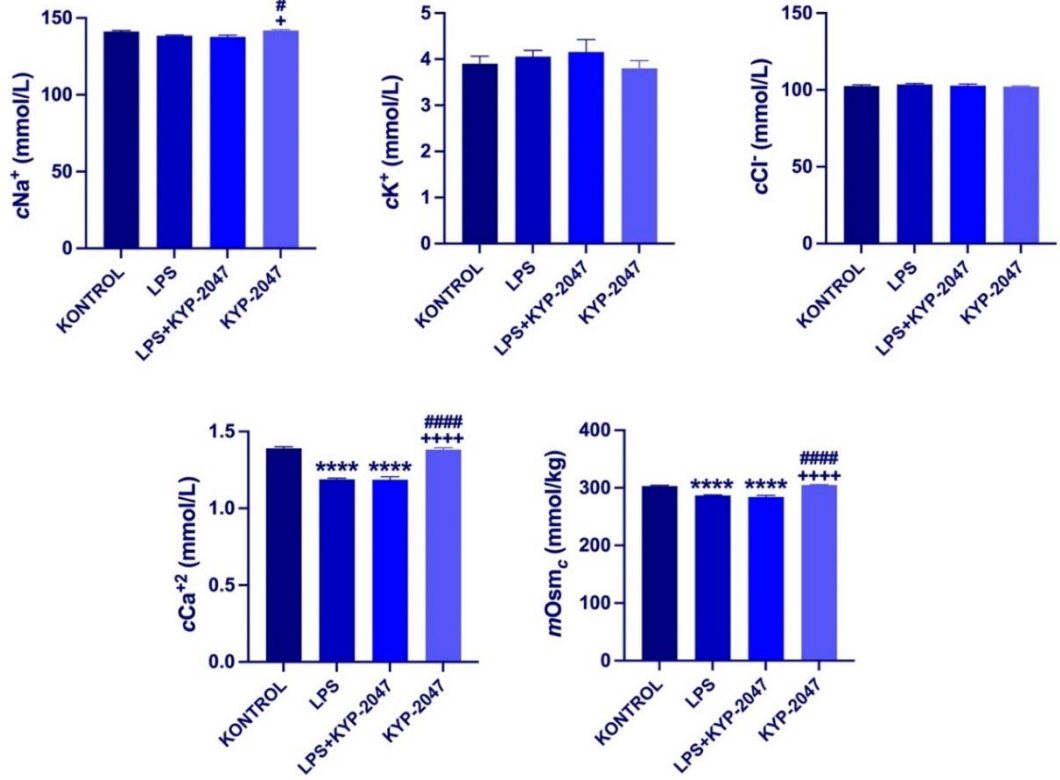
LPS grubuna ait pH değerlerinin $7,29 \pm 0,009$ olduğu ve kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,0001$) tespit edildi (Tablo 4.1.1, Şekil 4.1.3). Buna paralel olarak kandaki cH^+ değerinin arttığı ($p < 0,0001$), $cHCO_3^-$ (P,st)_c değerlerinin ise azaldığı ($p < 0,001$) belirlendi (Şekil 4.1.3). Yine bu grupta elektrolit değerleri incelendiğinde, cNa^+ , cK^+ ve cCl^- değerlerinin kontrol grubuna benzerken cCa^{+2} değerlerinin ciddi bir şekilde azaldığı ($p < 0,0001$) tespit edildi. Bu parametrelere ek olarak $mOsm_c$ değerlendirildiğinde, kontrol grubunda $303,1 \pm 1,252$ olan değer LPS grubunda $287 \pm 0,856$ değerine düştüğü ve bu değişimin kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0,0001$) olduğu saptandı (Tablo 4.1.1 (devam), Şekil 4.1.4). Kontrol grubuna göre, $cBase$ (Ecf)_c değerlerinin azaldığı ($p < 0,05$), Anyon Gap_c ve Anyon Gap (K^+)_c değerlerinin değişmediği belirlendi (Şekil 4.1.5).

LPS+KYP-2047 grubuna ait hayvanların arteriyal kan örneklerinde pH değerinin $7,34 \pm 0,009$ olduğu, LPS grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı ($p < 0,001$) ve kontrol grubuna benzer olduğu tespit edildi (Tablo 4.1.1, Şekil 4.1.3). Bununla birlikte, cH^+ değerlerinin LPS grubuna göre azaldığı ($p < 0,01$) ve kontrol grubuna benzediği saptanırken, $cHCO_3^-$ (P,st)_c değerlerinin LPS grubuna benzer olduğu ve kontrol grubuna göre halen düşük olduğu ($p < 0,001$) tespit edildi (Şekil 4.1.3). Bu grupta kandaki elektrolit değerleri incelendiğinde, KYP-2047 uygulamasının cNa^+ , cK^+ ve cCl^- değerlerini değiştirmedeği ve kontrol grubuna benzediği, cCa^{+2} değerlerinin LPS grubuna benzediği ve kontrol grubuna göre ise halen düşük olduğu ($p < 0,0001$) tespit edildi. Bu grupta $284,2 \pm 2,761$ olarak belirlenen $mOsm_c$ değerleri incelendiğinde, LPS uygulamasının neden olduğu düşüşün önlenemediği ve kontrol grubuna göre halen düşük olduğu ($p < 0,0001$) tespit edildi (Tablo 4.1.1 (devam), Şekil 4.1.4). $cBase$ (Ecf)_c değerlerinin LPS grubuna benzediği ve kontrol grubuna göre düşük olduğu ($p < 0,05$) belirlendi. Bu grubun Anyon Gap_c değerlerinin LPS grubuna benzediği ve kontrol grubuna göre arttığı ($p < 0,05$), Anyon Gap (K^+)_c değerlerinin ise değişmediği belirlendi (Şekil 4.1.5).

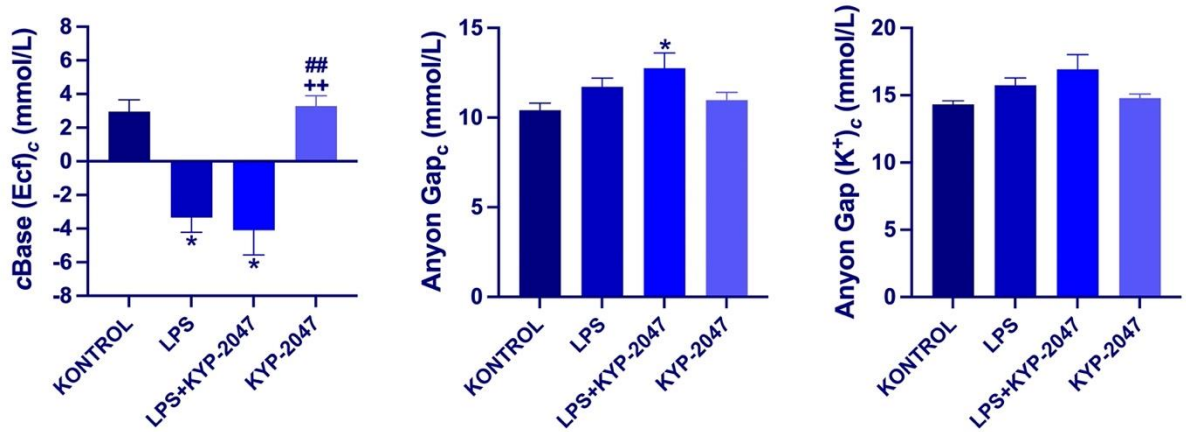
KYP-2047 grubuna ait pH değerinin, cH^+ ve $cHCO_3^-$ (P,st)_c, cNa^+ , cK^+ , cCl^- ve cCa^{+2} , $cBase$ (Ecf)_c, Anyon Gap_c ve Anyon Gap (K^+)_c değerlerinin kontrole benzer olduğu belirlendi (Şekil 4.1.3-4.1.5). pH ($p < 0,0001$), $cHCO_3^-$ (P,st)_c ($p < 0,001$), cNa^+ ($p < 0,05$), cCa^{+2} ($p < 0,0001$), $mOsm_c$ ($p < 0,0001$) ve $cBase$ (Ecf)_c ($p < 0,0001$) değerlerinin LPS grubuna göre arttığı, cH^+ değerinin ise azaldığı ($p < 0,0001$) tespit edildi. Yine bu grupta $cHCO_3^-$ (P,st)_c ($p < 0,001$), cNa^+ ($p < 0,05$), cCa^{+2} ($p < 0,0001$), $mOsm_c$ ($p < 0,0001$) ve $cBase$ (Ecf)_c ($p < 0,01$) değerlerinin LPS+KYP-2047 grubuna göre arttığı tespit edildi (Tablo 4.1.1, Tablo 4.1.1 (devam), Şekil 4.1.3-4.1.5).



Şekil 4.1.3: Deney gruplarına ait arteriyel kan örneklerinde pH, hidrojen iyon konsantrasyonu (cH^+_c) ve bikarbonat iyon konsantrasyonu ($cHCO_3^-(P,st)_c$) değerleri. *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. ### $p<0,001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.



Şekil 4.1.4: Deney gruplarına ait arteriyel kan örneklerinde sodyum iyon konsantrasyonu (cNa^+), potasyum iyon konsantrasyonu (cK^+), klor iyon konsantrasyonu (cCl^-), kalsiyum iyon konsantrasyonu (cCa^{+2}) ve plazma osmolalite ($mOsm_c$) değerleri. **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$, **** $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. # $p<0,05$, #### $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.

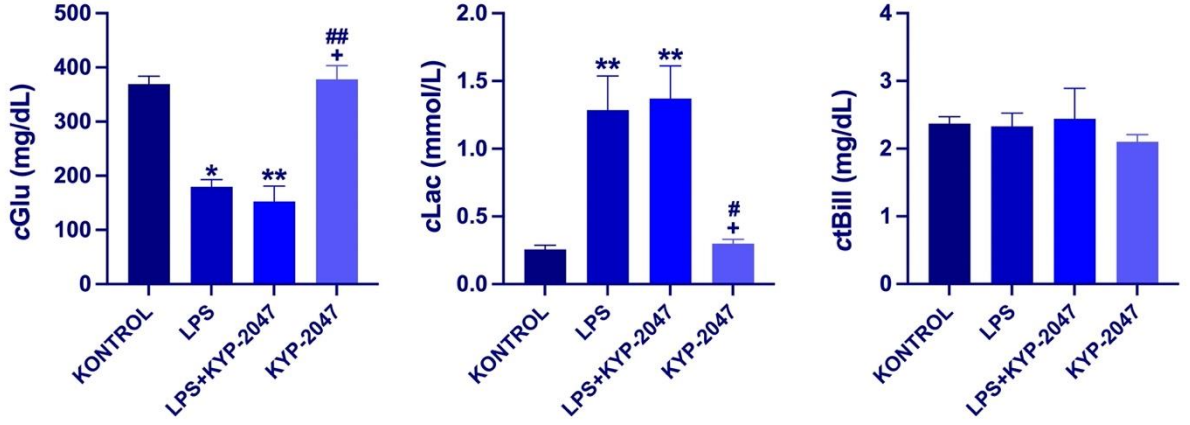


Şekil 4.1.5: Deney gruplarına ait arteriyel kan örneklerinde standart baz fazlalığı ($c\text{Base (Ecf)}_c$), Anyon Gap_c ve Anyon Gap (K^+)_c değerleri. * $p<0,05$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++ $p<0,01$: LPS grubuna göre anlamlılık. ## $p<0,01$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.

LPS'nin laktik asidin ayrışması sonucu oluşan ve glikozun hücre içi metabolizması sırasında ortaya çıkan bir metabolit olan $c\text{Lac}$ değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artırdığı ($p<0,01$) tespit edildi. Bu grupta, $c\text{Glu}$ değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı ($p<0,05$), $ct\text{Bil}$ değerlerinde ise bir değişikliğin olmadığı belirlendi (Tablo 4.1.1 (devam), Şekil 4.1.6).

LPS+KYP-2047 grubunda, $c\text{Glu}$ ve $c\text{Lac}$ değerlerinin LPS grubuna benzediği ve değişmediği belirlendi. Kontrol grubuna göre $c\text{Lac}$ değerlerinin yüksek ($p<0,01$), $c\text{Glu}$ değerlerinin düşük olduğu ($p<0,01$) saptandı. Kandaki $ct\text{Bil}$ değerlerinin ise kontrol grubuna benzediği tespit edildi (Tablo 4.1.1 (devam), Şekil 4.1.6).

KYP-2047 grubuna ait $c\text{Lac}$, $c\text{Glu}$ ve $ct\text{Bil}$ değerlerinin kontrol grubuna benzer olduğu belirlendi. LPS ve LPS+KYP-2047 grubuna göre $c\text{Glu}$ değerlerinin yüksek olduğu (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,01$) $c\text{Lac}$ değerlerinin düşük ($p<0,05$) olduğu saptandı (Tablo 4.1.1 (devam), Şekil 4.1.6).



Şekil 4.1.6: Deney gruplarına ait arteriyal kan örneklerinde D-glukoz konsantrasyonu (cGlu), L-Laktat konsantrasyonu (cLac) ve total bilirubin konsantrasyonu (ctBil) değerleri. *p<0,05, **p<0,01: Kontrol grubuna göre anlamlılık. +p<0,05: LPS grubuna göre anlamlılık. #p<0,05, ##p<0,01: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.

4.2. HEMOGRAM ANALİZİNE AİT BULGULAR

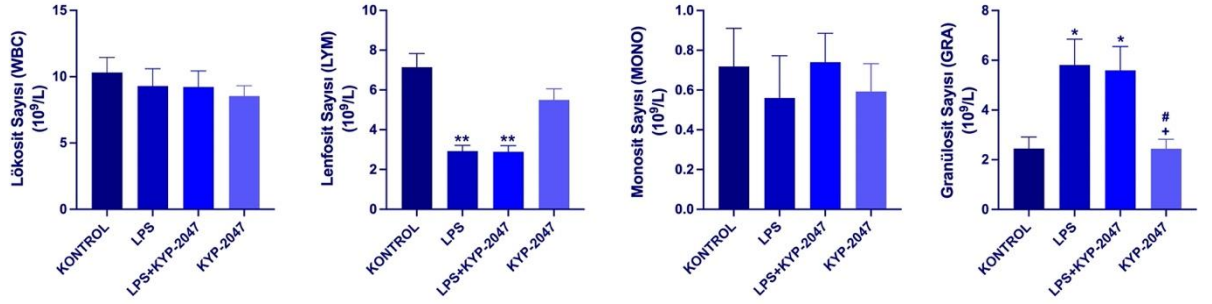
Deney gruplarına ait hayvanlardan deney sonunda alınan kan örneklerinde yapılan hemogram analizi sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, bazı parametrelerde gruplar arasında anlamlı farklılıkların olduğu belirlendi (Şekil 4.2.1-4.2.5)

Kontrol grubuna ait hayvanların kan örneklerinde lökositlere ait değerlerin normal sınırlar içerisinde olduğu görüldü. LPS grubunun kan örneklerinde lökosit sayısının kontrol grubuna yakın olduğu, ancak kontrol grubuna göre lenfosit sayısının anlamlı şekilde azaldığı ($p<0,01$) granülosit sayısının ise anlamlı şekilde arttığı ($p<0,05$) tespit edildi (Şekil 4.2.1). Bu grubun kan örneklerinde monosit sayılarına bakıldığında kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü (Şekil 4.2.1). Aynı şekilde kontrol grubuna göre LPS grubunda lenfosit yüzdesinin anlamlı şekilde azaldığı ($p<0,0001$), granülosit yüzdesinin anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,01$) ve monosit yüzdesinin değişmediği tespit edildi (Şekil 4.2.2).

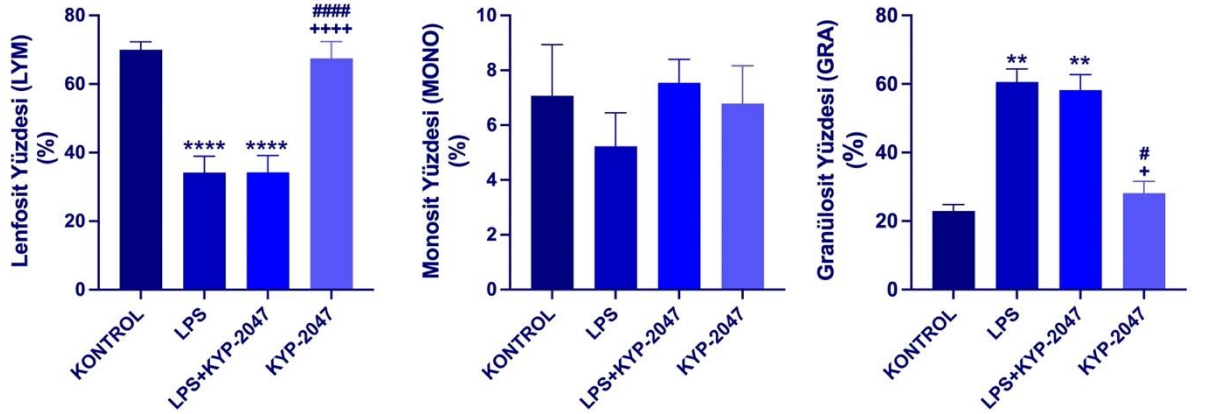
LPS+KYP-2047 grubuna ait kan örneklerindeki lökosit sayısının kontrol grubuna benzer olduğu gözlemlendi (Şekil 4.2.1). LPS uygulamasıyla azalan lenfosit sayısı ve artan granülosit sayısının bu grupta değişmeden kaldığı belirlendi (Şekil 4.2.1). LPS+KYP-2047 grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lenfosit sayısının düşük ($p<0,01$), granülosit sayısının yüksek ($p<0,05$), monosit sayısının ise benzer olduğu saptandı (Şekil 4.2.1). Bu grupta lökosit yüzdeleri değerlendirildiğinde, bu parametrelerin LPS grubuna göre değişmediği ve kontrol

grubuna göre lenfosit yüzdesinin azaldığı ($p<0,0001$) granülosit yüzdesinin arttığı ($p<0,01$), monosit yüzdesinin ise değişmediği tespit edildi (Şekil 4.2.2).

KYP-2047 grubuna ait kan örneklerindeki lökosit, lenfosit, monosit ve granülosit sayıları ile lenfosit, monosit ve granülosit yüzdelерinin kontrol grubuna benzer olduğu belirlendi (Şekil 4.2.1-4.2.2). LPS ve LPS+KYP-2047 grubuna göre granülosit sayısı ve yüzdesinin düşük olduğu ($p<0,05$), lenfosit yüzdesinin ise yüksek ($p<0,0001$) olduğu belirlendi (Şekil 4.2.1-4.2.2).



Şekil 4.2.1: Deney gruplarına ait kan örneklerinde lökosit (WBC), lenfosit (LYM), monosit (MONO) ve granülosit (GRA) sayıları. * $p<0,05$, ** $p<0,01$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$: LPS grubuna göre anlamlılık. # $p<0,05$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.



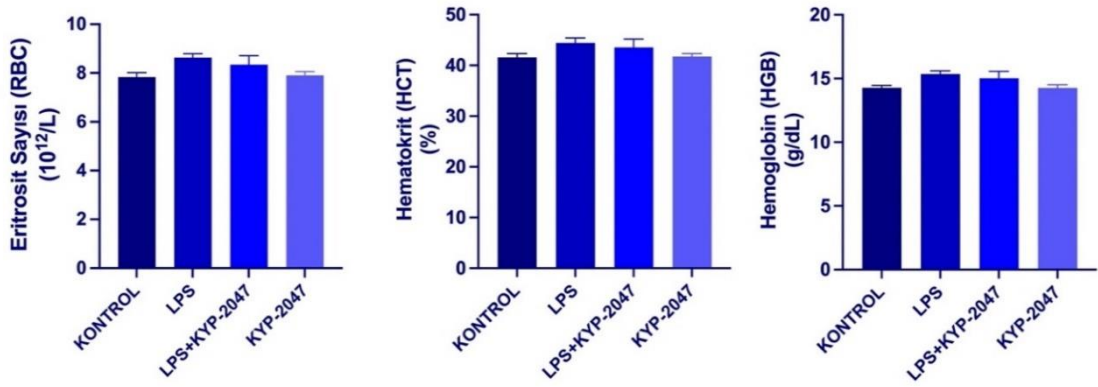
Şekil 4.2.2: Deney gruplarına ait kan örneklerinde lenfosit (LYM%), monosit (MONO%) ve granülosit (GRA%) yüzdesi değerleri. ** $p<0,01$, **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$, **** $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. # $p<0,5$, #### $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.

Deney gruplarına ait hayvanlardan alınan kan örneklerinde eritrosit sayısı, hemoglobin, hematokrit, ortalama eritrosit hacmi, ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu değerleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edildi (Şekil 4.2.3-4.2.4).

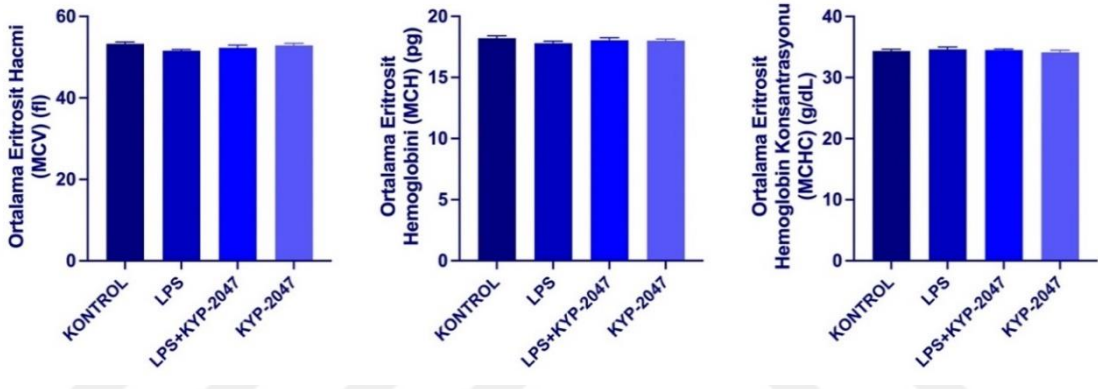
Deney gruplarına ait kan örneklerinde platelet sayısı, platelet yüzdesi ve ortalama platelet hacmi incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılıkların olduğu belirlendi (Şekil 4.2.5). LPS uygulanan grupta platelet sayısının kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,0001$), buna paralel olarak platelet yüzdesinin de anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,01$) tespit edildi. Ortalama platelet hacminin ise bu grupta kontrol grubuna göre değişmediği belirlendi (Şekil 4.2.5).

LPS+KYP-2047 grubuna ait kan örneklerinde, LPS uygulamasıyla azalan platelet sayısı ve platelet yüzdesinin bu grupta değişmeden kaldığı belirlendi (Şekil 4.2.5). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında platelet sayısının ($p<0,0001$) ve platelet yüzdesinin ($p<0,05$) anlamlı bir şekilde düşük olduğu belirlendi. Bu grupta da ortalama platelet hacminin kontrol grubuna göre değişmediği saptandı (Şekil 4.2.5).

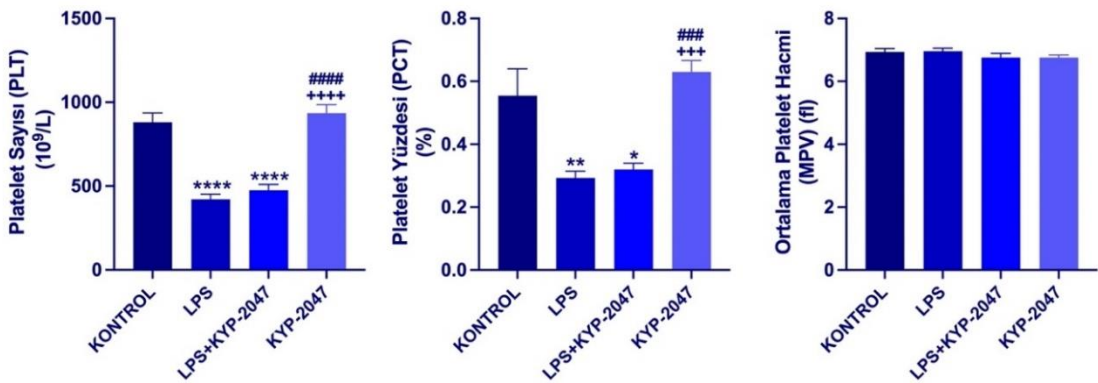
KYP-2047 gruplarına ait kan örneklerinde platelet sayısı, platelet yüzdesi, ortalama platelet hacmi değerlerinin kontrol grubuna benzer olduğu belirlendi. LPS ve LPS+KYP-2047 gruplarına göre platelet sayısının ($p<0,0001$) ve platelet yüzdesinin ($p<0,001$) yüksek olduğu belirlendi (Şekil 4.2.5).



Şekil 4.2.3: Deney gruplarına ait kan örneklerinde eritrosit sayısı (RBC), hematokrit (HCT) ve hemoglobin (HGB) değerleri.



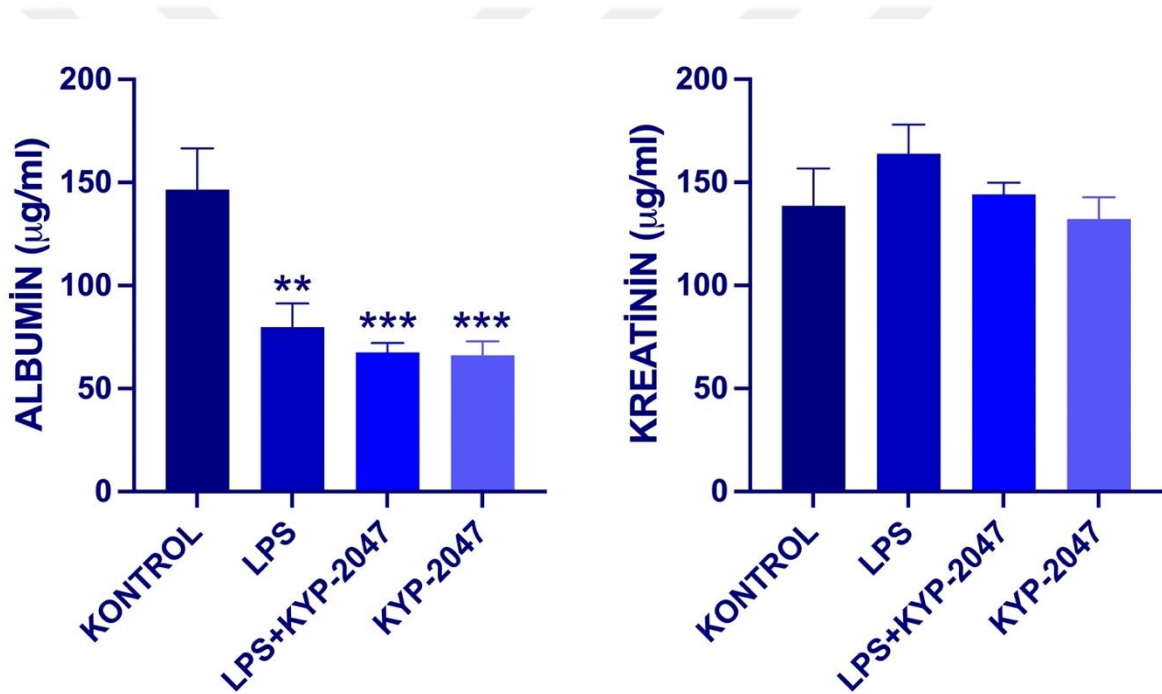
Şekil 4.2.4: Deney gruplarına ait kan örneklerinde ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobin (MCH) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) değerleri.



Şekil 4.2.5: Deney gruplarına ait kan örneklerinde platelet sayısı (PLT), platelet yüzdesi (PCT) ve ortalama platelet hacmi (MPV) değerleri. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. +++ $p<0,001$, ++++ $p<0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. #### $p<0,001$, ##### $p<0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.

4.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Deney hayvanlarına ait serum örneklerinde albumin ve kreatinin düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında farklılıkların olduğu belirlendi (Şekil 4.3.1). LPS uygulanan gruba ait albumin düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,01$), kreatinin düzeyinin ise arttığı ancak bu artışın anlamlılık göstermediği belirlendi. LPS+KYP-2047 grubuna ait albumin düzeyinin kontrol grubuna göre azaldığı ($p<0,001$) ve LPS grubuna benzer olduğu belirlendi. LPS+KYP-2047 grubunda kreatinin düzeyleri incelendiğinde kontrol grubuna benzer olduğu tespit edildi. KYP-2047 grubunda serum örneklerindeki albumin düzeylerinin kontrole göre azaldığı ($p<0,001$), kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna benzediği belirlendi (Şekil 4.3.1).



Şekil 4.3.1: Deney gruplarına ait serum örneklerinde albumin ve kreatinin değerleri. ** $p<0,01$, *** $p<0,001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık.

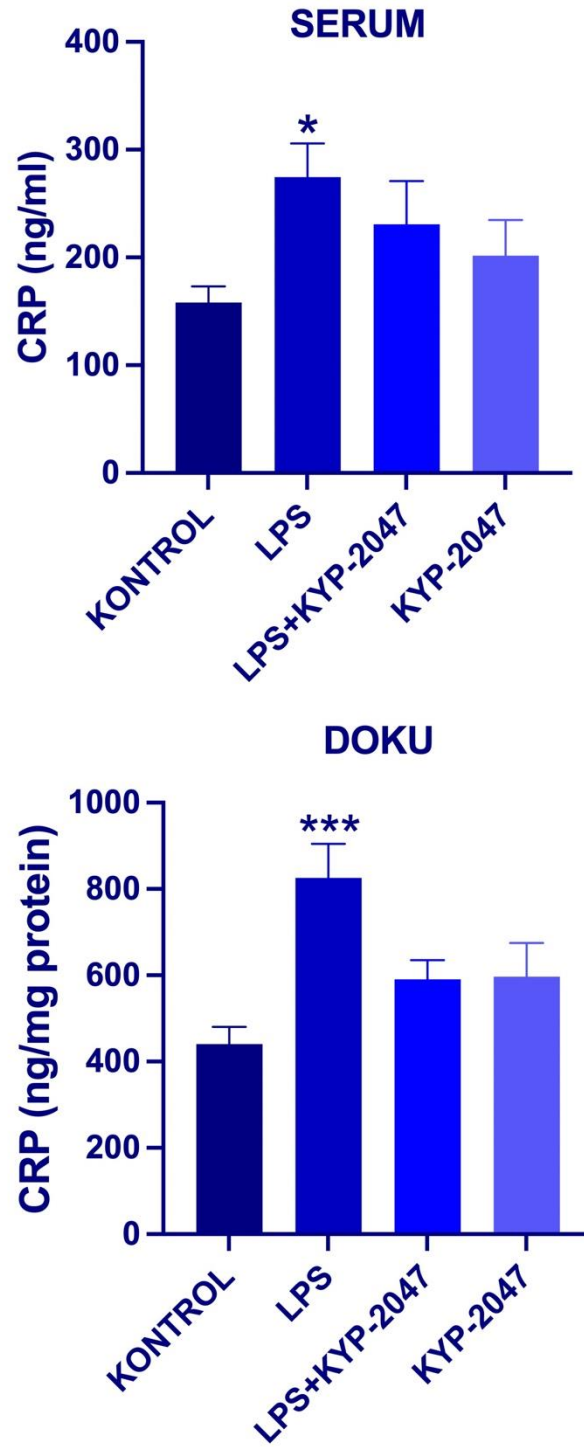
Deney hayvanlarına ait serum ve böbrek doku örneklerinde CRP düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılıkların olduğu belirlendi. LPS uygulanan grupta serum ve doku örneklerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artışın olduğu (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,001$) tespit edildi (Şekil 4.3.2). LPS+KYP-2047 grubunda CRP düzeylerinde LPS grubuna göre bir azalmanın olduğu ve kontrol grubuna benzer olduğu görüldü (Şekil 4.3.2). KYP-2047 grubunda serum ve böbrek doku örneklerindeki CRP düzeylerinin kontrol grubuna benzer olduğu belirlendi (Şekil 4.3.2).

Deney hayvanlarına ait serum örneklerinde TNF- α düzeyleri incelendiğinde LPS uygulanan grupta kontrol grubuna göre artışın olduğu ve LPS+KYP-2047 grubunda TNF- α düzeylerinde LPS grubuna göre bir azalmanın olmasına karşın kontrol grubuna göre halen yüksek olduğu gözlemlendi. Ancak bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 4.3.3).

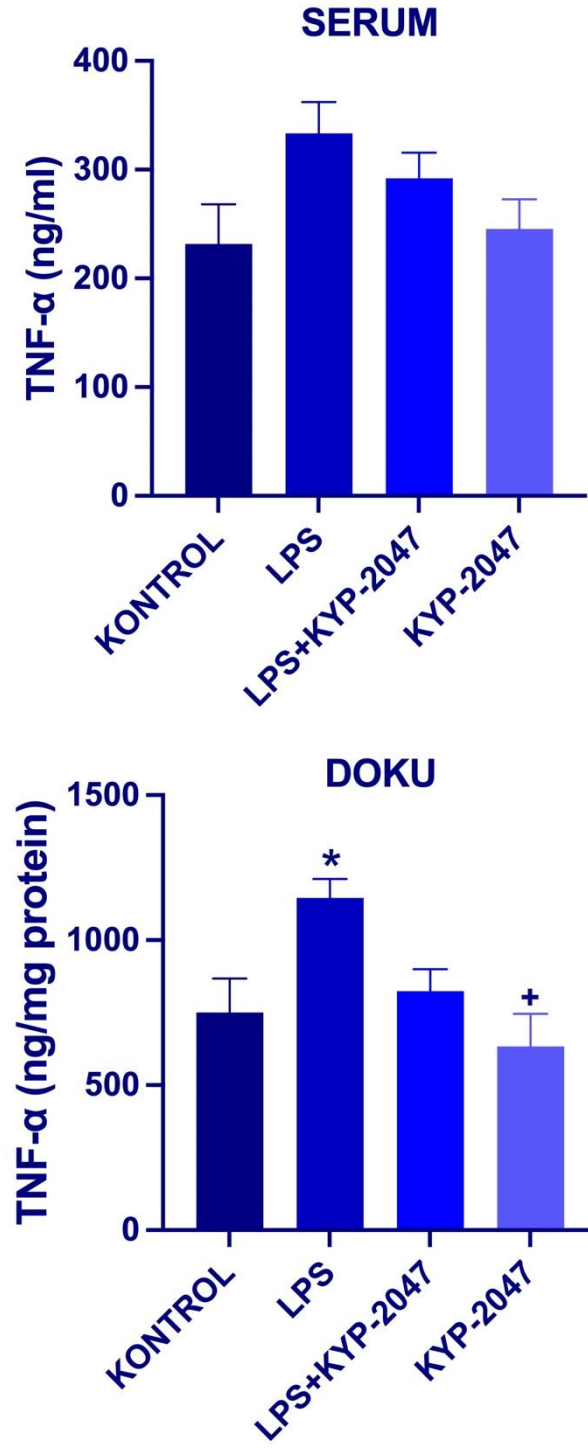
Deney hayvanlarına ait böbrek doku örneklerinde TNF- α düzeyleri incelendiğinde, LPS grubunda TNF- α düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı ($p<0,05$) belirlendi (Şekil 4.3.3). LPS+KYP-2047 grubunda TNF- α düzeylerinin LPS grubuna göre azaldığı ve kontrol grubuna benzer olduğu tespit edildi (Şekil 4.3.3). KYP-2047 grubunda serum örneklerindeki TNF- α düzeylerinin kontrol grubuna benzer olduğu, LPS grubuna göre düşük olduğu ($p<0,05$) belirlendi (Şekil 4.3.3).

Deney hayvanlarına ait serum örneklerinde IL-6 düzeyleri incelendiğinde, LPS grubunda IL-6 düzeyinin kontrol grubuna göre arttığı, LPS+KYP-2047 grubunda IL-6 düzeylerinin LPS grubuna benzer olduğu gözlemlendi. Ancak bu değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı (Şekil 4.3.4). KYP-2047 grubunda serum örneklerindeki IL-6 düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu ancak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi (Şekil 4.3.4).

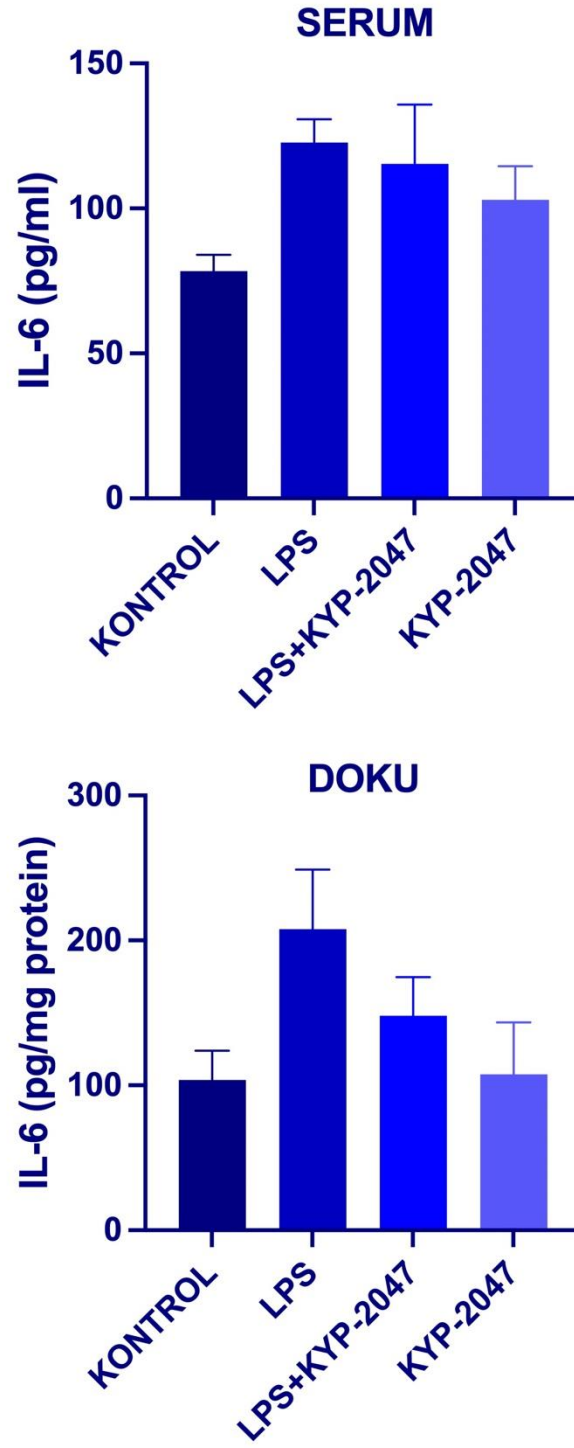
Deney hayvanlarına ait böbrek doku örneklerinde IL-6 düzeyleri incelendiğinde, LPS uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre artışın olduğu izlenirken bu artışın istatistiksel olarak anlamlılık göstermediği saptandı (Şekil 4.3.4). KYP-2047 grubunda doku örneklerindeki IL-6 düzeylerinin kontrol grubuna benzer olduğu belirlendi (Şekil 4.3.4).



Şekil 4.3.2: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde CRP değerleri. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık.

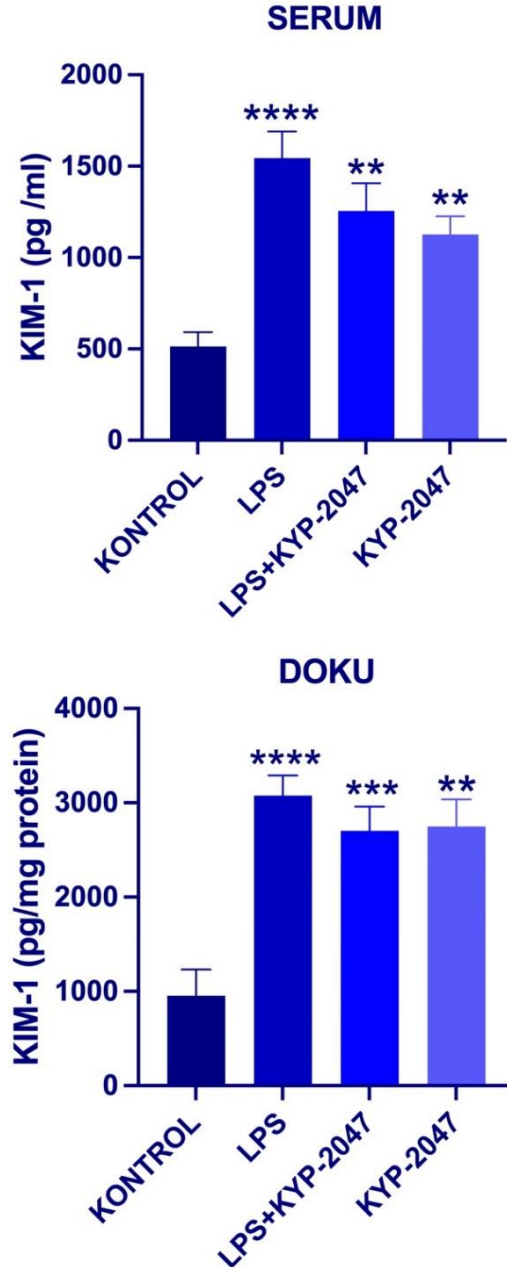


Şekil 4.3.3: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde TNF- α değerleri. * $p<0,05$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p<0,05$: LPS grubuna göre anlamlılık.



Şekil 4.3.4: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde IL-6 değerleri.

Deney hayvanlarına ait serum örneklerinde KIM-1 düzeyleri incelendiğinde, LPS ($p<0,0001$), LPS+KYP-2047 ($p<0,01$) ve KYP-2047 ($p<0,01$) gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir artışın olduğu tespit edildi. Deney hayvanlarına ait böbrek doku örneklerinde KIM-1 düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubuna göre LPS ($p<0,0001$), LPS+KYP-2047 ($p<0,001$) ve KYP-2047 ($p<0,01$) gruplarında bir artışın olduğu gözlemlendi (Şekil 4.3.5).



Şekil 4.3.5: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde KIM-1 değerleri. ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık.

Deney hayvanlarına ait serum ve böbrek doku örneklerinde renin düzeyleri incelendiğinde, LPS grubunda kontrol grubuna göre arttığı, LPS+KYP-2047 grubunda renin düzeylerinin azaldığı görülmekle birlikte bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlılık göstermediği tespit edildi (Şekil 4.3.6). KYP-2047 grubunda serum örneklerindeki renin düzeylerinin kontrole göre benzer olduğu belirlendi (Şekil 4.3.6).

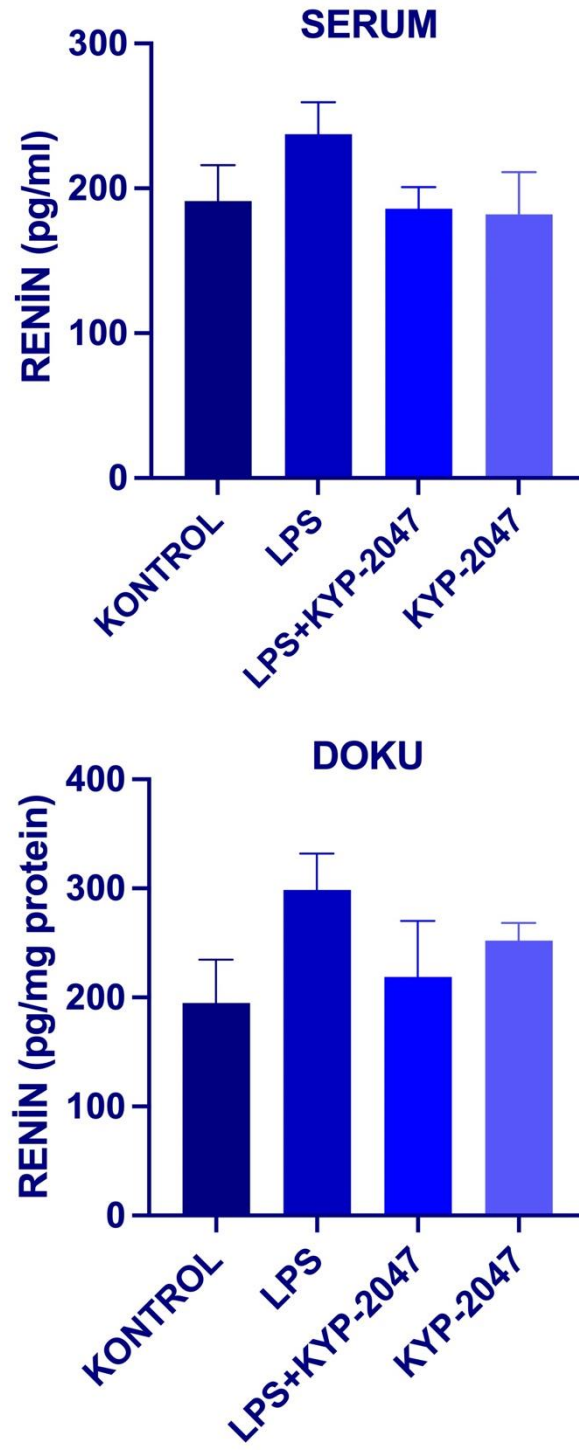
Deney hayvanlarına ait serum örneklerinde Ang I düzeyleri incelendiğinde, LPS grubunda Ang I düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,01$) görüldü (Şekil 4.3.7). LPS+KYP-2047 grubunda Ang I düzeylerinin LPS grubuna göre azaldığı ancak anlamlılık göstermediği belirlendi (Şekil 4.3.7). KYP-2047 grubunda serum örneklerindeki Ang I düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu bu değişimin anlamlılık göstermediği belirlendi (Şekil 4.3.7).

Deney hayvanlarına ait böbrek doku örneklerinde Ang I düzeyleri incelendiğinde, LPS grubunda Ang I düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,05$) saptandı (Şekil 4.3.7). LPS+KYP-2047 grubunda LPS grubuna kıyasla azaldığı ve kontrol grubuna benzer olduğu tespit edildi (Şekil 4.3.7). KYP-2047 grubunda serum örneklerindeki Ang I düzeylerinin kontrol grubuna göre benzer olduğu belirlendi (Şekil 4.3.7).

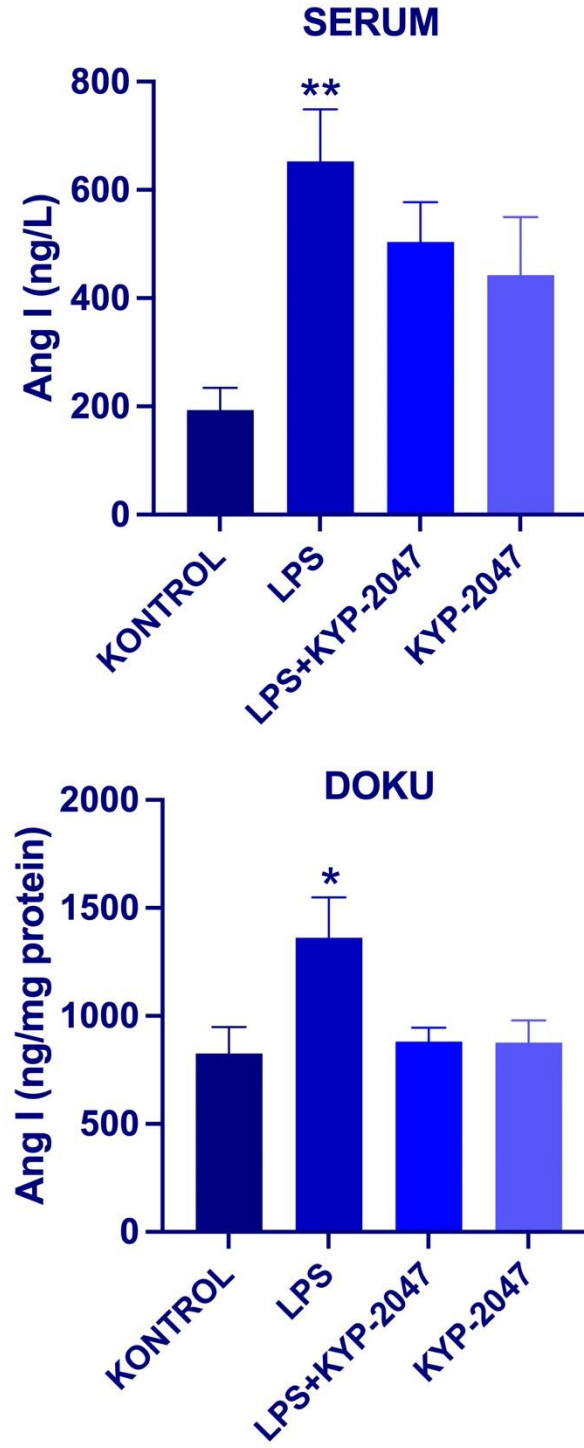
Deney hayvanlarına ait serum örneklerinde Ang II düzeyleri incelendiğinde, LPS grubunda kontrole göre bir artışın olduğu ($p<0,05$) görüldü (Şekil 4.3.8). LPS+KYP-2047 grubunda Ang II düzeyinin LPS grubuna göre azaldığı ve kontrol grubuna benzer olduğu görüldü (Şekil 4.3.8). KYP-2047 grubunda serum örneklerindeki Ang II düzeylerinin kontrol grubuna benzer, LPS grubuna göre düşük olduğu ($p<0,05$) saptandı (Şekil 4.3.8).

Deney hayvanlarına ait böbrek doku örneklerinde Ang II düzeyleri incelendiğinde, LPS uygulanan gruplarda Ang II düzeylerinin artmış olduğunun izlenmesine karşın gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmedi (Şekil 4.3.8). KYP-2047 grubunda doku örneklerinde kontrol grubuna yakın olduğu tespit edildi (Şekil 4.3.8).

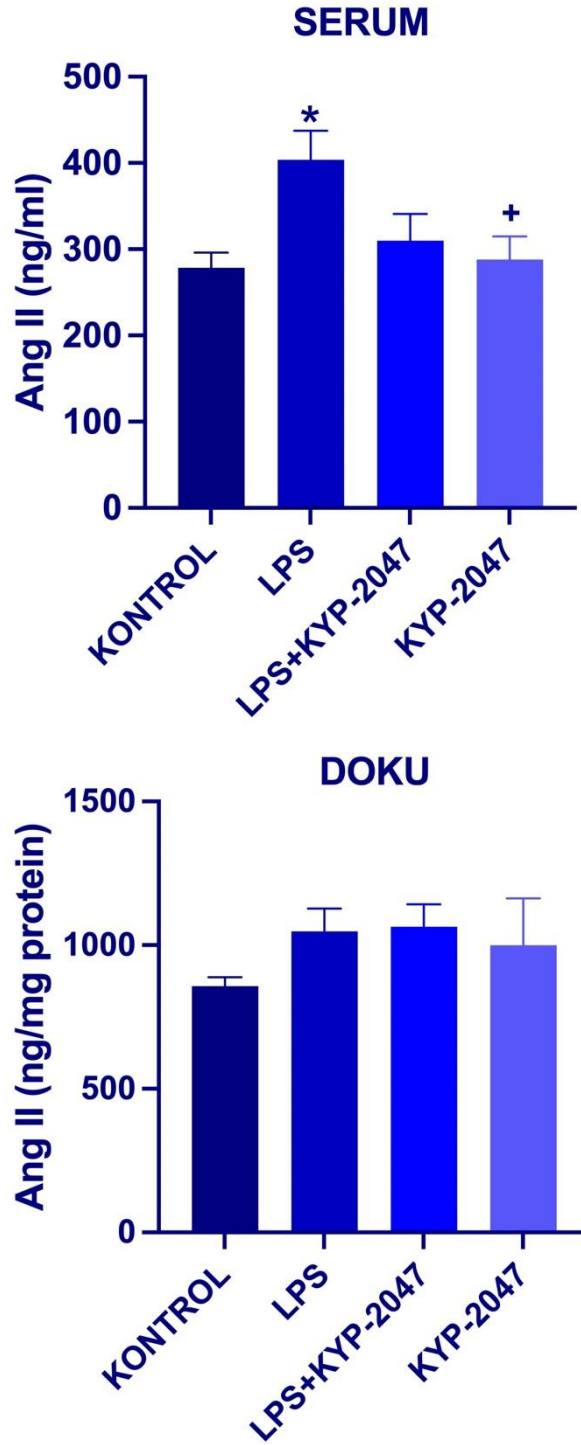
Deney hayvanlarına ait serum ve böbrek doku örneklerinde Ang (1-7) düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubuna göre diğer gruplarda bir yükselme görülmekle birlikte gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı (Şekil 4.3.9).



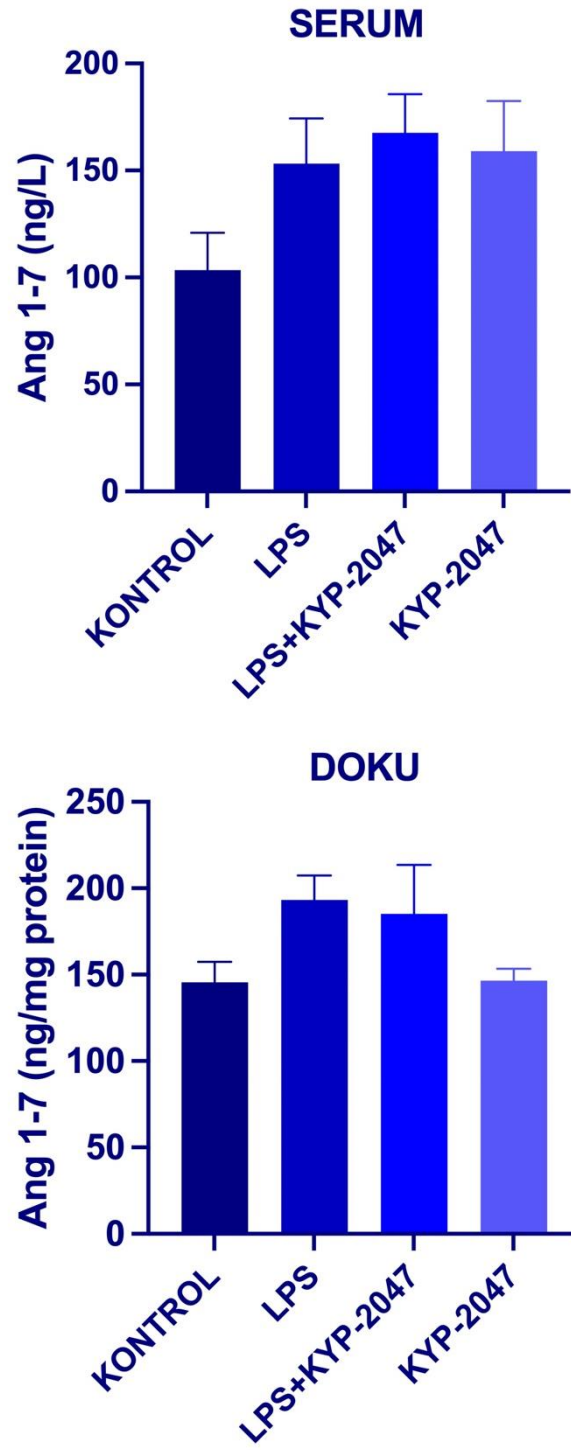
Şekil 4.3.6: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde renin değerleri.



Şekil 4.3.7: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde Ang I değerleri. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$: Kontrol grubuna göre anlamlılık.

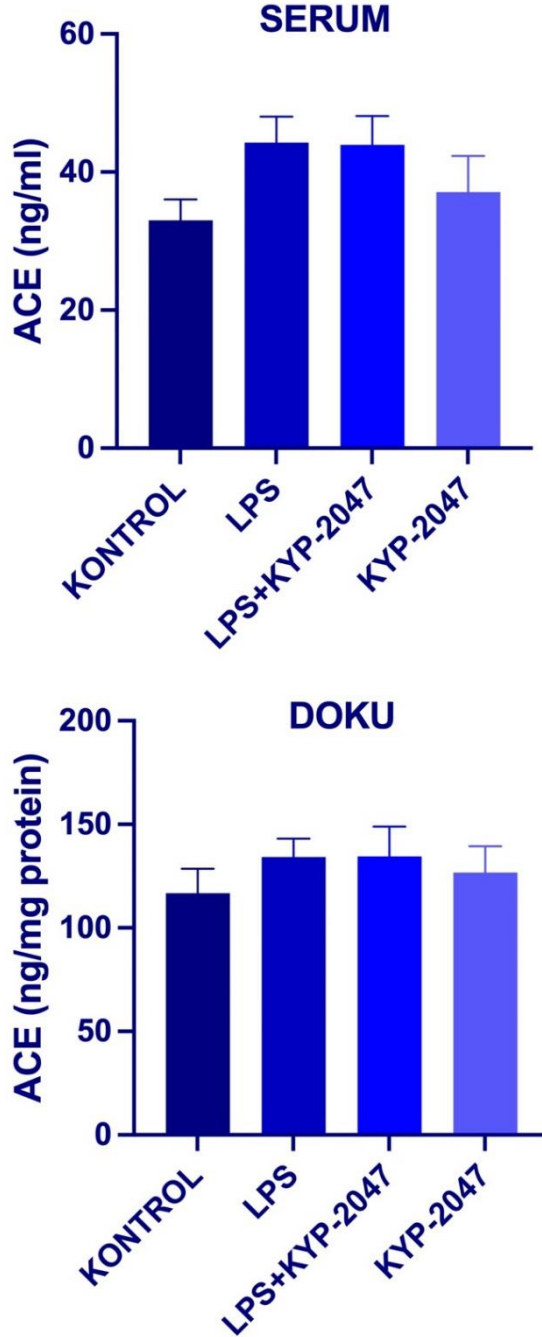


Şekil 4.3.8: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde Ang II değerleri. * $p < 0,05$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ⁺ $p < 0,05$: LPS grubuna göre anlamlılık.



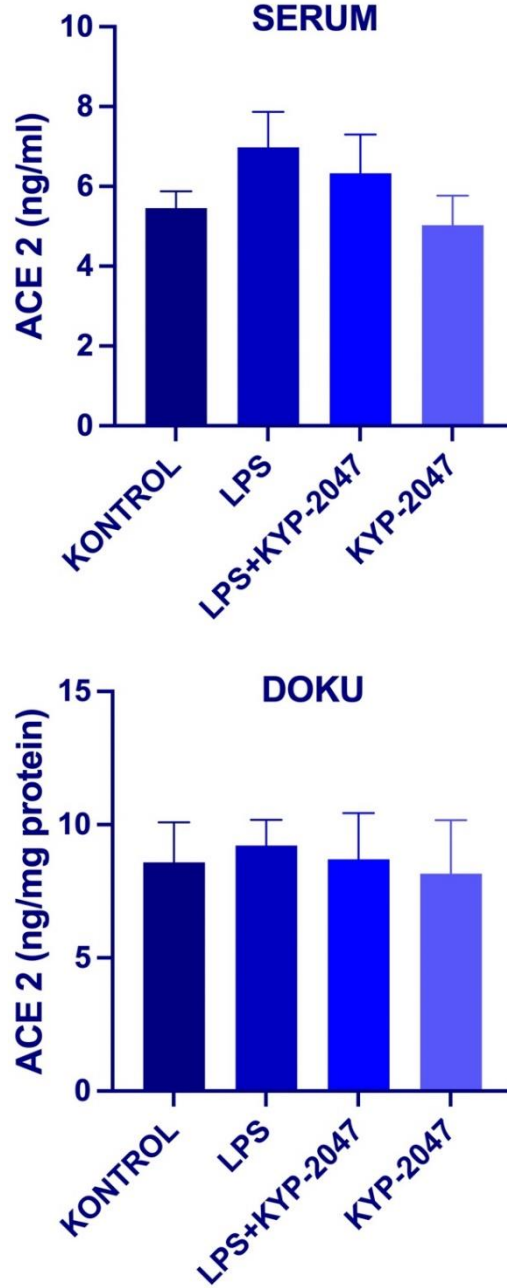
Şekil 4.3.9: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde Ang (1-7) değerleri.

Deney hayvanlarına ait serum örneklerinde ACE düzeyleri incelendiğinde LPS uygulanan gruplarda kontrole göre bir yükselme görülmekle birlikte gruplar arasında anlamlı farklılıkların olmadığı belirlendi. Deney hayvanlarına ait böbrek doku örneklerinde ACE düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılıkların olmadığı belirlendi (Şekil 4.3.10).



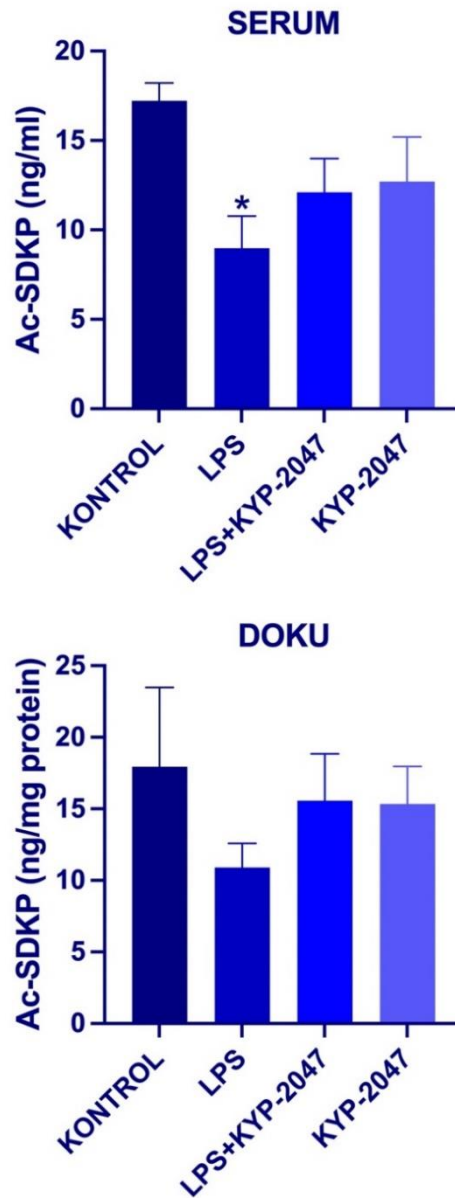
Şekil 4.3.10: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde ACE değerleri.

Deney hayvanlarına ait serum örneklerinde ACE2 düzeyleri incelendiğinde, LPS uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre bir artış görülmekle birlikte kontrol grubuna benzer olduğu saptandı. KYP-2047 grubunda ACE2 düzeyinin kontrol grubuna benzer olduğu saptandı. Deney hayvanlarına ait böbrek doku örneklerinde ACE2 düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılıkların olmadığı belirlendi (Şekil 4.3.11).



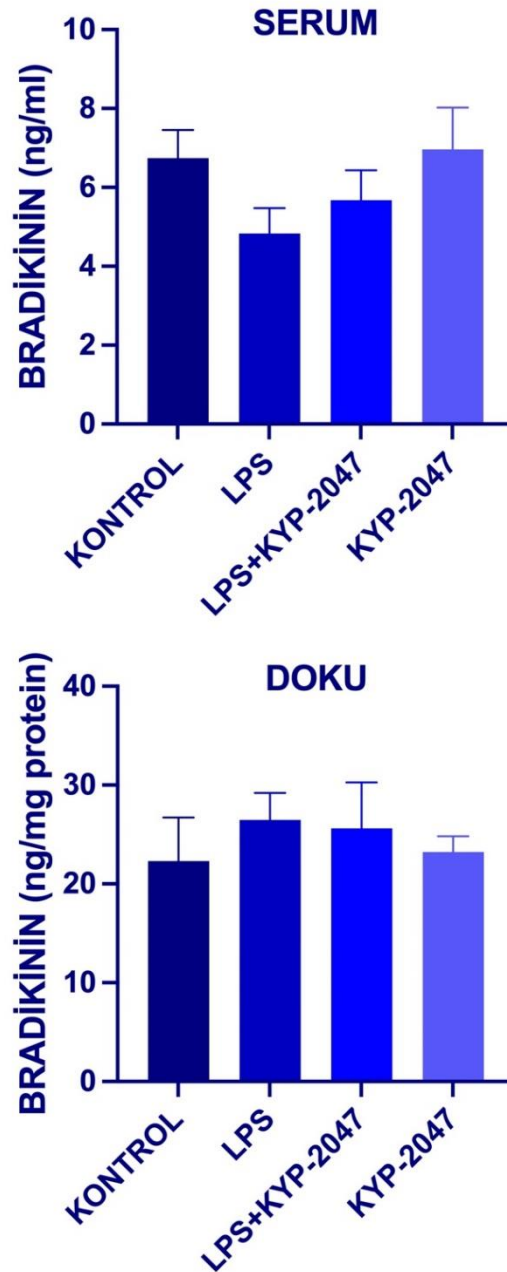
Şekil 4.3.11: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde ACE2 değerleri.

Deney hayvanlarına ait serum örneklerinde Ac-SDKP düzeyleri incelendiğinde LPS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,05$), LPS+KYP-2047 grubunda ise LPS grubuna göre arttığı belirlendi. KYP-2047 grubunda Ac-SDKP düzeyleri kontrol grubuna göre azaldığı görülmekle birlikte gruplar arasında anlamlı farklılıkların olmadığı belirlendi. LPS uygulanan gruplarda böbrek doku örneklerinde Ac-SDKP düzeylerinde kontrole göre bir azalma görülmekle birlikte gruplar arasında anlamlı farklılıkların olmadığı belirlendi (Şekil 4.3.12).



Şekil 4.3.12: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde Ac-SDKP değerleri. * $p<0,05$: Kontrol grubuna göre anlamlılık.

Deney hayvanlarına ait serum örneklerinde bradikinin düzeyleri incelendiğinde, LPS uygulanan gruplarda bradikinin düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla bir azalma görülmekte olup istatistiksel anlamlı farklılıkların olmadığı belirlendi. KYP-2047 grubunda bradikinin düzeyinin de kontrol grubuna benzediği tespit edildi. Deney hayvanlarına ait böbrek doku örneklerinde bradikinin düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılıkların olmadığı belirlendi (Şekil 4.3.13).



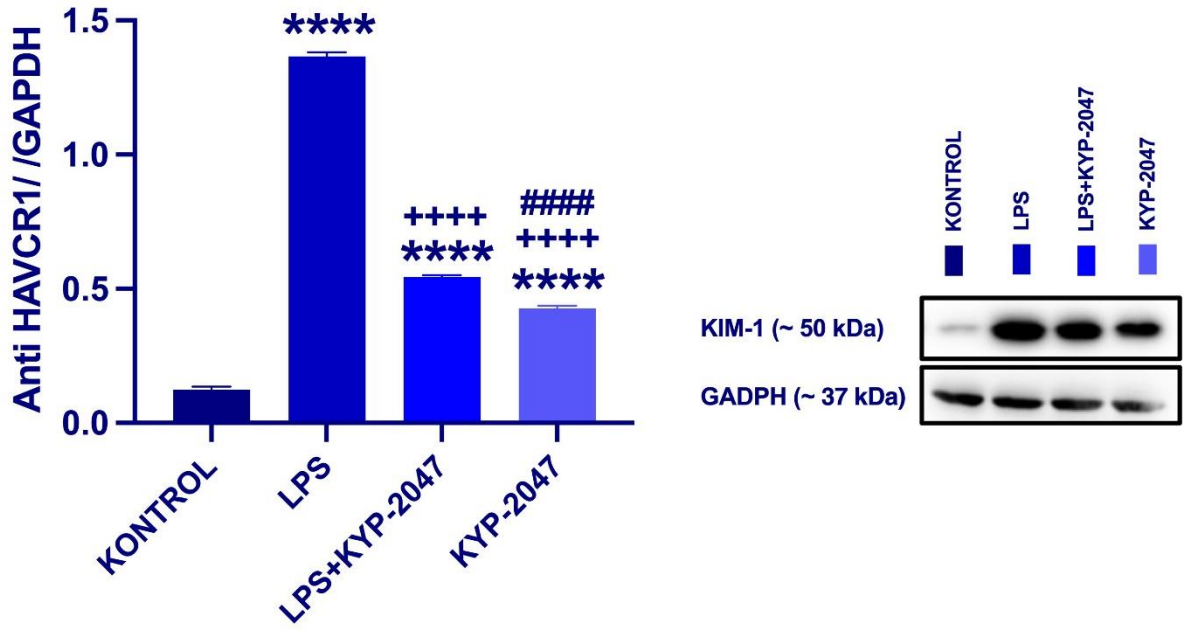
Şekil 4.3.13: Deney gruplarına ait serum ve böbrek dokusu örneklerinde bradikinin değerleri.

4.4. WESTERN BLOT ANALİZİNE AİT BULGULAR

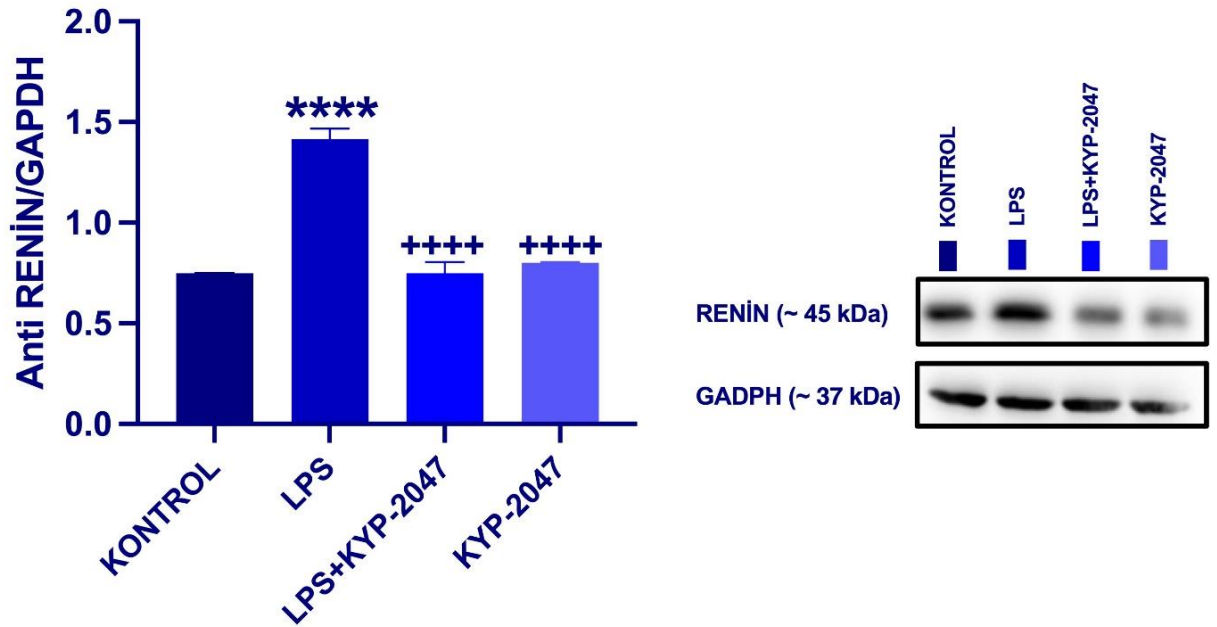
Deney hayvanlarından alınan böbrek örneklerinde HAVCR1/KIM-1, renin, Ang II ve ACE anlatımları Western blot yöntemi ile değerlendirildiğinde gruplar arasında farklılıkların olduğu görüldü (Şekil 4.4.1-4.4.4).

Deney gruplarına ait hayvanların böbrek doku örneklerinde HAVCR1/KIM-1 anlatımı incelendiğinde, LPS grubunda HAVCR1/KIM-1 anlatımının kontrole göre anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,0001$) belirlendi (Şekil 4.4.1). LPS+KYP-2047 grubunda HAVCR1/KIM-1 anlatımının LPS grubuna göre azaldığı ($p<0,0001$) ancak kontrol grubuna göre bu değerlerin yüksek olduğu ($p<0,0001$) saptandı (Şekil 4.4.1). KYP-2047 grubunda HAVCR1/KIM-1 anlatımının kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,0001$) LPS ve LPS+KYP-2047 grubuna göre ise düşük olduğu ($p<0,0001$) tespit edildi (Şekil 4.4.1).

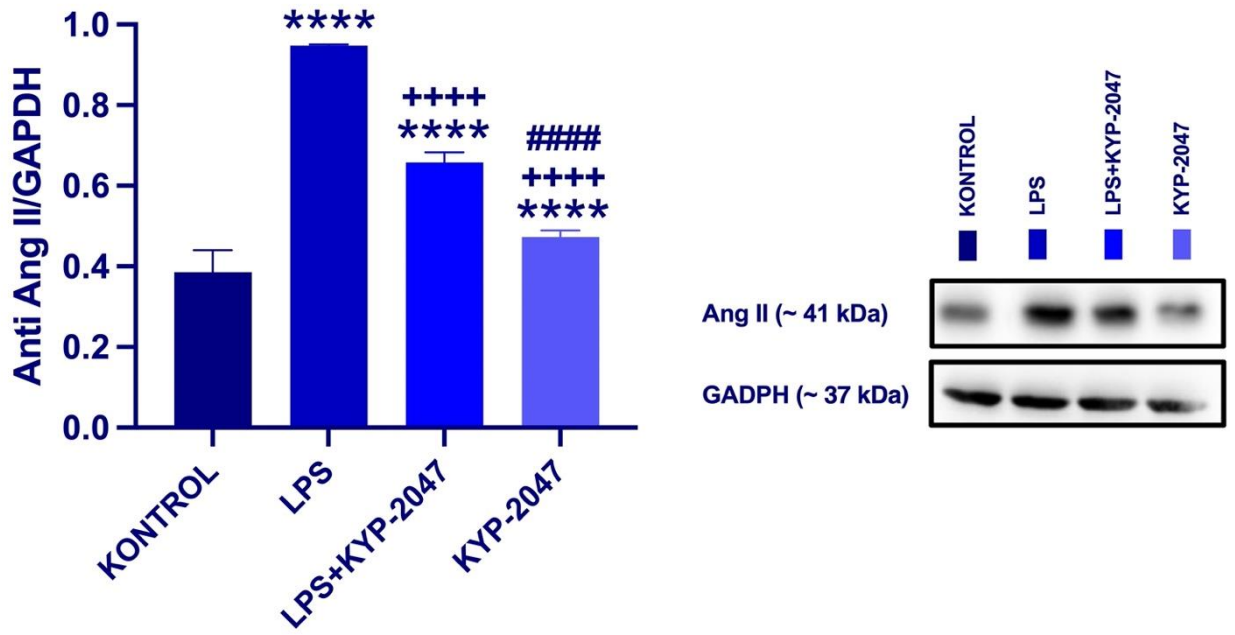
Deney gruplarına ait hayvanların böbrek doku örneklerinde RAS unsurları olan renin, Ang II ve ACE anlatımları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılıkların olduğu belirlendi (Şekil 4.4.2-4.4.4). LPS grubunda renin ($p<0,0001$), Ang II ($p<0,0001$) ve ACE ($p<0,0001$) anlatımının kontrole göre arttığı belirlendi (Şekil 4.4.2-4.4.4). LPS+KYP-2047 grubunda renin değerlerinin LPS grubuna göre azaldığı ($p<0,0001$) ve kontrol grubuna benzer olduğu tespit edildi (Şekil 4.4.2). Bu grupta Ang II ve ACE değerlerinin LPS grubuna göre azaldığı ($p<0,0001$), ancak kontrol grubuna göre bu değerlerin yüksek olduğu (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,01$) saptandı (Şekil 4.4.3, Şekil 4.4.4). KYP-2047 grubunda kontrol grubuna göre renin anlatımının değişmediği, Ang II ve ACE değerlerinin arttığı (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,05$) belirlendi (Şekil 4.4.2-4.4.4). Bu grupta renin, Ang II ve ACE değerlerinin LPS ($p<0,0001$) grubuna göre düşük olduğu görülürken (Şekil 4.4.2-4.4.4) LPS+KYP-2047 grubuna göre Ang II değerlerinin düşük ($p<0,0001$) olduğu tespit edildi (Şekil 4.4.3).



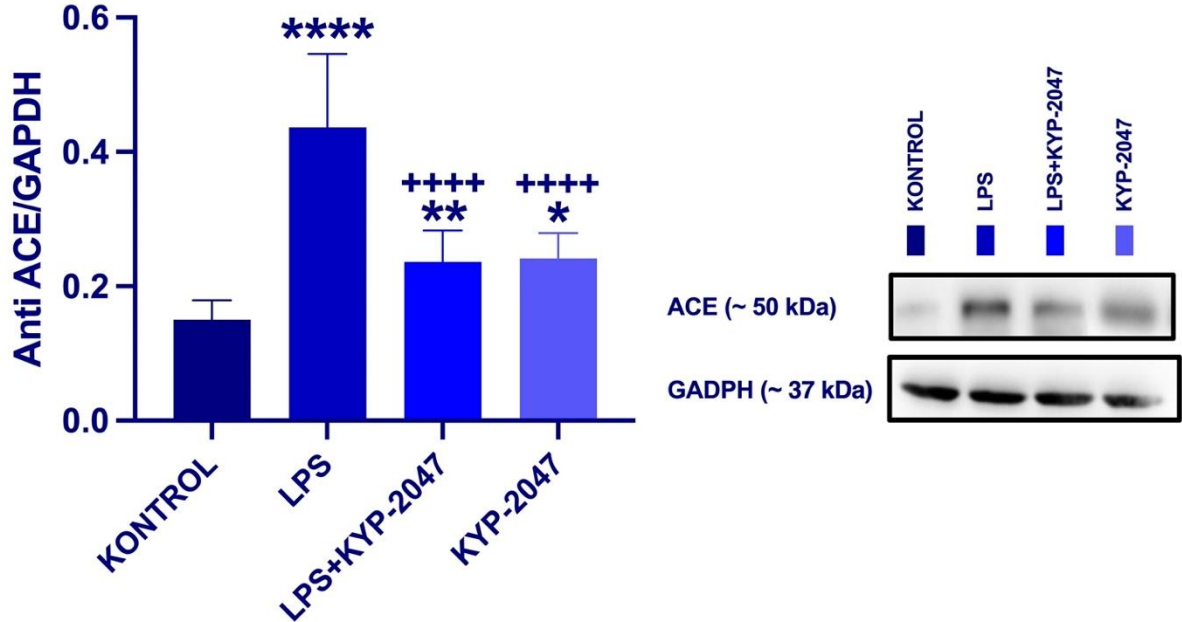
Şekil 4.4.1: Deney gruplarına ait böbrek dokusunda HAVCR1/KIM-1 protein seviyeleri ve bandları. ****p<0,0001: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++++p<0,0001: LPS grubuna göre anlamlılık. ####p<0,0001: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.



Şekil 4.4.2: Deney gruplarına ait böbrek dokusunda renin protein seviyeleri ve bandları. ****p<0,0001: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++++p<0,0001: LPS grubuna göre anlamlılık.



Şekil 4.4.3: Deney gruplarına ait böbrek dokusunda Ang II protein seviyeleri ve bandları. **** $p < 0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++++ $p < 0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. #### $p < 0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.



Şekil 4.4.4: Deney gruplarına ait böbrek dokusunda ACE protein seviyeleri ve bandları. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++++ $p < 0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık.

4.5. HİSTOLOJİK BULGULAR

Deney gruplarındaki hayvanların böbreklerinden elde edilen doku kesitleri ışık mikroskobu ile incelendiğinde gruplar arasında histopatolojik açıdan anlamlı farklılıkların olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5.1).

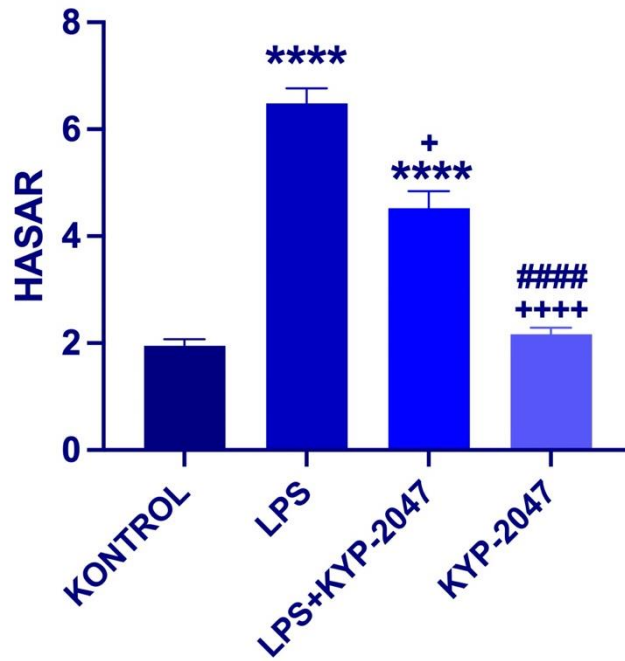
Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek dokularından hazırlanan ışık mikroskobu kesitleri incelendiğinde dokunun birçok alanda normal histolojik özelliklere sahip olduğu ve yapısal bütünlüğün büyük ölçüde korunduğu görüldü. Ayrıca böbrek korteksinde, interstisyel alanda belirgin lökosit infiltrasyonuna, ödeme ve kanama odaklarına rastlanmadı (Şekil 4.5.1; Şekil 4.5.3a-b-4.5.9a-b).

LPS grubunda, böbrek korteksindeki doku hasarının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı ($p<0,0001$) belirlendi (Şekil 4.5.1). LPS uygulanan hayvanların böbrek kesitleri incelendiğinde korteks bölgesinde proksimal tübüllerin fırça kenarlarında düzensizliklerin olduğu veya devamlılıklarının bozulduğu gözlemlendi (Şekil 4.5.10a-b-4.5.20a-b). Bazı tübüllerde hücre yüksekliklerinin azaldığı ve yer yer dilatasyonun olduğu, bazı tübüllerde ise hücrelerde belirgin şişmenin meydana geldiği tespit edildi (Şekil 4.5.10a-b-4.5.20a-c). Proksimal tübül hücrelerinin sitoplazmalarında yaygın şekilde PAS pozitif yapıların mevcut olduğu tespit edildi (Şekil 4.5.10a-b-4.5.20a-c). Ayrıca, tübüllerin bazal membranlarının çoğu bölgede düzensizlik veya yer yer hafif kalınlaşmalar gösterdiği saptandı (Şekil 4.5.10a-b-4.5.20a-c). Yine bu grupta, glomerular yumakta düzensizliklerin olduğu belirlendi. Glomerular kapillerlerdeki eritrosit kümelenmesinin kontrolle karşılaştırıldığında oldukça belirgin olduğu görüldü (Şekil 4.5.10a-b-4.5.20a-c). Bununla birlikte, böbrek korteksinde interstisyel alanda belirgin lökosit infiltrasyonu, ödem ve kanama odakları tespit edildi. Ayrıca hem damarlarda hem de dokular arasında yer alan kanama alanlarında çok sayıda lökositin mevcut olduğu görüldü (Şekil 4.5.10a-b-4.5.20a-c). PAS-H ile boyanmış kesitlerde peritübüler alanlarda ve glomerulusta lökosit dağılımlarına bakıldığında hem glomerulusta ($p<0,0001$) hem de peritübüler alanda ($p<0,001$) lökosit varlığının kontrole göre anlamlı şekilde arttığı belirlendi (Şekil 4.5.2).

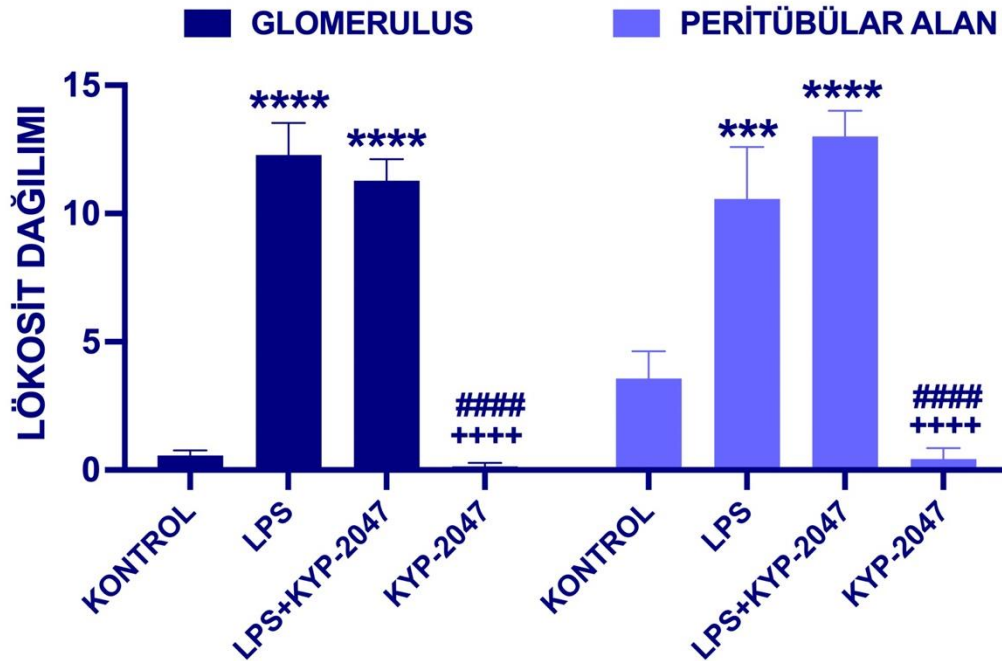
LPS +KYP-2047 grubunda, böbrek korteksindeki doku hasarının LPS grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı ($p<0,05$) ancak kontrol grubuna göre hasarın halen yüksek olduğu ($p<0,0001$) belirlendi (Şekil 4.5.1). LPS enjeksiyonundan 3 saat sonra KYP-2047 uygulanan hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübüllerde LPS'nin meydana getirdiği hasarın bazı bölgelerde

düzeldiği tespit edildi (Şekil 4.5.21a-b-4.5.30a-b). Ancak birçok alanda, LPS uygulamasının neden olduğu hasarın tübüllerde devam ettiği ve fırça kenarın devamlılığını korumadığı gözlemlendi. Bunlara karşın tübüllerin bazal membranlarının LPS grubuna göre daha düzenli bir görünüm sergilediği belirlendi (Şekil 4.5.21a-b-4.5.30a-b). Glomerular yumakta ise LPS grubunda olduğu gibi kapillerlerde de düzensizlikler belirlendi (Şekil 4.5.21a-b-4.5.30a-b). Yine bu grupta, kanama alanlarının varlığının devam ettiği, peritübüler alanlarda ve glomerulusta da yaygın lökosit infiltrasyonunun olduğu belirlendi (Şekil 4.5.21a-b-4.5.30a-b). KYP-2047 uygulamasının LPS ile oluşan kanama alanlarını ve lökositleri kümelenmelerini ortadan kaldıramadığı tespit edildi (Şekil 4.5.21a-b-4.5.30a-b). PAS-H ile boyanmış kesitlerde peritübüler alanlar ve glomerulus incelendiğinde lökosit varlığının hem peritübüler alanlarda hem de glomeruluslarda LPS grubuna göre bir değişiklik göstermediği ve kontrol grubuna göre halen yüksek olduğu ($p<0,0001$) görüldü (Şekil 4.5.2).

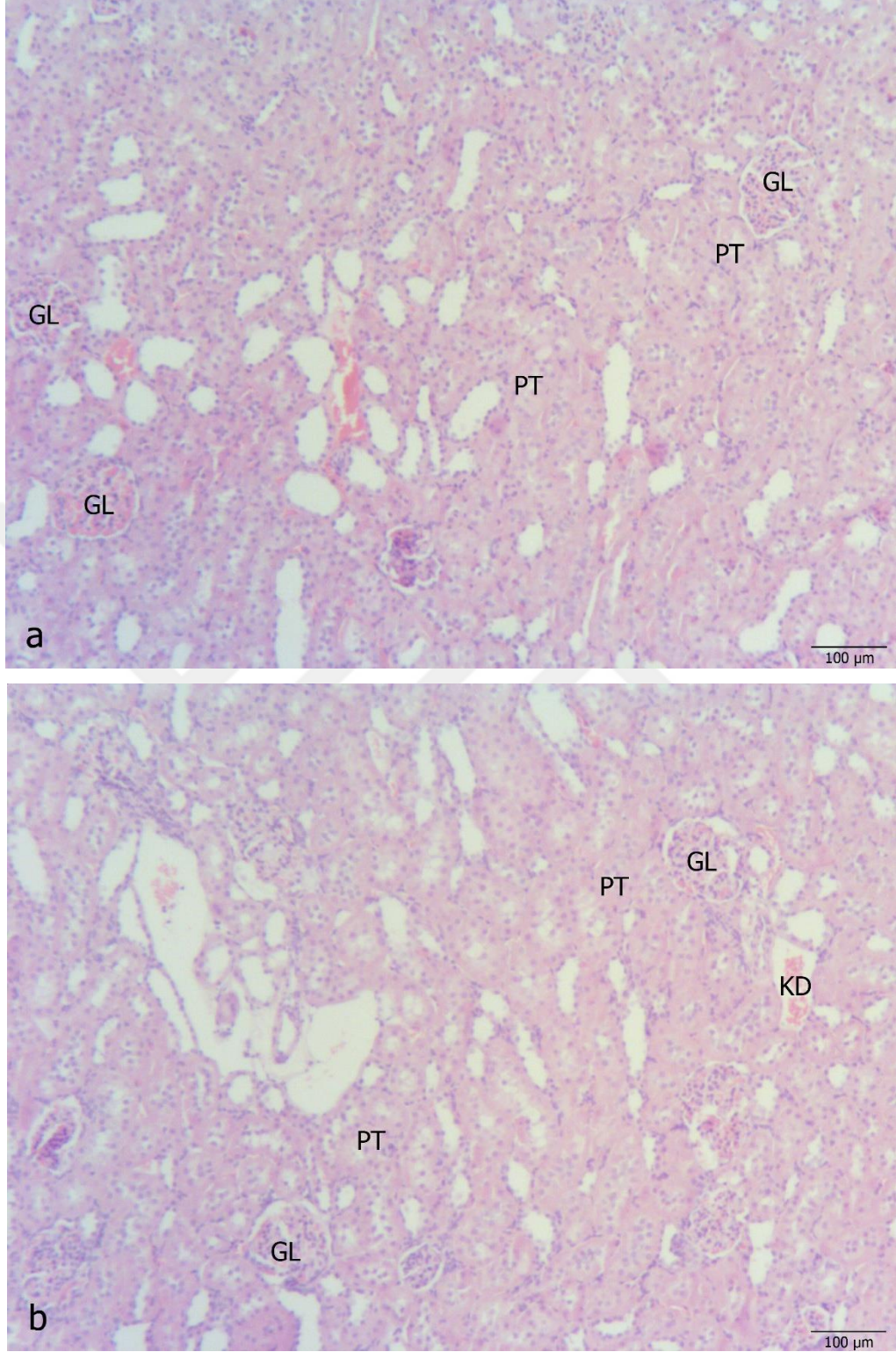
Sadece KYP-2047 uygulanan deney grubuna ait hayvanların böbrek korteksi birçok bölgede kontrol grubuna benzerdi ve kontrol ile karşılaştırıldığında doku hasarı açısından anlamlı bir farklılık belirlenmedi (Şekil 4.5.1). KYP-2047 grubunun böbrek korteksi incelendiğinde interstisyel alanda lökosit infiltrasyonuna, ödeme ve kanama odaklarına rastlanmadı (Şekil 4.5.31a-b-4.5.36a-b). Buna karşın, bazı alanlarda özellikle proksimal tübüllerin apikal kısmında düzensizliklerin olduğu belirlendi (Şekil 4.5.31a-b-4.5.36a-b). Ayrıca, glomerular yumakta yer yer bazı düzensizlikler olduğu saptandı (Şekil 4.5.31a-b-4.5.36a-b). PAS-H ile boyanmış kesitlerde peritübüler alanlar ile glomerulus incelendiğinde lökosit varlığının hem peritübüler alanda hem de glomerulusta kontrole benzer olduğu görüldü (Şekil 4.5.2).



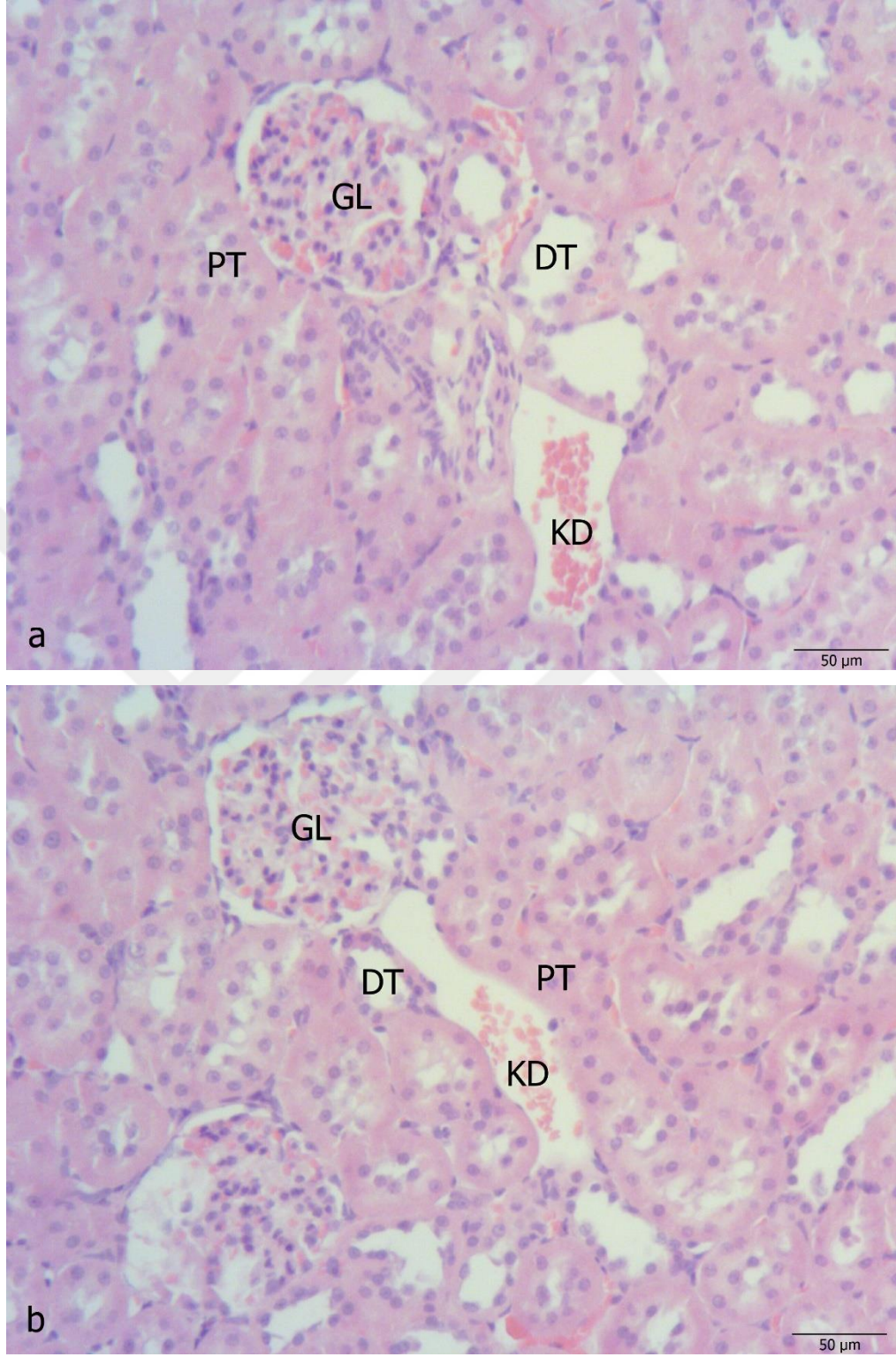
Şekil 4.5.1: Deney gruplarına ait böbrek hasarı değerleri. **** $p < 0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. + $p < 0,05$, ++++ $p < 0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. #### $p < 0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.



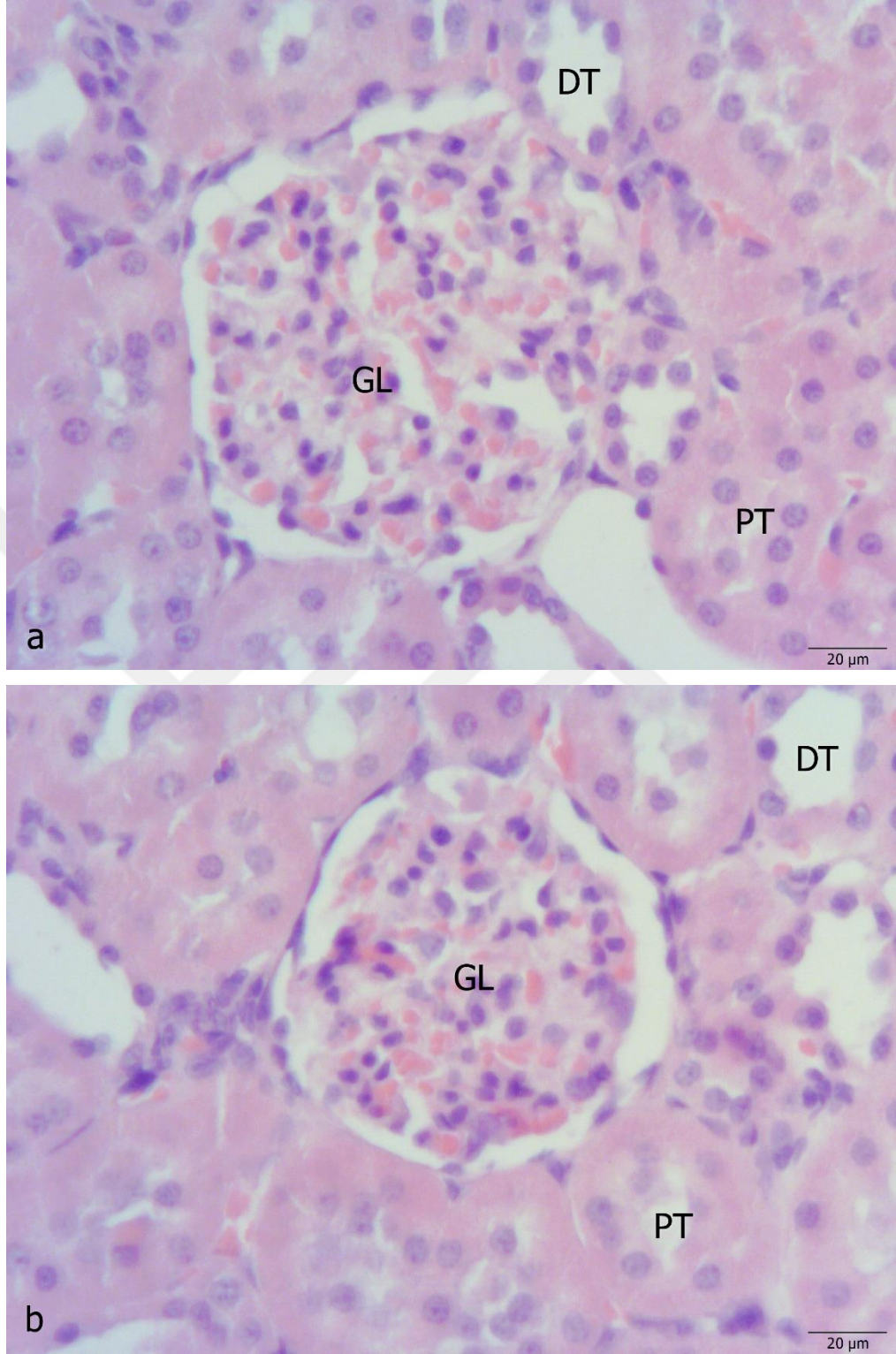
Şekil 4.5.2: Deney gruplarında ait böbrek korteksinde glomerulus ve peritübüler alanlarda lökosit dağılımı. *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$: Kontrol grubuna göre anlamlılık. ++++ $p < 0,0001$: LPS grubuna göre anlamlılık. #### $p < 0,0001$: LPS+KYP-2047 grubuna göre anlamlılık.



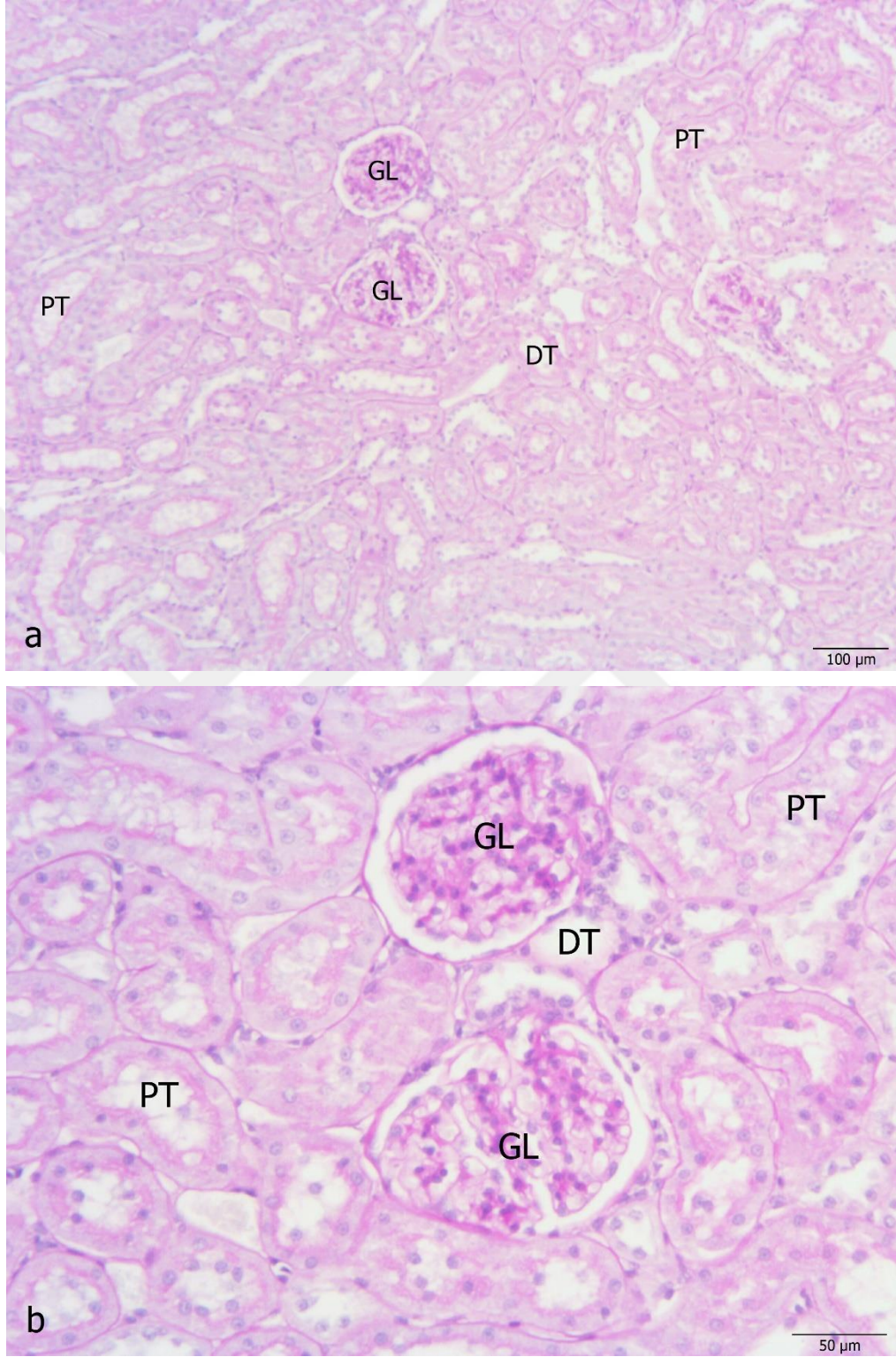
Şekil 4.5.3a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve kan damarı (KD). a-b) Bar=100 μ m, HE.



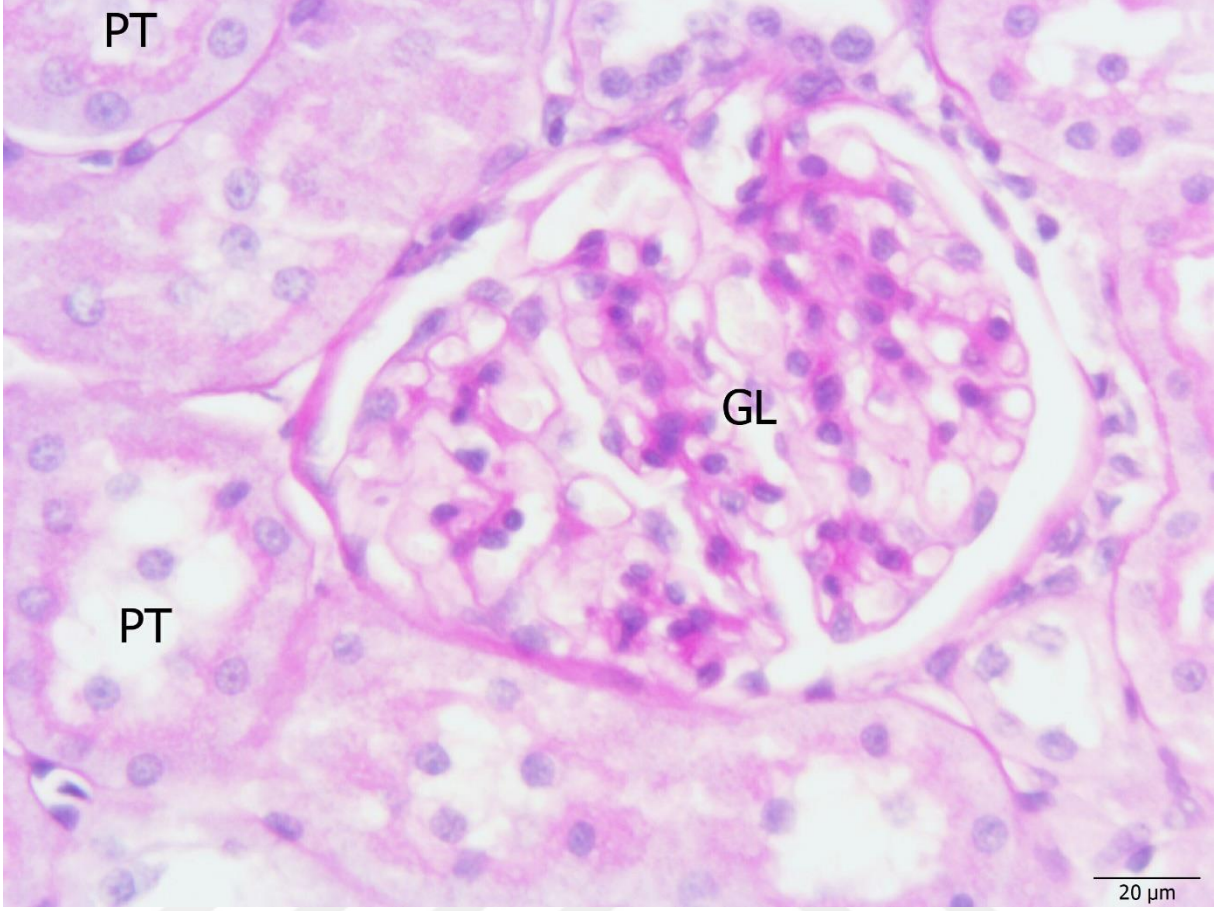
Şekil 4.5.4a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT) ve kan damarı (KD). a-b) Bar=50 µm, HE.



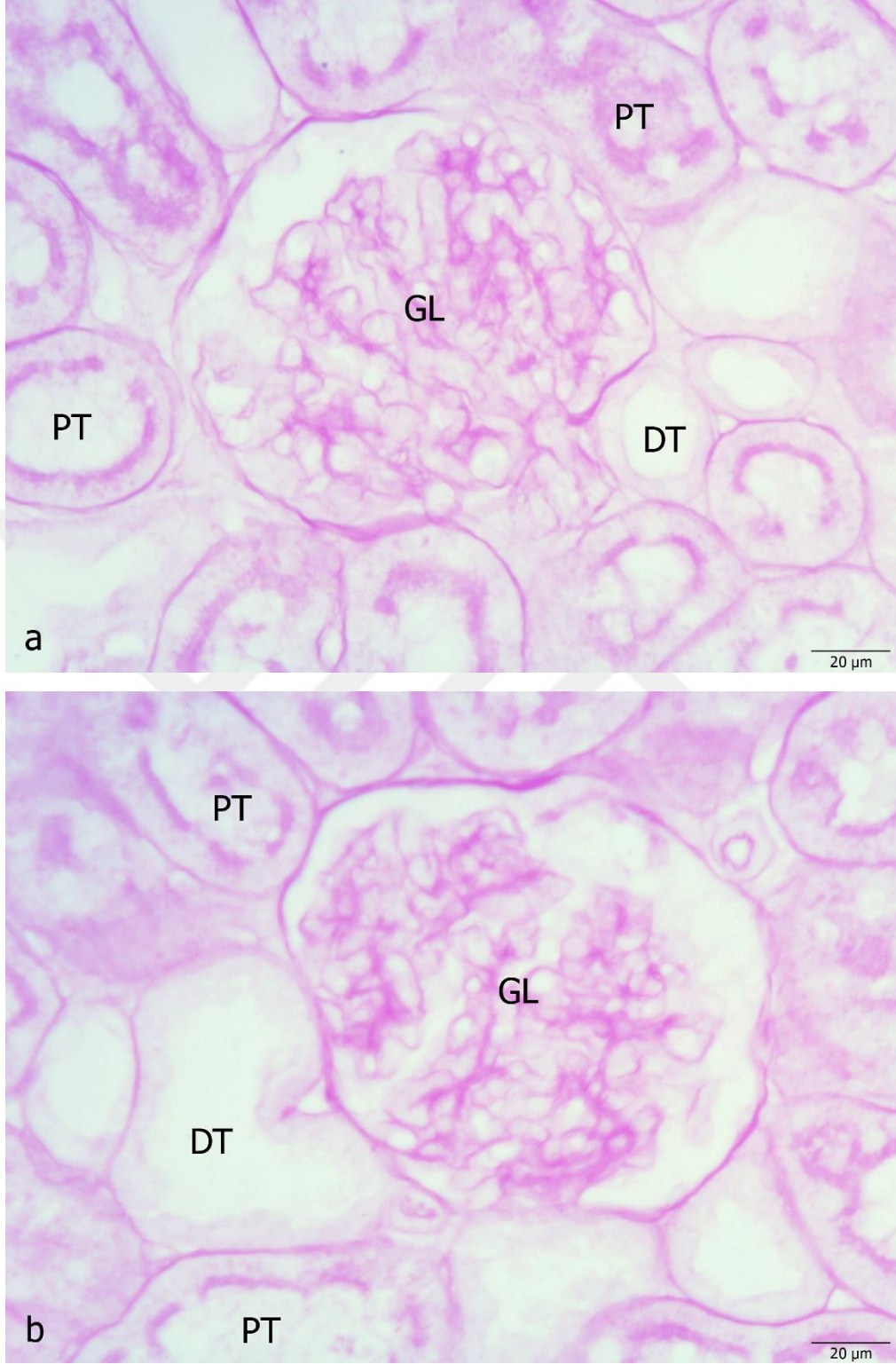
Şekil 4.5.5a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=20 µm, HE.



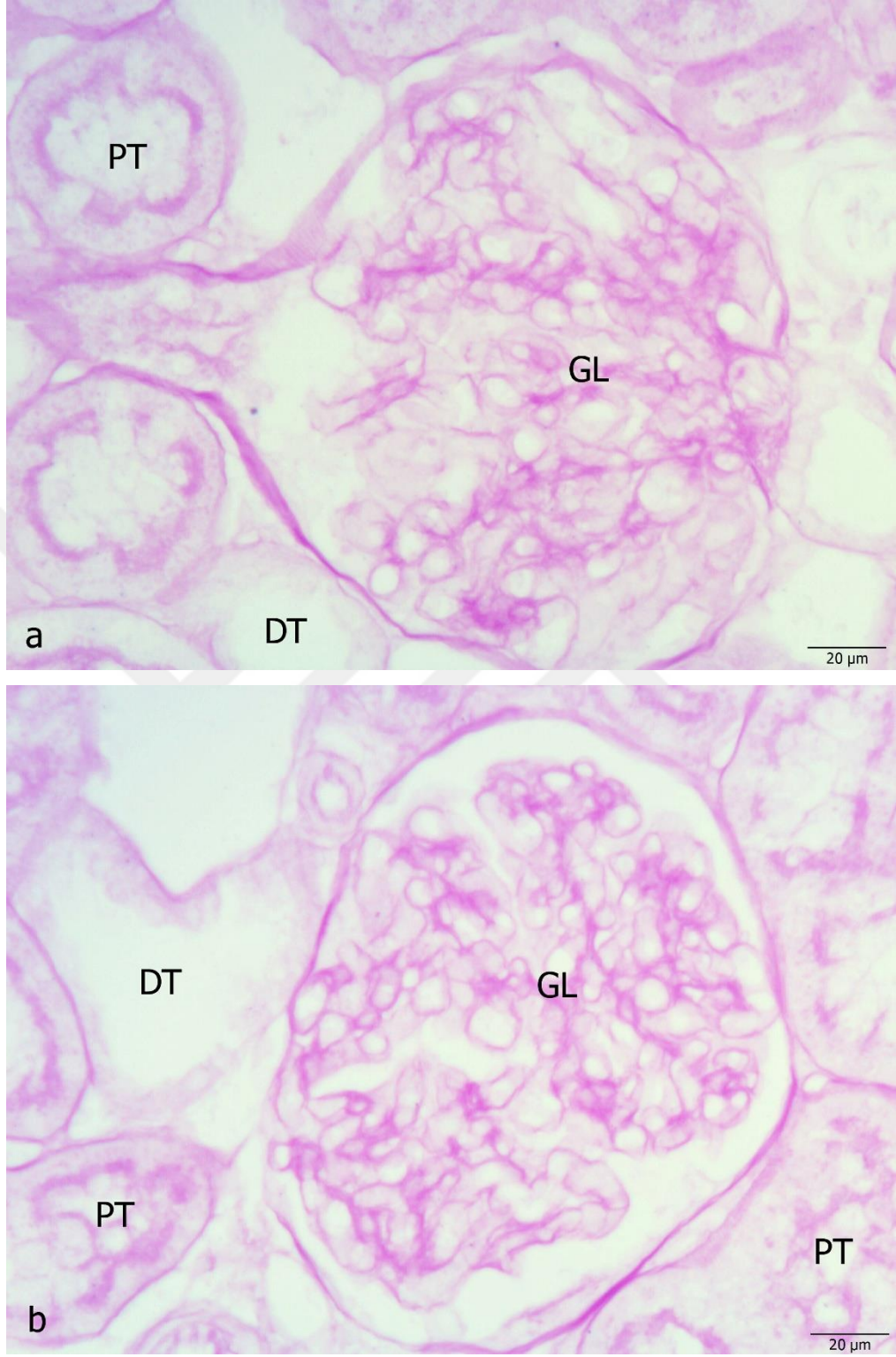
Şekil 4.5.6a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a) Bar=100 µm, b) Bar=50 µm, PAS-H.



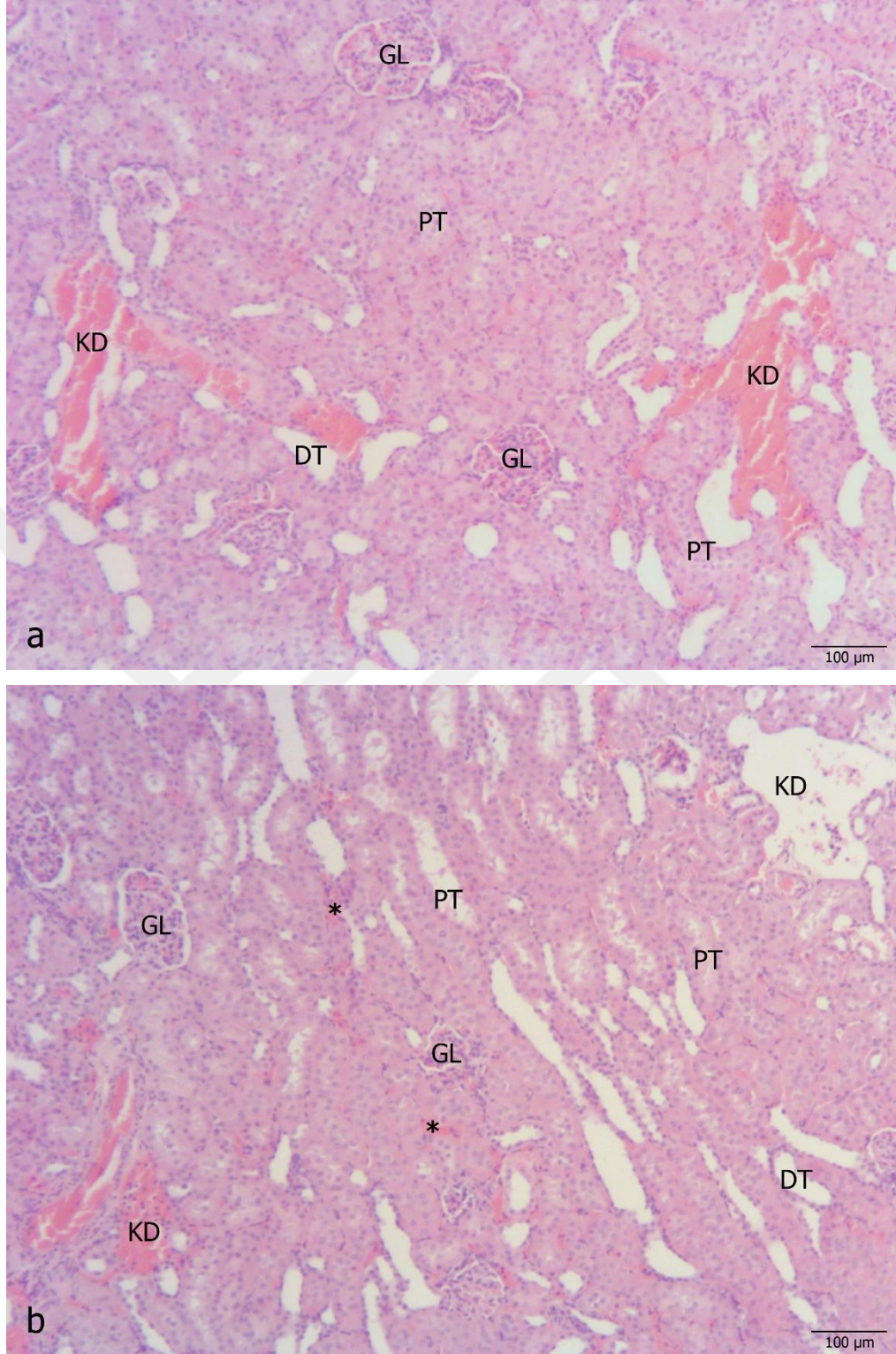
Şekil 4.5.7: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL) ve proksimal tübül (PT). Bar=20 µm, PAS-H.



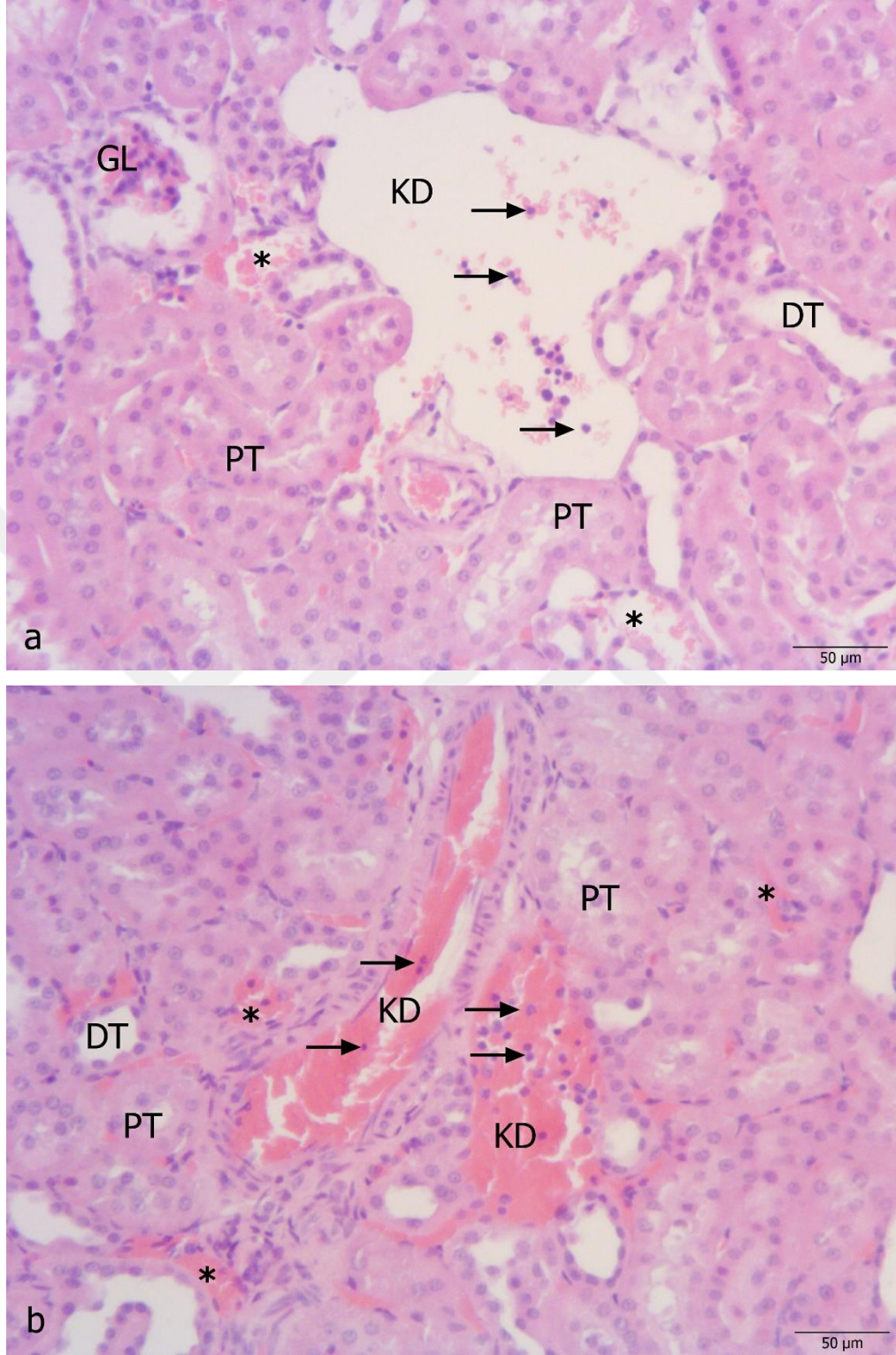
Şekil 4.5.8a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=20 µm, PAS.



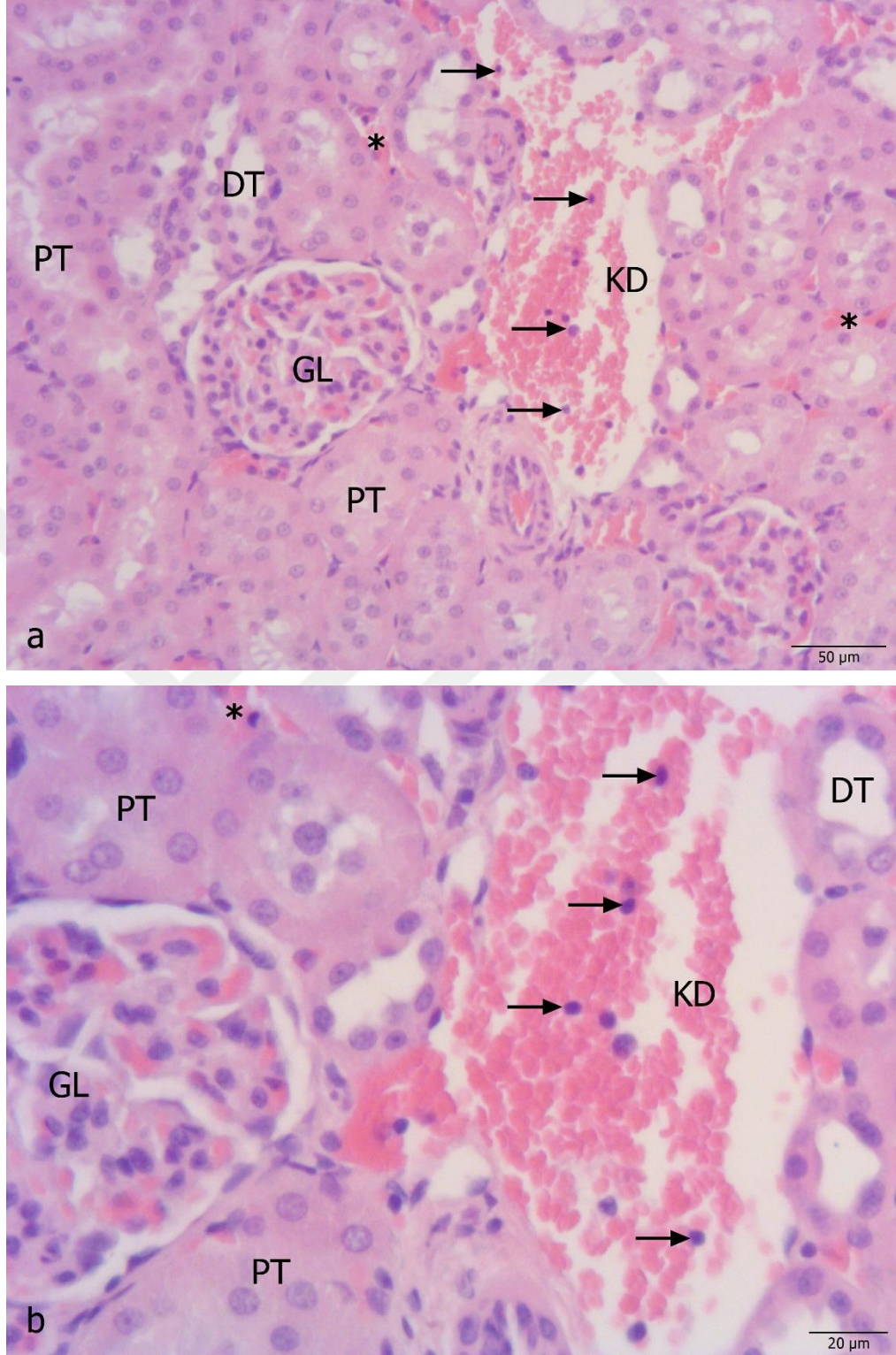
Şekil 4.5.9a-b: Kontrol grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=20 µm, PAS.



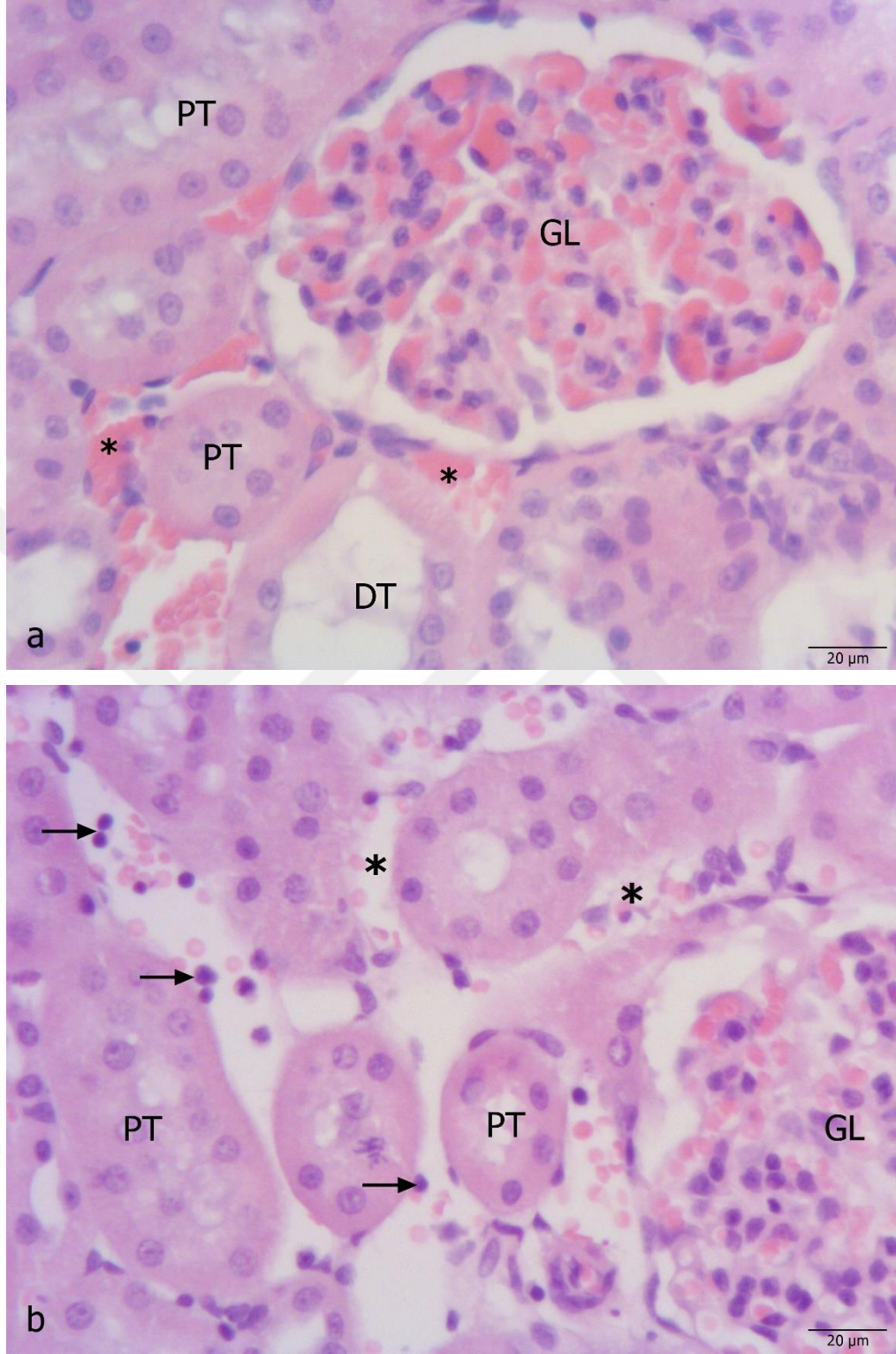
Şekil 4.5.10a-b: LPS grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD) ve peritübüler alan (*). a-b) Bar=100 µm, HE.



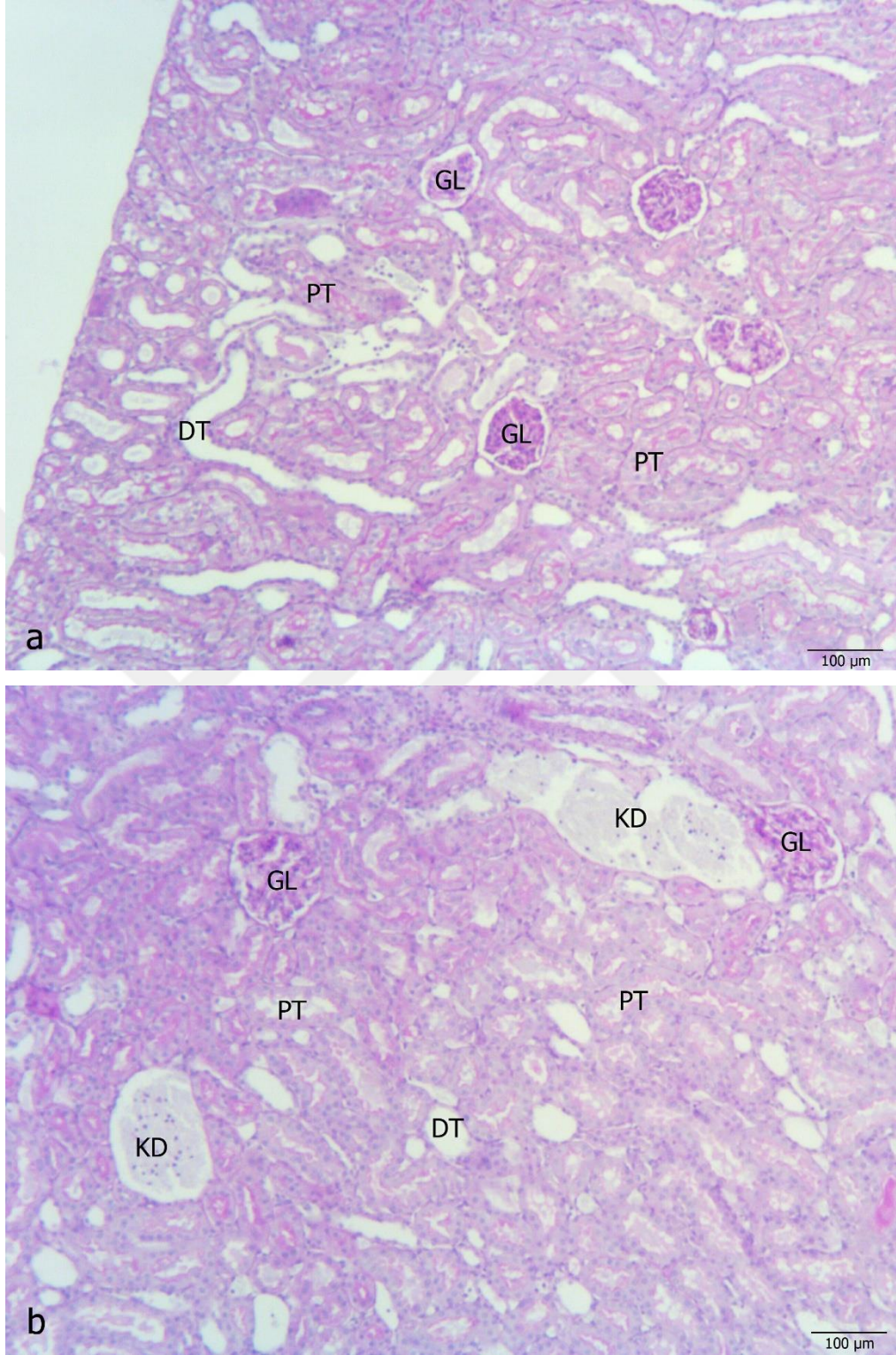
Şekil 4.5.11a-b: LPS uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarları (KD) lümeninde lökositler (→) ve peritübüler alan (*). a-b) Bar=50 µm, HE.



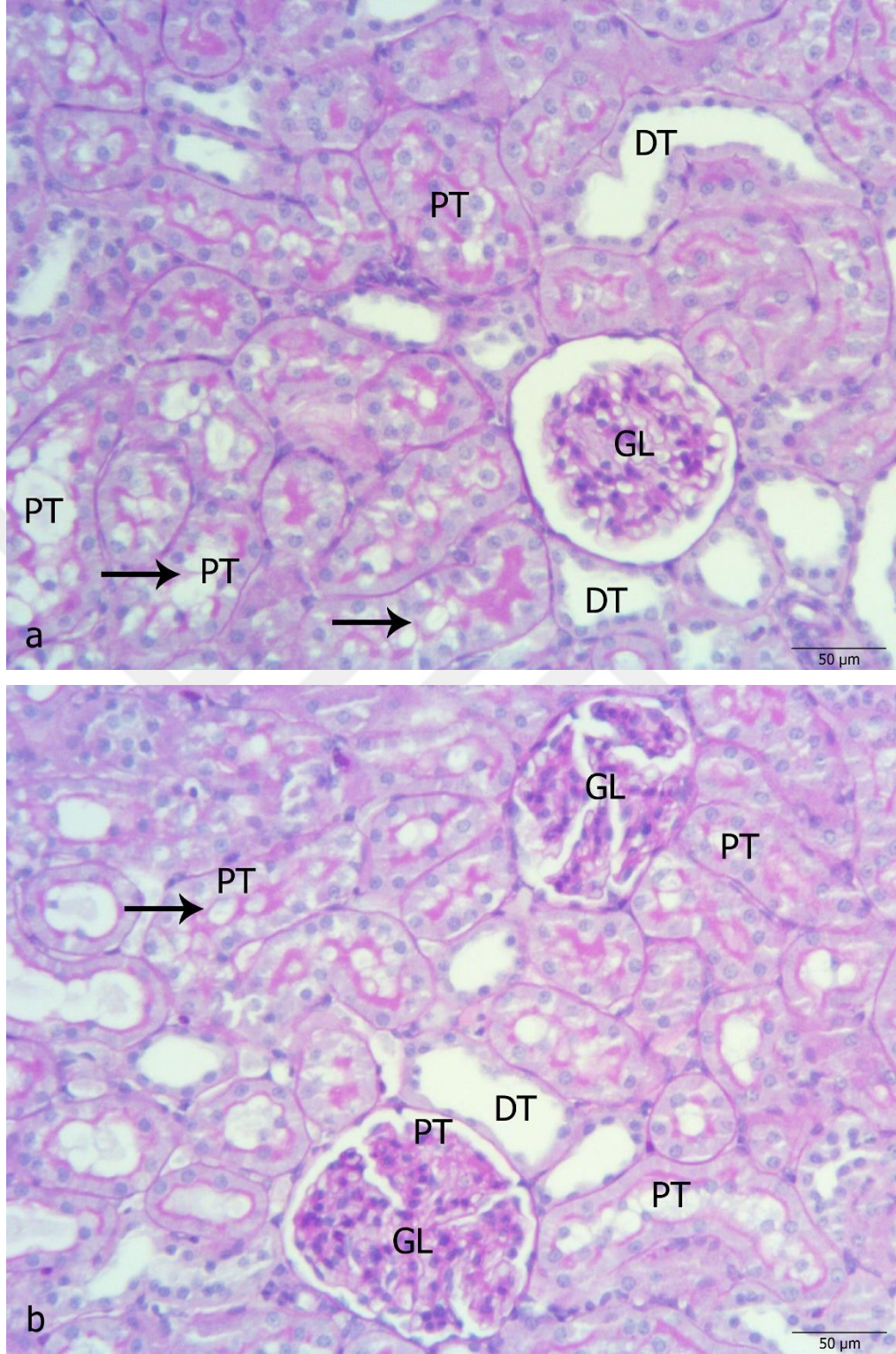
Şekil 4.5.12a-b: LPS uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarları (KD) lümeninde lökositler (→) ve peritübüler alan (*). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, HE.



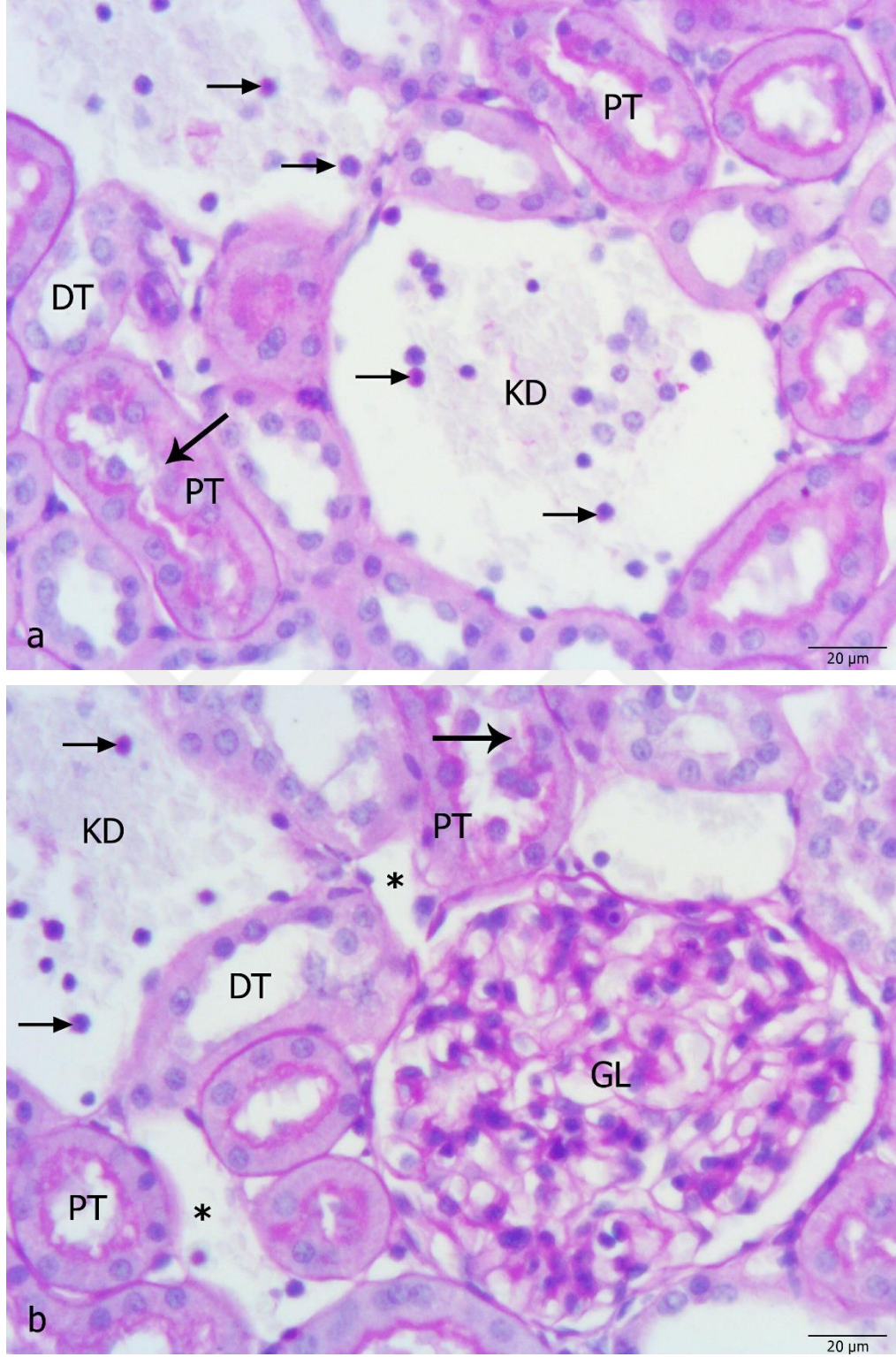
Şekil 4.5.13a-b: LPS uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, HE.



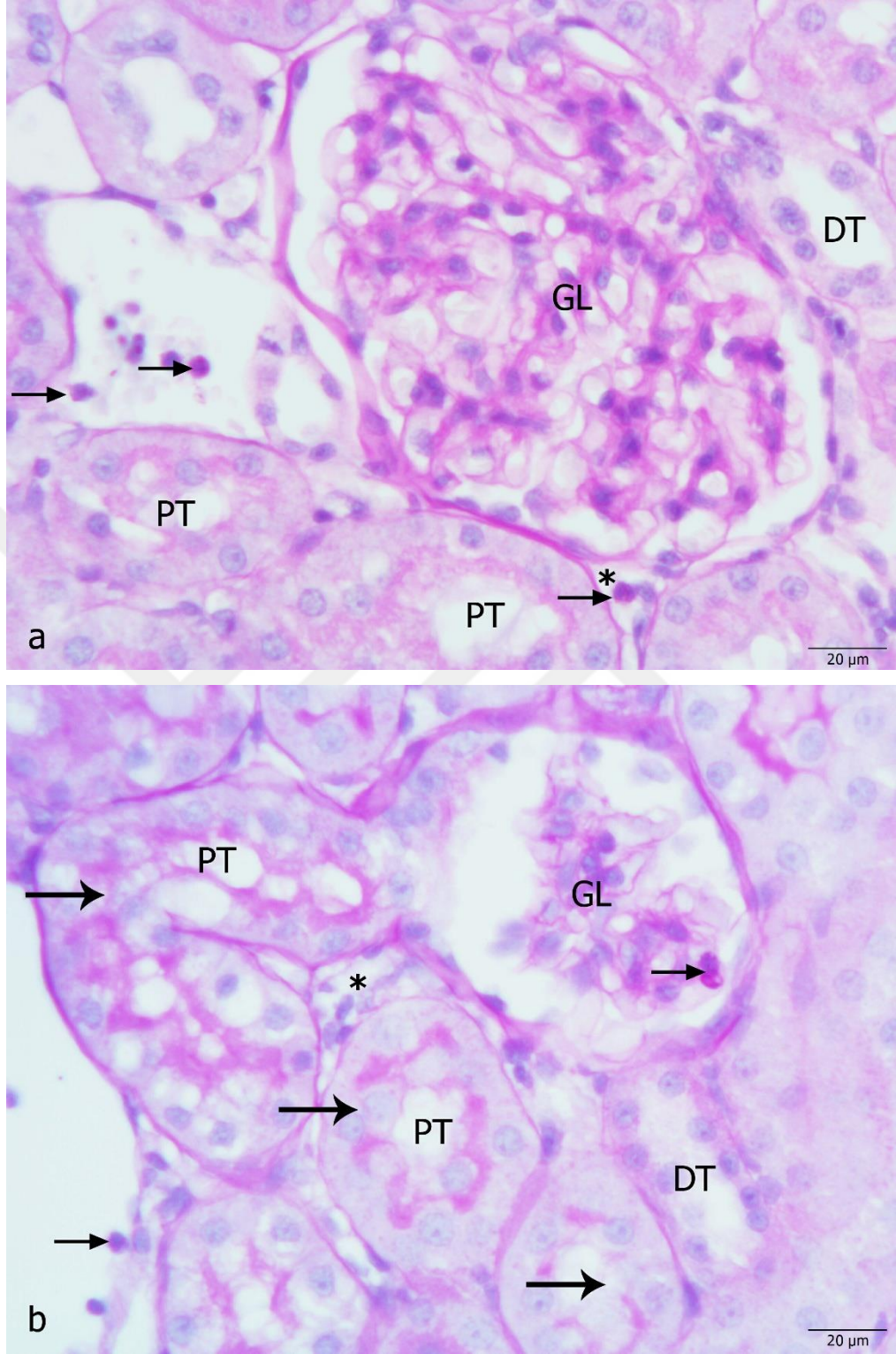
Şekil 4.5.14a-b: LPS uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT) ve kan damarı (KD). a-b) Bar=100 µm, PAS-H.



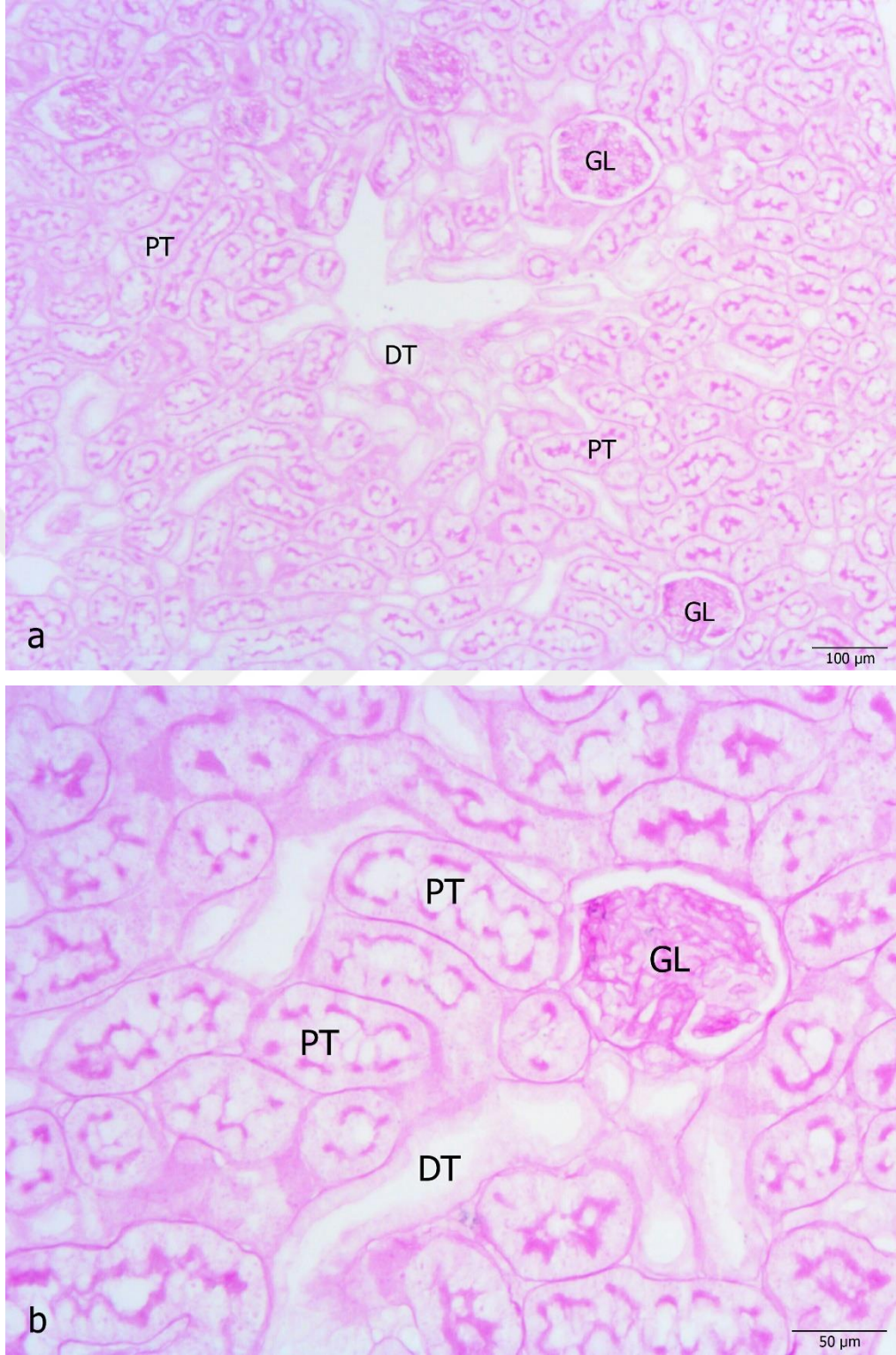
Şekil 4.5.15a-b: LPS uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), devamlılığını kaybetmiş fırça kenar (→) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=50 µm, PAS-H.



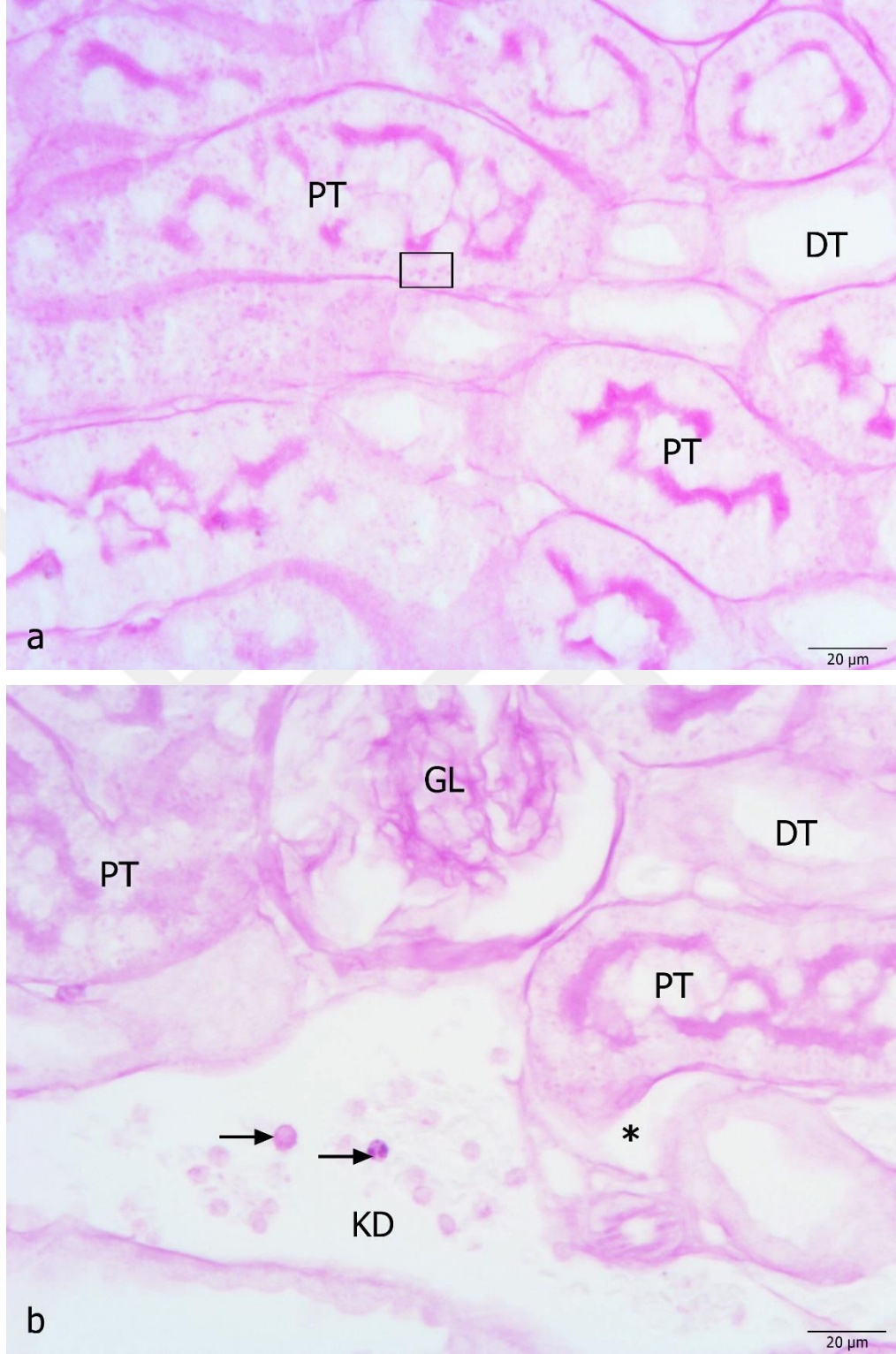
Şekil 4.5.16a-b: LPS uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), devamlılığını kaybetmiş fırça kenar (→), distal tübül (DT), peritübüler alan (*), kan damarı (KD) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 μm, PAS-H.



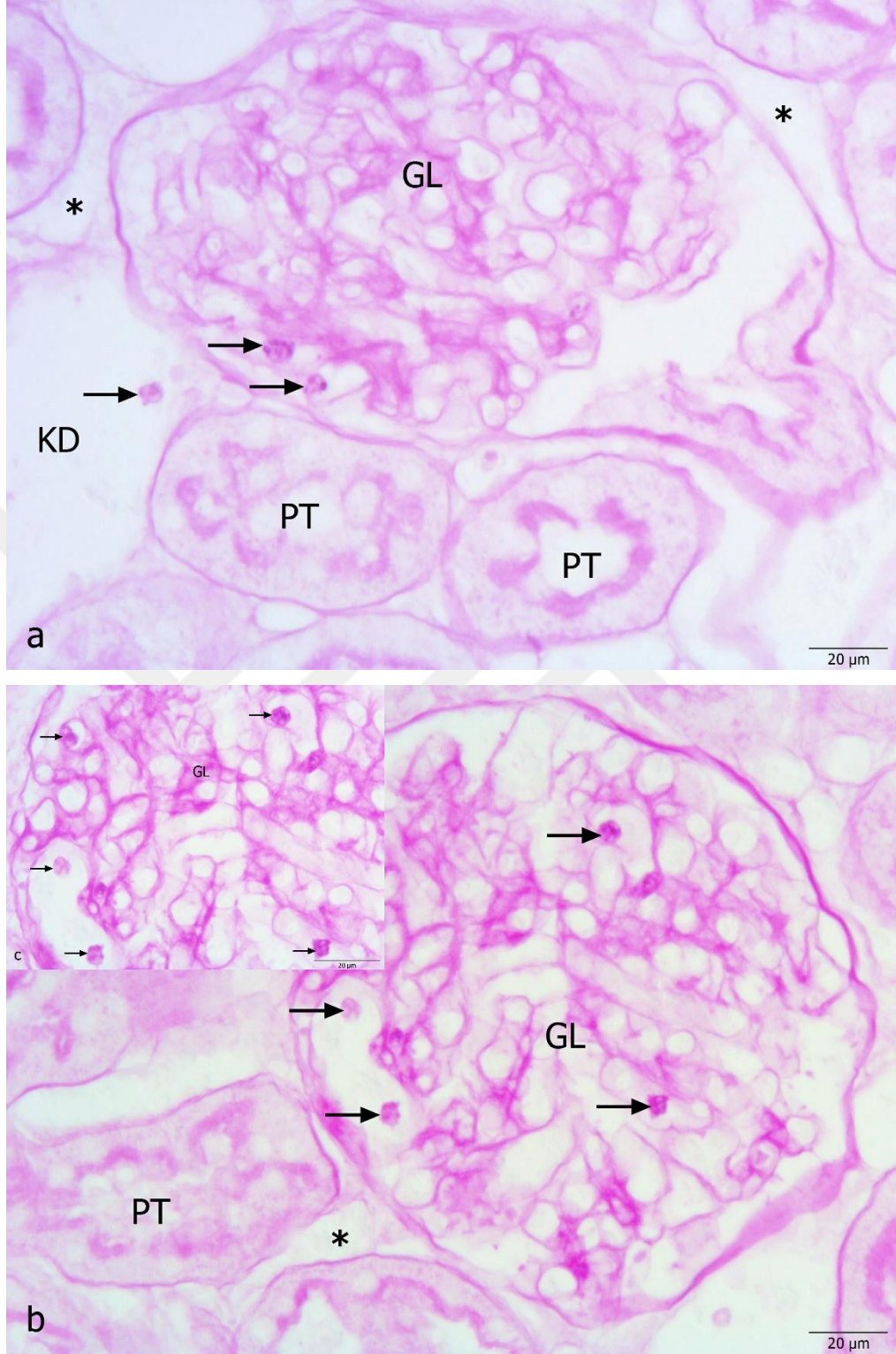
Şekil 4.5.17a-b: LPS uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), devamlılığını kaybetmiş fırça kenar (→), distal tübül (DT), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, PAS-H.



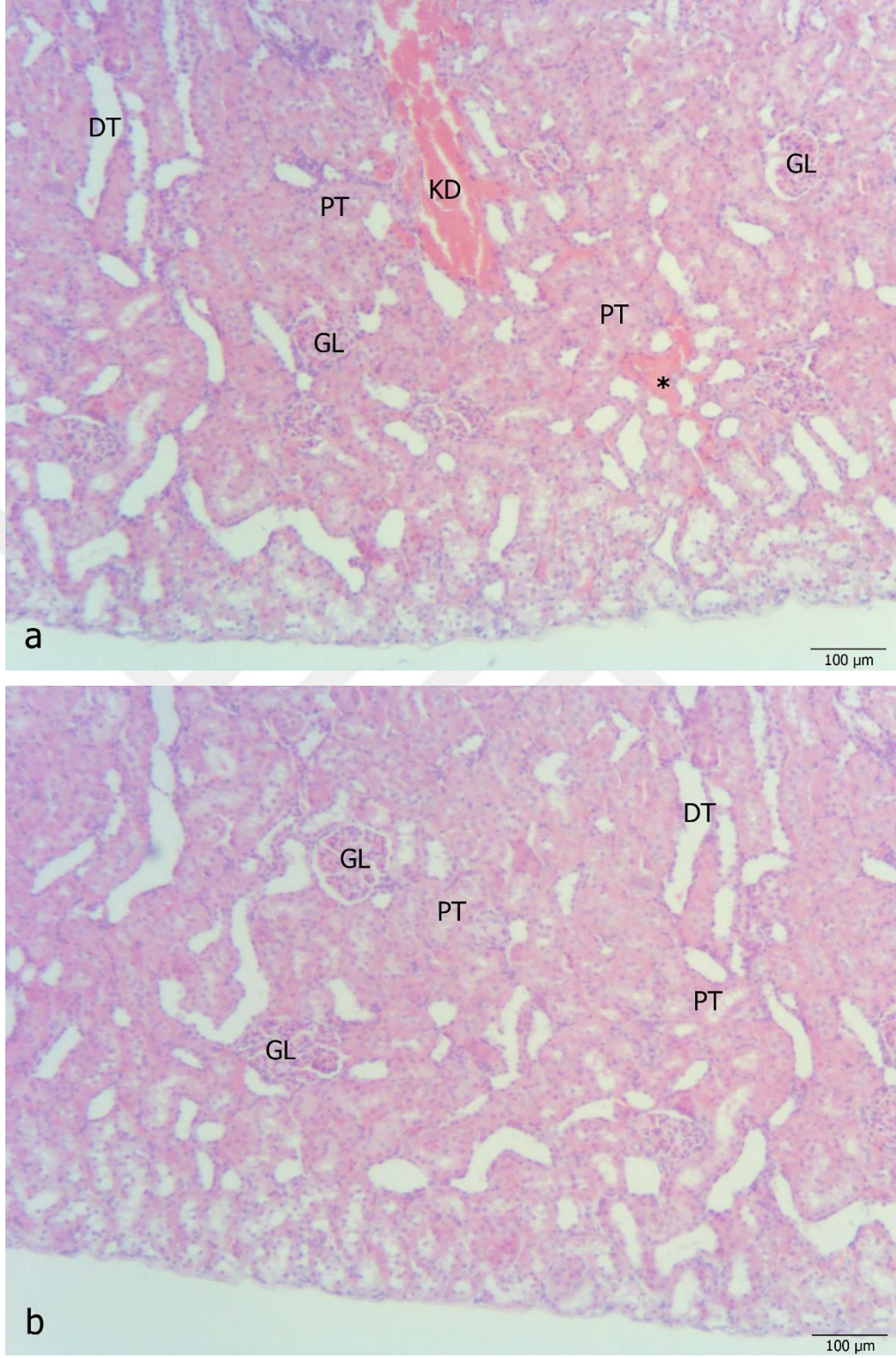
Şekil 4.5.18a-b: LPS uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a) Bar=100 µm, b) Bar=50 µm. PAS.



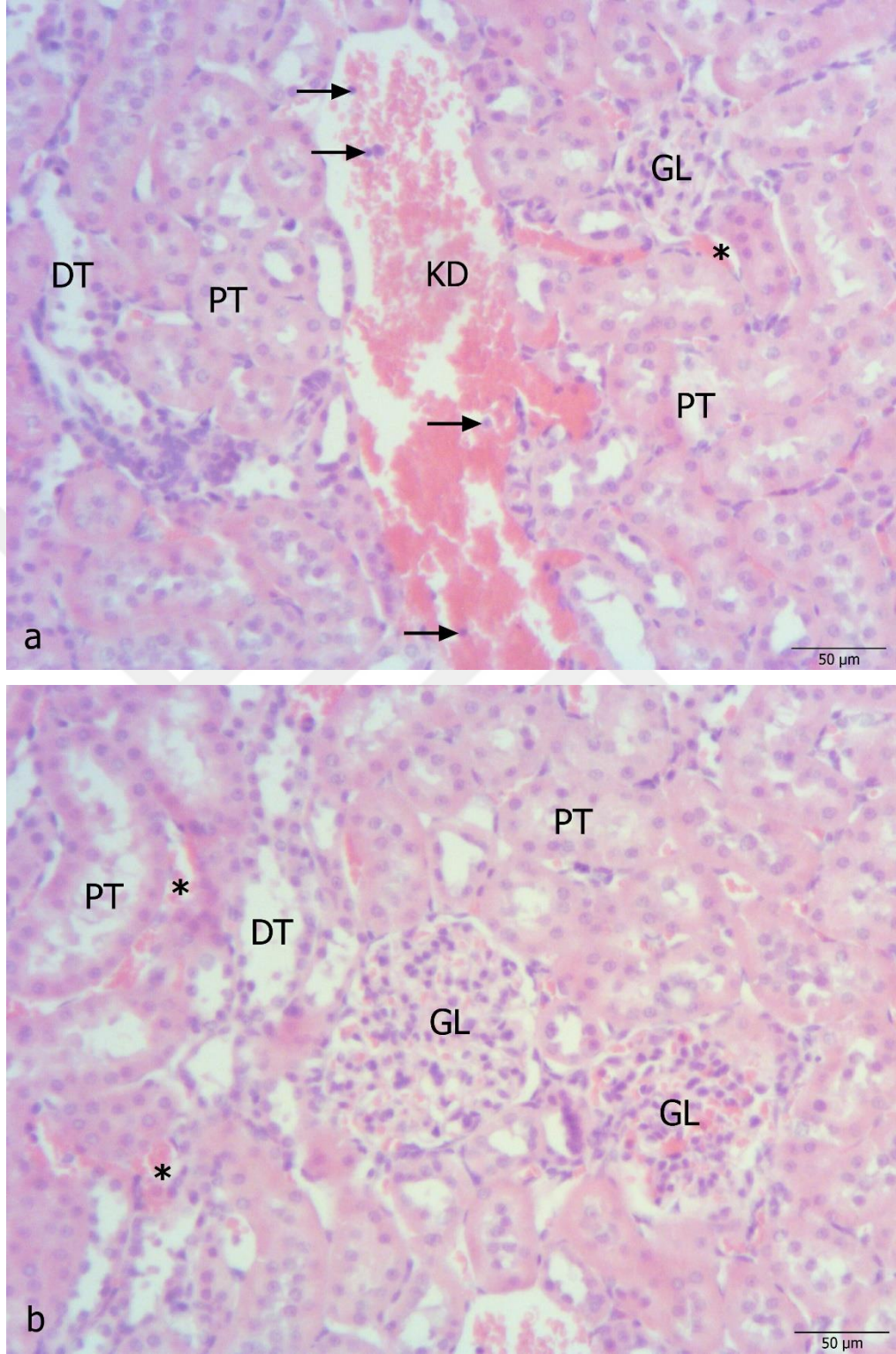
Şekil 4.5.19a-b: LPS uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), PAS ile boyalı materyal (□), distal tübül (DT), kan damarı (KD), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, PAS.



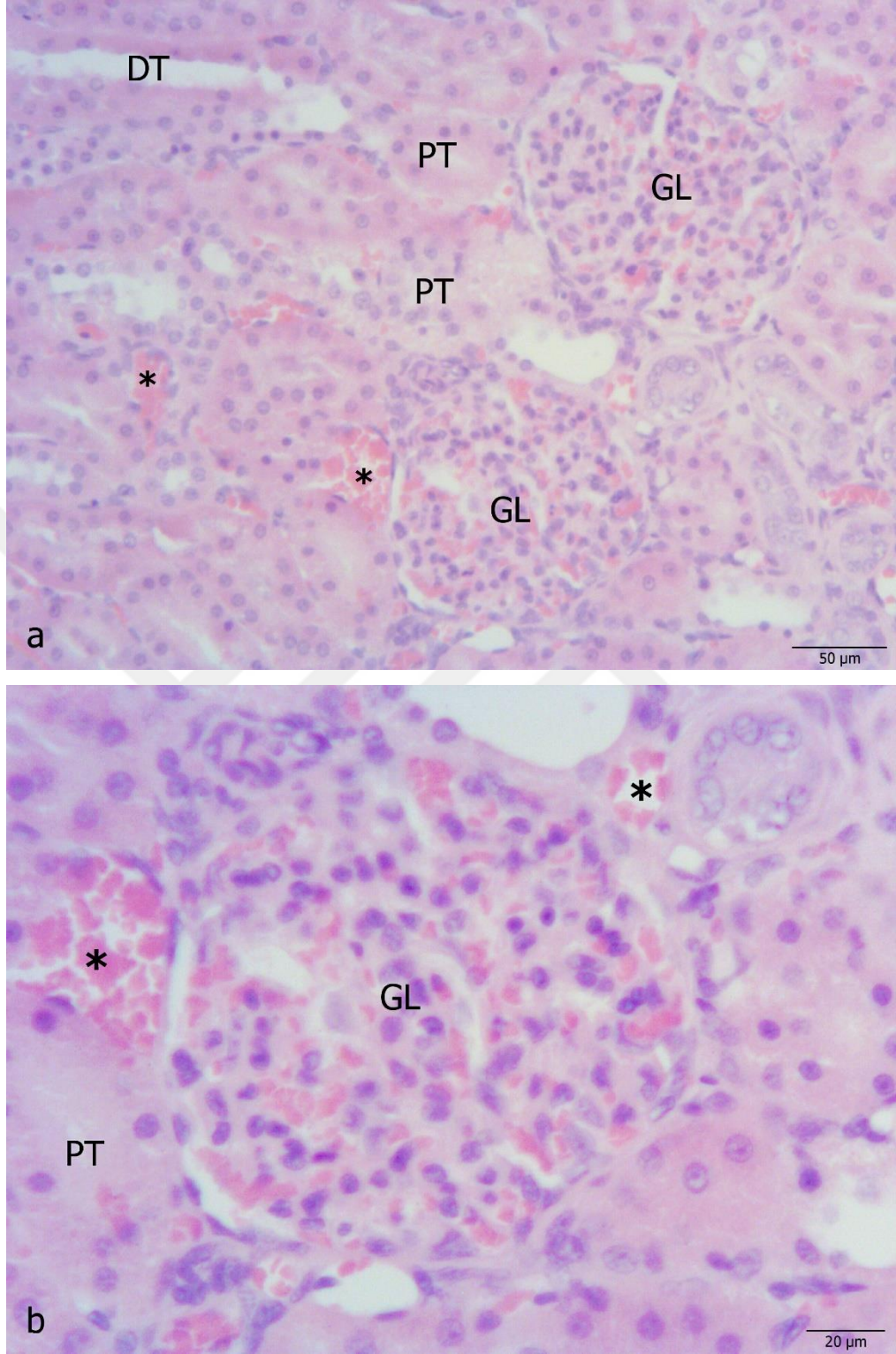
Şekil 4.5.20a-c: LPS uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-c) Bar=20 μm, PAS.



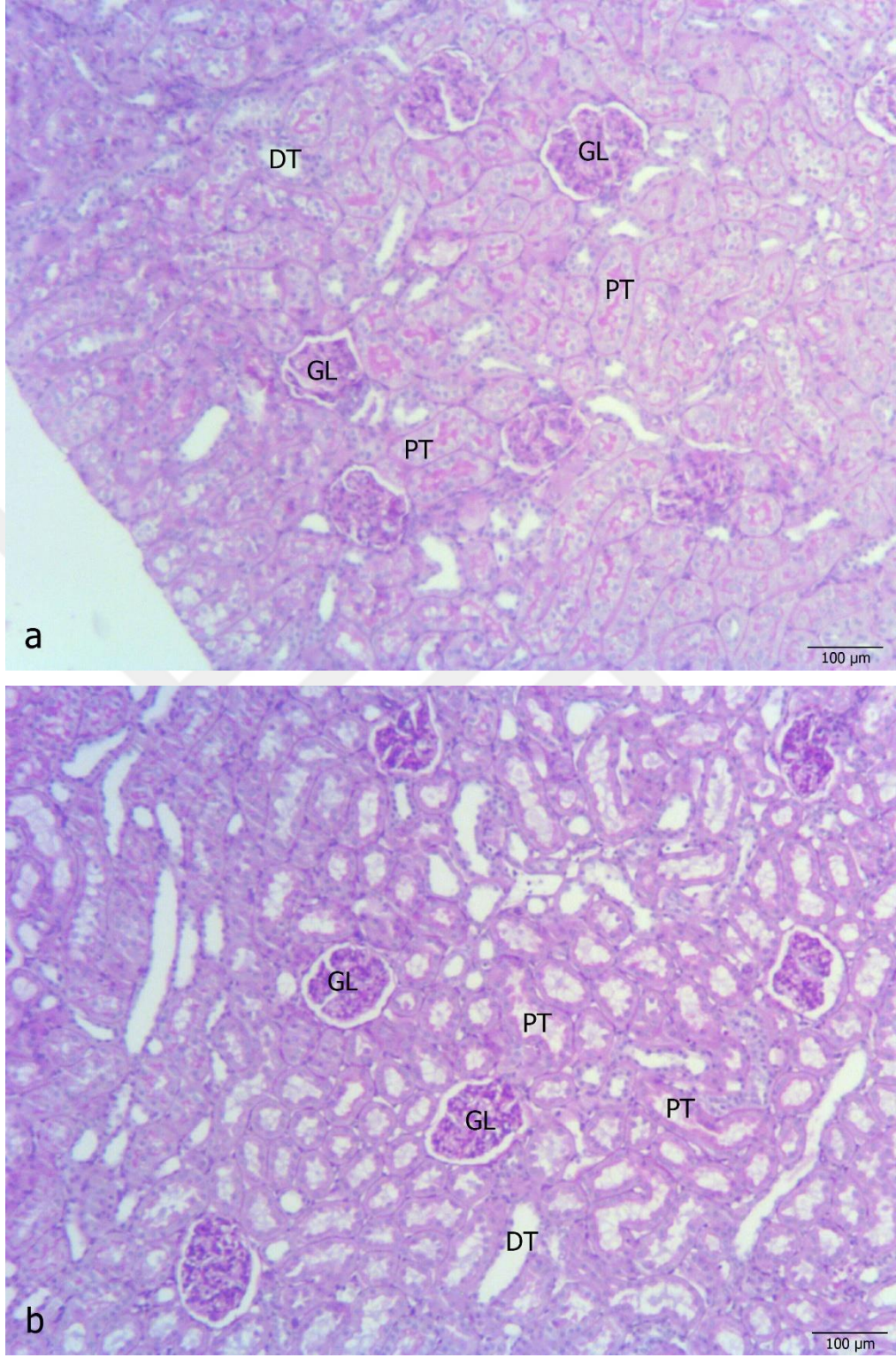
Şekil 4.5.21a-b: LPS+KYP-2047 uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD) ve peritübüler alan (*). a-b) Bar=100 µm, HE.



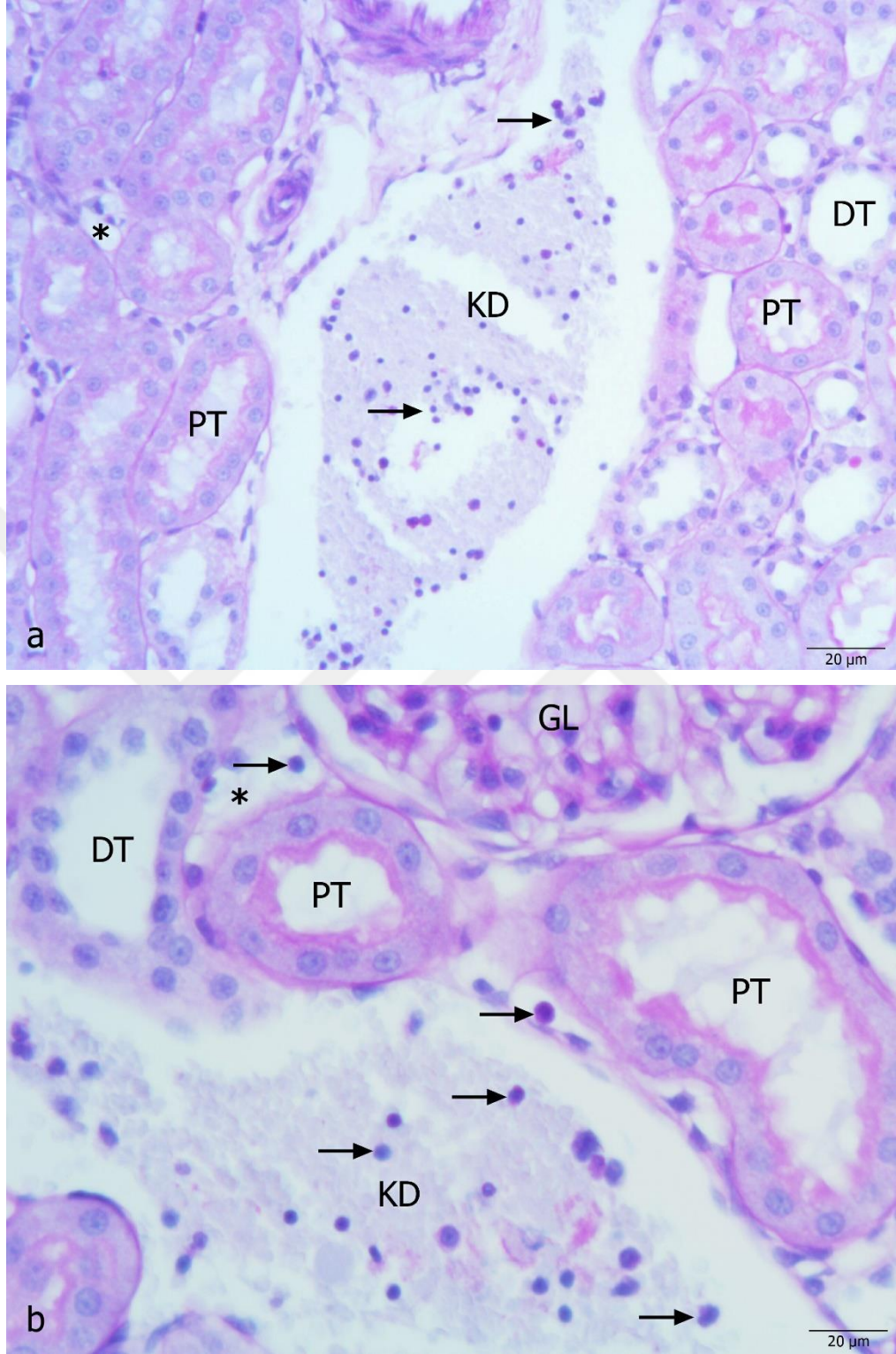
Şekil 4.5.22a-b: LPS+KYP-2047 uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=50 µm, HE.



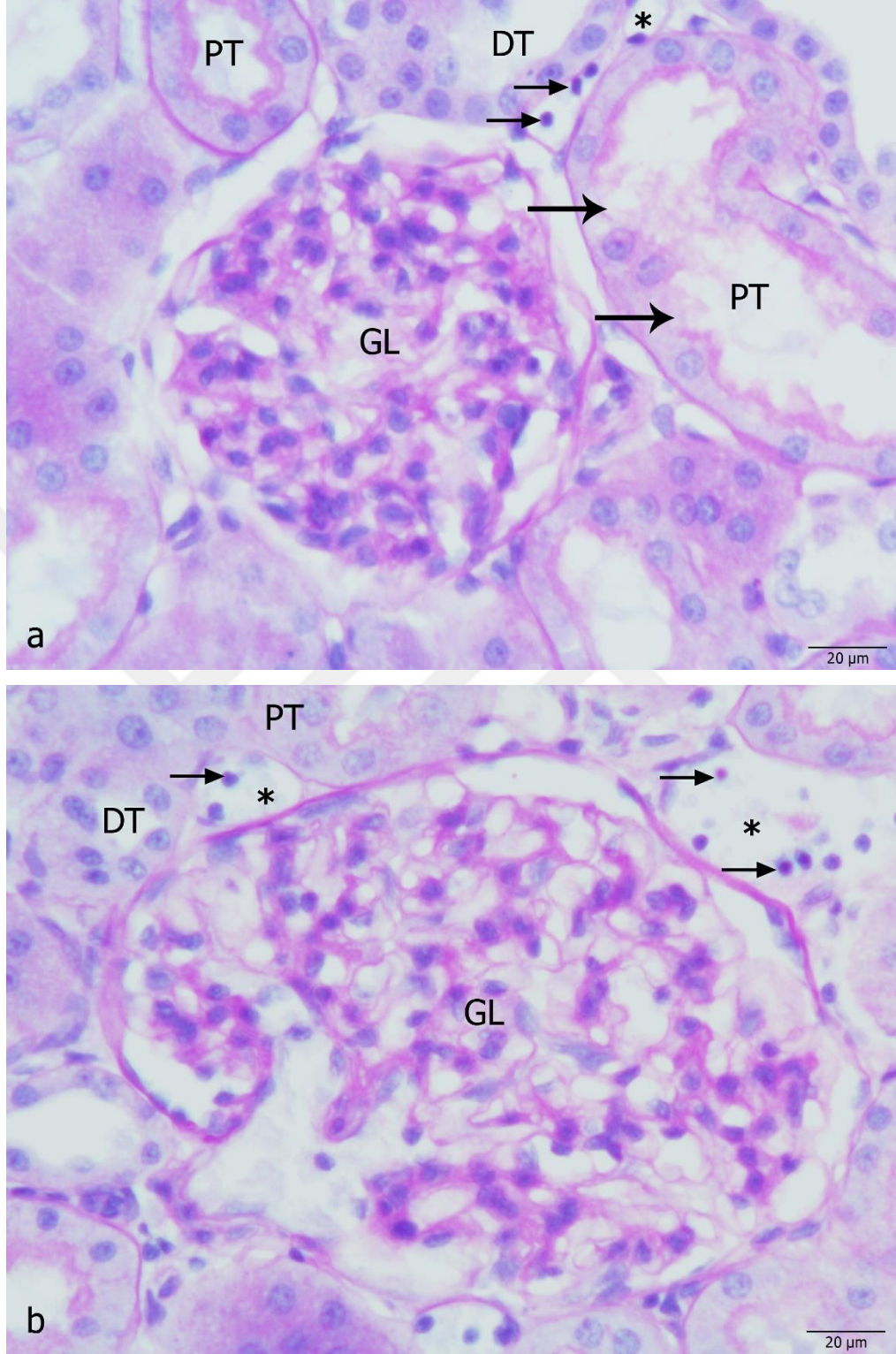
Şekil 4.5.23a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve peritübüler alan (*). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm HE.



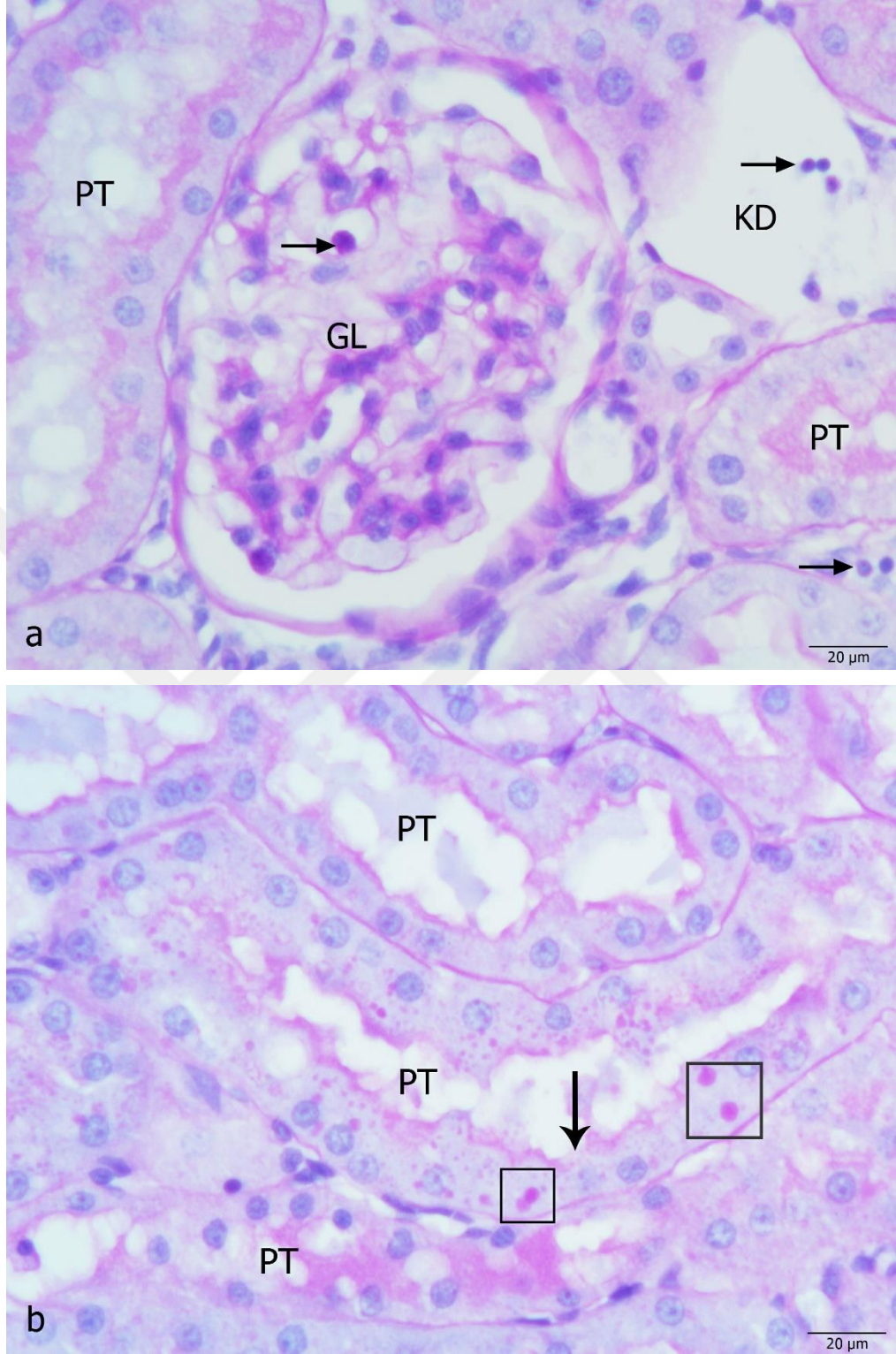
Şekil 4.5.24a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=100 µm, PAS-H.



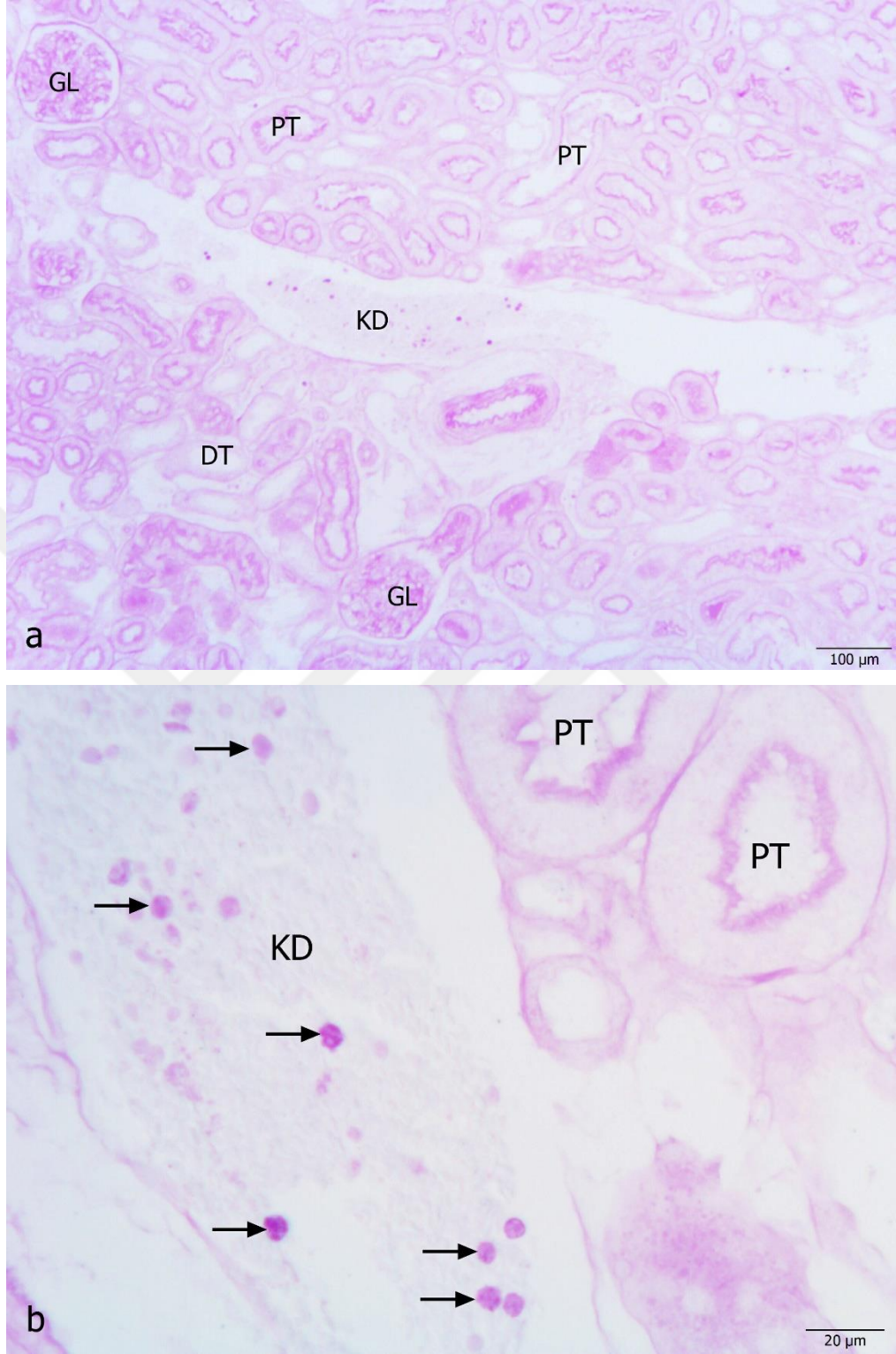
Şekil 4.5.25a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, PAS-H.



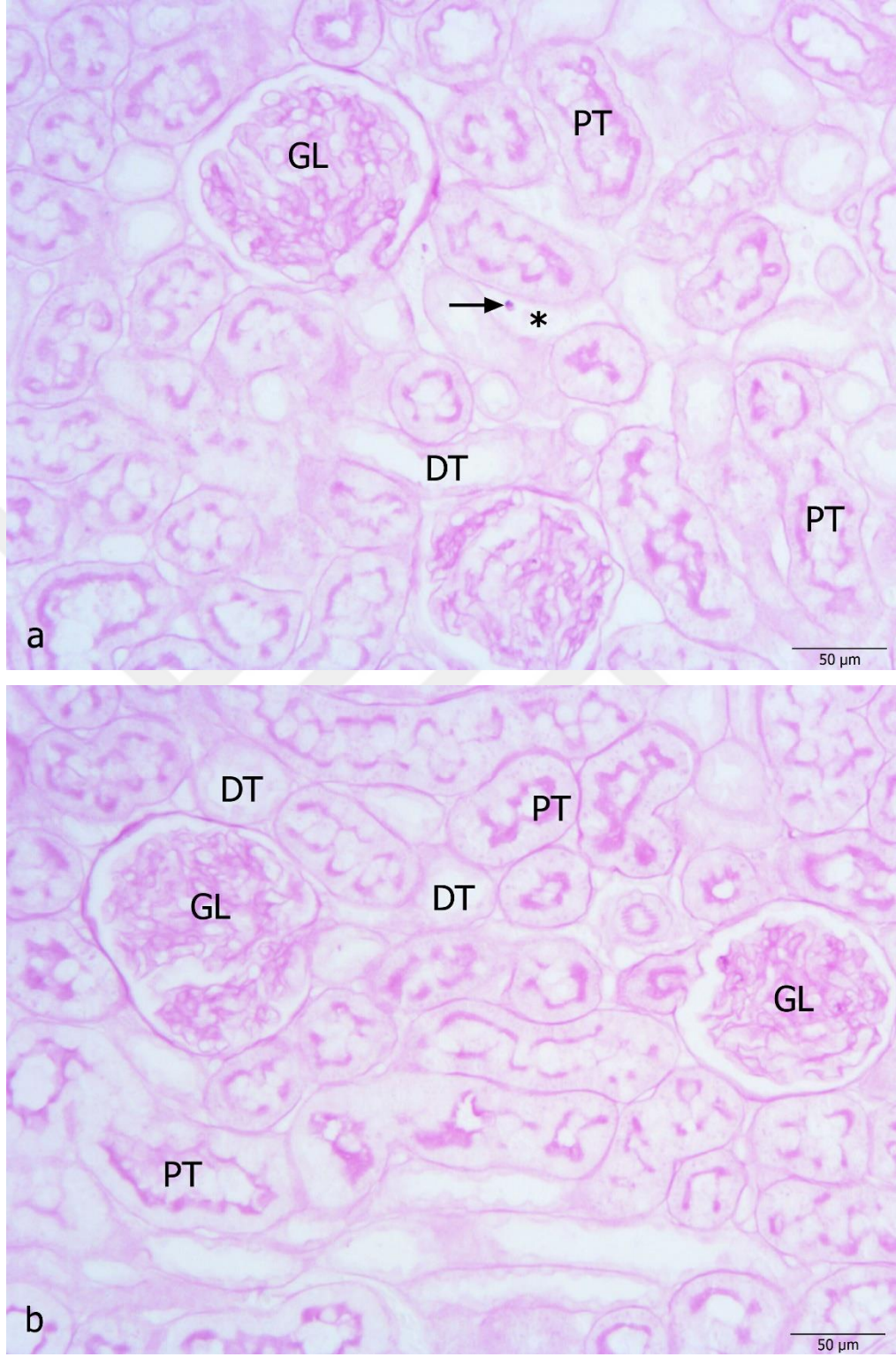
Şekil 4.5.26a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), peritübüler alan (*), lökositler (→) ve devamlılığını kaybetmiş fırça kenar (→). a-b) Bar=20 µm, PAS-H.



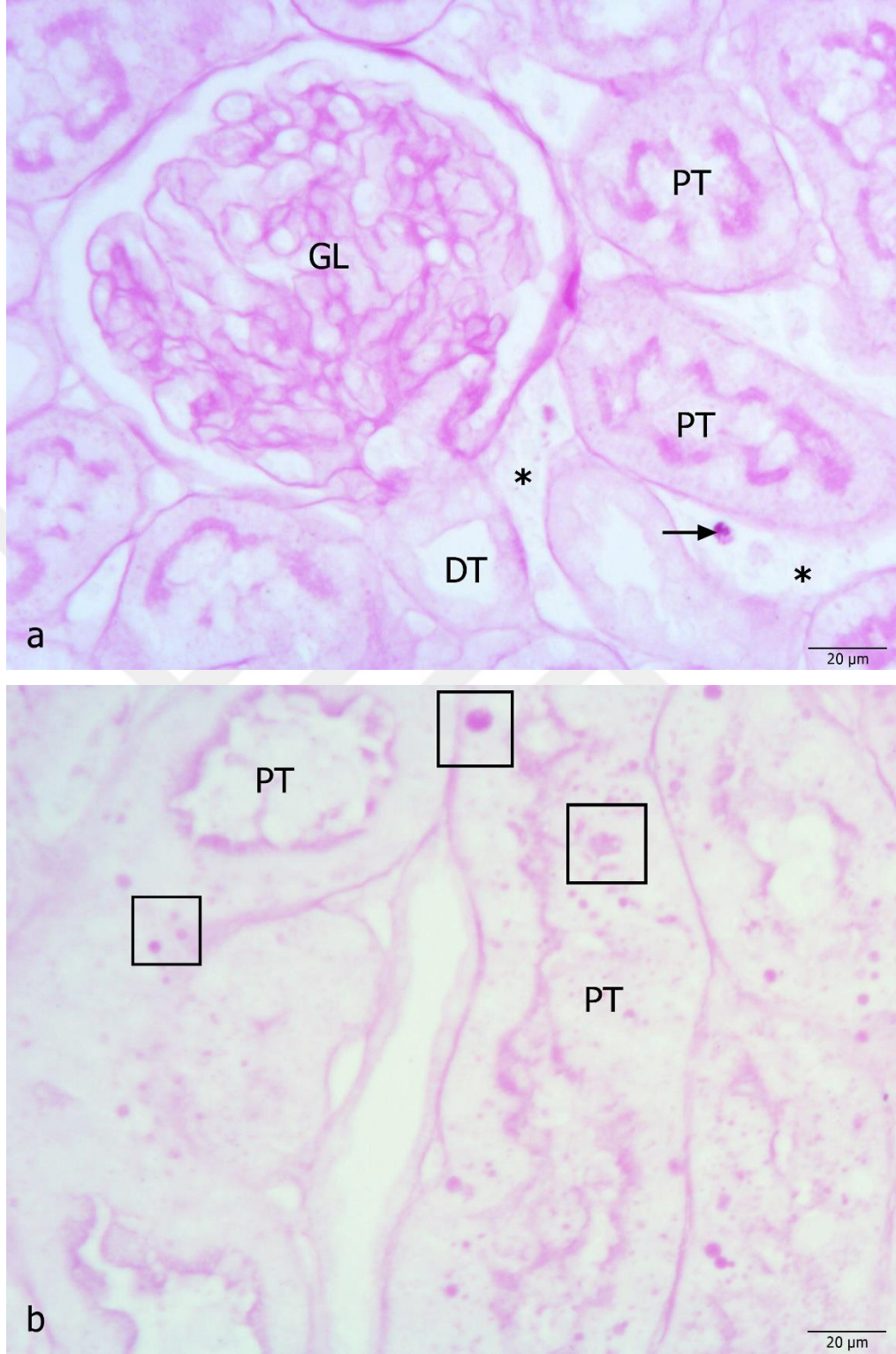
Şekil 4.5.27a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), devamlılığını kaybetmiş fırça kenar (→), PAS ile boyalı materyal (□) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 μm, PAS-H.



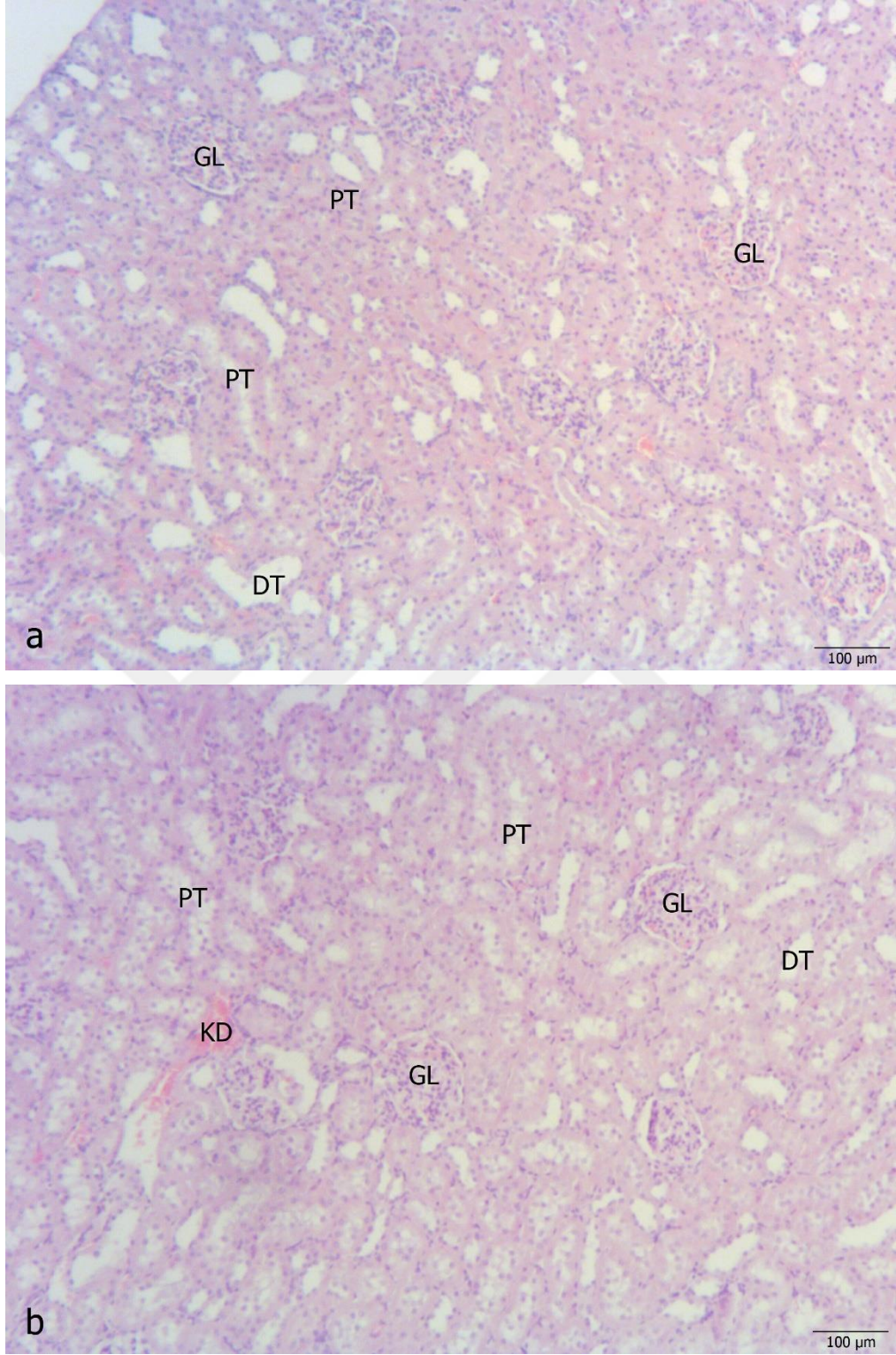
Şekil 4.5.28a-b: LPS +KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), kan damarı (KD) ve lökositler (→). a) Bar=100 µm, b) Bar=20 µm, PAS.



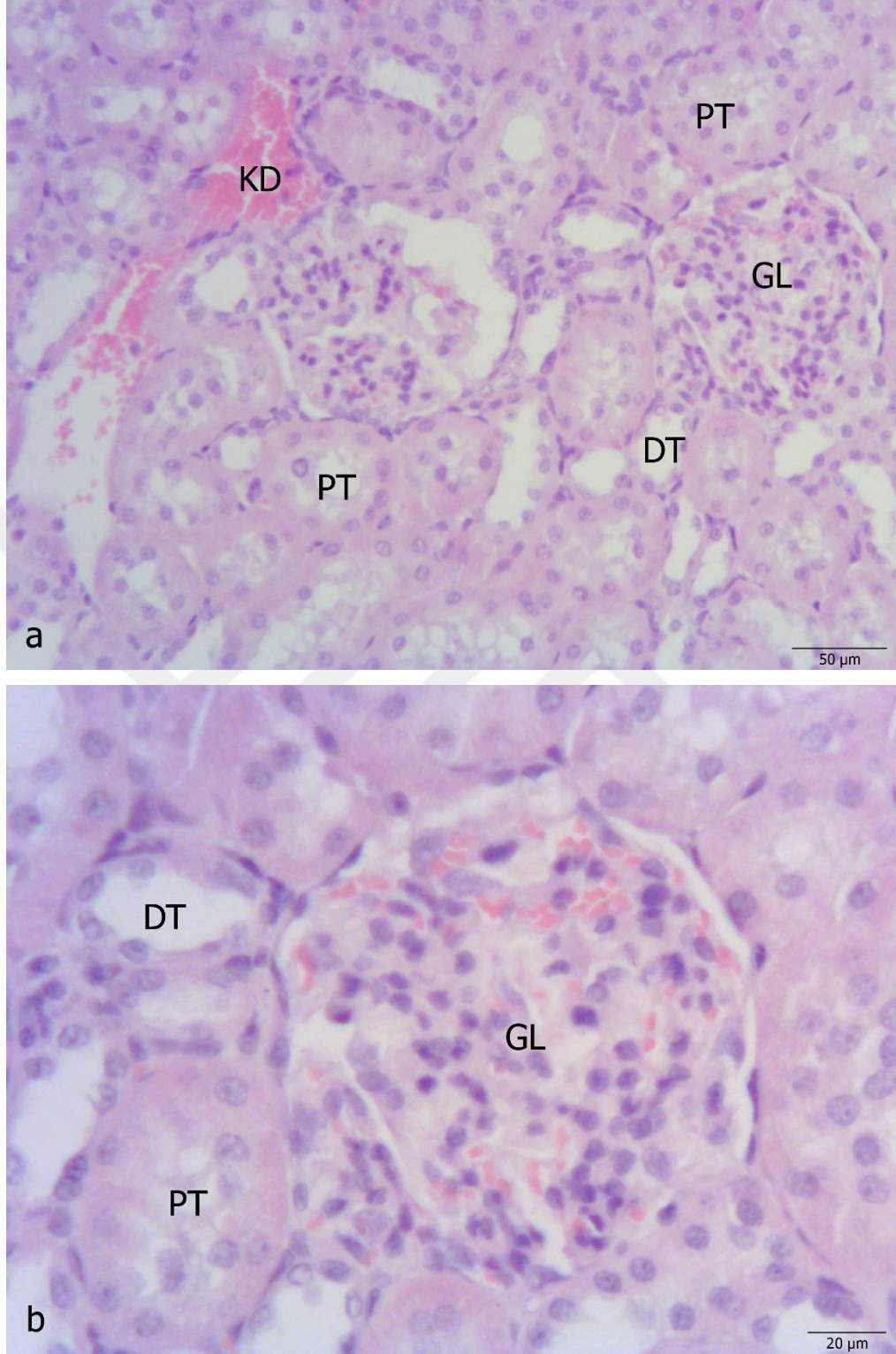
Şekil 4.5.29a-b: LPS +KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=50 µm, PAS.



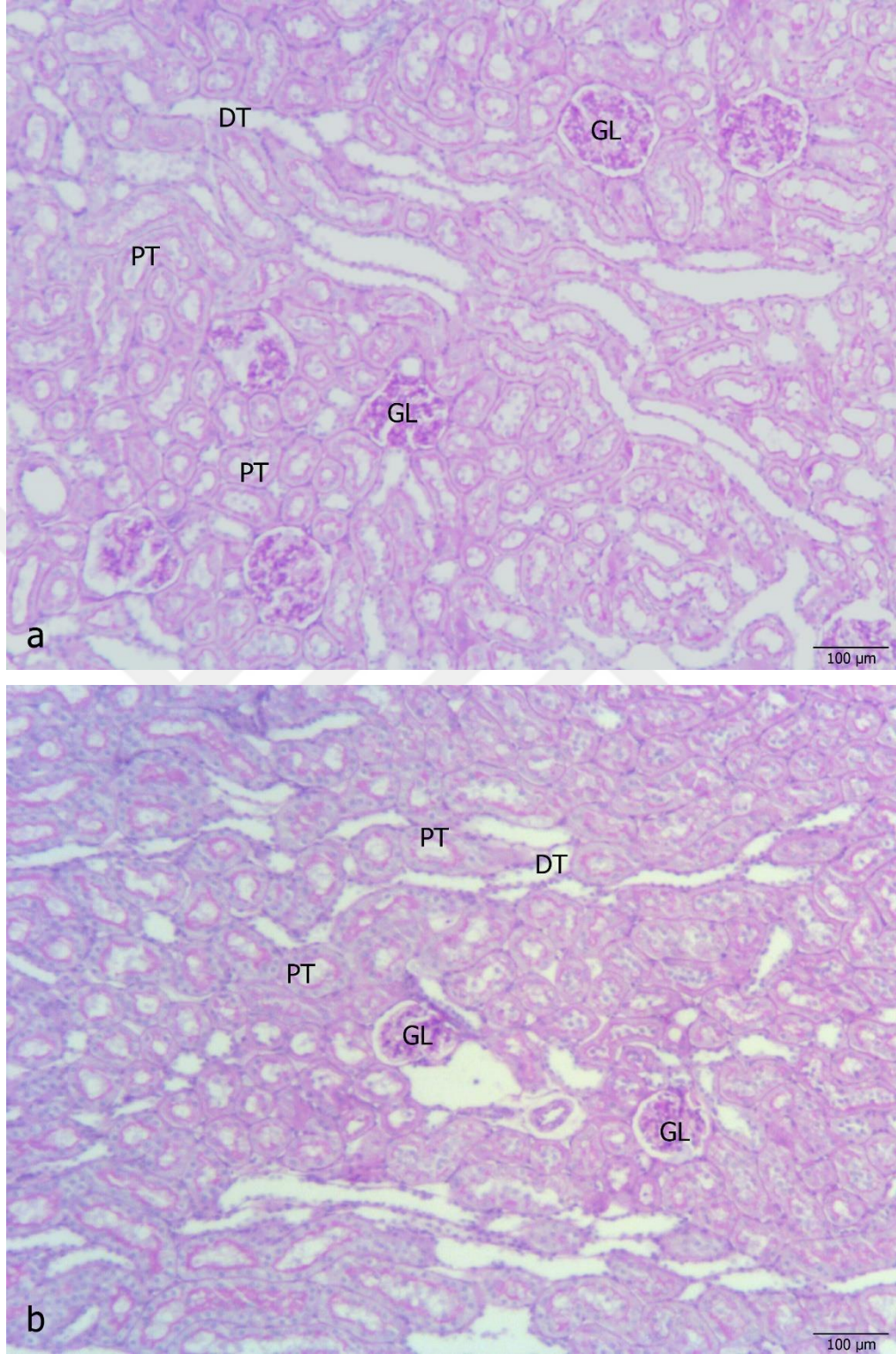
Şekil 4.5.30a-b: LPS+KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), PAS ile boyalı materyal (□), distal tübül (DT), peritübüler alan (*) ve lökositler (→). a-b) Bar=20 µm, PAS.



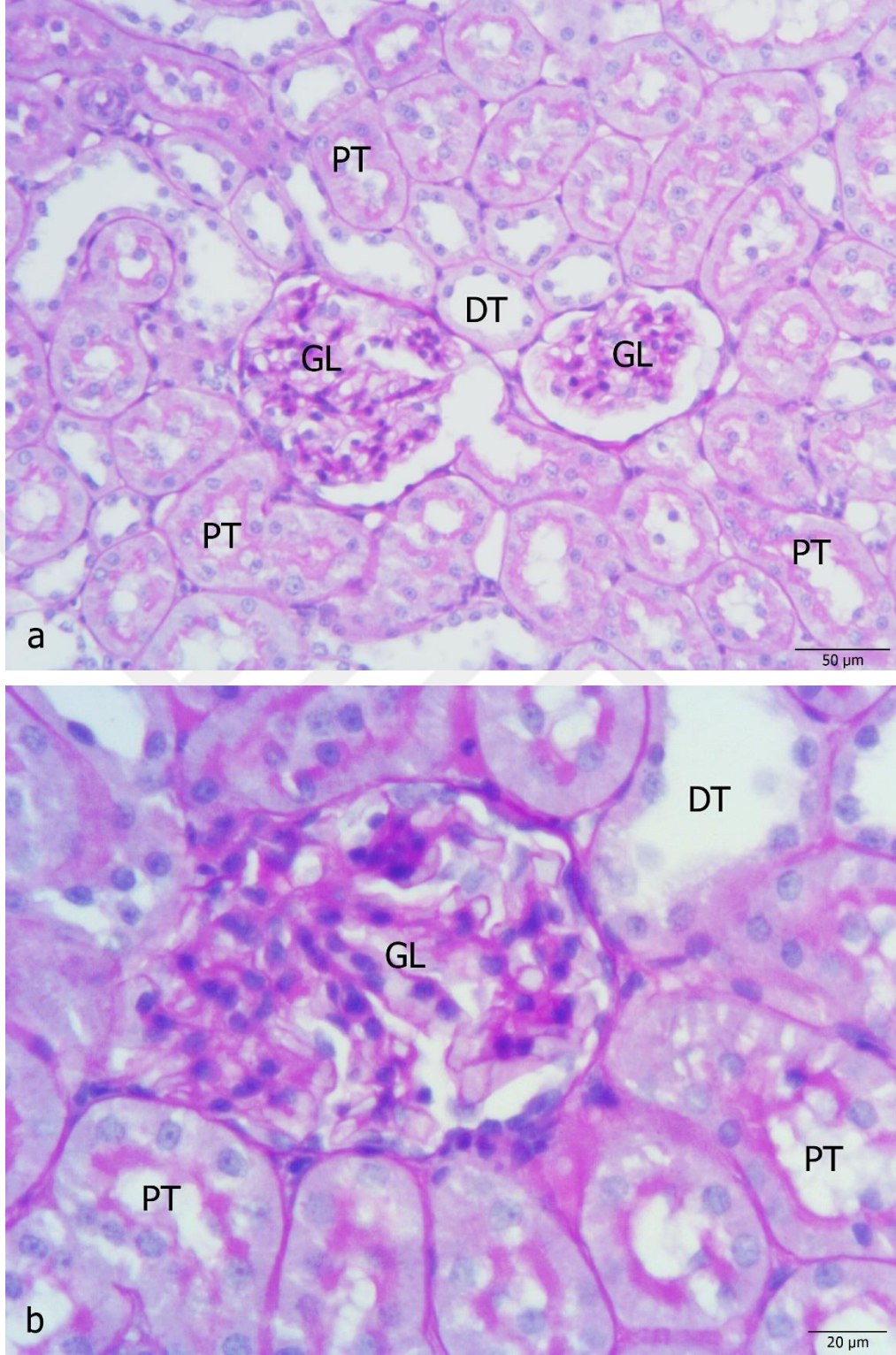
Şekil 4.5.31a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT) ve kan damarı (KD). a-b) Bar=100 µm, HE.



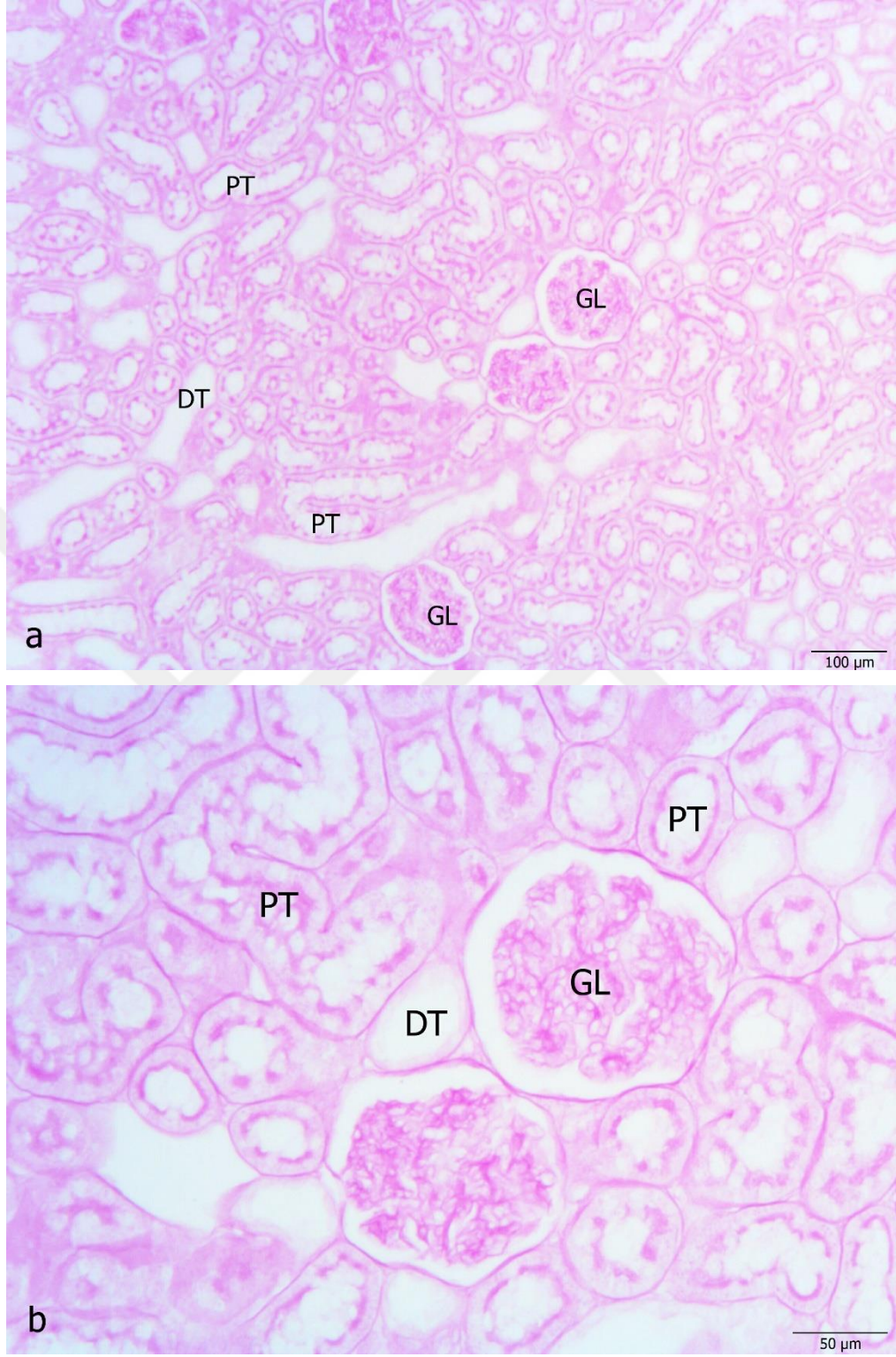
Şekil 4.5.32a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT) ve kan damarı (KD). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, HE.



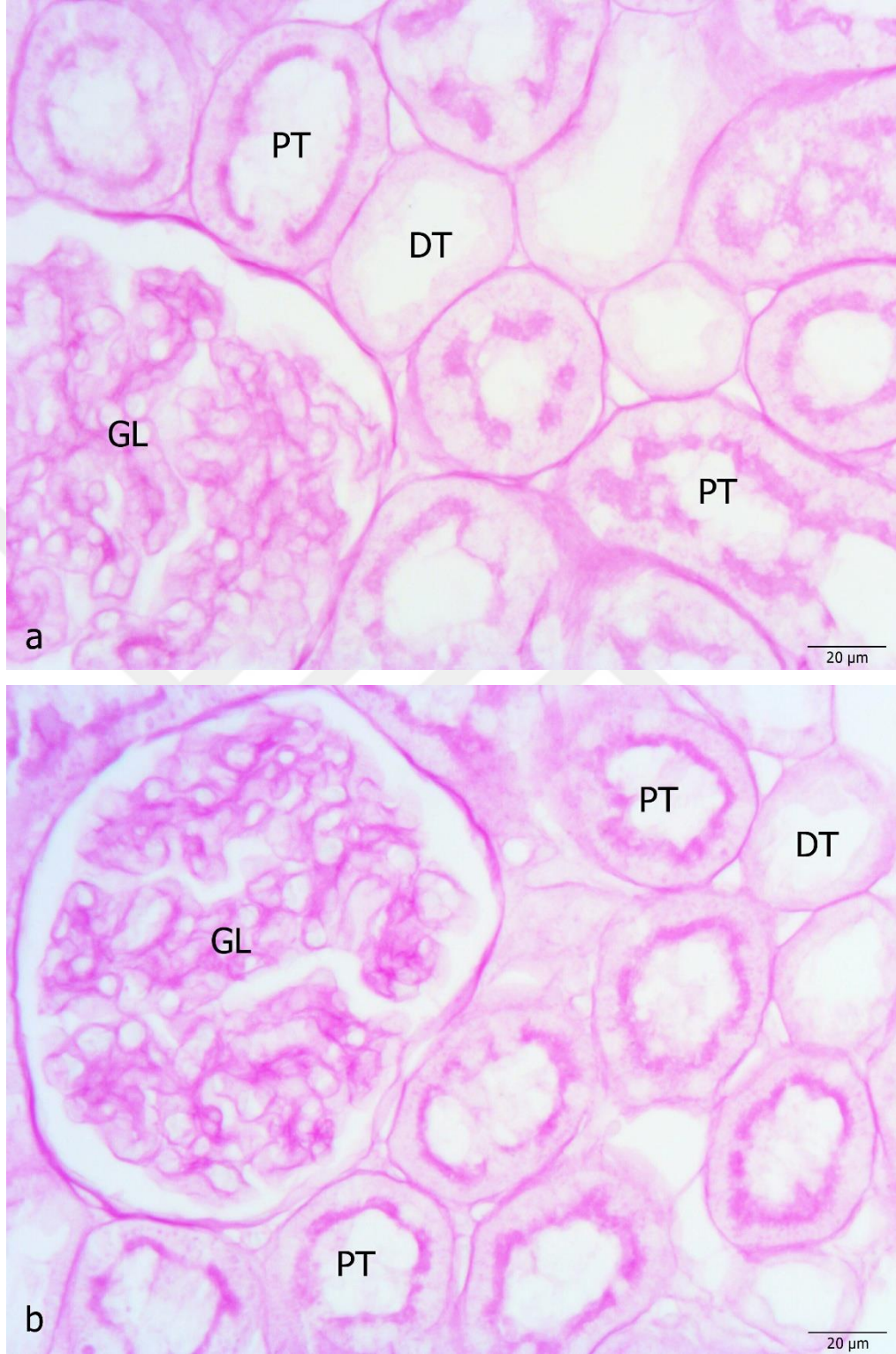
Şekil 4.5.33a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=100 µm, PAS-H.



Şekil 4.5.34a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a) Bar=50 µm, b) Bar=20 µm, PAS-H.



Şekil 4.5.35a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a) Bar=100 µm, b) Bar=50 µm, PAS.



Şekil 4.5.36a-b: KYP-2047 grubu hayvanlara ait böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT). a-b) Bar=20 µm, PAS.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

ABH, çeşitli patofizyolojik olaylar sonucu gerçekleşen ve hızla gelişen böbrek fonksiyon kaybı ile karakterize edilen ciddi bir sendromdur. ABH'nin kısa ve uzun vadeli sonuçları oldukça ciddidir ve mortalite ile morbidite riskinin artmasına neden olur. Hastanede yatan hastaların yaklaşık %2-5'inde görülmesine rağmen (Noel ve diğ. 2024), yoğun bakım ünitelerinde bu oran %50'ye kadar çıkmakta ve mortaliteyi belirgin biçimde artırmaktadır (Hoste ve diğ. 2015; Hoste ve diğ. 2018). ABH, yalnızca kısa vadeli sonuçları değil, aynı zamanda uzun dönemde kronik böbrek hastalığı (KBH)'na dönüşmesi, kardiyovasküler komplikasyonlar ve yaşam kalitesinde azalma gibi etkileriyle de dikkat çekmektedir (Gameiro ve diğ. 2020; Legrand ve Rossignol, 2020). Bu nedenle, ABH'nin patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması ve etkin tedavi stratejilerinin geliştirilmesi hem sağlık hem de temel bilimler araştırma alanında öncelikli hedeflerden biri haline gelmiştir.

ABH'nin en yaygın nedenlerinden biri sepsistir. Sepsise bağlı ABH, hastane kökenli ABH vakalarının yaklaşık %40–50'sinden sorumludur (Bagshaw ve diğ. 2008; Poston ve Koyner, 2019). Sepsise bağlı ABH hem kısa hem de uzun vadede morbidite ve mortaliteyi artırmakta, aynı zamanda KBH'ye ilerleme riskini de beraberinde getirmektedir (Hsu ve Hsu, 2016). Sepsisin karmaşık doğası, sistemik ve renal inflamasyon, dolaşım bozuklukları, oksidatif stres, mitokondri ile hücresel enerji metabolizmasındaki bozukluklar ve hücre ölümü gibi birden fazla patofizyolojik mekanizmanın eşzamanlı olarak devreye girmesiyle açıklanmaktadır (Gomez ve diğ. 2014; Peerapornratana ve diğ. 2019). Bu karmaşık ve dinamik mekanizmalar, sepsise bağlı ABH'yi tanımlayan özgün bir patofizyolojik tablo ortaya koymakta ve mevcut tedavi yaklaşımlarının çoğu durumda yetersiz kalınmasına neden olmaktadır (Lankadeva ve diğ. 2019). Sepsise bağlı ABH'nin tedavisi hem karmaşık patofizyolojik mekanizmaları hem de klinik araştırma sürecinin zorlukları nedeniyle ciddi bir problem olmaya devam etmektedir. Bu nedenle, stabil ve uygun preklinik modellerin seçilmesi, sepsisin karmaşık yapısını ve sepsise bağlı ABH'nin ilerleyici doğasını taklit edebilir (Dong ve diğ. 2024). Bu kapsamda, sepsis ve ilişkili ABH'nin patofizyolojik mekanizmalarının daha iyi anlaşılması ve terapötik hedeflerin belirlenmesi açısından hayvan modellerine dayalı deneysel çalışmalar büyük önem taşımaktadır (Dong ve Yang, 2018; Dong ve diğ. 2024).

Sepsis araştırmalarında deneysel hayvan modeli yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu modeller, insanda görülen sepsisin patofizyolojik süreçlerini belirli ölçüde taklit edebilmekte; dolayısıyla

hem sepsisin oluşum mekanizmalarını anlamaya hem de korunma ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır (Dong ve diğ. 2024). İdeal bir sepsise bağlı ABH hayvan modeli, hipermetabolik ve hiperdinamik kardiyovasküler yanıt, sistemik inflamasyon ve çoklu organ fonksiyon bozuklukları gibi sepsisle ilişkili temel özellikler ile karakterize edilmektedir (Balkrishna ve diğ. 2023). Literatürde yaygın olarak kullanılan başlıca hayvan modelleri arasında LPS modeli, peritoneal kontaminasyon ve enfeksiyon (PCI) modeli, çekal ligasyon ve delik açma (CLP) modeli, kolon ascendens stent peritoniti (CASP) modeli ve iki vuruş (two-hit) modeli bulunmaktadır (Fink, 2014; Dong ve diğ. 2024). Bu modellerin her birinin avantajları ve sınırlılıkları bulunmaktadır.

LPS modeli, sepsisin neden olduğu ABH ile ilişkili araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu model, sepsisin patofizyolojisini ve klinik belirtilerini belirli ölçüde taklit edebilmekte ve nispeten benzerlik göstermektedir (Hukriede ve diğ. 2022; Fu ve diğ. 2024). LPS, Gram-negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan bir endotoksin olup sistemik dolaşıma verildiğinde, şiddetli bir inflamatuvar yanıt oluşturarak sepsis ile ilişkili ABH'nin erken evrelerini taklit edebilmektedir. Bu modelde, serum kreatinin ve kan üre azotu (BUN) düzeylerinde anlamlı artış gözlenirken glomerular filtrasyon hızı (GFH)'nda azalma meydana gelmektedir (Gu ve diğ. 2019; İslam ve diğ. 2019; Shimokawa ve diğ. 2020; Knotek ve diğ. 2001; Sun ve diğ. 2021; Zhang ve diğ. 2022). Aynı zamanda LPS infüzyonu veya enjeksiyonu akut endotoksemiye yol açarak sistemik arteriyel hipotansiyon, laktik asidoz, miyokard kontraktilesinde bozulma ve dolaşımdaki TNF ve IL-6 gibi proinflamatuvar aracılardan seviyelerinde artışa neden olmaktadır (Fink, 2014). LPS, sistemik dolaşıma girdikten sonra başlıca TLR aracılığıyla bağışıklık sistemini aktive eder ve TNF- α , IL-1 β ve IL-6 olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin sentezini tetikleyerek sepsise bağlı ABH patogeneğinde kritik rol oynayan şiddetli inflamatuvar yanıt oluşturur (Genth-Zotz ve diğ. 2002; Heumann ve Roger, 2002; Nechemia-Arbely ve diğ. 2008; Kawai ve Akira, 2010; Zarjou ve Agarwal, 2011). Bu süreç, böbrek tübül hücrelerinde hücre ölümünün gelişmesine ve doğrudan ya da dolaylı olarak sepsise bağlı ABH'ye katkıda bulunur (Bellomo ve diğ. 2017).

LPS modeli, özellikle sepsisin erken fazında meydana gelen inflamatuvar yanıtı anlamak ve patofizyolojik olayların değerlendirilmesi açısından oldukça değerlidir. Bununla birlikte, enfeksiyonun canlı patojenlerle oluşmadığı, dolayısıyla mikrobiyal invazyonun ve immün yanıtın tüm evrelerini kapsamadığı için klinik gerçeğliliği sınırlıdır (Seemann ve diğ. 2017; Fu ve diğ. 2024). Bu sınırlılıklarına rağmen, hızlı uygulanabilirliği, uygulama miktarının

kontrolünün kolaylığı, basit ve yüksek tekrarlanabilirliği gibi birçok avantaja sahiptir ve deneysel çalışmalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Seemann ve diğ. 2017; Fu ve diğ. 2024).

Bu bilgilere dayanarak, çalışmamızda LPS modeli kullanılmıştır. Bununla birlikte, literatürde farklı serotiplerde, dozlarda ve sürelerde LPS uygulanmasıyla deneysel modellerin oluşturulduğu görülmüştür. Bu modellerde, endotokseminin ciddi hipotansiyon ve böbrek hasarına yol açarak sepsise dönüştüğü gösterilmiştir. Bu çalışmalardan biri olan ve Ergin ve diğ. (2016) tarafından gerçekleştirilen, 5 mg/kg LPS'nin iv olarak uygulandığı ve altı saatlik deney süresi boyunca hayvanların fizyolojik parametrelerinin *in vivo* olarak değerlendirildiği çalışmaya dayanarak çalışmamızda serotipi *E. coli*, 0127: B8, dozu 4 mg/kg olarak belirlenen LPS jugular venden iv olarak uygulanmıştır. Deney, uygulamadan altı saat sonra sonlandırılmıştır.

Ergin ve diğ. (2016)'ın yaptıkları çalışmada, LPS infüzyonunun, kontrol grubuna kıyasla ortalama arter basıncında (MAP) ($45,8 \pm 7,9$ mmHg) ve renal kan akımında ($0,7 \pm 0,6$ ml/dak) bir düşüşe, plazma laktat düzeyinde ve Anyon Gap değerlerinde anlamlı düzeyde artışa, baz fazlalığı, pH ve bikarbonat düzeylerinde ise azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, LPS'nin böbrekte proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL-6 düzeylerini de arttırdığı ifade edilmiştir (Ergin ve diğ. 2016). Bu çalışmaya benzer bir şekilde Legrand ve diğ. (2011)'nin yaptığı araştırmada, otuz dakika süresince LPS (2,5 mg/kg, serotip *E. coli*, 0127:B8) infüzyonunun, MAP'ta bifazik bir düşüşe neden olduğu rapor edilmiştir. MAP'ın ilk otuz dakikada başlangıç seviyesinin yaklaşık %65'ine kadar düştüğü, ardından yaklaşık üç saat boyunca başlangıç seviyesine yeniden yükseldiği ve deney sonu olan altıncı saatte başlangıç seviyesinin yaklaşık %55'ine kadar tekrar azaldığı tespit edilmiştir. Yine bu çalışmada arteriyal kan gazı değerlerinden pO_2 ve pCO_2 değerlerinin değişmediği ancak pH ve bikarbonat değerlerinin azaldığı, baz eksikliği değerinin arttığı görülmüştür. Ayrıca LPS infüzyonunun, plazma IL-6, IL-10 ve TNF- α düzeylerinde belirgin bir artışa yol açtığı tespit edilmiştir (LeGrand ve diğ. 2011).

Bizim çalışmamızda elde edilen bulgular bu çalışmalar ile oldukça benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda LPS uygulamasından altı saat sonra abdominal aortadan alınan arteriyal kan örnekleri analiz edildiğinde laktat düzeylerinin ve buna paralel olarak hidrojen iyon konsantrasyonunun arttığı, pH'nın, bikarbonat iyon konsantrasyonlarının ve baz fazlalığının ise azaldığı belirlenmiştir. Arteriyal kan gaz değerlerine bakıldığında pO_2 ve pCO_2 değerlerinde

değişim tespit edilmemiştir. Bu değerlere bakıldığında deneysel modelimizde LPS uygulaması ile asidozun gerçekleştiği, pO_2 ve pCO_2 değerleri değişmezken, pH değerinin azalmasına laktat değerleri ile hidrojen iyon konsantrasyonunun artmasının ve bikarbonat değerlerinin azalmasının eşlik etmesi metabolik asidozun gerçekleştiğini açıkça göstermektedir. LPS uygulanan hayvanlarda kan gazı değerlerinin değişmemesine karşın laktat değerlerinin önemli bir şekilde artması, hipotansiyon ve doku perfüzyonunun bozulması ile dokunun yeterli şekilde oksijenlenemediğini ve metabolik olarak enerji ihtiyacını oksijensiz solunum ile gerçekleştirdiğini açıkça işaret etmektedir. Ayrıca, kandaki methemoglobin değerlerinin ciddi bir şekilde yükselmesi de oksijen dağıtımında ciddi problemlerin olduğunu açıkça desteklemektedir. Laktik asidoz, geleneksel olarak doku hipoksisi ile ilişkilendirilmiştir (Fulton ve diğ. 2023). Buna ek olarak LPS uygulanan hayvanlarda glikoz değerlerinin belirgin bir şekilde düştüğünün saptanması bu bulgularımızı pekiştirmektedir. Bu bulgularımız, LPS uygulamasıyla oluşan endotokseminin açıkça sepsis tablosuna ilerlediğini ve deneysel modelimizin başarılı bir şekilde oluştuğunu desteklemektedir.

LPS, monositler ve makrofajlarda bulunan TLR4 aracılığıyla TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimi ve bunun sonucunda inflamasyona yol açtığı bilinmektedir (Genth-Zotz ve diğ. 2002; Heumann ve Roger, 2002; Nechemia-Arbely ve diğ. 2008; Kawai ve Akira, 2010; Zarjou ve Agarwal, 2011). Ayrıca inflamasyonun en önemli belirteçlerinden biri olarak kabul edilen akut faz proteini olan CRP'nin de sitokin artışına eşlik ettiği bilinmektedir. CRP, inflamasyon derecesine orantılı olarak yükselmektedir (Sproston ve Ashworth, 2018). Birçok çalışmada, LPS uygulaması ile oluşturulan ABH'de proinflamatuvar sitokinler ile CRP düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (Gu ve diğ. 2019; Islam ve diğ. 2019; Aydın ve diğ. 2020; Shimokawa ve diğ. 2020; Sun ve diğ. 2021; Fan ve diğ. 2022; Baris ve diğ. 2023). Heinzl ve diğ. (2022) tarafından gönüllü insanlar üzerinde gerçekleştirilen çalışmada, LPS uygulamasının ardından IL-6 ve CRP düzeylerinin arttığı gözlemlenmiştir. *E. coli* enjeksiyonu ile sepsis modelinin oluşturulduğu çalışmada, serumda CRP, TNF- α , miyeloid hücrelerde ifade edilen tetikleyici reseptör 1 ve malondialdehit (MDA) düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı, benzer şekilde böbrek dokusunda da bu parametre seviyelerinde belirgin artış saptanmıştır (Aydın ve diğ. 2020). Han ve diğ. (2024) tarafından yapılan çalışmada, CLP yöntemi ile oluşturulan başka bir sepsis modelinde doku ve plazmada proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α ve IL-1 β artışı ve buna ek olarak serum kreatinin, BUN, sistatin C, nötrofil jelatinazla ilişkili lipokalin (NGAL) ve KIM-1 düzeylerinde de artış tespit etmişlerdir. CLP ile sepsis oluşturulan başka bir araştırmada, sıçanlarda plazma ve dokuda TNF- α ve IL-1 β düzeylerinde anlamlı artış

gözlemlenmiş, aynı zamanda serum kreatinin, plazma KIM-1 ve NGAL seviyelerinin de yükseldiği tespit edilmiştir (Fan ve diğ. 2022). Bu çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda da LPS uygulaması hem serum hem de dokuda CRP düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı, proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α ve IL-6 seviyelerinde yükselmenin olduğu görülmüştür.

İnflamatuvar araçların etkisiyle gelişen endotel hasarı ve glikokaliks tabakasının bozulması, lökosit ve trombositlerin endotel yüzeyine adezyonunu ve yuvarlanmasını artırır, bununla birlikte mikro dolaşımda kan akış hızının azalmasına yol açar. Bu durum, potansiyel olarak mikro pıhtı oluşumuna ve kapillerlerdeki tıkanmalara duyarlılığı artırarak buna zemin hazırlar. Ayrıca endotel bütünlüğünde bozulma, kapiller geçirgenliğinin artmasıyla damar dışına sıvı sızmasına, peritübüler alanda ödeme ve sonuç olarak, kapillerlerden tübül hücrelerine oksijenin difüzyon mesafesini arttırarak perfüzyonun azalmasına ve hücresel düzeyde hipoksinin oluşmasına neden olur (Almac ve diğ. 2006; Dyson ve diğ. 2011; Rajendram ve Prowle, 2014; Post ve diğ. 2017). Sonuç olarak dolaşım bozukluğu, inflamasyon, hipoksi, metabolizmadaki bozukluklar gibi tüm bu değişiklikler sepsise bağlı ABH'ye yol açmaktadır (Ning ve diğ. 2021). Sepsisin teşhisi ve yönetiminde hemodinamik, asit-baz ve kan gazı parametrelerin izlenmesi ek olarak hematolojik testlerin de önemli katkıda bulunduğu bilinmektedir (Rello ve diğ. 2017). Bu nedenle çalışmamızda, LPS uygulanmasıyla oluşturulan deneysel modelde asit-baz ve kan gazı parametrelerin izlenmesine ek olarak total kan sayımının izlenmesi amacıyla hemogram analizi yapılmıştır. Çalışmamızda yapılan total kan sayımı sonucunda, LPS uygulamasıyla total lökosit değerlerinde anlamlı bir değişiklik göstermezken granülosit sayısının önemli bir şekilde arttığı, lenfosit sayısının ise ciddi bir şekilde düştüğü tespit edilmiştir. Ayrıca LPS uygulamasının platelet sayısında ciddi bir şekilde azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Ciddi platelet azalmasına ek olarak LPS uygulanan hayvanların böbrek dokusundan hazırlanan kesitlerde damarlarda ve kapillerlerde özellikle glomerular kapillerlerin lümenlerinde ciddi eritrosit kümelenmeleri ile tıkanmaların ve dokuda ciddi kanama alanlarının olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgulara ek olarak, böbrek kesitlerinde, peritübüler alanlarda ve damarlarda ciddi lökosit infiltrasyonunun ve peritübüler alanda genişlemelerin olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, yukarıda açıkça belirtildiği gibi LPS'nin inflamatuvar araçların etkisiyle gelişen endotel hasarına ve glikokaliks tabakasının bozulmasına, lökosit ve plateletlerin endotel yüzeyine adezyonuna ve dokuya infiltrasyonuna, kapiller geçirgenliğinin artmasıyla damar dışına sıvı sızmasına, peritübüler alanda ödeme ve sonuç olarak, kapillerlerden tübül

hücrelerine oksijenin difüzyon mesafesini arttırarak perfüzyonun azalmasına hücresel düzeyde hipoksinin oluşmasına neden olduğunu açıkça işaret etmektedir.

ABH'nin, kreatinin değerlerinin yükselmesine ve idrar çıkışının azalmasına neden olduğu bilinmektedir (Giesen ve Singer, 2018). Yapılan çalışmalarda, LPS uygulanması ile serum kreatinin ve BUN seviyelerinin önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (Fouad ve diğ. 2016; Gu ve diğ. 2019; Islam ve diğ. 2019; Sun ve diğ. 2021; Zhang ve diğ. 2022; Lv ve diğ. 2023). LPS (1 mg/kg/vücut ağırlığı, iv) uygulanan farelerde, altı saat sonra vasküler geçirgenlik ile birlikte serum BUN, kreatinin ve idrar albumin düzeylerindeki artışa eşlik eden tübüllerde genişleme ve bozulma, tübül hücrelerinde fırça kenarların kaybı gibi histopatolojik değişiklikler tespit edilmiştir (Zhang ve diğ. 2020). LPS uygulanması ile oluşturulan sepsis modelinde sitokinlere ek olarak BUN, kreatinin, KIM-1 ve sistatin C düzeylerinde artış rapor edilmiştir (Shimokawa ve diğ. 2020; Heinzl ve diğ. 2022; Lv ve diğ. 2023).

Bizim çalışmamızda, böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla serum kreatinin ve albumin düzeyleri ölçüldüğünde LPS uygulanan hayvanlarda albuminin azaldığı kreatinin anlamlılık göstermemesine karşılık arttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, kandaki sodyum, potasyum ve klor iyonlarının konsantrasyonları kontrol grubuna benzer olduğu, ancak plazma osmolalitesinin düştüğü saptanmıştır. Böbrek hasar belirtici olarak kabul edilen KIM-1 düzeylerinin LPS uygulaması ile arttığı saptanmıştır. Bunlara ek olarak böbrek kesitleri histolojik olarak değerlendirildiğinde, LPS'nin böbrek korteksinde hasara neden olduğu görülmüştür. Bu bulgularımız yukarıda bahsedilen sepsis çalışmalarının sonuçları ile oldukça benzerlik göstermektedir. Sonuç olarak bulgularımız, LPS uygulaması ile inflamasyonun, doku hasarının, böbrek fonksiyon bozukluklarının geliştiğini açıkça işaret ettiği görülmektedir.

Sepsis gibi kritik hastalıklarda RAS'ın işleyişinde meydana gelen bozukluklar üzerine ilgi artmıştır. Sepsiste RAS aktivasyonu, intravasküler hacmin korunması ve arteriyel kan basıncını arttırmayı amaçlamaktadır (Hilgenfeldt ve diğ. 1987; Cumming ve diğ. 1988; Dunn ve Horton, 1993; Boldt ve diğ. 1998; Bucher ve diğ. 2001; du Cheyron ve diğ. 2003; Tamion ve diğ. 2004). Ancak, RAS aktivitesinin hem aşırı hem de yetersiz olması olumsuz klinik sonuçlara yol açabilir. Aşırı uyarılma, yoğun vazokonstriksiyon, doku iskemisi ve akut böbrek yetmezliği ile sonuçlanırken (Schrier ve Wang, 2004) yetersiz aktivite, dirençli şok (Wray ve Coakley, 1995) ve çoklu organ yetmezliği ile ilişkilidir (Boldt ve diğ. 1998; Adembri ve diğ. 2004). RAS'ın aşırı aktivasyonu veya aşırı inhibisyonunun her ikisinin de organ performansı üzerinde olumsuz etkilere yol açabileceği kabul edilmiştir. Bu verilerle birlikte, RAS'ın homeostatik

mekanizmasının sepsis sırasında potansiyel terapötik etkileri olacak şekilde değiştiği düşünülmektedir (Picod ve diğ. 2024).

Kritik hastalarda yüksek renin düzeyleri, düşük sistemik kan basıncı, ciddi böbrek sorunların görülme sıklığında ve mortalite oranlarında artış ile ilişkilendirilmiştir (Glesson ve diğ. 2019; Bellomo ve diğ. 2020; Flannery ve diğ. 2021; Busse ve diğ. 2024). Klinik sepsis hastalarını kapsayan prospektif bir kohort çalışmasında, plazmada renin aktivitesinin arttığı ve RAS aktivasyonunun mikrovasküler disfonksiyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Doerschug ve diğ. 2010). Septik kökenli katekolamine dirençli vazodilatör şokta, yüksek renin konsantrasyonunun çoğunlukla dolaşımdaki yüksek Ang I konsantrasyonları ile korelasyon gösterdiği ifade edilmiştir (Bellomo ve diğ. 2020). Sepsis sırasında plazmadaki AGT konsantrasyonunun arttığı da tespit edilmiştir (Hilgenfeldt ve diğ. 1987). İnsanlarda (Doerschug ve diğ. 2010) ve hayvanlarda (Bucher ve diğ. 2001; Hagiwara ve diğ. 2009) sepsiste plazmadaki Ang II konsantrasyonlarının ve dolayısıyla RAS'ın aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir.

Bucher ve diğ. (2001)'nin yaptıkları çalışmada, LPS uygulamasından sonra sıçanlarda plazma renin aktivitesi ve plazma Ang II seviyelerinin paralel olarak arttığı rapor edilmiştir. Gupta ve diğ. (2007), LPS uygulamasıyla oluşturduğu ABH modelinde, LPS enjeksiyonundan sonra lokal RAS aktivasyonunun ve endotel disfonksiyonunun meydana geldiğini, aktivatör protein C uygulamasının RAS aktivitesini düzenleyebildiğini, AGT'yi ve ACE'yi azaltırken ACE2 anlatımını arttırdığını rapor etmiştir. Bunun, böbrek fonksiyonları ve kan akımında düzelme ile sonuçlanan daha düşük lokal Ang II seviyelerine yol açarak gerçekleştirdiğini ileri sürmüşlerdir. Boldt ve diğ. (1998), sepsise bağlı endotel disfonksiyonunun patogeneğinde ACE ve Ang II'nin yer aldığını ifade etmiştir.

Yapılan insan ve hayvan çalışmalarından elde edilen veriler ile sepsis sırasında RAS'ta üç farklı düzeyde değişiklik meydana geldiği ileri sürülmüştür (Picod ve diğ. 2024). İlk olarak, Ang II üretiminde değişiklik meydana gelebilir. Bunun temel nedenleri arasında ACE aktivitesindeki yetersizlikler yer almaktadır. İkinci olarak, peptidaz aktivitelerinin artması ile Ang II'nin normalden daha hızlı bir şekilde yıkıma uğraması olduğu belirtilmiştir. Son olarak, Ang II'nin etkisini gösterdiği AT1 reseptörlerde sorunlar tespit edilmiştir. Bu ileri sürülen üç farklı sürecin, sepsis patofizyolojisinde RAS'ın karmaşık rolünü anlamak ve tedavi edici yaklaşımları potansiyel hedefler belirlemek için yol gösterici olabileceği vurgusu yapılmıştır (Picod ve diğ. 2024).

Sepsisli hastalarda plazma ACE seviyelerinde azalma tespit edilmiştir (Hilgenfeldt ve diğ. 1987) ve kalıcı düşük ACE seviyesinin sepsisin kötü uzun vadeli prognozunu yansıtabileceği ileri sürülmüştür (Hilgenfeldt ve diğ. 1987). Sepsis ile ilişkili akciğer hasarında akciğerdeki ACE aktivitesinin değişimi hala tartışmalıdır. Akut akciğer hasarı olan septik şok hastalarının alt grubunda ACE aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir (Casey ve diğ. 1981; Müller ve diğ. 2004; Kaziani ve diğ. 2018). Endotoksin uygulamasının endotel hücre hasarına ve akciğer ödemine yol açtığı deneysel hayvan modelinde, plazmada ACE aktivitesinde artış tespit edilirken akciğerde ACE aktivitesinde azalma belirlenmiştir (Votta-Velis ve diğ. 2007). Hermanns ve diğ. (2014), akciğerde ACE aktivitesindeki azalmanın, ACE/Ang II aracılı akciğer hasarını önlemek için gelişen bir kompensasyon mekanizması olduğunu ileri sürmüşlerdir. ACE'ye ek olarak ayrıca, sepsis tarafından indüklenen akciğer hasarı durumunda akciğer ACE2 aktivitesinde ve konsantrasyonda azalmanın meydana geldiği, akciğer ile ilişkili ACE2 aktivitesinde meydana gelen düşüşün, ACE2/ACE aktivite oranında bir azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (Hagiwara ve diğ. 2009; Wösten-van Asperen ve diğ. 2011; Li ve diğ. 2016). Önemli bir şekilde, ACE aktivitesindeki bir bozukluk bradikinin birikimine yol açarak vazoplejiyi daha da kötüleştirdiği ifade edilmiştir (Campbell ve diğ. 1979).

RAS'ın diğer bileşenleri ile yapılan çalışmalarda, sepsis modelinde dolaşımdaki Ang (1-7) seviyelerinin değişkenlik gösterdiği rapor edilmiştir (Wösten-van Asperen ve diğ. 2011; Li ve diğ. 2015; Li ve diğ. 2016; Chen ve diğ. 2019). Chen ve diğ. (2019) yaptıkları bir çalışmada serumdaki Ang (1-7) seviyesinin değişmediğini rapor edilirken, diğer çalışmalarda sepsis sonrası plazma Ang (1-7) konsantrasyonunun azaldığını bildirilmiştir (Wösten-van Asperen ve diğ. 2011; Li ve diğ. 2015; Li ve diğ. 2016). Septik şok, artmış Ang I/Ang II ve Ang (1-7)/Ang II oranları ile birlikte, azalmış dolaşımdaki ACE aktivitesi, artmış ACE2 aktivitesi ve dolaşımdaki yükselmiş dipeptidil peptidaz (DPP) 3 konsantrasyonları ile ilişkilendirilmiştir (Benaroua ve diğ. 2025).

Septik şok sırasında artan Ang II yıkımında ACE2'nin rolü henüz tam olarak belirlenmemesine (Picod ve diğ. 2024) ek olarak POP veya PRCP gibi diğer Ang II'yi parçalayan enzimlerin rolü olabileceğine dair görüşler ileri sürülmüştür (Vliegen ve diğ. 2020). Bununla birlikte, NEP'in Ang II'yi Ang (1-4)'e ve Ang (5-8)'e parçaladığı ve teorik olarak Ang I'den doğrudan Ang (1-7) üreterek ACE'yi atlayabileceği dikkate alınmalıdır (Picod ve diğ. 2024; Benaroua ve diğ. 2025). Kritik hastalarda dolaşımdaki NEP konsantrasyonunun arttığı belirlenmiş olsa da (Lenz ve diğ. 2022) bu artışın prognozla ilişkili olmadığı ve muhtemelen septik şok sırasında endojen

inhibitörler nedeniyle konsantrasyon ile aktivite arasında ayrışma olabileceği iddia edilmiştir (Pirracchio ve diğ. 2008; Vodovar ve diğ. 2015).

Bizim çalışmamızda LPS uygulamasına bağlı olarak gelişen ABH'de RAS'ın etkilerini araştırmak amacıyla renin, Ang I, Ang II, Ang (1-7), ACE ve ACE2 düzeyleri değerlendirildiğinde renin, Ang I ve Ang II düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. Bu bulgularımız, LPS uygulaması ile sepsise bağlı ABH'nin meydana geldiğini ve RAS'ın aktive olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

Uzun yıllardır potansiyel bir terapötik hedef olarak incelenen POP'un spesifik inhibitörlerinin, bilişsel işlevleri iyileştirdiği, nöroprotektif ve antioksidan etkilere sahip olduğu, inflamasyon, apoptoz ve anjiyogenezin düzenlenmesinde rol alması (Casili ve diğ. 2021) nedeniyle çalışmamızda, LPS ile oluşturulan endotoksemi sonucu gelişen sepsiste ABH'de POP inhibitörü KYP-2047'nin etkileri araştırılmıştır.

Mevcut literatür bilgimize göre, sepsis veya septik şok ile ilişkili ABH'de POP inhibitörleri ile doğrudan yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte deneysel modellerde POP inhibitörünün böbrek üzerindeki etkilerine yönelik çalışmalara rastlanmıştır. Renal iskemi/reperfüzyon (I/R) modelinde POP'un seçici inhibitörü KYP-2047'nin terapötik etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, iskemi uygulanan farelerde reperfüzyon öncesi farklı dozlarda (0,5, 1 ve 5 mg/kg) verilen KYP-2047, özellikle 1 ve 5 mg/kg dozlarında böbrek fonksiyonunu önemli ölçüde düzeltmiş, histolojik olarak tübüler hasarı azaltmış, PAS pozitif tübüler atrofi alanlarını daraltmış ve serum kreatinin ile BUN düzeylerini düşürmüştür. Ayrıca, I/R hasarında artan mast hücresi degranülasyonunu ve buna bağlı TNF- α ile IL-6 anlatımını önemli ölçüde azaltmıştır (Casili ve diğ. 2021).

Sepsis veya septik şok durumlarında POP ile ilgili olarak yapılan yalnızca iki çalışma bulunmaktadır. Sorrells ve Erdös (1971) tarafından yapılan çalışmada, endotoksin enjeksiyonundan 20 dakika sonra köpeklerin plazmasında prolil karboksipeptidaz (PCP) aktivitesinin arttığı bildirilmiştir. Diğer bir çalışmada ise septik şok hastalarında PRCP, POP, DPP4 ve fibroblast aktivasyon proteini α enzimlerinin plazmadaki enzimatik aktivitelerini değerlendirmek, bu enzimlerin sepsisle ilişkili biyolojik süreçlerdeki potansiyel rollerini araştırmak ve sağkalım ile klinik parametrelerle olan ilişkilerini inceleyerek olası biyobelirteç değerlerini ortaya konulması istenmiştir. Sonuçlar, PRCP (1. gün) ve POP (tüm günlerde) aktivitelerinin septik şok hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğunu

göstermiştir. POP hakkında sepsiste doğrudan veri bulunmasa da PRCP ile benzer substratlara sahip olması nedeniyle sepsisle ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Vliegen ve diğ. 2020).

Literatürde yer alan POP ile ilgili yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde LPS uygulaması ile oluşturulan inflamasyonun katkı sağladığı çeşitli deneysel modellerde POP üzerine araştırma yapıldığı görülmüştür. Yapılan bir çalışmada, doğal bir POP inhibitörü olan rosmarinik asidin, LPS ile oluşturulan akut akciğer hasarı modellerinde güçlü anti-inflamatuvar etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Chu ve diğ. 2012). Zerikiotis ve diğ. (2023), LPS kaynaklı inflamatuvar modelde doğal POP inhibitörleri olan rosmarinik asit ve gallik asidin birlikte uygulanmasının solunum parametrelerinde anlamlı düzelme sağlandığını, MDA düzeylerinin azaldığını, anti-apoptotik mekanizmaların aktivasyonunu ve akciğer dokusunda POP anlatımını aşağı yönlü düzenlendiğini göstermiştir.

LPS ve interferon-gama (IFN- γ) ile indüklenen nöroinflamasyon koşullarında, mikroglial hücrelerde POP inhibitörü KYP-2047'nin TNF- α seviyelerini düşürdüğü rapor edilmiştir (Natunen ve diğ. 2019). IFN- γ ve α -sinüklein (α -syn) ile uyarılmış mikroglial süpernatanın, SH-SY5Y hücrelerinde oluşturduğu toksisitenin, POP inhibitörü kullanılarak ortadan kaldırılabildiği bildirilmiştir (Klegeris ve diğ. 2008). POP geni çıkarılmış hayvanların LPS ile meydana gelen mikroglial aktivasyonuna yanıt göstermediği (Höfling ve diğ. 2016), plazmadaki inflamatuvar sitokin düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmadığı rapor edilmiştir (Höfling ve diğ. 2016). LPS uygulaması ile meydana gelen inflamasyonun, APdE9 transgenik farelerinin beyin korteksinde sitozolik POP protein anlatımını artırdığı, sitozolik POP enzim aktivitesinde ise bir değişiklik oluşturmadığı rapor edilmiştir ve bu durumun, POP'un nöroinflamasyon ve Alzheimer benzeri durumlarda farklı hücresel konumlarda farklı roller üstlenebileceğini düşündürdüğü ifade edilmiştir (Puris ve diğ. 2022).

Bunlara ek olarak, farklı bir çalışmada portakaval anastomoz sıçanlarında, POP düzeylerinin hipokampus, striatum ve beyincikte anlamlı şekilde arttığını, özellikle beyincikteki artışın belirgin olarak hücre dışı alanda gerçekleştiğini, bu artışın anti-inflamatuvar olan ibuprofen uygulanmasının ardından kontrol sıçanlardaki düzeylere geri döndüğü gözlemlenmiştir (Tenorio-Laranga ve diğ. 2015). Siroz hastalarında dolaşımdaki POP aktivitesinin, sistemik ve nöroinflamatuvar belirteçlerle korelasyon gösterdiği ve hastalığın şiddetiyle negatif bir ilişki sergilediği; ancak minimal hepatik ensefalopati ile net bir ilişki belirlenemediği rapor edilmiştir (Tenorio-Laranga ve diğ. 2015).

KYP-2047, kronik venöz yetmezlik modelinde safen ven ligasyonu sonrasında 7 gün boyunca 10 mg/kg dozunda ip olarak uygulandığında damar duvarındaki histolojik bozulmaları düzelterek kollajen birikimini azalttığı, elastin yapısını düzenlediği, sitokin düzeylerini düşürdüğü belirlenmiştir (Casili ve diğ. 2021). Cucinotta ve diğ. (2023), KYP-2047'nin hem *in vitro* hem de *in vivo* modellerde inflamasyonu, fibroz belirteçlerini ve akciğer hasarını azaltarak pulmoner fibrozis üzerinde koruyucu etkiler gösterdiğini bildirmiştir. Miyokard I/R modelinde KYP-2047'nin, miyokardiyal hasarı ve nötrofil birikimini sınırlandırarak inflamasyon, fibrozis ve apoptoz süreçlerini azalttığı, ayrıca p-38 ve ekstraselüler-düzenlenmiş kinaz /mitogen aktive protein kinaz yollarını düzenleyerek kalp fonksiyonunun korunmasına katkı sağladığı rapor edilmiştir (Cucinotta ve diğ. 2025). Başka bir I/R modelinde KYP-2047'nin, I/R kaynaklı hasarı ve nötrofil infiltrasyonunu azaltarak inflamasyonu sınırladığı ve nükleer faktör-kappa B (NF- κ B)'nin nükleer translokasyonunu engellediği, bağırsak bariyer geçirgenliğini ve yapısal bütünlüğünü düzelterek I/R sonrası bozulan neovaskülarizasyon süreçlerini hafiflettiği, apoptoz ve DNA hasarına karşı koruyucu etkileri sayesinde epitel hücre kaybını önemli ölçüde sınırlandırdığı bildirilmiştir (Filippone ve diğ. 2021). Bağırsak I/R'ye bağlı gelişen akut akciğer hasarında, KYP-2047 uygulamasıyla POP inhibisyonunun, ileum ve akciğerde histolojik hasarı düzelterek kollajen birikimini ve inflamatuvar protein seviyelerini azalttığı belirtilmiştir (Casili ve diğ. 2021).

Myöhänen ve diğ. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, KYP-2047'nin, α -syn mutasyonu taşıyan hücrelerde laktasistin toksisitesini ve α -sinoligomer sayısını azalttığı buna karşın otofajiyi artırdığı gösterilmiştir. POP inhibitörü olan KYP-2047'nin, proteazomal bozukluk durumunda insan retina pigment epitel hücrelerinde koruyucu ve anti-inflamatuvar etkiler gösterdiği tespit edilmiştir (Toppila ve diğ. 2023). Başka bir çalışmada, hem *in vivo* U87 ksenograft tümör modelinde hem de *in vitro* insan glioblastoma hücrelerinde KYP-2047'nin tümör yükünü azalttığı, vasküler endotelial büyüme faktörü, angiopoietin ve eNOS anlatımını anlamlı şekilde düşürdüğü gösterilmiştir (Scuderi ve diğ. 2021).

Bu bilgilerin ışığı altında, çalışmamızda LPS ile oluşturulan endotoksemi sonucu gelişen sepsiste ABH'de POP inhibitörü KYP-2047 kullanılmış ve bu inhibitörün etkileri gözlemlenmiştir. Çalışmamız sonucu elde edilen bulgularda LPS uygulamasıyla endotokseminin sepsis tablosuna ilerlediği, sepsis tablosunda gözlemlenen metabolik asidozun göstergesi olan parametrelerde POP inhibitörü olan KYP-2047'nin pH değerini düzelttiği ve hidrojen iyonu konsantrasyonunu azalttığı ancak bikarbonat seviyelerinde yeterli toparlanmayı

sağlayamadığı görülmüştür. LPS uygulaması ile artan laktat ve azalan glikoz seviyelerinde KYP-2047'nin anlamlı bir düzelme sağlayamadığı tespit edilmiştir. Bunun sonucunda da hücresel düzeyde anaerobik metabolizmanın halen baskın olduğu ve enerji metabolizmasında bozuklukların devam ettiği, KYP-2047'nin metabolik bozukluklar üzerindeki etkisinin sınırlı olduğu düşünülmüştür. Bununla birlikte KYP-2047, LPS uygulaması ile artan methemoglobin düzeylerinde azalma sağlayarak oksidatif stresin hafifletilmesinde ve doku oksijenlenmesinde kısmen bir düzelme sağlayabildiği işaret etmekle birlikte bu parametrelerde tam anlamıyla bir düzelme sağlayamayarak sınırlı bir koruyucu potansiyel etkiye sahip olduğu görülmüştür.

KYP-2047'nin LPS uygulaması ile aktive olan immün yanıt üzerindeki etkileri açısından değerlendirildiğinde, lenfosit sayısındaki azalma ve granülosit sayısındaki artış gibi tipik inflamatuvar yanıt parametrelerinde etkili olmadığı ve anlamlı bir düzelme sağlayamadığı görülmüştür. Ayrıca, sistemik inflamasyonun önemli bir göstergesi olan platelet düşüklüğü ve inflamasyonla ilişkili hipokalsemi üzerine de etkili olmadığı gözlemlenmiştir. Histopatolojik bulgular da KYP-2047 uygulamasına rağmen LPS'nin neden olduğu lökosit infiltrasyonu devam ettiğini göstermiştir ve bu durum POP inhibitörünün doku düzeyinde inflamatuvar hücre birikimini engelleyemediğini işaret etmiştir. Bununla birlikte, KYP-2047 uygulaması CRP düzeylerinde bir azalma sağlamış ve proinflamatuvar sitokinlerde de düşüş eğilimi gözlenmiştir; ancak bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmamıştır. Bunlara ek olarak POP inhibitörü bradikinin üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Anti-fibrotik ve anti-inflamatuvar özellikleri nedeniyle böbrek, kalp ve akciğer gibi organlarda koruyucu etkilere sahip olan ve biyosentezinde POP'un rol aldığı (Kumar ve diğ. 2016) LPS uygulamasıyla serumda azalan Ac-SDKP seviyelerinin artmasına neden olması, anti-inflamatuvar ve anti-fibrotik etkilerinin olabileceğini desteklemektedir. Sonuç olarak bulgularımız, KYP-2047'nin inflamatuvar sürecin farklı aşamalarında farklı etkileri olabileceği ve sepsis kaynaklı sistemik inflamasyonda tek başına etkili olamayacağını düşündürmüştür.

KYP-2047 uygulaması, LPS'ye bağlı gelişen böbrek fonksiyon bozuklukları üzerinde sınırlı bir koruyucu etki göstermiştir. Serum kreatinin düzeylerinde gözlenen artışı kısmen azaltarak böbrek fonksiyonlarını desteklediği görülmüştür, ancak albumin düzeylerinde herhangi bir iyileşme sağlayamamış ve LPS ile azalan serum ozmolalitesini de normalize edememiştir. Histopatolojik değerlendirmelerde, KYP-2047'nin LPS ile tetiklenen ödem, kanama alanları ve yoğun lökosit infiltrasyonu gibi doku hasarlarını engelleyemediği de belirlenmiştir. Ayrıca, böbrek hasar belirteci olan KIM-1 düzeyleri tedavi sonrasında yüksek seyretmeye devam

etmiştir. Bu bulgular, KYP-2047'nin böbrek hasarı ve yapısal inflamasyon üzerinde tam bir koruma sağlayamadığını, ancak bazı fonksiyonel parametreler üzerinde kısmi düzeyde olumlu etkiler gösterebildiğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda POP inhibitörünün RAS üzerindeki etkileri incelendiğinde, KYP-2047 uygulamasının, LPS ile artan Ang I ve Ang II düzeylerini kontrol düzeylerine yaklaştırdığı görülmüştür. Bu durum, LPS ile oluşturulan endotoksemi modelinde KYP-2047'nin RAS aktivitesi üzerinde etkisinin olduğunu göstermektedir. Buna karşın, doku düzeyinde Ang II artışı olmasına rağmen gruplar arasında anlamlı fark saptanmaması, lokal RAS aktivitesinin sistemik yansımalarla birebir örtüşemeyebileceğini işaret etmektedir. Ayrıca, Ang (1-7) düzeylerinde gruplar arasında anlamlı fark olmaması, KYP-2047'nin Mas reseptörü yolaklarını ya da alternatif RAS eksenini belirgin biçimde modüle etmediğini düşündürmüştür.

POP'un RAS üzerinde işlevsel etkileri giderek daha fazla önem kazanmaktadır. POP, klasik RAS yolunun ötesinde alternatif yollarda da etkili olması, sadece bir enzim olarak değil aynı zamanda inflamasyonda, fibroziste ve vasküler homeostazın düzenlenmesinde de rol alması (Casili ve diğ. 2021) nedeniyle son zamanlarda oldukça çalışılmaya başlanmıştır.

Chappell (1998)'in yaptığı çalışmada, ACE inhibitörleri ile tedavi edilen hayvanlarda POP aktivitesinin arttığı ve bu artışın Ang (1-7) oluşumunu desteklediği bildirilmiştir. Özellikle dolaşım ve akciğer dokularında, Ang II'den Ang (1-7)'ye dönüşümün büyük ölçüde POP aracılığıyla gerçekleştiği, buna karşılık böbrekte bu dönüşümün esas olarak ACE2 aracılığıyla sağlandığı saptanmıştır (Serfozo ve diğ. 2020). Buna ek olarak, *in vitro* çalışmalar POP'un Ang I ve II için ACE'den daha yüksek substrat afinitesine sahip olduğunu göstermiştir (Welches ve diğ. 1993).

Grobe ve diğ. (2013), çalışmalarında Ang (1-7)'nin ACE2'den bağımsız oluşumuna alternatif böbrek peptidazlarının katkısını incelemek için yeni oluşturulan proteomik yaklaşımlar ve genetik fare modelleri kullanmıştır. Böbrekteki Ang II oluşumunun, substrat konsantrasyonu ve pH tarafından düzenlendiğini ortaya konulmuştur. Elde edilen bulguların, ACE2'nin böbrekte Ang II'yi nötr ve bazik pH'de metabolize ettiğini, buna karşılık asidik pH koşullarında aynı reaksiyonun PCP tarafından katalize ettiğini desteklediği bildirilmiştir (Grobe ve diğ. 2013). Akciğer I/R modelinde, sistemik düzeyde dolaşımdaki Ang II seviyelerinde artışa ve PREP enzim aktivitesinde azalmaya yol açarken, bu değişiklikler akciğer dokusundaki PRCP ve PREP enzimlerinin aktivite ve ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadan

gerçekleşmiştir. Bu da ilgili enzimlerin akciğer dokusunda sınırlı bir rol oynayabileceğini düşündürmüştür (Kehoe ve diğ. 2016).

Kalpte Ang (1-7) oluşumuna katkı sağlayan enzimatik yollar, Ang II oluşumuna benzer şekilde analiz edilmiştir ve kullanılan RAS enzim inhibitörlerinin etkinliği kalp dokusu metabolik analizlerinde değerlendirilmiştir (Kovarık ve diğ. 2017). ACE inhibitörü ve kimaz inhibitörünün birlikte uygulanması, Ang (1-7) üretimini yalnızca hafif düzeyde azaltmıştır. Buna karşılık, neprilisin inhibitörünün eklenmesi Ang (1-7) üretimini anlamlı ölçüde baskılamıştır. Ang II substrat olarak kullanıldığında, ZPP ilavesi ile Ang (1-7) oluşumu büyük ölçüde engellenmiştir. Ayrıca, ACE2 inhibitörünün eklenmesi, kalan düşük düzeydeki Ang (1-7) üretimini de tamamen ortadan kaldırmıştır (Kovarık ve diğ. 2017). Deneysel hipertansiyon modelinde, S-17092 uygulanmasıyla meydana gelen POP inhibisyonunun, kan basıncında meydana gelen farklılıkları ortadan kaldırdığı ve makrofajlarda TNF- α salınımını azalttığı ortaya konulmuştur (Ong ve diğ. 2012).

Sonuç olarak elde edilen bulgular, LPS uygulamasıyla endotokseminin sepsis tablosuna ilerlediğini, inflamasyonun, doku hasarının ve böbrek fonksiyon bozukluklarının geliştiğini, RAS'ın aktive olduğunu, POP inhibitörü KYP-2047 uygulamasının, kısmen bir düzelme sağlayabildiğini, RAS üzerinde etkili olduğunu ve sınırlı bir koruyucu potansiyel bir role sahip olduğunu göstermiştir. KYP-2047'nin inflamasyon ve doku hasarını azaltmadaki potansiyel etkisi umut vericidir, ancak etkinliğinin artırılması ve güvenliğinin netleştirilmesi için daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte, etkisinin sınırlı kalması nedeniyle KYP-2047'nin tek başına kullanımının yeterli olmadığı ve ilave tedavi yaklaşımlarına ve farklı doz ve uygulama sürelerinin araştırılmasına ihtiyaç olabileceği düşünülmektedir. Histolojik olarak böbrek yapısının korunmuş olması ve toksik etkilerin gözlenmemesi, KYP-2047'nin güvenli bir ajan olabileceğini desteklemektedir. Ancak gözlenen bazı morfolojik değişiklikler, KIM-1 ve albumin değerlerindeki değişim, POP'un özellikle böbrekte daha karmaşık rolleri olabileceğini işaret etmektedir. |

KAYNAKLAR

- AbdAlla, S., Lothar, H., Abdel-tawab, A. M., and Quitterer, U., 2001, The angiotensin II AT2 receptor is an AT1 receptor antagonist, *The Journal of biological chemistry*, 276(43), 39721–39726.
- Abdel Ghafar, M. T., 2020, An overview of the classical and tissue-derived renin-angiotensin-aldosterone system and its genetic polymorphisms in essential hypertension, *Steroids*, 163, 108701.
- Adembri, C., Kastamoniti, E., Bertolozzi, I., Vanni, S., Dorigo, W., Coppo, M., Pratesi, C., De Gaudio, A. R., Gensini, G. F., and Modesti, P. A., 2004, Pulmonary injury follows systemic inflammatory reaction in infrarenal aortic surgery, *Critical care medicine*, 32(5), 1170–1177.
- Almac, E., Siegemund, M., Demirci, C., and Ince, C., 2006, Microcirculatory recruitment maneuvers correct tissue CO₂ abnormalities in sepsis, *Minerva anesthesiologica*, 72(6), 507–519.
- Almeida, W. S., Maciel, T. T., Di Marco, G. S., Casarini, D. E., Campos, A. H., and Schor, N., 2006, *Escherichia coli* lipopolysaccharide inhibits renin activity in human mesangial cells, *Kidney international*, 69(6), 974–980.
- Alobaidi, R., and Bagshaw, S., 2018, *Sepsis and acute kidney injury: epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and management*, Core concepts in acute kidney injury, In: Waikar., S. (ed.), Murray, P. (ed.), Singh, A. (ed.), 10, Springer, New York, ISBN 978-1-4939-8626-2.
- Aneman, A., Bengtsson, J., Snygg, J., Holm, M., Pettersson, A., and Fändriks, L., 1999, Differentiation of the peptidergic vasoregulatory response to standardized splanchnic hypoperfusion by acute hypovolaemia or sepsis in anaesthetized pigs, *Acta physiologica Scandinavica*, 166(4), 293–300.
- Angus, D. C., Linde-Zwirble, W. T., Lidicker, J., Clermont, G., Carcillo, J., and Pinsky, M. R., 2001, Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care, *Critical care medicine*, 29(7), 1303–1310.
- Aydın, E., Yıldırım, Y., Aydın, F. Y., Bahadır, M. V., Kaplan, İ., Kadiroğlu, B., Ketani, M. A., Yılmaz, Z., Kadiroğlu, A. K., and Yılmaz, M. E., 2020, Evaluation of the effect of intraperitoneal etanercept administration on oxidative stress and inflammation indicators in the kidney and blood of experimental sepsis-induced rats, *Revista da sociedade brasileira de medicina tropical*, 53, e20200016.
- Babkova, K., Korabecny, J., Soukup, O., Nepovimova, E., Jun, D., and Kuca, K., 2017, Prolyl oligopeptidase and its role in the organism: attention to the most promising and clinically relevant inhibitors, *Future medicinal chemistry*, 9(10), 1015–1038.
- Bader, M., 2013, ACE2, angiotensin-(1–7), and Mas: The other side of the coin, *Pflügers Archiv: European journal of physiology*, 465(1), 79–85.

- Bagshaw, S. M., George, C., Bellomo, R., and ANZICS Database Management Committee 2008, A comparison of the RIFLE and AKIN criteria for acute kidney injury in critically ill patients, *Nephrology, dialysis, transplantation: Official publication of the European Dialysis and Transplant Association- European Renal Association*, 23(5), 1569–1574.
- Balkrishna, A., Sinha, S., Kumar, A., Arya, V., Gautam, A. K., Valis, M., Kuca, K., Kumar, D., and Amarowicz, R., 2023, Sepsis-mediated renal dysfunction: Pathophysiology, biomarkers and role of phytoconstituents in its management, *Biomedicine & pharmacotherapy=Biomedecine & pharmacotherapie*, 165, 115183.
- Baris, E., Simsek, O., Arici, M. A., and Tosun, M., 2023, Choline and citicoline ameliorate oxidative stress in acute kidney injury in rats, *Bratislavske lekarske listy*, 124(1), 47–52.
- Bellomo, R., Forni, L. G., Busse, L. W., McCurdy, M. T., Ham, K. R., Boldt, D. W., Hästbacka, J., Khanna, A. K., Albertson, T. E., Tumlin, J., Storey, K., Handisides, D., Tidmarsh, G. F., Chawla, L. S., and Ostermann, M., 2020, Renin and survival in patients given angiotensin II for catecholamine-resistant vasodilatory shock. A Clinical Trial, *American journal of respiratory and critical care medicine*, 202(9), 1253–1261.
- Bellomo, R., Kellum, J. A., Ronco, C., Wald, R., Martensson, J., Maiden, M., Bagshaw, S. M., Glassford, N. J., Lankadeva, Y., Vaara, S. T., and Schneider, A., 2017, Acute kidney injury in sepsis, *Intensive care medicine*, 43(6), 816–828.
- Benaroua, C., Pucci, F., Rooman, M., Picod, A., Favory, R., Legrand, M., Vincent, J. L., Creteur, J., Taccone, F. S., Annoni, F., and Garcia, B., 2025, Alterations in the renin-angiotensin system during septic shock, *Annals of intensive care*, 15(1), 40.
- Bernstein, K. E., Ong, F. S., Blackwell, W. L., Shah, K. H., Giani, J. F., Gonzalez-Villalobos, R. A., Shen, X. Z., Fuchs, S., and Touyz, R. M., 2012, A modern understanding of the traditional and nontraditional biological functions of angiotensin-converting enzyme, *Pharmacological reviews*, 65(1), 1–46.
- Billet, S., Aguilar, F., Baudry, C., and Clauser, E., 2008, Role of angiotensin II AT1 receptor activation in cardiovascular diseases, *Kidney international*, 74(11), 1379–1384.
- Blanco, J., Muriel-Bombín, A., Sagredo, V., Taboada, F., Gandía, F., Tamayo, L., Collado, J., García-Labattut, A., Carriedo, D., Valledor, M., De Frutos, M., López, M. J., Caballero, A., Guerra, J., Alvarez, B., Mayo, A., Villar, J., and Grupo de Estudios y Análisis en Cuidados Intensivos, 2008, Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sepsis: A Spanish multicentre study, *Critical care (London, England)*, 12(6), R158.
- Boldt, J., Papsdorf, M., Kumle, B., Piper, S., and Hempelmann, G., 1998, Influence of angiotensin-converting enzyme inhibitor enalaprilat on endothelial-derived substances in the critically ill, *Critical care medicine*, 26(10), 1663–1670.
- Bone, R. C., Balk, R. A., Cerra, F. B., Dellinger, R. P., Fein, A. M., Knaus, W. A., Schein, R. M., and Sibbald, W. J., 1992, Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine, *Chest*, 101(6), 1644–1655.

- Bone, R.C., 1996, The sepsis syndrome. Definition and general approach to management, *Clinics Chest Medicine*, 17(2), 175–181.
- Brun-Buisson, C., Meshaka, P., Pinton, P., Vallet, B., and EPISEPSIS Study Group, 2004, EPISEPSIS: A reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units, *Intensive care medicine*, 30(4), 580–588.
- Bucher, M., Ittner, K. P., Hobbhahn, J., Taeger, K., and Kurtz, A., 2001, Downregulation of angiotensin II type 1 receptors during sepsis, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 38(2), 177–182.
- Busse, L. W., Schaich, C. L., Chappell, M. C., McCurdy, M. T., Staples, E. M., Ten Lohuis, C. C., Hinson, J. S., Sevransky, J. E., Rothman, R. E., Wright, D. W., Martin, G. S., and Khanna, A. K., 2024, Vitamin C, Thiamine, and Steroids in Sepsis (VICTAS) Investigators, Association of Active Renin Content With Mortality in Critically Ill Patients: A Post hoc Analysis of the Vitamin C, Thiamine, and Steroids in Sepsis (VICTAS) Trial, *Critical care medicine*, 52(3), 441–451.
- Campbell, D. J., Kladis, A., and Duncan, A. M., 1979, Effects of converting enzyme inhibitors on angiotensin and bradykinin peptides, *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 23(4):439–49.
- Carey, R. M., and Siragy, H. M., 2003, Newly recognized components of the renin-angiotensin system, potential roles in cardiovascular and renal regulation, *Endocrine reviews*, 24(3), 261–271.
- Carey, R. M., Wang, Z. Q., and Siragy, H. M., 2000, Role of the angiotensin type 2 receptor in the regulation of blood pressure and renal function, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 35(1 Pt 2), 155–163.
- Casey, L., Krieger, B., Kohler, J., Rice, C., Oparil, S., and Szidon, P., 1981, Decreased serum angiotensin converting enzyme in adult respiratory distress syndrome associated with sepsis: a preliminary report, *Critical care medicine*, 9(9), 651–654.
- Casili, G., Scuderi, S. A., Lanza, M., Filippone, A., Basilotta, R., Mannino, D., Campolo, M., Esposito, E., and Paterniti, I., 2021, The protective role of prolyl oligopeptidase (POP) inhibition in acute lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion, *Oncotarget*, 12(17), 1663–1676.
- Chappell, M. C., Iyer, S. N., Diz, D. I., and Ferrario, C. M., 1998, Antihypertensive effects of angiotensin-(1-7), *Brazilian journal of medical and biological research=Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, 31(9), 1205–1212.
- Chappell, M. C., Tallant, E. A., Brosnihan, K. B. and Ferrario, C. M., 1990, Processing of angiotensin peptides by NG108-15 neuroblastoma x glioma hybrid cell line, *Peptides*, 11, 375–380.
- Chen, Q., Liu, J., Wang, W., Liu, S., Yang, X., Chen, M., Cheng, L., Lu, J., Guo, T., and Huang, F., 2019, Sini decoction ameliorates sepsis-induced acute lung injury via regulating ACE2-Ang (1-7)-Mas axis and inhibiting the MAPK signaling pathway, *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 115, 108971.

- Chu, X., Ci, X., He, J., Jiang, L., Wei, M., Cao, Q., Guan, M., Xie, X., Deng, X., and He, J., 2012, Effects of a natural prolyl oligopeptidase inhibitor, rosmarinic acid, on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice, *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(3), 3586–3598.
- Churchill P. C., 1985, Second messengers in renin secretion, *The American journal of physiology*, 249(2 Pt 2), F175–F184.
- Cucinotta, L., Mannino, D., Casili, G., Repici, A., Crupi, L., Paterniti, I., Esposito, E., and Campolo, M., 2023, Prolyl oligopeptidase inhibition ameliorates experimental pulmonary fibrosis both in vivo and in vitro, *Respiratory research*, 24(1), 211.
- Cucinotta, L., Palermo, N., Ardizzone, A., Capra, A. P., Campolo, M., Esposito, E., Casili, G., and Lanza, M., 2025, The inhibition of prolyl endopeptidase (PREP) by KYP-2047 treatment to reduce myocardial ischemia/reperfusion injury, *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 14(4), 442.
- Culver, S., Li, C., and Siragy, H. M., 2017, Intrarenal angiotensin-converting enzyme: The old and the new, *Current hypertension reports*, 19(10), 80.
- Cumming, A. D., Driedger, A. A., McDonald, J. W., Lindsay, R. M., Solez, K., and Linton, A. L., 1988, Vasoactive hormones in the renal response to systemic sepsis, *American journal of kidney diseases: The official journal of the National Kidney Foundation*, 11(1), 23–32.
- Davisson, R. L., Oliverio, M. I., Coffman, T. M., and Sigmund, C. D., 2000, Divergent functions of angiotensin II receptor isoforms in the brain, *The Journal of clinical investigation*, 106(1), 103–106.
- De Backer, D., Donadello, K., Taccone, F. S., Ospina-Tascon, G., Salgado, D., and Vincent, J. L., 2011, Microcirculatory alterations: Potential mechanisms and implications for therapy, *Annals of intensive care*, 1(1), 27.
- Doerschug, K. C., Delsing, A. S., Schmidt, G. A., and Ashare, A., 2010, Renin-angiotensin system activation correlates with microvascular dysfunction in a prospective cohort study of clinical sepsis, *Critical care*, London, England, 14(1), R24.
- Dong, L. W., Chang, Y. Z., Tong, L. J., Tang, J., Su, J. Y., and Tang, C. S., 1994, Role of regulatory peptide in pathogenesis of shock, *Science in China, Series B, Chemistry, life sciences & earth sciences*, 37(2), 162–169.
- Dong, L., Xie, Y. L., Zhang, R. T., and Hu, Q. Y., 2024, Models of sepsis-induced acute kidney injury, *Life sciences*, 352, 122873.
- Dong, Z., and Yang, C., 2018, Recent advances in the understanding of sepsis-induced kidney injury, *Annals of translational medicine*, 6(17), 348.
- Donoghue, M., Hsieh, F., Baronas, E., Godbout, K., Gosselin, M., Stagliano, N., Donovan, M., Woolf, B., Robison, K., Jeyaseelan, R., Breitbart, R. E., and Acton, S., 2000, A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9, *Circulation research*, 87(5), E1–E9.

- Doobay, M. F., Talman, L. S., Obr, T. D., Tian, X., Davisson, R. L., and Lazartigues, E., 2007, Differential expression of neuronal ACE2 in transgenic mice with overexpression of the brain renin-angiotensin system, *American journal of physiology, regulatory, integrative and comparative physiology*, 292(1), R373–R381.
- du Cheyron, D., Lesage, A., Daubin, C., Ramakers, M., and Charbonneau, P., 2003, Hyperreninemic hypoaldosteronism: a possible etiological factor of septic shock-induced acute renal failure, *Intensive care medicine*, 29(10), 1703–1709.
- Dunn, C. W., and Horton, J. W., 1993, Role of angiotensin II in neonatal sepsis, *Circulatory shock*, 40(2), 144–150.
- Dyson, A., Bezemer, R., Legrand, M., Balestra, G., Singer, M., and Ince, C., 2011, Microvascular and interstitial oxygen tension in the renal cortex and medulla studied in a 4-h rat model of LPS-induced endotoxemia, *Shock (Augusta, Ga.)*, 36(1), 83–89.
- Dzau V. J., 2001, Theodore Cooper Lecture, Tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease: A unifying hypothesis, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 37(4), 1047–1052.
- Eguchi, S., Kawai, T., Scalia, R., and Rizzo, V., 2018, Understanding angiotensin II type 1 receptor signaling in vascular pathophysiology, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 71(5), 804–810.
- Engeli, S., Negrel, R., and Sharma, A. M., 2000, Physiology and pathophysiology of the adipose tissue renin-angiotensin system, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 35(6), 1270–1277.
- Ergin, B., Guerci, P., Zafrani, L., Nocken, F., Kandil, A., Gurel-Gurevin, E., Demirci-Tansel, C., Ince, C., 2016, Effects of N-acetylcysteine (NAC) supplementation in resuscitation fluids on renal microcirculatory oxygenation, inflammation, and function in a rat model of endotoxemia, *Intensive care medicine experimental*, 4(1):29.
- Fan, H., Su, B. J., Le, J. W., and Zhu, J. H., 2022, Salidroside protects acute kidney injury in septic rats by inhibiting inflammation and apoptosis, *Drug design, development and therapy*, 16, 899–907.
- Ferrario, C. M., 2006, Role of angiotensin II in cardiovascular disease therapeutic implications of more than a century of research, *Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system: JRAAS*, 7(1), 3–14.
- Filippone, A., Casili, G., Ardizzone, A., Lanza, M., Mannino, D., Paterniti, I., Esposito, E., and Campolo, M., 2021, Inhibition of prolyl oligopeptidase prevents consequences of reperfusion following intestinal ischemia, *Biomedicines*, 9(10), 1354.
- Fink, M. P., 2014, Animal models of sepsis, *Virulence*, 5(1), 143–153.
- Flannery, A. H., Ortiz-Soriano, V., Li, X., Gianella, F. G., Toto, R. D., Moe, O. W., Devarajan, P., Goldstein, S. L., and Neyra, J. A., 2021, Serum renin and major adverse kidney events in critically ill patients: A multicenter prospective study, *Critical care (London, England)*, 25(1), 294.

- Forrester, S. J., Booz, G. W., Sigmund, C. D., Coffman, T. M., Kawai, T., Rizzo, V., Scalia, R., and Eguchi, S., 2018, Angiotensin II signal transduction: An update on mechanisms of physiology and pathophysiology, *Physiological reviews*, 98(3), 1627–1738.
- Fouad, A. A., Qutub, H. O., and Al-Melhim, W. N., 2016, Nephroprotection of punicalagin in rat model of endotoxemic acute kidney injury, *Toxicology mechanisms and methods*, 26(7):538-543.
- Fraga-Silva, R. A., Pinheiro, S. V., Gonçalves, A. C., Alenina, N., Bader, M., and Santos, R. A., 2008, The antithrombotic effect of angiotensin-(1-7) involves Mas-mediated NO release from platelets, *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, 14(1-2), 28–35.
- Fu, Y., Xiang, Y., Wei, Q., Ilatovskaya, D., and Dong, Z., 2024, Rodent models of AKI and AKI-CKD transition: an update in 2024, *American journal of physiology. Renal physiology*, 326(4): F563-F583.
- Fülöp, V., Böcskei, Z., and Polgár, L., 1998, Prolyl oligopeptidase: An unusual beta-propeller domain regulates proteolysis, *Cell*, 94(2), 161–170.
- Fulton II, M. R., Zubair, M., and Taghavi, S., 2023, Laboratory Evaluation of Sepsis, *In StatPearls*, StatPearls Publishing.
- Gameiro, J., Marques, F., and Lopes, J. A., 2020, Long-term consequences of acute kidney injury: A narrative review, *Clinical kidney journal*, 14(3), 789–804.
- García-Horsman J. A., 2020, The role of prolyl oligopeptidase, understanding the puzzle, *Annals of translational medicine*, 8(16), 983.
- García-Horsman, J. A., Männistö, P. T., and Venäläinen, J. I., 2007, On the role of prolyl oligopeptidase in health and disease, *Neuropeptides*, 41(1), 1–24.
- Geisterfer, A. A., Peach, M. J., and Owens, G. K., 1988, Angiotensin II induces hypertrophy, not hyperplasia, of cultured rat aortic smooth muscle cells, *Circulation research*, 62(4), 749–756.
- Gembardt, F., Sterner-Kock, A., Imboden, H., Spalteholz, M., Reibitz, F., Schultheiss, H. P., Siems, W. E., and Walther, T., 2005, Organ-specific distribution of ACE2 mRNA and correlating peptidase activity in rodents, *Peptides*, 26(7), 1270–1277.
- Genth-Zotz, S., von Haehling, S., Bolger, A. P., Kalra, P. R., Wensel, R., Coats, A. J., and Anker, S. D., 2002, Pathophysiologic quantities of endotoxin-induced tumor necrosis factor- α release in whole blood from patients with chronic heart failure, *The American journal of cardiology*, 90(11), 1226–1230.
- Giesen, L., and Singer M., 2018, *What is Sepsis?*, Handbook of Sepsis, In: Wiersinga W.E. (ed.), and Seymour C.W. (ed.), Chapter 1, *Springer international publishing*, Switzerland, 9, ISBN 978-3-319-73505-4.
- Gleeson, P. J., Crippa, I. A., Mongkolpun, W., Cavicchi, F. Z., Van Meerhaeghe, T., Brimioulle, S., Taccone, F. S., Vincent, J. L., and Creteur, J., 2019, Renin as a marker of tissue-perfusion and prognosis in critically ill patients, *Critical care medicine*, 47(2), 152–158.

- Gomez, H., Ince, C., De Backer, D., Pickkers, P., Payen, D., and Kellum, J. A., 2014, A unified theory of sepsis-induced acute kidney injury: Inflammation, microcirculatory dysfunction, bioenergetics, and the tubular cell adaptation to injury, *Shock*, 41(1), 3–11.
- Goodfriend, T. L., Elliott, M. E., and Catt, K. J., 1996, Angiotensin receptors and their antagonists, *The New England journal of medicine*, 334(25), 1649–1654.
- Goossens, F., De Meester, I., Vanhoof, G., and Scharpé, S., 1996, Distribution of prolyl oligopeptidase in human peripheral tissues and body fluids, *European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry: Journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies*, 34(1), 17–22.
- Greinacher, A., and Selleng, K., 2010, Thrombocytopenia in the intensive care unit patient, *Hematology, American Society of Hematology, Education Program*, 135–143.
- Griendling, K. K., Ushio-Fukai, M., Lassègue, B., and Alexander, R. W., 1997, Angiotensin II signaling in vascular smooth muscle, New concepts, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 29(1 Pt 2), 366–373.
- Grobe, N., Weir, N. M., Leiva, O., Ong, F. S., Bernstein, K. E., Schmaier, A. H., Morris, M., and Elased, K. M., 2013, Identification of prolyl carboxypeptidase as an alternative enzyme for processing of renal angiotensin II using mass spectrometry, *American journal of physiology. Cell physiology*, 304(10), C945–C953.
- Gu, L., Liu, J., Xu, D., and Lu, Y., 2019, Polydatin prevents LPS-induced acute kidney injury through inhibiting inflammatory and oxidative responses, *Microbial pathogenesis*, 137, 103688.
- Guerci, P., Ergin, B., Kandil, A., Ince, Y., Heeman, P., Hilty, M. P., Bakker, J., and Ince, C., 2020, Resuscitation with PEGylated carboxyhemoglobin preserves renal cortical oxygenation and improves skeletal muscle microcirculatory flow during endotoxemia, *American journal of physiology. Renal physiology*, 318(5), F1271–F1283.
- Gül, F., Arslantaş, M. K., Cinel, İ., and Kumar, A., 2017, Changing definitions of sepsis, *Turkish journal of anaesthesiology and reanimation*, 45(3), 129–138.
- Guo, D. F., Sun, Y. L., Hamet, P., and Inagami, T., 2001, The angiotensin II type 1 receptor and receptor-associated proteins, *Cell research*, 11(3), 165–180.
- Gupta, A., Rhodes, G. J., Berg, D. T., Gerlitz, B., Molitoris, B. A., and Grinnell, B. W., 2007, Activated protein C ameliorates LPS-induced acute kidney injury and downregulates renal iNOS and angiotensin 2, *American journal of physiology. Renal physiology*, 293(1), F245–F254.
- Hagiwara, S., Iwasaka, H., Matumoto, S., Hidaka, S., and Noguchi, T., 2009, Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor on the inflammatory response in in vivo and in vitro models, *Critical care medicine*, 37(2), 626–633.
- Hamming, I., Timens, W., Bulthuis, M. L., Lely, A. T., Navis, G., and van Goor, H., 2004, Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A

- first step in understanding SARS pathogenesis, *The Journal of pathology*, 203(2), 631–637.
- Han, T., Jiang, Y., Ge, W., Lu, Y., Liu, R., and Sun, Z., 2024, 2,5-Dihydroxyacetophenone attenuates acute kidney injury induced by intra-abdominal infection in rats, *Nephrology*, 29(10), 636–644.
- Hashimoto, Y., Kakegawa, H., Narita, Y., Hachiya, Y., Hayakawa, T., Kos, J., Turk, V., and Katunuma, N., 2001, Significance of cathepsin B accumulation in synovial fluid of rheumatoid arthritis, *Biochemical and biophysical research communications*, 283(2), 334–339.
- Heinzl, M. W., Resl, M., Klammer, C., Fellingner, P., Schinagl, L., Obendorf, F., Feldbauer, R., Pohlhammer, J., Wagner, T., Egger, M., Dieplinger, B., and Clodi, M., 2022, Subclinical kidney injury is caused by a moderate single inflammatory event, *Shock*, 58(1), 14–19.
- Hermanns, M. I., Müller, A. M., Tsokos, M., and Kirkpatrick, C. J., 2014, LPS-induced effects on angiotensin I-converting enzyme expression and shedding in human pulmonary microvascular endothelial cells, *In vitro cellular & developmental biology, Animal*, 50(4), 287–295.
- Heumann, D., and Roger, T., 2002, Initial responses to endotoxins and Gram-negative bacteria, *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 323(1-2), 59–72.
- Hilgenfeldt, U., Kienapfel, G., Kellermann, W., Schott, R., and Schmidt, M., 1987, Renin-angiotensin system in sepsis, *Clinical and experimental hypertension, Part A, Theory and practice*, 9(8-9), 1493–1504.
- Höfling, C., Kuleshkaya, N., Jaako, K., Peltonen, I., Männistö, P. T., Nurmi, A., Vartiainen, N., Morawski, M., Zharkovsky, A., Võikar, V., Roßner, S., and García-Horsman, J. A., 2016, Deficiency of prolyl oligopeptidase in mice disturbs synaptic plasticity and reduces anxiety-like behaviour, body weight, and brain volume, *European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 26(6), 1048–1061.
- Hoste, E. A. J., Kellum, J. A., Selby, N. M., Zarbock, A., Palevsky, P. M., Bagshaw, S. M., Goldstein, S. L., Cerdá, J., and Chawla, L. S., 2018, Global epidemiology and outcomes of acute kidney injury, *Nature reviews, Nephrology*, 14(10), 607–625.
- Hoste, E. A., Bagshaw, S. M., Bellomo, R., Cely, C. M., Colman, R., Cruz, D. N., Edipidis, K., Forni, L. G., Gomersall, C. D., Govil, D., Honoré, P. M., Joannes-Boyau, O., Joannidis, M., Korhonen, A. M., Lavrentieva, A., Mehta, R. L., Palevsky, P., Roessler, E., Ronco, C., Uchino, S., Vazquez, J. A., Vidal Andrade, E., Webb, S., and Kellum, J. A., 2015, Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: The multinational AKI-EPI study, *Intensive care medicine*, 41(8), 1411–1423.
- Hsu, R. K., and Hsu, C. Y., 2016, The role of acute kidney injury in chronic kidney disease, *Seminars in Nephrology*, 36(4), 283–292.
- Hukriede, N. A., Soranno, D. E., Sander, V., Perreau, T., Starr, M. C., Yuen, P. S. T., Siskind, L. J., Hutchens, M. P., Davidson, A. J., Burmeister, D. M., Faubel, S., and de Caestecker,

- M. P., 2022, Experimental models of acute kidney injury for translational research, *Nature reviews. Nephrology*, 18(5), 277–293.
- Hurley, J.C., 1995, Endotoxemia: Methods of detection and clinical correlates, *Clinical microbiology reviews*, 8(2), 268–292.
- Ichiki, T., and Inagami, T., 1995, Expression, genomic organization, and transcription of the mouse angiotensin II type 2 receptor gene, *Circulation research*, 76(5), 693–700.
- Igić, R., and Behnia, R., 2003, Properties and distribution of angiotensin I converting enzyme, *Current pharmaceutical design*, 9(9), 697–706.
- Imai, Y., Kuba, K., Rao, S., Huan, Y., Guo, F., Guan, B., Yang, P., Sarao, R., Wada, T., Leong-Poi, H., Crackower, M. A., Fukamizu, A., Hui, C. C., Hein, L., Uhlig, S., Slutsky, A. S., Jiang, C., and Penninger, J. M., 2005, Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure, *Nature*, 436(7047), 112–116.
- Intengan, H. D., and Schiffrin, E. L., 2001, Vascular remodeling in hypertension: Roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 38(3 Pt 2), 581–587.
- Islam, M. S., Miao, L., Yu, H., Han, Z., and Sun, H., 2019, Ethanol extract of *Illicium henryi* attenuates LPS-induced acute kidney injury in mice via regulating inflammation and oxidative stress, *Nutrients*, 11(6), 1412.
- IUBMB, 1992, Enzyme Nomenclature 1992, International Union of Biochemistry and Molecular Biology, *Academic press*, San Diego.
- Jalkanen, A. J., Hakkarainen, J. J., Lehtonen, M., Venäläinen, T., Kääriäinen, T. M., Jarho, E., Suhonen, M., and Forsberg, M. M., 2011, Brain pharmacokinetics of two prolyl oligopeptidase inhibitors, JTP-4819 and KYP-2047, in the rat, *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 109(6), 443–451.
- Jalkanen, A., 2012, *The Potential of prolyl oligopeptidase as a drug target*, University of Eastern Finland, 978-952-61-0670-0.
- Kamori, M., Hagihara, M., Nagatsu, T., Iwata, H., and Miura, T., 1991, Activities of dipeptidyl peptidase II, dipeptidyl peptidase IV, prolyl endopeptidase, and collagenase-like peptidase in synovial membrane from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis, *Biochemical medicine and metabolic biology*, 45(2), 154–160.
- Kanugula, A. K., Kaur, J., Batra, J., Ankireddypalli, A. R., and Velagapudi, R., 2023, Renin-angiotensin system: Updated understanding and role in physiological and pathophysiological states, *Cureus*, 15(6), e40725.
- Kaschina, E., and Unger, T., 2003, Angiotensin AT1/AT2 receptors: regulation, signalling and function, *Blood pressure*, 12(2), 70–88.
- Kawai, T., and Akira, S., 2010, The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on Toll-like receptors, *Nature immunology*, 11(5), 373–384.

- Kaziani, K., Vassiliou, A. G., Kotanidou, A., Athanasiou, C., Korovesi, I., Glynos, K., and Orfanos, S. E., 2018, Activated protein C has no effect on pulmonary capillary endothelial function in septic patients with acute respiratory distress syndrome: Association of endothelial dysfunction with mortality, *Infectious diseases and therapy*, 7(Suppl 1), 15–25.
- Kehoe, K., Gielis, J. F., Vliegen, G., Van Elzen, R., Verkerk, R., Driessens, E., Domen, A., Lambeir, A. M., Maes, L., Cos, P., De Meester, I., and Van Schil, P. E., 2016, Dysregulation of the renin-angiotensin system during lung ischemia-reperfusion injury, *Experimental lung research*, 42(6), 277–285.
- Klegeris, A., Li, J., Bammler, T. K., Jin, J., Zhu, D., Kashima, D. T., Pan, S., Hashioka, S., Maguire, J., McGeer, P. L., and Zhang, J., 2008, Prolyl endopeptidase is revealed following SILAC analysis to be a novel mediator of human microglial and THP-1 cell neurotoxicity, *Glia*, 56(6), 675–685.
- Knotek, M., Rogachev, B., Wang, W., Ecker, T., Melnikov, V., Gengaro, P. E., Esson, M., Edelstein, C. L., Dinarello, C. A., and Schrier, R. W., 2001, Endotoxemic renal failure in mice: Role of tumor necrosis factor independent of inducible nitric oxide synthase, *Kidney international*, 59(6), 2243–2249.
- Kovarik, J. J., Kopecky, C., Antlanger, M., Domenig, O., Kaltenecker, C. C., Werzowa, J., Hecking, M., Mahr, S., Grömmel, M., Wallner, C., Aumayr, K., Kain, R., Zuckermann, A., Poglitsch, M., and Säemann, M. D., 2017. Effects of angiotensin-converting-enzyme inhibitor therapy on the regulation of the plasma and cardiac tissue renin-angiotensin system in heart transplant patients, *The Journal of heart and lung transplantation: The official publication of the International Society for Heart Transplantation*, 36(3), 355–365.
- Krenn, K., Höbart, P., Poglitsch, M., Croizé, A., and Ullrich, R., 2020, Equilibrium angiotensin metabolite profiling in patients with acute respiratory distress syndrome indicates angiotensin-converting enzyme inhibition, *American journal of respiratory and critical care medicine*, 202(10), 1468–1471.
- Kumar, N., Nakagawa, P., Janic, B., Romero, C. A., Worou, M. E., Monu, S. R., Peterson, E. L., Shaw, J., Valeriote, F., Onger, E. M., Niyitegeka, J. M., Rhaleb, N. E., and Carretero, O. A., 2016, The anti-inflammatory peptide Ac-SDKP is released from thymosin- β 4 by renal meprin- α and prolyl oligopeptidase, *American journal of physiology, renal physiology*, 310(10), F1026–F1034.
- Laesser, M., Oi, Y., Ewert, S., Fändriks, L., and Aneman, A., 2004, The angiotensin II receptor blocker candesartan improves survival and mesenteric perfusion in an acute porcine endotoxin model, *Acta anaesthesiologica Scandinavica*, 48(2), 198–204.
- Langeveld, B., van Gilst, W. H., Tio, R. A., Zijlstra, F., and Roks, A. J., 2005, Angiotensin-(1-7) attenuates neointimal formation after stent implantation in the rat, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 45(1), 138–141.
- Lankadeva, Y. R., Kosaka, J., Evans, R. G., and Bellomo, R., 2019, Novel strategies to prevent sepsis-induced acute kidney injury, *Current Opinion in Critical Care*, 25(6), 550–557.

- Lavrentyev, E. N., and Malik, K. U., 2009, High glucose-induced Nox1-derived superoxides downregulate PKC-betaII, which subsequently decreases ACE2 expression and ANG (1-7) formation in rat VSMCs, *American journal of physiology, Heart and circulatory physiology*, 296(1), H106–H118.
- Lazard, D., Briend-Sutren, M. M., Villageois, P., Mattei, M. G., Strosberg, A. D., and Nahmias, C., 1994, Molecular characterization and chromosome localization of a human angiotensin II AT2 receptor gene highly expressed in fetal tissues, *Receptors & channels*, 2(4), 271–280.
- Lee, Y. I., Smith, R. L., Gartshteyn, Y., Kwon, S., Caraher, E. J., and Nolan, A., 2016, Predictors of acute hemodynamic decompensation in early sepsis: An observational study, *Journal of clinical medicine research*, 8(8), 575–581.
- Legrand, M., and Rossignol, P., 2020, Cardiovascular consequences of acute kidney injury, *The New England journal of medicine*, 382(23), 2238–2247.
- Legrand, M., Bezemer, R., Kandil, A., Demirci, C., Payen, D., and Ince, C., 2011, The role of renal hypoperfusion in development of renal microcirculatory dysfunction in endotoxemic rats, *Intensive care medicine*, 37(9), 1534–1542.
- Lenz, M., Krychtiuk, K. A., Brekalo, M., Draxler, D. F., Pavo, N., Hengstenberg, C., Huber, K., Hülsmann, M., Heinz, G., Wojta, J., and Speidl, W. S., 2022, Soluble neprilysin and survival in critically ill patients, *ESC heart failure*, 9(2), 1160–1166.
- Levy, M. M., Fink, M. P., Marshall, J. C., Abraham, E., Angus, D., Cook, D., Cohen, J., Opal, S. M., Vincent, J. L., Ramsay, G., and SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS, 2003, 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference, *Critical care medicine*, 31(4), 1250–1256.
- Li, P., Chappell, M. C., Ferrario, C. M., and Brosnihan, K. B., 1997, Angiotensin-(1-7) augments bradykinin-induced vasodilation by competing with ACE and releasing nitric oxide, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 29(1 Pt 2), 394–400.
- Li, Y., Cao, Y., Zeng, Z., Liang, M., Xue, Y., Xi, C., Zhou, M., and Jiang, W., 2015, Angiotensin-converting enzyme 2/angiotensin-(1-7)/Mas axis prevents lipopolysaccharide-induced apoptosis of pulmonary microvascular endothelial cells by inhibiting JNK/NF-κB pathways, *Scientific reports*, 5, 8209.
- Li, Y., Zeng, Z., Cao, Y., Liu, Y., Ping, F., Liang, M., Xue, Y., Xi, C., Zhou, M., and Jiang, W., 2016, Angiotensin-converting enzyme 2 prevents lipopolysaccharide-induced rat acute lung injury via suppressing the ERK1/2 and NF-κB signaling pathways, *Scientific reports*, 6, 27911.
- Lokhandwala, S., Moskowitz, A., Lawniczak, R., Giberson, T., Cocchi, M. N., and Donnino, M. W., 2015, Disease heterogeneity and risk stratification in sepsis-related occult hypoperfusion, a retrospective cohort study, *Journal of critical care*, 30(3), 531–536.
- Lv, W., Xue, L., Liang, L., Liu, D., Li, C., Liao, J., and Jin, Y., 2023, Endotoxin induced acute kidney injury modulates expression of AQP1, P53 and P21 in rat kidney, heart, lung and small intestine, *PloS one*, 18(7), e0288507.

- Männistö, P. T., and García-Horsman, J. A., 2017, Mechanism of action of prolyl oligopeptidase (PREP) in degenerative brain diseases: Has peptidase activity only a modulatory role on the interactions of PREP with proteins? *Frontiers in aging neuroscience*, 9, 27.
- Martins, P. S., Brunialti, M. K., da Luz Fernandes, M., Martos, L. S., Gomes, N. E., Rigato, O., and Salomao, R., 2006, Bacterial recognition and induced cell activation in sepsis, *Endocrine, metabolic and immune disorders drug targets*, 6(2), 183–19.
- Mehta, P. K., and Griendling, K. K., 2007, Angiotensin II cell signaling: Physiological and pathological effects in the cardiovascular system, *American journal of physiology, Cell physiology*, 292(1), C82–C97.
- Mentlein R., 1988, Proline residues in the maturation and degradation of peptide hormones and neuropeptides, *FEBS letters*, 234(2), 251–256.
- Meurer, M., Ebert, K., Schweda, F., and Höcherl, K., 2018, The renal vasodilatory effect of prostaglandins is ameliorated in isolated-perfused kidneys of endotoxemic mice, *Pflugers Archiv: European journal of physiology*, 470(11), 1691–1703.
- Michie, H. R., Manogue, K. R., Spriggs, D. R., Revhaug, A., O'Dwyer, S., Dinarello, C. A., Cerami, A., Wolff, S. M., and Wilmore, D. W., 1988, Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration, *The New England journal of medicine*, 318(23), 1481–1486.
- Morain, P., Lestage, P., de Nanteuil, G., Jochemsen, R., Robin, J.L., Guez, D., and Boyer, P.A., 2002, S 17092: A prolyl endopeptidase inhibitor as a potential therapeutic drug for memory impairment. Preclinical and clinical studies, *CNS drug reviews*, 8(1), 31-52.
- Müller, A. M., Gruhn, K., Lange, S., Franke, F. E., and Müller, K. M., 2004, Angiotensin converting enzyme (ACE, CD143) in the regular pulmonary vasculature, *Der Pathologe*, 25(2), 141–146.
- Myöhänen, T. T., Norrbacka, S., and Savolainen, M. H., 2017, Prolyl oligopeptidase inhibition attenuates the toxicity of a proteasomal inhibitor, lactacystin, in the alpha-synuclein overexpressing cell culture, *Neuroscience letters*, 636, 83–89.
- Myöhänen, T. T., Tenorio-Laranga, J., Jokinen, B., Vázquez-Sánchez, R., Moreno-Baylach, M. J., García-Horsman, J. A., and Männistö, P. T., 2011, Prolyl oligopeptidase induces angiogenesis both in vitro and in vivo in a novel regulatory manner, *British journal of pharmacology*, 163(8), 1666–1678.
- Naito, T., Ma, L. J., Yang, H., Zuo, Y., Tang, Y., Han, J. Y., Kon, V., and Fogo, A. B., 2010, Angiotensin type 2 receptor actions contribute to angiotensin type 1 receptor blocker effects on kidney fibrosis, *American journal of physiology, Renal physiology*, 298(3), F683–F691.
- Namsolleck, P., Recarti, C., Foulquier, S., Steckelings, U. M., and Unger, T., 2014, AT (2) receptor and tissue injury: Therapeutic implications, *Current hypertension reports*, 16(2), 416.

- Natunen, T. A., Gynther, M., Rostalski, H., Jaako, K., and Jalkanen, A. J., 2019, Extracellular prolyl oligopeptidase derived from activated microglia is a potential neuroprotection target, *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 124(1), 40–49.
- Nechemia-Arbely, Y., Barkan, D., Pizov, G., Shriki, A., Rose-John, S., Galun, E., and Axelrod, J. H., 2008, IL-6/IL-6R axis plays a critical role in acute kidney injury, *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 19(6), 1106–1115.
- Ning, L., Rong, J., Zhang, Z., and Xu, Y., 2021, Therapeutic approaches targeting renin-angiotensin system in sepsis and its complications, *Pharmacological research*, 167, 105409.
- Noel, S., Kapoor, R., and Rabb, H., 2024, New approaches to acute kidney injury, *Clinical kidney journal*, 17(Suppl 2):65-81,
- O'Brien, J. M., Jr, Ali, N. A., Aberegg, S. K. and Abraham, E., 2007, Sepsis, *The American journal of medicine*, 120(12), 1012–1022.
- Okusawa, S., Gelfand, J. A., Ikejima, T., Connolly, R. J., and Dinarello, C. A., 1988, Interleukin 1 induces a shock-like state in rabbits. Synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition, *The Journal of clinical investigation*, 81(4), 1162–1172.
- Ong, F. S., Shen, X. Z., Fuchs, S., and Bernstein, K. E., 2012, Prolyl-oligopeptidase inhibition ameliorates experimental hypertension and decreases inflammatory cytokines in mice lacking angiotensin converting enzyme n domain activity, *Experimental biology 2012 meeting abstracts*, Page 136.10
- Ow, C. P. C., Trask-Marino, A., Betrie, A. H., Evans, R. G., May, C. N., and Lankadeva, Y. R., 2021, Targeting oxidative stress in septic acute kidney injury: From theory to practice, *Journal of clinical medicine*, 10(17), 3798.
- Ozono, R., Wang, Z. Q., Moore, A. F., Inagami, T., Siragy, H. M., and Carey, R. M., 1997, Expression of the subtype 2 angiotensin (AT₂) receptor protein in rat kidney, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 30(5), 1238–1246.
- Paizis, G., Tikellis, C., Cooper, M. E., Schembri, J. M., Lew, R. A., Smith, A. I., Shaw, T., Warner, F. J., Zuilli, A., Burrell, L. M., and Angus, P. W., 2005, Chronic liver injury in rats and humans upregulates the novel enzyme angiotensin converting enzyme 2, *Gut*, 54(12), 1790–1796.
- Paula, R. D., Lima, C. V., Britto, R. R., Campagnole-Santos, M. J., Khosla, M. C., and Santos, R. A., 1999, Potentiation of the hypotensive effect of bradykinin by angiotensin-(1-7)-related peptides, *Peptides*, 20(4), 493–500.
- Peerapornratana, S., Manrique-Caballero, C. L., Gómez, H., and Kellum, J. A., 2019, Acute kidney injury from sepsis: Current concepts, epidemiology, pathophysiology, prevention and treatment, *Kidney international*, 96(5), 1083–1099.
- Picod, A., Garcia, B., Van Lier, D., Pickkers, P., Herpain, A., Mebazaa, A., and Azibani, F. 2024, Impaired angiotensin II signaling in septic shock, *Annals of intensive care*, 14(1), 89.

- Pirracchio, R., Deye, N., Lukaszewicz, A. C., Mebazaa, A., Cholley, B., Matéo, J., Mégarbane, B., Launay, J. M., Peynet, J., Baud, F., and Payen, D., 2008, Impaired plasma B-type natriuretic peptide clearance in human septic shock, *Critical care medicine*, 36(9), 2542–2546.
- Pode-Shakked, N., Ceschia, G., Rose, J. E., Goldstein, S. L., Stanski, N. L., and Genomics of Pediatric Septic Shock Investigators, 2023, Increasing angiotensin-converting enzyme concentrations and absent angiotensin-converting enzyme activity are associated with adverse kidney outcomes in pediatric septic shock, *Critical care (London, England)*, 27(1), 230.
- Polgár, L., 2002, The prolyl oligopeptidase family, *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 59(2), 349–362.
- Post, E. H., Kellum, J. A., Bellomo, R., and Vincent, J. L., 2017, Renal perfusion in sepsis: From macro- to microcirculation, *Kidney international*, 91(1), 45–60.
- Poston, J. T. and Koyner, J. L., 2019, Sepsis associated acute kidney injury, *BMJ (Clinical research ed.)*, 364, k4891.
- Puris, E., Jalkanen, A., Auriola, S., Loppi, S., Korhonen, P., Kanninen, K. M., Malm, T., Koistinaho, J., and Gynther, M., 2022, Systemic inflammation elevates cytosolic prolyl oligopeptidase protein expression but not peptidase activity in the cerebral cortices of familial Alzheimers disease modeling mice, *Brain Disorders*, 6, 100035.
- Puttonen, K. A., Lehtonen, S., Raasmaja, A., and Männistö, P. T., 2006, A prolyl oligopeptidase inhibitor, Z-Pro-Prolinal, inhibits glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase translocation and production of reactive oxygen species in CV1-P cells exposed to 6-hydroxydopamine, *Toxicology in vitro: An international journal published in association with BIBRA*, 20(8), 1446–1454.
- Rajagopalan, S., Kurz, S., Münzel, T., Tarpey, M., Freeman, B. A., Griendling, K. K., and Harrison, D. G., 1996, Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation, contribution to alterations of vasomotor tone, *The Journal of clinical investigation*, 97(8), 1916–1923.
- Rajendram, R., and Prowle, J. R., 2014, Venous congestion: Are we adding insult to kidney injury in sepsis?, *Critical care (London, England)*, 18(1), 104.
- Ranneh, Y., Akim, A. M., Hamid, H. A., Khazaai, H., Mokhtarrudin, N., Fadel, A., and Albuja, M. H. K., 2019, Induction of chronic subclinical systemic inflammation in Sprague-Dawley rats stimulated by intermittent bolus injection of lipopolysaccharide, *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 67(6), 385–400.
- Rawlings, N. D., Polgar, L., and Barrett, A. J., 1991, A new family of serine-type peptidases related to prolyl oligopeptidase, *The Biochemical journal*, 279 (Pt 3) (Pt 3), 907–908.
- Rello, J., Valenzuela-Sánchez, F., Ruiz-Rodríguez, M., and Moyano, S., 2017, Sepsis: A review of advances in management, *Advances in therapy*, 34(11), 2393–2411.

- Remick, D. G., Newcomb, D. E., Bolgos, G. L., and Call, D. R., 2000, Comparison of the mortality and inflammatory response of two models of sepsis: Lipopolysaccharide vs. cecal ligation and puncture, *Shock*, 13:110–116.
- Rice, G. I., Thomas, D. A., Grant, P. J., Turner, A. J., and Hooper, N. M., 2004, Evaluation of angiotensin-converting enzyme (ACE), its homologue ACE2 and neprilysin in angiotensin peptide metabolism, *The Biochemical journal*, 383(Pt 1), 45–51.
- Rudd, K. E., Johnson, S. C., Agesa, K. M., Shackelford, K. A., Tsoi, D., Kievlan, D. R., Colombara, D. V., Ikuta, K. S., Kissoon, N., Finfer, S., Fleischmann-Struzek, C., Machado, F. R., Reinhart, K. K., Rowan, K., Seymour, C. W., Watson, R. S., West, T. E., Marinho, F., Hay, S. I., Lozano, R., Lopez, A. D., Angus, D. C., Murray, C. J. L., and Naghavi, M., 2020, Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017, analysis for the Global Burden of Disease Study, *Lancet (London, England)*, 395(10219), 200–211.
- Sampaio, W. O., Henrique de Castro, C., Santos, R. A., Schiffrin, E. L., and Touyz, R. M., 2007a, Angiotensin-(1-7) counterregulates angiotensin II signaling in human endothelial cells, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 50(6), 1093–1098.
- Sampaio, W. O., Souza dos Santos, R. A., Faria-Silva, R., da Mata Machado, L. T., Schiffrin, E. L., and Touyz, R. M., 2007b, Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 49(1), 185–192.
- Sampson, A. K., Moritz, K. M., Jones, E. S., Flower, R. L., Widdop, R. E., and Denton, K. M., 2008, Enhanced angiotensin II type 2 receptor mechanisms mediate decreases in arterial pressure attributable to chronic low-dose angiotensin II in female rats, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 52(4), 666–671.
- Santos, R. A. S., Oudit, G. Y., Verano-Braga, T., Canta, G., Steckelings, U. M., and Bader, M., 2019, The renin-angiotensin system: going beyond the classical paradigms, *American journal of physiology, Heart and circulatory physiology*, 316(5), H958–H970.
- Santos, R. A. S., Sampaio, W. O., Alzamora, A. C., Motta-Santos, D., Alenina, N., Bader, M., and Campagnole-Santos, M. J., 2018, The ACE2/Angiotensin-(1-7)/Mas axis of the renin-angiotensin system: Focus on Angiotensin-(1-7), *Physiological reviews*, 98(1), 505–553.
- Santos, R. A., Brosnihan, K. B., Chappell, M. C., Pesquero, J., Chernicky, C. L., Greene, L. J., and Ferrario, C. M., 1988, Converting enzyme activity and angiotensin metabolism in the dog brainstem, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 11(2 Pt 2), I153–I157.
- Santos, R. A., Simoes e Silva, A. C., Maric, C., Silva, D. M., Machado, R. P., de Buhr, I., Heringer-Walther, S., Pinheiro, S. V., Lopes, M. T., Bader, M., Mendes, E. P., Lemos, V. S., Campagnole-Santos, M. J., Schultheiss, H. P., Speth, R., and Walther, T., 2003, Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas, *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, 100(14), 8258–8263.

- Schieffer, B., Schieffer, E., Hilfiker-Kleiner, D., Hilfiker, A., Kovanen, P. T., Kaartinen, M., Nussberger, J., Harringer, W., and Drexler, H., 2000, Expression of angiotensin II and interleukin 6 in human coronary atherosclerotic plaques: potential implications for inflammation and plaque instability, *Circulation*, 101(12), 1372–1378.
- Schneider, J. S., Giardiniere, M., and Morain, P., 2002, Effects of the prolyl endopeptidase inhibitor S 17092 on cognitive deficits in chronic low dose MPTP-treated monkeys, *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 26(2), 176–182.
- Schrier, R. W., and Wang, W., 2004, Acute renal failure and sepsis, *The New England journal of medicine*, 351(2), 159–169.
- Schweda, F., and Kurtz, A., 2004, Cellular mechanism of renin release, *Acta physiologica Scandinavica*, 181(4), 383–390.
- Scuderi, S. A., Casili, G., Ardizzone, A., Forte, S., Colarossi, L., Sava, S., Paterniti, I., Esposito, E., Cuzzocrea, S., and Campolo, M., 2021, KYP-2047, an inhibitor of prolyl-oligopeptidase, reduces glioblastoma proliferation through angiogenesis and apoptosis modulation, *Cancers*, 13(14), 3444.
- Seemann, S., Zohles, F., and Lupp, A., 2017, Comprehensive comparison of three different animal models for systemic inflammation, *Journal of biomedical science*, 24(1), 60.
- Serfozo, P., Wysocki, J., Gulua, G., Schulze, A., Ye, M., Liu, P., Jin, J., Bader, M., Myöhänen, T., García-Horsman, J. A., and Batlle, D., 2020, Ang II (Angiotensin II) conversion to Angiotensin-(1-7) in the circulation is POP (Prolyl oligopeptidase)-dependent and ACE2 (Angiotensin-Converting Enzyme 2)-independent, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 75(1), 173–182.
- Shimokawa, T., Yoneda, K., Yamagata, M., Hayashi, K., and Tomita, S., 2020, Yohimbine ameliorates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in rats, *European Journal of pharmacology*, 871, 172917.
- Simões E Silva, A. C., Lanza, K., Palmeira, V. A., Costa, L. B., & Flynn, J. T., 2021, 2020 update on the renin-angiotensin-aldosterone system in pediatric kidney disease and its interactions with coronavirus, *Pediatric nephrology, Berlin, Germany*, 36(6), 1407–1426.
- Simões e Silva, A. C., Silveira, K. D., Ferreira, A. J., and Teixeira, M. M., 2013, ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis, *British journal of pharmacology*, 169(3), 477–492.
- Simões e Silva, A. C., Vaz de Castro, P. A. S., Bitencourt, L., de Oliveira Campos, J. L., Soares de Brito, S. B. C., and Fischer, B. L., 2023, *Renin-angiotensin system and inflammation*, Angiotensin from the kidney to Coronavirus, In: Pilowsky, P.M. (ed.), 3, Academic Press, United Kingdom, ISBN: 978-0-323-99618-1, 77-107, 77-107.
- Singer, M., Deutschman, C. S., Seymour, C. W., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., Bellomo, R., Bernard, G. R., Chiche, J. D., Coopersmith, C. M., Hotchkiss, R. S., Levy, M. M., Marshall, J. C., Martin, G. S., Opal, S. M., Rubinfeld, G. D., van der Poll, T.,

- Vincent, J. L., and Angus, D. C., 2016, The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3), *JAMA*, 315(8), 801–810.
- Siragy, H. M., Inagami, T., Ichiki, T., and Carey, R. M., 1999, Sustained hypersensitivity to angiotensin II and its mechanism in mice lacking the subtype-2 (AT₂) angiotensin receptor, *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 96(11), 6506–6510.
- Sorrells, K., Erdös, E.G., 1971, Prolylcarboxypeptidase in biological fluids, *Adv Exp Med Biol*, 23(0):393-7.
- Sparks, M. A., Crowley, S. D., Gurley, S. B., Mirotsoy, M., and Coffman, T. M., 2014, Classical renin-angiotensin system in kidney physiology, *Comprehensive physiology*, 4(3), 1201–1228.
- Sproston, N. R., and Ashworth, J. J., 2018, Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection, *Frontiers in immunology*, 9, 754.
- Sun, J., Wei, S., Zhang, Y., and Li, J., 2021, Protective effects of Astragalus polysaccharide on sepsis-induced acute kidney injury, *Analytical cellular pathology, Amsterdam*, 7178253.
- Suzuki, K., Sakaguchi, M., Tanaka, S., Yoshimoto, T., and Takaoka, M., 2014, Prolyl oligopeptidase inhibition-induced growth arrest of human gastric cancer cells, *Biochemical and biophysical research communications*, 443(1), 91–96.
- Tamion, F., Le Cam-Duchez, V., Menard, J. F., Girault, C., Coquerel, A., and Bonmarchand, G., 2004, Erythropoietin and renin as biological markers in critically ill patients, *Critical care, London, England*, 8(5), R328–R335.
- Tanaka, S., Suzuki, K., and Sakaguchi, M., 2017, The prolyl oligopeptidase inhibitor SUAM-14746 attenuates the proliferation of human breast cancer cell lines in vitro, *Breast cancer, Tokyo, Japan*, 24(5), 658–666.
- Tenorio-Laranga, J., Montoliu, C., Urios, A., Hernandez-Rabaza, V., Ahabrach, H., García-Horsman, J. A., and Felipo, V., 2015, The expression levels of prolyl oligopeptidase responds not only to neuroinflammation but also to systemic inflammation upon liver failure in rat models and cirrhotic patients, *Journal of neuroinflammation*, 12, 183.
- Tibi, S., Zeynalvand, G., and Mohsin, H., 2023, Role of the renin angiotensin aldosterone system in the pathogenesis of sepsis-induced acute kidney injury: A systematic review, *Journal of clinical medicine*, 12(14), 4566.
- Tipnis, S. R., Hooper, N. M., Hyde, R., Karran, E., Christie, G., and Turner, A. J., 2000, A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase, *The Journal of biological chemistry*, 275(43), 33238–33243.
- Toide, K., Shinoda, M., Iwamoto, Y., Fujiwara, T., Okamiya, K., and Uemura, A., 1997, A novel prolyl endopeptidase inhibitor, JTP-4819, with potential for treating Alzheimer's disease, *Behavioural brain research*, 83(1-2), 147–151.

- Toppila, M., Hytti, M., Korhonen, E., Ranta-Aho, S., Harju, N., Forsberg, M. M., Kaarniranta, K., Jalkanen, A., and Kauppinen, A., 2023, The prolyl oligopeptidase inhibitor KYP-2047 is cytoprotective and anti-inflammatory in human retinal pigment epithelial cells with defective proteasomal clearance, *Antioxidants, Basel, Switzerland*, 12(6), 1279.
- Tracey, K. J., Beutler, B., Lowry, S. F., Merryweather, J., Wolpe, S., Milsark, I. W., Hariri, R. J., Fahey, T. J., 3rd, Zentella, A., and Albert, J. D., 1986, Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin, *Science, New York*, 234(4775), 470–474.
- Tsutsumi, K., and Saavedra, J. M., 1991, Characterization and development of angiotensin II receptor subtypes (AT1 and AT2) in rat brain, *The American journal of physiology*, 261(1 Pt 2), R209–R216.
- Venäläinen, J. I., Juvonen, R. O., and Männistö, P. T., 2004, Evolutionary relationships of the prolyl oligopeptidase family enzymes, *European journal of biochemistry*, 271(13), 2705–2715.
- Verma, S. K., and Molitoris, B. A., 2015, Renal endothelial injury and microvascular dysfunction in acute kidney injury, *Seminars in nephrology*, 35(1), 96–107.
- Vickers, C., Hales, P., Kaushik, V., Dick, L., Gavin, J., Tang, J., Godbout, K., Parsons, T., Baronas, E., Hsieh, F., Acton, S., Patane, M., Nichols, A., and Tummino, P., 2002, Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase, *The Journal of biological chemistry*, 277(17), 14838–14843.
- Vincent, J. L., Moreno, R., Takala, J., Willatts, S., De Mendonça, A., Bruining, H., Reinhart, C. K., Suter, P. M., and Thijs, L. G., 1996, The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine, *Intensive care medicine*, 22(7), 707–710.
- Vincent, J. L., Sakr, Y., Sprung, C. L., Ranieri, V. M., Reinhart, K., Gerlach, H., Moreno, R., Carlet, J., Le Gall, J. R., Payen, D., and Sepsis Occurrence in Acutely III Patients Investigators, 2006, Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study, *Critical care medicine*, 34(2), 344–353.
- Vliegen, G., Kehoe, K., Bracke, A., De Hert, E., Verkerk, R., Fransen, E., Jongers, B., Peters, E., Lambeir, A. M., Kumar-Singh, S., Pickkers, P., Jorens, P. G., and De Meester, I., 2020, Dysregulated activities of proline-specific enzymes in septic shock patients (sepsis-2), *PloS one*, 15(4), e0231555.
- Vodovar, N., Séronde, M. F., Laribi, S., Gayat, E., Lassus, J., Januzzi, J. L., Jr, Boukef, R., Nouria, S., Manivet, P., Samuel, J. L., Logeart, D., Cohen-Solal, A., Richards, A. M., Launay, J. M., Mebazaa, A., and GREAT Network, 2015, Elevated plasma B-type natriuretic peptide concentrations directly inhibit circulating neprilysin activity in heart failure, *JACC, Heart failure*, 3(8), 629–636.
- Votta-Velis, E. G., Minshall, R. D., Visintine, D. J., Castellon, M., and Balyasnikova, I. V., 2007, Propofol attenuates endotoxin-induced endothelial cell injury, angiotensin-converting enzyme shedding, and lung edema, *Anesthesia and analgesia*, 105(5), 1363–70.

- Walter, R., Shlank, H., Glass, J. D., Schwartz, I. L., and Kerenyi, T. D., 1971, Leucylglycinamide released from oxytocin by human uterine enzyme, *Science (New York, N.Y.)*, 173(3999), 827–829.
- Wang, W., Falk, S. A., Jittikanont, S., Gengaro, P. E., Edelstein, C. L., and Schrier, R. W., 2002, Protective effect of renal denervation on normotensive endotoxemia-induced acute renal failure in mice, *American journal of physiology, Renal physiology*, 283(3), F583–F587.
- Wang, Z. Q., Moore, A. F., Ozono, R., Siragy, H. M., and Carey, R. M., 1998, Immunolocalization of subtype 2 angiotensin II (AT₂) receptor protein in rat heart, *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 32(1), 78–83.
- Welches, W. R., Brosnihan, K. B., and Ferrario, C. M., 1993, A comparison of the properties and enzymatic activities of three angiotensin processing enzymes: angiotensin converting enzyme, prolyl endopeptidase and neutral endopeptidase 24.11, *Life sciences*, 52(18), 1461–1480.
- Wichterman, K. A., Baue, A. E., and Chaudry, I. H., 1980, Sepsis and septic shock-a review of laboratory models and a proposal, *The Journal of surgical research*, 29(2), 189–201.
- Williams, K. L., 2007, Endotoxins: Pyrogens, LAL Testing and Depyrogenation, *Informa healthcare*, New York, 978-0-8493-9372-3.
- Wösten-van Asperen, R. M., Lutter, R., Specht, P. A., Moll, G. N., van Woensel, J. B., van der Loos, C. M., van Goor, H., Kamilic, J., Florquin, S. and Bos, A. P., 2011, Acute respiratory distress syndrome leads to reduced ratio of ACE/ACE2 activities and is prevented by angiotensin-(1–7) or an angiotensin II receptor antagonist, *Journal of pathology*, 225: 618–627,
- Wray, G. M., and Coakley, J. H., 1995, Severe septic shock unresponsive to noradrenaline, *Lancet*, London, England, 346(8990), 1604.
- Xu, Z., Li, W., Han, J., Zou, C., Huang, W., Yu, W., Shan, X., Lum, H., Li, X., and Liang, G., 2017, Angiotensin II induces kidney inflammatory injury and fibrosis through binding to myeloid differentiation protein-2 (MD2), *Scientific reports*, 7, 44911.
- Yoshimoto, T., Kado, K., Matsubara, F., Koriyama, N., Kaneto, H., and Tsura, D., 1987, Specific inhibitors for prolyl endopeptidase and their anti-amnesic effect, *Journal of pharmacobio-dynamics*, 10(12), 730–735.
- Zaman, M. A., Oparil, S., and Calhoun, D. A., 2002, Drugs targeting the renin-angiotensin-aldosterone system, *Nature reviews, drug discovery*, 1(8), 621–636.
- Zarjou, A., and Agarwal, A., 2011, Sepsis and acute kidney injury, *Journal of the American society of nephrology: JASN*, 22(6), 999–1006.
- Zerikiotis, S., Efentakis, P., Dapola, D., Agapaki, A., Seiradakis, G., Kostomitsopoulos, N., Skaltsounis, A. L., Tseti, I., Triposkiadis, F., and Andreadou, I., 2023, Synergistic pulmonoprotective effect of natural prolyl oligopeptidase inhibitors in in vitro and in vivo

models of acute respiratory distress syndrome, *International journal of molecular sciences*, 24(18), 14235.

- Zhang, D., Han, S., Zhou, Y., Qi, B., and Wang, X., 2020, Therapeutic effects of mangiferin on sepsis-associated acute lung and kidney injuries via the downregulation of vascular permeability and protection of inflammatory and oxidative damages, *European journal of pharmaceutical sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 152, 105400.
- Zhang, H., Han, G. W., Batyuk, A., Ishchenko, A., White, K. L., Patel, N., Sadybekov, A., Zamlynny, B., Rudd, M. T., Hollenstein, K., Tolstikova, A., White, T. A., Hunter, M. S., Weierstall, U., Liu, W., Babaoglu, K., Moore, E. L., Katz, R. D., Shipman, J. M., Garcia-Calvo, M., Sharma, S., Sheth, P., Soisson, S. M., Stevens, R. C., Katritch, V., and Cherezov, V., 2017, Structural basis for selectivity and diversity in angiotensin II receptors, *Nature*, 544(7650), 327–332.
- Zhang, W., Zhang, J., and Huang, H., 2022, Exosomes from adipose-derived stem cells inhibit inflammation and oxidative stress in LPS-acute kidney injury, *Experimental cell research*, 420(1), 113332.
- Zhou, D., Li, B. H., Wang, J., Ding, Y. N., Dong, Y., Chen, Y. W., and Fan, J. G., 2016, Prolyl oligopeptidase inhibition attenuates steatosis in the L02 human liver cell line, *PloS one*, 11(10), e0165224.
- Zimmerman, M. C., Dunlay, R. P., Lazartigues, E., Zhang, Y., Sharma, R. V., Engelhardt, J. F., and Davisson, R. L., 2004a, Requirement for Rac1-dependent NADPH oxidase in the cardiovascular and dipsogenic actions of angiotensin II in the brain, *Circulation research*, 95(5), 532–539.
- Zimmerman, M. C., Lazartigues, E., Sharma, R. V., and Davisson, R. L., 2004b, Hypertension caused by angiotensin II infusion involves increased superoxide production in the central nervous system, *Circulation research*, 95(2), 210–216.

EKLER

Ek 1. Etik kurul karar metni

Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Kararları/Tarih ve Sayı: 24.08.2023-E.120069



**T.C.
BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARAR METNİ**

21.08.2023

KONU: Etik Kurul Kararı – Doç. Dr. Aslı KANDİL

Sayın, Doç. Dr. Aslı KANDİL

“Lipopolisakkarid ile Oluşturulan Endotoksemide Prolil Oligopeptidaz İnhibitörünün Böbrek Üzerindeki Etkileri” başlıklı projenize ait başvurunuz 21.08.2023 tarihinde yapılan Yerel Etik Kurul toplantısında değerlendirilmiş ve onanmıştır.

Prof. Dr. Fahri AKBAŞ
Etik Kurul Başkanı

Doç. Dr. Sedat AKBAŞ
Üye

Doç. Dr. Özgün Yusuf ÖZYILMAZ
Üye

Doç. Dr. Remzi DOĞAN
Üye

Doç. Dr. Ömer Faruk ÖZER
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Emine Rümeysa HEKİMOĞLU
Üye

Doç. Dr. Özge PASİN
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Dilek ÖZTÜRK CİVELEK
Üye

Dr. Vet. Hek. Mert ÇELİKİTEN
Üye

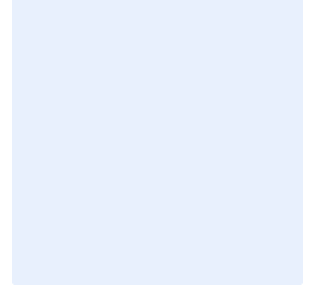
Şerife GÖNCÜ
Üye

Dr. Necmeddin GÜNAY
Üye

- Etik kurulumuzdan onam alan her proje için, çalışma başlamadan üç ay önce çalışılacak hayvan rezervinin uygunluğunu (tür, yaş, cinsiyet) belirlemek amacıyla Deney Hayvanları Laboratuvarına başvurulmalıdır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Berna ÇOLAK
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	Tarih girmek için tıklayın veya dokununuz.
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
E-Posta Adresi	
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji Bölümü
Mezuniyet Yılı	09.06.2022

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Zooloji Programı